

تأثیر مکمل غذایی پودر فلفل قرمز تند (*Capsicum annuum*) بر شاخص‌های رشد، میزان بقاء، فراسنجه‌های خونی و برخی از پاسخ‌های ایمنی بچه ماهی قزل آلا (*Oncorhynchus mykiss*) رنگین کمان

مهدی شمسایی^۱، مهرجان^۱، سید پژمان حسینی شکرابی^{۱*}، محمد مهدی محبوب زردست^۱، نگار محمدی^۱

*hosseini@srbiau.ac.ir

۱- گروه شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران

تاریخ دریافت: شهریور ۱۳۹۸

تاریخ پذیرش: آبان ۱۳۹۸

چکیده

به منظور بررسی تأثیر خوراکی پودر فلفل قرمز تند بر برخی پارامترهای رشد، بقاء فراسنجه‌های خونی و پاسخ‌های سیستم ایمنی ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان، تعداد ۲۴۰ عدد بچه ماهی (میانگین وزن $15/69 \pm 0/33$ گرم) در ۱۲ مخزن (هر مخزن ۲۰ عدد ماهی) به صورت تصادفی تقسیم شد و به مدت ۴۵ روز با مقادیر ۰، ۱، ۳ و ۵ درصد پودر فلفل قرمز تند (*Capsicum annuum*) در غذا (هر کدام با ۳ تکرار) مورد تغذیه قرار گرفتند. نتایج شاخص‌های رشد نشان داد، بالاترین مقدار افزایش وزن بدن و نرخ رشد ویژه در تیمار ۵ درصد نسبت به سایر تیمارها مشاهده شد ($P < 0/05$). کمترین مقدار ضریب تبدیل غذایی بصورت همزمان در تیمارهای تغذیه شده با ۳ و ۵ درصد فلفل قرمز مشاهده شد. همچنین شاخص وضعیت بین تیمارها اختلاف معنی‌داری نشان نداد ($P > 0/05$). بیشترین میزان بقا مربوط به تیمارهای ۳ و ۵ درصد فلفل بود و این شاخص در تیمار ۱ و شاهد اختلاف معنی‌داری نداشت ($P > 0/05$). بیشترین تعداد گلبول‌های قرمز در تیمار ۳ و ۵ درصد مشاهده شد ($P < 0/05$). بیشترین درصد هماتوکریت در تیمار ۵ درصد فلفل مشاهده شد ($P < 0/05$). بیشترین تعداد گلبول‌های سفید در تیمارهای تغذیه شده با فلفل قرمز در مقایسه با شاهد مشاهده شد. بیشترین درصد لنفوسیت‌ها در تیمار ۵ درصد مشاهده شد. بیشترین میزان فعالیت لیزوزیم، C3 و IgM در تیمار ۵ درصد فلفل مشاهده شد که با سایر تیمارها دارای اختلاف معنی‌دار بود ($P < 0/05$). همچنین میزان C4 در تیمارهای تغذیه شده با فلفل نسبت به تیمار شاهد افزایش معنی‌داری داشت ($P < 0/05$). بطور کلی، مکمل‌سازی جیره غذایی تجاری ماهی قزل‌آلا با ۵ درصد پودر فلفل قرمز تند سبب بهبود عملکرد رشد، بهره‌وری تغذیه و سیستم ایمنی بچه ماهیان قزل‌آلا گردید.

کلمات کلیدی: قزل‌آلای رنگین‌کمان، فلفل قرمز، رشد، شاخص‌های خونی، محرک ایمنی

*نویسنده مسئول

مقدمه

ماهی قزل آلاي رنگين کمان (*Oncorhynchus mykiss*) بومي آمريکاي شمالي بوده و از آمريکا به تمام دنيا معرفي شده است (Behnke, 1992). اين ماهي به عنوان يکي از با ارزش ترين ماهيان اقتصادي آب شيرين و مهمترين گونه سردابي پرورشي در صنعت آبيزي پروري بوده که تلاشها در جهت بهبود شاخصهاي رشد و افزايش قدرت ايمي ني اين ماهي در برابر بيماريهاي عفوني توسط مکملهاي گياهي افزايش فزايندهاي يافته است (Sheikhzadeh et al., 2011). توليد حاصل از آبيزي پروري ماهي قزل آلاي رنگين کمان در جهان حدود ۸۱۲ هزار تن در سال ۲۰۱۷ گزارش شده است (FAO, 2019). صنعت پرورش ماهيان سردابي با توجه به دوره رشد کوتاه و استقبال مصرف کنندگان از آن روبه پيشرفت است بطوريکه ميزان توليد ماهيان سردابي در کشور به حدود ۱۶۸ هزار تن در سال ۱۳۹۵ رسيده است (سالنامه آماري شيلات ايران، ۱۳۹۶). مديريت تغذيه در ماهيان پرورشي از مهمترين مسائل توليد بشمار مي آيد و اغلب بيش از ۵۰ درصد از هزينههاي توليد را تشکيل مي دهد که مي توان با بکار بردن غذاي با کيفيت بالا، قيمت تمام شده توليد را کاهش داد (Rana et al., 2009). اين امر احتمالاً از طريق بالا بردن درصد بقاء، کاهش ضريب تبديل غذايي و کاهش هدر رفت غذا انجام پذير است.

امروزه استفاده از گياهان دارويي عمدتاً به دليل در دسترس بودن و سازگاري با محيط زيست در صنعت آبيزي پروري رواج پيدا نموده است. همچنين با توجه به خواص ضد ميكروبي گياهان اين مواد طبيعي مي توانند به عنوان جايگزين آنتي بيوتيكها از بروز احتمالي مقاومت دارويي در ماهيان جلوگيري نمايند (Soltani et al., 2018). در ماهيان پرورشي گزارشهاي مبني بر اثر مثبت گياهان دارويي بر تحريك سيستم ايمي سلولي و همورال براساس خواص ضد باکتريايي، ضد ويروسي، ضد انگلي و ضد استرسي اين مکملهاي گياهي وجود دارد (Galina et al., 2009). در اين ميان، فلفل قرمز (*Capsicum annum*) سرشار از کاروتنوئيدهاست (Huh et al., 2001) و محصولات آن به صورت تجاري به عنوان ادويه،

رنگ خوراكي، غذاي دام، رنگين کردن زرده تخم مرغ (Santos-Bocanegra et al., 2004; Niu et al., 2008) افزايش رنگ قرمزي گوشت ماهي (Ingle de la Mora et al., 2006) و رنگ گوشت ميگو (Gocer et al., 2006) کاربرد دارند. Parrino و همکاران (۲۰۱۹) اثر روغن فلفل قرمز تند را بر شاخصهاي رشد و پارامترهاي خوني ماهي قزل آلاي رنگين کمان بررسي کردند و بيان کردند استفاده از ۱ درصد روغن فلفل قرمز اثر مثبتي بر عملکرد رشد دارد و سيستم ايمي ذاتي ماهي را بهبود مي بخشد. Yanar و همکاران (۲۰۱۶) اثر سطوح مختلف فلفل قرمز تند و شيرين (*C. annum*) را بر پارامترهاي رنگ پذيري و ارزيايي حسي فيله و همچنين افزايش وزن ماهيان قزل آلاي رنگين کمان بررسي نمودند و بيان کردند صرف نظر از تند يا شيرين بودن فلفل قرمز، اين افزودني گياهي را مي توان به عنوان يک منبع کاروتنوئيد طبيعي در رژيم غذايي بخصوص در سطح ۴/۴ درصد اضافه نمود. Talebi و همکاران (۲۰۱۳) نشان دادند، اکثر فاکتورهاي ايمي سرم، پارامترهاي رشد (افزايش وزن، ضريب تبديل غذايي، شاخص وضعيت و نرخ رشد ويژه) و فراسنجههاي خوني (تعداد سلولهاي خوني، هماتوکريت و هموگلوبين) ماهيان قزل آلاي رنگين کمان تغذيه شده با ۵۵ ميلي گرم فلفل دلمه اي قرمز بر کيلوگرم غذا به طور معني داري بهبود مي يابد. کمالي و همکاران (۱۳۹۷) اثر فلفل قرمز (*C. annum*) و زنجبيل (*Zingiber officinale*) را به صورت مجزا و توام در جيره ماهي اسکار (*Astronotus ocellatus*) بر شاخصهاي رشد و بازماندگي مطالعه کردند و نشان دادند که تيمار تغذيه شده با مقدار ۵۵ ميلي گرم در کيلوگرم فلفل قرمز داراي بهترين عملکرد در فاکتورهاي رشد (شامل: درصد افزايش وزن بدن، رشد ويژه، شاخص وضعيت و ضريب تبديل غذايي) و بيشترين درصد بازماندگي مي باشد.

تحقيقات متعددي درخصوص اثرات مثبت مکمل سازي خوراک آبزبان با پودر فلفل بر شاخصهاي ايمي، بيوشيميايي خون و کيفيت لاشه صورت گرفته است. به طور کلي، هدف از اين پژوهش، افزودن سطوح مختلف پودر فلفل قرمز در جيره غذايي بچه ماهيان قزل آلاي

رنگین کمان و اثرات آن بر فاکتورهای رشد، فراسنجه‌های خونی و برخی پاسخ‌های ایمنی است.

مواد و روش‌ها

محل انجام پروژه و شرایط پرورش

این پژوهش به مدت ۴۵ روز در آزمایشگاه شیلات دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران اجرا شد. در این پژوهش تعداد ۲۴۰ عدد بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان نژاد فرانسوی با میانگین وزن اولیه $15/69 \pm 0/33$ گرم، به مدت ۴۵ روز با جیره غذایی آزمایشی واجد مقادیر مختلف فلفل قرمز تغذیه شده که برای این منظور بچه ماهیان در ۱۲ گروه ۲۰ تایی (شامل ۴ تیمار با سه تکرار) به صورت کاملاً تصادفی در ۱۲ مخزن پلاستیکی (۳۲ لیتر حجم آبگیری) حاوی آب شهری بدون کلر نگهداری شدند. مقادیر دمای آب با دماسنج، اکسیژن محلول و pH بترتیب با دستگاه دیجیتال اندازه‌گیری اکسیژن محلول Aqualytic مدل 15 AL ساخت کشور آلمان و Metrohm مدل 827 Lab ساخت آلمان به صورت روزانه اندازه‌گیری شد. ۲۰ درصد آب مخازن به صورت روزانه با آب هم‌دمای تعویض می‌شد. هوادهی در طول مدت پرورش توسط سنگ هواهای ۲۵ سانتی‌متری چهارطرفه انجام شد. سنگ‌های هواده و فیلترهای داخلی هر ده روز یکبار، با استفاده از محلول آب‌داغ و نمک، جلبک‌زدایی و نظافت می‌گردیدند تا از کاهش راندمان و افت خروجی آنها جلوگیری گردد. کف مخازن آب هر روز به طور کامل سیفون می‌گردید.

آماده‌سازی جیره‌های آزمایشی و تغذیه

پودر فلفل قرمز خالص و بهداشتی از مجتمع صنایع غذایی گلپا تهیه شد (تهران، ایران). جیره غذایی آزمایشی واجد مقادیر مختلف فلفل قرمز شامل ۰ (شاهد)، ۱، ۳ و ۵ درصد فلفل قرمز بود. ماهیان گروه شاهد فقط با جیره پایه (بدون هر گونه ماده افزودنی) خریداری شده از شرکت بیومار فرانسه (پروتئین خام ۵۶ درصد، چربی خام ۱۸ درصد، فیبر خام ۰/۳ درصد، فسفر کل ۱/۷ درصد،

کربوهیدرات ۹ درصد) تغذیه شدند. در دوره آدپتاسیون بچه ماهیان (۱۴ روز) به شرایط جدید ماهیان با جیره شاهد تغذیه شدند. جهت غنی‌سازی جیره پایه (شاهد) با درصد‌های مختلف پودر فلفل به غذا به روش اسپری کردن صورت گرفت. به این صورت که ابتدا میزان ۲ گرم پودر ژلاتین را به ۱۰۰ میلی‌لیتر آب اضافه کرده، پس از حل شدن ژلاتین در آب مقادیر ۱، ۳ و ۵ درصد پودر فلفل قرمز تند به مخلوط اضافه شد. در نهایت پس از حل شدن فلفل قرمز تند، محلول آماده شده بر غذای تجاری اسپری شد. پس از آماده‌سازی هفتگی جیره‌های آزمایشی و تبخیر آب اضافی، جیره‌ها در فریزر ۱۸- درجه سانتی‌گراد تا موقع مصرف نگهداری شدند. شایان ذکر است، جیره شاهد نیز همانند سایر جیره‌های آزمایشی ژلاتین دریافت کرد.

عملکرد رشد

عملیات زیست‌سنجی ماهیان هر دو هفته یکبار پس از بیهوشی با پودر گل‌میخک ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر انجام شد (حسینی‌شکرابی و همکاران، ۱۳۹۸). طول کل و وزن ماهیان مورد آزمایش در روزهای ۰، ۱۵، ۳۰ و ۴۵ مورد سنجش قرار گرفت که در آن، وزن با استفاده از ترازوی دیجیتال KERN مدل PLS 360-2 ساخت آلمان با دقت ۰/۰۱ گرم اندازه‌گیری شد. طول بچه ماهیان نیز به کمک تخته بیومتری دارای یک خط کش با دقت ۱ میلی‌متر اندازه‌گیری شد. درصد افزایش وزن بدن (BWI)، درصد رشد ویژه (SGR)، درصد شاخص وضعیت (CF)، ضریب تبدیل غذایی (FCR) و درصد بازماندگی (SR) با استفاده از روابط ذیل محاسبه شد (Moon and Gatlin, 1994):

$$BWI = 100 \times (\text{وزن اولیه} / \text{وزن اولیه-وزن نهایی})$$

$$SGR = (LnWt - LnW0) / t \times 100$$

$$CF = (BW / TL^3) \times 100$$

$$FCR = \text{مقدار افزایش وزن بدن} / \text{مقدار غذای خشک مصرف}$$

$$SR = 100 \times (\text{تعداد ماهیان اولیه} - \text{تعداد ماهیان مرده}) / \text{تعداد ماهیان اولیه}$$

$$W0 = \text{وزن اولیه (گرم)}, Wt = \text{وزن نهایی (گرم)}, t = \text{تعداد}$$

$$\text{روزهای پرورش (روز)}, BW = \text{وزن نهایی بدن (گرم)} \text{ و } TL =$$

$$= \text{طول کل (سانتی‌متر)}$$

خون گیری و اندازه گیری فراسنجه های خونی

در انتهای دوره آزمایش (روز ۴۵)، غذاهای به مدت ۲۴ ساعت پیش از نمونه گیری قطع شد. ماهیان بیهوش و سپس با حوله خشک شدند و با استفاده از اسکالپل، ساقه دمی آنها قطع شد. از هر مخزن پرورش تعداد ۳ عدد ماهی بصورت تصادفی انتخاب و خون گیری از سیاهرگ دمی با قطع ساقه دمی انجام شد (تعداد ۹ عدد ماهی از هر تیمار) که از هر ماهی ۰/۵ میلی لیتر خون بدست آمده درون لوله های آغشته به ۲۵ میکرولیتر ماده ضد انعقاد خون (هپارین) ریخته و سپس نمونه ها را در داخل ظرف یخ قرار داده و به آزمایشگاه منتقل شدند. نمونه های خون در آزمایشگاه از نظر فراسنجه های خونی مانند شمارش گلبول های سفید (WBC) و قرمز (RBC)، هماتوکریت (HCT) و غلظت هموگلوبین (HB) با استفاده از روش های مرسوم خون شناسی بررسی گردید (Feldman et al., 2000). بطوریکه گلبول های سفید و قرمز با محلول Lewis و لام نئوبار شمارش شد. غلظت هموگلوبین (گرم در دسی لیتر) با استفاده از محلول درابکین با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۴۰ نانومتر با استفاده از منحنی استاندارد اندازه گیری شدند. هماتوکریت با سانتریفیوژ نمونه ها با چرخش ۱۴۰۰ دور در دقیقه توسط خط کش هماتوکریت بر حسب درصد اندازه گیری شدند. گسترش خونی جهت شمارش افتراقی یاخته های سفید خون به روش دو لامی تهیه و با گیمسای ۱۰ درصد رنگ آمیزی شد و برای محاسبه درصد فراوانی یاخته های مونوسیت، نوتروفیل، ائوزینوفیل و لنفوسیت از خون هر ماهی دو اسلاید و از هر اسلاید ۱۰۰ یاخته به روش زیگزاگ شمارش گردید (نراقی و همکاران، ۱۳۹۷).

اندازه گیری پارامترهای ایمنی سرم خون

از هر تیمار ۱۵ عدد ماهی به صورت تصادفی انتخاب و خون گیری از سیاهرگ دمی (هر تکرار ۵ عدد ماهی) شدند. نمونه ها در لوله های فاقد ماده هپارین قرار داده شد تا خون لخته شود. سپس نمونه ها توسط دستگاه میکروسانتریفیوژ با دور ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شده و سرم خونی بدست آمده جهت

شاخص های ایمنی شامل C3 (میلی گرم بر دسی لیتر)، C4 (میلی گرم بر دسی لیتر) و IgM تام سرم (میلی گرم بر دسی لیتر) با استفاده از کیت تجاری شرکت پارس آزمون طب (البرز، ایران) و اتوآنالایزر بیوشیمیایی (Prestige 24i, Tokyo Boeki Ltd., Tokyo, Japan) مورد سنجش صورت پذیرفت (Piedecausa et al., 2007). همچنین فعالیت لیزوزیم سرم بر اساس روش Clerton و همکاران (۲۰۰۱) بر مبنای مقدار لیز باکتری گرم مثبت *Micrococcus luteus* حساس به آنزیم لیزوزیم اندازه گیری شد.

تجزیه و تحلیل آماری

در این تحقیق، هر تیمار واجد سه تکرار بود و نتایج آماری به صورت میانگین $\pm$ خطای استاندارد گزارش شدند. محاسبات آماری با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۱ و ترسیم نمودارها با Microsoft office Excel نسخه ۲۰۱۳ صورت گرفت. جهت تجزیه و تحلیل داده ها و بررسی وجود یا عدم وجود اختلافات معنی دار بین تیمارهای مختلف آزمایش تجزیه واریانس یک طرفه داده ها و در ادامه برای مقایسه میانگین فاکتورهای بررسی شده در تیمارهای مختلف نیز از آزمون چند دامنه دانکن در سطح ۰/۰۵ درصد استفاده شد.

نتایج

عملکرد رشد

بر اساس داده های موجود در جدول ۱، بیشترین میزان افزایش وزن بدن در تیمار ۵ درصد فلفل مشاهده شد که دارای اختلاف معنی دار با گروه شاهد و تیمارهای ۱ و ۳ درصد فلفل بود ($P < 0/05$). همچنین بیشترین میزان نرخ رشد ویژه در تیمار ۵ درصد فلفل مشاهده شد که با سایر گروه ها دارای اختلاف معنی دار بود ($P < 0/05$). کمترین میزان ضریب تبدیل غذایی مربوط به تیمارهای ۱ و ۳ درصد فلفل بود. همچنین شاخص وضعیت بین تیمارها اختلاف معناداری را بین تیمارها نشان نداد ($P > 0/05$). بیشترین میزان بقاء مربوط به تیمارهای ۱ و ۳ درصد فلفل بود و این شاخص در تیمار ۱ و شاهد اختلاف معنی دار نداشت ($P > 0/05$).

جدول ۱: مقایسه میانگین شاخص‌های رشد و میزان بقاء بچه ماهیان قزل آلائی رنگین کمان تغذیه شده با سطوح مختلف پودر فلفل قرمز طی ۴۵ روز.

Table 1: Comparison of average growth indices and survival rate (mean $\pm$ standard deviation) of rainbow trout fry fed different levels of red pepper powder for 45 days.

پارامتر	۰ (شاهد)	۱	۳	۵
وزن اولیه (گرم)	۱۵/۸۰ $\pm$ ۰/۹۵ ^a	۱۵/۲۲ $\pm$ ۰/۷۸ ^a	۱۵/۷۴ $\pm$ ۱/۵۰ ^a	۱۶/۰۰ $\pm$ ۱/۵۳ ^a
وزن نهایی (گرم)	۳۸/۷۴ $\pm$ ۱/۵۳ ^c	۴۱/۰۲ $\pm$ ۳/۹۱ ^b	۴۶/۸۳ $\pm$ ۲/۱۵ ^b	۵۳/۵۸ $\pm$ ۳/۶۷ ^a
افزایش وزن بدن (%)	۱۴۵/۱۸ $\pm$ ۴/۳۸ ^c	۱۶۸/۷ $\pm$ ۷/۵۴ ^b	۱۹۷/۵۱ $\pm$ ۹/۱۳ ^b	۲۳۵/۶ $\pm$ ۷/۲۰ ^a
نرخ رشد ویژه (%)	۱/۵۴ $\pm$ ۰/۲۴ ^c	۱/۹۸ $\pm$ ۰/۲۰ ^b	۲/۲۲ $\pm$ ۰/۱۰ ^b	۲/۶۵ $\pm$ ۰/۱۳ ^a
ضریب تبدیل غذایی (%)	۲/۰۴ $\pm$ ۰/۱۲	۱/۵۶ $\pm$ ۰/۱۲ ^b	۱/۰ $\pm$ ۰/۱۲ ^c	۱/۰ $\pm$ ۰/۱۵ ^c
بقا (%)	۸۳/۱۰ $\pm$ ۰/۳۳ ^b	۸۳/۳۳ $\pm$ ۰/۱۱ ^b	۹۰ $\pm$ ۰/۳۳ ^a	۹۰ $\pm$ ۰/۳۳ ^a
شاخص وضعیت (%)	۰/۹۴ $\pm$ ۰/۷۶ ^a	۱/۰ $\pm$ ۰/۵۶ ^a	۱/۰ $\pm$ ۰/۳۳ ^a	۱/۰ $\pm$ ۰/۴۴ ^a

حروف مختلف در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی دار است ($P < ۰/۰۵$).

فراسنجه‌های خونی

بر اساس داده‌های موجود در جدول ۲، ماهیان تغذیه شده با فلفل تعداد گلبول‌های سفید بیشتری نسبت به گروه شاهد نشان دادند ($P < ۰/۰۵$). همچنین بیشترین میزان گلبول‌های قرمز در تیمار ۳ و ۵ درصد مشاهده شد که با گروه شاهد و تیمار ۱ درصد دارای اختلاف معنی‌دار بود ($P < ۰/۰۵$). بیشترین میزان هماتوکریت در تیمار ۵ درصد فلفل مشاهده شد که با گروه شاهد اختلاف معنی‌دار داشت ($P < ۰/۰۵$). بیشترین تعداد لنفوسیت در تیمار ۵ درصد فلفل مشاهده شد ($P < ۰/۰۵$). همچنین تعداد نوتروفیل در ماهیان تغذیه شده با فلفل نسبت به گروه

شاهد افزایش یافت ($P < ۰/۰۵$). درصد ائوزینوفیل و مونوسیت فاقد اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای آزمایشی بود ($P > ۰/۰۵$).

پاسخ‌های ایمنی سرم

بر اساس داده‌های موجود در جدول ۳، بیشترین میزان فعالیت لیزوزیم، C3 و IgM تام سرم در تیمار ۵ درصد مشاهده شد که با سایر تیمارها دارای اختلاف معنی‌دار بود ($P < ۰/۰۵$). همچنین میزان C4 در تیمارهای تغذیه شده با فلفل نسبت به تیمار شاهد افزایش داشت ($P < ۰/۰۵$).

جدول ۲: مقایسه میانگین شاخص‌های خون بچه ماهیان قزل آلائی رنگین کمان تغذیه شده با مقادیر مختلف پودر فلفل قرمز طی ۴۵ روز.

Table 2: Comparison of average blood parameters (mean $\pm$ standard deviation) of rainbow trout fry fed with different levels of red pepper powder for 45 days.

پارامتر	۰ (شاهد)	۱	۳	۵
گلبول سفید ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	۶۳/۳۳ $\pm$ ۵/۱۶ ^b	۸۲/۶۷ $\pm$ ۱۰/۶۴ ^a	۷۷/۶۶ $\pm$ ۸/۲۹ ^a	۸۰/۶۶ $\pm$ ۸/۷۵ ^a
گلبول قرمز ($\times 10^6/\text{mm}^3$)	۱/۳۳ $\pm$ ۰/۲۰ ^b	۱/۳۰ $\pm$ ۰/۲۹ ^b	۱/۷۲ $\pm$ ۰/۱۵ ^a	۱/۷۱ $\pm$ ۰/۱۸ ^a
هماتوکریت (%)	۳۹/۰۰ $\pm$ ۲/۶۴ ^{ab}	۴۳/۳۳ $\pm$ ۱/۵۲ ^{ab}	۴۶/۶۶ $\pm$ ۱/۱۵ ^b	۴۸/۳۳ $\pm$ ۲/۰۲ ^a
هموگلوبین (g/dl)	۶/۲۰ $\pm$ ۰/۳۰ ^b	۷/۴۰ $\pm$ ۰/۴۰ ^a	۶/۹۶ $\pm$ ۰/۳۰ ^a	۷/۳۰ $\pm$ ۰/۲۶ ^a
لنفوسیت (%)	۶۷/۳۳ $\pm$ ۱/۵۲ ^b	۶۹/۰۰ $\pm$ ۱/۰۰ ^b	۶۸/۶۶ $\pm$ ۰/۵۷ ^b	۷۴/۳۳ $\pm$ ۰/۵۷ ^a
نوتروفیل (%)	۲۱/۳۳ $\pm$ ۱/۵۲ ^b	۲۵/۳۳ $\pm$ ۰/۵۷ ^a	۲۶/۰۰ $\pm$ ۲/۰۰ ^a	۲۵/۳۳ $\pm$ ۰/۵۷ ^a
مونوسیت (%)	۵/۳۳ $\pm$ ۱/۰۰ ^a	۴/۳۳ $\pm$ ۰/۵۷ ^a	۴/۳۳ $\pm$ ۰/۵۷ ^a	۳/۶۶ $\pm$ ۰/۵۷ ^a
ائوزینوفیل (%)	۱/۶۶ $\pm$ ۰/۵۷ ^a	۱/۳۳ $\pm$ ۰/۵۷ ^a	۱/۳۳ $\pm$ ۰/۵۷ ^a	۱/۳۳ $\pm$ ۰/۵۷ ^a

حروف مختلف در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی دار است ($P < ۰/۰۵$; $n=3$).

جدول ۳: مقایسه میانگین شاخص‌های ایمنی بچه ماهیان قزل آلا رنگین کمان تغذیه شده با سطوح مختلف پودر فلفل قرمز طی ۴۵ روز.

Table 3: Comparison of average immune responses (mean $\pm$ standard deviation) of rainbow trout fry fed with different levels of red pepper powder for 45 days.

پارامتر	۰ (شاهد)	۱	۳	۵
لیزوزیم (μg/mL/min)	۱۷/۵۰ $\pm$ ۵۳ ^c	۲۴/۶۶ $\pm$ ۴۶ ^b	۲۳/۶۶ $\pm$ ۵۷ ^b	۳۲/۰۰ $\pm$ ۱۰۵ ^a
IgM سرم (mg/dl)	۲۳/۰۰ $\pm$ ۴۱ ^c	۲۶/۳۳ $\pm$ ۵۷ ^b	۲۸/۰۰ $\pm$ ۵۷ ^b	۳۳/۳۳ $\pm$ ۱۰۰ ^a
C3 (mg/dl)	۱۸/۸۰ $\pm$ ۵۶ ^c	۲۰/۲۶ $\pm$ ۶۴ ^c	۲۲/۰۰ $\pm$ ۱۰۰ ^b	۲۳/۶۶ $\pm$ ۵۷ ^a
C4 (mg/dl)	۷/۵۰ $\pm$ ۰۷ ^b	۱۰/۵۰ $\pm$ ۵۰ ^a	۱۱/۵۰ $\pm$ ۵۰ ^a	۱۰/۵۰ $\pm$ ۵۷ ^a

حروف مختلف در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی دار است (P<۰/۰۵؛ Δ=n).

بحث

در این مطالعه اکثر پارامترهای اندازه‌گیری شده در بچه ماهیان قزل آلا تغذیه شده با سطوح مختلف پودر فلفل قرمز تند بخصوص سطح ۵ درصد نسبت به گروه شاهد، وضعیت مطلوب‌تری داشت بطوریکه پودر فلفل توانست مانند یک ماده محرک رشد و ایمنی در بچه ماهیان نقش ایفاء نماید. درحقیقت فلفل قرمز علاوه بر غنی بودن از انواع ویتامین‌های A و C و داشتن خاصیت آنتی اکسیدانی و دارا بودن مقادیر قابل توجهی از کاروتنوئیدها و ماده مؤثره کپسایسین (عامل تندی فلفل) می‌تواند سبب بهبود عملکرد رشد، ایمنی ذاتی، اختصاصی و سایر کارکردهای فیزیولوژیک گردد (Sim and Sil, 2008; Srinivasan, 2016). باتوجه به نتایج رشد در این مطالعه، بیشترین میزان افزایش وزن بدن و نرخ رشد ویژه در تیمار ۵ درصد فلفل مشاهده شد. Talebi و همکاران (۲۰۱۳) اثر فلفل دلمه قرمز را بر پارامترهای رشد، فراسنجه‌های خونی و رنگ‌پذیری فیله ماهی قزل‌آلای رنگین کمان بررسی کردند و به این نتیجه رسیدند که بالاترین مقدار افزایش وزن در تیمار تغذیه شده با ۵۵ میلی‌گرم فلفل دلمه قرمز در کیلوگرم غذا بود. همچنین Yanar و همکاران (۲۰۰۷) به بررسی اثر فلفل قرمز بر شاخص‌های رشد ماهی قزل‌آلای رنگین کمان به مدت ۸۰ روز پرداختند و ثابت کردند که تیمار تغذیه شده با ۴/۴ درصد فلفل قرمز بیشترین وزن را بخود اختصاص داد که با نتایج این تحقیق همسو بود. Parrion و همکاران (۲۰۱۹) به بررسی اثر روغن فلفل قرمز بر شاخص‌های

رشد و پارامترهای خونی قزل‌آلای رنگین کمان پرداختند و اثبات کردند که بیشترین درصد افزایش وزن و کمترین ضریب تبدیل غذایی در تیمار تغذیه شده با ۴ درصد فلفل قرمز حاصل گردید. طبق نتایج حاصل از این تحقیق بیشترین درصد بقاء در تیمارهای ۳ و ۵ درصد فلفل مشاهده شد که با گروه شاهد دارای اختلاف معنی‌داری بود. کارتنوئیدها به عنوان یکی از ترکیبات غالب موجود در فلفل در فرایندهای فیزیولوژیک ماهیان سبب بهبود و تحریک عملکرد رشد (Torrissen, 1984; Torrissen et al., 1989; Segner et al., 1989), افزایش بقاء و سیستم ایمنی (Torrissen, and Christiansen, 1995) می‌شود.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که مصرف پودر فلفل قرمز تند سبب افزایش بازماندگی گردید. بیشترین میزان بقاء مربوط به تیمارهای ۳ و ۵ درصد فلفل بود. همسو با نتایج این مطالعه، Talebi و همکاران (۲۰۱۳) نشان دادند شاخص بقاء در ماهیان قزل آلا از ۹۱/۳۳ درصد در تیمار شاهد به ۹۷/۳۳ درصد در تیمار تغذیه شده با ۵۵ میلی‌گرم پودر فلفل دلمه‌ای قرمز افزایش یافت. تأثیر پودر فلفل قرمز تند بر شاخص‌های خونی، نشان از افزایش تعداد گلبول‌های سفید و قرمز خون نسبت به گروه شاهد داشت. احتمالاً مواد زیست فعال موجود در فلفل قرمز با تحریک سیستم ایمنی زمینه را برای افزایش آمادگی بدن ماهی در برابر تغییرات فاکتورهای محیطی و استرس مهیا نموده و این آمادگی سبب تحریک تولید گلبول‌های سفید و قرمز و در نهایت افزایش درصد

قزل‌آلای رنگین کمان شد. پیشنهاد می‌شود سایر آزمایش‌های تکمیلی مانند مطالعه جمعیت فلور میکروبی روده و کیفیت لاشه روی ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان تغذیه شده با جیره‌های حاوی پودر فلفل قرمز در تحقیقات آینده انجام گردد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان بدین وسیله از زحمات پرسنل محترم مجتمع آزمایشگاهی رازی بخصوص آزمایشگاه شیلات دانشگاه علوم و تحقیقات (تهران، ایران) سپاسگزاری می‌نمایند.

منابع

سالنامه آماری شیلات ایران، ۱۳۹۶. دفتر برنامه ریزی گروه آمار و مطالعات توسعه شیلاتی، سالنامه آماری سازمان شیلات ایران، ۷۳ ص.

کمالی، م.، جرجانی، س.، قلیچی، ا. و کمالی، م.، ۱۳۹۷. تأثیر فلفل قرمز و زنجبیل بر شاخص‌های رشد، تغذیه، بازماندگی و ترکیب لاشه ماهی اسکار (*Astronotus ocellatus*)، نشریه توسعه آبی پروری، ۱۲(۴)، ۱۰۷-۱۲۰.

نراقی، م.، شمسایی مهرجان، م.، رجبی اسلامی، ه. و حسینی شکرابی، س. پ.، ۱۳۹۷. تأثیر مکمل‌سازی رژیم غذایی با پودر جلبک نانوکروپسیس (*Nannochloropsis oculata*) بر برخی شاخص‌های خونی بچه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان. مجله علمی شیلات ایران، ۲۷ (۶)، ۱۰۵-۱۱۳. Doi: 10.22092/ISFJ.2019.118400

حسینی شکرابی، س. پ.، سیدبیژن، س. ع.، شمسایی مهرجان، م.، سیدالحسینی س. ه. و منوچهری، ح.، ۱۳۹۸. تأثیر سطوح مختلف ترکیب اسیدهای آلی خوراکی بر برخی شاخص‌های رشد و ترکیبات لاشه بچه ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). مجله علمی شیلات ایران، ۲۸ (۴)، ۳۵-۴۳. Doi: 10.22092/ISFJ.2019.119410

بازماندگی می‌شوند (Maniat et al., 2014). Talebi و همکاران (۲۰۱۳) نشان دادند که ماهیان تغذیه شده با ۵۵ میلی‌گرم در کیلوگرم فلفل دلمه‌ای قرمز تعداد گلبول‌های سفید و قرمز بیشتری نسبت به گروه شاهد داشتند که با توجه به اینکه فلفل دلمه‌ای همانند فلفل قرمز تند مورد استفاده در تحقیق حاضر هردو جزء گیاهان خانواده بادنجانیان (Solanaceae) هستند، می‌توان این نتایج را با نتایج تحقیق حاضر مرتبط و همسو دانست. بیشترین میزان هماتوکریت در تیمار ۵ درصد فلفل مشاهده شد که با نتایج Talebi و همکاران (۲۰۱۳) که بیشترین میزان هماتوکریت را در تیمار تغذیه شده با ۵۵ میلی‌گرم در کیلوگرم فلفل قرمز گزارش کرده بودند، همسو بود.

بیشترین میزان فعالیت لیزوزیم، C3 و IgM تام سرم در تیمار ۵ درصد فلفل مشاهده شد. اثبات شده برخی ترکیبات موجود در فلفل قرمز مثل کارتنوئیدها و سایر ترکیبات زیست فعال سبب ارتقاء عملکرد رشد و سیستم ایمنی ماهیان می‌شوند (Rahman et al., 2016). Talebi و همکاران (۲۰۱۳) نشان دادند که بیشترین میزان فعالیت IgM در تیمار تغذیه شده با ۵۵ میلی‌گرم در کیلوگرم فلفل دلمه‌ای قرمز در کیلوگرم غذا بود. در واقع، ماده مؤثره کپسایسین در فلفل قرمز تند، خاصیت آنتی اکسیدانی بالایی دارد که سلول‌ها را از آسیب مولکول‌های رادیکال آزاد محافظت می‌کند و همچنین از خاصیت ضد باکتریایی قوی با طیف وسیعی نیز برخوردار است (Srinivasan, 2016) که سبب می‌شود فلفل قرمز به عنوان یک محرک سیستم ایمنی در بدن موجود ایفاء نقش نماید.

استفاده از مکمل‌های گیاهی مؤثر سبب ارتقاء شاخص‌های رشد و ایمنی آبزیان در صنعت آبی‌پروری پایدار می‌شود. همچنین این مواد طبیعی نسبت به مواد شیمیایی سنتتیک و آنتی‌بیوتیک‌ها که اکثراً مخاطره‌آمیز برای محیط زیست و سلامت مصرف‌کننده هستند، توصیه می‌گردد. نتایج حاصل از این تحقیق حاکی از آن بود که استفاده از فلفل قرمز تند بویژه در سطح ۵ درصد جیره منجر به افزایش قابل توجه فاکتورهای ایمنی و نیز افزایش محسوس میزان بقاء و اکثر فاکتورهای رشد بچه ماهیان

- Behnke, R.J., 1992.** Native trout of western North America. Bethesda, MD: American Fisheries Society Monograph, USA, 275 P.
- Clerton, P., Troutaud, D., Verlhac, V., Gabaudan, J. and Deschaux, P., 2001.** Dietary vitamin E and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) phagocyte functions: effect on gut and on head kidney leucocytes. *Fish and Shellfish Immunology*, 11(1), 1-13. Doi: 10.1006/fsim.2000.0287
- FAO., 2019.** Fishery and Aquaculture Statistics yearbook. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome, Italy, 80 P.
- Feldman, B.F., Zinkl, J.G. and Gian, N.C., 2000.** Schalm's veterinary hematology. Lippincott Williams & Wilkins publication, Philadelphia. USA.
- Galina, J., Yin, G., Ardo, L. and Jeney, Z., 2009.** The use of immunostimulating herbs in fish. An overview of research. *Fish Physiology and Biochemistry*, 35(4), 669-676. Doi: 10.1007/s10695-009-9304-z
- Gocer, M., Yanar, M., Kumlu, M. and Yanar, Y., 2006.** The effects of red pepper, marigold flower, and synthetic astaxanthin on pigmentation, growth, and proximate composition of *Penaeus semisulcatus*. *Turkish Journal of Veterinary Animal Science*, 30(4), 359-365.
- Huh, J.H., Kang, B.C., Nahm, S.H., Kim, S., Ha, K.S., Lee, M.H. and Kim, B.D., 2001.** A candidate gene approach identified phytoene synthase as the locus for mature fruit color in red pepper (*Capsicum spp.*). *Theoretical and Applied Genetics*, 102(4), 524-530. Doi: 10.1007/s001220051677
- Ingle de la Mora, G., Arredondo-Figueroa, J.L., Ponce-Palafox, J.T., Barriga-Soca, I.D.A. and Vernon-Carter, J. E., 2006.** Comparison of red chili (*Capsicum annum*) oleoresin and astaxanthin on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillet pigmentation. *Aquaculture*, 258(1-4), 487-495. Doi: 10.1016/j.aquaculture.2006.04.005
- Maniat, M., Ghotbeddin, N., Ghatrami, E. and Azaram, H., 2014.** Effect of different levels of paprika on some growth factors, survival and biochemical body composition of benni fish (*Mesopotamichtys sharpey*). *Academic Journal of Science*, 3, 223-229.
- Moon, H.Y.L. and Gatlin, D.M., 1994.** Effects of dietary animal proteins on growth and body composition of the red drum (*Sciaenops ocellatus*). *Aquaculture*, 120(3-4), 327-340. Doi: 10.1016/0044-8486(94)90089-2
- Niu, Z., Fu, J., Gao, Y. and Liu, F., 2008.** Influence of paprika extract supplement on egg quality of laying hens fed wheat-based diet. *International Journal of Poultry Science*, 7(9), 887-889. Doi: 10.3923/ijps.2008.887.889

- Parrino, V., Kesbiç, O.S., Acar, Ü. and Fazio, F., 2019.** Hot pepper (*Capsicum* sp.) oil and its effects on growth performance and blood parameters in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Natural Product Research*, 19, 1-5. Doi: 10.1080/14786419.2018.1550769
- Piedecausa, M.A., Mazón, M.J., García, B.G. and Hernández, M.D., 2007.** Effects of total replacement of fish oil by vegetable oils in the diets of sharpsnout seabream (*Diplodus puntazzo*). *Aquaculture*, 263(1-4), 211-219. Doi: 10.1016/j.aquaculture.2006.09.039
- Rahman, M.M., Khosravi, S., Chang, K.H. and Lee, S.M., 2016.** Effects of dietary inclusion of astaxanthin on growth, muscle pigmentation and antioxidant capacity of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Preventive Nutrition and Food Science*, 21(3), 281-293.
- Rana, K.J., Siriwardena, S. and Hasan, M.R., 2009.** Impact of rising feed ingredient prices on aquafeeds and aquaculture production (No. 541). Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). Rome, Italy.
- Santos-Bocanegra, E., Ospina-Osorio, X. and Oviedo-Rondon, E.O., 2004.** Evaluation of xanthophylls extracted from *Tagetes erectus* (marigold flower) and *Capsicum* (red pepper paprika) as a pigment for egg yolks compared with synthetic pigments. *International Journal of Poultry Science*, 3(11), 685-689. Doi: 10.3923/ijps.2004.685.689
- Segner, H., Arend, P., Von Poeppinghausen, K. and Schmidt, H., 1989.** The effect of feeding astaxanthin to *Oreochromis niloticus* and *Colisa labiosa* on the histology of the liver. *Aquaculture*, 79, 381-390. Doi: 10.1016/0044-8486(89)90480-8
- Sheikhzadeh, N., Nofouzi, K., Delazar, A. and Oushani, A.K., 2011.** Immunomodulatory effects of decaffeinated green tea (*Camellia sinensis*) on the immune system of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish and Shellfish Immunology*, 31(6), 1268-1269. Doi: 10.1016/j.fsi.2011.09.010
- Sim, K.H. and Sil, H.Y., 2008.** Antioxidant activities of red pepper (*Capsicum annuum*) pericarp and seed extracts. *International Journal of Food Science and Technology*, 43(10), 1813-1823.
- Soltani, M., Lymbery, A., Song, S.K. and Hosseini Shekarabi, S.P., 2019.** Adjuvant effects of medicinal herbs and probiotics for fish vaccines. *Reviews in Aquaculture*, 11(4), 1325-1341. Doi: 10.1111/raq.12295
- Srinivasan, K., 2016.** Biological activities of red pepper (*Capsicum annuum*) and its

- pungent principle capsaicin: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56(9), 1488-1500. Doi: 10.1080/10408398.2013.772090
- Talebi, M., Khara, H., Zoriehzahra, J., Ghobadi, S., Khodabandelo, A. and Mirrasooli, E., 2013.** Study on effect of red bell pepper on growth, pigmentation and blood factors of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *World Journal of Zoology*, 8 (1), 17-23.
- Torrissen, O.J., 1984.** Pigmentation of salmonids-effect of carotenoids in eggs and start-feeding diet on survival and growth rate. *Aquaculture*, 43, 185-193. Doi: 10.1016/0044-8486(84)90021-8
- Torrissen, O.J., Hardy, R.W. and Shearer, K.D., 1989.** Pigmentation of salmonids-carotenoid deposition and metabolism. *Review of Aquatic Sciences*, 1, 209-225. Doi: 10.1016/0044-8486(89)90478-X
- Torrissen, O.J. and Christiansen, R., 1995.** Requirements for carotenoids in fish diets. *Journal of Applied Ichthyology*, 11(3-4), 225-230. Doi: 0.1111/j.1439-0426.1995.tb00022.x
- Torrissen, O.J., Hardy, R.W., Shearer, K.D., Scott, T.M. and Stone, F.E., 1996.** Effect of dietary lipid on apparent digestibility coefficients for canthaxanthin in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 88 (3-4), 351-362. Doi: 10.1016/0044-8486(90)90160-O
- Yanar, M., Büyükçapar, H.M. and Yanar, Y., 2016.** Effects of hot and sweet red peppers (*Capsicum annuum*) as feed supplements on pigmentation, sensory properties and weight gain of rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*). *Annals of Animal Science*, 16(3), 825-834. Doi: 10.1515/aoas-2016-0011
- Yanar, Y., Büyükçapar, H., Yanar, M. and Göcer, M., 2007.** Effect of carotenoids from red pepper and marigold flower on pigmentation, sensory properties and fatty acid composition of rainbow trout. *Food Chemistry*, 100(1), 326-330. Doi: 10.1016/j.foodchem.2005.09.056

Effect of dietary supplementation of red chili pepper (*Capsicum annuum*) powder on growth parameters, survival rate, hematological indices and some immunity responses of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fry

Shamsaie Mehrgan M.¹; Hosseini Shekarabi S.P.^{1*}; Mahjob Zardest M.M.¹; Mohammado N.¹

1- Department of Fisheries Science, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

*hosseini@srbiau.ac.ir

*hosseini.pezhman@yahoo.com

Abstract

To investigate the effect of red spicy pepper on growth, blood parameters and immune responses of rainbow trout, 240 fingerlings (mean weight 15.69 ± 0.33 g) were randomly distributed into 12 tanks (20 individuals per tank) and they were fed with 0, 1, 3, and 5% red chili pepper (*Capsicum annuum*) powder in their diet (each with three replicates) for 45 days. The results of growth indices showed that the highest level of body weight gain and specific growth rate were observed in 5% treatment compared to the other treatments ($P < 0.05$). The lowest value of the feed conversion ratio was observed in treatments fed 3% and 5% red pepper. In addition, no significant differences were observed in the condition factor among the treatments ($P < 0.05$). The highest survival rate was observed in 3% and 5% pepper treatments and this index was not significantly different between the treatment 1 and control ($P < 0.05$). The highest number of red blood cells was observed in 3 and 5% treatments ($P < 0.05$). The highest percentage of hematocrit was observed in 5% pepper treatment ($P < 0.05$). The highest white blood cell was related to the fish fed with red pepper-supplemented diets compared to the control group. The highest percentage of lymphocytes was observed in 5% pepper treatment. The highest levels of lysozyme activity, C3, and IgM were observed in 5% pepper treatment, which was significantly different from other treatments ($P < 0.05$). Also, C4 level significantly increased in the pepper-fed treatments ($P < 0.05$). Overall, supplementing rainbow trout diet with 5% spicy red pepper powder improved growth performance, nutrition efficiency and immune system of rainbow trout fry.

Keywords: Blood indices, Growth, Immunostimulant, *Oncorhynchus mykiss*, Red pepper

*Corresponding author