

مقاله علمی - پژوهشی:

تأثیر سطوح مختلف عصاره گیاه آقطی (*Sambucus ebulus*) بر عملکرد رشد و پاسخ‌های ایمنی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

سیدپژمان حسینی شکرابی^۱، شهروز شاه‌رکنی^۱، کاوس نظری^۲، مهدی شمسایی مهرجان*^۱، سعید توتونچی مشهور^۳

*m.shamsaie@srbiau.ac.ir

- ۱- گروه شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران
- ۲- مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان تهران، سازمان تحقیقات و آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران
- ۳- مجتمع آزمایشگاهی زکریای رازی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران

تاریخ پذیرش: آبان ۱۳۹۹

تاریخ دریافت: تیر ۱۳۹۹

چکیده

این مطالعه به منظور بررسی تأثیر سطوح مختلف عصاره گیاه آقطی بر شاخص‌های رشد و ایمنی سرم در ماهیان کپور معمولی انجام شد. برای این منظور ماهیان با میانگین وزنی $15/1 \pm 0/3$ گرم با سطوح مختلف عصاره آقطی شامل: سطح ۰ (شاهد)، ۲/۵، ۵ و ۱۰ گرم عصاره در کیلوگرم خوراک در ۱۲ و نیرو فایبرگلاس با تراکم ۳۰ عدد ماهی طی مدت ۵۶ روز غذادهی شدند. بر اساس نتایج رشد، میزان وزن نهایی ($32/7 \pm 0/7$ گرم)، وزن کسب شده ($17/5 \pm 0/5$ گرم)، درصد افزایش وزن ($115/4 \pm 1/9$)، نرخ رشد ویژه ($0/98 \pm 0/04$ گرم/روز)، ضریب تبدیل غذایی ($2/31 \pm 0/05$)، شاخص وضعیت ($1/47 \pm 0/04$) و ضریب کارایی پروتئین ($1/03 \pm 0/08$) در تیمار ۱۰ گرم عصاره آقطی در کیلوگرم خوراک نسبت به سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری نشان داد ($p < 0/05$). همچنین اختلاف معنی‌دار در درصد بازماندگی بین تیمار ۱۰ گرم عصاره آقطی کیلوگرم خوراک با سایر تیمارهای آزمایشی به‌ویژه تیمار شاهد وجود داشت ($p < 0/05$). نتایج برخی فاکتورهای ایمنی سرم نشان داد که اختلاف معناداری در میزان فعالیت لایزوزیم ($46/2 \pm 1/7$ واحد بین المللی/میلی‌لیتر)، فعالیت همولیتیک مسیر فرعی کمپلمان ($66/0 \pm 5/8$ میلی‌گرم/دسی‌لیتر) و ایمونوگلوبولین نوع M ($38/1 \pm 0/5$ میلی‌گرم/دسی‌لیتر)، در سرم تیمار ۱۰ گرم عصاره آقطی بر کیلوگرم خوراک با سایر تیمارهای آزمایشی وجود داشت ($p < 0/05$). در مجموع، تأثیر سطوح مختلف عصاره گیاه آقطی به‌ویژه سطح ۱۰ گرم عصاره در کیلوگرم خوراک بر شاخص‌های رشد، نرخ بازماندگی و شاخص‌های ایمنی بچه ماهی کپور معمولی کاملاً مثبت ارزیابی شد.

لغات کلیدی: عصاره آقطی، ماهی کپور معمولی، رشد، بازماندگی، شاخص‌های ایمنی

*نویسنده مسئول

مقدمه

در سال‌های اخیر آبی‌پروری یکی از بخش‌های مؤثر در تولید غذا بوده و از چند دهه گذشته نیز به سرعت به یک صنعت پویا و رو به رشد تبدیل شده است. ولی در کنار این رشد قابل توجه، همواره با مشکلاتی روبرو بوده است که از جمله آنها می‌توان به تغییرات کیفیت آب، شیوع بیماری‌ها و مشکلات تغذیه‌ای اشاره نمود (Adel et al., 2016). رشد سریع، بهبود کارایی تغذیه و عملکرد رشد و افزایش مقاومت آبزیان در برابر بیماری‌ها از جمله اهداف مهم صنعت آبی‌پروری محسوب می‌شوند (Soltani et al., 2019).

مقاومت دارویی میکروارگانیسم‌ها که ناشی از مصرف بی‌رویه افراد غیر متخصص از داروها، خود درمانی و تجویز آنتی بیوتیک می‌باشد، یکی از معضلات مهم صنعت آبی‌پروری می‌باشد (Dugenci et al., 2003). عدم موفقیت در درمان بسیاری از بیماری‌های مزمن و حاد، اثرات جانبی مضر داروهای شیمیایی و آنتی‌بیوتیک‌ها و مقاومت روز افزون باکتری‌های مختلف در برابر برخی از داروها به‌ویژه آنتی‌بیوتیک‌های رایج، گرایش محققین را نسبت به مطالعه در زمینه استفاده از محرک‌های ایمنی با منشأ گیاهی به دلیل در دسترس‌تر بودن، خطرات کمتر برای محیط زیست و آبی و نیز قیمت پایین‌تر افزایش داده است (Dugenci et al., 2003). این مکمل‌های خوراکی علاوه بر بهبود شاخص‌های رشد، منجر به تحریک سیستم ایمنی غیر اختصاصی، افزایش تحمل استرس‌های محیطی و مقاومت در برابر برخی بیماری‌های عفونی آبزیان می‌گردند که همه این عوامل در نهایت منجر به اقتصادی‌تر شدن تولید آبزیان پرورشی می‌گردد (شمسایی مهرجان و همکاران، ۱۳۹۹).

گیاه آقطی (*Sambucus ebulus L*) متعلق به تیره Caprifoliaceae، گیاهی علفی است که در نواحی شمالی ایران به وفور یافت می‌شود و به ارتفاع ۱۵۰-۵۰ سانتی‌متر می‌رسد. این گیاه دارای ریزوم‌های سفید رنگ رونده است، ساقه‌های آن راست و برگ‌های آن متقابل هستند (آزادبخت، ۱۳۷۸). این گیاه دارای خواص ملین، ضد ویروس، ضد التهاب و مؤثر در بهبود علائم سرماخوردگی،

کمک به پیشگیری از آب مروارید می‌باشد (Meric et al., 2014). همچنین این گیاه دارای اثرات آنتی اکسیدانی، ضد سرطانی، ضد ویروسی به‌خصوص علیه ویروس آنفولانزا، تقویت‌دهنده سیستم ایمنی و کاهنده علائم تب و سرماخوردگی می‌باشد (Ghesmati, 2007). تاکنون اثرات گیاه آقطی به عنوان تقویت کننده سیستم ایمنی در ماهی قزل آلا به اثبات رسیده است (Ghiasi et al., 2018). با این وجود تاکنون پژوهشی در خصوص تأثیر استفاده از این گیاه در جیره غذایی ماهی کپور معمولی صورت نگرفته است. گونه مورد مطالعه در این تحقیق، ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) است که از گونه‌های پرورشی رایج در دنیا و از جمله ایران می‌باشد. این ماهی در سال ۲۰۱۶ از نظر میزان تولید با ۳ میلیون تن رتبه هفتم را در بین آبزیان پرورشی در سطح دنیا به‌خود اختصاص داده است (FAO, 2016). لذا، در مطالعه حاضر تأثیر سطوح مختلف عصاره آقطی بر شاخص‌های رشد و برخی پارامترهای ایمنی سرم بچه ماهی کپور معمولی مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش کار

این تحقیق در یک دوره ۸ هفته‌ای در تابستان سال ۱۳۹۸ در مزرعه شرکت آبی اکسیر کوثر واقع در احمدآباد مستوفی انجام پذیرفت. در ابتدای آزمایش و به منظور سازگاری ماهیان با شرایط جدید پرورشی، تعداد ۳۶۰ عدد ماهی کپور معمولی با میانگین وزنی $15/1 \pm 0/3$ گرم در ۱۲ ونیرو فایبرگلاس (هر ونیرو شامل ۳۰ عدد ماهی) با شرایط یکسان از نظر حجم آب‌گیری (۶۵۰ لیتر)، دبی (۲۰ لیتر بر دقیقه) و فاکتورهای کمی و کیفی مشابه به صورت تصادفی توزیع شدند. میانگین شاخص‌های فیزیولوژیکی آب طی دوره پرورش شامل: دما 18 ± 2 سانتی‌گراد، اکسیژن محلول به صورت اشباع، $7/5-7$ pH، سختی آب $286 \pm 1/2$ میلی‌گرم بر لیتر کربنات کلسیم بود.

تهیه گیاه آفتی و عصاره گیری

گیاه آفتی بعد از جمع‌آوری به میزان مورد نظر از رویشگاه‌های طبیعی استان مازندران جمع‌آوری و پس از جداسازی بخش میوه این گیاه، بخش‌های هوایی آن (برگ و ساقه) در دمای اتاق (۲۵ درجه سانتی‌گراد) به مدت ۴۸ ساعت خشک شدند و سپس با دستگاه آسیاب برقی کاملاً خرد و در نهایت از الک ۰/۵ میکرون عبور داده شدند تا پودر حاصله کاملاً یکنواخت و یک‌دست گردید. عصاره‌گیری طبق روش Hajdú و همکاران (۲۰۰۷) صورت پذیرفت. عصاره اولیه به‌دست آمده در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد، تحت خلاء و به مدت ۶ ساعت به‌وسیله دستگاه تبخیر دورانی تغلیظ شده و تا زمان استفاده در یخچال نگهداری شد.

آماده سازی جیره

پس از سازگاری ماهیان با شرایط جدید پرورشی (دوره ۱۰ روزه همراه با غذاهای با جیره پایه)، ماهیان به مدت ۸ هفته با غذای تجاری (کارخانه خوراک کیمیاگران تغذیه، شهرکرد) حاوی عصاره تغذیه شدند. آنالیز ترکیبات تقریبی جیره پایه برای پارامترهای پروتئین خام، چربی، خاکستر و رطوبت به ترتیب برابر $۳۸/۶ \pm ۰/۷$ ، $۹/۰ \pm ۰/۸$ ، $۴/۵ \pm ۰/۳$ و $۸/۱ \pm ۱/۲$ درصد در وزن خشک بود. در این بررسی عصاره گیاه آفتی در تیمارهای مختلف با غلظت‌های صفر (شاهد)، ۲/۵، ۵ و ۱۰ گرم عصاره در کیلوگرم خوراک به جیره پایه پلت شده با استفاده از

ژلاتین بایندر اسپری شد و به صورت یکنواخت و همگن با جیره پایه مخلوط گردید. میزان غذای روزانه بچه ماهیان ۲-۳ درصد وزن بدن براساس جدول غذادهی ماهی کپور معمولی در دمای مورد نظر تعیین شد و ماهیان به مدت ۸ هفته و ۳ بار در روز (۸:۰۰، ۱۳:۰۰ و ۱۸:۰۰) با جیره‌های منتخب، تغذیه شدند. این بررسی در قالب یک طرح کاملاً تصادفی انجام شد و برای هر تیمار ۳ تکرار در نظر گرفته شد. طی دوره، هر روز مدفوع و سایر مواد باقی‌مانده از کف حوضچه‌ها سیفون و حدود ۳۰ درصد آب هر ونیرو تعویض شد.

شاخص‌های رشد

به منظور ارزیابی تأثیر سطوح مختلف عصاره آفتی بر شاخص‌های رشد بچه ماهیان کپور معمولی و مقایسه بین تیمارهای مختلف، به فاصله زمانی ۱۵ روز یکبار وزن ماهیان هر تیمار با ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم و با خط کش با دقت ۱ میلی متر بیومتری شدند (به این منظور ۲۴ ساعت قبل از زیست سنجی، تغذیه ماهیان قطع شد و قبل از زیست سنجی ماهیان با محلول پودر گل میخک (۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر) بیهوش شدند (Azarm et al., 2012). در این بررسی، نمونه برداری‌ها به طور کاملاً تصادفی و از ۵۰ درصد جمعیت هر تکرار انجام شد. در این مطالعه، شاخص‌های رشد ماهیان و درصد بازماندگی طبق روابط ذیل محاسبه گردید:

$$100 \times \left\{ \frac{\text{گرم وزن اولیه} - \text{گرم وزن نهایی}}{\text{گرم وزن اولیه}} \right\} = \text{افزایش وزن بدن (درصد)}$$

$$\text{گرم وزن اولیه} - \text{گرم وزن نهایی} = \text{وزن اکتسابی (گرم)}$$

$$100 \times \left\{ \frac{\text{تعداد روز پرورش} / (\text{لگاریتم طبیعی وزن نهایی} - \text{لگاریتم طبیعی وزن اولیه})}{\text{وزن اکتسابی (گرم)} / \text{غذای خورده شده (گرم)}} \right\} = \text{شاخص رشد ویژه}$$

$$\text{وزن اکتسابی (گرم)} / \text{غذای خورده شده (گرم)} = \text{ضریب تبدیل غذایی}$$

$$\text{(گرم)} = \left\{ \frac{\text{فاکتور یا ضریب چاقی وضعیت} \times 100}{\text{طول کل ماهی (سانتی‌متر)}} \right\} / \text{وزن نهایی ماهی}$$

$$\text{مقدار پروتئین خورده شده (گرم)} / \text{وزن اکتسابی (گرم)} = \text{نسبت کارایی پروتئین}$$

و در پایان دوره درصد بقاء با استفاده از فرمول ذیل محاسبه شد (Giménez et al., 2006):

به منظور اندازه گیری درصد بازماندگی در ماهی کپور معمولی تعداد تلفات ماهیان، به صورت روزانه ثبت گردید

$$100 \times (\text{تعداد ماهیان در شروع آزمایش} / \text{تعداد ماهیان موجود در پایان آزمایش}) = \text{درصد بازماندگی}$$

نمونه برداری و خون گیری

در انتهای دوره آزمایش، به منظور ارزیابی تأثیر سطوح مختلف عصاره آقطی بر برخی شاخص‌های ایمنی بچه ماهیان کپور معمولی و مقایسه بین تیمارهای مختلف، ماهیان ابتدا با محلول اوژنول (عصاره گل میخک با غلظت ۱۵۰ میلی گرم در لیتر) بیهوش شدند. از هر تیمار ۲۴ نمونه (هر تکرار ۸ نمونه) خون از ورید ساقه دمی ماهیان با قطع ساقه دمی اخذ گردید. مقدار ۱ میلی لیتر خون به ظروف فاقد ماده ضد انعقاد هپارین جهت اندازه گیری شاخص‌های ایمنی سرم منتقل گردید. سپس با استفاده از دستگاه سانتریفوژ با ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نمونه‌های سرم جدا و تا زمان انجام آزمایش‌های بعدی در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (Feldman et al., 2000).

اندازه گیری میزان IgM به وسیله دستگاه بیوشیمیایی اتوانالایزر دانشگاه علوم و تحقیقات (Prestige 24i, Tokyo Boeki Medical System, Japan) و با استفاده از کیت‌های آزمایشگاهی شرکت پارس آزمون (تهران، ایران) به روش فتومتریک (Rashmei et al., 2020) انجام گرفت.

فعالیت ACH50 بر اساس روش هیدرولیز گلبول‌های قرمز خرگوش با روش THCA Assay, Yano (۱۹۹۲) اندازه گیری شد. برای محاسبه میزان فعالیت ACH50 با استفاده از کاغذ شطرنجی (Log-Log Graph) منحنی لیز رسم شد. طبق تعریف حجمی از سرم که سبب ۵۰ درصد همولیز شود، عبارت است از فعالیت کمپلمان نمونه و از معادله (برابری) ذیل جهت محاسبه آن استفاده گردید:

$$ACH50 = K \times (\text{فاکتور رقت})^{0.5}$$

K، مقداری از سرم (میلی لیتر) که موجب ۵۰ درصد همولیز می‌شود، ۰/۵ عدد ثابت بوده و فاکتور رقت در این آزمایش ۰/۱ می‌باشد چون سرم ۱۰۰ مرتبه رقیق شده بود.

برای تعیین میزان فعالیت لایزوزیم سرم از روش Ellis (۱۹۹۰) با مختصر تغییرات استفاده شد. بدین منظور، ۲۵ میکرولیتر سرم با ۷۵۰ میکروگرم در میلی لیتر باکتری

Micrococcus lysodeikticus لئو فیلیزه (سیگما، آلمان) تهیه شده در بافر فسفات سیترات ۰/۱ مولار، ۸/۵ pH= در گوده‌های پلیت الیزای ۹۶ خانه‌ای مخلوط گردید. جذب نوری در طول موج ۴۵۰ نانومتر در چهار و نه دقیقه بعد قرائت شد. مقداری از سرم که سبب کاهش میزان جذب نوری به میزان ۰/۰۱ در دقیقه شده بود به عنوان یک واحد فعالیت لایزوزیم در نظر گرفته شده و با واحد در لیتر نشان داده شد. در این مطالعه از لایزوزیم سفیده تخم مرغ لیوفیلیزه شده (سیگما) به منظور ترسیم منحنی استاندارد استفاده شد.

روش تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

در ابتدا نرمال بودن داده‌ها با استفاده از تست Shapiro wilk صورت پذیرفت. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS ۲۰ و با استفاده از تجزیه واریانس یک طرفه (ANOVA) صورت گرفت. مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تعیین گردید ($p < 0.05$).

نتایج

عملکرد رشد و بازماندگی

نتایج مربوط به فاکتورهای رشد و بازماندگی تیمارهای مختلف ماهی کپور معمولی تغذیه شده با عصاره آقطی در انتهای دوره در جدول ۱ ارائه شده است. بر اساس این نتایج میزان وزن نهایی، وزن کسب شده و درصد افزایش وزن، نرخ رشد ویژه، ضریب تبدیل غذایی، شاخص وضعیت و ضریب کارایی پروتئین در تیمار ۱۰ گرم عصاره آقطی کیلوگرم خوراک نسبت به گروه شاهد و سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری نشان داد ($p < 0.05$). همچنین نتیجه این بررسی نشان داد که اختلاف معنی‌دار در درصد بازماندگی بین تیمار ۱۰ گرم عصاره آقطی کیلوگرم خوراک با سایر تیمارهای آزمایشی به ویژه تیمار شاهد وجود دارد ($p < 0.05$).

جدول ۱: شاخص‌های رشد و بازماندگی در ماهیان کپور معمولی تغذیه شده با سطوح مختلف عصاره گیاه آقطی (گرم بر کیلوگرم غذا)
Table 1: Growth and survival indices in common carp fed with different levels of dwarf elder extract (g / kg of feed)

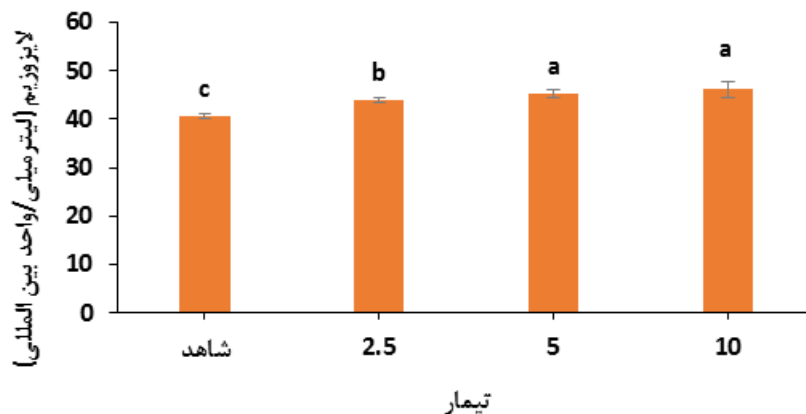
تیمار				شاخص
۱۰	۵	۲/۵	شاهد	
۱۵/۲±۰/۳ ^a	۱۵/۱±۰/۳ ^a	۱۵/۰±۰/۳ ^a	۱۵/۱±۰/۳ ^a	وزن اولیه (گرم)
۳۲/۷±۰/۷ ^a	۲۹/۳±۰/۵ ^b	۲۸/۱±۰/۸ ^b	۲۶/۹±۰/۴ ^c	وزن نهایی (گرم)
۱۷/۵±۰/۵ ^a	۱۴/۲±۰/۴ ^b	۱۳/۲±۰/۶ ^c	۱۲/۰±۰/۳ ^d	وزن اکتسابی (گرم)
۱۱۵/۱±۴/۹ ^a	۹۴/۰±۲/۰ ^b	۸۸/۰±۱/۸ ^c	۷۹/۵±۰/۹ ^d	افزایش وزن بدن (درصد)
۰/۹۸±۰/۰۴ ^a	۰/۸۴±۰/۰۲ ^b	۰/۷۹±۰/۰۳ ^b	۰/۷۲±۰/۰۱ ^c	نرخ رشد ویژه (درصد در روز)
۲/۳۱±۰/۰۵ ^c	۲/۵۳±۰/۰۵ ^b	۲/۶۰±۰/۰۵ ^b	۲/۷۶±۰/۰۹ ^a	ضریب تبدیل غذایی
۱/۴۷±۰/۰۴ ^a	۱/۳۸±۰/۰۱ ^b	۱/۳۳±۰/۰۳ ^c	۱/۲۹±۰/۰۳ ^c	شاخص وضعیت (درصد)
۱/۰۳±۰/۰۸ ^a	۰/۹۴±۰/۰۵ ^b	۰/۸۲±۰/۰۶ ^c	۰/۷۳±۰/۰۵ ^d	ضریب کارایی پروتئین
۹۸/۲±۱/۰ ^a	۹۵/۶±۲/۱ ^b	۹۳/۶±۱/۸ ^b	۹۶/۶±۲/۱ ^b	درصد بازماندگی

حروف غیرهمسان در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی داری در سطح ۵ درصد می‌باشد (p<۰/۰۵).

آقطی کیلوگرم خوراک با سایر تیمارهای آزمایشی به‌ویژه تیمار شاهد وجود دارد (p<۰/۰۵). کمترین میزان ACH50 در تیمار شاهد برابر با ۵۲/۸±۰/۹ (میلی گرم/دسی لیتر) و بیشترین میزان آن در تیمار ۱۰ گرم عصاره آقطی کیلوگرم خوراک برابر با ۶۶/۵±۰/۸ (میلی گرم/دسی لیتر) به‌دست آمد. IgM در تیمار شاهد با مقدار ۳۱/۸±۱/۰ (میلی گرم/دسی لیتر) کمترین میزان و در تیمار ۱۰ گرم عصاره آقطی کیلوگرم خوراک برابر با ۳۸/۰±۱/۵ (میلی گرم/دسی لیتر) دارای بیشترین میزان بود (p<۰/۰۵).

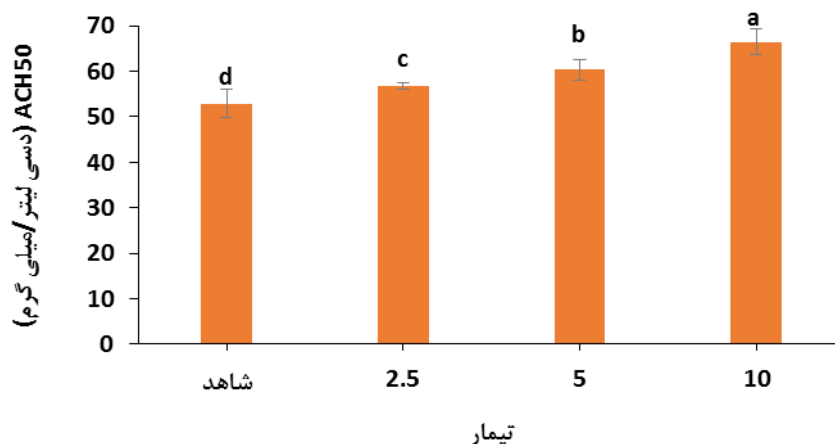
شاخص‌های ایمنی

تغییرات سطوح فاکتورهای ایمنی سرم خون ماهیان کپور معمولی تغذیه شده با مقادیر مختلف عصاره گیاه آقطی در شکل‌های ۱ الی ۳ نشان داده شده است. نتایج این بررسی نشان داد که اختلاف معنی‌دار در میزان فعالیت لایزوزیم سرم بین تیمار ۱۰ گرم عصاره آقطی کیلوگرم خوراک با سایر تیمارهای آزمایشی به‌ویژه تیمار شاهد وجود دارد (p<۰/۰۵). همچنین نتایج نشان‌دهنده آن است که اختلاف معناداری در میزان فعالیت ACH50 و IgM سرم ماهیان کپور معمولی تغذیه شده با جیره ۱۰ گرم عصاره



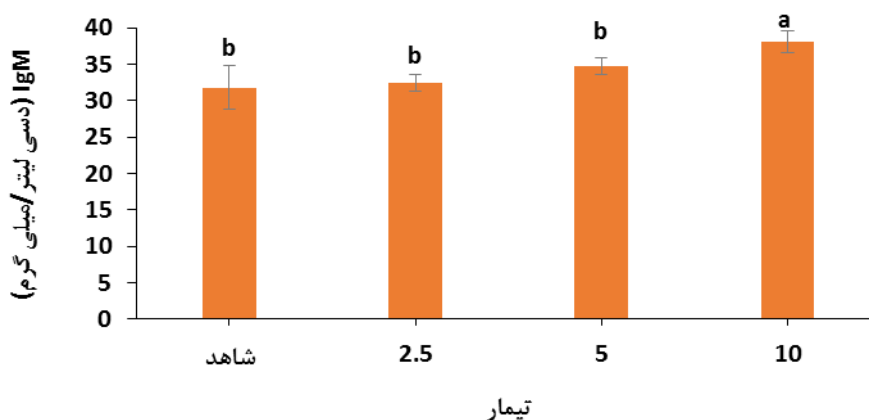
شکل ۱: میزان فعالیت لایزوزیم سرم (واحد بین المللی/میلی لیتر) ماهیان کپور معمولی تغذیه شده با مقادیر مختلف عصاره گیاه آقطی (گرم در کیلوگرم خوراک)

Figure 1: Serum lysozyme activity (IU/ml) in common carp fed with different levels of dwarf elder extracts (g/ kg of feed)



شکل ۲: تغییرات فعالیت همولیتیک مسیر فرعی کمپلمان (ACH50) سرم (میلی گرم/دسی لیتر) ماهیان کپور معمولی تغذیه شده با سطوح مختلف عصاره گیاه آقطی (گرم در کیلوگرم خوراک)

Figure 2: Changes in hemolytic activity of Serum complement pathway (ACH50) (mg/dL) in common carp fed with different levels of dwarf elder extract (g / kg of feed)



شکل ۳: تغییرات ایمونوگلوبولین M (IgM) سرم (میلی گرم/دسی لیتر) ماهیان کپور معمولی تغذیه شده با سطوح مختلف عصاره گیاه آقطی (گرم در کیلوگرم خوراک)

Figure 3: Changes in the serum immunoglobulin M (IgM) (mg/dL) of common carp fed with different levels of dwarf elder extract (g / kg of feed)

افزایش رشد و اشتها در ماهیان می‌باشند. نتایج تحقیق حاضر نشان‌دهنده آن است که مقادیر بالاتر عصاره گیاه آقطی به‌خصوص سطح ۱۰ گرم عصاره آقطی کیلوگرم خوراک اثرات معناداری بر شاخص‌های رشد ماهیان کپور معمولی داشته است. در بررسی همسو با تحقیق حاضر، قاندری و همکاران (۱۳۹۸) گزارش کردند که افزودن عصاره اتانولی زیره سبز (*Cuminum cyminum*) ۲٪ به جیره غذایی ماهی جوان کپور معمولی پس از ۸ هفته

بحث

از جمله اهداف تکثیر و پرورش ماهیان، بهبود شاخص‌های رشد و ایمنی به منظور کاهش میزان تلفات در جهت اقتصادی نمودن تولید این گونه ارزشمند می‌باشد (Alishahi et al., 2010). Schlenk و Rempel (۲۰۰۸) بیان کردند که وجود ترکیبات زیست فعال شامل آلکانوئیدها، فلاونوئیدها، پیگمنت‌ها، فنولیک‌ها، ترپنوئید و استروئیدها موجود در عصاره گیاهان از عوامل دخیل در

سازی کمپلمان و افزایش فعالیت بیگانه‌خواری در ماهی می‌شود. افزایش میزان فعالیت لایزوزیم سرم گویای بهبود وضعیت ایمنی ماهی است و افزایش آن به مقابله بهتر سیستم ایمنی ماهی در برابر عوامل عفونی و استرس‌زا کمک می‌کند (Alishahi et al., 2010). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که افزودن سطوح مختلف عصاره آقطی تأثیر معناداری در میزان فعالیت لایزوزیم سرم ماهیان داشته است و بیشترین میزان فعالیت لایزوزیم متعاقب تجویز بالاترین سطح عصاره آقطی مشاهده شد. عصاره گیاه آقطی دارای انواع ترکیبات فلاونوئیدی است که اثرات ضد میکروبی و ایمنی‌زایی این گیاه را بیشتر به حضور این ترکیبات نسبت داده‌اند (شهبیری طبرستانی و همکاران، ۱۳۹۵). در مطالعه همسو با مطالعه حاضر، بررسی Ghiasi و همکاران (۲۰۱۸) نشان داد که استفاده از پودر گیاه آقطی در غلظت‌های ۵ و ۱۰٪ منجر به بهبود شاخص‌های ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان شامل لایزوزیم و فعالیت انفجار تنفسی در مقایسه با تیمار شاهد گردید.

روند تولید ایمونوگلوبولین‌ها در ماهی وقوع مجموعه‌ای از واکنش‌ها بین سلول ارائه‌دهنده آنتی‌ژن، سلول‌های T کمک‌کننده فعال‌شده و اینترلوکین‌ها سبب تحریک لنفوسیت‌های B می‌شوند (Ahmadifar et al., 2012). ایمونوگلوبولین‌ها پروتئین‌های مهمی هستند که در پاسخ ایمنی هم‌مرال نقش مهمی دارند. بر اساس نتایج به‌دست آمده روند صعودی افزایش IgM سرم مشابه لیزوزیم بوده است. تفاوت مشاهده شده در تیمار ۱۰ گرم عصاره آقطی کیلوگرم خوراک با سایر تیمارها به‌ویژه تیمار شاهد معنادار بوده است ($p < 0.05$) (شکل ۳). تحقیقات نشان‌دهنده آن است که برخی از ترکیبات پلی‌ساکاریدی موجود در گیاهان موجب تحریک لنفوسیت‌های B و T می‌شوند. این لنفوسیت‌ها در اثر تحریک پلازما سل‌ها موجب افزایش سطح ایمونوگلوبولین تام (Ig) می‌شوند (Ahmadifar et al., 2012). مطالعات مشابه دیگر نیز حاکی از افزایش ایمونوگلوبولین سرم (IgM) به دنبال مصرف عصاره آلونه‌ورا (Alishahi et al., 2010) و

تغذیه، موجب بهبود شاخص‌های رشد شامل افزایش وزن بدن، ضریب رشد روزانه و نرخ رشد ویژه در مقایسه با گروه شاهد گردید. در مطالعه همسو دیگر، بهادری بیرگانی و همکاران (۱۳۹۷) نشان دادند که استفاده از عصاره گیاه مورد (*Myrtus communis* L.) در غلظت‌های ۵۰۰ و ۷۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم خوراک ماهی کپور معمولی موجب افزایش معنادار عملکرد رشد در مقایسه با سایر تیمارها گردید.

بر اساس نتایج مطالعه حاضر FCR در تیمار ۱۰ گرم عصاره آقطی کیلوگرم خوراک نسبت به گروه شاهد و تیمارهای ۲/۵ و ۵/۰ گرم عصاره آقطی کیلوگرم خوراک اختلاف معنی‌داری نشان داد و کمترین میزان را به‌خود اختصاص داد. بهبود ضریب تبدیل غذایی ماهیان در جیره‌های غذایی حاوی عصاره‌های گیاهی احتمالاً به دلیل تأثیراتی است که عصاره‌های گیاهی بر سوخت و ساز بدن ماهیان ایجاد می‌کنند و بدین ترتیب، میزان جذب غذا و کارایی آن را افزایش می‌دهند (Ramudu and Dash, 2013).

نتایج بررسی حاضر نشان داد که اختلاف معناداری در درصد بازماندگی بین تیمار ۱۰ گرم عصاره آقطی کیلوگرم خوراک با سایر تیمارهای آزمایشی به‌ویژه تیمار شاهد وجود دارد ($p < 0.05$). بهبود درصد بازماندگی کپور ماهیان به بهبود شاخص‌های ایمنی غیر اختصاصی در ماهیان (لیزوزیم، IgM و ACH50) و ترکیبات ضد میکروبی موجود در عصاره گیاهی آقطی مرتبط است. مشابه با مطالعه حاضر، بررسی Adel و همکاران (۲۰۱۶) نشان داد که استفاده از عصاره بومادران در سطوح ۲ و ۳ درصد موجب افزایش معنادار نرخ بازماندگی ماهی کپور معمولی انگشت قد در مقایسه با تیمار شاهد و ۱ درصد گردید. همچنین بررسی بهادری بیرگانی و همکاران (۱۳۹۷) نشان داد که استفاده از عصاره گیاه مورد در غلظت‌های ۵۰۰ و ۷۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم خوراک ماهی کپور معمولی موجب افزایش معنادار بقاء ماهیان در مقایسه با سایر تیمارها گردید.

لایزوزیم از مهم‌ترین اجزای ایمنی غیراختصاصی ماهی محسوب می‌شود که موجب تخریب جداره باکتری‌ها، فعال

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله بر خود واجب می‌دانند از تلاش‌ها و زحمات کارکنان محترم شرکت آبی اکسیر کوثر و نیز از کارخانه خوراک کیمیاگران تغذیه (شهرکرد) جهت تامین خوراک پایه این مطالعه تشکر و قدردانی نمایند.

منابع

- آزادبخت، م.، ۱۳۸۷. رده بندی گیاهان دارویی. انتشارات تیمورزاده نشر طبیعت، تهران، ۲۷۵-۲۵۵ص.
- بهداری بیرگانی، ش.، رومیانی، ل. و چله مال دزفول نژاد، م.، ۱۳۹۷. بررسی تأثیر عصاره گیاه مورد (*Myrtus communis* L.) بر روی رشد، بقا، فاکتورهای خونی و ایمنی ماهی کپور معمولی. مجله پژوهش‌های جانوری، ۳۱(۳): ۳۴۱-۳۲۹.
- سلطانی، م.، ظریف منش، ط. و ذریه زهرا ج.، ۱۳۹۱. مطالعه تأثیر اسانس آویشن شیرازی بر میزان فعالیت سیستم عامل مکمل و لیزوزیم خون ماهی قزل آلی رنگین کمان. مجله علمی شیلات ایران، ۲۱(۴): ۲۲-۱۳.
- شمسایی مهرجان، م.، حسینی شکرابی، س.پ.، محبوب زردست، م. و محمدی، ن.، ۱۳۹۹. تأثیر مکمل غذایی پودر فلفل قرمز تند (*Capsicum annum*) بر شاخص‌های رشد، میزان بقا، فراسنجه‌های خونی و برخی از پاسخ‌های ایمنی بچه ماهی قزل آلی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*). مجله علمی شیلات ایران، ۲۹(۱): ۱۴۰-۱۳۱.
- شهری طبرستانی، م.، رهنما، ک. و امیری، ع.، ۱۳۹۵. تأثیر بازدارندگی عصاره‌های گیاه آقطی (*Sambucus ebulus*) بر رشد قارچ *Macrophomina phaseolina* و استخراج مواد مؤثره آن‌ها. نشریه حفاظت گیاهان، ۳۰(۴): ۶۲۸-۶۲۲.
- قاندی، ف.، زنگویی، ن.، موسوی، م. و ذاکری، م.، ۱۳۹۸. اثرات سطوح مختلف عصاره زیره سبز بر عملکرد رشد و تغذیه ماهی جوان کپور معمولی. زیست‌شناسی جانوری تجربی، ۳۰(۲): ۳۴-۲۳.

بومادران (Adel et al., 2016) در جیره ماهی کپور معمولی است. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که افزودن سطوح مختلف عصاره آقطی تأثیر معناداری در میزان فعالیت ACH50 سرم ماهیان داشته است و بیشترین میزان این شاخص‌ها متعاقب تجویز سطح ۱۰ گرم عصاره آقطی کیلوگرم خوراک مشاهده شد که تفاوت معناداری با سایر تیمارها به‌ویژه تیمار شاهد داشته است ($p < 0.05$). به طور کلی، در ماهیان مانند پستانداران، فعالیت همولیتیک مسیر فرعی کمپلمان (ACH50) تحت تأثیر پروتئین‌ها و به‌خصوص پروتئین C3 می‌باشد. از سوی دیگر، ترکیبات گیاهی که شامل گروه‌های هیدروکسیل، امین، کربوهیدرات یا پروتئین هستند، سبب افزایش مقدار ACH50 می‌شوند. در مطالعه‌ای همسو، Hoseinifar و همکاران (۲۰۱۸) نشان دادند که استفاده از عصاره عناب (*Ziziphus jujube*) در جیره غذایی ماهی کپور معمولی در سطح ۱٪ منجر به افزایش معنادار فعالیت همولیتیک مسیر فرعی کمپلمان (ACH50) می‌گردد. در مطالعه سلطانی و همکاران (۱۳۹۱) که همسو با نتایج مطالعه حاضر است، نشان دادند که میانگین ACH50 در روزهای اول و هشتم نمونه‌برداری در گروه‌های قزل آلا تغذیه شده با غلظت‌های ۱۰، ۲۰ و ۴۰ میلی‌لیتر اسانس آویشن شیرازی به ازاء هر کیلوگرم غذا نسبت به تیمار شاهد افزایش معناداری داشت. با توجه به نتایج بدست آمده از این تحقیق و نظر به اینکه ماهی کپور معمولی به عنوان یکی از گونه‌های مهم کپور ماهیان در کشور است، تأثیر سطوح مختلف عصاره گیاه آقطی به‌ویژه در سطح ۱۰ گرم عصاره آقطی کیلوگرم خوراک بر شاخص‌های رشد، بازماندگی و شاخص‌های ایمنی مورد بررسی (لیزوزیم، IgM و ACH50) کاملاً مثبت و معنی‌دار ارزیابی می‌شود. هر چند که انجام مطالعات تکمیلی جهت تعیین اثرات عصاره آقطی بر فعالیت آنزیم‌های کبدی و گوارشی، شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی و مقاومت به بیماری ماهی کپور معمولی کاملاً ضروری به‌نظر می‌رسد.

- Adel, M., Gholaghaie, M., Binaii, M., Khanjany, P. and Awad, E., 2016.** Effect of dietary *Achillea wilhelmsii* extract on growth performance, and immune status of common carp (*Cyprinus carpio*). *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 7(6): 1037-1046.
- Ahmadifar, E., Akrami, R., Ghelichi, A. and Mohammadi Zarejabad, A., 2011.** Effects of different dietary prebiotic insulin levels on blood serum enzyme, hematologic and biochemical parameters of great sturgeon (*Huso huso*) juvenile. *Comparative Clinical Pathology*, 20: 447-451. DOI: 10.1007/s00580-010-1017-2.
- Alishahi, M., Ranjbar, M.M., Ghorbanpour, M., Peyghan, R., Mesbah, M. and Razi Jalali, M., 2010.** Effects of dietary *Aloe vera* on some specific and nonspecific immunity in the common carp (*Cyprinus carpio*). *International Journal of Veterinary Research*, 4(3): 189-195. DOI: 10.22059/IJVM.2010.21352.
- Azarm, H.M., Abedian Kenari, A. and Hedayati, M., 2012.** Effect of dietary phospholipid sources and levels on growth performance, enzymes activity, cholecystokinin and lipoprotein fractions of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fry. *Aquaculture Research*, 32: 1-11. DOI: 10.1111/j.1365-2109.2011.03068.
- Dugenci, S.K., Arda, N. and Candan, A., 2003.** Some medicinal plants as immuno stimulants for fish. *Journal of Ethnopharmacology*, 88: 99-106. DOI: 10.1016/s0378-8741(03)00182.
- Ellis, A.E., 1990.** Lysozyme assay, techniques in fish immunology. 2nd edn. Fair Haven, USA, pp. 100-102.
- FAO, 2016.** Aquaculture Newsletter. Nutrition-sensitive aquaculture: A timely initiative. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome. 34P.
- Feldman, B.F., Zinkl, J.G. and Jian, N.C., 2000.** Schalm's veterinary hematology, 3rd edn. Lippincott Williams and Wilkins publication, Philadelphia, USA. pp. 32-36.
- Ghesmati, M., 2007.** Investigation of antibacterial activity of *sambucus ebulus* on *staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Biology Science*, 1(3): 73-82.
- Ghiasi, M., Binaii, M., Adel, M., Khoshbavar Rostami, H., Zahedi, A. and Habibi, F., 2018.** Effect of dietary supplementation of Dwarf Elder (*Sambucus ebulus*) on some immune response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). 7th National Congress on Medicinal Plants 12-14th May 2018 Shiraz, Iran.
- Giménez, G., Padrós, F., Roque, A., Estévez, A. and Furones, D., 2006.** Bacterial load reduction of live prey for fish larval feeding using Ox-Aquaculture[®]. *Aquaculture Research*, 37(11): 1130-1139. DOI: 10.1111/j.1365-2109.2006.01537.x.
- Hajdú, Z.1, Hohmann, J., Forgo, P., Martinek, T., Dervarics, M., Zupkó, I., Falkay, G., Cossuta, D. and Máthé, I., 2007.** Diterpenoids and flavonoids from the fruits of *Vitex agnuscastus* and antioxidant

- activity of the fruit extracts and their constituents. *Phytotherapy Research*, 21(4): 391-404. DOI: 10.1002/ptr.2021.
- Hoseinifar, S.H., Khodadadian Zou, H., Paknejad, H., Ahmadifar, E. and Van Doan, H., 2018.** Non-specific immune responses and intestinal immunity of common carp (*Cyprinus carpio*) fed Jujube (*Ziziphus jujube*) fruit extract. *Aquaculture Research*, 49(9): 2995-3003. DOI: 10.1111/are.13759.
- Meric, Z.I., Bitis, L., Birteksoz-Tan, S., Turan, S. and Akbuga, J., 2014.** Antioxidant, antimicrobial and anticarcinogenic activities of *Sambucus ebulus* L. flowers, fruits and leaves. *Marmara Pharmaceutical Journal*, 18(1): 22-25.
- Ramudu, K.R. and Dash, G., 2013.** A review on herbal drugs against harmful pathogens in aquaculture. *American Journal of Drug Discovery and Development*, 3(4): 209-219. DOI: 10.3923/ajdd.2013.209.219.
- Rashmeei, M., Shekarabi, S.P.H., Mehrgan, M.S. and Paknejad, H., 2020.** Stimulatory effect of dietary chasteberry (*Vitex agnus-castus*) extract on immunity, some immune-related gene expression, and resistance against *Aeromonas hydrophila* infection in goldfish (*Carassius auratus*). *Fish and Shellfish Immunology*, 107: 129-136. DOI: 10.1016/j.fsi.2020.09.037.
- Rempel, M.A. and Schlenk, D., 2008.** Effects of environmental estrogens and antiandrogens on endocrine function, gene regulation, and health in fish. *International Review of Cell and Molecular Biology*, 267:207-52. DOI: 10.1016/S1937-6448(08)00605-9.
- Soltani, M., Lymbery, A., Song, S.K. and Hosseini Shekarabi, P., 2019.** Adjuvant effects of medicinal herbs and probiotics for fish vaccines. *Reviews in Aquaculture*, 11(4): 1325-1341. DOI: 10.1111/raq.12295.
- Yano, T., 1992.** Assay of hemolytic complement activity. In: Techniques in fish immunology. Stolen, J.S., Fletcher, T.C., Anderson, D.P., Hattari, S.C., Rowley, A.F. (ed). Sos Publications, Fair Haven, New Jersey: USA. 2:131-141.

Effects of dietary dwarf elder (*Sambucus ebulus*) extract on growth performance, survival rate and immunological responses of common carp (*Cyprinus carpio*)

Hosseini Shekarabi S.P.¹; Shahrokni Sh.¹; Nazari K.²; Shamsaie Mehrgan M.^{1*}; Toutounchi Mashhour S.³

*m.shamsaie@srbiau.ac.ir

- 1- Department of Fisheries Science, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
- 2- Division of Animal Sciences, Tehran Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran
- 3- Laboratory of Animal Sciences, Zakariya Razi Laboratory Complex, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

Abstract

This study was conducted to evaluate the effect of different levels of dwarf elder extract on growth performance, survival rate and immune parameters of common carp. For this purpose, fish with an average weight of 15.1 ± 0.3 g were distributed in 12 fiberglass veniero with 30 fish density and fed for 56 days with different levels of dwarf elder extract including 0 (control), 2.5, 5, and 10 g per kg of feed. Based on the growth results, final weight (32.7 ± 0.7 g), weight gain (17.5 ± 0.5 g), increased body weight (115.4 ± 1.9 %), specific growth rate (0.98 ± 0.04 %/day), feed conversion ratio (2.31 ± 0.05), condition factor (1.47 ± 0.04), and protein efficiency ratio (1.03 ± 0.08) in 10 g of dwarf elder extract/kg diet were significantly different from other treatments ($p < 0.05$). Results of this study showed that there was a significant difference in survival rate among 10 g/kg extract/kg of feed treatment with other experimental treatments, especially control treatment ($p < 0.05$). Results showed that there was a significant difference in the amount of lysozyme activity (46.2 ± 1.7 IU/ml), alternative complement pathway hemolytic activity (66.0 ± 5.8 mg/dl) and serum IgM (38.1 ± 0.5 mg/dl) among 10 g/kg extract/kg of feed treatment with other experimental treatments, especially control treatment ($p < 0.05$). In general, effect of dwarf elder extract, especially at 10 g/kg of diet, on the growth parameters, survival rate and immune parameters of common carp fry was evaluated positively.

Keywords: Danewort extract, *Cyprinus carpio*, Growth, Survival rate, Immune parameters

*Corresponding author