شیلات، مجله منابع طبیعی ایران
دوره ۷۷، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۳
صفحات ۱۲۱-۱۰۷

اثر ترکیب عصارهٔ هیدروالکلی زردچوبه و آویشن شیرازی بر شاخص‌های رشد، تغذیه، فعالیت آنزیم‌های گوارشی و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

نینا نازدار[۱]، احمد ایمانی[۲*]، سید میثم ابطحی فروشانی[۳]، محسن فرزانه[۴]، کوروش سروی مغانلو[۲]

۱. دانش آموختهٔ دکتری، گروه شیلات، دانشکدهٔ منابع طبیعی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران
۲. دانشیار گروه شیلات، دانشکدهٔ منابع طبیعی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران
۳. دانشیار گروه میکروب‌شناسی، بخش ایمنی‌شناسی، دانشکدهٔ دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران
۴. دانشیار گروه مهندسی کشاورزی، بیماری‌شناسی گیاهی، پژوهشکدهٔ گیاهان و مواد اولیه دارویی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۵/۳۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۱/۳۰

چکیده

اثر ترکیب عصاره‌های هیدروالکلی زردچوبه (*Curcuma longa* L.) و آویشن شیرازی (*Zataria multiflora* Boiss) بر عملکرد رشد، شاخص‌های تغذیه، فعالیت آنزیم‌های گوارشی بافت زوائد پیلوریک و آنتی‌اکسیدانی بافت کبد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بررسی شد. سه جیرهٔ غذایی آزمایشی شامل جیرهٔ پایه (گروه شاهد) و جیره‌های حاوی ۰/۵ درصد و ۱/۵ درصد ترکیب عصاره‌های گیاهی زردچوبه و آویشن شیرازی (با نسبت ۱: ۲) تهیه گردید. ۲۳۴ قطعه ماهی به‌طور تصادفی در سه گروه آزمایشی با سه تکرار (۲۶ ماهی در تکرار) تقسیم و به‌مدت ۸ هفته پرورش داده شدند. تغذیهٔ ماهیان با جیرهٔ غذایی حاوی ۰/۵ درصد ترکیب عصاره‌های گیاهی موجب افزایش کارایی خوراک و شاخص وضعیت (ضریب چاقی) در مقایسه با گروه شاهد شد ($P<0/05$). ترکیب ۱/۵ درصد عصاره‌های گیاهی نرخ رشد روزانه را در مقایسه با گروه شاهد به‌طور معنی‌دار افزایش داد ($P<0/05$). هر دو سطح عصاره‌های گیاهی ارزش تولیدی پروتئین را افزایش و ارزش تولیدی چربی را در مقایسه با گروه شاهد کاهش دادند ($P<0/05$). شاخص کبدی و شاخص احشایی تحت تأثیر هر دو سطح عصاره در مقایسه با گروه شاهد افزایش یافت ($P<0/05$). افزودن ترکیب عصاره‌ها به خوراک موجب افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های گوارشی آمیلاز و لیپاز گردید ($P<0/05$). ترکیب عصاره‌ها به‌طور قابل توجهی فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز را در کبد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان افزایش و محتوای مالون دی آلدهید این بافت را نسبت به گروه شاهد کاهش داد ($P<0/05$). بنابراین، با توجه به تأثیر مثبت عصاره‌های گیاهی زردچوبه و آویشن شیرازی، استفاده از سطح ۰/۵ درصد ترکیب عصاره‌های مذکور در خوراک ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان پیشنهاد می‌گردد.

واژگان کلیدی: عصاره‌های گیاهی، عملکرد رشد، شاخص‌های تغذیه، فعالیت آنزیم گوارشی، فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی

* نویسنده مسئول: احمد ایمانی
Email: a.imani@urmia.ac.ir

Journal of Fisheries
Vol. 77, No. 2, Summer 2024
pp. 107-121

Effects of combination of turmeric and thyme hydro-alcoholic extracts on growth, nutritional indices, digestive and antioxidant enzymes activity of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)

Nina Nazdar[1], Ahmad Imani[2*], Seyyed Meysam Abtahi Froushani[3], Mohsen Farzaneh[4], Kourosh Sarvi Moghanlou[2]

1. PhD graduate, Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, Urmia University, Urmia, Iran
2. Associate Professor, Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, Urmia University, Urmia, Iran
3. Associate Professor, Department of Microbiology, Faculty of Veterinary, Urmia University, Urmia, Iran
4. Associate Professor, Department of Agriculture, Medicinal Plants and Drugs Research Institute, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran

Received: 21-Aug-2023 **Accepted: 18-Apr-2024**

Abstract

The effect of dietary administration of combination of hydro-alcoholic extracts of turmeric (*Curcuma longa* L.) and thyme (*Zataria multiflora* Boiss) on growth performance, nutritional parameters, digestive enzymes activity and antioxidant properties of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) was investigated. Three experimental diets including basal diet (control group) and diets containing 0.5% and 1.5% of combination of turmeric and thyme (ratio of 1:2) extracts were prepared. A total of 234 juveniles of rainbow trout were randomly divided into three experimental groups in triplicates (providing 26 fish per replicate) and reared for eight weeks. Feeding diets contained 0.5 % of the extract increased the feed efficiency ratio and condition factor of rainbow trout compared to the control group (P<0.05). Supplementing 1.5 % plant extract increased the Average Daily Growth (ADG) of the fish in comparison to control group (P<0.05). Both dietary levels of the extracts increased protein productive value and lipid productive value of fish compared to control group (P<0.05). Viscerosomatic and hepatosomatic index were affected by both dietary extract levels compared to control group (P<0.05). Dietary plant extract inclusion significantly increased the activity of amylase and lipase (P<0.05). Similarly, the activity of superoxide dismutase and glutathione peroxidase significantly increased in the liver tissue of rainbow trout following feeding on diets containing the extracts, while malondialdehyde content of the tissue decreased in comparison to the control group (P<0.05). Therefore, considering the promising effects of dietary supplementation of turmeric and thyme extracts, inclusion of 0.5% of the extracts in rainbow trout feed is recommended.

Keywords: Phytogenics, Growth performance, Nutritional indices, Digestive enzymes activity, Antioxidant enzymes activity

∗ Corresponding author: Ahmad Imani Email: a.imani@urmia.ac.ir

۱. مقدمه

مزارع پرورش ماهی نیاز به افزودن مواد افزودنی در خوراک برای کاهش اثرات نامطلوب بر ماهیان دارند. با توجه به محدودیت‌های اعمال شده برای استفاده از مواد شیمیایی مانند آنتی‌بیوتیک‌ها و هورمون‌ها در تغذیهٔ آبزیان مورد استفاده در تغذیهٔ انسان، استفاده از مواد طبیعی مانند آن‌هایی که از گیاهان و جلبک‌ها به‌دست می‌آیند در تولید خوراک ماهی افزایش یافته است. محرک‌های رشد و ایمنی با منشاء گیاهی دارای مزایای متعددی نسبت به محرک‌های شیمیایی تولید شده از جمله در دسترس بودن، آسیب کمتر به محیط‌زیست و حیوانات و امکان تولید با هزینهٔ کم هستند (Francis *et al*., 2001). افزودنی‌های گیاهی خوراک، که مکمل‌های ترکیبی یا استخراج شده از گیاهان، ادویه‌ها و اسانس‌ها هستند، می‌توانند اثرات مفیدی بر عملکرد رشد و سلامت ماهی داشته باشند (Poolsawat *et al*., 2022).

آویشن یک گیاه دارویی[1] و از زمان‌های قدیم در آشپزخانه، لوازم آرایشی و بهداشتی و برای اهداف دارویی استفاده گردیده است (Dorojan *et al*., 2015). خواص درمانی آویشن در آبزی‌پروری به‌عنوان یک ضدعفونی‌کننده، آنتی‌اکسیدان و مؤثر در القاء هضم و غیره است (Dorojan *et al*., 2015). آویشن شیرازی (*Zataria multiflora* Boiss.) از خانوادهٔ نعنائیان[2] است که از نظر جغرافیایی فقط در مناطق مرکزی و جنوبی ایران، پاکستان و افغانستان به‌صورت وحشی می‌روید (Mohiseni *et al*., 2019). اسانس آویشن شیرازی حاوی مقادیر قابل توجهی مونوترپن‌های اکسیژن‌دار فنولی[3] است که دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی، ضد باکتریایی و ضد قارچی است (Mohiseni *et al*., 2019). بهبود رشد ماهیان خاویاری ازون‌برون در نتیجه مصرف یک درصد آویشن به‌ازای یک کیلوگرم جیره‌ی غذایی گزارش گردید (Dorojan *et al*., 2015). Zaki و همکاران (۲۰۱۲) اثر افزودن چندین گیاه دارویی را در دو سطح (۱ درصد و ۲ درصد) به خوراک ماهی تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) ارزیابی کردند. آن‌ها به این نتیجه رسیدند که مکمل غذایی ۱ درصد آویشن تأثیر مثبتی بر شاخص های عملکرد رشد داشت. نتایج مشابهی با استفاده از خوراک حاوی اسانس مریم گلی، نعناع و آویشن در ماهی قزل آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) گزارش شده است (Sonmez *et al*., 2015). اسانس و عصارهٔ آبی گیاه آویشن (*Thymus vulgaris*) حاوی مقادیر قابل توجهی کارواکرول[4]، تیمول[5]، پارا-سایمین[6] و فلاونوئیدها[7] هستند (Sengul *et al*., 2008). تیمول اثر القایی بر ترشح آنزیم‌های پانکراس دارد و در نتیجه می‌تواند ضریب تبدیل خوراک (FCR[8]) را بهبود بخشد (Mohiseni *et al*., 2019). همچنین، ترکیبات فعال اسانس آویشن می‌تواند قابلیت هضم خوراک را افزایش دهد (Sengul *et al*., 2008).

گیاه زردچوبه (Turmeric) با نام علمی *Curcuma longa* L. متعلق به خانوادهٔ زنجبیل (Zingiberaceae) می‌باشد. قسمت مورد استفاده غذایی و دارویی این گیاه ریزوم‌های خشک شده آن است. رنگ زرد آن که مشخصهٔ ریزوم زردچوبه است به‌حضور ۳ تا ۵ درصدی کورکومینوئیدهای[9] موجود در آن شامل کورکومین[10]، دِمتوکسی کورکومین[11] و بیس دِمتوکسی کورکومین[12] مربوط است (Wakte *et al*., 2011). کورکومین فعالیت‌های زیستی متنوعی نظیر آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی، ضدمیکروبی و خواص ضدسرطانی دارد (Yang *et al*., 2022). افزودن زردچوبه به جیره‌های غذایی ماهی ممکن است تأثیر مثبتی بر قابلیت هضم مواد مغذی و همچنین بهبود استفاده از مواد مغذی داشته باشد که به نوبهٔ خود می‌تواند به بهبود رشد ماهی و مصرف خوراک کمک کند (Jiang *et al*., 2016). استفاده از مقدار پنج گرم زردچوبه در کیلوگرم خوراک، در ماهی قرمز (*Carassius auratus*) سبب افزایش رشد، فعالیت آنزیم‌های گوارشی روده و ظرفیت

[1] Phytobiotic
[2] Lamiaceae
[3] Phenolic Oxygenated Monoterpenes
[4] Carvacrol
[5] Tymol
[6] p-Cymene
[7] Flavonoids
[8] Feed Conversion Ratio
[9] Curcuminoids
[10] Curcumin
[11] Demethoxycurcumin
[12] bisdemethoxycurcumin

آنتی‌اکسیدانی ماهیان و قابلیت هضم خوراک شد (Jiang *et al*., 2016). سطوح ۱۰۰-۵۰ میلی‌گرم کورکومین در یک کیلوگرم جیرهٔ غذایی می‌تواند شاخص رشد و ضریب تبدیل غذایی را در ماهی تیلاپیای نیل بهبود بخشد (Mahmoud *et al*., 2017).

با توجه به آثار مثبت استفاده از عصارهٔ آویشن و زردچوبه در تغذیهٔ آبزیان، در این مطالعه، اثر ترکیبی عصارهٔ هیدروالکلی زردچوبه و آویشن شیرازی بر عملکرد رشد، شاخص‌های تغذیه، فعالیت آنزیم‌های گوارشی زوائد پیلوریک و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بافت کبد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) مورد بررسی قرار گرفت.

۲. مواد و روش‌ها

۱.۲. تهیه و ذخیره‌سازی بچه‌ماهیان

تعداد ۲۳۴ قطعه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با میانگین وزنی ۰/۵۴±۴۷/۸۹ گرم، پس از یک هفته سازگاری به شرایط آزمایشی، توزین و در مخازن ۳۰۰ لیتری (با حجم آبگیری ۱۵۰ لیتر) به تعداد ۲۶ قطعه در هر مخزن توزیع شدند. این مطالعه به‌صورت یک طرح کاملاً تصادفی ساده شامل ۳ تیمار، هر کدام با ۳ تکرار به‌مدت ۸ هفته به طول انجامید. سه جیرهٔ آزمایشی شامل جیرهٔ شاهد فاقد عصارهٔ گیاهی و دو جیرهٔ آزمایشی به‌ترتیب حاوی ۰/۵ و ۱/۵ درصد ترکیب عصاره‌های گیاهی زردچوبه و آویشن تهیه گردید. غذادهی سه نوبت در روز و به‌میزان ۳ درصد وزن بدن صورت گرفت. دبی متوسط آب برای هر مخزن پرورشی ۲ لیتر در دقیقه تنظیم گردید.

۲.۲. اندازه‌گیری شاخص‌های فیزیکوشیمیایی آب مخازن پرورشی

اندازه‌گیری شاخص‌های کیفی آب از جمله دما، اکسیژن محلول و pH به‌صورت هفتگی انجام گرفت. در طول دورهٔ پرورش دمای آب ۰/۵±۱۴ درجهٔ سانتی‌گراد، اکسیژن محلول ۰/۲±۸/۲ میلی‌گرم در لیتر و دامنهٔ تغییرات pH آب مخازن پرورشی ۸-۷ بود.

۳.۲. تهیهٔ عصاره‌های هیدروالکلی زردچوبه و آویشن شیرازی

ابتدا ریزوم زردچوبه و ساقه و برگ آویشن شیرازی تهیه شد. این گیاهان توسط آسیاب پودر شدند. سرانجام برای تهیهٔ عصاره‌های گیاهی، به ۲۰۰ گرم از پودر هر کدام از گیاهان یک لیتر از مخلوط اتانول ۹۹ درصد و آب با نسبت ۵۰ به ۵۰ اضافه گردید. مخلوط حاصل به‌مدت ۴۸ ساعت در دستگاه تکان‌دهنده (شیکر) قرار داده شد تا تمامی مواد قابل حل در آب و الکل از پیکرهٔ سلول‌ها خارج شوند. پس از ۴۸ ساعت، محلول توسط صافی جدا گردید و در دستگاه تقطیر در خلاء قرار داده شد تا در حد یک سوم حجم اولیه تغلیظ گردد (Moosavi *et al*., 2020).

۴.۲. آماده‌سازی جیره‌ی غذایی

جیرهٔ غذایی براساس جدول ۱ تهیه گردید. سپس با توجه به تیمارهای آزمایشی مقدار عصاره‌های هیدروالکلی زردچوبه و آویشن شیرازی (با نسبت ۱: ۲) به جیرهٔ غذایی افزوده شد. با افزودن رطوبت به میزان مورد نیاز، خمیر حاصل به کمک چرخ گوشت صنعتی به‌صورت رشته‌های نازک در آمد. در نهایت رشته‌های خشک شده به قطعات کوچکتری شکسته و برای زدودن خاکه‌ها از الک با اندازهٔ چشمهٔ خیلی ریز (۱ میلی‌متر) استفاده گردید. سرانجام پلت‌های تهیه شده در کیسه‌های پلاستیکی یک کیلوگرمی به‌همراه مقداری ژل نم‌گیر با ثبت تاریخ ساخت و میزان عصاره تا زمان مصرف در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری شدند (Lovell, 2002).

۵.۲. تجزیهٔ بیوشیمیایی جیره

اقلام خوراکی سازندهٔ جیره و همچنین ترکیب شیمیایی جیرهٔ غذایی ساخته شده بر اساس روش Peterson و همکاران (۱۹۹۹) انجام شد. محتوای رطوبت نمونه‌ها با استفاده از آون و در دمای ۱۰۵ درجهٔ سانتی‌گراد سنجش شد. میزان پروتئین خام نیز با تعیین مقدار نیتروژن نمونه‌ها و به کمک روش روش کجلدال[1] سنجش گردید. محتوای چربی با استفاده از روش سوکسله[2] تعیین شد. خاکستر تام با سوزاندن نمونه‌ها در کوره با دمای ۵۵۰ درجهٔ سانتی‌گراد طی مدت ۶

[1]Kjeldahl Method
[2]Soxhlet Method

ساعت، سنجش گردید (جدول ۲).

جدول ۱. اجزای غذایی مصرفی جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان

اقلام غذایی	درصد
پودر ماهی[۱،۲]	۳۲
گلوتن ذرت	۱۰
گلوتن گندم[۳،۴]	۱۰
روغن ماهی	۹/۴۶
پودر سویا[۵،۶]	۲۰
آرد گندم[۷]	۵
سبوس	۵
مکمل ویتامینی	۱/۵
مکمل موادمعدنی	۱/۵
متیونین	۱
لیزین	۱
دی‌کلسیم فسفات	۱/۵
کولین	۰/۵۴
کربوکسی متیل سلولز (CMC)	۱/۵

[۱] پروتئین خام (۶۹/۸۳ درصد)، [۲]چربی خام (۱۹/۴ درصد)، [۳]پروتئین خام (۷۸/۷۱ درصد)، [۴]چربی خام (۱/۶ درصد)، [۵]پروتئین خام (۳۸/۲ درصد)، [۶]چربی خام (۱۹/۷ درصد)، [۷] پروتئین خام (۹ درصد)

مواد تشکیل‌دهندهٔ مکمل ویتامینی (در هر یک کیلوگرم مکمل ویتامینه): رتینول استات (A)، ۶۰۰۰۰۰۰ IU، کوله کلسیفرول (D_3)، ۴۰۰۰۰۰ IU، آلفا- توکوفرول استات (E)، ۱۰۰۰۰ میلی‌گرم، منادیون سدیم بی‌سولفیت (K_3)، ۶۰۰ میلی‌گرم، ال-آسکوربیک اسید (C)، ۳۰۰۰۰ میلی‌گرم، تیامین مونونیترات (B_1)، ۲۰۰۰ میلی‌گرم، ریبوفلاوین (B_2)، ۳۰۰۰ میلی‌گرم، نیاسینامید (B_3)، ۵۰۰۰ میلی‌گرم، کلسیم دی-پانتوتنات (B_5)، ۱۵۰۰۰ میلی‌گرم، پیریدوکسین هیدروکلراید (B_6)، ۳۰۰۰ میلی‌گرم، فولیک‌اسید (B_9)، ۱۰۰۰ میلی‌گرم، سیانوکوبالامین (B_{12})، ۱۰ میلی‌گرم، دی بیوتین (H_2)، ۱۲ میلی‌گرم، ال کارنیتین، ۱۵۰۰۰ میلی‌گرم.

مواد تشکیل‌دهندهٔ مکمل معدنی (در هر یک کیلوگرم مکمل معدنی): آهن، ۳/۷۲۰ میلی‌گرم، سولفات روی، ۱/۲۸۰ میلی‌گرم، سلنیوم، ۲۰ میلی‌گرم، سولفات مس، ۶۹۰ میلی‌گرم، کلسیم یدات، ۳۰۰ میلی‌گرم، سولفات کبالت، ۱۰۰ میلی‌گرم، منگنز، ۶۰۰۰ میلی‌گرم.

جدول ۲. ترکیب بیو شیمیایی جیره غذایی مورد آزمایش

پروتئین خام (درصد)	۴۹/۹۱
چربی خام (درصد)	۱۶/۷۴
خاکستر (درصد)	۹/۴۵
رطوبت (درصد)	۴/۶۴

۶.۲. زیست‌سنجی و محاسبهٔ شاخص‌های رشد

جهت محاسبهٔ شاخص‌های رشد و تغذیه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، در آغاز و پایان آزمایش، وزن ماهیان با ترازوی دیجیتالی (دقت ۰/۰۱ گرم) و طول آن‌ها با خط‌کش (دقت ۱ میلی‌متر) پس از بیهوشی با پودر گل درخت میخک با غلظت ۲۰۰ قسمت در میلیون اندازه‌گیری شد (Mehrabi, 1998). همزمان، نمونه‌هایی نیز به‌طور تصادفی برای تجزیه تقریبی لاشه (۶ قطعه ماهی در شروع آزمایش و ۶ قطعه ماهی در پایان آزمایش از هر تیمار) تهیه و تا زمان انجام آزمایش‌ها در دمای ۲۰- درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری شدند. ماهیان هر دو هفته یکبار

پس از قطع غذا به‌مدت ۲۴ ساعت، جهت تنظیم میزان غذادهی، زیست‌سنجی شدند. تجزیهٔ تقریبی لاشه براساس روش Peterson و همکاران (۱۹۹۹) انجام شد. عملکرد رشد و شاخص‌های تغذیه به‌صورت زیر محاسبه شد:

درصد افزایش وزن بدن (WG[1]، گرم) = (وزن نهایی (گرم)- وزن اولیه (گرم)/ وزن اولیه) × ۱۰۰

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

ضریب رشد ویژه (SGR، درصد/ روز) = ((لگاریتم طبیعی وزن نهایی (گرم)- لگاریتم طبیعی وزن اولیه (گرم))/ مدت زمان پرورش (روز))× ۱۰۰

فاکتور وضعیت (ضریب چاقی) (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 خوراک (FER، درصد) = (وزن بدست آمده/ مقدار غذای مصرف‌شده (گرم))× ۱۰۰

نسبت کارایی پروتئین (PER، درصد) = (وزن بدست آمده (گرم)/ مقدار مصرف پروتئین (گرم))

نسبت کارایی چربی (LER، درصد) = (وزن بدست آمده (گرم)/ مقدار مصرف چربی (گرم))

ارزش تولیدی پروتئین (PPV، درصد) = (مقدار پروتئین باز جذب شده/ مقدار پروتئین مصرف شده) × ۱۰۰

ارزش تولیدی چربی (LPV، درصد) = (مقدار چربی باز جذب شده/ مقدار چربی مصرف شده) × ۱۰۰

شاخص کبدی (HSI، درصد) = (وزن کبد (گرم)/ وزن بدن (گرم))× ۱۰۰

شاخص احشایی (VSI، درصد) = (وزن امعاء و احشاء (گرم)/ وزن بدن (گرم))× ۱۰۰

۷.۲. سنجش فعالیت آنزیم‌های گوارشی

۱.۷.۲. نمونه‌برداری و تهیهٔ عصارهٔ خام آنزیمی

فعالیت آنزیمی آلکالین پروتئاز، لیپاز و آمیلاز در پایان آزمایش اندازه‌گیری شد. ماهیان قبل از نمونه‌برداری به‌مدت ۲۴ ساعت قطع غذا شدند. ماهیان با پودر گل میخک بیهوش و با یک ضربه به سر و قطع نخاع آسان‌کشی شدند. پس از برداشتن چربی احشایی روی یخ، بافت زوائد پیلوریک با محلول نمکی ۰/۹ درصد سرد شسته و تا زمان سنجش فعالیت‌های آنزیمی در دمای ۸۰- درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری شدند (Lemieux *et al.*, 1999). نمونه‌ها در بافر ۵۰ میلی‌مولار Tris-HCL سرد با نسبت وزنی ۱:۳ با pH= ۷/۵، همگن شدند. سوسپانسیون هموژنه در g ۱۰۰۰۰ به‌مدت ۲۰ دقیقه در ۴ درجهٔ سانتی‌گراد سانتریفیوژ گردید و مایع رویی جمع‌آوری و تا زمان سنجش‌ها در دمای ۸۰- درجهٔ سانتی‌گراد ذخیره شد (Chong *et al.*, 2002).

۲.۷.۲. سنجش فعالیت‌های آنزیمی

فعالیت آلکالین پروتئاز همان‌طور که توسط Garcia-Carreno and Haard (1993) با استفاده از آزوکازئین دو درصد در Tris-HCL، pH =۷/۵، به‌عنوان سوبسترا شرح داده شده، مورد سنجش قرار گرفت.

فعالیت ویژهٔ آنزیم به‌عنوان واحد فعالیت در هر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه گزارش شد. فعالیت اختصاصی لیپاز با استفاده از نیتروفنیل مریستات به‌عنوان سوبسترا مورد سنجش قرار گرفت. هر سنجش (۰/۵ میلی‌لیتر) حاوی ۰/۵۳ میلی‌مولار پارا- نیتروفنیل‌مریستات، ۰/۲۵ میلی‌مولار ۲- متوکسی اتانول، ۵ میلی‌مولار سدیم کلات و ۰/۲۵ مولار (pH = ۹/۰) Tris-HCL بود. پس از انکوباسیون به‌مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۳۰ درجهٔ سانتی‌گراد، واکنش با افزودن ۰/۷ میلی‌لیتر استون/ n-هپتان (v/v، ۵:۲) خاتمه یافت. پس از هم‌زدن شدید، مخلوط در g ۶۰۸۰ دور به‌مدت ۲ دقیقه سانتریفیوژ شد و جذب نوری محلول آبی در طول موج ۴۰۵ نانومتر خوانش شد. واحد فعالیت آنزیم به‌صورت ۱ میکرومول n- نیتروفنول آزاد شده در هر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه بیان شد (Iijima *et al.*, 1998).

فعالیت آلفا-آمیلاز بر اساس Bernfeld (۱۹۵۵) با استفاده از نشاسته به‌عنوان سوبسترا تعیین شد. به‌طور خلاصه، عصارهٔ خام آنزیمی با محلول نشاسته (w/v ۱درصد) در بافر فسفات سدیم ۰/۰۲ مولار حاوی ۰/۰۰۶ مولار NaCl (pH= ۶/۹) به‌مدت ۴ دقیقه در دمای ۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد انکوبه شد. در نهایت، ۰/۵ میلی‌لیتر محلول دی‌نیتروسالیسیلیک اسید (DNS) (w/v ۱درصد) به آن اضافه گردید و به‌مدت ۵ دقیقه جوشانده شد و در دمای اتاق سرد گردید. جذب نوری پس از افزودن ۵ میلی‌لیتر آب مقطر به مخلوط نهایی خوانش شد و فعالیت ویژه آلفا- آمیلاز

[1]Weight Gain

به‌صورت میکرومول مالتوز تولید شده در هر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه در دمای ۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد بیان شد. میزان پروتئین محلول کل عصارهٔ خام براساس Bradford (1976) با استفاده از آلبومین سرم گاوی به‌عنوان استاندارد تعیین شد. تمام سنجش‌ها در سه تکرار انجام شد.

۸.۲. اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کبد

بافت‌های کبد ذخیره شده در دمای ۸۰- درجهٔ سانتی‌گراد روی یخ انجمادزدایی شدند. به بافت‌ها طبق دستورالعمل کیت، بافر لیز کننده اضافه و در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد و ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس مایع رویی به‌عنوان عصارهٔ خام جهت سنجش‌ها استفاده گردید. فعالیت سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، گلوتاتیون پراکسیداز و محتوای مالون‌دی‌آلدهید در کبد با استفاده از اسپکتروفتومتر یا نشانگر آنزیمی مطابق با مراحل کیت اندازه‌گیری شد (شرکت نوند سلامت، ارومیه، ایران).

۹.۲. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

تحلیل آماری داده‌ها به روش تجزیه واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخهٔ ۲۴ انجام شد. مقایسهٔ میانگین‌ها با استفاده از آزمون آماری توکی (Tukey) در سطح اطمینان ۹۵ درصد و سطح معنی‌داری $P<۰/۰۵$ صورت گرفت. قبل از انجام آزمون آنالیز واریانس، نرمال بودن توزیع داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف و همگنی واریانس‌ها به کمک آزمون لِوِن بررسی شد. نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel نسخهٔ ۲۰۱۳ ترسیم شدند. نتایج به‌صورت میانگین به‌همراه خطای استاندارد (Mean±SE) ارائه شدند.

۳. نتایج

۳. ۱. عملکرد رشد و شاخص‌های تغذیه

نتایج مربوط به عملکرد رشد و شاخص‌های تغذیه‌ای در جدول ۳ ارائه شده است. افزودن ترکیب ۱/۵ درصد عصاره‌های زردچوبه و آویشن شیرازی نرخ رشد روزانه در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان را نسبت به گروه شاهد افزایش داد ($P<۰/۰۵$). افزودن ترکیب ۰/۵ درصد عصاره‌های زردچوبه و آویشن شیرازی موجب افزایش کارایی خوراک در ماهی قزل‌آلا نسبت به گروه شاهد شد ($P<۰/۰۵$). عصاره‌های ۰/۵ و ۱/۵ درصد موجب افزایش ارزش تولیدی پروتئین و کاهش ارزش تولیدی چربی در ماهی قزل‌آلا نسبت به گروه شاهد شد ($P<۰/۰۵$). تیمار ۰/۵ درصد عصاره‌های گیاهی فاکتور وضعیت (ضریب چاقی) در ماهی قزل‌آلا را نسبت به گروه شاهد افزایش داد ($P<۰/۰۵$). افزودن ۰/۵ و ۱/۵ درصد عصاره‌های زردچوبه و آویشن شیرازی به جیرهٔ غذایی موجب افزایش معنی‌دار شاخص‌های کبدی و احشایی در ماهیان قزل‌آلا در مقایسه با گروه شاهد شد ($P<۰/۰۵$).

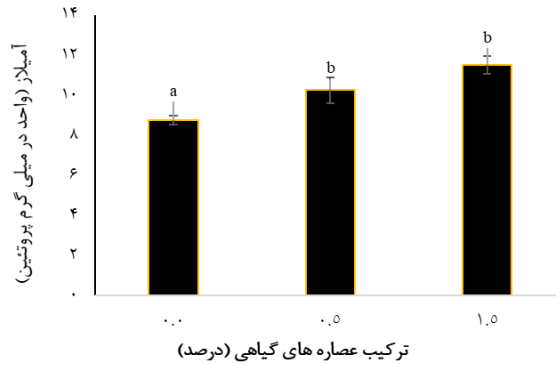
جدول ۳- اثر افزودن ترکیب عصاره‌های هیدروالکلی زردچوبه و آویشن شیرازی به خوراک بر عملکرد رشد و شاخص‌های تغذیه‌ای ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان

شاخص‌های رشد و تغذیه	شاهد	ترکیب ۰/۵ درصد عصاره‌های زردچوبه و آویشن شیرازی	ترکیب ۱/۵ درصد عصاره‌های زردچوبه و آویشن شیرازی
درصد افزایش وزن بدن	۲۳۸/۵۱ ± ۲/۲۸ [a]	۲۴۲/۷۱ ± ۰/۸۲ [a]	۲۴۵/۱۰ ± ۱/۲۷ [a]
ضریب رشد ویژه	۲/۰۴ ± ۰/۰۱ [a]	۲/۰۵ ± ۰/۰۰ [a]	۲/۰۶ ± ۰/۰۱ [a]
میانگین رشد روزانه	۳/۹۸ ± ۰/۰۴ [a]	۴/۰۶ ± ۰/۰۰ [ab]	۴/۱۲ ± ۰/۰۱ [b]
ضریب تبدیل غذایی	۰/۹۱ ± ۰/۰۰ [a]	۰/۹۰ ± ۰/۰۱ [a]	۰/۸۸ ± ۰/۰۱ [a]
کارایی تبدیل غذا	۱/۰۹ ± ۰/۰۰ [a]	۱/۱۵ ± ۰/۰۱ [b]	۱/۱۲ ± ۰/۰۰ [ab]
نسبت کارایی پروتئین	۲/۲۰ ± ۰/۰۱ [a]	۲/۲۲ ± ۰/۰۱ [a]	۲/۲۵ ± ۰/۰۱ [a]
ارزش تولیدی پروتئین	۰/۳۶ ± ۰/۰۰ [a]	۰/۴۱ ± ۰/۰۱ [b]	۰/۴۱ ± ۰/۰۱ [b]
نسبت کارایی چربی	۶/۵۶ ± ۰/۰۳ [a]	۶/۶۱ ± ۰/۰۳ [a]	۶/۶۹ ± ۰/۰۴ [a]
ارزش تولیدی چربی	۰/۵۴ ± ۰/۰۰ [c]	۰/۳۸ ± ۰/۰۱ [a]	۰/۴۹ ± ۰/۰۱ [b]
فاکتور وضعیت	۱/۰۷ ± ۰/۰۱ [a]	۱/۱۱ ± ۰/۰۱ [b]	۱/۰۸ ± ۰/۰۰ [a]
شاخص کبدی	۰/۹۲ ± ۰/۰۰ [a]	۰/۹۷ ± ۰/۰۰ [b]	۱/۰۹ ± ۰/۰۰ [c]
شاخص احشایی	۷/۴۰ ± ۰/۰۱ [a]	۷/۹۷ ± ۰/۰۰ [b]	۸/۷۹ ± ۰/۰۱ [c]

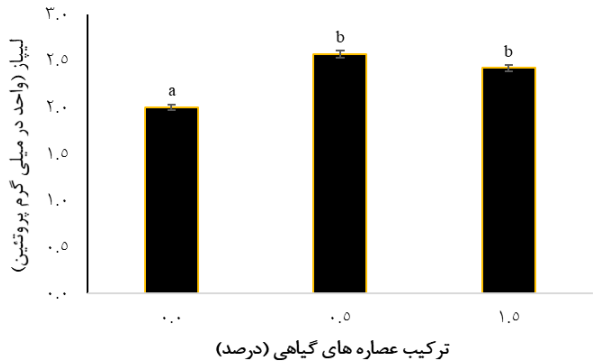
* اعداد با حروف کوچک متفاوت در بالای اعداد در هر ردیف نشان‌دهندهٔ اختلاف آماری معنی‌دار است ($P<۰/۰۵$).

فعالیت ویژهٔ آنزیم‌های گوارشی آمیلاز، لیپاز و پروتئاز در نمودارهای شکل‌های ۱، ۲ و ۳ نشان داده شده است. میزان فعالیت آنزیم آمیلاز در گروه تغذیه شده با ترکیب ۱/۵ و ۰/۵ درصد عصاره‌های گیاهی زردچوبه و آویشن شیرازی اختلاف

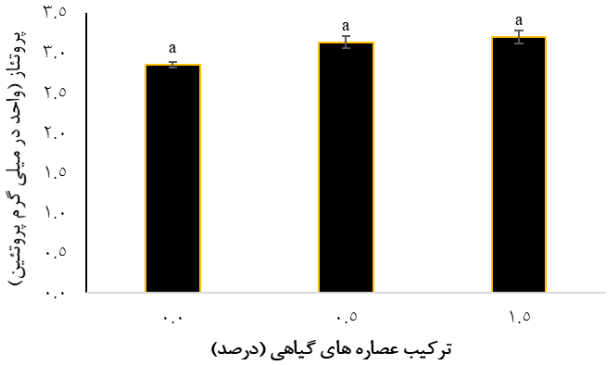
آماری معنی‌داری را با گروه شاهد نشان داد ($P<۰/۰۵$)، به‌طوری که تیمار حاوی ۱/۵ درصد عصارهٔ گیاهی از بالاترین میزان فعالیت آنزیمی برخوردار بود (نمودار شکل ۱). فعالیت لیپاز هر دو گروه ماهیان تغذیه شده با خوراک حاوی ۰/۵ و ۱/۵ درصد عصاره‌های گیاهی به‌طور معنی‌داری بالاتر از گروه شاهد بود ($P<۰/۰۵$) و تیمار حاوی ۰/۵ درصد عصاره‌های گیاهی بیشترین میزان فعالیت را نشان داد (نمودار شکل ۲). ترکیب عصاره‌های گیاهی تأثیر معنی‌داری بر فعالیت آنزیم پروتئاز نداشت ($P>۰/۰۵$) (نمودار شکل ۳).



شکل ۱. نمودار اثرات ترکیب عصاره‌های هیدروالکلی زردچوبه و آویشن شیرازی بر فعالیت ویژهٔ آنزیم گوارشی آمیلاز در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان. مقادیر به‌صورت Mean±SE ارائه شده‌اند. حروف کوچک متفاوت اختلاف آماری معنی‌دار را نشان می‌دهد ($P<۰/۰۵$).



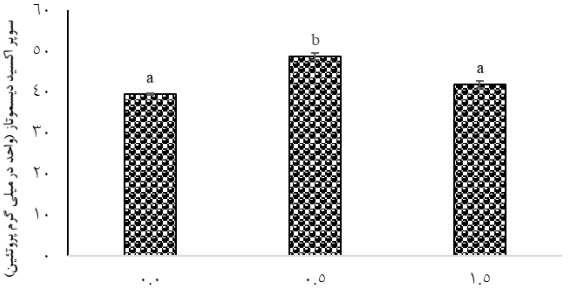
شکل ۲. نمودار اثرات ترکیب عصاره‌های هیدروالکلی زردچوبه و آویشن شیرازی بر فعالیت ویژهٔ آنزیم گوارشی لیپاز در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان. مقادیر به‌صورت Mean±SE ارائه شده‌اند. حروف کوچک متفاوت اختلاف آماری معنی‌دار را نشان می‌دهد ($P<۰/۰۵$).



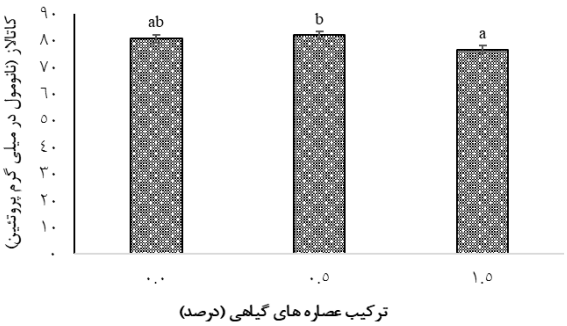
شکل ۳. نمودار اثرات ترکیب عصاره‌های هیدروالکلی زردچوبه و آویشن شیرازی بر فعالیت ویژهٔ آنزیم گوارشی پروتئاز در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان. مقادیر به‌صورت Mean±SE ارائه شده‌اند. حروف کوچک متفاوت اختلاف آماری معنی‌دار را نشان می‌دهد ($P<۰/۰۵$).

نتایج مربوط به فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز کبد ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان (نمودار شکل ۴) حاکی از وجود اختلاف آماری معنی‌دار میان تیمار حاوی ۰/۵ درصد عصاره‌های گیاهی با تیمار شاهد بود ($P<۰/۰۵$). افزودن ۰/۵ و ۱/۵ درصد عصاره‌های گیاهی به جیرهٔ غذایی به‌طور قابل توجهی موجب افزایش فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در مقایسه با گروه شاهد شد و بیش‌ترین میزان فعالیت مربوط به تیمار حاوی ۰/۵ درصد عصاره‌های گیاهی بود ($P<۰/۰۵$) (نمودار شکل ۵). ترکیب عصاره‌های گیاهی تأثیر بر فعالیت کاتالاز نسبت به گروه شاهد نداشت ($P>۰/۰۵$) و تیمار حاوی ۰/۵ درصد عصاره گیاهی فعالیت آنزیمی بیشتری را نسبت به تیمار حاوی ۱/۵ درصد عصاره گیاهی نشان داد که این اختلاف

معنی‌دار بود ($P<۰/۰۵$) (نمودار شکل ۶). کاهش معنی‌دار محتوای مالون‌دی‌آلدهید در کبد ماهی قزل‌آلای رنگین تغذیه شده با خوراک حاوی سطوح مختلف عصاره‌های گیاهی در مقایسه با گروه شاهد مشاهده گردید ($P<۰/۰۵$)، به‌طوری‌که

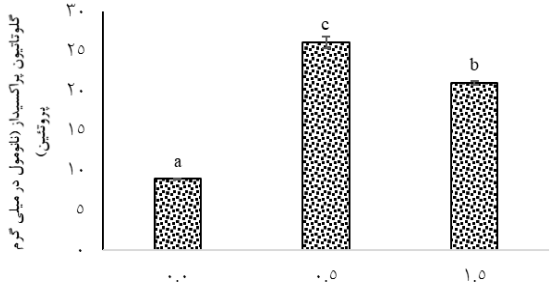


شکل ۴. نمودار اثرات ترکیب عصاره‌های هیدروالکلی زردچوبه و آویشن شیرازی بر فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز کبد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان. مقادیر به‌صورت Mean±SE ارائه شده‌اند. حروف کوچک متفاوت اختلاف آماری معنی‌دار را نشان می‌دهد ($P<۰/۰۵$).

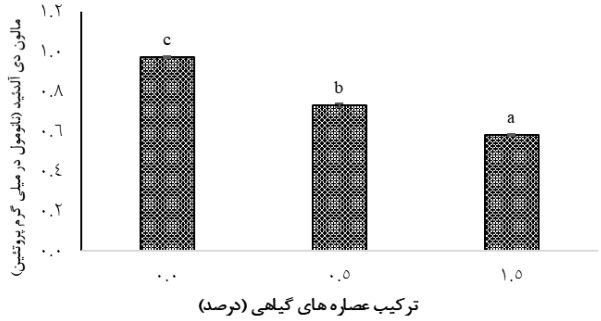


شکل ۶. نمودار اثرات ترکیب عصاره‌های هیدروالکلی زردچوبه و آویشن شیرازی بر فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی کاتالاز کبد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان. مقادیر به‌صورت Mean±SE ارائه شده‌اند. حروف کوچک متفاوت اختلاف آماری معنی‌دار را نشان می‌دهد ($P<۰/۰۵$).

ماهیان تغذیه شده با تیمار حاوی ۱/۵ درصد عصارهٔ گیاهی کمترین میزان فعالیت این آنزیم آنتی اکسیدانی را نمایش دادند (نمودار شکل ۷).



شکل ۵. نمودار اثرات ترکیب عصاره‌های هیدروالکلی زردچوبه و آویشن شیرازی بر فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز کبد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان. مقادیر به‌صورت Mean±SE ارائه شده‌اند. حروف کوچک متفاوت اختلاف آماری معنی‌دار را نشان می‌دهد ($P<۰/۰۵$).



شکل ۷. نمودار اثرات ترکیب عصاره‌های هیدروالکلی زردچوبه و آویشن شیرازی بر محتوای مالون‌دی‌آلدهید کبد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان. مقادیر به‌صورت Mean±SE ارائه شده‌اند. حروف کوچک متفاوت اختلاف آماری معنی‌دار را نشان می‌دهد ($P<۰/۰۵$).

۴. بحث و نتیجه گیری نهایی

آبزی‌پروری به‌عنوان یک جزء مهم در بخش امنیت غذایی شناخته می‌شود (Abdel-tawwab and Abbass, 2017). افزودن گیاهان دارویی به جیرهٔ غذایی یکی از راه‌های تقویت رشد و سلامت آبزیان و پیشگیری از بیماری است (Zhou *et al.*, 2022). در این مطالعه، شاخص میانگین رشد روزانه با مکمل‌سازی ۱/۵ درصد عصاره‌های گیاهی در جیرهٔ غذایی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت، که می‌تواند به‌دلیل بهبود هضم و جذب مواد مغذی باشد. این یافته از طریق افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های گوارشی به‌ویژه آمیلاز و لیپاز در گروه دریافت کنندهٔ عصارهٔ گیاهان مورد مطالعه قابل توجیه باشد. همچنین کارایی خوراک، فاکتور وضعیت (ضریب چاقی) و ارزش تولیدی پروتئین در ماهیان تغذیه شده با خوراک حاوی عصاره گیاهان به‌طور قابل توجهی افزایش یافت.

Azizi و همکاران (۲۰۱۶) در بررسی اثر جیرهٔ غذایی حاوی اسانس آویشن با مقادیر ۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۷۵۰ میلی‌گرم اسانس در هر کیلوگرم جیره‌ی غذایی بر عملکرد رشد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان اعلام نمودند که میان تیمارهای حاوی اسانس آویشن و گروه شاهد تفاوت معنی‌داری از لحاظ شاخص‌های

رشد شامل درصد افزایش وزن، ضریب تبدیل غذایی و نرخ رشد ویژه وجود ندارد که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد. همچنین، Bilen و همکاران (۲۰۱۱) در بررسی اثر نیم و یک درصد پودر تترا (*Cotinus coggyria*) حل شده در آب بر ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان از نظر سرعت رشد ویژه ماهی و میانگین وزن تفاوت معنی‌داری مشاهده نکردند، که همسو با نتایج تحقیق حاضر است، تفاوت در نتایج حاصل ممکن است به میزان عصارهٔ مورد استفاده، طول مدت تغذیه، گونه و شرایط فیزیولوژیکی آبزی بستگی داشته باشد (Can *et al*., 2012). در پژوهشی با هدف بررسی تأثیر مقادیر ۰/۵، ۱ و ۲ گرم عصارهٔ انجیر و رزماری بر کیلوگرم جیرهٔ غذایی در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (میانگین وزن اولیه ۰/۱۵±۱۲/۴۷) مشخص شد که افزودن عصارهٔ انجیر و عصارهٔ رزماری تأثیر مثبتی بر رشد و نمو و مصرف خوراک نداشت، اما افزودن عصارهٔ انجیر و عصارهٔ رزماری به خوراک باعث افزایش شاخص سوماتیک طحال و کاهش شاخص‌های احشایی و کبدی شد (Yilmaz and Murat, 2019). در مطالعهٔ حاضر شاخص احشایی و شاخص کبدی افزایش یافت که تفاوت در یافته‌های حاصل از این عامل را شاید بتوان به ترکیبات مختلف گیاهان استفاده شده در جیره‌های غذایی نسبت داد که فعالیت آنزیم‌های گوارشی را نیز افزایش داده و منجر به تأثیرگذاری بر سوخت و ساز چربی شده است (Nwachukwu and Ohiri, 2012).

Ahmadifar و همکاران (۲۰۱۸) گزارش دادند که هشت گرم پودر گیاه آویشن و مرزه (*Satureja hortensis*) در هر کیلوگرم جیرهٔ غذایی منجر به افزایش شاخص وضعیت در کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) شد، که با یافته‌های پژوهش حاصل در مورد تأثیر ترکیب ۰/۵ درصد عصاره‌های آویشن شیرازی و زردچوبه بر شاخص وضعیت ماهیان آزمایشی همخوانی دارد. میزان ۱۵ گرم بر کیلوگرم مکمل گیاهی زنجبیل و رازیانه منجر به افزایش میزان رشد روزانه، افزایش نرخ تولید پروتئین (PPV) و کاهش نرخ تولید چربی (LPV) در ماهی کفال خاکستری (*Mugil cephalus*) شد (Akbary and Negahdari Jafarbeigi, 2016). نتایج این مطالعهٔ اخیر با نتایج پژوهش حاضر در مورد ترکیب ۱/۵ درصد عصاره‌های گیاهی بر میزان رشد روزانه و هر دو تیمار حاوی ۰/۵ و ۱/۵ درصد ترکیب عصاره‌ها بر شاخص‌های تغذیه‌ای شامل نرخ تولید پروتئین و چربی همسو بود. محتوای پروتئین بدن در ماهی‌های قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با ۲/۵-۱/۵ گرم تیمول بر کیلوگرم جیرهٔ غذایی افزایش یافت (Hafsan *et al*., 2022)، که با یافته‌های پژوهش حاضر مطابقت دارد. افزایش نرخ تولید پروتئین و کاهش نرخ تولید چربی در مطالعهٔ حاضر می‌تواند به‌دلیل آثار متابولیکی ترکیبات زیست‌فعال مختلف موجود عصاره‌ها از جمله فلاونوئیدها، فنولیک‌ها، ترپنوئیدها، تیمول، کارواکرول، کورکومین، اسید فرولیک و غیره بر موجود هدف باشد (Raissy *et al*., 2022).

Mahmoud و همکاران (۲۰۱۷) اثر روزانه کورکومین بر رشد ماهی تیلاپیای نیل در دوزهای ۵۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم کورکومین به‌ازای هر کیلوگرم در جیرهٔ غذایی را بررسی کردند. آن‌ها دریافتند که ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کورکومین اضافه شده به جیرهٔ غذایی باعث افزایش نرخ رشد ویژه و نرخ بقاء می‌شود و در عین حال FCR و مرگ و میر را کاهش می‌دهد. در مطالعه‌ای Sonmez و همکاران (۲۰۱۵) دریافتند که درصد افزایش وزن و نرخ رشد ویژه در بچه‌ماهی‌های قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با جیره‌های حاوی اسانس مریم گلی و آویشن به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از گروه شاهد بود در حالی‌که، ماهیانی که با خوراک حاوی اسانس نعناع تغذیه شده بودند، کمترین بود. ضریب تبدیل خوراک نیز در گروه‌های تغذیه شده با جیرهٔ غذایی حاوی اسانس نعناع به‌طور معنی‌داری بالاتر بود. این یافته‌ها با نتایج مطالعهٔ حاضر مغایرت دارد. اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های گوارشی ماهی (آمیلاز، لیپاز و پروتئاز) یک شاخص مهم منعکس‌کنندهٔ عملکرد فیزیولوژیکی ماهی است که می‌تواند نشان از قابلیت جذب و استفاده از مواد مغذی خوراک از سوی ماهی باشد (Zhou *et al*., 2022). در این مطالعه، ترکیب عصاره‌ها موجب افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های آمیلاز (تیمار ۱/۵ درصد دارای بالاترین سطح فعالیت بود) و لیپاز (تیمار ۰/۵ درصد دارای بالاترین سطح فعالیت بود) در بافت پیلوریک ماهی قزل‌آلا گردید. فعالیت آنزیم پروتئاز نیز در دو سطح عصارهٔ گیاهی نسبت به گروه شاهد افزایش یافت، اما معنی‌دار نبود. Hafsan و همکاران (۲۰۲۲) افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی پروتئاز و لیپاز در ماهی‌های قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با ۲/۵ گرم تیمول بر کیلوگرم جیرهٔ غذایی را گزارش کردند که با افزایش فعالیت آنزیم لیپاز در مطالعهٔ حاضر مطابقت دارد. افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی نسبت به گروه شاهد را می‌توان نشان‌دهندهٔ تأثیر مثبت این ترکیبات بر فرآیند گوارش مواد مغذی در دستگاه گوارش دانست (Rashidian *et al*., 2020). مکمل ۱، ۳ و ۵ درصدی

گیاهان دارویی چینی تخمیر شده در ماهی باس دهان‌بزرگ (*Micropterus salmoides*) موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی پروتئاز، آمیلاز و لیپاز نسبت به گروه شاهد شد (Zhou *et al*., 2022)، که با یافته‌های مطالعهٔ حاضر همسو می‌باشد. همچنین، جیرهٔ غذایی حاوی ۵ گرم کورکومین بر کیلوگرم خوراک موجب افزایش فعالیت تریپسین، لیپاز و آمیلاز در ماهی طلایی (*Carassius auratus*) گردید (Jiang *et al*., 2016). این نتایج نشان می‌دهند که مواد مؤثره گیاهی نظیر کورکومین ممکن است سبب بهبود گوارش مواد مغذی شده باشد. همچنین، این ترکیبات ممکن است موجب محافظت از بافت لوزالمعده در برابر شرایط استرس اکسیداتیو ناشی از شرایط پرورش و در نتیجه افزایش ساخت/ترشح آنزیم‌های گوارشی گردند. برای مثال، کورکومین موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بافت هپاتوپانکراس و همچنین کاهش محتوای مالون‌دی‌آلدهید ماهی طلایی گردید (Jiang *et al*., 2016)، که مشابه نتایج مطالعهٔ حاضر در خصوص میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی بافت کبد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بود.

در مطالعهٔ حاضر، سطح ۰/۵ درصد ترکیب عصاره‌های زردچوبه و آویشن شیرازی فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز کبد را به‌طور معنی‌دار افزایش داد. می‌توان فرض کرد که افزایش فعالیت این آنزیم در طول دورهٔ آزمایشی ممکن است به تولید افزایش یافته آنیون‌های سوپراکسید بسیار واکنش‌پذیر مرتبط با رشد نسبت داده شود (Gupta *et al*., 2018). پراکسید هیدروژن (H_2O_2) محصول جانبی مضر بسیاری از فرآیندهای متابولیک طبیعی است، که برای جلوگیری از آسیب به سلول‌ها و بافت‌ها، باید به سرعت به ترکیبات کم‌خطر تبدیل شود. برای این منظور، آنزیم کاتالاز اغلب توسط سلول‌ها برای کاتالیز سریع تجزیه آن استفاده می‌شود (Gaetani *et al*., 1996). در مطالعهٔ حاضر ترکیب عصاره‌های گیاهی تأثیر معنی‌داری بر فعالیت کاتالاز نسبت به گروه شاهد نداشت که با یافته‌های Kermani و همکاران (۲۰۲۰) در ارتباط با پاسخ‌های فیزیولوژیکی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با جیره‌های غذایی حاوی عصارهٔ متانولی اسپیرولینا، همخوانی داشت. Sonmez و همکاران (۲۰۱۵) دریافتند که استفاده از اسانس نعناع بر فعالیت آنزیم کاتالاز تأثیر نمی‌گذارد که با یافتهٔ پژوهش حاضر مطابقت دارد. تغییر در فعالیت برخی از آنزیم‌ها احتمالاً منعکس‌کنندهٔ سازگاری با شرایط پرورش و ترکیبات جیرهٔ غذایی است (Bastrop *et al*., 1991). آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز احیای H_2O_2 و پراکسیدهای چربی‌ها را کاتالیز می‌کند. در مطالعهٔ حاضر فعالیت این آنزیم در بافت کبد ماهی‌ها افزایش یافت. بنابراین، به‌نظر می‌رسد که آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز ممکن است مسئول اصلی سم‌زدایی H_2O_2 باشد (Sonmez *et al*., 2015). مالون‌دی‌آلدهید متابولیت پراکسیداسیون چربی‌ها تحت تأثیر رادیکال‌های آزاد در بافت‌ها/بدن موجودات زنده است و سطوح بالاتر مالون‌دی‌آلدهید واکنش‌های پراکسیداسیون بالاتر در بدن را نشان می‌دهد (Yu *et al*., 2019). در مطالعهٔ حاضر، محتوای مالون‌دی‌آلدهید کبد ماهیان تغذیه شده با خوراک حاوی ۱/۵ درصد عصاره، کاهش قابل توجهی داشت. تیمول در سطوح ۲/۵-۱/۵ گرم به‌طور قابل توجهی موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کبد (سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز) و کاهش محتوای مالون‌دی‌آلدهید در مقایسه با سایر گروه‌های آزمایشی شد (Hafsan *et al*., 2022) که با نتایج مطالعهٔ حاضر مطابقت دارد. استفاده از داروهای گیاهی چینی تخمیر شده در خوراک ماهی باس دهان‌بزرگ (*Micropterus salmoides*) سطح مالون‌دی‌آلدهید کبد را کاهش داد (Zhou *et al*., 2022)، که با یافتهٔ پژوهش حاضر همخوانی داشت.

۵. نتیجه‌گیری نهایی

به‌طور کلی، افزودن ترکیب عصارهٔ زردچوبه و آویشن شیرازی به خوراک ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان موجب بهبود برخی شاخص‌های رشد و کارایی تغذیهٔ ماهیان شامل نرخ رشد روزانه، کارایی خوراک، ارزش تولیدی پروتئین و ضریب چاقی شد. فعالیت آنزیم‌های آمیلاز و لیپاز در زوائد پیلوریک ماهیان افزایش یافت که می‌تواند سبب بهبود گوارش مواد مغذی (منابع تأمین کننده انرژی شامل کربوهیدرات‌ها و چربی‌ها) گردد. همچنین، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کبد شامل سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز به‌طور قابل توجهی افزایش یافت، که خود سبب کاهش محتوای مالون‌دی‌آلدهید کبد ماهیان تغذیه شده با خوراک حاوی ترکیب عصاره‌های گیاهی نسبت به گروه شاهد شد. بنابراین با توجه به تأثیر مثبت هر دو سطح ترکیب عصاره‌های گیاهی زردچوبه و آویشن شیرازی در برخی از شاخص‌های مورد بررسی در این پژوهش، استفاده از سطح ۰/۵ درصد ترکیب عصاره‌های مذکور برای بهبود عملکرد فیزیولوژیک در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به‌ویژه در شرایط پرورشی متراکم و پر استرس پیشنهاد

می‌گردد. با این وجود، بررسی‌های میدانی و در سطح مزرعه، پیش از هر گونه کاربرد تجاری این یافته‌ها ضروری است.

۶. منابع

References

Abd El-Naby, A.S., Al-Sagheer, A.A., Negm, S.S., Naiel, M.A., 2020. Dietary combination of chitosan nanoparticle and thymol affects feed utilization, digestive enzymes, antioxidant status, and intestinal morphology of *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture* 515, 734577. DOI: 10.1016/j. aquaculture.2019.734577.

Abdel-Tawwab, M., Abbass, F.E., 2017. Turmeric powder, Curcuma longa L., in common carp, *Cyprinus carpio* L., diets: growth performance, innate immunity, and challenge against pathogenic *Aeromonas hydrophila* infection. *Journal of the World Aquaculture Society* 48(2), 303-312. DOI: 10.1111/jwas.12349.

Ahmadifar, E., Enayat Gholampour, T., Shahriari Moghadam, M., Moghaddamfar, S., Messaoudi, E., 2018. Study of Herbal Feed Supplement (contains Zataria and Satureja powder) on Growth Performance, Survival Rate, Biochemical Blood Characteristics and Body Composition in Common Carp (*Cyprinus carpio*). *Journal of Fisheries (Iranian Journal of Natural Resources)* 70(4), 424-434. (In Persian) DOI: 10.22059/JFISHERIES.2018.243895.1000.

Akbary, P., Negahdari Jafarbeigi, Y., 2016. Effect of different levels of bioherbal feed supplement (contains *Foeniculum vulgare* and *Zingiber officinale* powder) on growth, feed and carcase composition in *Mugil cephalus*. *Veterinary Research & Biological Products* 29(3), 10-18. (In Persian) DOI: 10.22034/VJ.2016.106292.

Azizi, E., Yeganeh, S., Firouzbakhsh, F., Janikhalili, K., 2016. Effects of dietary Supplemental thyme essence (*Thymus vulgaris* L.) on growth, hematological and serum biochemical parameters of Rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792). *Journal of Applied Ichthyological Research* 4(2), 45-61. (In Persian)

Bastrop, R., Spangenberg, R., Jurss, K., 1991. Biochemical adaptation of juvenile carp (*Cyprinus carpio* L.) to food deprivation. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology* 98(1): 143-149. DOI: 10.1016/0300-9629(91)90592-Z

Bernfeld, P., 1955. Amylase. In: Colowick, S.P., Kaplan, N.O. (Eds.), Methods in Enzymology. *Academic Press, New York* 149-158. DOI: 10.1016/0076-6879(55)01021-5

Bilen, S., Bulut, M., Bilen, A.M., 2011. Immunostimulant effects of *Cotinus coggyria* on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish & Shellfish Immunology* 30(2), 451-455. DOI: 10.1016/j.fsi.2010.12.013

Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72, 248-254. DOI: 10.1006/abio.1976.9999

Can, E., Kurtoglu, I. Z., Benzer, F., Erişir, M., Kocabaş, M., Kizak, V., Kayim, M., Çelik, H.T., 2012. The effects of different dosage of kefir with different durations on growth performances and antioxidant system in the blood and liver tissues of Çoruh trout (*Salmo coruhensis*). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 12(2), 277-283. DOI: 10.4194/1303-2712-v12_2_12

Dorojan, O.G.V., Cristea, V., Crețu, M., Dediu, L., Docan, A. I., Coada, M.T., 2015. The effect of thyme (*Thymus vulgaris*) and vitamin E on the Acipenser stellatus juvenile welfare, reared in a recirculating aquaculture. *Aquaculture, Aquarium, Conservation & Legislation Bioflux* 8(2), 150-158.

Elabd, H., Wang, H.P., Shaheen, A., Yao, H., Abbass, A., 2016. Astragalus membranaceus (AM) enhances growth performance and antioxidant stress profiles in bluegill sunfish (*Lepomis macrochirus*). *Fish Physiology and Biochemistry* 42, 955-966. DOI: 10.1007/s10695-015-0188-9

Francis, G., Makkar, H.P.S., Becker, K., 2001. Effects of Quillaja saponins on growth, metabolism, egg production and muscle cholesterol in individually reared Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology* 129(2), 105-114. DOI: 10.1016/s1532-0456(01)00189-2

Gaetani, G.F., Ferraris, A.M., Rolfo, M., Mangerini, R., Arena, S., Kirkman, H.N., 1996. Predominant role of catalase in the disposal of hydrogen peroxide within human erythrocytes. *Blood Journal* 87(4), 1595-1599.

Garcia-Carreno, F.L., Haard, N.F., 1993. Characterization of proteinase classes in Langostilla (*pleuroncodesplanipes*) and crayfish (*Pacifastacus astacus*) extracts. *Journal of Food Biochemistry* 17(2), 97-113.

Gupta, D. K., Palma, J. M., Corpas, F. J., 2018. Antioxidants and antioxidant enzymes in higher plants. Berlin: *Springer International Publishing*.

Hafsan, H., Saleh, M.M., Zabibah, R.S., Obaid, R.F., Jabbar, H.S., Mustafa, Y.F., Sultan, M.O., Gabr, G.A., Ramirez-Coronel, A.A., Khodadadi, M., Dadras, M., 2022. Dietary thymol improved growth, body composition, digestive enzyme activities, hematology, immunity, antioxidant defense, and resistance to Streptococcus iniae in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture Nutrition* 2022. DOI: 10.1155/2022/3288139

Iijima, N., Tanaka, S., Ota, Y., 1998. Purification and characterization of bile salt-activated lipase from the hepatopancreas of red sea bream, *Pagrus major*. *Fish physiology and Biochemistry* 18, 59-69. DOI: 10.1023/A:1007725513389

Jiang, J., Wu, X. Y., Zhou, X. Q., Feng, L., Liu, Y., Jiang, W. D., Wu, P., Zhao, Y., 2016. Effects of dietary curcumin supplementation on growth performance, intestinal digestive enzyme activities and antioxidant capacity of crucian carp *Carassius auratus*. *Aquaculture* 463, 174-180. DOI: 10.1016/j.aquaculture .2016.05.040

John, S., Kale, M., Rathore, N., Bhatnagar, D., 2001. Protective effect of vitamin E in dimethoate and malathion induced oxidative stress in rat erythrocytes. *The Journal of nutritional biochemistry* 12(9), 500-504. DOI: 10.1016/s0955-2863(01)00160-7

Kermani, P., Babaei, S., Abedian-Kenari, A., Hedayati, M., 2020. Growth performance, plasma parameters and liver antioxidant enzymes activities of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) juvenile fed on Spirulina platensis extract. *Iranian Journal of Fisheries Sciences* 19(3), 1463-1478. DOI: 10.22092/ijfs.2019. 120209

Khalil, S.R., Abd Elhakim, Y., Abd El-fattah, A.H., Farag, M.R., Abd El-Hameed, N.E., EL-Murr, A.E., 2020. Dual immunological and oxidative responses in *Oreochromis niloticus* fish exposed to lambda cyhalothrin and concurrently fed with Thyme powder (*Thymus vulgaris* L.): Stress and immune encoding gene expression. *Fish & Shellfish Immunology* 100, 208-218. DOI: 10.1016/j.fsi.2020.03.009

Lemieux, H., Blier, P., Dutil, J.D., 1999. Do digestive enzymes set a physiological limit on growth rate and food conversion efficiency in the Atlantic cod (*Gadus morhua*)? *Fish Physiology and Biochemistry* 20, 293-303. DOI: 10.1023/A:1007791019523

Lovell, R.T., 2002. Diet and fish husbandry. In: Fish Nutrition. J.E. Halver and R.W. Hardy (eds.), 3rd edition. London: *Academic Press* 703-754.

Mahmoud, H.K., Al-Sagheer, A.A., Reda, F.M., Mahgoub, S.A., Ayyat, M.S., 2017. Dietary curcumin supplement influence on growth, immunity, antioxidant status, and resistance to *Aeromonas hydrophila* in *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture* 475, 16-23. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2017.03.043

Mohiseni, M., Sadeghian, M., Nematdust Haghi, B., Bagheri, D., 2019. Effects of dietary Shirazi thyme (*Zataria multiflora* Boiss) and vitamin E on growth and biochemical parameters in common carp (*Cyprinus carpio*). *Iranian Journal of Fisheries Sciences* 18(3), 517-530. DOI: 10.22092/ijfs.2019.118350

Moosavi, L., Mazloom, Z., Mokhtari, M., Mohammadi Sartang, M., Mahmoodi, M., 2020. Comparison of the Effects of Combination of Turmeric, Ginger and Cinnamon Hydroalcoholic Extracts with Metformin on Body Weight, Glycemic Control, Inflammation, Oxidative Stress and Pancreatic Histopatalogical Changes in Diabetic Rat. *International Journal of Nutrition Sciences* 5(2), 57-64. DOI: 10.30476/IJNS.2020.86516.1069

Nwachukwu, N., OHIRI, R., 2012. Effect of chronic intake of *Zingiber officinale* (ginger) enriched diet on the gastrointestinal sections of albino rats. *African Journal of Food Science* 6(12), 330-334. DOI: 10.5897/ AJFS11.105

Petterson, D.S., Choct, M., Rayner, C.J., Harris, D.J., Blakeney, A.B., 1999. Methods for the analysis of premium livestock grains. *Australian Journal of Agricultural Research* 50(5), 775-788.

Poolsawat, L., Yu, Y., Li, X., Zhen, X., Yao, W., Wang, P., Leng, X., 2022. Efficacy of phytogenic extracts on growth performance and health of tilapia (*Oreochromis niloticus*× *O. aureus*). *Aquaculture and Fisheries* 7(4), 411-419. DOI: 10.1016/j.aaf.2020.08.009

Raissy, M., Ghafarifarsani, H., Hoseinifar, S. H., El-Haroun, E. R., Naserabad, S. S., Van Doan, H., 2022. The effect of dietary combined herbs extracts (oak acorn, coriander, and common mallow) on growth, digestive enzymes, antioxidant and immune response, and resistance against Aeromonas hydrophila infection in common carp, *Cyprinus carpio*. *Aquaculture* 546, 737287. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2021.737287

Rashidian, G., Bahrami Gorji, S., Farsani, M. N., Prokić, M. D., Faggio, C., 2020. The oak (*Quercus brantii*) acorn as a growth promotor for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): growth performance, body composition, liver enzymes activity and blood biochemical parameters. *Natural Product Research* 34(17), 2413-2423. DOI: 10.1080/14786419.2018.1538994

Sengul, T., Yurtseven, S., Cetin, M., Kocyigit, A., Sogut, B., 2008. Effect of thyme (*T. vulgaris*) extracts on fattening performance, some blood parameters, oxidative stress and DNA damage in Japanese quails. *Journal of Animal and Feed Sciences* 17(4), 608-620. DOI: 10.22358/jafs/66689/2008

Sonmez, A.Y., Bilen, S., Alak, G., Hisar, O., Yanık, T., Biswas, G., 2015. Growth performance and antioxidant enzyme activities in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) juveniles fed diets supplemented with sage, mint and thyme oils. *Fish physiology and biochemistry* 41, 165-175. DOI: 10.1007/s10695-014-0014-9

Wakte, P.S., Sachin, B.S., Patil, A.A., Mohato, D.M., Band, T.H., Shinde, D.B., 2011. Optimization of microwave, ultra-sonic and supercritical carbon dioxide assisted extraction techniques for curcumin from *Curcuma longa*. *Separation and purification technology* 79(1), 50-55. DOI: 10.1016/j.seppur.2011.03.010

Yang, J., Hong, J., Fu, Z., Ma, Z., 2022. Effects of dietary curcumin on growth and digestive physiology of *Seriola dumerili*. *Frontiers in Marine Science* 9, 862379. DOI: 10.3389/fmars.2022.862379

Yilmaz, E., Murat, E.R., 2019. Effects of figs and rosemary extracts on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) on growth performance and blood parameters. *Acta Aquatica Turcica* 15(1), 19-25. DOI: 10.22392/ egirdir.429630

Yu, H., Zhang, C., Zhang, X., Wang, C., Li, P., Liu, G., Yan, X., Xiong, X., Zhang, L., Hou, J., Liu, S., Ji, H., 2020. Dietary nano-selenium enhances antioxidant capacity and hypoxia tolerance of grass carp *Ctenopharyngodon idella* fed with high-fat diet. *Aquaculture Nutrition* 26(2), 545-557. DOI: 10.1111/anu. 13016

Zaki, M.A., Labib, E.M., Nour, A.M., Tonsy, H.D., Mahmoud, S.H., 2012. Effect some medicinal plants diets on mono sex Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), growth performance, feed utilization and physiological parameters. *APCBEE Procedia* 4, 220-227. DOI: 10.1016/j.apcbee.2012.11.037

Zhang, B., Li, C., Wang, X., Zhou, H., Mai, K., He, G., 2019. The effects of dietary *Eucommia ulmoides* Oliver on growth, feed utilization, antioxidant activity and immune responses of turbot (*Scophthalmus maximus* L.). *Aquaculture Nutrition* 25(2), 367-376. DOI: 10.1111/anu.12862

Zhang, C.X., Huang, F., Li, J., Wang, L., Song, K., Mai, K.S., 2016. Interactive effects of dietary magnesium and vitamin E on growth performance, body composition, blood parameters and antioxidant status in Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*) fed oxidized oil. *Aquaculture Nutrition* 22(3), 708-722. DOI: 10.1111/anu.12393

Zhou, X., Wang, Y., Yu, J., Li, J., Wu, Q., Bao, S., Jiang, L., Liu, B., 2022. Effects of dietary fermented Chinese herbal medicines on growth performance, digestive enzyme activity, liver antioxidant capacity, and intestinal inflammatory gene expression of juvenile largemouth bass (*Micropterus salmoides*). *Aquaculture Reports* 25, 101269. DOI: 10.1016/j.aqrep.2022.101269