



دانشگاه گنبد کاووس

نشریه "پژوهش‌های ماهی شناسی کاربردی"
دوره پنجم، شماره چهارم، زمستان ۹۶
<http://jair.gonbad.ac.ir>

تأثیر سطوح مختلف پودر نعناع فلفلی (*Mentha piperita*) بر عملکرد رشد و برخی پارامترهای ایمنی در موکوس پوست ماهی کلمه (*Rutilus caspicus* (Yakovlev, 1870)

سهیلا رستگاری^{*}، عبدالجید حاجی مرادلو^۱ و حامد پاکنژاد^۲

^۱دانشآموخته کارشناسی ارشد تکثیر و پرورش آبزیان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
^۲استاد گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
آستانهای گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

تاریخ ارسال: ۹۵/۰۴/۱۹، تاریخ پذیرش: ۹۵/۰۴/۰۲

چکیده

هدف از این مطالعه ارزیابی تأثیر جیره‌های غذایی حاوی سطوح مختلف پودر نعناع (*M. piperita*) بر شاخص‌های رشد و برخی پارامترهای ایمنی ماهی گلمه (*R. caspicus*) بود. قطعه بچه‌ماهی با میانگین وزن $۵۴۰ \pm ۲/۴$ گرم در ۱۲ تانک توزیع شده و در ۳ تکرار با جیره‌های غذایی حاوی سطوح ۲، ۴ و $۲/۴$ گرم در کیلوگرم پودر نعناع به مدت ۶۰ روز غذاده شدند. انتهای دوره عملکرد رشد اندازه‌گیری شد. همچنین برخی پارامترهای ایمنی موکوس پوست (لیزوژیم، آکالین فسفاتاز و پروتئین) نیز اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد افزایش وزن بدن و نرخ رشد ویژه در ماهیان تغذیه شده با جیره‌های حاوی نعناع افزایش معنی‌داری داشت. علاوه بر این، ضریب تبدیل غذایی ماهیان تیمار شده با نعناع در مقایسه با گروه شاهد به صورت معنی‌داری کاهش یافت. همچنین سطوح پروتئین محلول، فسفاتاز قلیایی و لیزوژیم موکوس پوست ماهیان تغذیه شده با جیره‌های حاوی پودر نعناع در مقایسه با گروه شاهد به صورت معنی‌دار افزایش یافت. نتایج نشان داد که جیره حاوی پودر نعناع اثرات مثبتی بر شاخص‌های رشد و پارامترهای ایمنی موکوس پوست ماهی گلمه (*R. caspicus*) داشته است.

واژه‌های کلیدی: *R. caspicus*، نعناع، عملکرد رشد، ایمنی موکوسی

*نویسنده مسئول: soheilarastegari@yahoo.com

مقدمه

به نظر می‌رسد افزایش سیستم ایمنی بدن، امیدوارکننده‌ترین روش برای جلوگیری از بیماری‌های ماهی باشد (Soltani *et al.*, 2010). موکوس پوست یک جزء کلیدی شامل ترکیبات متعددی از سیستم ایمنی ذاتی از جمله: لیزوژیم، پروتئازها، ایمونوگلوبولین‌ها، لکتین و آنزیم‌های پروتئولیتیک باشد (Subramanian *et al.*, 2007). موکوس پوست و اپیدرم ماهی به عنوان اولین سد در مقابل عوامل بیماری‌زا عمل می‌کند (Ellis, 2001; Ingram, 1980; Shephard, 1994). در آبزی پروری محرك‌های ایمنی به طور گسترده در پرورش لاروی بکاربرده می‌شود و نمونه‌های بسیاری از استفاده موفقیت‌آمیز محرك‌های ایمنی برای بهبود ایمنی و تولید وجود دارد. یکی از کاربردهای اولیه محرك‌های ایمنی، استفاده از گلوکان در پرورش ماهی آزاد (Salmo salar) است (Bricknell and Dalmo, 2005). استفاده از گیاهان یا فرآورده‌های حاصل از آنها در خوراک ماهیان، به عنوان یک راهکار مناسب برای افزایش رشد در ماهیان، مدنظر شده است (Bello *et al.*, 2012). این ترکیبات قادر به افزایش پاسخ ایمنی ماهی، بهبود مقاومت در برابر بیماری‌های عفونی و به حداقل رساندن خطر استفاده از عوامل شیمیایی می‌باشد (Magnadóttir, 2010). استفاده از این مکمل‌های خوراکی به عنوان محرك‌های ایمنی می‌تواند فعالیت مکانیسم‌های دفاعی ایمنی ذاتی را افزایش دهد (Bricknell and Dalmo, 2005; Harikrishnan *et al.*, 2011; Ringø *et al.*, 2012; Cook *et al.*, 2003).

عدم موفقیت در درمان بسیاری از بیماری‌ها، اثرات جانبی داروهای شیمیایی و مقاومت در برابر برخی از داروها به ویژه آنتی‌بیوتیک‌های رایج، گرایش محققین را نسبت به مطالعه در زمینه استفاده از محرك‌های ایمنی با منشأ گیاهی به دلیل قیمت پایین‌تر، خطرات کمتر برای محیط زیست و آبزی و هم چنین در دسترس بودن، افزایش داده است (Dugenci *et al.*, 2003). این مکمل‌های خوراکی علاوه بر تحریک سیستم ایمنی غیر اختصاصی، منجر به بهبود شاخص‌های رشد، مقاومت در برابر برخی بیماری‌های عفونی و افزایش تحمل تنفس‌های محیطی می‌گردند که همه این عوامل در نهایت منجر به اقتصادی‌تر شدن تولید آبزیان پرورشی می‌گردد (Rao *et al.*, 2006).

گیاه نعناع فلفلی با نام علمی *Mentha piperita* و نام رایج Peppermint گیاهی علفی و از تیره نعناع می‌باشد (Iscon *et al.*, 2002). این گیاه بومی مناطق مدیترانه بوده و در اکثر نقاط ایران به ویژه مناطق شمالی پراکنده شده است (Hadian *et al.*, 2008). از جمله گیاهان دارویی مهم با خواص متعدد شامل: اثرات ضدمیکروبی (Mahboubi and Hagh, 2008) اثرات آنتی‌اکسیدانی (Mimica-Dukic *et al.*, 2003)، تأثیرات قابل توجهی بر خون و پارامترهای ایمنی (Nobakht and Mehmannahaz, 2010) دارد که مصارف گسترده‌ای در صنعت دارویی، غذایی و بهداشتی دارد (Iscon *et al.*, 2002). علاوه بر این، اثرات آن بر رشد و تحریک سیستم ایمنی بدن در انسان و حیوانات خونگرم ثابت شده است

تأثیر سطوح مختلف پودر نعناع فلفلی (*Mentha piperita*) بر عملکرد رشد و برخی...

(Cosentino *et al.*, 2009). از مواد تشکیل دهنده مهم در این گیاه می‌توان به متول، منتون و اتیل- استات اشاره نمود (Mahboubi and Haghi, 2008). بررسی‌های صورت گرفته نشان دهنده اثرات نعناع فلفلی به عنوان محرك رشد و ایمنی در گونه‌های آبزی مانند کپور معمولی (*Cyprinus caprio*), سی‌باس (*Lates calcarifer*) و ماهی سفید دریای خزر (*Rutilus kutum*) بوده است (Hajibeglu and Sudagar, 2010; Talpur, 2014; Adel *et al.*, 2015). با این حال، تاکنون تحقیقی در مورد تأثیر استفاده از نعناع در جیره غذایی ماهی گلمه، صورت نگرفته است. هدف از این مطالعه، تأثیر استفاده از این گیاه بر رشد و پارامترهای ایمنی در جیره غذایی ماهی گلمه بود.

مواد و روش‌ها

تهیه ماهی و سازگاری به شرایط آزمایشگاهی: این آزمایش از تیرماه تا آذرماه سال ۹۴ در مرکز آبزی‌پروری شهید ناصر فضلی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام گرفت. ۵۴۰ قطعه بچه ماهی گلمه با وزن متوسط 0.12 ± 0.04 گرم از مرکز تکثیر و پرورش سیچوال بندر ترکمن تهیه و به مرکز آبزی‌پروری منتقل شد. پس از طی حدود ۲ هفته سازگاری با شرایط جدید، ماهیان به تعداد ۴۵ قطعه و به صورت تصادفی با چهار تیمار و سه تکرار در ۱۲ تانک توزیع شدند. آب تانک‌ها از آب لوله‌کشی همراه با هوادهی تأمین شدند.

خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آب: خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آب طی دوره ۸ هفتاهی پرورش بچه‌ماهیان گلمه، در جدول ۱ آورده شده است.

جدول ۱- میانگین و انحراف معیار مقادیر اندازه‌گیری اکسیژن محلول، درجه حرارت، pH و شوری در آب حوضچه‌های آزمایش

اکسیژن محلول (mg/lit)	دماه آب (درجه سانتی‌گراد)	pH	شوری (ppt)
5.8 ± 0.17	24.66 ± 0.38	7.71 ± 0.34	0.04 ± 0.07

تهیه پودر نعناع و غذا دهی: نعناع از بازار محلی گلستان خریداری شد. برگ‌های نعناع خشک شدند و با استفاده از آسیاب به شکل پودر تبدیل گردید و به صورت مستقیم با محتوی غذای مورد استفاده با عنوان تجاری بیومار (ساخت کشور فرانسه) (جدول ۲) برای دست یافتن به سه رژیم غذایی اصلاح شده در رژیم‌های غذایی ۲، ۳ و ۴ گرم بر کیلوگرم مخلوط شد (Talpur, 2014). پودر نعناع با ژلاتین ۴ درصد به عنوان همبند، مخلوط شده و به غذا اسپری شد. روزانه آب تانک‌ها از لحاظ کمیت و کیفیت

از زیبایی می‌گردید و به میزان ۵-۳ درصد وزن بدن، روزانه ۲ بار با جیره حاوی نعناع، تغذیه می‌شدند. ماهیان به مدت ۸ هفته غذاده شدند.

جدول ۲- ترکیب جیره تجاری استفاده شده در آزمایش

ترکیبات	میزان (درصد)	میزان (درصد)
پودر ماهی	۴۳/۴۷	۱۳
پودر گوشت		۲۷/۵۳
پودر گندم		۳
روغن سویا		۶
روغن ماهی		۱/۵
متیونین		۱/۵
لیسین		۴
مخلوط ویتامین		

سنجهش پارامترهای رشد: ماهیان کُلمه هر دو هفته یک مرتبه، وزن‌کشی و پارامترهای رشد شامل میزان افزایش وزن بدن (WG)، ضریب رشد ویژه (SGR) و ضریب تبدیل غذایی (FCR)، با استفاده از فرمول‌های زیر محاسبه گردید (Turchini *et al.*, 2003).

رابطه ۱) میانگین وزن اولیه (گرم) - میانگین وزن ثانویه (گرم) = (WG) افزایش وزن بدن (گرم)

رابطه ۲) افزایش وزن بدن (گرم) / مقدار غذای خورده شده (گرم) = (FCR) ضریب تبدیل غذایی

رابطه ۳) $100 \times \text{دوره پرورش به روز} / \text{میانگین وزن اولیه لگاریتم} - \text{میانگین وزن ثانویه لگاریتم} =$

(SGR) ضریب رشد ویژه

نمونه‌برداری: جمع‌آوری موکوس براساس روش راس و همکاران (Ross *et al.*, 2000) با کمی اصلاحات انجام شد. از هر تانک ۲۰ قطعه ماهی به صورت تصادفی نمونه‌برداری و پس از بیهودشی با ۵۰ میلی‌گرم در لیتر پودر گل میخک به صورت انفرادی درون کیسه‌های پلی‌اتیلنی (زیپ پلاست) حاوی ۱۰ میلی‌لیتر سدیم‌کلرید ۵۰ میلی‌مولار قرار گرفتند. ماهیان از ۲۴ ساعت قبل از نمونه‌برداری غذاده نشدن و پس از ۲ دقیقه، از کیسه‌ها خارج و درون آب پر از اکسیژن قرار گرفتند. موکوس جمع‌آوری شده به لوله‌های سانتریفیوژ استریل ۱۵ میلی‌لیتری منتقل و با دور ۱۵۰۰ g به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند. ماده بالایی به میکروتیوب‌های ۱/۵ سی‌سی منتقل شد و نمونه‌ها تا زمان انجام آزمایش، درون فریزر با دمای ۷-۷۰ درجه سانتی‌گراد، نگهداری شدند.

سنجهش مقدار پروتئین محلول، فعالیت آنزیم فسفاتاز قلبیابی در موکوس: برای اندازه‌گیری پروتئین محلول از روش لاوری و همکاران (Lowry *et al.*, 1951) و منحنی استاندارد آلبومین سرم

تأثیر سطوح مختلف پودر نعناع فلفلی (*Mentha piperita*) بر عملکرد رشد و برخی...

گاوی استفاده گردید. اندازه‌گیری با اضافه نمودن معرف رنگی فولین فنول سیوکالتیو به ۱۰۰ میکرولیتر از نمونه‌های رقیق شده موکوس و استاندارد و قرائت نوری با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر مدل (Biochrom, Libera, S12) انجام گرفت. با انتقال جذب نوری به دست آمده به منحنی استاندارد، میزان پروتئین محلول بر حسب میلی‌گرم بر میلی‌لیتر محاسبه شد. سطح آنزیم آلکالین فسفاتاز قلیایی موکوس با استفاده از کیت‌های تولید شده توسط شرکت پارس و دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۴۰۵ نانومتر و اختلاف جذب نوری در مدت ۳ دقیقه تعیین گردید.

سنجرش لیزوژیم: سنجرش آنزیم لیزوژیم به روش کدورت‌سنجری و با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر انجام شد (Subramanian *et al.*, 2007) برای سنجرش این آنزیم از باکتری *Micrococcus lysodeiticus* (ATCC 4698) به عنوان سوبسترا استفاده گردید. برای تهیه این سوسپانسیون، باکتری لیوفیلیزه میکروکوکوس لیزوڈیکتیکوس در بافر فسفات پتابسیم (pH=7)، ۰/۰۴ مولار حل شده و جذب این محلول در مقابل شاهد (کووت حاوی بافر فسفات سدیم)، در طول موج ۴۵۰ نانومتر، برابر ۰/۷-۰/۶۰ تنظیم شد. سپس ۲/۵ میلی لیتر سوسپانسیون باکتری به کووت اضافه شد. بعد از ۴-۵ دقیقه به دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد رسید، سپس به کووت شاهد ۰/۵ میلی لیتر بافر و به کووت نمونه ۰/۵ میلی لیتر نمونه موکوس اضافه شد. محتويات کووت به خوبی مخلوط گردید و کاهش در جذب سلول‌های میکروکوکوس لیزوڈیکتیکوس به مدت ۱۰ دقیقه در ۲۵°C اندازه‌گیری شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها: این آزمایش با استفاده از طرح کاملاً تصادفی در چهار سطح و سه تکرار انجام گرفت. جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها از آنالیز واریانس یک‌طرفه (one way ANOVA) و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح اطمینان ۹۵٪ انجام شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS-22 و رسم نمودارها با استفاده از Excel-2010 انجام شد.

نتایج

برخی از شاخص‌های رشد در جدول ۳ نشان داده شده است. در این مطالعه، فاکتورهای رشد به‌طور معنی‌داری ($p < 0.05$) با مکمل غذایی نعناع در مقایسه با گروه شاهد بهبود یافت. به‌طوری که ماهیان تغذیه شده با سطح ۴ گرم/کیلوگرم نعناع، عملکرد رشد بهتری در مقایسه با گروه شاهد و دیگر تیمارها داشتند.

جدول ۳- (میانگین \pm انحراف معیار) میزان افزایش وزن ، نرخ رشد ویژه و ضریب تبدیل غذایی در ماهی کلمه *(R. caspicus)* تغذیه شده با سطوح مختلف پودر نعناع

شاخص رشد	شاهد	۲ گرم/کیلوگرم	۳ گرم/کیلوگرم	۴ گرم/کیلوگرم
میزان افزایش وزن	$4/0.8 \pm 0.47^a$	$5/15 \pm 0.24^{ab}$	$5/37 \pm 0.92^{ab}$	$6/0.3 \pm 0.77^b$
نرخ رشد ویژه	$1/61 \pm 0.13^a$	$1/91 \pm 0.02^{ab}$	$1/94 \pm 0.26^b$	$2/12 \pm 0.12^b$
ضریب تبدیل غذایی	$1/64 \pm 0.20^a$	$1/29 \pm 0.06^b$	$1/26 \pm 0.20^b$	$1/11 \pm 0.14^b$

اعداد با حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی دار بین گروه ها می باشد ($p < 0.05$)

نتایج به دست آمده از سطوح پروتئین محلول، فعالیت آنزیم های آلkalین فسفاتاز قلیایی و لیزوژیم در ماهی کلمه تغذیه شده با جیره های حاوی سطوح مختلف پودر نعناع (جدول ۴) نشان دهنده افزایش معنی دار در میزان پروتئین محلول در تیمارهای آزمایشی ($p < 0.05$) با افزایش سطح نعناع بود. همچنین در موکوس ماهی کلمه تغذیه شده با جیره های حاوی نعناع، فعالیت آنزیم های فسفاتاز قلیایی و لیزوژیم، افزایش معنی داری در مقایسه با جیره شاهد نشان دادند ($p < 0.05$). با افزایش سطح نعناع جیره، روند افزایشی در میزان پروتئین و فعالیت آنزیم های آلkalین فسفاتاز قلیایی و لیزوژیم موکوس مشاهده گردید.

جدول ۴- (میانگین \pm انحراف معیار) میزان پروتئین محلول و فعالیت آنزیم های فسفاتاز قلیایی و لیزوژیم در ماهی کلمه *(R. caspicus)* تغذیه شده با سطوح مختلف پودر نعناع

شاخص	شاهد	۲ گرم/کیلوگرم	۳ گرم/کیلوگرم	۴ گرم/کیلوگرم
پروتئین محلول (mg/ml)	$2/11 \pm 0.33^a$	$3/20 \pm 0.15^b$	$3/91 \pm 0.81^c$	
آنزیم آkalین فسفاتاز قلیایی (IU/l)	$32/0.8 \pm 4/13^a$	$54/54 \pm 3^b$	$55/42 \pm 1/26^b$	$72/24 \pm 7/43^c$
آنزیم لیزوژیم (μg/ml)	$24/78 \pm 11/14^a$	$45/77 \pm 4/25^a$	$45/78 \pm 0.18^b$	$139/28 \pm 22/30^c$

اعداد با حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی دار بین گروه ها می باشد ($p < 0.05$).

بحث و نتیجه گیری

گیاهان دارویی به عنوان عوامل ارتقاء دهنده رشد در حیوانات آبزی عمل می کنند (Sivaram *et al.*, 2004; Maqsood *et al.*, 2011). استفاده از افزوختنی های غذایی در آبزی پروری، یکی از روش های متداول برای بهبود افزایش وزن، کارآیی غذا و مقابله با بیماری ها در ماهیان پرورشی است (Lee, 2012). گیاهان و فرآورده های گیاهی با توجه به مزیت های متعدد، از جمله خطرات زیست محیطی حداقل، عدم ایجاد مقاومت دارویی، در دسترس بودن و قیمت پایین تر، توجه زیادی را در سطح جهان به خود جلب نموده است (Cho and Karpagam and Krishnaveni, 2014; Madhuri *et al.*, 2012). مطالعات

تأثیر سطوح مختلف پودر نعناع فلفلی (*Mentha piperita*) بر عملکرد رشد و برخی...

بسیاری گزارش کرده‌اند که افزودنی‌های گیاهی، رشد ماهیان و نیز مقاومت آنها را در برابر عوامل بیماری‌زا افزایش می‌دهد (Johnson and Banerji, 2007; Sasmal *et al.*, 2005). در مطالعه حاضر پودر نعناع موجب افزایش نرخ رشد ویژه، کاهش ضربی تبدیل غذایی و افزایش وزن شده است که اختلاف معنی‌داری بین سطوح مختلف با شاهد وجود داشت. تالپور (Talpur, 2014) گزارش کرد زمانی که دوزهای ۲، ۳، ۴ و ۵ گرم بر کیلوگرم پودر نعناع به جیره ماهی باس دریایی آسیایی اضافه می‌گردد، افزایش وزن بدن و نرخ رشد ویژه به صورت معنی‌داری نسبت به گروه شاهد افزایش می‌یابد. همچنین ضربی تبدیل غذایی در تیمارهای حاوی پودر نعناع دارای میزان کمتر و دارای اختلاف معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد بود که با نتایج حاصل از آزمایش کنونی هم خوانی دارد. بچه ماهی سفید تغذیه شده با سطوح ۲ و ۳ درصد عصاره نعناع جیره در افزایش وزن بدن، نرخ رشد ویژه و کاهش ضربی تبدیل غذایی نسبت به گروه شاهد تفاوت معنی‌داری نشان داده است که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد (Adel *et al.*, 2015). در مطالعه‌ای تأثیر نعناع را برکپور معمولی بررسی کردن و نتایج نشان داد که تیمار تغذیه شده با مکمل غذایی نعناع در مقایسه با گروه شاهد عملکرد رشد بهتری داشته است که با تحقیق کنونی هم سو است (Hajibeglou and Sudagar, 2010).

بهطور کلی، اثر افزایش دهنده رشد با مکمل‌های گیاهی مورد استفاده، بستگی به غلظت مناسب، ترکیب رژیم غذایی و مدیریت پرورش دارد (Barreto *et al.*, 2008). به علاوه، جانسون و بانرجی (Johnson and Banerji, 2007) گزارش کرند که رشد در ماهی *Lobeo rohito* تغذیه شده با مکمل گیاهی به علت بهبود مصرف غذا و سنتز پروتئین افزایش می‌یابد. از مطالعاتی که دارای نتایج مغایر با نتایج این مطالعه هستند، می‌توان به بررسی اثر پروبیوتیک گالاكتوالیگوساکارید به عنوان مکمل غذایی با سطوح ۱/۵، ۱ و ۲ درصد به مدت ۶ هفته در جیره غذایی ماهی قرمز توسط کلنگی میاندره و همکاران (Kolangi Miandare *et al.*, 2016) اشاره کرد.

تنوع در مقدار موکوس ترشح شده بر سطح پوست سبب اختلاف در مقاومت گونه‌ها در برابر پاتوژن‌ها می‌گردد (Subramanian *et al.*, 2007). سلول‌های کیسه‌ای شکل در موکوس ماهیان، با ترشح پروتئین‌هایی ماهیان را در برابر عفونت‌های ناشی از انگل‌های خارجی حفظ می‌کنند. لکتین‌ها، گلیکوپروتئین‌ها از جمله این پروتئین‌ها هستند (Suzuki *et al.*, 2003). افزایش پروتئین محلول موکوس تحت تأثیر محرك‌های ایمنی از جمله مخمر ساکارومیسین سروزیه، شیخزاده و همکاران (Sheikhzadeh *et al.*, 2012a) و پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازئی، هرناندز و همکاران (Hernandez *et al.*, 2010) به ترتیب در ۲۰۱۲b گزارش شده است که با نتایج تحقیق حاضر موکوس ماهی *P. gracilis* و *O. mykiss* و *P. tetrazuna*.

مطابقت دارد. در تحقیقی دیگر تأثیر عصاره نعناع فلفلی بر میزان پروتئین محلول موکوس بررسی شد و نتایج حاصل از این بررسی با مطالعه حاضر همخوانی دارد (Adel *et al.*, 2015). محققان تأثیر پودر سیر را روی ماهی گلمه بررسی کردند که نتایج حاصل از مطالعه ما را تأیید می‌کند و بیان کردند که پروتئین محلول موکوس در ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی این محرك ایمنی افزایش یافته است (Ghehdarijani *et al.*, 2016). افزودن محرك ایمنی گالاکتوالیگوساکارید در جیره غذایی ماهی قرمز منجر به افزایش معنی دار پروتئین محلول موکوس نسبت به گروه شاهد شده است که با نتایج حاصل از مطالعه کنونی هم سو است (Kolangi Miandare *et al.*, 2016). در افزودن مخمر ساکارومیسین سروزیه به جیره غذایی تایگر بارب و قزلآلای رنگین کمان، تفاوت معنی داری در فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی نسبت به گروه شاهده گردید (Sheikhzadeh *et al.*, 2012a). در تحقیق کنونی نیز با استفاده از پودر نعناع در جیره فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی موکوس ماهی گلمه نسبت به گروه شاهد افزایش معنی دار داشت که این نتیجه بر افزایش مقاومت سیستم ایمنی ذاتی از طریق استفاده از محرك ایمنی تأکید دارد. بالاترین میزان فسفاتاز قلیایی در ماهیان تغذیه شده با جیره‌های ۴ گرم بر کیلو گرم پودر نعناع دیده شد. این نتایج با مطالعات انجام شده روی ماهی سفید مطابقت دارد (Adel *et al.*, 2015) و بیان می‌کنند که بالاترین میزان فسفاتاز قلیایی با ۳ درصد عصاره نعناع دیده شده است. اثر پروپیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس روی موکوس پوست در جیره غذایی ماهی تایگر بارب بررسی شد و سبب افزایش معنی دار در میزان فسفاتاز قلیایی می‌شود، که این نتیجه با مطالعه ما همخوانی دارد (Hoseinifar *et al.*, 2015). همچنین نتایج حاصل از تحقیقی روی ماهی گلمه نشان داد که میزان فسفاتاز قلیایی در ماهیانی که از ویتامین C استفاده کرده بودند نسبت به گروه شاهد بالاتر بود. نتایج حاصل از بررسی آنها با مطالعه حاضر همخوانی دارد اگرچه بین تیمارهای تغذیه شده تفاوت معنی داری مشاهده شد (Roosta *et al.*, 2014).

افزایش فعالیت لیزوژیم در موکوس ماهی، سرم و بافت‌های سرشار از لوکوسیت گزارش شد (Ellis, 1999). این آنزیم، یک آنزیم ضدباکتریایی بوده که پیوندهای پپتیدوگلیکان موجود در دیواره سلولی باکتری‌ها را شکسته و در حالت کلی مولکول دفاعی مهم در سیستم ایمنی ذاتی ماهی بهشمار می‌رود (Choi *et al.*, 2008). نتایج به دست آمده حاکی از این موضوع بود که میزان فعالیت آنزیم لیزوژیم به صورت مطلوبی افزایش یافته و بیشترین سطح مربوط به بچه‌ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی ۴ گرم/کیلوگرم نعناع می‌باشد. نتایج به دست آمده از تحقیق حاضر مشابه با نتایج به دست آمده از فعالیت آنزیم لیزوژیم موجود در موکوس بسیاری از گونه‌های ماهی می‌باشد (Guardiola *et al.*, 2015; Subramanian *et al.*, 2007).

تأثیر سطوح مختلف پودر نعناع فلفلی (*Mentha piperita*) بر عملکرد رشد و برخی...

در تحقیقی تاثیر محرک اینمی گالاکتوالیگوساکارید در جیره غذایی ماهی قرمز بررسی شد که نتایج حاصل از مطالعه ما را تأیید می‌کند و بیان کردند که میزان آنزیم لیزوژیم در ماهیان تغذیه شده با گالاکتوالیگوساکارید افزایش یافته است (Kolangi Miandare *et al.*, 2016). اختلاف در میزان فعالیت آنزیم لیزوژیم می‌تواند به عواملی از قبیل پاسخ به استرس‌های موجود، بلوغ، تغذیه، جنسیت، تنوع گونه‌ها و تنوع ژنتیکی بستگی داشته باشد (Balfry and Iwama, 2004). تغییرات دمایی و استرس‌های ناشی از دستکاری‌ها و تراکم‌های بالای ماهی‌ها، می‌تواند آثار سرکوب کننده بر فاکتورهای اینمی ذاتی داشته باشد در حالی که بسیاری از افزودنی‌های خوراکی و محرک‌های اینمی می‌توانند عوامل دخیل در اینمی ذاتی را بهبود بخشنند (Magnadóttir, 2006).

پودر نعناع با بهبود عملکرد رشد با دوز پیشنهادی ۴ گرم بر کیلوگرم جیره برای ماهی گلمه، همچنین به عنوان محرک اینمی با تقویت سیستم اینمی ذاتی از طریق ارتقاء پروتئین محلول، فعالیت لیزوژیم و آنزیم فسفاتاز قلیایی مناسب می‌باشد. لایه موکوس، اولین سد دفاعی در مقابل پاتوژن‌هاست و حاوی عوامل اینمی غیر اختصاصی مختلفی است. ترکیبات موکوس اپیدرم در گونه‌های مختلف ماهیان متفاوت بوده و این امر سبب تفاوت در مقاومت ماهیان در برابر بیماری‌ها می‌شود.

منابع

- Adel M., Amiri A.A., Zorriezahra J., Nematolahi A., Esteban M.Á. 2015. Effects of dietary peppermint (*Mentha piperita*) on growth performance, chemical body composition and hematological and immune parameters of fry Caspian white fish (*Rutilus frisii kutum*). Fish and Shellfish Immunology, 45: 841-847.
- Balfry S.K., Iwama G.K. 2004. Observation on the inherent variability of measuring lysozyme activity in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). Comparative Biochemistry and Physiology, 138: 207-211.
- Barreto M.S.R., Menten J.F.M., Racanicci A.M.C., Pereira P.W.Z., Rizzo P.V. 2008. Plant extracts used as growth promoters in broilers. Brazilian Journal Poultry Science, 10: 109-115.
- Bello O.S., Emikpe B.O., Olaifa F.E. 2012. The body weight changes and gut morphometry of *Clarias gariepinus* juveniles on feed supplemented with walnut (*Tetracarpidium conophorum*) leaf and onion (*Allium cepa*) bulb residues. International Journal of Morphology, 30: 253-257.
- Bricknell I., Dalmo R.A. 2005. The use of immunostimulants in fish larval aquaculture. Fish and Shellfish Immunology, 19: 457-472.
- Cho S.H., Lee S.M. 2012. Onion powder in the diet of the olive flounder (*Paralichthys olivaceus*): effects on the growth, body composition and lysozyme activity. The World Aquaculture Society Journal, 43: 30-38.

- Choi S.H., Park K.H., Yoon T.J., Kim J.B., Jang Y.S., Choe C.H. 2008. Dietary Korean mistletoe enhances cellular non-specific immune responses and survival of Japanese eel (*Anguilla japonica*). Fish and Shellfish Immunology, 24: 67-73.
- Cook M.T., Hayball P.J., Birdseye L., Bagley C., Nowak B.F., Hayball J.D. 2003. Isolation and partial characterization of a pentraxin-like protein with complement-fixing activity from snapper (*Pagrus auratus, Sparidae*) serum. Developmental and Comparative Immunology, 27: 579-588.
- Cosentino M., Bombelli R., Conti A., Colombo M.L., Azzetti A., Bergamaschi A., Lecchini S. 2009. Antioxidant properties and in vitro immunomodulatory effects of peppermint (*Mentha piperita*) Essential oils in human leukocytes. Journal of Pharmaceutical Sciences and Research, 1: 33-43.
- Dugenci S.K., Arda N., Candan A. 2003. Some medicinal plants as immunostimulants for fish. Ethnopharmacology, 88: 99-106.
- Ellis A. 1999. Immunity to bacteria in fish. Fish Shellfish Immunology, 9: 291-308.
- Ellis A. E. 2001. Innate host defense mechanisms of fish against viruses and bacteria. Developmental and Comparative Immunology, 25: 827-839.
- Ghehdarijani M.S., Hajimoradloo A., Ghorbani R., Roohi Z. 2016. The effects of garlic-supplemented diets on skin mucosal immune responses, stress resistance and growth performance of the Caspian roach (*Rutilus rutilus*) fry. Fish and Shellfish Immunology, 49: 79-83.
- Guardiola F.A., Dioguardi M., Parisi M.G., Trapani M.R., Meseguer J., Cuesta A., Esteban M.A. 2015. Evaluation of waterborne exposure to heavy metals in innate immune defences present on skin mucus of gilthead seabream (*Sparus aurata*). Fish and Shellfish Immunology, 45: 112-123.
- Hadian J., Ghasemnezhad M., Ranjbar H. 2008. Antifungal potency of some essential oil in control of postharvest decay of strawberry caused by *Botrytis cinerea*, *Rhizopus stolonifer* and *Aspergillus niger*. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 11: 553-562.
- Hajibeglu A., Sudagar M. 2010. Immune response of common Carp (*Cyprinus carpio*) fed with herbal immunostimulants diets. Journal of Animal and Veterinary Advances, 9: 1837-1847.
- Harikrishnan R., Balasundaram C., Heo M.S. 2011. Impact of plant products on innate and adaptive immune system of cultured finfish and shellfish. Aquaculture, 317: 1-15.
- Hernandez L.H.H., Barrera T.C., Mejia J.C., Mejia G.C., Carmen M., Dosta M., Del Lara Andrade, R., Sotres, J.A.M. 2010. Effects of the commercial probiotic *Lactobacillus casei* on the growth, protein content of skin mucus and stress resistance of juveniles of the Porthole livebearer *Poecilopsis gracilis* (poeciliidae). Aquaculture Nutrition, 16: 407-411.

- Hoseinifar S.H., Roosta Z., Hajimoradloo A., Vakili F. 2015. The effects of *Lactobacillus acidophilus* as feed supplement on skin mucosal immune parameters, intestinal microbiota, stress resistance and growth performance of black swordtail (*Xiphophorus helleri*). Fish and Shellfish Immunology, 42: 533-538.
- Ingram G.A. 1980. Substances involved in the natural resistance of fish to infection—a review. Journal of Fish Biology, 16: 23-60.
- Iscan G., KIrimer N.E.S.E., Kürkcüoglu M., Baser H.C., Demirci F. 2002. Antimicrobial screening of *Mentha piperita* essential oils. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50: 3943-3946.
- Johnson C., Banerji A. 2007. Influence of extract isolated from the plant *Sesuvium portulacastrum* on growth and metabolism in freshwater teleost (*Labeo rohita*). Fishery Technology, 44: 229-234.
- Karpagam B., Krishnaveni N. 2014. Effect of supplementation of selected plant leaves as growth promoters of tilapia fish (*Oreochromis mossambicus*). Research Resent Sciences, 3: 120-123.
- Kolangi Miandare H., Farvardin S., Shabani A., Hoseinifar S.H., Ramezanpour S.S. 2016. The effects of galactooligosaccharide on systemic and mucosal immune response, growth performance and appetite related gene transcript in goldfish (*Carassius auratus gibelio*). Fish and Shellfish Immunology, 55: 479-483.
- Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. The Journal of Biological Chemistry, 193: 265-275.
- Madhuri S., Sahni Y.P., Pandey G. 2012. Herbal feed supplements as drugs and growth promoter to fishes. International Research Pharmacy, 3: 30-33.
- Magnadóttir B. 2006. Innate immunity of fish (overview). Fish and Shellfish Immunology, 20: 137-151.
- Magnadóttir B. 2010. Immunological control of fish diseases. Marine Biotechnology, 12: 361-379.
- Mahboubi M., Hagh G. 2008. Antimicrobial activity and chemical composition of *Mentha pulegium* L. essential oil. Journal of Ethnopharmacology, 19: 325-327.
- Maqsood S., Singh P., Samoon M.H., Munir K. 2011. Emerging role of immunostimulants in combating the disease outbreak in aquaculture. International Aquatic Research, 3: 147-163.
- Mimica-Dukic N., Bozin B., Sokovic M., Mihajlovic B., Matavulj M. 2003. Antimicrobi and antioxidant activities of three *Mentha* species essential oils. Planta Medica, 69: 419-423.
- Nobakht A., Mehmannavaz Y. 2010. Investigation the effects of using of *Thymus vulgaris* lamiaceae menthapiperita, *Oreganum valgare* medicinal plants on

- performance, egg quality, blood and immunity parameters of laying hens. Iranian Journal of Applied Animal Science, 41: 129–136.
- Rao Y.Y., Das B.K., Iyotymayee P., Chakrabarti R. 2006. Effect of *Achyranthes aspera* on the immunity and survival of *Labeo rohita* infected with fish; a comparable approach. Development Comparative Immunology, 20: 365-371.
- Ringø E., Olsen R.E., Vecino J.G., Wadsworth S., Song S.K. 2012. Use of immunostimulants and nucleotides in aquaculture-a review. Journal of Marine Science Research and Development, 2(1): 1-32.
- Roosta Z., Hajimoradloo A., Ghorbani R., Hoseinifar S.H. 2014. The effects of dietary vitamin C on mucosal immune responses and growth performance in Caspian roach (*Rutilus caspicus*) fry. Fish Physiology and Biochemistry, 40: 1601-1607.
- Ross N.W., Firth J.K., Wang A., Burka F., Johnson S.C. 2000. Change in hydrolytic enzyme activities of naïve Atlantic salmon (*Salmo salar*) skin mucus due to infection with the salmon louse (*Lepeophtheirus salmonis*) and cortisol implantation. Diseases of Aquatic Organisms, 41: 43-51.
- Sasmal D., Babu C.S., Abraham T.J. 2005. Effect of garlic (*Allium sativum*) extract on the growth and disease resistance of *Carassius auratus* (Linnaeus, 1758). Indian Journal of Fisheries, 52: 207-214.
- Sheikhzadeh N., Heidarieh M., Karimi Pashaki A., Nofouzi K., Ahrab Farshbafi M., Akbari M. 2012a. Hilyses, Fermented *Saccharomyces cerevisiae*, enhances the growth performance and skin non-specific immune parameters in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Fish and Shellfish Immunology, 32: 407-410.
- Sheikhzadeh N., Karimi Pashaki A., Nofouzi K., Heidarieh M., Tayefi-Nasrabadi H. 2012b. Effects of dietary Ergosan on cutaneous mucosal immune response in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Fish and Shellfish Immunology, 32: 407-410.
- Shephard K.L. 1994. Functions for fish mucus. Reviews in Fish Biology and Fisheries, 4: 401-429.
- Sivaram V., Babu M.M., Immanuel G., Murugadass S., Citarasu T., Marian M.P. 2004. Growth and immune response of juvenile greasy groupers (*Epinephelus tauvina*) fed with herbal antibacterial active principle supplemented diets against *Vibrio harveyi* infections. Aquaculture, 237: 9-20.
- Soltani M., Sheikhzadeh N., Ebrahimzadeh-Mousavi H.A., Zargar A. 2010. Effects of *Zataria multiflora* essential oil on innate immune responses of common carp (*Cyprinus carpio*) Journal of Fisheries and Aquatic Science, 5: 191-199.
- Subramanian S., MacKinnon S.L., Ross N.W. 2007. A comparative study on innate immune parameters in the epidermal mucus of various fish species. Comparative Biochemistry and Physiology, 148: 256-263.

تأثیر سطوح مختلف پودر نعناع فلفلی (*Mentha piperita*) بر عملکرد رشد و برخی...

- Suzuki Y., Tasumi S., Tsutsui S., Okamoto M., Suetake H. 2003. Molecular diversity of skin mucus lectins in fish. Comparative Biochemistry and Physiology, 136: 723-730.
- Talpur A.D. 2014. *Mentha piperita* (Peppermint) as feed additive enhanced growth performance, survival, immune response and disease resistance of Asian seabass, *Lates calcarifer* (Bloch) against *Vibrio harveyi* infection. Aquaculture, 420–421: 71–78.
- Turchini G.M., Gunasekera R.M., De Silva S.S. 2003. Effect of crude oil extracts from trout offal as a replacement for fish oil in the diets of the Australian native fish Murray cod (*Maccullochella peelii peelii*). Aquaculture Research, 34: 697-708.

