



## اثرات تغذیه پلی فنول برگ زیتون بر روی شاخص‌های رشد، ایمنی و بیان نسبی ژن‌های TNF- $\alpha$ اینترلوکین و تومور در بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان

رودابه روفچائی<sup>۱\*</sup>، سیدحسین حسینی‌فر<sup>۲</sup>، رقیه صفری<sup>۲</sup>، محمد صیادبورانی<sup>۲</sup>، شیوا ندائی<sup>۴</sup>، امید ایمنی تملی<sup>۵</sup>

<sup>۱</sup> محقق، سازمان ترویج، آموزش و تحقیقات کشاورزی، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، پژوهشکده آبی‌پروری آب‌های داخلی کشور، بندر انزلی، ایران

<sup>۲</sup> استادیار دانشگاه گرگان، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

<sup>۳</sup> دانشیار، سازمان ترویج، آموزش و تحقیقات کشاورزی، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، پژوهشکده آبی‌پروری آب‌های داخلی کشور، بندر انزلی، ایران

<sup>۴</sup> محقق، دانشکده منابع طبیعی گروه شیلات و آبزیان، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران

<sup>۵</sup> کارشناس، سازمان ترویج، آموزش و تحقیقات کشاورزی، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، پژوهشکده آبی‌پروری آب‌های داخلی کشور، بندر انزلی، ایران

### چکیده

نوع مقاله:

پژوهشی اصیل

هدف از این پژوهش بررسی اثرات سطوح مختلف پلی‌فنل برگ زیتون (POL, PLOyphenol Olive Leaf) ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان *Oncorhynchus mykiss* می‌باشد. تعداد ۱۲۰ قطعه ماهی با میانگین وزنی  $0.1 \pm 6/5$  گرم به‌طور تصادفی در چهار تیمار با سه تکرار در تانک‌های ۱۰۰ لیتری ذخیره‌سازی و با چهار جیره حاوی صفر،  $1/5$ ،  $1$  و  $2$  گرم (POL) به‌ازای هر کیلوگرم غذا به‌مدت ۸ هفته تغذیه شدند. در پایان دوره فاکتورهای رشد، شاخص‌های ایمنی غیراختصاصی موکوس و سرم و بیان نسبی ژن ایمنی مورد بررسی قرار گرفت. بررسی شاخص‌های ایمنی سرم، عملیات خون‌گیری از ساقه دمی تیمارها به‌صورت کاملاً تصادفی انجام گردید. برای سنجش شاخص‌های ایمنی موکوس، نمونه‌برداری و جمع‌آوری موکوس از تمامی تیمارها به‌صورت کاملاً تصادفی صورت گرفت. بررسی بیان نسبی ژن‌های ایمنی از بافت‌های روده نمونه‌برداری انجام شد. نتایج به‌دست آمده بیانگر بهبود شاخص‌های رشد در ماهیان تغذیه شده با سه سطح مختلف (POL) بود. در خصوص ایمنی غیراختصاصی نتایج بیانگر افزایش ایمونوگلوبولین کل سرم و موکوس در گروه‌های تغذیه شده با جیره حاوی  $1$  و  $2$  گرم بر کیلوگرم (POL) بود ( $p < 0.05$ ). میزان فعالیت لیزوزیم کل سرم و موکوس نیز تحت تأثیر (POL) قرار گرفت و ماهیان تغذیه شده با تیمار  $1$  و  $2$  گرم (POL) به‌طور معنی‌داری افزایش نشان دادند ( $p < 0.05$ ). بیان نسبی ژن ایمنی نیز در تیمارهای منور بررسی متأثر از تغذیه با مکمل فوق بودند ( $p < 0.05$ ). بیشترین بیان نسبی ژن اینترلوکین در تیمار  $2$  گرم بر کیلوگرم و تومور نکروز فاکتور در تیمار  $1$  گرم بر کیلوگرم (POL) به‌دست آمد. مصرف  $2$  گرم بر کیلوگرم مکمل پلی-فنل برگ زیتون می‌تواند اثر مطلوبی بر کیفیت رشد و پرورش بچه ماهی قزل‌آلا داشته باشد.

تاریخچه مقاله:

دریافت: ۳/۰۳/۱۲

پذیرش: ۳/۰۴/۲۰

نویسنده مسئول مکاتبه:

رودابه روفچائی، سازمان ترویج، آموزش و تحقیقات کشاورزی، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، پژوهشکده آبی‌پروری آب‌های داخلی کشور، بندر انزلی، ایران.

ایمیل: rufchaeiava@yahoo.com

واژه‌های کلیدی: پلی‌فنل برگ درخت زیتون، ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، سیستم ایمنی غیراختصاصی، بیان نسبی ژن.

### ۱ | مقدمه

افزایش خطر بروز بیماری‌ها شده است (Hoseinifar et al., 2015). به‌همین دلیل استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها و داروهای مختلف شیمیایی جهت بهبود سیستم ایمنی و تحریک رشد گسترش یافته است؛ این امر نه‌تنها موجب بالا بردن قیمت تمام شده محصول و کاهش راندمان

ضرورت تأمین نیاز بشر به منابع پروتئینی سالم، موجب توسعه صنعت آبی‌پروری در سال‌های اخیر گردیده است. به‌طوری‌که رشد آن با سایر بخش‌های تولیدکننده غذا برای انسان قابل‌مقایسه نیست (FAO, 2014). افزایش تراکم در تولید و توسعه آبی‌پروری موجب

نمک (۲۰ ppt) به مدت ۳۰ دقیقه) کاملاً ضد عفونی شدند. جهت سازگاری ماهیان با شرایط مخازن آزمایشی ماهیان در ۳ مخزن ۵۰۰ لیتری به مدت ۲ هفته نگهداری و با غذای تجاری تغذیه شدند. پس از سازگاری اولیه بچه ماهیان و زیست سنجی آنها با ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۱ گرم در ۱۲ مخزن ۱۰۰ لیتری و با تراکم ۱۱ عدد و دبی ورودی ۱ لیتر بر ثانیه توزیع شدند. چیدمان مخازن به صورت تصادفی انتخاب شده بود تا تیمارها و تکرارهای مختلف در شرایط یکسان محیط آزمایشگاهی قرار گیرند. عوامل فیزیکی و شیمیایی آب شامل درجه حرارت، اکسیژن محلول و pH همه روزه به وسیله دستگاه‌های دیجیتالی (مدل TWT کشور آلمان) اندازه‌گیری شد. میانگین اکسیژن محلول، pH آب حدود ۰/۲ ± ۷/۸ و درجه حرارت آب در طول بررسی ۱/۱ ± ۱۲ ثبت گردید. ماده اضافه شده در جیره، پلی فنل برگ درخت زیتون بود مستخرج از برگ درخت زیتون و با استفاده از کروماتوگرافی مایع با کارایی فراوان جداسازی شده و توسط دستگاه طیف سنج مادون قرمز (FTIR) مورد تحلیل قرار گرفته است. جیره ماهیان گروه شاهد نیز به همین شیوه بدون افزودن پودر پلی فنل برگ درخت زیتون (POL) آماده شد. غذای آماده شده به میزان ۲ تا ۳٪ وزن توده زنده در دو نوبت صبح و بعداز ظهر به مدت ۶۰ روز به ماهیان خورانده شد و در انتهای دوره آزمایش شاخصهای رشد شامل وزن نهایی، نرخ رشد ویژه و فاکتور وضعیت بررسی شدند. جیره مورد استفاده در این مطالعه فرادانه شهرکرد آماده‌سازی جیره‌های آزمایشی بر اساس روش پیشنهاد شده توسط زو و همکاران (Zou et al., 2016) انجام شد. ابتدا جیره‌ها آسیاب شد تا به شکل پودر تبدیل گردد سپس مقادیر ۰/۵، ۱ و ۲ گرم پودر پلی فنل برگ درخت زیتون به‌ازای هر کیلوگرم جیره به جیره پودر شده اضافه شدند پس از آن مقدار کمی آب گرم به پودر اضافه شده تا به حالت خمیری در آید. خمیر حاصله توسط چرخ گوشت به صورت رشته‌هایی به قطر ۲ میلی‌متر در آمد. رشته‌های خمیری در معرض جریان هوا قرار داده شد. آنالیز جیره غذایی، پروتئین خام ۵۰، چربی خام ۱۱/۵، فیبر خام ۱/۷، رطوبت ۱۰٪ بود. در نهایت پلیت‌ها در پلاستیک‌های دو جداره بسته‌بندی و در یخچال ۴ درجه سانتی‌گراد تا زمان مصرف نگهداری شدند.

تولید می‌شود، بلکه منجر به گسترش مقاومت عوامل بیماری‌زای باکتریایی در برابر داروها، تجمع بقایای آن در بافت‌های خوراکی و تضعیف سیستم ایمنی می‌گردد. قزل‌آلای رنگین‌کمان یکی از گونه‌های مهم پرورشی در ایران و جهان می‌باشد. از آنجایی که حدود ۳۴/۰۲ درصد از کل تولید آبزیان در سال ۲۰۱۴ مربوط به این گونه بوده و چشم‌انداز ۶ سال آینده مبتنی بر افزایش تراکم پرورش از ۲۹/۳ کیلوگرم بر مترمربع به ۳۲/۵ کیلوگرم بر مترمربع هست، بدیهی است بیشترین مصرف آنتی‌بیوتیک را این گونه به‌خود اختصاص داده (FAO, 2014). از این رو با توجه به اینکه ایران یکی از ۴ کشور اول تولیدکننده این گونه در دنیا است و موفقیت در پرورش این گونه جایگاه ویژه‌ای در صنعت آبی پروری کشور دارد. بررسی استفاده از جایگزین‌های آنتی‌بیوتیک‌ها و محرک‌های ایمنی در پرورش این گونه ضروری به نظر می‌رسد.

گیاهان و فرآورده‌های گیاهی به دلیل وجود ترکیبات فنولیک، پلی فنولیک، آلکالوئید، کوینون، تربینوئید، لکتین و بسیاری از ترکیبات پلی پپتیدی، می‌توانند به‌عنوان جایگزین مناسبی برای آنتی‌بیوتیک‌ها، مواد شیمیایی، واکسن‌ها و سایر ترکیبات سنتتیکی استفاده شوند (Harikrishnan et al., 2011). سطح زیر کشت زیتون در طی سال‌های اخیر به‌ویژه در شمال کشور رو به افزایش بوده است و استان گیلان یکی از مهم‌ترین استان‌های تولیدکننده این محصول کشاورزی می‌باشد. دسترسی به پلی‌فنل زیتون در این استان امکان‌پذیر است. با توجه به اثرات آنتی‌اکسیدانی این محصول، این مطالعه باهدف بررسی اثرات محرک رشد، ایمنی و خواص آنتی‌اکسیدانی پلی‌فنل برگ درخت زیتون طراحی شده است.

## ۲ | مواد و روش‌ها

این پژوهش در زمستان ۱۴۰۰ به مدت یکسال و نیم در پژوهشکده آبی پروری آبهای داخلی و دوران پرورش در ایستگاه تخصصی تغذیه و غذای زنده انجام شد. در این مطالعه از بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان به ظاهر سالم با وزن تقریبی ۰/۲ ± ۶/۲ استفاده شد. قبل از انتقال بچه‌ماهی‌ها به واحدهای آزمایشی، به‌منظور جلوگیری از خطر انتقال بیماری و نیروها با استفاده از

های استریل ۱۵ میلی‌لیتری منتقل، به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد ساتریفیوژ شده و فاز بالایی جهت بررسی‌های بیشتر به میکروتیوب‌های ۱/۵ سی سی منتقل گردید. نمونه‌ها تا زمان انجام آزمایش در فریزر ۸۰- درج سانتی‌گراد نگهداری شدند (Roos *et al.*, 2000). جهت اندازه‌گیری فعالیت لیزوزیم و میزان ایمونوگلوبولین موکوس همانند آنچه در خصوص نمونه سرم ارائه شد عمل گردید.

به منظور ارزیابی بیان نسبی ژن‌های مرتبط با ایمنی (اینترلوکین  $IL1\beta$ )، (تومور نکروز فاکتور  $IL1\beta$ ) از بافت روده نمونه‌برداری گردید، به همین منظور پس از بیهوشی ماهیان نمونه‌برداری شده از هر تکرار توسط پنبه آغشته به الکل سطح بدن ماهی کاملاً استریل شده و سریعاً اقدام به جمع‌آوری نمونه‌های مورد نظر گردید. نمونه‌های تهیه شده بلافاصله در ازت مایع قرار گرفت و تا زمان شروع آزمایشات در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (Rajabiesterabadi *et al.*, 2020).

استخراج RNA با استفاده از کیت استخراج RNAX Plus مطابق دستورالعمل شرکت سازنده (ایران- سینا ژن) در حضور ازت مایع صورت گرفت. ابتدا بافت هدف به صورت هموژن درآمده و سپس فرآیند استخراج انجام شد (Rajabiesterabadi *et al.*, 2020).

جهت ارزیابی کیفی RNA کل از دستگاه الکتروفورز و ژل آگارز ۱٪ استفاده شد. کمیت (غلظت) RNA از دستگاه نانودراپ Scientific ND-1000 (Thermo) تعیین گردید. با استفاده از دستگاه نانوفتومتر (IMPLEN- P100)، مقدار جذب نمونه‌ها در طول موج-های ۲۳۰، ۲۶۰، ۲۸۰ و ۳۲۰ نانومتر قرائت شد (Rajabiesterabadi *et al.*, 2020).

برای از بین بردن DNA ژنومی احتمالی در RNA استخراج شده از تیمار DNase I (Invitrogen, CA, USA) استفاده شد. cDNA با استفاده از کیت Genet bio (کشور کره) براساس دستورالعمل سنتز گردید (Rajabiesterabadi *et al.*, 2020).

فاکتورهای رشد طبق فرمول‌های زیر مورد بررسی قرار گرفت

(میزان افزایش وزن بدن،  $\Delta W$ ) = میانگین وزن

انتهای دوره به گرم- میانگین وزن ابتدای دوره به گرم.

(درصد افزایش وزن بدن WG) = [ (میانگین وزن

انتهای دوره به گرم - میانگین وزن ابتدای دوره به گرم /

میانگین وزن ابتدای دوره به گرم)  $\times 100$ .

(ضریب رشد ویژه SGR) = [لگاریتم طبیعی میانگین

وزن نهایی به گرم - لگاریتم طبیعی وزن اولیه به گرم) /

زمان]  $\times 100$ .

درصد بقا = (تعداد بچه‌ماهیان ابتدای دوره / تعداد

بچه‌ماهیان باقیمانده در انتهای دوره)  $\times 100$ .

(ضریب تبدیل غذایی FCR) = مقدار غذای خورده

شده به گرم / افزایش وزن بدن به گرم.

بعد از بیهوشی با استفاده از گل میخک، با استفاده از سرنگ ۲/۵ سی سی از قسمت ساقه دمی خون‌گیری گردید به داخل ویال‌های استریل ۱/۵ سی سی منتقل شد.

خون جمع‌آوری شده به مدت ۱۲ ساعت در ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری تا خون منعقد گردد. سپس در دمای محیط در  $5000 \times g$  به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید.

مایع روپی به ویال‌های ۱/۵ سی سی استریل منتقل و برای استفاده در طی آزمایش‌ها در ۲۰- نگهداری شد. سنجش

آنزیم لیزوزیم به روش کدورت‌سنجی و با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر انجام شد (Subramanian *et al.*, 2007)، جهت اندازه‌گیری توتال ایمونوگلوبولین از

روش (Siwicki and Anderson, 1993) استفاده شد.

جمع‌آوری موکوس بر اساس روش راس و همکاران (Ross *et al.*, 2000) انجام شد.

جمع‌آوری موکوس براساس روش Ross و همکاران (۲۰۰۰) انجام شد. به‌طور تصادفی تعداد ۳ ماهی از هر

تانک نمونه‌برداری و با ۵ میلی‌گرم در لیتر پودر گل میخک بیهوش شدند و به‌صورت جداگانه درون کیسه‌های

پلی اتیلنی (زیپ پلاست) حاوی ۱۰ میلی‌لیتر سدیم کلرید ۵۰ میلی‌مولار قرار گرفته و پس از ۲ دقیقه ماهی‌ها

از کیسه‌ها خارج شدند. موکوس جمع‌آوری شده به لوله-

جدول ۲- پرایمرهای مورد استفاده در بررسی بیان نسبی ژن

Items	Gene	Primer	Primer sequence (5' to 3')	Accession Number
Immune-related genes	IL-1 $\beta$	F	GCTGCTGCCGCACATAGAC	AJ278242
		R	CTCATACTGTGATGTACTGCTGA	
	TNF- $\alpha$	F	CAAGAGTTTGAACCTCATTTCAG	NM_001124374.1
		R	CAAGAGTTTGAACCTCATTTCAG	

### ۳ | نتایج

سطوح با تیمار شاهد اختلاف معنی‌دار نشان داد ( $p < 0.05$ ) ولی در بین سطوح تغذیه شده با پلی‌فنول اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد ( $p > 0.05$ ). در تمام تیمارها و گروه شاهد هیچ‌گونه تلفاتی در طول دوره پرورش مشاهده نشد.

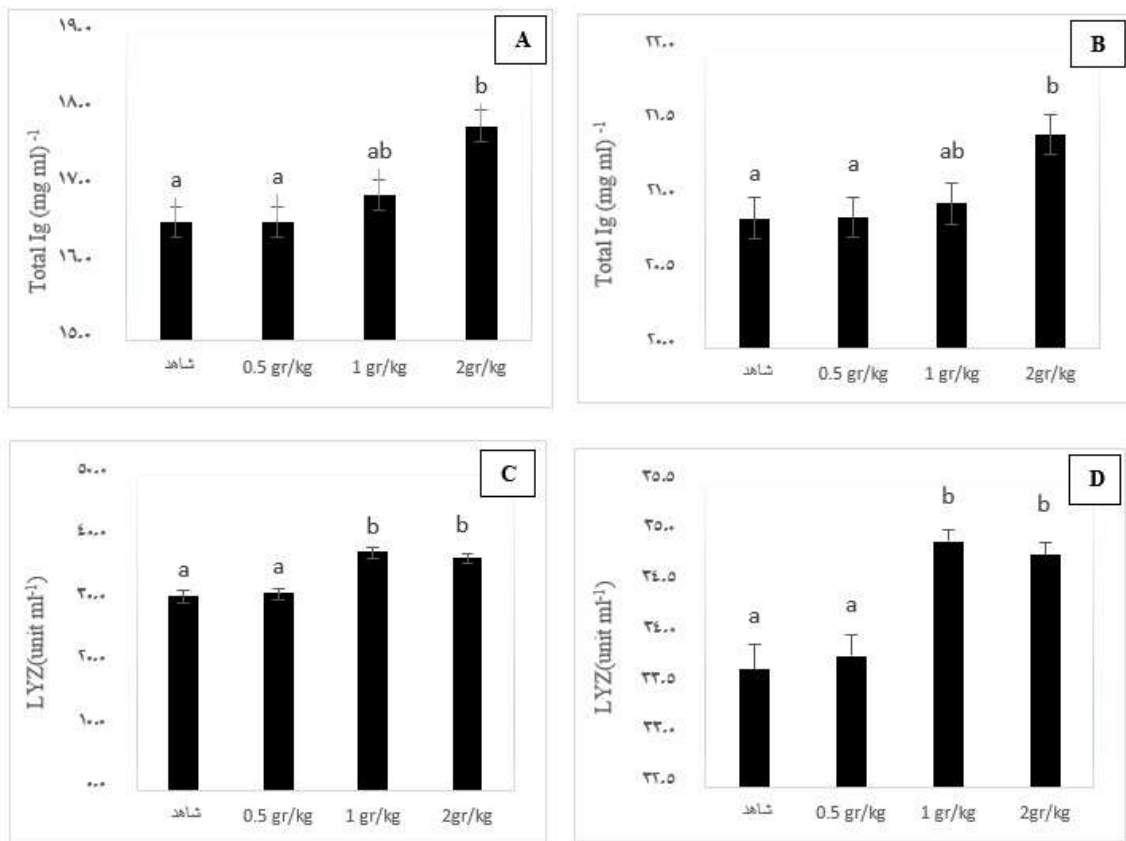
نتایج حاصل در این مطالعه به ما نشان می‌دهد که وزن تیمارهای حاوی پلی‌فنول با تیمار شاهد اختلاف معنی‌دار دارند ( $p < 0.05$ ) در بین تیمارهای تغذیه شده با (POL) بیشترین افزایش وزن، نرخ رشد ویژه و افزایش وزن در تیمار ۲ گرم بر کیلوگرم مشاهده شد ( $p < 0.05$ ). ضریب تبدیل غذایی در تیمارهای تغذیه‌شده با پلی‌فنول در تمام

جدول ۱- مقایسه برخی از شاخص‌های رشد (میانگین  $\pm$  انحراف استاندارد) بچه ماهی قزل‌آلای تغذیه شده طی ۸ هفته با جیره حاوی (POL) ( $0.05$ ) و ۱ گرم به ازای هر کیلوگرم). حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها می‌باشد ( $p < 0.05$ ).

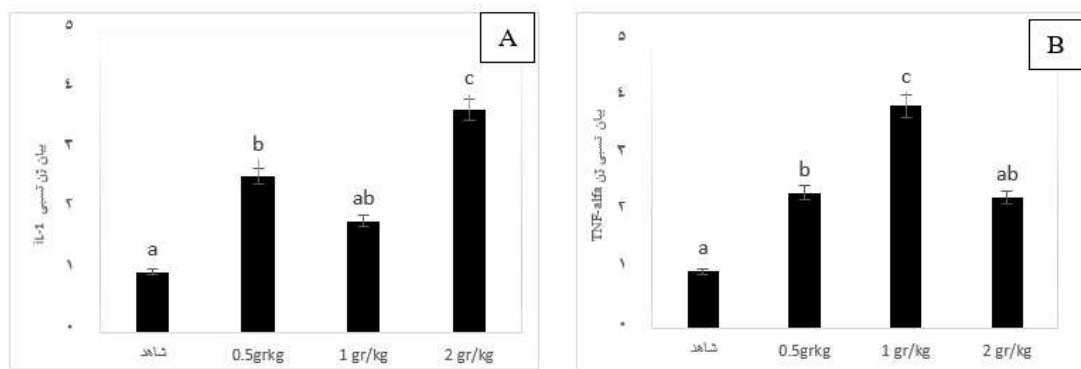
جیره حاوی (POL)				
۲ گرم/کیلوگرم	۱ گرم/کیلوگرم	۰/۵ گرم/کیلوگرم	صفر	
$19.0 \pm 6.3$	$10.0 \pm 6.12$	$3.0 \pm 6.16$	$4.0 \pm 6.16$	میانگین وزن اولیه (گرم)
$26 \pm 4.22$	$19 \pm 4.18$	$97 \pm 38.12$	$163 \pm 36.16$	میانگین وزن ثانویه (گرم)
$43 \pm 33.19$	$28 \pm 34.06$	$94 \pm 31.95$	$65 \pm 30.00$	درصد افزایش وزن
$6.0 \pm 3.12$	$3.0 \pm 3.14$	$0.3 \pm 3.04$	$1.08 \pm 2.95$	نرخ رشد ویژه (درصد/روز)
$0.3 \pm 1.07$	$1.0 \pm 1.06$	$2.0 \pm 1.14$	$1.0 \pm 1.30$	ضریب تبدیل غذایی
۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	بقا

موکوس در نمودارهای (C, D) شکل ۱ آورده شده است. نتایج در خصوص میزان فعالیت لیزوزیم سرم و موکوس در ماهیان قزل‌آلای تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی بیانگر افزایش معنی‌دار آماری میزان شاخص مذکور در گروه تغذیه‌ای ۱ و ۲ گرم بر کیلوگرم نسبت به سایر تیمارهاست ( $p < 0.05$ ) در حالی که میزان فعالیت لیزوزیم در سرم و موکوس بین تیمار ۰/۵ گرم بر کیلوگرم (POL) و شاهد تفاوت معنی‌داری را با هم نشان نداد ( $p > 0.05$ ). میزان فعالیت لیزوزیم در تیمار ۱ گرم بر کیلوگرم در سرم و موکوس به ترتیب با  $37/9 \pm 0.8$  و  $34/9 \pm 0.12$  ( $\text{unit ml}^{-1}$ ) بیشترین میزان را نشان داد.

نتایج اثرات استفاده از (POL) بر فعالیت ایمونو-گلوبولین سرم و موکوس در شکل ۱ (A, B) آورده شده است. بررسی میزان ایمونوگلوبولین کل سرم نشان‌دهنده تأثیر جیره آزمایشی بر میزان ایمونوگلوبولین سرم و موکوس در تیمارهای آزمایشی ۱ و ۲ گرم بر کیلوگرم می‌باشد ( $p < 0.05$ ). میزان شاخص مذکور در تیمار ۲ گرم بر کیلوگرم در سرم و موکوس به ترتیب با  $21/4 \pm 0.3$  و  $16/9 \pm 0.5$  ( $\text{mg ml}^{-1}$ ) بیشترین میزان را نشان داد ( $p < 0.05$ ). این اختلاف بین تیمار ۰/۵ گرم بر کیلوگرم و شاهد معنی‌دار نبود ( $p > 0.05$ ). نتایج اثرات استفاده از (POL) بر میزان فعالیت لیزوزیم سرم و



شکل ۱- (A) میزان ایمونوگلوبولین کل سرم، B: ایمونوگلوبولین کل موکوس، C: مقدار لیزوزیم سرم، D: میزان لیزوزیم موکوس) بچه ماهی قزل‌آلای تغذیه شده طی ۸ هفته با جیره حاوی (PLO) (۰/۵، ۱ و ۲ گرم به ازای هر کیلوگرم). حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها می‌باشد (p < 0.05).



شکل ۲- میزان بیان نسبی ژن IL-1β (A) و TNF-α (B) در ماهی قزل‌آلای تغذیه شده جیره حاوی سطوح مختلف (POL) بعد از ۸ هفته. حروف متفاوت نشانه معنی‌دار بودن در سطح ۰/۰۵ می‌باشد.

شاهد مشاهده می‌شود (p < 0.05). تیمار ۲ گرم بر کیلوگرم بیشترین بیان نسبی ژن IL-1β را  $3.7 \pm 0.56$  نشان می‌دهد. میزان بیان نسبی ژن  $Tnf-\alpha$  نیز همانطور که نمودار B شکل ۲ تحت تأثیر مصرف جیره (POL)

همان‌گونه که در نمودار A شکل ۲ مشاهده می‌شود بیان ژن IL-1β تحت تأثیر مصرف جیره‌های آزمایشی قرار گرفته به گونه‌ای که تفاوت معنی‌داری از نقطه نظر میزان بیان نسبی ژن مذکور بین تیمارها با یکدیگر و با گروه

ضریب تبدیل غذایی بعد از پایان دوره پرورش شد و تاثیر ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی موجود در مکمل مورد بررسی را عامل احتمالی این تاثیر بیان داشت. مصرف محرک‌های ایمنی گیاهی احتمالا به دلیل بهبود وضعیت سلامت مخاط روده به دلیل خاصیت ضد باکتریایی آن باشد که ممکن است مواد مغذی موجود در روده را در برابر باکتریهای پاتوژنی که در روده تشکیل کلنی داده‌اند حفظ کند (Chakraborty and Hancz *et al.*, 2014).

علاوه بر این ترکیبات آنتی‌اکسیدانی قوی موجود در عصاره‌های گیاهی با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی باعث تقویت میکرو ویلی‌ها در آنتروسیست‌ها گردد و سطح جذب آنتروسیست‌ها را افزایش داده و فعالیت آنزیم‌های گوارشی را نیز تحت تاثیر قرار داده و بهبود بخشد (Reverter *et al.*, 2017). همچنین ثابت شده است که محرک‌های ایمنی گیاهی می‌توانند سبب تحریک بیان ژن‌های مرتبط با رشد مانند هورمون رشد و فاکتور رشد شبه انسولین گردند.

البته حسب گونه ماهی، قابلیت‌های متابولیکی و ترکیب طبیعی و دوزهای مشتقات مختلف زیتون و شرایط آزمایشگاهی استحصال آن نتایج ممکن است متفاوت باشد. به طوری که استفاده از میوه زیتون بر کارایی رشد ماهی سی‌باس *Sparus aurata* تاثیر معنی‌داری نداشت (Sicuro *et al.*, 2010).

آبزیان در محیطی زیست می‌کنند که از هر طرف مورد تهاجم پاتوژن‌ها قرار می‌گیرند که می‌توانند بر سلامت ماهی اثر گذار باشند. به همین خاطر ارتقاء سیستم ایمنی غیر اختصاصی در آبزیان از اهمیت ویژه‌ای برخوردار می‌باشد. موکوس اولین خط دفاعی سیستم ایمنی غیر اختصاصی می‌باشد که نقش کلیدی به خاطر ترکیباتی مانند لیزوزیم، ایمونوگلوبولین، لکتین و ... در برابر پاتوژن‌ها ایفا می‌کنند (Ellis, 2007).

ایمونوگلوبولین‌ها ترکیبات آنتی‌بادی‌اند که در مقابله با پاتوژن‌ها در بدن ترشح می‌شوند. ایمونوگلوبولین‌ها از چهار زنجیره تشکیل شده‌اند که دو زنجیره بزرگ چسبیده به هم و دو زنجیره کوتاه که به زنجیره بلند متصل‌اند (Salinas *et al.*, 2011). به خاطر ویژگی‌هایی که دارند نقش مهمی در ایمنی ذاتی و اکتسابی دارند. در ماهیان Ig M، IgD و IgT/IgZ شناسایی شده است. در موکوس ترشح شده از روه استخراج گردیده است که بیان شده است که

ماهیان تغذیه شده با هر سه سطح مصرفی به میزان قابل توجهی در مقایسه با گروه شاهد افزایش یافته بود ( $p < 0.05$ ). در حالی که بیشترین میزان بیان نسبی ژن مربوط به گروه تغذیه شده با تیمار ۱ گرم  $0.37 \pm 0.09$  بود و اختلاف معنی‌داری با دو تیمار ۲ و ۵ گرم داشت ( $p < 0.05$ ).

#### ۴ | بحث و نتیجه‌گیری

توجه به افزایش تقاضا برای به دست آوردن پروتئین مورد نیاز انسان، صنعت آبی پروری به سمت سیستم‌های متراکم حرکت کرده است. با افزایش تراکم، عوامل استرس زا ایجاد می‌شود که منجر به تضعیف سیستم ایمنی ماهی و بروز بیماری‌های ناشی از عوامل بیماری‌زا فرصت طلب می‌شود. به دلایل محیطی و انسانی، استفاده از داروها و آنتی‌بیوتیک‌ها در دهه‌های اخیر مشمول قوانین ممنوعیت و محدودیت بوده و استفاده از مواد طبیعی رایج شده است (Liu *et al.*, 2013). تغذیه مناسب به عنوان یک عامل مهم در ارتقاء رشد طبیعی و حفظ سلامت آبزیان شناخته شده است. رژیم‌های غذایی فرموله شده نه تنها مواد مغذی لازم برای عملکرد طبیعی بدن را فراهم می‌کند. در عوض، حیوانات آبی نیز ممکن است ترکیباتی را دریافت کنند که بر سلامت آنها تاثیر می‌گذارد (Gatlin, 2007).

در مطالعه حاضر بررسی‌های انجام شده درخصوص تاثیر (POL) بر شاخص‌های رشد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان نشان‌دهنده این بود که شاخص‌های رشد نظیر افزایش وزن، نرخ رشد ویژه، ضریب تبدیل غذایی تحت تاثیر استفاده از پودر (POL) در هر سه سطح مورد آزمایش افزایش یافته بودند. هم‌راستا با نتایج مطالعه حاضر در خصوص شاخص‌های رشد (Parrillo *et al.*, 2017) گزارش کردند که استفاده از ضایعات زیتون منجر به بهبود فراسنجه‌های رشد در خرچنگ آب شیرین می‌گردد. در پژوهشی دیگر نیز گزارش شد که استفاده از روغن زیتون و میوه زیتون در جیره منجر به بهبود شاخص‌های رشد *Dicentrarchus labrax* گردید (Nasopoulou *et al.*, 2011). بررسی حسینی‌فر و همکاران (Hoseinifar *et al.*, 2020) در استفاه از ضایعات زیتون در تغذیه بچه ماهی قزل‌الا در راستای بررسی ما منجر به افزایش بهبود شاخص‌های رشد و

قارچ دکمه‌ای *Agaricus bisporus* به مدت ۸ هفته منجر به بهبود فعالیت لیزوزیم سرم و موکوس گردید (Zou et al., 2016).

سایتوکاین‌ها پروتئین‌های محلول یا متصل به غشای سلولی و یا گلیکوپروتئین‌های متصل به غشای سلول‌ها می‌باشند که وظیفه مهمی در سیستم ایمنی ایفا می‌کنند. نقش اصلی سایتوکاین‌ها واسطه پاسخ التهابی حاد در برابر عوامل ایجاد کننده می‌باشد. سایتوکاین‌ها با تحریک یا ممانعت از فعالیت، تکثیر و یا تمایز سلول‌های مختلف و با تنظیم ترشح آنتی‌بادیها یا سایر سایتوکاین‌ها بر شدت و زمان پاسخ‌های ایمنی تأثیر می‌گذارند (Manning, 1998).  $TNF$  به‌طور عمده توسط ماکروفاژهای فعال شده و سلول‌های دیگر مانند لنفوسیت‌ها، NK و نوتروفیل‌ها تولید می‌شود. اینترلوکین‌ها، توسط انواع گلبول‌های سفید خون تولید می‌شوند که اغلب بر لنفوسیت‌ها تأثیر دارند.  $IL-1$  توسط ماکروفاژها، لنفوسیت‌های T، مونوسیت و سلول‌های دندریتیک تولید می‌شوند که باعث ارتقا سیستم ایمنی همورال می‌گردند. اینترلوکین‌هایی که توسط نوتروفیل‌ها تولید می‌گردد و افزایش بیان آن بر اساس پاسخ به بیان  $IL-1$  و  $TNF-\alpha$  می‌باشد. بیان  $IL$  باعث می‌شود که نوتروفیل‌ها به فضای میان بافتی در زمان التهاب مهاجرت کنند. لیزوزیم یک آنزیم لایزکننده باندهای گلیکوزایدیک می‌باشد که مقدار فعالیت آن برای سیستم ایمنی ذاتی بسیار مهم می‌باشد (Ahmadifar et al., 2021).

نتایج حاصل از پژوهش حاضر بیانگر تأثیر استفاده از POL بر میزان بیان نسبی ژن‌های  $IL-1$  و  $TNF-\alpha$  بوده است. به‌گونه‌ای که تمام گروه‌های تغذیه شده این اختلاف با تیمار شاهد معنی‌دار است. استفاده از عصاره برگ زیتون *Olea europea L.* در جیره ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان *Oncorhynchus mykiss* باعث افزایش بیان ژن‌های  $TNF-\alpha$ ،  $IL-1$  گردید (Baba et al., 2018). در پژوهشی دیگر نیز گزارش شد که استفاده از عصاره گیاهی Olive leaf منجر به افزایش بیان ژن  $IL-1$  و کاهش بیان ژن‌های  $TNF-\alpha$  و  $IL-8$  در ماهی کپور معمولی *C. carpio* گردیده است (Zemheri-Navruz et al., 2019). همچنین تحقیقات نشان داده که استفاده از عصاره عناب *Ziziphus jujube* در جیره ماهی کپور معمولی *C. carpio* منجر به افزایش بیان ژن‌های  $TNF-$

باعث افزایش مهاجرت سلول‌های B به داخل موکوس می‌شود (Zhang et al., 2010). هر Ig نقش خاصی را در دفاع سیستمیک بازی می‌کند و نقش مهمی در ایمنی ذاتی ایفا می‌کنند.

بررسی میزان ایمونوگلوبولین کل سرم در پژوهش حاضر بیانگر تأثیر پودر عصاره پلی‌فنول برگ درخت زیتون بر میزان ایمونوگلوبولین کل در سرم و موکوس بود. ایمونوگلوبولین کل موکوس در ماهیان تغذیه شده با تیمار ۲ و ۱ گرم به‌طور معنی‌داری در مقایسه با تیمار شاهد و تیمار ۰/۵ گرم افزایش یافته بود. بررسی استفاده از ضایعات زیتون در پرورش بچه ماهی قزل‌آلا نیز نشان داد که ایمونوگلوبولین و لیزوزیم موکوس و سرم به‌طور معنی‌داری در پایان دوره پرورش افزایش نشان می‌دهند (Hoseinifar et al., 2020). اثرات مثبت استفاده از (POL) در جیره بر شاخص‌های ایمنی بچه ماهی قزل‌آلا احتمالاً به دلیل وجود ترکیبات زیستی فعال نظیر پلی‌فنول‌ها و ویتامین‌هایی نظیر ویتامین E (مثل آلفا-تکوفرول، بتا-تکوفرول و آلفا-تکوترینول) می‌باشد. لیزوزیم یک آنزیم ضد باکتری است که به‌طور گسترده در سیال‌های بیولوژیکی و بافت‌ها در طیف وسیعی از موجودات از جمله ماهی به خوبی مورد مطالعه قرار گرفته است. لیزوزیم در موکوس، بافت لنفویید و سرم بیشتر گونه‌ها وجود دارد. که به طور مستقیم باعث از بین رفتن پیوند بتا ۴-۱ بین ان-استیل مورامیک اسید و ان-استیل گلوکوزامین در دیواره‌ی سلولی باکتریهای گرم مثبت شده و از این طریق مانع تهاجم این باکتریها می‌شود (Subramanian et al., 2007). بررسی میزان فعالیت لیزوزیم در پژوهش حاضر بیانگر تأثیر مثبت (POL) بر فعالیت لیزوزیم سرم و موکوس در گروه تغذیه شده با جیره حاوی ۲ و ۱ گرم بر کیلوگرم بود. هم‌راستا با نتایج پژوهش حاضر در خصوص فعالیت لیزوزیم گزارش کردند که استفاده از پودر گلپر منجر به افزایش فعالیت لیزوزیم سرم و موکوس در ماهی کپور معمولی گردید (Hoseinifar et al., 2015). در پژوهشی دیگر نیز افزایش فعالیت لیزوزیم سرم در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در نتیجه تغذیه با جیره حاوی عصاره گشنیز گزارش شد (Farsani et al., 2019). همچنین گزارشات نشان می‌دهد که تغذیه ماهی کپور معمولی *Cyprinus carpio* با پودر

Aquatic Nutrition, 5(1): 111-122.

Carnevali, O., de Vivo, L., Sulpizio, R., Gioacchini, G., Olivotto, I., Silvi, S. and Cresci, A., 2006. Growth improvement by probiotic in European sea bass juveniles (*Dicentrarchus labrax*, L.), with particular attention to IGF-1, myostatin and cortisol gene expression. *Aquaculture*, 258(1-4):430-438.

Cerezuela, R., Meseguer, J. and Esteban, M.A., 2011. Current knowledge in synbiotic use for fish aquaculture: a review. *Journal of Aquaculture Research & Development S*, 1:1-7.

Çiçek, S. and Özoğul, F.A.T.İ.H., 2021. Effects of selenium nanoparticles on growth performance, hematological, serum biochemical parameters, and antioxidant status in fish. *Animal Feed Science and Technology*, 281:115-119.

Das, S., Mondal, K. and Haque, S., 2017. A review on application of probiotic, prebiotic and synbiotic for sustainable development of aquaculture. *Growth*, 14:15-22.

Dato-Cajegas, C. R. S. and Yakupitiyage, A., 1996. The need for dietary mineral supplementation for Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, cultured in a semi-intensive system. *Aquaculture*, 144(1-3):227-237.

Dawood, M.A., Eweedah, N.M., Moustafa, E.M. and Shahin, M.G., 2020. Synbiotic effects of *Aspergillus oryzae* and  $\beta$ -glucan on growth and oxidative and immune responses of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Probiotics and antimicrobial proteins*, 12(1):172-183.

Dawood, M.A., Basuini, M.F.E., Yilmaz, S., Abdel-Latif, H.M., Kari, Z.A., Abdul Razab, M.K.A., Ahmed, H.A., Alagawany, M. and Gewaily, M.S., 2021. Selenium nanoparticles as a natural antioxidant and metabolic regulator in aquaculture: A review. *Antioxidants*, 10(9):1364-376.

Deilamy Pour, H., Mousavi, S.M., Zakeri, M., Keyvanshokoo, S. and Kochanian, P., 2021. Synergistic effects of selenium and magnesium nanoparticles on growth, digestive enzymes, some serum biochemical parameters and immunity of Asian sea bass (*Lates calcarifer*). *Biological Trace Element Research*, 199(8):3102-3111.

Dehaghani, P.G., Baboli, M.J., Moghadam, A.T., Ziaei-Nejad, S. and Pourfarhadi, M., 2015. Effect of synbiotic dietary supplementation on survival, growth performance, and digestive enzyme activities of common carp (*Cyprinus carpio*) fingerlings. *Czech Journal of Animal Science*, 60(5), pp.224-232. [doi.org/10.17221/8172-CJAS](https://doi.org/10.17221/8172-CJAS)

Denev, S., Beev, G., Staykov, Y. and Moutafchieva, R., 2009. Microbial ecology of the gastrointestinal tract of fish and the potential application of probiotics and prebiotics in finfish aquaculture. *International*

ا، IL-1 $\alpha$  گردید (Hoseinifar *et al.*, 2018). اگرچه نتایج این پژوهش بیانگر تأثیر POL بر پاسخ التهابی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان است، اما مکانیسم پایه‌ای که بتوان از طریق آن تأثیر پودر از پلی فنل مستخرج از برگ درخت زیتون بر بیان ژن‌های ایمنی را تشریح کرد شناخته نشده است و مستلزم مطالعات بیشتر می‌باشد. در یک نتیجه کلی می‌توان بیان داشت که ترکیبات فنلی و فلاوونوئیدی به‌عنوان یک مکمل فیتو-بیوتیک مصرفی می‌تواند موجب بهبود کیفیت پرورش بچه ماهی قزل‌آلا در شرایط پرورش باشد.

## ۵ | ملاحظات اخلاقی

موردی توسط نویسندگان گزارش نشده است.

## REFERENCES

- Adineh, H., Naderi, M., Nazer, A., Yousefi, M., Ahmadifar E. 2021. Interactive effects of stocking density and dietary supplementation with Nano selenium and garlic extract on growth, feed utilization, digestive enzymes, stress responses, and antioxidant capacity of grass carp, *Ctenopharyngodon idella*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 52(4):789-804.
- Ai, Q., Xu, H., Mai, K., Xu, W., Wang, J. and Zhang, W., 2011. Effects of dietary supplementation of *Bacillus subtilis* and fructooligosaccharide on growth performance, survival, non-specific immune response and disease resistance of juvenile large yellow croaker, *Larimichthys crocea*. *Aquaculture*, 317(1-4):155-161.
- Akter, M., Sutriana, A., Talpur, A.D. and Hashim, R., 2016. Dietary supplementation with mannan oligosaccharide influences growth, digestive enzymes, gut morphology, and microbiota in juvenile striped catfish, *Pangasianodon hypophthalmus*. *Aquaculture international*, 24(1):127-144.
- Anson, M.L., 1938. The estimation of pepsin, trypsin, papain, and cathepsin with hemoglobin. *The Journal of general physiology*, 22(1):79-88.
- Banan Khojasteh, S.M., 2012. The morphology of the post-gastric alimentary canal in teleost fishes: a brief review. *Int. J. of Aquatic Science*, 3(2):71-88.
- Bernfeld, P., 1955. [17] Amylases,  $\alpha$  and  $\beta$ . *Methods in Enzymology*, 1: 149-158.
- Bitá, S. and Sarhadipour, A. 2018. The effect of Biomin Imbo synbiotic supplementation on the changes of enzymes involved in antioxidant defense, digestion and intestinal microbial population of gray mullet fish.

- 42(1):49-52.
- Hosseinpour Zalti, A., Seyed Hosni, M. H., Adineh, H. and Sohrabi, T., 2021. Effect of selenium nanoparticle, microencapsulated vitamins C and E on growth performance, immune indices and liver enzymes of young farmed elephant fish (*Huso huso*). Scientific Journal of Iranian Fisheries, 30(6):111-125.
- Huber, I., Spanggaard, B., Appel, K.F., Rossen, L., Nielsen, T. and Gram, L., 2004. Phylogenetic analysis and in situ identification of the intestinal microbial community of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum). Journal of applied microbiology, 96(1):117-132.
- Ibrahim, M.S., El-gendy, G.M., Ahmed, A.I., Elharoun, E.R. and Hassaan, M.S., 2021. Nanoselenium versus bulk selenium as a dietary supplement: Effects on growth, feed efficiency, intestinal histology, haemato-biochemical and oxidative stress biomarkers in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1758) fingerlings. Aquaculture Research, 52(11):5642-5655.
- Iijima N., Tanaka S. and 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.
- Iqbal, S., Atique, U., Mahboob, S., Haider, M.S., Iqbal, H.S., Al-Ghanim, K.A., Al-Misned, F., Ahmed, Z. and Mughal, M.S., 2020. Effect of supplemental selenium in fish feed boosts growth and gut enzyme activity in juvenile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Journal of King Saud University-Science, 32(5):2610-2616.
- Khan, K.U., Zuberi, A., Fernandes, J.B.K., Ullah, I. and Sarwar, H., 2017. An overview of the ongoing insights in selenium research and its role in fish nutrition and fish health. Fish physiology and biochemistry, 43(6):1689-1705.
- Khara, H., Sayyadborani, M., SayyadBorani, M., 2016. Effects of  $\alpha$ -tocopherol (vitamin E) and ascorbic acid (vitamin C) and their combination on growth, survival and some haematological and immunological parameters of Caspian brown trout, *Salmo trutta caspius* juveniles. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 16(2): 385-393.
- Kiabi, B. H., Abdoli, A. and Naderi, M., 1999. Status of the fish fauna in the South Caspian Basin of Iran. Zoology in the Middle East, 18:57-65.
- Kozarić, Z., Kužir, S., Petrinc, Z., Gjurčević, E. and Božić, M., 2008. The development of the digestive tract in larval European catfish (*Silurus glanis* L.). *Anatomia, histologia, embryologia*, 37(2):141-146.
- Kumar, P., Jain, K.K., Sardar, P., Jayant, M. and Tok, N.C., 2018. Effect of dietary synbiotic aquatic research, 1(1):1-9.
- Domenechini, C., Arrighi, S., Radaelli, G., Bosi, G. and Mascarello, F., 1999. Morphological and histochemical peculiarities of the gut in the white sturgeon, *Acipenser transmontanus*. European Journal of Histochemistry: EJH, 43(2):135-145.
- El-Haroun, E.R., Goda, A.S. and Kabir Chowdhury, M.A., 2006. Effect of dietary probiotic Biogen® supplementation as a growth promoter on growth performance and feed utilization of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (L.). Aquaculture research, 37(14):1473-1480.
- El-Bakary, N.E.R., and El-Gammal, H.L., 2010. Comparative histological, histochemical and ultrastructural studies on the proximal intestine of flathead grey mullet (*Mugil cephalus*) and sea bream (*Sparus aurata*), Journal of Sciences, 8(4), pp. 477-485.
- Gabriel, Y., 2005. Glass cages and glass palaces: Images of organization in image-conscious times. Organization, 12(1):9-27.
- Gabriel, I., Mallet, S. and Sibille, P., 2005. Digestive microflora of bird: factors of variation and consequences on bird. INRA Prod Anim, 18:309-22.
- Gatesoupe, F. J., 1999. The use of probiotics in aquaculture. Aquaculture. 180:147-65.
- Ghasempour Dehaqani, P., Javaheri Babli, M., Ziainejad, S., Tagvi Moghadam, A., and Porhadi, M., 2012. Investigating the effect of Biomin Imbo synbiotic food supplement as a food supplement on growth performance, survival and intestinal bacterial flora of common carp (*Cyprinus carpio*). Aquaculture Development Journal, 7(3):43-52.
- Gisbert, E., Giménez, G., Fernández, I., Kotzamanis, Y. and Estévez, A., 2009. Development of digestive enzymes in common dentex *Dentex dentex* during early ontogeny. Aquaculture, 287: 381- 387.
- Hatami, A., Paknejad, H. and Sudagar, M., 2020. Effect of Dietary Supplemented Biotronic Top3 on Growth Indices, Mucus and Blood Serum Immunity and the Expression of Growth-Related Genes (GH, Ghrelin, IGF-1) in Persian Sturgeon (*Acipenser persicus*) . Animal physiology and development, 14(4):17-34.
- Hamilton, S. J., 2004. Review of selenium toxicity in the aquatic food chain. Science of the Total Environment, 326(1-3): 1-31.
- Hampson, D.J. and Kidder, D.E., 1986. Influence of creep feeding and weaning on brush border enzyme activities in the piglet small intestine. Research in veterinary science, 40(1):24-31.
- Harpaz, S., Eshel, A. and Lindner, P., 1994. Effect of 1-propanol on the activity of intestinal proteolytic enzymes of the European sea bass *Dicentrarchus labrax*. Journal of agricultural and food chemistry,

- Ray, A.K., Ghosh, K. and Ringø, E.J.A.N., 2012. Enzyme-producing bacteria isolated from fish gut: a review. *Aquaculture Nutrition*, 18(5):465-492.
- Ringoe, E. and Birkbeck, T.H., 1999. Intestinal microflora of fish larvae and fry. *Aquaculture research*, 30(2), p73-93. 21p.
- Roubach, R., Menezes, A., Oh, K. and Dabbadie, L., 2019. Towards guidelines on sustainable aquaculture. *FAO Aquaculture Newsletter*, (60): 55-56.
- Sedighi, S., Sajjadi, M. and Hosseini Far, S., 2018. The effect of dietary malic acid on the growth performance and histomorphology of gold fish intestinal tissue. *Animal Ecology*, 11(3), pp. 147-154.
- Sell, J.L., Angel, C.R., Piquer, F.J., Mallarino, E.G. and Al-Batshan, H.A., 1991. Developmental patterns of selected characteristics of the gastrointestinal tract of young turkeys. *Poultry Science*, 70(5):1200-1205.
- Sepehrfar, D., Hosseini Far, S. H. and Jafaroudeh, A., 2019. The effect of separate and combined use of probiotic *Pediococcus acidilactici* and probiotic Raffinos on some blood parameters and non-specific immune parameters of serum in golden *crucian carp*. *Animal Ecology*, 13(3): 269-276.
- Shenkin, A., 2006. Micronutrients in health and disease. *Postgraduate medical journal*, 82(971):559-567.
- Spanggaard, B., Huber, I., Nielsen, J., Nielsen, T., Appel, K.F. and Gram, L., 2000. The microflora of rainbow trout intestine: a comparison of traditional and molecular identification. *Aquaculture*, 182(1-2):1-15.
- Takashima, H., Nakajima, T., Moriguchi, M., Sekoguchi, S., Nishikawa, T., Watanabe, T., Katagishi, T., Kimura, H., Minami, M., Itoh, Y. and Kagawa, K., 2005. In vivo expression patterns of survivin and its splicing variants in chronic liver disease and hepatocellular carcinoma. *Liver International*, 25(1):77-84.
- Takahashi, K., Suzuki, N. and Ogra, Y., 2020. Effect of gut microflora on nutritional availability of selenium. *Food chemistry*, 319:126-137.
- Torrecillas S, Rivero-Ramírez F, Izquierdo MS, Caballero MJ, Makol A, Suarez-Bregua P, Fernández-Montero A, Rotllant J, Montero D. 2018. Feeding European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles with a functional synbiotic additive (*mannan oligosaccharides* and *Pediococcus acidilactici*): An effective tool to reduce low fishmeal and fish oil gut health effects? *Fish and Shellfish Immunology*, 81: 10-20.
- Vathouqi, G., and Mostajir, B., 1992. Mahian Ab Shirin, Institute of Publishing and Printing, University of Tehran. 317 p.
- Watanabe, T., Kiron, V., Satoh, S., 1997. Trace minerals in fish nutrition. *Aquaculture*, 151:185-207.
- on growth performance, body composition, digestive enzyme activity and gut microbiota in *Cirrhinus mrigala* (Ham.) fingerlings. *Aquaculture nutrition*, 24(3):921-929.
- Lara-Flores, M., Olvera-Novoa, M.A., Guzmán-Méndez, B.E. and López-Madrid, W., 2003. Use of the bacteria *Streptococcus faecium* and *Lactobacillus acidophilus*, and the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as growth promoters in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 216(1-4):193-201.
- Lee, C.S. and Donaldson. E.M., 2001. Reproductive Biotechnology in Finfish Aquaculture. Proceedings of a Workshop Hosted by the Oceanic Institute. Elsevier, p. 11.
- Li, P. and Gatlin, D.M., 2003. Evaluation of brewer's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) as a feed supplement for hybrid Striped Bass (*Morone chrysops* × *M. saxatilis*). *Aquaculture*, 219:681-692.
- Merrifield, D.L., Olsen, R.E., Myklebust, R., Ringø, E. and El-Shemy, H., 2011. Dietary effect of soybean (*Glycine max*) products on gut histology and microbiota of fish. *Soybean and nutrition*, pp.231-250.
- Mohammadi Arani, M., Salati, A.P., Safari, O. and Keyvanshokoo, S., 2019. Dietary supplementation effects of *Pediococcus acidilactici* as probiotic on growth performance, digestive enzyme activities and immunity response in zebrafish (*Danio rerio*). *Aquaculture Nutrition*, 25(4):854-861.
- Niess, J.H. and Reinecker, H.C., 2005. Lamina propria dendritic cells in the physiology and pathology of the gastrointestinal tract. *Current opinion in gastroenterology*, 21(6):687-691.
- Oliva-Teles, A., 2012. Nutrition and health of aquaculture fish. *Journal of fish diseases*, 35(2):83-108.
- Papina, M., Meziane, T. and Van Woesik, R., 2003. Symbiotic zooxanthellae provide the host-coral *Montipora digitata* with polyunsaturated fatty acids. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 135(3):533-537.
- Pond, M.J., Stone, D.M. and Alderman, D.J., 2006. Comparison of conventional and molecular techniques to investigate the intestinal microflora of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 261(1):194-203.
- Powell, D.W., Pinchuk, I.V., Saada, J.I., Chen, X. and Mifflin, R.C., 2011. Mesenchymal cells of the intestinal lamina propria. *Annual review of physiology*, 73:213-237.
- Puupponen-Pimiä, R.A.M.A., Aura, A.M., Oksman-Caldentey, K.M., Myllärinen, P., Saarela, M., Mattila-Sandholm, T. and Poutanen, K., 2002. Development of functional ingredients for gut health. *Trends in Food Science & Technology*, 13(1):3-11.

- lipid metabolism of the Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. Aquaculture nutrition, 17(4):e902-e911.
- Zakariaee, H., Sodagar, M., Hosseini, S. P., Paknejad, H. and Baroah, K., 2022. The effect of using synbiotics containing button mushroom (*Agaricus bisporus*) extract in combination with two species of lactic acid bacteria on digestive enzyme activities, body composition, growth and intestinal microbial flora in zebrafish (*Danio rerio*). Marine Science and Technology Journal, 21(2): 63-75.
- Wang, X., Sun, Y., Wang, L., Li, X., Qu, K. and Xu, Y., 2017. Synbiotic dietary supplement affects growth, immune responses and intestinal microbiota of *Apostichopus japonicus*. Fish & shellfish immunology, 68:232-242.
- Willey, J. M., Shorwood, L. M. and woolverton, C. J., 2008. Prescott, Harley and Wein's Microbiology, 7th edited, Mcgraw-Hill Higher Education USA., 1088p.
- Ye, J.D., Wang, K., Li, F.D. and Sun, Y.Z., 2011. Single or combined effects of fructo- and mannan oligosaccharide supplements and *Bacillus clausii* on the growth, feed utilization, body composition, digestive enzyme activity, innate immune response and

نحوه استناد به مقاله:

روفچائی ر.، حسینی فر س.ح.، صفری ر.، صیادبورانی م.، ندائی ش.، ایمنی تملی ا. اثرات تغذیه پلی فنول برگ زیتون بر روی شاخص‌های رشد، ایمنی و بیان نسبی ژن‌های  $TNF-\alpha$  اینترلوکین و تومور در بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان. نشریه پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی دانشگاه گنبدکاووس. ۱۴۰۳. ۱۱۲ (۱): ۷۰-۵۹.

Roufchaei R., Hoseinifar S.H., Safari R., Sayad Boorani M., Nedaei Sh., Imani Tamali O. Effects of Feeding Pure Olive Leaf Polyphenols on Growth Indices, Non-Specific Immunity, Blood Parameters, and Antioxidant Activity in Rainbow Trout Fry. Journal of Applied Ichthyological Research, University of Gonbad Kavous. 2024, 12(1): 59-70.

## Effects of Feeding Pure Olive Leaf Polyphenols on Growth Indices, Non-Specific Immunity, Blood Parameters, and Antioxidant Activity in Rainbow Trout Fry

Roufchaei R<sup>\*1</sup>., Hosseinifar S.H<sup>2</sup>., Safari R<sup>2</sup>., Sayad borani M<sup>3</sup>., Nedaei Sh<sup>4</sup>., Imani Tamali O<sup>5</sup>.

<sup>1</sup> Researcher, Agricultural Extension, Education and Research Organization, Fisheries Science Research Institute of Iran, Inland Water Aquaculture Research Institute, Bandar Anzali, Iran

<sup>2</sup> Assistant Professor, Gorgan University, Faculty of Fisheries and Environment, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

<sup>3</sup> Associate Professor, Agricultural Extension, Education and Research Organization, National Fisheries Science Research Institute, Inland Water Aquaculture Research Institute, Bandar Anzali, Iran

<sup>4</sup> Researcher, Faculty of Natural Resources, Department of Fisheries and Aquatics, Hormozgan University, Bandar Abbas, Iran

<sup>5</sup> experts, Agricultural Extension, Education and Research Organization, Fisheries Science Research Institute of Iran, Inland Water Aquaculture Research Institute, Bandar Anzali, Iran

<b>Type:</b> Original Research Paper	<b>Abstract</b> The rainbow is <i>Oncorhynchus mykiss</i> . Number of 120 pieces of fish with an average weight of $6.5 \pm 0.1$ grams were randomly divided into four treatments with three replications in 100 liter storage tanks and with four diets containing zero, 0.5, 1 and 2 grams (POL) per kilogram. The food was fed for 8 weeks. At the end of the period, growth factors, non-specific immune indices of mucus and serum and the relative expression of immune genes were investigated. Investigation of serum safety indicators, blood sampling from the caudal stem of the treatments was done completely randomly. To measure mucus safety indicators, sampling and collection of mucus from all treatments was done completely randomly. The relative expression of immune genes was investigated from the sampled intestinal tissues. The obtained results showed the improvement of growth indices in fish fed with three different levels (POL). In terms of non-specific immunity, the results showed an increase in total serum and mucus immunoglobulin in the groups fed with a diet containing 1, 2 g/kg (POL). The amount of lysozyme activity of total serum and mucus was also affected by (POL) and fish fed with 1 and 2 grams of (POL) showed a significant increase. The relative expression of the immune gene was also affected by feeding with the above supplement in the mentioned treatments. The highest relative expression of the interleukin gene was obtained in the treatment of 2 g/kg and tumor necrosis factor in the treatment of 1 g/kg (POL). Consumption of 2 g/kg olive leaf polyphenol supplement can have a favorable effect on the growth and rearing quality of Rainbow trout.
<b>Paper History:</b> Received: 01-06-2024 Accepted: 10-07- 2024	
<b>Corresponding author:</b> Roufchaei R. Researcher, Agricultural Extension, Education and Research Organization, Fisheries Science Research Institute of Iran, Inland Water Aquaculture Research Institute, Bandar Anzali, Iran. <b>Email:</b> rufchaeiava@yahoo.com	<b>Keywords:</b> Polyphenol Olive leaf, Rainbow trout , non-specific immune system, relative gene expression