تاثیر مکمل دایجستاروم بر عملکرد رشد، سیستم آنتی اکسیدان و برخی آنزیم‌های کبدی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus Carpio*)

تکاور محمدیان*[1]، رضا قانعی مطلق[1]، امیر علی حیدری[2]، سکینه مشجور[3،4]، مجتبی امام[1]

[1]گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.

[2]گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران.

[3]گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران.

[4]مرکز تحقیقات علوم دارویی دریایی، دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز، اهواز، ایران

*نویسنده مسئول: tak.mohammadian@gmail.com

تاریخ دریافت: ۹۸/۱/۱۸ تاریخ پذیرش: ۹۹/۳/۱۸

چکیده

دایجستاروم (P.E.P. MGE) حاوی مخلوط استانداردی از اسانس‌های روغنی گیاهی می‌باشد. هدف از این مطالعه بررسی اثر مصرف مکمل غذایی دایجستاروم بر آنزیم‌های کبدی و همچنین سنجش خاصیت آنتی اکسیدانی این مکمل در کپور معمولی بوده است. در این تحقیق اثر استفاده از مکمل غذایی دایجستاروم در سه گروه، شامل گروه کنترل فاقد دایجستاروم، گروه دوم جیره حاوی ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دایجستاروم و گروه سوم جیره حاوی ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دایجستاروم روی ۲۲۵ قطعه بچه ماهی کپور معمولی با میانگین وزن ۲/۹۸±۱۶/۱۵گرم به مدت ۶۰ روز مورد بررسی قرار گرفت. پس از اتمام دوره‌ی آزمایش، نمونه‌گیری از ماهی‌ها در روز ۶۰ تحقیق انجام گرفت. سپس شاخص‌های رشد و همچنین فعالیت آنزیم‌های اکسیداتیو و آنزیم‌های کبدی در پلاسمای خون مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که تجویز مکمل دایجستاروم به‌ویژه در سطح ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم جیره موجب بهبود شاخص‌های رشد می‌شود (P<۰/۰۵). با مصرف دایجستاروم تفاوت معنی‌داری در مقادیر SOD، CAT، GSH و MDA در بین تیمارهای آزمایش و گروه کنترل مشاهده نشده است (P<۰/۰۵). مقایسه سطح آنزیم‌های کبدی نظیر AST، ALT، ALP و LDH در بین تیمارها و گروه کنترل نشان داد که علی‌رغم تغییراتی که در میزان این آنزیم‌ها در بین گروه‌ها وجود دارد، تنها میزان آنزیم ALP در تیمار۲ در مقایسه با تیمار ۳ و گروه کنترل افزایش معنی‌داری داشته است (P<۰/۰۵). براساس نتایج، استفاده از مکمل دایجستاروم در سطوح مذکور می‌تواند موجب بهبود عملکرد رشد شود و احتمالاً تاثیر منفی بر آنزیم‌های کبدی و آنتی اکسیدان مورد مطالعه در بچه ماهی کپور معمولی نداشته است.

واژگان کلیدی: آنتی اکسیدان، آنزیم، پلاسما، دایجستاروم، رشد، کپور معمولی.

مقدمه

کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) یکی از مهمترین ماهیان گرمابی پرورشی در آب‌شیرین به‌شمار می‌رود که در شوری ۱۴ در هزار دریای خزر به‌خوبی رشد می‌یابد. پرورش ماهی کپور به‌علت صرفه اقتصادی و گوشت خوشمزه آن در اغلب کشورها از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (Vinodhini and Narayanan, 2008) و در ایران عمدتاً در استان‌های خوزستان، گیلان و مازندران پرورش داده می‌شود. از بزرگترین مشکلات پیش رو در صنعت آبزیان در ایران و جهان، یافتن راهکارهای مناسب و کاربردی با هدف بالا بردن توان تولید در واحد سطح است. افزایش تولید در واحد سطح مستلزم افزایش تراکم است که می‌تواند منجر به القای استرس مازاد و کاهش نرخ بازماندگی شود. اهداف اصلی در صنعت آبزی‌پروری حفظ سلامت ماهی و همچنین بهبود عملکرد ماهی است. امروزه با توجه به محدودیت‌های موجود در کاربرد آنتی‌بیوتیک‌ها و نیز کارایی کم واکسن‌ها در آبزیان، استفاده از محرک‌های ایمنی، پری‌بیوتیک‌ها، پروبیوتیک‌ها و مشتقات گیاهی یا اصطلاحاً ترکیبات فیتوژنیک رو به گسترش می‌باشد. تجویز عمده این ترکیبات در مراحل پرورش دام (طیور، خوک و گاو) مثبت ارزیابی شده است، هر چند پتانسیل استفاده آن‌ها در جیره ماهی هنوز در حال بررسی است (Giannenas *et al*., 2012). افزودنی‌های غذایی گیاهی ترکیبات مشتق شده از گیاهان هستند که به منظور بهبود عملکرد ماهی مورد استفاده قرار می‌گیرند (Peterson *et al*., 2014). اسانس‌های

گیاهی موجود در این ترکیبات می‌تواند موجب تحریک اشتها، تحریک ترشح شیره گوارشی، افزایش جذب و خوش خوراکی غذا، حفظ سلامت و بهبود ریخت‌شناسی و یکپارچگی روده، ارتقای سیستم ایمنی، افزایش توان آنتی اکسیدانی، اثرات ضدمیکروبی و ضد التهابی و همچنین محافظت از بیماری گردد (Menanteau-Ledouble *et al*., 2015; Mohiti-Asli and Ghanaatparast-Rashti, 2018). ترکیبات پری‌بیوتیک مکمل‌های غذایی هستند که غیرقابل هضم بوده و اثرات مفیدی بر تحریک رشد و سلامت جانداران دارند. برخی از این ترکیبات غذایی گیاهی به‌دلیل وجود فیبرهای گیاهی محتوی انواع الیگوساکاریدها و پلی‌ساکاریدی غیرقابل هضم فعالیت پری‌بیوتیکی را ابراز نموده و با القای تغییراتی در فلورمیکروبی روده جانداران، اثرات مفیدی را بر سلامت آن‌ها برجای می‌گذارند (Roberfroid *et al*., 2007). اما امروزه محصولات تجاری از این نوع گیاهان با خواص پری‌بیوتیکی تهیه شده است که از آن جمله می‌توان مکمل غذایی دایجستاروم (P.E.P. MGE) را نام برد که یک افزودنی غذایی با منشا گیاهی و پری‌بیوتیکی است که مخلوطی از اسانس‌های گیاهی و پری بیوتیک‌ها می‌باشد (دفاعی و همکاران، ۱۳۹۵) و مختص آبزیان فرموله شده است (Menanteau-Ledouble *et al*., 2015). این محصول حاوی مخلوطی از اسانس‌های روغنی از جمله کارواکِرول، تیمول، آنِتول و لیمونِن می‌باشد که به شکل انکپسوله تهیه شده است. تیمول و کارواکرول با افزایش نفوذپذیری غشای سیتوپلاسمی دارای اثرات ضد میکروبی هستند (Ahmadifar *et al*., 2011). آنِتول موجود در دایجستاروم از بادیان رومی اسانس‌گیری شده و دارای خواص ضد ویروسی و ضد قارچی و محرک قوی اشتها است. کارواکِرول موجود در این مکمل اسانس پونه کوهی است و دارای اثرات ضدباکتریایی، ضدقارچی و آنتی اکسیدانی قوی است. لیمونِن نیز از مرکبات مشتق شده و دارای خاصیت ضدمیکروبی است و طعم خوراک را بهبود می‌بخشد (Defaee *et al*., 2016). افزودن مکمل دایجستاروم در جیره ماهیان *Orechromis niloticus*، *Oncorhynchus mykiss*، *Ictalurus punctatus* و میگو با موفقیت همراه بوده است (Peterson *et al*., 2014; Menanteau-Ledouble *et al*., 2015; Yilmaz and Ergün, 2015, Ezzat Abd El-Hack *et al*., 2016) و با توجه به این‌که امروزه می‌تواند به عنوان یک مکمل غذایی سودمند در صنعت آبزیان مورد استفاده قرار بگیرد و مطالعه‌ای در مورد گونه کپور معمولی و اثرات آنتی اکسیدانتی این مکمل صورت نگرفته است، بررسی اثرات مصرف مکمل غذایی دایجستاروم بر تغییرات آنزیم‌های کبدی و همچنین آنزیم‌های سیستم دفاع آنتی اکسیدانی در ماهی کپور معمولی هدف این مطالعه قرار گرفته است، زیرا دانش سم‌شناسی و ایمنی‌شناسی ما در ارتباط با خطرات بالقوه محرک دوزهای مختلف مکمل‌های گیاهی بر سیستم ایمنی ماهیان بسیار محدود بوده و تجویز و توصیه به مصرف گسترده این ترکیبات در مراکز آبزی‌پروری منوط به حصول اطمینان از تاثیرات فیزیولوژیک مثبت به‌ویژه در سطوح اندام‌های حیاتی ماهیان نظیر کبد خواهد بود.

مواد و روش‌ها

تعداد ۲۲۵ عدد بچه ماهی کپور معمولی با میانگین وزن ۲/۹۸±۱۶/۱۵ گرم و میانگین طول ۱۳/۸۲±۱۰/۰ از مرکز تکثیر شهید ملکی اهواز تهیه و با استفاده از تانک مخصوص حمل بچه ماهی و کپسول اکسیژن به دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز منتقل گردید. پیش از شروع آزمایش ماهی‌ها از نظر ظاهری و بالینی مورد بررسی قرار گرفتند و پس از ۲۴ ساعت گرسنگی به‌دلیل حمل و نقل به‌مدت دو هفته نسبت به شرایط آزمایشگاهی (دمای آب ۲۴±۲°C، اکسیژن ppm ۶±۱ و پی اچ ۷/۶±۰/۲) سازگار گردیدند. غذادهی ماهیان در طول دوره سازگاری با جیره اصلی (جدول ۱) انجام گرفت. غذادهی روزانه به میزان ۲/۵ درصد وزن توده زنده و سه بار در روز برای همه گروه‌ها انجام گرفت. غذاهای تهیه شده در دمای معمولی آزمایشگاه به‌مدت ۲۴ ساعت خشک و در کیسه‌های پلاستیکی بسته‌بندی و در یخچال تا زمان مصرف نگهداری شد. غذای مورد نیاز در هر روز پس از محاسبه از یخچال خارج و در لیوان‌های پلاستیکی

جدول ۱ - ترکیب اصلی جیره استفاده شده در آزمایش.

اجزای غذایی جیره	آرد جو	آرد گندم	سبوس گندم	کنجاله سویا	پودر ماهی	روغن ماهی	روغن (آفتابگردان)	آنزیمیت	ملاس	پرمیکس ویتامین و مواد معدنی
درصد	۲۵	۱۰	۸	۲۴	۲۰	۳	۴	۲	۲	۲

جدول ۲ - آنالیز تقریبی جیره.

در وزن خشک (درصد)	انرژی خام (Kcal/kg)	پروتئین خام	چربی خام	فیبر	رطوبت	خاکستر	TVN (mg/100gr)
	۳۵۰۰	۳۷	۹-۱۰	۵	کمتر از ۸	۱۱-۱۲	۳۹

شماره‌گذاری شده تا زمان مصرف قرار داده شد. آنالیز تقریبی جیره نیز مطابق بر اطلاعات ارائه شده توسط شرکت سازنده در جدول ۲ گزارش شده است.

جیره غذایی پایه ابتدا با آب مقطر مخلوط گردید و بعد از تبدیل شدن به‌صورت خمیر، میزان مورد نیاز از مکمل غذایی دایجستاروم (Digestarom® P.E.P MGE ساخت شرکت Biomin اتریش) که مخلوطی از اسانس‌های گیاهی و پری‌بیوتیک‌ها بوده و به صورت مایع و روغنی می‌باشد در دو گروه غلظتی ۲۰۰ mg/kg و ۴۰۰ تهیه و اندازه‌گیری شده و ابتدا با روغن ماهی و سپس آب مخلوط و رقیق گردیده و نهایتاً این محلول به خمیر جیره غذایی برای هر گروه تیمار افزوده شد و به‌خوبی با تمامی ترکیبات خمیر همگن گردید. ماده حاصله به‌وسیله چرخ گوشت با دهانه رشته‌ای سایز ۲ mm به‌صورت رشته در آمد. رشته‌ها به‌صورت تفکیک شده برای هر تیمار در آون با دمای ۴۰ درجه به‌مدت ۶ ساعت خشک و سپس خرد شدند و به‌صورت پلت در آمدند. پلت‌ها برای یک روز در دمای اتاق نگهداری شدند تا روغن به خوبی جذب گردد. پس از آن تمامی غذاها به یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد منتقل و نگهداری شدند.

به‌منظور تیماربندی ماهیان، تعداد ۹ مخزن ۳۰۰ لیتری از جنس پلی‌اتیلن تهیه گردیده، پس از شستشو و ضدعفونی با سولفات مس و نمک دریا تا حجم ۲۵۰ لیتر آبگیری شده و به‌مدت یک روز هوادهی گردید. سپس تعداد ۲۵ قطعه ماهی به هر مخزن به‌صورت کاملاً تصادفی معرفی گردید. پس از گذشت دو روز و عدم غذادهی و اطمینان از خالی بودن معده گوارشی ماهیان، غذادهی بر مبنای جیره غذایی غنی شده با مکمل غذایی دایجستروم صورت پذیرفت. طراحی تیمارهای آزمایش، شامل گروه کنترل (شاهد) یا تیمار ۱ (خوراک فاقد افزودنی)، تیمار ۲ (خوراک حاوی ۲۰۰ mg/kg مکمل غذایی دایجستاروم)، تیمار ۳ (خوراک حاوی ۴۰۰ mg/kg مکمل غذایی دایجستاروم) در سه تکرار بوده و غذادهی به‌مدت ۶۰ روز انجام پذیرفت. تغذیه ماهیان در تیمار شاهد و تیمارهای آزمایشی به‌میزان ۳ درصد وزن توده زنده آن‌ها محاسبه و روزانه در سه نوبت در ساعات ۸ صبح ، ۱۴ و ۲۰ به آن‌ها داده شد. جهت تعیین توده زنده هر یک از تیمارها، هر ۱۵ روز یکبار ۱۰۰ درصد ماهیان هر تکرار با ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۱ gr توزین و طول کل آن‌ها با تخته بیومتری با دقت ۱ mm اندازه‌گیری شد. قبل از انجام زیست سنجی، بچه ماهیان به مدت ۲۴ ساعت گرسنه نگه‌داشته شدند. در طول دوره تیماربندی در بازه‌های زمانی ۱۰ روزه به‌دلیل ممانعت از افت کیفیت آب، تعویض آب مخازن صورت می‌پذیرفت. در پایان دوره آزمایش، قبل از اندازه‌گیری فاکتورهای مورد نظر ماهیان به سطل حاوی ۰/۲ml/lit داروی بیهوشی ۲- فنوکسی اتانول منتقل گردیدند تا ماهی‌ها بیهوش شوند (Genc *et al*., 2007; Giannenas *et al*., 2012). در این پژوهش تعداد ۳ قطعه از هر تکرار (۹ قطعه از هر تیمار) خون‌گیری شدند. خون‌گیری از ماهیان با استفاده از سرنگ هپارینه از ساقه دمی صورت گرفت. برای جداسازی پلاسما، نمونه‌های خون سانتریفیوژ و نمونه‌های پلاسما تا قبل از انجام تست‌های بیوشیمیایی در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (Genc *et al*., 2007).

شاخص‌های رشد: پس از گذشت ۶۰ روز از اجرای طرح، ماهیان به‌صورت انفرادی بیومتری شده و میزان افزایش وزن، نرخ رشد ویژه، ضریب تبدیل غذایی، فاکتور وضعیت، میزان کارایی پروتئین و میزان بقا بر اساس فرمول‌های زیر محاسبه گردید. نرخ رشد ویژه (Specific Growth Rate) با فرمول زیر محاسبه

شد.

دوره پرورش به روز/$SGR = Lnw_2 - Lnw_1 \times ۱۰۰$

که در آن w_2= وزن نهایی و w_1= وزن اولیه (گرم) است. ضریب تبدیل غذایی (Feed Conversation Ratio) نیز ازفرمول زیر محاسبه شد:

$FCR =$ (میزان غذای دریافت شده (گرم) / میزان کل وزن تر کسب شده (گرم)

محاسبه فاکتور وضعیت (Condition Factor) نیز براساس فرمول زیر محاسبه شد:

$CF = [W/L^3] \times ۱۰۰$

که در آن L= طول کل ماهی بر حسب سانتی‌متر و W= وزن ماهی بر حسب گرم می‌باشد. افزایش وزن (Weight Gain) با فرمول زیر محاسبه شد.

$WG =$ (متوسط وزن نهایی (گرم) - متوسط وزن اولیه (گرم)

درصد افزایش وزن (Weight Gain)، میزان کارایی پروتئین (Protein Efficiency Ratio) و درصد بقا یا بازماندگی (Survival Rate) نیز براساس فرمول‌های زیر محاسبه شد:

$WG (\%) =$ ((متوسط وزن نهایی (گرم) - متوسط وزن اولیه (گرم))/ (متوسط وزن اولیه (گرم)) × ۱۰۰

$PER =$ (افزایش وزن بدن (گرم) / مقدار پروتئین مصرفی (گرم)

$SR = (N_f/N_0 \times ۱۰۰)$

که در آن N_f: تعداد ماهیان در ابتدای آزمایش و N_0: تعداد ماهی در انتهای آزمایش است.

اندازه‌گیری سطوح آنزیم‌های کبدی در پلاسمای خون: سطح فعالیت آنزیم‌های آسپارتات آمینو-ترنسفراز (AST) و آلانین آمینوترنسفراز (ALT) پلاسما بر اساس مقدار مصرف نیکوتین‌آمید آدنین دی‌نوکلئوتید (NADH) و تبدیل آن به NAD^+ در طول موج ۳۴۰ نانومتر، سطح لاکتات دهیدروژناز پلاسما براساس تبدیل پیرووات به لاکتات در طول موج ۳۴۰ نانومتر و سطح آنزیم آلکالین فسفاتاز براساس تبدیل نیتروفنیل فسفات به نیتروفنول و فسفات در طول موج ۴۰۵ نانومتر تعیین و براساس میزان جذب نوری (OD) و فرمول ارائه شده در دستورالعمل کیت‌های پارس آزمون محاسبه گردید (Moss and Henderson, 1999).

اندازه‌گیری فعالیت آنتی اکسیدانی پلاسمای خون: از نمونه‌های پلاسما برای ارزیابی فعالیت آنزیم‌های اصلی سیستم دفاع آنتی اکسیدانی نظیر کاتالاز (CAT) و سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و نیز یکی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی غیر آنزیمی که نقش کوفاکتوری را برای آنزیم‌های چرخه گلوکورونیداسیون ایفا می‌نماید و موسوم به گلوتاتیون (GSH) است، استفاده شد. اندازه‌گیری آنزیم‌های کاتالاز بر اساس روش Koroluk و همکاران (۱۹۸۸)، گلوتاتیون براساس روش توصیف شده توسط Ellman (۱۹۵۹) و آنزیم سوپراکسید دیسموتاز براساس روش Marklund و Marklund (۱۹۷۴) انجام گرفت. مالون‌دی‌آلدهید (MDA) به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدی بر مبنای واکنش آن با تیوباربیتوریک اسید و براساس روش گزارش شده توسط لاتا و پاری (۲۰۰۳) با کمی تغییر اندازه‌گیری شد. در این روش MDA با دو مولکول تیوباربیتوریک اسید واکنش می‌دهد و ترکیبی با رنگ متمایل به قرمز ایجاد می‌کند (Latha and Pari, 2003). پروتئین تام پلاسما نیز، با استفاده از کیت ارس آزمون اندازه‌گیری شده و در نهایت براساس دستورالعمل اندازه‌گیری شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی، واحدها به صورت ماکرومول بر میلی‌گرم ارائه گردید.

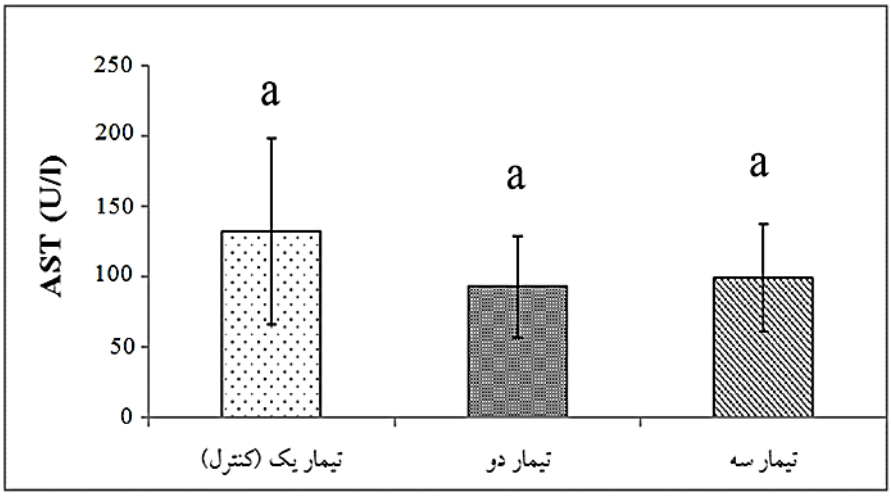
تجزیه و تحلیل داده‌ها: در نهایت کلیه داده‌های جمع آوری شده در نرم افزار Excel ثبت و نرمال بودن داده‌ها توسط نرم افزار SPSS 16 و آزمون کلموگروف-اسمیرنوف و همگنی گروه‌ها با استفاده از آزمون Levene بررسی و تایید گردید. سپس وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای مختلف در سطح اطمینان ۹۵ ٪ با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) و پس آزمون دانکن مورد ارزیابی قرار گرفت.

نتایج

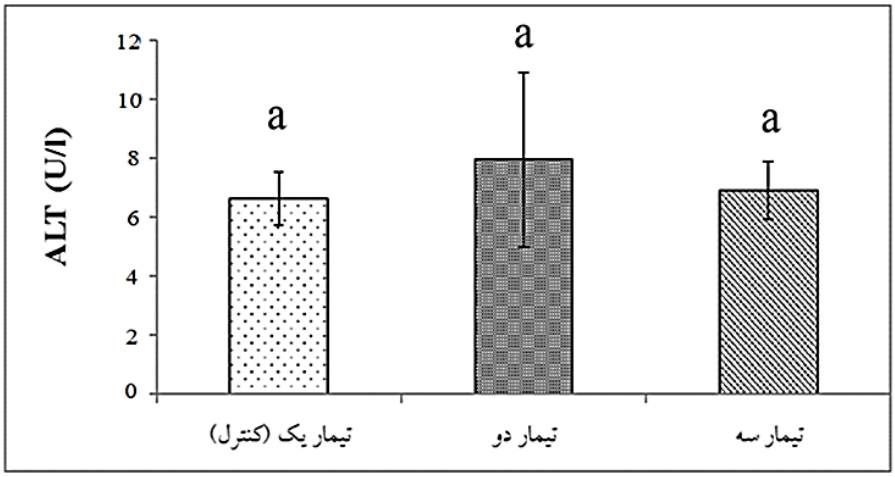
تاثیر مکمل رژیمی دایجستاروم بر پارامترهای رشد ماهی کپور معمولی در جدول ۳ نشان داده شده است. وزن نهایی و بازده پروتئین در تیمارهای ۲ و ۳ با اختلاف معنی‌دار ($P<۰/۰۵$) در مقایسه با شاهد مقدار بالاتری را نشان دادند. فاکتور وضعیت در تیمار

جدول ۳ - مقایسه میانگین پارامترهای رشد در ماهی کپور معمولی تحت تاثیر دایجستاروم (حروف غیرمشابه نشان از اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است (P<۰/۰۵)).

پارامتر	شاهد	تیمار ۲	تیمار ۳
وزن نهایی (گرم)	۲۶±۰/۷^{a}	۲۹/۹۰±۰/۲۴^{b}	۳۰/۲۲±۰/۳۲^{b}
طول نهایی (سانتیمتر)	۱۲/۶۱±۰/۱۹^{a}	۱۲/۳۷±۰/۳۲^{a}	۱۲/۶۰±۰/۱۴^{a}
فاکتور وضعیت	۱/۳۹±۰/۰۶^{a}	۱/۵۷±۰/۰۶^{b}	۱/۵۰±۰/۰۱^{c}
افزایش وزن (گرم)	۶/۶۰±۰/۵۴^{a}	۱۰/۳۴±۰/۳۲^{b}	۸/۴۵±۰/۲۱^{c}
درصد افزایش وزن بدن (درصد)	۲۸/۳۸±۲/۴۹^{a}	۵۲/۷۷±۳/۲۹^{b}	۴۳/۳۹±۳/۶۲^{c}
نرخ رشد ویژه (درصد)	۰/۱۷±۰/۰۳^{a}	۰/۳۰±۰/۰۲^{b}	۰/۲۶±۰/۰۴^{c}
بازده پروتئین	۰/۳۶±۰/۰۵^{a}	۰/۵۲±۰/۰۴^{b}	۰/۴۷±۰/۰۴^{b}
ضریب تبدیل غذایی	۱/۷۱±۰/۰۷^{a}	۱/۳۲±۰/۰۸^{b}	۱/۵۸±۰/۰۴^{c}
کارایی غذا (درصد)	۰/۱۲±۰/۰۱^{a}	۰/۱۹±۰/۰۲^{b}	۰/۱۶±۰/۰۱^{c}
بقا	۱۰۰ ^{a}	۱۰۰^{a}	۱۰۰^{a}

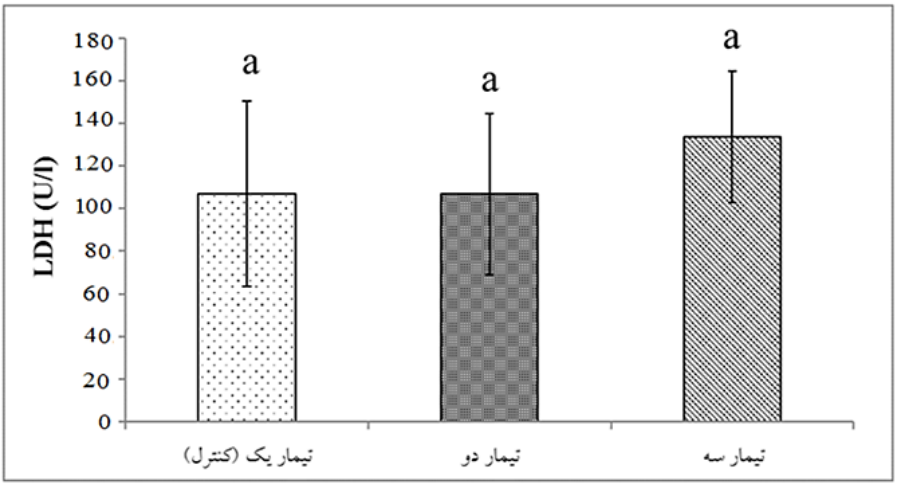


شکل ۱ - تغییرات AST در سطوح مختلف دایجستاروم. داده‌ها به شکل Mean±SD و حروف لاتین ناهمنام نشانگر اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است (P<۰/۰۵)).

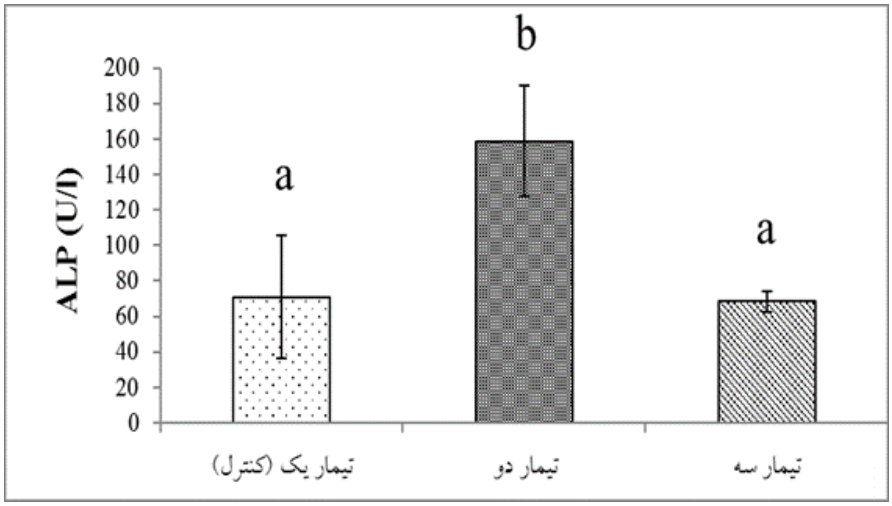


شکل ۲ - تغییرات ALT در سطوح مختلف دایجستاروم. داده‌ها به شکل Mean±SD و حروف لاتین ناهمنام نشانگر اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است (P<۰/۰۵)).

۲ در مقایسه با دو تیمار دیگر بالاتری بودند (P<۰/۰۵). وضعیت شاخص‌های افزایش وزن، ضریب تبدیل غذایی، کارایی غذا و نرخ رشد ویژه در ماهیان کپور تحت تغذیه با دایجستاروم و شاهد نشان داد که



شکل ۳ - تغییرات LDH در سطوح مختلف دایجستاروم. داده‌ها به شکل Mean±SD و حروف لاتین ناهمنام نشانگر اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است (P<۰/۰۵)).



شکل ۴ - تغییرات ALP در سطوح مختلف دایجستاروم. داده‌ها به شکل Mean±SD و حروف لاتین ناهمنام نشانگر اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است (P<۰/۰۵)).

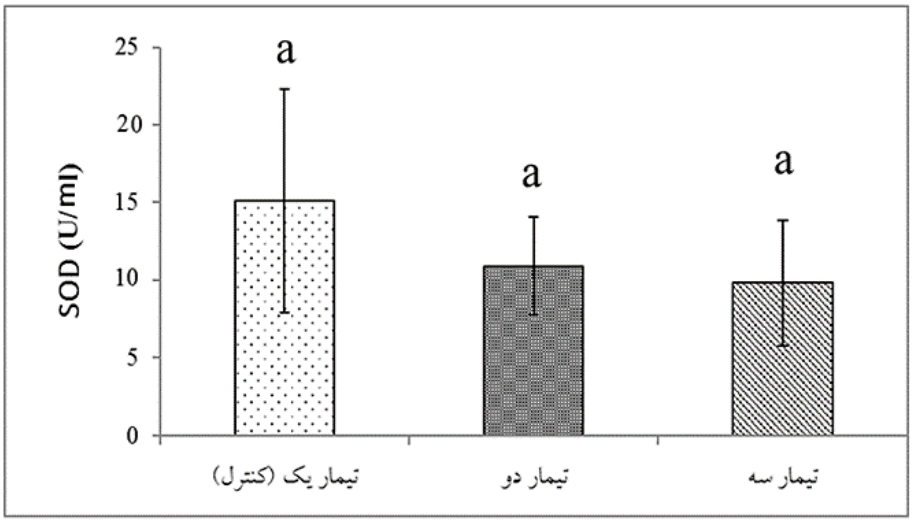
هر سه تیمار با یکدیگر اختلاف معنی‌دار داشتند (P<۰/۰۵) و تیمار ۲ در مقایسه با دو تیمار دیگر مقدار بالاتری را نشان دادند. درصد بقا در تمامی گروه‌ها یکسان بود و تلفاتی مشاهده نگردید.

سطوح آنزیم‌های کبدی در پلاسمای خون: شکل ۱ مقادیر آنزیم AST را نشان می‌دهد که با توجه به نتایج، میزان AST در گروه‌های تیمار کمتر بود ولی تفاوت معنی‌داری در میزان AST در شاهد و تیمارها وجود نداشت. شکل ۲ نتایج مربوط به سطح فعالیت ALT می‌باشد، که نشان می‌دهد میزان ALT تیمار ۲ بیشتر از تیمارهای ۳ و شاهد است، ولی با این حال تفاوت معنی‌داری در میزان ALT گروه شاهد و تیمارها وجود نداشت.

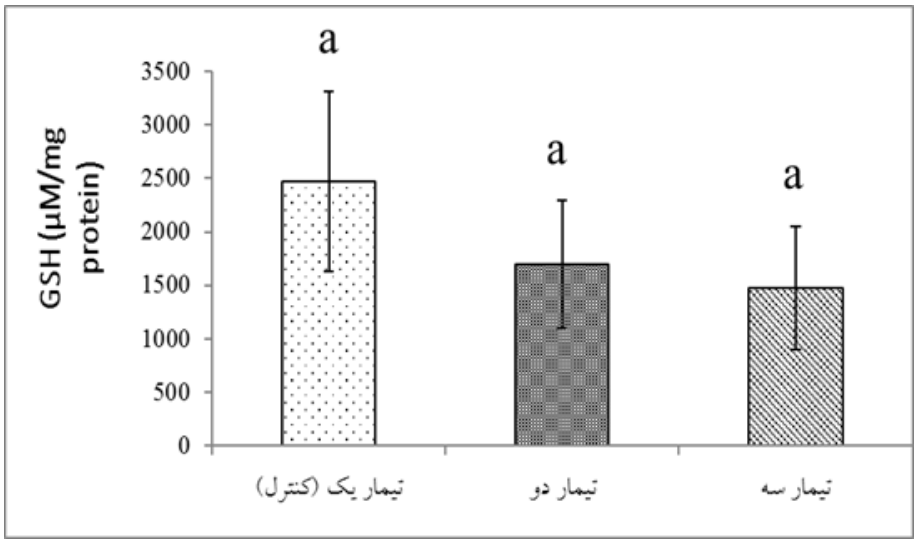
نتایج همچنین نشان داد که میزان آنزیم لاکتات دهیدوژناز (LDH) در تیمار ۳ نسبت به تیمار ۲ و کنترل افزایش داشته است، ولی این تغییرات معنی‌دار نبود (شکل ۳). نتایج سنجش آنزیم ALP براساس شکل ۴ نشان داد که سطح فعالیت این آنزیم در تیمار دو نسبت به تیمار سه و کنترل به شکل معنی-داری افزایش داشته است (P<۰/۰۵).

فعالیت آنتی‌اکسیدانی: شکل‌های ۵ و ۶ تغییرات فعالیت سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون در پلاسمای ماهیان مورد آزمایش را نشان می‌دهد. همان‌گونه که در شکل‌ها دیده می‌شود، تفاوت معنی-داری در میزان این آنزیم بین تیمارهای آزمایشی رخ نداد.

تاثیر سطوح مختلف مکمل غذایی دایجستاروم را بر فعالیت آنزیم کاتالاز پلاسمای خون ماهی کپور در



شکل ۵ - تغییرات آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در سطوح مختلف دایجستاروم. داده‌ها به شکل Mean±SD و حروف لاتین ناهمنام نشانگر اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است ($P<۰/۰۵$)).

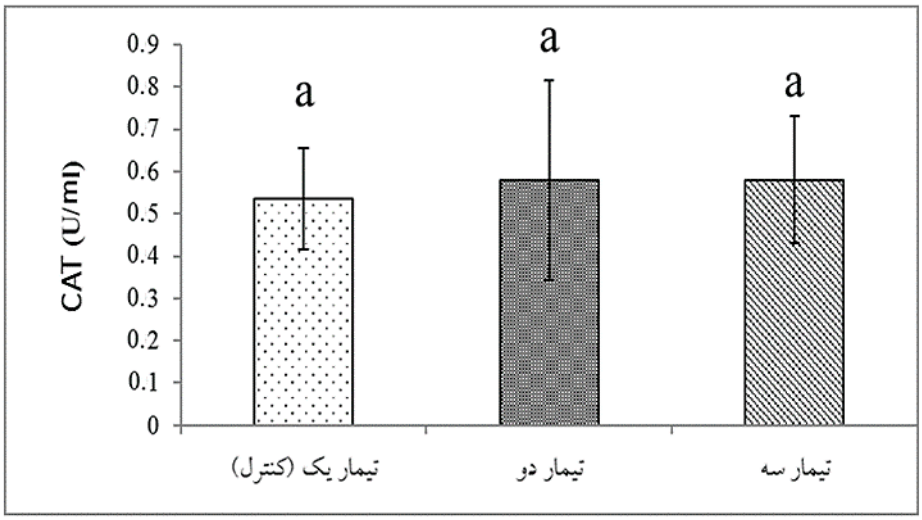


شکل ۶ - تغییرات گلوتاتیون در سطوح مختلف دایجستاروم. داده‌ها به شکل Mean±SD و حروف لاتین ناهمنام نشانگر اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است ($P<۰/۰۵$)).

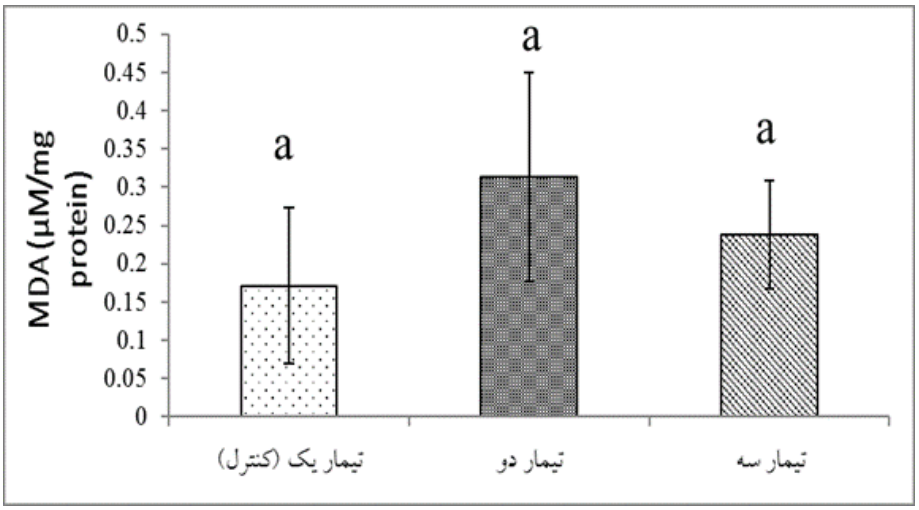
شکل ۷ ارائه شده است. سطح فعالیت کاتالاز در تیمارهای مختلف علیرغم افزایش جزئی در تیمارهای مصرف کننده مکمل به‌صورت معنی‌دار نبود. شکل ۸ نیز مربوط به تغییرات سطح فعالیت مالون دی‌آلدهید در پلاسمای خون می‌باشد. باتوجه به این نتایج میزان ۲۰۰ mg/kg دایجستاروم (تیمار دو) سبب افزایش میزان MDA شده است با این حال این تغییرات در مقایسه با گروه سه و گروه کنترل به صورت معنی‌دار نبود.

بحث

نتایج این پژوهش نشان داد که ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دایجستاروم در تمامی پارامترهای رشد اندازه‌گیری شده عملکرد بهتری هم در مقایسه با گروه شاهد و هم در مقایسه با تیمار ۳ (حاوی ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دایجستاروم) داشتند، البته عملکرد تیمار ۳ در مقایسه با تیمار شاهد بهتر بود. مکمل غذایی دایجستاروم به‌دلیل داشتن آنتول موجود در بادیان رومی اشتها را تحریک کرده که نتیجه آن بالا رفتن کارایی غذا و استفاده بهتر از پروتئین جیره بوده است و همچنین لیمونن مرکبات موجود در این مکمل، یک طعم دهنده محسوب می‌شود و باعث گرایش ماهی به مصرف غذا می شود. بخش دوم این مکمل غذایی



شکل ۷ - تغییرات آنزیم کاتالاز در سطوح مختلف دایجستاروم. داده‌ها به شکل Mean±SD و حروف لاتین ناهمنام نشانگر اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است (P<۰/۰۵)).



شکل ۸ - تغییرات مالون دی آلدهید در سطوح مختلف دایجستاروم. داده‌ها به شکل Mean±SD و حروف لاتین ناهمنام نشانگر اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است (P<۰/۰۵)).

بخش پری‌بیوتیکی بوده که حاوی فروکتوالیگو-ساکارید است (Roberfroid *et al*., 2007).

در مورد بالارفتن پارامترهای رشد تحت تاثیر مصرف دایجستاروم، به‌نظر می‌رسد دلیل اصلی موثر، وجود فروکتوالیگوساکارید باشد که به‌واسطه تخمیر باکتری‌های مفید روده و ازدیاد آن‌ها به‌وسیله باکتری‌های اسید لاکتیک، قابلیت هضم و جذب غذا را بالا می‌برد. این افزایش هضم خود توجیه کننده استفاده بهتر ماهی از غذا و پایین آمدن ضریب تبدیل غذایی و در نتیجه رشد بالاتر در مقایسه با شاهد است. در توافق با نتایج مطالعه حاضر در مطالعه آنیو و همکاران (۲۰۱۸) مشخص شد که افزودن لیمون در سطح ۴۰۰ و ۶۰۰ پی‌پی‌ام جیره موجب بهبود عملکرد رشد در ماهی تیلاپیای نیل می‌شود (Aanyu *et al*., 2018). همچنین تجویز کارواکرول و تیمول که دو جزء اصلی دایجستاروم هستند، موجب بهبود ضریب تبدیل غذایی در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان شد (Giannenas *et al*., 2012). در مطالعه ژنگ و همکاران (۲۰۰۹) نیز تجویز تیمول و کارواکرول با بهبود برخی شاخص‌های رشد در گربه ماهی کانالی همراه بوده است (Zheng *et al*., 2009).

ترکیبات فعال موجود در محصولات گیاهی می-توانند اثر مثبتی بر عملکردهای فیزیولوژیکی میزبان داشته باشند. برخی گیاهان دارای اثرات دارویی هستند و مهمترین اثرات مشتقات گیاهی را می‌توان

به آداپتوژن‌ها، آلکالوئیدها، آنتی‌اکسیدان‌ها، ریزمغذی‌ها، مواد معدنی، ساپونین‌ها و پلی-ساکاریدهای موجود در آن‌ها مرتبط دانست (Banaee *et al*., 2011). مطالعات زیادی به‌منظور تاثیرات مکمل‌های غذایی بر پاسخ‌های میزبان انجام شده است. در این خصوص، سنجش نشانگرهای زیستی رایج استرس اکسیداتیو و فراسنجه‌های خونی و بافتی به‌عنوان روشی معتبر برای ارزیابی اثر این ترکیبات تأیید شده است (Al-Anazi *et al*., 2015). همان‌طور که گفته شد دایجستاروم در ردیف استانداردهای فارماکوپه بین‌المللی است و ترکیبات مختلف موجود در آن هر کدام دارای نقش‌های مختلفی می‌باشند که در نهایت دایجستاروم را به عنوان یک مکمل غذایی موثر معرفی می‌کند. نتایج به نشان داد که افزودن مکمل غذایی دایجستاروم به جیره غذایی کپورمعمولی به میزان ۲۰۰ mg/kg (تیمار ۲) و ۴۰۰ mg/kg جیره (تیمار ۳) منجر به افزایش سطح فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون نمی‌گردد و علی‌رغم کاهش نسبی سطح این آنزیم‌ها در مقایسه با گروه کنترل، این تغییرات اختلاف معنی‌داری نسبت به گروه کنترل نداشت. مقایسه تغییرات مربوط به سطح کاتالاز نشان داد که استفاده از مکمل غذایی دایجستاروم در جیره غذایی ماهی کپور می‌تواند سبب افزایش سطح فعالیت کاتالاز گردد ولی در مقایسه با گروه کنترل، تغییرات معنی‌داری را نشان نداد. با این حال نتایج نشان داد که فعالیت آنتی اکسیدانی دایجستاروم می‌تواند بیشتر به‌علت افزایش سطح فعالیت کاتالاز باشد که منجر به خنثی‌سازی گونه‌های فعال اکسیژن می‌گردد. در مطالعه Giannenas و همکاران (۲۰۱۲) افزودن مکمل کارواکرول (gr/kg ۱۲ خوراک) و تیمول (gr/kg ۶ خوراک) به‌مدت هشت هفته در خوراک قزل آلای رنگین کمان موجب افزایش معنی‌دار سطح کاتالاز سرم خون نسبت به گروه کنترل شد. همچنین این دو مکمل موجب بهبود توان آنتی‌اکسیدانی فیله این ماهی (بهبود مقادیر مالون‌دی‌آلدهید، گلوتاتیون اس‌ترنسفراز و گلوتاتیون ردوکتاز) ۵ روز بعد از ذخیره در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد شدند. در مطالعه Zheng و همکاران (۲۰۰۹) افزودن مکمل تیمول و کارواکرول و مخلوط آن‌ها تاثیر معنی‌داری بر مقادیر SOD و CAT در پلاسمای گربه‌ماهی کانالی (*Ictalurus punctatus*) نداشت.

استفاده از عصاره‌های طبیعی که منبع مناسبی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی هستند به‌منظور بهبود کیفیت ماهی در حال افزایش است. به‌عنوان مثال استفاده از عصاره پوست پرتغال موجب بالا بردن مدت زمان نگهداری و افزایش سطح کیفی فیله ماهی کپور می‌شود و فیله‌های تیمار شده با عصاره ۵ درصد نسبت به تیمارهای صفر و یک درصد تا انتهای دوره نگهداری قابل مصرف بودند. مطالعات دیگری نیز در ارتباط با استفاده از ترکیبات دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی در گونه‌های دیگر ماهی انجام شده است. تحقیق انجام شده بر روی ماهی کپور علفخوار (*Ctenopharyngodon idella*) نشان داد که استفاده از جیره غذایی حاوی *باسیلوس سوبتیلیس* به عنوان مکمل غذایی پروبیوتیکی می‌تواند منجر به افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی در کبد شود (Tang *et al*., 2018). براساس مطالعه حاضر و مطالعات ذکر شده پروبیوتیک‌ها و همچنین مکمل‌های غذایی نظیر دایجستاروم این پتانسیل را دارند که با افزایش تحریک ترشح آنتی‌اکسیدان‌ها منجر به حذف رادیکال‌های آزاد اضافی تولید شده توسط سوخت و ساز بالای بدن و استرس نامطلوب زیست محیطی گردند و با تنظیم تعادل رادیکال‌های بدن، ترمیم بافت و اندام‌های آسیب دیده بدن را بهبود دهند. امروزه از ترکیبات با منشا گیاهی نیز به‌منظور افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی آبزیان بی‌مهره استفاده می-شود. در پژوهشی اثر محرک‌های ایمنی سیر و گونه گیاهی دوروا (*Cynodon dactylon*) به نسبت ۱، ۲ و ۳ درصد روی گونه خرچنگ آب‌شیرین (*Procambarus clarkii*) نشان داد که جیره دارای ۲-۳ درصد از محرک‌های ایمنی مذکور به‌طور معنی-داری موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی پروفنول اکسیداز و آنزیم سوپراکسید دیسموتاز می-شود (Mona *et al*., 2015). کاهش یا عدم افزایش سطح فعالیت آنزیم‌ها در پلاسمای ماهی‌ها ممکن است ناشی از تأثیر مکمل‌های غذایی نظیر دایجستاروم بر عملکرد فیزیولوژیکی غشای سلول‌ها در بافت‌های مختلف به‌ویژه بافت کبد باشد. ثابت و در حد نرمال ماندن سطح آنزیم‌ها پلاسمایی در یک

مطالعه بیانگر عملکرد پایدار کبد و سیستم صفراوی در طی آزمایش می‌باشد که با توجه به جایگزین نمودن داروهای گیاهی و مکمل‌های غذایی به جای داروهای شیمیایی انجام آزمایش‌های پیش بالینی در گونه‌های مختلف آبزیان از ضرورت بالایی برخوردار است (Fallahpour *et al*., 2017).

بررسی سطح فعالیت آنزیم‌های کبدی در واقع می‌تواند بیانگر میزان آسیب سلولی باشد که توسط اجزای تشکیل دهنده یک جیره در بافت‌های نظیر کبد رخ می‌دهد. همان‌طور که در نتایج مشاهده شد، مکمل غذایی دایجستاروم آسیب سلولی به‌خصوصی در بافت‌های بدن ایجاد نمی‌کند. براساس نتایج این مطالعه میزان AST و ALT در گروه‌های تیمار حاوی ۲۰۰ (تیمار ۲) و ۴۰۰ mg/kg جیره (تیمار ۳) در مقایسه با گروه کنترل (تیمار یک) تغییرات معنی‌داری را نشان نداد. با توجه به این‌که AST و ALT از مهمترین آنزیم‌های کبدی در مرحله نهایی تجزیه پروتئین به ATP جهت تامین انرژی هستند، افزایش سطح این آنزیم‌ها نقش موثری در استفاده از آمینواسیدها درفرآیند گلوکوژنز ایفا می‌کند (Murray *et al*., 2009). بنابراین عدم تغییرات معنی‌دار در تیمار دو و سه در مطالعه انجام شده می‌تواند نشان دهنده عدم تغییر نرخ تبدیل پروتئین به انرژی باشد و این یعنی این‌که در اثر استفاده از میزان ۲۰۰ و ۴۰۰ mg/kg دایجستاروم در جیره سمیت سلولی احتمالا رخ نداده است و این‌که اگر آسیبی رخ داده باشد این آسیب جزئی بوده است. در توافق با نتایج مطالعه حاضر، افزودن عصاره گیاه ختمی در جیره کپور منجر به تغییر معنی‌دار میزان AST، ALT و LDH خون در سطوح ۲/۵ g/kg و ۵ خوراک نسبت به گروه کنترل نشده است؛ اما مقدار ۱۰ g/kg آن موجب القای آسیب سلولی شده است که نهایتاً در مطالعه مذکور سطوح زیر ۵ g/kg خوراک به‌عنوان دوز پیشنهادی مطرح شد. این گیاه حاوی ترکیباتی مانند پلی‌ساکارید، آنتی‌اکسیدان، فلاوونوئید، ترپن‌ها، ترپنوئیدها، استرول‌های گیاهی، اسیدهای چرب و ترکیبات فنولی و فرار است که خصوصیات دارویی آن را بخوبی اثبات می‌کند. با افزایش AST و ALT در ماهی تیلاپیا و ماهی قزل‌آلا که به‌ترتیب با مخلوطی از گیاهان و ۱٪ بومادران در جیره تغذیه شده بودند، مشاهده گردید که این امر می‌تواند به‌علت اختلال در عملکرد کبد به‌دلیل وجود مواد ضد تغذیه‌ای باشد (Genc *et al*., 2007). در حالی که تجویز سیلی‌مارین به قزل‌آلا (Ahmadifar *et al*., 2011) و یا استفاده از عصاره سیر و پیاز در جیره ماهی *Clarias lazera* سبب کاهش سطح فعالیت آنزیم های ALT و AST گردید (Al-Salahy, 2002).

آنزیم لاکتات دهیدروژناز یکی دیگر از آنزیم‌های گلیکولیتیک کبدی می‌باشد که به مقدار قابل توجهی در بافت‌های دیگر نیز وجود دارد. سطح این آنزیم در شرایط هیپوکسی و آسیب به بافت‌های مختلف بدن تغییر می‌کند. آسیب‌های وارده به کبد و بروز هیپوکسی در خون از فسفریلاسیون اکسیداتیو در میتوکندری جلوگیری می‌کند که در نتیجه منجر به کاهش تولید ATP می‌گردد. در نتیجه این عمل، اکسیداسیون NADH توسط زنجیره تنفسی میسر نیست و بنابراین پیرووات توسط NADH و به وسیله آنزیم لاکتات دهیدروژناز کاتالیز شده و به لاکتات احیا می‌گردد تا فرآیند گلیکولیز ادامه یابد (Genc *et al*., 2007). بنابراین علی‌رغم این‌که افزایش LDH در تیمار دو و سه نسبت به گروه کنترل معنی‌دار نیست ولی افزایش جزئی آن ممکن است درصد خفیفی از تخریب سلولی و آسیب کبدی و یا ایجاد شرایط هیپوکسی را نیز القا نموده باشد، هرچند ارائه دلایل و شواهد مستند مبنی بر این فرض، مستلزم ارزیابی‌های آسیب‌شناسی بافت کبد در این ماهیان خواهد بود که در این پژوهش مورد بررسی قرار نگرفته است. استفاده از عصاره سیلی مارین و بومادران در ماهی قزل‌آلا سبب کاهش سطح LDH پلاسما شده است (Banaee *et al*., 2011).

آلکالین فسفاتاز در اپیتلیوم مجاری صفرای و سلول‌های کبدی یافت می‌شود و با غیر فعال کردن آنزیم‌های فسفریلاز، نقش مهمی در متابولیسم گلیکوژن کبدی ایفا می‌کند. بنابراین ممانعت از فعالیت این آنزیم می‌تواند با افزایش تجزیه گلیکوژن جهت تامین انرژی در شرایطی مثل بروز استرس‌ها همراه باشد (Mona *et al*., 2015). سطح آنزیم ALP در تیمار دو در مقایسه با تیمار سه و گروه کنترل به شکل معنی‌داری افزایش داشته است. این

افزایش می‌تواند بیانگر این باشد که مکمل غذایی دایجستاروم به میزان ۲۰۰ mg/kg جیره ممکن است سبب بروز آسیب به سلول‌های کبدی شده باشد (تصمیم گیری مبنی بر درصد قطعیت این فرض، مستلزوم وجود شواهد آسیب‌شناسی بافت کبد است). اما چنان‌چه دایجستاروم توانسته باشد سبب آسیب کبدی گردد، با مقایسه تیمار دو با تیمار سه انتظار می‌رفت که سطح ALP پلاسما در تیمار سه نسبت به تیمار دو افزایش داشته باشد، که با توجه به نتایج این امر اتفاق نیفتاده است. بنابراین لازم می‌باشد در زمینه آسیب‌های بافتی که مکمل غذایی دایجستاروم می‌تواند در ماهی کپور ایجاد کند، مطالعات جامع‌تری انجام شود. از طرفی بایست توجه نمود که بخشی از آلکالین فسفاتاز سنجش شده در خون از روده ناشی می‌شود و هرچه وضعیت تغذیه‌ای ماهی متاثر از اثرات مکمل غذایی بر اشتها و ضریب رشد آن بهتر شده باشد، آنزیم آلکالین فسفاتاز بیشتری نیز تولید می شود، در این راستا مطالعه Zhao و همکاران (۲۰۱۵)، نشان داد که مکمل‌های غذایی قادر هستند، ضمن افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کبد و روده ماهی کپور علف‌خوار، توان هضم و جذب غذا را نیز بهبود بخشیده و فعالیت هپاتوپانکرازهای بخش قدامی و میانی روده، کینازهای بخش میانی و انتهایی روده و نیز آنزیم آلکالین فسفاتاز را نیز متاثر از اثرات القایی مکمل غذایی بر روده ارتقا بخشند که به تبع بر نرخ منتشره آن در خون نیز خواهد افزود. در توافق با نتایج مطالعه حاضر بنائی و همکاران (۲۰۱۷) نشان دادند که سطوح ۲/۵ g/kg و ۱۰ عصاره ختمی (*Althaea officinalis*) در جیره ماهی کپور باعث افزایش معنی‌دار میزان ALP خون می‌شود (Banaee *et al*., 2017). در مطالعه‌ای که توسط فلاح پور و همکاران (۱۳۹۵) بر روی اثرات تجویز خوراکی عصاره گل ختمی (*Althaea officinalis*) بر سطح آنزیم‌های کبدی انجام گرفت، مشخص شد که سطح آنزیم ALP در ماهیان تحت تیمار یک درصد عصاره گل ختمی در روز ۳۰ و همچنین روز ۶۰ در مقایسه با گروه کنترل و ماهیان تحت تیمار عصاره ۰/۵ و همچنین ۰/۲۵ درصد افزایش معنی-داری داشته است که این می‌تواند به علت وجود ارگوسترول در گل ختمی باشد (Fallahpour *et al*., 2017). در مطالعه Aanyu و همکاران (۲۰۱۸) مشخص شد که تغذیه ماهی با مکمل لیمونن تا سطوح ppm ۴۰۰ موجب افزایش بیان ژن‌های کاتالاز، لیپوپروتئین لیپاز و آلکالین فسفاتاز کبدی می‌شود. افزایش بیان ALP در مطالعه حاضر به نقش آن در حفظ توازن انرژی و لیپیدی با مشارکت در متابولیسم کربوهیدرات و همچنین تا حدی به اثر همپوشانی پروتئین نسبت داده شد.

نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که بکارگیری ترکیب دایجستاروم در جیره ماهی کپور معمولی موجب بهبود معنی‌دار پارامترهای رشد به‌ویژه در سطح ۲۰۰ mg/kg جیره در این ماهی می‌شود. در مجموع استفاده از مکمل رژیمی دایجستاروم در سطوح ۲۰۰ mg/kg و ۴۰۰ جیره ماهی کپور به‌علت عدم ایجاد تغییرات معنی‌دار (به‌جز در مورد ALP) در سطح آنزیم‌های کبدی موجود در پلاسمای خون حداقل تخریب سلولی و آسیب بافتی را در پی داشته است. همچنین علی‌رغم تغییر پارامترهای مطالعه حاضر پس از مصرف مکمل دایجستاروم، در سطوح بیان شده تاثیر معنی‌دار قابل توجهی در مقادیر شاخص‌های مطالعه رخ نداده است. با این حال فعالیت آنتی‌اکسیدانی دایجستاروم می‌تواند به‌علت وجود ترکیبات آنتی‌اکسیدانی آن نظیر کارواکرول باشد که با توجه به نتایج، احتمالاً بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی دایجستاروم ناشی از افزایش سطح فعالیت کاتالاز است. بنابراین به‌منظور دستیابی به مکانیسم دقیق تاثیر دایجستاروم بر پارامترهای میزبان، مطالعات بیشتری نیاز است. لازم به ذکر است متغیرهایی از جمله کیفیت آب، رفتار تغذیه‌ای، گونه ماهی، مدت زمان و به‌ویژه دز مصرف مکمل نیز می‌توانند بر نتایج چنین مطالعاتی موثر باشند (Fallahpour *et al*., 2017) و با توجه به مطالعات انجام شده توسط سایر محققین مبنی بر اثرات مثبت محصولات فیتوژنیک بر سلامت و ممانعت از بروز بیماری در ماهی، سنجش اثرات این دسته از مکمل‌های غذایی در سطوح مختلف در ماهیان گرمابی بویژه ماهیان تحت استرس و یا بیمار جالب توجه و نیازمند بررسی می‌باشد.

منابع

دفاعی س.، فلاحتکار ب.، عفت‌پناه ا. ۱۳۹۵. تأثیر دایجستروم بر رشد و برخی شاخص‌های خونی در بچه فیل ماهی (*Huso huso*). مجله شیلات، ۵(۱). ۸۳- ۹۵.

Adeyemo O.K. 2007. Haematological profile of *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822) exposed to lead. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 7, 163-169.

Al-Dohail M.A., Hashim R., Aliyu-Paiko M. 2009. Effects of the probiotic, Lactobacillus acidophilus, on the growth performance, haematology parameters and immunoglobulin concentration in African Catfish (*Clarias gariepinus*, Burchell 1822) fingerling. *Aquaculture Research* 40, 1642-1652.

Aanyu M., Betancor M., Monroig O. 2018. Effects of dietary limonene and thymol on the growth and nutritional physiology of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture* 488, 217-226.

Ahmadifar E., Falahatkar B., Akrami R. 2011. Effects of dietary thymol‐carvacrol on growth performance, hematological parameters and tissue composition of juvenile rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Journal of Applied Ichthyology* 27(4), 1057-1060.

Al-Anazi M.S., Virk P., Elobeid M., Siddiqui M.I. 2015. Ameliorative effects of *Rosmarinus officinalis* leaf extract and Vitamin C on cadmium-induced oxidative stress in Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. *Journal of Environmental Biology* 36(6), 1401.

Al-Salahy M. 2002. Some physiological studies on the effect of onion and garlic juices on the fish, *Clarias lazera*. *Fish Physiology and Biochemistry* 27(1-2), 129-142.

Banaee M., Soleimany V., Haghi B.N. 2017. Therapeutic effects of marshmallow (*Althaea officinalis* L.) extract on plasma biochemical parameters of common carp infected with *Aeromonas hydrophila*. *Veterinary Research Forum*: Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran. 145 p.

Banaee M., Sureda A., Mirvaghefi A.R., Rafei G.R. 2011. Effects of long-term silymarin oral supplementation on the blood biochemical profile of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish Physiology and Biochemistry* 37(4), 885-896.

Defaee S., Falahatkar B., Efatpanah I. 2016. Effects of digestrom P.E.P on growth and some hematological parameters of juveniles' Beluga sturgeon (*Huso huso*). *Fisheries Science and Technology* 5(1), 83-95. (In Farsi)

Ellman G.L. 1959. Tissue sulfhydryl groups. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 82(1), 70-77.

Ezzat Abd El-Hack M., Alagawany M., Ragab Farag M., Tiwari R., Karthik K., Dhama K., Zorriehzahra J., Adel M. 2016. Beneficial impacts of thymol essential oil on health and production of animals, fish and poultry: a review. *Journal of Essential Oil Research* 28(5), 365-382.

Fallahpour F., Banaee M., Javadzade N. 2017. Effects of administration of marshmallow extract (*Althaea officinalis* L.) on blood cells and some liver enzyme activities in common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Journal of Aquaculture Development* 11(1), 105-117.

Genc M., Aktas M., Genc E., Yilmaz E. 2007. Effects of dietary mannan oligosaccharide on growth, body composition and hepatopancreas histology of *Penaeus semisulcatus* (de Haan 1844). *Aquaculture Nutrition* 13(2), 156-161.

Giannenas I., Triantafillou E., Stavrakakis S., Margaroni M., Mavridis S., Steiner T., Karagouni E. 2012. Assessment of dietary supplementation with carvacrol or thymol containing feed additives on performance, intestinal microbiota and antioxidant status of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 350, 26-32.

Koroluk M., Ivanova L., Maiorova I. 1988. The method of definition of the activeness of catalase. *Laboratorial Work* (1), 16-19.

Latha M., Pari L. 2003. Preventive effects of Cassia auriculata L. flowers on brain lipid peroxidation in rats treated with streptozotocin. *Molecular and Cellular Biochemistry* 243(1-2), 23-28.

Marklund S., Marklund G. 1974. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *The FEBS Journal* 47(3), 469-474.

Menanteau-Ledouble S., Krauss I., Santos G., Fibi S., Weber B., El-Matbouli M. 2015.

Effect of a phytogenic feed additive on the susceptibility of *Onchorhynchus mykiss* to *Aeromonas salmonicida*. *Diseases of Aquatic Organisms* 115(1), 57-66.

Mohiti-Asli M., Ghanaatparast-Rashti M. 2018. Comparing the effects of a combined phytogenic feed additive with an individual essential oil of oregano on intestinal morphology and microflora in broilers. *Journal of Applied Animal Research* 46(1), 184-189.

Mona M.H., Rizk E.-S.T., Salama W.M., Younis M.L. 2015. Efficacy of probiotics, prebiotics, and immunostimulant on growth performance and immunological parameters of *Procambarus clarkii* juveniles. *The Journal of Basic and Applied Zoology* 69, 17-25.

Moss D., Henderson A. 1999. Clinical enzymology in: Burtis CA and Ashwood FR editors, Tietz Textbook of clinical Chemisry. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders Company. 721 p.

Murray R., Bender D., Botham K., Kennelly P., Rodwell V., Weil P. 2009. Harper's Illustrated Biochemistry. 28th ed, China: McGraw Hill Companies.

Peterson B.C., Bosworth B.G., Li M.H., Beltran R., Santos G.A. 2014. Assessment of a phytogenic feed additive (Digestarom PEP MGE) on growth performance, processing yield, fillet composition, and survival of channel catfish. *Journal of the World Aquaculture Society* 45(2), 206-212.

Roberfroid M.B. 2007. Prebiotics: the concept revisited. *Journal of Nutrition* 137, 830-837.

Tang Y., Han L., Chen X., Xie M., Kong W., Wu Z. 2018. Dietary supplementation of probiotic *Bacillus subtilis* affects antioxidant defenses and immune response in grass carp under *Aeromonas hydrophila* challenge. *Probiotics and Antimicrobial Proteins* 1-14.

Vinodhini R., Narayanan M. 2008. Bioaccumulation of heavy metals in organs of fresh water fish *Cyprinus carpio* (Common carp). *International Journal of Environmental Science and Technology* 5(2), 179-182.

Yilmaz E., Ergün S. 2015 Influence of carvacrol on the growth performance, hematological, non-specific immune and serum biochemistry parameters in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Food and Nutrition Sciences* 6(05), 523.

Zheng Z., Tan J.Y., Liu H., Zhou X., Xiang X., Wang K. 2009. Evaluation of oregano essential oil (*Origanum heracleoticum* L.) on growth, antioxidant effect and resistance against *Aeromonas hydrophila* in channel catfish (*Ictalurus punctatus*), *Aquaculture* 292(3-4), 214-218.

Zhao Y., Hu Y., Zhou X.Q., Zeng X.Y., Feng L., Liu Y. 2015. Effects of dietary glutamate supplementation on growth performance, digestive enzyme activities and antioxidant capacity in intestine of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*), *Aquaculture Nutrition* 21, 935-941.

Effect of dietary supplement of digetosterome on growth performance, antioxidant system and some liver enzymes of Common Carp, *Cyprinus Carpio*

Takavar Mohammadian*[1], Reza Ghanei-Motlagh[1], Amir Ali Heidari[2], Sakine Mashjoor[3,4], Mojtaba Emam[1]

[1]Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.
[2]Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz, Iran.
[3]Department of Marine Biology, Faculty of Marine Science and Technology, Hormozgan University. Bandar-e-abbas, Iran.
[4]Marine Pharmaceutical Science Research Center, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran.

*Corresponding authors: tak.mohammadian@gmail.com
Received: 2019/4/7 Accepted: 2020/1/24

Abstract

Digestarom® P.E.P. MGE contains a standardized mixture of phytogenic essential oils. The aim of this study was to investigate the effect of Digestarom dietary supplement on liver enzymes as well as antioxidant properties of this supplement on common carp. In this study, the effect of dietary Digestarom supplement was investigated in three groups, including a control one without Digestarom, the second group containing 200 mg/kg of Digestarom, and the third group with 400 mg/kg of Digestarom on 225 common carps with a mean weight of 16.15 ± 2.98 g for 60 days. After the experiment, sampling of fish was carried out on day 60. Then the growth performance, activity of blood plasma oxidative and liver enzymes was studied. Based on the results, administration of Digestarom has led to improve in growth parameters especially at the level of 200 mg/kg. The results of the experiment did not show significant difference in the level of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione (GSH) and malondialdehyde (MDA) between the treatments and the control group ($P<0.05$). Comparison of liver enzymes levels such as AST, ALT, ALP and LDH between the treatments and control group showed that despite of changes in the level of these enzymes between the groups, only the ALP significantly increased in the group 2 compared to group 3 and control group ($P<0.05$). Based on the results, suplemnting Digestarom in above-mentioned levels probably has a positive effect on growth performances without any negative effect on the liver and antioxidant enzymes in common carp fingerlings.

Keywords: Antioxidant, Enzyme, Plasma, Digestarom, Growth, Common carp.