Journal of Aquaculture Sciences 13(24): 46-58 (2025)
Print ISSN: 2322-5351
www.aquaculturesciences.ir

نشریه علوم آبزی‌پروری
دوره ۱۳، شماره ۲۴: ۴۶–۵۸ (۱۴۰۴)

تأثیر عصاره خشک خرفه (*Portulaca oleracea*) جیره بر روی فعالیت آنزیم‌های کبدی و مقادیر اسیدهای چرب فیله بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

مسعود کوشا، مهدی محمد علی خانی*، سلطنت نجار لشگری

مرکز تحقیقات ماهیان سردآبی، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تنکابن، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۱/۲۷ **تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۲/۲۸**

چکیده

در این مطالعه، تأثیر استفاده از عصاره خشک گیاه خرفه (*Portulaca oleracea*) جیره بر روی فعالیت آنزیم‌های کبدی سرم و مقادیر اسیدهای چرب فیله بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) مورد بررسی قرار گرفت. جیره‌ها در ۵ سطح صفر (T_0)، ۰/۵ درصد (T_1)، ۱ درصد (T_2)، ۱/۵ درصد (T_3) و ۲ درصد (T_4) از پودر عصاره خشک خرفه برای سه تکرار تهیه شدند. ماهیان با متوسط وزن اولیه ۰/۱±۹/۳۷ گرم به میزان سه درصد وزن بدن و ۴ وعده در روز با وعده‌های یکسان از ساعت ۸ صبح تا ۴ بعدازظهر به‌مدت ۵۶ روز غذادهی شدند. در پایان ۸ هفته آزمایش، فعالیت آنزیم‌های کبدی آلانین آمینوترانسفراز، آسپارتات آمینوترانسفراز و آلکالین فسفاتاز سرم و مقادیر اسیدهای چرب فیله بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان اندازه‌گیری شد. براساس نتایج به‌دست آمده، بالاترین مقادیر آنزیم‌های آلانین آمینوترانسفراز، آسپارتات آمینوترانسفراز و آلکالین فسفاتاز در سرم ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در سطوح ۱–۰/۵ درصد گیاه خرفه جیره به‌دست آمد ($P<0/05$). این نشان‌دهنده اثر منفی عصاره خرفه بر روی آنزیم‌های کبدی سرم بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان خصوصاً در مقادیر ۱–۰/۵ درصد عصاره گیاهی در جیره بود. مقادیر کل اسیدهای چرب اشباع (SFA) در فیله ماهی با افزایش سطح گیاه خرفه نسبت به تیمار شاهد کاهش معنی‌داری نشان داد، به‌طوری‌که کمترین مقدار آن در سطح ۲ درصد عصاره گیاهی به‌دست آمد ($P<0/05$). به‌طور معکوس، مقادیر کل اسیدهای چرب تک غیراشباع (MUFA) در فیله ماهی با افزایش سطح گیاه خرفه نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت ($P<0/05$)، به‌طوری‌که بیشترین مقدار آن در سطح ۱/۵ درصد عصاره گیاهی به‌دست آمد. باجود اینکه در سطوح بالاتر از ۱ درصد گیاه خرفه جیره، مقدار کل اسیدهای چرب چندغیراشباع (PUFA) در فیله ماهی نسبت به تیمار شاهد کاهش معنی‌دار نشان داد ($P<0/05$)، نسبت اسیدهای چرب چندغیراشباع n-3/n-6 در فیله ماهی افزایش یافت که بیانگر تأثیر مثبت استفاده از گیاه خرفه بر روی کیفیت فیله بچه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بود. همچنین، این اثرگذاری وابسته به مقدار گیاه در جیره ماهی بود، به‌طوری‌که بیشترین تأثیر عصاره گیاهی بر این نسبت در فیله ماهی در سطح ۲–۱/۵ درصد جیره به‌دست آمد.

کلید واژگان: گیاهان دارویی، قزل‌آلای رنگین‌کمان، آنزیم‌های کبدی، اسیدهای چرب

*نویسنده مسئول m.mohammadalikhani1982@gmail.com

مقدمه

آبزی‌پروری متراکم منجر به آلودگی زیست‌محیطی و متعاقب آن بروز بیماری‌ها شده است، که خود موجب تضعیف سلامت و سرکوبی رشد در ماهیان می‌گردد (Ramesh and Souissi, 2018). نظر به توسعه روزافزون تولید ماهی، توجه به ارتقای رشد، سلامت و کیفیت ماهیان پرورشی امری ضروری است. در چند دهه اخیر استفاده از گیاهان دارویی با توجه به مزیت‌های متعدد از جمله آثار منفی جانبی کمتر بر موجود زنده و محیط‌زیست، عدم ایجاد مقاومت دارویی، ارزان بودن، پایدار و در دسترس بودن توجهات زیادی را در سطح جهانی به‌خود جلب نموده است (Tadese *et al*., 2022). مطالعات زیادی نشان داده است که گیاهان دارویی موجب بهبود عملکرد رشد، ایمنی، فعالیت آنزیم‌های کبدی و مقدار اسید چرب در ماهیان پرورشی شده‌اند؛ از جمله می‌توان به گشنیز (*Coriandrum sativum*) در ماهی تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) (Das *et al*., 2023)، سیر (*Allium sativum*) در قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) (Adineh *et al*., 2020)، رزماری (*Rosmarinus officinalis*) در قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) (Karataş *et al*., 2020)، زنجبیل (*Zingiber officinale*) در کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) (Fazelan *et al*., 2020)، نعناع فلفلی (*Mentha piperita*) در تیلاپیای نیل (*O. niloticus*) (Aguiar *et al*., 2023)، زردچوبه (*Curcuma longa*) در تاسماهی ستاره‌ای (*Acipenser stellatus*) (Golian *et al*., 2022)، لیموی تلخ (*Citrus limon*) در تیلاپیای نیل (*O. niloticus*) (Mohamed *et al*., 2021)، گل قاصدک (*Taraxacum officinale*) در قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) (Mostafavi *et al*., 2022) اشاره کرد.

یکی دیگر از این گیاهان دارویی، گیاه خرفه (*Portulaca oleracea*) می‌باشد، که به خانواده خرفه (Portulacaceae) تعلق دارد، و در بسیاری از نقاط جهان به‌ویژه در ایران می‌روید. این گیاه به‌طور گسترده‌ای در مناطق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری جهان پراکنده است (Ozturk *et al*., 2021). محتویات آن شامل فلاونوئیدها، آلکالوئیدها، اسیدهای چرب، ترپنوئیدها، پلی‌ساکاریدها، کومارین‌ها، ویتامین‌ها، استرول‌ها، پروتئین‌ها و ترکیبات معدنی است. به‌علاوه، انواع مختلفی از ترکیبات فلاونوئیدی از جمله کامفرول، میریستین، لوتئولین، آپیژنین، کورستین و جنیستین در این گیاه شناسایی شده است (Iranshahy *et al*., 2017). فعالیت‌های زیستی مختلف از جمله آنتی اکسیدانی و ضد تومور در گیاه خرفه (*P. oleracea*) به‌ثبت رسیده است (Kumar *et al*., 2022). همچنین، اثرات مثبت پودر برگ گیاه *P. oleracea* در نرخ بقا و فعالیت آنزیم‌های کبدی ماهی تیلاپیای نیل (*O. niloticus*) گزارش شده است (Abdel-Razek *et al*., 2019). تغذیه ماهی با عصاره اتانولی خرفه (*P. olaeracea*) در سطح ۰/۵ درصد جیره، عملکرد رشد، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و پاسخ ایمنی را در بچه‌ماهی کپور علفخوار (*Ctenopharyngodon idella*) بهبود بخشید (Ahmadifar *et al*., 2020). در یک مطالعه دیگر بر روی خرچنگ باتلاق قرمز جوان (*Procambarus clarkii*) تغذیه شده با خرفه (*P. olaeracea*)، محتوای اسید چرب غیراشباع گروه n-۳ و غلظت کل کاروتنوئید (عمدتا آستاگزانتین) به‌طور قابل توجهی نسبت به گروه شاهد افزایش یافت (Martinoli *et al*., 2021). بااین وجود، تاکنون مطالعه‌ای در این زمینه با استفاده از عصاره خرفه بر روی فعالیت آنزیم‌های کبدی و میزان اسید چرب ماهی قزل آلای رنگین‌کمان صورت نگرفته است. از این‌رو، در این تحقیق، تأثیر عصاره خشک خرفه (*P. oleracea*) بر روی عملکرد رشد، فعالیت برخی آنزیم‌های کبدی و سطوح اسید چرب بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

ماهی و شرایط پرورش: در این تحقیق از ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) با میانگین وزنی ۰/۱±۹/۳۷ گرم استفاده شد. ماهیان از یک مزرعه تجاری تکثیر و پرورش محلی واقع در شهرستان تنکابن، استان مازندران خریداری شدند، و سپس به‌مدت ۱۴ روز با شرایط پرورشی سازگار شدند. طی مدت ۲ هفته سازگاری، ماهیان با جیره پایه تجاری SFT2 شرکت فرادانه به میزان سه درصد وزن بدن تغذیه شدند. سپس، زیست‌سنجی اولیه انجام گرفت. تعداد ۶۰۰ عدد ماهی به‌طور تصادفی بین ۱۵ مخزن به‌طور مساوی توزیع شدند. این مطالعه در قالب یک طرح کاملاً تصادفی در پنج تیمار و سه تکرار در ۱۵ مخزن فایبرگلاس

۳۰۰ لیتری با حجم آبگیری ۲۵۰ لیتر و دبی ۰/۲ لیتر در ثانیه انجام شد. زیست‌سنجی طول و وزن هر دو هفته یکبار صورت گرفت. تعداد تلفات به‌صورت روزانه ثبت شد. خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آب شامل میانگین دما، اکسیژن محلول و pH آب توسط مولتی‌پارامتر WTW (Multi 340i, Germany) به‌صورت روزانه اندازه‌گیری شد. طی دوره پرورش، متوسط درجه حرارت، اکسیژن محلول و pH آب به‌ترتیب ۰/۸۷ ± ۱۴/۵ سانتی‌گراد، ۰/۴۳ ± ۷/۵ میلی‌گرم در لیتر و ۰/۱۶ ± ۶/۸ به‌دست آمد. این مطالعه، در مرکز تحقیقات ماهیان سردآبی شهرستان تنکابن، استان مازندران انجام شد.

جیره آزمایش: برای غذادهی از جیره پایه تجاری SFT2 شرکت فرادانه استفاده شد، که ترکیبات آن شامل پروتئین خام ۴۸ درصد، چربی خام ۱۳ درصد، خاکستر ۱۱ درصد، فیبر ۲/۵ درصد، فسفر ۱/۵ درصد و رطوبت ۸ درصد، بود. برای تهیه عصاره گیاهی، ابتدا گیاه خرفه (*P. oleracea*) به مقدار لازم از بازار تجریش، تهران خریداری شد. پس از قطع اندام‌های هوایی گیاه شامل ساقه و برگ، در خشک‌کن الکتریکی با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴۸ ساعت خشک شد، سپس توسط دستگاه آسیاب خرد و آماده عصاره‌گیری شد. برای عصاره‌گیری، پودر گیاه خرفه (*P. oleracea*) با نسبت ۲ به ۱ با اتانول ۸۰ درصد مخلوط شد، و به‌مدت ۷۲ ساعت بر روی دستگاه شیکر قرار گرفت. سپس به‌مدت ۳ ساعت در دستگاه روتاری در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. در این مرحله، حلال موجود در عصاره (اتانول) از عصاره جدا شد، و عصاره الکلی تغلیظ شده گیاه خرفه (*P. oleracea*) به‌دست آمد. سپس، عصاره الکلی تغلیظ شده با استفاده از کاغذ صافی، فیلتر شد، و به کمک دستگاه خشک کن سرد (Spray dryer) به پودر تبدیل گردید. پس از تولید پودر خشک عصاره گیاه خرفه (*P. oleracea*) از آن در ترکیب با غذا استفاده شد (Shikov *et al*., 2021).

برای تهیه جیره‌های آزمایش، پودرخشک عصاره خرفه (*P. oleracea*) به‌میزان مورد نیاز برای هر تیمار وزن شد، و در محلول یک گرم پودر ژلاتین در ۵۰ میلی‌لیتر آب جوشیده با دمای۵۰ درجه سانتی‌گراد حل گردید، و محلول حاصل برای هر یک از تیمارها برروی غذای پایه به‌طور یکنواخت اسپری شد، و تا هنگام خشک‌شدن در همان حالت باقی ماند، سپس خوراک‌ها در کیسه‌های نایلونی درب‌دار بسته‌بندی، و طی مدت مصرف، در یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید، و به‌صورت روزانه در تغذیه ماهیان مورد استفاده قرار گرفت. به تیمار شاهد نیز فقط محلول ژلاتین در آب اسپری گردید، و غذادهی به ماهیان به‌صورت دستی به‌میزان سه درصد وزن بدن ماهی به‌صورت چهار وعده یکسان از ساعت هشت صبح تا چهار بعدازظهر انجام گرفت. این آزمایش در پنج سطح صفر (T_0)، ۰/۵ درصد (T_1)، ۱ درصد (T_2)، ۱/۵ درصد (T_3) و ۲ درصد (T_4) از پودر خشک عصاره خرفه انجام شد. غذادهی ماهیان به مدت ۵۶ روز انجام گرفت.

اندازه‌گیری آنزیم‌های کبدی: برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های کبدی، تعداد ۹ ماهی از هرتیمار (۳ ماهی از هر تکرار) برداشت شد، و با قراردادن آنها در محلول پودر عصاره میخک، خونگیری از طریق ورید ساقه دمی به مقدار ۲ میلی‌لیتر صورت گرفت. نمونه‌های خون پس از جمع‌آوری در تیوب‌های اپندورف فاقد ماده ضد انعقاد ریخته شد، و با استفاده از دستگاه سانتریفیوژ با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد، تا سرم آنها جدا شود. نمونه‌های سرم درون میکروتیوب‌های دو میلی‌لیتری تخلیه شد، و تا زمان انجام آزمایش‌های بیوشیمیایی در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

آنزیم‌های آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) با کیت تشخیصی پارس آزمون و به روش آنزیمی سنجش شدند. در سنجش آنزیم ALT، پیروات شکل‌گرفته در واکنش با دی‌نیتروفینیل هیدرازین (DNPH) مقادیری هیدرازون تولید می‌نماید، که در محیط قلیایی تولید رنگ قهوه‌ای می‌کند. غلظت رنگ تولیدی به روش رنگ‌سنجی در طول موج ۳۴۰ نانومتر ثبت گردید. در سنجش آنزیم AST، آنزیم آلفاکتوگلوتارات به‌عنوان ماده اولیه واکنش مورد استفاده قرار گرفته، و اگزالواستات تولید شده از واکنش مقداری هیدرازون تولید می‌کند، که باعث تولید رنگ قهوه‌ای در محیط می‌شود. این واکنش به روش رنگ‌سنجی در طول موج ۳۴۰ نانومتر ردیابی شد (Long *et al*., 2022). آلکالین فسفاتاز (ALP) براساس تبدیل نیتروفنیل فسفات به نیتروفنول و فسفات در طول موج ۴۰۵ نانومتر سنجش گردید (Wenger *et al*., 1984).

اندازه‌گیری سطوح اسید چرب فیله: پس از اتمام دوره

پرورش و به‌منظور ارزیابی سطوح اسید چرب، تعداد نه ماهی از هر تیمار (سه ماهی از هر تکرار) برداشت شد، و با قراردادن آنها در محلول پودر عصاره میخک (۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر) کشته شد. سپس، فیله‌ای در امتداد محور طولی بدن تهیه شد.

برای استخراج چربی، مقدار سه گرم نمونه به درون دکانتور انتقال یافت، سپس هفت میلی‌لیتر متانول به نمونه اضافه گردید، و ۱۴ میلی‌لیتر محلول کلروفرم به آن اضافه گردید. در ادامه دکانتورها در یک مکان تاریک به‌مدت ۲۴ ساعت قرار داده شدند. جهت جداسازی چربی از حلال، ظرف‌هایی شیشه‌ای که محتوی چربی و حلال بودند، در حمام آب گرم قرار داده شدند، و گاز ازت به درون ظرف وارد گردید. به این ترتیب، پس از چند دقیقه حلال تبخیر و از ظرف خارج گردید، و نهایتاً چربی باقی ماند (Folch *et al.*, 1957). به‌منظور استری کردن چربی، ۵ میلی‌لیتر سود متانولی ۲ درصد به ۵۰ میلی‌گرم چربی استخراج شده اضافه گردید. سپس به‌مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب جوش قرار گرفت. پس از خنک شدن محلول، ۳ میلی‌لیتر محلول تری فلوراید بور (BF_3) اضافه شد، و به‌مدت ۳-۲ دقیقه در حمام آب جوش قرار گرفت. به مواد حاصل ۱ میلی‌لیتر هگزان نرمال اضافه شد، و بعد از تکان دادن مواد به آن ۱ میلی‌لیتر محلول نمک فوق اشباع (۳۰۰ گرم در لیتر) اضافه گردید. بعد از پدیدار شدن دو فاز جداگانه، فاز بالایی به دقت جدا گردید (Firestone, 1998).

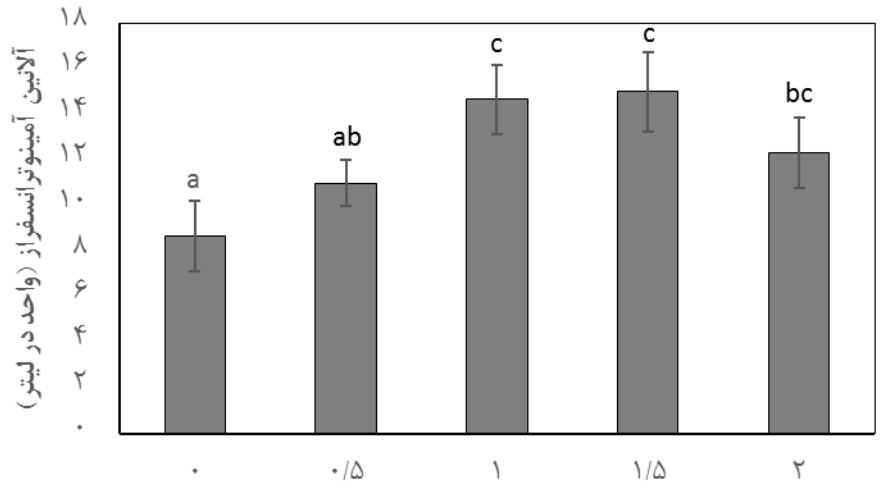
از دستگاه کروماتوگرافی گازی فیلیپس (GC-PU4400, Phillips Scientific, UK) مجهز به آشکارساز یونی شعله‌ای (FID) و ستون موئینه (BPX70, 60 m × 0.32 mm ID, 25 µm film thickness, SGM, Australia) برای سنجش مقدار اسیدهای چرب استفاده شد. دمای آشکارساز و محل تزریق به‌ترتیب بر روی ۲۸۰ و ۲۴۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. ۰/۲ میکرولیتر از نمونه استری با استفاده از سرنگ ۰/۲ میکرولیتری به دستگاه گاز کروماتوگرافی تزریق شد. دمای اولیه ستون روی ۱۶۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. بعد از مدت ۵ دقیقه، دمای ستون با سرعت ۲۰ درجه سانتی‌گراد در دقیقه به دمای ۱۸۰ درجه رسانده شد. به‌مدت ۱۰ دقیقه دما در این درجه باقی ماند، و سپس با سرعت ۱ درجه سانتی‌گراد در دقیقه به دمای ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد رسید. پس از یک دقیقه، دمای ستون با سرعت ۳۰ درجه سانتی‌گراد در دقیقه تا دمای ۲۳۰ افزایش یافت. در انتها ستون به‌مدت ۵ دقیقه در دمای ۲۳۰ باقی ماند، تا تمام ترکیبات از آن خارج گردد. در این روش از گاز هلیوم با خلوص ۹۹/۹۹ درصد به‌عنوان گازحامل و گاز هیدروژن به‌عنوان سوخت، گاز ازت با خلوص ۹۹/۹۹ درصد به‌عنوان گاز کمکی و هوای خشک استفاده شد. از مقایسه کروماتوگرام‌های نمونه با کروماتوگرام‌های به‌دست آمده از محلول استاندارد اسیدهای چرب متیل‌استر، اسیدهای چرب موجود در عضله ماهی شناسایی شد، و نتایج به‌صورت درصد بیان گردید.

تجزیه‌وتحلیل آماری: نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف مورد ارزیابی قرار گرفت. با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه، تیمارهای مختلف با یکدیگر مورد تحلیل آماری قرار گرفتند. درصورت معنی‌دار بودن اختلاف بین تیمارهای مختلف، از آزمون چند دامنه‌ای دانکن برای مقایسه بین میانگین‌های تیمارها استفاده شد. به‌منظور مقایسه آماری بین میانگین تیمارهای مختلف، سطح احتمال ۹۵ درصد ($P<۰/۰۵$) در نظر گرفته شد. تمام آنالیزها با استفاده از نرم افزار آماری SPSS نسخه ۲۳ مورد تجزیه‌وتحلیل قرار گرفت. برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excelنسخه ۲۰۱۶ استفاده شد.

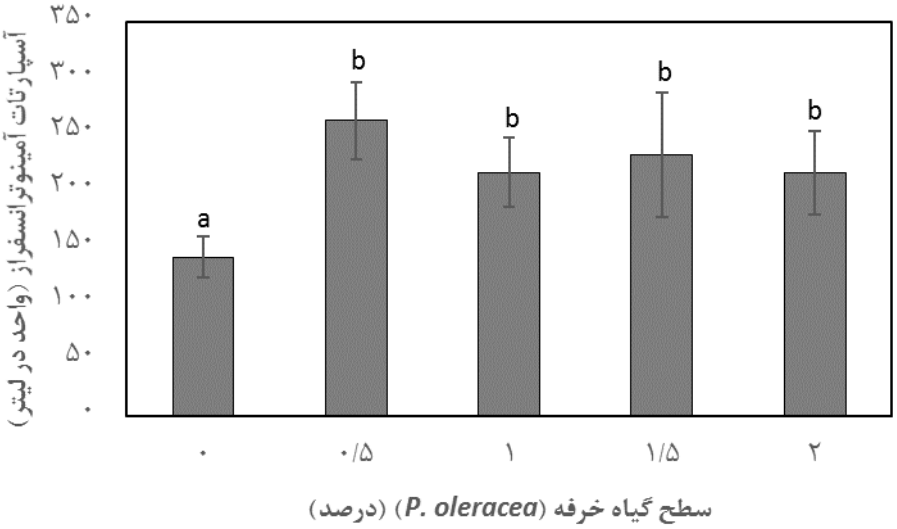
نتایج

نتایج تأثیر عصاره گیاه خرفه (*P. oleracea*) بر روی برخی آنزیم‌های کبدی سرم بچه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در شکل‌های ۱ تا ۳ نشان داده شده است. مقدار آنزیم آلانین آمینوترانسفراز سرم با افزایش سطح گیاه خرفه در جیره ماهی تا مقدار ۱/۵ درصد افزایش یافت، و از ۱/۵۳±۸/۶۷ به ۱/۷۳±۱۵/۰ واحد بین‌المللی (IU) در لیتر سرم رسید، و سپس با افزایش سطح مکمل جیره تا ۲ درصد، مقدار آنزیم در سرم کاهش یافت. بنابراین، بیشترین مقدار آنزیم آلانین آمینوترانسفراز در تیمار ۱/۵ درصد خرفه جیره به‌دست آمد، که با تیمار شاهد تفاوت معنی‌دار داشت ($P<۰/۰۵$) (شکل ۱). مقادیر آنزیم سرم در دو سطح ۱ و ۱/۵ درصد گیاه خرفه جیره تفاوت معنی‌داری نداشتند ($P>۰/۰۵$).

بیشترین مقدار آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز سرم در سطح ۰/۵ درصد مکمل خرفه جیره به‌دست آمد (۳۴/۷±۲۶۲/۰ واحد بین‌المللی در لیتر)، که با تیمار شاهد

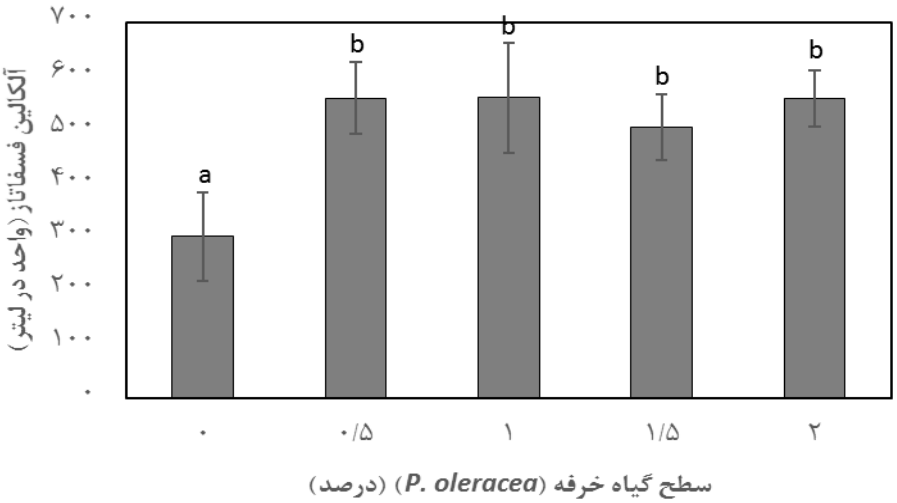


شکل ۱- مقادیر آنزیم آلانین آمینوترانسفراز (واحد در لیتر) سرم بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) پس از هشت هفته تغذیه با عصاره گیاه خرفه (*P. oleracea*)



شکل ۲- میزان آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز (واحد در لیتر) در سرم بچه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) پس از ۸ هفته تغذیه با عصاره گیاه خرفه (*P. oleracea*)

اختلاف معنی‌دار داشت ($P<۰/۰۵$) (شکل ۲). با افزایش سطوح مکمل جیره تا مقدار ۲ درصد، مقدار آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز در سرم بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) کاهش یافت، با این وجود، مقادیر آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز سرم در سطوح مختلف گیاه خرفه جیره اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند ($P>۰/۰۵$). نتایج به‌دست آمده، نشان‌دهنده اثر منفی عصاره خرفه بر روی آنزیم‌های کبدی سرم بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان خصوصاً در مقادیر ۱/۵—۰/۵ درصد عصاره گیاهی در جیره بود. مقدار آنزیم آلکالین فسفاتاز سرم با افزایش سطح مکمل خرفه در جیره ماهی تا مقدار۱ درصد افزایش یافت، و از ۳۰۱/۰±۸۲/۴۲ به ۵۵۹/۶۷±۱۰۲/۵۷ واحد بین‌المللی در لیتر سرم رسید، و سپس با افزایش بیشتر مقدار مکمل در جیره تا سطح ۱/۵ درصد کاهش یافت اما با افزایش سطح تا دو درصد دوباره افزایش یافت، هرچند این نوسانات در مقدار سطح آنزیم بین تیمارهای دارای عصاره خشک خرفه معنی‌دار نیستند. بنابراین، بیشترین مقدار آنزیم آلکالین فسفاتاز در تیمار ۱ درصد گیاه خرفه جیره به‌دست آمد، که با تیمار شاهد تفاوت معنی‌دار داشت ($P<۰/۰۵$) (شکل ۳). با وجود اینکه، مقادیر آنزیم آلکالین فسفاتاز سرم در سطوح مختلف عصاره خرفه نسبت به شاهد اختلاف معنی‌داری داشت ($P<۰/۰۵$)، اما نسبت به یکدیگر اختلاف معنی‌دار



شکل ۳ - مقدار آنزیم آلکالین فسفاتاز (واحد در لیتر) در سرم بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) پس از ۸ هفته تغذیه با عصاره گیاه خرفه (*P. oleracea*)

جدول ۱- آنالیز عصاره هیدرواتانولی گیاه خرفه (*P. oleracea*)

ترکیب		درصد
رطوبت (درصد)		۸۹/۷۶
پروتئین (درصد)		۳/۴
خاکستر(درصد)		۱/۰۸
چربی بر پایه وزن مطلوب (درصد)		۵/۳
پلی فنل بر پایه وزن خشک (درصد وزنی)		۴/۴
	اسیدهای چرب	
C12:0		۰/۳۳
C14:0		۰/۵۴
C16:0		۲۳/۳۱
C16:1		۰/۸۵
C18:0		۴/۱۳
C18:1		۱۵/۶۴
C18:2		۳۱/۰۹
C18:3		۲۳/۵۶
C20:0		۰/۳
C20:1		۰/۰۰۳۷
∑ SFA		۲۸/۶۱
∑ MUFA		۱۶/۴۹۳
∑ PUFA		۵۴/۶۵
∑ n-3 PUFA		۲۳/۵۶
∑ n-6 PUFA		۳۱/۰۹
n-3/n-6		۰/۷۶

نداشتند ($P>0/05$).

نتایج آنالیز عصاره گیاه خرفه در جدول ۱ ارائه شده است. براساس نتایج، مقادیر پروتئین، چربی، خاکستر و پلی فنل موجود در عصاره خشک گیاه خرفه به‌ترتیب ۳/۴، ۵/۳، ۱/۰۸ و ۴/۴ درصد به‌دست آمد. بیشترین مقدار اسید چرب موجود در چربی عصاره گیاه خرفه مربوط به اسیدهای چرب چندغیراشباعی (PUFA) بود (۵۴/۶۵ درصد)، که بیشترین مقدار آن مربوط به لینولئیک اسید (C18:2) بود (۳۱/۰۹ درصد) (جدول ۱). به‌علاوه، مقادیر درصد وزنی اسیدهای چرب لینولنیک (C18:3)، پالمیتیک (C16:0) و واکسینیک

جدول ۲- درصد وزنی اسیدهای چرب در فیله بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) پس از ۸ هفته تغذیه با عصاره گیاه خرفه (*P. oleracea*)

اسیدهای چرب	تیمارهای آزمایش				
	شاهد	حاوی عصاره (درصد)			
	۰/۵	۱	۱/۵	۲
C10:0	۰/۰۴ ^{b}±۰/۰۰۳	۰/۷۹ ^{a}±۰/۰۸	۰/۰۰^{e}±۰/۰۰	۰/۰۱ ^{d} ±۰/۰۰۱	۰/۰۲ ^{c} ±۰/۰۰۱
C12:0	۰/۰۴ ^{c}±۰/۰۰۳	۰/۸۷ ^{a}±۰/۰۷	۰/۰۲ ^{d}±۰/۰۰۱	۰/۰۷ ^{b}±۰/۰۰۵	۰/۰۴ ^{c}±۰/۰۰۲
C14:0	۲/۰۱^{a}±۰/۸	۱/۵۶ ^{a}±۰/۶	۱/۹۴ ^{a} ±۰/۵	۲/۰۵ ^{a}±۰/۷	۱/۸۱^{a} ±۰/۵
C14:1	۰/۰۲ ^{b}±۰/۰۰۲	۰/۰۱ ^{c}±۰/۰۰۱	۰/۰۱^{c}±۰/۰۰۱	۰/۰۱^{b}±۰/۰۱۴	۰/۱^{a}±۰/۰۱
C15:0	۰/۲ ^{b}±۰/۰۳	۰/۲ ^{b}±۰/۰۳	۰/۱ ^{c}±۰/۰۱	۰/۱۲ ^{c}±۰/۰۲	۰/۳۴ ^{a}±۰/۰۲
C16:0	۱۵/۱ ^{a}±۲/۵۲	۱۳/۹۳ ^{a} ±۲/۷۱	۱۵/۴۴ ^{a} ±۱/۸۴	۱۴/۳ ^{a}±۳/۳۴	۱۳/۸۳ ^{a}±۱/۱۳
C16:1	۰/۳ ^{a}±۰/۰۲	۰/۲ ^{c}±۰/۰۱	۰/۲ ^{c} ±۰/۰۱	۰/۲۶ ^{b}±۰/۰۱	۰/۲۹ ^{a}±۰/۰۲
C17:0	۰/۴۳ ^{a}±۰/۰۳	۰/۴۳ ^{a}±۰/۰۳	۰/۱ ^{d}±۰/۰۱	۰/۲۸ ^{b}±۰/۰۲	۰/۲ ^{c}±۰/۰۲
C17:1	۰/۵ ^{a}±۰/۰۴	۰/۵ ^{a}±۰/۰۴	۰/۲ ^{c}±۰/۰۱	۰/۲۶ ^{b}±۰/۰۲	۰/۱۵ ^{d}±۰/۰۱
C18:0	۰/۵ ^{c}±۰/۰۴	۰/۵ ^{c}±۰/۰۴	۰/۶۷ ^{b}±۰/۰۵	۱/۱۲ ^{a}±۰/۰۰۱	۰/۵ ^{c}±۰/۰۴
C18:1	۴۰/۱۵ ^{b}±۱/۵۴	۴۰/۱۵ ^{b} ±۱/۵۴	۴۰/۸ ^{b} ±۱/۲۹	۴۳/۴ ^{a}±۱/۷۵	۴۱/۳۱ ^{b}±۱/۵۰
C18:2	۱۷/۱۴ ^{a}±۱/۳۰	۱۷/۱۴ ^{a}±۱/۳۰	۱۷/۰ ^{a}±۱/۱۰	۱۵/۷ ^{b}±۰/۱۴	۱۵/۷۷^{b}±۰/۹۱
C18:3	۶/۲۶^{b} ± ۰/۱۲	۶/۲۶^{b} ± ۰/۱۲	۶/۳۲^{b} ± ۰/۱	۶/۵۲^{a} ± ۰/۱۱	۶/۶۸^{a} ± ۰/۱۳
C20:0	۰/۹ ^{a}±۰/۲۱	۰/۹ ^{a}±۰/۲۱	۰/۲ ^{c}±۰/۰۶	۰/۵۴ ^{b}±۰/۱۵	۰/۶ ^{b}±۰/۱۸
C20:1	۰/۵ ^{a}±۰/۱۴	۰/۵ ^{a}±۰/۱۴	۰/۱ ^{b}±۰/۰۱	۰/۰۹ ^{b}±۰/۰۰۷	۰/۵۶ ^{a}±۰/۱۵
C20:5	۵/۸۲ ^{a}±۰/۱۴	۵/۸۲ ^{a}±۰/۱۴	۵/۹۰ ^{a}±۰/۱۵	۵/۴ ^{c}±۰/۱۲	۵/۶۶ ^{b}±۰/۱۳
C22:0	۱/۴۹ ^{a}±۰/۴۵	۱/۴۹ ^{a}±۰/۴۵	۱/۰۲ ^{b}±۰/۰۳	۱/۴۲ ^{a}±۰/۴۰	۱/۴۹ ^{a}±۰/۴۵
C22:1	۰/۳۶ ^{b}±۰/۰۳	۰/۳۶ ^{b}±۰/۰۳	۰/۴ ^{ab}±۰/۰۶	۰/۴۳ ^{a}±۰/۰۶	۰/۴ ^{ab}±۰/۰۶
C22:6	۱/۱۴ ^{a}±۰/۱۶	۱/۱۴ ^{a}±۰/۱۶	۱/۰۲ ^{b}±۰/۰۴	۱/۰۴ ^{ab}±۰/۰۶	۱/۰۲ ^{b}±۰/۰۴
C24:0	۱/۱۴^{a}±۰/۲۱	۱/۱۴^{a}±۰/۲۱	۰/۴۵ ^{b}±۰/۰۵	۰/۴۳ ^{b}±۰/۰۵	۰/۴۷ ^{b}±۰/۰۶
C24:1	۰/۲۴ ^{b}±۰/۰۲	۰/۲۴ ^{b}±۰/۰۲	۰/۲ ^{c}±۰/۰۲	۰/۲ ^{c}±۰/۰۲	۰/۳۷ ^{a}±۰/۰۳
∑SFA	۲۱/۸۵ ^{a} ± ۰/۴۳	۲۱/۸۱^{a} ± ۰/۴۴	۱۹/۹۴ ^{b} ± ۰/۲۶	۲۰/۳۴ ^{b} ± ۰/۴۷	۱۹/۳ ^{c} ± ۰/۲۴
∑MUFA	۴۲/۰۷ ^{c} ± ۰/۲۶	۴۱/۹۶ ^{c} ± ۰/۲۵	۴۱/۹۱ ^{c} ± ۰/۲	۴۴/۶۵ ^{a} ± ۰/۲۵	۴۳/۰۸ ^{b} ± ۰/۲۷
∑PUFA	۳۰/۳۶ ^{a} ± ۰/۳۳	۳۰/۳۶ ^{a} ± ۰/۳۳	۳۰/۲۴ ^{a} ± ۰/۲۶	۲۸/۷۳ ^{c} ± ۰/۱۱	۲۹/۰۶ ^{b} ± ۰/۲۵
∑n-3 PUFA	۱۳/۲۲ ^{a} ± ۰/۱۲	۱۳/۲۲ ^{a} ± ۰/۲۲	۱۳/۲۴ ^{a} ± ۰/۲	۱۲/۹۶ ^{b} ± ۰/۲۱	۱۳/۳۶ ^{a} ± ۰/۱۳
∑n-6 PUFA	۱۷/۱۴ ^{a} ± ۰/۱۳	۱۷/۱۴ ^{a} ± ۰/۱۳	۱۷/۰ ^{a} ± ۱/۱	۱۵/۷ ^{b} ± ۰/۱۴	۱۵/۷۷ ^{b} ± ۰/۹۱
n-3/n-6	۰/۷۷	۰/۷۷	۰/۷۸	۰/۸۳	۰/۸۵
∑LC- PUFA	۶/۹۶ ^{a} ± ۰/۱۵	۶/۹۶ ^{a} ± ۰/۱۵	۶/۹۲ ^{a} ± ۰/۲	۶/۴۴ ^{b} ± ۰/۳	۶/۶۸ ^{ab} ± ۰/۳۵

حروف a تا e بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۹۵ درصد است.

(C18:1) به‌ترتیب ۲۳/۵۶، ۲۳/۳۱ و ۱۵/۶۴ درصد به‌دست آمد، که بیشترین مقادیر اسیدهای چرب عصاره گیاه خرفه پس از اسید چرب لینولئیک بودند.

نتایج حاصل از بررسی تأثیر سطوح مختلف عصاره گیاه خرفه بر روی درصد وزنی انواع اسیدهای چرب در فیله بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان پس از ۸ هفته تغذیه با جیره آزمایشی در جدول ۲ ارائه شده است. بیشترین مقدار اسید چرب در فیله بچه‌ماهی مربوط به اسیدچرب واکسنیک (C18:1c) با میزان ۱/۷۵±۴۳/۳ درصد در تیمار ۱/۵ درصد گیاه خرفه جیره بود (جدول ۲).

مقادیر کل اسیدهای چرب اشباع در فیله بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) با افزایش سطح گیاه خرفه (*P. oleracea*) در جیره ماهی نسبت به تیمار شاهد کاهش یافت، و از مقدار ۰/۴۳±۲۱/۸۵ درصد در تیمار شاهد به ۰/۲۴±۱۹/۳ درصد در تیمار ۲ درصد جیره رسید. مقادیر اسیدهای چرب اشباع مارگاریک (C17:0)، آراشیدیک (C20:0) و لیگنوسریک (C24:0) در تیمارهای آزمایش حاوی گیاه خرفه نسبت به تیمار شاهد کاهش یافتند ($P<0/05$) (جدول ۲).

مقدار کل اسید چرب تک غیراشباع (MUFA) در فیله بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با افزایش سطح گیاه خرفه نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت، و از ۰/۲۶±۴۲/۰۷ به

۴۴/۶۵±۰/۲۷ درصد در تیمار ۱/۵ درصد گیاه خرفه رسید ($P<0/05$)، که تقریباً بخش عمده آن مربوط به اسید چرب واکسینیک (C18:1) بود (جدول ۲). همچنین، بیشترین مقدار اسید چرب واکسینیک در تیمار ۱/۵ درصد گیاه خرفه (۱/۷۵±۴۳/۴ درصد) به‌دست آمد، که نسبت به تیمار شاهد اختلاف معنی‌دار داشت ($P<0/05$).

با افزایش سطح گیاه خرفه در جیره بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تا مقدار ۱ درصد جیره، درصد وزنی اسید چرب لینولئیک اسید (C18:2) در فیله ماهی تقریباً ثابت بود، اما با افزایش بیشتر گیاه در جیره تا سطح ۱/۵ درصد، مقدار آن در فیله ماهی به ۰/۱۴ ± ۱۵/۷ درصد کاهش یافت، که نسبت به تیمار شاهد (۱/۳±۱۷/۱۴ درصد) اختلاف معنی‌دار داشت ($P<0/05$). به‌طورمعکوس، درصد وزنی اسید چرب لینولنیک اسید (C18:3)، با افزایش سطح گیاه خرفه در جیره تا ۱ درصد، بدون تغییر معنی‌داری بود، اما با افزایش بیشتر مقدار گیاه در جیره تا سطح ۲ درصد، مقدار آن به ۰/۱۳±۶/۶۸ درصد در فیله ماهی افزایش یافت، که نسبت به تیمار شاهد (۰/۱۲±۶/۲۶ درصد) اختلاف معنی‌دار داشت ($P<0/05$). به‌علاوه، مقدار درصد وزنی اسید چرب ایکوزاپنتانوئیک اسید (EPA) در فیله ماهی با افزایش مقدار گیاه در جیره تا ۱ درصد بدون تغییر معنی‌دار بود، اما با افزایش بیشتر گیاه تا ۱/۵ درصد جیره، مقدار آن به ۰/۱۲±۵/۴ درصد کاهش یافت ($P<0/05$)، که نسبت به تیمار بدون عصاره (۰/۱۴±۵/۸۲ درصد) تفاوت معنی‌دار داشت. به‌طور مشابه، مقادیر درصد وزنی اسیدچرب دکوزاهگزانوئیک اسید (DHA) در سطوح ۱ و ۲ درصد گیاه خرفه (*P. oleracea*) جیره (۰/۰۴ ± ۱/۰۲ درصد) نسبت به تیمار شاهد (۰/۱۶±۱/۱۴ درصد) کاهش معنی‌دار نشان داد ($P<0/05$) (جدول ۲). با توجه به کاهش مقادیر EPA و DHA در فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) در سطوح بالاتر از ۱ درصد گیاه خرفه (*P. oleracea*) جیره، مقدار PUFA و مقدار کل اسیدهای چرب بلندزنجیره (LC-PUFA) در تیمار ۱/۵ درصد عصاره گیاهی نسبت به تیمار شاهد کاهش یافت ($P<0/05$). با این وجود، با افزایش سطح گیاه خرفه در جیره، مقدار کل اسیدچرب چندغیراشباع n-6 در فیله ماهی کاهش یافت، و مقدار کل اسید چرب چندغیراشباع n-3 افزایش یافت، که موجب افزایش نسبت n-3/n-6 در فیله ماهی گردید. این نشان‌دهنده تأثیر مثبت استفاده از گیاه خرفه بر روی کیفیت فیله بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بود. همچنین، این اثرگذاری وابسته به مقدار گیاه در جیره ماهی بود.

بحث و نتیجه‌گیری

به‌طورکلی، بالاترین مقادیر آنزیم‌های آلانین آمینوترانسفراز، آسپارتات آمینوترانسفراز و آلکالین فسفاتاز در سرم ماهی قزل آلای رنگین‌کمان در سطوح ۲–۰/۵ درصد گیاه خرفه جیره به‌دست آمد، که نسبت به تیمار شاهد اختلاف معنی‌دار داشت. آلانین آمینوترانسفراز در انتقال گروه آمین از آلانین به آلفا کتوگلوتارات در چرخه آلانین نقش دارد، و موجب تولید پیرووات و گلوتامات در میتوکندری می‌شود. آسپارتات آمینوترانسفراز نیز برای انتقال گروه آمین از آمینواسید آسپارتات به آلفا کتوگلوتارات عمل می‌کند، و تولید اگزالواستات و گلوتامات در میتوکندری می‌کند. آلکالین فسفاتاز یک فسفو مونواستراز است، که قسمت فسفات را از فسفوپروتئین‌ها، فسفولیپیدها، اسیدهای نوکلئیک، نوکلئوتیدها و سایر مولکول‌های آلی حذف می‌کند، و نمک-های فسفات و الکل مربوطه را تولید می‌کند (York, 2016). کبد یکی از منابع اصلی این آنزیم‌هاست. از این‌رو، این آنزیم‌ها به‌عنوان نشانگرهای زیستی برای آسیب کبدی بکار می‌روند (Das *et al*., 2022). به‌بیان دیگر، با افزایش آسیب سلولی و تجزیه ترکیبات سلولی، مقادیر این آنزیم‌ها ابتدا در کبد و سپس در خون ماهی افزایش می‌یابد. با وجود اینکه گیاهان دارویی به‌عنوان عاملی برای بهبود سلامت و عملکرد منظم کبد شناخته می‌شوند (Das *et al*., 2022)، اما در برخی موارد این ترکیبات باعث آسیب کبدی و افزایش مقادیر آنزیم‌های کبدی شاخص گردیده‌اند. استفاده از مخلوط گیاهان دارویی چینی در مقادیر ۱۰ تا ۳۰ گرم در کیلوگرم جیره ماهی بچه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان موجب افزایش سطح آنزیم‌های ALT و AST در سرم ماهی شد (Wang *et al*., 2024). در مطالعه دیگری، استفاده از ۰/۲۵ تا ۱ درصد مخلوط پودر زردچوبه (*Curcuma langa*) و فلفل سیاه (*Piper nigrum*) در جیره بچه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان موجب افزایش سطح آنزیم‌های ALT، AST و ALP نسبت به تیمار شاهد شد (Aghili *et al*., 2024). همچنین، استفاده از ۳ درصد عصاره برگ زیتون روسی (*Elaeagnus angustifolia*) در جیره کپور معمولی (*C.*

carpio) موجب افزایش سطح ALT و AST نسبت به تیمار شاهد شد (Hoseini *et al*., 2021). براساس نتایج، مقادیر کل اسیدهای چرب اشباع در فیله بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با افزایش سطح گیاه خرفه در جیره ماهی نسبت به تیمار شاهد کاهش یافت، که بیشترین مقدار آن در تیمار ۲ درصد عصاره گیاهی به‌دست آمد. کاهش اسیدهای چرب اشباع در تیمارهای آزمایش حاوی عصاره گیاهی می‌تواند به دلیل آن باشد که فعالیت آنزیم‌های مسئول بیوسنتز اسیدهای چرب غیراشباع در ماهیان تغذیه شده با عصاره گیاهی افزایش می‌یابد. بنابراین، با افزایش فعالیت این آنزیم‌ها در بدن ماهی، از مقدار اسیدهای چرب اشباع که به‌عنوان پیش ساز، برای سنتز اسیدهای چرب غیراشباع مورد استفاده آنها قرار می‌گیرند، کاسته می‌شود، و بر مقدار اسیدهای چرب غیراشباع در فیله ماهی افزوده می‌گردد (Bruni *et al*., 2020). به‌علاوه، ممکن است با افزایش مقدار گیاه خرفه در جیره و تبدیل اسیدهای چرب اشباع بیشتر به اسیدهای چرب غیراشباع، مقدار اسیدهای چرب اشباع کمتر و مقدار اسیدهای چرب غیراشباع در فیله ماهی بیشتر گردد. از این‌رو، کمترین مقدار اسیدهای چرب اشباع در فیله ماهی در تیمار ۲ درصد گیاه خرفه به‌دست آمد. به‌طور مشابه، مقدار کل اسیدهای چرب اشباع در فیله بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با ۱ درصد عصاره گیاه دارچین نسبت به تیمار فاقد عصاره از ۰/۹۴±۲۷/۶۹ به ۰/۳۰±۲۵/۴۷ درصد کاهش یافت (Zhelyazkov and Stoev, 2024). در مطالعه دیگری، استفاده از یک درصد عصاره فلفل سیاه (*Piper nigrum*) در جیره بچه‌ماهی قزل‌آلای موجب کاهش معنی‌دار مقدار کل اسیدهای چرب اشباع در فیله بچه‌ماهیان تغذیه شده با عصاره گیاهی نسبت به تیمار شاهد گردید (Zhelyazkov and Stoev, 2022). به‌علاوه، مقدار کل اسیدهای چرب اشباع در عضله، پوست و امعا و احشای بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با جیره جایگزین شده روغن کاملینا (*Calena cultivar*) به‌جای روغن ماهی به‌میزان ۱۰۰ درصد، به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (Hixson, *et al*., 2014). مقدار کل اسید چرب تک غیراشباع (MUFA) در فیله بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با افزایش سطح گیاه خرفه نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت، که بیشترین مقدار آن در تیمار ۱/۵ درصد عصاره گیاهی به‌دست آمد، و تقریباً بخش عمده آن مربوط به اسید چرب واکسینیک (C18:1) بود. افزایش در مقدار MUFA فیله ماهی نیز می‌تواند به‌دلیل افزایش فعالیت آنزیم‌های مسئول بیوسنتز اسیدهای چرب غیراشباع در بدن ماهی باشد (Bruni *et al*., 2020). به‌طورمشابه مطالعات انجام شده گزارش کردند که افزایش عصاره گیاه *Eucommia ulmoides* در جیره ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تا سطح ۲ درصد موجب افزایش مقدار MUFA از ۰/۹۸±۳۱۵/۷۵ به ۵/۳۱±۳۲۰/۳۰ گرم در کیلوگرم در فیله ماهی شد و سپس با افزایش بیشتر مقدار گیاه در جیره ماهی تا میزان ۴ درصد، مقدار MUFA در فیله ماهی کاهش یافت (Yao, 2020). همچنین، جایگزینی روغن کاملینا (*Calena cultivar*) با روغن ماهی موجب افزایش معنی‌دار مقدار MUFA در فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان از ۱/۳ ± ۳۱/۱ به ۰/۹±۳۸/۵ درصد در تیمار ۱۰۰ درصد جایگزینی با روغن ماهی نسبت به تیمار شاهد گردید (Hixson, *et al*., 2014).

با وجود اینکه در سطوح بالاتر از ۱ درصد گیاه خرفه جیره، مقدار کل اسیدهای چرب چندغیراشباع (PUFA) در فیله ماهی نسبت به تیمار شاهد کاهش معنی‌دار نشان داد، نسبت اسیدهای چرب چندغیراشباع n-3/n-6 در فیله ماهی افزایش یافت. به‌هرحال، این می‌تواند نشان‌دهنده تأثیر مثبت گیاه خرفه بر روی کیفیت فیله بچه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان باشد. به‌علاوه، این اثرگذاری وابسته به مقدار گیاه در جیره ماهی بود، به‌طوری‌که بیشترین تأثیر عصاره گیاهی بر نسبت n-3/n-6 در سطح ۲ درصد جیره به‌دست آمد. مطالعات انجام شده بر روی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، افزایش مقادیر اسیدهای چرب غیراشباع لینولنیک اسید، EPA و DHA در فیله ماهیان تغذیه شده با عصاره‌های گیاهی مختلف را نشان داده است (Ji *et al*., 2021; Zhelyazkov and Stoev, 2024; Bayir and Yanik, 2025). به‌طورکلی، احتمالاً ابتدا مقدار اسید چرب لینولئیک موجود در عصاره‌های گیاهی در فیله ماهی انباشته می‌شود، و سپس در نتیجه فعالیت آنزیم‌های دساچوراز (Desaturase) و الانگاز (Elongase) مختلف، اسید چرب لینولنیک تبدیل به EPA و سپس DHA در فیله ماهی می‌گردد (Hixson *et al*., 2014). اما در مطالعه حاضر، با وجود افزایش لینولنیک اسید (C18:3) در فیله ماهی پس از تغذیه با عصاره گیاهی در مقادیر بالاتر از ۱ درصد جیره، مقدار

EPA و DHA در فیله کاهش یافت. مطالعات پیشنهاد کرده است که یک رقابت متابولیکی احتمالی بین لینولئیک اسید (C18:2) و لینولنیک اسید (C18:3) وجود دارد. به‌دلیل اینکه هر دو اسید چرب، سوبستراهایی برای آنزیم های دلتا ۶- دساچوراز (Δ^6 desaturases) هستند، و این آنزیم‌ها در ابتدای مسیر متابولیکی تبدیل لینولنیک اسید (C18:3) به EPA و DHA قرار دارند. به‌همین دلیل، مقادیر بالاتر لینولئیک اسید (C18:2) نسبت به لینولنیک اسید (C18:3) در عصاره خرفه، ممکن است موجب مهار تبدیل لینولنیک اسید به EPA و DHAدر فیله ماهی شده باشد (Skonberg *et al*., 1994; Caballero *et al*., 2002; Hixson *et al*., 2014). به‌طور مشابه، با جایگزینی روغن کاملینا (*Calena cultivar*) به مقدار ۵۰ و ۱۰۰ درصد در جیره ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به‌جای روغن ماهی، مقدار لینولئیک اسید در فیله ماهی افزایش یافت، و مقادیر EPA و DHA نیز کاهش (Hixon *et al*., 2014). هم، استفاده از روغن گشنیز (*Coriandrum sativum*) در جیره ماهی تیلاپیای نیل (*O. niloticus*) در مقادیر بالاتر از ۵ گرم در کیلوگرم جیره، موجب کاهش اسیدهای چرب غیراشباع گروه n-3 در فیله ماهی گردید (Das *et al*., 2023).

پیشنهادها

۱) به‌دلیل تأثیر منفی گیاه خرفه بر روی مقادیر آنزیم‌های کبدی مورد بررسی، از عصاره گیاه در مقادیر صفر تا ۰/۵درصد جیره بچه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان مورد استفاده و بررسی قرار گیرد.

۲) به‌دلیل تأثیر مثبت گیاه خرفه بر روی سطوح اسید چرب فیله، از عصاره خرفه و سطح بهینه در اندازه بازاری ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان مورد بررسی و آزمایش قرار گیرد.

۳) به‌دلیل مشاهده اثرات سمی در کبد، پیشنهاد می‌شود مقدار Lc50 عصاره خرفه در بچه‌ماهی قزل‌آلا مورد بررسی و سنجش قرار گیرد.

تشکر وقدردانی

با توجه به انجام عملیات میدانی این تحقیق در مرکز تحقیقات ماهیان سردآبی تنکابن بدینوسیله از همکاری کلیه کارکنان آن مجموعه تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

Abdel-Razek N., Awad S.M., Abdel-Tawwab M. 2019. Effect of dietary purslane (*Portulaca oleracea* L.) leaves powder on growth, immunostimulation, and protection of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* against *Aeromonas hydrophila* infection. *Fish Physiology and Biochemistry* 45, 1907-1917.

Adineh, H., Harsij M., Jafaryan H., Asadi M. 2020. The effects of microencapsulated garlic (*Allium sativum*) extract on growth performance, body composition, immune response and antioxidant status of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) juveniles, *Journal of Applied Animal Research* 48(1), 372-378.

Aghili S.M., Firouzbakhsh F., Haghparast S., Farhadi A. 2024. Growth parameters, hematology, immunity, and relative expressions of TNF-α and IL-8 genes in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed a combination of turmeric (*Curcuma langa*) powder and black pepper (*Piper nigrum*). *Aquaculture International* 32, 2353-2372.

Aguiar G.A., Carneiro C.L., Campelo D.A., Rusth R.C., Maciel J.F., Baldisserotto B., Zuanon J.A., Oliveira A.V., Oliveira M.G., Freitas M.B., Furuya,W.M., Salaro A.L. 2023. Effects of dietary peppermint (*Mentha piperita*) essential oil on growth performance, plasma biochemistry, digestive enzyme activity, and oxidative stress responses in juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Fishes* 8(7), 374.

Ahmadifar E., Hoseinifar S.H., Adineh H., Moghadam M.S., Dawood M.A. 2020. Assessing the Impact of Purslane (L.) on growth performance, anti-oxidative, and immune activities in Grass Carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Annals of Animal Science* 20(4), 1427-1440.

Bayir H., Yanik T. 2025. Supplementation of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) oil in the diets of freshwater rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* W.) led to enhanced growth and better meat quality. *Fish Physiology and Biochemistry* 51, 18.

Bruni L., Secci G., Mancini S., Faccenda F., Parisi G. 2020. A commercial macroalgae extract in a

plant-protein rich diet diminished saturated fatty acids of *Oncorhynchus mykiss* walbaum fillets. *Italian Journal of Animal Science* 19(1), 373-382.

Caballero M., Obach A., Rosenlund G., Montero D., Gisvold M., Izquierdo M. 2002. Impact of different dietary lipid sources on growth, lipid digestibility, tissue fatty acid composition and histology of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture* 214(1-4): 253-271.

Das R., Mitra S., Tareq A.M., Emran T.B., Hossain M.J., Alqahtani A.M., Alghazwani Y., Dhama K., Simal-Gandara J. 2022. Medicinal plants used against hepatic disorders in Bangladesh: A comprehensive review. *Journal of Ethnopharmacology* 282, 114588.

Das S., Pradhan C., Singh A.K., Vineetha V., Pillai D. 2023. Dietary coriander (*Coriandrum sativum* L) oil improves growth, nutrient utilization, antioxidant status, tissue histomorphology and reduces omega-3 fatty acid production in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Animal Feed Science and Technology* 305, 115774.

Fazelan Z., Vatnikov Y.A., Kulikov E.V., Plushikov V.G., Yousefi M. 2020. Effects of dietary ginger (*Zingiber officinale*) administration on growth performance and stress, immunological, and antioxidant responses of common carp (*Cyprinus carpio*) reared under high stocking density. *Aquaculture* 518, 734833.

Firestone D. 1998. Official methods and recommended practices of the American oil chemist's society, Physical and chemical characteristics of oils, Fats and waxes, Section I. Ed. *The AOCS methods editor and the AOCS technical department*. 54 p. AOCS Press, Champaign.

Folch J., Lees M., Sloane-Stanley G.H. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal of Biochemistry and Physiology* 226(1), 497-509.

Gholian E., Hoseinifard S.M., Ghobadi S., Changizi R., Manouchehri H. 2022. Effects of turmeric (*Curcuma longa*) on growth parameters and expression of growth–related genes (GH and IGF) in juvenile sevruga (*Acipenser stellatus*). *Iranian Journal of Fisheries Sciences* 21(1),

Hixson S.M. Parrish C.C., Anderson D.M. 2014. Changes in tissue lipid and fatty acid composition of farmed rainbow trout in response to dietary camelina oil as a replacement of fish oil. *Lipids*, 49 (1), 97-111.

Hoseini S.M., Taheri Mirghaed A., Iri Y., Hoseinifar S.H., Van Doan H., Reverter M. 2021. Effects of dietary Russian olive, *Elaeagnus angustifolia*, leaf extract on growth, hematological, immunological, and antioxidant parameters in common carp, *Cyprinus carpio*. *Aquaculture* 536, 736461.

Iranshahy M., Javadi B., Iranshahi M., Jahanbakhsh S.P., Mahyari S., Hassani F.V., Karimi G. 2017. A review of traditional uses, phytochemistry and pharmacology of *Portulaca oleracea* L. *Journal of Ethnopharmacology* 205(9), 158-172.

Ji R., Xiang X., Li X., Mai K., Ai Q. 2021. Effects of dietary curcumin on growth, antioxidant capacity, fatty acid composition and expression of lipid metabolism-related genes of large yellow croaker fed a high-fat diet. *British Journal of Nutrition* 126(3): 345-354.

Karataş T., Korkmaz F., Karataş A., Yildirim S. 2020. Effects of Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) extract on growth, blood biochemistry, immunity, antioxidant, digestive enzymes and liver histopathology of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture Nutrition* 26(5), 1533-1541.

Kumar A., Sreedharan S., Kumar Kashyap A., Singh P., Ramchiary N. 2022. A review on bioactive phytochemicals and ethnopharmacological potential of purslane (*Portulaca oleracea* L.), *Heliyon* 8, e08669.

Long S., Dong X., Liu H., Yan X., Tan B., Zhang S., Chi S., Yang Q., Liu H., Yang Y., Zhang, H. 2022. Effect of dietary oxidized fish oil on liver function in hybrid grouper (♀ *Epinephelus fuscoguttatus* × ♂ *Epinephelus lanceolatus*). *Aquaculture Reports* 22, 101000.

Magara G., Prearo M., Vercelli C., Barbero R., Micera M., Botto A., Caimi C., Caldaroni B., Bertea C.M., Mannino G., Barceló D., Renzi M., Gasco L., Re G., Dondo A., Elia A.C., Pastorino P. 2022. Modulation of Antioxidant Defense in Farmed Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Fed with a Diet Supplemented by the Waste Derived from the Supercritical Fluid Extraction of Basil (*Ocimum basilicum*). *Antioxidants* 11(2), 415.

Martinoli M., Pulcini D., Veroli M., Renzi G., Failla S., Capoccioni F. 2021. Effects of *Portulaca oleracea* whole diet on pigments and fatty acids profiles of juvenile red swamp crayfish (*Procambarus clarkii* Girard, 1852) under laboratory conditions. *Aquaculture Research*, 52(11), 5180-5189. https://doi.org/10.1111/are.15386

Mohamed R.A., Yousef Y.M., El-Tras W.F., Khalafallaa M.M. 2021. Dietary essential oil extract from sweet orange (*Citrus sinensis*) and bitter lemon (*Citrus limon*) peels improved Nile tilapia performance and health status. *Aquaculture Research*, 52(4), 1463-1479. https://doi.org/10.1111/are.15000

Mostafavi Z.S., Shekarabi S.P.H., Mehrgan M.S., Islami H.R. 2022. Amelioration of growth performance, physio-metabolic responses, and antioxidant defense system in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, using dietary dandelion, *Taraxacum officinale*, flower extract. *Aquaculture* 546, 737296.

Ozturk M., Altay V., Güvensen A. 2021. *Portulaca oleracea*: A Vegetable from Saline Habitats. In: Grigore, M. N. (ed.) Handbook of Halophytes. Springer, Cham. pp: 2319 -2332.

Ramesh D., Souissi S. 2018. Antibiotic resistance and virulence traits of bacterial pathogens from infected freshwater fish, *Labeo rohita*. *Microbial Pathogenesis* 116, 113-119.

Salem M.O.A., Taştan Y., Bilen S., Terzi E., Sönmez A.Y. 2022. Effects of white mustard (*Sinapis alba*) oil on growth performance, immune response, blood parameters, digestive and antioxidant enzyme activities in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish and Shellfish Immunology* 131, 283-299.

Shikov A.N., Mikhailovskaya I.Y., Narkevich I.A., Flisyuk E.V., Pozharitskaya O.N. 2021. *Methods of extraction of medicinal plants. Evidence-Based Validation of Herbal Medicine* (2nd ed.), pp: 771-796. https://doi.org/10.1016/B978-0-323-85542-6.00029-9

Skonberg D.I., Rasco B.A., Dong F.M. 1994. Fatty acid composition of salmonid muscle changes in response to a high oleic acid diet. *The Journal of Nutrition* 124(9), 1628-1638.

Tadese D.A., Song C., Sun C., Liu B., Liu B., Zhou Q., Xu P., Ge X., Liu M., Xu X., Tamiru M., Zhou Z., Lakew A., Kevin N.T. 2022. The role of currently used medicinal plants in aquaculture and their action mechanisms: A review. *Reviews in Aquaculture* 14(2), 816-847.

Wang Q., Pan Y., Huang J., Li Y., Wu S., Zhao L., Sun,T., Kang Y., Liu Z. 2024. Dietary supplementation of Chinese herbal medicines enhances the immune response and resistance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) to infectious hematopoietic necrosis virus. *Frontiers in Veterinary Science*, 11, 1341920.

Wenger C., Kaplan A., Rubaltelli F., Hammerman C. 1984. 1984. Alkaline phosphatase. Kaplan A et al. Clin Chem the C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton; 1094-1098.

Yao L. 2021. Effects of dietary aqueous extract from *eucommia ulmoides* oliver on growth, muscle composition, amino acid composition and fatty acid composition of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Pakistan Journal of Zoology* 53(2), 603-611.

York M. 2016. Clinical Pathology. *A Comprehensive Guide to Toxicology in Nonclinical Drug Development (2nd Ed.)*, pp: 325-374.

Zhelyazkov G., Stoev T.S. 2022. Proximate and fatty acid composition of meat from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* W.) after dietary supplementation with black pepper (*Piper nigrum* L.) extract. *Food Science and Applied Biotechnology* 5(2), 232-239.

Zhelyazkov G., Stoev T.S. 2024. Dietary savory extract (*Satureja hortensis*) supplementation of rainbow trouts - influence on productive traits, blood biochemistry and fish meat quality. *Trakia Journal of Sciences* 22(3), 193-201.

Zhelyazkov G., Stoev T.S. 2024. Effect of dietary supplementation of cinnamon (*Cinnamomum verum* Presl) extract to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* W.) feed on the chemical and fatty acid profile of meat. *Agricultural Science and Technology* 16(2), 96-103.

Journal of Aquaculture Sciences Vol. 13, No 24, 46-58
Print ISSN: 2322-5351
www.aquaculturesciences.ir

The effect of dietary dried purslane (*Portulaca oleracea*) extract on the activity of liver enzymes and fatty acid levels of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) juvenile fillet

Masoud Kousha[1], Mehdi Mohammad Alikhani*, Saltanat Najjar Lashgari

Coldwater Fishes Research Center, Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization, Tonekabon, Iran.

*Corresponding author: m.mohammadalikhani1982@gmail.com

Received: 15.Feb.2025 **Accepted: 18.May.2025**

Abstract

This study investigated the effect of dietary dried purslane (*Portulaca oleracea*) extract on the activity of serum liver enzymes and fatty acid levels of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) juvenile fillet. The diets were prepared at five levels of zero (T0), 0.5% (T1), 1% (T2), 1.5% (T3), and 2% (T4) of purslane extract for three replicates. The fish with an average initial weight of 9.0±1.37 g was fed four times in equal meals from 8:00 to 16:00 for 56 days. At the end of the 8-week experiment, the activities of liver enzymes, including alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, and serum alkaline phosphatase, and fatty acids levels of rainbow trout juveniles' fillet were measured. According to the obtained results, the highest levels of alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, and alkaline phosphatase enzymes in rainbow trout (*O. mykiss*) serum were obtained at 0.5-1% of dietary purslane (P <0.05). These results indicated a negative effect of purslane (*P. oleracea*) extract on the activity of liver enzymes of rainbow trout juveniles, especially at 0.5-1% dietary plant extract. The total saturated fatty acid (SFA) levels in fish fillets decreased significantly with increasing levels of dietary purslane compared to the control treatment. Therefore, the lowest levels were obtained at 2% dietary plant extract (P<0.05). Conversely, the total amount of monounsaturated fatty acids (MUFA) in fish fillet increased with increasing levels of dietary purslane compared to the control treatment (P<0.05), in which the highest amount was acquired at 1.5% dietary plant extract. Although the total amount of polyunsaturated fatty acids (PUFA) in fish fillet was decreased significantly compared to the control treatment (P<0.05) at levels higher than 1% of dietary purslane, the ratio of n-3/n-6 PUFAs in fish fillet increased. Consequently, this indicated a positive effect of purslane extract on the quality of rainbow trout juvenile fillet. Also, this effect depended on the amount of plant extract in the fish diet. The most significant effect of plant extract on this ratio in fish fillets was obtained at 1.5-2% of the diet. Therefore, using purslane extract at 1.5-2% of the diet, despite the negative effect on the activity of some serum liver enzymes, improved the quality of rainbow trout juvenile fillet.

Keywords: Medicinal plants, rainbow trout, Liver enzymes, Fatty acids