

تأثیر عصاره پوست گریپ فروت (*Citrus paradisi*) بر عملکرد رشد و فعالیت آنتی‌اکسیدانی بچه‌ماهی سفید (*Rutilus kutum*)

- زهرا سموات: گروه شیلات، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
- مهدی شمسایی مهرجان*: گروه شیلات، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
- شهلا جمیلی: موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران
- مهدی سلطانی: گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران
- سیدپیمان حسینی شکرابی: گروه شیلات، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: آبان ۱۳۹۸ تاریخ پذیرش: بهمن ۱۳۹۸

چکیده

در این مطالعه تأثیر عصاره آبی-الکلی پوست گریپ فروت (*Citrus paradisi*) بر عملکرد رشد و برخی پارامترهای آنتی‌اکسیدانی پلاسمای خون بچه‌ماهی سفید دریای خزر (*Rutilus kutum*) مورد مطالعه قرار گرفت. بر این اساس تعداد ۱۸۰ عدد ماهی با میانگین وزن اولیه $4/0 \pm 0/3$ گرم به مدت ۵۶ روز با رژیم‌های غذایی حاوی میزان ۰، ۶/۲۵، ۱۲/۵ و ۲۵ میلی‌گرم عصاره آبی-الکلی پوست گریپ فروت در کیلوگرم خوراک تغذیه شدند. بیش‌ترین مقدار افزایش وزن بدن ($18/1 \pm 10/6$ درصد)، نرخ رشد ویژه ($79/0 \pm 3/0$ درصد در روز) و هم‌چنین کم‌ترین مقدار ضریب تبدیل غذایی ($11/32 \pm 1/0$) در ماهیان تغذیه شده با ۲۵ میلی‌گرم در کیلوگرم خوراک عصاره گریپ فروت مشاهده شد ($P < 0/05$). در پارامترهای ضریب تبدیل غذایی و درصد بقاء تفاوت معنی‌داری بین تیمارها دیده نشد ($P > 0/05$). علاوه بر این، بالاترین میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گلوتاتیون پراکسیداز و کاتالاز در تیمار ۲۵ میلی‌گرم در کیلوگرم GPE مشاهده شد. هم‌چنین سوپراکسید دسموتاز در ماهیان تغذیه شده با عصاره آبی-الکلی پوست گریپ فروت نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌داری یافت. به‌طور کلی، مکمل‌سازی خوراک بچه‌ماهی سفید با عصاره آبی-الکلی پوست گریپ فروت به میزان ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم خوراک، می‌تواند عملکرد رشد و پاسخ‌های آنتی‌اکسیدانی را بهبود دهد.

کلمات کلیدی: فعالیت آنتی‌اکسیدانی، رشد، ماهی سفید دریای خزر، گریپ فروت، عصاره گیاهی



مقدمه

بوده که از نظر زیست‌شناسی، اکولوژیک و هم‌چنین اقتصادی برای ایران حائز اهمیت است (Salehi, 2011). این ماهی از نظر رشد جزء ماهیان دیر رشد بوده و در حال حاضر سالانه توسط سازمان شیلات ایران بچه‌ماهیان حاصل از تکثیر مصنوعی این ماهی به دریای خزر جهت بازسازی ذخایر رهاسازی می‌شود. با توجه به این که ماهی سفید از محیط پرورشی به محیط طبیعی رها می‌شود و ممکن است در زمان رهاسازی با عوامل استرس‌زا و بیماری‌زای محیطی مواجه شود، بنابراین استفاده از روش‌های مناسب پرورش قبل از رهاسازی می‌تواند مقاومت بچه‌ماهیان را در برابر استرس و عوامل بیماری‌زای محیطی بالا ببرد. بدین منظور، این مطالعه با هدف تاثیر عصاره هیدروالکلی پوست گریپ فروت بر عملکرد رشد و فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بچه ماهی سفید انجام شد.

مواد و روش‌ها

محل اجرا و شرایط پرورش: این مطالعه در آزمایشگاه شیلات دانشگاه آزاد اسلامی (علوم و تحقیقات، تهران)، برای مدت ۵۶ روز انجام گرفت. برای این منظور ۱۸۰ عدد بچه‌ماهی سفید $4/0 \pm 0/3$ گرمی از مرکز تکثیر و پرورش شهید رجایی (ساری، ایران) به محل انجام طرح منتقل و بچه‌ماهیان در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تیمار و ۳ تکرار در ۱۲ مخزن پلاستیکی (هر مخزن ۱۵ عدد ماهی) با شرایط یکسان از نظر حجم آبگیری (۴۵ لیتر) و فاکتورهای محیطی توزیع شدند. در طول آزمایش پارامترهای اکسیژن محلول، pH و دمای آب به ترتیب برابر $6/4 \pm 0/5$ میلی‌گرم در لیتر، $7/6 \pm 0/2$ و 25 ± 1 درجه سانتی‌گراد بود. لازم به ذکر است که بچه‌ماهیان قبل از انتقال قطع غذا بوده و دو هفته‌سازگاری به محیط جدید قبل شروع آزمایش در نظر گرفته شد. در طول دوره سازگاری ماهیان با جیره پایه تغذیه شدند.

تهیه عصاره پوست گریپ فروت (GPE) و آماده‌سازی جیره‌های آزمایشی: گریپ فروت تازه از بازار میوه محلی (تهران، ایران) تهیه شد. پس از تمیز کردن و شستشو با آب مقطر، پوست میوه‌ها کنده و در دمای اتاق خشک شدند. سپس پوست خشک شده به مدت ۴۸ ساعت در دمای اتاق در اتانول ۹۰ درصد مخلوط شد. سپس این مخلوط در ۹۵۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه (Σ) (Sigma ۳۰۰k, Germany) سانتریفیوژ شد و به وسیله کاغذ صافی ۴۲ (Whatman Number) فیلتر شد. جیره غذایی پایه (شاهد) بچه‌ماهیان سفید را غذای تجاری شرکت بیومار (پروتئین ۴۴/۶٪، چربی ۱۴٪، فیبر ۰/۴٪، خاکستر ۵/۷٪ و رطوبت ۸/۵٪) تشکیل داد که به منظور تهیه جیره‌های آزمایشی از غلظت‌های پیشنهاد شده Samavat و همکاران (۲۰۱۹) براساس قدرت آنتی‌باکتریال عصاره پوست گریپ فروت استفاده

آبزی‌پروری در کنار توسعه قابل توجهی که نموده، همواره با مشکلاتی نیز روبه‌رو بوده است. کاهش نرخ رشد و بقاء و هم‌چنین شیوع بیماری‌ها به‌عنوان مشکلات عمده پرورش آبزیان به‌صورت متراکم در اسارت مطرح بوده که گسترش اقتصادی این صنعت را تحت تأثیر قرار داده است (Dugenci و همکاران، ۲۰۰۳؛ Aly و همکاران، ۲۰۱۲). همواره راه‌حلی نیز برای برطرف کردن این مشکلات ارائه شده است، که یکی از این موارد مکمل‌سازی جیره غذایی آبزیان با ترکیبات گیاهی به‌عنوان محرک‌های رشد می‌باشد (Dugenci و همکاران، ۲۰۰۳). البته این مکمل‌های طبیعی علاوه بر بهبود شاخص‌های رشد، منجر به بالا رفتن سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی، افزایش مقاومت ماهی نسبت به استرس‌های محیطی و هم‌چنین بیماری‌های عفونی شده که در نهایت منجر به اقتصادی‌تر شدن صنعت آبزی‌پروری می‌گردد (Rao و همکاران، ۲۰۰۶). تأثیرات نامطلوب آنتی‌اکسیدان‌های سنتتیک از جمله جهش‌زایی، ایجاد مسمومیت و سرطان‌زایی موجب شده که امروزه کاربرد آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی به‌منزله جایگزین آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی توصیه شود (Sakanaka و همکاران، ۲۰۰۵). در سال‌های اخیر توجه زیادی به ترکیبات و فعالیت آنتی‌اکسیدانی میوه‌ها و اثر آن‌ها در کاهش تخریب مولکول‌ها شده است (Therond و همکاران، ۲۰۰۰). اگرچه در صنعت و مصارف خانگی، مقدار زیادی محصول فرعی از مصرف میوه‌جات تولید می‌شود، اما خواص آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌باکتریالی قوی از باقی‌مانده (زائدات) پوست میوه‌جات گزارش شده است (Castro Vazquez و همکاران، ۲۰۱۶؛ Rafiq و همکاران، ۲۰۱۸). میوه گریپ فروت یکی از انواع مرکبات هیبریدی (پیوند پرتقال و دارابی) مهم جهان بوده که ضایعات آن منبع با ارزشی از ترکیبات فنلی و آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی می‌باشند (Armando و همکاران، ۱۹۹۸). پوست گریپ فروت دارای مقادیر بالایی از ترکیبات زیست فعال شامل هیدروکلونیدها (پکتین)، کاراتونوئیدها، فلاونوئیدها، آلدئیدهای آلیفاتیک و هم‌چنین ویتامین ث و پتاسیم است (Bocco و همکاران، ۱۹۹۸). اگرچه مطالعات متعددی اثرات مثبت استفاده از پوست مرکبات به عنوان مواد محرک رشد و ایمنی را در برخی گونه‌های ماهیان بیان نموده که از جمله آن می‌توان به عصاره پوست پرتقال در ماهی تیلاپیای موزامبیک (*Oreochromis mossambicus*) (Acar و همکاران، ۲۰۱۵)، اسانس پوست لیموترش در ماهی تیلاپیا موزامبیک (Baba و همکاران، ۲۰۱۶) و اسانس پوست تلخ لیمودر ماهی انگشت‌قد (*Labeo victorianus*) (Ngugi و همکاران، ۲۰۱۷) نام برد. در حالی که اثرات استفاده از عصاره پوست گریپ فروت در تغذیه آبزیان برای اولین بار صورت می‌گیرد. ماهی سفید (*Rutilus kutum*) از جمله منابع زیستی بومی دریای خزر

دور در دقیقه و به مدت ۱۰ دقیقه سانتیفریوز و از خون جدا و تا زمان آزمایش در دمای ۸۰- درجه سانتیگراد نگهداری شد. اندازه‌گیری ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل پروکسیداز گلوتاتیون احیاء (GPX)، آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و کاتالاز (CAT) پلاسما خون ماهیان براساس روش Strain و Benzie (۱۹۹۶) انجام شد.

تجزیه و تحلیل آماری: تمام آزمایشات در این مطالعه با سه تکرار انجام شده و داده‌ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار گزارش شدند. ابتدا نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگوروف-اسمیرنوف بررسی شد. سپس تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS ورژن ۲۱ و با استفاده از تجزیه واریانس یک‌طرفه (ANOVA) صورت گرفت. مقایسه میانگین بین تیمارهای مختلف براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۹۵ درصد تعیین شد.

نتیجه

اثرات عصاره GPE بر رشد، بقاء و بهره‌وری غذا: همان‌طور که در جدول ۱ نشان داده شده است، تمام تیمارها بیش از ۹۸٪ بقاء را نشان دادند و تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های آزمایشی وجود نداشت ($P > 0.05$). شاخص BWG و SGR به‌طور معنی‌داری ($P < 0.05$) در ماهیان تغذیه شده با ۲۵ میلی‌گرم در کیلوگرم GPE افزایش یافت ($P < 0.05$)، درحالی‌که بین ماهیان تغذیه شده با ۶/۲۵ میلی‌گرم در کیلوگرم GPE و گروه شاهد اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($P > 0.05$). پایین‌ترین سطح FCR نیز در ماهیان تغذیه شده با ۲۵ میلی‌گرم GPE (در کیلوگرم جیره) مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری را نسبت به سایر تیمارها نشان داد ($P < 0.05$). بیش‌ترین رشد نسبی RGR در ماهیان تغذیه شده با ۲۵ میلی‌گرم در کیلوگرم GPE به‌دست آمد که تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد و تیمار ۶/۲۵ نشان داد ($P < 0.05$). کم‌ترین میزان شاخص کبدی HIS در تیمار شاهد و در ماهیان تغذیه شده با ۶/۲۵ میلی‌گرم GPE (در کیلوگرم جیره) به‌دست آمد که تفاوت معنی‌داری با دو تیمار دیگر نشان دادند ($P < 0.05$). در خصوص شاخص وضعیت CF هیچ تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های آزمایشی مشاهده نشد ($P > 0.05$).

شد به‌طوری‌که سطوح ۰ (شاهد)، ۶/۲۵، ۱۲/۵ و ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم از عصاره پوست گریپ فروت (GPE) به جیره پایه همراه با ژلاتین ۲ درصد افزوده و به‌صورت یکنواخت و همگن با جیره پایه مخلوط شد. در این آزمایش بچه‌ماهیان سفید به‌مدت ۵۶ روز به‌میزان ۳ درصد وزن بدن و ۳ بار در روز با جیره‌های منتخب، تغذیه شدند. در طی دوره روزانه مدفوع و سایر مواد باقی‌مانده از کف مخازن سیفون و آب هر مخزن حدود ۲۰-۱۰ درصد تعویض شد.

پارامترهای عملکرد رشد و کارایی تغذیه: به‌منظور ارزیابی تأثیر سطوح مختلف عصاره پوست گریپ فروت بر شاخص‌های رشد و بقاء بچه‌ماهیان سفید به فاصله زمانی ۱۵ روز یک‌بار وزن ماهیان هر تیمار با پودر گل‌میخک (۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر) بی‌هوش و با ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم و طول کل با کولیس دیجیتال با دقت ۰/۰۱ میلی‌متر اندازه‌گیری شدند (صالحی‌فارسانی و همکاران، ۱۳۹۸). به این منظور ۲۴ ساعت قبل از زیست‌سنجی تغذیه ماهیان قطع شد. سپس متغیرهای مطالعاتی شامل افزایش وزن (BWG)، نرخ رشد ویژه (SGR)، شاخص وضعیت (CF)، ضریب تبدیل غذایی (FCR)، رشد نسبی (RGR)، درصد بقاء (SR) و شاخص کبدی (HSI) طبق فرمول‌های زیر محاسبه شد:

میزان رشد حاصله (BWG, %): $BWG = BW_f - BW_i / BW_i \times 100$

میزان رشد ویژه (SGR, %/day): $SGR = \frac{\ln W_f - \ln W_i}{t} \times 100$

میزان رشد نسبی (RGR, %): $RGR = W_f - W_i / W_i \times 100$

فاکتور وضعیت (CF): $CF = [W / L3] \times 100$

ضریب تبدیل غذایی (FCR): $CR = \frac{F}{W_f - W_i}$

شاخص کبدی (HIS, %): $HIS = (100 \times \text{وزن بدن (گرم)} / \text{وزن کبد (گرم)})$

درصد میزان بقا (SR, %): $Survival rate = (N_t / N_0) \times 100$

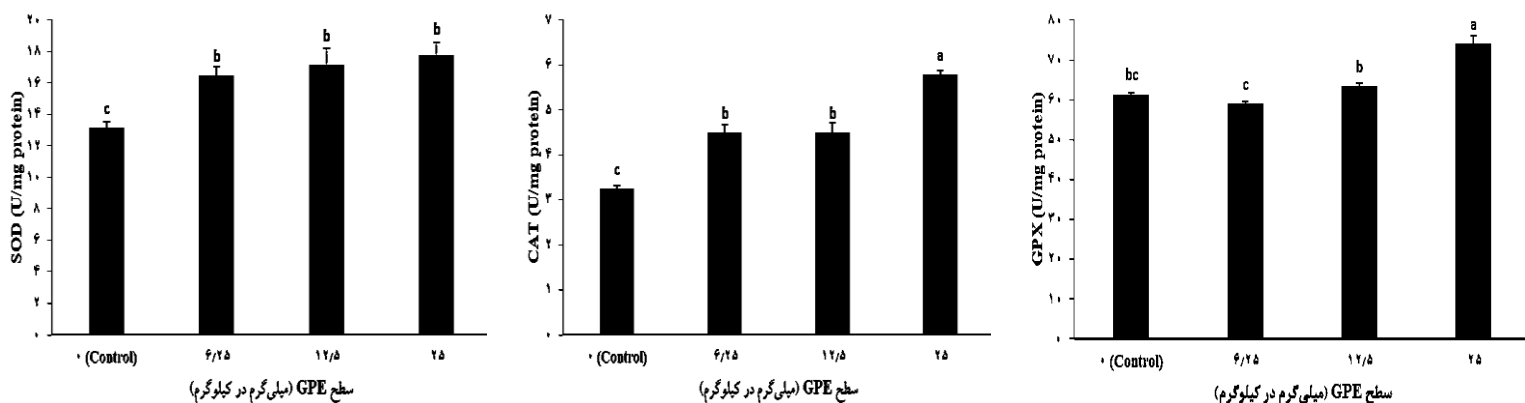
که در آن W_i : وزن نهایی (گرم)، W_f : وزن اولیه (گرم)، t : تعداد روزهای آزمایش، W : وزن نهایی ماهی (گرم)، L : طول کل ماهی (میلی‌متر)، F : غذای مصرفی (وزن خشک به گرم)، N_t : تعداد نمونه‌ها در انتهای دوره آزمایش و N_0 : تعداد نمونه‌ها در ابتدای دوره آزمایش می‌باشد.

سنجش فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی: نمونه‌برداری و خونگیری در انتهای آزمایش به‌منظور بررسی برخی شاخص‌های ایمنوفیزیولوژیک انجام می‌شود. بدین منظور جهت جلوگیری از بروز استرس، ۲۴ ساعت قبل از خونگیری، تغذیه ماهیان قطع می‌گردد و از پودر گل‌میخک به‌میزان ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر به‌عنوان ماده بی‌هوشی استفاده شد. برای جلوگیری از ورود موکوس و آب به نمونه خون، ماهیان کاملاً خشک گردیده و از سیاهرگ ساقه دمی خونگیری انجام گردید. از هر تکرار سه ماهی خونگیری هر نمونه به‌صورت جداگانه در لوله‌واجد ماده ضدانعقاد برای جداسازی پلاسما و انجام آزمایشات بعدی ریخته شد. پلاسماهای نمونه‌های خون با سرعت ۴۶۰۰



جدول ۱: عملکرد رشد و بهره‌وری غذا ماهی سفید دریای خزر (*Rutilus kutum*) تغذیه شده با سطوح مختلف عصاره پوست گریپ فروت (GPE)

پارامتر	۰ (شاهد)	۶/۲۵	۱۲/۵	۲۵
BWG (درصد)	۳۳/۷±۷۰/۸۰ ^c	۳۶/۴±۱۰/۷۳ ^c	۴۳/۳±۳۰/۵۷ ^b	۵۰/۶±۱۰/۱۸ ^a
FCR	۱/۰±۹۵/۲۰ ^a	۱/۰±۹۰/۴۱ ^a	۱/۰±۷۴/۳۰ ^b	۱/۰±۳۲/۱۱ ^c
SGR (درصد/روز)	۲/۰±۰/۸۰ ^c	۲/۱±۱۲/۱۲ ^c	۲/۱±۴۱/۵۵ ^b	۳/۰±۰/۵۷۹ ^a
RGR (درصد)	۱۶۱/۶۰±۱۹/۸۰ ^b	۱۸۱/۷۶±۳۰/۳۲ ^b	۲۱۵/۹۸±۳۴/۶۰ ^{ab}	۲۶۰/۴۴±۶۴/۱۱ ^a
CF (درصد)	۰/۰±۹۲/۱۲ ^a	۱/۰±۰/۳/۵۸ ^a	۰/۰±۹۱/۱۹ ^a	۱/۰±۱۵/۴۸ ^a
HIS (درصد)	۶/۰±۶۰/۳۳ ^b	۶/۰±۸۲/۲۳ ^b	۷/۰±۳۷/۳۴ ^a	۷/۰±۴۵/۲۵ ^a
SR (درصد)	۹۸/۳±۵۰/۵۰ ^a	۹۸/۴±۰/۹۰ ^a	۹۹/۱±۴۰/۴۲ ^a	۹۹/۳±۷۰/۱۰ ^a

حروف نامشابه در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار میانگین‌ها در بین تیمارها می‌باشد ($P < 0.05$).شکل ۱: اثر سطوح مختلف عصاره پوست گریپ فروت (GPE) بر فاکتورهای آنتی‌اکسیدانی پلاسمای خون ماهی سفید دریای خزر (*Rutilus kutum*)حروف مختلف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌داری بین تیمارها است ($n=3, P < 0.05$). آنتنک‌ها نشان‌دهنده انحراف معیار است.

بحث

رشد را به‌همراه داشته باشد. مقدار شاخص FCR در بچه‌ماهیان تغذیه شده با ۲۵ میلی‌گرم در کیلوگرم GPE در حداقل مقدار خود بود. پائین بودن ضریب تبدیل غذا، یکی از عوامل اقتصادی بودن پرورش آبزیان است، به این دلیل که علاوه بر کاهش هزینه‌های غذا، از آلودگی‌های ثانویه آب محیط پرورش و به تبع آن کاهش پارامترهای کیفی آب جلوگیری می‌کند (Acar و همکاران، ۲۰۱۵). دلیل افزایش هضم و قابلیت بازجذب مواد مغذی ناشی در تیمارهای تغذیه شده با GPE احتمالاً فراهم‌سازی میکروفلور سالم‌روده بچه‌ماهیان باشد (MacLennan و همکاران، ۲۰۰۲). به‌طور مشابه افزایش عملکرد رشد و نرخ بقا در ماهیان تیلاپیای موزامبیک تغذیه شده با ۰/۵ درصد عصاره پوست پرتقال گزارش شده است (Acar و همکاران، ۲۰۱۵). هم‌چنین Ngugi و همکاران (۲۰۱۷) گزارش کرده‌اند که تغذیه ماهی *L. victorianus* با اسانس پوست لیمو تا ۵ درصد در جیره غذایی می‌تواند باعث بهبود بسیاری از پارامترهای رشد از جمله FCR، SGR، BWG گردد. در تحقیق دیگری Baba و همکاران (۲۰۱۶) نشان دادند که اسانس

به‌طور طبیعی عصاره مرکبات سرشار از ترکیبات فیتوشیمیایی خاصیت ضدباکتریایی و آنتی‌اکسیدانی می‌باشند (Rafiq و همکاران، ۲۰۱۸). گزارش شده که پوست گریپ فروت حاوی میزان زیادی ترکیبات فلاونوئیدی و فنولیک نسبت به پالپ و هسته آن است (Negi و Jayaprakasha، ۲۰۰۱؛ Li و همکاران، ۲۰۰۶؛ Ghasemi و همکاران، ۲۰۰۹). در این مطالعه عصاره پوست گریپ فروت به‌مقدار ۲۵ میلی‌گرم در کیلوگرم به‌طور معنی‌داری سبب افزایش پارامترهای رشد و بهره‌وری غذا در بچه‌ماهی سفید خزر شد. با توجه به این‌که اثرات ضدباکتریایی عصاره پوست گریپ فروت علیه طیف وسیعی از باکتری‌های گرم مثبت و منفی در بسیاری از مطالعات اثبات شده است (Negi و Jayaprakasha، ۲۰۰۱؛ Okunowo و همکاران، ۲۰۱۳). احتمالاً این خاصیت ضدباکتریایی سبب تقویت سیستم ایمنی و در نتیجه بالارفتن سلامت عمومی بچه‌ماهیان سفید شده که این امر خود می‌تواند سبب بهبود هضم و جذب مواد غذایی و به تبع آن افزایش



تشکر و قدردانی

نویسندگان بدین وسیله از همکاری‌های آقای مهندس حمید فتحعلیان و مهندس سعید توتونچی مشهور به ترتیب مسئولین آزمایشگاه شیلات و علوم دامی مجتمع آزمایشگاهی رازی دانشگاه علوم و تحقیقات تقدیر و تشکر می‌نماید.

منابع

۱. صالحی‌فارسانی، ع.؛ سلطانی، م.؛ کمالی، ا. و شمسایی مهرجان، م.، ۱۳۹۸. تاثیر محرک ایمنی ماکروگارد و جلبک اسپیرولینا (*Arthrospira platensis*) بر برخی فراسنجه‌های خونی ماهی ازون برون (*Acipenser stellatus*). مجله محیط زیست جانوری. دوره ۱۱، شماره ۴، صفحات ۱۷۱ تا ۱۷۶.
۲. Acar, Ü.; Kesbiç, O.S.; Yılmaz, S.; Gültepe, N. and Türker, A., 2015. Evaluation of the effects of essential oil extracted from sweet orange peel (*Citrus sinensis*) on growth rate of tilapia (*Oreochromis mossambicus*) and possible disease resistance against *Streptococcus iniae*. *Aquaculture*. Vol. 437, pp: 282-286.
۳. Aly, S.A. and Mohamed, M.F., 2010. *Echinacea purpurea* and *Allium sativum* as immunostimulants in fish culture using Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. Vol. 94, No. 5, pp: 31-39.
۴. Armando, C.; Maythe, S. and Beatriz, N.P., 1998. Antioxidant activity of grapefruit seed extract on vegetable oils. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. Vol. 77, No. 4, pp: 463-467.
۵. Baba, E.; Acar, Ü.; Öntaş, C.; Kesbiç, O.S. and Yılmaz, S., 2016. Evaluation of Citrus limon peels essential oil on growth performance, immune response of Mozambique tilapia *Oreochromis mossambicus* challenged with *Edwardsiella tarda*. *Aquaculture*. Vol. 465, pp: 13-18.
۶. Bailey, D.G.; Arnold, J.M.O. and Spence, J.D., 1994. Grapefruit juice and drugs. *Clinical pharmacokinetics*. Vol. 26, No. 2, pp: 91-98.
۷. Bayir, A.; Sirkecioglu, A.N.; Bayir, M.; Haliloglu, H.I.; Kocaman, E.M. and Aras, N.M., 2011. Metabolic responses to prolonged starvation, food restriction, and refeeding in the brown trout, *Salmo trutta*: oxidative stress and antioxidant defenses. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*. Vol. 159, No. 4, pp: 191-196.
۸. Benzie, I.F. and Strain, J.J., 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*. Vol. 239, No. 1, pp: 70-76.
۹. Bocco, A.; Cuvelier, M.E.; Richard, H. and Berset, C., 1998. Antioxidant activity and phenolic composition of citrus peel and seed extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol. 46, No. 2, pp: 2123-2129.
۱۰. Castro-Vazquez, L.; Alañón, M.E.; Rodríguez-Robledo, V.; Pérez-Coello, M.S.; Hermosín-Gutiérrez, I.; Díaz Maroto, M.C. and Arroyo-Jimenez, M.D.M., 2016. Bioactive flavonoids, antioxidant behaviour, and cytoprotective effects of dried grapefruit peels (*Citrus paradisi* Macf.). *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. Vol. 2016, pp: 1-12.

پوست تلخ لیمو به مقدار ۱ درصد سبب تحریک سیستم ایمنی ذاتی ماهی تیلاپای موزامبیک شده و در نتیجه بالارفتن سلامت عمومی ماهیان، عملکرد رشد و بقاء نیز به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. بنابراین می‌توان عنوان نمود که برخی ترکیبات پوست گریپ فروت که بر سلامت عمومی بدن ماهی تأثیر دارند می‌توانند رشد موجود را هم بهبود بخشند. در مطالعه اخیر میزان SOD، CAT و GPX به‌طور معنی‌داری در بچه‌ماهیان تغذیه شده با ۲۵ میلی‌گرم در کیلوگرم GPE افزایش یافت که نشان‌دهنده بهبود وضعیت آنتی‌اکسیداتیو در بچه‌ماهیان سفید می‌باشد. Zheng و همکاران (۲۰۰۹) تأثیر اسانس پرتقال بر گربه ماهی کانالی (*Ictalurus punctatus*) را بررسی و نتایج مشابهی گزارش نمودند. عصاره پوست گریپ فروت واجد مقدار بالای نارینجین بوده (Bailey و همکاران، ۱۹۹۴؛ Fuhr و Kummert، ۱۹۹۵؛ Samavat و همکاران، ۲۰۱۹) که این ماده با توجه به ساختار شیمیایی خود (سه گروه هیدروکسیل)، نسبت به سایر فلاونوئیدها توانایی و قدرت آنتی‌اکسیدانی بسیار بالایی دارد (Xu و Chiou، ۲۰۰۴؛ Ahn و Choi، ۲۰۰۸؛ Nalini و همکاران، ۲۰۱۲). در این مطالعه GPE سبب افزایش تمامی پارامترهای آنتی‌اکسیدانی اندازه‌گیری شده پلاسماي خون بچه‌ماهی سفید شد. اگرچه SOD به‌صورت کارآمدی میزان اکسیژن سلولی را کاهش می‌دهد، اما در نتیجه افزایش فعالیت SOD افزایش تولید H_2O_2 را به‌دنبال داشته که می‌تواند دلیلی بر افزایش فعالیت CAT و GPX باشد (Zhang و همکاران، ۲۰۰۷؛ Bayir و همکاران، ۲۰۱۱). فعالیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنولیک در گیاهان عمدتاً به‌علت ویژگی‌های اکسایشی و کاهش ساختار شیمیایی آن‌ها است که نقش مهمی در خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد، احاطه کردن فلزات انتقالی و حذف مولکول‌های اکسیژن آزاد دارند (Gorinstein و همکاران، ۲۰۰۴). در این مطالعه افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در ماهی سفید تغذیه شده با عصاره پوست گریپ فروت نشان می‌دهد ترکیبات آنتی‌اکسیدانی این عصاره موجب افزایش پایداری آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی شده و هم‌چنین عدم مصرف این آنزیم‌ها باعث بالا ماندن سطح فعالیت این آنزیم‌ها در پلاسما می‌شود (Whitman و همکاران، ۲۰۰۵).

مطابق با نتایج حاصل‌شده از این مطالعه، عصاره پوست میوه گریپ فروت به‌عنوان یک مکمل غذایی به نسبت ارزان به مقدار ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم خوراک سبب بهبود فاکتورهای رشد و بهره‌وری غذا و هم‌چنین فاکتورهای آنتی‌اکسیدانی خون بچه‌ماهی سفید می‌گردد. اگرچه مطالعات تکمیلی برای بررسی تأثیر این عصاره بر سیستم ایمنی و مقاومت نسبت به بیماری‌ها و استرس‌های مختلف نیاز است.



۲۷. **Samavat, Z.; Shamsaie Mehrgan, M.; Jamili, S.; Soltani, M. and Hosseini Shekarabi, S.P., 2019.** Determination of grape fruit peel extract bio-active substances and its application in Caspian white fish diet: Growth, haemato biochemical parameters and intestinal morphology. *Aquaculture Research*. Vol. 50, No. 9, pp: 2496-2504.
۲۸. **Thérond, P.; Bonnefont-Rousselot, D.; Davit-Spraul, A.; Conti, M. and Legrand, A., 2000.** Biomarkers of oxidative stress: an analytical approach. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*. Vol. 3, No. 5, pp: 373-384.
۲۹. **Whitman, S.C.; Kurowska, E.M.; Manthey, J.A. and Daugherty, A., 2005.** Nobiletin, a citrus flavonoid isolated from tangerines, selectively inhibits class A scavenger receptor-mediated metabolism of acetylated LDL by mouse macrophages. *Atherosclerosis*. Vol. 178, No. 1, pp: 25-32.
۳۰. **Zhang, X.D.; Wu, T.X.; Cai, L.S. and Zhu, Y.F., 2007.** Influence of fasting on muscle composition and antioxidant defenses of market-size *Sparus macrocephalus*. *Journal of Zhejiang University Science*. Vol. 8, No. 12, pp: 906-911.
۳۱. **Zheng, Z.L.; Tan, J.Y.; Liu, H.Y.; Zhou, X.H.; Xiang, X. and Wang, K.Y., 2009.** Evaluation of oregano essential oil (*Origanum heracleoticum* L.) on growth, antioxidant effect and resistance against *Aeromonas hydrophila* in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Aquaculture*. Vol. 292, No. 3, pp: 214-218.
۱۱. **Chiou, G.C. and Xu, X.R., 2004.** Effects of some natural flavonoids on retinal function recovery after ischemic insult in the rat. *Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics*. Vol. 20, No. 2, pp: 107-113.
۱۲. **Choi, E.J. and Ahn, W.S., 2008.** Neuroprotective effects of chronic hesperetin administration in mice. *Archives of Pharmacol Research*. Vol. 31, No. 11, pp: 1457-1462.
۱۳. **Dugenci, S.K.; Arda, N. and Candan, A., 2003.** Some medicinal plants as immunostimulant for fish. *Journal of Ethnopharmacology*. Vol. 88, No. 1, pp: 99-106.
۱۴. **Fuhr, U. and Kummert, A.L., 1995.** The fate of naringin in humans: A key to grapefruit juice-drug interactions? *Clinical Pharmacology and Therapeutics*. Vol. 58, No. 4, pp: 365-373.
۱۵. **Ghasemi, K.; Ghasemi, Y. and Ebrahimzadeh, M.A., 2009.** Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of 13 citrus species peels and tissues. *Journal of Pharmacy Science*. Vol. 22, No. 3, pp: 277-281.
۱۶. **Gorinstein, S.; Cvikrova, M.; Machackova, I.; Haruenkit, R.; Park, Y.S.; Jung, S.T. and Trakhtenberg, S., 2004.** Characterization of antioxidant compounds in Jaffa sweeties and white grapefruits. *Food Chemistry*. Vol. 84, No.4, pp: 503-510.
۱۷. **Li, B.B.; Smith, B. and Hossain, M.M., 2006.** Extraction of phenolics from citrus peels: II. Enzyme-assisted extraction method. *Separation and Purification Technology*. Vol. 48, No. 2, pp: 189-196.
۱۸. **MacLennan, A.H.; Wilson, D.H. and Taylor, A.W., 2002.** The escalating cost and prevalence of alternative medicine. *Preventive Medicine*. Vol. 35, No. 2, pp: 166-173.
۱۹. **Nalini, N.; Aranganathan, S. and Kabalimurthy, J., 2012.** Chemopreventive efficacy of hesperetin (*Citrus flavonone*) against 1,2-dimethylhydrazine-induced rat colon carcinogenesis. *Toxicology mechanisms and methods*. Vol. 22, No. 5, pp: 397-408.
۲۰. **Negi, P. and Jayaprakasha, G., 2001.** Antibacterial activity of grapefruit (*Citrus paradisi*) peel extracts. *European Food Research and Technology*. Vol. 2013, No. 6, pp: 484-487.
۲۱. **Ngugi, C.C.; Oyoo-Okoth, E. and Muchiri, M., 2017.** Effects of dietary levels of essential oil (EO) extract from bitter lemon (*Citrus limon*) fruit peels on growth, biochemical, haemato-immunological parameters and disease resistance in Juvenile *Labeo victorianus* fingerlings challenged with *Aeromonas hydrophila*. *Aquaculture Research*. Vol. 48, No. 5, pp: 2253-2265.
۲۲. **Okunowo, W.O.; Oyediji, O.; Afolabi, L.O. and Matanmi, E., 2013.** Essential oil of grape fruit (*Citrus paradisi*) peels and its antimicrobial activities. *American Journal of Plant Sciences*. Vol. 4, No. 5, pp: 1-9.
۲۳. **Rafiq, S.; Kaul, R.; Sofi, S.A.; Bashir, N.; Nazir, F. and Nayik, G.A., 2018.** Citrus peel as a source of functional ingredient: A review. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*. Vol. 17, No. 4, pp: 351-358.
۲۴. **Rao, Y.V.; Das, B.K.; Jyotirmayee, P. and Chakrabarti, R., 2006.** Effect of *Achyranthes aspera* on the immunity and survival of *Labeo rohita* infected with *Aeromonas hydrophila*. *Fish and Shellfish Immunology*. Vol. 20, No. 3, pp: 263-273.
۲۵. **Sakanaka, S.; Tachibana, Y. and Okada, Y., 2005.** Preparation and antioxidant properties of extracts of Japanese persimmon leaf tea (kakinoha-cha). *Food chemistry*. Vol. 89, No. 4, pp: 569-575.
۲۶. **Salehi, H., 2011.** Analysis of factor costs contribution change for fingerling production of Kutum fish (*Rutilus frisii kutum* Kamensky, 1901) in Iran. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*. Vol. 10, No. 4, pp: 727-739.



Effect of Grapefruit (*Citrus paradisi*) peel extract on growth performance and antioxidant activities of kutum (*Rutilus kutum*) fry

- **Zahra Samavat:** Department of Fisheries, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
- **Mehdi Shamsaie Mehrgan*:** Department of Fisheries, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
- **Shahla Jamili:** Iranian Fisheries Research Organization, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran
- **Mehdi Soltani:** Department of Aquatic Animal Health, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran
- **Seyed Pezhman Hosseini Shekarabi:** Department of Fisheries, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Received: October 2019

Accepted: January 2020

Key words: Antioxidant activity, Growth, Caspian white fish, Grapefruit, Herbal extract

Abstract

In this study, the effects of the hydro-alcoholic extract of grapefruit peel (*Citrus paradisi*) on growth performance and some antioxidant parameters of Caspian white fish (*Rutilus kutum*) blood plasma were investigated. Accordingly, 180 fry fish with an initial mean weight of 4.0 ± 0.3 g were fed with diets containing 0, 6.25, 12.5 and 25 mg hydro-alcoholic extract of grapefruit peel per kg feed. The fry fish were cultured for 56 days. The highest amounts of body weight gain (50.10 ± 6.18 %), specific growth rate (3.05 ± 0.79 % per day) as well as the lowest feed conversion ratio (1.32 ± 0.11) were observed in the fish fed with Grapefruit juice extract 25 mg/kg hydro-alcoholic extract of grapefruit peel ($P < 0.05$). There were no significant differences between treatments in condition factor and survival percentage ($P > 0.05$). In addition, the highest activities of antioxidant enzymes including glutathione peroxidase enzyme and catalase enzyme were observed in 25 mg/kg hydro-alcoholic extract of grapefruit peel. Also, superoxide dismutase enzyme was significantly increased in fish fed with hydro-alcoholic extract of grapefruit peel compared to the control group. In general, supplementation of the Caspian white fish feed with hydro alcoholic extract of grapefruit peel at 25 mg/kg of feed can improve growth performance and antioxidant responses.

* Corresponding Author's email: m.shamsaie@srbiau.ac.ir

