14(1) 197-204, Spring 2022

Journal of Animal Environment
(AEJ)
Journal homepage: http://www.aejournal.ir

Original Research Paper

The Effect of Dietary XTRACT on Hematological and Biochemical Parameters, and Safety Factors *Carassius auratus*

Reza Farzi Qharabolagh [1], ***Mir Masoud Sajadi*** [*1,2], ***Bahram Falahatkar*** [1,2]

[1] *Fisheries Department, Faculty of Natural Resources, University of Guilan, Sowmeh Sara, Iran*
[2] *Department of Marine Science, the Caspian Sea Basin Research Center, University of Guilan, Rasht, Iran*

Key Words

Thyme
Cinnamon
Pepper
Hematology
Glucose
Biochemistry

Abstract

Introduction: This study was conducted to evaluate the effects of dietary XTRACT on hematological parameters, blood biochemical parameters, and safety factors of goldfish (*Carassius auratus*).

Materials & Methods: Goldfish children with a mean weight of 7.53 ± 0.17 grams and a length of 8.34 ± 0.26 cm in 6 treatments and three replicates were distributed randomly in 18 aquariums with 80 liters watering capacity. The commercial XTRACT diet was added to diets at levels 100 (X_{100}), 200 (X_{200}), 300 (X_{300}), 400 (X_{400}), 500 (X_{500}) mg / kg of diet and control diet without XTRACT. The breeding period was considered to be 12 weeks.

Results: The results showed a significant difference between plasma biochemical factors such as glucose, triglyceride, and cholesterol in 200 mg of XTRACT commercial substance per kg ($P<0.05$). The highest amount of total protein, albumin, and globulin was observed in this treatment, which significantly differs from the control treatment ($P<0.05$). The highest amount of C4 was observed in the 300 mg/kg of XTRACT commercial substance ($P<0.05$). No significant differences were revealed in Hematological parameters such as red blood cells, hemoglobin, hematocrit MCV, MCH, and MCHC ($P>0.05$). The highest white blood cell count and percentage of monocytes, lymphocytes, and neutrophils were observed in the t500 mg of XTRACT commercial substance per kg ($P<0.05$).

Conclusion: As a general conclusion, it can be stated that the use of 200 mg / kg of commercial XTRACT in the goldfish diet can stimulate the immune system and thus improve the health and physiological status of goldfish.

* Corresponding Author's email: mmsajjadi@hotmail.com
Received: 27 January 2021; Reviewed: 6 March 2021; Revised: 10 May 2021; Accepted: 19 June 2021
(DOI): 10.22034/AEJ.2021.288768.2545

مقاله پژوهشی

تأثیر سطوح مختلف افزودنی گیاهی XTRACT جیره بر شاخص‌های هماتولوژیک، بیوشیمیایی خون و ایمنی بچه‌ماهی طلایی (*Carassius auratus*)

رضا فرضی قره‌بلاغ[1]، میرمسعود سجادی[1*]، بهرام فلاحتکار[1,2]

[1] گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه سرا، ایران

[2] گروه علوم دریایی، پژوهشکده حوضه آبی خزر، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

کلمات کلیدی

آویشن
دارچین
فلفل
گلوکز
هماتولوژی
بیوشیمیایی

چکیده

مقدمه: این پژوهش به منظور بررسی تاثیر سطوح مختلف ماده تجاری XTRACT جیره بر شاخص‌های هماتولوژیک، شاخص های بیوشیمیایی خون و فاکتورهای ایمنی بچه‌ماهی طلایی (*Carassius auratus*) انجام پذیرفت.

مواد و روش‌ها: بچه‌ماهیان طلایی با میانگین وزنی ۰/۱۷±۷/۵۳ گرم در ٦ تیمار و سه تکرار به صورت کاملاً تصادفی در ۱۸ آکواریوم به حجم آبگیری ۸۰ لیتر توزیع شدند. ماده تجاری XTRACT جیره در سطوح صفر (X0)، ۱۰۰ (X100)، ۲۰۰ (X200)، ۳۰۰(X300)، ٤۰۰ (X400) و ۵۰۰ (X500) میلی‌گرم در هر کیلوگرم جیره غذایی اضافه شد. طول دوره پرورش ۱۲ هفته درنظر گرفته شد. برای بررسی شاخص‌های هماتولوژیک، شاخص های بیوشیمیایی خون و فاکتورهای ایمنی و هم‌چنین مقایسه بین تیمارها در پایان دوره پرورش عملیات خونگیری صورت گرفت.

نتایج: نتایج نشان داد در بین فاکتورهای بیوشیمیایی پلاسما از قبیل گلوکز، تری‌گلیسرید و کلسترول در تیمار حاوی ۲۰۰ میلی‌گرم ماده تجاری XTRACT در هر کیلوگرم اختلاف معنی‌دار مشاهده شد (P<۰/۰۵). بیش‌ترین میزان پروتئین کل، آلبومین و گلوبولین در تیمار حاوی ۲۰۰ میلی‌گرم ماده تجاری XTRACT در هر کیلوگرم مشاهده شد که با تیمار شاهد دارای تفاوت معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). بیش‌ترین میزان C4 در تیمار حاوی ۳۰۰ میلی‌گرم در هرکیلوگرم ماده تجاری XTRACT مشاهده شد (P<۰/۰۵). از لحاظ شاخص‌های‌خونی ازقبیل: گلبول قرمز، هموگلوبین، هماتوکریت MCV، MCH و MCHC بین تیمارهای حاوی ماده تجاری XTRACT و تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (P>۰/۰۵). بیش‌ترین تعداد گلبول سفید و درصد مونوسیت، لنفوسیت و نوتروفیل در تیمار حاوی ۵۰۰ میلی‌گرم ماده تجاری XTRACT در هر کیلوگرم مشاهده شد (P<۰/۰۵).

بحث و نتیجه‌گیری: به‌عنوان یک نتیجه‌گیری کلی می‌توان بیان کرد که استفاده از ۲۰۰ میلی‌گرم درکیلوگرم ماده تجاری XTRACT در جیره غذایی بچه‌ماهی طلایی می‌تواند باعث تحریک سیستم ایمنی و از این طریق به سلامتی و بهبود وضعیت فیزیولوژیک در ماهی طلایی شود.

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: mmsajjadi@hotmail.com

تاریخ دریافت: ۸ بهمن ۱۳۹۹؛ تاریخ داوری: ۱۷ اسفند ۱۳۹۹؛ تاریخ اصلاح: ۲۰ اردیبهشت ۱۴۰۰؛ تاریخ پذیرش: ۲۹ خرداد ۱۴۰۰
(DOI): 10.22034/AEJ.2021.288768.2545

مقدمه

آبزی‌پروری سریع‌ترین بخش در حال رشد تولیدات حیوانی جهان است که طی سال‌های ۱۹۹۰ تا ۲۰۱۰ به‌طور میانگین سالیانه ۶ درصد رشد داشته است. با این وجود تولیدات آبزی‌پروری جهان آسیب‌پذیر بوده و افزایش بیماری‌ها هم که ناشی از افزایش تراکم ماهیان در استخرهای پرورشی است، سبب شده که تولیدات آبزیان به‌صورت جزئی یا کلی کاهش یابد (۵). عواملی مانند: ازدحام جمعیت در استخرها، جابجایی و دستکاری‌های دوره‌ای، تغییرات ناگهانی دما، کاهش کیفیت آب و شرایط تغذیه‌ای ضعیف به‌همراه تغییرات فیزیولوژیک در ماهی نظیر استرس، باعث افزایش حساسیت به انواع عفونت‌ها شده است. علاوه بر این تراکم بالای ماهی و فقدان اقدامات بهداشتی به گسترش عوامل بیماری‌زا کمک کرده و موجب افزایش میزان تلفات شده است (۲). به‌دلیل محدودیت‌های قانونی در استفاده از مواد شیمیایی ازجمله آنتی‌بیوتیک‌ها و هورمون‌ها در غذای آبزیان و جانوران خوراکی مورد مصرف انسان، استفاده از افزودنی گیاهی به عنوان یک ماده طبیعی راهکاری برای کنترل و مبارزه با بیماری‌های در صنعت غذای آبزیان گسترش زیادی پیدا کرده است (۳). محرک‌های رشد و ایمنی که منشا گیاهی دارند نسبت به محرک‌های مصنوعی دارای چندین مزیت از قبیل: در دسترس بودن، ارزان بودن، ضداسترس بودن، ضدقارچی، ضدویروسی، ایمن‌سازی، تحریک کننده اشتها و آسیب کم‌تر به محیط‌زیست هستند (۴). مطالعات مختلفی در رابطه با اثر استفاده از گیاهان دارویی به‌صورت تکی بر رشد، اشتها و ایمنی آبزیان انجام شده‌است، اما امروزه به‌دلیل اثرات مثبت گیاهان دارویی به‌دنبال استفاده از مکمل‌های مخلوط می‌باشند. Ji و همکاران، نشان دادند که تغذیه ماهی کفشک زیتونی (*Paralichthys olivaceus*) با مخلوطی از گیاهان دارویی شامل: *Cnidium officiale*، *Artemisia capillaries*، *Crataegi fructus* و *Medicata fermentata* باعث افزایش رشد ویژه، افزایش کل اسیدهای چرب غیراشباع لاشه، کاهش کل اسیدهای چرب اشباع لاشه و کاهش تری‌گلیسرید پلاسمای ماهیان تحت تیمار نسبت به گروه شاهد می‌گردد (۵). Mohammadi و همکاران، نشان دادند که تغذیه ماهی کپور (*Cyprinus carpio*) با ۰/۵ درصد عصاره دانه نخل باعث افزایش رشد نسبت به گروه شاهد می‌گردد (۶). افزایش قابل توجه اریتروسیت‌ها، لنفوسیت‌ها، مونوسیت‌ها، هموگلوبین و سطوح هماتوکریت در ماهیان تیمار شده با عصاره‌های گیاهی در مقایسه با گروه شاهد مشاهده شده است (۷). ماهی طلایی (*Carassius auratus*) از خانواده کپور ماهیان (Cyprinidae) از لحاظ زیستی و تغذیه‌ای شبیه کپور معمولی است. ماهی طلایی به‌دلیل تنوع رنگی، الگو باله‌ها و اشکال مختلف بدن به یکی از گونه‌های غالب و محبوب در میان ماهیان زینتی سراسر جهان تبدیل شده است (۸). علاوه بر این، ماهی طلایی یکی از گزینه‌های اصلی در کارهای تحقیقاتی مانند نسخه‌برداری ژنوم، پارامترهای رشد، ایمنی و تکامل مورفولوژیک محسوب می‌شود (۹). XTRACT یک محصول دارای عصاره‌های گیاهی (Capsicum Oleoresin 2%، Carvacrol 5%، Cinnamaldetryde 3%) است که به‌ترتیب از گیاهان دارچین، آویشن و فلفل استخراج شده‌اند. این عصاره با تاثیر بر روی مکانیسم افزایش ترشحات گوارشی و تعدیل پاسخ‌های ایمنی سیستم گوارشی موجب بهبود هضم و جذب مواد مغذی و ایجاد تعادل در سیستم ایمنی می‌شوند (۱۰، ۱۱) و درنتیجه قابلیت دسترسی به انرژی افزایش و نیاز انرژی نگه‌داری کاهش یافته، انرژی بیش‌تری صرف رشد گردیده و نهایتاً منجر به افزایش راندمان تولید و سود آوری اقتصادی می‌گردد. نتایج تحقیقات نشان داده است که XTRACT عملکرد و راندمان انرژی در جیره بر پایه ذرت و سویا را بهبود می‌بخشد (۱۲). این مکمل غذایی با تاثیر بر روی صفرا موجب ترشح اسید صفرا و افزایش فعالیت آنزیم لیپاز و درنتیجه افزایش چربی و قابلیت هضم می‌گردد (۱۰). گزارشات فراوانی از اثرات مثبت استفاده از گیاهان دارویی بر رشد ماهیان پرورشی منتشر شده است ولی تاکنون گزارشی از اثر افزودن ماده تجاری XTRACT (که ترکیبی از عصاره سه گیاهی آویشن، دارچین و فلفل است) در جیره غذایی ماهیان وجود ندارد (۱۰، ۱۱). بدین‌منظور پژوهش حاضر بر آن شد تا با افزودن سطوح مختلف ماده تجاری XTRACT به جیره غذایی بچه‌ماهی طلایی که یکی از گونه‌های رایج در پرورش ماهیان زینتی و به‌عنوان یک گونه مدل در کارهای تحقیاتی مدنظر می‌باشد، میزان تاثیر سطوح مختلف آن بر شاخص‌های هماتولوژیک، بیوشیمیایی خون و فاکتورهای ایمنی را مورد ارزیابی قرار دهد.

مواد و روش‌ها

پرورش ماهیان و ساخت جیره‌ها: این مطالعه به‌مدت ۱۲ هفته در کارگاه تکثیر و پرورش آبزیان دانشکده منابع طبیعی دانشگاه گیلان (صومعه‌سرا) بر روی ماهی طلایی انجام شد. به‌منظور انجام این آزمایش، ۶ تیمار با سه تکرار درنظر گرفته شد. در این تحقیق از جیره حاوی (۳۵ درصد پروتئین، ۶ درصد چربی، ۵ درصد رطوبت، ۳ درصد فیبر خام، ۸ درصد خاکستر و ۱ درصد فسفر قابل جذب با فرم خوراک شناور و سایز ۲ میلی‌متر (شرکت فرادانه، شهرکرد، ایران) استفاده شد. ماده تجاری XTRACT (XT; XTRACT 6930, Pancosma SA, Geneva, Switzerland) جیره در سطوح صفر (X_0)، ۱۰۰ (X_{100})، ۲۰۰ (X_{200})، ۳۰۰ (X_{300})، ۴۰۰ (X_{400}) و ۵۰۰ (X_{500}) میلی‌گرم در کیلوگرم، ابتدا در آب ولرم حل و سپس با روش اسپری به جیره غذایی اضافه شد. برای افزودن ماده تجاری به جیره غذایی به‌منظور محافظت غذاها و جلوگیری از رها شدن ماده تجاری مورد نظر و ورود آن به محیط آب، غذاهای آماده شده توسط لایه‌ای از ژلاتین گاوی پوشانده شدند. بدین‌ترتیب که ابتدا محلول ۱۰ درصد ژلاتین گاوی در آب مقطر تهیه شد و بعد از جوشاندن و شفاف شدن ژلاتین در دمای حدود ۵۰ درجه سانتی‌گراد بر روی هر یک از انواع غذاها (یک کیلوگرم) به‌میزان ۱۰۰ میلی‌لیتر از محلول ژلاتین به

صورت یکنواخت اسپری شد (۱۳). در پایان، غذاها به‌مدت ۳ ساعت در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد خشک شدند. ماهیان از مزرعه تکثیر و پرورش ماهی طلایی واقع در شهرستان شفت (گیلان، ایران) خریداری و به کارگاه تکثیر و پرورش آبزیان دانشکده منابع طبیعی دانشگاه گیلان منتقل شدند. ماهیان پس از ۲۰ روز سازش دهی با شرایط کارگاه، از نظر سلامتی و وضع ظاهری بررسی شدند؛ سپس با میانگین وزنی ۷/۵۳±۰/۱۷ گرم و طول ۸/۳۴±۰/۲۶ سانتی‌متر به صورت تصادفی در ۱۸ آکواریوم با حجم آبگیری ۸۰ لیتر توزیع شدند (۱۰ عدد ماهی در هر آکواریوم). نحوه چینش آکواریوم‌ها به‌صورت بلوک‌بندی و انتخاب آکواریوم‌ها برای تکرارهای مربوط به هر تیمار به صورت تصادفی و براساس قرعه‌کشی انجام شد. غذادهی در حد سیری در سه نوبت (ساعات ۹:۰۰، ۱۴:۰۰ و ۱۸:۰۰) با جیره های آماده شده صورت گرفت. به منظور ثبت و بررسی وضعیت ماهیان از لحاظ مرگ و میر، خروج فضولات و مواد زاید، آب آکواریوم‌ها هر روز قبل از اولین وعده غذایی به‌مقدار ۳۰ درصد تعویض می‌شد و سپس به میزان آب خارج شده، آب تازه به درون آکواریوم‌ها به‌آرامی اضافه می‌گردید. روشنایی کارگاه نیز به‌وسیله لامپ‌های فلوئورسنت سفید، بر اساس دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی (از ساعت ۸/۰۰ الی ۲۰/۰۰) و ۱۲ ساعت تاریکی برای هر آکواریوم تامین می‌گردید. اکسیژن‌رسانی از طریق پمپ مرکزی به‌طور یکسان در هر ۱۸ آکواریوم صورت گرفت. دمای آب به‌وسیله بخاری برقی ۳۰۰ واتی ترموستات‌دار در هر آکواریوم تنظیم می‌شد. به‌منظور اندازه‌گیری اکسیژن محلول، pH و دمای آب به‌ترتیب از اکسیژن‌متر، پی‌اچ سنج و دماسنج جیوه‌ای استفاده شد. میانگین دمای آکواریوم‌ها، اکسیژن محلول و pH در طول دوره پرورش به‌ترتیب ۱/۱±۲۳ درجه سانتی‌گراد، ۱/۱ ± ۶/۶ میلی‌گرم در لیتر و ۱/۴±۶/۸ بود.

نمونه‌گیری و اندازه‌گیری شاخص‌های خونی: در پایان دوره آزمایش از هر مخزن ۷ عدد ماهی به‌طور تصادفی خونگیری شدند. ماهیان با عصاره پودر گل میخک (۲۵۰ میلی‌گرم بر لیتر) بی‌هوش شدند (۱۴) و نمونه‌برداری خون با استفاده از سرنگ هپارینه ۲ میلی‌لیتر از ناحیه ساقه دمی به‌میزان ۱/۵ میلی‌لیتر انجام شد و نمونه‌ها در داخل میکروتیوب‌های ۲ میلی‌لیتری ریخته شدند. نمونه‌های خونی در دمای حدود ۴ درجه سانتی‌گراد برای بررسی‌های بیش‌تر به آزمایشگاه دانشکده منابع طبیعی گیلان انتقال یافتند. یک میلی‌لیتر از خون ماهی‌ها درون میکروتیوب‌های ۲ میلی‌لیتری انتقال داده و با قرارگیری در محفظه حاوی یخ معمولی، برای آزمایش فاکتورهای هماتولوژیک ازجمله شمارش تعداد گلبول‌های قرمز (RBC) و گلبول‌های سفید (WBC) به آزمایشگاه ویرومد واقع در شهر رشت ارسال شد. به‌منظور جداسازی پلاسما، باقی‌مانده نمونه خون با استفاده دستگاه سانتریفیوژ با دور g ۱۵۰۰ به‌مدت ۵۰ دقیقه انجام شد. نمونه‌های پلاسما با استفاده از سمپلر به ویال‌های ۱/۵ میلی‌لیتری منتقل شدند و تا زمان شروع انجام آزمایشات در فریزر (دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد) ذخیره سازی شدند. شمارش RBC و WBC خون پس از رقیق‌سازی توسط لام هموسیتومتر اندازه‌گیری شد (۱۵). حجم هماتوکریت با استفاده از لوله‌های موئینه و سانتریفیوژ نمونه‌ها به‌مدت ۱۰ دقیقه با دستگاه سانتریفیوژ هماتوکریت (Nuve, Ankara, Turkey) باسرعت g ۳۵۰۰ انجام شد و حجم سلول‌های خونی به‌صورت درصد با استفاده از خط‌کش میکروهماتوکریت اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری هموگلوبین به‌روش استاندارد سیان مت هموگلوبین انجام شد. ۵ میلی‌لیتر از محلول درابکین با ۲۰ میکرولیتر نمونه خون هپارینه مخلوط و پس از ۱۰-۵ دقیقه نگه‌داری در محیط کاملاً تاریک، مقدار جذب نوری با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر با طول موج ۵۴۰ نانومتر (Unico (UV-2100, New Jersey, USA اندازه‌گیری و میزان هموگلوبین بر حسب گرم بر دسی‌لیتر محاسبه شد (۱۶). میانگین حجم یک گلبول قرمز (MCV)، میانگین هموگلوبین گلبول قرمز (MCH) و میانگین درصد غلظت هموگلوبین در یک گلبول قرمز (MCHC) براساس روابط زیر محاسبه شد (۱۷):

MCV (fl) =

[تعداد گلبول‌های قرمز (برحسب میلیون در میلی‌مترمکعب)/مقدار هماتوکریت (درصد)] ×۱۰

MCH (pg/cell) =

[تعداد گلبول‌های قرمز(برحسب میلیون درمیلی‌مترمکعب)/مقدارهموگلوبین(گرم بردسی‌لیتر)] ×۱۰

MCHC (گرم بر دسی‌لیتر) =

[مقدار هماتوکریت (درصد)/ مقدارهموگلوبین (گرم بر دسی‌لیتر)] ×۱۰۰

برای تعیین درصد هر کدام از گلبول‌های سفید (لنفوسیت، مونوسیت، نوتروفیل و ائوزینوفیل) در ابتدا به‌میزان یک قطره از خون که حاوی هپارین بود بر روی انتهای یک لام ریخته و با لام دیگر در زاویه ۳۵ تا ۴۰ درجه سانتی‌گراد آن را گسترش داده تا خشک شد. سپس با استفاده از اتانول ۷۰ درصد خون خشک‌شده را فیکس کرده و با رنگ گیمسا رنگ‌آمیزی شد. پس از رنگ‌آمیزی، لام حاوی نمونه خون را زیر میکروسکوپ نوری قرار داده و با استفاده از دستگاه شمارنده تعداد هر کدام از گلبول‌های سفید مشخص گردید (۱۵).

تعیین شاخص‌های بیوشیمیایی خون: برای تعیین میزان گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسرید، پروتئین کل و آلبومین پلاسما از کیت اختصاصی (پارس آزمون، کرج، ایران) و دستگاه اسپکتروفتومتر Unico, (New Jersey, USA) استفاده شد. برای انجام این کار ۱۰ میکرولیتر از نمونه به همراه ۱۰۰۰ میکرولیتر از محلول کیت درون کووت حل شده و بعد از ۲۰ دقیقه، اندازه‌گیری با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Unico, New Jersey, USA) در طول موج ۵۴۶ نانومتر و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد انجام شد (۱۶). میزان گلوبولین با توجه به مقادیر پروتئین کل و آلبومین مورد محاسبه قرار گرفت. بدین‌صورت که با تفریق میزان آلبومین از پروتئین کل برای هر نمونه، مقدار گلوبولین محاسبه گردید (۱۸).

سنجش پارامترهای ایمنی: مقدار کمپلمان‌های C3 و C4 از روش ایمونوتوربیدیمتریک با استفاده از کیت اختصاصی (پارس آزمون، کرج، ایران) به‌وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر Unico, New Jersey, (USA) اندازه‌گیری شد. ابتدا از محلول شماره یک C3 و C4 به‌میزان ۳۰۰ میکرولیتر به‌همراه ۳۰۰ میکرولیتر نمونه سرم به کووت اضافه شد. پس از ۵ دقیقه قرار دادن در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد جذب نوری اولیه با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Unico, New Jersey, USA) در طول موج ۳۴۰ نانومتر و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد انجام شد. سپس محلول شماره دو C3 و C4 به‌میزان ۵۰ میکرولیتر به‌همراه ۵۰ میکرولیتر نمونه سرم به کووت اضافه شد و پس از گذشت ۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد جذب نوری ثانویه قرائت شد (۱۹).

آنالیز آماری: از نرم‌افزار SPSS (Version 22, IBM, Armonk, NY, USA) برای آنالیز آماری استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از روش آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) انجام شد. ابتدا برای بررسی نرمال بودن داده‌ها از آزمون Kolmogorov-Smirnov و همگنی داده‌ها با آزمون Levene مورد بررسی قرار گرفت. سپس وجود یا عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین میانگین داده‌ها از آزمون چند دامنه‌ای Tukey در سطح ۵ درصد استفاده شد.

نتایج

نتایج مربوط به پارامترهای خون‌شناسی نشان داد که بین تیمار شاهد و تیمارهای حاوی سطوح مختلف ماده تجاری XTRACT تفاوت معنی‌داری وجود ندارد (P>۰/۰۵). (جدول ۱). بالاترین و پایین‌ترین میزان گلبول‌های قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت به‌ترتیب در تیمار X_{100} و تیمار X_{500} مشاهده گردید. بیش‌ترین میزان شاخص‌های MCHC و MCV در تیمار X_{200} و کم‌ترین آن در تیمار شاهد مشاهده شد. نتایج مربوط به تعداد گلبول‌های سفید و شمارش افتراقی نشان داد بین تیمار شاهد و تیمارهای حاوی سطوح مختلف ماده تجاری XTRACT تفاوت معنی‌داری وجود ندارد (P>۰/۰۵) (جدول ۱). نتایج نشان داد از لحاظ میزان گلبول‌های سفید بین تیمار X_{500} و تیمار X_{300} اختلاف معنی‌داری وجود دارد (P<۰/۰۵). هم‌چنین، درصد لنفوسیت، نوتروفیل و مونوسیت در تیمارهای حاوی ماده تجاری XTRACT با گروه شاهد اختلاف معنی‌داری نشان داد (P<۰/۰۵) به طوری‌که بیش‌ترین میزان لنفوسیت، نوتروفیل و مونوسیت در تیمار X_{500} مشاهده شد. نتایج حاصل از آنالیز آماری شاخص‌های بیوشیمیایی خون بچه‌ماهیان طلایی در جدول ۲ آمده است. نتایج نشان داد فاکتورهای گلوکز، تری‌گلیسرید و کلسترول در بچه‌ماهی طلایی در طی ۱۲ هفته غذادهی با جیره‌های حاوی سطوح مختلف ماده تجاری XTRACT تغییر کرده است به‌طوری‌که بیش‌ترین میزان کلسترول در تیمار X_0 و کم‌ترین سطح آن در تیمار X_{200} مشاهده شد (P<۰/۰۵). در تیمار حاوی ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده تجاری XTRACT جیره بیش‌ترین پروتئین کل و آلبومین در پلاسمای خون ماهی طلایی در مقایسه با سایر تیمارها مشاهده شد (P<۰/۰۵). بین کلیه تیمارها از نظر میزان گلوبولین و C3 پلاسمای خون ماهیان طلایی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (P>۰/۰۵). میزان C4 پلاسمای خون در بچه ماهیان طلایی تغذیه شده با جیره‌های حاوی ماده تجاری XTRACT متغیر بوده است. بین تیمار شاهد و تیمارهای حاوی ماده تجاری XTRACT اختلاف معنی‌داری مشاهده شد (P<۰/۰۵) به‌طوری‌که بیش‌ترین میزان آن در تیمار X_{300} مشاهده شد.

جدول ۱: مقایسه شاخص‌های خون‌شناسی ماهی طلایی (*Carassius auratus*) پس از ۱۲ هفته تغذیه با سطوح مختلف ماده تجاری XTRACT (میانگین ± خطای استاندارد، n=۳)

شاخص‌های خون‌شناسی	سطوح مختلف XTRACT (میلی‌گرم در کیلوگرم)					
	X_0	X_{100}	X_{200}	X_{300}	X_{400}	X_{500}
گلبول های قرمز ($\times 10^4$/ mm^3)	۱۴۰/۰۰ ± ۵/۶۲	۱۴۰/۰۰ ± ۵/۸۹	۱۳۱/۰۰ ± ۷/۴۴	۱۳۰/۰۰ ± ۷/۹۹	۱۲۶/۲۶ ± ۸/۴۷	۱۲۵/۱۶ ± ۴/۴۰
هموگلوبین (g/dl)	۷/۸۶ ± ۰/۲۹	۷/۹۳ ± ۰/۲۸	۷/۶۲ ± ۰/۲۸	۷/۵۰ ± ۰/۴۰	۷/۲۶ ± ۰/۴۰	۷/۱۵ ± ۰/۲۰
هماتوکریت (%)	۳۴/۰۰ ± ۱/۴۳	۳۴/۱۷ ± ۱/۳۰	۳۲/۸۳ ± ۱/۳۰	۳۲/۵۰ ± ۲/۰۷	۳۱/۱۷ ± ۱/۹۲	۳۱/۰۰ ± ۱/۰۶
MCV(fl)	۲۴۲/۵۰ ± ۱/۵۸	۲۴۴/۰۰ ± ۲/۰۱	۲۵۱/۵۰ ± ۵/۶۷	۲۴۴/۶۷ ± ۲/۳۳	۲۴۷/۱۷ ± ۳/۴۴	۲۴۷/۳۳ ± ۱/۳۴
MCH(pg/cell)	۵۶/۰۰ ± ۰/۵۱	۵۶/۳۳ ± ۰/۶۱	۶۰/۱۷ ± ۳/۱۰	۵۶/۳۳ ± ۰/۴۹	۵۷/۶۷ ± ۱/۰۸	۵۷/۰۰ ± ۰/۶۳
MCHC(g/dl)	۲۳/۱۱ ± ۰/۱۳	۲۳/۱۸ ± ۰/۱۵	۲۳/۱۵ ± ۰/۱۷	۲۳/۱۱ ± ۰/۲۳	۲۳/۳۳ ± ۰/۱۶	۲۳/۰۶ ± ۰/۱۶
گلبول های سفید ($\times 10^3$/ mm^3)	۷/۶۳ ± ۱۰۸^{ab}	۷/۱۵ ± ۸۳۶^{ab}	۵/۰۶ ± ۲۶۴^{ab}	۴/۹۸ ± ۳۱۰^{b}	۶/۱۳ ± ۸۵۱^{ab}	۱۰/۶۰ ± ۷۳۴^{a}
لنفوسیت (٪)	۷۱/۸۳ ± ۰/۷۰^{b}	۷۷/۸۳ ± ۲/۱۵^{ab}	۸۳/۰۰ ± ۰/۳۶^{ab}	۸۰/۶۷ ± ۲/۳۷^{ab}	۸۱/۸۳ ± ۱/۶۷^{ab}	۸۳/۵۰ ± ۰/۹۹^{a}
نوتروفیل (٪)	۱۱/۰۰ ± ۰/۵۷^{b}	۱۵/۰۰ ± ۱/۵۷^{ab}	۱۲/۸۳ ± ۰/۴۷^{ab}	۱۳/۶۷ ± ۱/۱۱^{ab}	۱۴/۰۰ ± ۱/۹۴^{ab}	۲۰/۶۷ ± ۰/۷۱^{a}
مونوسیت (٪)	۳/۸۳ ± ۰/۳۰^{b}	۶/۰۰ ± ۰/۸۵^{ab}	۴/۳۳ ± ۰/۴۲^{ab}	۴/۶۷ ± ۰/۴۲^{ab}	۵/۰۰ ± ۰/۶۸^{ab}	۶/۸۳ ± ۰/۳۰^{a}

حروف متفاوت در هر ردیف، نشانه وجود تفاوت آماری معنی‌دار میان تیمارها است (P<۰/۰۵).

جدول ۲: مقایسه شاخص‌های بیوشیمیایی خون ماهیان طلایی (*Carassius auratus*) پس از ۱۲ هفته تغذیه با سطوح مختلف ماده تجاری XTRACT (میانگین ± خطای استاندارد، n=۳)

شاخص‌های بیوشیمیایی	سطوح مختلف XTRACT (میلی‌گرم در کیلوگرم)					
	X_0	X_{100}	X_{200}	X_{300}	X_{400}	X_{500}
گلوکز (mg/dL)	۷۸/۴۳ ± ۶/۵۸^{a}	۶۶/۳۸ ± ۹/۱۵^{ab}	۵۶/۵۳ ± ۴/۹۱^{b}	۶۰/۰۷ ± ۶/۴۶^{ab}	۶۴/۶۴ ± ۴/۷۳^{ab}	۶۷/۷۹ ± ۲/۹۸^{ab}
کلسترول (mg/dL)	۳۱۴/۷۰ ± ۴/۲۱^{a}	۲۶۶/۲۱ ± ۹/۰۴^{ab}	۲۳۹/۶۱ ± ۲۲/۰۲^{b}	۲۶۳ /۸۶ ± ۶/۳۲^{ab}	۲۶۱/۵۸ ± ۱۲/۹۳^{ab}	۲۸۰/۶۹ ± ۲/۹۷^{ab}
تری‌گلیسرید (mg/dL)	۳۹۷/۰۲ ± ۵۶/۱۹^{a}	۳۰۰/۵۶ ± ۲۷/۰۶^{ab}	۲۵۰/۲۱ ± ۲۱/۲۳^{b}	۲۸۸/۳۶ ± ۴۱/۴۴^{ab}	۳۳۶/۲۹ ± ۲۲/۴۳^{ab}	۳۱۸/۸۰ ± ۳۶/۴۸^{ab}
پروتئین کل (g/dL)	۲/۳۷ ± ۰/۲۲^{b}	۳/۱۳ ± ۰/۱۹^{ab}	۳/۹۵ ± ۰/۲۳^{a}	۳/۲۵ ± ۰/۲۱^{ab}	۲/۹۳ ± ۰/۲۲^{ab}	۲/۷۵ ± ۰/۲۰^{ab}
آلبومین (g/dL)	۱/۰۱ ± ۰/۰۹^{b}	۱/۲۸ ± ۰/۰۸^{ab}	۱/۹۸ ± ۰/۱۰^{a}	۱/۳۹ ± ۰/۱۱^{ab}	۱/۲۲ ± ۰/۱۰^{ab}	۱/۱۴ ± ۰/۰۹^{ab}
گلوبولین (g/dL)	۱/۳۶ ± ۰/۱۳^{b}	۱/۸۵ ± ۰/۱۱^{ab}	۱/۹۷ ± ۰/۱۳^{a}	۱/۸۶ ± ۰/۰۳^{ab}	۱/۷۱ ± ۰/۱۲^{ab}	۱/۶۱ ± ۰/۱۱^{ab}
C3(mg/dL)	۲/۵۷ ± ۰/۰۷	۲/۶۳ ± ۰/۰۳	۲/۵۹ ± ۰/۰۳	۲/۶۰ ± /۰۵	۲/۳۴ ± ۰/۱۷	۲/۴۹ ± ۰/۰۵
C4(mg/dL)	۲/۴۸ ± ۰/۰۵^{ab}	۲/۴۶ ± ۰/۰۸^{ab}	۲/۶۰ ± ۰/۰۵^{ab}	۲/۷۹ ± ۰/۱۹^{a}	۲/۴۵ ± ۰/۰۳^{ab}	۲/۱۲ ± ۰/۱۵^{b}

حروف متفاوت در هر ردیف، نشانه وجود تفاوت آماری معنی‌دار میان تیمارها است (P<۰/۰۵).

بحث

در مطالعه حاضر XTRACT که یک محصول دارای عصاره‌های گیاهی و دارای ترکیبی از دارچین، آویشن و فلفل استخراج شده است مورد استفاده قرار گرفت. این عصاره با تاثیری که بر روی مکانیسم افزایش ترشحات گوارشی و تعدیل پاسخ‌های ایمنی سیستم گوارشی موجب بهبود هضم و جذب مواد مغذی و ایجاد تعادل در وضعیت ایمنی می‌شود. در نتیجه قابلیت دسترسی به انرژی افزایش و نیاز انرژی نگه‌داری کاهش یافته، انرژی بیش‌تری صرف رشد گردیده و نهایتاً منجر به افزایش راندمان تولید و سودآوری اقتصادی می‌گردد. نتایج پژوهش حاضر نشان داد بین فاکتورهای تعداد گلبول قرمز، هموگلوبین، هماتوکریت، MCH، MCV و MCHC تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ولی در تعداد گلبول‌های سفید و شمارش افتراقی آن‌ها اختلاف مشاهده شد. بالاترین تعداد گلبول‌های سفید در تیمار X_{500} و کم‌ترین میزان در تیمار X_{300} بود. هم‌چنین، بالاترین درصد لنفوسیت، نوتروفیل و مونوسیت در تیمار X_{500} مشاهده گردید که با گروه شاهد اختلاف معنی‌دار داشت. در مقایسه نتایج تحقیق حاضر با دیگر مطالعات انجام شده، ماهی تیلاپیا نیل (*Oreochromis niloticus*) با آویشن و شنبلیله (۲۰)، قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Onchorhynchus mykiss*) تغذیه شده (یک درصد) روغن آویشن (۲۱)، اختلاف معنی‌داری در مقدار شاخص‌های هموگلوبین، هماتوکریت و تعداد گلبول‌های قرمز مشاهده نشد که با نتایج به‌دست آمده در این مطالعه مطابقت داشت. در ماهی کپورمعمولی با آویشن اختلاف معنی‌داری در مقدار شاخص‌های هموگلوبین، هماتوکریت و تعداد گلبول‌های قرمز مشاهده شد (۲۲) که با نتایج به‌دست‌آمده در این مطالعه مطابقت نداشت. Alsafah و همکاران، در طی گزارشی اعلام نمودند افزودن آویشن به رژیم غذایی کپورمعمولی سبب افزایش تعداد گلبول سفید و شمارش افتراقی می‌گردد. در مطالعه دیگری، Georgieva و همکاران، اعلام نمودند افزودن روغن آویشن به جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان موجب افزایش تعداد گلبول سفید و شمارش افتراقی می‌شود (۲۱). هم‌چنین نتایج مطالعه Valladão و همکاران، نشان داد با افزودن آویشن به رژیم غذایی تیلاپیای نیل تعداد گلبول سفید و شمارش افتراقی افزایش می‌یابد (۲۳). با توجه به افزایش تعداد گلبول سفید در پژوهش حاضر می‌توان گفت احتمالاً اسانس آویشن موجود در ترکیب موجب افزایش پاسخ ایمنی غیر اختصاصی در بچه‌ماهیان طلایی می‌گردد که ممکن است به‌علت وجود ترکیبات تیمول و کارواکرول که شاخص ترکیبات مؤثره در این گیاه است، باشد. مطالعات نشان داده گرچه استفاده از افزودنی‌های گیاهی تاثیر مثبتی بر بسیاری از شاخص‌ها دارندولی استفاده از آن‌ها در جیره وابسته به غلظت می‌باشد، به‌طوری‌که مقادیر بیش‌تر یا کم‌تر از حد مجاز می‌تواند بدون اثر باشد یا اثر مهارکنندگی داشته باشد (۲۴). افزایش تعداد گلبول‌های قرمز، هماتوکریت، گلبول‌های سفید، مونوسیت، لنفوسیت و نوتروفیل در تیمارهای حاوی عصاره آویشن را می‌توان به اثرات ضدقارچی آویشن و بهبود سیستم ایمنی ماهیان نسبت داد (۲۲). دلیل احتمالی نتیجه فعلی را نیز می‌توان به فعال شدن سیستم ایمنی در بچه‌ماهیان طلایی با افزایش میزان سطح ماده تجاری در جیره نسبت داد. گزارش شده است که مواد محرک ایمنی، لزوماً نمی‌توانند اثر معنی‌داری بر شاخص‌های هماتولوژیک از جمله تعداد گلبول قرمز، میزان هموگلوبین و هماتوکریت داشته باشند (۲۵) و به‌منظور کارآیی موثر آن‌ها بایستی زمان، غلظت، روش تجویز و وضعیت فیزیولوژیک ماهی درنظر گرفته شود (۲۶). گلوکز سرم پس از کورتیزول به‌عنوان دومین واکنش استرس در ماهی شناخته شده است، به‌طوری‌که افزایش میزان کورتیزول سبب کاتابولیسم قند کبد و تقویت تجزیه گلیکوژن کبد به‌منظور تامین انرژی طی فرآیند استرس گردد (۲۷). نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که با افزودن سطوح مختلف ماده تجاری XTRACT به جیره غذایی بچه‌ماهی طلایی میزان گلوکز خون کاهش یافت به‌طوری‌که تنها در تیمار حاوی ۲۰۰

میلی‌گرم در کیلوگرم غذا این اختلاف در مقایسه با تیمار شاهد معنی‌دار بود. در ماهی کپورمعمولی تغذیه‌شده با مکمل گیاهی پودر آویشن و مرزه (۲۸)، قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه‌شده با مکمل گیاهی (آویشن با رازیانه) (۲۹)، تیلاپیای نیل تغذیه شده با جیره حاوی سینامالدئید و تیمول (۳۰)، گربه ماهی آسیایی (*Pangasianodon hypophthalmus*) تغذیه‌شده با پودر و عصاره دارچین (۳۱) در مقدار گلوکز و تری‌گلیسرید اختلاف معنی‌داری داشت که با نتایج به‌دست آمده در این مطالعه هم‌خوانی دارد. Setiawati و همکاران، به‌منظور بررسی اثرات پودر دارچین و عصاره دارچین به‌عنوان مکمل غذایی در جیره بر عملکرد رشد و بازده خوراک گربه‌ماهی آسیایی آزمایشی انجام دادند (۳۱). آن‌ها اعلام نمودند افزودن پودر دارچین در سطح یک درصد و عصاره آن در ۰/۱ درصد موجب کاهش سطح کلسترول و تری‌گلیسرید در ماهیان نسبت به گروه شاهد شد که دلیل نتایج خود را به حضور ترکیبات پلی‌فنل و سینام آلدئید در برگ دارچین که موجب افزایش جذب گلوکز و کلسترول خون می‌شود مرتبط دانستند. Zadmajid و همکاران، تاثیر عصاره آویشن را بر تنش‌زدایی ماهی قرمز بررسی کردند. براساس نتایج آن‌ها، با کاهش میزان غلظت آویشن جیره غلظت گلوکز خون در ماهی‌هایی که تحت تنش نانو نقره‌قرار گرفتند افزایش معنی‌داری نشان‌داد (۳۲). هم‌چنین، در تمام تیمارهای تحت‌تنش نانو نقره، غلظت تری‌گلیسرید سرم خون نسبت به تیمارهای بدون تنش کاهش نسبی نشان داد. آن‌ها نتیجه‌گیری نمودند که کاهش گلوکز در تیمارهای حاوی غلظت بالای عصاره آویشن ممکن است نتیجه تحریک ترشح انسولین در بدن توسط عصاره آویشن و رفع استرس از ماهی‌ها باشد. گلوکز خون پارامتر بسیار تغییرپذیری است که شدیداً تحت تاثیر استرس‌های ناشی از دستکاری و محیطی مانند وضعیت تغذیه‌ای، تغییرات فصل و بلوغ جنسیتی قرار دارد (۳۳). با توجه به حضور ترکیبات پلی‌فنولی موجود در پودر دارچین با تاثیر بر لوزالمعده ترشح انسولین را تشدید می‌نماید و منجر به کاهش قند خون و افزایش متابولیسم گلوکز می‌شود. با توجه به نتایج حاضر می‌توان گفت پودر دارچین در عصاره XTRACT موجب کاهش میزان گلوکز در تیمارهای حاوی این ماده نسبت به تیمار شاهد شد. در مطالعه حاضر میزان تری‌گلسیرید و کلسترول در تیمارهای حاوی ماده تجاری حاوی (دارچین، آویشن و فلفل) کاهش یافت، که دلیل این را می‌توان به حضور ترکیبات فعالی هم‌چون پلی‌فنون، سینام آلدئید، کارواکرول و تیمول و غیره دانست.

پروتئین پلاسمای خون یک سیستم نسبتا حساس است که بازتاب تاثیر عوامل داخلی و خارجی است که موجود در آن قرار دارد (۷). عواملی مانند: جنس، تخم‌ریزی، تغذیه، فشار اسمزی، درجه حرارت، نور، سن، کاهش اکسیژن و فصل بر میزان پروتئین خون تاثیر می‌گذارند (۳۴). نتایج حاصل از اندازه‌گیری پروتئین سرم خون بچه‌ماهیان طلایی پس از ۱۲ هفته تغذیه با جیره حاوی ماده تجاری XTRACT نشان داد که به‌کارگیری ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم غذا از این ماده تجاری منجر به افزایش معنی‌دار مقدار پروتئین کل در بچه‌ماهی طلایی در مقایسه با تیمار شاهد شد. با توجه به این‌که میان پروتئین سنتز شده در بافت کبد با پروتئین موجود در سرم ارتباط وجود دارد، می‌توان بیان کرد که افزایش سطح پروتئین سرم در تیمار ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم غذا می‌تواند احتمالاً به‌دلیل افزایش پروتئین سنتز شده در بافت کبد ماهی مورد مطالعه باشد. Nootash و همکاران، در طی گزارشی اعلام نمودند افزودن چای سبز (*Camellia sinensis*) به جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان موجب افزایش معنی‌دار پروتئین تام در مقایسه با تیمار شاهد شد (۳۵). میزان سطوح آلبومین و گلوبولین موجود در سرم با میزان پروتئین کل در سرم خون وابسته می‌باشد (۳۶). آلبومین در کبد جانوران سنتز می‌شود و برای حفظ ذخیره نیتروژنی برای رشد و ترمیم بافت‌ها به‌عنوان پروتئین ناقل مواد مختلف نظیر لیپدها، هورمون‌ها، مواد معدنی، ویتامین‌ها و حفظ فشار اسمزی نقش مهمی ایفا می‌کند. در مطالعه حاضر میزان آلبومین و گلوبولین در تیمارهای تغذیه‌شده با ماده تجاری XTRACT افزایش معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد نشان‌داد و بیش‌ترین میزان آلبومین در تیمار حاوی ۲۰۰ میلی‌گرم ماده تجاری XTRACT بر کیلوگرم غذا مشاهده شد. Oskoii و همکاران، نشان دادند که افزودن عصاره سرخار گل (*Echinacea purpurea*) به جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان باعث افزایش معنی‌دار میزان پروتئین کل، آلبومین و گلوبولین می‌شود (۳۷)، که با نتایج مطالعه حاضر هم‌خوانی دارد. در بررسی صورت گرفته توسط Sharif Rohani و همکاران، نشان دادند افزودن ۱۵ گرم در هر کیلوگرم اسانس آویشن به جیره غذایی تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) موجب ایجاد تغییر معنی‌دار در میزان پروتئین کل شد (۳۸). Azizi و همکاران، اعلام نمودند بیش‌ترین میزان پروتئین کل در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در تیمار ۵۰۰ میلی‌گرم آویشن مشاهده شد این در حالی بود که در میزان آلبومین بین هیچ‌یک از تیمارها تفاوت معنی‌داری وجود نداشت (۳۹). در مطالعه Sheikhzadeh و همکاران، مقادیر پروتئین کل، آلبومین و گلوبولین در کپورمعمولی تغذیه‌شده با آویشن اختلاف معنی‌دار نشان‌داد (۴۰). Choobkar و همکاران، در مطالعه‌ای که بر روی کپورمعمولی داشتند اعلام نمودند پروتئین کل و گلوبولین در ماهی‌های تغذیه کرده از ۱۰۰ در میلیون مکمل آویشن شیرازی بیش‌ترین میزان را نسبت به شاهد نشان داد ولی در میزان آلبومین میان تیمارها تفاوت معنی‌دار آماری مشاهده نشد. این محققین دلیل افزایش این پارامترها را به دلیل افزایش پاسخ سیستم ایمنی اعلام نمودند. Emeish و همکاران، به‌منظور بررسی اثرات آویشن و شنبلیله به‌عنوان مکمل غذایی بر روی شاخص‌های ایمنی گربه ماهی (*Clarias gariepinus*) آزمایشی که انجام دادند در طی گزارشی اعلام نمودند میزان پروتئین کل و آلبومین در تیمار یک درصد آویشن نسبت به تیمارهای آزمایش تفاوت معنی‌دار نشان داد. این محققین دلیل افزایش سطح پروتئین کل و آلبومین در تیمار یک درصد آویشن را به وجود تیمول و

کارواکرول که خواص آنتی‌اکسیدانی قوی دارند نسبت دادند. با توجه به این‌که ماده تجاری مورد استفاده در مطالعه حاضر حاوی آویشن، دارچین و فلفل بود می‌توان اعلام نمود افزایش در سطوح پروتئین کل، آلبومین و گلوبولین در تیمارهای تغذیه شده با جیره ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده تجاری XTRACT به‌دلیل حضور ترکیبات فعالی هم‌چون پلی‌فنون، سینام آلدئید، کارواکرول و تیمول و غیره می‌باشد. هم‌چنین عدم هم‌خوانی در برخی از نتایج مطالعات را می‌توان به گونه مورد مطالعه، غلظت ماده مورد استفاده و هم‌چنین شرایط آزمایش نسبت داد (۲۹). سیستم کمپلمان مجموعه‌ای مشتمل بر بیش از ۳۵ نوع پروتئین سرمی است که ارتباط بسیار نزدیک با یکدیگر و سایر مولکول‌های سیستم ایمنی دارند (۴۳). ۹ جزء اصلی آن‌ها از C1 تا C9 نام‌گذاری شده‌اند و این ترکیبات نقش کلیدی در ایمنی ذاتی و اکتسابی دارند (۴۴). سیستم کمپلمان در ماهیان استخوانی مشابه اغلب مهره‌داران می‌باشد. مهم‌ترین وظایف زیستی سیستم کمپلمان شامل از بین بردن میکروارگانیسم‌ها از طریق شرکت و همراهی در فرآیندهای فاگوسیتوز، واکنش‌های التهابی، پاکسازی کمپلکس‌های ایمنی، القاء و بهبود پاسخ‌های آنتی‌بادی است (۴۵). تغییرات کمپلمان سرم در حفاظت از سیستم ایمنی غیراختصاصی در ماهیان بسیار مهم می‌باشد و بالا بودن سطوح C3 و C4 بیانگر سلامتی ماهی است (۴۶). نتایج حاصل از اندازه‌گیری کمپلمان سرم خون بچه‌ماهیان طلایی پس از ۱۲ هفته تغذیه با جیره حاوی ماده تجاری XTRACT نشان داد، اختلاف معنی‌داری در میزان C3 میان تیمارها با شاهد وجود ندارد. بالاترین مقدار C4 در تیمار X_{300} بود که فقط با تیمار X_{500} تفاوت معنی‌دار داشت. مطالعه Ahmadifard و همکاران، نشان داد افزودن آویشن در جیره غذایی ماهی کپور معمولی موجب افزایش معنی‌دار C3 و C4 در ماهیان تحت تیمار آویشن نسبت به گروه شاهد شد (۲۸). بالا بودن سطوح کمپلمان سرم در حفاظت از سیستم ایمنی غیراختصاصی ماهیان بسیار مهم است (۴۶).

همان‌طور که مطالعات نشان داده‌اند، استفاده از مواد گیاهی با منشا طبیعی در جیره غذایی آبزیان با مکانیسم‌های مختلف منجر به افزایش توان مقاومت ماهی در برابر عوامل عفونی و بیماری‌های مختلف می‌شوند و بر سیستم ایمنی می‌توانند تاثیر مثبت داشته باشند. در مطالعه حاضر نیز استفاده از ماده تجاری XTRACT حاوی عصاره‌های گیاهی در سطوح مختلف تاثیر قابل ملاحظه‌ای بر روی فاکتورهای ایمنی داشت، به‌طور کلی نتایج به‌دست آمده در مطالعه حاضر و مقایسه آن با تحقیقات مشابه حاکی از این است که عصاره XTRACT قادر به تحریک سیستم ایمنی ماهی‌های طلایی است و از این طریق به سلامتی و بهبود وضعیت فیزیولوژیک ماهی‌ها کمک می‌نماید.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله نویسندگان این مقاله از تمامی کسانی که در مراحل انجام پژوهش حاضر همکاری و مساعدت کردند، کمال تشکر را دارند.

تاییدیه اخلاقی: تمام موارد بهداشتی و حقوق حیوانات در مسیر مطالعه، نگه‌داری و نمونه‌برداری در محل آزمایش رعایت شده است.

منابع

1. **Bondad-Reantaso, M.G., Subasinghe, R.P., Arthur, J.R., Ogawa, K., Chinabut, S., Adlard, R. and Shariff, M., 2005. Disease and health management in Asian aquaculture. Veterinary Parasitology, 132(3-4): 249-272.**
2. **Quesada, S.P., Paschoal, J.A.R. and Reyes, F.G.R., 2013.** Considerations on the aquaculture development and on the use of veterinary drugs: special issue for fluoroquinolones-a review. Journal of Food Science, 78(9): 1321-1333.
3. **Mohapatra, S., Chakraborty, T., Kumar, V., DeBoeck, G. and Mohanta, K.N., 2013.** Aquaculture and stress management: a review of probiotic intervention. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 97(3): 405-430.
4. **Chakraborty, S.B. and Hancz, C., 2011.** Application of phytochemicals as immunostimulant, antipathogenic and antistress agents in finfish culture. Reviews in Aquaculture, 3 (3): 103-119.
5. **Ji, S.C., Jeong, G.S., Gwang-Soon, I.M., Lee, S.W., Yoo, J.H. and Takii, K., 2007.** Dietary medicinal herbs improve growth performance, fatty acid utilization, and stress recovery of Japanese flounder. Fisheries Science, 73(1): 70-76.
6. **Mohammadi, M., Soltani, M., Siahpoosh, A. and Shamsaie, M., 2018.** Effects of dietary supplementation of date palm (*Phoenix dactylifera*) seed extract on body composition, lipid peroxidation and tissue quality of common carp (*Cyprinus carpio*) juveniles based on the total volatile nitrogen test. Iranian Journal of Fisheries Sciences, 17(2): 394-402.
7. **Shalaby, A.M., Khattab, Y.A. and Abdel Rahman, A.M., 2006.** Effects of garlic (*Allium sativum*) and chloramphenicol on growth performance, physiological parameters and survival of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases, 12(2): 172-201.
8. **Ota, K.G. and Abe, G., 2016.** Goldfish morphology as a model for evolutionary developmental biology. Wiley Interdisciplinary Reviews: Developmental Biology Journal, 5(3): 272-295.
9. **Abe, G. and Ota, K.G., 2016.** Evolutionary developmental transition from median to paired morphology of vertebrate fins: perspectives from twin-tail goldfish. Developmental Biology, 427(2): 251-257.
10. **Bravo, D., Pirgozliev, V. and Rose, S.P., 2014.** A mixture of *carvacrol*, *cinnamaldehyde*, and *capsicum oleoresin* improves energy utilization and growth performance of broiler chickens fed maize-based diet. Journal of Animal Science, 92(4): 1531-1536.
11. **İpcak, H.H. and Alcicek, A., 2018.** Addition of *Capsicum oleoresin*, *carvacrol*, *cinnamaldehyde* and their mixtures to the broiler diet II: Effects on meat quality. Journal of Animal Science and Technology, 60(1): 1-9.
12. **Karadas, F., Pirgozliev, V., Rose, S.P., Dimitrov, D., Oduguwa, O. and Bravo, D., 2014.** Dietary essential oils improve the hepatic antioxidative status of broiler chickens. British Poultry Science, 55(3): 329-334.
13. **Ramsden, C.S., Smith T.J., Shaw B.J. and Handy, R.D., 2009.** Dietary exposure to titanium dioxide nanoparticles in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): no effect on growth, but subtle biochemical disturbances in the brain. Ecotoxicology, 18(7): 939-951.
14. **Sharifpour, A., Soltani, M., Abdolhai, H. and Ghauomi, R., 2003.** Study of Anaesthetic Effects of Clove Oil (*Eugenia Caryophyllata*) In Common Carp (*Cyprinus Carpio*) Under Various pH and Temperature Condition. Iranian Scientific Fisheries Journal, 11(4): 59-74.
15. **Houston, A.H., 1990.** Blood and circulation. Methods for fish biology, 415-488.
16. **Řehulka, J. and Adamec, V., 2004.** Red blood cell indices for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) reared in cage and raceway culture. Acta Veterinaria Brno, 73(1): 105-114.

toxic effects of Nanosilver on growth factors and serum biochemical in goldfish (*Carassius auratus* gibelio). Journal of Aquatic Ecology. 5(4): 12-21.

33. **Prasad. G. and Charles. S.. 2010.** Haematology and leucocyte enzyme cytochemistry of a threatened yellow catfish *Horabagrus brachysoma* (Gunther 1864). Fish Physiology and Biochemistry. 36(3): 435-443.
34. **Booke, H.E., 1964.** A review of variations found in fish serum proteins. fish and game warden in New York. 11(1): 47-57.
35. **Nootash, S.H., Sheikhzadeh, N., Baradaran, B., KhaniOushani, A., MalekiMoghadame, M.R. and Nofouzi, K., 2013.** Green tea (*Camellia sinensis*) administration induces expression of immune relevant genes and biochemical parameters in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Fish Shellfish immunology. 35(6): 1916-1923.
36. **Akramia, R., Gharaeib, A., Razeghi Mansourc, M. and Galeshi, A.; 2015.** Effects of dietary onion (*Allium cepa*) powder on growth, innate immune response and hematoe biochemical parameters of beluga (*Huso huso* Linnaeus, 1754) juvenile. Fish and Shellfish. Immunology. 45(2): 828-834.
37. **Oskoii, S.B., Kohyani, A.T., Parseh, A., Salati, A.P. and Sadeghi, E., 2012.** Effects of dietary administration of *Echinacea purpurea* on growth indices and biochemical and hematological indices in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fingerlings. Fish. Physiol. Biochem. 38(4): 1029 -1034.
38. **Sharif Rohani, M., Masoumzadeh, M., Haghighi, M., Jalilpoor, J., Pourdehghani, M., Shenavar Masouleh, A. and Bazari Moghaddam, S., 2013.** Effects of oral administration of *Zataria multiflora* essential oil on some blood and serum parameters in *Acipenser persicus*. Iranian Journal of Fisheries Sciences. 12(4): 908-915.
39. **Azizi, E., Yeganeh, S., Firouzbakhsh, F. and Janikhalili, K., 2016.** Effects of dietary supplemental thyme essence *(thymus vulgaris* l.) on growth, hematological and serum biochemical parameters of rainbow trout *oncorhynchus mykiss* (walbaum, 1792). Journal of Applied Ichthyological Research. 4(2): 45-61.
40. **Sheikhzadeh, N., Soltani, M., Ebrahimzadeh-Mousavi, H.A., Shahbazian, N. and Norouzi, M., 2011.** Effects of *Zataria multiflora* and *Eucalyptus globolus* essential oils on haematological parameters and respiratory burst activity in *Cyprinus carpio*. Iranian Journal of Fisheries Sciences. 10(2): 316-323.
41. **Choobkar, N., Kakoolaki, S., Rezaeimanesh, M., Mohammadi, F. and Safar Khanloo, L., 2017.** Effects of supplementation of powdered *zataria multiflora* on growth performance and serumic parameters in common carp (*cyprinus carpio*). veterinary clinical pathology (veterinary journal tabriz). 11(42): 123-134.
42. **Emeish Emeish, W.F. and EL-Deen, A.G.S., 2016.** Immunodulatory effects of thyme and fenugreek in sharptooth catfish, *Clarias gariepinus*. Assiut Veterinary Medical Journal. 62(150): 1-7.
43. **Sunyer, J.O., Liuis, T.O.R.T. and Lambris, J.D., 1997.** Diversity of the third form of complement, C3, in fish: functional characterization of five forms of C3 in the diploid fish *Sparus aurata*. Biochemical Journal. 326(3): 877-881.
44. **Boshra, H.; Li, J. and Sunyer, J.O., 2006.** Recent advances on the complement system of teleost fish. Fish & Shellfish Immunology. 20(2): 239-262.
45. **Mauri, I., Romero, A., Acerete, L., MacKenzie, S., Roher, N., Callol, A. and Tort, L., 2011.** Changes in complement responses in gilthead seabream (*Sparus aurata*) and European seabass (*Dicentrarchus labrax*) under crowding stress, plus viral and bacterial challenges. Fish & Shellfish Immunology. 30(1): 182-188.
46. **Yano, T., 1992.** Assay of hemolytic complement activity. P: 131–141. In: Stolen, S.J., Fletcher, T.C., Anderson, D.P., Katary, S.L. and Rowley, A.F., (Eds.). Techniques in Fish Immunology, SOS. Publications, Fair Harven, NJ. 131-141.
17. **Klinger, E., 1975.** Consequences of commitment to and disengagement from incentives. Psychological Review. 82: 1-25. doi:10.1037/h0076171.
18. **Kumar, G.S., Nayaka, H., Dharmesh, S.M. and Salimath, P.V., 2006.** Free and bound phenolic antioxidants in amla (*Emblica officinalis*) and turmeric (*Curcuma longa*). Journal of Food Composition and Analysis. 19(5): 446-452.
19. **Thomas, L., 1998.** Clinical Laboratory Diagnostics 1 ed. Frankfurt: TH-Book Verlagasellschaft. 794-806.
20. **Antache, A., Cristea, V., Grecu, I., Dediu, L., Cretu, M., Bocioc, E. and Petrea, S.M., 2014.** Effects of Dietary Supplementation at Nile tilapia with *Thymus vulgaris*, *Trigonela foenum graecum* and *Azadirachta indica* on Welfare Status. Bulletin of the University of Agricultural Sciences & Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Animal Science & Biotechnologies. 71(2): 116-122.
21. **Georgieva, K. and Zhelyazkov, G., 2018.** Effect of dietary phytoextracts supplementation on growth performance and blood parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), cultivated in a recirculation system. Trakia Journal of Sciences. 16(4): 292-299.
22. **Alsafah, A.H. and Al-Faragi, J.K.; 2017.** Influence of thyme (*Thymus vulgaris*) as feed additives on growth performance and antifungal activity on *Saprolegnia* spp. in *Cyprinus carpio* L. Journal of Entomology and Zoology Studies. 6: 1598-1602.
23. **Valladão, G.M.R., Gallani, S.U., Kotzent, S., Assane, I.M. and Pilarski, F., 2019.** Effects of dietary thyme essential oil on hemato-immunological indices, intestinal morphology, and microbiota of Nile tilapia. Aquaculture International. 27(2): 399-411.
24. **Awad, E., Austin, D. and Lyndon, A.R., 2013.** Effect of black cumin seed oil *(Nigella sativa*) and nettle extract *(Quercetin*) on enhancement of immunity in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Aquaculture. 388: 193-197.
25. **Tangestani, R., Doughikollaee, E.A., Ebrahimi, E. and Zare, P., 2011.** Effects of garlic essential oil as an immunostimulant on hematological indices of juvenile beluga *(Huso huso*). Journal of Veterinary Research. 66(3): 209-279.
26. **Vahedi, A.H., Hasanpour, M., Akrami, R. and Chitsaz, H., 2017.** Effect of dietary supplementation with ginger *(Zingiber officinale*) extract on growth, biochemical and hemato-immunological parameters in juvenile beluga *(Huso huso*). Iranian Journal of Aquatic Animal Health. 3(1): 26-46.
27. **Barton, B.A. and Iwama, G.K., 2005.** Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. Ann. Rev. Fish. Dis. 1: 3-26.
28. **Ahmadifard, E., Enayat Gholampour, T., Shahriari Moghadam, M., Moghaddamfar, S. and Masudi, E., 2018.** Study of herbal feed Supplement (Contains Zataria and Satureja Powder) on Growth Performance, Survival Rate, Biochemical Blood Characteristics and Body Composition in Common Carp (*Cyprinus carpio*). Iranian Journal of Fisheries Sciences. 70(4): 424-434. (in Persian)
29. **Gulec, A.K., Danabas, D., Ural, M., Seker, E., Arslan, A. and Serdar, O., 2013.** Effect of mixed use of thyme and fennel oils on biochemical properties and electrolytes in rainbow trout as a response to *Yersinia ruckeri* infection. Acta Veterinaria Brno. 82(3): 297-302.
30. **Amer, S.A., Metwally, A.E. and Ahmed, S.A., 2018.** The influence of dietary supplementation of cinnamaldehyde and thymol on the growth performance, immunity and antioxidant status of monosex Nile tilapia fingerlings *(Oreochromis niloticus*). The Egyptian Journal of Aquatic Research. 44(3): 251-256.
31. **Setiawati, M., Jusadi, D., Laheng, S., Suprayudi, M.A. and Vinasyiam, A., 2016.** The enhancement of growth performance and feed efficiency of Asian catfish, *Pangasianodon hypophthalmus* fed on *Cinnamomum burmannii* leaf powder and extract as nutritional supplementation. Aquaculture, Aquarium, Conservation & Legislation-International Journal of the Bioflux Society (AACL Bioflux). 9(6): 1301-1309.
32. **Zadmajid, V., Sheikhahmadi, A., Kamangar, B. and Javadi, T., 2016.** The effects of thyme oil extract to reduce