بررسی تاثیرات ناشی از اسانس گیاه مورد (*Myrtus Communis* L.) بر عملکرد رشد، پارامترهای خون شناسی و بیوشیمیایی بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Onchorhynchus mykiss*)

- **محسن رخشان**: گروه شیلات، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی اهواز، ایران
- **مژده چله‌مال‌دزفول‌نژاد***: گروه شیلات، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی اهواز، ایران

تاریخ دریافت: مرداد ۱۳۹۵ تاریخ پذیرش: آبان ۱۳۹۵

چکیده

در این تحقیق اثرات اسانس گیاه مورد (*Myrtus Communis* L.) بر عملکرد رشد و ایمنی بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان مورد بررسی قرار گرفت. تیمارهای آزمایشی شامل اسانس گیاه مورد است که پس از حل کردن در روغن گیاهی با غلظت ۱ درصد به پلت‌های غذایی هر کدام در سه سطح ۳۰۰، ۵۰۰ و ۷۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم اضافه شد و هم‌چنین در تیمار شاهد نیز ماهیان با جیره فاقد اسانس تغذیه شدند. دوره آزمایش ۶۰ روزه و پارامترهای رشد ماهیان شامل شاخص وزن به‌دست آمده، ضریب رشد ویژه، ضریب تبدیل غذایی و شاخص وضعیت در روزهای (ابتدای دوره، وسط دوره، پایان دوره) اندازه‌گیری شد. در انتهای دوره آزمایش نیز خونگیری از ساقه دمی انجام شد و پارامترهای خون شناسی شامل: شمارش کلی گلبول‌های قرمز، سفید، هموگلوبین، هماتوکریت، حجم متوسط گلبولی، غلظت هموگلوبین گلبولی، میانگین هموگلوبین سلول، مقدار پروتئین کل، آلبومین، گلوبولین، گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسیرید سنجش شدند. نتایج این بررسی نشان داد که اسانس گیاه مورد مورد آزمایش در سه سطح اثر معنی‌داری بر پارامترهای رشد بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان نداشت ($p>0/05$)، اما نتایج پارامترهای خونی بین تیمارهای آزمایشی نشان می‌دهد که اختلاف معنی‌داری بین تمامی پارامترهای مورد بررسی به‌استثنای میزان هموگلوبین خون، غلظت هموگلوبین گلبولی (MCHC) و میزان هموگلوبین گلبولی (MCH) مشاهده شد ($p<0/05$). به‌طورکلی می‌توان نتیجه گرفت که اسانس گیاه مورد قادر به بهبود عملکرد ایمنی ماهی قزل‌آلا در شرایط استخر پرورش ماهی می‌باشد و در سطح ۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم بهترین نتیجه گرفته شد.

کلمات کلیدی: قزل‌آلای رنگین‌کمان، اسانس، گیاه مورد (*Myrtus communis* L.)، پارامترهای خون شناسی

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: m_chelemal@yahoo.com

مقدمه

امروزه یکی از اصلی‌ترین دغدغه‌های تولیدکنندگان و صنعت‌گران عرصه پرورش دام، طیور و آبزیان تامین نیاز انسان به غذا و مواد مغذی باکیفیت می‌باشد. یکی از صنایع تولیدی مهم در این زمینه آبزی‌پروری است. ماهی ارزش غذایی بسیار بالایی داشته و بیش‌تر مواد مغذی مفید و ضروری برای انسان را دارد (نقی‌ها و همکاران، ۱۳۹۵). بیماری‌های آبزیان یکی از دلایل اصلی ایجاد تلفات و خسارات شدید به مزارع پرورش ماهی است. برای کاهش خطر بیماری، باید سطح مقاومت ماهیان پرورشی به عفونت‌ها افزایش یابد و این کار به‌وسیله غذاهای با ارزش کیفی بالاتر، و واکسیناسیون بر علیه بیماری، استفاده از تحریک کننده‌های ایمنی بدن و یا انتخاب مولدین بهتر که در برابر بیماری‌ها مقاوم‌ترند، انجام می‌شود (Sobhana و همکاران، ۲۰۰۲). هزینه‌های تامین پادزیست مصرفی در جلوگیری و درمان بیماری‌ها که برای بهبود رشد استفاده می‌شوند بسیار بالا است. از طرفی دیگر، افزایش مقاومت دارویی در باکتری‌ها، تجمع و بقایایی مواد شیمیایی در محیط زیست و در بدن آبزیان منجر به ایجاد مقاومت سخت گیرانه در جهت محدودیت استفاده از پادزیست‌ها و مواد شیمیایی در صنعت آبزی‌پروری شده است (Aubin، ۲۰۰۵).

محرک‌های ایمنی به‌عنوان روشی برای کنترل بیماری‌ها و پرورش ماهی، رهیافتی جدید است که نیاز به تحقیقات بیش‌تر و گسترده‌تری دارد (Iwama و Nakanishi، ۱۹۹۶). در چند سال گذشته به محرک‌های ایمنی با منشا حیوانی یا گیاهی (گلوکان، کتین و کیتوزان، عصاره‌های گیاهی) و نیز ویتامین‌ها (به‌ویژه ویتامین C) توجه بسیاری شده است. برخی گیاهان منبعی غنی از تانن‌ها، پلی‌ساکاریدها، آلکالوئیدها، فلاوونوئیدها، ساپونین‌ها و پلی‌پپتیدها هستند که نقش‌های مختلفی از جمله داشتن اثرات ضدمیکروبی و تقویت سامانه ایمنی ایمنی برای آن‌ها مشخص شده است (Parlat، ۲۰۰۵). محرک‌های سیستم ایمنی شامل یک گروه ترکیبات بیولوژیکی و سنتتیک هستند که سیستم ایمنی ذاتی را در جانوران تقویت می‌کنند و بدین طریق باعث محافظت از آن‌ها در برابر عوامل بیماری‌زا می‌شوند (Bairwa و همکاران، ۲۰۱۲)، از این‌رو در بین محرک‌های ایمنی متعدد، محرک‌های ایمنی با منشاء گیاهی دارای ارجحیت می‌باشند (Iwama و Nakanishi، ۱۹۹۶). این محرک‌ها علاوه بر بهبود شاخص‌های رشد، منجر به تحریک سیستم ایمنی غیراختصاصی، افزایش تحمل تنش‌های محیطی و مقاومت در برابر برخی بیماری‌های عفونی آبزیان می‌گردند، که همه این عوامل در نهایت منجر به اقتصادی‌تر شدن تولید آبزیان پرورشی می‌گردد (Rao و همکاران، ۲۰۰۶).

در مطالعات متعدد اثرات تحریک ایمنی گیاهان مختلف از قبیل: گزنه (*Nigella sativa*)، درواش (*Viscum album*)، آلوئه‌ورا (*Aloe barbadensis*)، گون (*Astragalus gummifer*)، سرخارگل (*Echinacea purpurea*)، پونه کوهی (*Mentha longifolia*)، چای سبز (*Camellia sinensis*)، زنجبیل (*officinale* Zingiber) و مرزه بختیاری (*Satureja bachtiarica*) در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان مورد بررسی قرار گرفته است (Haghighi و Sharif Rohani، ۲۰۱۳؛ پورغلام و همکاران، ۱۳۹۲). اسانس‌ها یا روغن‌های فرار یکی از مهم‌ترین مواد مؤثره گیاهان دارویی هستند. اسانس گیاه مورد دارای ترکیبات ضدمیکروبی و سودمندی است که موثر برای تحریک رشد و ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌باشد. از طرفی خون به‌عنوان یک بافت سیال و سهل الوصول، یکی از مهم‌ترین مایعات بدن بوده که ترکیبات آن تحت تأثیر تغییرات فیزیولوژیک و پاتولوژیک دست‌خوش نوسان و تغییر می‌گردند. لذا بررسی تغییرات پارامترهای خون در بیماری‌های مختلف همواره از ابزارهای مهم تشخیص در بسیاری از بیماری‌های انسان و دام بوده است. بنابراین در این مطالعه برای اولین بار اثرات تحریک ایمنی و بهبود فاکتورهای رشد اسانس مورد بر روی رشد و برخی پارامترهای بیوشیمیایی خون ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در شرایط مزرعه مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

تهیه اسانس گیاه مورد: اسانس گیاه مورد به‌وسیله شرکت خرمان در شهرک صنعتی خرم‌آباد تهیه شد. برگ سبز گیاه مورد از مزارع کشت شده در شهرستان خرم‌آباد جمع‌آوری شد و در درجه حرارت محیط در سایه خشک شد. اسانس آن با استفاده از یک دستگاه کلونجر برای مدت ۴ ساعت با تقطیر بخار آب استخراج شد (Tavafi و همکاران، ۲۰۱۱؛ Abdollahi و همکاران، ۲۰۰۳).

ماهی و امکانات آزمایشی: بچه‌ماهیان ۱ گرمی از کارگاه خصوصی واقع در شهرستان بروجرد تهیه گردیدند. در این آزمایش استخرها دارای طول ۵ متر، عرض ۱/۵ متر و عمق ۷۰ سانتی‌متر و بتونی بودند. ماهیان به‌مدت ۱ هفته با جیره پایه تغذیه و پس از سازگاری با غذا و شرایط محیطی تعداد ۲۰۰ بچه ماهی درون هر استخر منقل شد. دما و اکسیژن محلول آب روزانه در ۲ نوبت (صبح و عصر) اندازه‌گیری و استخرها روزانه یک جهت خارج کردن مواد زائد و غذای مصرف نشده تمیز می‌شدند.

تیمارهای آزمایشی: در این آزمایش از غذای تجاری ماهی قزل آلا شرکت چینه (SFT) به‌عنوان جیره پایه استفاده شد (جدول ۱). تیمارهای آزمایشی شامل اسانس گیاه مورد بود که پس از

حل کردن در روغن (٪۱) به پلت‌های غذایی هر کدام در سه سطح ۳۰۰، ۵۰۰ و ۷۰۰ ppm اضافه شد و غذاها به‌صورت جداگانه تا زمان استفاده در یخچال و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در شرایط تاریکی نگه‌داری شدند (جدول ۲). تیمار شاهد نیز شامل جیره پایه بدون اضافه کردن هرگونه مکمل غذایی در نظر گرفته شد.

جدول ۱: آنالیز تقریبی غذای تجاری ماهی قزل‌آلا شرکت چینه (SFT)

پروتئین خام	**۴۸**
چربی خام	**۱۲**
خاکستر	**۱۴**
فیبر	**۲/۵**
فسفر کل	**۱/۵**
رطوبت	**۱۱**

تمامی مقادیر برحسب درصد می‌باشد.

جدول ۲: تیمارهای مورد آزمایشی

تیمار	عصاره
B (شاهد)	جیره پایه
۳۰۰M	۳۰۰ ppm اسانس مورد
۵۰۰M	۵۰۰ ppm اسانس مورد
۷۰۰M	۷۰۰ppm اسانس مورد

زیست‌سنجی و بررسی پارامترهای رشد و بقا: جهت بررسی اثر عصاره مصرفی در غذای بچه‌ماهیان قزل‌آلا بر رشد آن‌ها، اندازه‌گیری وزن با ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۱ گرم انجام شد. پارامترهای رشد ماهیان شامل شاخص وزن به‌دست آمده (Gain of Body Mass) ضریب رشد ویژه (Specific Growth Rate)، ضریب تبدیل غذایی (Feed conversion ratio) در ابتدای دوره و پایان دوره اندازه‌گیری شد.

وزن اولیه - وزن نهایی= وزن به‌دست آمده

= ضریب رشد ویژه

۱۰۰×$^{-1}$ (تعداد روزها)×[(وزن اولیه (گرم))Ln- (وزن نهایی (گرم))Ln]

$^{-1}$ (وزن اولیه - وزن نهایی)×وزن خشک غذای مصرفی=ضریب تبدیل غذا

نمونه‌برداری خون: یک روز قبل از خون‌گیری غذادهی تمامی ماهیان قطع گردید. جهت بررسی پارامترهای خونی بچه‌ماهیان، در پایان دوره پرورش تعداد ۱۰ قطعه ماهی از هر تکرار به‌صورت تصادفی صید و با استفاده از عصاره گل میخک با غلظت ۳۰ میلی‌گرم بر لیتر بی‌هوش شدند(Velisek و همکاران، ۲۰۰۵). خون‌گیری از طریق قطع ساقه دمی صورت گرفت و هم‌چنین سرم خون نیز با استفاده از سانتریفیوژ(۳۰۰۰ دور در دقیقه) به‌مدت ۱۰ دقیقه به‌منظور اندازه‌گیری برخی پارامترها جدا گردید (دادوران و همکاران، ۱۳۹۲). نمونه‌ها یک ساعت در دمای اتاق و سپس به‌طور مورب در فلاسک یخ قرار گرفتند تا لخته به‌وجود آمده از سرم جدا شود. سپس نمونه‌ها به آزمایشگاه منتقل گردیدند و با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند تا سرم آن‌ها جدا شود. مقدار پروتئین کل براساس روش بیوره و با استفاده از کیت استاندارد، آلبومین و گلوبولین با استفاده از روش BCG و با استفاده از کیت‌های تشخیصی، گلوکز براساس روش آنزیمی گلوکز اکسیداز و در طول موج ۵۰۰ نانومتر، کلسترول پلاسما نیز به‌روش آنزیمی (CHO-PAP) در طول موج ۵۱۰ نانومتر و تری‌گلیسیرید براساس روش آنزیمی GPO-PAP و در طول موج ۵۱۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. شمارش کلی گلبول‌های قرمز به‌روش مستقیم با استفاده از لام نئوبار (هموسیتومتر) و گلبول‌های سفید با رقیق کردن خون به نسبت ۱ به ۵۰ با محلول رقیق کننده داسیس صورت گرفت. برای تعیین میزان هماتوکریت از روش میکروهماتوکریت استفاده و به‌منظور تعیین میزان هموگلوبین از روش سیانومت هموگلوبین و با استفاده از محلول درابکین استفاده شد.

اندیس‌های گلبولی یعنی حجم متوسط گلبولی (MCV)، میانگین هموگلوبین گلبولی (MCH) و غلظت متوسط هموگلوبین گلبول‌های قرمز (MCHC) با استفاده از فرمول‌های استاندارد موجود محاسبه شد (Thrall، ۲۰۰۴):

تعداد گلبول قرمز/۱۰ × هماتوکریت (٪) =MCV

تعداد گلبول‌های قرمز / هموگلوبین (میلی‌گرم بر دسی لیتر)=MCH

هماتوکریت (٪)/ هموگلوبین (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)× ۱۰۰=MCHC

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS (ویرایش ۲۰) و رسم نمودارها نیز در نرم‌افزار Excel انجام شد. برای تجزیه و تحلیل متغیرهای مورد بررسی در بین تیمارها از آزمون تجزیه واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) استفاده شد. آزمون دانکن برای مقایسه میانگین‌های تیمارها برای هر متغیر به‌کار گرفته شد. در تمام آزمون‌ها سطح حداکثر احتمال قابل قبول برای خطای نوع اول ٪۵ (P≤۰/۰۵) درنظر گرفته شد.

نتایج

آنالیز پارامترهای رشد: نتایج مربوط به مقایسه فاکتورهای رشد در تیمارهای تغذیه شده با خوراک حاوی دوزهای مختلف اسانس مورد و خوراک معمولی فاقد اسانس به‌عنوان تیمار شاهد در جدول ۳ آورده شده است، که نشان می‌دهد در پارامترهای وزن نهایی، وزن به‌دست آمده، ضریب رشد ویژه و شاخص وضعیت بین تمیارهای آزمایشی از نظر آماری اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (P>۰/۰۵).

جدول ۳: نتایج آزمون دانکن پارامترهای رشد در تیمارهای آزمایشی (انحراف معیار ± میانگین)

تیمار / پارامتر	شاهد (جیره پایه)	مورد ۳۰۰ppm	مورد ۵۰۰ppm	مورد ۷۰۰ppm
وزن نهایی (گرم)	۱۳/۳۴±۱/۶۶ a	۱۴/۱۵±۱/۴۹a	۱۳/۲۱±۱/۱۱ a	۱۳±۱a
وزن به‌دست آمده (گرم)	۱۲/۳۴±۱/۶۷a	۱۳/۱۵±۱/۴۲a	۱۲/۲۱±۱/۱۳ a	۱۲±۱ a
ضریب تبدیل غذایی	۰/۸۹±۰/۱۱ a	۰/۸۱±۰/۱۰ a	۰/۹۲±۰/۰۸ a	۰/۹۱±۰/۰۷ a
ضریب رشد ویژه (درصد/روز)	۴/۲۶±۰/۳۷ a	۴/۳۳±۰/۳۴ a	۴/۲۴±۰/۲۷ a	۴/۲۸±۰/۲۷ a

حروف غیرمشابه به معنی اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است.

آنالیز پارامترهای خونی: نتایج مربوط به مقایسه پارامترهای خونی در تیمارهای تغذیه شده با خوراک حاوی دوزهای مختلف اسانس مورد و خوراک معمولی فاقد اسانس به‌عنوان تیمار شاهد در جدول ۴ آورده شده است. نتایج آزمون دانکن پارامترهای خونی بین تیمارهای آزمایشی نشان می‌دهد که اختلاف معنی‌داری بین تمامی پارامترهای مورد بررسی به‌استثنای میزان هموگلوبین، غلظت هموگلوبین گلبولی وجود دارد (جدول ۴). گلبول سفید، آلبومین و پروتئین کل سرم بالاترین مقدار خود را در تیمار اسانس مورد با غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم و کم‌ترین مقدار خود را با اختلاف معنی‌دار (P<۰/۰۵) در تیمار شاهد داشتند. از نظر تعداد گلبول قرمز نیز تیمار عصاره گیاه موردبا غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم دارای بیش‌ترین تعداد گلبول قرمز (۱۱۳۷۰۰۰) و تیمار ۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم کم‌ترین میزان (۷۵۰۰۰۰)را دارد و از این نظر بین تیمارهای تفاوت معنی‌دار مشاهده می‌گردد (P<۰/۰۵). هموگلوبین و هماتوکریت روند مشابهی داشتند به گونه‌ای که بالاترین سطح هر دو پارامتر در تیمار اسانس گیاه مورد با غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم و کم‌ترین سطح را در تیمار ۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم با اختلاف معنی‌دار نشان دادند(p<۰/۰۵).

تری‌گلیسرید، کلسترول سرم خون و گلوگز بالاترین مقدار خود را در تیمار شاهد نشان دادند و کم‌ترین مقدار خود را در تیمار اسانس گیاه مورد با غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم نشان دادند.

جدول ۴: نتایج مقایسه میانگین پارامترهای خونی در تیمارهای آزمایشی (انحراف معیار ± میانگین)

	شاهد (جیره پایه)	مورد ۳۰۰ppm	مورد ۵۰۰ppm	مرزه ۷۰۰ppm
گلبول سفید (×۱۰^{۳})	۵/۱±۲۰۰^{c}	۶/۶۳۳±۱۵۳^{a}	۵/۲۹۳±۵۵^{b}	۵/۳۲۶±۶۴^{b}
گلبول قرمز (×۱۰^{۶})	۰/۸۴۸±۷۶۳۸^{b}	۱/۱۳۷±۹۵^{a}	۰/۷۵±۱۰۰^{c}	۰/۷۵۳± ۱۱۵^{d}
آلبومین (گرم/دسی‌لیتر)	۰/۶۱±۰/۱^{b}	۰/۹۶±۰/۰۱^{a}	۰/۸۹±۰/۰۱^{a}	۰/۸۷+-۰/۰۲^{a}
پروتئین کل (گرم/دسی‌لیتر)	۳/۹±۰/۰۵^{c}	۴/۸۵±۰/۱^{a}	۴/۳۳۳±۰/۱۲^{b}	۴/۲۵۶+-۰/۱۲^{b}
تری گلیسرید (میلی‌گرم/دسی‌لیتر)	۱۲۵±۲/۳۳^{a}	۱۰۸±۳/۱۳^{c}	۱۱۸±۲/۱۴^{b}	۱۲۰±۱^{b}
گلوکز (میلی‌گرم/دسی‌لیتر)	۱۰۹±۳/۷۷^{a}	۸۶/۷±۴/۸^{c}	۹۷/۲±۲/۳۳^{b}	۹۶±۲^{b}
کلسترول (میلی‌گرم/دسی‌لیتر)	۳۰۰±۱۰/۱^{a}	۱۳۴±۲۲/۷^{c}	۱۶۹±۱۰/۹^{b}	۱۷۲±۱۵/۶^{b}
هموگلوبین (گرم/دسی‌لیتر)	۶/۲۱±۰/۰۳ a	۶/۱۹±۰/۶۹^{a}	۶/۹۸±۰/۷۵ a	۶/۷۳±۰/۴ a
هماتوکریت (%)	۴۵/۶±۱/۱۵^{b}	۴۰/۳±۲/۵۱^{c}	۵۰/۶±۰/۵۷^{a}	۵۰±۱^{a}
MCV	۵۳۷/۷۴±۰/۰۱^{b}	۳۵۴/۴۴±۰/۰۵^{c}	۶۷۴/۶۶±۰/۰۰۵^{a}	۶۶۴/۰۱±۰/۰۵^{a}
MCH	۷/۳۲±۰/۰۱^{a}	۵/۴۴±۰/۱۰^{b}	۹/۳۱±۰/۴۴^{c}	۸/۹۳± ۰/۵۵□
MCHC	۱۳/۶۱±۰/۰۲^{a}	۱۵/۳۵±۰/۰۱□	۱۳/۷۹±۰/۰۱^{c}	۱۳/۴۶±۰/۰۱^{d}

حروف غیرمشابه به معنی اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است

بحث

محرک‌های رشد گیاهی مزیت‌های متعددی نسبت به محرک‌های رشد مصنوعی دارند. از این مزیت‌ها می‌توان به در دسترس بودن، آسیب کم‌تر برای محیط زیست و جانور و امکان تولید در سطح وسیع با قیمت پائین اشاره کرد. در تحقیق حاضر، ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان تغذیه کرده با سطوح مختلف عصاره مورد از نظر پارامترهای رشد و بازماندگی از جمله وزن حاصله، ضریب رشد ویژه و ضریب

تبدیل غذایی اختلاف معنی‌داری با شاهد نداشتند. یکی از دلایل این مسئله شاید این امر باشد که در طول دوره آزمایش یخبندان و کاهش شدید دما و گل آلودگی آب بسیاری مشاهده گردید و از طرفی در این تحقیق به‌دلیل کاهش دما و تلفات روزانه شدید از آوردن داده‌های مربوط به بازماندگی خودداری شده است که ممکن است سبب تاثیر بر روی ضریب تبدیل غذایی و وزن گیری شده و کاهش رشد را در پی داشته باشد (فلاحتکار و همکاران، ۱۳۸۵). این نتایج با تحقیق رحیمی یادکوری و همکاران (۱۳۹۴) مغایرت دارد. در تحقیق آن‌ها ماهی بنی در اثر افزودن سطوح مختلف عصاره زنجبیل افزایش رشد نشان داد، که با یافته‌های تحقیق حاضر مغایرت دارد.

در این مطالعه شمارش کلی گلبول‌های سفید خون در ماهیانی که اسانس‌های گیاهی را دریافت کرده‌اند نسبت به شاهد به‌صورت معنی‌داری بالاتر می‌باشند. گلبول‌های سفید خونی نقش عمده‌ای در سیستم دفاعی ماهی دارند و می‌توانند واکنش‌های ایمنی غیراختصاصی در ماهیان را تحریک کنند (Soltani، ۲۰۰۷). از طرفی بسیاری از مواد هومورال غیراختصاصی سیستم ایمنی ماهی توسط گلبول‌های سفید خونی ترشح می‌شوند که افزایش این فاکتورهای هومورال تحت تأثیر افزایش تعداد لکوسیت‌های خونی بوده است (Marian، ۲۰۰۴). بنابراین می‌توان ادعا نمود استفاده از این اسانس‌های گیاهی باعث افزایش ایمنی در بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌شود. حجم بالایی از اسانس برگ مورد را ترپینولن، سینئول، لینالول، ترپینئول و لینالول استات تشکیل می‌دهد. هم‌چنین در برگ این گیاه علاوه بر اسانس، تانن، فلاونوئید، ویتامین C (به‌میزان ۸۲ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم برگ خشک) نیز وجود دارد. گیاهانی که دارای فلاونوئید هستند (همانند آویشن و مورد)، فعالیت آنتی‌اکسیدانی ویتامین C را بیش‌تر می‌کنند و به‌همین دلیل سبب افزایش عملکرد سیستم ایمنی می‌شوند. Parlat (۲۰۰۵)، عنوان کرد که گیاهان دارویی و معطر به‌واسطه تولید متابولیت‌های ثانویه از به‌وجود آمدن تنش‌های فیزیولوژیکی و محیطی حاصل از میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا جلوگیری می‌کنند که تایید کننده نتایج تحقیق حاضر است.

در مطالعات دیگر نیز به‌کارگیری پودر نعناع فلفلی در جیره کپور معمولی و باس دریایی، عصاره سرخارگل در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان و عصاره گون در ماهی تیلاپیا نتایج مشابهی از نظر افزایش تعداد گلبول‌های سفید با تجویز گیاه دارویی گرفته شده است (پورغلام و همکاران، ۱۳۹۲؛ Ardo و همکاران، ۲۰۰۸). هم‌چنین در یک بررسی دیگر نیز استفاده از محرک‌های ایمنی لوامیزول و ارگوسان و هم‌چنین عصاره گیاهی اکیناسه پورپورآ باعث افزایش در تعداد گلبول‌های سفید نسبت به شاهد گردید (علیشاهی، ۱۳۹۱).

از نظر تعداد گلبول قرمز نیز تیمار عصاره گیاه مورد با غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم دارای بیش‌ترین تعداد گلبول قرمز (۱۱۳۷۰۰۰) و تیمار ۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم کم‌ترین میزان (۷۵۰۰۰۰) را دارد و از این نظر بین تیمارهای تفاوت معنی‌دار مشاهده گردید. اما این نتایج با مقادیر هموگلوبین خون ماهی مطابقت ندارد و تیمار ppm ۳۰۰ که بیش‌ترین میزان گلبول قرمز را دارد دارای کم‌ترین مقدار هموگلوبین است، اما این تفاوت بین تمامی تیمارها معنی‌دار نیست، هم‌چنین دارای کم‌ترین میزان هماتوکریت نیز می‌باشد و از این نظر با تیمارها اختلاف معنی‌دار دارد. می‌توان این مورد را اندیس‌های گلبولی توجیه کرد. شاخص غلظت هموگلوبین گلبولی (MCHC) و میزان هموگلوبین گلبولی (MCH) بین تیمارها معنی‌دار نمی‌باشد و از این نظر اختلاف چندانی بین آن‌ها وجود ندارد درحالی‌که از نظر شاخص حجم متوسط گلبولی (MCV) بین تیمارها تفاوت معنی‌دار وجود دارد و از این نظرتیمار ppm۳۰۰ دارای کم‌ترین مقدار و تیمار ppm ۵۰۰ و ppm ۷۰۰ دارای بیش‌ترین مقدار می‌باشند و اختلاف معنی‌داری بین تیمار ۵۰۰ و ۷۰۰ وجود ندارد. MCV شاخص وضعیت و اندازه گلبول‌های قرمز است. تیمار مورد ppm ۳۰۰ دارای بیش‌ترین تعداد گلبول قرمز و کم‌ترین میزان هموگلوبین و هماتوکریت و کم‌ترین میزان شاخص MCV می‌باشد، نشان‌دهنده این است که گلبول‌های قرمز منقبض شده‌اند که یا به‌دلیل کمبود اکسیژن و یا به‌دلیل کم خونی می‌باشد (Zarrin و همکاران، ۲۰۱۰).

این در صوتی است که افزودن سطوح مختلف ۳۰۰، ۵۰۰ و ۷۰۰ اسانس گیاه مورد اثر معنی‌داری روی میزان هموگلوبین خون نداشته است که این نتایج با مطالعه افزودن ۱ درصد اسانس مرزه بختیاری، آویشن دنایی، مرزه خوزستانی، زرین گیاه، پونه کوهی به جیره غذایی هم‌خوانی دارد (قاسمی‌پیربلوطی و همکاران، ۱۳۹۰). در یک مطالعات دیگر نیز با افزودن ویتامین C به‌عنوان محرک ایمنی به جیره تاثیری روی میزان هموگلوبین، پارامترMCV، MCH و MCHC خون ماهی مشاهد نگردید. البته پارامترهای خونی حیوانات خونسرد به‌ویژه ماهی برخلاف حیوانات خونگرم به‌طور قابل توجهی تحت تاثیر فاکتورهای مختلف مانند استرس، دما، فصل، تغذیه و... قرار گرفته و تابلوی خوبی برای بررسی وضعیت سلامت یا ایمنی ماهی به‌شمار نمی‌رود (Iwama و Nakanishi، ۱۹۹۶).

سنجش سطح پروتئین‌های سرم خون شاخص مناسبی برای بررسی وضعیت ایمنی شناسی ماهی می‌باشد (رضایی و همکاران، ۱۳۹۱). پروتئین کل پلاسما شامل پروتئین‌های آلبومین و گلوبولین است. تصور می‌شود که افزایش میزان آلبومین، گلوبولین و پروتئین سرم بیش‌تر در ارتباط با تحریک سیستم ایمنی غیراختصاصی میزبان باشد (Wiegertjes و همکاران، ۱۹۹۶). در این مطالعه از نظر میزان پروتئین

کل سرم و آلبومین بین تیمارها اختلافات معنی‌داری وجود داشت. در بین تیمارهای آزمایشی بیش‌ترین مقدار پروتئین کل و آلبومین مربوط به تیمار مورد ۳۰۰ می‌باشد و شاهد نیز کم‌ترین میزان را در هر دو پارامتر دارد. این افزایش پروتئین نسبت به شاهد نشان‌دهنده وجود اسیدهای آمینه در عصاره مورد که ناشی از ۴۸ درصد پروتئین در عصاره است، که سبب افزایش سنتز پروتئین در کبد و در نتیجه بالا رفتن پروتئین پلاسما شده است. Nya و Austin (۲۰۱۱) نیز پس از افزودن پودر سیر به جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان میزان پروتئین سرم به‌صورت معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت. هم‌چنین تاثیر گیاه آویشن شیرازی نیز روی ماهی کپور معمولی نتایج مشابهی از نظر میزان پروتئین سرم داشته‌است(Jha و همکاران، ۲۰۰۷). هم‌چنین متعاقب مصرف پودر نعناع فلفلی در ماهی کپور معمولی، عصاره زنجبیل (Dugenci و همکاران، ۲۰۱۳؛ Haghighi و Sharif Rohani، ۲۰۱۳) در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، عصاره آلوئه ورا در کپور معمولی (Alishahi و همکاران، ۲۰۱۰) و عصاره سیر در ماهی نیل تیلاپیا نتایج مشابهی در مورد افزایش پروتئین‌های سرم مشاهده شده است (Shalaby و همکاران، ۲۰۰۶). هم‌چنین Banaeeو همکاران (۲۰۱۱) در بررسی تاثیر عصاره گل ختمی بر روی فاکتورهای ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان عنوان کردند که‌افزایش سطوح آلبومین و گلوبین ممکن است سبب تقویت سیستم ایمنی ماهی‌ها شود که در تحقیق حاضر نیز این افزایش در اثر افزودن عصاره مورد مشاهده شد.

پارامترهای بیوشیمیایی دیگری از جمله گلوکز، تری‌گلیسیرید و کلسترول نیز اندازه‌گیری شدند. نتایج این مطالعه نشان می‌دهد افزودن اسانس گیاه مورد به جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در کاهش فاکتورهای بیوشیمیایی مثل گلوکز، تری‌گلیسرید، کلسترول موثر است. تغییر در سطح این پارامترها نشان‌دهنده تاثیر ترکیبات موجود در گیاه مورد بر مکانیسم‌های کنترل کننده جذب، ذخیره و متابولیسم گلوگز خون است. فلاونوتیدهای موجود در گیاهان می‌توانند از طریق ممانعت از مکانیسم انتقال گلوگز وابسته سدیم، جذب گلوگز روده را کاهش دهند (Song و همکاران، ۲۰۰۲). در کپور معمولی با اضافه کردن نعناع فلفلی به جیره میزان گلوکز تغییر کرد (Hajibeglou وSudagar،۲۰۱۰). غلظت گلوکز در ماهی بسیار به وضعیت فیزیولوژیک آن وابسته است بنابراین سطح گلوکز پلاسما می‌تواند افزایش، کاهش، یا ثابت نگه داشته شود (Mommsen و همکاران، ۱۹۹۹). در یک مطالعه دیگر نیز اثر ویتامین E و C به عنوان محرک سیستم ایمنی مورد بررسی قرار گرفتد و نتایج مشابه‌ای را گزارش کردند که غلظت گلوکز، تری‌گلیسرید و کلسترول سرم نسبت به تیمار شاهد کاهش یافته است (Sahin و همکاران، ۲۰۰۱).

در پایان می‌توان نتیجه گرفت که افزودن اسانس گیاه دارویی مورد به جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تاثیری روی شاخص‌های رشد و تغذیه‌ای ندارد. از طرفی استفاده از این اسانس موجب سبب تقویت سیستم ایمنی ماهی می‌شود. در مورد سطوح مورد استفاده در این مطالعه نیز سطح ppm ۳۰۰ نسبت به ۵۰۰ و ۷۰۰ نتایج بهتری را نشان داد. وجود ترکیبات مختلف فنلی، ترپنوئیدی و غیره در اسانس این گیاه دارویی می‌تواند تا حدودی توجیه کننده افزایش شاخص ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در تحقیق حاضر باشد. بنابراین استفاده از این مکمل خوراکی به‌عنوان محرک سیستم ایمنی در جیره غذایی قزل‌آلای رنگین‌کمان توصیه می‌شود و از این طریق می‌توان هزینه‌های درمان را کاهش‌داد و از آلودگی‌های زیست محیطی ناشی از مصرف داروهای شیمیایی جلوگیری به‌عمل آورد. هر چند که انجام مطالعات بیش‌تر به‌منظور تعیین سطح بهینه استفاده از این عصاره در جیره غذایی، اثرگذاری آن بر فعالیت آنزیم‌های گوارشی، تراکم باکتریایی روده، ترکیبات بدن و میزان مقاومت ماهی در برابر باکتری‌های بیماری‌زای شایع ضروری به‌نظر می‌رسد.

منابع

۱. **پورغلام، ر.؛ شریف‌روحانی، م.؛ صفری، ر.؛ سعیدی ،ع.ا.؛ بینایی، م.؛ نجفیان، ر.؛ بانکه‌ساز، ز.؛ تقوی، م.ج. و سپهداری، ا.، ۱۳۹۲.** اثر عصاره سرخارگل (*Echinacea purpurea*) بر برخی شاخص‌های ایمنی و بازماندگی قزل‌آلای رنگین‌کمان در برابر با استرپتوکوکوس اینیایی(*Streptococcus iniae*). مجله علمی شیلات ایران. دوره ۲۶، شماره ۳، صفحات ۱ تا ۱۲.

۲. **دادوران، پ.؛ قائنی، م. و عسکری‌ساری، ا.، ۱۳۹۲.** تاثیر عصاره گیاه سیر *Allium sativum* L بر برخی شاخص‌های خونی و ایمنی ماهی قزل‌آلای انگشت قد. مجله داروهای گیاهی. سال ۴، شماره ۴، صفحات ۱۶۲ تا ۱۶۹.

۳. **رحیمی‌یادکوری، ن.؛ زنگویی، ن.؛ موسوی، م. و ذاکری، م.، ۱۳۹۴.** تاثیر سطوح مختلف عصاره زنجبیل بر کارایی رشد، تغذیه و ترکیبات بیوشیمیای لاشه‌ماهی‌بنی (*Mesopotamichthys sharpeyi*) انگشت‌قد. مجله منابع طبیعی ایران. دوره ۶۸، شماره ۳، صفحات ۳۹۷ تا ۴۰۷.

۴. **رضایی، م.ه.؛ سوری‌نژاد، ا.؛ سلطانیان، س. و یوسف‌زادی، م.، ۱۳۹۱.** مطالعه برخی پارامترهای رشد و خون شناسی گربه ماهی پنگوسی *Pangasianodon hypophthalmus* با افزودن عصاره گیاه مریم گلی*Salvia macrosiphon* به جیره. مجله بوم شناسی آبزیان. شماره ۲، صفحات ۲۸ تا ۴۳.

۵. **علیشاهی، م.، ۱۳۸۳.** نقش محرک‌های ایمنی در آبزی‌پروری. مجله سازمان نظام دامپزشکی کشور. سال ۴، شماره ۳، صفحات ۳۳ تا ۳۸.

۶. **علیشاهی، م.؛ مهرزاد، م.؛ نامجویان، ف.؛ سبزواری‌زاده، م. و راضی‌جلالی، م.، ۱۳۹۱.** مقایسه اثر برخی محرک‌های ایمنی شیمیایی و گیاهی در اسکار *Astronotus ocellatus* مجله دامپزشکی ایران. دوره ۸، شماره ۲، صفحات ۵۸ تا ۶۸.

۷. **فلاحتکار، ب.؛ سلطانی، م.؛ ابطحی، ب.؛ کلباسی، م.ر.؛ پور کاظمی، م. و یاسمی، م.، ۱۳۸۵.** تأثیر ویتامین C بر برخی پارامترهای رشد، نرخ بازماندگی و شاخص کبدی در فیل ماهیان جوان پرورشی. مجله پژوهش و سازندگی. شماره ۷۲، صفحات ۹۸ تا ۱۰۳.

۸. **قاسمی‌پیربلوطی، ع.؛ پیرعلی، ا.؛ پیشکار، غ.ر.؛ جلالی، س.م.ع.؛ رئیسی، م.؛ جعفریان‌دهکردی، م. و حامدی، ب.، ۱۳۹۰.** اثر اسانس چند گیاه دارویی بر سیستم ایمنی ماهی قزل آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). فصلنامه داروهای گیاهی. سال ۲، شماره ۲، صفحات ۱۴۹ تا ۱۵۵.

۹. **نقی‌ها، ر.؛ هوشمند، م.؛ معمار، م.؛ حسینی‌فر، ش.؛ شفاعی پور، آ. و ساعی، م.ر.، ۱۳۹۵.** اثرات افزودن عصاره گیاه پونه، پروبیوتیک و فلورفنیکل بر ایمنی سلولی، برخی از باکتری‌های دستگاه گوارش و هیستومورفولوژی کبد و آبشش ماهی قزل آلای رنگین‌کمان. شیلات مجله منابع طبیعی. دوره ۶۹، شماره ۱، صفحات ۱۱۵ تا ۱۲۲.

۱۰. **Abdollahi, M.; Salehnia, A.; Mortazavi, S.H.; Ebrahimi, M.; Shafiee, A.; Fouladian, F.; Keshavarz, K. and Kazemi, A., 2003.** Antioxidant, antidiabetic, anti hyperlipidemic, reproduction stimulatory properties and safety of essential oil of *Satureja khuzestanica* in rat in-vivo: a oxicopharmacological study. Med. Sci. Monit. Vol. 9, pp: 331-335.

۱۱. **Alishahi, M.; Ranjbar, M.M.; Ghorbanpour. M.; Peyghan, R.; Mesbah, M. and Razi jalali, M., 2010.** Effects of dietary Aloe vera on specific and nonspecific immunity of Common carp (*Cyprinus carpio*). Rrev. Brasil. Zoo. Vol. 31, pp: 546-551.

۱۲. **Ardo, L.; Yin, G.; Xu, P.; Varadi, L.; Szigeti, G.; Jeney, Z. and Jeney, G., 2008**. Chinese herbs (*Astragalus membranaceus* and *Lonicera japonica*) and boron enhance the non-specific immune response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and resistant against Aeromonas hydrophila. Aquaculture. Vol. 275, pp: 26-33.

۱۳. **Aubin, J.; Gatesoupe, F.; Labbe, L. and Lebrun, L., 2005**. Trial of probiotics to prevent the vertebral column compression syndrome in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquac. Res. Vol. 36, pp: 758-767.

۱۴. **Bairwa, M.K.; Jitender, K.J.; Satyanarayana, Y. and Devivaraprasad Reddy, A., 2012**. Animal and plant originated immunostimulants used in aquaculture. J. Nati. Prod. Plant Res. Vol. 2, No. 3, pp: 397-400.

۱۵. **Banaee, M.; Sureda, A.; Mirvaghefi, A.R. and Rafei, G.R., 2011.** Effects of long-term silymarin oral supplementation on the blood biochemical profile of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Fish Physiol. Bioch. Vol. 37, pp: ۸۸۷-۸۹۶.

۱۶. **Dugenci, S.K.; Arda, N. and Cand, A., 2003.** Some medicinal plants as immuno stimulants for fish. J. Ethnopharamacology. Vol. 88, pp: 99-106.

۱۷. **Haghighi, M. and Sharif Rohani, M., 2013.** The effects of powdered ginger (*Zingiber officinale*) on the haematological and immunological parameters of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. J. Med. Plant. Herbal. Ther. Res. Vol. 1, pp: 8-12.

۱۸. **Hajibeglou, A. and Sudagar, M., 2010.** Immune response of common carp (*Cyprinus caprio*) fed with herbal immunostimulants diets. Agric. J. Vol. 5, No. 3, pp: 163-172.

۱۹. **Iwama, G. and Nakanishi, T., 1996.** The fish immune system. Academic Press. Chapter 3. innate Immunity in fish. London. pp: 73-114.

۲۰. **Jain, J. and Wu, Z., 2003.** Effect of traditional Chinese medicine on non-specific immunity and disease resistance of large yellow croaker *Psedcosciaena crocea* (Richardson). Aquaculture. Vol. 218, pp: 1-9.

۲۱. **Marian, M.P., 2004.** Growth and immune response of juvenile greasy groupers (*Epinephelus tauvina*) fed with herbal antibacterial active principle supplemented diets against *Vibrio harveyi* infections. Aquaculture. Vol. 237, pp: 9-20.

۲۲. **Mommsen, T.P.; Vijayan, M.M. and Moon, T.W., 1999.** Cortisol in teleosts: Dynamics, mechanisms of action and metabolic regulation. Rev. Fish Biol. Fish. Vol. 9, pp: 211-268.

۲۳. **Nya, E.J. and Austin, B., 2011**. Development of immunity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) to *Aeromonas hydrophila* after the dietary application of garlic. J. Fish. Shellfish. Immunol. Vol. 30, No. 3, pp: 845-850.

۲۴. **Platel, K.; Rao, A.; Saraswahi, G. and srinivasan, K., 2002.** Digestive stimulant action of three Indian spice mixes in experimental rats. Die Nahrung. Vol. 46, pp: 394-398.

۲۵. **Rao, Y.Y.; Das, B.K.; Iyotymayee, P. and Chakrabarti, R., 2006.** Effect of *Achyranthes aspera* on the immunity and survival of *Labeo rohita* infected with *Aeromonas hydrophila*. Fish. Shellfish. Immunol. Vol. 20, pp: 265-273.

۲۶. **Sahin, K.; Kuçuk, O.; Sahin, N. and Sari, M., 2001.** Effect of Vitamin C and Vitamin E on Lipid Peroxitation Status, some Serum Hormone, Metabolite, and Mineral Concentrations of Japanese Quails Reared under Heat Stress (34oC). Int. J. Vitam. Nutr. Res. Vol. 71, pp: 27-31.

۲۷. **Sakai, M., 1999.** Current research status of fish immuno stimulants, Aquaculture . Vol. 172, pp: 63-92.

۲۸. **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. Soc. Nutri. Sci. Vol. 131, pp: 1106-1108.

۲۹. **Sheikhzadeh, N.; Nofouzi, K.; Delazar, A. and Khani Oushani, A., 2011.** Immunomodulatory effects of decaffeinated green tea (*Camellia sinensis*) on the immune system of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Fish. Shellfish. Immunol. Vol. 31, pp: 1268-1269.

۳۰. **Sobhana K.S.; Mohan C.V. and Shankar, K.M., 2002.** Effect of dietary vitamin C on the disease susceptibility and inflammatory response of mrigal, *Cirrhinus mrigala*

(Hamilton) to experimental infection of Aeromonas hydrophila. Aquaculture. Vol. 207, pp: 225-238.

۳۱. **Soltani, M., 2007**. Fish and Shellfish Immunology. University of Tehran Press. Tehran, Iran.

۳۲. **Song, J.; Kwon, O.; Chen, S.; Daruwala, R.; Eck, P.; Park, J.B. and Levine, M., 2002.** Flovoniod inhibition of sodium-dependent vitamin C transport 1 (SVCT1) and glucose transporter isoform 2 (GLUT2), intestinal transporters for vitamin C and Gucose. J. Biol. Che. Vol. 277, No. 18, pp: 15252-15260.

۳۳. **Tavafi, M.; Ahmadvand, H.; Tamjidipoor, A.; Delfan, B. and Khalatbari, A.R., 2011.** Satureja khuzestanica essential oil ameliorates progression of diabetic nephropathy in uninephrectomized diabetic rats. Tissue Cell. Vol. 43, pp: 45-51.

۳۴. **Thrall, M.A., 2004.** Veterinary hematology and clinical chemistry. Lippincott Whiliams & Wilkins, New York. pp: 241, 277-288, 402.

۳۵. **Velisek, J.; Svobodova, Z. and Piaakova, V., 2005.** Effects of clove oil anaesthesia on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Acta. Vet. Brno. Vol. 74, pp: 139-146.

۳۶. **Wiegertjes, G.F.; Stet, R.J.M.; Parmentier, H.K. and Van Muiswinkel, W.B., 1996.** Immunogenetics of disease resistance in fish; a comparable approach. Dev. Comp. Immunol. Vol. 20, pp: 365-371.

۳۷. **Zarrin, M.; Amirrajab, N. and Sadeghi-Nejad, B., 2010.** In vitvo antifungal activity of *Satureja khuzestanica*, Pak. J. Med. Sci. Vol. 26, pp: 880-882.