

## تأثیر سطوح مختلف گیاهان دارویی در جیره بر برخی شاخص‌های خونی، بیوشیمیایی و ایمنی قزل‌آلای رنگین‌کمان پرورشی (*Oncorhynchus mykiss*) در مرحله پرواری

- **حمید رضانی\***: پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، ساری، ایران
- **محمد بینایی**: پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، ساری، ایران
- **حسن فضلی**: پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، ساری، ایران

تاریخ دریافت: خرداد ۱۳۹۷ تاریخ پذیرش: شهریور ۱۳۹۷

### چکیده

مطالعه تأثیر استفاده از گیاهان دارویی در جیره بر روی شاخص‌های خونی، بیوشیمیایی و ایمنی قزل‌آلای رنگین‌کمان پرورشی در مرحله پرواری در پژوهشکده اکولوژی دریای خزر در سال‌های ۹۶-۹۷ انجام شد. تعداد ۱۸۰ عدد قزل‌آلای رنگین‌کمان پرورشی با میانگین وزنی  $28/7 \pm 2/1$  گرم در ۹ عدد مخزن فایبرگلاس (به حجم ۱۵۰ لیتر و با حجم آبگیری ۱۰۰ لیتر) تقسیم گردیده و به مدت ۷ هفته با سه جیره غذایی حاوی صفر (شاهد)، ۲ و ۴ درصد مخلوط گیاهان دارویی (مخلوطی مساوی از شش گیاه دارویی از جمله شیرین بیان، یونجه، گل همیشه بهار، سنجد، آویشن و سیر) تغذیه شدند. میانگین بازماندگی در پایان آزمایش ۱۰۰ درصد بوده است. در انتهای دوره از ماهیان خونگیری شد و شاخص‌های خونی، بیوشیمیایی و ایمنی تیمارها مورد مقایسه آماری قرار گرفتند. نتایج به دست آمده نشان داد که در تعداد گلبول‌های قرمز، هماتوکریت و IGM ماهیان تغذیه شده با مخلوط گیاهان دارویی در غلظت ۴٪ تفاوت معنی‌داری با شاهد وجود دارد. نتایج حاصله مبین آن است که مخلوط گیاهان دارویی، دارای اثرات تقویت‌کننده سیستم ایمنی غیراختصاصی در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌باشد. بنابراین استفاده از این مخلوط گیاهان دارویی در سطح ۴٪ به عنوان محرک ایمنی در جیره ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، توصیه می‌شود ( $p < 0/01$ ).

**کلمات کلیدی:** قزل‌آلای رنگین‌کمان، گیاه دارویی، شاخص خونی، بیوشیمیایی و ایمنی



## مقدمه

ماهی‌ها به دلیل زیست در محیط‌های نامناسب، به کرات در معرض میکروارگانیزم‌های بیماری‌زا قرار دارند و استفاده از داروهای ضدباکتریایی در آبی‌پروری با خطراتی از جمله ایجاد مقاومت باکتری به داروها در بافت موجود مواجه بوده ضمن آن‌که در محیط‌زیست باقی می‌ماند و برای موجودات پایین دست سیستم نیز می‌تواند خطرناک باشد (Dorucu و همکاران، ۲۰۰۹). با این وجود تمایل به افزایش تولید غذاهای سالم و ایمن منجر به وضع قوانین محدودکننده استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها شده است. واکسیناسیون نیز می‌تواند جلو برخی از بیماری‌های آبزیان را بگیرد اما متاسفانه تکوین و توسعه واکسن‌ها در برابر بسیاری از عوامل بیماری‌زای بین سلولی هنوز با روند تولید موفقیت‌آمیزی همراه نبوده است (Fazlolahzadeh و همکاران، ۲۰۱۱) و به همین دلایل است که تحقیقات به خصوص در دهه گذشته به دنبال جایگزین‌های طبیعی می‌باشد. یکی از قوی‌ترین جایگزین‌ها، که بدون شک ممکن است بتواند جای آنتی‌بیوتیک‌ها را بگیرد، افزودنی‌های گیاهی خواهد بود. این افزودنی‌ها که از گیاهان دارویی و یا از عصاره آن‌ها به دست می‌آیند، به راحتی می‌توانند به غذا اضافه شوند. اخیراً، مطالعه بر روی امکان‌پذیری استفاده از افزودنی‌های گیاهی در آبی‌پروری شروع شده و در همین زمان اندک دامنه وسیعی از تحقیقات را به سمت خود معطوف ساخته است که نتایج متنوع و متفاوتی از اثر این افزودنی‌های گیاهی بر ایمنی (چه به صورت تحریکی و چه به صورت تلفیقی)، آنتی‌اکسیدانتی، آنتی‌باکتریال، تحریک‌کننده آنزیم‌ها و تحریک‌کننده جذب نیتروژن در پیکره ماهی از خود نشان داده است. همان‌طور که گفته شد مهم‌ترین مزیت آن این است که با توجه به طبیعی بودن، بر محیط‌زیست و سلامت مصرف‌کنندگان تهدیدی نخواهد بود (Gabor و همکاران، ۲۰۱۰). ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به عنوان یکی از ارزش‌ترین ماهیان اقتصادی و مهم‌ترین گونه سردآبی در صنعت آبی‌پروری کشور می‌باشد که تلاش در جهت بهبود شاخص‌های رشد و افزایش قدرت ایمنی این ماهی در برابر بیماری‌های متعدد باکتریایی افزایش فزاینده‌ای یافته است (Alishahi و همکاران، ۲۰۱۰). به عنوان مثال، در یک تحقیق، تاثیر برخی از افزودنی‌های گیاهی (شامل سیر، زنجبیل، پونه کوهی و سرگل‌خار) در جیره، بر رشد و عملکرد مصرف غذا در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به دست آمد (Gabor و همکاران، ۲۰۱۰). هم‌چنین تغذیه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با ۱٪ لوپین (*Lupinus perennis*)، عنبه (*Mangifera indica*) و گزنه (*Urtica dioica*) آزمایش شد (Austin و Awad، ۲۰۱۰). در ایران در خصوص استفاده از گیاهان دارویی در دهه گذشته آغاز و هم‌چنان ادامه دارد. در این راستا گزنه (*Nigella sativa*)، داروآش (*Viscum album*)، آلوئه‌ورا (*Aloe barbadensis*)،

گون (*Astragalus gummiter*)، سرخارگل (*Echinacea pupurea*)، پونه‌کوهی (*Mentha longifolia*)، چای سبز (*Camellia sinensis*)، زنجبیل (*Zingiber officinale*) و مرزه‌بختیاری (*Satureja bachtiarica*) در قزل‌آلای رنگین‌کمان مورد بررسی قرار گرفته است (پورغلام و همکاران، ۱۳۹۲؛ Haghghi و Sharif Rohani، ۲۰۱۳؛ Sheikhzadeh و همکاران، ۲۰۱۱). هدف از انجام این تحقیق استفاده از گیاهان دارویی در جیره و تاثیر آن بر روی سیستم‌های خونی و به خصوص ایمنی ماهی قزل‌آلا می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

این آزمایش در پاییز و زمستان ۱۳۹۶ به مدت ۷ هفته از اواخر آبان ماه ۹۶ تا اوایل دی ماه ۹۶ در سالن تکثیر و پرورش پژوهشگاه اکولوژی دریای خزر، واقع در فرح آباد شهرستان ساری (مرکز استان مازندران) انجام شد. در این آزمایش هر مخزن فایبرگلاس به عنوان واحد آزمایشی (تکرار) در نظر گرفته شد. کلیه پارامترها، به خصوص کیفیت آب برای تمام تیمارها یکسان بود. تعویض آب به صورت روزانه (یکبار در روز) صورت گرفت. تغییرات حرارتی تحت شرایط طبیعی محیط پرورش بوده است. تنها اثر متغیر بین تیمارهای مختلف نوع جیره در شروع آزمایش تعیین گردید. ماهیان در ابتدا و پایان دوره پرورش زیست‌سنجی شدند. بدین ترتیب تعداد ۱۸۰ عدد قزل‌آلای رنگین‌کمان پرورشی با میانگین وزنی  $28.7 \pm 2.1$  گرم در ۳ تیمار با ۳ تکرار، در ۹ مخزن فایبرگلاس به حجم آگیری ۱۵۰ لیتر که فقط ۱۰۰ لیتر آگیری می‌شد تقسیم گردیدند. این آزمایش به صورت بلوک کاملاً تصادفی طراحی شد.

**تهیه و آماده‌سازی جیره:** ابتدا شش نوع گیاه از جمله شیرین بیان، یونجه، گل همیشه بهار، سنجد، آویشن و سیر که همگی جز گیاهان دارویی می‌باشند (زرگری، ۱۳۶۸) خریداری گردید. خوشبختانه به جز یونجه که بذر آن خریداری گردید و سپس توسط آسیاب برقی خانگی مدل ناسیونال به پودر تبدیل شد، بقیه مواد اولیه به صورت پودر از عطاری خریداری گردید و به نسبت مساوی مخلوط گردید و در بطری‌های درب‌دار نگهداری گردید. به منظور آزمایش سه نوع جیره که به ترتیب جیره رایج در بازار با مخلوط گیاهی ۰٪ (شاهد) و جیره رایج در بازار مخلوط با گیاهان دارویی به میزان ۲٪ (جیره دوم) و جیره رایج در بازار مخلوط با گیاهان دارویی به میزان ۴٪ (جیره سوم) انتخاب شد. هدف از انتخاب این دوز به خاطر تاثیر بر قیمت جیره بوده که ارزان تمام شود. پلت از شرکت تولید خوراک آبزیان مازندران خریداری شد که آنالیز جیره پایه مورد استفاده در این مطالعه به صورت خلاصه در جدول ۱ آمده است. غذادهی دو بار در روز در ساعات ۸

**اندازه‌گیری رادیکال آزاد اکسیژن:** با توجه به محدودیت زمانی

برای اندازه‌گیری این فاکتور پس از انتقال نمونه‌های خونی به آزمایشگاه ابتدا این فاکتور اندازه‌گیری شد. برای سنجش رادیکال‌های آزاد اکسیژن مراحل به شرح ذیل بود:

آماده‌سازی نمونه: ۰/۵ میلی‌لیتر از خون هیپارینه با محلول هنکس به نسبت ۱/۱ حجم اولیه رقیق گردید. NaCl (Merck, Germany) ۸۰ گرم/لیتر، KCl (Merck, Germany) ۴ گرم/لیتر، Glucose (Merck, Germany) ۶۰۰ گرم/لیتر، Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>.H<sub>2</sub>O (Merck, Germany) ۹۰۰ میلی‌گرم/لیتر. بعد از تهیه محلول هنکس، pH محلول با استفاده از محلول هیدرواکسید سدیم (NaOH) ۰/۱ نرمال در pH ۷/۶ تنظیم شد. محلول فوق به‌عنوان استوک بوده و در زمان استفاده با آب مقطر استریل به میزان ۰/۱ رقیق می‌شد. محلول لومینول با فرمول زیر تهیه شد:

۰/۷۸ (Merck, Germany) KOH گرم، Boric acid (Merck, Germany) ۵-amino-2, 3-dihydro-1, 4-) Luminol (Germany) ۰/۶۱۸ گرم، (Sigma, USA) pathalazinedione ۱۴ میلی‌گرم آب مقطر ۱۰ میلی‌لیتر محلول ردامین با غلظت ۴-۱۰ مول با فرمول زیر محاسبه شد:

Rhodamin (Merck, Germany) (C<sub>28</sub>H<sub>31</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) ۰/۰۰۴۷ گرم،

آب مقطر ۱۰۰ میلی‌لیتر

**انجام آزمایش:** برای انجام این آزمایش از میکروپلیت‌های ۹۶ خانه‌ای استفاده شد. در هر چاهک میکروپلیت، ۲۰۰ میکرولیتر خون رقیق شده، ۱۰۰ میکرولیتر محلول لومینول و ۱۰۰ میکرولیتر محلول ردامین ریخته شد. پس از قرار دادن نمونه‌ها در چاهک میکروپلیت بلافاصله در محل خود در دستگاه Luminoscan Ascent (Thermo, Finland) قرار گرفته و دستگاه روشن گردید و سپس میزان رادیکال آزاد اکسیژن برحسب RLU/s قرائت شد (Binaei و همکاران، ۲۰۱۴). در این آزمایش برای هر نمونه ۳ مرحله تکرار انجام شد.

**فاکتورهای بیوشیمیایی خون:** اندازه‌گیری شاخص‌های پروتئین تام، آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آسپارات آمینوترانسفراز (AST) و آلومین، ایمونوگلوبولین تام (Igm) با استفاده از کیت‌های آزمایشگاهی (شرکت پارس آزمون، تهران) و به‌وسیله دستگاه اتوآنالایزر (مدل Eurolyser, Belgium) انجام پذیرفت.

اندازه‌گیری فعالیت لیزوزیم در سرم خون: برای تعیین میزان فعالیت لیزوزیم سرم از روش ارایه شده توسط Elis (۱۹۹۰) استفاده شد. سطح فعالیت لیزوزیم با استفاده از روش کدورت‌سنجی با استفاده از سوسپانسیون میکروکوکوس لیزیدیکتیکوس *Micrococcus lysodeikticus* (سیگما، آمریکا) و آنزیم مورا آمیداز صورت گرفت. به‌طور خلاصه، ۱۰ میکرولیتر از نمونه‌های سرم با ۲۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون

صبح و ۱۵ عصر انجام شد. غذادهی مطابق با درجه حرارت آب و اندازه ماهی (عمادی، ۱۳۶۷) که معمولاً به‌میزان ۱ تا ۵ درصد وزن بدن متغیر بوده، صورت گرفت. به‌منظور افزودن گیاهان دارویی به جیره ابتدا در یک ظرف پلاستیکی پلت را ریخته و سپس ۵ گرم روغن مایع خوراکی را در این ظرف ریخته و نهایتاً مخلوط گیاهی را به این ظرف افزوده و مخلوط می‌گردید تا مکمل به پلت بچسبد و آن‌گاه به ماهی داده می‌شدند.

**جدول ۱: درصد ترکیبات، اندازه ماهی و اندازه غذا در طول دوره آزمایش**

| اندازه ماهی (گرم) | قطر غذا (میلی‌متر) | پروتئین (%) | چربی (%) | فیبر (%) | خاکستر (%) | رطوبت (%) |
|-------------------|--------------------|-------------|----------|----------|------------|-----------|
| ۲۰-۳۰             | ۲ میلی‌متر         | ۴۰          | ۱۶       | ۲        | ۸          | ۱۱        |
| ۳۰-۶۰             | ۲-۳ میلی‌متر       | ۴۰          | ۱۶       | ۲        | ۸          | ۱۱        |

**روش بررسی هماتولوژی:** در پایان آزمایش از هر تیمار ۶ نمونه

ماهی، به‌طور تصادفی انتخاب و برای جلوگیری از بروز کم‌ترین استرس ابتداء ماهیان با ساچوک از داخل ونیرو برداشت شده و در داخل وان حاوی اسانس گل میخک به‌میزان ۰/۵ میلی‌لیتر قرار گرفتند. پس از آن که ماهیان بی‌هوش گردیدند وزن و طول کل ماهیان اندازه‌گیری و ثبت شد. پس از بی‌هوشی از ورید دمی هر ماهی ۲ سی‌سی خون با استفاده از سرنگ استریل استحصال گردید. میزان ۰/۵ سی‌سی خون به ظروف اپندرف حاوی ۵۰ میکرولیتر هیپارین اضافه گردید (Blaxhall, ۱۹۷۳). از خون هیپارینه جهت انجام آزمایشات هماتولوژی شامل تعیین میزان همانوکریت، هموگلوبین، تعداد گلبول سفید، تعداد گلبول قرمز، شمارش تفریقی گلبول‌های سفید، اندیس‌های خونی و تعیین میزان رادیکال آزاد اکسیژن استفاده شد. ۱/۵ سی‌سی به ظروف اپندرف فاقد ماده ضدانعقاد منتقل و در آزمایشگاه با سانتریفیوژ در دور ۵۰۰۰ دور در دقیقه به‌مدت ۱۰ دقیقه سرم نمونه‌ها جدا و جهت سنجش لیزوزیم، ایمونوگلوبولین، پروتئین تام، آلومین، AST، ALT تا روز انجام آزمایش در حرارت ۲۱- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

**آزمایشات خون‌شناسی:** شمارش گلبول قرمز و سفیدخون با

استفاده از روش دستی و توسط لام هماسیتومتر و با رقیق شدن خون به‌میزان ۱/۲۰۰ با محلول ریس انجام شد. اندازه‌گیری میزان همانوکریت خون به‌روش میکروهماتوکریت انجام شد به این ترتیب که خون به لوله‌های همانوکریت منتقل و به‌مدت ۵ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ در دقیقه سانتریفیوژ و سپس با استفاده از خط‌کش هماتوکریت قرائت گردید. اندازه‌گیری هموگلوبین توسط روش سیانومت هموگلوبین انجام شد. هم‌چنین، شمارش افتراقی گلبول‌های سفید خون (نوتروفیل، لنفوسیت، مونوسیت و ائوزینوفیل) نیز با تهیه گسترش خون و طبق روش توصیه شده Borges و همکاران (۲۰۰۴) انجام شد.



که برای تیمار اول (شاهد) با مکمل صفر درصد برابر ۷۳/۷۵۰ میلی گرم بر دسی لیتر بوده است و برای تیمار دوم (مکمل گیاهی ۰/۲٪) برابر ۷۵/۹۱۷ میلی گرم بر دسی لیتر بوده است و برای تیمار سوم (مکمل گیاهی ۰/۴٪) برابر ۱۲۶/۶۶۷ میلی گرم بر دسی لیتر بوده است، نتیجه گرفته شده که مخلوط گیاهان دارویی در سطح ۰/۴٪ با تاثیر بر روی سیستم ایمنی همورال و با افزایش آنتی بادی IGM بر روی قزل آلاهی رنگین کمان پرورشی تاثیر معنی داری داشته است (p < ۰/۰۱).

جدول ۲: مقایسه میانگین (SD ± میانگین) شاخص‌های خونی قزل آلاهی تغذیه شده با سطوح مختلف گیاهان دارویی

| شاخص                          | شاهد                         | ۰/۲                          | ۰/۴                          |
|-------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| گلوبول قرمز (میلیون/میلی متر) | ۱/۳۷۱۷ ± ۰/۰۶۶۱ <sup>a</sup> | ۱/۴۲۱۷ ± ۰/۰۶۷۷ <sup>a</sup> | ۱/۶۰۳۳ ± ۰/۰۳۰۱ <sup>b</sup> |
| گلوبول سفید (میلیون/میلی متر) | ۸۲۳۳ ± ۳۹۶/۳۷                | ۹۷۱۶ ± ۸۳۰/۰۴                | ۷۴۳۳ ± ۵۶۹/۰۱                |
| هموگلوبین (گرم/دسی لیتر)      | ۵/۶۵۰ ± ۰/۲۸۶                | ۵/۷۱۷ ± ۰/۲۶۵                | ۶/۴۱۷ ± ۰/۰۲۰۴               |
| هماتوکریٹ (درصد)              | ۳۸/۵۰ ± ۱/۳۸۴ <sup>a</sup>   | ۳۸/۳۳ ± ۱/۰۲۲ <sup>a</sup>   | ۴۴ ± ۱/۵۰۶ <sup>b</sup>      |
| لنفوسیت (%)                   | ۹/۸۱ ± ۳۳/۱۷۴                | ۹/۶۸ ± ۳۱/۶۶۲                | ۹/۷۳ ± ۱/۷۰۶                 |
| نوتروفیل (%)                  | ۱/۱۱ ± ۶۷/۱۷۴                | ۳/۱۷ ± ۱/۶۶۲                 | ۲/۵۰ ± ۱/۷۲۷                 |
| مونوسیت (%)                   | ۰/۰ ± ۰/۰                    | ۰/۰ ± ۰/۰                    | ۰/۰ ± ۱۷/۱۶۷                 |

عدم وجود حروف در هر ردیف نشان دهنده معنی دار نبودن اختلافات در هر ردیف می باشد (p > ۰/۰۵).

جدول ۳: تاثیر سطوح مختلف گیاهان دارویی بر برخی از شاخص‌های بیوشیمیایی و ایمنی قزل آلاهی رنگین کمان در انتهای دوره (SD ± میانگین)

| آنزیم سرمی در تیمار       | شاهد                        | ۰/۲                         | ۰/۴                          |
|---------------------------|-----------------------------|-----------------------------|------------------------------|
| lgm (میکروگرم/میلی لیتر)  | ۷۳/۷۵۰ ± ۵/۳۰۱ <sup>a</sup> | ۷۵/۹۱۷ ± ۱۱/۰۰ <sup>a</sup> | ۱۲۶/۶۶۷ ± ۳۷/۳۷ <sup>b</sup> |
| C4 (میلی گرم/دسی لیتر)    | ۸/۱ ± ۷۵۰/۰۶۴               | ۱۳/۲۸۳ ± ۲/۹۵               | ۱۸/۳۵۰ ± ۳/۴۵                |
| C3 (میلی گرم/دسی لیتر)    | ۴/۸ ± ۹۳/۵۸                 | ۴/۸ ± ۷۸/۲۶                 | ۶/۱ ± ۹۶/۳۴۰                 |
| آلبومین (گرم/دسی لیتر)    | ۲/۰ ± ۲۵۰/۱۲۵               | ۲/۲۸۳ ± ۰/۱۱۳               | ۲/۲۸۳ ± ۰/۲۱۶                |
| پروتئین کل (گرم/دسی لیتر) | ۳/۰ ± ۷۸۳/۵۲۶               | ۴/۶۵۰ ± ۱/۳۸۰               | ۳/۳۸۳ ± ۰/۱۱۹                |

عدم وجود حروف در هر ردیف نشان دهنده معنی دار نبودن اختلافات در هر ردیف می باشد (p > ۰/۰۵).

## بحث

مطالعه بر روی امکان پذیری استفاده از افزودنی‌های گیاهی در آبروی پروری شروع شده و در همین زمان اندک دامنه وسیعی از تحقیقات را به سمت خود معطوف ساخته است که نتایج متنوع و متفاوتی از اثر این افزودنی‌های گیاهی بر ایمنی (چه به صورت تحریکی و چه به صورت تلفیقی)، آنتی اکسیدانته، آنتی باکتریال، تحریک کننده آنزیم‌ها و تحریک کننده جذب نیتروژن در پیکره ماهی از خود نشان داده است. همان طور که گفته شد مهم ترین مزیت آن این است که با توجه به طبیعی

باکتری میکروکوکوس لیزیدیکتیکوس تهیه شده در بافرسیترات سدیم ۰/۰۵ مولار و pH برابر ۶/۲ به میزان ۰/۲ میلی گرم در لیتر اضافه گردید و جذب نوری اولیه در طول موج ۵۷۰ نانومتر اندازه گیری شد. در ادامه، جذب نوری ۰/۵ و ۴/۵ دقیقه بعد از انکوباسیون در دمای ۲۲ درجه سانتی گراد، قرائت گردید. در این مطالعه از لیزوزیم سفیده تخم مرغ لیوفیلیزه شده (سیگما) به منظور ترسیم منحنی استاندارد استفاده شد.

**تجزیه و تحلیل داده‌های مرتبط با هماتولوژی:** برای مقایسه فاکتورهای خونی در تیمارهای مختلف با استفاده از تجزیه واریانس یک طرفه (ANOVA) و برای مقایسه دو به دو میانگین‌ها از آزمون دانکن در سطح ۵ درصد انجام شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها نیز با استفاده از نرم افزار spss ۱۸ انجام شد. در این مرحله از تحقیق از میانگین داده‌ها به همراه اشتباه از معیار استفاده شد.

## نتایج

خلاصه نتایج حاصله از اندازه گیری پارامترهای محیطی (آب) در جدول ۲ ارائه شده است. براساس این نتایج دو پارامتر اکسیژن و pH دارای تغییرات اندک و پارامترهای درجه حرارت و شوری، تغییرات زیادی داشتند. به طوری که دمای آب ۲۳ به ۲۸ درجه سانتی گراد به ترتیب در ابتدا و انتهای دوره پرورش افزایش داشت. این وضعیت برای کلیه تیمارهای آزمایشی یکسان بوده است. ماهیان در کف و شنای واژگون در غلظت‌های ۵ و ۱۰ میلی گرم مشاهده گردید.

جدول ۲: خلاصه نتایج حاصل از اندازه گیری فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب مخازن در طول دوره پرورش ماهی (SD ± میانگین)

| شرح         | درجه حرارت °C | اکسیژن محلول mg/l | pH         | شوری ppt  |
|-------------|---------------|-------------------|------------|-----------|
| میانگین     | ۲/۲۴ ± ۱۳/۰۷  | ۲/۶۶ ± ۷/۸        | ۰/۱۷ ± ۷/۹ | ۰/۲ ± ۰/۹ |
| تعداد نمونه | ۱۴            | ۱۴                | ۱۴         | ۱۴        |

## نتایج حاصله از پارامترهای هماتولوژی: خلاصه نتایج پارامترهای

خونی پس از پایان آزمایش در جداول ۲ و ۳ مشاهده می شود. با توجه به تفاوت معنی دار در فاکتورهای هماتوکریٹ (HCT) که برای تیمار اول (شاهد) با مکمل صفر درصد برابر ۳۸/۵۰ درصد و برای تیمار دوم (مکمل گیاهی ۰/۲٪) برابر ۳۸/۳۳ درصد و برای تیمار سوم (مکمل گیاهی ۰/۴٪) برابر ۴۴ درصد بوده‌اند، گلوبول‌های قرمز (RBC) که برای تیمار اول (شاهد) با مکمل صفر درصد برابر ۱۰۶ × ۱/۳۷۱۷ سلول در میلی متر مکعب بوده‌است و برای تیمار دوم (مکمل گیاهی ۰/۲٪) برابر ۱۰۶ × ۱/۴۲۱۷ سلول در میلی متر مکعب بوده است و برای تیمار سوم (مکمل گیاهی ۰/۴٪) برابر ۱۰۶ × ۱/۶۰۳۳ سلول در میلی متر مکعب بوده است و IGM



مشتی بر روی سیستم ایمنی همورال داشته و با توجه به بی‌ضرری در جیره توصیه می‌شود.

## منابع

۱. پورغلام، ر.؛ شریف‌روحانی، م.؛ صفری، ر.؛ سعیدی، ا.ع.؛ بینایی، م.؛ نجفیان، ر.؛ بانکه‌ساز، ز.؛ تقوی، م.ج. و سپهداری، ا.، ۱۳۹۲. اثر عصاره سرخارگل بر برخی شاخص‌های ایمنی و بازماندگی قزل‌آلای رنگین‌کمان در برابر استرپتوکوکوس اینیایی. مجله علمی شیلات ایران. دوره ۲۶، شماره ۳، صفحات ۱ تا ۱۲.
۲. زرگری، ع.، ۱۳۶۸. گیاهان دارویی. جلد اول. موسسه انتشارات و چاپ دانشگاه تهران. ۹۴۷ صفحه.
۳. زرگری، ع.، ۱۳۶۸. گیاهان دارویی. جلد دوم. موسسه انتشارات و چاپ دانشگاه تهران. ۸۵۰ صفحه.
۴. سلطانی، م.؛ ظریف‌منش، ط. و ذریه‌الزهر، س.ج.، ۱۳۹۱. مطالعه تاثیر اسانس آویشن شیرازی (*Zataria multiflora*) بر میزان فعالیت سیستم عامل مکمل و لیزوزیم خون ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). مجله علمی شیلات ایران. دوره ۲۱، شماره ۴، صفحات ۱۳ تا ۲۲.
۵. عمادی، ح.، ۱۳۶۷. تکثیر و پرورش ماهی قزل‌آلا و ماهی آزاد. تهران. ۲۱۲ صفحه.
۶. قاسمی‌پیربلوطی، ع.؛ پیرعلی، ا.؛ پیشکار، غ.؛ جلالی، م.؛ ریسی، م.؛ جعفریان‌دهکردی، م. و بهزاد، ح.، ۱۳۹۰. اثر اسانس چند گیاه دارویی بر سیستم ایمنی قزل‌آلای رنگین‌کمان پرورشی (*Oncorhynchus mykiss*). نشریه گیاهان دارویی. شماره ۲، دوره ۲، صفحات ۱۴۹ تا ۱۵۵.
۷. Awad, E. and Austin, B., 2010. Use of lupin, *Lupinus perennis*, mango, *Mangifera indica*, and stinging nettle, *Urtica dioica*, as feed additives to prevent *Aeromonas hydrophila* infection in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Journal of Fish Diseases*. Vol. 33, pp: 413-420.
۸. Binaei, M.; Ghiasi, M.; Farabi, S.M.V.; Pourgholam, R.; Fazli, H. and Safari, R., 2014. Biochemical and hematological immunological parameters in juvenile beluga (*Husohuso*) following the diet supplemented with nettle (*Urticadioica*). *Fish Shellfish Immunol*. Vol. 36, pp: 46-51.
۹. Blaxhall, P.C. and Daisley, W., 1973. Routine haematological methods for use with fish blood. *J Fish Biol*. Vol. 5, pp: 771-781.
۱۰. Borges, A.; Scotti, L.V.; Siqueira, D.R.; Jurinitz, D.F. and Wassermann, G.F., 2004. Hematologic and serum biochemical values for jundia (*Rhamdiaquelen*). *Fish Physiology and Biochemistry*. Vol. 30, pp: 21-25.
۱۱. Dorucu, M.; Ozesen Colak, S.; Ispir, U.; Altinterim, B. and Celayir, Y., 2009. The Effect of Black Cumin Seeds, *Nigella sativa*, on the Immune Response of Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Mediterranean Aquaculture Journal*. Vol. 2, No. 2, pp: 1-7.
۱۲. Gabor, E.F.; Şara, A. and Barbu, A., 2010. The effects of some Phyto-additives on growth, health and meat quality on

بودن، بر محیط زیست و سلامت مصرف‌کنندگان تهدیدی نخواهد بود (Gabor و همکاران، ۲۰۱۰). نتایج بررسی حاضر نشان می‌دهد که سطح ۰.۴٪ تاثیر معنی‌داری بر روی اندیس‌های شاخص خونی داشته است به طوری که در فاکتورهای هماتوکریت (HCT) که برای تیمار اول (شاهد) با مکمل صفر درصد برابر ۳۸/۵۰ درصد و برای تیمار دوم (مکمل گیاهی ۰.۲٪) برابر ۳۸/۳۳ درصد و برای تیمار سوم (مکمل گیاهی ۰.۴٪) برابر ۴۴ درصد بوده‌اند، گلبول‌های قرمز (RBC) که برای تیمار اول (شاهد) با مکمل صفر درصد برابر  $10^6 \times 1/3717$  سلول در میلی‌متر مکعب بوده است و برای تیمار دوم (مکمل گیاهی ۰.۲٪) برابر  $10^6 \times 1/4217$  سلول در میلی‌متر مکعب بوده است و برای تیمار سوم (مکمل گیاهی ۰.۴٪) برابر  $10^6 \times 1/6033$  سلول در میلی‌متر مکعب بوده است و IGM که برای تیمار اول (شاهد) با مکمل صفر درصد برابر  $73/750$  میلی‌گرم بر دسی‌لیتر بوده است و برای تیمار دوم (مکمل گیاهی ۰.۲٪) برابر  $75/917$  میلی‌گرم بر دسی‌لیتر بوده است و برای تیمار سوم (مکمل گیاهی ۰.۴٪) برابر  $126/667$  میلی‌گرم بر دسی‌لیتر بوده است. نتیجه آن که استفاده از مخلوط گیاهان دارویی در سطح ۰.۴٪ در جیره مصرفی تاثیرات معنی‌دار بر روی HCT و RBC با ضریب اطمینان ۰.۹۵/ داشته است ( $p < 0/05$ ) و تاثیر آن بر روی سیستم ایمنی اختصاصی IGM با ضریب اطمینان ۰.۹۹٪ بوده است ( $p < 0/01$ ) نهایتاً آن که تاثیر اساسی بر روی سیستم ایمنی همورال و با افزایش آنتی‌بادی IGM بر روی قزل‌آلای رنگین‌کمان پرورشی تاثیر معنی‌داری داشته است ( $p < 0/01$ ). بررسی‌های دیگر توسط محققین انجام شده به طوری که، اثر اسانس آویشن بر روی سیستم ایمنی خون ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان پرورشی اثر معنی‌دار داشته است (سلطانی و همکاران، ۱۳۹۱) که با آزمایشات انجام شده فوق هم‌خوانی دارد. هم‌چنین اثر سیر بر رشد و ایمنی هیبرید تیلاپیا (*Oreochromis niloticus* × *Oreochromis ureus*) مطالعه شد. در مطالعه آن‌ها با استفاده از ۰/۵ گرم بر کیلوگرم مکمل سیر، بهبود معنی‌داری بر شمار لکوسیت‌های خون تنفسی این ماهی، فعالیت فاگوسیت‌کنندگی، ضریب فاگوسیت‌ه و فعالیت آنزیمی به‌دست آمد و سیر ویژگی‌های محرکی سیستم ایمنی خوبی را در این ماهی هیبرید از خود نشان داد (Fall و Ndong، ۲۰۱۱). هم‌چنین اثر اسانس چندگیاه دارویی از جمله آویشن بر سیستم ایمنی ماهی قزل‌آلا رنگین‌کمان پرورشی با تاثیر بر میزان Igm اثرات معنی‌دار داشته است (سلطانی و همکاران، ۱۳۹۱). هم‌چنین تاثیر مخلوط اسانس چند گیاه دارویی به‌خصوص پونه و مرزه بختیاری با تقویت سیستم ایمنی بر روی قزل‌آلای رنگین‌کمان با موفقیت آزمایش شد (قاسمی‌پیربلوطی و همکاران، ۱۳۹۰) که با نتایج این تحقیق هم‌خوانی دارد. در مجموع توصیه می‌شود استفاده از مکمل گیاهی فوق در سطح ۰.۴٪ تاثیرات



- different species of fish. Scientific Papers: Animal Sciences and Biotechnologies. Vol. 43, No. 1, pp: 61-65.
۱۳. **Ellis, A.E., 1990.** Lysozyme assay, techniques in fish immunology. 2<sup>nd</sup> end. Fair Haven, USA. pp: 100-102.
۱۴. **Fazlollahzadeh, F.; Keramati, K.; Nazifi, S.; Shirian, S. and Seifi, S., 2011.** Effect of Garlic (*Allium sativum*) on Hematological Parameters and Plasma Activities of ALT and AST of Rainbow trout in Temperature Stress. Australian Journal of Basic and Applied Sciences. Vol. 5, No. 9, pp: 84-90.
۱۵. **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*. Journal of medicinal plant and herbal Therapy research. Vol. 1, pp: 8-12.
۱۶. **Ndong, D. and Fall, J., 2011.** The effect of garlic (*Allium sativum*) on growth and immune responses of hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* x *Oreochromis aureus*). Journal of Clinical Immunology and Immunopathology Research. Vol. 3, No. 1. pp: 1-9.
۱۷. **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 and shellfish immunology. Vol. 31, pp: 1268-1269.

