تجویز خوراکی اسانس اسطوخودوس (*Lavandula officinalis*) بر شاخص‌های رشد، خونی و ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

- **فاطمه حسنعلی‌زاده‌چاری**: گروه شیلات، واحد آزادشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، آزادشهر، ایران
- **رضا اکرمی***: گروه شیلات، واحد آزادشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، آزادشهر، ایران
- **افشین قلیچی**: گروه شیلات، واحد آزادشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، آزادشهر، ایران
- **پونه ابراهیمی**: گروه شیمی دانشکده علوم پایه دانشگاه گلستان، گرگان، ایران

تاریخ دریافت: آبان ۱۳۹۷ تاریخ پذیرش: بهمن ۱۳۹۷

چکیده

به‌منظور بررسی اثر اسانس اسطوخودوس (*Lavandula officinalis*) بر شاخص‌های رشد، فاکتورهای خونی، و ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)، آزمایشی در قالب طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی با چهار تیمار در سه تکرار انجام شد. تیمار آزمایشی شامل اسانس اسطوخودوس ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌لیتر در یک کیلوگرم از جیره بود. تیمار شاهد نیز بدون استفاده از اسانس گیاهی و با شرایط یکسان با دیگر تیمارها درنظر گرفته شد. مطابق نتایج، بیش‌ترین درصد افزایش وزن، طول، ضریب رشد ویژه، درصد بازماندگی و تولید خالص ماهی در تیمارهای ۱ و ۲ میلی‌لیتر اسانس در یک کیلوگرم جیره مشاهده شد. ضریب تبدیل غذایی با افزایش مقادیر اسانس، به‌طور معنی‌داری کاهش نشان داد. بالاترین میزان گلبول‌های قرمز، گلبول‌های سفید، غلظت متوسط هموگلوبین و نوتروفیل مربوط به ۲ میلی‌لیتر اسانس در جیره بود. میزان هموگلوبین، میانگین حجم متوسط گلبولی، هموگلوبین متوسط گلبولی، مونوسیت و ائوزینوفیل تحت تاثیر تیمارهای مختلف اسانس در مقایسه با شاهد قرار نگرفت. نتایج به‌دست آمده نشان داد که سیستم ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان نظیر فعالیت کمپلمان پلاسما، آنزیم‌های لیزوزیم، آنزیم سوپراکسید دیسموتاز، ایمونوگلوبولین M سرم خون و ایمنوگلبولین تام سرم با افزایش مقادیر اسانس افزایش یافت. در مجموع افزودن اسانس اسطوخودوس به‌ویژه ۱ و ۲ میلی‌لیتر به جیره ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان موجب تاثیر مثبت و معنی‌دار بر برخی از شاخص‌های رشد، فاکتورهای خونی و سیستم ایمنی آن‌ها شد. این امر احتمالاً به‌دلیل وجود ترکیباتی نظیر فنل‌ها، تانن‌ها و مونوترپن‌ها موجود در اسانس اسطوخودوس می‌باشد. لذا استفاده از آن به‌عنوان مکمل غذایی در جیره پایه پیشنهاد می‌شود.

کلمات کلیدی: اسانس اسطوخودوس، شاخص‌های رشد، فاکتورهای خونی و ایمنی، ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: akrami.aqua@gmail.com

مقدمه

دستیابی به تولیداقتصادی قزل‌آلای رنگین‌کمان مستلزم استفاده مناسب از غذا و ترکیب مناسب اجزای جیره غذایی به شکلی است که بتواند علاوه بر تأمین نیازهای اولیه، موجب بهبود شرایط رشد، مقاومت در برابر شرایط نامناسب محیطی، کاهش تلفات، ماهیانی با وزن بالاتر و در نهایت دستیابی به تولیدی بالاتر در شرایط پرورشی گردد (Amar و همکاران، ۲۰۰۴). پرورش متراکم ماهیان با مشکلاتی ازجمله افزایش استرس، کاهش اکسیژن محلول در آب، افزایش مواد دفعی، آمونیاک و غیره همراه است که این عوامل بر فیزیولوژی ماهیان اثر گذاشته و احتمال مواجه شدن آن‌ها با عوامل بیماری‌زا را افزایش می‌دهد و این شرایط برای سلامت ماهیان مخاطره‌آمیز خواهد بود (Sakai، ۱۹۹۸). بنابراین تقویت و ارتقای دستگاه ایمنی و دفاعی بدن ماهیان مخصوصاً در گونه‌های اقتصادی از قزل‌آلای رنگین‌کمان از اصلی‌ترین نیازهای پرورش‌دهندگان است. علی‌رغم رشد قابل توجه صنعت پرورش قزل‌آلا در ایران، هنوز استفاده از روش‌های پیشگیری و کنترلی مانند استفاده از گیاهان دارویی عملیاتی نشده است. گیاهان دارویی حاوی ترکیبات پلی‌فنل، آلکالوئید، لکتین (lectine)، ترپنوئید (terpenoid)، کوئینون (quinone)، پلی‌پپتید و غیره می‌باشند که بنابه دلایلی هم‌چون ارزش اقتصادی و کم هزینه بودن تولید آن‌ها، نداشتن اثرات تخریبی بر محیط‌زیست (داروهای ارگانیک)، کم بودن عوارض جانبی در مقایسه با داروهای شیمیایی، عدم ایجاد مقاومت نسبی عوامل بیماری‌زای عفونی به داروهای گیاهی، انحصاری بودن درمان برخی بیماری‌ها با گیاهان دارویی و وجود تجربیات مختلف بالینی در رابطه با گیاهان دارویی منجر شده تا این منابع ارزشمند دارویی از ارزش و جایگاه خاصی در درمان برخوردار باشند (قاسمی‌پیربلوطی، ۱۳۸۸؛ قاسمی‌پیربلوطی و همکاران، ۱۳۹۰). به‌هرحال گیاهان دارویی می‌تواند به‌عنوان محرک‌های ایمنی جایگزین مناسبی برای آنتی‌بیوتیک‌ها، واکسن‌ها و ترکیبات سنتزی باشند (Raoو همکاران، ۲۰۰۶؛ Ardo و همکاران، ۲۰۰۸). با درنظر گرفتن بیماری‌های متعددی که در مزارع پرورش ماهی به چشم می‌خورد و به‌همراه استفاده بی‌رویه و کنترل نشده از آنتی‌بیوتیک‌ها و ضدعفونی کننده‌ها، چنان‌چه اسانس‌های گیاهی قادر به پیشگیری از بروز بیماری‌های عفونی باشند، لذا استفاده از آن‌ها بایستی توصیه شود (رئیسی و همکاران، ۱۳۹۳). گزارش شده است که بیش‌تر اسانس‌ها در داشتن گروه‌های فعال فنلی در ساختارشان با یکدیگر مشترک هستند. اسانس‌ها در واقع به‌صورت پیش‌سازهای غیرفعال ذخیره شده در بافت‌های گیاهی تولید و در پاسخ به تنش‌های محیطی آزاد می‌گردند (سلطان‌دلال و همکاران، ۱۳۹۱؛ Mohajerfar و همکاران، ۲۰۱۲). یکی از این گیاهان که می‌توان به آن اشاره کرد، اسطوخودوس می‌باشد. اسطوخودوس با نام علمی *Lavandula officinalis*، گیاهی چندساله و همیشه سبز از خانواده نعناعیان است. این گیاه بومی اروپا می‌باشد و چون در ایران به‌صورت خودرو رشد نمی‌کند، تهیه و تولید آن صرفاً از طریق کشت امکان‌پذیر است. ارتفاع گیاه بین ۳۰ تا ۶۰ سانتی‌متر، گل‌ها به‌صورت خوشه انتهایی و مجتمع در رأس ساقه می‌باشد(امیدبیگی، ۱۳۸۵؛ Dadman و همکاران، ۲۰۰۷). قسمت مورد استفاده اسطوخودوس، اندام‌های هوایی به‌خصوص گل و برگ آن است که حاوی بیش از ۳ درصد اسانس می‌باشد. تجزیهٔ اسانس گیاه اسطوخودوس در امریکا نشان داد که لینالول استات (۳۷/۸ درصد)، و ۸ سینئول (۳۴/۵۲ درصد)، کامفور (۹/۲۲ درصد) و فنچول (۲/۸۹ درصد) از ترکیبات شاخص گیاه مذکورند Zheljazkov و همکاران، ۲۰۱۳). هر چند تحقیقی روی اثر اسانس اسطوخودوس بر ماهی قزل‌آلا انجام نشده‌است، اما مطالعاتی در ارتباط با اثر اسانس‌های گیاهی در جیره ماهیان بر رشد و عملکردهای فیزیولوژیک آبزیان انجام شده است. در این زمینه، سلطانی و همکاران (۱۳۹۱) در بررسی تاثیر اسانس آویشن شیرازی (*Zataria multiflora*) بر میزان فعالیت سیستم عامل مکمل و لیزوزیم خون ماهی‌قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) گزارش نمودند که میانگین عامل مکمل در روزهای اول و هشتم نمونه‌برداری در گروه‌های تغذیه شده با غلظت‌های ۱۰، ۲۰ و ۴۰ میلی‌لیتر اسانس آویشن شیرازی به‌ازاء هر کیلوگرم غذا نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌دار داشته است، اما در روزهای پانزده و بیست و نهم نمونه‌برداری بین گروه شاهد و گروه‌های تیمار تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. نتایج مربوط به میزان فعالیت لیزوزیم سرم در روزها و در تیمارهای مختلف نشان داد که تفاوت آماری معنی‌داری باگروه شاهد وجود نداشت. عبدی و علیشاهی (۱۳۹۲) در آزمایشی با بررسی اثر ماده محرک ایمنی ایمونوفن (اسانس گیاه اکیناسه) بر شاخص‌های رشد و ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان انگشت‌قد گزارش نمودند که اسانس گیاه اکیناسه (*Echinacea purpurea*) موجب بهبود شاخص‌های رشد نظیر افزایش وزن و درصد افزایش وزن، افزایش طول، ضریب تبدیل غذایی، ضریب رشد ویژه و پاسخ ایمنی لیزوزیم سرم خون ماهی قزل‌آلا در شرایط استخر پرورش ماهی شد. عزیزی و همکاران (۱۳۹۵) در بررسی اثر جیره‌غذایی حاوی‌اسانس آویشن (*Thymus vulgaris*) بر عملکرد رشد، فراسنجه‌های خونی و بیوشیمیایی سرم ماهی‌قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) گزارش نمودند که بین تیمارهای تحت اسانس آویشن و شاهد تفاوت معنی‌داری از لحاظ پارامترهای رشد مانند میانگین وزن نهایی، افزایش وزن، درصد افزایش وزن، ضریب تبدیل غذایی و نرخ رشد ویژه وجود ندارد ($p>0/05$). هم‌چنین میزان هموگلوبین، هماتوکریت و تعداد گلبول قرمز ماهی‌قزل‌آلای رنگین کمان تحت تیمارهای آویشن در مقایسه با شاهد اختلاف معنی‌داری

نشان ندادند. علی‌رغم مطالعات مختلف در زمینه کاربرد اسانس گیاهان دارویی به‌عنوان محرک‌های ایمنی تقویت سیستم ایمنی، تحقیق جامعی درخصوص استفاده از اسانس اسطوخودوس در تغذیه ماهی قزل‌آلای جوان پرورشی انجام نگرفته است. لذا، آزمایشی به‌منظور ارزیابی اثر مقادیر مختلف اسانس اسطوخودوس بر شاخص‌های رشد، مشخصه‌های خونی و ایمنی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) انجام شد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در مزرعه پرورشی واقع در شیرآباد از توابع شهر خان ببین استان گلستان در سال ١٣٩۶ به اجرا در آمد. آزمایش در استخر پرورشی حاوی قفس‌هایی با تور و چوب نراد به ابعاد ٨٠ در ١٢٠ سانتی‌متر انجام شده است. در هر قفس ٢٣ عدد بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) با وزن متوسط ٢±١٠ گرم و میانگین طول ١±١٨ سانتی‌متر بود. منبع تامین آب مصرفی ماهیان قزل‌آلا از رودخانه شیرآباد بوده است. در طی دوره پرورش، خصوصیات کیفی آب به‌شرح جدول ١ مورد اندازه‌گیری قرار گرفت.

جدول ١: مشخصات فیزیکی و شیمیایی آب

مشخصه	مقدار
اکسیژن محلول در آب (میلی‌گرم بر لیتر)	٧/٩٧
درصد اشباع اکسیژن محلول در آب (درصد)	٨١/٧
دمای آب (درجه سانتی‌گراد)	١٢
ضریب هدایت الکتریکی (میکرو زیمنس بر سانتی‌متر)	٣٩٥
کل جامدات محلول در آب (میلی‌گرم در لیتر)	١٨٩/۶
شوری (درصد)	٠/١٩
pH	٨/٠٧

به‌منظور آماده‌سازی غذا، اسانس اسطوخودوس از شرکت باریج اسانس با خلوص ١٠٠ درصد حاوی پروفایل به‌شرح جدول ٢، تهیه شد. بدین‌منظور، غذای کنسانتره تجاری مخصوص قزل‌آلای پرورشی از شرکت فرا دانه تهیه شد (جدول ٣). جهت آماده‌سازی غذا، اسانس اسطوخودوس به‌میزان ٠/٥، ١، ٢ میلی‌لیتر در یک کیلوگرم غذا به‌صورت یکنواخت بر سطح آن اسپری شد. برای تیمار شاهد، تنها جیره پایه غذایی در نظر گرفته شد. به‌منظور محافظت غذاها و جلوگیری از رها شدن اسانس‌ها و ورود آن به محیط آب، غذاهای آماده شده به‌وسیله لایه‌ای از ژلاتین گاوی پوشانده شد (Ramsden و همکاران، ٢٠٠٩). بدین‌منظور، محلول ١٠ درصد ژلاتین گاوی در آب مقطر تهیه و سپس به‌مقدار ٥٠ میلی‌لیتر بر ۴٠٠ گرم غذا به‌طور یکنواخت اسپری گردید. غذای حاوی اسانس در دمای پایین و معمول اتاق برای جلوگیری از بخار شدن اسانس، خشک گردید. جیره‌های آماده شده برای اعمال گروه‌های تیماری توزین، بسته‌بندی و کدگذاری شده و به کیسه‌های نایلونی زیپ‌دار منتقل گردید. تیمارهای مورد بررسی تا زمان استفاده در یخچال در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شد (کندر و همکاران، ١٣٩٢).

جدول ٢: پروفایل اسانس اسطوخودوس مورد بررسی

ردیف	آزمایش	نتایج
١	Limonene (%)	١٢/٢۴
٢	Cineole	٣۶/۴٥
٣	٣-octanone	_
۴	Camphor	٣٣/٠۴
٥	Linalol	٩/۶٩
۶	٢	_
٧	Terpine٣ne-4-ol	٠/٨٧
٨	Lavandul4yl acetate	_
٩	Lavan5dulol	_
١٠	α-terp6ineol	٠/٣۶

جدول ٣: ترکیبات خوراک (خوراک آغازین SFT3)

ترکیبات خوراک	میزان (درصد)
پروتئین خام	۴۶-٥٠
چربی خام	١١-١٥
فیبر خام	١/٥-٣
خاکستر	٩-١٣
رطوبت	٥-١١
فسفر	١-١/٥

این آزمایش در قالب طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی با ۴ تیمار در سه تکرار به‌مدت ۶٠ روز انجام شد. عملیات زیست‌سنجی در ۶ نوبت (هر ١٠ روز یک‌بار) در طی دوره آزمایش انجام شد. سپس شاخص‌های رشد، مشخصه‌های خونی و ایمنی قزل‌آلای رنگین‌کمان تحت تیمارهای مختلف اسانس مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. برای سنجش مشخصه‌های خونی و ایمنی ماهی قزل‌آلا، بعد از مدت ۶٠ روز از پرورش و گذشت ٢۴ ساعت از زمان قطع تغذیه و اطمینان کامل از دفع محتویات لوله گوارش، از هر تیمار ۶ قطعه ماهی (مجموعاً ٢۴ نمونه) به‌صورت تصادفی صید شده و عملیات خون‌گیری از رگ دمی واقع در پشت باله مخرجی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان انجام شد. جهت این امر از سرنگ‌هایی به حجم ٢ سی‌سی استفاده گردید. بعد خون‌گیری از این ماهیان، ٠/٥ سی‌سی از خون به‌داخل ویال آغشته به ماده ضدانعقاد خون (هپارین) برای انجام مطالعات فاکتورهای خونی ریخته و ١/٥ سی‌سی باقی‌مانده آن به‌داخل ویال غیرهپارینه برای بررسی فاکتورهای ایمنی قرار داده شد. برای انجام مطالعات ایمنی،

ابتداخون موجوددر لوله‌های اپندروف فاقدماده‌ضدانعقادخون (هپارین) توسط سانتریفیوژ مدل Labofuge ساخت شرکت Heraeussepatch با ۵۰۰۰ دور در دقیقه به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد.سپس‌سرم آن جدا و با سمپلر در اپندروف‌های تازه ریخته و در پایان نمونه‌ها در یک کلمن حاوی یخ خشک قرار داده و به دور از تکان‌های شدید به آزمایشگاه ویرومد واقع در استان گیلان ارسال گردید. لازم به ذکر است در هنگام خون‌گیری از مواد بی‌هوش کننده به علل احتمال تاثیر بر روی سطوح شاخص‌های خونی استفاده نگردید (Jalali-hajiabadi و همکاران، ۲۰۰۹).

اندازه‌گیری شاخص‌های رشدی: شاخص‌های رشد نظیر وزن نهایی، درصد افزایش وزن بدن، ضریب رشد ویژه، تولید خالص ماهی، ضریب تبدیل غذایی، درصد بازماندگی و تولید خالص ماهی مطابق روابط ذیل مورد محاسبه قرار گرفت (Teimouri و همکاران، ۲۰۱۳).

رابطه (۲) =درصد افزایش وزن بدن

[میانگین وزن ابتدای دوره به گرم / (میانگین وزن ابتدای دوره به گرم– میانگین وزن انتهای دوره به گرم)] ×۱۰۰

رابطه (۳) =ضریب رشد ویژه

[زمان/ (لگاریتم طبیعی میانگین وزن اولیه به گرم - لگاریتم طبیعی میانگین وزن نهایی به گرم)] ×۱۰۰

رابطه (۴) = ضریب تبدیل غذایی

افزایش وزن بدن (گرم)/ مقدار غذای خورده شده (گرم)

رابطه (۵) =درصد بازماندگی

(تعداد بچه‌ماهیان باقی‌مانده در انتهای دوره/ تعداد بچه‌ماهیان ابتدای دوره) ×۱۰۰

رابطه (۶) = تولید خالص ماهی

(تعداد ماهیان باقی‌مانده انتهای دوره) × [(میانگین وزن اولیه به گرم / میانگین وزن نهایی به گرم)]

اندازه‌گیری مشخصه‌های خونی: آزمایش‌های هماتولوژی روی خون حاوی ماده ضدانعقاد هپارین انجام گرفت. فاکتورهای خونی مورد مطالعه به‌روش توصیه‌شده توسط Feldman و همکاران (۲۰۰۰) شامل تعداد گلبول‌های قرمز (RBC)، تعداد گلبول‌های سفید(WBC)، میزان هموگلوبین(Hb)، هماتوکریت(PCV)، حجم متوسط گلبولی(MCV)، هموگلوبین متوسط گلبولی (MCH) و غلظت متوسط هموگلوبین گلبول‌های قرمز (MCHC) بود. هم‌چنین شمارش افتراقی گلبول‌های سفید شامل نوتروفیل، لنفوسیت، ائوزینوفیل و مونوسیت نیز مورد اندازه‌گیری گرفت.

اندازه‌گیری مشخصه‌های ایمنی

سنجش کمپلمان پلاسما: فعالیت راه میان‌بر کمپلمان سرم نیز براساس همولیز گلبول‌های قرمز خرگوش (RaRBC) و به‌کمک روش Waley و North (۱۹۹۷)، Boesen و همکاران (۱۹۹۹)، Amar و همکاران(۲۰۰۰)اندازه‌گیری شد.برای‌محاسبه‌میزان‌فعالیت راه میان‌بر کمپلمان با استفاده از کاغذ شطرنجی (Log-Log Graph) منحنی لیز رسم‌شد. طبق تعریف حجمی از سرم که سبب ۵۰ درصد همولیز شود عبارت است از فعالیت کمپلمان نمونه که از رابطه زیر استفاده شد:

ACH50 (U/ml)= k× (۰/۵ × فاکتور رقت)

در این رابطه k مقداری از سرم است برحسب میلی‌لیتر که موجب ۵۰ درصد همولیز می‌شود، ۰/۵ عدد ثابت بوده و فاکتور رقت در این آزمایش می‌باشد، چون سرم ۱۰۰ مرتبه رقیق شده است .

فعالیت لیزوزیم سرم: برای تعیین میزان لیزوزیم از روش Sahu و همکاران (۲۰۰۶) استفاده شد. بدین منظور ۱۵ میکرولیتر پلاسما به پلیت‌هایی به‌شکل الایزا،افزوده‌شد.سپس ۱۵۰ میکرولیتر سوسپانسیون باکتری میکروکوکوس لیزودیکتیکوس(*Micrococcus lysodeikticus*) تهیه شده در بافر سیترات سدیم ۰/۰۲ مولار و pH برابر ۵/۵ به‌میزان ۰/۰۲ میلی‌گرم در لیتر اضافه گردید و جذب نوری اولیه در طول موج ۴۵۰ نانومتر توسط دستگاه الایزاریدر مدل Bio-Tek ساخت کشور آمریکااندازه‌گیری‌شد.پس از یک‌ساعت نگه‌داری در دمای اتاق، مجدداً جذب نوری اندازه‌گیری شد. لیزوزیم سفیده تخم‌مرغ لیوفلیزه شده (سیگما) نیز به‌منظور ترسیم منحنی استاندارد استفاده شد .

فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز(SOD): فعالیت سوپراکسید دیسموتاز سرم از طریق اسپکتروفتومتر و به‌روش Ferricytochrome C با استفاده از اکسیداز زانتین/ گزانتین به‌عنوان منبع رادیکال‌های سوپراکسید اندازه‌گیری شد. مخلوط واکنش شامل ۵۰ میلی‌مولار بافر فسفات پتاسیم با pH برابر ۷/۸، ۰/۱ میلی‌مولارEDTA ، گزانتین ۰/۱ میلی‌لیتر، ۰/۰۱۳ میلی‌لیتر سیتوکروم C و ۰/۰۲۴ میلی‌لیتر گزانتین اکسیداز بود. یک واحد فعالیت به‌عنوان مقدار آنزیم لازم برای تولید یک‌مهار ۵۰ درصد از Ferricytochrome C تعریف شد و میزان کاهش در ۵۵۰نانومتر اندازه‌گیری‌شد(McCord و Fridovich، ۱۹۶۹). فعالیت آنزیم بر حسب واحد بر میلی‌لیتر گزارش شد.

ایمونوگلوبولین (IgM) M سرم‌خون: اندازه‌گیری ایمونوگلوبولین M به‌روش ایمونوتوربیدی‌متری و از دستگاه Autoanalyse مدل Eurolyser ساخت هوشمند فناور تهران انجام گرفت .

ایمنوگلبولین تام سرم خون: برای اندازه‌گیری ایمونوگلوبولین تام سرم از روش Siwicki و همکاران (۱۹۹۴) استفاده شد. اساس کار به‌روش رنگ‌سنجی Bradford (۱۹۷۶) استوار بوده که میزان جذب نوری محلول G Blue Brilliant Coomassie- 250 (به‌عنوان ماده رنگ‌پذیر) هنگام اتصال با پروتئین‌های سرم در طول موج ۵۹۵ نانومتر برای محاسبه میزان پروتئین‌ها به‌کار می‌رود. در این روش محلول استاندارد از غلظت‌های ۰، ۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۱۵۰۰ و ۲۰۰۰ میکروگرم آلبومین سرم گاوی (Bovine Serum Albumin) استفاده گردید.

تجزیه و تحلیل داده‌ها: تجزیه واریانس داده‌ها توسط نرم‌افزار SAS با نسخه ۹/۳ انجام‌شد.مقایسه‌میانگین‌تیمارهابااستفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام شد ($p<0/05$).

نتایج

نتایج شاخص‌های رشد در بچه‌ماهیان قزل‌آلا تحت مقادیر مختلف اسانس اسطوخودوس: نتایج حاصل از افزودن تیمارهای مختلف اسانس اسطوخودوس درجیره غذایی بر وزن نهایی بچه‌ماهیان نشان داد که تیمارهای ۱ و ۲ میلی‌لیتر در کیلوگرم جیره، اثر معنی‌دار افزایشی بر وزن نهایی بچه‌ماهیان نسبت به شاهد داشتند ($p<۰/۰۵$). بیش‌ترین وزن بچه‌ماهیان مربوط به تیمار ۲ میلی‌لیتر در کیلوگرم جیره معادل ۶۵/۹۲ گرم بود (جدول ۴). نتایج حاصل از درصد افزایش وزن بدن در انتهای دوره آزمایش نشان داد که ماهیان تغذیه شده با تیمار اسانس ۲ میلی‌لیتر در کیلوگرم جیره از بیش‌ترین مقدار افزایش وزن معادل ۲۵۰/۶۰ درصد برخوردار بودند که اختلاف آن با تیمار اسانس ۱ میلی‌لیتر در کیلوگرم در جیره معنی‌دار بود. کم‌ترین مقدار افزایش وزن بدن به تیمار شاهد معادل ۱۹۱/۸۲ درصد تعلق داشت (جدول ۴). در مورد طول نهایی بچه‌ماهیان، نتایج نشان داد که تنها تیمار اسانس ۲ میلی‌لیتر در کیلوگرم جیره اثر معنی‌داری بر طول نهایی بچه ماهیان در مقایسه با شاهد داشت ($p<۰/۰۵$). طول نهایی بچه‌ماهیان با اعمال تیمارهای ۰/۵ و ۱ میلی‌لیتر نیز از روند افزایشی برخوردار بودند، اما این اثر معنی‌دار نبود (جدول ۴). نتایج حاصل از ضریب‌رشد ویژه ماهیان تحت تیمارهای مختلف اسانس اسطوخودوس بیانگر روند افزایشی تیمارها در مقایسه با شاهد بود. بیش‌ترین این میزان معادل ۰/۹۱ درصد بر روز متعلق به تیمار ۲ میلی‌لیتر اسانس در یک کیلوگرم جیره پایه بود (جدول ۴). نتایج حاصل از ضریب تبدیل غذایی نیز نشان داد که در بین تیمارهای آزمایشی، بیش‌ترین میزان این شاخص به تیمار شاهد معادل ۱/۱۲ گرم و کم‌ترین این میزان به تیمار اسانس ۲ میلی‌لیتر در یک کیلوگرم جیره (۰/۸۰ گرم) اختصاص داشت (جدول ۴). مطابق جدول ۴، درصد بازماندگی بچه‌ماهیان در انتهای دوره آزمایش تحت تاثیر هیچ‌یک از تیمارها در مقایسه با شاهد قرار نگرفتند ($p<۰/۰۵$). نتایج حاصل از تولید خالص ماهی در انتهای دوره آزمایش نشان داد که در بین تیمارهای آزمایشی، تفاوت معنی‌داری وجود دارد ($p<۰/۰۵$). بیش‌ترین تولید خالص ماهی به تیمار ۲ میلی‌لیتر اسانس در یک کیلوگرم جیره (۶۱/۴۶ گرم) اختصاص داشت. در مقابل کم‌ترین میزان معنی‌دار این شاخص مربوط به دو تیمار ۰/۵ میلی‌لیتر و شاهد به‌ترتیب معادل ۴۶/۹۸ و ۴۶/۷۳ گرم بود (جدول ۴).

جدول ۴. مقایسه میانگین برخی از شاخص‌های رشد (میانگین±انحراف معیار) در بچه‌ماهیان قزل‌آلا تحت مقادیر مختلف اسانس اسطوخودوس پس از ۶۰ روز از پرورش

تیمارها (میلی‌لیتر در جیره پایه)	وزن نهایی (گرم)	درصد افزایش وزن بدن	طول نهایی (سانتی‌متر)	ضریب رشد ویژه (درصد بر روز)	ضریب تبدیل غذایی (گرم)	درصد بازماندگی	تولید خالص ماهی (گرم)
شاهد	۵۷/۶۷ ±۲/۵۱^{b}	۱۹۱/۸۲ ±۴/۴۸^{d}	۱۷/۲۸ ±۰/۰۸^{b}	۰/۷۸ ±۰/۰۰۶^{d}	۱/۱۲ ±۰/۰۴^{a}	۹۳/۷۵ ±۶/۲۵^{ab}	۴۶/۷۳±۶/۳۶^{b}
اسانس ۰/۵	۵۸/۲۲ ±۰/۵۲^{b}	۲۰۳/۰۹ ±۱/۴۳^{c}	۱۷/۳۳ ±۰/۴۳^{b}	۰/۸۱ ±۰/۰۱^{c}	۰/۸۹ ±۰/۰۱^{b}	۸۶/۱۱ ±۲/۷۸^{b}	۴۶/۹۸±۹۸^{b}
اسانس ۱	۶۵/۱۴ ±۰/۲۹^{a}	۲۳۷/۱۰ ±۲/۶۰^{b}	۱۷/۸۲ ±۰/۶۲^{ab}	۰/۸۷ ±۰/۰۶^{b}	۰/۷۸ ±۰/۰۵^{c}	۹۶/۷۷ ±۳/۳۴^{a}	۵۰/۵۵±۲/۹۸^{a}
اسانس ۲	۶۵/۹۲ ±۱/۷۹^{a}	۲۵۰/۶۰ ±۶/۱۶^{a}	۱۸/۱۳ ±۰/۲۶^{a}	۰/۹۱ ±۰/۰۱^{a}	۰/۸۰ ±۰/۰۳^{c}	۹۶/۹۹ ±۳/۱۳^{a}	۶۱/۴۶±۹/۸۴^{a}

حروف لاتین متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون دانکن است ($p<۰/۰۵$).

نتایج مشخصه‌های خونی در بچه‌ماهیان قزل‌آلا تحت مقادیر مختلف اسانس اسطوخودوس: نتایج حاصل از شمارش گلبول‌های قرمز خون بچه‌ماهیان در انتهای دوره آزمایش نشان داد که دو تیمار ۱ و ۲ میلی‌لیتر اسانس در یک کیلوگرم جیره، اثر افزایشی معنی‌داری بر این صفت نسبت به شاهد نشان دادند ($p<۰/۰۵$). تیمار ۲ میلی‌لیتر اسانس در ماهیان تغذیه شده از بیش‌ترین تعداد گلبول قرمز (۱۳۱۰۰۰۰ میلی‌متر مکعب) برخوردار بود، اما اختلاف معنی‌داری با تیمار یک میلی‌لیتر اسانس نشان نداد (جدول ۵). نتایج به‌دست آمده هم‌چنین نشان داد که تیمارهای مختلف ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌لیتر اسانس، اثر افزایشی بر تعداد گلبول‌های سفید خون بچه ماهیان در مقایسه با شاهد داشتند ($p<۰/۰۵$). بیش‌ترین اثر افزایشی معنی‌دار به تیمار ۱ میلی‌لیتر اسانس با تعداد ۸۴۰۰ در میلی‌متر مکعب تعلق داشت. اما اختلاف آن با تیمار ۲ میلی‌لیتر اسانس معنی‌دار نبود (جدول ۵). مطابق نتایج جدول ۵، غلظت هموگلوبین خون تحت تیمارهای مختلف اسانس در مقایسه با شاهد افزایش نشان داد، اما این اثر معنی‌دار نبود. میزان هماتوکریت خون بچه‌ماهیان تنها در تیمار ۲ میلی‌لیتر اسانس به‌طور معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) افزایش نشان داد (جدول ۵). نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که اثر مقادیر مختلف اسانس بر میزان هموگلوبین، حجم متوسط گلبولی، میزان هموگلوبین متوسط گلبولی و درصد ائوزینوفیل معنی‌دار ($p>۰/۰۵$) نبود (جدول ۵). مقایسه میانگین غلظت متوسط هموگلوبین گلبول‌های قرمز خون بچه‌ماهیان در انتهای دوره آزمایش نشان داد که میزان این شاخص با افزایش مقادیر مختلف اسانس، افزایش نشان داد. بیش‌ترین این میزان به تیمار ۲ میلی‌لیتر اسانس در یک کیلوگرم جیره معادل ۱۶/۹۷ گرم بر دسی‌لیتر اختصاص داشت. مقادیر ۰/۵ و ۱ میلی‌لیتر اسانس اضافه شده به جیره نیز اثر افزایشی بر این پارامتر نشان دادند، اما این اثر معنی‌دار نبود (جدول

۵). مطابق نتایج، تیمارهای مختلف اسانس اثر افزایشی بر درصد نوتروفیل نشان دادند (p<۰/۰۵). بیش‌ترین درصد نوتروفیل مربوط به تیمار ۱ و ۲ میلی‌لیتر معادل ۲۲/۵ درصد بود، اما کم‌ترین این میزان به تیمار ۰/۵ میلی‌لیتر اسانس با مقدار ۱۷/۵ درصد تعلق داشت که اختلاف آن با شاهد معنی‌دار نبود (جدول ۵). نتایج حاصل از میزان لنفوسیت بچه‌ماهیان تحت‌اثر افزودن ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌لیتر اسانس اسطوخودوس به جیره نشان داد که تیمارهای مختلف اثر کاهشی بر این پارامتر داشتند (p<۰/۰۵). دامنه تغییرات لنفوسیت بین ۷۱/۵ و ۷۹ درصد بود، که بیش‌ترین این میزان به تیمار شاهد اختصاص داشت، در مقابل کم‌ترین این میزان در تیمار ۱ و ۲ میلی‌لیتر اسانس مشاهده شد (جدول ۵). مطابق جدول ۵، تیمار ۰/۵ میلی‌لیتر اسانس اسطوخودوس، اثر افزایشی بیش‌تری بر درصد مونوسیت در مقایسه با تیمارهای ۱ و ۲ میلی‌لیتر اسانس نشان دادند، اما این اختلاف معنی‌دار نبود.

نتایج مشخصه‌های ایمنی در بچه‌ماهیان قزل‌آلا تحت مقادیر مختلف اسانس اسطوخودوس: نتایج در پایان دوره آزمایش نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای مختلف آزمایشی در میزان فعالیت کمپلمان پلاسما بود (p>۰/۰۵). بیش‌ترین این میزان مربوط به اسانس ۱ میلی‌لیتر معادل ۱۴۲/۵۰ واحد بر میلی‌لیتر بود که اختلاف آن با تیمار اسانس ۲ میلی‌لیتر معنی‌دار نبود. در مقابل کم‌ترین میزان فعالیت کمپلمان مربوط به تیمار شاهد (۱۳۴/۵۰واحد بر میلی‌لیتر) بود (جدول ۶). مطابق نتایج، بین تیمارهای آزمایشی اسانس اسطوخودوس اضافه شده به جیره غذایی بچه ماهیان قزل‌آلا، اختلاف معنی‌داری از لحاظ فعالیت لیزوزیم وجود داشت (p<۰/۰۵). بیش‌ترین این میزان مربوط به تیمار ۲ میلی‌لیتر اسانس معادل ۵۱/۵ واحد در میلی‌لیتر و کم‌ترین آن به تیمار ۰/۵ میلی‌لیتر (۳۷/۵۰ واحد در میلی‌لیتر) اختصاص داشت. این صفت در کم‌ترین مقدار با تیمار شاهداختلاف معنی‌داری را نشان نداد (p<۰/۰۵)(جدول ۶). نتایج بیانگر اختلاف معنی‌دار مقادیر مختلف اسانس اسطوخودوس از لحاظ تاثیر بر فعالیت سوپراکسید دیسموتاز ماهی قزل‌آلا در پایان دوره آزمایش بود (p<۰/۰۵). میزان فعالیت سوپراکسید دیسموتاز در تیمار ۲ میلی‌لیتر اسانس اسطوخودوس در مقایسه با شاهد افزایش نشان داد (جدول ۶). همان‌طوری‌که از جدول ۶ مشاهده می‌شود، بیش‌ترین و کم‌ترین ایمونوگلوبولین M سرم خون در بچه‌ماهیان در انتهای دوره آزمایش به‌ترتیب مربوط به تیمار اسانس اسطوخودوس ۲ میلی‌لیتر و شاهد معادل ۴۲ و ۳۲/۵۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر بود (جدول ۶). میزان ایمنوگلبولین تام سرم خون بچه‌ماهیان قزل‌آلا تحت مقادیر مختلف اسانس اسطوخودوس نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار تیمارها بود (p<۰/۰۵). به‌طوری‌که بیش‌ترین مقدار مربوط به تیمار اسانس ۲ میلی‌لیتر به‌میزان ۱۸/۱۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. دو تیمار شاهد و ۰/۵میلی‌لیتر اسانس از کم‌ترین میزان معنی‌دار ایمنوگلبولین تام سرم خون به‌ترتیب ۱۵/۶۵ و ۱۶/۷۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر برخوردار بودند (جدول ۶).

جدول ۵: مقایسه میانگین شاخص‌های خونی (میانگین± انحراف معیار) در بچه‌ماهیان قزل‌آلا تحت مقادیر مختلف اسانس اسطوخودوس پس از ۶۰ روز از پرورش

تیمارها (میلی‌لیتر در جیره پایه)	گلبول‌های قرمز (تعداد بر میلی‌متر مکعب)	تعداد گلبول‌های سفید (تعداد بر میلی‌متر مکعب)	میزان هموگلوبین (گرم بر دسی لیتر)	میزان هماتوکریت خون (درصد)	میانگین میزان حجم متوسط گلبولی (fl)	میزان هموگلوبین متوسط گلبولی (pg)	میزان غلظت متوسط هموگلوبین گلبول های قرمز (گرم بر دسی لیتر)	نوتروفیل (درصد)	لنفوسیت (درصد)	مونوسیت (درصد)	ائوزینوفیل (درصد)
شاهد	۱۲۲۷۵۰۰ ±۱۷۵۰۰ b	۵۸۵۰±/۰ ۶۵۰ c	۷/۹۰۰۰ ±۰/۲۰ a	۴۶/۰±۵۰۰۰/۵۰ b	۳۸۲/۲±۵۰۰/۵۰ a	۶۴/۵۰۰۰ ±۰/۵۰ a	۱۶/۷۵۰۰۰ ±۰/۰۵ b	۱۷/۱±۰۰۰۰/۰۰ b	۷۹/۱±۰۰۰/۰۰ a	۳/۰±۵۰۰۰/۵۰ b	۱/۰±۰۰۰۰/۰۰ a
اسانس ۰/۵	۱۱۸۵۰۰۰ ±۱۵۰۰۰ b	۶۸۰±۰/۷۰۰۰ bc	۸/۲۵۰۰ ±۰/۱۵ a	۴۸/۱±۰۰۰ ab	۳۷۸/۲±۵۰۰/۵۰ a	۶۳/۰±۵۰۰۰/۵۰ a	۱۶/۸۰۰۰۰ ±۰/۰۰ b	۱۷/۱±۵۰۰۰/۵۰ b	۷۶/۰۰۰ ۳±/۰۰ a	۶/۱±۰۰۰۰/۰۰ a	۱/۰±۱۶۶/۱۶ a
اسانس ۱	۳۵۰۰۰±۱۲۹۵۰۰۰ a	۸۴۰±۰/۶۰۰۰ a	۸/۱۵۰۰ ±۰/۳۵ a	۴۷/۱±۵۰۰۰/۵۰ ab	۳۷۹/۳±۵۰۰/۵۰ a	۶۴/۵۰۰۰ ±۰/۵۰ a	۱۶/۸۵۰۰۰ ±۰/۰۵ b	۲۲/۰±۵۰۰۰/۵۰ a	۷۱/۱±۵۰۰/۵۰ b	۵/۰±۵۰۰۰/۵۰ a	۱/۰±۳۳۰/۳۳ a
اسانس ۲	۳۰۰۰۰±۱۳۱۰۰۰۰ a	۸۱۵±۰/۶۵۰۰ ab	۸/۳۵۰۰ ±۰/۵۰ a	۴۹/۱±۵۰۰۰/۴۰ a	۳۷۷/۴±۵۰۰/۵۰ a	۶۴/۰۰۰۰ ±۱/۰۰ a	۱۶/۹۶۶۶ ±۰/۰۶ a	۲۲/۰±۵۰۰۰/۵۰ a	۷۱/۱±۵۰۰/۵۰ b	۵/۰±۵۰۰۰/۵۰ a	۱/۰±۳۳۰/۳۳ a

حروف لاتین متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون دانکن است (p<۰/۰۵).

جدول ۶: مقایسه میانگین پارامترهای ایمنی (میانگین± انحراف معیار) در بچه‌ماهیان قزل‌آلا تحت مقادیر مختلف اسانس اسطوخودوس پس از ۶۰ روز از پرورش

تیمارها (میلی‌لیتر در جیره پایه)	فعالیت کمپلمان (واحد/ میلی‌لیتر)	فعالیت لیزوزیم (واحد/ میلی‌لیتر)	فعالیت سوپراکسید دیسموتاز (واحد/ میلی لیتر)	ایمونوگلوبولین M سرم خون (میلی‌گرم/ دسی لیتر)	ایمنوگلبولین تام سرم (میلی‌گرم/ میلی‌لیتر)
شاهد	۱۳۴/۵۰±۲/۵۰ c	۳۹/۰۰±۰/۰۰ c	۶۱/۵۰±۰/۵۰ b	۳۲/۵۰±۰/۵۰ c	۱۵/۶۵±۰/۱۵ c
اسانس ۰/۵	۱۳۸/۰۰±۱/۰۰ b	۳۷/۵۰±۰/۵۰ c	۶۱/۵۰±۰/۵۰ b	۳۸/۵۰±۰/۵۰ b	۱۶/۷۵±۰/۵۰ c
اسانس ۱	۱۴۲/۵۰±۱/۵۰ a	۴۳/۵۰±۰/۵۰ b	۶۲/۵±۰/۵۰ b	۳۸/۵۰ ±۰/۵۰ b	۱۶/۵۵±۰/۱۵ b
اسانس ۲	۱۴۰/۵۰±۰/۵۰ ab	۵۱/۵۰±۲/۵۰ a	۶۵/۵۰±۱/۵۰ a	۴۲/۰۰±۳/۰۰ a	۱۸/۱۵ ±۰/۲۵ a

حروف لاتین متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد براساس آزمون دانکن است (p<۰/۰۵).

بحث

در این تحقیق تأثیر تجویز خوراکی اسانس گیاه اسطوخودوس برشاخص‌های رشد،خونی و ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بررسی شد. نتایج حاکی از اختلاف معنی‌دار در وزن نهایی، درصد افزایش وزن بدن، طول نهایی، ضریب رشد ویژه، درصد بازماندگی و تولید خالص ماهی در پایان دوره بین تیمارهای آزمایشی بود. به‌طوری‌که بیش‌ترین شاخص‌های رشد در تیمارهای ۱ و ۲ میلی‌لیتر اسانس در یک کیلوگرم جیره مشاهده شد. احتمال می‌رود این سطح از اسانس اسطوخودوس در جیره به‌عنوان عامل اشتهاآور و تحریک آنزیم‌های گوارشی و نیز بهبود وضعیت بافتی روده در جذب مواد مغذی مختلف عمل کرده است. بنابراین افزایش قابلیت هضم جیره منجر به افزایش رشد ماهیان شده است. Ramakrishna و همکاران (۲۰۰۳) گزارش کردند فعالیت لیپاز و آمیلاز پانکراس با مکمل‌سازی اسانس‌ها افزایش می‌یابد.مشخص شده است که ترکیبات آروماتیک چندین گیاه دارویی افزوده شده به خوراک تأثیر مثبتی بر خوش خوراکی دارد که سطح مصرفی آن‌هاوابسته به‌اجزای فعال مربوط به گیاه می‌باشد (Applegate و همکاران، ۲۰۱۰). پارامتر ضریب تبدیل غذایی با افزایش مقادیر اسانس در مقایسه با شاهدکاهش نشان داد. کاهش ضریب تبدیل غذایی ماهیان در تیمارهای اسانس نشان از اثربخشی این گیاه بر افزایش قابلیت هضم و جذب ماهی بود. به‌طورکلی تأثیر مثبت اسانس اسطوخودوس بر پارامترهای رشد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان را شاید بتوان به ترکیبات غیرآنزیمی فنلی، تانن‌ها و مونوترپن‌ها در اسانس اسطوخودوس مرتبط دانست (امیدبیکی، ۱۳۸۵). ابراهیمی و همکاران (۱۳۹۱) طی یک آزمایش ۸ هفته‌ای تأثیر سطوح اسانس سیر شامل ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ گرم در کیلوگرم غذا را بر رشد و تغذیه فیل ماهی (*Huso huso*) جوان پرورشی بررسی کردند. نتایج بیانگر افزایش اندک شاخص‌های رشد و کاهش ضریب تبدیل غذایی همراه با افزایش سطح اسانس سیر بود و سطح ۱۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم اسانس سیر بهترین عملکرد رشد را در بچه ماهیان داشته است. Giannenas و همکاران (۲۰۱۲) اثر جیره‌های غذایی حاوی اسانس مرزنجوش (*Origanum heracleoticum*) یونانی را روی گربه ماهی کانال (*Ictalurus punctatus*) مورد بررسی و گزارش نمودند در سطح ۰/۵ درصد اسانس مرزنجوش، افزایش وزن بیش‌تر و ضریب تبدیل غذایی کم‌تری‌نسبت به گروه شاهد به‌دست آمد. قاسمی‌پیربلوطی و همکاران (۱۳۹۰) در بررسی اثر اسانس چند گیاه دارویی شامل آویشن دنایی (*Thymus daenensis*)، پونه کوهی (*Mentha longifolia*)، مرزه بختیاری (*Satureja bachtiarica*)، زرین گیاه (*Dracocephalum multicaule*) و مرزه خوزستانی (*Satureja khuzestanica*) بر قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*)، افزایش معنی‌دار ضریب رشد ویژه را گزارش نمودند. احمدی‌فر و همکاران (۱۳۸۸) با تحقیق روی ترکیب تجاری تیمول و کارواکرول (NEXT Enhance 150)در قزل‌آلای رنگین‌کمان نشان دادند که این ترکیب به‌مقدار ۳ گرم در کیلوگرم جیره سبب تغییرات مثبت و معنی‌داری بر شاخص‌های رشد نظیر افزایش وزن، وزن نهایی و ضریب تبدیل غذایی گردید، تحقیق حاضر با نتایج این محققین مطابقت دارد. نتایج هم‌چنین نشان داد که مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر اسانس اسطوخودوس در جیره تاثیر معنی‌داری بر برخی از شاخص‌های رشد در مقایسه با شاهد نداشتند. از دلایل احتمالی عدم تفاوت معنی‌دار در شاخص‌های رشد تحت تیمار ۰/۵ میلی‌لیتر را می‌توان به عدم جذب کافی مواد مؤثره موجود در اسانس توسط ماهی قزل‌آلا و در نتیجه عدم تأثیرپذیری دوز مورد استفاده اشاره کرد. خون شاخص خوبی برای تعیین سلامت بدن است. هم‌چنین فاکتورهای خونی شاخص مناسبی برای ارزیابی اثر ترکیبات شیمیایی موجود در اسانس‌های گیاهی است. در این مطالعه تعداد کل گلبول‌های قرمز، گلبول‌های سفید، هماتوکریت، میزان غلظت متوسط هموگلوبین گلبول‌های قرمز خون و نوتروفیل بچه‌ماهیان تحت سطوح مختلف اسانس‌ها از روند افزایشی نسبت به شاهد برخوردار بودند. بیش‌ترین اثر افزایشی معنی‌دار مربوط به هر دو سطح اسانس ۱ و ۲ میلی‌لیتر در جیره بود. این امر احتمالاً ناشی از تاثیر اسانس گیاه اسطوخودوس به‌عنوان یک ماده افزایش‌دهنده تحریک ایمنی در ماهیان است. اصولاً عوامل مختلفی بر روی فاکتورهای خونی ماهیان اثر می‌گذارند که شامل عوامل محیطی (دما و فصل)، استرس ناشی از صید و نمونه‌گیری، جیره غذایی، شرایط پرورشی (اکسیژن و شوری، تفاوت‌های ژنتیکی، سن، مرحله رسیدگی، جنسیت و سطح فعالیت می‌باشد (Knowles و همکاران، ۲۰۰۶). تنگستانی و همکاران (۱۳۹۰) گزارش نمودند که میزان هموگلوبین و هماتوکریت تابعی از تغییرات گلبول‌های قرمز بوده ورابطه مستقیم با آن دارد. تعداد بالای یاخته قرمز و غلظت هموگلوبین خون پاسخی به افزایش تقاضای سوخت و ساز در بدن است. افزایش تعداد یاخته‌های قرمز خون بیانگر تقاضای بالای نیاز اکسیژنی برای دستیابی به اکسیژن بیش‌تر جهت سوخت و ساز بالاتر می‌باشد (Zhou و همکاران، ۲۰۰۹). به‌طورکلی در ماهیان سیستم ایمنی ذاتی یا غیر اختصاصی یک مکانیسم دفاعی اساسی در برابر عوامل بیماری‌زا محسوب می‌شود. تقویت این سیستم برای ماهیان پرورشی بسیار ارزشمند است چرا که ماهیان در شرایط پرورشی به‌دلیل تراکم زیاد در برابر بسیاری از عوامل باکتریایی آسیب‌پذیرند (Dixon و Stet، ۲۰۰۱). اکرمی و همکاران (۱۳۹۷) گزارش کردند که استفاده از عصاره هیدروالکلی زنجبیل با غلظت‌های صفر ، ۰/۵ و ۱ درصد عصاره به‌ازای هر کیلوگرم غذای پایه به‌صورت خوراکی تأثیر معنی‌داری روی شاخص‌های رشد و خونی قزل‌آلا ندارد. نتایج به‌دست آمده نشان داد که سیستم ایمنی ماهی

قزل‌آلای رنگین‌کمان نظیر فعالیت کمپلمان، آنزیم‌های لیزوزیم، سوپر اکسیددیسموتاز، ایمونوگلوبولین M سرم‌خون و ایمنوگلبولین تام سرم خون با افزایش غلظت اسانس اسطوخودوس افزایش نشان داد. وجود ترکیبات Cineole، ۳-octanone، Camphor، Linalol، Linalyl acetate، Terpinene-4-ol، Lavandulyl acetate، Lavandulol و α-terpineol در پروفایل گونه اسطوخودوس مورد بررسی می‌تواند توجیه‌کننده افزایش برخی از فاکتورهای سیستم ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان باشد. سیستم کمپلمان در ماهیان نقش مهمی در باکتری‌کشی سرم و موکوس ایفا می‌کند و با اتصال به بخش‌های اختصاصی عامل مهاجم در سطح بدن میزبان در بیگانه‌خواری دخیل می‌باشد. برخی از محققین معتقدند که فعالیت کمپلمان پس از کاربرد انواع مختلف محرک‌های ایمنی مانند مشتقات گیاهی افزایش می‌یابد (Christybapita و همکاران، ۲۰۰۷)، که این نتیجه مطابق نتیجه این مطالعه می‌باشد. روند افزایش لیزوزیم می‌تواند به این دلیل باشد که جزئی از مکانیسم دفاع غیراختصاصی است و توانایی جلوگیری از رشد میکروارگانیسم‌های عفونی را با تقسیم کردن پیوند β-1، ۴گلیکوزیدی بین باندهای N-acetylumuraic اسید و N-acetylglucosamine در پپتید وگلیکان دیواره سلولی باکتریایی دارد (Choi و همکاران، ۲۰۰۸). نتایج به‌دست آمده هم‌چنین نشان داد که میزان فعالیت سوپراکسیددیسموتاز و غلظت ایمنوگلوبولین تام سرم خون در مقادیر مختلف اسانس از روند افزایشی برخوردار بودند. سوپراکسیددیسموتاز یک متالوآنزیم است که نقش مهمی در محافظت از سلول‌ها در برابر آسیب‌های اکسیداتیو دارد (Metaxa و همکاران، ۲۰۰۶). با افزایش میزان لیزوزیم سرم خون تحت مقادیر مختلف اسانس، میزان فاکتورهای خونی نوتروفیل و مونوسیت به‌مراتب افزایش یافت. محرک‌های ایمنی که باعث افزایش میزان لیزوزیم پلاسما می‌شوند، در واقع باعث افزایش نوتروفیل‌ها و مونوسیت‌ها در جریان خون می‌شوند که آن‌ها نیز با ترشح لیزوزیم باعث افزایش آن در سرم می‌شوند. نتایج نشان داد که استرس باعث کاهش میزان لیزوزیم می‌شود ولی بیماری‌ها به‌دلیل تحریک سیستم ایمنی و افزایش تعداد گلبول‌های سفید باعث افزایش لیزوزیم می‌شوند (Sahu و همکاران، ۲۰۰۶). در آزمایشی اکرمی و همکاران (۱۳۹۷) بر روی تاثیر عصاره زنجبیل بر فاکتورهای ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان گزارش نمودند که فعالیت لیزوزیم سرم تحت تیمار ۰/۵ درصد عصاره زنجبیل به‌طور معنی‌داری در مقایسه با شاهد افزایش یافت، اما در سایر پارامترهای ایمنی تفاوت معنی‌داری در مقایسه با گروه شاهد مشاهده نشد. به‌طور کلی نتایج این مطالعه نشان داد که اثر مقادیر مختلف اسانس اسطوخودوس بر شاخص‌های رشد، فاکتورهای هماتولوژی به‌علاوه فاکتورهای ایمنی ماهی قزل‌آلا رنگین‌کمان متفاوت بود. نتایج این مطالعه نشان داد که اضافه نمودن مقادیر مختلف اسانس گیاه‌دارویی اسطوخودوس به جیره ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تاثیر مثبت و معنی‌داری بر برخی از شاخص‌های رشد، فاکتورهای خونی و سیستم ایمنی آن‌ها دارد. لذا استفاده از آن به‌عنوان مکمل غذایی در جیره پایه پیشنهاد می‌شود. البته نتیجه نهایی نیازمند تجزیه دقیق ترکیبات موثره و مکانیسم اثر آن‌ها بر شاخص‌های رشد، تغذیه و بیوشیمیایی خون ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌باشد.

منابع

۱. **ابراهیمی، ع.؛ تنگستانی، ر.؛ علیزاده‌دوغی‌کلایی، ا. و زارع، پ.، ۱۳۹۱.** اثر سطوح مختلف اسانس سیر بر شاخص‌های رشد، تغذیه و ترکیب شیمیایی لاشه فیل‌ماهی جوان پرورشی. مجله علوم و فنون دریایی. دوره ۱۱، شماره ۴، صفحات ۱ تا ۱۲.

۲. **احمدی‌فر، ا.؛ جلالی، م.ع.؛ سوداگر، م. و محمدی‌زرج‌آباد، ا.، ۱۳۸۸.** اثرات آکواک ارگوسان بر میزان رشد، بازماندگی و شاخص‌های مربوط به خون در فیل‌ماهیان جوان. مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی. دوره ۱۶، شماره ۱ (ویژه نامه)، صفحات ۷۲ تا ۸۰.

۳. **تنگستانی، ر.؛ علیزاده، ا. و پرویز، م.، ۱۳۹۰.** اثر اسانس گیاه سیر بر شاخص‌های هماتولوژی فیل‌ماهی. مجله تحقیقات دامپزشکی. دوره ۶۶، شماره ۳، صفحات ۲۰۹ تا ۲۱۶.

۴. **اکرمی، ر.؛ احمدی، ز.؛ شاملوفر، م.؛ حبیبی‌نوده، ف.، صادقی اصل، ف.؛ زرینی، ن. و چیت‌ساز، ح.، ۱۳۹۷.** تأثیر عصاره زنجبیل بر برخی شاخص‌های رشد، خون، بیوشیمی و ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان. مجله تحقیقات دامپزشکی. دوره ۷۳، شماره ۲، صفحات ۱۵۵ تا ۱۶۳ .

۵. **امیدبیکی، ر.، ۱۳۷۶.** تولید و فرآوری گیاهان دارویی. انتشارات به نشر، مشهد. ۳۴۷ صفحه.

۶. **رئیسی، م.؛ فخریان، م.؛ جعفریان، م. و ورشویی، ح.، ۱۳۹۳.** مطالعه تأثیر اسانس برخی گیاهان بر ایمنی غیراختصاصی ماهی استرلیاد. مجله زیست‌شناسی دریا. سال ۶، شماره ۲۱، صفحات ۲۳ تا ۲۸.

۷. **سلطان‌دلال، م.م.؛ بیات، م.؛ یزدی، م.ح.؛ آقامیری، س.؛ قربان‌زاده‌مشکاتی، م.؛ پیمانه‌عابدی‌محتسب، پ. و شجاعی سعدی، ب.، ۱۳۹۱.** ارزیابی اثر ضدمیکروبی اسانس گیاهی آویشن شیرازی بر سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به آنتی‌بیوتیک جدا شده از مواد غذایی. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی کردستان. دوره ۱۷، صفحات ۲۱ تا ۲۹.

۸. **سلطانی، م.؛ ظریف‌منش، ط. و ذریه‌زهرا، س.ج.، ۱۳۹۱.** مطالعه تأثیر اسانس آویشن شیرازی بر میزان فعالیت سیستم عامل مکمل و لیزوزیم خون ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان. مجله علمی شیلات ایران. سال ۲۱، شماره ۴، صفحات ۱۳ تا ۲۳.

۹. **عبدی، ا. و علیشاهی، م.، ۱۳۹۲.** بررسی اثر ماده محرک ایمنی ایمونوفن (اسانس گیاه اکیناسه) بر شاخص‌های رشد و ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان انگشت‌قد.دومین‌همایش ملی توسعه و پرورش ماهیان سردآبی، ۱۰ و ۱۱ اردیبهشت ۱۳۹۲، شهرکرد.

۱۰. **عزیزی، ا.؛ یگانه، س.؛ فیروزبخش، ف. و جانی‌خلیلی، خ.، ۱۳۹۵.** اثر جیره غذایی حاوی اسانس آویشن بر عملکرد رشد، فراسنجه‌های خونی و بیوشیمیایی سرم ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان. نشریه پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی. دوره ۴، شماره ۲، صفحات ۴۵ تا ۶۱.

۱۱. **قاسمی‌پیربلوطی، ع.، ۱۳۸۸.** شناخت گیاهان دارویی و معطر (شناخت و بررسی اثرات آن‌ها). شهرکرد، انتشارات دانشگاه آزاد اسلامی. ۵۰۰ صفحه.

۱۲. **قاسمی‌پیربلوطی، ع.؛ پیرعلی، ا.؛ پیشکار، غ.ر؛ جلالی، س.م.ع.؛ رئیسی، م.؛ جعفریان‌دهکردی، م. و حامد، ز.ب.، ۱۳۹۰.** اثر اسانس چند گیاه دارویی بر سیستم ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان. فصلنامه داروهای گیاهی. شماره ۲، صفحات ۱۴۹ تا ۱۵۵.

۱۳. **کندر، ا.؛ سجادی، م.م.؛ سوری‌نژاد، ا.؛ دریایی، ع.؛ میرزاده، ق. و خادمی، ف.، ۱۳۹۲.** تاثیر افزودن مکمل ال کارنیتین به جیره غذایی بر شاخص‌های رشد و بازماندگی ماهی صبیتی. مجله بوم‌شناسی آبزیان. دوره ۳، صفحات ۳۵ تا ۴۵.

۱۴. **Amar, E.C.; Kiron, V.; Satoh, S.; Okamoto, N. and Watanabe, T., 2000**. Effects of dietary β- carotene on the immune response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Fisheries Science. Vol. 66, pp: 1068-1٠٧٥.

۱۵. **Amar, E.C.; Kiron, V.; Satoh, S. and Watanabe, T., 2004**. Enhancement of innate immunity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) associated with dietary intake of carotenoids from natural products. Fish and Shellfish Immunology. Vol. 16, pp: 527-5٣٧.

۱۶. **Applegate, T.J.; Klose, V.; Steiner, T.; Ganner, A. and Schatzmayr, G., 2010**. Probiotics and phytogenic for poultry: myth or reality? Journal of Applied Poultry Research. Vol. 19, pp: 194-21٠.

۱۷. **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 resistance against Aeromonas hydrophyla. Aquaculture. Vol. 275, pp: 26-3٣.

۱۸. **Boesen, H.T.; Pedersen, K.; Larsen, J.L.; Koch, C. and Ellis, A.E., 1999**. Vibrio anguillarum resistance Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Serum: Role of O-Antigen structure of Lipopolysaccharide. Journal of infection and Immunity. Vol. 67, No. 1, pp: 294- 301.

۱۹. **Bradford, M., 1976**. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quamtities of protein utilizing the principale of protein– dye binding. Annals of Clinical Biochemistry. Vol. 72, pp: 248-2٥٤.

۲۰. **Christybapita, D.; Divyagnaneswari, M. and Michael, R. D., 2007.** Oral administration of Eclipta alba leaf aqueous extract enhances the non-specific immune responses and disease resistance of Oreochromis mossambicus. Fish and Shellfish Immunology. Vol. 23, pp: 840–8٥٢.

۲۱. **Choi, S.H.; Park, K.H.; Yoon, T.J.; Kim, J.B.; Jang, Y.S. and Choe, C.H., 2008**. Dietary Korean mistele to enhance cellular non- specific immune responses and survival of Japanese eel (*Anguilla japonica*). Fish and Shellfish Immunology. Vol. 24, pp: 67-73.

۲۲. **Dadman, B.; Omidbeygi, R. and Sefidkan, F., 2007**. Effect of nitrogen on essential oil of Mexican parsley. Iranian Medicinal and Aromatic Plants Research. Vol. 23, No. 4, pp: 484-491.

۲۳. **Dixon, B. and Stet, R.J.M., 2001**. The relationship between major histocompatibility receptors and innate immunity in teleost fish. Developmental and Comparative Immunology. Vol. 25, pp: 683-700.

۲۴. **Feldman, B.F.; Zinkl, J.G. and Jian, N.C., 2000**. Schalm's veterinary hematology. Lippincott Williams and Wilkins publication, Canada. pp: 1120-1١٢٥.

۲۵. **Giannenas, I.; Triantafillou, E.I.; Stavrakakis, S.; Margaroni, M.; Mavridis, S.; Steiner, T. and Karagouni, E., 2012**. Assessment of dietary supplementation with carvacrol or thymol containing feed additives on performance, intestinal microbiota and antioxidant status of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture. Vol. 350, pp: 26-32.

۲۶. **Jalali-hajiabadi, M.A.; Sadeghi, A.A.; Mahbobi Sofiyani, N.; Chamani, M. and Riyazi, Gh., 2009**. The effect of dietary L-carnitine supplementation on blood factors and growth of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Journal of Agriculture Science and Natural resources. Vol. 47, pp: 105-115.

۲۷. **Knowles, S.; Hrubec, T.C.; Smith, S.A. and Bakal, R.S., 2006.** Hematology and plasma chemistry reference intervals for cultured short nosesturgeon (*Acipenser brevirostrum*). Veterinary Clinical Pathology. Vol. 35, pp: 434-440.

۲۸. **McCord, J.M. and Fridovich, I., 1969**. Superoxide dismutase: an enzymic function for erythrocuprein (Hemocuprein). Journal of Biological Chemistry. Vol. 244, No. 6, pp: 6049–6055.

۲۹. **Metaxa, E.; Deviller, G.; Pagand, P.; Alliaume, C.; Casellas, C. and Blancheton, J.P., 2006**. High rate algal pond treatment for water reuse in a marine fish recirculation: water purification and fish health. Aquaculture. Vol. 252, pp: 92-101.

۳۰. **Mohajerfar, T.; Hoseinzadeh, A.; Akhondzadeh-basti, A.; Khanjari, A.; Misaghi, A. and Gandomi nasrabadi, H., 2012.** Determination of minimum inhibitory concentration (MIC) of Zataria multiflora Bioss. essential oil and lyzozym on L. monocytogenes. Journal of Medicinal Plants. Vol. 11, pp: 70-78.

۳۱. **Ramakrishna Rao, R.R.; Platel, K. and Srinivasan, K., 2003**. In vitro influence of spices and spice-active principles on digestive enzymes of rat pancreas and small intestine. Nahrung/Food. Vol. 47, pp: 408-412.

۳۲. **Ramsden, S.R.; 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. Vol. 18, pp: 939-951.

۳۳. **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 and Shellfish Immunology. Vol. 20, pp: 265-273.

۳۴. **Sahu, S.; Das, B.K.; Pradhan, J.; Mohapatra, B.C.; Mishra, B.K. and Sarangi, N., 2006**. Effect of Magnifera indica kernel as a feed additive on immunity and resistance to

Aeromonas hydrophila in *Labeo rohita* fingerlings. Fish and Shellfish Immunology. Vol. 23, pp: 109- 118.

۳۵. **Sakai, D.K., 1998**. Delayed maturation in the colonial coral Gonasteria aspera (Scleractina): wholecolony mortality, colony growth and polyp egg production. Researches on Population Ecology. Vol. 40, pp: 287-۲۹۲.

۳۶. **Swicki, A.K.; Anderson, D.P. and Rumsey, G.L., 1994**. Dietry intak of immunostimulants by rainbow trout affects non- specific immunity and protection aganst furunculosis. Veterinary Immunology and Immunopathology. Vol. 14, pp: 125-139.

۳۷. **Teimouri, M.; Amir Kolaie, A.S. and Yeganeh, S., 2013**. The effects of Spirulina platensis meal as a feed supplement on growth performance and pigmentation of rainbow trout (Oncorhynchus mykiss). Aquaculture. Vol. 14, No. 19, pp: 396-399. doi: org/10.1016/j.aquaculture.۲۰۱۳,۰۲,۰۰۹.

۳۸. **Waley, K. and North, J., 1997**. Haemolytic assays for whole complement activity and individual components. In: (Dodds, A.W. and Sim, R.B., eds.), Complement: A Practical Approach, Vol. 1: Oxford University Press, Oxford. Great Britain. pp: 19-47.

۳۹. **Zheljazkov, V.D.; Cantrell, C.L.; Astatkie, T. and Jeliazkova, E., 2013**. Distillation time effect of lavender essential oil yield and composition. Journal of Oleo Science. Vol. 62, pp: 195-199.

۴۰. **Zhou, X.; Li, M.; Abbas, Kh. and Wang, W., 2009.** Comparison of haematology and serum biochemistry of cultured and wild Dojo loach (*Misgurnus anguillicaudatus*). Fish Physiology Biochemistry. Vol. 35, pp: 435-۴۴۱.