(DOI): 10.22034/AEJ.2020.131235

مقاله پژوهشی

بررسی اثرات عصاره متانولی گیاه مرزه (*Satureja hortensis*) بر فاکتورهای رشد، خون‌شناسی و بیوشیمیایی سرم در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

- **ماریا محسنی**: گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران
- **سیاوش سلطانیان**: گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران
- **امین غلامحسینی***: گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران
- **مصطفی اخلاقی**: گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران
- **حسن شریفی‌یزدی**: گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران
- **سعید حسین‌زاده**: گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

تاریخ دریافت: آبان ۱۳۹۸ تاریخ پذیرش: بهمن ۱۳۹۸

چکیده

در این مطالعه، به‌منظور یافتن جایگزینی برای محرک‌های رشد و ایمنی شیمیایی و کاهش مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها در صنعت آبزی‌پروری، اثر عصاره متانولی برگ گیاه مرزه در جیره ماهی قزل‌آلای‌رنگین‌کمان بر شاخص‌های مختلف رشد، پارامترهای خونی و بیوشیمیایی سرم مورد بررسی قرار گرفت. برای این منظور، ۳٦۰ قطعه ماهی (با میانگین وزنی ۱/۷±۱٤ گرم) تهیه و بعد از گذراندن دوره سازگاری به‌مدت ٦۰ روز با جیره‌های آزمایشی حاوی صفر (شاهد)، ۱، ۲ و ۳ درصد عصاره مرزه تغذیه شدند و سپس مورد بررسی قرار گرفتند. طبق نتایج، وزن نهایی ماهی‌ها در تیمار ۲ بالاتر و ضریب تبدیل غذایی (FCR) در همه تیمارها پایین‌تر از گروه شاهد بود (P<۰/۰۵). تعداد گلبول‌های قرمز و سفید و نیز هموگلوبین و هماتوکریت در گروه شاهد به‌طور معنی‌داری (P<۰/۰۵) کم‌تر از سایر تیمارها بود. کم‌ترین میزان گلوکز و بیش‌ترین میزان تری گلیسیرید، کراتین و کلسترول نیز در گروه شاهد دیده شد (P<۰/۰۵). میزان آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) و لاکتات‌دهیدروژناز (LDH) به‌ویژه در تیمار۳، بالاتر از گروه شاهد ولی میزان آنزیم آلکالین فسفاتاز (ALP) کم‌تر از شاهد بود (P<۰/۰۵). میزان پروتئین کل، در تیمارهای ۲ و ۳ و میزان فعالیت آنزیم لیزوزیم در همه گروه‌ها بالاتر از گروه شاهد بود (P<۰/۰۵). با توجه به نتایج به‌دست آمده اثرات سودمند عصاره مرزه، به‌ویژه در غلظت ۲٪ بر عملکرد رشد، پاسخ‌های ایمنی و پارامترهای خونی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان مشاهده گردید، لذا توصیه می‌شود پرورش‌دهندگان با توجه به قیمت مناسب این گیاه استفاده آن را در جیره مراکز پرورش خود لحاظ نمایند.

کلمات کلیدی: قزل‌آلای رنگین‌کمان، عصاره گیاهی، مرزه (*Satureja hortensis*)، رشد، پارامترهای خون‌شناسی

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: dra.gholamhosseini@yahoo.com

(DOI): 10.22034/AEJ.2020.131235

مقدمه

امروزه آبزی‌پروری از رشد نسبتاً خوبی برخوردار است،ولی وجود بیماری‌های مختلف تا حدودی مانع از رشد سریع آن شده و خسارات اقتصادی‌را بر پرورش‌دهندگان تحمیل‌نموده است(Pietersو همکاران، ۲۰۰۸).قابلیّت تطابق‌پذیری بالای‌ماهی قزل‌آلای‌رنگین‌کمان‌با شرایط آب و هوایی ایران باعث‌شده است که‌این‌ماهی به‌عنوان یکی از‌مهم‌ترین گونه‌های پرورشی کشور تبدیل گردد و سهم بالایی از تولید آبزیان پرورشی را به خود اختصاص دهد. اما، بیماری‌های باکتریایی یکی از مشکلات بهداشتی مهم در مزارع پرورشی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به‌شمار می‌روند. به‌همین دلیل، مدیریت بهداشتی مزارع پرورش قزل آلا از‌مهم‌ترین جنبه‌های‌مدیریتی این‌عرصه به‌شمار می‌رود (علیشاهی و همکاران، ۱۳۹۱). معمولاً پرورش‌دهندگان به‌هنگام مشاهده و شیوع بیماری‌های باکتریایی خودسرانه از آنتی‌بیوتیک‌ها برای درمان و حتی کنترل بیماری استفاده می‌کنند. در این حالت علاوه بر ایجاد مشکلات زیست‌محیطی‌و باقی‌مانده‌های دارویی در‌بافت‌های ماهی،مسئله ایجاد مقاومت در عوامل بیماری‌زا و توسعه آن در بین جمعیت‌های میکروبی نیز وجود خواهد داشت (Harikrishnan و همکاران، ۲۰۱۱). برای پیشگیری از‌چنین شرایطی، می‌توان به‌جای استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها، با روش‌هایی از قبیل افزایش کیفیت آب، استفاده از واکسن‌ها، استفاده از میکروارگانیزم‌های مفید (پروبیوتیک‌ها)، محرک‌های سیستم ایمنی و غیره آن را مدیریت کرد (Son و همکاران، ۲۰۰۹). محرک‌های رشد گیاهی مزیت‌های متعددی نسبت به محرک‌های رشد مصنوعی دارند، که می‌توان به در دسترس بودن، آسیب کم‌تر برای محیط‌زیست و جانور و امکان تولید در سطح وسیع و هزینه کم‌تر تولید اشاره کرد (رخشان و چله‌مال‌دزفول‌نژاد، ۱۳۹۶). از طرفی، یکی دیگر از مواردی که در سال‌های اخیر علاقه زیادی را به خود جلب کرده، استفاده از محصولات‌طبیعی است‌و به‌همین دلیل،گیاهان‌دارویی زیادی به‌منظور شناسایی فعالیت‌های بیولوژیکی متنوع و خواص درمانی احتمالی مورد مطالعه قرار گرفته‌اند (Sharifzadeh و همکاران، ۲۰۱۶). با توجه به مزایای متعدد استفاده از گیاهان‌دارویی در آبزی‌پروری، استفاده از این داروها بسیار مورد توجه بوده و احتمال جایگزین شدن بسیاری از داروهای شیمیایی با داروهای گیاهی وجود دارد، لذا با توجه به تنوع گیاهی بسیار بالا و وجود گیاهان دارویی با کاربردهای متعدد در کشور، تحقیقات در این زمینه ضروری می‌باشد (سنچولی و ریگی، ۱۳۹۴). داروهاومحرک‌های‌گیاهی‌باتاثیرگذاری‌بر‌سیستم‌ایمنی‌ماهیان موجب فعال شدن سلول‌های موثر در ایمنی می‌شوند که از آن جمله اثرات احتمالی آن، افزایش فعالیت سلول‌های ماکروفاژی، افزایش سلول‌های فاگوسیتوزکننده(نوتروفیل‌هاو مونوسیت‌ها)،افزایش‌تعداد لنفوسیت‌ها و ایمونوگلبولین‌های سرم و افزایش فعالیت لیزوزیم می‌باشد (عادل و همکاران، ۱۳۹۴). استفاده از این مواد ابزار مؤثری برای افزایش شاخص‌های رشد، ظرفیت سیستم ایمنی و مقاومت ماهی در برابر بیماری‌های شایع بوده و تحقیق در مورد استفاده از مکمل‌ها، روند رو به رشدی دارد (Hosseinifar و همکاران، ۲۰۱۰). خون به‌عنوان یک بافت سیال و سهل‌الوصول، یکی از مهم‌ترین مایعات بیولوژیک بدن بوده که تحت تاثیر حالات مختلف فیزیولوژیک و پاتولوژیک ترکیبات آن دستخوش تغییر و نوسان می‌گردند (Rehulka و همکاران، ۲۰۰۴؛ خواجه و پیغان، ۱۳۸۶) و مطالعه فاکتورهای خونی نسبت به‌روش‌های دیگر ساده‌تر و کم هزینه‌تر می‌باشد (رحیمی‌بشر و همکاران، ۱۳۸۶). آزمایشات هماتولوژی و آنالیز اجزاء سرم خون به‌عنوان ابزاری مناسب به‌منظور تشخیص اختلالات‌متابولیکی،ارزیابی‌وضعیت‌سلامتی ماهیان در شرایط پرورشی متراکم، مقاومت غیراختصاصی گونه‌های مختلف ماهی و مولدین، ارزیابی وضعیت تغذیه و ارزیابی تاثیر مواد افزودنی به غذای ماهی‌مورد استفاده قرار می‌گیرد(عادل و همکاران، ۱۳۹۴). مرزه (*Satureja hortensis*)، گیاهی یک‌ساله از خانواده نعناع (Labiatae) می‌باشد. مرزه به‌عنوان گیاه خوشبوی تابستانه بومی مناطق جنوبی اروپا و بخش‌هایی از طبیعت آمریکای شمالی شناخته شده است (Mozafarian، ۲۰۰۶). در بسیاری از کشورها ازجمله انگلیس از مرزه به‌عنوان یکی از گیاهان مهم ادویه‌ای استفاده می‌شود. ترکیبات اصلی اسانس مرزه شامل ترکیب‌های فنولی کارواکرول و تیمول و هم‌چنین پارا-سیمن، بتا- کاریوفیلن و لینالول می‌باشند. این جنس، حدود ۳۰ گونه دارد. ۱۲ گونه از این جنس در ایران وجود دارند که حدود ۸ گونه آن بومی و منحصر به کشور ایران می باشد (Zarezadeh، ۲۰۰۵). بیش‌تر مطالعات بر روی خواص ضدباکتری و ضدقارچی اسانس و عصاره مرزه متمرکز شده‌اند و خواص ضدمیکروبی آن علیه پاتوژن‌های انسان، جانوران و گیاهان به‌دلیل داشتن ترکیبات فنولی و کارواکرولی را ثابت کرده‌اند (Gulluce و همکاران، ۲۰۰۳). به‌علاوه، در مطالعاتی که بر روی این گیاه صورت گرفته است خواص محرک رشد (میرباقری و همکاران، ۱۳۹۶)، آنتی‌میکروبیال(Aksu و OZER، ۲۰۱۳؛ Anghel و همکاران، ۲۰۱۳؛ Bouari و همکاران، ۲۰۱۱؛ Hosseini و همکاران، ۲۰۱۳؛ Karami-Osboo و همکاران، ۲۰۱۰؛ Kotan و همکاران، ۲۰۱۲ و ۲۰۱۳؛ Nabigol، ۲۰۱۱؛ Nedorostova و همکاران، ۲۰۱۱؛ Sagdic و همکاران، ۲۰۱۳؛ Shojaee-Aliabadi و همکاران، ۲۰۱۳)، آنتی‌اکسیدانی (Alinkina و همکاران، ۲۰۱۳؛ Hosseini و همکاران، ۲۰۱۳؛ Inotai و همکاران، ۲۰۱۲؛ Plander و همکاران، ۲۰۱۲؛ Yesiloglu و همکاران، ۲۰۱۳)، ضدالتهابی (Hajhashemi و همکاران، ۲۰۱۲) و ایمنی (Stef و همکاران، ۲۰۱۲) آن مورد بررسی و تایید قرار گرفته است.هم‌چنین، Rajaian و همکاران (۲۰۱۴)، تاثیر استفاده از پودر مرزه را در جیره طیور، به‌عنوان جایگزینی برای محرک‌های

(DOI): 10.22034/AEJ.2020.131235

رشد ضدمیکروبی بررسی کردند و با توجه به وزن نهایی بالاتر مرغ‌هایی که در جیره آن‌ها از ۱ درصد مرزه استفاده شده بود نسبت به گروه شاهد، پیشنهاد دادند که می‌توان از مرزه به‌عنوان یک محرک رشد طبیعی در جیره طیور استفاده کرد. Boroja و همکاران (۲۰۱۸)، بیان کردند که تاکنون، گزارشات علمی نسبتاً کمی در مورد فعالیت بیولوژیکی عصاره خشک مرزه نسبت به گزارشات مربوط به فعالیت زیستی و آنالیز شیمیایی اسانس آن وجود دارد. از این‌رو، هدف این مطالعه بررسی اثر عصاره متانولی برگ گیاه مرزه در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان بر شاخص‌های مختلف رشد، پارامترهای خونی و بیوشیمیایی سرم می‌باشد.

مواد و روش‌ها

تهیه عصاره الکلی برگ گیاه مرزه: میزان ۴ کیلوگرم از برگ این گیاه تهیه و پس از تائید توسط بخش گیاه‌شناسی دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز، در محیط خشک و به دور از نور خورشید و در جریان هوا خشک و به‌وسیله آسیاب به‌صورت پودر درآورده شد. براساس روش کار Sivaram (۲۰۰۴)، پودر به‌دست آمده در بالن‌های یک لیتری و به نسبت ۱ به ۵ با الکل متانول ۸۰٪ مخلوط شده و به‌مدت ۴۸ ساعت بر روی دستگاه شیکر به‌آرامی مخلوط گردید. سپس مخلوط به‌دست آمده توسط صافی و قیف بوخنر صاف شد. سپس مرحله الکل پرانی عصاره به‌دست آمده، صورت گرفت و عصاره تغلیظ شده تا زمان استفاده در یخچال نگه‌داری شد.

تهیه نمونه‌های ماهی: سیصد قطعه ماهی قزل‌آلای رنگین کمان با میانگین وزنی ۱/۷±۱۴ از کارگاه دلخان شش پیر در استان فارس خریداری شد و با رعایت اصول هوادهی به سالن بخش آبزیان منتقل شد. قبل از ورود ماهی‌ها سالن و مخازن نگه‌داری ضدعفونی (با فرمالین دوز ۲۵۰ پی‌پی‌ام مدت زمان ۶۰ دقیقه) و مخازن ۵۰۰ لیتری تا حجم ۴۰۰ لیتر آبگیری شد. روزانه ۳۰ درصد از حجم آب مخازن با آب تازه تعویض می‌شد. ماهی‌ها به‌صورت تصادفی در چهار تیمار و هر تیمار با سه تکرار تقسیم شدند که هر تکرار شامل ۲۵ قطعه ماهی بود. مدت زمان دو هفته برای سازگاری ماهی‌ها با شرایط جدید درنظر گرفته شد.

تیماربندی و تهیه جیره‌های حاوی عصاره: غذای مورد نیاز ماهی‌ها از کارخانه ۲۱ بیضا در استان فارس خریداری گردید و جیره‌های حاوی درصدهای مختلف عصاره (۱ و ۲ و ۳ درصد) تهیه شد. به این منظور، مقادیر مورد نیاز عصاره برای هر گروه در مقداری متانول حل شد، سپس روی مقدار محاسبه شده غذای تجاری اسپری گردید و بعد از مخلوط شدن و اطمینان از آغشته شدن همه دانه‌های پلت‌ها به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد خشک شدند. در مرحله بعد، برای پوشاندن پلت‌های مذکور از محلول ۴ درصد ژلاتین در آب مقطر به‌عنوان یک چسباننده با نسبت ۵:۴۰ (وزن/حجم) برای ثابت کردن عصاره‌های گیاهی استفاده شد (با استفاده از روش Wu و همکاران، ۲۰۱۳). به جیره غذایی گروه شاهد نیز به نسبت مساوی ژلاتین افزوده شد. پلت‌ها به‌مدت ۶ ساعت در دمای اتاق (۲۵ درجه سانتی‌گراد) خشک شدند و تا زمان استفاده در کیسه‌های در بسته در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند. غلظت‌های به‌کار رفته عصاره مرزه در این تحقیق براساس روش قاسمی‌پیربلوطی و همکاران (۱۳۹۰) که یک درصد اسانس مرزه، عادل و همکاران (۱۳۹۴) که غلظت‌های یک، ۲ و ۳ درصد عصاره نعناع فلفلی را به جیره اضافه کرده بودند و با توجه به درنظر گرفتن توجیه اقتصادی جیره به‌صورت ۱، ۲ و ۳ درصد درنظر گرفته شد. در جیره شاهد تنها متانول به‌همان مقدار به غذا اضافه شد. غذای مصرفی در یخچال ۴ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شد. روزانه ۲ درصد وزن بدن غذادهی صورت گرفت و هر هفته براساس بیومس جدید میزان غذادهی محاسبه شد. آنالیز تقریبی غذای تجاری مورد استفاده در جدول ۱ آورده شده است. تیمارها به‌صورت زیر در ۴ تیمار و ۳ تکرار دسته‌بندی شدند:

گروه شاهد: تغذیه با خوراک تجاری بدون عصاره مرزه

تیمار ۱: تغذیه با خوراک تجاری حاوی ۱٪ عصاره متانولی مرزه

تیمار ۲: تغذیه با خوراک تجاری حاوی ۲٪ عصاره متانولی مرزه

تیمار ۳: تغذیه با خوراک تجاری حاوی ۳٪ عصاره متانولی مرزه

جدول ۱: آنالیز تقریبی غذای تجاری مورد استفاده

آنالیز غذایی	GFT1 (درصد)	GFT2 (درصد)
پروتیئن خام حداقل	۳۸	۳۶
چربی خام حداقل	۱۴	۱۴
خاکستر حداکثر	۱۰	۱۰
فیبر حداکثر	۴	۴
فسفر حداقل	۱/۱	۱
رطوبت حداکثر	۱۱	۱۱

ماهی‌ها به‌مدت ۶۰ روز تغذیه شدند و سپس، نمونه‌برداری از آن‌ها، به‌منظور سنجش پارامترهای رشد، خونی و بیوشیمیایی صورت گرفت.

خونگیری: ماهی‌های صید شده داخل تشت حاوی محلول پودر گل میخک و آب (به‌میزان ۱۵۰ پی‌پی‌ام) قرار گرفته و پس از بی‌هوشی، خون از ورید ساقه دمی با استفاده از یک سرنگ ۲ سی‌سی انجام شد و به اپندورف‌های ۲ سی‌سی غیرهپارینه (جهت سنجش فاکتورهای بیوشیمیایی و ایمنی) و هپارینه (جهت سنجش شاخص‌های خونی) که قبلاً توسط دستگاه اتوکلاو استریل شده‌اند منتقل شد. سپس نمونه‌های غیرهپارینه درمرحله بعد جهت جداسازی سرم، با ۵۰۰۰

(DOI): 10.22034/AEJ.2020.131235

دور در دقیقه به‌مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. نمونه‌ها بلافاصله به فریزر با دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد انتقال یافت.

شاخص‌های رشد: رشد ماهیان در روزهای نمونه‌برداری با ترازوی یک‌رقم اعشار اندازه‌گیری شد. سه شاخص رشد در این مطالعه بررسی شد که شامل وزن حاصله، شاخص رشد ویژه و ضریب تبدیل بود.

(گرم) وزن اولیه – (گرم) وزن ثانویه = وزن حاصله

$^{-1}$روز (وزن اولیه ln - وزن ثانویه ln) 100 = (SGR) نرخ ویژه رشد

(گرم) وزن حاصله/ (گرم) غذای خورده شده = (FCR) ضریب تبدیل

شمارش گلبول‌های سفید و قرمز و فاکتورهای خونی: نمونه‌های خون بلافاصله برای ارزیابی تعداد اریتروسیت‌ها (RBC)، لکوسیت‌ها (WBC)، هموگلوبین (Hb) و هماتوکریت (Hct) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. شمارش اریتروسیت‌ها و لکوسیت‌ها با استفاده از روش Schaperclaus و همکاران (۱۹۹۱) انجام شد. میزان هموگلوبین (Hb) با استفاده از روش سیانتو مت هموگلوبین و با محلول درابکین اندازه‌گیری شد (Goldenfarb و همکاران، ۱۹۷۱). هماتوکریت با روش میکروهماتوکریت تعیین شد. جهت شمارش افتراقی گلبول‌های سفید یک قطره کوچکی از خون روی لام تمیز و استریل قرار داده شده و با استفاده از لام دیگر خون در لبه لام به‌طور یکنواخت پخش گردید و پس از آن در مجاورت هوا خشک گردید، سپس لامل گسترش به‌مدت ۵ دقیقه در محلول متانول به‌منظور ثبیت شدن قرار گرفت و پس از آن به‌مدت ۲۰ دقیقه در محلول گیمسا جهت رنگ‌آمیزی قرار داده شد. به‌منظور شمارش افتراقی گلبول‌های سفید از میکروسکوپ نوری و روغن ایمرسیون استفاده شد. تعداد ۱۰۰ عدد گلبول سفید از هر گسترش مورد شمارش قرار گرفت و درصد انواع مختلف لکوسیت‌ها محاسبه شد.

میزان پروتئین کل، تری‌گلیسیرید، کراتینین، گلوکز، ALP، LDH، SGOT: اندازه‌گیری میزان غلظت پروتئین کل، آلبومین، تری گلیسیرید، کراتینین، گلوکز، SGOT، LDH، ALP به‌وسیله کیت پارس آزمون توسط دستگاه اتوآنالیزر بیوشیمیایی بخش کلینیکال پاتولوژی مدل Alpha Classic AT++, Sanjesh, Iran دانشکده دامپزشکی شیراز بخش کلینیکال پاتولوژی انجام شد.

فعالیت لیزوزیم سرم: برای سنجش میزان فعالیت لیزوزیم سرم از روش Parry و همکاران (۱۹۶۵) استفاده شد. به این منظور، باکتری *Micrococcus lysodeikticus* کشت داده شده بر محیط کشت نوترینت آگار از سطح پلیت برداشته شد. باکتری‌ها چند بار با آب مقطر مخلوط و سانتریفیوژ شد و آب مقطر تخلیه شد. این کار چند بار تکرار شد تا از شستشو و خالص بودن باکتری و نبودن محیط کشت، اطمینان حاصل شود. باکتری همراه با آب مقطر درون یک پلیت ریخته و درون انکوباتور در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد گذاشته شد تا کاملاً خشک شود. سپس ۰/۲ میلی‌گرم از باکتری خشک شده در ۱ میلی‌لیتر بافر سدیم فسفات (pH= ۵/۷۵ و ۰/۰۴ مول=PBS) حل شد و به ۲ میکرولیتر سرم ماهی اضافه گشت تا به حجم نهایی ۳ میلی‌لیتر برسد. جذب نوری این محلول در دمای اتاق، در طول موج ۵۳۰ نانومتر در زمان‌های ۰/۵ و ۴/۵ دقیقه خوانده شد. فعالیت هر واحد آنزیم با کاهش هر ۰/۰۰۱ واحد در دقیقه محاسبه شد.

برای یافتن اختلاف معنی‌دار بین میانگین تیمارها با گروه شاهد در مورد فاکتورهای سنجش شده، ابتدا کلیه داده‌های جمع‌آوری شده در نرم‌افزار اکسل ۲۰۰۷ ثبت شد، سپس برای کنترل نرمال بودن داده‌ها از آزمون کلموگروف-اسمیرنوف و برای همگنی واریانس از آزمون له‌وین استفاده شد. پس از آن جهت آنالیز داده‌ها از روش واریانس یک‌طرفه (One-Way ANOVA) با مقایسه میانگین‌ها استفاده شد، در صورت وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها از آزمون آماری دانکن (Duncan) در سطح اطمینان ۹۵ درصد و سطح معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) برای مقایسه دو به دو تیمارها استفاده شد.

نتایج

همان‌طورکه در جدول ۲ مشاهده می‌شود، وزن نهایی در تیمار۲ به‌طور معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) بالاتر از سایر تیمارها و نیز تیمار شاهد بود، اما دو تیمار ۱ و ۳ تفاوت معنی‌داری از نظر میانگین وزن نهایی با گروه شاهد نداشتند. ضریب تبدیل غذایی در ماهی‌هایی که خوراک حاوی عصاره مرزه دریافت کرده بودند، پایین‌تر بود، به‌نحوی‌که تیمارهای ۲ و ۳ بهترین ضریب تبدیل غذایی را نشان دادند. در انتهای دوره، دو پارامتر ضریب رشد ویژه (SGR) و وزن به‌دست‌آمده (WG) در تیمارهای حاوی عصاره تفاوت معنی‌داری باهم و با گروه شاهد نداشتند ($P<۰/۰۵$). شمارش گلبول‌های قرمز در خون ماهی‌های گروه شاهد کم‌تر از سه تیمار حاوی عصاره مرزه بود، به‌طوری‌که این تعداد در خون ماهی‌های تیمار ۳ بیش‌ترین مقدار بود (در سطح $P<۰/۰۵$). تعداد گلبول‌های سفید نیز در گروه شاهد، به‌طور معنی‌داری (در سطح $P<۰/۰۵$) کم‌تر از گروه‌های تغذیه شده با غذای حاوی عصاره بود، به‌طوری‌که شمارش آن‌ها به‌ترتیب در تیمارهای ۱، ۲ و ۳ افزایش می‌یافت (جدول۳). شمارش افتراقی گلبول‌های سفید نیز نشان داد که درصد مونوسیت‌ها و ائوزینوفیل‌ها در تیمارهای آزمایشی تفاوت معنی‌داری با هم و با گروه شاهد نداشتند. میانگین درصد لنفوسیت‌ها و نوتروفیل‌ها در خون ماهی‌های گروه شاهد به‌ترتیب بیش‌ترین و کم‌ترین مقدار بود ولی تنها تیمار ۳ تفاوت معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) به لحاظ آماری با گروه شاهد داشت. میزان هموگلوبین در تیمارهایی که جیره حاوی مرزه دریافت کرده بودند، نسبت به گروه شاهد بیش‌تر و دو تیمار ۲ و ۳ بیش‌ترین میزان هموگلوبین را داشتند ($P<۰/۰۵$). هماتوکریت در گروه شاهد کم‌تر و در تیمار ۳ بیش‌تر از سایر گروه‌ها بود

(DOI): 10.22034/AEJ.2020.131235

(P<۰/۰۵). همان‌طور که در جدول ۴ مشاهده می‌شود، کم‌ترین میزان گلوکز مربوط به گروه شاهد و بیش‌ترین مقدار آن مربوط به تیمار ۲ بود، در تیمارهای ۱ و ۳ هم میزان آن مشابه یکدیگر و بالاتر از گروه شاهد بود (P<۰/۰۵). بیش‌ترین میزان تری‌گلیسیرید مربوط به گروه شاهد بود، به‌طوری‌که با افزایش درصد عصاره مرزه در جیره، میزان آن در خون کاهش یافته و در تیمار ۳ به کم‌ترین حد خود رسیده است (P<۰/۰۵). میزان کراتینین به‌ترتیب در تیمار۱، ۳ و ۲ کم‌تر از گروه شاهد بود به‌طوری‌که بیش‌ترین مقدار آن (P<۰/۰۵) در گروه شاهد معادل ۰/۷۶۴ (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) و کم‌ترین مقدار آن (P<۰/۰۵) در گروه ۱٪ معادل ۰/۱۸۱ (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) بود. در مورد کلسترول نیز، نتایج آزمایشات نشان داد که تیمار ۳ دارای کم‌ترین مقدار (۳۰۱/۴ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) و گروه شاهد دارای بالاترین مقدار (۴۶۰/۸ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) کلسترول بودند و در دو تیمار دیگر نیز میزان کلسترول کم‌تر از گروه شاهد بود (P<۰/۰۵). میزان آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز (SGOTیا AST) در تیمار ۱ و ۲ به‌طور معنی‌داری(P<۰/۰۵) پایین‌تر از گروه شاهد بود. آنزیم آلکالین فسفاتاز (ALP) نیز در گروه‌های تغذیه شده با جیره حاوی مرزه پایین‌تر از گروه شاهد بود و دو تیمار ۱و ۳ اختلاف معنی‌داری را با گروه شاهد نشان دادند (P<۰/۰۵). کم‌ترین میزان این آنزیم نیز مربوط به تیمار ۳ و حدود ۵۵۲ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر بود. آنزیم لاکتات دهیدروژناز (LDH) در دو تیمار ۱ و ۲ کم‌تر ولی در تیمار ۳ بیش‌تر از گروه شاهد بود (P<۰/۰۵).

جدول۲: نتایج پارامترهای رشد در تیمارهای آزمایشی (انحراف معیار ± میانگین)

پارامتر / تیمار	وزن نهایی (گرم)	وزن به دست آمده (WG) (گرم)	ضریب تبدیل غذایی (FCR)	ضریب رشد ویژه(SGR) (درصد/روز)
شاهد	۴۷/۰±۹۲۴/۷۴^{a}	۳۶/۰±۳۰۱/۹۲^{a}	۱/۰±۳۳۵۲/۰۸۷^{c}	۲/۰±۵۳۴۲/۱۲۷^{a}
تیمار ۱	۴۸/۱±۴۲۷/۰۶^{ab}	۳۶/۰±۷۳۳/۹۷^{a}	۱/۰±۲۳۰۴/۰۵۳^{b}	۲/۰±۵۳۹۴/۰۸۶^{a}
تیمار ۲	۴۹/۱±۱۲۹/۱۲^{b}	۳۶/۱±۸۹۲/۱۷^{a}	۱/۰±۰۶۶۷/۰۷۶^{a}	۲/۰±۴۸۲۵/۰۶۸^{a}
تیمار ۳	۴۸/۰±۱۹۹/۴۲^{a}	۳۶/۰±۲۵۸/۸۸^{a}	۱/۰۸۴۱/۰±/۰۳۱^{a}	۲/۰±۴۹۶۶/۱۳۵^{a}

جدول ۳: نتایج مقایسه میانگین شمارش افتراقی سلول‌های خونی در تیمارهای آزمایشی (انحراف معیار ± میانگین)

تیمارها	گلبول قرمز (تعداد در میلی‌لیتر*۱۰۵)	گلبول سفید (تعداد در میلی‌لیتر*۱۰۳)	هماتوکریت (درصد)	هموگلوبین (گرم در دسی‌لیتر)	لنفوسیت‌ها (درصد)	نوتروفیل‌ها (درصد)	مونوسیت‌ها (درصد)	ائوزینوفیل‌ها (درصد)
شاهد	۱۷/۱±۱^{a}	۱۳/۸±۰/۳^{a}	۳۸/۳±۱/۵^{a}	۶/۵±۰/۱^{a}	۸۰/۲±۶/۵۰^{b}	۱۷/۶±۲/۵۴^{a}	۱/۶±۰/۶۹	۰/۲±۰/۴۲
تیمار ۱	۱۷/۰±۶/۴^{ab}	۱۴/۰±۵/۲^{b}	۴۲/۹±۲/۰^{b}	۶/۸±۰/۰۶^{b}	۲±۷۹/۸۶ ^{ab}	۱۹±۳/۰۱^{ab}	۱/۴±۰/۶۹	۰/۴±۰/۵۱
تیمار ۲	۱۸/۱±۰/۳^{b}	۱۵/۰±۸/۴^{c}	۴۲/۸±۲/۰^{b}	۷/۱±۰/۱۶^{c}	۷۹±۲/۷۰ ^{ab}	۱۹±۲/۵۳^{ab}	۱/۶±۰/۸۴	۰/۴±۰/۵۱
تیمار ۳	۲۰/۰±۱/۸^{c}	۱۵/۰±۸/۸^{c}	۴۴/۹±۱/۵^{c}	۷/۲±۰/۲^{c}	۱±۷۷/۹۴ ^{a}	۲۱/۳±۲/۲۱^{b}	۱/۴±۰/۸۴	۰/۴±۰/۵۱

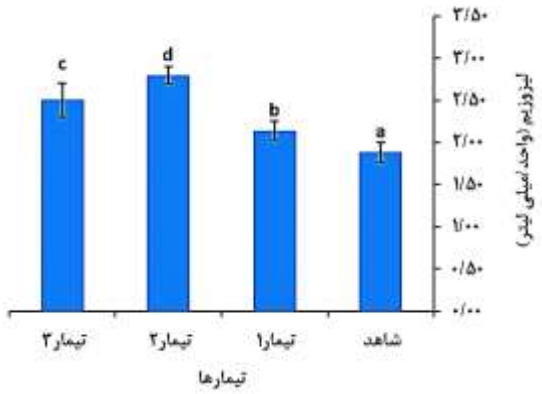
جدول۴: نتایج مقایسه میانگین پارامترهای خونی در تیمارهای آزمایشی(انحراف معیار ± میانگین)

	شاهد	تیمار۱	تیمار ۲	تیمار ۳
گلوکز (میلی‌گرم/دسی‌لیتر)	۵۰/۰±۴۹/۸۴^{a}	۷۱/۱±۴۹/۱۱^{b}	۸۱/۰±۵۴/۸۱^{c}	۷۱/۰±۶۱/۸۱^{b}
تری گلیسیرید (میلی‌گرم/دسی‌لیتر)	۷۹۴/۴±۱/۱۵^{d}	۷۸۳/۲±۵/۲۲^{c}	۵۸۲/۳±۶/۹۸^{b}	۳۶۶/۱۴±۵/۰۴^{a}
کلسترول (میلی‌گرم/دسی‌لیتر)	۴۶۰/۸±۸/۲^{c}	۳۷۱/۹±۸/۳^{b}	۳۷۱/۵±۱/۹^{b}	۳۰۱/۶±۴/۲^{a}
کراتینین (میلی‌گرم/دسی‌لیتر)	۰/۰±۷۶۴/۰۱۸^{d}	۰/۰±۱۸۱/۰۰۹^{a}	۰/۰±۴۶۹/۰۱۵^{c}	۰/۰±۳۹۲/۰۱۱^{b}
آسپارتات آمینوترانسفراز (واحد/دسی‌لیتر)	۲۲۹/۲۲±۳/۳^{c}	۱۵۲/۴±۷/۱۴^{a}	۱۷۸/۷±۳/۷۳^{b}	۲۳۰/۸±۳/۷۶^{c}
آلکالین فسفاتاز (واحد/دسی‌لیتر)	۶۹۰/۷±۶/۶^{c}	۲۸±۵۵۲/۹^{a}	۶۶۷/۱۱±۴/۴^{b}	۶۸۰/۱۳±۱/۵^{bc}
لاکتات دهیدروژناز (میلی‌گرم/دسی‌لیتر)	۱۶۴۸/۹±۴/۱^{c}	۱۲۹۵/۱۳±۹/۵^{a}	۱۶۳۲/۱۶±۳/۶^{b}	۱۷۰۸/۲۴±۹/۲^{d}

وجود حروف غیرهمنام در هر ستون، نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در بین گروه‌های آزمایشی است (P<۰/۰۵).

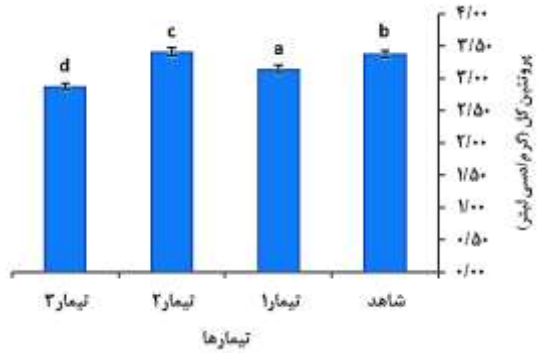
(DOI): 10.22034/AEJ.2020.131235

میزان فعالیت آنزیم لیزوزیم در همه گروه‌ها به‌طور معنی‌داری (P<۰/۰۵) بالاتر از گروه شاهد بود و تیمار ۲ بیش‌ترین میزان این فعالیت را داشت (شکل ۱).



شکل ۱: نمودار سطح فعالیت لیزوزیم سرم (واحد/میلی‌لیتر) درگروه های مختلف تحت تیمار با عصاره مرزه

در ارتباط با پروتئین کل تنها تیمارهای ۲ و ۳ افزایش داشتند که این افزایش به‌صورت معنی‌دار (P<۰/۰۵) بود (شکل ۲).



شکل ۲: نمودار میزان پروتئین کل سرم (گرم/دسی‌لیتر) در گروه‌های مختلف تحت تیمار با عصاره مرزه

بحث

استفاده از مکمل‌های غذایی، هم‌چون عصاره‌های گیاهی به‌عنوان جایگزین آنتی‌بیوتیک‌ها روند رو به رشدی در سراسر دنیا دارد (Adel و همکاران، ۲۰۱۵ a؛ Citarasu، ۲۰۱۰؛ Ghehdarijani و همکاران، ۲۰۱۶). ازجمله علل این امر می‌توان به ارزان‌بودن گیاهان، در دسترس بودن آن‌ها و عوارض کمی است که این گیاهان بر روی ماهی یا محیط دارند. گیاهان، دارای ترکیبات فعالی هستند که می‌توانند باعث بهبود هضم و متابولیسم و ایجاد اثرات ضدمیکروبی و محرک ایمنی در حیوانات شوند (Sabra و Metha، ۱۹۹۰). شاخص‌های رشد، افزایش وزن و نرخ رشد ویژه معرف وضعیت تغذیه در ماهی هستند (حسین زاده‌صحافی و همکاران، ۱۳۸۷) و عوامل متعددی این شاخص‌ها را تحت تاثیر قرار می‌دهند که ترکیب جیره غذایی یکی از آن‌ها است (Sahzadi و همکاران، ۲۰۰۶). کاهش ضریب تبدیل غذایی و وزن نهایی بالاتر در برخی تیمارهای تغذیه‌شده با عصاره نیز احتمالاً به‌دلیل ترکیبات فعال موجود در عصاره مرزه است که Rajaian و همکاران (۲۰۱۴) نیز پیش‌تر، تاثیر مثبت مرزه را به‌عنوان محرک رشد در جیره غذایی طیور ثابت کرده بودند. مشابه نتایج این تحقیق در مورد برخی دیگر از مکمل‌های تغذیه گیاهی نیز نتایج مشابهی یافت شده بود. همان‌گونه که Fakhim و همکاران (۲۰۱۳) نیز در تحقیق خود بر روی عصاره زنجبیل اشاره کردند، کاهش ضریب تبدیل غذایی در تیمارهای آزمایشی نسبت به گروه شاهد احتمالاً به‌علت ترکیبات فعال زنجبیل می‌باشد که این ترکیبات منجر به پایداری فلور باکتریایی روده و بهبود فرایند هضم و در نتیجه باعث کاهش ضریب تبدیل غذایی می‌شوند. در تحقیق دیگری علیشاهی و همکاران (۱۳۹۱)، نتیجه گرفتند که عصاره‌های سرخارگل، داروواش و آلوئه‌ورا باعث کاهش ضریب تبدیل غذایی، افزایش نرخ رشد ویژه و درصد افزایش وزن در ماهی برزم می‌شوند ولی در تیمار سیاه دانه این تاثیرات را مشاهده نکردند. اما، تاکید کردند که اثرات تحریک رشد و ایمنی و نیز افزایش مقاومت در برابر استرس‌ها (تراکم، عفونت باکتریایی) در ماهی برزم به‌دنبال تجویز خوراکی دو عصاره گیاهی سرخارگل و داروواش، قابل رقابت با اثرات محرک‌های رشد و ایمنی پذیرفته شده‌ای مثل ارگوسان، لوامیزول و ویتامین C می‌باشد. افزودن سیر به غذای ماهی تیلاپیای نیل، باعث افزایش میزان دریافت غذا، نرخ رشد ویژه و وزن نهایی آن شد (Shalaby و همکاران، ۲۰۰۶) به‌علاوه، در ماهی سی‌باس آسیایی (*Lates calcarifer*) افزودن پودرسیر به غذا باعث افزایش قابل توجهی در رشد و نرخ رشد ویژه و کاهش ضریب تبدیل غذایی در مقایسه با گروه شاهد، شده است (Talpur و Ikhwanuddin، ۲۰۱۲).

پارامترهای خونی به‌عنوان شاخصی برای تعیین وضعیت سلامتی آبزیان هستند (Talas و Gulhan، 2009). پارامترهای خونی در ماهیان ممکن است تحت تاثیر عوامل فیزیولوژیکی مانند جنسیت، مراحل تولید مثل، سن، اندازه و وضعیت سلامتی تغییر کنند (Nespolo و Rosenmann، ۲۰۰۲)، هم‌چنین این پارامترها تحت تاثیر عوامل خارجی نظیر فصل، دمای آب، شرایط محیطی، جیره غذایی و استرس دچار تغییر می‌شوند (Rios و همکاران، ۲۰۰۲). استفاده از پارامترهای خون‌شناسی در فعالیت‌های آبزی‌پروری برای بررسی سلامت آبزیان رو به گسترش است (Kori-Siakpere و همکاران، ۲۰۰۷). بنابراین برای مقایسه تاثیر رژیم‌های غذایی متفاوت بر سلامتی و سیستم دفاعی ماهیان آزمایشی می‌توان شاخص‌های خونی را بررسی کرد (Rehulka و همکاران، ۲۰۰۵؛ محمودی و همکاران، ۱۳۸۹). در ارتباط با پارامترهای شمار گلبول‌های

(DOI): 10.22034/AEJ.2020.131235

قرمز، گلبول‌های سفید، هموگلوبین و هماتوکریت یک افزایش وابسته به میزان عصاره مشاهده شد، لیکن در مورد شمار تفریقی گلبول‌های سفید مقادیر مونوسیت‌ها و ائوزینوفیل‌ها هیچ‌گونه تفاوت معنی‌داری نداشته و فقط در مورد لنفوسیت‌ها و نوتروفیل‌ها به‌ترتیب کاهش و افزایش معنی‌داری ($P<0/05$) در تیمارهای عصاره نسبت به تیمار شاهد مشاهده شد. این نتایج می‌تواند بیانگر آن باشد که استفاده از عصاره‌ها می‌تواند با بهبود سلول‌های سیستم ایمنی در ارتقاء سیستم ایمنی نقش داشته باشند. Iwama و Nakanishi (۱۹۹۶) اذعان داشتند که با توجه به تکامل بیش‌تر ایمنی غیراختصاصی ماهی نسبت به ایمنی اختصاصی و جایگاه ویژه محرک‌های ایمنی در تحریک ایمنی غیر اختصاصی، استفاده از محرک‌های ایمنی در آبزیان ارجحیت بیش‌تری نسبت به حیوانات خونگرم دارد. به‌همین دلیل اخیراً استفاده از محرک‌های ایمنی در ماهی به‌منظور افزایش قدرت ایمنی، ایجاد مقاومت در مقابل بیماری‌ها و بهبود فاکتورهای رشد توسعه زیادی یافته است. علیشاهی و همکاران، (۱۳۸۹) در تحقیق خود نتیجه گرفتند که تعداد گلبول‌های سفید، میزان هماتوکریت، هموگلوبین و نیز غلظت هموگلوبین گلبولی (MCHC) در تیمار اکیناسه و ارگوسان نسبت به گروه شاهد افزایش یافت درصورتی‌که تعداد گلبول‌های قرمز، حجم متوسط گلبولی (MCV) و میزان هموگلوبین گلبولی (MCH)، تحت تاثیر هیچ‌کدام از مواد مورد آزمایش قرار نگرفت و بیان کردند ارگوسان، عصاره اکیناسه و لوامیزول باعث تحریک خون‌سازی و افزایش برخی اندیس‌های خونی در ماهی اسکار شده ولی عصاره‌های آویشن و کندر تاثیری در مواردفوق ندارند. عادل و همکاران (۱۳۹۴)، در تعداد گلبول‌های سفید، گلبول‌های قرمز، حجم متوسط گلبولی، غلظت متوسط هموگوبین در گلبول قرمز، غلظت متوسط هموگلوبین گلبول‌های قرمز، نوتروفیل، لنفوسیت گروه‌های تغذیه شده با عصاره نعناع فلفلی با گروه شاهد اخلافات معنی‌داری مشاهده کردند اما نتایج حاصل از شمارش میزان مونوسیت و ائوزینوفیل خون ماهیان در بین تیمارهای مختلف هیچ‌گونه اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده نکردند. در مطالعه قاسمی‌پیربلوطی و همکاران (۱۳۹۰) میزان لنفوسیت‌ها و هتروفیل‌های خون ماهی‌های تغذیه شده با جیره حاوی اسانس مرزه بختیاری در مقایسه با شاهد به‌ترتیب کاهش و افزایش مشاهده گردید.

پارامترهای بیوشیمیایی سرم به‌عنوان یکی از شاخص سلامت ماهی نقش مهمی ایفا می‌کنند (Dawood و همکاران، ۲۰۱۵). در این مطالعه، سطوح تری‌گلیسرید و کراتینین در گروه‌های عصاره‌ای نسبت به گروه شاهد مقادیر معنی‌دار کم‌تری از خود نشان داد. مقادیر بالای کراتینین به‌عنوان عملکرد غیرطبیعی کلیه‌ها درنظر گرفته می‌شوند. در مطالعه رخشان و چله‌مال‌دزفول‌نژاد (۱۳۹۶) نیز تری‌گلیسیرید، کلسترول سرم خون و گلوکز بالاترین مقدار خود را در تیمار شاهد و کم‌ترین مقدار خود را در تیمار اسانس گیاه مورد با غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم نشان دادند.

در ارتباط با آنزیم‌های ALP، AST و LDH، در تیمارهای ۱ و ۲ مقادیر معنی‌دار کم‌تری نسبت به گروه شاهد مشاهده شد، این در حالی است که مقادیر بالای این آنزیم نشانه‌ای از عملکرد غیرنرمال کبد و به‌عنوان یک شاخص استرس درنظر گرفته می‌شود. عادل و همکاران (۱۳۹۴) تفاوت معنی‌داری بین سطوح این آنزیم‌ها در تیمارهای حاوی عصاره نعناع فلفلی با گروه شاهد مشاهده نکردند. بنایی و همکاران (۱۳۹۴)، نتیجه گرفتند که تجویز عصاره بومادران (در غلظت‌های ۱۰۴ و ۲۰۸ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن ماهی‌ها) می‌تواند تغییرات پارامترهای بیوشیمیایی خون مثل آنزیم‌های ALP، AST و LDH ماهی کپور آلوده شده به غلظت‌های کم *آئروموناس هیدروفیلا* را تنظیم کند.

نتایج این مطالعه نشان داد استفاده از جیره حاوی عصاره مرزه از طریق افزایش پارامترهایی هم‌چون پروتئین کل سرم و لیزوزیم می‌تواند ایمنی هومورال را تقویت کند. لیزوزیم یکی از مهم‌ترین اجزاء سیستم ایمنی هومورال می‌باشد که به‌وسیله تخریب دیواره باکتری، ماهی را در برابر عوامل مهاجم محفوظ می‌دارد (Dawood و همکاران، ۲۰۱۶). مشابه نتایج تحقیق حاضر، در مطالعه Nya و Austin (۲۰۱۱) میزان پروتئین سرم با اضافه کردن سیر و در مطالعه عادل و همکاران (۱۳۹۴) میزان پروتئین و لیزوزیم سرم با اضافه شدن عصاره نعناع فلفلی به جیره قزل‌آلا افزایش داشت. در مطالعه بنایی و همکاران (۱۳۹۴) با اضافه شدن عصاره بومادران به غذای کپورمعمولی پروتئین سرم افزایش معنی‌داری را نسبت به گروه شاهد نشان داد.

با توجه به نتایج به‌دست آمده در این تحقیق، می‌توان گفت که استفاده از عصاره مرزه (به‌ویژه غلظت ۲٪ آن) در جیره قزل‌آلای رنگین کمان، می‌تواند موجب بهبود عملکرد رشد، پاسخ‌های ایمنی و پارامترهای خونی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان شود، لذا، با توجه به قیمت مناسب این گیاه توصیه می‌شود پرورش‌دهندگان استفاده آن را در جیره مراکز پرورش خود لحاظ نمایند. اگرچه، به‌منظور ارزیابی اثرات این گیاه بر سایر شاخص‌های موثر در سلامتی و ایمنی ماهی ازجمله فلور باکتریایی روده، آنزیم‌های گوارشی، ترکیب لاشه و مقاومت در برابر استرس و پاتوژن‌ها به مطالعات بیش‌تری نیاز است.

منابع

۱. **بنایی، م.؛ نعمت‌دوست‌حقی، ب.؛ محیسنی م. و قلیزاده‌زارع توانا، ب.، ۱۳۹۴.** تاثیر تجویز عصاره بومادران (*Achillea millefolium*) بر پارامترهای بیوشیمیایی خون ماهی‌های کپور معمولی (*Cyprinus*

(DOI): 10.22034/AEJ.2020.131235

carpio) آلوده شده به باکتری (*Aeromonas hydrophila*). مجله بوم‌شناسی آبزیان. دوره ۵، شماره ۳، صفحات ۸۹ تا ۱۰۱.

۲. **حسین‌زاده‌صحافی، ه.؛ رجبی، ن.؛ طلوعی، م.ح. و سبحانی، م.، ۱۳۸۷.** شاخص‌های رشد بچه‌ماهی نورس کپورهندی (*Labeo rohita*) تا مرحله یک‌ساله در شرایط اقلیمی استان گیلان. پژوهش و سازندگی در امور دام و آبزیان. شماره ۷۸، صفحات ۱۶۷ تا ۱۷۵.

۳. **خواجه، غ. و پیغان، م.، ۱۳۸۶.** بررسی برخی فاکتورهای بیوشیمیایی سرم خون ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان پرورش یافته در استخرهای خاکی. مجله تحقیقات دامپزشکی. دوره ۳، صفحات ۱۹۷ تا ۲۰۳.

۴. **رحیمی‌بشر، م.؛ تهرانی‌فرد، ا.؛ قاسمی‌نژاد، ا.؛ علیپور، و. و فلاح‌چای، م.، ۱۳۸۶.** تعیین برخی از فاکتورهای‌خونی ماهی سفید دریای خزر (*Rutilus frissii Kutum*) در مراحل مختلف رشد گنادی. مجله علوم زیستی واحد لاهیجان. شماره ۳، صفحات ۴۵ تا ۵۶.

۵. **رخشان، م. و چله‌مال‌دزفول‌نژاد، م.، ۱۳۹۶.** بررسی تاثیرات ناشی از اسانس گیاه مورد (*Myrtus Communis L.*) بر عملکرد رشد پارامترهای‌خون‌شناسی‌وبیوشیمیایی بچه‌ماهی‌قزل‌آلای‌رنگین‌کمان (*Onchorhynchus mykiss*). فصلنامه محیط زیست جانوری. دوره ۹، شماره ۳، صفحات ۱۹۵ تا ۲۰۲.

۶. **سنچولی، ن. و ریگی، م.، ۱۳۹۴.** بررسی تأثیر عصاره گیاهان جغجغه، تاتوره و استبرق بر سه گونه باکتری بیماری‌زای ماهی. مجله تحقیقات دامپزشکی. دوره ۷۰، شماره ۴، صفحات ۴۵۵ تا ۴۶۲.

۷. **عادل، م.؛ پورغلام، ر.؛ ذریه‌زهرا، س.ج. و قیاسی، م.، ۱۳۹۴.** تاثیر سطوح مختلف عصاره نعناع فلفلی بر برخی شاخص‌های خونی، بیوشیمیایی و ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Onchorhynchus mykiss*). مجله علمی شیلات ایران. دوره ۲۴، شماره ۱، صفحات ۳۷ تا ۴۶.

۸. **علیشاهی، م.؛ سلطانی، م.؛ مصباح، م. و زرگر، ا.، ۱۳۹۱.** اثرات تحریک ایمنی و رشد لوامیزول، ارگوسان و سه عصاره گیاهی در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). مجله تحقیقات دامپزشکی. شماره ۶۷، صفحات ۱۳۵ تا ۱۴۲.

۹. **علیشاهی، م. و مصباح، م.، ۱۳۸۹.** مقایسه اثر تجویز خوراکی برخی محرک‌های ایمنی و عصاره‌های گیاهی بر فاکتورهای خونی ماهی اسکار *Astronorus ocellatus*. نخستین همایش ماهیان زینتی ایران.

۱۰. **قاسمی‌پیربلوطی، ع.؛ پیرعلی، ا.؛ پیشکار، غ.ر.؛ جلالی، س.م.ع.؛ رئیسی، م.؛ جعفریان‌دهکردی، م. و حامدی، ب.، ۱۳۹۰.** اثر اسانس چند گیاه دارویی برسیستم ایمنی قزل‌الای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*). مجله داروهای گیاهی. شماره ۲، صفحات ۱۵۵ تا ۱۲۲.

۱۱. **محمودی، ن.؛ عبدی، ح. و فلاحتکار، ب.، ۱۳۸۹.** تاثیر سطوح مختلف نوکلئوتید جیره بر شاخص‌های هماتولوژی و بیوشیمیایی خون بچه‌ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). مجله علوم و فنون دریایی. شماره ۳، صفحات ۴ تا ۱۲.

۱۲. **میرباقری، و.؛ مشکینی س.؛ غفاری‌فارسانی، ح.، نادری فارسانی، م. و بهره‌مند، م.، ۱۳۹۶.** تاثیر سطوح مختلف اسانس گیاه (*Satureja hortensis L.*) در جیره غذایی بر بهبود شاخص‌های رشد، بیوشیمیایی خون و ترکیب‌های بدنی ماهی کلمه خزری (*Rutilus caspicus*). تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. سال ۳۳، شماره ۳، صفحات ۳۵۰ تا ۳۶۰.

13. **Adel, M.; Safari, R.; Pourgholam, R.; Zorriehzahra, J. and Esteban, M.A., 2015a.** Dietary peppermint (*Mentha piperita*) extracts promote growth performance and increase the main humoral immune parameters (both at mucosal and systemic level) of Caspian brown trout (Salmo trutta caspius Kessler, 1877). Fish and Shellfish Immunology. Vol. 47, pp: 623-629.

14. **Adel, M.; Amiri, A.A.; Zorriehzahra, J.; Nematolahi, A. and Esteban, M.Á., 2015b.** Effects of dietary peppermint (*Mentha piperita*) on growth performance, chemical body composition and hematological and immune parameters of fry Caspian white fish (*Rutilus frisii kutum*). Fish & shellfish immunology. Vol. 45, No. 2, pp. 841-847.

15. **Aksu, M.I. and ÖZER, H., 2013.** Effects of lyophilized water extract of Satureja hortensis on the shelf life and quality properties of ground beef. Journal of food processing and preservation. Vol. 37, No. 5, pp: 777-783.

16. **Alinkina, E.S.; Misharina, T.A. and Fatkullina, L.D., 2013.** Antiradical properties of oregano, thyme, and savory essential oils. Applied biochemistry and microbiology. Vol. 49, No. 1, pp: 73-78.

17. **Anghel, I.; Grumezescu, A.; Holban, A.; Ficai, A.; Anghel, A. and Chifiriuc, M., 2013.** Biohybrid nanostructured iron oxide nanoparticles and Satureja hortensis to prevent fungal biofilm development. International journal of molecular sciences. Vol. 14, No. 9, pp: 18110-18123.

18. **Boroja, T.; Katanić, J.; Rosić, G.; Selaković, D. and Joksimović, J., 2018.** Summer savory (*Satureja hortensis* L.) extract: Phytochemical profile and modulation of cisplatin-induced liver, renal and testicular toxicity. Food and Chemical Toxicology. Vol. 118, pp: 252-263.

19. **Bouari, M.C.; Fit, N. and Rapuntean, S., 2011.** In vitro evaluation of the antimicrobial properties of some plant essential oils against clinical isolates of Prototheca spp. Rom Biotech Lett. Vol. 16, pp: 6146-4152.

20. **Buchtíková, S.; Šimková, A.; Rohlenová, K.; Flajšhans, M.; Lojek, A.; Lilius, E.M. and Hyršl, P., 2011.** The seasonal changes in innate immunity of the common carp (*Cyprinus carpio*). Aquaculture. Vol. 318, No. 1-2, pp: 169-175.

21. **Citarasu, T., 2010.** Herbal biomedicines: a new opportunity for aquaculture industry. Aquaculture International. Vol. 18, No. 3, pp: 403-414.

22. **Dawood, M.A.O.; Koshio, S.; Ishikawa, M. and Yokoyama, S., 2015.** Effects of partial substitution of fish meal by soybean meal with or without heat-killed *Lactobacillus plantarum* (LP20) on growth performance, digestibility, and immune response of Amberjack, (*Seriola dumerili*) Juveniles, Bio Med Res. Vol. 2015, Article ID. 514196, 11 p.

23. **Fakhim, R.; Ebrahimnezhad, Y.; Seyedabadi, H.R. and Vahdatpour, T., 2013.** Effect of different concentrations of aqueous extract of ginger (*Zingiber officinale*) on performance and carcass characteristics of male broiler

(DOI): 10.22034/AEJ.2020.131235

24. **Ghehdarijani, M.S.; Hajimoradloo, A.; Ghorbani, R. and Roohi, Z., 2016.** The effects of garlic-supplemented diets on skin mucosal immune responses, stress resistance and growth performance of the Caspian roach (*Rutilus rutilus*) fry. Fish & shellfish immunology. Vol. 49, pp: 79-83.

25. **Goldenfarb, P.B.; Bowyer, F.P.; Hall, T. and Brosious, E., 1971.** Reproducibility in the hematology laboratory: the microhematocrit determination. American Journal of Clinical Pathology. Vol. 56, pp: 35-39.

26. **Gulluce, M.; Sokmen, M.; Daferera, D.; Agar, G.; Ozkan, H.; Kartal, N.; Polissiou, M.; Sokmen, A. and Sahin, F., 2003.** In vitro antibacterial, antifungal, and antioxidant activities of the essential oil and methanol extracts of herbal parts and callus cultures of Satureja hortensis L. J. Agric. Food Chem. Vol. 51, pp: 3958-3965.

27. **Hajhashemi, V.; Zolfaghari, B. and Yousefi, A., 2012.** Antinociceptive and anti-inflammatory activities of Satureja hortensis seed essential oil, hydroalcoholic and polyphenolic extracts in animal models. Medical Principles and Practice. Vol. 21, No. 2, pp: 178-182.

28. **Harikrishnan, R.; Kim, J.S.; Kim, M.C.; Balasundaram, C. and Heo, M.S., 2011.** *Lactuca indica* extract as feed additive enhances immunological parameters and disease resistance in *Epinephelus bruneus* to *Streptococcus iniae*. Aquaculture. Vol. 318, No. 1-2, pp: 43-47.

29. **Hosseini, S.M.; Hosseini, H. and Mohammadifar, M.A., 2013.** Incorporation of essential oil in alginate microparticles by multiple emulsion/ionic gelation process. Int J Biol Macromol. Vol. 62, pp: 582-588.

30. **Hosseinifar, S.H.; Zare, P. and Merrifield, D.L., 2010.** The effects of inulin on growth factors and survival of the Indian white shrimp larvae and post-larvae (*Fenneropenaeus indicus*). Aquaculture Research. Vol. 41, No. 9, pp: 348-352.

31. **Inotai, K.; Radácsi, P.; Czövek, P.; Sárosi, S.; Ladányi, M. and Németh, É., 2012.** Lipid peroxidation and changes in the activity of superoxide dismutase caused by water deficit in basil (*Ocium basilicum* L.) and savory (*Satureja hortensis* L.). The Journal of Horticultural Science and Biotechnology. Vol. 87, No. 5, pp: 499-503.

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

33. **Karami-Osboo, R.; Khodaverdi, M. and Ali-Akbari, F., 2010.** Antibacterial effect of effective compounds of *Satureja hortensis* and *Thymus vulgaris* essential oils against *Erwinia amylovora*. J Agric Sci Technol. Vol. 12, pp: 35-45.

34. **Kori-Siakpere, O.; Adamu, K.M. and Madukelum, I.T., 2007.** Sublethal effects of paraquat on some plasma organic constituents (metabolic parameters) of African catfish, *Clarias gariepinus* (Osteichthyes: Clariidae). International Journal of Zoological Research. Vol. 3, pp: 331-335.

35. **Kotan, R.; Dadasoglu, F. and Karagoz, K., 2013.** Antibacterial activity of the essential oil and extracts of *Satureja hortensis* against plant pathogenic bacteria and their potential use as seed disinfectants. Sci Hortic-Amsterdam. Vol. 153, pp: 34-41.

36. **Kotan, R.; Dikbas, N.; Tozlu, E. and Bagci, E., 2012.** Changes of membrane fatty acids of *Salmonella enteritidis* treated with the essential oil of *Satureja hortensis*. Fresen Environ Bull. Vol. 21, pp: 1073-1077.

37. **Mozafarian, V., 2006.** Culture Iran Names of Plants. The Contemporary Culture Press, Iran, Tehran. 740 p.

38. **Nabigol, A., 2011.** Chemical composition and anti-fungal activities of three essential oils from *Satureja spp*. on four post-harvest pathogens of strawberry fruit. J Hortic Sci Biotechnol. Vol. 86, pp: 371-376.

39. **Nedorostova, L.; Kloucek, P. and Urbanova, K., 2011.** Antibacterial effect of essential oil vapours against different strains of *Staphylococcus aureus*, including MRSA. Flavour Frag J. Vol. 26, pp: 403-407.

40. **Nespolo, R.F. and Rosenmann, M., 2002.** Intraspecific allometry of haematological parameters in Basilichthys australis. Journal of Fish Biology. Vol. 60, pp: 1358-1362.

41. **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.

42. **Parry Jr, R.M.; Chandan, R.C. and Shahani, K.M., 1965.** A rapid and sensitive assay of muramidase. Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine. Vol. 119, No. 2, pp: 384-386.

43. **Pieters, N.; Brunt, J.; Austin, B. and Lyndon, A., 2008.** Efficacy of in-feed probiotics against *Aeromonas bestiarum* and *Ichthyophthirius multifiliis* skin infections in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Applied Microbiology. Vol. 105, pp: 723-732.

44. **Plander, S.; Gontaru, L. and Blazics, B., 2012.** Major antioxidant constituents from *Satureja hortensis L*. extracts obtained with different solvents. Eur J Lipid Sci Tech. Vol. 114, pp: 772-779.

45. **Radhakrishnan, S.; Bhavan, P.S.; Seenivasan, C.; Shanthi, R. and Poongodi, R., 2014.** Influence of medicinal herbs (*Alteranthera sessilis*, *Eclipta alba* and *Cissus quadrangularis*) on growth and biochemical parameters of the freshwater prawn Macrobrachium rosenbergii. Aquaculture international. Vol. 22, No. 2, pp: 551-572.

46. **Rajaian, H.; Aberumandi, M.; Jalaei, J. and Khosravi, M., 2014.** *Satureja hortensis* as a growth promoter in broiler chickens. Iranian Journal of Veterinary Research. Vol. 15, No. 2, pp: 149-153.

47. **Rehulka, J.; Minarik, B. and Rehulkova, E., 2004.** Red blood cell indices of rainbow trout *oncorhynchus mykiss* (Walbaum) in aquaculture. Aquaculture. Res. Vol. 35, pp: 529-546.

48. **Rehulka, J.; Minark, B.; Adamec, V. and Rehulka, E., 2005.** Investigation of physiological and pathological levels of total plasma protein in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquacult. Res. Vol. 36, pp: 22-32.

49. **Rios, F.S.; Kalinin, A.L. and Rantin, F.T., 2002.** The effects of long-term food deprivation on respiration and haematology of the neotropical fish *Hoplias malabaricus*. Journal of Fish Biology. Vol. 61, pp: 85-95.

50. **Sabra, K.L. and Metha, T.J., 1990.** A comparative study on additive of livol (herbal growth promoter) and some chemical growth promoters in the diets of broiler chickens. Ind. J. Anim. Product. Manage. Vol. 6, pp: 115-118.

51. **Sagdic, O.; Ozturk, I. and Tornuk, F., 2013.** Inactivation of non-toxigenic and toxigenic Escherichia coli O157: H7 inoculated on minimally processed tomatoes and cucumbers: Utilization of hydrosols of *Lamiaceae* spices as natural food sanitizers. Food Control. Vol. 30, pp: 7-14.

52. **Sahzadi, T.; Salim, M.; Kalsoom, U.M.E. and Shahzad, K., 2006.** Growth performance and feed conversion ratio (FCR) of hybrid fingerlings (*Catla catla* X *Labeo rohita*) fed on cottonseed meal, sunflower meal and bone meal. Pakistan Vet. J. Vol. 26, pp: 163-166.

chickens in wheat-soybean meal based diets. Journal of Bioscience Biotechnology. Vol. 2, No. 2, pp: 95-99.

(DOI): 10.22034/AEJ.2020.131235

53. **Schaperclaus, W.; Kulow, H. and Schreckenbach, K., 1991.** Hematological and serological technique. In: Kothekar, V.S., editor. Fish disease. 2nd ed. Vol. 1. No, 56 Connaught circus, New Delhi: Gulabprimlani, Oxonian press Pvt. Ltd; pp: 71-108.

54. **Shalaby, A.M.; Khattab, Y.A. and Abdel Rahman, A.M., 2006.** Effects of Garlic (*Allium sativum*) and chloramphenicol on growth performance, physiological parameters and survival of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical. Vol. 12, pp: 172-201.

55. **Sharifzadeh, A.; Khosravi, A. and Ahmadian, Sh., 2016.** Chemical composition and antifungal activity of *Satureja hortensis L*. essentiall oil against planktonic and biofilm growth of *Candida albicans* isolates from buccal lesions of HIV individuals. Microbial Pathogenesis. Vol. 96, pp: 1-9.

56. **Sivaram, V.; Babu, M.M.; Immanuel, G.; Murugadass, S.; Citarasu, T. and 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, No. 1-4, pp: 9-20.

57. **Shojaee-Aliabadi, S.; Hosseini, H. and Mohammadifar, M.A., 2013.** Characterization of antioxidant-antimicrobial kappa-carrageenan films containing *Satureja hortensis* essential oil. Int J Biol Macromol. Vol. 52, pp: 116-124.

58. **Son, V.M.; Chang, C. and Wu, M., 2009.** Dietary administration of the probiotic, *Lactobacillus plantarum*, enhanced the growth, innate immune responses, and disease resistance of the grouper *Epinephelus coioides*. Fish & Shell fish Immunology. Vol. 26, pp: 691-698.

59. **Stef, D.S.; Stef, L. and Mot, D., 2012.** The effect of medicinal plants on broilers immunological profile and productive performances. J Food Agric Environ. Vol. 10, pp: 434-437.

60. **Talas, Z.S. and Gulhan, M.F., 2009.** Effects of various propolis concentrations on biochemical and hematological parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Ecotoxicology and Environmental Safety. Vol. 72, pp: 1994-1998.

61. **Wu, Y.R.; Gong, Q.F.; Fang, H.; Liang, W.W.; Chen, M. and He, R.J., 2013.** Effect of *Sophora flavescens* on non specific immune response of tilapia (GIFT *Oreochromis niloticus*) and disease resistance against Streptococcus agalactiae. Fish Shellfish Immunol. Vol. 34, pp: 220-227.

62. **Yesiloglu, Y.; Sit, L. and Kilic, I., 2013.** In vitro antioxidant activity and total phenolic content of various extracts of *Satureja hortensis L*. collected from Turkey. Asian J Chem. Vol. 25, pp: 8311-8316.

63. **Zarezadeh, A., 2005.** Encyclopedia of Medicinal Plants (Vol. 3). Publication of Vesale, Tehran. 392 p.

(DOI): 10.22034/AEJ.2020.131235

Effects of methanol extract of *Satureja hortensis* on growth, serum hematological and biochemical factors on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)

- **Maria Mohseni:** Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz, Iran
- **Siyavash Soltanian:** Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz, Iran
- **Amin Gholamhosseini*:** Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz, Iran
- **Mostafa Akhlaghi:** Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz, Iran
- **Hassan Sharifi yazdi:** Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz, Iran
- **Saeed Hosseinzadeh:** Department of Food Hygiene and Quality Control, Faculty of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz, Iran

Received: November 2019 Accepted: January 2020

Key words: Rainbow Trout, Herbal extract, Savory (*Satureja hortensis*), Growth, Hematological parameters

Abstract

In this study, to find an alternative for chemical growth an immune stimulant, the effects of methanolic extract of Savory leaf on the diet of rainbow trout on growth, blood parameters, biochemical and immune responses was investigated. After adaptation period, 360 fishes (with average weight of 14±1.7 grams) were fed with trial diets supplemented with 0% (as control), 1%, 2% and 3% of savory extract for 60 days and then were investigated. Results showed that the final weight in treatment 2 was higher than the control group and the FCR in all the treatments was lower than the control ($P<0.05$). As well as the number of red and white blood cells, hemoglobin and hematocrit in the control group were significantly lower than the other groups ($P<0.05$). The lowest level of glucose and the highest level of triglycerides, creatinine and cholesterol were observed in the control group ($P<0.05$). Aspartate aminotransferase (AST) and lactate dehydrogenase (LDH) enzyme levels were significantly higher in the 3% group than in the control group but the alkaline phosphatase (ALP) was lower than the control group ($P<0.05$). Total protein in treatments 2 and 3, and the level of lysozyme activity in all treatments were significantly higher than the control group ($P<0.05$). According to the results, the beneficial effects of savory in different amounts, especially 2% on growth performance, immune response and hematological parameters fish rainbow trout were observed.

* Corresponding Author's email: dra.gholamhosseini@yahoo.com