تاثیر عصاره الکلی گیاه زنیان (*Trachyspermum ammi* L) بر عملکرد رشد، فراسنجه‌های خونی و ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

- **مهدی نادری‌فارسانی***: گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران
- **رضوانه جنابی‌حق‌پرست**: گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران
- **علیرضا افضلی‌کردمحله**: گروه بهداشت آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

تاریخ دریافت: خرداد ۱۳۹۸ تاریخ پذیرش: شهریور ۱۳۹۸

چکیده

در این تحقیق تاثیر عصاره گیاه زنیان (*Trachyspermum ammi* L) بر شاخص‌های رشد و ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) مورد بررسی قرار گرفت. در این بررسی ۶۰۰ قطعه ماهی قزل‌آلا با میانگین وزنی اولیه ۷±۵۸ با جیره‌های غذایی به‌ترتیب حاوی ۰/۰، ۱/۰ و ۲/۰ درصد عصاره زنیان و گروه شاهد با جیره فاقد عصاره تغذیه گردیدند. در پایان دوره، شاخص‌های رشد، خون‌شناسی و ایمنی براساس فرمول‌های استاندارد محاسبه و با استفاده از آزمون توکی آنالیز انجام گردید. در گروه ماهیانی که ۲/۰ درصد عصاره زنیان دریافت کرده بودند شاخص‌های رشد مانند افزایش وزن، نرخ رشد ویژه، وزن نهایی و شاخص وضعیت نسبت به گروه شاهد به‌طور معنی‌داری بالاتر به‌دست آمد (P<۰/۰۵). براساس نتایج به‌دست آمده از پارامترهای خون‌شناسی، تیمار تغذیه شده با ۲/۰ درصد عصاره زنیان دارای بیش‌ترین میزان هماتوکریت و هموگلوبین بوده و اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد نشان داد (P<۰/۰۵). در سایر پارامترهای خونی (گلبول‌های سفید، گلبول‌های قرمز، MCV، MCHC و MCH) اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی و گروه شاهد مشاهده نشد (P>۰/۰۵). تغذیه ماهیان با ۲/۰ درصد عصاره زنیان فعالیت لیزوزیم و کمپلمان را به‌طور معنی‌داری بهبود بخشید (P<۰/۰۵). در سایر پارامترهای بیوشیمیایی خون (ایمونوگلوبولین، آلبومین و پروتئین کل) اختلاف معنی‌داری بین سطوح مختلف عصاره زنیان و گروه شاهد دیده نشد (P>۰/۰۵). بنابراین می‌توان نتایج گرفت استفاده از عصاره گیاه زنیان در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌تواند منجر به بهبود فاکتورهای رشد و برخی از پارامترهای ایمنی گردد.

کلمات کلیدی: عصاره زنیان، پارامترهای ایمنی، شاخص‌های رشد، قزل‌آلای رنگین‌کمان

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: m.naderi@urmia.ac.ir

(DOI): 10.22034/aej.2020.118783

مقدمه

آبزی‌پروری در چندین دهه گذشته به‌سرعت به یک صنعت پویا و در حال رشد تبدیل شده است. رشد جمعیت در دهه‌های اخیر و درآمد ناشی از این فعالیت و هم‌چنین مرغوبیت پروتئین ماهی (قابلیت هضم، بالا بودن اسیدهای آمینه ضروری، ویتامین‌ها و مواد معدنی) نسبت به سایر پروتئین‌های حیوانی رشد این صنعت را تسریع کرده است. با گسترش این صنعت در جهان وقوع بیماری‌های عفونی به‌مراتب افزایش یافته و اغلب خسارات سنگینی را به این صنعت وارد کرده است (Awaad و Awad، ۲۰۱۷؛ Baba و همکاران، ۲۰۱۸). آنتی‌بیوتیک‌ها از نخستین مواد دارویی بوده‌اند که به‌دلیل بهبود رشد و ضریب تبدیل غذایی، کاهش مرگ و میر، کاهش نرخ ابتلا به بیماری‌ها و افزایش شاخص تولید مورد توجه پرورش دهندگان بوده است. با این وجود استفاده مکرر از آنتی‌بیوتیک‌ها در سال‌های گذشته برای مقابله با بیماری‌های عفونی در آبزیان باعث مشکلاتی از قبیل: آسیب‌های زیست محیطی، ایجاد باکتری‌های مقاوم و انتقال به انسان خطر مقاومت دارویی در جامعه بشری را افزایش داده است، از سوی دیگر گرانی، ممنوعیت استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در چند سال اخیر و مشکلات اجرایی تجویز، باعث گرایش بیش‌تر به استفاده از محرک‌های ایمنی به‌عنوان جایگزینی مناسب برای آنتی‌بیوتیک‌ها شده است (Guardiola و همکاران، ۲۰۱۷؛ Bahi و همکاران، ۲۰۱۷؛ Abdel Tawwab و همکاران، ۲۰۱۷). از جمله این محرک‌های ایمنی می‌توان به‌عصاره‌های گیاهی اشاره کرد که در سال‌های اخیر به‌صورت چشمگیری مورد توجه محققان قرار گرفته‌اند. عصاره‌های گیاهی علاوه بر مزیت‌های رایج آنتی‌بیوتیک به‌آسانی در دسترس هستند و به‌علت دارا بودن قیمت ارزان محبوبیت زیادی یافته‌اند. مهم‌ترین عمل این محرک‌ها اثرات ضدباکتریایی آن می‌باشد. وجود ترکیبات زیست فعال مختلف در گیاهان همانند فنل، تانن، آلکالوئید، استروئید، ترپن، گلیکوزوئید و فلانوئیدها منجر به ارتقا پاسخ‌های ایمنی آبزیان می‌شود (Vallejos Vidal و همکاران، ۲۰۱۶؛ Abdel-Tawwab و همکاران، ۲۰۱۷؛ Guardiola و همکاران، ۲۰۱۷). مطالعات متعدد نیز اثر مثبت عصاره‌های گیاهی بر ارتقاء ایمنی آبزیان را گزارش کرده‌اند (Mehrabi و همکاران، ۲۰۱۹؛ Li و همکاران، ۲۰۱۹؛ Musthafa و همکاران، ۲۰۱۸) براساس مطالعات Wang و همکاران (۲۰۱۷) فعالیت ضدباکتریایی عصاره‌های گیاهی به طبیعت چربی دوستی آن‌ها مرتبط می‌باشد که ساختار غشای باکتری‌ها و یکپارچگی آن را از بین برده، یا آنزیم‌های خارج سلولی باکتری‌ها را غیرفعال نموده و از سوی دیگر با افزایش فاکتورهای ایمنی موجب افزایش سطح ایمنی می‌شوند. Adel و همکاران (۲۰۱۵) بیان کردند که استفاده از گیاه نعناع فلفلی در تغذیه ماهی سفید موجب بهبود پاسخ‌های ایمنی این ماهی می‌شود، استفاده از عصاره گیاهان دارویی مانند زالزالک در ماهی گلدفیش (Tan و همکاران، ۲۰۱۷)، شنبلیله در ماهی باس دریایی (Guardiola و همکاران، ۲۰۱۷)، طوسک در ماهی طلایی (Tan و همکاران، ۲۰۱۷)، کبر در ماهی قزل آلای رنگین‌کمان (Bilen و همکاران، ۲۰۱۶)، سدر در باس‌دریایی (Awad و همکاران ۲۰۱۵) و قارچ *Cordyceps militaris* در تیلاپیا نیلی (Doan و همکاران، ۲۰۱۷) منجر به بهبود پاسخ‌های ایمنی شد. علاوه بر این، عصاره‌های گیاهی با افزایش ترشحات معده، تحریک گردش خون و آنزیم‌های دستگاه گوارش منجر به افزایش قابلیت هضم و افزایش رشد می‌گردند (Windisch و همکاران، ۲۰۰۸). مطالعات متعددی نیز اثرات مثبت عصاره‌های گیاهی را بر رشد ماهیان و سخت پوستان گزارش کرده‌اند. برای مثال تغذیه ماهی تیلاپیا با عصاره گیاه جین‌سینگ (Goda، ۲۰۰۸)، قزل‌آلای رنگین‌کمان با آلوئه‌ورا (Mehrabi و همکاران، ۲۰۱۹)، میگوی آب‌شیرین با عصاره برگ گز (Li و همکاران، ۲۰۱۹)، ماهی کپور با گیاه رزماری (Yousefi و همکاران، ۲۰۱۹)، تیلاپیای موزابیک با لوبیای مخملی (Musthafa و همکاران، ۲۰۱۸)، میگوی وانامی با گیاه جمبو (Prabu و همکاران، ۲۰۱۸) منجر به بهبود عملکرد رشد و کاهش ضریب تبدیل غذایی این گونه‌ها شد. زنیان (*Trachyspermum ammi* L)، گیاهی علفی و یک‌ساله است متعلق به تیره چتریان (Apieaceae)، بدون کرک و به ارتفاع ۳۰ الی ۹۰ سانتی‌متر است که به حالت خودرو در نواحی شرقی هند، ایران و مصر می‌روید، زنیان از نظر طبیعت مانند زیره‌ها گرم و خشک است و از نظر خواص ضد اسپاسم، ضد نفخ معده، ضد ترشی معده، نیروبخش، مقوی قوای جنسی، بالا برنده فشار خون، محرک و بادشکن معده است. برای رفع بیماری‌های معده و کبد و ناراحتی گلو، سرفه و هم‌چنین رماتیسم تجویز می‌شود. میوه و برگ آن حاوی ترکیباتی با فعالیت‌های بیولوژیکی متعددی از جمله خواص آنتی‌اکسیدان و ضد میکروبی است (Balbba و همکاران، ۱۹۷۳). تیمول (Thymol)، سایمن (Cymene)، بتاپینن (β-Pinene)، گاما ترپینن (γ-Trepinene)، اجزا اصلی تشکیل‌دهنده گیاه زنیان می‌باشند، که اثرات ضدمیکروبی و تقویت سیستم ایمنی جانوران توسط این ترکیبات در سایر گیاهان تیره چتریان نیز گزارش شده است (Singh و همکاران، ۲۰۰۵؛ Rani و Khullar، ۲۰۰۴؛ Mooraki و همکاران، ۲۰۱۴). از علل مهم انتخاب این گیاه در این مطالعه، فراوانی این گیاه با توجه به بومی بودن آن و مطالعات اندکی است که بر روی اثرات آن بر سیستم ایمنی ماهیان صورت گرفته است. لذا در این تحقیق تاثیر عصاره الکلی گیاه زنیان بر سیستم ایمنی غیراختصاصی، عملکرد رشد و فراسنجه‌های خونی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان مورد مطالعه قرار خواهد گرفت.

(DOI): 10.22034/aej.2020.118783

مواد و روش‌ها

تعداد ۶۰۰ قطعه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با میانگین وزن اولیه ۷±۵۸ گرم خریداری و به کارگاهی خصوصی در شهرستان اردل (استان چهارمحال و بختیاری- سال۱۳۹۷) منتقل شدند. ماهیان بلافاصله با محلول ۳ درصد نمک به‌مدت ۷ روز جهت سازگاری با شرایط آزمایشگاهی و ضدعفونی در مقابل هرگونه آلودگی انگلی خارجی در مخازن ۱۰۰۰ لیتری نگه‌داری شده و پس از اتمام دوره سازش به‌صورت تصادفی به ۴ گروه تقسیم شدند. پرورش در حوضچه‌های ۳۰۰ لیتری از جنس پلی‌اتیلن و با تراکم ۵۰ قطعه در هر حوضچه صورت گرفت. جهت تغذیه ماهیان از غذای تجاری به‌صورت پلت (GFT-1) محصول شرکت فرآدانه (شهرکرد، ایران) با میزان ۴۲ درصد پروتئین، ۱۲ درصد چربی، ۳ درصد فیبر، ۱۰ درصد خاکستر، ۱ درصد فسفر و ۸ درصد رطوبت استفاده شد. به‌منظور عصاره‌گیری از گیاه زنیان، مقداری از گیاه پس از خشک نمودن در سایه، با آسیاب برقی به‌خوبی آسیاب شد و به‌مدت ۴۸ ساعت در محلول متانول ۷۰٪ به‌مدت ۲ روز در دمای اتاق به‌صورت افقی تکان داده شد (Citarasu و همکاران، ۲۰۰۶)، سپس محلول حاصل از کاغذ صافی عبور و الکل آن توسط دستگاه روتاری در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد جداسازی شد. عصاره حاصل توسط دستگاه فریز دراير به‌صورت پودر درآمد و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری گردید (Ghasemi و همکاران، ۲۰۱۱). جیره غذایی پایه ابتدا با آب مقطر مخلوط گردیده و بعد از تبدیل شدن به‌صورت خمیر، میزان مورد نظر از عصاره زنیان (۰/۵، ۱/۵ و ۲/۵ درصد) به خمیر خوراک اضافه گردید. سطوح مختلف عصاره و نحوه اضافه کردن عصاره به جیره براساس مطالعات قبلی انجام شد (Awad و Austin، ۲۰۱۳؛ Adel و همکاران، ۲۰۱۵؛ Dadras و همکاران ۲۰۱۶). سپس با استفاده از چرخ گوشت صنعتی خوراک به‌صورت رشته تبدیل گردید. پلت‌های غذایی به‌مدت ۲ ساعت در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شده و سپس بسته‌بندی، کدگذاری و تا زمان مصرف در ۴ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند. طراحی هر تیمار آزمایش (غلظت‌های ۱، ۲ و ۲/۵ درصد و گروه شاهد) در ۳ تکرار انجام شد. پارامترهای کیفی آب (اکسیژن ۸-۷ میلی‌گرم در لیتر، دمای ۲±۱۵ درجه سانتی‌گراد، pH (۸-۷) نیز به‌صورت روزانه اندازه‌گیری شد.

زیست‌سنجی ماهیان: در پایان دوره آزمایش قبل از اندازه‌گیری پارامترهای رشد ماهیان با پودر گل میخک به‌میزان ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر بی‌هوش شده، سپس از هر مخزن ۱۵ ماهی به‌صورت تصادفی انتخاب و فاکتورهایی نظیر رشدویژه (SGR)، ضریب چاقی (CF)، وزن نهایی (FW) و درصد افزایش بدن (WG)، براساس فرمول‌های زیر محاسبه شدند (Xue و همکاران، ۲۰۰۶). لازم به ذکر است که زیست‌سنجی با استفاده از ترازو با حساسیت ۰/۱ گرم انجام گردید.

وزن به‌دست آمده (درصد) =WG (%) = [(Wt2 –Wt1/Wt1)] ×100

{میانگین وزن اولیه به گرم÷ (میانگین وزن اولیه) - (میانگین وزن نهایی به گرم)} ×۱۰۰

ضریب رشد = SGR(% /day) = [(LnWt2 – LnWt1) / t] ×۱۰۰

ویژه CF(%) = [LnW(g) / (L)^3] ×100

شاخص وضعیت (درصد) =

{(میانگین طول نهایی به سانتی‌متر)^3 ÷ (لگاریتم میانگین وزن نهایی به گرم)} ×۱۰۰

سنجش شاخص‌های خونی: جهت بررسی شاخص‌های خونی بچه‌ماهیان، در پایان دوره پرورش تعداد ۵ قطعه ماهی از هر تکرار به صورت تصادفی انتخاب و پس از بی‌هوشی با پودر گل میخک (۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر)، نمونه‌های خونی با استفاده از سرنگ ۲ میلی‌لیتری از ورید ساقه دمی ماهیان اخذ شد (Tukmechi و همکاران، ۲۰۱۱).

تعیین میزان درصد هماتوکریت: بدین‌منظور نمونه‌های خونی به‌مدت ۵ دقیقه با دور ۳۰۰۰g سانتریفیوژ شده و تعیین میزان درصد هماتوکریت با استفاده از خط‌کش مخصوص هماتوکریت برحسب درصد انجام گرفت (Goldenfarb و همکاران، ۱۹۷۱).

اندازه‌گیری میزان هموگلوبین: برای اندازه‌گیری میزان هموگلوبین (گرم در هر دسی‌لیتر) از روش سیان مت هموگلوبین استفاده شد که بدین منظور با استفاده از دستگاه نیمه اتوماتیک اسپکتوفتومتر، OD محلول اندازه‌گیری و با مقایسه با منحنی استاندارد، مقدار هموگلوبین در طول موج ۵۴۰ نانومتر تعیین گردید (Larsen، ۱۹۶۴).

شمارش گلبول‌های قرمز و سفیدخون و تعیین شاخص‌های MCV، MCH و MCHC: به‌منظور شمارش تعداد گلبول‌های قرمز، خون به نسبت ۲۰۰ برابر با سرم فیزیولوژی در پیپت ملانژور قرمز رقیق شد و به‌وسیله لام هموسیتومتر در ۵ خانه مربوط به شمارش گلبول‌های قرمز شمارش گردید و در عدد ثابت ۱۰۰۰۰ ضرب و تعداد گلبول‌ها در واحد حجم تعیین شد). جهت شمارش گلبول‌های سفید، خون به نسبت ۲۰ برابر با محلول داسیس در پیپت ملانژور سفید رقیق شد و به‌وسیله لام هموسیتومتر در ۴ خانه مربوط به شمارش گلبول‌های سفید شمارش گردید و در عدد ثابت ۵۰ ضرب و تعداد گلبول‌ها در واحد حجم تعیین شد (Leonard و Cormick، ۲۰۰۵). مشخصه‌های گلبول قرمز شامل میانگین حجم گلبول‌های قرمز (MCV)، میانگین هموگلوبین گلبول‌های قرمز (MCH) و میانگین غلظت هموگلوبین گلبول‌های قرمز (MCHC) با استفاده از روابط ریاضی زیر تعیین شد (Benfey و Sutterlin، ۱۹۸۴).

MCHC=Hb×10/Hct

MCV=Hct×10/RBC (million)

MCH=Hb×10/RBC (million)

(DOI): 10.22034/aej.2020.118783

تعیین میزان پروتئین سرم، آلبومین و میزان ایمونوگلوبولین: تعیین میزان پروتئین سرم و آلبومین به‌روش رنگ‌سنجی با استفاده از کیت اسپکتروفتومتری شرکت پارس آزمون اندازه‌گیری شدند. میزان ایمونوگلوبولین M (IgM) در نمونه‌های سرم به‌روش الایزا با استفاده از کیت NePhstar ولکانگ، انگلستان اندازه‌گیری گردید (Davis و همکاران، ۱۹۹۹).

تعیین میزان فعالیت لیزوزیم و فعالیت راه جایگزین کمپلمان: فعالیت لیزوزیم براساس روش Clerton و همکاران (۲۰۰۱) بر مبنای لیز باکتری گرم مثبت حساس به آنزیم لیزوزیم یعنی *Micrococcus lysodeikticus* با مشخصات Sigma, M3770, St.Louis, USA اندازه‌گیری شد. فعالیت راه جایگزین کمپلمان براساس همولیز گلبول‌های قرمز خرگوش (RaRBC) و به‌کمک روش Amar و همکاران (۲۰۰۰) اندازه‌گیری شد. برای محاسبه میزان فعالیت راه میان‌بر کمپلمان با استفاده از کاغذ شطرنجی (Log-Log Graph) منحنی لیز رسم شد. طبق تعریف حجمی از سرم که سبب ۵۰ درصد همولیز شود عبارت است از فعالیت کمپلمان نمونه که از رابطه زیر استفاده می‌شود:

$$ACH50\ (U/ml) = k \times (\text{فاکتور رقت}) \times ۰/۵$$

در رابطه فوق، k مقداری از سرم بر حسب میلی‌لیتر است که موجب ۵۰ درصد همولیز گردید، ۰/۵ عدد ثابت است و فاکتور رقت در این آزمایش ۰/۰۱ بود، چون سرم ۱۰۰ مرتبه رقیق شده است.

تجزیه و تحلیل داده‌ها: داده‌های مربوط به معیارهای رشد و ایمنی در تیمارهای مورد آزمایش از طریق آنالیز واریانس یک‌طرفه صورت و براساس آزمون توکی در سطح ۰/۰۵، با استفاده از نرم‌افزار SPSS 21 در محیط ویندوز انجام گرفت.

نتایج

نتایج سنجش فاکتورهای رشد ماهیان شامل طول کل Final Length، افزایش وزن بدن Weight gain ضریب رشد ویژه SGR و شاخص وضعیت condition factor در جدول ۱ ارائه شده است. براساس این یافته‌ها تجویز خوراکی با عصاره ۲/۵ درصد به‌ترتیب در پارامترهای شاخص وضعیت، ضریب رشد ویژه، افزایش وزن و وزن نهایی دارای مقادیر بیش‌تری نسبت به سایر گروه‌ها و اختلاف معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) را با تیمار شاهد نشان دادند. همان‌گونه که از داده‌های جدول ۱ مشخص می‌شود بیش‌ترین میزان طول کل در تیمار ۰/۵ و کم‌ترین میزان در تیمار شاهد به‌دست آمد.

شاخص‌های خون‌شناسی و ایمنی‌شناسی: میزان هماتوکریت، میانگین تعداد گلبول قرمز و سفید و میزان هموگلوبین در پایان دوره در جدول ۲ ارائه شده است. براساس نتایج به‌دست آمده بیش‌ترین میزان هماتوکریت در تیمار چهارم (تغذیه شده با ۲/۵ درصد عصاره زنیان) اختلاف معنی‌داری را با گروه شاهد و تیمار ۱/۵ درصد نشان داد ($P<۰/۰۵$). هم‌چنین کم‌ترین میزان هماتوکریت در تیمار شاهد مشاهده شد. نتایج مربوط به شمارش محاسبه میزان هموگلوبین نشان داد که تغذیه ماهیان در تیمار ۲/۵ درصد عصاره زنیان موجب افزایش تولید هموگلوبین می‌شود که اختلاف معنی‌داری را با گروه شاهد نشان دادند ($P<۰/۰۵$). مقایسه میزان گلبول‌های سفید و گلبول‌های قرمز در تیمارهای مختلف نشان‌داد که اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های مختلف تغذیه شده با عصاره زنیان و گروه شاهد وجود ندارد ($P>۰/۰۵$). علاوه بر این نتایج سنجش میزان MCV، MCHC و MCH در پایان دوره ۶۰ روزه، تفاوت معنی‌داری در بین سطوح مختلف عصاره زنیان نشان نداد ($P>۰/۰۵$) هر چند بیش‌ترین میزان MCV، MCHC و MCH در تیمار ۲/۵ درصد مشاهده شد. با توجه به جدول ۳ بیش‌ترین میزان پروتئین کل در تیمار تغذیه شده با ۱/۵ درصد عصاره زنیان به‌دست آمد هرچند اختلاف معنی‌داری در میزان پروتئین کل بین تیمارهای تغذیه شده با عصاره زنیان و گروه شاهد مشاهده نشد ($P>۰/۰۵$).

جدول ۱: شاخص‌های رشد بچه‌ماهیان ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با سطوح مختلف عصاره زنیان

پارامتر	شاهد	۰/۵ درصد	۱/۵ درصد	۲/۵ درصد
وزن نهایی (گرم)	۹۰/۱±۴۵/۳۰ ^{a}	۹۴/۰±۶۳/۸۳^{b}	۹۳/۰±۸۸/۹۲^{a}	۹۶/۲±۳۳/۲۵^{b}
طول کل (سانتی‌متر)	۱۹/۰±۳۳/۱۵^{a}	۲۰/۰±۰۶/۱۵^{b}	۱۹/۰±۴۵/۱۰^{a}	۱۹/۰±۴۰/۱۰^{a}
افزایش وزن (گرم)	۴۵/۶±۲۳/۳۳^{a}	۵۴/۲±۰۶/۸۱^{ab}	۴۸/۱±۰۸/۵۲^{ab}	۵۴/۱±۸۸/۰۰^{b}
ضریب رشد ویژه (درصد)	۰/۰±۶۲/۰۷^{a}	۰/۰±۷۲/۰۳^{ab}	۰/۰±۶۵/۰۱^{ab}	۰/۰±۷۳/۰۱^{b}
شاخص وضعیت	۱/۰±۲۵/۰۳^{b}	۱/۰±۱۷/۰۲^{a}	۱/۰±۲۷/۰۸^{bc}	۱/۰±۳۱/۰۲^{c}

حروف غیر همسان در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار است ($P<۰/۰۵$).

(DOI): 10.22034/aej.2020.118783

جدول ۲: شاخص‌های خونی بچه‌ماهیان ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با سطوح مختلف عصاره زنیان

پارامتر	شاهد	۰/۵ درصد	۱/۵ درصد	۲/۵ درصد
هماتوکریت (درصد)	۳۹/۰±۸۳/۲۶^{a}	۴۱/۱±۸۳/۰۴^{ab}	۴۱/۲±۶۰/۶۰^{a}	۴۵/۱±۹۳/۴۴^{b}
تعداد گلبول‌های قرمز× $۱۰^{۶}$ (سلول در میلی‌لیتر)	۱/۰±۳۱/۵۲^{a}	۱/۰±۲۸/۸۱^{a}	۱/۰±۳۲/۰۴^{a}	۱/۰±۳۹/۰۴^{a}
تعداد گلبول‌های سفید × $۱۰^{۳}$ (سلول در میلی‌لیتر)	۵/۰±۰۳/۹۸^{a}	۴/۱±۷۰/۴۴^{a}	۴/۰±۸۰/۶۵^{a}	۵/۰±۵۳/۵۱^{a}
میزان هموگلوبین (گرم در هر دسی‌لیتر)	۱۰/۰±۳۶/۸۱^{a}	۱۱/۱±۳۶/۷^{ab}	۱۲/۲±۴/۹۲^{ab}	۱۵/۰±۱۰/۶۲^{b}
MCV (نانومترمکعب)	۳۰۴/۱۱±۱۱/۱۵^{a}	۳۲۷/۱۴±۴۲/۸۲^{a}	۳۱۳/۱۰±۳۴/۹۲^{a}	۳۲۹/۷±۶۶/۲۳^{a}
MCHC (گرم در هر دسی‌لیتر)	۲/۰±۶۰/۱۹^{a}	۲/۰±۷۱/۳۴^{a}	۲/۰±۹۶/۵۵^{a}	۳/۰±۲۹/۲۲^{a}
MCH (میکروگرم در هر سلول)	۷۹/۷±۲۵/۵۰^{a}	۸۸/۷±۴۷/۸۱^{a}	۹۳/۸±۱۶/۰۴^{a}	۱۰۸/۶±۴۸/۶۱^{a}

حروف غیر همسان در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

سنجش میزان آلبومین پلاسمای خون ماهیان نشان داد که اختلاف معنی‌داری در تیمارهای مختلف تغذیه شده با عصاره زنیان و گروه شاهد وجود ندارد (P>۰/۰۵). تغذیه ماهیان با ۲/۵ درصد عصاره زنیان اختلاف معنی‌داری را در میزان لیزوزیم و کمپلمان پلاسما نشان داد و بیش‌ترین میزان در تیمارهای تغذیه شده با ۲/۵ درصد عصاره زنیان مشاهده شد. نتایج سنجش میزان ایمونوگلوبین در پایان دوره مشخص کرد که اختلاف معنی‌داری از این لحاظ بین سطوح مختلف عصاره و گروه شاهد مشاهده نشد (P>۰/۰۵). هرچند بیش‌ترین میزان ایمونوگلوبولین در تیمار تغذیه شده با ۲/۵ درصد عصاره زنیان مشاهده شد.

جدول ۳: شاخص‌های بیوشیمیایی و ایمنی بچه‌ماهیان ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با سطوح مختلف عصاره زنیان

پارامتر	شاهد	۰/۵ درصد	۱/۵ درصد	۲/۵ درصد
پروتئین کل (گرم در هر دسی‌لیتر)	۳/۰±۵۰/۳^{a}	۳/۰±۸۳/۸۵^{a}	۴/۰±۷۶/۳۲^{a}	۴/۰±۵۰/۵۱^{a}
آلبومین (گرم در هر دسی‌لیتر)	۱/۰±۱۰/۴۶^{a}	۱/۰±۳۳/۱۵^{a}	۱/۰±۳/۱^{a}	۱/۰±۴۰/۲۶^{a}
لیزوزیم (واحد در هر میلی‌لیتر)	۴±۱۲۸/۵۳^{a}	۱۳۲/۳±۵۰/۲۷^{ab}	۱۳۳/۴±۸۳/۳۶^{ab}	۱۴۰/۲±۳۳/۰۸^{b}
ایمونوگلوبولین (میلی‌گرم در هر میلی‌لیتر)	۲/۰±۵۶/۵۶^{a}	۳/۰±۳۳/۹۰^{a}	۳/۰±۵۸/۵۷^{a}	۳/۰±۸۱/۲۷^{a}
کمپلمان (واحد در هر میلی‌لیتر)	۹/۰±۱۶/۵۵^{a}	۹/۰±۷۶/۷۵^{ab}	۹/۰±۷۳/۳۲^{ab}	۱۱/۱±۵۰/۱۰^{b}

حروف غیر همسان در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

بحث

در تحقیق حاضر مشخص گردید که افزودن عصاره گیاه زنیان به‌عنوان مکمل به جیره غذایی ماهی قزل‌آلا می‌تواند اثرات مثبتی بر برخی شاخص‌های رشد و ایمنی این ماهی داشته باشد. مطالعات انجام شده در این راستا نشان داده‌اند که استفاده از عصاره‌های گیاهی به عنوان یک مکمل غذایی منجر به بهبود رشد می‌شود. Mooraki و همکاران (۲۰۱۴) نشان دادند که افزودن گیاه جعفری از تیره چتریان به‌عنوان مکمل به جیره‌غذایی ماهی کوی (*Cyprinus carpio carpio*) می‌تواند اثرات مثبتی بر شاخص‌های رشد و تغذیه این ماهی داشته باشد. سایر مطالعات نیز اثر گیاهان دارویی بر افزایش میزان رشد و کارایی تبدیل غذایی را گزارش نمودند. علاوه بر این افزایش رشد و بهبود ضریب تبدیل غذایی در ماهی تیلاپیا تغذیه شده با عصاره گیاه با جین‌سینگ (Goda، ۲۰۰۸)، ماهی کپور با روزماری (Yousefi و همکاران، ۲۰۱۹)، میگوی دراز آب شیرین با برگ گیاه گز (Kaleo و همکاران، ۲۰۱۹) میگوی وانامی با پودر گیاه جمبو (Prabu و همکاران، ۲۰۱۸) گزارش شد. اثرات تقویتی گیاهان یا عصاره‌های آن‌ها بر روی رشد بستگی به عوامل مختلفی نظیر غلظت‌های مناسب، ترکیب پایه جیره، مدیریت و شرایط پرورش دارد (Msaada و همکاران، ۲۰۱۷). علاوه بر این مدت زمان استفاده از مکمل‌های گیاهی به‌عنوان عامل محرک رشد تاثیر زیادی در بهبود شاخص‌های رشد ماهیان دارد. اثرات عصاره گیاهی به‌عنوان محرک ایمنی بعد از ۲-۴ هفته نمایان می‌شود درحالی‌که بهبود رشد در اثر استفاده از مکمل‌های گیاهی بعد از گذشت ۱۲-۸ هفته شروع می‌شود (Begnami و همکاران، ۲۰۱۸). در این مطالعه شاخص وضعیت، ضریب رشد ویژه، افزایش وزن و وزن نهایی در تیمار تغذیه شده با ۲/۵ درصد عصاره زنیان دارای مقادیر بیش‌تری نسبت به سایر گروه‌ها و اختلاف معنی‌داری را با تیمار شاهد نشان دادند(P<۰/۰۵). به‌طورکلی در این آزمایش افزایش شاخص‌های رشد را به مجموعه‌ای از عوامل از تیمول و پارا-سایمن مرتبط دانست این ماده، ترکیب اصلی عصاره زنیان می‌باشد که از طریق افزایش

(DOI): 10.22034/aej.2020.118783

ترشح هورمون‌های گوارشی و پانکراس، فعالیت آنزیم‌های گوارشی و هم‌چنین با افزایش جذب مواد مغذی توسط فعال کردن مکانیسم‌های انتقال قابلیت هضم و جذب را بهبود می‌بخشد (Alihan و همکاران، ۲۰۱۰). البته اثبات این امر نیازمند اندازه‌گیری آنزیم‌های گوارش خواهد بود لذا بهبود افزایش وزن ماهیان احتمالاً به‌خاطر تاثیر آن بر افزایش ترشح آنزیم‌های هضمی است در تحقیقات صورت گرفته به وسیله محققین مشخص شده که افزودنی‌های مجاز با بهبود فلور میکروبی روده و کاهش رقابت برای مواد غذایی بین میزبان و میکروارگانیسم‌های روده تاثیر خود را بر افزایش وزن بدن و بهبود ضریب تبدیل غذایی اعمال می‌کنند (Moghanlou و همکاران، ۲۰۱۸). با توجه به عدم تاثیر معنی‌دار عصاره زنیان بر برخی پارامترهای رشد ماهی، بررسی دقیق‌تر ترکیبات موجود در عصاره، تعیین دوز بهینه و هم‌چنین افزایش دوره پرورش با عصاره زنیان برای مطالعات آینده توصیه نمود. مطالعه پارامترهای خون‌شناسی اطلاعات مفیدی در رابطه با وضعیت سلامتی ماهی ارائه می‌دهند. به‌طور مثال کاهش میزان هماتوکریت نشان‌دهنده عدم مصرف غذا توسط ماهی یا وجود بیماری عفونی است (Wang و همکاران، ۲۰۱۷). نتایج این مطالعه نشان داد که تجویز خوراکی ۲/۵ درصد عصاره زنیان موجب افزایش میزان هماتوکریت و هموگلوبین می‌شود اما اختلاف معنی‌داری در میزان گلبول‌های قرمز، گلبول‌های سفید، MCV، MCH و MCHC مشاهده نشد (P>۰/۰۵).

در این مطالعه بیش‌ترین میزان گلبول‌های سفید و قرمز در تیمار تغذیه شده با ۲/۵ درصد عصاره زنیان به‌دست آمد هر چند اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد مشاهده نشد (P>۰/۰۵). مطالعات دیگر در مورد تاثیر عصاره‌های گیاهی بر میزان گلبول‌های قرمز و سفید متفاوت می‌باشد. Adel و همکاران (۲۰۱۷) گزارش کردند که استفاده از آویشن وحشی در تغذیه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان موجب افزایش میزان گلبول‌های سفید و قرمز خون می‌شود هم‌چنین Saeidi asl و همکاران (۲۰۱۷) افزایش میزان هماتوکریت، گلبول‌های قرمز و سفید در ماهی قزل‌آلای تغذیه شده با گیاه گزنه را مشاهده کردند. در مورد اندیس‌های گلبولی (MCV، MCH و MCHC) در تحقیقات مشابه نتایج موافق و متناقضی مشاهده شده است به‌طوری‌که Rezaei و همکاران (۲۰۱۳) عدم تغییر این فاکتورها را در اثر استفاده از عصاره گیاهی را در مطالعات خود گزارش کرد. پروتئین کل در سرم خون شامل آلبومین و گلوبین است که عملکردهای فیزیولوژیکی گسترده‌ای را در ماهیان استخوانی برعهده دارد (آلبومین نقش مهمی در انتقال ترکیبات مختلف همانند داروها در خون برعهده دارد بنابراین تحریک سنتز این پروتئین‌ها توسط کبد یا سایر بخش‌های سیستم ایمنی می‌تواند منجر به بهبود انتقال محرک‌های ایمنی همانند مکمل‌های گیاهی در خون شود (Tan و همکاران، ۲۰۱۷). پروتئین کل، آلبومین و ایمونوگلوبین در این مطالعه اختلاف معنی‌داری را با گروه شاهد نشان ندادند (P>۰/۰۵). در تناقض با نتایج حاضر می‌توان به‌ترتیب به مطالعه Adel و همکاران (۲۰۱۵) و Mehrabi و همکاران (۲۰۱۹) در مورد تجویز خوراکی عصاره نعنای فلفلی و آلوئه ورا بر قزل‌آلای رنگین کمان اشاره کرد. در تطابق با نتایج تحقیق حاضر هم می‌توان به مطالعه Rezaei و همکاران (۲۰۱۳) در ماهی پنگوسی اشاره نمود.

کمپلمان شامل بیش از ۲۰ پروتئین مختلف پلاسما است که توسط سلول‌های مختلفی شامل هپاتوسیت، ماکروفاژها و سلول‌های اپی‌تلیال روده تولید می‌شوند. سیستم کمپلمان یک قسمت ضروری و موثر از سیستم ایمنی غیراختصاصی به‌شمار می‌رود و به سرعت می‌تواند باکتری‌ها را برای فاگوسیتوز یا تخریب غشا سلولی تشخیص دهد. بنابراین افزایش فعالیت کمپلمان در پلاسما ماهیان می‌تواند به حذف عوامل باکتریایی منجر شود (Doan و همکاران، ۲۰۱۷). افزایش فعالیت کمپلمان در پلاسما ماهیان تغذیه شده با ۲/۵ درصد عصاره زنیان باعث بهبود قابلیت سیستم ایمنی ماهیان در طول دوره پرورشی گردید. در مطالعات مشابه، افزایش میزان کمپلمان خون با استفاده از مکمل‌های گیاهی به‌وسیله محققین گزارش گردیده است (Adel و همکاران، ۲۰۱۵؛ Doan و همکاران، ۲۰۱۵؛ Tan و همکاران، ۲۰۱۷). لیزوزیم، از خانواده آنزیم‌ها با خصوصیات آنتی‌باکتریال هستند که توسط لکوسیت‌ها در بافت‌های مختلف و خون ترشح می‌شوند. تخریب دیواره باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی و تجزیه آن‌ها و تحریک فاگوسیتوز از مهم‌ترین وظایف این آنزیم‌ها می‌باشد (Giri و همکاران، ۲۰۱۵). در این مطالعه افزایش معنی‌داری در میزان لیزوزیم در تیمارهای تغذیه شده با سطوح مختلف عصاره به‌ویژه در تیمار ۲/۵ درصد مشاهده شد. به‌طور مشابه، کاربرد نعنای فلفلی در ماهی سفید (Adel و همکاران، ۲۰۱۵)،زالزالک در ماهی گلدفیش(Tan و همکاران، ۲۰۱۷a) شنبلیله در باس‌دریایی (Guardiola و همکاران، ۲۰۱۷) و طوسک در ماهی طلایی (Tan و همکاران، ۲۰۱۷) منجر به افزایش میزان لیزوزیم شد. با توجه به نتایج به‌دست آمده از تجویز خوراکی عصاره زنیان و تاثیر این مکمل گیاهی بر برخی پارامترهای رشد و ایمنی می‌توان چنین استنباط نمود که استفاده از این عصاره نه تنها تاثیر سویی بر رشد و سلامتی ماهیان نداشته بلکه می‌تواند نتایج مثبتی در افزایش سطح ایمنی ماهیان داشته باشد. بنابراین به‌منظور بهبود اثرات این عصاره بر شاخص‌های رشد و ایمنی تحقیقات بیش‌تر و تخصصی‌تر بر روی مواد موثر موجود در عصاره و تعیین دوز بهینه پیشنهاد می‌گردد.

(DOI): 10.22034/aej.2020.118783

منابع

۱. **Abdel-Tawwab, M.I.; Adeshina, A.; Jenyo-Oni, E.K.; Ajani, B.O. and Emikpe, K., 2017.** Growth, physiological, antioxidants, and immune response of African catfish, *Clarias gariepinus* (B.), to dietary clove basil, *Ocimum gratissimum*, leaf extract and its susceptibility to *Listeria monocytogenes* infection. Fish and Shellfish Immunology. Vol. 78, pp: 346-354.

۲. **Adel, M.; Caipang, C.M.A. and Dawood, M.A., 2017.** Immunological responses and disease resistance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) juveniles following dietary administration of stinging nettle (*Urtica dioica*). Fish and Shellfish Immunology.Vol. 71, pp: 230-238.

۳. **Adel, M.; Pourgholam, R.; Zorriehzahra, J. and Ghiasi, M., 2016.** Hemato–Immunological and biochemical parameters, skin antibacterial activity, and survival in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) following the diet supplemented with *Mentha piperita* against *Yersinia ruckeri*. Fish and Shellfish Immunology.Vol. 55, pp: 267-273.

۴. **Adel, M.A.; Amiri, A.; Zorriehzahra, J.; Nematolahi, A. and Esteban, M.Á., 2015.** 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 and shellfish immunology. Vol.45, pp: 841-847.

۵. **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*). Journal of Fisheries Science.Vol. 66, pp: 1068-1075.

۶. **Anderson, W.G.; McKinley, R.S. and Colavecchia, M., 1997.** The use of clove oil as an anaesthetic for rainbow trout and its effects on swimming performance. North American Journal of Fisheries Management. Vol. 17, pp: 301-307.

۷. **Awad, E.; Awaad, A.S. and Esteban, M.A., 2015.** Effects of dihydroquercetin obtained from deodar (*Cedrus deodara*) on immune status of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). Fish and Shellfish Immunology. Vol. 43, pp: 43-50

۸. **Awad, E. and Awaad, A., 2017.** Role of medicinal plants on growth performance and immune status in fish. Fish and Shellfish Immunology. Vol. 67, pp: 40-54.

۹. **Awad, E.; Austin, D. and Lyndon, A.R. , 2013.** Effect of black cumin seed oil (*Nigella sativa*) and nettle extract (Quercetin) on enhancement of immunity in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Aquaculture.Vol. 388, pp: 193-197.

۱۰. **Baba, E.; Acar, Ü.; Yılmaz, S.; Zemheri, F. and Ergün, S., 2018.** Dietary olive leaf (*Olea europea* L.) extract alters some immune gene expression levels and disease resistance to *Yersinia ruckeri* infection in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Fish and shellfish immunology. Vol. 79, pp: 28-33.

۱۱. **Bahi, A.; Guardiola, F.A.; Messina, C.; Mahdhi, A.; Cerezuela, R.; Santulli, A.; Bakhrouf, A. and Esteban, M.A., 2017.** Effects of dietary administration of fenugreek seeds, alone or in combination with probiotics, on growth performance parameters, humoral immune response and gene expression of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). Fish and Shellfish Immunology. Vol. 60, pp: 50-58.

۱۲. **Balbba, S.I.; Hilal, S.H. and Hoggag, M.R., 1973.** Active constituents of Ammi majus fruit at differet stages. Acta Medica. Vol. 23, pp: 372-380.

۱۳. **Begnami, A.F.; Spindola, H.M.; Ruiz, A.L.; de Carvalho, J.E.; Groppo, F.C. and Rehder, V.L., 2018**.Antinociceptive and anti-edema properties of the ethyl acetate fraction obtained from extracts of *(Coriandrum sativum* Linn. Leaves, Biomed. Pharmacother. Vol. 103, pp: 1617-1622.

۱۴. **Benfey, T.J. and Sutterlin, A.M., 1984.** The haematology of triploid land locked Atlantic salmon, *Salmo salar*. Journal of Fish Biology. Vol. 24, pp: 333-338.

۱۵. **Bilen, S.; Altunoglu, Y.C.; Ulu, F. and Biswas, G., 2016.** Innate immune and growth promoting responses to caper (*Capparis spinosa*) extract in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Fish and Shellfish Immunology. Vol. 57, pp: 206-212.

۱۶. **Citarasu, T.; Sivaram, V.; Immanuel, G.; Rout, N. and Murugan, V., 2006.** Influence of selected Indian immunostimulat herbs against white spot syndrome virus (wssv) infection in black tiger shrimp, *Penaeus monodon* with reference to haematological, biochemical and immunological changes. Fish and shellfish immunology. Vol. 21, pp: 372-384.

۱۷. **Clerton, P.; Troutaud, D.; Verlhac, V.; Gabraudan, J. and Deschaux, P., 2001.** Dietary vitamin E and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) phagocyte functions: effect on gut and on head kidney leucocytes Fish and Shellfish Immunology. Vol. 11, pp: 1-13.

۱۸. **Dadras, H.; Hayatbakhsh, M.R.; Shelton, W.L. and Golpour, A., 2016.** Effects of dietary administration of Rose hip and Safflower on growth performance, haematological, biochemical parameters and innate immune response of Beluga, *Huso huso* (Linnaeus, 1758). Fish and shellfish immunology. Vol. 59, pp: 109-114.

۱۹. **Davis, C.R.; Marty, G.D.; Adkison, M.A.; Freiberg, E.F. and Hedrick, R.P., 1999.** Association of plasma IgM with body size, histopathologic changes, and plasma chemistries in adult Pacific herring *Clupea pallasi*. Journal of Diseases of Aquatic Organisms. Vol. 8, pp: 125-133.

۲۰. **Doan, H.V.; Hoseinifar, S.H.; Tapingkae, W.; Chitmanat, C. and Mekchay, S., 2017.** Effects of *Cordyceps militaris* spent mushroom substrate on mucosal and serum immune parameters, disease resistance and growth performance of Nile tilapia, (*Oreochromis niloticus*). Fish and Shellfish Immunology.Vol. 67, pp: 78-85.

۲۱. **Ghasemi Pirbalouti, A; Pirali, E.; Pishkar, G.; Jalali, S.M.; Reyesi, M.; Jafarian Dehkordi, M. and Hamedi, B., 2011.** The essential oils of some medicinal plants on the immune system and growth of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Journal of herbal drugs. Vol. 2, pp: 149-155 (In Persian).

۲۲. **Goda, A.M.S., 2008.** Effect of dietary Ginseng herb (Ginsana® G115) supplementation on growth, feed utilization, and hematological indices of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), fingerlings. Journal of the World Aquaculture Society. Vol. 39, pp: 205-214.

۲۳. **Goldenfarb, P.; Bowyer, F.P.; Hall, E. and Brosious, E., 1971.** Reproductibility in the hematology laboratory: The microhematocrite determination. Journal of Clinical Pathology. Vol. 56, pp: 35-39.

۲۴. **Guardiola, F.A.; Bahi, A.; Bakhrouf, A. and Esteban, M.A., 2017.** Effects of dietary supplementation with fenugreek seeds, alone or in combination with probiotics, on gilthead seabream (*Sparus aurata L.*) skin mucosal immunity. Fish and Shellfish Immunology.Vol. 65, pp: 169-178.

۲۵. **Guardiola, F.A.; Bahi, A. and Esteban, M.A., 2018.** Effects of dietary administration of fenugreek seeds on metabolic parameters and immune status of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). Fish and Shellfish Immunology. Vol. 74, pp: 372-379.

(DOI): 10.22034/aej.2020.118783

۲۶. **Kaleo, I.V.; Gao, Q.; Liu, B.; Sun, C.; Zhou, Q.; Zhang, H. and Song, C., 2019.** Effects of *Moringa oleifera* leaf extract on growth performance, physiological and immune response, and related immune gene expression of *Macrobrachium rosenbergii* with *Vibrio anguillarum* and ammonia stress. Fish and Shellfish Immunology. Vol. 89, pp: 603-613.

۲۷. **Larsen, H.N., 1964.** Comparison of various methods of hemoglobin detection of channel catfish blood. The Journal of Progressive Fish-Culturist. Vol. 26, pp: 11-15.

۲۸. **Leonard, J.B.K. and Cormick, S.D., 2005.** Changes in haematology during up stream migration to American shad. Journal of Fish Biology. Vol. 54, pp: 1218-1230.

۲۹. **Li, M.; Zhu, X.; Tian, J.; Liu, M. and Wang, G., 2019.** Dietary flavonoids from *Allium mongolicum* Regel promotes growth, improves immune, antioxidant status, immune related signaling molecules and disease resistance in juvenile northern Snakehead fish (*Channa argus*). Aquaculture. Vol. 501, pp: 473-481.

۳۰. **Mehrabi, Z.; Firouzbakhsh, F.; Rahimi-Mianji, G. and Paknejad, H., 2019.** Immunostimulatory effect of Aloe vera (*Aloe barbadensis*) on non-specific immune response, immune gene expression, and experimental challenge with *Saprolegnia parasitica* in Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture. Vol. 503, pp: 330-338.

۳۱. **Moghanlou, K.S.; Isfahani, E.N.; Dorafshan, S.; Tukmechi, A. and Aramli, M.S., 2018**. Effects of dietary supplementation with *Stachys lavandulifolia* Vahl extract on growth performance, hemato-biochemical and innate immunity parameters of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Animal Feed Science Technology .Vol. 237, pp: 98-105.

۳۲. **Mooraki, N.; Dadgar, S. and Naderi, M., 2014.** The effect of Parsley (*Petroselinum sativum*) on the growth and survival of Koi fish (*Cyprinus carpio*). Journal of Aquaculture Development. Vol. 8, pp: 63-72.

۳۳. **Msaada, K.; Jemia, M.B.; Salem, N.; Bachrouch, O.; Sriti, J.; Tammar, S.; Bettaieb, I.; Jabri, I.; Kefi, S.; Limam, F.; and Marzouk, B., 2017.** Antioxidant activity of methanolic extracts from three Coriander (*Coriandrum sativum* L.) fruit varieties. Arabian Journal of Chemistry. Vol. 10, pp: 3176-3183.

۳۴. **Musthafa, M.S.; Asgari, S.M.; Kurian, A.; Elumalai, P.; Ali, A.R.J.; Paray, B.A. and Al-Sadoon, M.K., 2018.** Protective efficacy of *Mucuna pruriens* (L.) seed meal enriched diet on growth performance, innate immunity, and disease resistance in *Oreochromis mossambicus* against *Aeromonas hydrophila*. Fish and Shellfish Immunology. Vol. 75, pp: 374-380.

۳۵. **Prabu, D.L.; Chandrasekar, S.; Ambashankar, K.; Dayal, J.S.; Ebeneezar, S.; Ramachandran, K. and Vijayagopal, P., 2018.** Effect of dietary *Syzygium cumini* leaf powder on growth and non-specific immunity of *Litopenaeus vannamei* (Boone 1931) and defense against virulent strain of *Vibrio parahaemolyticus*. Aquaculture. Vol. 489, pp: 9-20.

۳۶. **Rani, P. and Khullar, N., 2004.** Antimicrobialevaluation of some medicinal plants for their antienteric potential against Multi-drug resistant *Salmonella typhi*. Phytotheraphy Research. Vol. 6, pp: 670-681.

۳۷. **Rezaei, M.H.; Sourinejad, I.; Soltanian, S. and Yousefzadi, M., 2013.** The effects of dietary Zhumeria majdae extract on growth indices, hematology and immunology of catfish *Pangasianodon hypophthalmus*. Jurnal of Aquatic Ecology. Vol. 3, pp: 19-28 (In Persian).

۳۸. **Saeidi asl, M.R.; Adel, M.C.; Caipang, M.A. and Dawood, M.A.O., 2017.** Immunological responses and disease resistance of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) juveniles following dietary administration of Stinging nettle (*Urtica dioica*). Fish and Shellfish Immunology. Vol. 71, pp: 230-238.

۳۹. **Singh, G.; Kapoor, I.P.S.; Pandey, S.K. and Singh, U.K., 2005.** water Studies on essential oils: Part 10; Antibacterial activity of volatile oils from some species, Phytotherapy Research. Vol. 16, pp: 680-682.

۴۰. **Tan, X.; Sun, Z.; Huang, Z.; Zhou, C.; Lin, H.; Tan, L.P. and Xun, Q., 2017a.** Huang, Effects of dietary hawthorn extract on growth performance, immune responses, growth and immune-related genes expression of juvenile golden Pompano (*Trachinotus ovatus*) and its susceptibility to *Vibrio harveyi* infection. Fish and Shellfish Immunology. Vol. 70, pp: 656-664.

۴۱. **Tukmechi, A.; Rahmati Andani, H.R.; Manaffar, R. and Sheikhzadeh, N., 2011.** Dietary administration of beta mercapto-ethanol treated *Saccharomyces cerevisiae* enhanced the growth, innate immune response and disease resistance of the Rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Fish and Shellfish Immunology. Vol. 30, pp: 923-928.

۴۲. **Vallejos-Vidal, E.; Reyes-López, F.; Teles, M. and MacKenzie, S., 2016.** The response of fish to immunostimulant diets. Fish and Shellfish Immunology. Vol. 56, pp: 34-69.

۴۳. **Wang, W.; Sun, J.; Liu, C. and Xue, Z., 2017**. Application of immunostimulants in aquaculture: current knowledge and future perspectives. Aquaculture Research. Vol. 48, pp: 1-23.

۴۴. **Windisch, W.; Schedle, K.; Plitzner, C. and Kroismayr, A., 2008.** Use of phytogenic product as feed additives for swine and poultry. Journal of Animal Science. Vol. 86, pp: 140-148.

۴۵. **Xue, M.; Leo, L.; Wu, X.; Ren, Z.; Gao, P. and Yu, Y., 2006.** Effect of six alternative lipid sources on growth and tissue fatty acid composition in Japanese sea bass (*Lateolobrax japonicus*). Aquaculture. Vol. 260, pp: 206-214.

۴۶. **Yousefi, M.; Hoseini, S.M.; Vatnikov, Y.A.; Kulikov, E.V. and Drukovsky, S.G., 2019.** Rosemary leaf powder improved growth performance, immune and antioxidant parameters, and crowding stress responses in Common carp (*Cyprinus carpio*) fingerlings. Aquaculture. Vol. 550, pp: 473-480.

(DOI): 10.22034/aej.2020.118783

Scientific Research Journal of Animal Environment Vol. 12, No. 3, Autumn 2020

Effects of Ajwain extract *(Trachyspermum ammi L)* on Rainbow trout *(Oncorhynchus mykiss*) growth performance, blood parameters and immunity factors

- **Mehdi Naseri Farsani*:** Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, Urmia University, Urmia, Iran
- **Rezvaneh Jenabi Haghparast:** Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, Urmia University, Urmia, Iran
- **Alireza Afzali kord mahleh:** Department of Aquatic Health, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran

Received: June 2019 Accepted: September 2019

Keyword: Ajwain extract, Immunity parameters, Growth factors, Rainbow trout

Abstract

Present study was conducted to investigate effects of Ajwain extract (*Trachyspermum ammi L*) on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) growth and immunity factors. 600 fish with average weight of 58±7 g were divided into four treatments and were fed by diet supplemented with 0.5, 1.5 and 2.5% Ajwain extract and diet with no supplementation was used for control group. Growth, hematological and immunity factors were measured at the end of the experiment based on standard methods and then were analyzed by Tukey. Fishes fed by two percent Ajwain extract in comparison with control group showed increment and improvement in weight gained, specific growth rate (SGR), final weight and condition factor status index (SI) ($P<0.05$). The highest amount of hematocrit and hemoglobin were belonged to those who were fed with 2 % Ajwain extract and showed a significant difference with control group ($P<0.05$). No significant difference was found between control group and other treatments in terms of other hematological parameters (RBC, WBC, MCV, MCH, MCHC) ($P>0.05$). Feeding by 2.5% of Ajwain extract significantly improved lysozyme and Complement activity. No significant difference was found between control group and other treatments in terms of other biochemical parameters of blood (albumin, total protein and Immunoglobulin) ($P<0.05$). Therefore, supplementation of Ajwain extract in rainbow trout diet will improve growth factors and some immunity parameters.

* Corresponding Author's email: m.naderi@urmia.ac.ir