Archive of SID

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

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

تاریخ دریافت: خرداد ۱۳۹۷ تاریخ پذیرش: شهریور ۱۳۹۷

چکیده

مطالعه تاثیر استفاده از گیاهان دارویی در جیره بر روی شاخص‌های خونی، بیوشیمیایی و ایمنی قزل‌آلای رنگین‌کمان پرورشی در مرحله پرواری در پژوهشکده اکولوژی دریای خزر در سال‌های ۹۷-۹۶ انجام شد. تعداد ۱۸۰ عدد قزل‌آلای رنگین‌کمان پرورشی با میانگین وزنی ۲/۱±۲۸/۷ گرم در ۹ عدد مخزن فایبرگلاس (به حجم ۱۵۰ لیتر و با حجم آبگیری ۱۰۰ لیتر) تقسیم گردیده و به‌مدت ۷ هفته با سه جیره غذای حاوی صفر (شاهد)، ۲ و ٤ درصد مخلوط گیاهان دارویی (مخلوطی مساوی از شش گیاه دارویی ازجمله شیرین بیان، یونجه، گل همیشه بهار، سنجد، آویشن و سیر) تغذیه شدند.میانگین بازماندگی در پایان آزمایش ۱۰۰ درصد بوده است. در انتهای دوره از ماهیان خونگیری شد و شاخص‌های خونی، بیوشیمیایی و ایمنی تیمارها مورد مقایسه آماری قرار گرفتند. نتایج به‌دست آمده نشان داد که در تعداد گلبول‌های قرمز، هماتوکریت و IGM ماهیان تغذیه شده با مخلوط گیاهان دارویی در غلظت ٤٪ تفاوت معنی‌داری با شاهد وجود دارد. نتایج حاصله مبین آن است که مخلوط گیاهان دارویی، دارای اثرات تقویت‌کننده سیستم ایمنی غیراختصاصی در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌باشد. بنابراین استفاده از این مخلوط گیاهان دارویی در سطح ٤٪ به‌عنوان محرک ایمنی در جیره ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، توصیه می‌شود ($p<0/01$).

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

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: Hamid_ramzani@yahoo.com

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

ماهی‌ها به‌دلیل زیست در محیط‌های نامناسب، به کرات در معرض میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا قرار دارند و استفاده از داروهای ضدباکتریایی در آبزی‌پروری با خطراتی ازجمله ایجاد مقاومت باکتری به داروها در بافت موجود مواجه بوده ضمن آن‌که در محیط‌زیست باقی می‌ماند و برای موجودات پایین‌دست سیستم‌نیز می‌تواند خطرساز باشد (Dorucu و همکاران، ۲۰۰۹). با این وجود تمایل به افزایش تولید غذاهای سالم و ایمن منجر به وضع قوانین محدودکننده استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها شده است. واکسیناسیون نیز می‌تواند جلو برخی از بیماری‌های آبزیان را بگیرد اما متاسفانه تکوین و توسعه واکسن‌ها در برابر بسیاری از عوامل بیماری‌زای بین سلولی هنوز با روند تولید موفقیت‌آمیزی همراه نبوده است (Fazlolahzadeh و همکاران، ۲۰۱۱) و به‌همین دلایل است که تحقیقات به‌خصوص در دهه گذشته به‌دنبال جایگزین‌های طبیعی می‌باشد. یکی از قوی‌ترین جایگزین‌ها، که بدون شک ممکن است بتواند جای آنتی‌بیوتیک‌ها را بگیرد، افزودنی‌های گیاهی خواهد بود. این افزودنی‌ها که از گیاهان دارویی و یا از عصاره آن‌ها به‌دست می‌آیند، به‌راحتی می توانند به غذا اضافه شوند. اخیراً، مطالعه بر روی امکان‌پذیری استفاده از افزودنی‌های گیاهی در آبزی پروری شروع شده و در همین زمان اندک دامنه وسیعی از تحقیقات را به سمت خود معطوف ساخته است که نتایج متنوع و متفاوتی از اثر این افزودنی‌های گیاهی بر ایمنی (چه به‌صورت تحریکی و چه به صورت تلفیقی)، آنتی‌اکسیدانتی، آنتی‌باکتریال، تحریک‌کننده آنزیم‌ها و تحریک‌کننده جذب نیتروژن در پیکره ماهی از خود نشان داده است. همان‌طورکه گفته شد مهم‌ترین مزیت آن این است که با توجه به طبیعی‌بودن، بر محیط‌زیست و سلامت مصرف‌کنندگان تهدیدی نخواهد بود (Gabor و همکاران، ۲۰۱۰). ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به‌عنوان یکی از با ارزش‌ترین ماهیان اقتصادی و مهم‌ترین گونه سردآبی در صنعت آبزی‌پروری کشور می‌باشد که تلاش در جهت بهبود شاخص‌های رشد و افزایش قدرت ایمنی این ماهی در برابر بیماری‌های متعدد باکتریای افزایش فزاینده‌ای یافته است (Alishahi و همکاران، ۲۰۱۰). به‌عنوان مثال، در یک تحقیق، تاثیر برخی از افزودنی‌های گیاهی (شامل سیر، زنجبیل، پونه کوهی و سرگل‌خار) در جیره، بر رشد و عملکرد مصرف غذا در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به‌دست‌آمد (Gabor و همکاران، ۲۰۱۰). هم‌چنین تغذیه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با ۱٪ لوپین (*Lupinus perennis*)، عنبه (*Mangifera indica*) و گزنه (*Urtica dioica*) آزمایش شد (Awad و Austin، ۲۰۱۰). در ایران درخصوص استفاده از گیاهان دارویی در دهه گذشته آغاز و هم‌چنان ادامه دارد. در این راستا گزنه (*Nigela sativa*)، داروا‌ش (*Viscum album*)، آلوئه‌ورا (*Aloe barbadensis*)، گون (*Astragalus gummiter*)، سرخارگل (*Echinacea pupurea*)، پونه‌کوهی (*Mentha longifolia*)، چای سبز (*Camellia sinensis*)، زنجبیل (*Zingiber officinale*) و مرزه‌بختیاری (*Satureja bachtiarica*) در قزل‌آلای رنگین‌کمان مورد بررسی قرار گرفته است (پورغلام و همکاران، ۱۳۹۲؛ Haghighi و Sharif Rohani، ۲۰۱۳؛ Sheikhzadeh و همکاران، ۲۰۱۱). هدف از انجام این تحقیق استفاده از گیاهان دارویی در جیره و تاثیر آن بر روی سیستم‌های خونی و به‌خصوص ایمنی ماهی قزل‌آلا می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در پاییز و زمستان ۱۳۹۶ به‌مدت ۷ هفته از اواخر آبان ماه ۹۶ تا اوایل دی ماه ۹۶ در سالن تکثیر و پرورش پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، واقع در فرح آباد شهرستان ساری (مرکز استان مازندران) انجام شد. در این آزمایش هر مخزن فایبرگلاس به‌عنوان واحد آزمایشی (تکرار) درنظر گرفته شد. کلیه پارامترها، به‌خصوص کیفیت آب برای تمام تیمارها یکسان بود. تعویض آب به‌صورت روزانه (یک‌بار در روز) صورت گرفت. تغییرات حرارتی تحت شرایط طبیعی محیط پرورش بوده است. تنها اثر متغیر بین تیمارهای مختلف نوع جیره در شروع آزمایش تعیین گردید. ماهیان در ابتدا و پایان دوره پرورش زیست‌سنجی شدند. بدین‌ترتیب تعداد ۱۸۰ عدد قزل‌آلای رنگین‌کمان پرورشی با میانگین وزنی ۲/۱±۲۸/۷ گرم در ۳ تیمار با ۳ تکرار، در ۹ مخزن فایبرگلاس به حجم آبگیری ۱۵۰ لیتر که فقط ۱۰۰ لیتر آبگیری می‌شد تقسیم گردیدند. این آزمایش به‌صورت بلوک کاملاً تصادفی طراحی شد.

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

www.SID.ir

Archive of SID

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

جدول۱: درصد ترکیبات، اندازه ماهی و اندازه غذا در طول دوره آزمایش

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

روش بررسی هماتولوژی: در پایان آزمایش از هر تیمار ۶ نمونه ماهی،به‌طور تصادفی انتخاب و برای جلوگیری از بروز کم‌ترین استرس ابتداء ماهیان با ساچوک از داخل ونیرو برداشت شده و در داخل وان حاوی اسانس گل میخک به‌میزان ۰/۵ میلی‌لیتر قرار گرفتند. پس از آن‌که ماهیان بی‌هوش گردیدند وزن و طول کل ماهیان اندازه‌گیری و ثبت شد. پس از بی‌هوشی از ورید دمی هر ماهی ۲ سی‌سی خون با استفاده از سرنگ استریل استحصال گردید. میزان ۰/۵ سی‌سی خون به‌ظروف اپندرف حاوی ۵۰ میکرولیتر هپارین اضافه گردید (Blaxhall، ۱۹۷۳). از خون هپارینه جهت انجام آزمایشات هماتولوژی شامل تعیین میزان همانوکریت، هموگلوبین، تعداد گلبول سفید، تعداد گلبول قرمز، شمارش تفریقی گلبول‌های سفید، اندیس‌های خونی و تعیین میزان رادیکال آزاد اکسیژن استفاده شد. ۱/۵ سی‌سی به ظروف اپندرف فاقد ماده ضدانعقاد منتقل و در آزمایشگاه با سانتریفیوژ در دور ۵۰۰۰ دور در دقیقه به‌مدت ۱۰ دقیقه سرم نمونه‌ها جدا و جهت سنجش لیزوزیم، ایمنوگلوبولین، پروتئین‌تام، آلبومین، AST، ALT تا روز انجام آزمایش در حرارت ۲۱- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شد.

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

اندازه‌گیری رادیکال آزاد اکسیژن: با توجه به محدودیت زمانی برای اندازه‌گیری این فاکتور پس از انتقال نمونه‌های خونی به آزمایشگاه ابتدا این فاکتور اندازه‌گیری شد. برای سنجش رادیکال‌های آزاد اکسیژن مراحل به‌شرح ذیل بود:

آماده‌سازی نمونه: ۰/۵ میلی‌لیتر از خون هپارینه با محلول هنکس به نسبت ۱/ حجم اولیه رقیق گردید. Nacl (Merck, Germany) ۸۰ گرم/لیتر، Kcl (Merck, Germany) ۴ گرم/لیتر، Glucose (Merck, Germany) ۱۰ گرم/لیتر، KH2PO4 (Merck, Germany) ۶۰۰ میلی‌گرم/لیتر، Na2HPO4.H2O (Merck, Germany) ۹۰۰ میلی‌گرم در لیتر. بعد از تهیه محلول هنکس، pH محلول با استفاده از محلول هیدرواکسید سدیم(NaOH) ۰/۱ نرمال در pH ۷/۶ تنظیم شد. محلول فوق به‌عنوان استوک بوده و در زمان استفاده با آب مقطر استریل به میزان ۰/۱ رقیق می‌شد. محلول لومینول با فرمول زیر تهیه شد: KOH (Merck, Germany) ۰/۷۸ گرم، Boric acid (Merck, Germany) ۰/۶۱۸ گرم، Luminol (5-amino-2, 3-dihydro-1, 4-pathalazinedione) (Sigma,USA) ۱۴ میلی‌گرم آب مقطر ۱۰ میلی‌لیتر محلول رادامین با غلظت ۴-۱۰ مول با فرمول زیر محاسبه شد: Rhodamin (C28H31ClN2O3) (Merck, Germany) ۰/۰۰۴۷ گرم، آب مقطر ۱۰۰ میلی‌لیتر

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

فاکتورهای بیوشیمیایی خون: اندازه‌گیری شاخص‌های پروتئین تام، آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) وآلبومین،ایمونوگلوبولین‌تام(Igm)بااستفاده از کیت‌های آزمایشگاهی (شرکت پارس آزمون، تهران) و به‌وسیله دستگاه اتوآنالایزر (مدل Eurolyser, Belgium) انجام پذیرفت.

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

www.SID.ir

Archive of SID

باکتری میکروکوکوس لیزیدیکتیکوس تهیه شده در بافرسیترات‌سدیم ۰/۰۵ مولار و pH برابر ۶/۲ به‌میزان ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر اضافه گردید و جذب نوری اولیه در طول موج ۵۷۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. در ادامه،جذب نوری ۰/۵ و ۴/۵دقیقه بعد از انکوباسیون در دمای ۲۲ درجه‌سانتی‌گراد،قرائت گردید.در این مطالعه‌از لیزوزیم سفیده تخم‌مرغ لیوفیلیزه‌شده(سیگما) به‌منظور ترسیم منحنی استاندارد استفاده شد.

تجزیه و تحلیل داده‌های مرتبط با هماتولوژی: برای مقایسه فاکتورهای خونی در تیمارهای مختلف با استفاده از تجزیه واریانس یک‌طرفه(ANOVA)وبرای‌مقایسه‌دو به دومیانگین‌ها از آزمون دانکن در سطح ۵ درصد انجام شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها نیز با استفاده از نرم‌افزار spss۱۸ انجام شد. در این مرحله از تحقیق از میانگین داده‌ها به‌همراه اشتباه از معیار استفاده شد.

.۱

نتایج

خلاصه نتایج حاصله از اندازه‌گیری پارامترهای محیطی (آب) در جدول ۲ ارائه شده است. براساس این نتایج دو پارامتر اکسیژن و pH دارای‌تغییرات اندک و پارامترهای‌درجه‌حرارت‌و شوری، تغییرات زیادی داشتند. به‌طوری‌که دمای آب ۲۳ به ۲۸ درجه سانتی‌گراد به‌ترتیب در ابتدا‌وانتهای‌دوره‌پرورش افزایش‌داشت. این‌وضعیت برای‌کلیه‌تیمارهای آزمایشی‌یکسان بوده‌است. ماهیان در‌کف و شنای واژگون در‌غلظت‌های ۵ و ۱۰ میلی‌گرم مشاهده گردید.

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

شرح	درجه حرارت ^{o}C	اکسیژن محلول mg/l	pH	شوری ppt
میانگین	۲/۲۴±۱۳/۰۷	۲/۶۶±۷/۸	۰/۱۷±۷/۹	۰/۲±۰/۹
تعداد نمونه	۱۴	۱۴	۱۴	۱۴

نتایج حاصله‌از پارمترهای هماتولوژی: خلاصه‌نتایج پارامترهای خونی پس از پایان آزمایش در جداول ۲و ۳ مشاهده می‌شود. با توجه به تفاوت معنی‌دار در فاکتورهای هماتوکریت (HCT) که برای تیمار اول (شاهد) با مکمل صفر درصد برابر ۳۸/۵۰ درصد و برای تیمار دوم (مکمل گیاهی ۲٪)برابر ۳۸/۳۳ درصد و برای تیمار سوم (مکمل گیاهی ۴٪) برابر ۴۴ درصد بوده‌اند، گلبول‌های قرمز (RBC) که برای تیمار اول (شاهد)با مکمل صفر درصد برابر ۱/۳۷۱۷×۱۰۶سلول در میلی‌متر مکعب بوده‌است‌وبرای‌تیماردوم(مکمل‌گیاهی ۲٪) برابر ۱/۴۲۱۷×۱۰^{۶} سلول در میلی‌متر مکعب بوده است و برای تیمار سوم (مکمل گیاهی ۴٪) برابر ۱/۶۰۳۳×۱۰^{۶} سلول در میلی‌متر مکعب بوده است و IGM که برای تیمار اول(شاهد) با مکمل‌صفر درصد برابر ۷۳/۷۵۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر بوده است و برای تیمار دوم (مکمل گیاهی ۲٪) برابر ۷۵/۹۱۷ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر بوده است و برای تیمار سوم (مکمل گیاهی ۴٪) برابر ۱۲۶/۶۶۷ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر بوده است، نتیجه گرفته شده که مخلوط گیاهان دارویی در سطح ۴٪ با تاثیر بر روی سیستم ایمنی هومورال و با افزایش آنتی‌بادی IGM برروی قزل‌آلای رنگین‌کمان پرورشی تاثیر معنی‌داری داشته است (p<۰/۰۱).

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

شاخص	شاهد	٪۲	٪۴
گلبول قرمز (میلیون/میلی‌متر)	۱/۳۷۱۷±۰/۶۶۱ ^{a}	۱/۴۲۱۷±۰/۶۷۷ ^{a}	۱/۶۰۳۳±۰/۳۰۱ ^{b}
گلبول سفید (میلیون/میلی‌متر)	۸۲۳۳±۳۹۶/۳۷	۹۷۱۶±۸۳۰/۴	۷۴۳۳±۵۶۹/۰۱
هموگلوبین (گرم/دسی‌لیتر)	۵/۶۵۰±۰/۲۸۶	۵/۷۱۷±۰/۲۶۵	۶/۴۱۷ ±۰/۲۰۴
هماتوکریت (درصد)	۳۸/۵۰±۱/۳۸۴^{a}	۳۸/۳۳±۱/۰۲۲ ^{a}	۴۴±۱/۵۰۶ ^{b}
لنفوسیت (٪)	۹۸/۱±۳۳/۱۷۴	۹۶/۸۳±۱/۶۶۲	۹۷/۳۳±۱/۷۰۶
نوتروفیل (٪)	۱/۱±۶۷/۱۷۴	۳/۱۷±۱/۶۶۲	۲/۵۰±۱/۷۲۷
مونوسیت (٪)	۰/۰±۰/۰	۰/۰±۰/۰	۰/۰±۱۷/۱۶۷

عدم وجود حروف در هر ردیف نشان‌دهنده معنی‌دار نبودن اختلافات در هر ردیف می‌باشد (p>۰/۰۵).

جدول ۳: تاثیر سطوح مختلف گیاهان دارویی بر برخی از شاخص‌های بیوشیمیای و ایمنی قزل‌آلای رنگین‌کمان در انتهای دوره (SD ± میانگین)

آنزیم سرمی در تیمار	شاهد	٪۲	٪۴
Igm (میکروگرم/میلی‌لیتر)	۷۳/۷۵۰±۵/۳۰۱ ^{a}	۷۵/۹۱۷±۱۱/۰۰ ^{a}	۱۲۶/۶±۶/۳۷ ^{b}
C4 (میلی‌گرم/دسی‌لیتر)	۸/۱±۷۵۰/۶۴	۱۳/۲۸۳±۲/۹۵	۱۸/۳۵۰±۳/۴۵
C3 (میلی‌گرم/دسی‌لیتر)	۴۸/۸±۹۳/۵۸	۴۸/۵±۷۸/۲۶	۶۱/۹۶±۳/۴۰
آلبومین (گرم/دسی‌لیتر)	۲/۰±۲۵۰/۱۲۵	۲/۲۸۳±۰/۱۱۳	۲/۲۸۳±۰/۲۱۶
پروتین کل (گرم/دسی لیتر)	۳/۰±۷۸۳/۵۲۶	۴/۶۵۰±۱/۳۸۰	۳/۳۸۳±۰/۱۱۹

عدم وجود حروف در هر ردیف نشان‌دهنده معنی‌دار نبودن اختلافات در هر ردیف می‌باشد (p>۰/۰۵).

بحث

مطالعه بر روی امکان‌پذیری استفاده از افزودنی‌های گیاهی در آبزی‌پروری‌شروع‌شده و درهمین‌زمان‌اندک دامنه وسیعی از تحقیقات را به سمت خود معطوف‌ساخته است که نتایج متنوع و متفاوتی از اثر این افزودنی‌های گیاهی بر ایمنی(چه به‌صورت تحریکی و چه به‌صورت تلفیقی)،آنتی‌اکسیدانتی،آنتی‌باکتریال،تحریک‌کننده‌آنزیم‌هاو تحریک کننده‌جذب نیتروژن در‌پیکره ماهی از خود نشان داده است. همان‌طور که‌گفته‌شدمهم‌ترین‌مزیت آن این است‌که باتوجه به طبیعی

www.SID.ir

Archive of SID

بودن، بر محیط زیست و سلامت مصرف‌کنندگان تهدیدی نخواهد بود (Gabor و همکاران، ۲۰۱۰). نتایج بررسی حاضر نشان می‌دهد که سطح ۴٪ تاثیر معنی‌داری بر روی اندیس‌های شاخص خونی‌داشته است به‌طوری‌که در فاکتورهای هماتوکریت (HCT) که برای تیمار اول (شاهد) با مکمل صفر درصد برابر ۳۸/۵۰ درصد و برای تیمار دوم (مکمل گیاهی ۲٪) برابر ۳۸/۳۳درصد و برای تیمار سوم (مکمل گیاهی ۴٪) برابر ۴۴درصد بوده‌اند، گلبول‌های قرمز (RBC) که برای تیمار اول (شاهد) با مکمل صفر درصد برابر ۱/۳۷۱۷×۱۰^{۶} سلول در میلی‌متر مکعب بوده است و برای تیمار دوم (مکمل گیاهی ۲٪) برابر ۱/۴۲۱۷×۱۰^{۶} سلول در میلی‌مترمکعب بوده است و برای تیمار سوم (مکمل گیاهی ۴٪) برابر ۱/۶۰۳۳×۱۰^{۶} سلول در میلی‌متر مکعب بوده است و IGM که برای تیمار اول (شاهد) با مکمل صفر درصد برابر ۷۳/۷۵۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر بوده است و برای تیمار دوم (مکمل گیاهی ۲٪) برابر ۷۵/۹۱۷ میلی‌گرم بردسی‌لیتر بوده است و برای تیمار سوم(مکمل گیاهی۴٪)برابر ۱۲۶/۶۶۷ میلی‌گرم‌بردسی‌لیتر بوده است. نتیجه آن‌که استفاده از مخلوط گیاهان دارویی در سطح ۴٪ در جیره مصرفی تاثیرات معنی‌دار بر روی HCT وRBC با ضریب اطمینان ۹۵٪داشته است ($p<۰/۰۵$) و تاثیر آن برروی سیستم ایمنی‌اختصاصی IGM با ضریب اطمینان ۹۹٪ بوده است ($p<۰/۰۱$) نهایتاً آن‌که تاثیر اساسی بر روی سیستم ایمنی هومورال و با افزایش آنتی‌بادی IGM برروی قزل‌آلای رنگین‌کمان پرورشی تاثیر معنی‌داری داشته است ($p<۰/۰۱$). بررسی‌های دیگر توسط محققین انجام شده به‌طوری‌که، اثر اسانس آویشن بر روی سیستم ایمنی خون ماهی قزل‌آلای رنگین کمان پرورشی اثر معنی‌دار داشته است (سلطانی و همکاران، ۱۳۹۱) که با آزمایشات انجام شده فوق هم‌خوانی دارد. هم‌چنین اثر سیر بر رشد وایمنی هیبرید تیلاپیا (*Oreochromis niloticus*×*Oreochromisa ureus*) مطالعه شد. در مطالعه آن‌ها با استفاده از ۰/۵ گرم بر کیلوگرم مکمل سیر، بهبود معنی‌داری بر شمار لکوسیت‌های‌خون تنفسی این ماهی، فعالیت فاگوسیته کنندگی، ضریب فاگوسیته و فعالیت آنزیمی به‌دست آمد و سیر ویژگی‌های محرکی سیستم ایمنی خوبی را در این ماهی هیبرید از خود نشان داد (Ndong و Fall، ۲۰۱۱). هم‌چنین اثر اسانس چندگیاه دارویی ازجمله آویشن بر سیستم ایمنی ماهی قزل‌آلا رنگین‌کمان پرورشی با تاثیر بر میزان Igm اثرات معنی‌دار داشته است (سلطانی و همکاران،۱۳۹۱). هم‌چنین تاثیر مخلوط اسانس چند گیاه دارویی به‌خصوص پونه و مرزه‌بختیاری با تقویت‌سیستم ایمنی بر روی قزل‌آلای رنگین‌کمان با موفقیت آزمایش شد (قاسمی‌پیربلوطی و همکاران، ۱۳۹۰) که با نتایج این تحقیق هم‌خوانی دارد. در مجموع توصیه می‌شود استفاده از مکمل گیاهی فوق در سطح ۴٪ تاثیرات مثبتی بر روی سیستم ایمنی هومورال داشته و با توجه به بی‌ضرریی در جیره توصیه می‌شود.

منابع

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

۲. **زرگری، ع.، ۱۳۶۸.** گیاهان دارویی. جلد اول. موسسه انتشارات و چاپ دانشگاه تهران. ۹۴۷ صفحه.

۳. **زرگری، ع.، ۱۳۶۸.** گیاهان دارویی. جلد دوم. موسسه انتشارات و چاپ دانشگاه تهران. ۸۵۰ صفحه.

۴. **سلطانی، م.؛ ظریف‌منش، ط. و ذریه‌الزهرا، س.ج.، ۱۳۹۱.** مطالعه تاثیر اسانس آویشن شیرازی (*Zataria multiflora*) بر میزان فعالیت سیستم عامل مکمل و لیزوزیم خون ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*Onchorhynchus mykiss*). مجله علمی شیلات ایران. دوره ۲۱، شماره ۴، صفحات ۱۳ تا ۲۲.

۵. **عمادی، ح.، ۱۳۶۷.** تکثیر و پرورش ماهی قزل‌آلا و ماهی آزاد. تهران. ۲۱۲ صفحه.

۶. **قاسمی‌پیربلوطی، ع.؛ پیرعلی، ا.؛ پیشکار، غ.؛ جلالی، م.؛ ریسی، م.؛ جعفریان‌دهکردی، م. و بهزاد، ح.، ۱۳۹۰.** اثر اسانس چند گیاه دارویی بر سیستم ایمنی قزل‌آلای رنگین‌کمان پرورشی (*Onchorhynchus mykiss*). نشریه گیاهان دارویی. شماره ۲، دوره ۲، صفحات ۱۴۹ تا ۱۵۵.

۷. **Awad, E. and Austin, B., 2010**. Use of lupin, *Lupinus perennis*, mango, *Mangifera indica*, and stinging nettle, *Urtica dioica*, as feed additives to prevent *Aeromonas hydrophila* infection in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Journal of Fish Diseases. Vol. 33, pp: 413-420.

۸. **Binaii, M.; Ghiasi, M.; Farabi, S.M.V.; Pourgholam, R.; Fazli, H. and Safari, R., 2014.** Biochemical and hemato immunological parameters in juvenile beluga (*Husohuso*) following the diet supplemented with nettle (*Urticadioica*). Fish Shellfish Immunol. Vol. 36, pp: 46-51.

۹. **Blaxhall, P.C. and Daisley, W., 1973.** Routine haematological methods for use with fish blood. J Fish Biol. Vol. 5, pp: 771-781.

۱۰. **Borges, A.; Scotti, L.V.; Siqueira, D.R.; Jurinitz, D.F. and Wassermann, G.F., 2004.** Hematologic and serum biochemical values for jundia´ (*Rhamdiaquelen*). Fish Physiology and Biochemistry. Vol. 30, pp: 21-25.

۱۱. **Dorucu, M.; Ozesen Colak, S.; Ispir, U.; Altinterim, B. and Celayir, Y., 2009.** The Effect of Black Cumin Seeds, *Nigella sativa*, on the Immune Response of Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss*. Mediterranean Aquaculture Journal. Vol. 2, No. 2, pp: 1-7.

۱۲. **Gabor, E.F.; Şara, A. and Barbu, A., 2010.** The effects of some Phyto-additives on growth, health and meat quality on

www.SID.ir

Archive of SID

different species of fish. Scientific Papers: Animal Sciences and Biotechnologies. Vol. 43, No. 1, pp: 61-65.

۱۳. **Ellis, A.E., 1990**. Lysozyme assay, techniques in fish immunology .2nd end. Fair Haven, USA. pp: 100-102.

۱۴. **Fazlolahzadeh, F.; Keramati, K.; Nazifi, S.; Shirian, S. and Seifi, S., 2011.** Effect of Garlic (*Allium sativum*) on Hematological Parameters and Plasma Activities of ALT and AST of Rainbow trout in Temperature Stress. Australian Journal of Basic and Applied Sciences. Vol. 5, No. 9, pp: 84-90.

۱۵. **Haghighi, M. and Sharif Rohani, M., 2013**. The effects of powdered ginger (*Zingiber officinale*) on the haematological and immunological parameters of rainbow trout *oncorhynchus mykiss*. Journal of medicinal plant and herbal Therapy research. Vol. 1, pp: 8-12.

۱۶. **Ndong, D. and Fall, J., 2011.** The effect of garlic (*Allium sativum*) on growth and immune responses of hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* x *Oreochromis aureus*). Journal of Clinical Immnunology and Immunopathology Research. Vol. 3, No. 1. pp: 1-9.

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

www.SID.ir