Archive of SID

Journal of Fisheries Science and Technology
Volume 9, Issue 1, Winter 2020
Pages: 51-58
Type: Original Research

Effect of Dietary Lemon Peel (*Citrus limon*) Essential Oil on Growth Performance, Hematological, Serum Biochemical Parameters and Liver Enzymes of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) Juvenile

Amiri Resketi M.[1] *MSc*, Yeganeh S.[*1] *PhD*, Jani Khalili Kh.[1] *PhD*

[1] Fisheries Department, Faculty of Animal Science and Fisheries, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran

Abstract

Aims: The aim of the present study was to investigate the effect of dietary lemon peel (*Citrus limon*) essential oil on growth, hematological parameters, some serum biochemical parameters, and liver enzymes in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) juveniles.

Materials & Methods: 144 rainbow trouts with an average initial weight of 95.05±0.41g were randomly stocked in four treatments containing different levels of lemon peel essential oil (0 (control), 200, 400, and 600mg essential oil/kg diet) and fed for eight weeks.

Findings: The highest growth factors were seen in treatments of 400 and 600mg lemon peel essential oil/kg diet ($p<0.05$). Inclusion of essential oil in diet increased hematological parameters as compared to the control except MCV, MCH, and MCHC and increased serum biochemical parameters by contrast to the control except glucose, triglyceride, and cortisol ($p<0.05$). Liver enzymes of ALT and AST showed no significant differences among treatments containing essential oil and LDH exhibited no significant differences among 400 and 600mg essential oil/kg diet and the control treatment ($p>0.05$), but ALP amount significantly increased in essential oil treatments in comparison to the control ($p<0.05$).

Conclusion: Overall, using 400mg essential oil in rainbow trout diet could improve growth, hematological and some serum biochemical parameters of rainbow trout without any negative effects on the liver.

Keywords
Rainbow trout
Lemon Peel Essential Oil
Serum Biochemical Parameters
Liver Enzymes

[*]Corresponding Author
Tel: +98 (11) 33687574
Fax: +98 (11) 33687715
Post Address: Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, 9th km Darya Road, Sari, Iran. P.O. Box: 578
s.yeganeh@sanru.ac.ir
Received: October 8, 2019 Accepted: July 13, 2020 ePublished: August 17, 2020

In Press

www.SID.ir

Archive of SID

تاثیر استفاده از اسانس پوست لیموترش (*Citrus limon*) در جیره بر عملکرد رشد، فراسنجه‌های خونی و بیوشیمیایی سرم و آنزیم‌های کبدی ماهی جوان قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

مریم امیری رسکتی MSc
گروه شیلات، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران
سکینه یگانه* PhD
گروه شیلات، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران
خسرو جانی خلیلی PhD
گروه شیلات، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران

چکیده
اهداف: در مطالعه حاضر، تاثیر استفاده از اسانس پوست لیموترش (*Citrus limon*) در جیره غذایی بر رشد، فراسنجه‌های خونی، برخی از فراسنجه‌های بیوشیمیایی سرمی و آنزیم‌های کبدی ماهیان جوان قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) مورد بررسی قرار گرفت.
مواد و روش‌ها: ۱٤٤ قطعه قزل‌آلای رنگین‌کمان با وزن متوسط ۰/٤۱±۹۵/۰۵گرم به‌طور تصادفی در ۴ تیمار حاوی سطوح مختلف اسانس پوست لیموترش شامل صفر (شاهد)، ۲۰۰، ٤۰۰ و ٦۰۰میلی‌گرم اسانس بر کیلوگرم جیره ذخیره و به مدت هشت هفته تغذیه شدند.
یافته‌ها: بیشترین میزان فاکتورهای رشد در تیمارهای حاوی ٤۰۰ و ٦۰۰میلی‌گرم اسانس پوست لیموترش مشاهده شد (p<۰/۰۵). افزودن اسانس در جیره، فراسنجه‌های خونی به‌جز MCV، MCH و MCHC و سرمی به‌جز گلوکز، تری‌گلیسرید و کورتیزول را نسبت به تیمار شاهد افزایش داد (p<۰/۰۵). آنزیم‌های کبدی ALT و AST در تیمارهای حاوی اسانس و LDH در تیمارهای حاوی ۴۰۰ و ۶۰۰میلی‌گرم اسانس تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد نداشت (p>۰/۰۵)، اما میزان ALP در تیمارهای حاوی اسانس افزایش معنی‌داری نسبت به شاهد نشان داد (p<۰/۰۵).
نتیجه‌گیری: به‌طور کلی، استفاده از ٤۰۰میلی‌گرم اسانس در جیره ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌تواند بدون تاثیر منفی بر کبد موجب بهبود رشد، فراسنجه‌های خونی و برخی از فراسنجه‌های سرمی شود.
کلیدواژه‌ها: قزل‌آلای رنگین‌کمان، اسانس پوست لیموترش، فراسنجه‌های سرمی، آنزیم‌های کبدی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۷/۱۶
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۴/۲۳
*نویسنده مسئول: s.yeganeh@sanru.ac.ir

مقدمه

رشد صنعت آبزی‌پروری در میان بخش‌های جانوری، سریع‌ترین بخش بوده و میزان تولید قزل‌آلای رنگین‌کمان در سال ۲۰۱۵، ۷۶۱۷۶۶تن گزارش شده است[1]. به‌دلیل روی‌آوردن به آبزی‌پروری متراکم، مواجهه با انواع استرس‌های محیطی و بیماری‌ها افزایش یافته است. توسعه تکنولوژی‌های تولید ماهی بدون افزودنی‌های سنتتیک و مصنوعی دارای اهمیت زیادی است[2]. یکی از راهکارها، افزایش مقاومت و سلامت ماهیان با استفاده از محرک‌های ایمنی و گیاهی است[3]. از جمله محصولات فیتوژنی مورد استفاده در صنایع دام، طیور و آبزیان اسانس‌های گیاهی هستند. مطالعات زیادی بر استفاده از اسانس‌ها متمرکز شده‌اند[3, 4]. اسانس‌ها یا روغن‌های فرار یا اتری، ترکیبات آروماتیکی هستند که از قسمت‌های مختلف گیاهان مانند گل، دانه، جوانه، میوه، برگ، ریشه و غیره، با روش‌های مختلف تخمیر، عصاره‌گیری و نیز در مقیاس تجاری با روش تقطیر با بخار استخراج می‌شوند[5]. بیشتر اسانس‌های گیاهی دارای طیف وسیعی از خواص ضداکسیدانی، ضدمیکروبی، ضدویروسی، ضدقارچی و ضدانگلی هستند[6]. شواهد تجربی نشان داده است که آنتی‌اکسیدان‌های مشتق‌شده از میوه‌ها به محافظت از مواد سلولی نظیر DNA، پروتئین‌ها و لیپیدها در مقابل رادیکال‌های آزاد مزاحم کمک می‌کنند[7]. استفاده از این اسانس‌ها در جیره‌های غذایی موجب تقویت رشد، تغییر ترکیب لاشه، تحریک سیستم ایمنی و تغییر برخی از فاکتورهای خون‌شناسی ماهیان می‌شود[3, 4]. تاثیر استفاده از افزودنی‌های گیاهی مختلف شامل پودر پوست پرتغال شیرین، *garcinia gummi-gutta*، پوست مرکبات (*Citrus junos*) و پوست پرتغال (*Citrus sinensis*) بر رشد، تولیدمثل، ایمنی و مقاومت آبزیان بررسی و مطالعه شده است[3, 4, 8, 9].

لیموترش میوه درختی با نام علمی *Citrus limon* از خانواده مرکبات است که اصل آن در هندوستان و از آنجا به سایر نقاط دنیا انتشار پیدا کرده است. درواقع پوست مرکبات به‌عنوان ضایعات (محصول جانبی) آبگیری از مرکبات مطرح و از سه لایه اگزوکارپ (فلاودو)، مزوکارپ (آلبیدو) و اندوکارپ تشکیل شده است. در لایه اگزوکارپ، گروهی از سلول‌ها به شکل غده‌های فرورفته که حاوی روغن‌های اسانسی فرار هستند، قرار دارند[10]. اسانس مرکبات، مخلوطی با بیش از ٤۰۰ ترکیب دارد که به دو بخش فرار با ۸۵ تا ۹۹% کل اسانس و بخش غیرفرار با میزان ۱ تا ۱۵% کل اسانس، تقسیم می‌شود. لیمونن اصلی‌ترین ترکیب اسانس مرکبات است و از ویژگی‌های آن می‌توان به خواص ضدباکتریایی و ضدویروسی اشاره کرد[6, 11]. اثرات ضداکسیدانی ترکیبات موثر موجود در اسانس لیمو علیه رادیکال‌های آزاد، اثرات ضدمیکروبی علیه *K. pneumoniae*، *P. vulgaris*، *B. subtilis*، *P. aeruginosa* و *S. aureus* مورد بررسی قرار گرفته است[12, 13]. میزان تولید جهانی لمون و لایم ۱۰۴۹۰/۳هزارتن و سهم ایران ۱۰۲۴هزار تن بوده است[1]. طبق گزارش اداره کل آمار و اطلاعات وزارت جهاد کشاورزی ایران، میزان تولید لیموترش ایران (*Citrus limon*) ٤۹۳۵٤/٦تن در سال ۱۳۹٦ بود[14]. با توجه به مطالب عنوان‌شده در ارتباط با اهمیت استفاده از افزودنی‌ها، خواص اسانس پوست لیموترش و عدم انجام پژوهشی در ارتباط با تاثیر این اسانس در جیره بر عملکرد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، در مطالعه حاضر، تاثیر استفاده از اسانس پوست لیموترش در جیره غذایی بر فراسنجه‌های خونی،

www.SID.ir

Archive of SID

برخی از فراسنجه‌های بیوشیمیایی سرم و آنزیم‌های کبدی در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

اسانس پوست لیموترش (باریج اسانس؛ ایران) خریداری شد. آنالیز اسانس پوست لیموترش با استفاده از دستگاه گاز کروماتوگرافی (GC) و طبق دستورالعمل *دلازار* و همکاران[15] صورت گرفت (جدول ۱). برنامه دمایی مورد استفاده در دستگاه گاز کروماتوگرافی شامل ۵ دقیقه در دمای ۵۰°C با گرادیان حرارتی ۳°C در هر دقیقه، افزایش دما تا ۲۴۰°C با شیب دمایی ۱۵°C در هر دقیقه و نگهداری ستون در ۳۰۰°C به مدت ۳ دقیقه بود. دمای اتاقک تزریق ۲۹۰°C و سرعت گاز هلیم ۰/۸میلی‌لیتر بر دقیقه بود. دمای منبع یونیزاسیون ۲۲۰°C و میزان انرژی یونیزاسیون ۷۰الکترون‌ولت بود.

جدول ۱) برخی از ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس پوست لیموترش

نام ماده شیمیایی	مقدار (درصد)
بیسیکلو (۰/۱/۳) هگزان، ۴- متیل	۰/۲۵
۳- سیکلوهگزن- ۱- ۱- متانول	۰/۳۸
۱S- آلفا- پینن	۳/۸۷
لیمونن	۸/۵۹
بیسیکلو (۱/۲/۲) هپتان	۰/۰۵
بیسیکلو (۱/۱/۳) هپتان	۱۵/۰۹
بتا- میرسن	۰/۴۲
بیسیکلو (۰/۱/۳) هگز- ۲- ان، ۴- متیل	۱/۷۲
دی- لیمونن	۴۴/۷۳
۱، ۶- اکتادین- ۳- ال	۰/۱۸
۱، ۴- سیکلوهگزادین	۶/۱۲
۱، ۴- سیکلوهگزادین	۵/۶۵
سیکلوهگزان	۰/۹۱
۳- ایزوپروپیل دین- ۵- متیل	۰/۳۳

آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ٤ تیمار و سه تکرار انجام شد. مقدار مورد نیاز اسانس پوست لیموترش برای تهیه تیمارهای حاوی سطوح مختلف اسانس پوست لیموترش شامل صفر (شاهد)، ۲۰۰، ٤۰۰ و ٦۰۰میلی‌گرم در کیلوگرم جیره محاسبه و به‌صورت هر دو روز یک‌بار با سرنگ بر مقدار معینی از غذای تجاری بیومار اسپری شد[16]. ١٤٤ قطعه ماهی جوان قزل‌آلای رنگین‌کمان با وزن متوسط اولیه ۰/٤١±۹۵/۰۵گرم از یکی از پرورش‌دهندگان ماهی در ساری خریداری و برای انجام آزمایش به سالن پرورش گروه شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری منتقل شد و در ۱۲ مخزن (٤ تیمار، ۳ تکرار و هر تکرار ۱۲ قطعه ماهی) ۳۰۰لیتری فایبرگلاس با حجم آبگیری ۲۵۰لیتر مجهز به هواده توزیع شد. آب مورد استفاده، آب چاه بود که به‌منظور حذف آهن قبل از ورود به داخل تانک هوادهی شد و ماهیان پس از طی دوره سازگاری به مدت ده روز با غذای تجاری بیومار فرانسه با قطر ۳میلی‌متر و میزان پروتئین، چربی و خاکستر به ترتیب ٤۰/۲۵، ۱۰/۹۱ و ٦/۵۱%، به مدت ۵٦ روز (۸ هفته) به مقدار ۲% وزن بدن، دو بار در روز مورد تغذیه قرار گرفتند. تعویض آب در طول دوره پرورش به‌صورت روزانه به میزان ۹۰% با روش سیفون‌کردن انجام گرفت. مدت زمان آبگیری برای هر مخزن ۱۰ دقیقه اندازه‌گیری شد. پس از گذشت یک ساعت از تعویض روزانه آب به‌صورت دستی، غذای خورده‌نشده جمع‌آوری و پس از خشک‌کردن توزین شد. میزان پروتئین، چربی، رطوبت و خاکستر جیره به‌ترتیب ٤۰/۲۵، ۱۰/۹۱، ۱۳/۲ و ٦/۵۱% بود. به‌منظور تنظیم میزان غذادهی در طول دوره پرورش، هر ١٤ روز یک‌بار، ماهیان هر مخزن پس از بیهوشی با پودر گل میخک (۱۰۰میلی‌گرم در لیتر) با ترازوی دیجیتال توزین شدند.

در طول آزمایش دمای آب به‌صورت روزانه به وسیله دماسنج و دیگر شاخص‌های کیفی آب از قبیل pH (pHمتر؛ AQUA -AL15 LYTIC؛ آلمان)، اکسیژن (اکسیژن‌متر؛ AQUA LYTIC -AL15؛ آلمان) و TDS به‌صورت دوره‌ای اندازه‌گیری شدند. دما، pH، اکسیژن محلول و TDS به‌ترتیب ۱/۷°C±۱۷/۵، ۰/۲±۸/۱۲، ۰/۳±۷/۵ و ٢٤± ٤۷۰میلی‌گرم بر لیتر بود.

به‌منظور بررسی عملکرد رشد بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه‌شده با سطوح مختلف اسانس پوست لیموترش زیست‌سنجی در ابتدا و انتهای دوره آزمایش انجام و شاخص‌های رشد شامل افزایش وزن (WG)، نرخ رشد ویژه (SGR)، ضریب تبدیل غذایی (FCR) و بازماندگی (SR) با رابطه‌های زیر تعیین شدند[4, 9]:

$$WG = W_f - W_i$$

$$SGR = \frac{\ln W_f - \ln W_i}{T_2 - T_1} \times 100$$

$$FCR = \frac{\text{مقدار غذای خشک مصرفی}}{\text{افزایش وزن}}$$

$$SR = \frac{N_f}{N_i} \times 100$$

W_f: وزن نهایی؛ W_i: وزن اولیه؛ Ln: لگاریتم طبیعی؛ T_2-T_1: تعداد روزهای آزمایش؛ N_f: تعداد ماهی باقیمانده در پایان آزمایش؛ N_i: تعداد ماهی در ابتدای آزمایش

آنالیز تقریبی جیره‌ها براساس روش ای‌اوای‌سی انجام شد[17]. تعیین مقدار پروتئین با روش کجلدال و چربی با روش سوکسله و حلال اتر انجام گرفت. اندازه‌گیری رطوبت از طریق قراردادن نمونه در آون با دمای ۱۰۵°C و توزین آن پس از ثابت‌شدن وزن نمونه (پس از خنک‌شدن در دسیکاتور) انجام شد. خاکستر نمونه‌ها از طریق سوزاندن در کوره با دمای ۵۵۰°C به مدت ٦ ساعت و سپس توزین آنها انجام شد.

در پایان دوره پرورش، ۳ قطعه ماهی از هر تکرار به‌صورت تصادفی نمونه‌برداری و توسط پودر گل میخک (۱۰۰میلی‌گرم در لیتر) بیهوش شدند و خونگیری از قسمت انتهایی باله مخرجی ماهیان بیهوش‌شده به وسیله سرنگ انجام شد. تغذیه ماهیان ٢٤ ساعت قبل از خونگیری قطع شد. برای بررسی فراسنجه‌های مختلف خونی

www.SID.ir

Archive of SID

شامل شمارش گلبول‌های قرمز (RBC) و سفید (WBC) براساس روش *هوستون*[18]، غلظت هموگلوبین (Hb) و میزان هماتوکریت (HCT) براساس روش *درابکین*[19]، از نمونه‌های خون در لوله‌های حاوی ماده ضدانعقاد استفاده شد. میانگین حجم گلبول قرمز (MCV)، میانگین هموگلوبین در گلبول قرمز (MCH) و میانگین غلظت هموگلوبین در گلبول قرمز (MCHC) براساس روابط زیر محاسبه شد:

$$MCV=\frac{HCT}{RBC}\times ۱۰$$

$$MCH=\frac{Hb}{RBC}\times ۱۰$$

$$MCHC=\frac{Hb}{HCT}\times ۱۰۰$$

برای بررسی فاکتورهای بیوشیمیایی سرم، بخشی از نمونه‌های خون در لوله فاقد ماده ضدانعقاد ریخته شدند و برای جداسازی سرم به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۶۰۰۰دور بر دقیقه سانتریفیوژ شدند و برخی فراسنجه‌های بیوشیمیایی سرم شامل پروتئین تام براساس روش *لوری*[20]، آلبومین براساس روش *ووتون* و *فریمن*[21]، گلوکز، کلسترول و تری‌گلیسرید براساس روش *تریندر*[22]، با استفاده از کیت‌های آزمایشگاهی شرکت زیست‌شیمی و کورتیزول براساس روش *مولینرو*[23] و با استفاده از کیت آزمایشگاهی شرکت پارس‌آزمون اندازه‌گیری شدند. آنزیم ALP (آلکالین‌فسفاتاز) و LDH (لاکتات‌دهیدروژناز) با استفاده از کیت شرکت پارس‌آزمون و طبق روش DGKC، AST (آنزیم آسپارتات) و ALT (آلانین‌آمینوترانسفراز) بر طبق روش ریتمن- فرانکل (استاندارد انجمن بیوشیمی آلمان) برآورد شد[24].

داده‌ها پس از بررسی نرمال‌بودن با روش کلموگروف- اسمیرنوف، به روش آنالیز واریانس یک‌طرفه تجزیه و تحلیل شدند. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون آماری دانکن در سطح احتمال ۹۵% استفاده شد. همچنین نرم‌افزار SPSS 24 برای آنالیز آماری مورد استفاده قرار گرفت.

یافته‌ها

در بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه‌شده با جیره‌های حاوی سطوح مختلف اسانس پوست لیموترش با افزایش اسانس تا سطح ۴۰۰میلی‌گرم، شاخص‌های رشد شامل وزن نهایی، افزایش وزن، نرخ رشد ویژه و ضریب تبدیل غذایی به‌طور معنی‌داری بهبود یافت، به‌طوری که بهترین مقدار فاکتورهای ذکرشده در تیمار تغذیه‌شده با جیره حاوی ۴۰۰میلی‌گرم اسانس مشاهده شد ($p<۰/۰۵$)، اما بین ماهیان تغذیه‌شده با سطوح ۴۰۰ و ۶۰۰میلی‌گرم اسانس تفاوت معنی‌داری نبود ($p>۰/۰۵$؛ جدول ۲). درصد بقا در تمام تیمارها ۱۰۰% بود ($p>۰/۰۵$؛ جدول ۱).

مقدار گلبول قرمز در تیمارهای تغذیه‌شده با جیره حاوی ۴۰۰میلی‌گرم اسانس نسبت به سایر تیمارها افزایش معنی‌داری نشان داد ($p<۰/۰۵$). در تیمار تغذیه‌شده با جیره حاوی ۶۰۰میلی‌گرم اسانس نیز مقدار گلبول قرمز بیشتری نسبت به تیمار شاهد مشاهده شد ($p<۰/۰۵$)، اما میزان آن در تیمار شاهد و تیمار تغذیه‌شده با جیره حاوی ۲۰۰میلی‌گرم اسانس با هم و تیمارهای تغذیه‌شده با جیره‌های حاوی ۲۰۰ و ۶۰۰میلی‌گرم اسانس با هم تفاوت معنی‌داری نداشت ($p>۰/۰۵$). مقدار گلبول سفید در تیمارهای تغذیه‌شده با جیره حاوی ۴۰۰ و ۶۰۰میلی‌گرم اسانس نسبت به تیمار شاهد و تیمار تغذیه‌شده با جیره حاوی ۲۰۰میلی‌گرم اسانس افزایش معنی‌داری داشت ($p<۰/۰۵$). مقدار هموگلوبین و هماتوکریت در تمام تیمارهای تغذیه‌شده با جیره حاوی اسانس نسبت به تیمار شاهد بیشتر بود و بیشترین مقدار هموگلوبین و هماتوکریت به ترتیب در تیمارهای تغذیه‌شده با جیره حاوی ۴۰۰، ۶۰۰، ۲۰۰میلی‌گرم اسانس و تیمار شاهد مشاهده شد ($p<۰/۰۵$). MCV در بین تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری نشان نداد ($p>۰/۰۵$). MCH و MCHC تنها در تیمار تغذیه‌شده با جیره حاوی ۴۰۰میلی‌گرم اسانس کاهش معنی‌داری نشان داد ($p<۰/۰۵$) و سایر تیمارها با هم تفاوت معنی‌داری نداشتند ($p>۰/۰۵$؛ جدول ۳).

در بررسی فراسنجه‌های سرمی مشخص شد که در تیمارهای حاوی اسانس، مقدار پروتئین، آلبومین و کلسترول نسبت به تیمار شاهد افزایش معنی‌دار و میزان گلوکز و تری‌گلیسرید کاهش معنی‌داری داشت ($p<۰/۰۵$). میزان کورتیزول در بین تیمارها تفاوت معنی‌داری نشان نداد ($p>۰/۰۵$). بیشترین میزان پروتئین در تیمارهای تغذیه‌شده با جیره حاوی ۴۰۰ و ۶۰۰میلی‌گرم اسانس مشاهده شد و بیشترین میزان آلبومین در تیمار تغذیه‌شده با جیره حاوی ۴۰۰میلی‌گرم اسانس و بیشترین مقدار کلسترول در تیمار حاوی ۲۰۰میلی‌گرم اسانس به دست آمد. کمترین میزان کلسترول در بین تیمارهای تغذیه‌شده با جیره‌های حاوی اسانس، در سطح ۴۰۰میلی‌گرم اسانس و کمترین میزان گلوکز و تری‌گلیسرید در تیمارهای تغذیه‌شده با جیره حاوی ۴۰۰ و ۶۰۰میلی‌گرم اسانس مشاهده شد ($p<۰/۰۵$؛ جدول ۴).

بررسی نتایج آنزیم‌های کبدی نشان داد که آلکالین‌فسفاتاز (ALP) در تیمارهای تغذیه‌شده با جیره حاوی اسانس به‌طور معنی‌داری بیشتر از تیمار شاهد بود ($p<۰/۰۵$)، اما بین سطوح ۲۰۰ با ۴۰۰میلی‌گرم اسانس و بین ۴۰۰ و ۶۰۰میلی‌گرم اسانس در جیره تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($p>۰/۰۵$). همچنین آلانین‌آمینوترانسفراز (ALT) و آسپارتات‌آمینوترانسفراز (AST) در بین تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری نداشتند ($p>۰/۰۵$). میزان لاکتات‌دهیدروژناز (LDH) در تیمار تغذیه‌شده با جیره حاوی ۲۰۰میلی‌گرم اسانس به‌طور معنی‌داری بیشتر از تیمار شاهد بود ($p<۰/۰۵$)، اما بین تیمارهای تغذیه‌شده با جیره‌های حاوی سطوح مختلف اسانس با هم ($p>۰/۰۵$) و بین تیمار شاهد و تیمارهای تغذیه‌شده با جیره‌های حاوی ۴۰۰ و ۶۰۰میلی‌گرم اسانس با هم تفاوت معنی‌داری وجود نداشت ($p>۰/۰۵$؛ جدول ۵).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲) میانگین آماری شاخص‌های رشد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه‌شده با سطوح مختلف اسانس پوست لیموترش

شاخص	تیمارها (میلی‌گرم اسانس پوست لیموترش در کیلوگرم جیره)			
	صفر (شاهد)	۲۰۰	۴۰۰	۶۰۰
وزن اولیه (گرم)	۹۵/۰±۴۱/۴۳	۹۵/۰±۱۳/۳۵	۹۴/۰±۸۳/۴۴	۹۴/۰±۸۱/۲۴
وزن نهایی (گرم)	۱۴۹/۱±۲۷/۷۹^{c}	۱۵۲/۴±۸۳/۰۲^{bc}	۱۵۸/۲±۳۳/۷۹^{a}	۱۵۵/۱±۸۴/۵۹^{ab}
افزایش وزن (گرم)	۵۳/۲±۷۶/۲۱^{c}	۵۷/۳±۸۵/۸۶^{bc}	۶۳/۲±۵۰/۳۷^{a}	۶۱/۱±۰۳/۵۲^{ab}
نرخ رشد ویژه (درصد در روز)	۰/۰±۷۷/۰۲^{c}	۰/۰±۸۶/۰۵^{b}	۰/۰±۹۵/۰۴^{a}	۰/۰±۸۸/۰۴^{ab}
ضریب تبدیل غذایی	۱/۰±۳۲/۰۵^{a}	۱/۰±۲۴/۱۲^{a}	۱/۰±۰۷/۰۱^{b}	۱/۰±۱۶/۰۲^{b}
بازماندگی (درصد)	۱۰۰/۰±۰۰/۰۰	۱۰۰/۰±۰۰/۰۰	۱۰۰/۰±۰۰/۰۰	۱۰۰/۰±۰۰/۰۰

حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار هستند (p<۰/۰۵).

جدول ۳) میانگین آماری فاکتورهای خون‌شناسی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه‌شده با سطوح مختلف اسانس پوست لیموترش

فاکتورهای خون‌شناسی	تیمارها (میلی‌گرم اسانس پوست لیموترش در کیلوگرم جیره)			
	صفر (شاهد)	۲۰۰	۴۰۰	۶۰۰
گلبول قرمز (^{6}×۱۰ بر مترمکعب)	۱/۰±۱۴/۰۲^{c}	۱/۰±۲۰/۰۴^{bc}	۱/۰±۳۹/۰۴^{a}	۱/۰±۲۵/۰۲^{b}
گلبول سفید (^{6}×۱۰ بر مترمکعب)	۶/۰±۵۷/۰۶^{b}	۶/۰±۰۰/۲۰^{c}	۷/۰±۱۰/۳۰^{a}	۷/۰±۰۷/۱۵^{a}
هموگلوبین (گرم بر دسی‌لیتر)	۷/۰±۴۳/۰۹^{d}	۷/۰±۷۷/۱۰^{c}	۸/۰±۱۷/۱۰^{a}	۸/۰±۰۱/۰۲^{b}
هماتوکریت (درصد)	۴۴/۰±۶۷/۵۸^{c}	۴۷/۰±۳۳/۵۸^{b}	۵۱/۱±۶۷/۵۳^{a}	۴۹/۱±۰۰/۰۰^{b}
MCV (فمتولیتر)	۳۹۰/۵±۷۸/۵۱	۳۹۴/۱۳±۳۰/۶۱	۳۷۰/۱۲±۴۱/۸۰	۳۹۲/۴±۰۲/۱۸
MCH (پیکوگرم)	۶۵/۰±۰۲/۸۸^{a}	۶۴/۳±۶۶/۴۷^{a}	۵۸/۱±۵۲/۶۹^{b}	۶۴/۰±۰۹/۸۸^{a}
MCHC (درصد)	۱۶/۰±۶۴/۱۷^{a}	۱۶/۰±۴۰/۳۲^{a}	۱۵/۰±۸۲/۵۱^{b}	۱۶/۰±۳۵/۲۹^{a}

حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار هستند (p<۰/۰۵).

جدول ۴) میانگین آماری فاکتورهای بیوشیمیایی سرم ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه‌شده با سطوح مختلف اسانس پوست لیموترش

فاکتورهای خون‌شناسی	تیمارها (میلی‌گرم اسانس پوست لیموترش در کیلوگرم جیره)			
	صفر (شاهد)	۲۰۰	۴۰۰	۶۰۰
پروتئین (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	۱/۰±۴۰/۰۰^{c}	۱/۰±۴۶/۰۰^{b}	۱/۰±۵۰/۰۱^{a}	۱/۰±۴۹/۰۲^{a}
آلبومین (گرم بر دسی‌لیتر)	۱/۰±۱۱/۰۱^{d}	۱/۰±۲۴/۰۰^{c}	۱/۰±۳۸/۰۱^{a}	۱/۰±۳۳/۰۱^{b}
گلوکز (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	۴۱/۰±۷۱/۲۷^{a}	۳۹/۰±۷۱/۷۵^{b}	۳۷/۰±۲۱/۲۵^{c}	۳۸/۰±۰۲/۶۸^{c}
کلسترول (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	۲۱۴/۰±۷۲/۷۹^{d}	۲۲۲/۰±۵۱/۸۰^{a}	۲۱۷/۰±۳۲/۷۹^{c}	۲۲۰/۰±۶۱/۷۹^{b}
تری‌گلیسرید (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	۳۶/۰±۷۸/۸۷^{a}	۳۴/۱±۷۱/۲۱^{b}	۳۲/۰±۴۱/۳۴^{c}	۳۳/۰±۱۰/۶۹^{c}
کورتیزول (میکروگرم بر دسی‌لیتر)	۱/۰±۷۵/۰۱	۱/۰±۷۲/۲۵	۱/۰±۷۲/۴۷	۱/۰±۷۴/۰۶

حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار هستند (p<۰/۰۵).

جدول ۵) میانگین آماری آنزیم‌های کبدی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه‌شده با سطوح مختلف اسانس پوست لیموترش

آنزیم‌های کبدی (واحد بین‌المللی بر لیتر)	تیمارها (میلی‌گرم اسانس پوست لیموترش در کیلوگرم جیره)			
	صفر (شاهد)	۲۰۰	۴۰۰	۶۰۰
ALP	۳۰۸/۲۰±۳۳/۰۳^{c}	۳۵۱/۱۷±۳۳/۰۴^{b}	۳۸۶/۱۳±۳۳/۰۵^{a}	۳۸۰/۱۱±۳۳/۹۳^{ab}
ALT	۳/۰±۲۳/۳۸	۳/۰±۳۶/۲۳	۳/۰±۹۰/۴۴	۳/۰±۵۳/۳۰
AST	۱۴۶/۴±۳۳/۷۳	۱۵۰/۳±۳۳/۰۵	۱۵۸/۳±۶۷/۰۵	۱۵۶/۳±۰۰/۶۰
LDH	۱۶۵۰/۱۱۶±۰۰/۲۱^{b}	۱۷۸۱/۲۷±۶۷/۳۹^{a}	۱۷۴۸/۴۰±۶۷/۰۲^{ab}	۱۷۶۵/۳۵±۶۸/۵۰^{ab}

حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار هستند (p<۰/۰۵).

بحث

با توجه به اینکه هدف صنعت آبزی‌پروری، بهینه‌سازی رشد و تولید ماهی با کیفیت بالا است، بنابراین دستیابی به جیره غذایی با اثر مثبت بر روی رشد ماهی، دارای اهمیت است و این موضوع به‌خصوص در زمانی که ماهی به‌دلیل شرایط پرورش در معرض استرس‌های محیطی قرار دارد، اهمیت بیشتری می‌یابد[25]. براساس نتایج این مطالعه، وجود اسانس پوست لیموترش و همچنین افزایش مقدار آن تا سطح ۴۰۰ و ۶۰۰میلی‌گرم، باعث بهبود معنی‌داری در عملکرد رشد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌شود. همچنین مقدار FCR نیز با افزایش میزان اسانس پوست لیموترش در جیره، کاهش یافت. تاثیر مثبت ایجادشده در مطالعه حاضر احتمالاً ناشی از تاثیر ترکیبات موثر اسانس شامل لیمونن (این ترکیب بیشترین میزان را در آنالیز اسانس مورد استفاده در مطالعه حاضر نشان داد)، سزکوئی‌ترین، هیدروکربن‌ها و مشتقات اکسیژنه

www.SID.ir

Archive of SID

آنها در اسانس پوست لیموترش با حفاظت از مواد سلولی، پروتئین‌ها و لیپیدها در مقابل رادیکال‌های آزاد مزاحم و بهبود عملکرد مواد مغذی پروتئین و لیپید در بدن است[7] که درنتیجه موجب بهبود شاخص‌های رشد در تیمارهای دارای اسانس شدند. در مطالعه *ال- سید* و همکاران[26]، جایگزینی تفاله مرکبات با بخشی از ذرت (۵ و ۱۰% جیره) به همراه پروبیوتیک بیوبودز (۲گرم در کیلوگرم) در جیره ماهی تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) نیز باعث بهبود کارآیی رشد، افزایش مصرف غذا، کاهش ضریب تبدیل غذایی و افزایش هضم‌پذیری شد. مطالعات نشان داده است که گیاهان موجب تحریک ترشح آنزیم‌های پانکراسی، جذب و هضم ترکیبات مهم موجود در مواد مغذی می‌شوند[27]. از نظر شیمیایی اسانس‌ها از جمله اسانس پوست لیموترش، اصولاً مخلوط متغیری از ترکیبات فنولی و ترپنوئیدها به‌طور عمده مونوترپن‌ها، سزکوئی‌ترپن‌ها، دی‌ترپن‌ها و تنوعی از هیدروکربن‌های آلیفاتیک با وزن مولکولی کم، اسیدها، الکل‌ها، آلدهیدها، استرهای آسیلی یا لاکتون، کومارین‌ها و هومولوگ‌های فنیل پروپانوئیدها هستند که بر عملکرد رشد و کارآیی تغذیه ماهیان تاثیر می‌گذارند[28]. وجود کاروتنوئیدها در اسانس پوست لیموترش نیز ممکن است دلیلی برای افزایش رشد مشاهده‌شده در مطالعه حاضر باشد، چراکه افزودن آستاگزانتین و کانتاگزانتین در برخی از ماهیان موجب افزایش عملکرد رشد شد[29]. علاوه بر این برخی ترکیبات ناشناخته در گیاهان دارویی مختلف موجب ایجاد تغییرات قابل ملاحظه در پژوهش‌های شیلاتی می‌شوند[30].

ماهیان در حضور عوامل شیمیایی در آب و غذا و پاسخ به حضور آنها توسط تغییرات گلبول‌های قرمز و سفید بسیار حساس هستند[31]. شمارش گلبول‌های قرمز که بر قابلیت انتقال گازهای تنفسی در خون و بازده قلب ماهی و گلبول‌های سفید که نقش مهمی را در ایمنی ذاتی و اختصاصی ایفا می‌کنند[32] و نیز میزان هموگلوبین و درصد هماتوکریت شاخصی برای سلامت ماهیان محسوب می‌شوند. ترکیبات اسانس لیموترش (*Citrus limon*) شامل هیدروکربن‌ها (لیمونن، a و b- پینن و c- ترپینن) است و سهم کمتری از مونوترپن‌ها (مانند a- ترپین‌ال، سابینن، q- سیمن، نریل و گرانیل‌استات) نیز در اسانس تعیین شده است. این متابولیت‌های ثانویه دارای اثرات مختلف آنتی‌کسیدانی، ضدباکتریایی، ضدویروسی، ضدقارچی و ضدانگلی هستند[6] و می‌توانند بر فاکتورهای خونی و سرمی موثر باشند[4]. در مطالعه حاضر، تیمارهای حاوی اسانس پوست لیموترش دارای گلبول قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت بیشتری نسبت به تیمار شاهد بودند و سطح ۴۰۰میلی‌گرم بر کیلوگرم، بیشترین میزان شاخص‌های ذکرشده را نشان داد. تیمار ۴۰۰ و ۶۰۰میلی‌گرم موجب افزایش گلبول سفید در مقایسه با سایر تیمارها شد. افزودن اسانس در سطوح مورد مطالعه، میزان MCV را تغییر نداد و فقط مقدار ۴۰۰میلی‌گرم اسانس توانست میزان MCH و MCHC را به‌طور معنی‌داری نسبت به سایر تیمارها کاهش دهد. در مطالعه *آکار* و همکاران[4] استفاده از اسانس مرکبات در جیره تیلاپیا و در مطالعه *انگوگی* و همکاران[6]، اسانس لیموترش در جیره *Labeo victorianus* موجب ترقی فاکتورهای خونی شد. در مطالعه *هری‌کریشنان* و همکاران[32]، افزودن مکمل‌های گیاهی به جیره غذایی ماهی کپور (*Cyprinus carpio*) موجب تغییر تعداد گلبول‌های سفید خون شد. افزایش این شاخص نشان‌دهنده افزایش تحریک سیستم ایمنی ماهی است که نتایج این مطالعات با مطالعه حاضر مطابقت دارد. *پراساد* و *پریانکا*[8] نیز دریافتند که گربه‌ماهی (*Pangasianodon hypophthalmus*) تحت تغذیه با عصاره میوه *Garcinia gummi-gutta* افزایش میزان RBC، WBC و HCT را نشان داده است و علت افزایش گلبول قرمز در این مطالعه را به وجود آهن در این عصاره نسبت داده‌اند. در مطالعات دیگری نیز افزایش فاکتورهای خونی مانند هماتوکریت، گلبول قرمز، گلبول سفید درنتیجه استفاده از افزودنی‌های گیاهی گزارش شده است. البته در برخی مطالعات مشخص شده است که افزودنی‌های مورد استفاده تاثیری بر میزان هماتوکریت نداشته اند[33]. در مطالعه حاضر در تیمارهای حاوی اسانس پوست لیموترش میزان پروتئین، آلبومین و کلسترول افزایش، اما میزان گلوکز و تری‌گلیسرید کاهش یافت و میزان کورتیزول تفاوت معنی‌داری نداشت. پروتئین سرم مهم‌ترین جزء سرمی است و در پاسخ ایمنی غیراختصاصی با تولید آنزیم‌ها، فعال‌کردن ماکروفاژها و اثرات آنتی‌باکتریایی نقش حیاتی ایفا می‌کند و میزان پروتئین سرم در پاسخ به استرسورها تغییر می‌کند[34]. نسبت آلبومین به گلبولین می‌تواند بازتابی از عملکرد طحال و به نوعی وضعیت ایمنی و فیزیولوژیکی موجود باشد[35]. به‌طور مشابه، افزایش شاخص‌های سرمی (پروتئین کل، گلوکز، آلبومین و گلوبولین ماهی) در استفاده از اسانس پوست لیموترش در ماهی روهو ویکتوریا (*Labeo victorianus*) [6] و اسانس پوست پرتغال (*Citrus sinensis*) در ماهی تیلاپیا (*Oreochromis mossambicus*) [4] نیز گزارش شده است. افزایش گلوکز یکی از شاخص‌های استرس است[16]. تغییرات غلظت گلوکز در اغلب موارد ممکن است ناشی از آسیب‌های واردشده به بافت‌های کلیه و اختلالات کبدی ماهیان باشد[36]. اسانس پوست لیموترش احتمالاً توانست میزان گلوکز خون را به‌دلیل کاهش اثرات استرسورها کاهش دهد. نتیجه مطالعه حاضر با مطالعات *انگوگی* و همکاران[6] و *آکار* و همکاران[4] مطابقت دارد. کاهش میزان تری‌گلیسرید و کلسترول در مطالعه گذشته در مورد اسانس مرکبات[4] نیز گزارش شده است که اگرچه در ارتباط با تغییر تری‌گلیسرید با مطالعه حاضر همخوانی دارد، اما در مورد تغییر کلسترول متفاوت است. *فوکادا* و همکاران[9] عدم تغییرات پروتئین، گلوکز، تری‌گلیسرید و کلسترول را گزارش کرده‌اند. اگرچه بیان شده است که اسانس پوست میوه‌جات به‌دلیل وجود ترکیباتی نظیر لیمونین، پلی‌متوکسی‌فلاون و فلاون‌هسپریتین در موجودات موجب کاهش تری‌گلیسرید و کلسترول (به‌دلیل جلوگیری از بیوسنتز کلسترول دنوو) می‌شوند[37]، اما در مطالعه حاضر علی‌رغم

www.SID.ir

Archive of SID

مشاهده تری‌گلیسرید کمتر در تیمارهای حاوی اسانس، این تاثیر در مورد کلسترول مشاهده نشد. افزایش کلسترول در تیمارهای حاوی اسانس پوست لیموترش در مطالعه حاضر ممکن است به‌دلیل افزایش HDL باشد که متاسفانه به‌طور جداگانه تعیین نشد.

مطالعه حاضر نشان داد که اسانس پوست لیموترش تاثیر منفی بر میزان کورتیزول، شاخص‌های سرمی و درنتیجه سلامتی ماهی نداشت[9]، چراکه تفاوت معنی‌داری در بین تیمارهای حاوی اسانس و شاهد مشاهده نشد. استفاده از اسانس پوست لیموترش ***Citrus limon*** در ماهی ***Labeo victorianus*** موجب افزایش گلوکز و کورتیزول نسبت به تیمار شاهد شد[6] و با افزایش میزان اسانس تا ۵% کاهش یافت که تغییر گلوکز و کورتیزول به‌عنوان پاسخ هورمونی نسبت به استرسورها شناخته شده است[16]. مطالعات قبلی در ارتباط با به‌لیموی ***Lippia alba***، ریحان مقدس (***Ocimum gratissimum***)، به‌لیموی ***Aloysia triphylla*** و ***Hesperozygis ringens*** نیز کاهش کورتیزول و گلوکز و شاخص‌های اولیه استرس را گزارش کرده‌اند[38]. حتی با استفاده از اسانس رازیانه (***Foeniculum vulgare***)، میزان کورتیزول در ماهی در مواجهه با استرس شوری کاهش یافت[16]. با توجه به تاثیر بیهوش‌کنندگی و دردنشان ترکیباتی نظیر a و b- پینن[39] موجود در اسانس پوست لیموترش، به نظر می‌رسد که این ترکیبات دارای تاثیر کاهنده بر شاخص‌های اولیه استرس باشند[6].

کبد اولین ارگانی است که توسط مواد جذب‌شده در روده و خصوصیات سمی مواد جذب‌شده تحت تاثیر قرار می‌گیرد. شاخص آسیب کبدی تراوش آنزیم‌های سلولی به داخل پلاسما به‌دلیل ناپایداری عملکردهای انتقال در هپاتوسیت‌ها است[40]. در مطالعه حاضر استفاده از اسانس پوست لیموترش تاثیری بر میزان آنزیم‌های ALT و AST نداشت و آنزیم‌های ALP و LDH در تیمارهای حاوی اسانس افزایش یافتند که البته LDH در تیمارهای حاوی ۴۰۰ و ۶۰۰میلی‌گرم تفاوت معنی‌دار با تیمار شاهد نداشت. عدم تغییر ALT و AST در مطالعه حاضر می‌تواند نشان‌دهنده عدم آسیب کبدی درنتیجه استفاده از اسانس پوست لیموترش باشد که به‌دلیل طبیعت گیاهی اسانس است که برای ماهی مفید محسوب می‌شود.

نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر استفاده از اسانس پوست لیموترش (۴۰۰میلی‌گرم اسانس در کیلوگرم جیره) در جیره ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان توانست تاثیر مثبتی بر برخی فراسنجه‌های خونی و سرمی و آنزیم‌های کبدی داشته باشد. بنابراین می‌توان با استفاده از اسانس پوست لیموترش در جیره ماهی و نیز پس از بررسی تاثیر ضایعات سایر میوه‌ها، در جهت مدیریت آنها اقدام کرد.

تشکر و قدردانی: نویسندگان از دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری به‌دلیل فراهم‌آوردن شرایط انجام مطالعه سپاسگزاری می‌کنند.

تاییدیه اخلاقی: فرآیندهای مرتبط در مورد ماهیان مورد آزمایش با توجه به روش انجـام‌شده در مقالات معتبر که براساس آیـین‌نامه‌های زیسـتی عمل کرده‌اند، انجام شده است.

تعارض منافع: هیچ‌گونه تعارض منافعی وجود ندارد.

سهم نویسندگان: مریم امیری رسکتی (نویسنده اول)، نگارنده مقدمه/پژوهشگر اصلی/تحلیلگر آماری/نگارنده بحث (۳۰%)؛ سکینه یگانه (نویسنده دوم)، روش‌شناس/پژوهشگر اصلی/تحلیلگر آماری/نگارنده بحث (۴۰%)؛ خسرو جانی‌خلیلی (نویسنده سوم)، روش‌شناس/پژوهشگر اصلی/تحلیلگر آماری/نگارنده بحث (۳۰%)

منابع مالی: مطالعه حاضر توسط معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری حمایت مالی شده است.

منابع

1- FAO [Internet]. Rome: FAO; 2017 [cited 2018 May 20]. Available from: http://www.fao.org/fishery/statistics/en

2- Citarasu T. Herbal biomedicines: A new opportunity for aquaculture industry. Aquac Int. 2010;18(3):403-14.

3- Ipinjolu JK. Performance of juvenile orange koi carp (Cyprinus carpio Leanneaus) fed diets supplemented with sweet orange peel meal: I. Body composition, nutrient utilization and skin pigmentation. Sokoto J Vet Sci. 2000;2(1):28-37.

4- Acar Ü, Kesbiç OS, Yılmaz S, Gültepe N, Türker A. Evaluation of the effects of essential oil extracted from sweet orange peel (Citrus sinensis) on growth rate of tilapia (Oreochromis mossambicus) and possible disease resistance against Streptococcus iniae. Aquaculture. 2015;437:282-6.

5- Van De Braak SA, Leijten GC. Essential oils and oleoresins: A survey in the Netherlands and other major markets in the European Union. Rotterdam: CBI, Centre for the Promotion of Imports from Developing Countries; 1999.

6- Ngugi CC, Oyoo-Okoth E, Muchiri M. Effects of dietary levels of essential oil (EO) extract from bitter lemon (C itrus limon) fruit peels on growth, biochemical, haemato-immunological parameters and disease resistance in Juvenile L abeo victorianus fingerlings challenged with A eromonas hydrophila. Aquac Res. 2017;48(5):2253-65.

7- Velioglu YS, Mazza G, Gao L, Oomah BD. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. J Agric Food Chem. 1998;46(10):4113-7.

8- Prasad G, Priyanka GL. Effect of fruit rind extract of Garcinia gummi-gutta on haematology and plasma biochemistry of catfish Pangasianodon hypophthalmus. Asian J Biochem. 2011;6(3):240-51.

9- Fukada H, Furutani T, Shimizu R, Masumoto T. Effects of yuzu (Citrus junos) peel from waste as an aquaculture feed supplement on growth, environmental load, and dark muscle discoloration in yellowtail Seriola quinqueradiata. J Aquat Food Prod Technol. 2014;23(5):511-21.

10- Bennici A, Tani C. Anatomical and ultrastructural study of the secretory cavity development of Citrus sinensis and Citrus limon: Evaluation of schizolysigenous ontogeny. Flora Morphol Distrib Funct Ecol Plants. 2004;199(6):464-75.

11- Espina L, Somolinos M, Lorán S, Conchello P, García D, Pagán R. Chemical composition of commercial citrus fruit essential oils and evaluation of their antimicrobial activity acting alone or in combined processes. Food Control. 2011;22(6):896-902.

www.SID.ir

Archive of SID

12- Calabrese V, Randazzo SD, Catalano C, Rizza V. Biochemical studies on a novel antioxidant from lemon oil and its biotechnological application in cosmetic dermatology. Drugs Exp Clin Res. 1999;25(5):219-25.
13- Prabuseenivasan S, Jayakumar M, Ignacimuthu S. In vitro antibacterial activity of some plant essential oils. BMC Complement Altern Med. 2006;6(1):39.
14- Iran Fisheries Organization. Agriculture Iran Statistics. Tehran: Iran Fisheries Organization; 2017. [Persian]
15- Delazar A, Delnavazi MR, Yassa N, Parkhideh S, Delazar N, Nahar L, et al. Essential oil composition and isolation of freeradical-scavenging phenolic glycosides from the aerial parts of Ajuga chamaepitys growing in Iran. Revista Brasileira De Farmacognosia. 2012;22(2):399-05.
16- Mahdavi S, Yeganeh S, Firouzbakhsh F, Janikhalili K. Effects of fennel (Foeniculum vulgare) essential oil of diet on some biochemical parameters and salinity stress resistance of kutum (Rutilus kutum) fry. Iran Sci Fish J. 2017;25(4):1-16. [Persian]
17- AOAC International, Horwitz W. Official methods of analysis of AOAC International. Gaithersburg: AOAC International; 2005.
18- Houston A. Blood and circulation: Methods for fish biology. In: Schalm OW, Jain NC. Schalm's veterinary hematology. Philadelphia: Lea & Febiger; 1986. pp. 21-62.
19- Drabkin DI. Crystallographic and optical properties of human hemoglobin. A proposal for the standarization of hemoglobin. Am J Med. 1945;209:268-70.
20- Classics Lowry O, Rosebrough N, Farr A, Randall R. Protein measurement with the Folin phenol reagent. J Biol Chem. 1951;193(1):265-75.
21- Wootton ID, Freeman H. Microanalysis in medical biochemistry. 6th Edition. London: Churchill Livingstone; 1982.
22- Trinder P. Determination of glucose concentration in the blood. Ann Clin Biochem. 1969;6:24.
23- Molinero A, Gonzalez J. Comparative effects of MS 222 and 2-phenoxyethanol on gilthead sea bream (Sparus aurata L.) during confinement. Comp Biochem Physiol Part A Physiol. 1995;111(3):405-14.
24- Fischbach F, Zawta B. Age-dependent reference limits of several enzymes in plasma at different measuring temperatures. Klin Lab. 1992;38:555-61.
25- Hassaan MS, Goda AM, Mahmoud SA, Tayel SI. Protective effect of dietary vitamin E against fungicide copperoxychloride stress on Nile tilapia, Oreochromis niloticus (L.) fingerlings. Int Aquat Res. 2014;6(1):58.
26- El-Sayed S, El-Kholy M, Eleraky W, Soliman M. Effect of partial replacement of yellow corn with dried citrus pulp in Nile tilapia diets on growth performance, nutrient digestibility and immune status. Aquacult Nutr. 2010;10:35-42.
27- FrAnKIČ T, Voljč M, Salobir J, Rezar V. Use of herbs and spices and their extracts in animal nutrition. Acta Agriculturae Slovenica. 2009;94(2):95-102.
28- Dorman HJ, Deans SG. Antimicrobial agents from plants: Antibacterial activity of plant volatile oils. J Appl Microbiol. 2000;88(2):308-16.
29- García-Chavarría M, Lara-Flores M. The use of carotenoid in aquaculture. Res J Fish Hydrobiol. 2013;8(2):38-49.
30- Kim DS. Effect of obosan supplemented diet on growth, feed conversion ratio and body composition of Nile tilapia, Oreochromis niloticus. J Aquac. 1998;11:83-90.
31- Neelima P. Haematological alterations in cyprinus carpio as biomarkers of cypermethrin toxicity. Int J Curr Res. 2015;7(8):18864-70.
32- Harikrishnan R, Rani MN, Balasundaram C. Hematological and biochemical parameters in common carp, Cyprinus carpio, following herbal treatment for Aeromonas hydrophila infection. Aquaculture. 2003;221(1-4):41-50.
33- Nya EJ, Austin B. Development of immunity in rainbow trout (Oncorhynchus mykiss, Walbaum) to Aeromonas hydrophila after the dietary application of garlic. Fish Shellfish Immunol. 2011;30(3):845-50.
34- Biller-Takahashi JD, Takahashi LS, Pilarski F, Sebastião FA, Urbinati EC. Serum bactericidal activity as indicator of innate immunity in pacu Piaractus mesopotamicus (Holmberg, 1887). Arquivo Brasileiro De Medicina Veterinária E Zootecnia. 2013;65(6):1745-51.
35- Zhu U, Liu W, Yuan Sh, Chen H. The effect of different dietary levels of Thyme essential oil on serum biochemical indices in mahua Broiler Chickens. Ital Anim J Sci. 2014;13(3):3238.
36- Holland MC, Lambris JD. The complement system in teleosts. Fish Shellfish Immunol. 2002;12(5):399-420.
37- Youssef MK, Youssef HM, Mousa RM. Evaluation of antihyperlipidemic activity of citrus peels powders fortified biscuits in albino induced hyperlipidemia. Food Public Health. 2014;4(1):1-9.
38- Heldwein CG, Silva LL, Reckziegel P, Barros FM, Bürger ME, Baldisserotto B, et al. Participation of the GABAergic system in the anesthetic effect of Lippia alba (Mill.) NE Brown essential oil. Braz J Med Biol Res. 2012;45(5):436-43.
39- Mercier B, Prost J, Prost M. The essential oil of turpentine and its major volatile fraction (α-and β-pinenes): A review. Int J Occup Med Environ Health. 2009;22(4):331-42.
40- Abdel-Khalek AA, Kardy MA, Badran SR, Marie MA. Comparative toxicity of copper oxide bulk and nanoparticles in Nile Tilapia; Oreochromis nitoticus: Biochemical and oxidative stress. J Basic Appl Zool. 2015;72:43-57.

www.SID.ir