



دانشگاه گنبد کاووس

نشریه "پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی"

دوره چهارم، شماره دوم، تابستان ۹۵

<http://jair.gonbad.ac.ir>

## اثر جیره غذایی حاوی اسانس آویشن (*Thymus vulgaris* L.) بر عملکرد رشد، فراسنجه‌های خونی و بیوشیمیایی سرم ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792)

الهه عزیزی<sup>۱</sup>، سکینه یگانه<sup>۲\*</sup>، فرید فیروزبخش<sup>۳</sup>، خسرو جانی‌خلیلی<sup>۴</sup>

<sup>۱</sup>دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران

<sup>۲</sup>استادیار گروه شیلات، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران

<sup>۳</sup>دانشیار گروه شیلات، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران

<sup>۴</sup>دانشجوی دکتری تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران

تاریخ ارسال: ۹۴/۱۰/۲۱؛ تاریخ پذیرش: ۹۴/۱۲/۱۰

چکیده

در این تحقیق اثرات جیره‌های غذایی حاوی اسانس آویشن (*T. vulgaris*) بر عملکرد رشد، فراسنجه‌های خونی و سرمی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) مورد پژوهش قرار گرفت. ۱۵۶ قطعه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با میانگین وزنی  $69/38 \pm 0/44$  گرم به‌طور تصادفی در چهار تیمار (هر تیمار با سه تکرار) با جیره‌های غذایی حاوی اسانس آویشن با مقادیر ۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۷۵۰ میلی‌گرم اسانس در هر کیلوگرم جیره غذایی به‌مدت ۴۸ روز مورد تغذیه قرار گرفتند. در پایان دوره، میزان فاکتورهای رشد، فراسنجه‌های خونی و سرمی مورد سنجش قرار گرفت. سنجش پارامترهای رشد نشان داد که بین تیمارهای تحت اسانس آویشن و شاهد تفاوت معنی‌داری از لحاظ پارامترهای رشد شامل میانگین وزن نهایی، افزایش وزن، درصد افزایش وزن، ضریب تبدیل غذایی و نرخ رشد ویژه وجود ندارد ( $p > 0/05$ ). میزان هموگلوبین، هماتوکریت و تعداد گلبول قرمز تیمارهای آویشن در مقایسه با شاهد اختلاف معنی‌داری نداشتند ( $p > 0/05$ ). تعداد گلبول سفید تمامی گروه‌های تیماری بیشتر از گروه شاهد بود. به طوری که بیشترین تعداد گلبول سفید در تیمارهای آویشن متعلق به تیمار حاوی ۵۰۰ میلی‌گرم اسانس مشاهده شد ( $p < 0/05$ ). بررسی فراسنجه‌های سرمی نشان داد که بیشترین میزان پروتئین کل در تیمار ۵۰۰ میلی‌گرم آویشن به‌دست آمد ( $p > 0/05$ ). میزان لایپوزیم سرم تمامی

\*مسئول مکاتبه: [skyeganeh@gmail.com](mailto:skyeganeh@gmail.com)

تیمارهای تحت اسانس با گروه شاهد اختلاف معنی‌داری داشتند و بیشترین میزان لایوزیم سرم در تیمار ۷۵۰ میلی‌گرم آویشن مشاهده شد ( $p < 0.05$ ). بر اساس نتایج به‌نظر می‌رسد که استفاده از ۵۰۰ و ۷۵۰ میلی‌گرم اسانس آویشن در کیلوگرم جیره بتواند در ارتقای برخی از فراسنجه‌های ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان مؤثر باشد.

واژگان کلیدی: *O. mykiss*، اسانس آویشن، عملکرد رشد، فراسنجه خونی و سرمی

#### مقدمه

امروزه ماهی به‌عنوان یک منبع ارزشمند از پروتئین و چربی با کیفیت بالا در رژیم غذایی انسان جایگاه ویژه‌ای دارد و صنعت آبزی‌پروری در تأمین این غذای با ارزش برای جمعیت روزافزون بشری نقش مهمی را ایفا می‌کند. بر این اساس در راستای افزایش تولید ماهی در این صنعت، استفاده از جیره‌های غذایی سالم که علاوه بر حفظ سلامتی و بهبود عملکرد رشد ماهی در طول پرورش، ضامن سلامتی مصرف‌کننده نیز باشد، ضرورت بیشتری می‌یابد. یکی از رویکردهای جدید در صنایع پرورش دام، طیور و آبزیان جهت حفظ و افزایش تولید، استفاده از اسانس‌های گیاهی در جیره‌های غذایی می‌باشد. مطالعات اخیر نشان داده است که استفاده از اسانس‌های گیاهی موجب تقویت رشد، تحریک سیستم ایمنی و تغییر برخی فراسنجه‌های خون‌شناسی ماهی می‌گردد، بر این مبنا این مشتقات طبیعی بدون عوارض می‌توانند جایگزین مناسبی برای آنتی‌بیوتیک‌های شیمیایی محرک رشد و کنترل‌کننده میکروب‌ها، در جیره‌های غذایی آبزیان باشند (Ghasemi Pirbaluti *et al.*, 2011, Zheng *et al.*, 2009; Varel, 2002). گیاهان دارویی و مشتقات آن‌ها (اسانس‌ها و عصاره‌ها) دارای طیف گسترده‌ای از عملکردهای ضد میکروبی (انواع پاتوژنیک و مولد فساد در مواد غذایی) و ضد اکسیدانی می‌باشند. به‌طوری که با وجود اثرگذاری کند، به‌دلیل عواملی چون پایداری بیشتر در اثر آن‌ها، عدم ایجاد مقاومت نسبی عوامل بیماری‌زا نسبت به آن‌ها، نداشتن اثرات سوء بر جانداران و محیط‌زیست، تولید کم هزینه و کاربرد مقرون به‌صرفه آن‌ها از لحاظ اقتصادی در کشور، در مقایسه با سایر ترکیبات شیمیایی - دارویی (مانند آنتی‌بیوتیک‌های رایج که اخیراً جهت افزایش تولید به‌میزان زیادی مورد استفاده می‌باشند)، بیش از پیش مورد توجه قرار گرفته‌اند (Ghasemi Pirbaluti *et al.*, 2011). علاوه بر آن استفاده از ترکیبات گیاهی، شاخص‌های ایمنی و عملکرد ویژگی‌های خون‌شناسی و بیوشیمیایی را در ماهی و میگو به‌طور قابل ملاحظه‌ای افزایش می‌دهد (Sivaram *et al.*, 2004; Citarasu *et al.*, 2006). یکی از پرتعدادترین گونه‌های ماهی در دنیا به‌ویژه ایران، ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌باشد که اهمیت این ماهی به‌دلیل ارزش غذایی بالا و خصوصیات پرورشی منحصر به فرد آن می‌باشد. قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) با دارا بودن قابلیت سازگاری مناسب، در اکثر آب‌های شیرین که دارای دمای

مناسب جهت رشد این گونه هستند یکی از بهترین گونه‌های پرورشی است (Nafisi Bahabadi, 2007). ایران همراه با شیلی، نروژ و فرانسه، جزو کشورهای برتر تولیدکننده قزل‌آلای رنگین کمان است و ایران در تولید قزل‌آلای رنگین کمان در آبشیرین، رتبه اول جهانی را در اختیار دارد (Dekamin *et al.*, 2015; Kalbasi *et al.*, 2013).

آویشن باغی (*T. vulgaris*) که در ایران نیز پراکنش وسیعی یافته است، گیاهی معطر از خانواده نعناعیان (Labiatae) می‌باشند، که از دیرباز در غذاهای سنتی به‌عنوان عطر و طعم‌دهنده و در طب سنتی به‌عنوان گیاهان دارویی پرخاصیت کاربرد فراوانی دارد (Mozaffarian, 1998). مطالعات محققان مختلف نشان داده است که اسانس‌های این گیاهان، دارای فعالیت‌های ضد میکروبی و ضد اکسیدانی می‌باشند (Dorman and Deans, 2000; Steinar *et al.*, 2003; Economou *et al.*, 1991). ترکیبات مؤثره موجود در اسانس آویشن باغی، ترکیبات فنولی تیمول، کارواکرول و رزمارینیک اسید و ترپنوییدهای تقویت‌کننده اثر آن‌ها ارتوسایمن، گاماترپینن و لینالول می‌باشد که محققان بیشترین عملکرد ضد باکتریایی و ضد اکسیدانی آن را به تیمول و کارواکرول نسبت داده‌اند (Nedyalka *et al.*, 1999). اثر ضد میکروبی اسانس این گیاه بر تعداد زیادی از باکتری‌ها به‌ویژه باکتری‌های پاتوژنیک و مولد فساد در مواد غذایی به اثبات رسیده است (Aussalah *et al.*, 2007; Lopez *et al.*, 2007; Mejlhom and Dalgaard, 2002; Burt, 2004).

مطالعات نسبتاً خوبی در ارتباط با اثر اسانس‌های گیاهی در جیره ماهیان بر رشد و عملکردهای فیزیولوژیک انجام شده است، که از آن جمله می‌توان به مطالعات دوگنچی و همکاران (Düğenci *et al.*, 2003)، با افزودن عصاره‌های گیاهی دارویش (*Viscum album*)، گزنه (*Urtica dioica*) و زنجبیل (*Zingiber officinale*) به جیره‌های غذایی و بررسی اثر آن بر عملکرد رشد قزل‌آلای رنگین کمان، گیانناس و همکاران (Giannenas *et al.*, 2012)، در بررسی اثر استفاده از تیمول و کارواکرول در جیره‌ی غذایی بر عملکرد رشد، میکرو فلور روده و وضعیت آنتی‌اکسیدانی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان، ژنگ و همکاران (Zheng *et al.*, 2009)، با تحقیق بر روی اثر اسانس مرزنجوش یونانی (*Origanum heracleoticum* L.) بر رشد و اثر آنتی‌اکسیدانی و مقاومت گربه‌ماهی کانالی (*Ictalurus punctatus*) در برابر باکتری *Aeromonas hydrophila* احمدی‌فر و همکاران (Ahmadifar *et al.*, 2009)، در بررسی اثر استفاده از ترکیب تجاری تیمول و کارواکرول (NEXT Enhance 150) بر شاخص‌های خونی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان، قاسمی پیربلوطی و همکاران (Ghasemi Pirbaluti *et al.*, 2011)، در ارتباط با افزودن اسانس چند گیاه دارویی و بررسی اثر آن بر سیستم ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان، عالیشاهی و همکاران (Alishahi *et al.*, 2012)، با تحقیق بر روی اثر لوامیزول، ارگوسان و سه عصاره گیاهی آویشن شیرازی (*Zataria multiflora*)، کندر (*Boswellia thurifera*) و سرخارگل

*Echinacea purpurea*) بر میزان رشد ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) و مهدوی و همکاران (Mahdavi et al., 2014) در بررسی تأثیر اسانس رازیانه (*Foeniculum vulgare*) بر عملکرد رشد، فراسنجه‌های خونی ماهی سفید دریای خزر (*Rutilus kutum*) اشاره نمود. بر اساس مجموعه مطالعات صورت گرفته، مطالعه‌ای در مورد تأثیر استفاده از اسانس آویشن باغی (*T. vulgaris*) در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بر عملکرد رشد، فراسنجه‌های خونی و سرمی انجام نشده است، لذا در این تحقیق، مورد بررسی قرار خواهد گرفت.

### مواد و روش‌ها

**شرایط پرورش و تغذیه:** ماهیان جوان قزل‌آلای رنگین‌کمان از یک مرکز معتبر پرورش ماهی واقع در شهرستان ساری خریداری شد و توسط کامیونت مخصوص حمل بار ماهی و مجهز به سیستم هواده به سالن و نیروی گروه شیلات دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی ساری منتقل گردید. جهت پرورش ماهی از تانک‌های ۳۰۰ لیتری دایره‌ای از جنس فایبرگلاس استفاده شد. تانک‌ها به‌وسیله مواد شوینده و ضدعفونی‌کننده شستشو داده شدند. سپس تانک‌ها به میزان ۷۵ درصد از آب چاه آبیگری شدند و آب درون تانک‌ها قبل از ورود ماهی به‌طور کامل هوادهی شد. پس از دو هفته سازگاری و تغذیه با جیره غذایی پایه (بیومار فرانسه) فاقد اسانس به‌صورت دستی، تعداد ۱۵۶ قطعه ماهی جوان با میانگین وزن  $69/38 \pm 0/44$  گرم در ۴ تیمار با سه تکرار (۱۳ قطعه در هر تکرار) در ۱۲ عدد تانک ۳۰۰ لیتری با ظرفیت آبیگری ۲۵۰ لیتر ذخیره‌سازی شدند. به‌منظور جلوگیری از تجمع و ایجاد آلودگی، فضولات ماهیان به‌صورت روزانه از طریق سیفون کردن حذف گردید. تعویض آب نیز به صورت روزانه به میزان دو سوم آب درون تانک‌ها بوده است.

دمای آب به‌صورت روزانه و سایر پارامترهای کیفی آب از قبیل اکسیژن (اکسیژن‌متر AL15- AQUA LYTIC، ساخت کشور آلمان)، pH (pH متر AL15- AQUA LYTIC، ساخت کشور آلمان) و شوری (Senciun5- Hach، ساخت کشور آمریکا) به‌صورت دوره‌ای اندازه‌گیری گردید. در طول دوره پرورش فتوپریود به‌صورت طبیعی بوده و میانگین دمای آب  $12 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد، میانگین اکسیژن محلول  $7/30 \pm 0/1$  ppm، شوری  $0/6$  ppt و میانگین pH آب  $8/34 \pm 0/2$  ثبت گردید.

عملیات غذایی براساس جدول استاندارد (درجه‌حرارت و درصد وزنی بدن) صورت گرفت. در این آزمایش از اسانس آویشن (*T. vulgaris*) تهیه شده توسط شرکت گیاه-اسانس گرگان استفاده شد و در ۳ سطح ۲۵۰، ۵۰۰ و ۷۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره (Ortiz et al., 2009) به جیره‌ها افزوده شد. پس از محاسبه میزان غذای موردنیاز و اسانس، هر یک از این سطوح مختلف اسانس، ابتدا در مقدار کمی روغن کانولا (۱۰ میلی‌لیتر) حل و همگن شده و سپس به هر کیلوگرم جیره غذایی اضافه گردید

و جیره فاقد اسانس (فقط حاوی ۱۰ میلی لیتر روغن کانولا) برای تغذیه گروه شاهد به کار رفت. جیره های غذایی به صورت هفتگی آماده سازی و تا زمان استفاده درون کیسه های نایلونی تیره رنگ در یخچال (دمای ۴ درجه سانتی گراد) در شرایط تاریکی نگهداری گردید.

**شاخص های رشد:** در دوره پرورش هر سه هفته یکبار، تعداد ۵ قطعه ماهی از هر تانک به صورت تصادفی نمونه برداری و پس از بیهوشی با اسانس گل میخک (۱۵۰ میلی گرم در لیتر)، وزن و طول آنها ثبت گردید و براساس آن میزان غذادهی تنظیم گردید. در پایان آزمایش، وزن و طول بچه ماهیان مورد پرورش اندازه گیری شد و وزن و طول آنها ثبت گردید. در پایان آزمایش وزن و طول بچه ماهیان مورد پرورش اندازه گیری شد تا پارامترهای رشد از قبیل ضریب رشد ویژه (SGR)، ضریب تبدیل غذایی (FCR)، افزایش وزن (WG)، درصد افزایش وزن (WG درصد) و درصد بقا (SR درصد) بر اساس رابطه های زیر محاسبه شود.

$$WG = W2 - W1$$

$$\%WG = \frac{W2 - W1}{W1} \times 100$$

$$SGR = (\ln w2 - \ln w1 / t) \times 100$$

$$FCR = F / WG$$

$$SR = (N2 / N1) \times 100$$

(W1 = وزن اولیه، W2 = وزن ثانویه، t = طول دوره آزمایش، F = غذای داده شده، N1 = تعداد ماهیان ابتدای دوره، N2 = تعداد ماهیان انتهای دوره)

**تجزیه شیمیایی جیره:** تجزیه ترکیب شیمیایی جیره های غذایی بر اساس روش های استاندارد AOAC انجام گرفت (AOAC, 1997). رطوبت از طریق قرار دادن نمونه در آون با دمای ۱۰۵ درجه سانتی گراد و توزین آن پس از خنک شدن در دسی کاتور انجام شد. اندازه گیری پروتئین با روش کلدال و چربی با روش سوکسله و حلال اتر صورت گرفت. خاکستر نمونه ها از طریق سوزاندن نمونه در کوره با دمای ۵۵۰ درجه سانتی گراد به مدت ۶ ساعت و توزین آن صورت پذیرفت. تجزیه شیمیایی جیره نیز به همین روش انجام شد (جدول ۱).

جدول ۱- آنالیز تقریبی جیره غذایی مورد استفاده در تغذیه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*)

ترکیب	صفر (شاهد)	آویشن (۲۵۰ mg/kg)	آویشن (۵۰۰ mg/kg)	آویشن (۷۵۰ mg/kg)
پروتئین خام	۴۰/۸۰	۴۰/۳۱	۳۹/۴۸	۳۹/۰۰
چربی	۱۷/۰۵	۱۷/۱۵	۱۷/۷۷	۱۷/۳۱
خاکستر	۱۲/۰۰	۱۲/۸۱	۱۱/۵۰	۱۱/۲۱
رطوبت	۱۲/۰۴	۱۱/۵۱	۱۱/۵۵	۱۲/۰۰

اندازه‌گیری فراسنجه‌های خونی و سرمی: در پایان دوره ۴۸ روزه پرورش، از هر تیمار تعداد ۵ قطعه ماهی از هر تکرار به‌طور تصادفی جهت خونگیری و سنجش پارامترهای خونی انتخاب گردید. ابتدا ماهیان توسط اسانس گل میخک (۱۵۰ میلی‌گرم در هر لیتر) بیهوش شده و خونگیری از سیاهرگ ناحیه ساقه دمی ماهیان توسط سرنگ استریل صورت گرفت. بعد از خونگیری، نمونه‌های خون جمع‌آوری شده به دو بخش تقسیم شدند:

بخش اول: نمونه‌های خون در لوله‌های خونگیری حاوی ماده ضد انعقاد K3EDTA (شرکت KIMA، ایتالیا) قرار گرفتند تا شمارش گلبول قرمز، شمارش گلبول سفید و اندازه‌گیری میزان هماتوکریت صورت گیرد. شمارش گلبول قرمز و سفید خون با استفاده از لام هماتوسیتومتر (Hoston, 1990) و اندازه‌گیری میزان هماتوکریت خون توسط میکروهیاتوکریت صورت گرفت. میزان هموگلوبین به روش سیانومت در طول موج ۵۴۰ نانومتر (Drobkin, 1945)، با استفاده از کیت آزمایشگاهی شرکت پارس آزمون و دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل CE2502) تعیین گردید.

بخش دوم: نمونه‌های خون در لوله‌های فاقد ماده ضد انعقاد خون قرار گرفتند و پس از تشکیل لخته، سرم خون با استفاده از سانتریفوژ (به مدت ۱۵ دقیقه و دور ۶۰۰۰ rpm) توسط سمپلر از لخته جدا شده و در میکروتیوپ‌های جداگانه قرار گرفت. نمونه‌های سرم جداسازی شده تا زمان اندازه‌گیری فراسنجه‌های سرمی در فریزر در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. اندازه‌گیری پروتئین تام به روش بایوره (Lowry et al., 1952) و آلومین به روش بروموکروزول گرین (Wotton and Freeman, 1982) با استفاده از کیت‌های آزمایشگاهی شرکت پارس آزمون و دستگاه اسپکتروفتومتر انجام شد. میزان گلبولین از تفاضل میزان آلومین از پروتئین تام به دست آمد. لایزوزیم با روش پورپلیت با استفاده از باکتری میکروکوکوس لیزودیکتیکوس (*Micrococcus lysodeikticus*) اندازه‌گیری شد.

تجزیه و تحلیل آماری: این تحقیق در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد و پس از اطمینان از نرمال بودن داده‌ها با استفاده از One Sample Kolmogorov-Smirnov Test، تجزیه و تحلیل داده‌های

حاصل با استفاده از نرم‌افزار SPSS-17 و آنالیز واریانس یک‌طرفه (One way ANOVA) و مقایسه میانگین با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد بین تیمارهای مختلف صورت گرفت.

### نتایج

**شاخص‌های رشد:** نتایج حاصل از مقایسه شاخص‌های رشد ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان تحت تیمارهای تغذیه شده با سطوح مختلف اسانس‌های آویشن با گروه شاهد در جدول ۲ نشان داده شده است. پارامترهای رشد شامل وزن نهایی، افزایش وزن، درصد افزایش وزن، ضریب تبدیل غذایی و نرخ رشد ویژه تمامی گروه‌های آزمایش پس از پایان ۴۸ روز پرورش فاقد اختلاف معنی‌دار با یکدیگر بودند ( $p > 0.05$ ).

درصد بازماندگی در تمامی گروه‌های آزمایشی ۱۰۰ درصد بود و هیچ‌گونه تلفاتی در گروه‌ها مشاهده نگردید.

جدول ۲- مقایسه میانگین شاخص‌های رشد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) تغذیه شده با جیره حاوی مقادیر مختلف اسانس آویشن پس از ۴۸ روز غذایی.

شاخص	صفر (شاهد)	آویشن (۲۵۰ mg/kg)	آویشن (۵۰۰ mg/kg)	آویشن (۷۵۰ mg/kg)
میانگین وزن ابتدایی (گرم)	۶۹/۳۳±۰/۴	۶۸/۸۷±۰/۳۲	۶۹/۵۲±۰/۵۱	۶۹/۵۵±۰/۵۲
میانگین وزن نهایی (گرم)	۱۵۶/۵۳±۰/۵۳	۱۵۶/۵۵±۱/۱	۱۵۷/۲۸±۰/۶۵	۱۵۶/۸۱±۰/۸۸
افزایش وزن (گرم)	۸۷/۱۵±۰/۵۱	۸۷/۲۲±۰/۷۴	۸۷/۷۶±۰/۲۹	۸۷/۲۵±۰/۴۹
درصد افزایش وزن	۱۲۵/۷±۱/۴۶	۱۲۶/۴۶±۱/۶۴	۱۲۶/۲۲±۰/۶۷	۱۲۵/۷±۰/۱۰۰
ضریب تبدیل غذایی	۱/۰۹±۰/۰۰	۱/۰۸±۰/۰۰	۱/۰۸±۰/۰۱	۱/۰۹±۰/۰۵
نرخ رشد ویژه (درصد/روز)	۱/۶۹±۰/۰۱	۱/۶±۰/۰۲	۱/۷۱±۰/۰۱	۱/۷±۰/۰۰

\*میانگین (± انحراف معیار)

**فراسنجه‌های خونی و سرمی:** نتایج حاصل از بررسی فراسنجه‌های خونی و سرمی ماهیان جوان قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با تیمارهای آزمایشی به ترتیب در جدول‌های ۳ و ۴ آمده است.

تعداد گلبول قرمز، هموگلوبین و درصد هماتوکریت بین تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری نشان نداد ( $p > 0.05$ ). تعداد گلبول سفید بین تیمارها تفاوت معنی‌داری داشت، به طوری که بیشترین میزان آن در تیمار ۵۰۰ میلی‌گرم آویشن مشاهده شد ( $p < 0.05$ ) و سایر تیمارها با هم تفاوت معنی‌داری نشان ندادند.

جدول ۳- بررسی فراسنجه‌های خونی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) تغذیه‌شده با جیره حاوی مقادیر مختلف اسانس آویشن پس از ۴۸ روز غذادهی.

شاخص	صفر (شاهد)	آویشن (۲۵۰ mg/kg)	آویشن (۵۰۰ mg/kg)	آویشن (۷۵۰ mg/kg)
گلبول قرمز × (10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup> )	۱/۰۱±۰/۱۵ <sup>a</sup>	۱/۱۵±۰/۱۰ <sup>a</sup>	۱/۰۰±۰/۱۲ <sup>a</sup>	۰/۹۸±۰/۱۰ <sup>a</sup>
گلبول سفید (10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	۱۳/۲۶±۲/۵۰ <sup>a</sup>	۱۶/۶۰±۴/۵۴ <sup>a</sup>	۲۰/۱۰±۳/۷۵ <sup>b</sup>	۱۶/۱۵±۰/۹۶ <sup>a</sup>
هموگلوبین (g/dl)	۷/۲۳±۰/۴۲ <sup>a</sup>	۷/۸۳±۰/۶۲ <sup>a</sup>	۶/۳۰±۰/۴۲ <sup>a</sup>	۶/۳۲±۰/۵۲ <sup>a</sup>
هماتوکریت (%)	۴۴/۳۳±۰/۵۷ <sup>a</sup>	۴۰/۶۶±۱/۱۵ <sup>a</sup>	۴۳/۳۳±۳/۵۰ <sup>a</sup>	۴۱/۵۰±۰/۵۰ <sup>a</sup>

\*حروف متفاوت در هر ردیف، نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار می‌باشد (p<۰/۰۵).

بر اساس نتایج موجود، میزان کل پروتئین سرم در گروه‌های تیماری تحت اسانس آویشن بیشتر از گروه شاهد بود. در تیمار ۵۰۰ میلی‌گرم آویشن، بیشترین میزان پروتئین کل مشاهده شد، به طوری که دارای اختلاف آماری معنی‌دار با گروه شاهد (p<۰/۰۵) و فاقد اختلاف معنی‌دار با تیمارهای ۲۵۰ و ۷۵۰ میلی‌گرم آویشن بود (p>۰/۰۵)، میزان پروتئین کل تیمارهای ۲۵۰ و ۷۵۰ میلی‌گرم اسانس آویشن با یکدیگر و با گروه‌های شاهد اختلاف معنی‌داری نشان نداد (p>۰/۰۵).

جدول ۴- فراسنجه‌های سرمی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) تغذیه شده با جیره حاوی مقادیر مختلف اسانس آویشن پس از ۴۸ روز غذادهی.

شاخص	صفر (شاهد)	آویشن (۲۵۰ mg/kg)	آویشن (۵۰۰ mg/kg)	آویشن (۷۵۰ mg/kg)
پروتئین کل (g/dl)	۵/۵۰±۰/۳۰ <sup>a</sup>	۵/۵۷±۰/۳۷ <sup>ab</sup>	۶/۲۰±۰/۱۷ <sup>b</sup>	۵/۵۷±۰/۵۱ <sup>ab</sup>
آلبومین (g/dl)	۱/۷۵±۰/۱۷ <sup>a</sup>	۱/۶۴±۰/۱۲ <sup>a</sup>	۱/۸۵±۰/۳۸ <sup>a</sup>	۱/۵۲±۰/۲۷ <sup>a</sup>
گلبولین (g/dl)	۳/۷۵±۰/۴۷ <sup>a</sup>	۳/۹۲±۰/۳۷ <sup>a</sup>	۴/۳۴±۰/۳۷ <sup>a</sup>	۴/۰۷±۰/۳۲ <sup>a</sup>
لایزوزیم (µg/ml)	۱/۱۴±۰/۰۵ <sup>a</sup>	۱/۸۷±۰/۳۱ <sup>b</sup>	۲/۱۳±۰/۲۲ <sup>b</sup>	۲/۷±۰/۲۵ <sup>c</sup>

\*حروف متفاوت در هر ردیف، نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار می‌باشد (P<۰/۰۵).

میزان آلبومین و گلبولین در بین گروه‌های آزمایش تفاوت معنی‌داری نداشت (p>۰/۰۵). میزان لایزوزیم نیز در تیمارهای مختلف اسانس آویشن بیشتر از گروه شاهد به دست آمد و از نظر آماری بین تیمارها اختلاف معنی‌داری مشاهده شد (p<۰/۰۵). بیشترین میزان لایزوزیم به ترتیب در تیمار ۷۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم آویشن مشاهده شد که با گروه شاهد اختلاف معنی‌داری داشتند (p<۰/۰۵). دو تیمار

۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم اسانس آویشن تفاوت معنی‌داری نداشتند ( $p > 0/05$ ) و هر دو گروه، اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد نشان دادند ( $p < 0/05$ ).

### بحث و نتیجه‌گیری

امروزه یکی از رویکردهای جدید در صنعت آبزی‌پروری کاربرد مشتقات فیتوژنی دارویی با طیف وسیعی از خواص ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی می‌باشد که در راستای حفظ سلامتی و ارتقاء عملکرد رشد و ایمنی آبزیان در حال رواج است (Zheng *et al.*, 2009). با توجه به خواص بالقوه برخی گیاهان دارویی، احتمال آنکه بتوان از آنها در صنایع تولیدی همچون آبزی‌پروری بهره‌ای چند منظوره برد وجود دارد، تا حدی که احتمال افزایش کیفیت فیله ماهیان تغذیه شده با جیره‌های غذایی حاوی آنها چندان بعید نمی‌تواند باشد (Alvarez *et al.*, 2012). این تحقیق به منظور بررسی کاربرد جیره‌های غذایی حاوی اسانس گیاه دارویی آویشن بر عملکرد رشد، فراسنجه‌های خونی و سرمی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان صورت گرفت.

اثر اسانس آویشن بر شاخص‌های رشد: در این تحقیق استفاده از اسانس آویشن با سطوح ۲۵۰، ۵۰۰ و ۷۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره غذایی قزل‌آلای رنگین‌کمان تفاوت معنی‌داری در عملکرد رشد این ماهیان نشان نداد ( $p < 0/05$ ).

نتایج این تحقیق با مطالعه دوگنچی و همکاران (Diigenci *et al.*, 2003)، مطابقت دارد به طوری که در مطالعه خود دریافتند که افزودن عصاره‌های گیاهی دارویش (*Viscum album*)، گزنه (*Urtica dioica*) و زنجبیل (*Zingiber officinale*) به جیره‌های غذایی قزل‌آلای رنگین‌کمان اختلاف معنی‌داری در میزان نرخ رشد ویژه ایجاد نکرد ( $p > 0/05$ ). در مطالعه گیانناس و همکاران (Giannenas *et al.*, 2012)، در بررسی اثر جیره‌های غذایی حاوی اسانس مرزنجوش یونانی (*Origanum heracleoticum* L.) روی گربه‌ماهی کانال (*Ictalurus punctatus*) گزارش شد که تیمارهای تحت اسانس ۰/۵ درصد، میزان افزایش وزن بیشتر و ضریب تبدیل غذایی کمتری نسبت به گروه شاهد نشان دادند ( $p < 0/05$ ). در بررسی عالیشاهی و همکاران (Alishahi *et al.*, 2012)، روی اثر لوامیزول، ارگوسان و سه عصاره گیاهی آویشن شیرازی (*Zataria multiflora*)، کندر (*Boswellia thurifera*) و سرخارگل (*Echinacea purpurea*) بر میزان رشد ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)، میزان نرخ رشد ویژه و ضریب تبدیل غذایی فقط در تیمار آزمایشی تحت اسانس آویشن تفاوت معنی‌داری نشان نداد ( $p > 0/05$ ). قاسمی پیربلوطی و همکاران (Ghasemi Pirbaluti *et al.*, 2011)، در بررسی اثر اسانس چند گیاه دارویی شامل آویشن دناپی (*Thymus daenensis*)، پونه کوهی (Hudson) (*Mentha longifolia* L.)، مرزه بختیاری (*Satureja bachtiarica* Bunge)، زرین گیاه (*Dracocephalum multicaule* Benth.) و مرزه خوزستانی

(*Satureja khuzestanica* Jamzad.) بر قزل‌آلای رنگین‌کمان افزایش معنی‌دار ضریب رشد ویژه را در تیمارها نشان دادند ( $p < 0/05$ ). در یک تحقیق صورت گرفته توسط نارگیس و همکاران (2011, *et al.*, Nargis)، افزودن ۲ گیاه *Vitex negundo* و سیر *Allium sativum* در رژیم غذایی ماهیان انگشت‌قد روهو (*Labeo rohita*) سبب افزایش نرخ رشد ویژه در گروه‌های تغذیه‌شده با این عصاره‌های گیاهی در مقایسه با شاهد گردید ( $p < 0/05$ ). (Ahmadifar *et al.*, 2009). روی ترکیب تجاری تیمول و کارواکرول (NEXT Enhance 150) بر کارایی رشد و شاخص‌های خونی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان نشان دادند که این ترکیب به مقدار ۳ گرم در کیلوگرم جیره سبب تغییرات مثبت و معنی‌داری بر شاخص‌های رشد (افزایش وزن، وزن نهایی و ضریب تبدیل غذایی) گردید، تحقیق حاضر با نتایج این محققین مغایرت دارد ( $p < 0/05$ ).

در ارزیابی اثر استفاده از افزودنی‌های غذایی حاوی تیمول و کارواکرول روی عملکرد رشد و فلور باکتریایی روده ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان دریافتند که تغذیه با دو جیره فوق موجب افزایش وزن بیشتر و ضریب تبدیل غذایی پایین‌تر در ماهیان شده و کارایی تغذیه را بهبود می‌بخشد ( $p < 0/05$ ). این اثر به خواص ضد باکتریایی قوی کارواکرول و تیمول در بازدارندگی شدید جمعیت‌های بی‌هوازی فلور زیستی روده ماهی نسبت داده شد (Giannenas *et al.*, 2012). بنابر نتایج مطالعات اخیر شاید بتوان دلیل عدم تأثیر منفی اسانس آویشن در تحقیق حاضر را به ترکیب تیمول و کارواکرول موجود در اسانس مرتبط دانست. مدت زمان آزمایش نیز می‌تواند تأثیر قابل ملاحظه‌ای بر پارامترهای مورد بررسی داشته باشد. همان‌گونه که الی و همکاران (2008, *Aly et al.*) تفاوت قابل ملاحظه‌ای در پارامترهای رشد بچه‌ماهیان تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) تحت تغذیه با سیر (*Allium sativum*) در مدت دو ماه مشاهده نکردند ( $p > 0/05$ )، در صورتی‌که با طولانی کردن دوره آزمایش تا هشت ماه افزایش معنی‌داری در پارامترهای رشد مشاهده نمودند ( $p < 0/05$ ).

پوترا و همکاران (2013, *Putra et al.*) دریافتند که افزودن مقدار ۱ درصد عصاره برگ گیاه کاتوک (*Sauropus androgynous*) به جیره غذایی ماهی گروپر (*Epinephelus coioides*) موجب افزایش وزن و نرخ رشد ویژه و کاهش ضریب تبدیل غذایی می‌شود ( $P < 0/05$ ) و علت این امر را در وجود مواد مغذی و محتوای ویتامینی بالا از قبیل بتاکاروتن، ویتامین C، روغن‌های گیاهی، کربوهیدرات‌ها و مواد معدنی موجود در عصاره دانستند. چو و همکاران (2007, *Cho et al.*)، کاهش وزن، فاکتور وضعیت و نرخ رشد ویژه را در کفشک‌های جوان (*Paralichthys olivaceus*) تغذیه شده با جیره کنترل و جیره آزمایشی شامل برگ خام و برگ خشک چای سبز مشاهده کردند ( $p < 0/05$ )، که علت را در وجود محتوی فیبر بالا در برگ چای دانستند که از جمله ترکیبات نامطلوب برای ماهی کفشک می‌باشد.

اثر اسانس آویشن بر فراسنجه‌های خونی و سرمی: بحث هماتولوژی یا خون‌شناسی نقش مهمی را در آبی‌پروری ایفا می‌کند، به دلیل این‌که سنجش فراسنجه‌های هماتولوژی به‌عنوان یک شاخص سلامت در گونه‌های مختلف شناخته شده است به‌عنوان مثال میزان هماتوکریت به‌عنوان یک شاخص برای سلامت ماهیان شناخته شده است (Rawling *et al.*, 2009; Stopskopf, 1993). در تحقیق حاضر مقایسه تیمار تحت اسانس آویشن با گروه شاهد نشان داد که از نظر میزان فراسنجه‌های خونی چون هماتوکریت، هموگلوبین و تعداد گلبول قرمز اختلاف معنی‌داری بین جیره‌های آزمایش وجود ندارد ( $p > 0.05$ ) و تنها از نظر میزان گلبول سفید در تیمار حاوی ۵۰۰ میلی‌گرم آویشن به‌طور معنی‌داری بیش از سایر تیمارها بود ( $p < 0.05$ ). گلبول‌های سفید نقش مهمی را در ایمنی ذاتی و ایمنی غیر اختصاصی ایفا می‌کنند و تعداد آن‌ها می‌تواند به‌عنوان یک شاخص سلامت در ماهیان مورد استفاده قرار گیرد. افزایش تعداد گلبول‌های سفید بخشی از دفاع ایمنی ماهی است و ایمنی سلولی و همورال تا حدی وابسته به تعداد گلبول سفید خون نیز می‌باشد (Harikrishnan *et al.*, 2010).

بررسی انجام شده روی ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با جیره‌های غذایی حاوی اسانس گیاهان دارویی (شامل آویشن دناهی (*Thymus daenensis*)، پونه کوهی (*Mentha longifolia*)، مرزه بختیاری (*Satureja bachtiarica*)، زرین گیاه (*Dracocephalum multicaule*) و مرزه خوزستانی (*Satureja khuzestanica*) نشان داد که از لحاظ میزان هماتوکریت، غلظت هموگلوبین و تعداد گلبول قرمز به‌جز در تیمار تحت اسانس مرزه خوزستانی در سایر تیمارهای تحت اسانس فاقد اختلاف معنی‌دار ( $p > 0.05$ ) با گروه شاهد بود (Ghasemi Pirbaluti *et al.*, 2011). در مطالعه احمدی‌فر و همکاران (Ahmadifar *et al.*, 2009)، نیز فیل‌ماهیان (*Bluga bluga*) تغذیه‌شده با آکواک ارگوسان، از لحاظ تعداد مونوسیت، درصد هماتوکریت، غلظت هموگلوبین و تعداد گلبول قرمز تفاوت معنی‌داری با گروه شاهد نشان ندادند ( $p > 0.05$ ). در مطالعه اخیر تفاوت معنی‌داری در تعداد گلبول سفید تیمارها و شاهد مشاهده نشد ( $p > 0.05$ ) که تحقیق حاضر با آن مغایرت دارد.

جی و همکاران (Ji *et al.*, 2007)، با مطالعه روی اثر مخلوط چند گیاه دارویی (*Massa medicata*) در ماهی فلاندر ژاپنی (*Paralichthys olivaceus*) مشاهده نمودند که استفاده از این مخلوط اثری مثبت بر میزان هموگلوبین و هماتوکریت دارد. هریکریشن و همکاران (Harikrishnan *et al.*, 2010) افزودن عصاره‌های آبی و اتانولی مخلوط مکمل‌های گیاهی (*Oscimum sanctum* *Azadirachta indica*) و *Curcuma longa* به خوراک ماهی طلایی (*Carassius auratus*) را موجب تغییر تعداد گلبول سفید خون دانسته‌اند. در پژوهش عالیشاهی و همکاران (Alishahi *et al.*, 2011)، تجویز خوراکی عصاره خار مریم (*Silybum marianum*) در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) سبب افزایش تعداد گلبول

سفید و درصد هماتوکریت شد ( $p < 0/05$ )، در صورتی که در سایر فاکتورها از قبیل هموگلوبین، هماتوکریت و تعداد گلبول قرمز با وجود تفاوت ظاهری نسبتاً زیاد، تفاوت معنی‌دار با گروه شاهد مشاهده نشد ( $p > 0/05$ ). وجود ترکیبات فنلی در این گیاه موجب افزایش تعداد گلبول سفید نسبت به گروه شاهد و در نتیجه بهبود ایمنی غیراختصاصی ماهی گردیده است. پراسد و پریانکا (Prasad and Priyanka, 1996) نیز در سال ۲۰۱۱ دریافتند که گربه‌ماهی (*Pangasianodon hypophthalmus*) تحت تغذیه با عصاره میوه *Garcinia gummi-gutta* افزایش تعداد گلبول قرمز، سفید و درصد هماتوکریت را نشان داده است، علت افزایش گلبول قرمز در این پژوهش را به وجود آهن در این عصاره نسبت داده‌اند. با توجه به افزایش تعداد گلبول سفید در پژوهش حاضر می‌توان گفت که اسانس آویشن موجب افزایش پاسخ ایمنی غیراختصاصی در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌گردد که ممکن است به علت وجود ترکیبات تیمول و کارواکرول که شاخص ترکیبات مؤثره در این گیاه است، باشد.

افزایش سطح پروتئین‌های سرم خون، آلبومین، گلبولین و آنزیم لایزوزیم سرمی به‌عنوان یک عامل افزایش‌دهنده ایمنی در ماهیان شناخته شده است (Wiegertjesz et al., 1996). نتایج حاصل از اندازه‌گیری پروتئین‌های سرم خون ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان پس از ۴۸ روز تغذیه با جیره‌های غذایی حاوی اسانس آویشن در مطالعه حاضر نشان داد که به‌کارگیری این اسانس‌ها سهم بسزایی در افزایش پروتئین‌های سرم خون (پروتئین کل و لایزوزیم) داشته است ( $p < 0/05$ ). مقایسه میزان آلبومین تیمارهای تحت اسانس با گروه شاهد اختلاف معنی‌داری را نشان نداد ( $p > 0/05$ ). افزودن اسانس آویشن به میزان ۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره غذایی قزل‌آلای رنگین‌کمان میزان پروتئین کل را نسبت به گروه شاهد به طور معنی‌داری افزایش داد ( $p < 0/05$ ). میزان لایزوزیم در تمامی گروه‌های تیماری تحت اسانس نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌داری نشان داد ( $p < 0/05$ ). دوگنچی و همکاران (Dügenci et al., 2003)، در بررسی اثر جیره‌های غذایی حاوی عصاره‌های گیاهان دارویی دارواش (*Viscum album*)، گزنه (*Urtica dioica*) و زنجبیل (*Zingiber officinale*) بر ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان دریافتند که این جیره‌ها سبب افزایش سطح پروتئین کل، افزایش فاگوسیتوز در گلبول‌های سفید نسبت به گروه شاهد گردید و بیشترین سطح پروتئین پلاسما در گروه تحت تیمار عصاره زنجبیل به‌دست آمد.

گوانجوگ و همکاران (Wu et al., 2007) در بررسی خود گزارش نمودند که عصاره ترکیبی چند گیاه دارویی سنتی چینی (*Flavescent sophora*, *Portulaca oleracea*, *Astragalus membranaceus*، *Andrographis paniculata* و غیره)، فعالیت فاگوسیتوز ماکروفاژها، محتوای پروتئین پلاسمای خون، گلبولین و لایزوزیم سرم ماهی کپور معمولی را افزایش داد ( $p < 0/05$ )، در بررسی دیگری توسط سلطانی و همکاران (Soltani et al., 2010) روی ماهی کپور معمولی، تغذیه با عصاره گیاهی آویشن شیرازی

*Zataria multiflora*) تفاوت معنی‌داری در میزان پروتئین کل، آلبومین و گلبولین نسبت به گروه شاهد مشاهده نشد ( $p > 0/05$ ).

اسدی و همکاران (Asadi *et al.*, 2012) نیز دریافتند که عصاره گیاه شاهی آبی (*Nasturtium nasturtium*) موجب افزایش پروتئین تام و گلبولین سرم خون در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌شود، اما تغییر معنی‌داری در میزان آلبومین ایجاد نمی‌کند ( $p > 0/05$ ).

رابطه مستقیمی بین میزان سنتز پروتئین در بافت کبد و پروتئین پلاسما وجود دارد. در واقع میزان پروتئین پلاسما می‌تواند با افزایش سنتز پروتئین در بافت کبد در ماهی‌هایی که تحت تیمار اسانس گیاهی قرار گرفتند، افزایش یابد (Banaee *et al.*, 2008). پروتئین تام شامل آلبومین و گلبولین است. بعضی از گلبولین‌ها در کبد تولید می‌شوند، در حالی که سایر آن‌ها توسط سیستم ایمنی تولید می‌شوند (Sandnes *et al.*, 1988). در واقع افزایش در پروتئین تام، آلبومین و گلبولین پلاسما می‌تواند مربوط به پاسخ ایمنی ذاتی بالاتر نیز باشد (Wiegertjes *et al.*, 1996). پژوهش شریف روحانی و همکاران (Sharif Ruhani *et al.*, 2013) بیان می‌کنند که اسانس گیاه *Zataria multiflora* تغییری در میزان آلبومین سرم خون تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) ایجاد نکرد، اما موجب ایجاد تغییر معنی‌دار در میزان پروتئین تام شد، به طوری که بیشترین میزان پروتئین تام در سطح ۱۵ گرم اسانس در کیلوگرم جیره مشاهده شد. در مجموع نتایج نشان داد که افزودن سطوح مختلف اسانس آویشن تغییر معنی‌داری بر پارامترهای رشد از قبیل نرخ رشد ویژه، افزایش وزن، ضریب تبدیل غذایی و بقاء نداشته است. تنها تفاوت معنی‌دار ایجاد شده، اثر مثبت آن بر گلبول سفید و فراسنجه‌های سرمی شامل پروتئین تام و لیزوزیم بود که بهترین سطح، ۵۰۰ میلی‌گرم اسانس بر کیلوگرم جیره بود، بنابراین استفاده از این اسانس در جیره، شاید بتواند با افزایش ایمنی سلولی و هم‌وزن در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، سبب مقاومت بالاتر ماهی در مقابله با عوامل بیماری‌زای احتمالی گردد. البته این امر نیازمند تحقیقات بیشتری جهت بررسی اثر اسانس آویشن بر سایر فاکتورهای ایمنی از قبیل کمپلمان‌ها و مواجهه با عوامل بیماری‌زا می‌باشد.

## منابع

- Ahmadifar E., Jalali M.A., Sudagar M., Azari Takami Gh., Mohammadi Zaraj Abad A. 2009. Effects of AquaVac Ergosan on growth performance, survival and haematological factors in beluga (*Huso huso*) juvenile. Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources, 16(1a): 72-80. (In Persian).
- Alishahi M., Soltani M., Mesbah M., Esmaeili Rad A. 2011. Effects of dietary *Silybum marianum* extract on immune parameters of the common carp (*Cyprinus carpio*). Journal of Veterinary Research, 3: 255-263. (In Persian).

- Alishahi M., Soltani M., Mesbah M., Zargar A. 2012. Immunostimulatory and growth stimulation effects of Ergosan, Levamisole and herbal extracts in *Cyprinus carpio*. Journal of Veterinary Research, 67: 135-142. (In Persian).
- Alvarez A., Garcia Garcia B., Jordan M.J., Martinez-Conesa C., Hernandez M.D. 2012. The effect of diets supplemented with thyme essential oils and rosemary extract on the deterioration of farmed gilthead seabream (*Sparus aurata*) during storage on ice. Food Chemistry, 132: 1395-1405.
- Aly S.M., Atti N.M.A., Mohamed M.F. 2008. Effect of garlic on the survival, growth resistance and quality of *Oreochromis niloticus*. Proceeding of 8<sup>th</sup> International Symposium on Tilapia in Aquaculture, Egypt. pp: 277-296.
- AOAC. 1997. Official Methods of Analysis, 16th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington. 771P.
- Asadi M.S., Mirvaghefi A.R., Nematollahi M.A., Banaee M., Ahmadi K. 2012. Effects of Watercress (*Nasturtium nasturtium*) extract on selected immunological parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Open Veterinary Journal, 2: 32-39.
- Aussalah M., Caillet S., Saucier L., Lacorix M. 2007. Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of pathogenic bacteria: E-coli, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. Food Control, 18: 414-420.
- Banaee M., Mirvaghefi A.R., Rafei G.R., Mojazi Amiri B.M. 2008. Effect of sub-lethal diazinon concentrations on blood plasma biochemistry. International Journal of Environmental Research, 2(2): 189-198.
- Burt S. 2004. Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods-a review. International Journal of Food Microbiology, 94: 223-253.
- Cho S.H., Lee S.M., Park B.H., Ji S.C., Lee J., Bae J. Oh S.Y. 2007. Effect of dietary inclusion of various sources of green tea on growth, body composition and blood chemistry of the juvenile olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). Fish Physiology and Biochemistry, 33: 49-57.
- Citarasu T., Sivaram V., Immanuel G., Rout N., Murugan V. 2006. Influence of selected Indian immunostimulant 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, 21: 372-384.
- Dekamin M., Veisi H., Safari E., Liaghati H., Khoshbakht K., Dekamin M.G. 2015. Life cycle assessment for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) production systems: a case study for Iran. Journal of Cleaner Production, 91: 43-55.
- Dorman H.J., Deans S.G. 2000. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. Applied Microbiology, 88: 308-316.

- Drobkin D.R. 1945. Crystallographic and optical properties of human hemoglobin: proposal for standardization of hemoglobin. *American Journal of Medical Science*, 209: 268-270.
- Düğenci S.K., Arda N., Candan, A. 2003. Some medicinal plants as immunostimulant for fish. *Journal of Ethnopharmacology*, 88(1): 99-106.
- Economou K.D., Oreopoulou V., Thomopoulos C.D. 1991. Antioxidant activity of some plant extracts of the family Labiatae. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 68: 109-113.
- Ghasemi Pirbaluti A., Pirali A., Pishkar Gh.R., Jalali S.M.A., Raesi M., Jafarian Dehkordi M., 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*, 2: 149-155. (In Persian).
- Giannenas I., Triantafillou E., Stavrakakis S., Margaroni M., Mavridis S., Steiner T., Karagouni E. 2012. Assessment of dietary supplementation with carvacrol or thymol .containing feed additives on performance, intestinal microbiota and antioxidant status of .rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 350: 26-32.
- Harikrishnan R., Balasundaram C., Heo M.S. 2010. Herbal supplementation diets on hematology and innate immunity in goldfish against *Aeromonas hydrophila*. *Fish and Shellfish Immunology*, 28: 354-361.
- Hoston A.H. 1990. Blood and Circulation. In: Shreck, C.B., Moyle, P.B. (Eds.). *Methods for fish biology*. American Fisheries Society, Bethesda, MD, pp: 273-335.
- Ji S.C., Jeong C.S., Im G.S., Lee S.W., Yoo J.H., Takii K. 2007. Dietary medicinal herbs improve growth performance, fatty acid utilization, and stress recovery of Japanese flounder. *Fisheries Science*, 73: 70-76.
- Kalbasi M.R. Abdollahzadeh E., Salari-Joo H. 2013. A review on aquaculture development in Iran. *Ecopersia*, 1(2): 159-178.
- Lopez P., Sanchez C., Batlle R., Nerin C. 2007. Vapor-Phase Activities of Cinnamon, Thyme, and Oregano Essential Oils and Key Constituents against food borne .Microorganisms. *Food Chemistry*, 55(11): 4348-56.
- Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. 1952. Protein measurement with folin phenol reagent. *Biological Chemistry*, 2: 193-256.
- Mejlhom O., Dalgaard P. 2002. Antimicrobial effect of essential oils on the seafood. spoilage micro-organism *Photobacterium phosphoreum* in liquid media and fish .products. *Applied Microbiology*, 16: 337-342.
- Mahdavi S., Yeganeh S., Firouzbakhsh F., Janikhalili Kh. 2014. Effects of supplementary fennel (*Foeniculum vulgare*) essential oil of diet on growth, survival, body composition and hematological parameters of *Rutilus frisii* kutum fry. *Fisheries Science and Technology*, 3(3): 79-90. (In Persian).

- Mozaffarian V.A. 1998. Dictionary of Iranian Plants Names. Farhange Tehran. 381P. (In Persian).
- Nafisi Bahabadi M. 2007. Rainbow trout Breeding. University of Hormozgan. 288P. (In Persian).
- Nargis A., Khatun M., Talukder D. 2011. Use of medicinal plants in the remedy of fish diseases. Bangladesh Research Publication Journal, 5: 192-195.
- Nedyalka V., Yanishlieva N.V., Marinova E.M., Gordon M.H., Raneva V.G. 1999. Antioxidant activity and mechanism of action of thymol and carvacrol in two lipid systems. Food Chemistry, 64: 59-66.
- Ortiz J., Larrain A., Vivanco J.P., Aubourg S.P. 2009. Rancidity development during the frozen storage of farmed Coho salmon (*Onchorhynchus kisutch*): Effect of antioxidant composition supplied in the diet. Food Chemistry, 115: 143-148.
- Prasad G., Priyanka G.L. 2011. Effect of fruit rind extract of *garcinia gummi-gutta* on haematology and plasma biochemistry of catfish (*pangasianodon hypophthalmus*). Asian Journal of Biochemistry, 6(3): 240-251.
- Putra A.A.S., Santoso U., Lee M-C., Nan F.H. 2013. Effects of dietary Katuk leaf extract on growth performance, feeding behavior and water quality of Grouper *Epinephelus coioides*. Aceh International Journal of Science and Technology, 2(1): 17-25.
- Rawling M., Merrifield D.L., Davies S.J. 2009. Preliminary assessment of dietary supplementation of Sangrovit on red tilapia (*Oreochromis niloticus*) growth performance and health. Aquaculture, 294: 118-122.
- Sandnes K., Lie O., Waagbo R. 1988. Normal ranges of some blood chemistry parameters in adult farmed Atlantic salmon, *Salmo salar*. Journal of Fish Biology, 32: 129-136.
- Sharif Rohani M., Masoumzadeh M., Haghghi M., Jalilpoor J., Pourdehghani M., Shenavar Masouleh A., Alizadeh M., Bazari Moghaddam S. 2013. Effects of oral administration of *Zataria multiflora* essential oil on some blood and serum parameters in *Acipenser persicus*. Iranian Journal of Fisheries Science, 12(4): 908-915.
- Sivaram V., Babu M.M., Immanuel G., Murugadass S., Citarasu T., Marian M.P. 2004. Growth and immune response of juvenile greasy groupers (*Epinephelus tauvina*) fed with herbal antibacterial active principle supplemented diets against *Vibrio harveyi* infections. Aquaculture, 237: 9-20.
- Soltani M., Sheikhzadeh N., Ebrahimzadeh-Mousavi H.A., Zargar A. 2010. Effects of *Zataria multiflora* essential oil on innate immune responses of Common carp (*Cyprinus carpio*). Journal of Fisheries and Aquatic Science, 5(3): 191-199.
- Steinar D., Senoo H., Wake K., Kari H., Blomhoff R. 2003. Several culinary and medicinal herbs are important sources of dietary antioxidants. Nutrition, 133: 1286-90.

- Stopskopf M. 1993. Clinical Pathology. In: Stopskopf, M., Saunders, W.B. (Eds.). Fish medicine. Company Philadelphia. USA, pp: 113-131.
- Varel V.H. 2002. Livestock manure odor abatement with plant-derived oils and .nitrogen conservation with urease inhibitors: A review. *Animal Science*, 80(2): 1-7.
- Wiegertjes G.F., Stet R.J., Parmentier H.K., Van Muiswinkel W.B. 1996. Immunogenetics of disease resistance in fish; a comparable approach, *Development and Comparative Immunology*, 20: 365-381.
- Wotton I.D., Freeman H. 1982. *Microanalysis in medical biochemistry*. Churchill, .Newyork, USA. 254P.
- Wu G., Yuan C., Shen M., Tang J., Gong Y., Li D., Sun F., Huang C., Han X. 2007. Immunological and biochemical parameters in carp (*Cyprinus carpio*) Qompsell feed ingredients for long term administration. *Aquaculture Research*, 38: 246–255.
- Zheng Z.L., Tan J.Y.W., Liu H.Y., Zhou X.H., Xiang X., Wang K.Y. 2009. Evaluation of oregano essential oil (*Origanum heracleoticum* L.) on growth, antioxidant effect and resistance against *Aeromonas hydrophila* in channel catfish (*Ictalurus punctuatus*). *Aquaculture*, 229: 214–218.

