اثر محرک ایمنی گیاهی (گروفیت) بر برخی شاخص‌های رشد، بقا و ایمنی غیراختصاصی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

امین اسدی امیرآبادی*، علی طاهری میرقائد، مهدی سلطانی، اشکان زرگر

گروه بهداشت آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران

*نویسنده مسئول aminasadi@alumni.ut.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۳/۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۹/۲۷

چکیده

بهبود کارایی سیستم ایمنی ماهی یکی از روش‌های مهم پیشگیری و تحریک رشد می‌باشد. در بین محرک‌های ایمنی، انواع طبیعی به‌ویژه محرک‌های گیاهی، به علت آسیب کمتر به ماهی و محیط زیست اخیراً بیشتر مورد توجه قرار گرفته‌اند. در این مطالعه اثرات تحریک رشد و ایمنی گروفیت، به عنوان محرک ایمنی گیاهی در ماهی قزل‌آلای‌رنگین‌کمان با میانگین وزن ۳/۳۶±۱۵/۷۹گرم به مدت ۶۰ روز مورد بررسی قرار گرفت. پس از ۲ هفته سازگاری مقادیر ۰/۵، ۱ و ۱/۵ گرم به ازای کیلوگرم غذا پودر گروفیت به غذای ماهیان افزوده و به عنوان شاهد از جیره غذایی فاقد گروفیت استفاده گردید. بیومتری هر ۱۰ روز یک‌بار و تلفات به صورت روزانه ثبت و شاخص‌های رشد و بقاء بین گروه‌های مختلف مقایسه شد. به‌منظور اندازه‌گیری میزان لایزوزیم، بافت‌های کبد، طحال و کلیه ماهی‌ها جدا گردید و پس از هموژن کردن و با استفاده از روش کدورت سنجی، میزان لایزوزیم تعیین شد. نتایج نشان داد افزودن گروفیت به جیره غذایی در هیچ‌کدام از شاخص‌های رشد تغییر معنی‌داری ایجاد نکرد ($P>0/05$). در تمامی گروه‌هایی که به همراه غذا گروفیت را دریافت نموده بودند میزان لایزوزیم در بافت‌های مختلف در سطح بالاتری نسبت به گروه کنترل قرار داشت اما این اختلاف تنها در میزان لایزوزیم موجود در بافت کلیه تیمارهای سه و چهار نسبت به گروه کنترل و تیمار دو دارای تفاوت معنی‌داری بود($P<0/05$). بر اساس نتایج، امکان افزودن گروفیت به‌عنوان یک محرک ایمنی به جیره غذایی قزل‌آلای رنگین کمان وجود دارد.

واژگان کلیدی: سیستم ایمنی، محرک ایمنی گیاهی، گروفیت، قزل‌آلای رنگین کمان.

مقدمه

اخیراً استفاده از محرک‌های ایمنی در ماهی‌های پرورشی جهت افزایش فعالیت مکانیسم‌های دفاع غیراختصاصی و ایجاد مقاومت در برابر بیماری‌ها رایج شده است. این مواد به عنوان جایگزین مناسب برای آنتی‌بیوتیک‌ها معرفی شده‌اند (Sakai, 1999). با توجه به تکامل بیشتر ایمنی غیراختصاصی نسبت به ایمنی اختصاصی در ماهی و اهمیت ویژه محرک‌های ایمنی در تحریک ایمنی غیراختصاصی، کاربرد محرک‌های ایمنی در آبزیان نسبت به حیوانات خون‌گرم از اهمیت بیشتری برخوردار است (Zapata, 2006). محرک‌های ایمنی علاوه بر افزایش مقاومت در برابر بیماری‌ها، از طریق مختلف سبب تحریک رشد نیز می‌شوند و از آن‌جا که افزایش رشد از مهمترین اهداف در آبزی‌پروری است، گرایش به استفاده از محرک‌های ایمنی و رشد روند رو به رشدی داشته است (Sakai, 1999). در ماهی، لایزوزیم به عنوان یک آنزیم با ویژگی‌های آنتی-بیوتیکی است و فعالیت بیشتری نسبت به پستانداران دارد و در اکثر موارد به‌عنوان شاخص عملکرد ایمنی غیراختصاصی استفاده می‌شود (Shailesh, 2008 Sahoo and) در ماهیان لایزوزیم اغلب در بافت‌های غنی از لکوسیت‌ها مانند قسمت قدامی کلیه و بافت-های پوست، آبشش و دستگاه گوارش یافت می‌شود، توسط نوتروفیل‌ها و مونوسیت‌ها و به میزان کمتری توسط ماکروفاژها تولید می‌شود (سلطانی، ۱۳۸۷). عوامل متعددی بر میزان و نیز قدرت ضد باکتریایی لایزوزیم تأثیر می‌گذارد، از جمله رسیدگی جنسی، فصل، سن، دمای محیط و همچنین مصرف مواد محرک (Soltani and Pourgholam, 2007). با توجه به مزیت‌ها و تأثیر مثبت محرک‌های ایمنی

گیاهی بر ارتقاء شاخص‌های رشد و ایمنی، به‌خصوص ایمنی غیراختصاصی ماهی و اهمیت ماهی قزل‌آلای-رنگین‌کمان در آبزی‌پروری ایران، دراین پژوهش اثر محرک ایمنی گیاهی گروفیت که مخلوطی ازآویشن باغی (*Thymus vulgaris*)، پونه کوهی (*Origanum vulgare*)، عصاره پودر مرکبات، دارچین (*Cinnamomum verum*)، رزماری (*Rosmarinus officinalis*)، مرزنجوش (*Origanum majorana*)، مریم گلی (*Salvia officinalis*) و کاسنی (*Cichorium intybus*) به نسبت مساوی است بر فاکتورهای رشد، بقا و ایمنی غیراختصاصی ماهی قزل‌آلای‌رنگین‌کمان با اندازه‌گیری میزان لایزوزیم مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

تیمار بندی ماهی‌ها: این تحقیق در یکی از مزارع پرورش ماهی استان چهارمحال و بختیاری واقع در شهرستان کوهرنگ بخش صمصامی انجام شد. برای نگهداری ماهی ها از تراف‌های آلومینیومی نگهداری بچه ماهیان استفاده گردید. این تراف‌ها با آب و مواد شوینده و سپس با نمک طعام و کلرامین ضدعفونی گردیدند. ۲۴ ساعت قبل از ورود ماهی‌ها این مخازن آبگیری شدند و میزان دبی هر تراف نیم لیتر در ثانیه اندازه‌گیری شد. آزمایش در قالب یک طرح تصادفی با ۴ تیمار و ۳ تکرار و در هر تکرار تعداد ۱۴۰ قطعه بچه ماهی با میانگین وزن ۳/۳۶±۱۵/۷۹ به مدت ۶۰ روز انجام گرفت. بچه ماهیان همگی از این مزرعه تهیه شدند و به‌منظور سازگاری با شرایط پرورشی به مدت ۲ هفته با جیره پایه که غذای FFT1 شرکت فرادانه بود مورد تغذیه قرار گرفتند. پس از سازگاری ماهی‌ها با شرایط پرورشی جدید به‌وسیله ترازوی دیجیتال با دقت ۵ گرم توزین و به مخازن نگهداری منتقل گردیدند به گونه‌ای که اختلاف معنی‌داری بین وزن ماهی‌ها در مخازن وجود نداشت. پودر گیاهی با مقدار کمی ژلاتین (با غلظت ۳۰ گرم بر لیتر) مخلوط و در هر وعده به غذای ماهی اضافه گردید. میزان غذا دهی ۲ درصد زی‌توده و در دو نوبت صبح و عصر، به مدت ۶۰ روز و میزان استفاده از گروفیت برای هر تیمار به ترتیب ۰/۵، ۱ و ۱/۵ گرم به ازای هر کیلوگرم غذای ماهی بود. فاکتورهای کیفی آب مورد استفاده در تحقیق نیز به قرار زیر بود:

دما: ۰/۸۱ ± ۱۷/۰۲ درجه سانتی‌گراد

اکسیژن محلول: ۸/۲ – ۷/۱ میلی‌گرم بر لیتر

pH: ۷/۳۹ ± ۰/۲۱

شاخص‌های رشد و بقا: بیومتری در فواصل ده روزه انجام گرفت و شاخص‌های رشد شامل درصد افزایش وزن (رشد نسبی)، شاخص رشد ویژه، و ضریب تبدیل غذایی اندازه‌گیری و بین گروه‌های مختلف مقایسه شد. برای تعیین میزان بقا، تلفات به صورت روزانه ثبت و در پایان دوره نسبت تلفات در کل دوره بین گروه‌های مختلف مقایسه گردید. برای محاسبه شاخص‌های رشد و درصد بقاء از فرمول های زیر استفاده گردید:

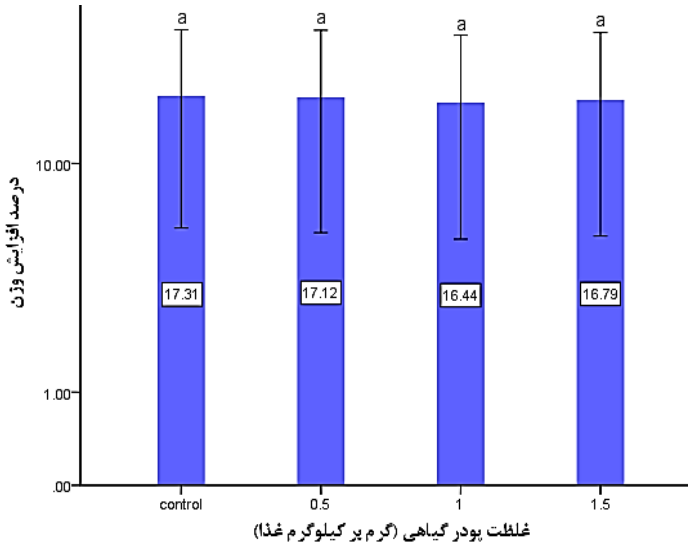
$$\text{درصد افزایش وزن} = \frac{\text{وزن اولیه} - \text{وزن نهایی}}{\text{وزن اولیه}} \times ۱۰۰$$

$$\text{نرخ رشد ویژه} = \frac{\text{لگاریتم وزن اولیه} - \text{لگاریتم وزن نهایی}}{\text{تعداد روزهای غذا دهی}} \times ۱۰۰$$

$$\text{ضریب تبدیل غذایی} = \frac{\text{غذای مصرفی}}{\text{وزن نهایی بدن} - \text{وزن اولیه بدن}} \times ۱۰۰$$

$$\text{درصدبقاء} = \frac{\text{تعداد ماهی های موجود در پایان آزمایش}}{\text{تعداد ماهی ها در شروع آزمایش}} \times ۱۰۰$$

سنجش میزان لایزوزیم: به‌منظور اندازه‌گیری میزان لایزوزیم، در پایان دوره تعداد ۱۰ ماهی از هر تیمار انتخاب و پس از بی‌هوشی با پودر گل میخک (۵ گرم در ۱۰ لیتر آب) برای نمونه‌گیری آماده شدند. بافت-های کبد، طحال و کلیه ماهی‌ها جداسازی شد و برای آزمایشات بعدی به دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران منتقل گردید. برای اندازه‌گیری میزان لایزوزیم، ۱ گرم از هر یک از بافت‌های فوق از هر تیمار جمع‌آوری و به نسبت ۱ به ۲ (وزن/حجم) با بافر سدیم فسفات استریل، و به‌وسیله دستگاه هموژنایزر دستی هموژن



شکل ۱- مقایسه درصد افزایش وزن در طول دوره در تیمارهای مختلف (Mean±SD). حروف همنام روی میله انحراف معیار نشان دهنده عدم تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ بین میانگین‌ها است.

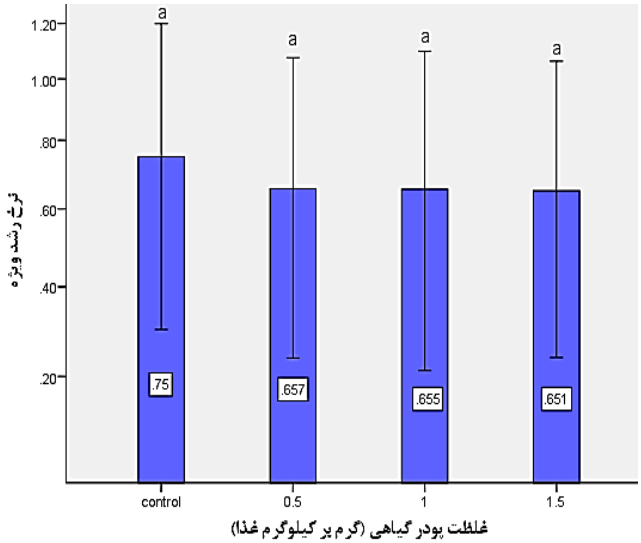
گردید. نمونه‌های بافتی به مدت۳۰ دقیقه در سانتریفیوژ ۷۰۰۰ گرم قرار گرفتند. سپس برای سنجش لایزوزیم مایع رویی هر نمونه جدا گردید. سطح لایزوزیم مایع جدا شده با استفاده از روش کدورت سنجی و به روش توصیه شده توسط الیس (Ellis) (۱۹۹۰) با اندکی تغییر تعیین شد. برای انجام هر تست ۱۷۵ میکرولیتر از محلول باکتری میکروکوکوس لیسودیکتیکوس (۳۷۵/ میلی‌گرم در میلی لیتر بافر فسفات سدیم ۰/۰۵ مولار، پی‌اچ: ۶/۲ با ۲۵ میکرولیتر از هر نمونه مخلوط شد و سپس کاهش کدورت آن پس از ۱۵و۱۸۰ ثانیه توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۶۷۰ نانومتر خوانده شد. بافر فسفات سدیم به عنوان بلانک و مقادیر مشخص از لایزوزیم سفیده تخم مرغ (سیگما) به عنوان استاندارد در نظر گرفته شدند. فعالیت لایزوزیم بر اساس کاهش جذب نوری اندازه‌گیری شد.کلیه داده‌ها پس از جمع آوری در نرم افزار ثبت و کنترل همگنی آن‌ها توسط آزمون شاپیرو-ویلک، انجام شد. از آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد به ترتیب جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها و بررسی اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های مورد بررسی استفاده گردید. پردازش‌های آماری در نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۱۹ انجام شد.

نتایج

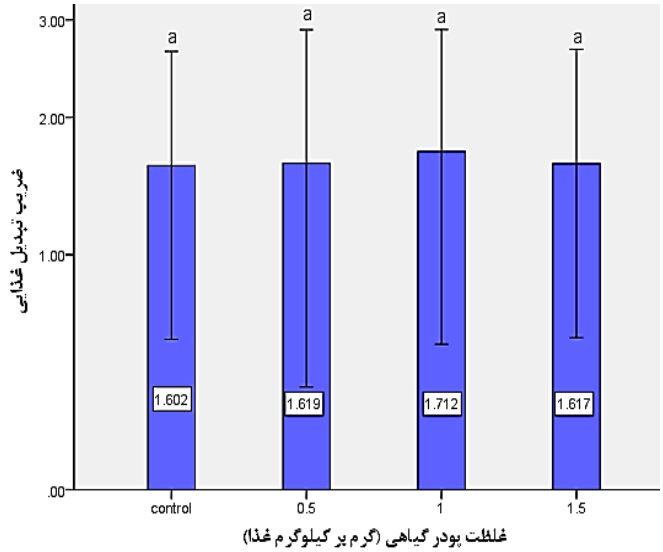
نتایج تحقیق در شکل‌های ۱ تا ۴ و جدول ۱ ارایه شده است. نتایج نشان داد افزودن گروفیت به جیره غذایی در هیچ‌کدام از شاخص‌های رشد تغییر معنی‌داری ایجاد نکرد ($P>0/05$). در تمامی گروه‌هایی که به همراه غذا گروفیت را دریافت نموده بودند میزان لیزوزیم در بافت های مختلف در سطح بالاتری نسبت به گروه کنترل قرار داشت اما این اختلاف تنها در لایزوزیم موجود در بافت کلیه تیمارهای سه و چهار نسبت به گروه کنترل و تیمار ۲ دارای تفاوت معنی داری بود ($P<0/05$).

بحث

طبق نظر Lee و Gao (۲۰۱۲)، نقش اولیه گیاهان در تغذیه به عنوان مواد معطر و طعم دهنده است که بر الگوهای تغذیه مانند ترشح مایعات گوارشی و کل غذای دریافتی تأثیر می‌گذارد. تحریک ترشحات گوارشی از جملع ترشح بزاق، آنزیم‌های گوارشی، صفرا و مخاط به عنوان یک کاربرد مهم فیتوبیوتیک‌ها در نظر گرفته می-شود. از سوی دیگر، خواص بویایی اجزای غذایی به عنوان بهبود دهنده‌های تغذیه ماهی سبب تغذیه بیشتر ماهی و به دنبال آن رشد بیشتر می‌گردد (Adams,



شکل ۲- مقایسه نرخ رشد ویژه در طول دوره در تیمارهای مختلف (Mean±SD). حروف همنام روی میله انحراف معیار نشان دهنده عدم تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ بین میانگین‌ها است.



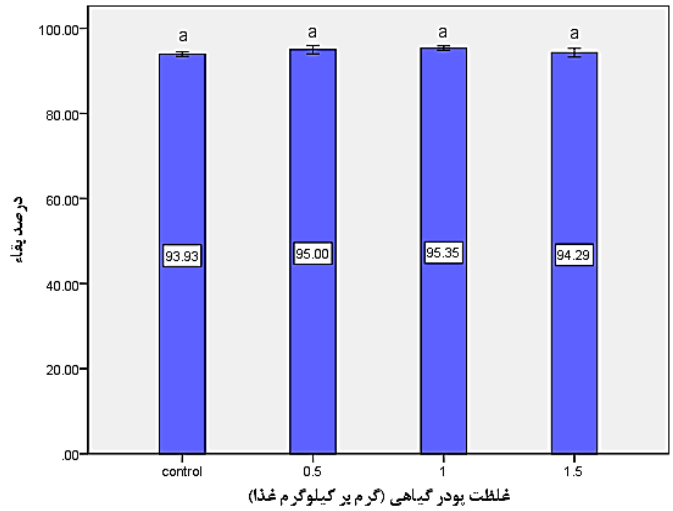
شکل ۳- مقایسه ضریب تبدیل غذایی در طول دوره در تیمارهای مختلف (Mean±SD). حروف همنام روی میله انحراف معیار نشان دهنده عدم تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ بین میانگین‌ها است.

2005). در مقایسه نتایج تحقیق حاضر با سایر مطالعات، Ndong و Fall (۲۰۱۱)، بیان نمودند مقادیر مختلف سیر در جیره غذایی تأثیری بر افزایش رشد بچه ماهیان هیبرید تیلاپیا ندارد و حتی در سطح ۰/۵ گرم در کیلوگرم غذا باعث کاهش ۲۰ درصدی رشد بعد از گذشت ۲ تا ۴ هفته می شود .

Asadi و همکاران (۲۰۱۰)، اثر گیاه آب‌تره را روی فاکتورهای رشد در ماهی قزل‌آلای‌رنگین‌کمان مورد بررسی قرار دادند. در نتایجی مشابه با این مطالعه عدم وجود اختلاف معنی‌دار در شاخص‌های رشد را بین تیمارهای مختلف مشاهده کردند. Jayaprakas و Euphrasia (۲۰۰۷) با بررسی تأثیر سیر بر بقاء، رشد، مقاومت و کیفیت ماهی تیلاپیای‌نیل دریافتند که اضافه کردن سیر به مدت دو ماه به غذا موجب افزایش قابل توجهی در وزن ماهیان تیمارهای آزمایشی در زمان تغذیه نمی‌شود ولی با ادامه نگهداری آن‌ها طی یک

جدول ۱- مقایسه میزان لایزوزیم بافت های مختلف (حروف غیر همنام نشان دهنده تفاوت معنیدار در سطح ۰/۰۵ است).

تیمار	غلظت مخلوط گیاهی (گرم بر کیلوگرم غذا)	میانگین لیزوزیم کبد (µg/ml) Mean±SD	میانگین لیزوزیم طحال (µg/ml) Mean±SD	میانگین لیزوزیم کلیه (µg/ml) Mean±SD
۱	کنترل	۱۸/۱±۸۴/۲۶[a]	۱۲۶/۱±۴۶/ ۲۲[a]	۱۶۱/۲±۳۶/۰۹[a]
۲	۰/۵	۱۹/۲±۵۶/۵۶[a]	۱۲۶/۰±۹۶/۹۷[a]	۱۶۴/۱±۶۵/۱۶[a]
۳	۱	۲۴/۳±۱۷/ ۴۹[a]	±۵۷/۱۲۷ ۵ /۸۶[a]	۱۷۶/۰±۱۷/۷[b]
۴	۱/۵	۲۳/۱±۸۴/ ۶۳[a]	۱۲۸/۴±۱۴/ ۷۰[a]	۱۷۵/۰±۵۱/۷[b]



شکل ۴- مقایسه درصد افزایش بقاء در طول دوره در تیمارهای مختلف (Mean±SD). حروف همنام روی میله انحراف معیار نشان دهنده عدم تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ بین میانگین‌ها است.

دوره به مدت ۸ ماه، افزایش وزن خوبی به‌دست می‌آید. Seung-cheol و همکاران (۲۰۰۷) اثر ترکیب پودر چند گیاه دارویی در جیره غذایی ماهی فلاندر ژاپنی و تأثیر آن بر رشد این ماهی را بررسی نمودند. در پایان ماهیانی که با جیره حاوی ۰/۳، ۰/۵ و ۱ گرم در گرم جیره تغذیه شده بودند افزایش وزن بیشتری را نسبت به تیمار شاهد و تیماری که با جیره حاوی ۰/۱ گرم پودر گیاهی در ۱۰۰ گرم جیره تغذیه شده بود نشان دادند. گزارشاتی از بهبود فاکتورهای رشد به دنبال تجویز محرک های گیاهی در ماهی قزل‌آلای‌رنگین-کمان (بهلولی‌اسکویی و همکاران، ۲۰۱۱؛ فرهی و همکاران، ۲۰۱۰). وجود دارد. اثرات تقویتی گیاهان یا عصاره های آن‌ها بر روی رشد بستگی به عوامل مختلفی نظیر غلظت‌های مناسب، ترکیب پایه جیره، مدیریت و شرایط پرورش دارد (Farahi *et al.*, 2010). بنابراین در این مطالعه با توجه به عدم تأثیر معنی‌دار گروفیت بر شاخص‌های رشد ماهی قزل‌آلای-رنگین‌کمان، دلایل این مساله می‌تواند بهینه نبودن دز مورد استفاده در جیره و یا ماهیت ترکیبات شیمیایی موجود در این ترکیب گیاهی باشد که باعث عدم تأثیر بر شاخص‌های رشد ماهی و یا کاهش دریافت غذا توسط ماهیان شده است.

در خصوص میزان بقاء، بچه ماهیانی که از گروفیت در جیره غذایی آن‌ها استفاده شده بود میزان بقاء بیشتر از گروه کنترل بود. هرچند تفاوت آماری معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نگردید. این امر در مطالعه انجام شده توسط Prasad و Priyanka (۲۰۱۱)، در بررسی تأثیر عصاره میوه *Garcinia gummi-gutta* بر بقاء گربه ماهی *Pangasianodon hypophthalmus* نیز دیده می‌شود.

در تناقض با نتایج تحقیق حاضر Pratheepa و همکاران (۲۰۱۰)، تاثیر عصاره برگ گیاه بکرایی را بر

روی ماهی کپور مورد بررسی قرار دادند که در پایان دوره مشخص شد درصد بقاء در تیمارهایی که با غلظت های ۵ و۱۰ گرم بر کیلوگرم غذا از عصاره تغذیه شده بودند، بیشتر از سایر تیمارها بوده است. در تحقیق حاضر به جهت کاربردی شدن مطالعات سعی شد تا حتی الامکان شرایط پرورشی بر مطالعات حاکم باشد ولی با توجه به سازگاری‌های اولیه و همچنین شرایط مساعد پرورشی درصد بازماندگی تمامی تیمارها درصد بالایی بود. از این رو مقایسه میزان بقاء تیمارهای دریافت کننده جیره حاوی این پودر گیاهی هنگام چالش باکتریایی و در شرایط تحمل انواع استرس از قبیل استرس دمایی، استرس تراکم، استرس حمل و نقل و غیره برای مطالعات آینده در این خصوص قابل پیشنهاد است.

لایزوزیم یک آنزیم تجزیه‌کننده قوی موجود در خون و بافت‌های لنفوئید ماهیان است. این آنزیم دارای نقش زیادی در ایمنی ماهی بوده و یکی از مهمترین فاکتورها در مقاومت طبیعی ماهی محسوب می‌شود (قاسمی پیربلوطی و همکاران، ۱۳۹۰). مطالعات نشان می‌دهد عوامل متعددی بر میزان و نیز قدرت ضد باکتریایی لایزوزیم بافت‌های مختلف ماهیان تاثیرگذار است که از آن جمله می‌توان به برخی مواد محرک ایمنی اشاره کرد که موجب افزایش سطح لایزوزیم در بافت‌های ماهیان می‌شود (سلطانی، ۱۳۸۷).

با توجه به نتایج مطالعه حاضر مشخص گردید که مقدار فعالیت لایزوزیم تحت تاثیر مقادیر مختلف گروفیت بوده و این مورد خصوصاً در بافت کلیه و تیمار ۲ و۳ ملموس و دارای اثر معنی‌داری می‌باشد. با توجه به این که کلیه به عنوان اندام خون‌ساز اصلی در ماهیان استخوانی عملکرد مهمی به‌عنوان اندام لنفوئیدی نیز دارد و تأثیرگذاری گروفیت بر میزان لیزوزیم ترشح شده در این بافت بیشتر از سایر بافت ها بوده است، تأثیر گروفیت در تقویت ایمنی غیراختصاصی ماهی قزل آلای رنگین کمان بیشتر آشکار می گردد.

مطالعات انجام شد توسط محققین نشان می‌دهد که به دنبال استفاده از عصاره‌های گیاهی در جیره غذایی ماهی، میزان لایزوزیم افزایش یافته که این افزایش در برخی از مواقع نیز معنی‌دار بوده که بسته به گونه ماهی، غلظت عصاره گیاهی و نوع عصاره مورد استفاده متفاوت بوده است (Yin *et al*., 2009).

این امر در مطالعات پورغلام و همکاران (۱۳۹۱) نیز دیده می‌شود که میزان تغییرات لایزوزیم در تیمارهای ماهی‌های قزل‌آلای‌رنگین‌کمان پس از ۲ ماه تغذیه با جیره غذایی حاوی عصاره سرخارگل افزایش داشته ولی این افزایش معنی دار نبوده و با افزایش غلظت عصاره در جیره غذایی ماهیان، فعالیت لایزوزیم نیز افزایش بیشتری یافته است به طوری که نتایج تغییرات لایزوزیم در ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی عصاره سرخار گل بیشتر از گروه کنترل بوده و تغییرات معنی دار بوده است.

Asadi و همکاران (۲۰۱۰) ا ثر گیاه آب‌تره را روی فاکتورهای ایمنی در ماهی قزل‌آلای‌رنگین‌کمان مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که این عصاره موجب افزایش فعالیت لایزوزیم می‌شود. نتایج تحقیقات Ardó و همکاران (۲۰۰۸)، نشان می‌دهد که میزان فعالیت لایزوزیم برای ماهی تیلاپیا که با گیاهان چینی لنیکرا جاپنیکا و آستراگالوس ممبراناسئوس تغذیه شد افزایش داشته است.

Yinو همکاران (۲۰۰۶)، تأثیر دو گیاه چینی (آستراگالوس رادیکس و اسکوتلاریا رادیکس) را بر ایمنی غیراختصاصی ماهی تیلاپیای‌نیل بررسی کردند. نتایج نشان داد تغذیه با جیره حاوی آستراگالوس رادیکس در جیره با غلظت‌های ۰/۵ و ۱ درصد سبب بهبود فعالیت لایزوزیم می‌گردد.

سلطانی و همکاران (۱۳۹۱) بیان نمودند که اسانس آویشن شیرازی بر میزان لایزوزیم سرم ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تأثیر معنی‌داری ندارد و علت این امر را چنین بیان کردند که افزایش میزان لایزوزیم عموماً

در نتیجه افزایش تعداد سلول‌های بیگانه‌خوار است و از آن‌جا که مقدار لایزوزیم سرم با تغذیه اسانس آویشن شیرازی تغییر نکرده است می‌توان نتیجه گرفت که ممکن است ترکیبات اسانس آویشن شیرازی تعداد فاگوسیت‌های ترشح کننده لایزوزیم را تغییر نداده باشد یا مقدار لایزوزیم سنتز شده در سلول افزایش پیدا نکرده باشد که این امر در مطالعه شیخ زاده و همکاران (۱۳۸۸)، در بررسی اثر اسانس اکالیپتوس بر ایمنی غیراختصاصی ماهی کپورمعمولی نیز به مشاهده می‌شود که اسانس اکالیپتوس تغییرات معنی‌داری در میزان لایزوزیم گروه های تغذیه شده با اکالیپتوس نسبت به تیمار کنترل ایجاد نکرده است.

با توجه به نتایج مطالعه حاضر و تغییرات شاخص-های مورد نظر، امکان افزودن گروفیت به‌عنوان یک محرک ایمنی به جیره غذایی قزل‌آلای‌رنگین کمان به میزان ۰/۵ تا ۱/۵ گرم به ازای هر کیلوگرم غذا وجود دارد. اگرچه مطلوب‌ترین نتیجه در این پژوهش مربوط به تیمار ۱ گرم گروفیت می‌باشد اما اظهار نظر قطعی در مورد مناسب‌ترین میزان مصرف این محرک ایمنی گیاهی در غذای قزل‌آلای رنگین‌کمان نیازمند مطالعات تکمیلی در خصوص نحوه تأثیر این مخلوط گیاهی بر شاخص‌های ایمنولوژیک و فیزیولوژیک و همچنین بررسی تأثیرات ترکیبات بیوشیمیایی موجود در این مخلوط گیاهی بر سایر شاخص‌های ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان است.

تشکر و قدردانی

لازم است مراتب قدردانی و سپاس خود را از مدیریت محترم شرکت فرادانه، جناب آقای فرود یداللهی و همچنین جناب آقای شیرمردی، مالک مزرعه پرورش ماهی به سبب همکاری در اجرای این تحقیق اعلام داریم.

منابع

پورغلام ر.، شریف روحانی م.، صفری ر.، سعیدی ع.، بینایی م.، نجفیان ر.، بانکه‌ساز ز.، تقوی م.، سپهداری ا.، ۱۳۹۲. اثر عصاره سرخارگل بر برخی شاخص‌های ایمنی و بازماندگی قزل‌آلای رنگین کمان در برابر با استرپتوکوک اینیایی. مجله علمی شیلات ایران، ۲۲(۳): ۱-۱۲.

سلطانی م. ۱۳۸۷. ایمنی‌شناسی ماهیان و سخت پوستان. تهران: انتشارات دانشگاه تهران.

شیخ‌زاده ن.، سلطانی م.، ابراهیم‌زاده موسوی ح.، خسروی ع.، باقری ه.، فتحی ع.، زرگر ا. ۱۳۸۸. مطالعهٔ اثر اسانس اوکالیپتوس و اویشن شیرازی بر برخی فاکتورهای ایمنی ماهی کپورمعمولی. مجله تحقیقات دامپزشکی ۶۴(۱): ۵۴-۴۷.

قاسمی پیربلوطی ع.، پیرعلی ا.، پیشکار غ.، جلالی م.، رئیسی م.، جعفریان دهکردی م.، حامدی ب. ۱۳۹۰. اثر اسانس چند گیاه دارویی بر سیستم ایمنی ماهی قزل آلای رنگین کمان *(Oncorhnchus mykiss)*. فصلنامه گیاهان دارویی،۲(۲): ۱۵۵-۱۴۹.

سلطانی م.، ظریف‌منش، ط.، ذریه زهرا ج. ۱۳۹۱. مطالعه تاثیر اسانس آویشن شیرازی (*Zataria multiflora*) بر میزان فعالیت سیستم عامل مکمل و لایزوزیم خون ماهی قز ل آلای رنگین کمان (*Onchorhynchus mykiss*). مجله علمی شیلات ایران. ۲۱(۴): ۲۲-۱۳.

Adams C.A. 2005. Nutrition-based health. *Feed International* 2, 25-28.

Ardó L., Yin G., Xu P., Váradi L., Szigeti G., Jeney Z., Jeney G. 2008. Chinese herbs (*Astragalus membranaceus and Lonicera japonica*) and boron enhance the non-specific immune response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and resistance against *Aeromonas hydrophila*. *Aquaculture* 275(1), 26-33.

Asadi M.S., Mirvaghefei 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.

Ellis A.E. 1990. Lysozyme Assays. *Techniques in Fish Immunology*, 101-103

Farahi A., Kasiri M., Sudagar M., Iraei M.S., Shahkolaei M.D. 2010. Effect of garlic (*Allium sativum*) on growth factors, some hematological parameters and body compositions in rainbow trout (Oncorhynchus mykiss). *AACL Bioflux* 3(4),

317-323.
Jayaprakas V., Euphrasia, C.J. 1997. Growth performance of *Labeo rohita* (Ham.) to Livol (IHF-1000), an herbal product. *Proceedings-Indian National Science Academy Part B* 63, 21-30.
Ji S.C., Jeong G.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(1), 70-76.
Ndong D., Fall J. 2011. The effect of garlic (*Allium sativum*) on growth and immune responses of hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus x Oreochromis aureus*). Department of Aquaculture, College of Life Sciences National Taiwan Ocean University Keelung, Taiwan. 202, ROC.
Oskoii S.B., Kohyani A.T., Parseh A., Salati A.P., Sadeghi E. 2012. Effects of dietary administration of Echinacea purpurea on growth indices and biochemical and hematological indices in rainbow trout *(Oncorhynchus mykiss)* fingerlings. Fish Physiology and Biochemistry 38(4), 1029-1034.
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), 240-51.
Pratheepa V., Ramesh S., Sukumaran N. 2010. Immunomodulatory effect of Aegle marmelos leaf extract on freshwater fish *Cyprinus carpio* infected by bacterial pathogen *Aeromonas hydrophila. Pharmaceutical Biology* 48(11), 1224-1239.
Saurabh S., Sahoo P.K. 2008. Lysozyme: an important defence molecule of fish innate immune system. *Aquaculture Research* 39(3), 223-239.
Seung-Cheol J.I., Jeong G-S, Gwang-Soon I.M., 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(1), 70-76.
Soltani M., Pourgholam R. 2007. Lysozyme activity of grass carp (*Ctenopharingodon idella*) following exposure to sublethal concentrations of organophosphate, diazinon. *Veterinary Research* 62, 50-52.
Yin G., Ardo L., Thompson K.D., Adams A., Jeney Z., Jeney G. 2009. Chinese herbs (*Astragalus radix* and *Ganoderma lucidum*) enhance immune response of carp, *Cyprinus carpio*, and protection against *Aeromonas hydrophila. Fish and Shellfish Immunology* 26(1), 140-145.
Yin G., Jeney G., Racz T., Xu P., Jun X., Jeney Z. 2006. Effect of two Chinese herbs (*Astragalus radix* and *Scutellaria radix*) on non-specific immune response of tilapia, *Oreochromis niloticus. Aquaculture* 253(1), 39-47.
Zapata A., Diez B., Cejalvo T., Gutierrez-de Frias C., Cortes A. 2006. Ontogeny of the immune system of fish. Fish and Shellfish Immunology 20(2), 126-136.

Effects herbal immunostimulant (Grophit) on growth, survival and non-specific immune parameters in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)

Amin Asadi Amirabadi*, Ali Taheri Mirghaed, Mehdi Soltani, Ashkan Zargar

Department of Aquatic Animal Health, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran.
*Corresponding author: aminasadi@alumni.ut.ac.ir
Received: 2021/5/28 Accepted: 2021/12/18

Abstract
Improving the efficiency of the fish's immune system is one of the most important ways to prevent disease and improve growth. Among the safety stimuli, natural types, especially plant stimulants, have recently received more attention due to less damage to fish and the environment. In this study, the effects of improving the growth and immune stimulation of graphite as a plant safety stimulant in rainbow trout with an average weight of 15.79±3.36 g for 60 days were investigated. After 2 weeks of adaptation, 0.5, 1.5 and 1.5 g of graphite powder were added to each kg of fish feed and a graphite-free diet was used as a control. Biometrics were recorded every 10 days and mortality was recorded daily and growth and survival indices were compared between different groups. In order to measure the amount of lysozyme, the tissues of liver, spleen and all fish were isolated and after homogenization and using turbidity method, the amount of lysozyme was determined. The results showed that the addition of graphite to the diet did not cause a significant change in any of the growth indices (P>0.05). In all groups that received graphite with food, the amount of lysozyme in different tissues was higher than the control group, but this difference was only in the amount of lysozyme in the tissue of all treatments of 1.5 and 1.5 g of graphite compared to the group. There was a significant difference between control and two treatments (P<0.05). According to the results of this study, the addition of graphite to the salmon diet improves the innate immunity of kidney tissue.

Keywords: Herbal immunostimulant, Rainbow trout, Aquaculture, Lysozyme.