Journal of Aquaculture Sciences 11(20): 11-20 (2023)
Print ISSN: 2322-5351
www.aquaculturesciences.ir

نشریه علوم آبزی‌پروری
دوره ۱۱، شماره ۲۰: ۱۱-۲۰ (۱۴۰۲)

اثرات بهبوددهندگی عصاره الکلی پرتوفراوری شده رزماری (*Rosmarinus officinalis*) بر برخی شاخص‌های بیوشیمیایی سرم و فعالیت آنزیم‌های گوارشی در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

مرضیه حیدریه[1*]، نجمه شیخ‌زاده[2]، سعید رجبی‌فر[3]، نرجس دماوندی کمالی[4]

[1]پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، تهران، ایران.
[2]گروه بهداشت مواد غذایی و آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.
[3]گروه رادیوایزوتوپ و رادیودارو سیکلوترونی، پژوهشکده کاربرد پرتوها، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، تهران، ایران.
[4]گروه شیلات و فراوری مواد غذایی دریایی، دانشکده شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۱/۱۸ **تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۲/۱۴**

چکیده

مطالعات زیادی درباره اثرات مثبت رزماری بر عملکرد رشد، فعالیت آنزیم‌های گوارشی، سیستم‌های آنتی‌اکسیدان و ایمنی و مقاومت در برابر بیماری در گونه‌های مختلف ماهی وجود دارد. از طرف دیگر، کارایی پرتودهی گاما در جهت بهبود اثرات زیستی رزماری مشخص شده است. هدف از این مطالعه ارزیابی پتانسیل رزماری در سه حالت (پودر خشک، عصاره الکلی و عصاره الکلی پرتودیده) بر سیستم آنتی‌اکسیدان، فعالیت آنزیم‌های مربوط به کبد، برخی متابولیت‌ها و همچنین فعالیت آنزیم‌های گوارشی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) بود. پس از تهیه عصاره الکلی رزماری، پرتودهی در سطح ۳۰ کیلوگری با استفاده از دستگاه پرتوده گاما کبالت-۶۰ انجام شد. در مطالعه درون تنی، ماهی‌ها (با میانگین ۲۲۵/۳۶ گرم) به‌صورت تصادفی در چهار گروه با سه تکرار برای هر گروه توزیع شدند. بعد از دوره ۷ روزه سازگاری، ماهی‌ها با جیره پایه و یا تیمار (حاوی پودر خشک= T1، عصاره الکلی= T2 یا عصاره الکلی پرتودهی شده= T3) به مدت ۵۰ روز تغذیه شدند. . نتایج نشان داد که بیشترین میزان گلوکز در سرم خون ماهیان در گروه کنترل (۴/۱۶±۱۱۸/۴۳ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) مشاهده شد درحالی‌که کمترین میزان در گروه T3 (۱/۵۹±۴۱/۲۵ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) گزارش شد. در همین راستا، میزان تری‌گلیسرید در گروه‌های T2 و T3 در مقایسه با گروه کنترل کاهش یافت. فعالیت آنزیم‌های گوارشی نیز در همه گروه‌های تیمار، به‌خصوص در گروه‌های T2 و T3، در مقایسه با گروه کنترل بهبود یافت. فعالیت آنزیم‌های مرتبط با کبد نیز به‌دنبال مصرف جیره T3 کاهش یافت. فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سرمی نیز در گروه‌های T2 و T3 نیز در مقایسه با گروه کنترل افزایش یافتند و بالاترین میزان فعالیت آنزیم‌های SOD و CAT در گروه T3 مشاهده شد. در نتیجه، مطالعه حاضر نشان داد که مصرف خوراکی عصاره الکلی رزماری، به‌خصوص در شکل پرتودهی شده، به مدت ۵۰ روز سبب بهبود برخی شاخص‌های سرمی شامل متابولیت‌ها، فعالیت آنزیم‌های گوارشی و فعالیت آنزیم‌های مرتبط با کبد در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌گردد.

کلید واژگان: پرتو گاما، رزماری، عصاره الکلی، قزل‌آلای رنگین‌کمان

*نویسنده مسئول haidariehm81@gmail.com; mheidarieh@aeoi.org.ir

مقدمه

توسعه آبزی‌پروری و افزایش تقاضا برای مصرف آبزیان، باعث افزایش تراکم پرورش در استخرها و در نتیجه افزایش استرس به آبزیان و افزایش شیوع بیماری‌ها شده است (Byun *et al*., 2010). استرس که نقش مهمی در شیوع بسیاری از بیماری‌ها دارد، نوعی فعالیت اکسیداتیو با تشکیل سریع فرم فعال اکسیژن (ROS= Species Oxygen Reactive) می‌باشد. فرم فعال اکسیژن در شرایط نامتعادل واکنش‌های اکسیداسیون و احیای درون سلولی تولید می‌شود که قدرت اکسیدکنندگی بالا و توانایی زیادی در آسیب‌رسانی به اجزای حیاتی سلول از قبیل لیپیدها، DNA، پروتئین‌ها و آنزیم‌ها دارند (Agarwal and Sekhon, 2010). موجودات زنده، سیستم آنتی‌اکسیدانی پیچیده‌ای جهت مقابله با گونه-های فعال رادیکال‌های آزاد و کاهش اثرات مخرب آن‌ها دارند (Young and Woodside, 2001). علی‌رغم وجود آنتی‌اکسیدان‌های مختلف در بدن، سیستم دفاعی به تنهایی قادر به از بین بردن رادیکال‌های آزاد ایجاد شده در بدن را ندارد. به‌همین دلیل نیازمند تأمین آنتی‌اکسیدان از منابع خارجی مانند گیاهان است (Young and Woodside, 2001). استفاده از برخی گیاهان به‌دلیل داشتن ترکیبات زیست‌فعال مثل پلی‌ساکاریدهای پیچیده، پروتئین‌ها، اسیدهای چرب ضروری، کاروتنوئیدها، ویتامین‌ها و مواد معدنی به‌عنوان پتانسیلی برای افزایش بازماندگی، بهبود رشد و افزایش مقاومت در برابر بیماری‌های مختلف در ماهی‌های پرورشی مورد توجه واقع شده است (Magnadottir, 2006).

گیاه رزماری (*Rosmarinus officinalis*) به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی طبیعی به اشکال مختلف پودر، عصاره و نانو امولسیون به‌منظور بهبود رشد، افزایش مقاومت در برابر بیماری، بهبود عملکرد سیستم ایمنی و آنتی‌اکسیدان و همچنین بهبود کیفیت فیله در جیره غذایی گونه‌های مختلف ماهی مورد استفاده قرار گرفته است. Karatas و همکاران (۲۰۲۰) گزارش کردند که استفاده از عصاره رزماری با دو دز ۱ و ۳ گرم بر کیلوگرم در جیره ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان منجر به بهبود فاکتورهای رشدی، افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان کل و افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی و کاهش کلسترول و تری‌گلیسیرید و در کل کاهش اثرات حاصل از استرس در بدن ماهی می‌شود. استفاده از پودر رزماری با دز ۲ و ۳ گرم بر کیلوگرم در جیره ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) اثرات حاصل از استرس پرورش در سیستم مداربسته با تراکم بالا را کاهش داد (Yousefi *et al*., 2019). همچنین استفاده از دز ۵ و ۱۰ گرم بر کیلوگرم پودر گیاه رزماری در جیره ماهی تیلاپیا نیل (*Oreochromis niloticus*) منجر به بهبود پاسخ‌های سیستم ایمنی و مقاومت در برابر بیماری‌های مختلف گردید (Naiel *et al*., 2020, 2019; Ayoub *et al*., 2019).

استفاده علمی از فناوری هسته‌ای جهت افزایش تولیدات کشاورزی و بهبود کیفیت گیاهان روش معمولی به‌نظر می-رسد. مطالعات نشان داده است که پرتو گاما با اعمال تغییرات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی در گیاهان سبب بهبود عملکرد آن‌ها می‌گردد (Ashraf and Hamidi-Esfahani, 2011; Ahuja *et al*., 2014; Zarbakhsh and Rastegar, 2019). در مطالعات قبلی (Perez *et al*., 2007; Rezanejad *et al*., 2019a, b)، بیان شده است که پرتوفرآوری می‌تواند فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره رزماری را افزایش دهد. با وجود اثرات مفید پرتودهی در قابلیت عملکردی گیاه رزماری و افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان در این گیاه، هیچ مطالعه درون‌تنی (*in vivo*) در خصوص اثرات رزماری پرتودهی شده در آبزیان وجود ندارد. با توجه به اینکه گونه قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) یکی از مهمترین گونه‌های آبزی‌پروری ایران با ارزش اقتصادی بالا می‌باشد (Ojagh *et al*., 2014)، بنابراین هدف از انجام این پژوهش استفاده از پودر رزماری خشک، عصاره الکلی رزماری و عصاره الکلی پرتوفراوری شده آن به جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین-کمان (*O. mykiss*) و سنجش میزان فعالیت برخی فاکتورهای بیوشیمیایی سرم شامل فعالیت آنزیم‌های کبدی، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و برخی از متابولیت‌ها به‌همراه فعالیت آنزیم‌های گوارشی است تا پتانسیل این گیاه در سه حالت مختلف بر سلامت گونه مورد مطالعه نشان داده شود.

مواد و روش‌ها

تهیه عصاره الکلی ساده و عصاره الکلی پرتودیده رزماری: برگ‌های گیاه رزماری (*R. officinalis*) از موسسه دارویی (Plants Herbarium) ، کرج (ایران)، تهیه شد. برگ‌ها پس از شستشو در دمای اتاق و بدون هیچ‌گونه

حرارتی خشک و با یک آسیاب برقی پودر شدند. سپس برای عصاره‌گیری از روش Tepe (۲۰۰۷) با اندکی تغییرات استفاده شد. در این روش ۱ گرم پودر برگ تهیه‌شده پس از توزین، در ۲۰ میلی‌لیتر اتانول ۵۰ درصد به‌خوبی سائیده و به‌مدت یک ساعت در بن‌ماری ۷۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. پس از آن به کمک روتاری تحت خلاء، حلال اتانول از محلول حذف و باقی‌مانده در ۲۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۰ درصد حل گردید. در نهایت محلول جهت فیلتر شدن، طی دو مرتبه از کاغذ صافی واتمن شماره ۱ عبور داده شد. میزان عصاره نهایی تولیدشده، ۱۵ میلی‌گرم بود. براساس گزارش Rezanejad و همکاران (۲۰۱۹ b) در رابطه با تعیین دز مطلوب پرتوتابی عصاره گیاه رزماری، در این تحقیق نیز عصاره رزماری جداسازی شده توسط چشمه کبالت-۶۰ در یک محدوده دز ۱/۰۲ گری در ثانیه در پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای ایران تحت تابش پرتو گاما در سطح ۳۰ کیلوگری قرار گرفت.

تهیه ماهی: در مجموع، ۱۴۴ قطعه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با میانگین وزنی ۱۲/۷۸±۲۲۵/۳۶ گرم از مرکز پرورش ماهی خصوصی در سپیدان استان فارس تهیه و سپس بچه ماهیان به‌مدت یک هفته در استخر بتنی دارای آب جاری، برای سازگار شدن با محیط و رهایی از استرس حمل و نقل، نگهداری شدند. پس از طی دوره سازگاری، ماهیان به‌صورت تصادفی و مساوی در ۱۲ تانک فایبرگلاس (۳ تکرار برای هر گروه) قرار گرفتند به‌صورتی‌که در هر تانک ۱۲ قطعه ماهی ذخیره‌سازی گردید. فاکتورهای کیفیت آب مورد بررسی قرار گرفت، دمای آب ۱/۱±۱۷/۰ درجه سانتی‌گراد و روزانه اندازه‌گیری شد. اکسیژن محلول ۰/۹±۸/۱ میلی‌گرم در لیتر بود. pH آب ۰/۶±۷/۱ بود و به‌صورت هفتگی اندازه‌گیری شد. ماهیان تحت دوره نوری طبیعی قرار داشتند و سه بار در روز با جیره پایه براساس مطالعه قبلی به‌میزان ۱/۵ درصد وزن بدن به‌صورت دستی غذادهی شدند (Rezanejad *et al.*, 2019b).

طراحی آزمایش: نحوه افزودن فرم‌های مختلف گیاه رزماری به‌شرح ذیل است؛ به‌صورتی‌که در گروه‌های تیمار، ترکیبات به خوراک پایه ارائه شده در مطالعه قبلی (Rezanejad *et al.*, 2019b) اضافه شدند:

۱- گروه کنترل بدون هیچ‌گونه افزودنی به جیره پایه

۲- تیمار ۱ (T1) با افزودن پودر خشک رزماری به‌میزان ۲۰ گرم بر کیلوگرم به جیره پایه

۳- تیمار ۲ (T2) با افزودن ۰/۳ گرم بر کیلوگرم عصاره الکلی رزماری به جیره پایه

۴- تیمار ۳ (T3) با افزودن ۰/۳ گرم بر کیلوگرم عصاره الکلی پرتودیده در سطح ۳۰ کیلوگری رزماری به جیره پایه.

ماهی‌ها در هر گروه با جیره مربوطه به میزان ۱/۵ درصد وزن بدن به‌صورت دستی سه بار در روز تغذیه شدند.

خون‌گیری و تهیه سرم و نمونه بافتی: در پایان دوره (روز ۵۰ آزمایش) تغذیه با عصاره گیاه رزماری، ده ماهی به‌صورت تصادفی از تانک‌های فایبرگلاس ۳۰۰ لیتری به‌طور جداگانه با عصاره گل میخک (۵ گرم بر لیتر) بیهوش شدند. جهت خون‌گیری از هر ماهی پس از بیهوش نمودن آن با اسانس گل میخک، بدن ماهی خشک و با سرنگ استریل از ورید ساقه دمی، خون‌گیری صورت گرفت. از هر نمونه مقدار ۱ میلی‌لیتر در لوله‌های فاقد هپارین ریخته شد. به‌منظور جداسازی سرم، نمونه‌های خون به‌مدت ۵ دقیقه با ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ گردید. سرم جدا شده در لوله-های کوچک تخلیه و تا زمان بررسی آنزیمی و شاخص‌های بیوشیمیایی در فریزر نگهداری شدند (Mousavi *et al.*, 2020). جهت بررسی فعالیت آنزیم‌های گوارشی، ماهی‌ها به‌مدت ۲۴ ساعت قطع غذادهی شدند. محوطه شکم با الکل ضدعفونی شد و سپس کل روده از بدن جدا و توسط سرم فیزیولوژی شستشو شد. سپس روده‌ها به‌طور جداگانه با اضافه نمودن ۱۰ واحد حجمی/وزنی نرمال سایلین سرد هموژنیزه شدند. بافت هموژنیزه شده با ۴۰۰۰ دور در مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتیریفوژ و مایع رویی جمع‌آوری شدند. نمونه‌ها در فریزر با دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد برای انجام مراحل بعدی نگهداری شدند (Xu *et al.*, 2012).

آنالیز پارامترهای سرمی: پارامترهای سرمی شامل گلوکز، تری‌گلیسیرید، کلسترول، آنزیم‌های لیپاز، پروتئاز، آمیلاز، آسپارتات آمینوترانسفراز، آلانین‌آمینوترانسفراز، کاتالاز، سوپراکسیددیسموتاز توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (Unico 2100 PC, China) اندازه‌گیری شدند. سطوح گلوکز به روش گلوکزاکسیداز، تری‌گلیسیرید و کلسترول نیز با روش اکسیداز و فتوتریک در سرم خون ماهی با استفاده از کیت تجاری (Pars Azmoon, Tehran, Iran) تعیین شدند. میزان فعالیت آنزیم کاتالاز براساس فرآیند تجزیه پراکسیدهیدروژن و تشکیل کمپلکس باثبات با مولیبدات

آمونیوم اندازه‌گیری شد. تغییرات رنگی مولیبدات و پراکسید هیدروژن در طول موج ۴۰۵ نانومتر خوانش شد (Aebi, 1974). از کیت راندوکس جهت اندازه‌گیری آنزیم سوپراکسیداز دیسموتاز حاصل از فعالیت آنزیمی گزانتین اکسیداز استفاده شد و تولید رنگ فورمازین در طول موج ۵۰۵ نانومتر قرائت شد (Aebi, 1974). به‌منظور اندازه‌گیری آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز و نیز آلانین ترانسفراز به روش آنزیمی از کیت پارس آزمون استفاده شد. اساس آزمون به‌منظور اندازه‌گیری آنزیم کبدی آسپارتات آمینوترانسفراز بر مبنای تشکیل اگزالواستات و ال-گلوتامات در حضور آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز است که در مرحله بعد اگزالوا ستات در حضور آنزیم مالات دهیدروژناز به ال-مالات تبدیل شده و کاهش جذب نوری واکنش در طول موج ۳۴۰ نانومتر قرائت شد (Sheikhzadeh *et al.*, 2012). در تعیین آنزیم آلانین ترانسفراز در حضور کوآنزیم پیریدوکسال ۵ فسفات، گروه آمین آلانین را به اگزالو گلوتارات منتقل کرده و خود به پیروات تبدیل می‌شود. پیروات حاصل از عمل آلانین ترانسفراز با ۲ و ۴ دی‌نیتروفنیل هیدرازین واکنش داده و یک ترکیب رنگی (قهوه‌ای-طلایی) ایجاد نمود. که در طول موج ۴۹۰ تا ۵۴۰ نانومتر با اسپکتروفتومتر مقدار آن تعیین می‌گردد. فعالیت آنزیم گوارشی لیپاز با استفاده از روش تیتراسیون اسیدهای چرب آزاد شده از روغن زیتون توسط یک قلیا انجام می‌شود که این روش توسط Worthington (۱۹۹۱) ارائه شده است. یک واحد آنزیمی (لیپاز) میزانی از فعالیت آنزیم است که میزان ۱ میکرومول از اسیدهای چرب در یک دقیقه آزاد می‌کند.

فعالیت آنزیم تریپسین براساس روش Erlanger و همکاران (۱۹۶۱) با اندکی تغییرات انجام شد. بدین‌منظور از سوبسترا BAPNA (N-α-benzoyl-Larginine-p-nitroanilide hydrochloride) استفاده شد. ۲۵ میکرولیتر از نمونه با ۱۵۰۰ میکرولیتر از سوبسترا BAPNA حل شده در دی‌متیل سوفاکسید (DMSO) حل کرده و برای ۲۰ دقیقه در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد؛ سپس برای متوقف نمودن واکنش از ۲۵۰ میکرولیتر اسیداستیک ۳۰ درصد استفاده شد و در طول موج ۴۱۰ نانومتر جذب نوری آن اندازه‌گیری شد. هر یک واحد فعالیت آنزیمی میزانی است که ۱ میکرومول پی-نیتروآلانین را در مدت زمان یک دقیقه از سوبسترای BAPNA آزاد می‌کند. فعالیت آلفا آمیلاز با استفاده از روش Baker با تغییر سنجیده شد (Baker, 1991). واکنش در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد با افزودن نمونه و نشاسته به‌عنوان سوبسترا، به‌مدت ۳۰ دقیقه در حمام بن‌ماری انجام شد. سپس معرف دی‌نیترو سالیسیلیک اسید به مجموعه اضافه و به‌مدت ۱۰ دقیقه در آب جوش قرار گرفت. در این بررسی از تمام ترکیبات مورد آزمایش به‌جز از آنزیم به‌عنوان محلول شاهد استفاده شد. جذب محلول در طول موج ۵۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شد.

آنالیز آماری: نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون Shapiro-Wilk مورد بررسی قرار گرفت. تجزیه و تحلیل داده‌ها از طریق آزمون تجزیه واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) و مقایسه میانگین بین تیمارها ب اساس آزمون دانکن (Duncan's multiple-range test) انجام شد. وجود یا عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ درصد با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰۱۷ و رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel نسخه ۲۰۱۹ انجام شد.

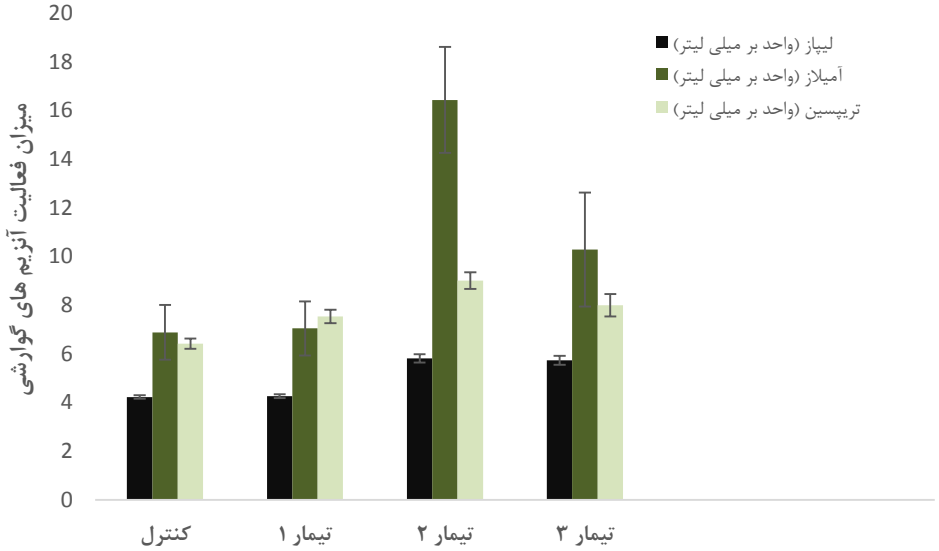
نتایج

میزان متابولیت‌های سرمی ماهی‌های تغذیه شده با اشکال مختلف گیاه رزماری در جدول ۱ ارائه شده است. در این پژوهش، میزان کلسترول در سرم خون ماهیان در گروه‌های مختلف مورد بررسی هیچ اختلاف معنی‌دار آماری نشان نداد ($P>0/05$) (جدول ۱). کاهش معنی‌داری در میزان تری گلیسیرید دو گروه T3 و T2 نسبت به گروه T1 و همچنین گروه کنترل مشاهده شد ($P<0/05$). میزان گلوکز کاهش معنی‌داری را در تمام گروه‌های تغذیه شده با رزماری در حالت‌های مختلف نسبت به گروه کنترل نشان دادند ($P<0/05$). نتایج نشان داد که در کل بیشترین میزان گلوکز در سرم خون ماهیان در گروه کنترل با میزان ۱۱۸/۴۳±۴/۱۶ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر و کمترین میزان در T3 به میزان ۴۱/۲۵±۱/۵۹ مشاهده شد. میزان فعالیت آنزیم‌های گوارشی در شکل ۱ ارائه شده است. در این مطالعه، افزایش معنی‌داری در میزان فعالیت آنزیم لیپاز در ماهیان دریافت‌کننده T3 و T2 نسبت به گروه T1 و گروه کنترل مشاهده شد ($P<0/05$). فعالیت آنزیم تریپسین نیز در روده ماهیان T3 و T2 در مقایسه با T1 و گروه کنترل به‌صورت معنی‌داری بیشتر بود ($P<0/05$). در کل، بالاترین

جدول ۱- میزان متابولیت‌های سرمی ماهی‌های قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با اشکال مختلف گیاه رزماری

گروه	کلسترول (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	تری گلیسرید (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	گلوکز (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)
کنترل	۳۴۵/۱۸±۱۱/۴۴ a	۴۸۱/۵۳±۲۲/۰۹a	۱۱۸/۴۵±۴/۱۶ a
T1	۳۳۸/۵۵±۱۳/ ۶۱a	۴۵۶/۲۱±۲۲/۱۱a	۹۸/۱۱±۳/۸۲ b
T2	۳۱۹/۱۱±۱۶/۳۲a	۳۶۳/۹۵±۱۲/۹۸ c	۴۱/۲۵±۱/۵۹ d
T3	۳۲۲/۶۴±۱۴/۲۷a	۳۲۹/۲۱±۱۸/۵۴ b	۶۷/۲۹±۲/۰۸ c

داده‌ها به‌صورت میانگین ± انحراف معیار است. T1: تغذیه شده با پودر خشک رزماری، T2: تغذیه شده با عصاره الکلی رزماری پرتودیده و T3 تغذیه شده با عصاره الکلی رزماری.



شکل ۱- میزان فعالیت آنزیم‌های گوارشی ماهی‌های قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با اشکال مختلف گیاه رزماری داده‌ها به‌صورت میانگین ±انحراف معیار می‌باشد (گروه‌بندی مطابق با جدول ۱ است)

جدول ۲- فعالیت آنزیم‌های کبدی و آنتی‌اکسیدان در سرم ماهی‌های قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با اشکال مختلف گیاه رزماری

گروه	آسپارتات آمینوترانسفراز (واحد بر میلی‌لیتر)	آلانین‌آمینوترانسفراز (واحد بر میلی‌لیتر)	کاتالاز (واحد بر میلی‌لیتر)	سوپراکسیددیسموتاز (واحد بر میلی‌لیتر)
کنترل	۲۱۶/۳۷±۷/۱۲a	۲۵/۱۳±۲/۴۶a	۱۴۵/۲۳±۳۴/۵۷ c	۰/۴۱±۰/۰۳ c
T1	۲۳۵/۸۸± ۷/۵a	۲۳/۴۶±۱/۱۹a	۱۴۷/۱۵±۲۲/ ۶۸c	۰/۴۵±۰/۰۱ c
T2	۲۲۱/۰۹± ۶/۸۳a	۱۸/۸۹±۲/۲۱a	۲۹۰/۰۳±۵۱/۶۴ a	۰/۸۹±۰/۰۳ a
T3	۱۴۲/۶۳±۶/۳۲b	۱۰/۲۵±۱/۰۷b	۲۱۴/۵۳±۳۴/۸۱b	۰/۷۱±۰/۰۲ b

میزان فعالیت این آنزیم در تیمار ۳ در مقایسه با سایر گروه‌ها گزارش گردید. فعالیت آنزیم آمیلاز نیز در همه گروه‌های تیمار شده در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی‌داری نشان دادند ($P<۰/۰۵$) اما فعالیت این آنزیم در میان گروه‌های تیمار اختلاف معنی‌داری را نداشت ($P>۰/۰۵$). نتایج فعالیت آنزیم‌های کبدی و آنتی‌اکسیدان در سرم ماهی های تیمارهای مختلف در جدول ۲ ارائه شده است. کمترین میزان فعالیت آنزیم AST و ALT در T3 در مقایسه با سایر تیمارها و گروه کنترل مشاهده شد ($P<۰/۰۵$). نتایج فعالیت‌های آنتی‌اکسیدان سرمی نیز نشان داد که استفاده از عصاره رزماری پرتودیده و پرتوندیده بر افزایش میزان فعالیت آنزیم SOD و CAT در سرم ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تأثیر معنی‌داری نسبت به گروه کنترل داشتند ($P<۰/۰۵$). بیشترین میزان فعالیت آنزیم SOD در گروه T3 با میزان ۰/۸۹±۰/۰۳ واحد بر میلی‌لیتر مشاهده شد و این میزان افزایش معنی‌داری را با سایر تیمارها نیز نشان داد ($P<۰/۰۵$). همچنین فعالیت آنزیم CAT نیز الگوی مشابه با SOD را نشان داد به‌طوری‌که در T3 میزان فعالیت آنزیم

CAT نسبت به تیمارهای دیگر به‌صورت معنی‌داری بیشتر بود ($P<۰/۰۵$). این در حالی است که گروه T1 با پودر خشک رزماری و گروه کنترل اختلاف معنی‌داری را در میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نشان ندادند ($P>۰/۰۵$).

بحث

در سال‌های اخیر استفاده از گیاهان و مشتقات آن‌ها به‌دلیل بهبود اثر رشد، تقویت پاسخ‌های سیستم ایمنی، بهبود سیستم آنتی‌اکسیدانی و کاهش چربی در موجودات زنده مورد توجه محققین قرار گرفته‌اند (Reyes-Cerpa *et al.*, 2018). بنابراین گیاهان و ترکیبات استخراج شده از آن‌ها می‌توانند انتخاب مناسبی برای ارتقاء سلامت با رویکرد بهداشتی و درمانی باشند (Tironi *et al.*, 2010; Lin *et al.*, 2017). در مطالعه حاضر گیاه رزماری در سه شکل پودر خشک، عصاره الکلی و عصاره الکلی پرتودیده با دزهای مشخص به جیره پایه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان اضافه شدند که منجر به بهبود فعالیت آنزیم‌های گوارشی و برخی فاکتورهای بیوشیمیایی در سرم ماهیان شدند.

بررسی وضعیت سلامتی ماهی، به‌خصوص در زمان مصرف انواع افزودنی‌ها، از طریق تعیین میزان متابولیت‌های سرمی و خونی امکان‌پذیر است (Adel *et al.*, 2021). در این مطالعه کاهش معنی‌دار میزان متابولیت‌های انرژی مانند گلوکز و تری‌گلیسیرید پس از اضافه نمودن عصاره رزماری به‌خصوص در گروه عصاره پرتودهی شده مشاهده شد. Karataş و همکاران (۲۰۲۰) نیز نشان دادند که مصرف عصاره الکلی رزماری قادر به کاهش میزان گلوکز، تری‌گلسیرید و کلسترول در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان است. کاهش میزان متابولیت‌های انرژی می‌تواند به‌دلیل سرکوب جذب چربی و ترشح بسیار کم لیپوپروتئین یا به‌طور کلی مهار ترشح لیپوپروتئین‌ها در روده باشد (Blade *et al.*, 2010; Ngamukote *et al.*, 2011). در میزان کلسترول سرمی ماهیان تحت تیمار نسبت به گروه شاهد، تغییر محسوسی مشاهده نشد. اما لازم به ذکر است که میزان کلسترول سرمی در محدوده طبیعی و قابل قبول برای ماهی است. به‌طور کلی مکانیسم و علت دقیق این تغییرات لیپیدی که در اثر مصرف عصاره الکلی گیاه رزماری ایجاد شده است به‌خوبی مشخص نیست و نیازمند تحقیقات بیشتری است اما به‌خوبی مشخص است که با تأثیر بر متابولیسم کبدی در اتباط است. در مطالعه حاضر، کاهش گلوکز سرمی تأثیر مثبت بکارگیری گیاه رزماری به‌خصوص عصاره پرتودیده آن را بر گلوکز سرمی خون ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان را نشان می‌دهد. کاهش در میزان گلوکز خون به بهبود سیستم آنتی‌اکسیدانی در سلول‌های پانکراس در تولید انسولین نسبت داده می‌شود (Talpur *et al.*, 2013). ضمناً مطالعات نیز نشان داده است که فلاونوئیدهای موجود در گیاهان، از طریق ممانعت از انتقال گلوکز وابسته به سدیم، قادر به کاهش جذب گلوکز در روده موجودات می‌باشد (Soleimany *et al.*, 2016). بنابراین ترکیبات پلی‌فنلی از راه‌های مختلف قادر به کاهش میزان گلوکز سرمی می‌باشند. نتایج مشابهی در تحقیقات گذشته نیز گزارش شده است. به‌عنوان مثال، افزودن عصاره گل ختمی (*Althaea officinalis*) و سیلیمارین حاوی ترکیبات پلی-فنلی به جیره غذایی ماهی کپور معمولی و قزل آلای رنگین کمان سبب کاهش میزان گلوکز سرمی گردید (Banaee *et al.* 2011; Soleimany *et al.*, 2016).

نتایج این پژوهش نشان داد وجود عصاره الکلی گیاه رزماری در دو حالت پرتودیده و پرتوندیده در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان موجب افزایش فعالیت آنزیم-های لیپاز و تریپسین سرمی می‌شود؛ این در حالی است که فعالیت آنزیم آمیلاز تحت تأثیر همه حالت‌های گیاه رزماری نسبت به گروه شاهد افزایش یافت. درک چنین نتایجی مستلزم پژوهش‌های بیشتری از نظر سازوکار تنظیم بیان ژن‌های آنزیم‌های مختلف بر این مسیرهای بیوشیمیایی است. اما می‌توان به این نکته اشاره کرد که تولید رادیکال‌های آزاد و به‌دنبال آن پراکسیداسیون چربی‌ها منجر به تخریب بافت‌های نرم می‌گردد. همچنین این عارضه در نهایت موجب آسیب‌های بافتی در لوزالمعده و در نتیجه کاهش ترشح آنزیم‌های گوارشی از جمله پروتئاز و لیپاز می‌شود (Zhan *et al.*, 2005). در مقابل، تقویت فعالیت آنتی‌اکسیدان در اثر مصرف عصاره رزماری غنی از ترکیبات پلی‌فنلی، قادر به بهبود فعالیت لوزالمعده و در نتیجه افزایش ترشح آنزیم‌های گوارشی در ماهی‌های تغذیه شده با عصاره است. بهبود عملکرد آنزیم های گوارشی به‌دنبال مصرف گیاهان حاوی ترکیبات پلی‌فنلی در مطالعات قبلی نیز نشان داده شد. به‌عنوان مثال، مصرف عصاره هیدرواالکلی به لیمو (*Aloysia citrodora*) غنی از ترکیبات پلی‌فنلی سبب

بالارفتن میزان آنزیم آمیلاز در تاسماهی سیبری شد (Adel *et al.*, 2021). در کل، نتیجه نهایی افزایش ترشح آنزیم-های گوارشی بهبود عملکرد رشد در گونه‌های ماهی می-باشد.

افزایش سطح آمینوترانسفرازها (ALP, AST, ALT) به‌داخل خون به‌دلیل آسیب کبدی و در نتیجه نشت این آنزیم‌ها از سیتوزول به داخل پلاسمای خون می‌باشد (Mansour *et al.*, 2002). در این تحقیق، تیمار جیره ماهیان با عصاره پرتودیده گیاه رزماری، فعالیت آنزیم‌های کبدی AST و ALT را در سرم خون کاهش داد؛ و در سایر گروه‌ها اختلاف معنی‌داری با گروه کنترل مشاهده نشد. بنابراین چنین به‌نظر می‌رسد که عصاره الکلی پرتودیده گیاه رزماری اثر محافظتی بالاتری بر کبد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان داشته است. در مطالعه انجام شده توسط Karataş و همکاران (۲۰۲۰)، بهبود وضعیت کبد چرب (liver steatosis) ایجاد شده در اثر عفونت، استرس اکسیداتیو، سموم و کمبود اکسیژن با مصرف عصاره الکلی رزماری گزارش گردید. به‌نظر می‌رسد که مصرف عصاره پرتودهی شده رزماری نیز به‌همین طریق قادر به محافظت بافت کبد ماهی و کاهش میزان آنزیم‌های کبدی باشد. مکانیسم عمل بهبود عملکرد عصاره رزماری متعاقب پرتودهی ممکن است مربوط به تغییر در ساختار آن با پرتو گاما باشد زیرا پرتودهی قادر به آزادسازی فنل‌های با وزن کم و افزایش فعالیت این ترکیبات مفید باشد.

تغذیه ماهیان با جیره حاوی عصاره الکلی پرتودیده و پرتوندیده گیاه رزماری منجر به افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های اکسیدانی CAT و SOD سرمی در مقایسه با گروه شاهد گردید. مطالعه Karataş و همکاران (۲۰۲۰) نیز نشان داد که تغذیه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با جیره حاوی عصاره الکلی رزماری منجر به افزایش فعالیت آنزیم‌های سیستم آنتی‌اکسیدان شامل CAT و SOD نسبت به گروه شاهد می‌شود. در مطالعه Rezanejad و همکاران (۲۰۱۹b) نیز بهبود فعالیت آنتی‌اکسیدان و کاهش شاخص پراکسید در فیله ماهی‌های قزل‌آلای تغذیه شده از عصاره رزماری مشاهده شد. این نتایج بیانگر این مطلب هستند که عصاره الکلی رزماری در دو حالت ذکر شده سیستم دفاع آنزیمی را در برابر رادیکال‌های آزاد حاصل از استرس‌های مختلف در بدن ماهی فعال می‌سازند. در بررسی‌های مختلف مشخص شده است که مهم‌ترین جزء تشکیل‌دهنده عصاره گیاه رزماری، اسید کافئیک و مشتقات رزماری مانند رزمارینیک اسید، فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی از خود نشان داده‌اند (Erkan *et al.*, 2008; Hajihosseini *et al.*, 2013). در تحقیق حاضر مقایسه‌ای بین حالت‌های مختلف گیاه رزماری استفاده شده در جیره ماهی مشخص نمود که پرتوتابی می‌تواند خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره الکلی گیاه رزماری را افزایش دهد. زیرا پرتو گاما می‌تواند پیوندهای شیمیایی پلی‌فنل‌ها را بشکند، بنابراین فنل‌های محلول با وزن مولکولی کم را آزاد و فعالیت آنتی‌اکسیدانی این ترکیبات را تقویت می‌کند (Adamo *et al.*, 2004). به‌نظر می‌رسد که تأثیر مثبت عصاره پرتودهی شده رزماری بر سایر شاخص‌ها مانند فعالیت آنزیم‌های کبدی، آنزیم‌های گوارشی و متابولیت‌های سرمی نیز تا حدود زیادی مربوط به همین تقویت فعالیت آنتی‌اکسیدان باشد.

در کل نتایج این پژوهش نشان داد که مصرف عصاره الکلی رزماری به‌خصوص در فرم پرتودهی شده قادر به بهبود فعالیت آنزیم‌های گوارشی، کاهش متابولیت‌های سرمی، کاهش فعالیت آنزیم‌های کبدی و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان است. مطالعات بیشتر در خصوص بررسی مکانیسم عمل عصاره پرتودهی شده در ماهی‌های تحت استرس نیاز است تا نحوه عملکرد این ترکیبات به‌طور دقیق مشخص گردد.

تقدیر و تشکر

این مطالعه با حمایت مالی پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای انجام گرفته است.

منابع

Adamo M., Capitani D., Mannina L., Cristinzio M., Ragni P., Tata A. 2004. Decontamination treatment by ionizing radiation. *Radiation Physics and Chemistry* 71, 167-170.

Adel M., Dawood M.A., Gholamhosseini A., Sakhaie F., Banaee, M. 2021. Effect of the extract of lemon verbena (*Aloysia citrodora*) on the growth performance, digestive enzyme activities, and immune-related genes in Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*). *Aquaculture* 541, 736797.

Aebi H. 1974. Methods of enzymatic analysis. In Bergmeyer, H.U., Ed., Verlag Chemie/Academic Press. Weinheim/NewYork. pp. 673-690.

Agarwal A., Sekhon L.H. 2010. The role of antioxidant therapy in the treatment of male infertility. *Human Fertility* 13, 217-25.

Ahuja S., Kumar M., Kumar P.V.K., Gupta R.K., Singhal Y.A., Singh B. 2014. Metabolic and biochemical changes caused by gamma irradiation in plants. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry* 300, 199-212.

Ashraf Z., Hamidi-Esfahani Z. 2011. Date and date processing: a review. *Food Reviews International* 27(2), 101-133.

Ayoub H.F., El Tantawy M.M., Abdel-Latif H.M.R. 2019. Influence of moringa (*Moringa oleifera*) and rosemary (*Rosmarinus officinalis*), and turmeric (*Curcuma longa*) on immune parameters and challenge of Nile tilapia to *Aeromonas hydrophila*. *Life Science Journal* 16(4), 8-15.

Baker J.E. 1991. Purification and partial characterization of alpha-amylase allozymes from the lesser grain borer, *Rhyzopertha dominica*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 21(3), 303-311.

Banaee M., Sureda A., Mirvaghefi A.R., Rafei G.R. 2011. Effects of long-term silymarin oral supplementation on the blood biochemical profile of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish Physiology and Biochemistry* 37, 887-896.

Bladé C., Arola L., Salvadó M.J. 2010. Hypolipidemic effects of proanthocyanidins and their underlying biochemical and molecular mechanisms. *Molecular Nutrition & Food Research* 54, 37-59.

Byun Y., Bae H.J., Cooksey K., Whiteside S. 2010. Comparison of the quality and storage stability of salmon packaged in various retort pouches. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie* 43(3), 551-555.

Erkan N., Ayranci G., Ayranci E. 2008. Antioxidant activities of rosemary (*Rosmarinus Officinalis* L.) extract, black seed (*Nigella sativa* L.) essential oil, carnosic acid, rosmarinic acid and sesamol. *Food Chemistry* 110(1), 76-82.

Erlanger B., Kokowsky N., Cohen W. 1961. The preparation and properties of two new chromogenic substrates of trypsin. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 95, 271-278.

Hajhosseini L., Khaki A., Merat E., Ainehchi N. 2013. Effect of rosmarinic acid on sertoli cells apoptosis and serum antioxidant levels in rats after exposure to electromagnetic fields. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines* 10(6), 477-80.

Karataş T., Korkmaz F., Karataş A., Yildirim S. 2020. Effects of Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) extract on growth, blood biochemistry, immunity, antioxidant, digestive enzymes and liver histopathology of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture Nutrition* 26(5), 1533-1541.

Lin S.Y., Wang Y.Y., Chen W.Y., Liao S.L., Chou S.T., Yang C.P., Chen C.J. 2017. Hepatoprotective activities of rosmarinic acid against extrahepatic cholestasis in rats. *Food Chemistry and Toxicology* 108, 214 - 23.

Magnadottir B. 2006. Innate immunity of fish. *Fish and Shellfish Immunology* 20(2), 137-151.

Mansour H.A., Newairy A.A., Yousef M.I., Sheweita SA. 2002. Biochemical study on the effects of some Egyptian herbs in alloxan-induced diabetic rats. *Toxicology* 170(3), 221-228.

Mousavi S., Sheikhzadeh N., Tayefi-Nasrabadi H., Alizadeh Salteh S., Khani Oushani A., Firouzamandi M., Mardani K. 2020. Administration of Grape (*Vitis vinifera*) seed extract to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) modulates growth performance, some biochemical parameters, and antioxidant relevant gene expression. *Fish Physiology and Biochemistry* 46, 777-786.

Naiel M.A.E., Ismael N.E.M., Negm S.S., Ayyat M.S., Al-Sagheer A.A. 2020. Rosemary leaf powder-supplemented diet enhances performance, antioxidant properties, immune status, and resistance against bacterial diseases in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture* 526, 735370.

Naiel M.A.E., Ismael N.E.M., Shehata S.A. 2019. Ameliorative effect of diets supplemented with rosemary (*Rosmarinus officinalis*) on aflatoxin B1 toxicity in terms of the performance, liver histopathology, immunity and antioxidant activity of *Nile Tilapia* (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture* 511, 734264.

Ngamukote S., Mäkynen K., Thilawech T., Adisakwattana S. 2011. Cholesterol-lowering activity of the major polyphenols in grape seed. *Molecules* 16, 5054-5061.

Ojagh S.M., Rezaei M., Razavi S.H. 2014. Improvement of the storage quality of frozen rainbow trout by chitosan coating incorporated with cinnamon oil. *Journal of Aquatic Food Product Technology* 23, 146-154.

Pérez M.B., Calderon N.L., Croci C.A. 2007. Radiation-induced enhancement of antioxidant activity in extracts of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). *Food Chemistry* 104, 585-592.

Reyes-Cerpa S., Vallejos-Vidal E., Gonzalez-Bown M.J., Morales-Reyes J., Pérez-Stuardo D., Vargas D., Reyes-López F.E. 2018. Effect of yeast (*Xanthophyllomyces dendrorhous*) and plant (Saint John's wort, lemon balm, and rosemary) extract based functional diets on antioxidant and immune status of Atlantic salmon (*Salmo salar*) subjected to crowding stress. *Fish and Shellfish Immunology* 74, 250-259.

Rezanejad R., Ojagh S.M., Heidarieh M., Raeisi M., Alishahi A., Rafiee G. 2019b. The Impact of Diets Supplemented with Different Forms of Rosemary and BHA on Chemical, Microbial and Sensory Properties of Rainbow Trout Fillet. *Journal of Aquatic Food Product Technology* 28(5), 478-494.

Rezanejad R., Ojagh S.M., Heidarieh M., Raeisi M., Rafiee G., Alishahi A. 2019a. Characterization of gamma-irradiated Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences* 16(1), 43-47.

Sheikhzadeh N., Tayefi-Nasrabadi H., Khani Oushani A., Najafi Enferadi H. 2012. Effects of *Haematococcus pluvialis* supplementation on antioxidant system and metabolism in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish Physiology and Biochemistry* 38, 413-419.

Talpur, A.D., Ikhwanuddin, M., Ambok Bolong, A. 2013. Nutritional effects on ginger (*Zingiber officinal*) on immune response of Asian sea bass (*Lates calcarifer*) and disease resistance against *Vibrio harveeyi*. *Aquaculture* 400(401), 46-52.

Tepe B. 2007. Antioxidant potentials and rosmarinic acid levels of the methanolic extracts of Salvia virgata (Jacq), *Salvia staminea* (Montbret and Aucher ex Bentham) and *Salvia verbenaca* (L.) from Turkey. *Bioresource Technology* 99, 1584-1588.

Tironi V.A., Tomás M.C., Añón M.C. 2010. Quality loss during the frozen storage of sea salmon (*Pseudopercis semifasciata*) effect of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) extract. *Journal of Food Science and Technology* 43, 263-272.

Worthington C.C. 1991. Worthington enzyme manual related Biochemical.3th Edition. Freehold, New Jersey. pp. 212-215.

Xu Q.Y., Wang C.A., Zhao Z.G., Luo L. 2012. Effects of Replacement of Fish Meal by Soy Protein Isolate on the Growth, Digestive Enzyme Activity and Serum Biochemical Parameters for Juvenile Amur Sturgeon (*Acipenser schrenckii*). *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 25(11), 1588-94.

Young I.S., Woodside J.V. 2001. Antioxidants in health and disease. *Journal of Clinical Pathology* 54(3), 176-186.

Yousefi M., Hoseini S.M., Vatnikov Y.A., Kulikov E.V., Drukovsky S.G. 2019. Rosemary leaf powder improved growth performance, immune and antioxidant parameters, and crowding stress responses in common carp (*Cyprinus carpio*) fingerlings. *Aquaculture* 505, 473-480.

Zarbakhsh S., Rastegar S. 2019. Influence of postharvest gamma irradiation on the antioxidant system, microbial and shelf life quality of three cultivars of date fruits (*Phoenix dactylifera* L.). *Scientia Horticulturae* 247, 275-286.

Zhan X.A., Li J.X., Xu Z.R., Wang M. 2005. Effects of fluoride on pancreatic digestive enzyme activities and ultrastructure in young pigs. *Fluoride* 38(3), 215.

Journal of Aquaculture Sciences Vol. 11, No 20, 11-20
Print ISSN: 2322-5351
www.aquaculturesciences.ir

Ameliorative effects of irradiated rosemary (*Rosmarinus officinalis*) alcoholic extract on serum biochemical parameters and digestive enzyme activities in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)

Marzieh Heidarieh*[1], Najmeh Sheikhzadeh[2], Saeed Rajabifar[3], Narjes Damavandi Kamali[4]

[1]Nuclear Science and Technology Research Institute, Tehran, Iran.
[2]Department of Food Hygiene and Aquatic Animals, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tabriz, Tabriz, Iran.
[3]Department of Radioisotope and cyclotron Radiopharmaceuticals Group, School of Radiation Application, Nuclear Science and Technology Research Institute, Tehran, Iran.
[4]Department of Seafood Science and Technology, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resource, Gorgan, Iran.

*Corresponding author: haidariehm81@gmail.com

Received: 07.Feb.2023 **Accepted: 05.Mar.2023**

Abstract
There are numerous studies about the positive effects of rosemary on growth performance, digestive enzyme activity, antioxidant and immune systems, and disease resistance in different fish species. On the other hand, the efficacy of γ-irradiation to enhance the biological activities of rosemary has been demonstrated. Therefore, this study aimed to evaluate the potential of rosemary in three forms (crude powder, alcoholic extract, and irradiated alcoholic extract) on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) serum antioxidant system, liver-related enzyme activities, some metabolites and digestive enzyme activities. After synthesizing the alcoholic extract of rosemary, γ-irradiation was performed at 30 kGy with a Cobalt-60 gamma irradiator. In the *in vivo* trial, fish specimens (~225.36 g) were randomly distributed into four groups with three replicates. After the seven-day adaptation period, fish were fed with the control diet or the treatment diets (crude powder= T1, alcoholic extract= T2, or irradiated alcoholic extract = T3) for 50 days. The results showed that the highest serum glucose level was seen in the control group (118.43±4.16 mg dl^{-1}) whereas the lowest level was noted in the T3 group (41.25±1.59 mg dl^{-1}). In parallel, triglyceride levels decreased in the T2 and T3 groups compared with the control group. Digestive enzyme activities also improved in all treated groups, especially in the T2 and T3 groups, compared to the control group. Liver-related enzyme activities also decreased following the administration of the T3 group. Serum antioxidant enzyme activities also increased in T2 and T3 groups compared with the control group with the highest SOD and CAT activities shown in the T3 group. In conclusion, the present study showed that 50-day dietary administration of rosemary alcoholic extract, especially in the irradiated form, could enhance some serum metabolites, antioxidant enzyme activities, liver-related enzyme activities as well as digestive enzyme activities in rainbow trout.

Keywords: Alcoholic extract, Gamma ray, Rainbow trout, Rosemary