شاپای الکترونیکی: ۲۵۳۸-۴۱۴۷ شیل ۵ (۳) ۱۳۹۶، ۱۳۲-۱۲۵ E-ISSN: 2538-4147

شیل

https://shilsj.ut.ac.ir; www.shil-journal.ir

اثر اسانس گیاه مشگک (*Ducrosia anethifolia*) به صورت مکمل خوراکی بر شاخص‌های ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

فاطمه دهقان[۱]، آریا وزیرزاده[۲*]

[۱] کارشناس ارشد تکثیر و پرورش آبزیان، گروه مهندسی منابع‌طبیعی و محیط‌زیست، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز

[۲] دانشیار، گروه مهندسی منابع‌طبیعی و محیط‌زیست، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز

*مسئول مکاتبات: aryavazirzadeh@yahoo.com

نوع مقاله:
پژوهشی

تاریخ دریافت:
۱۳۹۶/۹/۱۰

تاریخ انتشار:
۱۳۹۶/۹/۳۰

واژگان کلیدی:
اسانس مشگک
پاسخ ایمنی
قزل‌آلای رنگین‌کمان
محرک ایمنی

چکیده

در سال‌های اخیر استفاده از محرک‌های ایمنی برای پیشگیری از بیماری‌ها به عنوان جایگزین آنتی‌بیوتیک‌ها در آبزی‌پروری، رایج شده است. در این مطالعه اثر اسانس گیاه مشگک (*Ducrosia anethifolia*) بر رشد و پاسخ‌های ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) بررسی شد. اسانس این گیاه با غلظت‌های مختلف (۰/۰۰۱، ۰/۰۱ و ۰/۱ درصد) با روغن آفتاب‌گردان ترکیب و به جیره غذایی اضافه گردید و ماهی‌ها به مدت ۴۰ روز با این جیره‌ها غذادهی شدند. تعداد گلبول‌های سفید، میزان فعالیت لیزوزیم و باکتری‌کشی سرم و میزان فعالیت انفجار تنفسی هر ۱۰ روز اندازه‌گیری شد. میانگین گلبول‌های سفید تیمارهای ۰/۰۱ و ۰/۱ از لحاظ آماری بیش از تیمارهای ۰/۰۰۱ و شاهد بود. میانگین فعالیت باکتری‌کشی سرم تیمارهای مختلف تفاوت معنادار نداشت ($P>0.05$) اما تیمار چهارم در روز ۱۰ و تیمار شاهد در روز ۳۰ بیش‌ترین فعالیت باکتری‌کشی را نشان دادند. میزان فعالیت باکتری‌کشی سرم در تیمارهای شاهد و چهارم روز ۲۰ نسبت به روزهای ۱۰ و ۳۰ کاهش چشم‌گیر نشان داد. بالاترین میانگین فعالیت انفجار تنفسی در تیمار ۰/۰۱ و کم‌ترین میزان آن در تیمار ۰/۰۰۱ مشاهده شد.

مقدمه

بر اساس گزارش فائو، صنعت آبزی‌پروری با رشد سالیانه بیش از شش درصد، سریع‌ترین رشد را در بین تمام منابع حیوانی در جهان دارد (FAO, 2014). ماهی‌های پرورشی به دلیل استرس‌های محیط متراکم بیشتر مستعد بیماری هستند. تلفات بالای ماهی در مزارع، به دلیل آلودگی محیطی، استرس و عوامل عفونی متعاقب آن است. حدود ۶۰٪ از تلفات در مزارع ناشی از بیماری‌های عفونی است (Pavaraj et al., 2011). برای پیشگیری از زیان‌های اقتصادی ناشی از بیماری، پرورش‌دهندگان باید اقداماتی برای پیشگیری و درمان انجام دهند. آلودگی محیط زیست، تجمع باقیمانده دارو در محیط و بدن ماهی، گسترش پاتوژن‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک و توقف سیستم ایمنی ماهی از جمله اثرات مضر جانبی مصرف این دارو است (Alexander et al., 2011). به همین دلیل روش‌های پیشگیری نسبت به درمان با آنتی‌بیوتیک ترجیح داده می‌شود. ماهی‌ها به عوامل بیماری‌زا از دو طریق غیراختصاصی و اختصاصی پاسخ می‌دهند، اما بیشتر متکی به سیستم ایمنی غیراختصاصی یا ذاتی هستند. بنابراین، افزایش ایمنی

ذاتی می‌تواند وضعیت سلامت ماهی را بهبود بخشد و مقاومت در برابر بیماری را افزایش دهد (Harikrishnan et al., 2011a). در آبزی‌پروری، یکی از امیدبخش‌ترین روش‌ها، تقویت عملکرد سیستم دفاعی از طریق اقدامات پیشگیرانه‌ای مانند محرک‌های ایمنی است (Harikrishnan et al., 2011b).

محرک‌های ایمنی زیادی در آبزی‌پروری استفاده شده‌اند که شامل محصولات سنتتیک مانند لوامیزول، محصولات زیستی مانند باکتری‌ها ، ترکیبات جانوری و ترکیبات گیاهی است. محرک‌های ایمنی گیاهی پتانسیل بسیار زیادی در برابر واکسن‌ها و آنتی‌بیوتیک دارند، علاوه بر این، ارزان و در دسترس هستند (Alishahi and Abdy, 2014). برعکس داروهای شیمیایی و ضدعفونی‌کننده‌ها، محرک‌های ایمنی گیاهی هیچ باقیمانده مضری در محیط‌زیست به جا نمی‌گذارند، سبب مقاومت دارویی پاتوژن نمی‌شوند و دوست‌دار محیط‌زیست هستند (Harikrishnan et al., 2011a).

گیاه مشگک با نام علمی *Ducrosia anethifolia* یکی از گیاهان تیره چتریان (Apiaceae) و بومی ایران است. این گیاه یکی از سه گونه *Ducrosia* است که در جنوب و غرب ایران، افغانستان، پاکستان، سوریه، عراق، لبنان، عراق و بعضی کشورهای حوزه‌ی خلیج فارس پراکنش دارد. این گیاه در ایران به نام‌های رشگک و مشک‌بو نیز شناخته می‌شود. پژوهش‌ها بر این گیاه برای بررسی اثرات ضدمیکروبی، ضداضطراب و تسکین درد بر باکتری، موش و انسان صورت گرفته است که فعالیت‌های زیستی مانند اثرات ضدمیکروبی، ضدباکتریایی و اثرات ضداضطراب آن را اثبات کرده‌اند (Hajhashemi et al., 2010).

با توجه به بومی‌بودن این گیاه و فراوانی نسبی آن در مناطق جنوبی و شرقی استان فارس و گزارش‌هایی مبنی بر اثرات مفید آن در مهره‌داران آزمایشگاهی از جمله موش‌صحرایی، این تحقیق با هدف ارزیابی اثرات این گیاه در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان انجام شد.

مواد و روش‌ها

تهیه اسانس گیاه مشگک و آماده‌سازی جیره‌های غذایی

گیاه مشگک در اردیبهشت سال ۹۴ از شهرستان جهرم جمع‌آوری گردید و در بخش علوم‌باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز مورد تأیید قرار گرفت. اسانس این گیاه پس از خشک شدن با دستگاه نیمه صنعتی (ساخت شرکت نماگل اصفهان) و با روش تقطیر با آب و بخار استخراج و تا زمان استفاده در فریزر با دمای ۲۱- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

غذای تجاری مخصوص قزل‌آلا (شرکت ۲۱ بیضا، شیراز، ایران) و جیره‌های حاوی درصدهای مختلف اسانس (۰/۰۰۱، ۰/۰۱ و ۰/۱ درصد) تهیه شد. به این منظور، مقادیر مورد نیاز اسانس در روغن آفتاب‌گردان مخلوط و سپس به غذا آغشته گردید. در جیره شاهد تنها از روغن آفتاب‌گردان استفاده شد. غذاها در فریزر در دمای ۲۱- درجه سانتی‌گراد و غذای مصرفی هر روز در یخچال در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

شرایط نگهداری ماهی‌ها

مخازن هر روز پاک‌سازی شد و تعویض آب روزانه برقرار بود. دما در طول مدت آزمایش ۲/۳۲ ± ۸/۲۲ درجه سانتی‌گراد، پی‌اچ ۰/۲۶± ۸/۳۱، میزان اکسیژن محلول ۱/۰۸ ± ۵/۹۱ میلی‌گرم بر لیتر، میزان مواد معلق ۰/۰۱±۰/۲۷ گرم بر لیتر و هدایت الکتریکی آب ۰/۰۲ ± ۰/۵۳ میکروزیمنس گزارش شد. هوادهی دائم نیز با استفاده از هواده برقرار بود.

نمونه‌برداری

۳۰۰ قطعه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با میانگین وزنی ۸/۱ ± ۳۲/۶ گرم از کارگاه ۲۲ بهمن شهرستان سپیدان در استان فارس خریداری شد. قبل از ورود ماهی‌ها، سالن و مخازن نگهداری ماهی ضدعفونی و سپس مخازن (۷۰۰ لیتری) آبگیری شد. ماهی‌ها به طور تصادفی به ۱۲ گروه شامل ۴ تیمار و ۳ تکرار تقسیم شدند که هر تکرار شامل ۲۵ قطعه ماهی بود. مدت زمان دو هفته برای سازگاری ماهی‌ها با شرایط جدید در نظر گرفته شد. نمونه‌برداری با فواصل ۱۰ روزه انجام و در هر دوره شاخص‌های ایمنی‌شناسی اندازه‌گیری شدند. یک روز قبل از هر بار نمونه‌برداری، غذادهی قطع و در روز نمونه‌برداری خون‌گیری از ساقه دمی با سرنگ ۲/۵

میلی‌لیتری انجام شد.

تعداد گلبول‌های سفید

برای سنجش این فاکتور از روش رنگ‌آمیزی نات و هریک (Natt and Herrick, 1952) و شمارش میکروسکوپی توسط لام هموسایتومتر استفاده شد.

فعالیت باکتری‌کشی سرم

برای این فاکتور باکتری *A. hydrophila* با PBS (Peripheral Blood Smear) مخلوط شد. رقت این سوسپانسیون طوری تنظیم شد که دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۴۶ نانومتر، جذب ۰/۵ را نشان دهد. سپس این سوسپانسیون به صورت سریالی و به میزان ۱:۱۰ پنج بار رقیق‌سازی گردید. کم‌ترین رقت باکتری برای انجام این آزمایش استفاده شد. میزان ۱۰ میکرولیتر از سوسپانسیون با ۱۰۰ میکرولیتر سرم خون ترکیب و به مدت ۱ ساعت در دمای ۲۰ درجه‌ی سانتی‌گراد انکوبه شد. در گروه شاهد به جای سرم از PBS استفاده شد. پس از انکوباسیون، ۱۰۰ میکرولیتر از این ترکیب روی پلیت‌های نوترینت آگار کشت داده شد و بعد از ۲۴ ساعت، تعداد کلنی‌های رشد کرده بر پلیت‌ها شمارش شد. (Rao et al., 2006).

فعالیت انفجار تنفسی

برای سنجش این شاخص از روش Anderson و Siwicki در سال ۱۹۹۵ استفاده شد. به این منظور ابتدا محلول ۰/۲ درصد NBT (نیترو بلو تترازولیوم) با استفاده از PBS ساخته شد. بلافاصله بعد از خونگیری ۵۰ میکرولیتر خون غیرهپارینه با۵۰ میکرولیتر از محلول NBT (۰/۲ ٪) مخلوط شده و۳۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. پس از انکوباسیون ۵۰ میکرولیتر از این محلول برداشته و ۱ میلی‌لیتر دی‌متیل‌فرمامید به آن اضافه گردید. سپس در ۲۰۰۰ rpm به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. بعد از ۱۵ دقیقه فاز مایع رویی برداشته و عدد جذب آن در طول موج ۵۴۰ nm در دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. برای بلانک در دستگاه اسپکتروفتومتر در این آزمایش از دی‌متیل‌فرمامید استفاده شد.

آنالیز آماری

به منظور انتخاب بهترین دوز مصرفی در بهترین زمان، آنالیز داده‌های مربوط به تأثیرات زمان و تیمار با نرم‌افزار SAS، آنالیز Multiple testing و رویه Mixed انجام گرفت. برای تشخیص اختلافات بین تیمارها و زمان‌های مختلف، میانگین حداقل مربعات گروه‌ها پس از تصحیح، با روش توکی، از نظر وجود اختلاف معنادار مقایسه شدند. همچنین نرمال بودن داده‌ها با آزمون شاپیروویلک بررسی شد.

نتایج

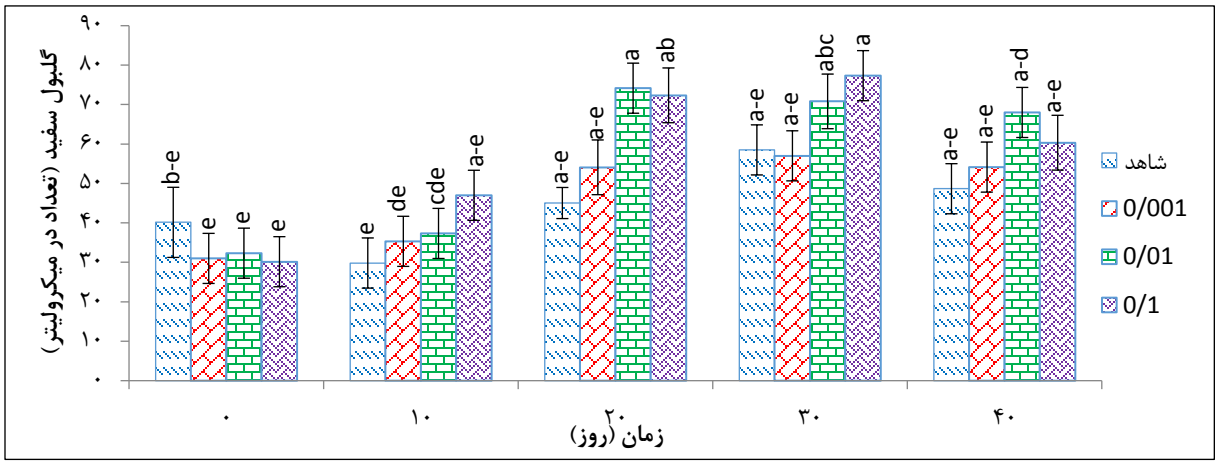
تعداد گلبول‌های سفید

طبق جدول ۱ تعداد کل گلبول‌های سفید در تیمارهای ۰/۰۱ و ۰/۱ درصد اسانس در کل دوره از تیمارهای شاهد و ۰/۰۰۱ از لحاظ آماری متفاوت و تعداد آن بیشتر بوده است. شکل ۱ بیان‌گر افزایش تدریجی تعداد گلبول‌های سفید در تیمارهای دریافت کننده اسانس در طی دوره آزمایش است. تیمار ۰/۱ و ۰/۰۱درصد از کم‌ترین تعداد گلبول سفید در روز صفر به بیشترین میزان در روز ۲۰ و ۳۰ رسیده است.

جدول ۱: میانگین حداقل مربعات تصحیح شده شاخص‌های ایمنی در تیمارهای مختلف تغذیه شده با اسانس مشگک در مدت زمان ۴۰ روز

تیمار	WBC	باکتری‌کشی	انفجار تنفسی
شاهد	۴۴/۴۳±۲/۶۶^{b}	۲/۴±۰/۳۴ ^{a}	۰/۸۰۳±۰/۰۲۹^{bc}
۰/۰۰۱	۴۶/۳۱±۲/۳۷^{b}	۰/۹±۰/۳۴ ^{a}	۰/۷۷۶±/۰۳۰ ^{c}
۰/۰۱	۵۶/۵۲±۲/۳۷^{a}	۱/۳۱±۰/۳۴ ^{a}	۰/۹۵۷±۰/۰۲۹ ^{a}
۰/۱	۵۷/۴۳±۲/۴۲^{a}	۱/۴۱±۰/۳۴ ^{a}	۰/۹۰۱±۰/۰۲۹^{ab}

اعداد بیان‌گر میانگین هر تیمار ± خطای استاندارد می‌باشد. تیمارهای حداقل دارای یک حرف مشترک از نظر آماری معنادار نیستند (P>0.05). WBC: تعداد گلبول‌های سفید در میکرولیتر خون؛ باکتری‌کشی بر حسب تعداد کلنی‌های باکتری بر کلنی‌های نمونه شاهد؛ و انفجار تنفسی بر حسب جذب نوری در طول موج ۵۴۰ نانومتر بیان شده است.

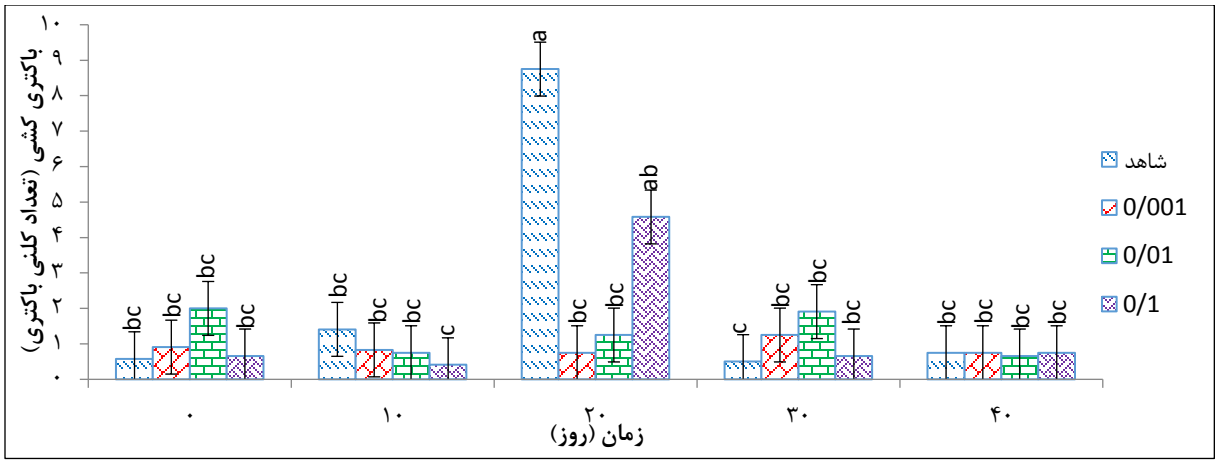


شکل ۱: تعداد گلبول‌های سفید قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با جیره های حاوی درصدهای مختلف اسانس گیاه مشگک.

حروف متفاوت بیانگر اختلاف معنادار در بین تیمارها است (P<0.05)

فعالیت باکتری‌کشی سرم

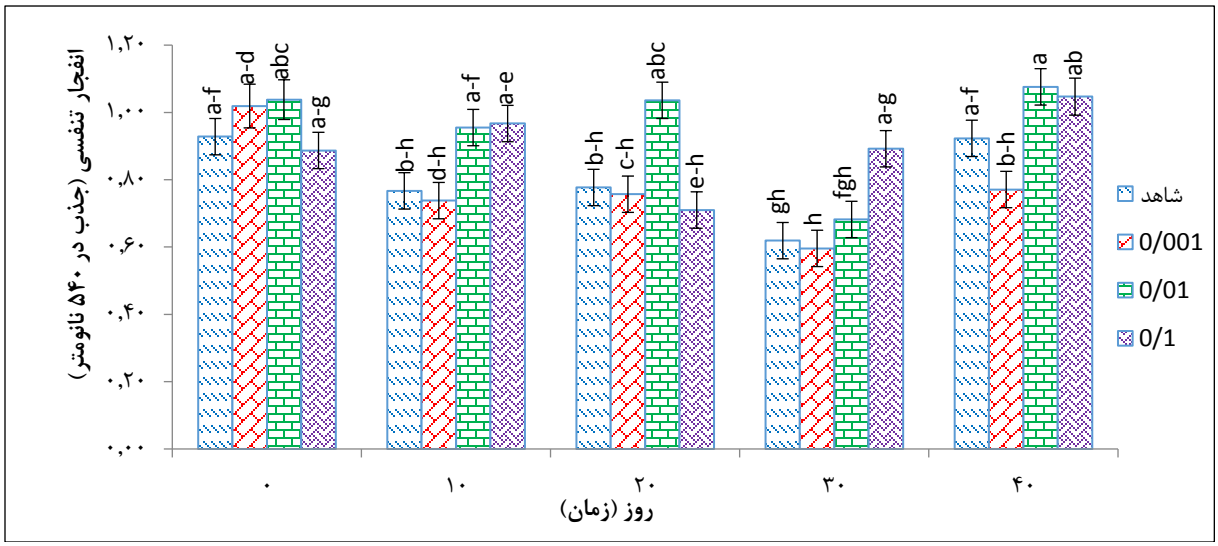
با توجه به جدول ۱ میانگین تیمارهای مختلف در طول دوره آزمایش تغییری نداشته است. شکل ۲ تفاوت تیمارهای مختلف در روزهای نمونه‌برداری را نشان می‌دهد. بر اساس این شکل تعداد باکتری‌ها در تیمار شاهد روز ۲۰ بیش‌ترین میزان را دارد و با تمامی تیمارها به جز تیمار چهارم در همان روز از نظر آماری متفاوت است. از آنجا که تعداد کلنی‌های مشاهده شده با میزان باکتری‌کشی سرم نسبت عکس دارد، پس کم‌ترین میزان فعالیت باکتری‌کشی سرم خون در روز ۲۰ و در تیمار شاهد اتفاق افتاده است. بیش‌ترین فعالیت باکتری‌کشی نیز در تیمار چهارم در روز ۱۰ و تیمار شاهد در روز ۳۰ مشاهده گردید. اگرچه این تفاوت فقط در مقایسه با تیمار شاهد و تیمار چهارم در روز ۲۰ از لحاظ آماری معنادار بود.



شکل ۲: میزان فعالیت باکتری‌کشی سرم قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با جیره‌های حاوی درصدهای مختلف اسانس گیاه مشگک. تفاوت آماری با حروف معنادار مشخص شده است (P<0.05)

فعالیت انفجار تنفسی

میانگین میزان فعالیت انفجار تنفسی (NBT) هر تیمار در کل دوره آزمایش که در جدول ۱ مشخص شده است، نشان می‌دهد که تیمار ۰/۰۱ درصد بیش‌ترین میزان NBT را داشته که با تیمارهای شاهد و ۰/۰۰۱ تفاوت آماری دارد. شکل ۳ بیان‌گر تفاوت همه تیمارها در روزهای مختلف است. بر اساس این شکل میزان فعالیت انفجار تنفسی در تیمارهای سوم و چهارم در روز ۴۰ نسبت به تیمارهای اول و دوم در روز ۱۰، تیمارهای دوم و چهارم در روز ۲۰ و تیمارهای شاهد، دوم و سوم در روز ۳۰ افزایش نشان داده‌اند. در این شاخص، تیمار ۰/۰۱ درصد در مجموع میانگین بالاتری نسبت به سایر تیمارها داشته و تغییرات کم‌تری نیز در طول دوره آزمایش نشان داده است. نکته قابل توجه آن است که حتی در گروه شاهد نیز میزان NBT به تدریج تا روز ۳۰ کاهش یافته و در روز ۴۰ به میزان اولیه خود در روز صفر بازگشته است. این موضوع می‌تواند به دلیل سازگاری احتمالی ماهی با تغذیه با اسانس و شرایط آزمایش در اواخر دوره آزمایش باشد.



شکل ۳: فعالیت انفجار تنفسی قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با جیره‌های حاوی درصدهای مختلف اسانس گیاه مشگک. تفاوت آماری با حروف معنادار مشخص شده است (P<0.05)

بحث

باتوجه به تمایل به رشد صنعت آبزی‌پروری و موانعی مانند بیماری‌ها و تلفات، راهکارهای بسیاری برای از بین بردن این موانع و پیشرفت این صنعت ارائه شده است. از میان این روش‌های متفاوت مانند داروهای شیمیایی، واکسن‌ها و محرک‌های ایمنی، افزایش ایمنی ماهی از طریق محرک‌های ایمنی ساده‌ترین و امیدبخش‌ترین روش برای مقابله با بیماری‌ها و استرس محسوب می‌شود. آبزیان برای بقا و مبارزه با پاتوژن‌ها بیشتر به سیستم ایمنی غیراختصاصی خود وابسته‌اند؛ لذا افزایش پاسخ ایمنی غیراختصاصی می‌تواند به بازماندگی و توان مقابله به بیماری در ماهی کمک کند (Harikrishnan et al., 2011a).

تعداد گلبول‌های سفید به عنوان یکی از شاخص‌های ایمنی بسیار مهم است. گلبول سفید به عنوان یکی از اجزای اصلی ایمنی غیراختصاصی در مطالعات بسیاری مورد توجه قرار گرفته است. مطالعات مختلف بیان‌گر افزایش گلبول سفید به دلیل استفاده از محرک ایمنی گیاهی هستند که این مطالعه نیز با توجه به تفاوت معنادار تعداد کل گلبول‌ها در تیمارهای سوم و چهارم موافق با نتایج آنان است (Hajibeglou and Sudagar, 2010; Soltani et al., 2010). از آنجا که بافت‌های مختلف لنفوئیدی و پادتن‌ها در تولید و تحریک افزایش گلبول‌های سفید نقش دارند (Uribe et al., 2011). بنابراین، این افزایش در تعداد گلبول‌ها می‌تواند به خاطر تحریک شدن این اندام‌ها و یا پادتن‌ها در اثر استفاده از اسانس باشد.

سیستم ایمنی ماهیان استخوانی برای پیشگیری از تکثیر و رشد باکتری در بدن فعالیت‌هایی انجام می‌دهد که به عنوان فعالیت باکتری‌کشی شناخته می‌شود. این امر با تولید ترکیبات ضدباکتری مانند پروتئین و سیتوکین و فعالیت‌های فاگوسیتوز و التهاب رخ می‌دهد. میزان فعالیت پروتئین‌های محافظ در خون ماهی با شاخص باکتری‌کشی سرم مشخص می‌شود (Biller-Takahashi et al., 2013). در پژوهش‌های پیشین اثر عصاره ترکیبی چند گیاه بر افزایش باکتری‌کشی نیز تأیید شده است (Hajibeglou and Sudagar, 2011). همچنین اسانس آویشن شیرازی در جیره غذایی ماهی کپور معمولی تنها در دوز ۶۰ ppm و در زمان‌های ۱۵ و ۲۲ روز بعد از غذادهی باعث افزایش میزان باکتری‌کشی شد (Soltani et al., 2010). در مطالعه‌ای که اثر ترکیب دو گیاه چینی همراه با عنصر بور در جیره غذایی بر ماهی تیلاپیا بررسی شد، نتایج حاکی از افزایش میزان فعالیت فاگوسیتوز و انفجار تنفسی بود. این مطالعه بیان داشت که میزان فعالیت فاگوسیتوز، پس از استفاده از محرک‌های ایمنی گیاهی افزایش می‌یابد و این افزایش در ترکیب با جیره غذایی بیشتر دیده می‌شود. یعنی استفاده از محرک ایمنی گیاهی در جیره غذایی می‌تواند باعث تحریک بیشتر فعالیت فاگوسیتوز شود (Ardó et al., 2008). از این رو یکی از عوامل افزایش فعالیت باکتری‌کشی در تیمارهای حاوی اسانس می‌تواند افزایش میزان فعالیت فاگوسیتوز در اثر استفاده اسانس به صورت خوراکی باشد.

تاکنون نتایج متفاوتی از میزان این فاکتور ارائه شده است. در یک مطالعه اثر محرک ایمنی ترکیب عصاره ۵ گیاه بر میزان انفجار تنفسی بررسی شد و نتایج در تمام غلظت‌ها نسبت به گروه شاهد مثبت بیان شد (Sudagar and Hajibeglou, 2010). ترکیب سیر در جیره غذایی قزل‌آلا با دوزهای ۰/۵ و ۱ درصد نیز میزان این فاکتور را افزایش داد (Nya and Aystin. 2011). میزان انفجار تنفسی، شاخص افزایش آنیون‌های اکسیژن در اثر فعالیت ماکروفاژها است و وظیفه اصلی ماکروفاژها نیز فاگوسیتوز است (Vera-Jimenez et al., 2013). با توجه به جدول ۱ و شکل ۳، می‌توان گفت اسانس این گیاه می‌تواند باعث تحریک ماکروفاژها و افزایش میزان فعالیت آن‌ها در خون ماهی شده باشد.

یکی از سریع‌ترین بخش‌های تأمین پروتئین، پرورش ماهی می‌باشد که متاسفانه با تلفات بسیار ناشی از بیماری مواجه است. روش‌های بسیاری برای پیشگیری یا درمان بیماری‌ها در آبزیان وجود دارد که متداول‌ترین آنها استفاده از آنتی‌بیوتیک است. آنتی‌بیوتیک‌ها به دلیل مقاوم‌سازی پاتوژن‌ها و تجمع در بدن جاندارن و باقی ماندن در محیط زیست، برای استفاده مطلوب نیستند. گیاهان با توجه به ارزانی، بومی بودن، قابلیت دسترسی آسان و دوستی با محیط زیست مورد مناسبی برای استفاده به عنوان محرک‌های ایمنی هستند. از تمامی تولیدات گیاهی از جمله، پودر گیاه، عصاره و اسانس می‌توان برای این مورد استفاده کرد. در این پژوهش اسانس گیاه مشگک به صورت خوراکی استفاده و نتایج زیر حاصل شد. تیمارهای ۰/۱ و ۰/۰۱ بالاترین میزان گلبول

سفید و NBT را نشان می‌دهند که نشان از تحریک ایمنی ذاتی در این دو تیمار است. کم‌ترین فعالیت باکتری‌کشی در گروه شاهد روز ۲۰ مشاهده شد که با تمام تیمارها به جز تیمار ۰/۱ در همان روز تفاوت معنادار داشت. با توجه به تمامی فاکتورهای ایمنی و افزایش میزان باکتری‌کشی می‌توان گفت که اسانس این گیاه می‌تواند پاسخ‌های ایمنی ذاتی را تحریک کند.

منابع

Alexander C.P., John Wesly Kirubakaran C. and Michael R.D. (2010). Water soluble fraction of *Tinospora cordifolia* leaves enhanced the non-specific immune mechanisms and disease resistance in *Oreochromis mossambicus*. Fish & Shellfish Immunology, 29, 765-772.

Alishahi M. and Abdy E. (2014). Effects of different levels of *Aloe vera* L. extract on growth performance, hemato-immunological indices of *Cyprinus carpio* L. The Iranian Journal of Veterinary Science and Technology, 5, 33-44.

Anderson D.P. and Siwicki A.K. (1995). Basic haematology and serology for fish health programs. In: Diseases in Asian aquaculture II. Shariff, M., Arthur, J. R. and Subasinghe, R. P. (Eds). Fish Health Section, Asian Fisheries Society, Manila, Philippines, 185–202 pp.

Ardó L., Yin G., Xu P., Váradi L., Szigeti G., Jeney Z. and 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, 26-33.

Biller-Takahashi J., Takahashi L., Pilarski F., Sebastião F. and Urbinati E. (2013). Serum bactericidal activity as indicator of innate immunity in pacu *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887). Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, 65, 1745-1751.

FAO, Fisheries and Aquaculture Department (2014). The State of World Fisheries and Aquaculture 2006 (Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy).

Hajibeglou, A. and Sudagar M. (2010). Immune response of common carp (*Cyprinus carpio*) fed with herbal immunostimulants diets. *Agricultural Journal*, 5 (3), 63-172.

Hajhashemi V., Rabbani M., Ghanadi A. and Davari E. (2010). Evaluation of antianxiety and sedative effects of essential oil of Ducrosia anethifolia in mice. Clinics, 65(10), 1037-1042.

Harikrishnan R., Balasundaram, C. and Heo M.S. (2011a). Impact of plant products on innate and adaptive immune system of cultured finfish and shellfish. Aquaculture, 317, 1-15.

Harikrishnan, R., Balasundaram, C. and Heo M.S. (2011b). Influence of diet enriched with green tea on innate humoral and cellular immun+e response of kelp grouper (Epinephelus bruneus) to Vibrio carchariae infection. Fish & Shellfish Immunology, 30, 972-979.

Natt M. P. and Herrick C. A. (1952). A new blood diluent for counting the erythrocytes and leucocytes of the chicken. Poultry Science, 31(4), 735-738.

Nya E.J., and Austin B. (2011). Development of immunity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) to *Aeromonas hydrophila* after the dietary application of garlic. Fish & Shellfish Immunology, 30, 845-850.

Pavaraj M., Balasubramanian V., Baskaran S. and Ramasamy P. (2011). Development of immunity by extract of medicinal plant *Ocimum sanctum* on common carp *Cyprinus carpio* (L.). Research journal of Immunology, 4(1), 12-18.

Rao V.Y., Das B.K., Jyotyrmavee P. and Chakrabarthi R. (2006). Effect of *Achyranthes aspera* on the immunity and survival of *Labeo rohita* infected with *Aeromonas hydrophila.* Fish & Shellfish Immunology, 20, 263–273.

Soltani M., Sheikhzadeh N., Ebrahimzadeh-Mousavi H. and 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, 191-199.

Sudagar M. and Hajibeglou A. (2010). Effect of plant extracts supplemented diets on immunity and resistance to *Aeromonas hydrophila* in common carp (*Cyprinus carpio*). Research Journal of Animal Sciences, 4(1), 26-34.

Uribe C., Folch H., Enriquez R. and Moran G. (2011). Innate and adaptive immunity in teleost fish: a review. Veterinarni Medicina, 56, 486-503.

Vera-Jimenez N., Pietretti D., Wiegertjes G. and Nielsen M. (2013). Comparative study of β-glucan induced respiratory burst measured by nitroblue tetrazolium assay and real-time luminol-enhanced chemiluminescence assay in common carp (*Cyprinus carpio* L.). Fish & shellfish immunology, 34, 1216-1222.

Effects of Ducrosia anethifolia essential oil as diet supplement on immune parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)

Fatemeh Dehghan, Arya Vazirzadeh *

Department of Natural Resources and Environmental Engineering, Faculty of Agriculture, Shiraz University, Shiraz
***Corresponding author: aryavazirzadeh@yahoo.com**

Abstract
Recently immune stimulants have been widely used as substitution of antibiotics to prevent diseases in aquaculture. In this study, the effects of *Ducrosia anethifolia* essential oil on growth and immune responses of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) were evaluated. The essential oil was mixed with sunflower oil at different concentrations (0.001, 0.01 and 0.1 %), added to diets and fish were fed with these diets for 40 days. white blood cell count, serum lysozyme, bactericidal and respiratory burst activity were measured every ten days. The mean of white blood cells (WBC) in 0.01 and 0.1 groups were higher than those in 0.001 and control groups. The mean of serum bactericidal activity showed no significant difference among different treatments but the fourth treatment on day 10 and the control group on day 30 showed the highest serum bactericidal activities. The highest and lowest mean of respiratory burst was observed in 0.01 and 0.001 treatments, respectively.
K**eywords:** *Ducrosia anethifolia* essential oil, Immune response, Immuno stimulant, Rainbow trout

(Scan me)

جهت دسترسی به نسخه آنلاین بارکد مقابل را اسکن نمایید

How to cite this article:
Dehghan F. and Vazirzadeh A. (2017). Effects of *Ducrosia anethifolia* essential oil as diet supplement on immune parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Shil, 5(3), 125-132.

دهقان، ف. و وزیرزاده ، ا. (۱۳۹۶). اثر اسانس گیاه مشگک (*Ducrosia anethifolia*) به صورت مکمل خوراکی بر شاخص‌های ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). شیل، ۵ (۳)، ۱۳۲-۱۲۵.