تغــذیه آبزیــان
سال پنجم، شماره دوم،
پاییز و زمستان ۱۳۹۸

مقایسه استفاده از عصاره الکلی و نانوریزپوشانی شده گیاه گزنه (*Urtica dioica*) بر عملکرد رشد و شاخص‌های خونی قزل آلای‌رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

عباس گرایلی افرا[1*]، حسین اورجی[1]، عبدالصمد کرامت[1]، رضا صفری[2]
۱- گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، مازندران
۲- پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، ساری، مازندران

تاریخ دریافت: ۹۷/۱۲/۱۲ تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۵/۱۱

چکیده
در این مطالعه، تأثیر عصاره الکلی و نانوریزپوشانی شده گیاه گزنه (*Urtica dioica*) بر رشد و شاخص‌های خونی قزل‌آلای رنگـین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) بـررسی شد. تعداد ۲۲۵ قطعـه قزل‌آلای رنگین‌کمان با میانگین وزن اولیه ۰/۱۶ ± ۲۲/۹۳ (میانگین ± انحراف معیار) با جیره‌های فاقد عصاره گیاه گزنه (C)، واجد ۱٪ عصاره الکلی این گیاه (A1)، ۲٪ عصاره الکلی (A2)، ۱٪ عصاره نانوریزپوشانی شده (N1) و ۲٪ عصاره نانوریزپوشانی شده (N2) به مدت ۸ هفته تغذیه شدند. نتایج نشان داد که ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی ۲٪ عصاره الکلی و نانوریزپوشانی شده گزنه به طور معنی‌دار وزن نهایی و نرخ رشد ویژه بالاتری نسبت به دیگر تیمارها داشتند ($p<0/05$). نتایج مربوط به شاخص‌های خونی نشان داد که جیره‌های آزمایشی اثر معنی‌داری بر برخی از آنها داشتند و بالاترین میزان گلبول سفید، لنفوسیت، پروتئین تام، آلبومین و فعالیت لیزوزیم در ماهیانی که با جیره حاوی ۲٪ عصاره الکلی و نانوریزپوشانی شده گیاه گزنه تغذیه شدند، مشاهده شد ($p<0/05$). این نتایج پیشنهاد می‌کند که استفاده از سطح ۲٪ عصاره الکلی و نانوریزپوشانی شده گیاه گزنه در جیره غذایی ماهی قزل‌آلا سبب بهبود دستگاه ایمنی و تحریک رشد می‌شود.

کلمات کلیدی: قزل‌آلای رنگین کمان، گیاه دارویی گزنه، رشد، ایمنی

نویسنده مسئول: graily1975@yahoo.com

مقدمه

مقاومت دارویی ریزموجودات که ناشی از مصرف بی‌رویه داروها، خود درمانی و تجویز آنتیبیوتیک توسط افراد غیرمتخصص است، یکی از معضلات مهم صنعت آبزی پروری به حساب می‌آید. عدم موفقیت در درمان بسیاری از بیماری‌های مزمن و حاد، اثرات جانبی مضر داروهای شیمیایی و آنتی‌بیوتیک‌ها و مقاومت روز افزون باکتری‌های مختلف در برابر برخی از داروها به‌خصوص آنتی‌بیوتیک‌های رایج، گرایش محققان را نسبت به مطالعه در زمینه استفاده از محرک‌های ایمنی با منشأ گیاهی به دلیل در دسترس بودن، خطرات کمتر برای محیط زیست و آبزی و هم‌چنین قیمت پایین‌تر، افزایش داده است (Dugenci et al. 2003). این مکمل‌های خوراکی علاوه بر بهبود شاخص‌های رشد، منجر به تحریک دستگاه ایمنی غیراختصاصی، افزایش تحمل تنش‌های محیطی و مقاومت در برابر برخی بیماری‌های عفونی آبزیان می‌شوند و همه این عوامل در نهایت، منجر به اقتصادی‌تر شدن تولید آبزیان پرورشی می‌شود (Rao et al. 2006).

قزل‌آلای رنگین‌کمان یکی از با ارزش‌ترین ماهیان اقتصادی و مهم‌ترین گونه سردآبی در صنعت آبزی‌پروری کشور است که تلاش برای بهبود شاخص‌های رشد و افزایش قدرت ایمنی این ماهی در برابر بیماری‌های متعدد باکتریایی افزایش فزاینده‌ای یافته است (Alishahi et al. 2010). مطالعات متعددی پیرامون استفاده از محرک‌های گیاهی در افزایش رشد و قدرت ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان انجام شده است که از جمله می‌توان به گیاه داروواش (*Viscum album*)، زنجبیل (*Zingiber offcinale*) (Dugenci et al. 2003)، آویشن شیرازی (*Zataria multiflora*) (Ghareghanipoor et al. 2014) و نعناع فلفلی (*Mentha piperita*) (Adel et al. 2016) اشاره کرد. همچنین، تغذیه ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان با مرزنجوش (*Origanum onites*) (Diler et al. 2017)، روغن گیاهان کنجد، بذرکتان و آفتابگردان (Yildiz et al. 2015) باعث افزایش رشد این ماهی شده است.

گیاه دارویی گزنه از خانواده Urticaceae است که در اروپا، آسیا، آفریقا و آمریکای شمالی و در نواحی مرطوب می‌روید (Borchers et al. 2000). برگ این گیاه سرشار از ترکیبات فعال زیستی است. ترکیبات فیتوشیمیایی گزنه شامل فلانوئیدها، لیگنان، اسیدهای چرب، استرول، پلی-ساکاریدها، گلیکوپروتئین‌ها، کاروتنوئیدها، پلاستوسیانین‌ها و لکتین است (Sajfrtova et al. 2005) که می‌توان از آن برای پیشگری و درمان بیماری‌ها در انسان و حیوانات استفاده کرد (Dar et al. 2012). گزارش های متعددی مبنی بر تأثیر عصاره گیاه گزنه بر بهبود عملکرد فیزیولوژیک و دستگاه ایمنی ماهی ارائه شده است (Dugenci et al. 2003; Awad et al. 2013; Binaii et al. 2014; Chelladurai et al. 2014).

عصاره‌های گیاهان دارویی به دلیل داشتن ترکیبات ضد اکسایشی به حیوانات در غلبه بر شرایط تنش‌زا و بهبود کارایی خوراک کمک می‌کنند، اما بخش عمده‌ای از خواص ضد اکسایشی آنها هنگام عبور از شرایط اسیدی معده تخریب شده و در نتیجه، ظرفیت ضد اکسایشی آنها کاهش می‌یابد (مخدوم و همکاران، ۱۳۹۴). از این رو، برای حفاظت از این ترکیبات از روش‌های نوینی همانند ریزکپسول‌سازی استفاده می‌شود. میکروکپسولاسیون یا ریزپوشانی روشی برای قرار دادن مواد جامد، مایع و گاز در کپسول‌های کوچک است. کپسول‌هایی که می‌توانند محتویات خود را به صورت کنترل شده و در شرایط خاصی آزاد کنند. این فناوری با حفاظت مواد در برابر اکسیده شدن در طول مدت تولید و نگهداری از ایجاد عطر و طعم نامطلوب جلوگیری کرده و مانع از دست رفتن ارزش تغذیه‌ای و سوخت و سازی آنها می‌شود. فرایند نانوریزپوشانی‌کردن مواد باعث تأثیرگذاری بیشتر و مؤثرتر مواد غذایی برای رسیدن به نقاط خاصی در بدن می‌شود (حاتمیان و قاسم‌زاده، ۱۳۹۳). ترکیبات فعال عصاره و اسانس‌های گیاهی فرار است. برخی از آنها به سختی محلول در آب هستند و همچنین، به راحتی اکسیده می‌شوند. یکی از راهکارها برای غلبه بر این محدودیت‌ها کپسوله کردن است. برخی از مطالعات نشان می دهد که فرایند کپسوله کردن قادر است خاصیت ضد میکروبی و ضد اکسایشی ترکیبات را افزایش می‌دهد و همچنین، سبب حفظ پایداری خواص آن برای مدت طولانی‌تر شود (Hogan et al. 2001).

از آنجا که قزل‌آلای رنگین‌کمان جزء گونه‌های مهم تجاری ایران است و سهم مهمی در تأمین پروتئین حیوانی مورد نیاز جمعیت رو به رشد کشورمان دارد و همچنین، با توجه به اینکه بالا بودن تراکم در واحد سطح یا حجم برای افزایش تولید این گونه باعث تضعیف دستگاه ایمنی و کاهش

عملکرد رشد آن‌ها می‌شود، نیاز به استفاده از محرک‌های غذایی برای بهبود رشد احساس می شود که در این بین، تأثیر مثبت عصاره‌های هیدروالکلی گیاهان بر روند رشد و ضریب تبدیل غذایی گونه‌های مختلف ماهیان ثابت شده است، اما مطالعه‌ای در مورد عصاره نانوریزپوشانی شده گیاهان در داخل کشور انجام نشده است. لذا، این آزمایش برای مقایسه اثرات عصاره الکلی و نانوریزپوشانی شده گزنه بر عملکرد رشد و دستگاه ایمنی قزل‌آلای رنگین‌کمان طراحی شد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه در یک دوره ۸ هفته‌ای در پاییز سال ۱۳۹۸ در دانشکده علوم دامی و شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری انجام شد. در ابتدای آزمایش و برای سازگاری ماهیان با شرایط جدید پرورشی، ۲۲۵ قطعه قزل-آلای رنگین‌کمان با میانگین وزنی ۰/۱۶ ± ۲۲/۹۳ (میانگین ± انحراف معیار) گرم در ۱۵ آکواریوم ۲۰۰ لیتری به تعداد ۱۵ قطعه در هر آکواریوم (۱/۷ گرم در لیتر) با شرایط یکسان از نظر حجم آب و فراسنجه‌های کمی و کیفی مشابه توزیع شدند. میانگین ± انحراف معیار شاخص‌های فیزیکی و شیمیایی آب در طی دوره پرورش شامل اکسیژن محلول ۰/۶ ± ۷/۸ میلی‌گرم در لیتر، دما ۱/۲ ± ۱۴/۲ درجه سانتی‌گراد، pH ۰/۴ ± ۷/۲ و هـدایت الکتریکی ۱۲۷/۲ ± ۵۷۳۶ میـلی‌موس در سانتی‌متر بود. برای تأمین آب مورد نیاز از آب چاه بعد از ۲۴ ساعت هوادهی استفاده شد و هوادهی در هر اکواریوم با یک سنگ هوا انجام می‌شد که به هواده مرکزی متصل بودند. آب اکواریوم به هنگام سیفون کردن به میزان یک سوم تعویض می‌شد. سیفون‌کردن هر یک روز در میان صبح قبل از غذادهی انجام می‌شد.

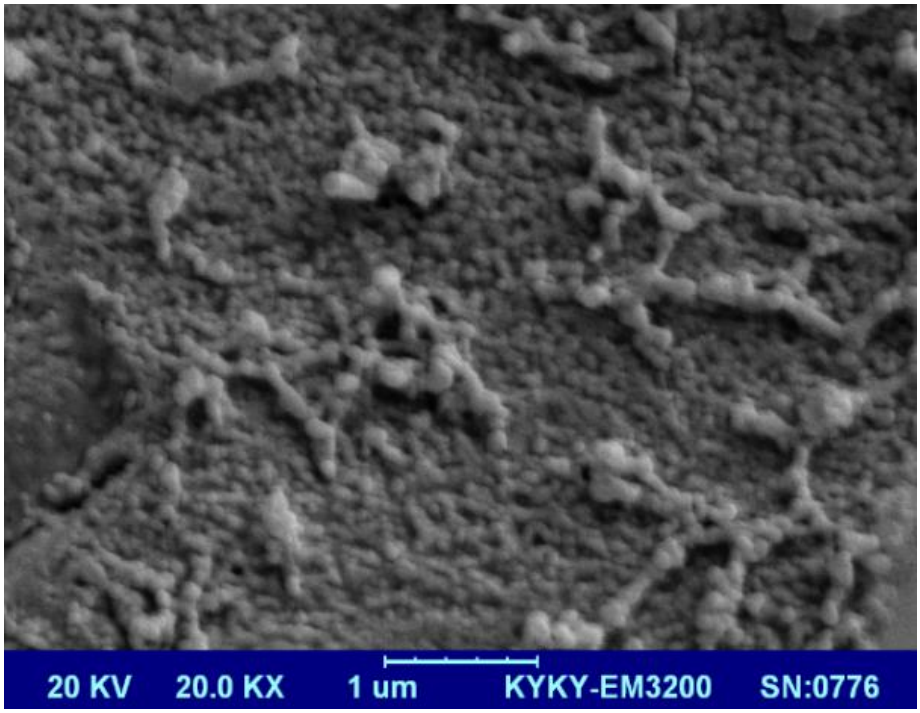
تهیه و آماده‌سازی عصاره الکلی گزنه

ابتدا قسمت‌های هوازی گیاه گزنه به صورت تازه از رویشگاه‌های طبیعی استان مازندران جمع‌آوری، و توسط بخش گیاه‌شناسی دانشگاه کشاورزی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری تائید می‌شد (حیدری و همکاران، ۱۳۹۸). گیاه جمع‌آوری شده در سایه تاریک و به دور از نور خورشید و در جریان هوا خشک می‌شد. برای تهیه عصاره الـکلی، ۱۰۰ گرم از هـر گیاه به‌صورت خشک-شده توسط آسیاب برقی نیم‌کوب، و به آن ۵۰۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۶٪ اضافه می شد. بعد از ۲ روز، تعلیق (سوسپانسیون) حاصله با استفاده از قیف بوخنر صاف شد و محلول زیر صافی در دستگاه روتاری (مدل STRIKE30، کمپانی WIGGENS، ایتالیا) در شرایط خلاء در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد تغلیظ می‌شد. عصاره تلغیظی به-دست‌آمده تا زمان استفاده در یخچال نگهداری می‌شد (عالیشاه و همکاران، ۱۳۹۸).

تهیه عصاره نانوریزپوشانی‌شده

موادی که به عنوان پوشش استفاده شد، شامل کیتوزان و آلژینات سدیم (نانو شیمی یاخته، ایران) بود. ابتدا محلول ۱٪ کیتوزان و ۱٪ آلژینات سدیم تهیه شد. برای تهیه محلول ۱٪ کیتوزان، ابتدا اسید استیک ۱٪ تهیه و سپس کیتوزان به آن اضافه شد و به مدت ۳ ساعت در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد به‌هم زده شد. برای تهیه آلژینات سدیم ۱٪، ابتدا آلژینات سدیم به آب مقطر دیونیزه اضافه و سپس در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد تا حل شدن کامل به‌هم زده شد. بعد از آماده‌سازی این ترکیبات، نسبت پوشش ها به همدیگر ۵۰ به ۵۰ انتخاب شد. برای نانوریزپوشانی‌کردن عصاره گزنه دو غلظت استفاده شد و برای افزایش پایداری و رهایش تدریجی، نسبت پوشش ها (کیتوزان و آلژینات سدیم) به هسته (عصاره گزنه) ۲ به ۱ در نظر گرفته شد. برای تولید نانوکپسول، از دستگاه اولتراسوند (شرکت نوین، ایران) با طول موج ۴۰ کیلوهرتز به مدت ۱۵ دقیقه و تعداد ۶ دور (زمان هر دور ۳۰ ثانیه و زمان استراحت ۱۵ ثانیه بین دورها) استفاده شد. برای کاهش بیشتر اندازه ذرات و افزایش بازده ذرات نانوکپسوله، از دستگاه هموژنایزر (D500، شرکت Diggen، آلمان) با دور ۱۰۰۰۰ در دقیقه برای مدت ۱۵ دقیقه استفاده شد. محلـول حاصل از فرآیند، در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد منجمد، و با استفاده از دستگاه خشک‌کن انجمادی (Martin Christ، آلمان) در فشار ۰/۰۵۱ میلی‌بار و دمای ۵۰- درجه سانتی‌گراد خشک شد. نمونه‌های تهیه شده با استفاده از دستگاه خشک‌کن انجمادی خشک، و به صورت پودری به جیره اضافه شد (حق‌جو و همکاران، ۱۳۹۴). برای تأیید درصد فراوانی هسته و پوشش‌ها و اندازه آن‌ها از دستگاه پارتیکل سایز آنالایزر و بر اساس روش تفرق نور لـیزر استفاده شد (حق‌جو و همکاران، ۱۳۹۴). همچنین، برای تأیید اندازه، ریخت-شناسی ذرات نانو ریزپوشانی‌شده، از میکروسکوپی

الکترونی نگاره (Scanning electron microscopy) استفاده شد. بازده نانو ریزپوشانی گزنه ۷۳/۴۱٪ بود که نشان دهنده کارآیی بالای این روش در ریزپوشانی گزنه است. اندازه متوسط گزنه نانوریزپوشانی‌شده ۳۹۷ ± ۹۶/۱۱ نانومتر بوده است (شکل ۱).



شکل ۱ تصویر SEM کپسول‌های تشکیل شده از پوشش کیتوزان – آلژینات سدیم و محتوی عصاره گزنه

آماده‌سازی جیره

پس از سازگاری ماهیان با شرایط پرورش جدید، ماهیان به مدت ۸ هفته با غذای تجاری (کارخانه خوراک آبزیان، مازندران) تغذیه شدند ترکیب جیره پایه مورد استفاده در این مطالعه به‌طور خلاصه در جدول ۱ ارائه شده است. برای تهیه جیره‌های آزمایشی، سطوح صفر (C)، ۱٪ عصاره الکلی (A1)، ۲٪ عصاره الکلی (A2)، ۱٪ عصاره نانوریزپوشانی (N1) شده و ۲٪ عصاره نانوریزپوشانی شده گزنه (N2) به جیره پایه فرموله (عصاره نانوریزپوشانی شده به‌صورت پودر و عصاره الکلی به‌صورت اسپری) و به طور یکنواخت و همگن با جیره پایه مخلوط شد. میزان غذای روزانه بچه ماهیان برحسب درصد وزن بدن، دمای آب و براساس جدول غذادهی قزل‌آلای رنگین کمان تعیین شد و ماهیان به مدت ۸ هفته و ۳ بار در روز (صبح، ظهر و عصر) تا ۵٪ وزن بدن از جیره‌های تهیه شده تغذیه شدند. این بررسی در قالب یک طرح کاملاً تصادفی انجام شد و برای هر تیمار ۳ تکرار در نظر گرفته شد. در طی دوره، هر روز مدفوع و دیگر مواد باقی‌مانده از کف حوضچه‌ها سیفون و حدود یک سوم آب هر آکواریوم تعویض شد. میزان انرژی قایل هضم جیره پایه بر اساس دستور شرکت سازنده ۴۶۰۰ کیلوکالری بر کیلوگرم بوده است.

جدول ۱ تجزیه تقریبی جیره پایه مورد استفاده در مطالعه حاضر بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده

ترکیبات شیمیایی جیره پایه	میزان (٪)
پروتئین خام	۴۶/۲
چربی خام	۱۲/۹
خاکستر	۹/۸
رطوبت	۴/۷۶
عصاره عاری از ازت	۱۵/۲۶

برای بررسی شاخص‌های رشد در پایان آزمایش ماهیان به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم پودر گل میخک به ازای هر لیتر آب بیهوش شدند (Nazerian et al. 2017) و به‌طور انفرادی توزین و شاخص‌های رشد و بقا محاسبه شد. این شاخص‌ها شامل موارد زیر بودند (Qinghui et al. 2004):

نرخ رشد ویژه (SGR، درصد/ روز) = [(لگاریتم وزن نهایی – لگاریتم وزن اولیه) / مدت زمان آزمایش] × ۱۰۰

ضریب تبدیل غذایی (FCR) = مقدار غذای مصرفی (گرم) / وزن تر به‌دست آمده (گرم)

شاخص چاقی (CF) = [وزن ماهی (گرم) / ^{3}درازای کل (سانتی‌متر)] × ۱۰۰

اندازه‌گیری شاخص‌های خونی

در پایان دوره پرورش، تعداد ۴ قطعه ماهی از هر تکرار به طور تصادفی برای خون‌گیری و سنجش شاخص‌های خونی انتخاب شد. بعد از بیهوشی با پودر گل میخک (۲۰۰ میلی-گرم بر لیتر)، خون‌گیری از ساقه دمی انجام شد. بعد از خون‌گیری، نمونه‌های جمع‌آوری شده به دو بخش تقسیم شدند. بخشی از خون به لوله خون‌گیری حاوی مواد هپارینه منتقل شد تا شمارش گلبول سفید، لنفوسیت، مونوسیت و بازوفیل انجام شود. بخش دیگر خون به لوله‌های فاقد ماده ضد انعقاد انتقال یافتند و پس از تشکیل لخته، سرم خون با استفاده از سانتریفیوژ (به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه) توسط سمپلر از لخته جدا، و به لوله-های کوچک (میکروتیوب) جداگانه منتقل شد.

شمارش گلبول‌های سفید با استفاده از لام هموسیتومتر و محلول رقیق‌کننده نات انجام شد. این محلول حاوی ۳/۸۸ گرم کلرید سدیم، ۲/۵۰ گرم سولفات سدیم، ۱/۷۴ گرم فسفات سدیم، ۰/۲۵ گرم فسفات پتاسیم، ۷/۵۰ میلی‌لیتر فرمالین ۳۷ درصد و ۰/۱ گرم متیل ویوله در ۱۰۰۰ میلی-لیتر آب مقطر است (Stoskopf, 1993). سرم استحصال شده از خون به منظور سنجش فراسنجه‌های بیوشیمیایی سرم و ایمنی به فریزر ۷۰- درجه سانتی‌گراد انتقال یافت. پروتئین تام و آلبومین به روش Bradford (۱۹۷۶) توسط کیت‌های آزمایشگاهی تجاری (زیست شیمی، تهران، ایران) و گلوبولین از تفاضل غلظت‌های پروتئین تام و آلبومین اندازه‌گیری شد (Nayak et al. 2008). فعالیت لیزوزیم با استفاده از روش Kumari و همکاران (۲۰۰۶) براساس تجزیه باکتری گرم مثبت حساس به لیزوزیم *Micrococcus lysodeikticus* (Sigma, M3770) اندازه‌گیری شد. برای سنجش فعالیت انفجار تنفسی گلبول سفید (NBT)، مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر از خون هپارینه در داخل لوله‌های کوچک (میکروتیوب) قرار داده شد و ۰/۱ میلی‌لیتر نیز محلول ۰/۲٪ NBT به آن اضافه شد. سپس، به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد گرمخانه-گذاری شد و ۰/۱ میلی‌لیتر از مخلوط برداشته و به یک لوله آزمایش حاوی ۱ میلی‌لیتر دی متیل فرم‌آمید اضافه شد. پس از سانتریفیوژ کردن نمونه، جذب نوری مایع رویی در طول موج ۵۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شد.

تحلیل آماری

برای بررسی آماری داده‌ها، ابتدا نرمال بودن آنها توسط آزمون Kolmogorov-Smirnov ارزیابی و همگنی واریانس‌ها با آزمون Levene بررسی شد. در صورت همگنی، برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از آنالیز واریانس یک-طرفه (One-Way ANOVA) استفاده شد و اختلاف میانگین‌ها توسط آزمون چند دامنه‌ای توکی در سطح معنی‌داری $p<۰/۰۵$ بررسی شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها توسط نرم افزار SPSS (version 16.0) انجام شد.

داده‌ها در متن به‌صورت میانگین ± انحراف معیار ارائه شده است.

نتایج

شاخص‌های رشد و بقا

عملکرد رشد و ضریب تبدیل غذایی ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان پس از ۸ هفته تغذیه با جیره‌های آزمایشی در جدول ۲ ارائه شده است. استفاده از سطوح مختلف عصاره‌های الکلی و نانوریزپوشانی شده گزنه در جیره غذایی این ماهیان تأثیر معنی‌دار بر شاخص‌های رشد داشت (p<۰/۰۵). در پایان آزمایش، بالاترین میانگین وزن نهایی و نرخ رشد ویژه مربوط به تیمار A2 بود که با تیمار N2 اختلاف معنی‌داری نداشت (p>۰/۰۵). کمترین میانگین وزن نهایی و نرخ رشد ویژه در گروه شاهد به‌دست آمد که با دیگر تیمارها اختلاف معنی‌دار داشت (p<۰/۰۵). اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی در ضریب تبدیل غذایی مشاهده شد (p<۰/۰۵)، به طوری که بیشترین مقدار آن در گروه شاهد و مناسب‌ترین مقدار آن در تیمارهای A2 و N2 به‌دست آمد. اختلاف معنی‌داری بین تیمارها در ضریب چاقی در پایان هفته هشتم مشاهده نشد (p>۰/۰۵).

شاخص‌های خونی

نتایج حاصل از تأثیر عصاره‌های الکلی و نانوریزپوشانی شده گزنه بر شاخص‌های خونی بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان پس از هشت هفته تغذیه با جیره‌های آزمایشی در جدول ۳ ارائه شده است. اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی در میزان گلبول سفید، لنفوسیت و مونوسیت ماهیان مشاهده نشد، ولی بالاترین میزان گلبول سفید در تیمار A2 و N2 مشاهده شد (p>۰/۰۵). درصد سلول‌های نوتروفیل در تیمار C به‌طور معنی‌داری بالاتر از دیگر تیمارها بود (p<۰/۰۵). کمترین میزان سلول‌های نوتروفیل در تیمارهای A2 و N2 مشاهده شد که با دیگر تیمارها اختلاف معنی‌دار داشت (p<۰/۰۵).

شاخص‌های بیوشیمیایی و ایمنی

بر اساس جدول ۴، در پایان آزمایش بیشترین میزان پروتئین تام در تیمار A2 و N2 مشاهده شد که در مقایسه با گروه شاهد و دیگر تیمارهای آزمایشی، اختلاف معنی‌دار داشت (p<۰/۰۵). همچنین، بیشترین میزان آلبومین در تیمارهای A2 و N2 مشاهده شد که با دیگر تیمارها اختلاف معنی‌دار نداشت (p>۰/۰۵). از لحاظ میزان گلوبولین تیمارهای A2 و N2 افزایش معنی‌داری نسبت به دیگر گروه‌ها نشان دادند. بیشترین میزان فعالیت لیزوزیم و فعالیت انفجار تنفسی (جدول ۴) در تیمارهای A2 و N2 مشاهده شد که با تیمار شاهد اختلاف معنی‌دار داشت (p<۰/۰۵). اختلاف معنی‌داری بین تیمارها در فعالیت دستگاه کمپلمان C3 و C4 مشاهده نشد (p>۰/۰۵). میزان ایمونوگلوبین در تیمارهای آزمایشی تحت تأثیر جیره‌ها قرار گرفت و بیشترین مقدار آن در تیمارهای A2 و N2 مشاهده شد که با دیگر تیمارها اختلاف معنی‌دار داشت (p<۰/۰۵).

جدول ۲ شاخص‌های رشد (میانگین ± انحراف معیار) ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی در طول هشت هفته پرورش در سطح معنی‌داری p<۰/۰۵

شاخص‌های رشد	تیمارهای آزمایشی				
	C	A1	A2	N1	N2
وزن اولیه (گرم)	۲۲/۹۵ ± ۰/۰۷	۲۲/۸۹ ± ۰/۳۴	۲۲/۸۶ ± ۰/۷۲	۲۲/۹۷ ± ۰/۲۴	۲۳ ± ۰/۱۶
وزن نهایی (گرم)	۸۰/۲ ± ۰/۹۸[bc]	۸۱/۲۳ ± ۱/۲۴[b]	۸۴/۰۳ ± ۱/۸۱[a]	۸۱/۹۴ ± ۱/۰۵[b]	۸۳/۱ ± ۱/۰۳[a]
نرخ رشد ویژه (٪ در روز)	۲/۱۴ ± ۰/۰۸[c]	۲/۶۴ ± ۰/۰۵[b]	۳/۱۷ ± ۰/۰۴[a]	۲/۷۶ ± ۰/۱۶[b]	۳/۰۷ ± ۰/۱۱[a]
ضریب چاقی	۱/۵ ± ۰/۲۹[a]	۱/۳ ± ۰/۰۳[a]	۱/۳۹ ± ۰/۹۸[a]	۱/۳۹ ± ۰/۰۷[a]	۱/۳۶ ± ۰/۰۵[a]
ضریب تبدیل غذایی	۱/۰۳ ± ۰/۰۱[a]	۰/۹۸ ± ۰/۰۱[b]	۰/۹۵ ± ۰/۰۱[c]	۰/۹۹ ± ۰/۰۲[b]	۰/۹۴ ± ۰/۰۹[c]

حروف متفاوت در هر سطر نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارهاست (p<۰/۰۵). سطوح صفر (C)، ۱٪ عصاره الکلی (A1)، ۲٪ عصاره الکلی (A2)، ۱٪ عصاره نانوریزپوشانی (N1) شده و ۲٪ عصاره نانوریزپوشانی شده گزنه (N2)

جدول ۳ برخی از شاخص های خونی (میانگین ±انحراف معیار) ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی بعد از هشت هفته پرورش در سطح معنی داری p< ۰/۰۵

شاخص‌های هماتولوژی	تیمارهای آزمایشی				
	C	A1	A2	N1	N2
گلبول سفید × ۱۰^۳ (عدد در میلی‌متر مکعب)	۲۰/۸۶ ± ۸/۹۱	۲۲/۶۲ ± ۶/۳۶	۲۳/۳۴ ± ۷/۵۹	۲۲/۱۲ ± ۱۱/۱۲	۲۴/۳۸ ± ۷/۴۹
لنفوسیت (٪)	۸۵/۷۱ ± ۳/۴۱	۸۹/۴۹ ± ۱/۲۲	۹۰/۳۷ ± ۳/۵۲	۸۹/۳۳ ± ۲/۹۴	۹۰/۴۲ ± ۲/۹۵
مونوسیت (٪)	۵/۱۶ ± ۰/۵۱	۵/۸۰ ± ۱/۰۴	۶/۴۶ ± ۱/۱۳	۵/۸۷ ± ۱/۶۹	۶/۱۵ ± ۳/۱۸
نوتروفیل (٪)	۸/۸۳ ± ۰/۴۴[a]	۵/۳۹ ± ۱/۲۷[b]	۳/۱۵ ± ۰/۷۸[c]	۵/۹۴ ± ۰/۹۴[b]	۳/۲۲ ± ۱/۱۶[c]

حروف متفاوت در هر سطر نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارهاست (p<۰/۰۵). سطوح صفر (C)، ۱٪ عصاره الکلی (A1)، ۲٪ عصاره الکلی (A2)، ۱٪ عصاره نانوریزپوشانی (N1) شده و ۲٪ عصاره نانوریزپوشانی شده گزنه (N2)

جدول۴ شاخص‌های بیوشیمیایی و ایمنی (میانگین ±انحراف معیار) ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی بعد از هشت هفته پرورش در سطح معنی‌داری p< ۰/۰۵

شاخص‌های بیوشیمیایی	تیمارهای آزمایشی				
	C	A1	A2	N1	N2
پروتئین تام (g/dL)	۳/۱۶ ± ۰/۰۵[b]	۳/۲۶ ± ۰/۱۱[b]	۳/۴۸ ± ۰/۰۵[a]	۳/۲۲ ± ۰/۳۶[b]	۳/۴۳ ± ۰/۰۵[a]
آلبومین (g/dL)	۲/۰۶ ± ۰/۰۵	۲/۱۰ ± ۰/۲	۲/۱۶ ± ۰/۱۵	۲/۰۸ ± ۰/۲	۲/۱۳ ±۰/۴۳
گلوبولین (g/dL)	۰/۹۶ ±۰/۱۰[b]	۱/۱۳ ±۰/۳۰[b]	۱/۴۳ ±۰ /۱۱[a]	۱/۰۶ ±۰/۱۵[b]	۱/۴۰ ±۰/۴[a]
آلبومین/گلوبولین	۲/۱۴ ± ۰/۲۰	۱/۸۵ ±۰/۹۷	۱/۵۱ ±۰/۳۳	۱/۸۶ ±۰/۲۸	۱/۵۲ ±۰/۶۱
فعالیت انفجار تنفسی	۰/۳۵ ± ۰/۰۴[b]	۰/۴۴ ± ۰/۰۲[a]	۰/۴۸ ± ۰/۰۱[a]	۰/۴۷ ± ۰/۰۲[a]	۰/۴۸ ± ۰/۰۱[a]
C3 (U/mL)	۲۶/۶ ± ۰/۱۳	۲۵/۴۸ ± ۰/۱۵	۲۵/۵۹ ± ۰/۱۹	۲۵/۳ ± ۰/۱۱	۲۵/۳۵ ± ۰/۲۸
C4 (U/mL)	۷/۵۰ ± ۰/۱۲	۷/۴۹ ۰/۱۴[a]	۷/۴۲ ±۰/۶۶[a]	۶/۶۱ ±۰/۰۸[a]	۷/۴۴ ± ۰/۳۴[a]
IgM (mg/dL)	۸۰/۷۶ ± ۰/۵۵[b]	۸۳/۳۶ ± ۰/۲۵[ab]	۸۷/۲۶ ± ۰/۲[a]	۸۴/۷۰ ± ۰/۴[ab]	۸۷/۷۰ ± ۰/۵۵[a]
لیزوزیم (U/mg protein/min)	۲/۸۸ ± ۰/۰۲[b]	۳/۱۲ ± ۰/۰۹[a]	۳/۲۷ ± ۰/۰۸[a]	۳/۱۸ ± ۰/۱۲[a]	۳/۲۲ ± ۰/۳۵[a]

حروف متفاوت در هر سطر نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارهاست (p<۰/۰۵). سطوح صفر (C)، ۱٪ عصاره الکلی (A1)، ۲٪ عصاره الکلی (A2)، ۱٪ عصاره نانوریزپوشانی (N1) شده و ۲٪ عصاره نانوریزپوشانی شده گزنه (N2)

بحث

بسیاری از محققان علوم شیلاتی در طی دهه‌های اخیر، تحقیقات بسیاری را بر روی افزایش رشد و توان دستگاه دفاعی آبزیان در مقابل عوامل بیماری‌زا انجام داده‌اند (Abolaji et al. 2007). یکی از روش‌های معمول، استفاده از محرک‌های رشد و دستگاه ایمنی است. این ترکیبات شامل انواع مواد صنایع شیمیایی، انواع پروبیوتیک‌ها و ترکیبات طبیعی با منشاء گیاهی هستند (Mohammadi et al. 2019). در مطالعه حاضر عصاره الکلی و نانوریزپوشانی شده گزنه تأثیر معنی‌داری بر شاخص‌های رشد و ضریب تبدیل غذایی داشتند. در مطالعه حاضر در پایان هفته هشتم وزن نهایی و نرخ رشد ویژه ماهیان تغذیه شده با جیره‌های حاوی ۲٪ عصاره های الکلی و نانوریزپوشانی شده (A2 و N2) گزنه بالاتر از تیمار شاهد بود. اگرچه، تاکنون مطالعه‌ای درباره به‌کارگیری عصاره نانوریزپوشانی شده گزنه در جیره غذایی آبزیان انجام نشده است، اما عصاره الکلی این گیاه و دیگر گیاهان بررسی شده‌اند. دلیل اثر مثبت عصاره‌های گیاهی بر روند رشد ماهیان، وجود ترکیباتی مانند لیمونن، کارواکرول و انتول است که در ماهیان محرک رشد و اشتهاآور هستند و با بالا بردن مصرف غذا سبب افزایش وزن نهایی می‌شوند (Moghanlou et al. 2018). افزودن ۱٪ عصاره الکلی یونجه در جیره غذایی بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به‌طور معنی‌دار منجر به افزایش رشد شد (نجفی و همکاران،

۱۳۹۷). Wang و همکاران (۲۰۱۱) گزارش کردند که کاربرد سطوح ۰/۱٪ و ۱٪ عصاره آلوئه‌ورا در جیره قزل‌آلای رنگین کمان اثر مثبتی بر عملکرد رشد این ماهی داشته است. Gabor و همکاران (۲۰۱۲) نیز اثر مثبت ترکیبات گیاهی سیر (*Allium sativum*) و زنجبیل (*Zingiber officinalis*) را بر روند رشد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان گزارش کردند. در مطالعه حاضر، تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای ۲٪ عصاره الکلی و عصاره نانوریزپوشانی شده گزنه مشاهده نشد. این نتایج نشان داد که ترکیبات گزنه در طی فرایند عصاره‌گیری حفظ می شوند. لذا تفاوتی در ترکیبات عصاره الکلی و نانوریزپوشانی شده گزنه وجود ندارد.

شناخت شاخص‌های خونی، هم از نظر تشخیص و هم از نظر اقتصادی ممکن است در شناسایی نوع تغذیه و تعیین شرایط بهداشتی و سلامت ماهی مفید باشد (بیرگانی و همکاران، ۱۳۹۷). در پایان آزمایش، اختلاف معنی‌داری بین تیمارها و تیمار شاهد در میزان گلبول سفید خون مشاهده نشد، اما بالاترین میزان گلبول سفید در تیمارهای A2 و N2 مشاهده شد. مطالعات نشان داد که گیاه گزنه حاوی ترکیباتی از جمله فلاونوئیدها، اسیدهای چرب و تانن است (Bombardelli and Morazzoni, 1997). استفاده از گیاهان دارویی در مطالعات متعدد سبب افزایش تعداد گلبول سفید شده است که آن را ناشی از وجود ترکیباتی مانند تریپنیولن، سیننول، لینالول، ترپینئول، لینالین، استات، تانن و فلاونوئید می‌دانند. این مواد سبب بهبود روند تولید گلبول سفید و یا موجب تحریک تکثیر آن‌ها می‌شوند (Sadeghi et al. 2014). مطالعات نشان دادند که گزنه غنی از ویتامین C و آهن است (Allardice, 1993). در مطالعه حاضر، حضور این ترکیبات در عصاره الکلی و نانوریزپوشانی شده، اثرات مثبتی بر میزان گلبول های سفید داشت و باعث افزایش آنها در تیمارهای A2 و N2 شد که نشان‌دهنده اثر مطلوب این ترکیبات بر میزان گلبول سفید است. در پایان هفته هشتم اگرچه اختلاف معنی‌داری بین تیمارها در تعداد لنفوسیت مشاهده نشد، اما بالاترین میزان آن در تیمارهای A2 و N2 مشاهده شد. در مطالعه انجام شده توسط Saeidi و همکاران (۲۰۱۷)، در بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با جیره حاوی ۳٪ عصاره الکلی گزنه، افزایش میزان لنفوسیت گزارش شده است. این نتایج پیشنهاد می‌کند که عصاره‌های گیاهی سبب تحریک دستگاه ایمنی و بهبود عملکرد آن می‌شود (Saeidi et al. 2017). در مطالعه حاضر، تعداد نوترفیل‌ها در تیمارهای حاوی عصاره الکلی و نانوریزپوشانی شده کمتر از تیمار شاهد بود. در مطالعه حاضر سطح پروتئین تام، میزان گلوبولین و آلبومین در تیمارهای آزمایشی نسبت به گروه شاهد افزایش پیدا کرد و بالاترین مقدار در تیمارهای A2 و N2 ثبت شد. نتایج این تحقیق با نتایج به دست آمده توسط Bianii و همکاران (۲۰۱۴) و Ngugi و همکاران (۲۰۱۵) هم‌سویی داشت. پروتئین‌های خون یکی از شاخص‌های مکانیسم دفاع هومورال محسوب می‌شوند و به عنوان یک شاخص بالینی در ارزیابی سلامت و وضعیت استرس در گونه‌های آبزیان مطرح هستند (Peyghan et al. 2014). آلبومین سرم فراوان‌ترین پروتئین در پلاسمای خون است و حامل انواع مواد مغذی، متابولیت‌ها و البته حامل اصلی عنصر روی در پلاسما است (Peters, 1995). در نتیجه، افزایش میزان آلبومین، نشانه‌ای از بهبود فراسنجه‌های بیوشیمایی در ماهی است (Ngugi et al. 2015). در مطالعه حاضر افزایش شاخص‌های بیوشیمیایی شامل پروتئین تام، آلبومین و گلوبولین در تیمارهای A2 و N2 بالاتر از دیگر تیمارهای آزمایشی بود که نشان‌دهنده مؤثر بودن عصاره گیاه گزنه است. در برخی مطالعات پیشین نیز گیاه گزنه سبب افزایش سطح پروتئین پلاسما، آلبومین و گلوبولین در گونه‌های مختلف شده است (Gabor et al. 2010; Awad et al. 2013; Binaii et al. 2014; Saeidi et al. 2017). لیزوزیم یکی از ترکیبات هومورال دستگاه ایمنی غیراختصاصی است که با تخریب جداره باکتری‌ها باعث فعال‌سازی دستگاه کمپلمان و افزایش فعالیت بیگانه‌خواری به‌عنوان اپسونین (تسهیل‌کننده بیگانه‌خواری) در ماهی می‌شود (Sakai, 1998). نتایج تحقیق حاضر نشان داد که فعالیت لیزوزیم سرم در تیمارها افزایش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد داشته است. این افزایش را می‌توان به قدرت تحریک‌پذیری مواد مؤثره موجود در عصاره گیاه گزنه نسبت داد که سبب افزایش سطح لیزوزیم شده است و بالاترین مقدار آن در تیمارهای A2 و N2 مشاهده شد. Awad و همکاران (۲۰۱۳) در بررسی اثر بخشی غذایی روغن سیاه‌دانه (*Nigella sativa*) و عصاره گزنه بر پاسخ ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان گزارش کردند که فعالیت لیزوزیم در ماهیان تغذیه شده با سطح ۱٪ عصاره گزنه و ۳٪ روغن سیاه

دانه طی ۱۴ روز به طور معنی‌دار بالاتر از گروه شاهد بود که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت داشت.

نتایج مطالعه حاضر براساس داده‌های رشد و خون شناسی نشان داد که گیاه گزنه می‌تواند تأثیر مثبتی بر روند رشد و شرایط فیزیولوژیک ماهی داشته باشد. مقایسه عصاره الکلی و نانوریزپوشانی شده گزنه نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین دو روش عصاره الکلی و نانوریزپوشانی شده از نظر شاخص‌های مختلف مشاهده نمی‌شود. لذا می‌توان نتیجه گرفت که ترکیبات محرک رشد و دستگاه ایمنی موجود در گیاه گـزنه در طی فرایند عصاره‌گیری حفظ می‌شود. لذا نیازی به استفاده از روش نانوکپسوله‌کردن برای حفظ این ترکیبات و بهبود عملکرد رشد و ایمنی وجود ندارد.

تشکر و قدردانی

پژوهش حاضر در سالن تکثیر و پرورش آبزیان و آزمایشگاه فیزیولوژی آبزیان دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری انجام شد. از همکاران در این آزمایشگاه برای همکاری و فراهم کردن تسهیلات، کمال سپاس و قدردانی را داریم.

منابع

بیرگانی، ش.ب.، رومیانی، ل.، چله‌مال دزفول نژاد، م. ۱۳۹۷. بررسی تاثیر عصاره گیاه مورد (*Myrtus communis* L) بر روی رشد، بقاء، فاکتورهای خونی و ایمنی ماهی کپور. پژوهش‌های جانوری ۳۱: ۱۲-۱.

حاتمیان، م.، قاسم‌زاده، ر. ۱۳۹۳. نانوکپسوله کردن در صنایع غذایی. همایش ملی علوم و فناوری های نوین در صنایع غذایی.

حق‌جو، س.، قنبرزاده، ب.، همیشه‌کار، ح.، اثنی‌عشری، س.، دهقان‌نیا، ج. ۱۳۹۴. ارزیابی ویژگی های کلوئیدی و آنتی اکسیدانی نانولیپوزوم‌های حاوی عصاره گزنه. فناوری‌های نوین غذایی ۲: ۲۳-۱۱.

حیدری، م.، فیرزوبخش، ف.، پاک‌نژاد، ح. ۱۳۹۸. تاثیر عصاره خوراکی پونه کوهی (*Mentha longifolia*) بر عملکرد رشد و فراسنجه‌های خونی، سرمی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان و میزان مقاومت در برابر بیماری باکتریایی. بوم شناسی آبزیان ۹: ۲۱-۱۱.

خادمی حمیدی، م.،آدینه، ح.، هرسیج، م.، لی‌پور کنعانی، ح. ۱۳۹۸. تاثیر استفاده برخی از عصارهای گیاهی بر رشد، تغذیه، آنزیم‌های گوارشی و پارامترهای ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykis*). مجله علمی شیلات ایران ۲۸: ۵۷-۴۷.

رخشان.، چله‌مال دزفولی‌نژاد، م. ۱۳۹۵. اثرات اسانس گیاه مورد (*Myrtus communis*) بر عملکرد رشد و پارامترهای بیوشیمایی خون بچه ماهی قزل‌آلای رنگین کمان. اولین همایش سراسری پژوهش‌های نوین در کشاورزی و علوم دامی، ۱۵-۱۰.

رضوی شیرازی، ح. ۱۳۷۳. تکنولوژی فرآورده‌های دریایی، اصول نگهداری و عمل‌آوری. انتشارات شرکت شیلات، ۳۳۶ ص.

عالیشاه، ن.، فیروزبخش، ف.، محرابی، ز. ۱۳۹۸. اثرات حمام عصاره هیدروالکلی گزنه (*Urtica dioica*) بر شاخص‌های ایمنی و خونی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) آلوده شده با قارچ ساپرولگنیا. مجله علمی شیلات ایران ۲۸: ۶۷-۵۵.

مخدوم، م.، صمدی، ف.، دستار، ب.، جعفری، س. م. ۱۳۹۴. اثرات نانو و میکروکپسوله عصاره الکلی نعناع فلفلی بر کیفیت گوشت جوجه‌های گوشتی تحت تنش گرمایی. همایش پژوهش‌های نوین در علوم دامی. دانشگاه بیرجند.

مشکینی، س.، ایمانی، م.، احسانی، ع.، توکمه‌چی، ا.، فرهنگ‌پژوه، ف.، قیاسی، ی. ۱۳۹۲. تاثیر استفاده از عصاره سیر (*Allium sativa*) و سرخارگل (*Echinacea purpurea*) بر روی فاکتورهای خونی و مقاومت در برابر آلودگی باکتریایی در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*). محیط زیست ۶: ۵۲-۴۱.

نجفی، ز.، اورجی، ح.، یگانه، س.، کرامت امیرکلایی، ع.ص. ۱۳۹۷. تاثیر عصاره‌ی الکلی یونجه (*Medicago sativa*) بر عملکرد رشد، مصرف غذا، ترکیب بدن و برخی از فراسنجه‌های سرمی بچه ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*). مجله علمی شیلات ایران ۲۷: ۹-۱.

نکوئی فرد، ع.، حسین‌زاده صحافی، ه.، مطلبی مغانجوغی، ع.، راستیان نسب، ا.، آزادیخواه، د.، مصطفی‌زاده، ب. ۱۳۹۱. بررسی تاثیر استفاده مجدد از آب خروجی بر شاخص‌های رشد و بازماندگی ماهی قزل‌آلای

رنگین‌کمان پرورشی (*Oncorhynchus mykiss*). مجله علمی شیلات ایران ۲۱: ۱۲۴-۱۱۵.

Abolaji, O.A., Adebayo A.H., Odesanmi, O.S. 2007. Nutritional Qualities of three medicinal plant parts (*Xylopia aethiopica*, *Bilighia sapida* and *Parinari polyandra*) commonly used by pregnant woman in the western part of Nigeria. Pakistan Journal of Nutrition 6: 665-668.

Adel, M., Pourgholam, R., Zorriehzahra, J., Ghiasi, M. 2016. Hemato–Immunological and biochemical parameters, skin antibacterial activity, and survival in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) following the diet supplemented with *Mentha piperita* against *Yersinia ruckeri*. Fish and Shellfish Immunology 55: 267-273.

Alishahi, M., Ranjbar, M.M., Ghorbanpour, M., Peyghan, R., Mesbah, M., Razi Jalali, M. 2010. Effects of dietary *Aloe vera* on some specific and nonspecific immunity in the common carp (*Cyprinus carpio*). International Journal of Veterinary Research 4: 189-195.

Allardice, P. 1993. A-Z of companion planting. Harper Collins Publishers, UK. 208 p.

Awad, E., Austin, D.R., Lyndon, A. 2013. Effect of black cumin seed oil (*Nigella sativa*) and nettle extract (Quercetin) on enhancement of immunity in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Aquaculture 319: 193-197.

Bilen, S., Unal, S., Güvensoy, H. 2016. Effects of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) and nettle (*Urtica dioica*) methanolic extracts on immune responses and resistance to *Aeromonas hydrophila* in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture 454: 90-94.

Binaii, M., Ghiasi, M., Farabi, M., Pourgholam, R., Fazli, H., Safari, R., Alavi, E., Taghavi, M. Bankehsaz, Z. 2014. Biochemical and hemato-immunological parameters in juvenile beluga (*Huso huso*) following the diet supplemented with nettle (*Urtica dioica*). Fish and Shellfish Immunology 36: 46-51.

Bombardelli, E., Morazzoni, P. 1997. *Urtica dioica* L. Fitoterapia 68: 387-402.

Borchers, AT., Keen, C.L., Stern, J.S., Gershwin M.E. 2000. Inflammation and Native American medicine: the role of botanicals. The American Journal of Clinical Nutrition 72: 339-347.

Chelladurai, G., Veni, T., Mohanraj, J., Agarajan, R.N. 2014. Effect of herbal extracts supplemented diets on non-specific immunity and resistance to *Aeromonas hydrophila* in Indian catfish (*Mystus montanus*). Journal of Zoological and Bioscience 1: 10-14.

Dar, S.A., Ganai, A.F., Yousuf, A.R., Balkhi, M.U.H., Bhat, T.M., Bhat, F.A. 2012. Bioactive potential of leaf extracts from *Urtica dioica* L. against fish and human pathogenic bacteria. African Journal of Microbiology Research 41: 6893-6899.

Diler, O., Gormez, O., Diler, I., Metin, S. 2017. Effect of oregano (*Origanum onites* L.) essential oil on growth, lysozyme and antioxidant activity and resistance against *Lactococcus garvieae* in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Aquaculture Nutrition 23: 844-851.

Dugenci, S.K., Arda, N., Candan, A. 2003. Some medicinal plants as immunostimulant for fish. Journal of Ethno Pharmacology 88: 99-106.

Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). 2018. The State of World Fisheries and Aquaculture. Fisheries and Aquaculture Department, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy.

Gabor, E.F., Ichim, O., Suteu, M. 2012. Phyto-additives in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) nutrition. Biharean Biologist 6: 134-139.

Gabor, E.F., Şara, A., Barbu, A. 2010. The effects of some Phyto-additives on growth, health and meat quality on

different species of fish. Scientific Papers: Animal Sciences and Biotechnologies 43: 61-65.

Ghareghanipoor, M., Akbary, P., Akhlaghi, M., Fereidouni, M.S. 2014. Non-specific immune responses and immune related genes expression of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) fed *Zataria multiflora* Boiss extract. Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences 3: 140-146.

Govind, P., Madhuri, S., Mandloi, A.K. 2012. Medicinal plants useful in fish diseases. Journal of Plant Archives 12: 1-4.

Hogan, S.A., Mcnamee, B.F., Oridiordan, E.D., Osullivan, M. 2001. Emulsification microencapsulation properties of sodium caseinate/ carbohydrate blends. International Dairy Journal 11: 137-144.

Kumari, J., Sahoo, P.K., Swain, T., Sahoo, S.K., Sahu, B., Mohanty, B.R. 2006. Seasonal variation in the innate immune parameters of the Asia catfish *Clarias batrachus*. Aquaculture 252: 121-127.

Mehrabi, Z., Firouzbakhsh, F., Rahimi-Mianji, G., Paknejad, H. 2019. Immunostimulatory effect of Aloe vera (*Aloe barbadensis*) on non-specific immune response, immune gene expression, and experimental challenge with *Saprolegnia parasitica* in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture 500: 330-338.

Moghanlou, K.S., Isfahani E.N., Dorafshan, S., Tukmechi, A., Aramli, M.S. 2018. Effects of dietary supplementation with *Stachys lavandulifolia* Vahl extract on growth performance, hemato-biochemical and innate immunity parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Animal Feed Science and Technology 237: 98-105.

Mohammadi, M., Heyrati, F.P., Dorafshan, S. 2019. Effects of diet containing wood betony, *Stachys lavandulifolia* extract on growth, gut microbiota and intestinal structure of the African cichlid, *Sciaenochromis fryeri*. Iranian Journal of Ichthyology 6: 292-301.

Nayak, S.K., Swain, P., Nanda, P.K., Dash, S., Shukla, S., Meher, P.K., Maiti, N.K. 2008. Effect of endotoxin on the immunity of Indian major carp, *Labeo rohita*. Fish and Shellfish Immunology 24: 394-399.

Nazerian, S., Gholipour kanani, H., Jafaryan H.A., Soltani, M., Patimar, R., Esmaili Mola, A. 2018. Effects of purple coneflower (*Echinacea purpora*) and garlic (*Allium satvium*) as a supplemented dietary intake on some non-specific immune status, hematological parameters and growth performance in grower (*Huso huso*). Veterinary 8: 29-39.

Ngugi, C.C., Oyoo-Okoth, E., Mugo-Bundi, J., Orina, P.S., Chemoiwa, E.J., Aloo, P.A. 2015. Effects of dietary administration of stinging nettle (*Urtica dioica*) on the growth performance, biochemical, hematological and immunological parameters in juvenile and adult Victoria Labeo (*Labeo victorianus*) challenged with *Aeromonas hydrophila*. Fish and Shellfish Immunology 44: 533-541.

Nya, E.J., Austin, B. 2009. Use of dietary ginger, *Zingiber officinale* Roscoe, as an immune stimulant to control *Aeromonas hydrophila* infections in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Journal of Fish Diseases 32: 971-977.

Peyghan, R., Khadjeh, GH.H., Enayati, A. 2014. Effect of water salinity on total protein and electrophoretic pattern of serum proteins of grass carp, *Ctenopharyngodon idella*. Veterinary Research Forum 5: 225-229.

Qinghui, A., Kangsen, M., Chunxiao, Z., Qingyuan, D., Beiping, T., Zhiguo, L. 2004. Effect of dietary vitamin C on growth immune response of Japanese seabass, (*Lateolabrax japonicas*). Aquaculture 242: 489-500.

Rao, Y.Y., Das, B.K., Iyotymayee, P., Chakrabarti, R. 2006. Effect of *Achyranthes aspera* on the immunity

and survival of *Labeo rohita* infected with *Aeromonas hydrophila*. Fish and Shellfish Immunology 20: 265-273.

Sadeghi, A.A., Mohamadi-Saei, M., Ahmadvand, H. 2014. The efficacy of dietary savory essential oil on reducing the toxicity of aflatoxin B1 in broiler chicks. Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi 20: 481-486.

Saeidi Asl, M.R., Adel, M., Caipang, C.M.A., Dawood, M.A.O. 2017. Immunological responses and disease resistance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) juveniles following dietary administration of stinging nettle (*Urtica dioica*). Fish and Shellfish Immunology 71: 230-238.

Sajfrtova, M.H., Sovova, L., Opletal., Bartlova, M. 2005. Near-critical extraction of β-sitosterol and scopoletin from stinging nettle roots. The Journal of Supercritical Fluids 35: 111-116.

Sakai, M. 1998. Current research status of fish immunostimulants. Aquaculture 172: 63-92.

Stoskopf, M.K. 1993. Fish Medicine. Sanders, W.B., Pilladelphia, USA, 882p.

Wang, C.Z., Wang, Y.H., Shi, Y.H., Yan, X.B., He Y., Fan, W.N. 2011. Effects of alfalfa saponins on the lipid metabolism, antioxidation and immunity of weaned piglets. Acta Prataculturae Sinica 20, 210-218.

Yildiz, M., Kose, I., Issa, Gh., Kahraman, T. 2015. Effect of different plant oils on growth performance, fatty acid composition and flesh quality of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture Research 46: 2885-2896.

Effects of supplementing diet with the alcoholic and nanoencapsulated nettle (*Urtica dioica*) extracts on growth performance and hematological indices of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)

Abbas Graily Afra[1*], Hossein Ouraji[1], Abdolsamad Keramat[1], Reza Safari[2]
1- Fisheries Department, Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Sari, Mazandaran, Iran
2- Caspian Sea Ecology Research Center (CSERC), Sari, Mazandaran, Iran

Received 03 March 2019; accepted 02 August 2019

Abstract
This study was carried out to evaluate the effects of alcoholic and nanoencapsulated nettle (*Urtica dioica*) extracts on growth performance and hematological indices of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). A total of 225 rainbow trout with an average initial weight of 23 ± 0.16 g (mean ± standard deviation) were fed with five diets supplemented with 0% (control group), 1% alcoholic extract (A1), 2% alcoholic extract (A2), 1% nanoparticle extract (N1) and 2% nanoparticle extract (N2) for 8 weeks. The treatments A2 and N2 showed significantly higher final weight and specific growth rate compared to the control as well as A1 and N1. The experimental diets exhibited significant effects on some hematological indices, such that the highest levels of white blood cells, lymphocytes, total protein, albumin and also lysozyme activity were observed in A2 and N2. These results suggested that supplementing diet with the alcoholic and nanoencapsulated nettle extracts enhance immunity, and promote fish growth.

Keywords: Rainbow trout, Nettle, *Urtica dioica*, Growth, Immunity

Corresponding author: graily1975@yahoo.com