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

اثر مقادیر مختلف زیره سیاه (*Carum carevi*) بر رشد و برخی شاخص‌های خونی، ایمنی و بیوشیمیایی ماهی جوئل (*Hemichromis bimaculatus*)

سیده فاطمه میرفلاح، حسین خارا*
گروه شیلات، واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، گیلان

تاریخ دریافت: ۹۸/۰۱/۱۴ تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۶/۰۹

چکیده
صنعت تکثیر و پرورش ماهیان زینتی همراه با رشد آبزی‌پروری در جهان در حال گسترش است. ماهی جوئل (*Hemichromis bimaculatus*) از ماهیان زینتی خانواده سیکلیده است و در ایران نیز توجه آکواریوم‌داران را بسیار به خود جلب کرده و گونه ای بازارپسند به حساب می‌آید. امروزه کاربرد بسیاری از عصاره‌های گیاهی مانند زیره سیاه به عنوان یک محرک رشد و ایمنی و مؤثر در کاهش ضریب تبدیل غذایی و مرگ و میر برخی از گونه‌های ماهی به اثبات رسیده است. مطالعه حاضر با هدف بررسی تأثیر گیاه زیره سیاه بر شاخص‌های رشد و تغذیه، شاخص‌های خونی، ایمنی و بیوشیمیایی و افزایش بازماندگی در بچه‌ماهیان جوئل در طی ۸ هفته انجام شد. بدین منظور، تعداد ۱۲۰ قطعه ماهی جوئل ۵ گرمی در ۱۲ آکواریوم توزیع شدند و ۴ تیمار به شرح زیر در نظر گرفته شد: گروه شاهد (صفر درصد زیره سیاه)، تیمار ۱ (۰/۵٪ زیره سیاه)، تیمار ۲ (۱٪ زیره سیاه) و تیمار ۳ (۱/۵٪ زیره سیاه) در ۳ تکرار انتخاب شدند. طی دوره آزمایش شاخص‌های خونی و ایمنی و نحوه عملکرد رشد اندازه‌گیری شد. در میان شاخص‌های رشد، بهترین عملکرد نرخ رشد ویژه، شاخص وضعیت، درصد افزایش وزن بدن و ضریب تبدیل غذایی در تیمار دوم وجود داشت که این افزایش دارای تفاوت معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$). هم‌چنین، از لحاظ شاخص‌های خونی، تیمار دوم دارای شرایط بهتری بود و بیشترین تعداد گلبول قرمز، هموگلوبین، هماتوکریت، MCHC، IgM، پروتئین کل، لیزوزیم، ایمونوگلوبین کل و کلسترول HDL در تیمار دوم مشاهده شد و این افزایش دارای تفاوت معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$). بنابراین، مشخص شد که افزودن زیره سیاه به میزان ۱٪ اثر مطلوبی بر افزایش کارایی دستگاه ایمنی ماهی جوئل و بهبود شاخص‌های رشد و تغذیه این ماهی داشته است.

کلمات کلیدی: زیره سیاه، ماهی جوئل، شاخص‌های خونی و ایمنی، عملکرد رشد

نویسنده مسئول: h.khara1974@yahoo.com

مقدمه

نگهداری ماهیان توسط انسان مربوط به سال‌های زیادی است، اما به تغذیه و نیازهای غذایی ماهیان زینتی چندان توجه نشده است (گرجی‌پور و همکاران، ۱۳۹۳). از آنجا که اهمیت اقتصادی ماهیان زینتی از ماهیان خوراکی کمتر نیست، مطالعه جنبه‌های مختلف پرورش امری مهم است (Cerezuela et al. 2008). توسعه علم و فناوری در سه دهه اخیر نقش گیاهان دارویی را در تأمین نیازهای انسان به‌خصوص در زمینه دارو و درمان پر رنگ‌تر کرده است. استفاده از روش‌های تخصصی، سبب شناسایی و استخراج ترکیبات مؤثره این گیاهان و تولید داروها شده است. ترکیبات شیمیایی که نقش متابولیت‌های ثانویه را در گیاهان دارویی دارند، خواصی مانند ضد باکتری، ضد ویروس، ضد قارچ، ضد انگل و تحریک رشد را بروز می‌دهند (فتح‌الهی و جوهری، ۱۳۹۴). استفاده از افزودنی‌های غذایی در زمان پرورش از روش‌های معمول برای دستیابی به افزایش وزن نهایی، بهبود کارایی تغذیه‌ای و مقاومت در برابر بیماری‌هاست. به این منظور، افزودنی‌های متعددی در غذای آبزیان مطالعه شده است (Javed et al. 2009). گزارش‌هایی مبنی بر تحریک اشتها و رشد، افزایش وزن، تحریک دستگاه ایمنی، خواص ضد باکتری، ضد ویروس، ضد انگل و ضد استرس توسط گیاهان دارویی در ماهیان موجود است (Reverter et al. 2014) و این خواص ممکن است به علت حضور موادی مانند آلکالوئیدها، ترپنوئیدها، تانن‌ها، ساپونین‌ها، گلیکوزیدها، فلاونوئیدها، فنولیک‌ها، استروئیدها و اسانس‌های روغنی باشد. مواد گیاهی با القای رونویسی سبب افزایش رشد شده و با افزایش میزان RNA مقادیر اسیدهای آمینه کل و در ادامه، تولید پروتئین سلول‌ها افزایش می‌یابد. این مواد گیاهی سبب افزایش ایمنی غیراختصاصی در آبزیان شده و به علت این که حاوی فنول‌ها، پلی‌ساکاریدها، پروتئوگلیکان‌ها و فلاونوئیدها هستند، نقش اساسی در پیشگیری یا کنترل عفونت‌های میکروبی دارند. عواملی مانند تجزیه دیواره سلولی، توقف سنتز پروتئین و DNA و جلوگیری از ترشحات آنزیمی، باعث بروز فعالیت‌های ضد باکتریایی گیاهان دارویی می‌شوند. هم‌چنین، ممانعت از رونویسی و تکثیر ویروس‌ها و کاهش تعداد آن‌ها در سلول‌های میزبان سبب افزایش ایمنی غیراختصاصی در میزبان می‌شود. عصاره‌های گیاهی از طریق تخریب دیواره سلولی، تغییر خاصیت نفوذپذیری (تراوایی) و تأثیر بر سوخت و ساز و سنتز RNA و پروتئین دارای عملکرد ضد قارچی هستند. این ترکیبات به علت ممانعت از تولید آنیون‌های اکسیژن و از بین بردن رادیکال‌های آزاد دارای خاصیت ضد اکسایشی و ضد تنش هستند. عصاره‌های گیاهان مختلف با تحریک فعالیت و ترشحات روده‌ای یا با تأثیر مستقیم بر میکروفلور روده سبب افزایش کارایی رشد در آبزیان می‌شوند (Citaracu, 2010).

زیره سیاه گیاهی دارویی با پراکنشی جهانی و سابقه دارویی از دوران باستان است (Jayaprakas and Sambhu, 1996). دانه زیره سیاه با دارا بودن فعالیت ضد قارچی و ضد میکروبی سبب کاهش احساس نفخ یا سیری ناشی از سوء هاضمه، و به نوبه خود باعث افزایش رشد ماهی می‌شود. هم‌چنین، این دانه‌ها دارای اثرات ضداسپاسم، ضد نفخ، ضد باکتریایی و ضد سرطانی، خلط آور (اسپکتورانت)، اشتهاآور و نیروبخش هستند (Carvalho et al. 2006). امروزه اثربخشی عصاره‌های گیاهی، مانند زیره سیاه به‌عنوان یک محرک رشد و ایمنی برای کاهش ضریب تبدیل غذایی و مرگ و میر در تعدادی از گونه‌های ماهی ثابت شده است (روحی و همکاران، ۱۳۹۴؛ ادهمی و همکاران، ۱۳۹۵). فاز آبی ترکیبات زیره سیاه نشان‌دهنده وجود ترکیبات منوترپنوئید و انواع ترکیبات آروماتیک، فلاونوئیدها، گلوکز، ید و نوکلئوزید است (Matsumura et al. 2002). این ترکیبات به لحاظ حلالیت ترکیبات فنولیک و فلاونوئیدی در فاز آبی، دارای فعالیت ضداکسایشی هستند (Padmashree et al. 2007). به علت وجود ترکیبات فلاونوئیدی، کومین، آلدهید، آلفاپنین، گاماترپنین و دیگر مواد مؤثر در عصاره آبی زیره سیاه، وجود خواص زیستی این عصاره قابل پیش بینی است (دادخواه و همکاران، ۱۳۹۰).

ماهی جوئل (*Hemichromis bimaculatus*) یکی از ماهیان زینتی خانواده سیکلیده است (Noble and Curtis, 1939) که بومی آفریقا بوده، توجه آکواریوم‌داران بسیاری را در ایران به خود جلب کرده و بسیار بازارپسند است (ادهمی و همکاران، ۱۳۹۵).

تاکنون مطالعاتی درخصوص ماهی جوئل و تغذیه آن انجام شده، اما درباره تأثیر تغذیه‌ای گیاه زیره سیاه یا دیگر انواع زیره بر این ماهی مطالعه‌ای انجام نشده است. با وجود این، مطالعات محدودی در دیگر گونه‌های ماهیان انجام شده

است که می‌توان به مطالعات قائدی (۱۳۹۳) روی اثرات عصاره الکلی زیره سبز بر رشد، تغذیه و ترکیب بیوشیمیایی لاشه ماهی جوان کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)، روحی و همکاران (۱۳۹۴) روی اثر سطوح مختلف زیره سیاه (*Carum carvi*) بر عملکرد رشد و برخی شاخص‌های خونی در کپور معمولی، روحی و همکاران (۱۳۹۵) روی اثر مکمل‌های گیاهی زیره سیاه و شنبلیله (*Trigonella foenum graecum*) بر فعالیت ضد باکتریایی و پروتئین محلول موکوس در بچه ماهیان کپور معمولی، روحی و همکاران (۱۳۹۶) روی تأثیر زیره سیاه در غذای ماهی کپور معمولی بر پاسخ به تنش شوری، بقا، پارامترهای بیوشیمیایی و خونی، یاسمی و همکاران (۱۳۹۶) روی اثر زیره سیاه بر برخی شاخص‌های رشد و ترکیبات لاشه بدن بچه فیل‌ماهی (*Huso huso*)، صارمی و همکاران (۱۳۹۷) روی اثرات عصاره الکلی زیره سبز بر آنزیم‌های گوارشی و برخی فراسنجه‌های سرمی ماهی کپور معمولی انگشت قد، قائدی و همکاران (۱۳۹۸) روی اثرات سطوح مختلف عصاره زیره سبز بر عملکرد رشد و تغذیه ماهیان کپور معمولی و Yilmaz و همکاران (۲۰۱۳) روی استفاده از سطوح مختلف پودر زیره سبز به جیره غذایی تیلاپیای موزامبیک (*Oreochromis mosambicus*) برای مقابله با بیماری استرپتوکوکال اشاره کرد.

با توجه به تأثیرات داروهای گیاهی به‌خصوص گیاه زیره سیاه در بهبود رشد و دستگاه ایمنی آبزیان از جمله ماهیان، این تحقیق با هدف بررسی تأثیر گیاه زیره سیاه بر شاخص‌های رشد و تغذیه، شاخص های خونی، ایمنی و بیوشیمیایی و افزایش بازماندگی در بچه‌ماهیان جوئل انجام شد.

مواد و روش‌ها

ماهی و شرایط پرورش

این آزمایش به مدت ۸ هفته در محیطی سرپوشیده توسط آب چاه و با ا ستفاده از ۱۲۰ قطعه ماهی جوئل ۵ گرمی انجام شد. در ابـ ـتدا ماهیان سازگار و سورت‌بندی شدند. بعد از عادت‌دهی ماهیان به محیط پرورش، ماهیان بدون دا شتن اختلاف معنی‌دار آماری در وزن، در ۱۲ آکواریوم ۵۰ لیتری با شرایط محیطی یکسان توزیع شدند. هر یک از آکواریوم‌ها دارای د ستگاه هوادهی بود و دمای مورد نیاز منا سب آن تو سط هیتر برقی تامین شد. فرا سنجه‌های فیزیکو شیمیایی آب شامل اکـ سیژن و دما با ا ستفاده از د ستگاه اکـ سیژن متر سه بار در روز و pH با ا ستفاده از د ستگاه pH متر یک بار در روز اندازه‌گیری شد. در طی انجام تحقیق دمای آب بین ۲۸-۲۴ درجه سانتی‌گراد و pH آب نیز برابر با ۷ بود. میانگین میزان اکـ سیژن محلول نیز ۶ میلی‌گرم در لیتر اندازه‌گیری شد. هم‌چنین، ماهیان ۳ بار در روز (در ساعات ۸، ۱۴ و ۲۰) تا حد ا شباع تغذیه شدند.

طراحی آزمایش

برای انجام این تحقیق سه تیمار و یک شاهد به شرح ذیل در نظر گرفته شد: گروه شاهد (بدون زیره سیاه) که هیچ مقداری از زیره سیاه به آن افزوده نـ شد، تیمار ۱ (۰/۵٪ زیره سیاه)، تیمار ۲ (۱٪ زیره سیاه) و تیمار ۳ (۱/۵٪ زیره سیاه) که در آن زیره سیاه به صورت پودر شده به غذا افزوده شد (روحی و همکارن، ۱۳۹۴؛ یا سمی و همکاران، ۱۳۹۶). هم‌چنین، برای هر تیـمار ۳ تکرار در نظر گرفـته شد. پس از تنظیم جیره های غذایی با توجه به روش استاندارد (Lovell, 1989)، از برنامه جیره نویسی خطی Excel برای فرموله‌کردن جیره‌های غذایی ا ستفاده شد. پس از آنالیز شیمیایی اجزای غذایی، پروفیل ا سیدهای آمینه و ا سیدهای چرب پودر ضایعات مرغ و پروفیل ا سیدهای آمینه پودر ماهی، ۴ جیره غذایی (یک جیره غذایی فاقد زیره سیاه و ۳ جیره غذایی حاوی سطوح مختلف زیره سیاه) ساخته شد. به منظور ساخت غذا ابتدا کلیه ترکیبات (پودر ماهی، کنجاله سویا، آرد گندم، پودر گو شت، شیرخـ شک، پودر ضایعات مرغ، ملاس و غیره) توسط دستگاه آسیاب به‌صورت پودر در آمد و به مدت ۲۰ دقیقه با ا ستفاده از د ستگاه میکـ سر با یکدیگر مخلوط شدند. سپس، پریمیکس ویتامینی، معدنی و دیگر مواد افزودنی به ازای هر کیلوگرم جیره خـ شک در ۷۰۰ میلی لیتر آب مقطر مخلوط شد و به مدت ۲۰ دقیقه با جیره خشک به‌صورت همگن مخلوط شدند. پس از افزودن روغن (گیاهی و جانوری) به مخلوط جدید، کل ترکیب مجدداً به مدت ۱۵ دقیقه با یکدیگر مخلوط و وارد د ستگاه غذا ساز شده و به‌صورت گرانول‌هایی با قطر ۳ میلی متر خارج شد. گرانول‌ها در د ستگاه خـ شک‌کن به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد خـ شک شدند. غذاها پس از خـ شک شدن، بـ سته‌بندی و شماره‌گذاری و در فریزر در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان مـ صرف، نگهداری

شدند. یک ساعت قبل از غذادهی، غذاها از فریزر خارج و در دمای اتاق نگهداری شدند. پس از متعادل شدن دمای غذای کنسانتره، با استفاده از ترازوی دیجیتال وزن شده و زیره سیاه پودر شده، به میزان مشخص شده برای هر تیمار توزین، و سپس به کمک اسپری روغن به غذا افزوده و با آن مخلوط و به ماهیان داده شد. با توجه به میزان غذای مورد نیاز هر تیمار و دوز زیره سیاه افزوده شده به غذای هر تیمار در یک روز به ترتیب مقادیر ۰/۱۶، ۰/۳۳ و ۱/۵ گرم زیره سیاه به تیمارهای ۱، ۲ و ۳ افزوده شد.

هر روز قبل از غذادهی، فیلترکردن کف آکواریوم‌ها انجام شد تا غذای احتمالی مصرف نشده و فضولات از محیط پرورش خارج شود. برای سازگاری، ابتدا ماهیان به مدت یک هفته با جیره‌های غذایی مورد نظر تغذیه، و سپس در آکواریوم های ۱۰ لیتری مجهز به هواده برای پرورش تقسیم شدند.

اندازه‌گیری رشد

برای آگاهی از عملکرد جیره‌های غذایی و چگونگی رشد بچه ماهیان، در طی دوره تحقیق هر ماه یکبار تمام ماهیان با ترازویی با دقت ۰/۰۱ گرم توزین شده و با خط‌کش با دقت یک میلی‌متر، درازای کل آن‌ها اندازه‌گیری شد (عبدی و همکاران، ۱۳۸۸). به‌منظور زیست‌سنجی ابتدا ماهیان هر مخزن توسط عصاره گل میخک با دوز ۱۰ ppm (مهرابی، ۱۳۷۸) بیهوش و سپس، توسط پارچه تنظیف خشک شدند و زیست‌سنجی انجام شد. یک روز قبل و یک وعده بعد از زیست‌سنجی غذادهی قطع می‌شد. شاخص‌های رشد و تغذیه مورد بررسی شامل نرخ رشد ویژه (SGR)، ضریب تبدیل غذایی (FCR)، درصد افزایش وزن بدن (PBWI)، شاخص وضعیت (CF) و درصد بازماندگی (SR) بر اساس فرمول‌های زیر محاسبه شدند:

$SGR = (LnW_2 - LnW_1)$ / {دوره پرورش به روز} ×۱۰۰ (Ronyai et al. 1990)

FCR = (گرم) افزایش وزن بدن (گرم) / مقدار غذای خورده شده (Ronyai et al. 1990)

PBWI = (وزن نهایی بدن- وزن اولیه بدن) / (وزن اولیه بدن)×۱۰۰ (Bekcan et al. 2006)

CF = [وزن ماهی / ۳ طول به توان] ×100 (Ai et al. 2006)

SR = [تعداد ماهیان زنده مانده در انتهای دوره / تعداد کل ماهیان در ابتدای دوره] ×100 (Grisdale-Helland et al. 2009)

در فرمول‌های بالا W_1= میانگین زی‌توده اولیه (گرم) و W_2= میانگین زی‌توده نهایی (گرم) است.

شاخص‌های خونی

در انتهای دوره، نمونه‌گیری از خون ماهیان در هر تکرار به صورت تصادفی از ۳ ماهی انجام شد. برای جلوگیری از استرس، ۲۴ ساعت قبل از خون‌گیری غذادهی ماهیان قطع شد. به این منظور، ابتدا ماهیان با استفاده از پودر گل میخک با دوز ۱۰ میلی‌گرم در لیتر بیهوش شدند. سپس سطح بدن ماهی، خشک، و خون‌گیری از سیاهرگ ساقه دمی با استفاده از سرنگ ۲ میلی‌لیتری انجام شد (کاظمی و قدسی، ۱۳۸۹). مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر از هر تکرار برای سنجش شاخص‌های خونی به ویال‌های هپارینه، و برای جداسازی سرم به لوله‌های آزمایش غیر هپارینه منتقل شد و با استفاده از ظروف حاوی یخ خشک به آزمایشگاه انتقال یافت (فرحمند و همکاران، ۱۳۹۳). در آزمایشگاه خون‌شناسی پس از سانتریفیوژ (مدل Labofuge ساخت Heracus آلمان) ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق، سرم جدا و توسط سمپلر در لوله‌های اپندورف تازه ریخته، و تا زمان انجام آزمایش در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (عامری مهلبادی، ۱۳۷۸). اندازه‌گیری کلیه شاخص‌های خونی در آزمایشگاه تشخیص دامپزشکی ویرومد انجام گرفت.

گلبول‌های قرمز و سفید با استفاده از محلول Rees و با استفاده از ملانژور و لام نئوبار شمارش شدند (Klontz, 1994).

X = تعداد گلبول قرمز در میلی متر مکعب خون (تعداد گلبول قرمز در ۵ مربع کوچک) × ۱۰۰۰۰

X = تعداد گلبول سفید در میلی‌متر مکعب خون (تعداد گلبول سفید در ۴ مربع کوچک) × ۵۰

اندازه‌گیری هموگلوبین به روش سیانو مت هموگلوبین و با استفاده از اسپکتروفتومتر (مدل 2100-VIS ساخت شرکت Unico آمریکا) با طول موج ۵۴۰ نانومتر انجام شد (Klontz, 1994). سپس، از یک منحنی استاندارد و رابطه زیر استفاده شد (Blaxhall and Daisley, 1973):

Hb (g/dl) = (OD نمونه / OD استاندارد) × غلظت استاندارد

از لوله های میکروهماتوکریت و یک میکرو سانتریفیوژ Hettich با دور ۷۰۰۰ rpm در مدت ۵ دقیقه به منظور اندازه‌گیری هماتوکریت استفاده شد. میزان MCV، MCH وMCHC با استفاده از روابط زیر محاسبه شد (Houston, 1990):

MCV = هماتوکریت × ۱۰ / RBC (میلیون)

MCH = هموگلوبین × ۱۰ / RBC (میلیون)

MCHC = هموگلوبین/ هماتوکریت × ۱۰۰

برای تثبیت و رنگ‌آمیزی گلبول‌های سفید از متانول ۹۶٪ و محلول ۱۰٪ گیمسا (Merck, Germany) استفاده شد و شمارش انواع گلبول‌های سفید مانند نوتروفیل‌ها، لنفوسیت‌ها، مونوسیت‌ها و ائوزینوفیل‌ها به روش زیگزاگ انجام شد (عامری‌مهابادی، ۱۳۷۸؛ Klontz, 1994).

برای اندازه‌گیری ایمونوگلوبولین M (IgM) از روش ایمونوتوربیدی‌متریک استفاده شد. در این روش، پادتن-های پلی‌کلونال در محلول‌های تامپون تشکیل کمپلکس داده و سبب کدورت محلول شدند. شدت این کدورت به-وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر مدل 2100-VIS (Unico, USA) در طول موج ۳۴۰ نانومتر با بلانک (آب مقطر) خوانده شد. برای اندازه‌گیری سطوح لیزوزیم، ۱/۷۵ میلی‌لیتر سوسپانسیون باکتری *Micrococcus lysodeikticus* (سیگما) با ۲۵۰ میکرولیتر نمونه سرم مخلوط شده و با استفاده از روش طیف‌سنجی جذب نوری پس از ۱۵ و ۱۸۰ ثانیه انجام شد و مقادیر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۷۰ نانومتر خوانده شد (Ellis, 1977).

برای اندازه‌گیری ایمونوگلوبولین کل، ۰/۱ میلی‌لیتر نمونه سرم با ۰/۱ میلی‌لیتر محلول پلی‌اتیلن گلیکول ۳۲٪ مخلوط (PEG, 10 000 MW, Sigma chemical, St Louis, Mo, USA) و گرمخانه گذاری به مدت ۲ ساعت برای پایین آوردن مولکول ایمونوگلوبولین انجام شد. رسوب ایمونوگلوبولین توسط سانتریفیوژ (Eppendorf Centrifuge 5415R, EppendorfAG, Hamburg, Germany) در ۵۰۰۰ دور در ۴ درجه سانتی‌گراد جدا شد و از فرمول زیر برای سنجش مقدار ایمونوگلوبولین استفاده شد (Siwicki and Anderson, 1993; Amar et al. 2000):

پروتئین کل تیمار شده با پلی‌اتیلن گلیکول - پروتئین کل در نمونه سرم = (میلی‌گرم در هر میلی‌لیتر) ایمونوگلوبولین کل

پروتئین کل، کلسترول، کلسترول بد (LDL)، کلسترول خوب (HDL)، تری‌گلیسرید و گلوکز توسط دستگاه بیوشیمی آنالیزرالان (ساخت شرکت اپندورف آلمان) و با استفاده از کیت‌های آزمایشگاهی پارس آزمون اندازه‌گیری شد. آنزیم‌های LDL و HDL به روش آنزیمی، کلسترول به روش آنزیمی کلسترول آکسیداز، پروتئین به روش بیوره، تری‌گلیسرید به روش آنزیمی گلیسور فسفات دهیدروژناز و گلوکز به روش آنزیمی گلوکز اکسیداز اندازه‌گیری شدند (Olesen and Juorgensen, 1986).

آنالیز آماری

برای تجزیه و تحلیل کلیه داده‌ها از نرم‌افزار SPSS 22 و برای رسم نمودارها از برنامه Excel 2013 استفاده شد. این تحقیق در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. داده‌ها ابتدا برای اطمینان از نرمال بودن با آزمون Kolmogorov-Smirnov بررسی شدند. در صورت نرمال بودن توزیع داده‌ها، با استفاده از آزمون تجزیه واریانس یک‌طرفه (One-Way ANOVA) در سطح

اطمینان ۹۵٪، ابتدا اختلاف کلی بین میانگین‌ها مشخص و سپس با آزمون دانکن (Duncan)، گروه‌ها از یکدیگر تفکیک شدند و در مواقعی که داده‌ها نرمال نبودند، از آزمون ناپارامتری کروسکال-والیس (Kruskal-Wallis test) برای مقایسه تیمارها و از آزمون من-ویتنی (Mann-Whitney U test) برای مقایسه جفتی بین تیمارها استفاده شد.

نتایج

طبق نتایج به‌دست آمده، با توجه به آزمون کروسکال-والیس، بین تیمارهای مورد بررسی از نظر میانگین وزن اولیه، وزن نهایی، طول اولیه، طول نهایی و درصد بازماندگی اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده نشد ($p>۰/۰۵$). همچنین، با توجه به آزمون واریانس یک‌طرفه و آزمون دانکن بین تیمارهای مورد بررسی از نظر میانگین نرخ رشد ویژه و شاخص وضعیت اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده شد ($p<۰/۰۵$). با توجه به آزمون کروسکال-والیس بین تیمارهای مورد بررسی از نظر میانگین درصد افزایش وزن بدن و ضریب تبدیل غذایی اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده شد ($p<۰/۰۵$). آزمون من-ویتنی نشان داد که بین شاهد-تیمار ۲ و همچنین، تیمار ۲-تیمار ۳ از نظر درصد افزایش وزن بدن و بین شاهد-تیمار ۱، شاهد-تیمار ۲ و همچنین، شاهد-تیمار ۳ از نظر ضریب تبدیل غذایی اختلاف معنی‌دار آماری وجود داشت. در مجموع، بهترین عملکرد وزن اولیه در گروه شاهد، بهترین عملکرد درازای اولیه، طول نهایی در تیمار اول و بهترین عملکرد وزن نهایی، نرخ رشد ویژه، درصد افزایش وزن بدن، شاخص وضعیت، ضریب تبدیل غذایی و درصد بازماندگی در تیمار دوم مشاهده شد. در مقابل، ضعیف‌ترین عملکرد ضریب تبدیل غذایی و درصد بازماندگی در گروه شاهد، ضعیف‌ترین عملکرد وزن اولیه و شاخص وضعیت در تیمار اول، ضعیف‌ترین عملکرد درازای اولیه در تیمار دوم و ضعیف‌ترین عملکرد وزن نهایی، طول نهایی، درصد افزایش وزن بدن و نرخ رشد ویژه در تیمار سوم بود (جدول ۱).

جدول ۱ میانگین شاخص‌های رشد در تیمارهای مورد بررسی ماهی جوئل

تیمار / پارامترها	گروه شاهد (بدون افزودن زیره سیاه)	تیمار ۱ (۰/۵٪ زیره سیاه)	تیمار ۲ (۱٪ زیره سیاه)	تیمار ۳ (۱/۵٪ زیره سیاه)
وزن اولیه (گرم)	۵/۲۹ ± ۰/۵۷	۴/۷۸ ± ۱/۳۲	۴/۸۹ ± ۲/۳۶	۵/۲۲ ± ۱/۳۴
وزن نهایی (گرم)	۸/۸۶ ± ۲/۵	۹/۷۸ ± ۲/۶۶	۱۰/۸۹ ± ۲/۷	۸/۵۶ ± ۲/۵
طول اولیه (سانتی‌متر)	۷/۱۱ ± ۰/۹	۷/۲۸ ± ۱/۱۶	۶/۸۷ ± ۱/۵	۷/۱۳ ± ۱/۲۳
طول نهایی (سانتی‌متر)	۸/۶۴ ± ۱/۲۸	۹/۰۸ ± ۱/۲	۸/۸۹ ± ۱/۳۸	۸/۳۴ ± ۱/۴
نرخ رشد ویژه (٪ در روز)	۰/۹۰ ± ۰/۷۱ [b]	۱/۲۶ ± ۱/۱ [ab]	۱/۴۴ ± ۰/۹ [a]	۰/۸۶ ± ۰/۸۸ [b]
درصد افزایش وزن بدن (٪)	۶۹/۵۲ ± ۵۰/۲	۱۱۰/۹۳ ± ۱۰۱/۷	۱۳۰/۲۶ ± ۱۱۱	۶۵/۵۶ ± ۴۵/۱۱
شاخص وضعیت	۱/۳۷ ± ۰/۳۴ [ab]	۱/۲۲ ± ۰/۶ [b]	۱/۶۳ ± ۰/۵۴ [a]	۱/۴۸ ± ۰/۴ [ab]
ضریب تبدیل غذایی	۲/۹۹ ± ۰/۳	۲/۶۸ ± ۰/۳۶	۲/۵۸ ± ۰/۲۱	۲/۶۱ ± ۰/۳۶
درصد بازماندگی (٪)	۹۴/۰۰ ± ۶۸/۰۰	۹۴/۸۹ ± ۸۰/۴۳	۹۵/۵۶ ± ۷۲/۵	۹۴/۶۷ ± ۸۲/۳

حروف انگلیسی غیر مشترک، نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای مختلف در سطح $p<۰/۰۵$ است.

طبق نتایج به‌دست آمده، با توجه به آزمون کروسکال-والیس، بین تیمارهای مورد بررسی از نظر میانگین MCH، لنفوسیت، ائوزینوفیل و LDL اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده نشد ($p>۰/۰۵$). با توجه به آزمون واریانس یک-طرفه بین تیمارهای مورد بررسی از نظر میانگین مونوسیت اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده نشد ($p>۰/۰۵$). همچنین، با توجه به آزمون واریانس یک‌طرفه و آزمون دانکن بین تیمارهای مورد بررسی از نظر میانگین تعداد گلبول سفید، تعداد گلبول قرمز، هموگلوبین، هماتوکریت، MCV، MCHC، نوتروفیل، IgM، پروتئین کل، ایمونوگلوبولین کل، HDL و گلوکز اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده شد ($p<۰/۰۵$). با توجه به آزمون کروسکال-والیس بین تیمارهای مورد بررسی از نظر میانگین لیزوزیم، کلسترول و تری‌گلیسرید اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده شد ($p<۰/۰۵$). آزمون من- ویتنی نشان داد که بین گروه شاهد-تیمار ۲، گروه شاهد -تیمار ۳، تیمار ۱-تیمار ۲ و

تیمار ۲-تیمار از نظر لیزوزیم؛ و همچنین، بین گروه شاهد-تیمار ۱، گروه شاهد-تیمار ۲، تیمار ۱-تیمار ۳، تیمار ۲-تیمار ۳ از نظر کلسترول؛ و همین‌طور بین گروه شاهد-تیمار ۱، گروه شاهد-تیمار ۲، تیمار ۱-تیمار ۳ و تیمار ۲-تیمار ۳ از نظر تری‌گلیسرید اختلاف معنی‌دار آماری وجود داشت. در مجموع، بیشترین لنفوسیت در گروه شاهد بیشترین گلوکز در تیمار اول، بیشترین تعداد گلبول سفید، تعداد گلبول قرمز، هموگلوبین، هماتوکریت، MCHC، نوتروفیل، IgM، پروتئین کل، لیزوزیم، ایمونوگلوبولین کل، کلسترول HDL و تری‌گلیسرید در تیمار دوم، بیشترین MCV و MCH در تیمار سوم، بیشترین مونوسیت و LDL در تیمار اول و دوم و بیشترین ائوزینوفیل در تیمار اول و سوم مشاهده شد. در مقابل، کمترین تعداد گلبول سفید، تعداد گلبول قرمز، هموگلوبین، هماتوکریت، MCHC، نوتروفیل، IgM، پروتئین کل، لیزوزیم، ایمونوگلوبولین کل، کلسترول، LDL، HDL و گلوکز در گروه شاهد، کمترین MCV و MCH در تیمار دوم، کمترین مونوسیت، تری‌گلیسرید در تیمار سوم، کمترین ائوزینوفیل در گروه شاهد و دوم، و کمترین لنفوسیت در تیمار اول و دوم بود (جدول ۲).

جدول ۲ میانگین شاخص‌های خونی در تیمارهای مورد بررسی ماهی جوئل

تیمار / پارامترها	تیمار شاهد (بدون زیره سیاه)	تیمار ۱ (۰/۵ ٪ زیره سیاه)	تیمار ۲ (۱ ٪ زیره سیاه)	تیمار ۳ (۱/۵ ٪ زیره سیاه)
تعداد گلبول سفید ($/mm^3$)	۶۸۰۰/۰۰ ± ۰/۰۰ ^{b}	۷۸۰۰/۰۰ ± ۱۲۷۶/۷۱ ^{ab}	۸۸۰۰/۰۰ ± ۲۶۴/۵۸ ^{a}	۷۳۰۰/۰۰ ± ۶۲۴/۵۰ ^{b}
تعداد گلبول قرمز ($/mm^3$)	۱۳۵۰۰۰۰/۰۰ ± ۱۰۰۰۰/۰۰ ^{c}	۱۴۴۶۶۶۶/۷ ± ۴۵۰۹۲/۴۹ ^{b}	۱۵۸۰۰۰۰/۰۰ ± ۷۸۱۰۲/۴۹ ^{a}	۱۳۵۶۶۶۶/۷ ± ۲۵۱۶۶/۱۱ ^{c}
هموگلوبین (g/dL)	۶/۱۰ ± ۰/۱۰ ^{b}	۶/۵۰ ± ۰/۲۶ ^{b}	۷/۰۷ ± ۰/۳۸ ^{a}	۶/۲۰ ± ۰/۱۰ ^{b}
هماتوکریت (٪)	۳۰/۰۰ ± ۰/۰۰ ^{c}	۳۱/۳۳ ± ۰/۵۸ ^{b}	۳۳/۳۳ ± ۰/۵۸ ^{a}	۳۰/۳۳ ± ۰/۵۸ ^{c}
MCV (fl)	۲۲۲/۰۰ ± ۲/۰۰ ^{a}	۲۱۶/۰۰ ± ۴/۳۶ ^{ab}	۲۱۰/۶۷ ± ۶/۶۶ ^{b}	۲۲۳/۰۰ ± ۲/۶۵ ^{a}
MCH (pg/cell)	۴۵/۰۰ ± ۰/۰۰	۴۵/۰۰ ± ۱/۰۰	۴۴/۶۷ ± ۰/۵۸	۴۶/۰۰ ± ۰/۰۰
MCHC (٪)	۲۰/۲۶ ± ۰/۰۷	۲۰/۹۳ ± ۰/۳۰	۲۱/۱۶ ± ۰/۷۳	۲۰/۴ ± ۰/۱۷
نوتروفیل (٪)	۱۳/۰۰ ± ۰/۰۰ ^{c}	۱۶/۳۳ ± ۲/۵۲ ^{ab}	۱۷/۰۰ ± ۱/۰۰ ^{a}	۱۴/۰۰ ± ۱/۰۰ ^{bc}
لنفوسیت (٪)	۸۲/۰۰ ± ۱/۱۰	۷۸/۰۰ ± ۳/۰۰	۷۸/۰۰ ± ۱/۰۰	۸۱/۳۳ ± ۰/۵۸
مونوسیت (٪)	۴/۶۷ ± ۰/۵۸	۵/۰۰ ± ۱/۰۰	۵/۰۰ ± ۱/۰۰	۴/۰۰ ± ۱/۰۰
ائوزینوفیل (٪)	۰/۰۰ ± ۰/۰۰	۰/۶۷ ± ۰/۵۸	۰/۰۰ ± ۰/۰۰	۰/۶۷ ± ۰/۵۸
IgM (mg/dL)	۲۶/۰۰ ± ۱/۰۰ ^{c}	۲۹/۰۰ ± ۱/۰۰ ^{b}	۳۱/۳۳ ± ۱/۵۳ ^{a}	۲۷/۶۷ ± ۱/۱۶ ^{bc}
پروتئین کل (g/dL)	۲/۴۷ ± ۰/۱۲ ^{d}	۳/۲۹ ± ۰/۱۳ ^{b}	۳/۸۸ ± ۰/۲۸ ^{a}	۲/۹۱ ± ۰/۰۵ ^{c}
لیزوزیم (u/ml/min)	۲۰/۰۰ ± ۰/۰۰	۲۱/۰۰ ± ۱/۰۰	۲۸/۰۰ ± ۶/۰۸	۲۲/۰۰ ± ۱/۰۰
ایمونوگلوبولین کل (mg/mL)	۱۵/۲۰ ± ۰/۸۰ ^{c}	۱۷/۹۳ ± ۰/۶۷ ^{b}	۲۰/۸۰ ± ۰/۹۵ ^{a}	۱۶/۷۰ ± ۰/۲۰ ^{bc}
کلسترول (mg/dL)	۱۲۷/۰۰ ± ۳/۰۰	۱۵۳/۳۳ ± ۵/۵۱	۱۶۲/۶۷ ± ۵/۰۳	۱۳۱/۳۳ ± ۱/۵۳
LDL (mg/dL)	۷۲/۰۰ ± ۲/۰۰	۷۸/۰۰ ± ۴/۳۶	۷۸/۰۰ ± ۲/۶۵	۷۲/۶۷ ± ۰/۵۸
HDL (mg/dL)	۳۲/۰۰ ± ۲/۰۰ ^{c}	۵۵/۰۰ ± ۳/۰۰ ^{b}	۶۱/۶۷ ± ۳/۰۶ ^{a}	۴۱/۳۳ ± ۱/۵۳ ^{c}
تری‌گلیسرید (mg/dL)	۷۱/۶۷ ± ۱/۵۳ ^{b}	۸۷/۰۰ ± ۳/۶۱ ^{a}	۹۱/۳۳ ± ۸/۶۳ ^{a}	۷۰/۰۰ ± ۱/۰۰ ^{b}
گلوکز (mg/dL)	۷۰/۰۰ ± ۳/۰۰ ^{b}	۹۰/۳۳ ± ۵/۰۳ ^{a}	۸۸/۰۰ ± ۶/۲۵ ^{a}	۷۳/۰۰ ± ۲/۶۵ ^{b}

حروف انگلیسی غیر مشترک، نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای مختلف در سطح $p<۰/۰۵$ است.

بحث

این مطالعه با هدف بررسی تأثیر گیاه زیره سیاه بر شاخص های رشد و خون بچه‌ماهیان جوئل انجام شد. غذای آبزیان به‌خصوص گونه‌های گوشتخوار عمدتاً شامل مواد غذایی گران‌قیمتی نظیر پودر و روغن ماهی است که علت اصلی افزایش قیمت غذای آبزیان است (Hardy, 2000). بکارگیری عصاره‌های گیاهی برای بهبود عملکرد شاخص-های رشد و تغذیه‌ای و نهایتاً سلامت و بقای ماهیان، مبحث جدیدی در علم و صنعت آبزی‌پروری است. بهبود رشد متأثر از افزودنی‌های گیاهی به عواملی مانند گونه ماهی، وضعیت تغذیه‌ای-فیزیولوژیک ماهی، غلظت مناسب، ترکیبات موجود در گیاه، مدیریت و شرایط پرورشی بستگی دارد (Cho et al. 2007). محصولات گیاهی طبیعی محرک گوارش بوده و بر ترشح صفرا و فعالیت آنزیم‌های لوزالمعده تأثیرگذار هستند (Platel and Srinivasan, 2000; Srinivasan, 2005). ترکیبات موجود در گیاهان دارویی مانند اسیدهای چرب ضروری، ویتامین‌ها و جذابیت بوی ناشی از آن‌ها، سبب بهبود اشتها و کارایی هضم غذا می‌شوند (Azeez, 2008; Barreto et al. 2008) و نهایتاً رشد نیز متاثر از فعالیت آنزیم‌های گوارشی افزایش می‌یابد (Srinivasan, 2005; Yu et al. 2008).

عامل اساسی برای افزایش سوددهی در صنعت آبزی-پروری، دستیابی به رشدی مطلوب است (ذاکری، ۱۳۸۸). رشد یکی از عواملی است که بر تولید تجاری ماهیان تأثیرگذار است (شریف‌روحانی و ایران، ۱۳۸۹). از جمله عوامل مؤثر بر رشد ماهیان، دمای آب، میزان تغذیه و اندازه ماهی است (Sener et al. 2006).

در ابتدای مطالعه حاضر اختلاف معنی‌داری دردرازای اولیه و وزن اولیه ماهیان مشاهده نشد. هم‌چنین، وزن و درازای نهایی نیز اختلاف معنی‌دار آماری نشان ندادند و ماهیان در همه تیمارها رشد نسبتاً یکدستی داشتند. با وجود این، نتایج به دست آمده در نرخ رشد ویژه، درصد افزایش وزن بدن و شاخص وضعیت نشان داد که بیشترین مقادیر این شاخص‌ها در تیمار دوم بوده است. یاسمی و همکاران (۱۳۹۶) با افزودن مقدار ۱۵٪ پودر زیره سیاه به غذای فیل ماهی پرورشی و روحی و همکاران (۱۳۹۴) با افزودن مقدار ۱٪ پودر زیره سیاه در جیره غذایی کپور معمولی این مقادیر را مناسب‌ترین دوز برای بهبود شاخص‌های رشد در این ماهیان گزارش کردند. استفاده از دوزهای مختلف زیره سیاه در بررسی‌های مختلف با توجه به اندازه و گونه پرورشی و تفاوت در مقادیر مصرفی برای رسیدن به دوزی مؤثر امری منطقی است. اما آنچه در مطالعات مشخص است این است که پودر زیره سیاه تأثیر مثبتی بر بهبود شاخص‌های رشد و تغذیه دارد. مطالعه روی کپور معمولی نشان داد که مکمل غذایی زیره سیاه رشد ماهیان را نسبت به گروه شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش داد. کپور ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی ۱٪ زیره سیاه به‌طور معنی‌داری بالاترین عملکرد رشد (افزایش وزن و نرخ رشد ویژه) را داشتند و کم‌ترین رشد ماهیان در گروه شاهد مشاهده شد (روحی و همکاران، ۱۳۹۴) که با نتیجه مطالعه حاضر مطابقت دارد. هم‌چنین، Ahmad و Abdel-Tawwab (۲۰۱۱) به تأثیر مثبت زیره سیاه در جیره غذایی ماهی تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) و روند افزایشی شاخص‌هایی مانند وزن نهایی و افزایش وزن در تیمارها اشاره کردند. این امر محتمل است که افزایش رشد حاصل از مصرف زیره سیاه در اثر افزایش جذب مواد مغذی، منجر به بهبود مصرف غذا شود که نهایتاً باعث رشد بهتر ماهی می‌شود (یاسمی و همکاران، ۱۳۹۶). مطالعات Kasiri و همکاران (۲۰۱۱) روی ماهی آنجل (*Pterophyllum scalare*) و Farahi و همکاران (۲۰۱۰) روی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) نیز نشان-دهنده تأثیر مثبت و معنی‌دار افزودنی‌های گیاهی بر شاخص‌های رشد است. به‌طور کلی، ادویه‌جات عاملی محرک در هضم غذا هستند و اثر تحریک‌کنندگی بالایی بر فعالیت آنزیمی ترشحی صفرا و لوزالمعده دارند (Platel et al. 2002). تأثیر مثبت زیره سیاه بر بهبود رشد ممکن است به علت وجود ۳ تا ۷٪ اسانس ضروری باشد که بیشترین آن را کاروون (٪۵۰-۸۵) و لیمونن (٪۳۰-۲۰) شامل می‌شوند (Ahmad and Abdel-Tawwab, 2011). در مطالعه‌ای روی تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) عامل اصلی افزایش رشد، افزودن اسانس زیره سیاه (محتوی ۴۵ تا ۶۵٪ کاروون و مقداری کارول) گزارش شده است (Sayed Hassani et al. 2011). علاوه بر این، زیره سیاه حاوی ویتامین‌هایی مانند E و اسیدهای چرب ضروری است (Abdel-Latif et al. 2004) که ممکن است نقش اثربخشی در رشد داشته باشند. قائدی و همکاران (۱۳۹۸) با مطالعه روی کپور معمولی گزارش کردند که عصاره زیره سبز منجر به افزایش وزن بدن،

ضریب رشد روزانه و نرخ رشد ویژه در مقایسه با گروه شاهد می‌شود و بیشترین مقادیر این شاخص‌ها در تیمار حاوی ۲٪ عصاره و کمترین مقدار نیز درگروه شاهد مشاهده شد. مقادیر مکمل زیره سیاه و زردچوبه به میزان ۵ گرم در کیلوگرم طی ۶ هفته سبب بهبود عملکرد رشد ماهی کفال (*Mugil cephalus*) شد (El Bahr and Saad, 2008). استـفـاده از برگ‌های خشک مرزنجوش، پودر زیره سیاه، پودر گل بابونه و پودر تخم رازیانه در غذای تیلاپیای نیل سبب افزایش معنی‌دار وزن نهایی بدن، افزایش وزن و نرخ رشد ویژه در همه گروه‌ها نسبت به گروه شاهد شد (Khalafalla, 2015). افزودن سطوح متفاوت پودر زیره سبز به جیره غذایی ماهی تیلاپیای موزامبیک نیز باعث افزایش شاخص‌های رشد مانند وزن نهایی و افزایش وزن در تیمارها شد (Yilmaz et al. 2013).

بیشترین مقادیر ضریب تبدیل غذایی در مطالعه حاضر در گروه شاهد مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری با تیمارهای اول، دوم و سوم داشت. این امر نشان‌دهنده تأثیر مطلوب زیره سیاه در کاهش ضریب تبدیل غذایی ماهی جوئل است. هم‌چنین، طی دوره ۸ هفته‌ای آزمایش، تعدادی مرگ و میر در همه تیمارها مشاهده شد، اما تفـاوت معنی‌داری در درصد بازماندگی بین تیمارهای مختلف مشاهده نشد. روحی و همکاران (۱۳۹۴) با بررسی کپور معمولی گزارش کردند که ضریب تبدیل غذایی به‌طور معنی‌داری در جیره ۱٪ زیره سیاه کاهش یافت. در مطالعه‌ای دیگر روی کپور معمولی تغذیه شده با سطوح مختلف عصاره زیره سبز، کمترین میزان تبدیل غذایی در تیمار ۲٪ عصاره مشاهده شد که با گروه شاهد اختلاف معنی‌دار داشت (قائدی و همکاران، ۱۳۹۸). زیره موجود در جیره غذایی باعث افزایش قابلیت هضم مواد مغذی و نهایتاً بهبود استـفاده از مواد مغذی (چربی و نیتروژن) می‌شود که به نوبه خود، بهبود وضعیت رشد را به همراه دارد (Yilmaz et al. 2013). مطالعات نشان می‌دهد که ترکیبات مختلف فعال در ادویه‌جات، چاشنی‌ها و گیاهان با افزایش غلظت اسیدهای صفراوی میزان هضم را تحریک کرده و در نتیجه، باعث تحریک لوزالمعده و افزایش ترشح آنزیم‌های گوارشی (لیپاز، آمیلاز و پروتئاز) می‌شوند (Srinivasan, 2005). علاوه بر این، دلایل احتمالی درباره اثرات زیره سبز بر رشد وجود دارد که می‌توان به جاذب بودن زیره سبز اشاره کرد. بوی مواد تشکیل‌دهنده موادی مانند ادویه‌جات (ریحان، زیره سبز و غیره) به عنوان افزایش‌دهنده تغذیه، سبب افزایش رشد می‌شوند (El Dakar et al. 2008; Ahmad and Abdel-Tawwab, 2011). هم‌چنین، اثر احتمالی بعضی ترکیبات مانند روغن‌های ضروری، اسیدهای چرب ضروری (لینولئیک، لینولنیک و آراشیدونیک)، ویتامین‌ها و مواد معدنی به‌خصوص اسیدهای چرب ضروری بر رشد انواع ماهیان ثابت شده است (Abdel Latif et al. 2004; Azeez, 2008). بهبود شاخص‌های رشد می‌تواند در اثر فراوانی اسیدهای آمینه ضروری مورد نیاز ماهیان یا اثرات ضد میکروبی و افزایش مقاومت سلولی حاصل از مصرف زیره باشد (Amal, 1997). تیمول و منتول ترکیبات موجود در زیره هستند. تیمول سبب افزایش ترشحات معدی شده و منتول نیز تأثیری اشتهاآور دارد که در مجموع، سبب تحریک هضم و افزایش رشد می‌شوند. هم‌چنین، بوی زیره سبز که در اثر کومین آلدهید است، تحریک‌کننده ترشح بزاق است و به نوبه خود، هضم را آسان می‌کند (Sharifi et al. 2011). افزودن گیاهان دارویی به جیره غذایی سبب افزایش مواد مغذی قابل هضم و اصلاح بهره‌برداری از مواد مغذی می‌شود. افزایش اسیدهای صفراوی و تحریک لوزالمعده و افزایش آنزیم‌های گوارشی نیز بهبود فرآیند هضم و ضریب تبدیل غذایی را به همراه دارد (Srinivasan, 2005; Ahmad and Abdel-Tawwab, 2011; Yilmaz et al. 2013). همچنین، احتمال دارد که بهبود شاخص‌های تغذیه‌ای در اثر فعالیت‌های ضد اکسایشی، ضد باکتریایی و ضد قارچی و تحریک فرآیند سوخت و ساز توسط زیره باشد (Abdel-Maksoud et al. 2002).

به‌طور کلی، نتایج تحقیق حاضر نشان داد که استفاده از مقدار ۱٪ پودر زیره سیاه در جیره غذایی ماهی جوئل سبب عملکرد بهتر شاخص‌های رشد و تغذیه می‌شود. البته مقدار ۰/۵٪ نیز در بسیاری از شاخص‌ها تفاوت معنی‌داری با تیمار ۱٪ نداشت. علت افزایش شاخص‌های رشد در تیمارها را می‌توان این گونه تفسیر کرد که احتمالاً زیره دارای ترکیباتی است که فرایند هضم و جذب را تسهیل کرده و به نوبه خود، کمیت و کیفیت مصرف مواد غذایی را در ماهیان بهبود می‌بخشد.

ترکیبات خونی نشان‌دهنده وضعیت سلامتی (Bani and Haghi-Vayghan, 2011) و فیزیولوژی آبزیان (Hued and Bistoni, 2002) بوده و ارزیـابی شاخص-

های خونی روشی برای تعیین واکنش استرس در ماهیان است (Atmadi et al. 2016).

گلبول‌های سفید خون جزء عوامل محافظت‌کننده در برابر عوامل بیماری‌زا بوده و نقش مهمی در عمل بیگانه‌خواری و پاسخ ایمنی نسبت به عوامل انگلی، ویروسی، باکتریایی و کمک به ترمیم بافت‌های آسیب دیده دارند. اندازه‌گیری گلبول‌های سفید، درصد و نوع آن‌ها در تعیین وضعیت عمومی ماهی بسیار پر کاربرد است (Sakai, 1999). در مطالعه حاضر، میـزان گلبول سفید تیمار دوم به‌طور معنی-دار بیش از تیمار شاهد و تیمار سوم بود اما تفاوت معنی-داری با تیمار اول نداشت. از جمله تحقیقات هم‌سو با مطالعه حاضر می‌توان به تحقیق علیشاهی و همکاران (۱۳۹۱) اشاره کرد. آن‌ها گزارش کردند که افزودن عصاره خار مریم در جیره غذایی کپور معمولی سبب افزایش تعداد گلبول‌های سفید می‌شود. اما در مطالعه‌ای مغایر با تحقیق حاضر، افزودن زیره سیاه به جیره غذایی ماهی کپور معمولی سبب کاهش معنی-دار تعداد گلبول سفید در ماهیان تغذیه شده با زیره سیاه در مقایسه با گروه شاهد شد (روحی و همکاران، ۱۳۹۴). از آنجا که در زمان بروز استرس، تعداد گلبول‌های سفید افزایش می‌یابد (Hastuti and Subandiyono, 2018) و وجود گلبول‌های سفید نشان‌دهنده التهاب است (Czech et al. 2009)، افزایش مقادیر گلبول سفید در جیره‌های حاوی زیره سیاه در مطالعه حاضر امری متعارف نیست. علت احتمالی این امر را می‌توان به وجود ترکیبات ناشناخته موجود در زیره سیاه نسبت داد. به‌طور کلی، شاخص‌هایی مانند گلبول سفید، گلبول قرمز، هماتوکریت، هموگلوبین، MCHC، MCV و MCH نشان‌دهنده وضعیت سلامتی در ماهیان هستند (Michael et al. 2019). ندایی و همکاران (۱۳۹۴) نیز اظهار کردند که تعداد گلبول‌های قرمز، درصد هماتوکریت و میزان هموگلوبین شاخص‌های مناسبی برای بیان ظرفیت انتقال اکسیژن و سلامت در ماهیان هستند. استرس باعث کاهش تعداد گلبول‌های قرمز، سطوح هماتوکریت و هموگلوبین می‌شود (Hastuti and Subandiyono, 2018). از این رو، افزایش میزان گلبول قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت در تیمار دوم (۱٪ زیره سیاه) نشان‌دهنده تأثیر مطلوب زیره سیاه در بهبود وضعیت شاخص‌های خونی ماهی جوئل است. نتایج مطالعه روی کپور معمولی نشان داد که مکمل غذایی زیره سیاه اثر مثبتی بر هماتوکریت دارد (روحی و همکاران، ۱۳۹۶). در مطالعه Pratheepa و همکاران (۲۰۱۰) مشخص شد که افزودن عصاره برگ گیاه بکرایی در جیره غذایی کپور معمولی سبب افزایش میزان هموگلوبین می-شود که هم‌سو با نتایج مطالعه حاضر است. با وجود این، روحی و همکاران (۱۳۹۴) با مطالعه روی ماهی کپور معمولی تفاوت معنی‌داری در رابطه با تعداد گلبول قرمز، مقادیر هموگلوبین و هماتوکریت در گروه شاهد و تیمارهای مصرف کرده از زیره سیاه گزارش نکردند.

در مطالعه حاضر، کمترین میزان MCV و MCH در تیمار دوم مشاهده شد اما میزان MCHC در هیچ یک از تیمارها تفاوت معنی‌داری نشان نداد. سوری‌نژاد و همکاران (۱۳۹۲) گزارش کردند که با افزودن دوز ۱۵۰ میلی‌گرم گیاه مورخوش در جیره غذایی گربه ماهی در سطوح MCH تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد که تا حدی مشابه یافته‌های مطالعه حاضر است.

همچنین، در مطالعه حاضر مشخص شد که میزان نوتروفیل در تیمار دوم به طور معنی دار بیش از دیگر تیمارهاست. علاوه بر این، تفاوت معنی‌داری در میزان لنفوسیت، مونوسیت و ائوزینوفیل در تیمارهای مختلف مشاهده نشد. نتایج تحقیقی درباره میزان لنفوسیت کاهش معنی‌داری را در ماهیان تغذیه شده با جیره‌های غذایی حاوی عصاره‌های پنج انگشت و رازیانه نشان داد، به‌طوری که میزان لنفوسیت در گروه شاهد نسبت به دیگر تیمارها بیشتر بوده است که با نتایج تحقیق حاضر هم‌سویی دارد. هم‌چنین، Nya و Austin (۲۰۰۹) افزایش درصد نوتروفیل در ماهی قزل-آلای رنگین کمان تغذیه شده با جیره غذایی حاوی پودر گیاه زنجبیل را گزارش کردند که با نتایج تحقیق حاضر هم‌سو است.

در مطالعه حاضر در باره شاخص‌های ایمنی خون همچون IgM، لیزوزیم و ایمونوگلوبولین کل مشخص شد که تیمار دوم دارای مقادیر بیشتری از این عوامل در مقایسه با گروه شاهد و دیگر تیمارهاست که این امر نشان‌دهنده تأثیر مثبت زیره سیاه در بهبود این شاخص‌ها و مناسب‌تر بودن دوز مصرفی در تیمار دوم (۱٪ زیره سیاه) است. این نتایج با یافته‌های Dugenci و همکاران (۲۰۰۳) هم‌سو است که گزارش کرده بودند استفاده از عصاره گیاهان دارویی مانند دارواش، گزنه و زنجبیل سبب افزایش سطح ایمنی در ماهیان می‌شود، به‌طوری که ماهیان تغذیه‌شده با عصاره آبی زنجبیل بیشترین تقویت دستگاه ایمنی را در مقایسه با دیگر

تیمارها نشان داد. در مطالعه انجام شده روی کپور معمولی (روحی و همکاران، ۱۳۹۵) گزارش شد که استفـاده از زیره سیـاه به میزان ۱٪ تأثیر مثبـت معنی‌داری بر افزایش ایمنی ماهی کپور معمولی دارد، در حالی‌که در مقادیر ۰/۵٪ و ۱/۵٪ تفاوت معنی‌داری با گروه شاهد مشاهده نشد. نتایج مطالعه آنها مشابه نتایج تحقیق حاضر است. از این رو، می‌تـوان ادعا کرد که زیره سیاه کمک مؤثری به بهبود کارایی دستگاه ایمنی ماهـیان می‌کند. این دستگاه هم شامل اجزای اختصاصی و هم غیر اختصاصی است. بخش غیر اختصاصی همان ایمنی طبیعی یا ذاتی است که شامل بخش عمده‌ای از مکانیسم‌های بیگانه‌خواری مرتبط با ماکروفاژها و گلبول‌های سفیدی مانند نوتروفیل‌ها است و برای حمله به ریزموجودات مهاجم به پوست یا موکوس اختصاص یافته‌اند. علاوه بر بیگانه‌خواری، احتمال دارد عوامل محلول دیگری مانند لیزوزیم و کمپلمان نیز به تخریب عوامل آسیب‌رسان مهاجم کمک کنند. جزء اختصاصی دستگاه ایمنی شامل پاسخ‌های هومـورال و سلولی است که شامل حافظه ایمنی‌شناختی اختصاصی ماهیان است (Iwama and Nakanishi, 1996). پاسخ‌های ایمنی مختلف و مقاومت به بیماری در ماهیان ممکن است هم متأثر از مواد مغذی و هم اجزای غیر مغذی جیره باشد (ندایی و همکاران، ۱۳۹۴).

در مطالعه حاضر روی عوامل بیوشیمیایی خون ماهی جوئل، بیشترین میزان کلسترول، تری‌گلیسرید و گلوکز در تیمـار دوم مشاهـده شد. هم‌چنین، میـزان کلسـترول کم‌چگال (LDL) تفاوت معنی‌داری در تیمارها نداشت، اما میزان کلسترول پرچگال (HDL) به‌طور معنی‌دار در تیمار دوم بیش از دیگر تیمارها بود. به نظر می‌رسد که مصرف زیره سیاه به‌رغم فواید بسیار، مقادیر چربی و حتی میزان استرس را در تیمارهای مورد نظر نسبت به گروه شاهد افزایش داده و بر فیزیولوژی بدن ماهیان اثر سو داشته است. گلوکز یک منبع انرژی برای تمام سلول‌های بدن است (Artacho et al. 2007) و کلسترول نیز ترکیبی ضروری برای ساختار غشای سلولی است که برای بررسی وضعیت تغذیه‌ای جانوران اندازه‌گیری می‌شود (Sancho et al. 1997). روحی و همکاران (۱۳۹۴) با بررسی اثر سطوح مختلف زیره سیاه بر برخی شاخص‌های خونـی در کپور معمـولی گزارش کردنـد که بین فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون ماهیان تغذیه شده با زیره سیاه در مقایسه با گروه شاهد تفاوت معنی‌داری وجود داشت و بالاترین سطوح گلوکز و کلسترول در گروه شاهد مشاهده شد، اما AL-Dubakel و همکاران (۲۰۱۲) افزایش گلوکز در اثر افزودن سیاه دانه به جیره غذایی کپور معمولی را گزارش کردند. صارمی و همکاران (۱۳۹۷) با مطالعه اثرات عصاره الکلی زیره سبز بر برخی شاخص‌های سرمی ماهی انگشت قد کپور معمولی گزارش کردند که آزمایش‌های انجام شده، کاهش معنی‌دار گلوکز و کلسترول سرم را در ماهیان تغذیه شده با جیره‌های حاوی عصاره زیره سبز نشان داد. نتایج حاصل از تحقیق آنها نشان داد که جیره‌های غذایی حاوی عصاره زیره سبز به‌خصوص در غلظت‌های بالا می‌تواند فعالیت آنزیم‌های گوارشی و شاخص‌های سرمی ماهیان جوان کپور معمولی را بهبود بخشد. مطالعه روی باس دریایی (*Lateolabrax japonicus*) تغذیه کرده از سیاه دانه، زردچوبه و ترکیب این دو نشان داد که این ترکیبات سبب کاهش سطوح تری‌آسیل گلیسرول و لیپوپروتئین‌هایی با چگالی خیلی پایین می‌شود (Saad et al. 2013). نتایج مطالعه روحی و همکاران (۱۳۹۶) روی کپور معمولی نشان داد که مکمل غذایی زیره سیاه اثر مثبتی بر گلوکز و مقاومت کپور معمولی نسبت به تنش شوری دارد. بیشترین مقادیر پروتئین کل در مطالعه حاضر نیز در تیمار دوم مشاهده شد. روحی و همکاران (۱۳۹۴) بالاترین میزان پروتئین کل را در تیمار ۱٪ زیره سیاه در کپور معمولی مشاهده کردند. غلظت پروتئین سرم و آلبومین سرم، شاخصی مهم در دستگاه دفاع هومورال ماهیان هستند و در ماهیان تغذیه شده با عصاره‌های گیاهی به شدت افزایش می‌یابند. غلظت پروتئین کل سرم با غلظت تـری‌گلیسریـد سـرم رابطـــه مستقـیم دارد. ارتبـاط تری‌گلیسریدها و پروتئین کل احتمالاً به این دلیل است که تری‌گلیسریدها به علت عدم حلالیت در آب قادر به انتقال در پلاسما نیستند. به همین دلیل با بعضی از لیپوپروتئین‌ها و کلسترول مجموعه‌ای را تشکیل می دهند که قابل انتقال در پلاسما باشند و احتمال دارد که افزایش یا کاهش ساخت این لیپوپروتئین‌ها بر غلظت پروتئین کل تاثیرگذار باشد (شاهسونی و همکاران، ۱۳۸۵). احتمالاً اثرات منفی گیاهان دارویی مرتبط با ترکیبات سمی، سطوح بیش از اندازه و شرایط حساسیت‌زا باشد، اما زمانی که غلظت بهینه آن‌ها استفاده شود، تأثیر منفی روی رشد و سلامت ماهی ندارند (Bandaranayake, 2006).

در یک نتیجه‌گیری کلی می‌توان بیان کرد که افزودن زیره سیاه به میزان ۱٪ غذا می‌تواند اثر معنی‌دار و مطلوبی بر افزایش کارایی دستگاه ایمنی ماهی جوئل و بهبود شاخص‌های رشد و تغذیه‌ای این ماهی داشته باشد. هم‌چنین، با توجه به نتایج این تحقیق توصیه می‌شود تا مطالعاتی در زمینه تأثیر گیاه زیره سیاه در بهبود شاخص‌های رشد و تغذیه‌ای و نیز کارایی دستگاه ایمنی گونه‌های خوراکی پرورشی مانند ماهیان خاویاری و قزل‌آلا، اثر استفاده از عصاره زیره سیاه به همراه دیگر محرک‌های رشد در جیره غذایی ماهیان و ارزیابی اقتصادی استفاده از انواع عصاره‌های گیاهان دارویی و مقایسه آن‌ها با یکدیگر انجام شود.

تشکر و قدردانی

به این وسیله نگارندگان مراتب تشکر و قدردانی خود را از همکاری صمیمانه مسئولین محترم آزمایشگاه ویرومد ابراز می‌دارند.

منابع

ادهمی، ب.، یگانه، س.، جعفری‌کناری، س. ۱۳۹۵. اثر گاماروس دریای خزر بر پارامترهای رشد، بازماندگی و فراسنجه‌های بیوشیمیایی سرمی در بچه ماهی آکواریومی جوئل. زیست‌شناسی جانوری تجربی ۵: ۳۷-۳۱.

دادخواه، ا.، فاطمی، ف.، داوودیان، ن. ۱۳۹۰. اثر حافظتی عصاره هیدروالکلی به‌دست آمده از زیره سیاه در آسیب بافت قلب و کلیه در مدل التهابی CLP. مجله دانشگاه علوم پزشکی قم ۵: ۱۳-۵.

ذاکری، م. ۱۳۸۸. اثرات سطوح مختلف پروتئین جیره و چربی در عملکرد بیولوژیکی در مولدین *Acanthopagrus latus*. رساله دکتری، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، ۲۰۵ ص.

روحی، ز.، ایمانپور، م.ح.، جعفری، و.، تقی‌زاده، و. ۱۳۹۴. اثر سطوح مختلف زیره سیاه (*Carum carvi*) بر عملکرد رشد و برخی پارامترهای خونی در کپورمعمولی (*Cyprinus carpio*). محیط زیست جانوری ۷: ۱۱۲-۱۰۵.

روحی، ز.، ایمانپور، م.ح.، حاجی مرادلو، ع.، سلمانیان فهدریجانی، م. ۱۳۹۵. اثر مکمل‌های گیاهی زیره سیاه (*Carum carvi*) و شنبلیله (*Trigonella foenum graecum*) بر فعالیّت ضد باکتریایی و پروتئین محلول موکوس در بچه ماهیان کپور معمولی. بوم شناسی آبزیان ۶: ۱۳۶-۱۲۸.

روحی، ز.، ایمانپور، م.ح.، جعفری، و.، تقی‌زاده، و. ۱۳۹۶. اثر تنش شوری بر بقاء پارامترهای بیوشیمیایی و خونی در بچه ماهی کپور معمولی تغذیه شده با مکمل گیاهی زیره سیاه. یافته‌های نوین در علوم زیستی ۴: ۵۴-۴۷.

سوری‌نژاد، ا.، رضایی، م.، سلطانیان، س.، یوسف‌زادی، م. ۱۳۹۲. تاثیر عصاره گیاه مورخوش در جیره غذایی بر شاخص‌های رشد، خون‌شناسی و ایمنی‌شناسی گربه ماهی. بوم‌شناسی آبزیان ۳: ۱۹-۸.

شاهسونی، د.، مهری، م.، مازندرانی، م. ۱۳۸۵. تعیین مقادیر برخی از الکترولیت‌های سرم خون ماهی خاویاری قره‌برون (*Acipenser persicus*). مجله دامپزشکی ایران ۲: ۱۱۷-۱۱۲.

شریف‌روحانی، م.، ایران، ع.م. ۱۳۸۹. دستورالعمل‌های فنی موضوعی-محصولی. جلد: چهارم، ماهیان خاویاری. وزارت جهاد کشاورزی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مؤسسه تحقیقات شیلات ایران، ۸۴ صفحه.

صارمی، ن.، موسوی، س.م.، ذاکری، م.، زنگویی، ن.، شهریاری، ع. ۱۳۹۷. اثرات عصاره الکلی زیره سبز بر آنزیم‌های گوارشی و برخی پارامترهای سرمی ماهی انگشت قد کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). توسعه آبزی‌پروری (علوم زیستی) ۱۲: ۵۱-۶۹.

عامری‌مهابادی، م. ۱۳۷۸. روش‌های آزمایشگاهی هماتولوژی دامپزشکی. انتشارات دانشگاه تهران، ۱۲۶ صفحه.

عبدی، ح.، محمودی، ن.ا.، فلاحتکار، ب. ۱۳۸۸. اثرات نوکلئوتید جیره بر برخی شاخص‌های رشد و ترکیب لاشه در ماهی کپور معمولی. علوم و فنون دریایی ۲-۱: ۳۰-۲۲.

علیشاهی، م.، سلطانی، م.، مصباح، م.، زرگر، ا. ۱۳۹۱. اثرات ایمنی و تحریک رشد لوامیزول، ارگوسان و سه عصاره گیاهی در ماهی کپور معمولی. تحقیقات دامپزشکی ۲: ۱۴۲-۱۳۵.

فتح‌اللهی، ت.، جوهری، ع. ۱۳۹۴. مروری بر کاربردهای گیاهان دارویی در تکثیر و پرورش آبزیان. همایش بین-

المللی پژوهش‌های کاربردی در کشاورزی، تهران، خرداد ۱۳۹۴.

فرحمند، ح.، یاراحمدی، پ.، کلنگی میان‌دره، ح.، میرواقفی، ع. ۱۳۹۳. مطالعه پروفایل هماتولوژی و بیوشیمی سرم قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با ایمونوژن. مجله منابع طبیعی ایران ۶۷: ۴۶۵-۴۴۵.

قائدی، ۱۳۹۳. اثرات عصاره الکلی زیره سبز بر رشد، تغذیه و آنالیز بیوشیمیایی لاشه ماهی جوان کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، ۹۲ ص.

قائدی، ف.، زنگویی، ن.، موسوی، س.م.، ذاکری، م. ۱۳۹۸. اثرات سطوح مختلف عصاره زیره سبز بر عملکرد رشد و تغذیه ماهی جوان کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). زیست‌شناسی جانوری تجربی ۸: ۳۴-۲۳.

کاظمی، ر.، قدسی، م. ۱۳۸۹. باکتری‌های اسید لاکتیک و تولید مواد ضد میکروبی. اولین همایش کشوری دانشجویی عوامل اجتماعی موثر بر سلامت. تهران، ۷ صفحه.

گرجی‌پور، ع.، قائدی، ع.، پاکزاد، ک. ۱۳۹۳. نیازمندی‌های غذایی ماهیان زینتی. مجله آبزیان زینتی ۱: ۳۹-۲۵.

مهرابی، ی. ۱۳۷۷. مطالعه مقدماتی اثر بیهوشی پودر گل درخت میخک (*Syzygium aromaticum*) بر روی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان. مجله پژوهش و سازندگی ۴۲: ۱۶۲-۱۶۰.

ندایی، ش.، پیربیگی، ع.، علی، م. ۱۳۹۴. عوامل عفونت‌زا و تحریک پاسخ‌های ایمنی اختصاصی و غیر اختصاصی در ماهی‌ها از طریق واکسیناسیون با عصاره‌های مختلف. کنفرانس ملی کشاورزی پایدار، محیط زیست و توسعه روستایی، کوهدشت، ۲۷ فروردین ۱۳۹۴.

یاسمی، م.، سرپناه، ع.، محمودی خوش‌دره‌گی، م.، پارسا، م. ۱۳۹۶. مطالعه اثر زیره سیاه (*Carum carvi*) بر برخی شاخص‌های رشد و ترکیبات لاشه بدن بچه فیل-ماهی. مجله علمی شیلات ایران ۲۶: ۱۷۲-۱۶۹.

Abdel-Latif, S.A., El-Yamany, A.T., Edaly, A.F. 2004. Evaluation of using different levels and sources of medicinal herbs in growing Japanese quail diets. Egyptian Journal of Nutrition and Feeds 7: 69-81.

Abdel-Maksoud, A.M.S., Aboul-Fotoh, G.E., Allam, S.M., Abou-Zied, R.M. 2002. The response of Nile tilapia to animal protein free diets supplemented with some free amino acids and some medicinal plants. 1st Conference in Aquaculture, Egyptian Aquaculture Society, El-Arish, Egypt: 233-260.

Ahmad, M.H., Abdel-Tawwab, M. 2011. The use of caraway seed meal as a feed additive in fish diets: Growth performance, feed utilization, and whole-body composition of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) fingerlings. Aquaculture 314: 110-114.

Ai, Q., Mai, K., Tan, B., Xu, W., Duan, Q., Ma, H., Zhang, L. 2006. Replacement of fish meal by meat and bone meal in diets for large Yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*). Aquaculture 260: 255-263.

Al-Dubakel, A.Y., Al-Mhawe, B.H., Majeed, M.F., Shaeyal, L.W. 2012. Preliminary study on the effect of dietary black seed (*Nigella sativa*) on growth and blood glucose of common carp (*Cyprinus carpio*) fingerlings. Journal of Agricultural Research 1: 41-51.

Amal, F. 1997. Pharmacological studies on *Nigella stavia* L. on chickens infected with *Salmonella typhimurium*. M.V.Sc. (Pharmacology), Zagazig Univiversity of Egypt.

Amar, E.C., Kiron, V., Satoh, S., Okamoto, N., Watanabe, T. 2000. Effects of dietary b-carotene on the immune response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Fisheries Science 66: 1068-1075.

Artacho, P., Soto-Gamboa, M., Verdugo, C., Nespolo, R.F. 2007. Blood biochemistry reveals malnutrition in black necked swans (*Cygnus melanocoryphus*) living in a conservation priority area. Comparative Biochemistry and Physiology 146A: 283-290.

Atmadi, V.P., Hyung, J.R., Hwa Min, B., Gustiano, R., Young Jin, Y.C. 2016. Effects of different salinity levels on physiological and hematological response of rock bream *Oplegnathus*

fasciatus. Indonesian Aquaculture Journal 11: 75-79.

Azeez, S. 2008. Cumin. In: Chemistry of Spices. Parthasarathy, V.A. Chempakam, B. Zachariah, T.J. (Eds.). CAB International, Oxfordshire, 242-259.

Bandaranayake, W.M. 2006. Quality control, screening, toxicity and regulation of herbal drugs, in: Ahmad, I., Aqil, F., Owais, M. Modern phytomedicine: turning medicinal plants into drugs, WILEY-VCHVerlag GmbH& Co. KGaA,Weinheim 25-57.

Bani, A., Haghi-Vayghan, A. 2011. Temporal variations in haematological and biochemical indices of the Caspian kutum, *Rutilus frisii kutum*. Ichthyological Research 58: 126-133.

Barreto, M.S.R., Menten, J.F.M., Racanicci, A.M.C., Pereira, P.W.Z., Rizzo, P.V. 2008. Plant extracts used as growth promoters in broilers. Brazilian Journal of Poultry Science 10: 109-115.

Bekcan, S., Dogankaya, L., Cakirogullari, G.C. 2006. Growth and body composition of European catfish (*Silurus glanis*) fed diet containing different percentages of protein. The Israeli Journal of Aquaculture 58: 137-142.

Blaxhall, P.C., Daisley, K.W. 1973. Roution haematological methods for use with fish blood. Journal of Fish Biology 5: 771-781.

Cerezuela, R., Cuesta, A., Meseguer, J., Esteban, A. 2008. Effects of inulin on Gilthead seabream (*Sparus aurata*) innate immune parameters. Fish & Shellfish Immunology 24: 663-668.

Cho, S., Lee, S., Park, B., Ji, S., Lee, J., Bae, J., Oh, S. 2007. Effect of dietary inclusion of various sources of green tea on growth, body composition and blood chemistry of juvenile olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). Fish Physiology and Biochemistry 33: 49-57.

Citarasu, T. 2010. Herbal biomedicines: a new opportunity for aquaculture industry. Aquaculture International 18: 403-414.

Czech, A., Kowalczuk, E., Grela, E.R. 2009. The effect of an herbal extract used in pig fattening on the animal's performance and blood components. Annals Universitatis Mariae Curie-Skodowska 27: 25-33.

de Carvalho, C.C.C.R., da Fonseca, M.M.R. 2006. Carvone: Why and Howshould one Bother to Produce This Terpene. Food Chemistry 95: 413-422.

Dugenci, S., Arda, N., Cand, N. 2003. Some medicinal plants as immunostimulants for fish. Journal of Ethnopharamacology 88: 99-106.

El-Bahr, S.M., Saad, T.T. 2008. Effect of Black cumin seeds (*Nigella sativa*) and/or Turmeric (Curcumin) on hematological, biochemical and immunological parameters of *Mugil cephalus* fish vaccinated with *Aeromonus hydrophila* bacterin. The 13 Scientific Congress, Faculty of Veterinary Medicine, Assiut University: 365-388.

El-Dakar, A.Y., Hassanien, G.D., Gad, S.S., Sakr, S.E. 2008. Use of dried basil leaves as a feeding attractant for hybrid Tilapia, *Oreochromis niloticus* × *Oreochromis aureus*, fingerlings. Mediterranean Aquaculture Journal 1: 35-44.

Ellis, A.E. 1977. The leucocytes of fish: A review. Journal of Fish Biology 11: 453-491.

Farahi, A., Kasiri, M., Sudagar, M., Iraei, M.S., Shahkolaei M.D. 2010 Effect of garlic (*Allium sativum*) on growth factors, some hematological parameters and body compositions in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). AACL Bioflux 3: 317-323.

Grisdale-Helland, B., Helland, S.J., Gatlin, D.M. 2009. The effects of dietary supplementation with mannano-ligosaccharide, fructooligosaccharide or galactooligosaccharide on the growth and feed utilization of Atlantic salmon (*Salmo salar*). Aquaculture 283: 163-167.

Hardy, R. 2000. New development in aquatic feed ingredients and potential of

enzyme supplements. International Symposium on Aquaculture Nutrition, Merida, Yucatan, Mexico.

Hastuti, S., Subandiyono, S. 2018. Haematological parameters of the North African catfish *Clarias gariepinus* farmed using biofloc technology. AACL Bioflux 11: 1415-1424.

Houston, A.H. 1990. Blood and circulation. In: Methods for Fish Biology (eds C.B. Schreck and P.B. Moyle) American Fisheries Society: Bethesda MD, pp. 273-334.

Hued, A., Bistoni, M.A. 2002. Effects of water quality variations on fish communities in the Central Part of Argentina, South America. Proceeding of the International Association of Theoretical and Applied Limnology 28: 112-116.

Iwama, G., Nakanishi, T. 1996. The Fish Immune System Organism, Pathogen and Environment. Academic Press, New York, 380p.

Javed, M., Durrani, F.R., Hafees, A., Khan, R.U., Ahmad, I. 2009. Effect of aqueous extract of plant mixture on carcass quality of broiler chicks. ARPN Journal of Agriculture Biology Science 4: 37-40.

Jayaprakas, V., Sambhu, C. 1996. Growth response of white prawn (*Penaeus indicus*) to dietary L-carnitine. Asian Fisheries Science 9: 209-219.

Kasiri, M., Farahi, A., Sudagar, M. 2011 Effects of supplemented diets by levamisole and Echinacea purpurea extract on growth and reproductive parameters in angelfish (*Pterophyllum scalare*). AACL Bioflux 4: 46-51.

Khalafalla, F.A., Ali, F.H.M., Hassan, A.H.A. 2015. Quality improvement and shelf-life extension of refrigerated Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fillets using natural herbs. Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences 4: 33-40.

Klontz, G.W. 1994. Fish Hematology. In: Techniques in Fish Immunology. Stolen, J.S. Fletcher, T.C. Rowley, A.F. Kelikoff, T.C. Kaattari, S.L., Smith, S.A. (Eds.). SOS Publications: 121-132.

Lovell, R.T. 1989. Nutrition and Feeding of Fish. Van Nostrand Reinhold, New York, 267p.

Matsumura, T., Ishikawa, T., Kitajima, J. 2002. Water-soluble constituents of caraway: Aromatic compound, aromatic compound glucoside and glucides. Phytochemistry 61: 455-459.

Michael, S.E., Abarike, E.D., Cai, J. 2019. A review on the probiotic effects on haematological parameters in fish. American-Eurasian Journal of Scientific Research 6: 32-38.

Noble, G.K., Curtis, B. 1939. The social behavior of the jewel fish (*Hemichromis bimaculatus*) Gill. Bulletin of the American Museum of Natural History 76: 1-10.

Nya, E., Austin, B. 2009. Use of diatery ginger (*Zingiber officinale roscoe*) as an immunostimulant to control *Aeromonas hydrophila* infections in Rainbow trout (*Onchorhunchus myksis*). Journalof Fish Diseases 32: 971-977.

Olesen, N.J., Jørgensen, P.E.V. 1986. Detection of neutralizing antibody to Egtved virus in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) by plaque neutralization test with complement addition. Journal of Applied Ichthyology 2: 33-41.

Padmashree, A., Roopa, N., Semwal, A.D., Sharma, G.K. 2007. Star-anise (*Illicium Verum*) and black caraway (*Carum Nigrum*) as natural antioxidants. Food Chemistry 104: 59-66.

Platel, K., Srinivasan, K. 2000. Influence of dietary spices and their active principles on pancreatic digestive enzymes in albino rats. Nahrung 44: 42-46.

Platel, K., Rao, A., Saraswathi, G., Srinivasan, K. 2002. Digestive stimulant action of three Indian spices mixes in experimental rats. Nahrung 46: 394-398.

Pratheepa, V., Ramesh, S., Sukumaran, N. 2010. Immunomodulatory effect of *Aegle marmelos* leaf extract on freshwater fish *Cyprinus carpio* infected by bacterial pathogen *Aeromonas*

hydrophila. Pharmaceutical Biology 48: 1224-1239.

Reverter, M., Bontemps, N., Lecchini, D., Banaigs, B., Sasal, P. 2014. Use of plant extracts in fish aquaculture as an alternative to chemotherapy: Current status and future perspectives. Aquaculture 433: 50-61.

Ronyai, A., Peteri, A., Radics, F. 1990. Cross-breeding of sterlet (*Acipenser ruthenus* L.) and Lena River's sturgeon (*Acipensre baeri stenorchynchus* Nikolski). Aquaculture Hungarica 6: 13-18.

Saad, T., Abou El-Geit, E., El-Hammady, A., Mona, S. 2013. Effect of black cumin seeds (*Nigella Sativa*) and/or turmeric (Curcumin) on hematological, biochemical and immunological parameters of sea bass vaccinated with *Pseudomonas fluorescens* Bacterin. Life Science Journal 10: 1292-1303.

Sakai, M. 1999. Current research status of fish immunostimulants. Aquaculture 172: 63-92.

Sancho, E., Ferrando, M.D., Andreau, E. 1997. Sub lethal effects of an organophophate insecticide on the European ell. Ecotoxicology and Environment Safety 36: 57-65.

Sayed Hassani, M.H., Mohseni, M., Hosseni, M.R., Yazdani Sadati, M.H., Pourkazemi, M. 2011. The Effect of various levels of dietary protein and lipid on growth and body composition of *Acipenser persicus* fingerlings. Journal of Applied Ichthyology 27: 737-742.

Sener, E., Yıldız, M., Savaş, S. 2006. Effect of vegetable protein and oil supplementation on growth performance and body composition of Russian sturgeon juveniles (*Acipenser gueldenstaedtii*) at low temperatures. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 6: 23-27.

Siwicki, A.K., Anderson, D.P. 1993. Nonspecific defence mechanisms assay in fish. II. Potential killing activity of neutrophils and macrophages, lysozyme activity in serum and organs and total immunoglobulin (T- Ig) levels in serum. Fish Diseases Diagnosis and Prevention's Methods, FAO-Project GCP/INT/526/JPN, IFI Olsztyn: 105-112.

Srinivasan, K. 2005. Spices as influencers of body metabolism: An overview of three decades of research. Food Research International 38: 77-86.

Yilmaz, S., Ergün, S., Soytaş, N. 2013. Dietary supplementation of cumin (*Cuminum cyminum*) preventing streptococcal disease during first-feeding of Mozambique tilapia (*Oreochromis mossambicus*). Journal of Bioscience and Biotechnology 2: 117-124.

Yu, M.C., Li, Z.J., Lin, H.Z., Wen, G.L., Ma, S. 2008. Effect of dietary Bacillus and medicinal herbs on the growth, digestive enzyme activity, and serum biochemical parameters of the shrimp *Litopenaeus vannamei*. Aquaculture International 16: 471-480.

Effects of caraway (*Carum carevi*) on growth performance, blood, immune and biochemical indices in Jewel fish (*Hemichromis bimaculatus*)

Seyedeh Fatemeh Mirfalah, Hosein Khara*
Department of Fisheries, Lahijan Branch, Islamic Azad University, Lahijan, Guilan, Iran

Received 03 April 2019; accepted 31 August 2019

Abstract
Jewel fish (*Hemichromis bimaculatus*) is a well-known and market-freindly ornamental fish in Iran. This work aimed to investigate the effects of caraway (*Carum carevi*) as a plant extract on growth, blood and immune indices in jewel fish in an 8-week period. So, 120 fish (5 g in weight) were distributed in 12 aquariums. A control group and 3 treatments were considered as follows: control group fed diet with no supplementation, treatment 1 (0.5%), treatment 2 (1%) and treatment 3 (1.5% caraway) in 3 replicates. Immunological and biochemical indices as well as growth performance were measured during the experiment. Among the growth indices, there was the best performance of SGR, PBWI, CF and FCR in treatment 2, exhibiting significant differences ($p<0.05$) with other groups. In additoin, treatment 2 displayed better results in terms of hemological indices. So that, the highest number of red blood cells, hemoglobin, hematocrit, MCHC, IgM, total protein, lysozyme, total immunoglobulin and HDL cholesterol were observed in treatment 2, exhibiting significant differences ($p<0.05$) with other groups. Therefore, it was found that adding 1% caraway to the diet can elevate the efficiency of immune system and also enhance the growth and nutritional indices in jewel fish.

Keywords: Caraway, Jewel fish, Hemological and immunological indices, Growth performance

Corresponding author: h.khara1974@yahoo.com