



تأثیر عصاره فلفل قرمز (*Caspicum annum*) بر تحریک ایمنی، فراسنجه‌های خونی و رشد بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Onchorhynchus mykiss*)

فرید فیروزبخش^{۱*}، سارا حق‌پرست^۱، محمدرضا معمارزاده^۲

^۱ گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران

^۲ مرکز تحقیقات گیاهان دارویی باریج، کاشان، ایران

چکیده

نوع مقاله:

پژوهشی

تاریخچه مقاله:

دریافت: ۹۷/۰۳/۲۸

اصلاح: ۹۷/۰۶/۱۶

پذیرش: ۹۸/۰۲/۱۳

کلمات کلیدی:

ایمنی

ضریب رشد

فلفل قرمز

قزل‌آلای رنگین‌کمان

مطالعه حاضر با هدف تأثیر عصاره فلفل قرمز بر رشد، فراسنجه‌های خونی و ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) با میانگین وزنی اولیه $9/38 \pm 0/10$ گرم در دوزهای ۰، ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ درصد فلفل در جیره به مدت یک ماه انجام گرفت. بیومتری و سنجش پارامترها در روزهای اول، پانزدهم و سی‌ام پرورش صورت پذیرفت. بر اساس نتایج، بیشترین میزان افزایش وزن، درصد افزایش وزن، ضریب رشد ویژه و کمترین ضریب تبدیل غذایی در تیمار ۰/۵ درصد مشاهده شد. پس از گذشت ۱۵ روز، تغییرات معنی‌داری در تمامی پارامترهای خونی، (به‌جز گلوبولین)، میان تیمارهای مختلف مشاهده شد، به‌طوری‌که تیمارهای ۰/۲۵ و ۰/۵ درصد بالاترین میزان هموگلوبین، تعداد گلبول‌های قرمز و گلبول‌های سفید را داشتند ($P < 0.05$). در انتهای دوره پرورش بیشترین غلظت پروتئین کل و درصد هماتوکریت در تیمار ۰/۲۵ درصد مشاهده شد. با گذشت زمان و افزایش غلظت عصاره فلفل قرمز، روند افزایشی در میزان لیپوزیم و کمپلمان دیده شد و بالاترین این مقادیر در ماهیان تغذیه شده با ۱ درصد عصاره در انتهای دوره پرورش اندازه‌گیری شد ($P < 0.05$). با توجه به این نتایج، غلظت‌های ۰/۲۵ و ۰/۵ درصد عصاره فلفل قرمز در جیره به منظور افزایش وزن و قدرت دفاع غیراختصاصی قزل‌آلای رنگین‌کمان پیشنهاد می‌شود.

مقدمه

در سیستم‌های پرورشی متراکم، ماهیان بیش از پیش در معرض ابتلا به انواع بیماری‌های عفونی و غیرعفونی قرار می‌گیرند. ماهی‌ها مانند سایر مهره‌داران رده‌های پایین‌تر خود برای مبارزه با عوامل بیماری‌زا عمدتاً به سیستم ایمنی غیراختصاصی متکی هستند (Sakai, 1998). نقش مهم سیستم ایمنی در حفظ سلامت و تضمین بقاء و رشد مناسب آبزیان، سبب شده تا محققین از انواع ترکیبات شیمیایی و طبیعی محرک و تقویت‌کننده سیستم ایمنی استفاده نمایند.

در سال‌های اخیر، تمایل شدید به حذف آنتی‌بیوتیک‌ها در آبی‌پروری به علت هزینه بالا، ایجاد مقاومت‌های دارویی، مشکلات زیست‌محیطی، پایین آمدن کیفیت گوشت و مشکلات اجرایی تجویز دارو باعث شده است تا از عصاره‌های بیولوژیکی به عنوان محرک‌های ایمنی جهت افزایش فعالیت مکانیسم‌های دفاع غیراختصاصی و ایجاد مقاومت در مقابل بیماری‌ها استفاده گردد و

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: f.firouzbakhsh@sanru.ac.ir

نیز به عنوان یک جایگزین مناسب برای آنتی‌بیوتیک‌ها باشند (Raa, 1996; Ravelo et al., 2006). در بین این دسته از محرک‌های ایمنی، عصاره‌های گیاهی به علت در دسترس بودن، قیمت پایین، عدم ایجاد مقاومت در برابر عوامل بیماری‌زا و آسیب کمتر به ماهی و محیط‌زیست در مقایسه با داروهای شیمیایی مورد توجه قرار گرفته و مطالعات بسیاری در این خصوص طی دهه‌های گذشته انجام شده است (Rao et al., 2006). امروزه، استفاده از عصاره گیاهان دارویی به عنوان ترکیبات ضد قارچ (Mehrabi et al., 2017)، ضد باکتری و همچنین محرک سیستم ایمنی (Amirkhani and Firouzbaksh, 2015) در ماهیان گسترش زیادی یافته است.

لفل قرمز با نام علمی (*Caspicum annum*)، گیاهی از خانواده (Solanaceae) حاوی ویتامین ث، بتاکاروتن، لیکوپن و آستاگزانتین است (Topuz and Ozdemir, 2007). نمونه‌های تازه آن غنی از پلی فنول‌ها به‌ویژه فلاونوئیدها، کوئرستین (Quercetin) و لوتئولین (Luteolin) هستند (Lee et al., 1995). مطالعاتی در زمینه اثربخشی پودر فلفل قرمز در جیره بر برخی شاخص‌های سرم خون موش‌های آزمایشگاهی (Sambaiah and Satyanarayana, Babaei Garmkhani et al., 2015) (1982; Hernandez) انجام گرفته است. اثر فلفل قرمز بر میزان ترشحات روده، پانکراس و صفرا در جوجه‌های گوشتی توسط Hernandez و همکاران (۲۰۰۴) مورد مطالعه قرار گرفت و مشخص گردید که ترکیبات موجود در فلفل می‌توانند سبب افزایش جذب مواد غذایی و متعاقباً افزایش وزن و رشد بیشتر در جوجه‌ها شوند. همچنین Yanar و همکاران (۲۰۱۶) به اثر بخشی فلفل قرمز تند و شیرین به عنوان مکمل غذایی بر بهبود رنگدانه‌سازی، خواص حسی و افزایش وزن قزل‌آلای رنگین‌کمان اشاره کردند. بر اساس مطالعه Talebi (۲۰۱۳)، کاپسانتین (Capsanthin) موجود در فلفل قرمز می‌تواند به عنوان ماده محرک ایمنی و افزایش‌دهنده مقاومت ماهیان در برابر عوامل عفونی نقش ایفا کند.

ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان مهم‌ترین گونه آزادماهیان پرورشی در آب شیرین است که طی سالیان اخیر پرورش آن تا حد زیادی، به‌ویژه در سیستم‌های متراکم، توسعه یافته است. به دنبال افزایش تولید و تراکم ماهی در واحد سطح، انواع بیماری‌های عفونی با سرعت هرچه‌تمام‌تر در جمعیت ماهیان پرورشی گسترش می‌یابند. لذا تلاش برای مقاومت در برابر بیماری‌ها از مهم‌ترین اهداف تحقیقات مربوط به این گونه است. با توجه به اثرات مثبت محرک‌های ایمنی گیاهی در کنترل بسیاری از بیماری‌های میکروبی و قارچی و تحریک سیستم ایمنی در آبزیان، در این تحقیق، اثر عصاره فلفل قرمز بر تغییرات رشد، پارامترهای خونی و فاکتورهای ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بررسی گردید.

مواد و روش‌ها

جهت انجام تحقیق حاضر، بچه ماهیان از کارگاه قزل‌آلای مزرعه بابل واقع در شهرستان بابل تهیه و به سالن پرورش ماهی گروه شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری انتقال داده شدند. به منظور ایجاد سازگاری با شرایط محیطی، ماهیان به مدت ۱۰ روز با غذای تجاری شرکت بیضاء (رشد یک، EX-TG1) تغذیه شدند.

تعداد ۳۰۰ قطعه بچه ماهی با میانگین وزن $9/38 \pm 0/10$ گرم به صورت تصادفی انتخاب و در ۴ گروه آزمایشی با غلظت‌های مختلف عصاره فلفل قرمز شامل شاهد (بدون عصاره)، $0/25$ ، $0/5$ و 1 درصد عصاره (وزنی/وزنی) قرار داده شدند. برای هر تیمار ۳ تکرار و در هر تکرار ۲۵ قطعه بچه ماهی در نظر گرفته شد. آزمایش در تانک‌های فایبرگلاس ۳۰۰ لیتری با ۲۵۰ لیتر آب چاه طی ۳۰ روز انجام گرفت. با استفاده از دستگاه واترچکر (مدل ۸۶۰۳ از شرکت AQUALYTIC) درجه حرارت و اسیدیته به‌طور روزانه و سختی آب به‌صورت یک‌بار در هفته اندازه‌گیری شد و متوسط مقادیر آن‌ها طی دوره پرورش به ترتیب به صورت: $11 \pm 0/5$ (درجه سانتی‌گراد)، $7/5$ و 600 (میلی‌گرم در لیتر) بود.

آماده‌سازی جیره و غذادهی

جهت آماده‌سازی جیره‌های آزمایشی، عصاره هیدروالکلی فلفل قرمز تولید شده در شرکت دارویی باریج اسانس کاشان طبق دوزهای مذکور با غذای تجاری شرکت بیضاء مخلوط شد. سپس برای تثبیت عصاره روی پلیت غذایی و جلوگیری از حل شدن آن در آب مقدار $2/5$ میلی‌لیتر روغن مایع به ازای هر کیلو غذا روی پلیت‌ها اسپری شد (Mehrabi et al., 2017). در نهایت،

پلیت‌ها پس از خشک شدن در زیر هود میکروبیولوژیک، بسته‌بندی و در یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. غذادهی به صورت روزانه بر اساس درصد وزن بدن و دمای آب در سه نوبت ۹ صبح، ۱۳ و ۱۶:۳۰ بعداز ظهر انجام شد (Mehrabi *et al.*, 2017). به‌طور روزانه، مدفوع و غذای خورده نشده از کف تانک‌ها سیفون و دوسوم آب کل تانک‌ها تعویض می‌گردید.

بررسی شاخص‌های رشد

سنجش فاکتورهای رشد در روز اول آزمایش (T0)، روز پانزدهم دوره (T15) و روز سی‌ام دوره (T30) انجام شد. افزایش وزن، ضریب رشد ویژه (Specific Growth Rate) و ضریب تبدیل غذایی (Food Conversion Ratio) با استفاده از معادلات زیر تعیین گردید (Yeganeh *et al.*, 2017).

وزن اولیه - وزن نهایی = افزایش وزن بدن (گرم)

$100 \times \frac{\text{LnW2} - \text{LnW1}}{\text{دوره پرورش}}$ = ضریب رشد ویژه (درصد در روز)

$100 \times \frac{\text{افزایش وزن / مقدار غذای خورده شده}}{\text{ضریب تبدیل غذایی}}$

که در محاسبه ضریب رشد ویژه (درصد در روز)، LnW1 = لگاریتم وزن اولیه و LnW2 = لگاریتم وزن نهایی است.

اندازه‌گیری شاخص‌های خونی و فاکتورهای ایمنی

جهت اندازه‌گیری پارامترهای خونی در روزهای T0، T15 و T30 پرورش از هر تکرار ۳ ماهی به‌طور تصادفی انتخاب و پس از بیهوشی با عصاره گل میخک (با دوز ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر) خون‌گیری از ساقه دمی ماهیان با انتخاب سه ماهی از هر تکرار به‌طور تصادفی انجام شد. شمارش گلبول قرمز (RBC) و گلبول سفید خون (WBC) به روش (Hoston, 1990) و درصد هماتوکریت (HCT) به روش میکروسانتریفیوژ و هموگلوبین (Hgb) به روش Drabkin (1945) اندازه‌گیری شدند. پروتئین کل به روش (Lowry *et al.*, 1951)، آلبومین به روش (Wotton and Freeman, 1982) و گلوبولین سرم با کسر مقدار پروتئین کل از مقدار آلبومین محاسبه شدند. اندازه‌گیری فاکتورهای ایمنی شامل لیزوزیم سرم و سیستم عامل مکمل (کمپلمان) (Mehrabi *et al.*, 2017) با دستگاه الیزا ریدر^۱ انجام شد.

تجزیه و تحلیل آماری

این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی به روش آنالیز واریانس دو طرفه با در نظر گرفتن فاکتور زمان در سه سطح (روز اول، روز ۱۵، و روز ۳۰) و فاکتور عصاره فلفل قرمز در چهار غلظت (۰، ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ درصد جیره) انجام شد. ابتدا نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون Shapiro-Wilk مورد بررسی قرار گرفت. لازم به ذکر است جهت انجام تجزیه و تحلیل آماری برخی از پارامترهای خونی همچون تعداد ائوزینوفیل، نوتروفیل، مونوسیت، لنفوسیت، گلبول سفید و گلبول قرمز که از نوع داده‌های شمارشی هستند و توزیع پواسون دارند، ابتدا تبدیل ریشه دوم (تبدیل رادیکالی) بر روی این اطلاعات انجام شد تا به توزیع نرمال برسند. به هنگام معنی‌دار بودن اثرات متقابل میان دو فاکتور، مقایسه سطوح هر فاکتور در هر سطح فاکتور دوم با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه انجام گرفت؛ سپس از آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح معناداری $\alpha=0/05$ جهت مقایسه میانگین‌ها استفاده شد. آنالیز داده‌ها توسط نرم‌افزار SPSS۱۷ و رسم نمودارها نیز با نرم‌افزار Excel انجام گرفت.

نتایج

پارامترهای رشد

نتایج حاصل از مقایسه پارامترهای رشد در قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با سطوح مختلف عصاره فلفل قرمز در جدول ۱ نشان داده شده است. بر اساس جدول ۱، تیمارهای مختلف آزمایشی در اولین روز آزمایش اختلاف وزنی معنی‌داری با یکدیگر

^۱ ELISA READER

نداشتند ($P>0.05$)؛ درحالی‌که وزن نهایی قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با ۰/۵ درصد عصاره فلفل قرمز در مقایسه با سایر تیمارها به‌طور معنی‌داری بالاتر بود ($P<0.05$). همچنین بیشترین میزان افزایش وزن، درصد افزایش وزن و نرخ رشد ویژه (SGR) در تیمار ۰/۵ درصد مشاهده شد و تیمارهای شاهد و ۱ درصد عصاره کمترین مقدار را داشتند. قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با ۰/۵ و ۱ درصد عصاره به ترتیب کمترین ($1/22 \pm 0/034$) و بیشترین ($1/44 \pm 0/038$) ضریب تبدیل غذایی را نشان دادند ($P<0.05$).

جدول ۱. مقایسه پارامترهای رشد در قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با سطوح مختلف عصاره فلفل قرمز

پارامتر	شاهد	تیمار ۰/۲۵ درصد	تیمار ۰/۵ درصد	تیمار ۱ درصد
وزن اولیه (گرم)	$9/44 \pm 0/100$ a	$9/29 \pm 0/06$ a	$9/35 \pm 0/05$ a	$9/43 \pm 0/104$ a
وزن نهایی (گرم)	$20/6 \pm 0/100$ ab	$20/8 \pm 0/100$ b	$21/86 \pm 0/404$ c	$20/3 \pm 0/264$ a
افزایش وزن (گرم)	$11/56 \pm 0/200$ ab	$11/51 \pm 0/112$ b	$12/51 \pm 0/354$ c	$10/86 \pm 0/275$ a
درصد افزایش وزن	$118/17 \pm 3/37$ a	$123/9 \pm 1/74$ b	$133/86 \pm 3/08$ c	$115/21 \pm 3/52$ a
ضریب تبدیل غذایی	$1/33 \pm 0/026$ b	$1/29 \pm 0/012$ b	$1/22 \pm 0/034$ a	$1/44 \pm 0/038$ c
نرخ رشد ویژه (درصد در روز)	$1/73 \pm 0/034$ a	$1/79 \pm 0/017$ b	$1/88 \pm 0/029$ c	$1/70 \pm 0/036$ a

حروف غیر همنام در هر ردیف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است.

فاکتورهای خون‌شناسی

اثر متقابل غلظت در زمان و اثرات مستقل هر یک از آن‌ها برای گلوبولین، اتوزینوفیل و مونوسیت معنی‌دار نبود ($P>0.05$). همچنین اثر متقابل غلظت در زمان برای گلبول قرمز معنی‌دار نبود ($P>0.05$). اثر متقابل غلظت در زمان برای آلبومین، هموگلوبین، نوتروفیل، لنفوسیت، همتوکریت و گلبول سفید معنی‌دار بود که نتایج حاصل از مقایسه سطوح مختلف در جدول ۲ آمده است ($P<0.05$). اثر زمان بر تغییرات گلبول قرمز معنی‌دار نبود ($P<0.05$)؛ درحالی‌که این فاکتور تأثیر معنی‌داری بر پروتئین کل داشت ($P<0.05$). همچنین اثر مستقل غلظت بر تغییرات پروتئین کل و تعداد گلبول‌های قرمز معنی‌دار بود ($P<0.05$). بر اساس نتایج جدول ۲، تغییرات معنی‌داری در تمامی پارامترهای خونی، به‌جز همتوکریت، میان تیمارهای مختلف تغذیه‌ای پس از گذشت ۱۵ روز صورت گرفت. در روز پانزدهم، کمترین مقدار لنفوسیت در تیمار شاهد و بیشترین مقادیر آن در قزل‌آلای تغذیه شده با سطوح ۰/۵ و ۱ درصد عصاره فلفل قرمز مشاهده شد؛ درحالی‌که در روز سی‌ام، بیشترین تعداد لنفوسیت در تیمار ۰/۲۵ درصد رؤیت شد که با سایر تیمارهای آزمایشی به‌جز تیمار ۰/۵ درصد اختلاف آماری معنی‌داری نشان داد ($P<0.05$).

تعداد نوتروفیل و لنفوسیت میان زمان‌های اندازه‌گیری در تیمارهای ۰/۲۵ و ۰/۵ درصد عصاره اختلاف معنی‌داری نشان ندادند ($P>0.05$). در تیمارهای شاهد و ۱ درصد عصاره فلفل قرمز، بیشترین تعداد نوتروفیل در روز سی‌ام، مشاهده شد؛ درحالی‌که کمترین تعداد لنفوسیت در این زمان در ماهیان تیمار شده با ۱ درصد عصاره فلفل قرمز و تیمار شاهد اندازه‌گیری شد. تعداد گلبول سفید در قزل‌آلای تغذیه شده با ۰/۲۵ و ۰/۵ درصد عصاره در روزهای پانزدهم و سی‌ام، اندازه‌گیری بالاترین مقدار بوده و با سطح تغذیه‌ای ۱ درصد و تیمار شاهد اختلاف آماری معنی‌داری داشتند ($P<0.05$). میزان آلبومین در روز سی‌ام در مقایسه با روزهای اول و پانزدهم افزایش معنی‌داری را در هر یک از غلظت‌های ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ درصد عصاره فلفل قرمز نشان داد ($P<0.05$). در ماهیان تغذیه شده با ۱ درصد عصاره، سطح هموگلوبین در روز سی‌ام کاهش معنی‌داری داشت درحالی‌که در ماهیان تغذیه شده با غلظت ۰/۲۵ و ۰/۵ درصد عصاره سطوح بالاتری از هموگلوبین در روز پانزدهم و سی‌ام دیده شد. درصد همتوکریت در ماهیان تغذیه شده با سطوح بالاتری از عصاره، تغییرات قابل‌توجهی میان زمان‌های مختلف اندازه‌گیری نشان نداد درحالی‌که در تیمار ۰/۲۵ درصد کمترین و بیشترین سطح همتوکریت به ترتیب در روزهای اول و سی‌ام مشاهده شد.

بر اساس نتایج شکل ۱ و صرف‌نظر از درصد غلظت عصاره فلفل قرمز، بیشترین میزان پروتئین کل در روز سی‌ام مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری با سایر زمان‌های اندازه‌گیری داشت ($P<0.05$). با توجه به شکل ۲ و صرف‌نظر از زمان اندازه‌گیری،

ماهیان تیمار شاهد کمترین مقادیر پروتئین کل و گلوبول قرمز را داشتند درحالی که بالاترین مقادیر این دو پارامتر در ماهیان تغذیه شده با ۰/۲۵ و ۰/۵ درصد مشاهده شد ($P < 0.05$).

پاسخ‌های ایمنی

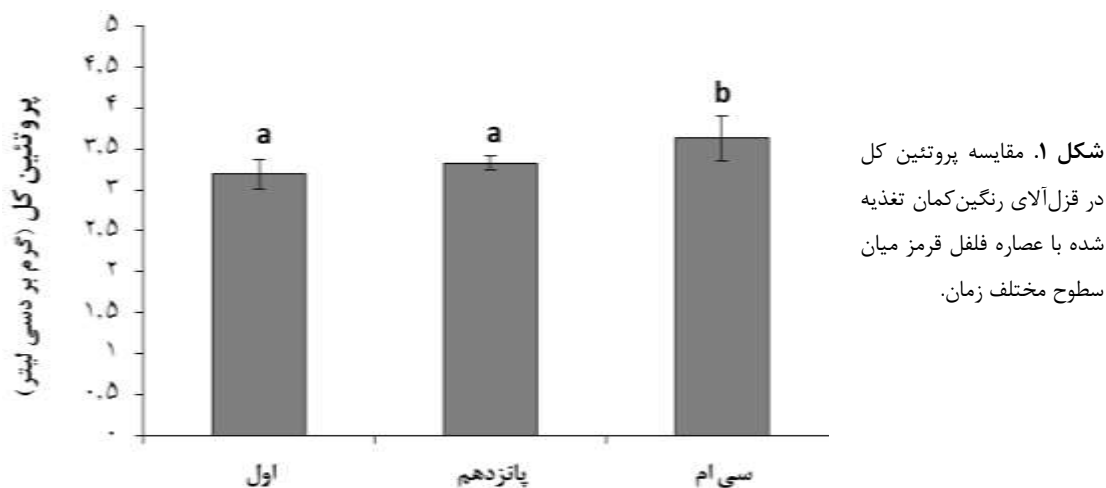
نتایج حاصل از مقایسه تغییرات لیزوزیم میان سطوح مختلف عصاره فلفل قرمز و زمان‌های اندازه‌گیری در جدول ۳ نشان داده شده است. بر اساس نتایج، سطوح مختلف تغذیه‌ای عصاره فلفل قرمز در روز اول اختلاف آماری معنی‌داری از لحاظ میزان

جدول ۲. مقایسه تغییرات پارامترهای خونی و سرمی قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با سطوح مختلف عصاره فلفل قرمز در سطوح متفاوت زمان

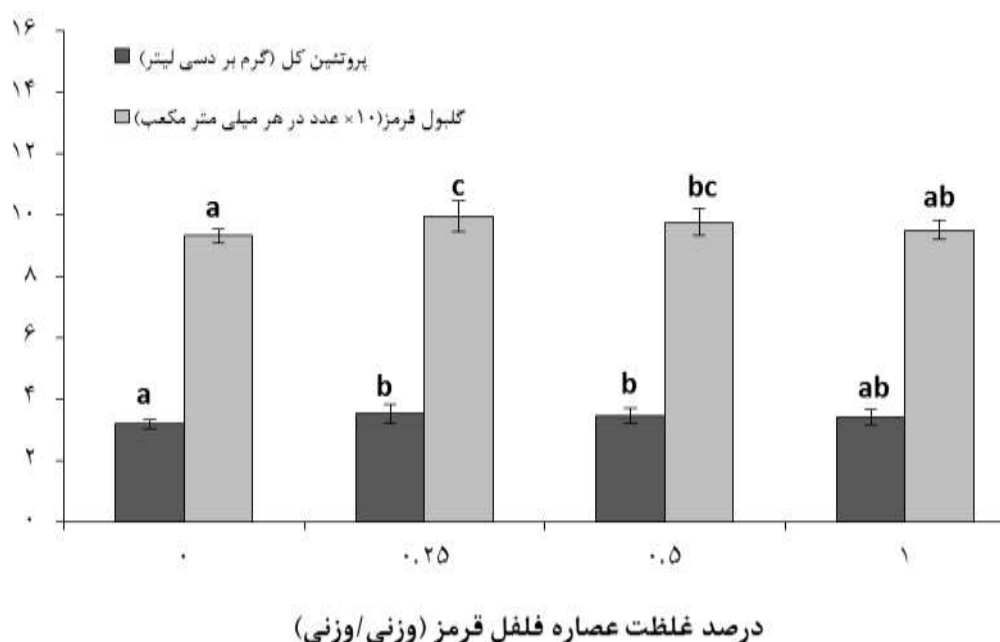
پارامتر	شاهد	تیمار ۰/۲۵ درصد	تیمار ۰/۵ درصد	تیمار ۱ درصد
آلبومین (گرم بر دسی لیتر)	روز اول	۱/۲±۰/۱ ^A _a	۱/۱۹±۰/۰۷ ^A _a	۱/۲±۰/۰۴ ^A _a
	روز ۱۵	۱/۲۲±۰/۰۴ ^A _a	۱/۲۹±۰/۰۴ ^B _a	۱/۲۷±۰/۰۳ ^{AB} _a
	روز ۳۰	۱/۲۵±۰/۱۶ ^A _a	۱/۷۲±۰/۱۳ ^B _b	۱/۵۶±۰/۰۹ ^B _b
گلوبولین (گرم بر دسی لیتر)	روز اول	۱/۹۲±۰/۳۳	۲/۰۸±۰/۲۱	۱/۹۶±۰/۲۲
	روز ۱۵	۱/۹۸±۰/۰۲	۲/۱۰±۰/۰۳	۲/۰۹±۰/۰۵
	روز ۳۰	۱/۹۷±۰/۲۵	۲/۱۵±۰/۱۶	۲/۱۲±۰/۲۲
نوتروفیل (درصد)	روز اول	۱۹/۳۳±۲/۳۱ ^A _a	۱۹/۳۳±۰/۵۸ ^A _a	۲۰/۶۷±۰/۵۸ ^A _a
	روز ۱۵	۲۴/۰۰±۱/۰۰ ^B _a	۲۱/۳۳±۳/۲۱ ^{AB} _a	۱۹/۳۳±۲/۵۳ ^A _a
	روز ۳۰	۳۴/۳۳±۵/۱۳ ^B _b	۱۹/۳۳±۱/۵۳ ^A _a	۲۱/۶۷±۳/۵۱ ^A _a
ائوزینوفیل (درصد)	روز اول	۱/۶۷±۰/۵۸	۱/۶۷±۰/۵۸	۱/۶۷±۱/۵۳
	روز ۱۵	۱/۶۷±۰/۵۸	۳/۰۰±۱/۰۰	۲/۳۳±۰/۵۸
	روز ۳۰	۱/۳۳±۱/۵۳	۲/۳۳±۱/۵۳	۰/۶۷±۰/۵۸
لنفوسیت (درصد)	روز اول	۷۵/۰۰±۱/۷۳ ^A _b	۷۶/۳۳±۱/۵۳ ^A _a	۷۵/۶۷±۴/۰۴ ^A _b
	روز ۱۵	۷۱/۰۰±۱/۰۰ ^A _b	۷۳/۰۰±۳/۰۰ ^{AB} _a	۷۷/۳۳±۳/۰۶ ^B _b
	روز ۳۰	۶۳/۳۳±۳/۰۶ ^A _a	۷۵/۳۳±۱/۵۳ ^C _a	۶۷/۰۰±۲/۰۰ ^{AB} _a
مونوسیت (درصد)	روز اول	۴/۰۰±۱/۰۰	۲/۶۷±۰/۵۸	۲/۰۰±۲/۰۰
	روز ۱۵	۳/۳۳±۰/۵۸	۲/۶۷±۰/۵۸	۱/۰۰±۰/۰۰
	روز ۳۰	۱/۰۰±۱/۰۰	۳/۰۰±۱/۰۰	۲/۳۳±۱/۵۳
هماتوکریت (درصد)	روز اول	۳۳/۰۰±۲/۰۰ ^A _a	۳۳/۶۷±۱/۵۳ ^A _a	۳۴/۰۰±۲/۰۰ ^A _a
	روز ۱۵	۳۲/۶۷±۱/۱۵ ^A _a	۳۵/۰۰±۱/۰۰ ^A _{ab}	۳۴/۰۰±۲/۶۵ ^A _a
	روز ۳۰	۳۲/۶۷±۱/۵۳ ^A _a	۳۷/۶۷±۱/۵۳ ^A _b	۳۱/۰۰±۱/۰۰ ^A _a
هموگلوبین (گرم بر دسی لیتر)	روز اول	۷/۳۴±۰/۴۸ ^A _a	۷/۴۵±۰/۰۸ ^A _a	۷/۶۶±۰/۰۵ ^A _{ab}
	روز ۱۵	۷/۵۷±۰/۵۸ ^A _a	۸/۵±۰/۳۳ ^B _b	۷/۸۵±۰/۱۰ ^{AB} _b
	روز ۳۰	۷/۸۹±۰/۴۹ ^A _a	۸/۸۷±۰/۳۲ ^B _b	۷/۴۹±۰/۱۵ ^A _a
گلوبول سفید ($\text{mm}^3 \times 10^3$)	روز اول	۱۳۵۰۰±۱۰۰ ^A _a	۱۳۵۶۶±۲۰۸ ^A _a	۱۳۳۳۳±۲۰۸ ^A _a
	روز ۱۵	۱۳۴۶۶±۵۷ ^A _a	۱۵۴۳۳±۵۰۳ ^C _b	۱۴۶۰۰±۳۰۰ ^B _b
	روز ۳۰	۱۳۹۳۳±۴۵۰ ^A _a	۱۹۲۳۳±۴۷۲ ^C _c	۱۶۰۳۳±۳۰۵ ^B _c

حروف غیر همنام (A-C) در هر ردیف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است.

حروف غیر همنام (a-c) در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است.



شکل ۱. مقایسه پروتئین کل در قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با عصاره فلفل قرمز میان سطوح مختلف زمان.



شکل ۲. مقایسه تأثیر سطوح مختلف عصاره فلفل قرمز بر پروتئین کل و گلبول قرمز در قزل‌آلای رنگین‌کمان

لیزوزیم نشان ندادند ($P > 0.05$). ولی در روز پانزدهم بیشترین سطح لیزوزیم در قزل‌آلای تغذیه شده با ۱ درصد عصاره فلفل قرمز ($367/23 \pm 4/01$ میلی‌گرم بر لیتر) و کمترین مقدار آن در تیمار شاهد مشاهده شد ($314/03 \pm 0/15$ میلی‌گرم بر لیتر) که اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارهای آزمایشی داشتند ($P < 0.05$). سایر تیمارهای تغذیه‌ای ۰/۲۵ و ۰/۵ درصد اختلاف آماری معنی‌داری با یکدیگر نشان ندادند ($P > 0.05$). کمترین و بیشترین مقادیر لیزوزیم در روز سی‌ام به ترتیب در تیمار شاهد و ۱ درصد دیده شد و کلیه تیمارهای آزمایشی اختلاف آماری معنی‌داری با یکدیگر نشان دادند ($P < 0.05$). روند تغییرات لیزوزیم میان زمان‌های مختلف اندازه‌گیری در ماهیان تیمار شده با عصاره فلفل قرمز مشابه بود؛ به طوری که بیشترین میزان آن در روز سی‌ام و کمترین مقدار در روز اول اندازه‌گیری شد.

نتایج حاصل از مقایسه تغییرات میزان کمپلمان میان زمان‌های اندازه‌گیری و سطوح مختلف عصاره فلفل قرمز در جدول ۴ نشان داده شده است. سطح کمپلمان میان تیمارهای آزمایشی در روز اول اختلاف معنی‌داری نداشت ($P > 0.05$) و با گذشت دوره، اختلاف آماری معنی‌داری میان آن‌ها مشاهده شد؛ به طوری که بعد از گذشت دو هفته، بالاترین مقادیر کمپلمان در تیمارهای ۰/۵ و ۱ درصد دیده شد و کمترین میزان آن در تیمار شاهد وجود داشت که هر یک اختلاف آماری معنی‌داری با

جدول ۳. مقایسه تغییرات لیزوزیم (میکروگرم بر لیتر) در قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با سطوح مختلف عصاره فلفل قرمز

روز	شاهد	تیمار ۰/۲۵ درصد	تیمار ۰/۵ درصد	تیمار ۱ درصد
اول	۳۱۲/۷۶±۱/۷۲ ^A a	۳۱۳/۶۳±۱/۵۵ ^A a	۳۱۳/۶۸±۰/۴۳ ^A a	۳۱۲/۱۱±۰/۱۶۵ ^A a
پانزدهم	۳۱۴/۰۳±۰/۱۵ ^A a	۳۵۱/۰۲±۱/۰۰ ^B b	۳۵۴/۲۱±۰/۵۴ ^B b	۳۶۷/۲۳±۴/۰۱ ^C b
سی‌ام	۳۱۶/۹۲±۰/۴ ^A b	۳۷۹/۸۰±۰/۲۱۵ ^B c	۳۹۵/۳۵±۱/۶۴ ^C c	۴۰۶/۳۹±۲/۳۳ ^D c

حروف غیر همنام (A-D) در هر ردیف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است.

حروف غیرهمنام (a-c) در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است.

سطح ۰/۲۵ درصد داشتند ($P < 0.05$). همچنین تغییرات سطوح کمپلمان میان تیمارهای آزمایشی در روز سی‌ام مشابه روند تغییرات سطوح آنزیم لیزوزیم بوده و بالاترین و پایین‌ترین سطح آن به ترتیب در تیمار شاهد و ۱ درصد مشاهده شد که اختلاف آماری معنی‌داری نیز با سایر تیمارهای پرورشی داشتند ($P < 0.05$). روند تغییرات کمپلمان میان زمان‌های مختلف اندازه‌گیری در ماهیان تیمار شده با ۰/۲۵ و ۰/۵ درصد عصاره فلفل قرمز یکسان بود و اختلاف معنی‌داری میان روزهای پانزدهم و سی‌ام مشاهده نشد ($P > 0.05$). در سطح ۱ درصد از عصاره فلفل قرمز، بیشترین مقدار کمپلمان در روز سی‌ام و کمترین میزان در روز اول ثبت شد درحالی‌که در تیمار شاهد، میان زمان‌های روز اول و روز پانزدهم اختلاف آماری معنی‌داری وجود نداشت ($P > 0.05$) ولی با روز سی‌ام تفاوت معنی‌داری داشتند ($P < 0.05$).

جدول ۴. مقایسه تغییرات کمپلمان (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) در قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با سطوح مختلف عصاره فلفل قرمز

روز	شاهد	تیمار ۰/۲۵ درصد	تیمار ۰/۵ درصد	تیمار ۱ درصد
اول	۱۵/۱۵±۰/۳۳ ^A a	۱۴/۹۵±۰/۲۸ ^A a	۱۵/۳۲±۰/۷۸ ^A a	۱۵/۳۵±۰/۴۳ ^A a
پانزدهم	۱۵/۴۲±۰/۰۶ ^A a	۲۲/۹۳±۱/۵۸ ^B b	۲۶/۰۱±۰/۸۶ ^C b	۲۷/۳۶±۰/۰۵ ^C b
سی‌ام	۱۶/۰۳±۰/۲۹ ^A b	۲۲/۰۶±۰/۲۸ ^B b	۲۴/۵۶±۰/۹۱ ^C b	۲۸/۲۱±۰/۲۵ ^D c

حروف غیر همنام (A-D) در هر ردیف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است.

حروف غیرهمنام (a-c) در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است.

بحث

گرایش به استفاده از گیاهان دارویی به عنوان محرک سیستم ایمنی در چند سال اخیر افزایش یافته است. عواملی همچون ارزش اقتصادی و کم‌هزینه بودن تولید آن‌ها، نداشتن اثرات تخریبی بر محیط‌زیست و کاهش عوارض جانبی داروهای گیاهی در مقایسه با داروهای شیمیایی، منجر شده تا این منابع ارزشمند از جایگاه خاصی برخوردار باشند (Rao et al., 2006; Jian and Wu, 2004).

در تحقیق حاضر، پارامترهای مرتبط با رشد ماهی و نیز وزن نهایی در تیمار ۰/۵ درصد بالاترین مقدار را داشت، در صورتی‌که افزایش بیشتر عصاره فلفل قرمز در جیره تأثیر منفی بر عملکرد رشد بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان ایجاد کرد و بالاترین مقدار ضریب تبدیل غذایی در قزل‌آلای تغذیه شده با یک درصد عصاره فلفل قرمز مشاهده شد. در تحقیقی مصرف ۵۰۰ میلی‌گرم اسانس مرزنجوش در جیره ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان سبب افزایش معنی‌دار شاخص‌های رشد نسبت به شاهد شد (Azizi et al., 2017). Mehrabi و همکاران (۲۰۱۷) نیز با مصرف ۵ گرم پودر آلوئه‌ورا در جیره قزل‌آلای رنگین‌کمان افزایش معنی‌دار پارامترهای رشد را نسبت به شاهد مشاهده کردند. اگرچه، Yanar و همکاران (۲۰۱۶) هیچ‌گونه تأثیر معنی‌داری از افزودن فلفل قرمز خشک تند و شیرین بر افزایش وزن بدن، ضریب رشد ویژه و کاهش ضریب تبدیل غذایی قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با دوزهای ۰/۵، ۲ و ۴/۴ درصد به مدت ۸۰ روز در مقایسه با گروه شاهد مشاهده نکردند.

در تحقیقات دیگر نیز عدم تأثیر گیاهان بر رشد ماهیان گزارش شده است که از آن جمله می‌توان به عدم تأثیر گیاه شاهی آبی به مدت ۲۱ روز (Asadi et al., 2012)، عصاره آبی ریحان (Zolfaghari and Firouzbaksh, 2014) و اسانس آویشن

(Azizi et al., 2016) به مدت ۴۸ روز بر پارامترهای رشد بچه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان اشاره کرد. عدم تأثیر عصاره فلفل قرمز ۱ درصد بر عملکرد رشد ممکن است ناشی از اثر آن بر طعم خوراک و اشتتهای ماهی باشد.

بافت خون شاخص مهمی جهت بررسی وضعیت فیزیولوژیک اندام‌های بدن در تشخیص سلامت یا بیماری و کنترل روند زیستی موجودات زنده از جمله ماهیان به حساب می‌آید. در تحقیق حاضر، به‌طور کل تغییرات قابل ملاحظه‌ای در سطوح مختلف تغذیه‌ای و یا زمان‌های نمونه‌برداری از لحاظ درصد هماتوکریت در خون مشاهده نشد. در حالی که در مطالعه Adel و همکاران (۲۰۱۶)، قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با ۳ درصد عصاره نعناع فلفلی درصد هماتوکریت بالاتری نسبت به ماهیان گروه شاهد نشان دادند. نتایج حاصل از این تحقیق در پایان دوره افزایش معنی‌دار تعداد گلبول‌های سفید و قرمز را در کل دوره در ماهیان تغذیه شده با عصاره فلفل قرمز در دوزهای ۰/۲۵ تا ۰/۵ درصد نسبت به گروه کنترل نشان داد. در این خصوص، Adel و همکاران (۲۰۱۶) افزایش معنی‌دار WBC و RBC را در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با ۳ درصد عصاره نعناع فلفلی در مقایسه با شاهد گزارش کردند. طی مطالعه‌ی Akbari و همکاران (۲۰۱۵) بر روی تأثیر عصاره آویشن شیرازی (*Zataria multiflora*) و پونه (*Mentha pulegium* L.) بر برخی فاکتورهای خونی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، بیشترین میزان گلبول سفید در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم آویشن شیرازی به دست آمد.

در مطالعه حاضر، میزان هموگلوبین پس از ۳۰ روز پرورش میان تیمارهای ۰/۲۵ درصد و ۰/۵ درصد بالاترین مقدار بود و اختلاف آماری معنی‌داری با تیمار ۱ درصد و ماهیان گروه شاهد نشان داد. در این رابطه Dadvaran و همکاران (۲۰۱۳) در بررسی تأثیر عصاره سیر (*Allium sativum*) بر روی برخی شاخص‌های خونی قزل‌آلای رنگین‌کمان انگشت قد مقادیر گلبول قرمز، سفید، هموگلوبین و هماتوکریت در تیمارهای تغذیه شده نسبت به شاهد بیشتر بود.

گرچه برخی مطالعات نتایج متفاوت‌تری را در رابطه با اثرگذاری محرک‌های ایمنی بر تغییرات فاکتورهای هماتولوژی مطرح کردند که از این میان می‌توان به تحقیق Azizi و همکاران (۲۰۱۶) طی بررسی اثر آویشن بر قزل‌آلای رنگین‌کمان اشاره کرد. آن‌ها دریافتند تعداد گلبول‌های سفید گروه‌های تغذیه شده بیشتر از گروه شاهد بود و بیشترین تعداد گلبول سفید در غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم اسانس آویشن به دست آمد. ولی اختلاف معنی‌داری در میزان هموگلوبین، هماتوکریت و گلبول‌های قرمز تیمارهای آویشن با شاهد مشاهده نکردند. همچنین، Haghghi و همکاران (۲۰۱۴) در بررسی اثرات مکمل غذایی عصاره آلوئه‌ورا (*Aloe vera*) بر شاخص‌های هماتولوژی و ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، اختلاف معنی‌داری را میان عصاره آلوئه‌ورا ۱ درصد و گروه شاهد از لحاظ Hgb, HCT, WBC و RBC مشاهده نکردند. افزایش برخی از فاکتورهای وابسته به ایمنی همچون گلبول سفید که نشان از فعال شدن فاکتورهای دفاعی دارد، می‌تواند مفید باشد.

سطح پروتئین سرم یک شاخص مهم از سیستم دفاع هومورال و وضعیت سلامتی گونه‌های ماهی است. در واقع محرک‌های ایمنی با تحریک سنتز پروتئین سبب فعالیت سیستم ایمنی می‌شوند (Rao et al., 2006). در تحقیق حاضر طی مقایسه زمان‌های اندازه‌گیری، میزان پروتئین کل پس از ۳۰ روز تغذیه و در مقایسه غلظت‌ها، تیمارهای ۰/۲۵ و ۰/۵ درصد نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری داشتند. در این رابطه، Taghiyan و همکاران (۲۰۱۳) مشاهده کردند با تجویز خوراکی عصاره بومادران در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان پس از روز ۳۰ سطح پروتئین تام در ۱ درصد عصاره بومادران افزایش یافت. همچنین افزایش میزان پروتئین کل در قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با ۱ درصد عصاره گزنه (Quercetin) و ۳ درصد روغن سیاه‌دانه (*Nigella sativa*) طی ۱۴ روز نسبت به گروه کنترل در مطالعه Awad و همکاران (۲۰۱۳) به دست آمد. البته برخی از گزارش‌ها نیز حاکی از عدم تأثیر عصاره‌های گیاهی بر میزان پروتئین کل می‌باشند که با نتایج این تحقیق مغایرت دارد (Misra et al., 2006; Ispir and Mustafa, 2005). علاوه بر این، Nya و Austin (۲۰۱۱) با افزودن پودر سیر به مدت ۱۴ روز به جیره ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تأثیر معنی‌داری از لحاظ پروتئین پلاسما در خون ماهیان تغذیه شده با پودر سیر در مقایسه با شاهد مشاهده نکردند. این عدم معنی‌داری ممکن است تا حدودی به کوتاه بودن مدت زمان آزمایش مرتبط باشد.

آلبومین دارای دو نقش مهم نگره‌داری و حفظ فشار اسمزی و انتقال‌دهنده بعضی از ترکیبات از قبیل: برخی هورمون‌ها، مواد رنگی، بیلی‌روبین، برخی از عناصر معدنی کمیاب، بسیاری از داروها و اسیدهای چرب آزاد در جریان خون است (Kazemi et

(al., 2010). مقدار آلبومین در گروه‌های تیمار شده با عصاره فلفل قرمز در مقایسه با گروه شاهد اختلاف معنی‌داری را به ویژه در انتهای دوره پرورش در این پژوهش نشان داد.

گلوبولین‌ها از دسته پروتئین‌های ناهمگن با وزن مولکولی بالا می‌باشند. غلظت پادتن کل در یک نمونه خون می‌تواند رهنمودی سریع در مورد وضعیت ایمنی بیمار دهد. در این مطالعه، هیچ‌یک از فاکتورهای مورد مطالعه اثر معنی‌داری بر میزان گلوبولین پلاسما می‌تواند خون بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان نداشتند. در مقایسه، نتایج مطالعه Mehrabi و همکاران (۲۰۱۷) حاکی از بالا بودن مقدار پروتئین تام و گلوبولین سرم خون ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان جوان تغذیه شده با آلوئه ورا بود.

لیزوزیم در بسیاری از مهره‌داران وجود دارد و یکی از فاکتورهای دفاعی در برابر عوامل بیماری‌زا به شمار می‌رود (Iwama and Nakanishi, 1996). لیزوزیم یک آنزیم تجزیه‌کننده قوی موجود در خون و بافت‌های لنفوئید ماهیان است. افزایش فعالیت لیزوزیم متعاقب تجویز برخی محرک‌های ایمنی، واکسن‌ها و برخی پریبیوتیک‌ها در ماهی مشاهده شد (Alishahi et al., 2010). در تحقیق حاضر، میزان لیزوزیم سرم ماهیان تغذیه شده با عصاره فلفل قرمز به‌طور معنی‌داری بیشتر از شاهد بود و این افزایش با گذشت زمان به‌طور قابل‌توجهی بالاتر بود، به‌طوری‌که در انتهای دوره پرورش میان تمامی گروه‌های تغذیه‌ای اختلاف معنی‌داری وجود داشت. این مشاهده مشابه تحقیقی است که Asadi و همکاران (۲۰۱۲) در بررسی تأثیر ۱ درصد شاهی آبی در رژیم غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان طی ۲۱ روز غذایی انجام دادند. Bilen و همکاران (۲۰۱۶) نیز افزایش فعالیت لیزوزیم را در قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با ۰/۱ و ۰/۵ گرم بر کیلوگرم گزنه به مدت ۳۰ روز گزارش کردند. Awad و همکاران (۲۰۱۳) در بررسی اثربخشی غذایی روغن سیاه‌دانه (*Nigella sativa*) و عصاره گزنه (Quercetin) بر پاسخ ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان دریافتند که فعالیت لیزوزیم در ماهیان تغذیه شده با ۱ درصد گزنه و ۳ درصد روغن سیاه‌دانه طی ۱۴ روز به‌طور معنی‌داری بالاتر از گروه شاهد بود. با این حال، در ارزیابی اثرات سیستم ایمنی پودر برگ بو به میزان ۰/۵ و ۱ درصد در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان هیچ‌گونه تأثیر مثبتی در فعالیت لیزوزیم پس از ۲۱، ۴۲ و ۶۳ روز پرورش مشاهده نشد (Bilen and Bulut, 2010).

سیستم عامل مکمل از مهم‌ترین فاکتورهای دفاعی هستند که از پروتئین‌های محلول در پلاسما تشکیل شده‌اند و نقش کلیدی در ایمنی ذاتی و اکتسابی دارند. در تحقیق حاضر میزان کمپلمان در بین تیمارهای تغذیه شده با عصاره فلفل قرمز نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری داشت و این افزایش با رسیدن به انتهای دوره پرورش قابل توجه‌تر بود. محققان زیادی اثر افزایشی کمپلمان را پس از تغذیه ماهیان با گیاه گزارش کردند که از آن جمله می‌توان به استفاده از شاهی آبی با غلظت ۱ درصد در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (Asadi et al., 2012)، استفاده از لوبیای گرگی (*Lupinus perennis*)، انبه (*Managifera indica*) و گزنه (*Urtica dioica*) در غلظت‌های ۱ و ۲ درصد در جیره ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان بعد از ۱۴ روز (Awad and Austin, 2010) اشاره کرد.

با مطالعات انجام شده توسط محققین مختلف در مورد اثرات مثبت گیاهان دارویی و محصولات گیاهی در آبی‌پروری، در تحقیق حاضر نیز به ارزیابی تأثیر عصاره فلفل قرمز در جیره بر عملکرد رشد، فراسنجه‌های خونی و بیوشیمیایی در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان پرداخته شد. نتایج به دست آمده حاکی از اثر مثبت افزودن ۰/۲۵ و ۰/۵ درصد عصاره فلفل قرمز به جیره بر افزایش رشد و تحریک سیستم ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به مدت ۳۰ روز است.

تشکر و قدردانی

این تحقیق با هزینه شرکت داروسازی باریج اسانس کاشان در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری به صورت طرح تحقیقاتی به شماره ۹۴۱۰۱ انجام شده است.

منابع

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 & Shellfish Immunology. 55: 267-273.
- Akbari, P., Ghorghani Pour, M., Fereydoni, M.S. 2015. Effect of the seed extract of *Peganum harmala* L supplemented diet on several of nonspecific immunity parameters in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum). Journal of Animal Researches (Iranian Journal of Biology). 28(1): 1-8. (in Persian)
- Alishahi, M., Ranjbar, M.M., Ghorbanpour, M., Peyghan, R., Mesbah, M., Razi jalali, M. 2010. Effects of dietary *Aloe vera* on specific and nonspecific immunity of Common carp (*Cyprinus carpio*). Journal of Veterinary Researches. 4(3): 85-91. (in Persian)
- Amirkhani, N., Firouzbakhsh, F. 2015. Protective effects of Basil (*Ocimum basilicum*) ethanolic extract supplementation diets against experimental *Aeromonas hydrophila* infection in Common Carp (*Cyprinus carpio*). Aquaculture Research. 46: 716-724.
- Asadi, M.S., Mirvaghefi, A.R., Nematollahi, M.A., Banaee, M., Amadi, K. 2012. Effects of Watercress (*Nasturtium nasturtium*) extract on selected immunological parameters of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Open Veterinary Journal. 2: 32-39.
- Awad, E., Austin, B. 2010. Use of lupin, *Lupinus perennis*, mango, *Mangifera indica*, and stinging nettle, *Urtica dioica*, as feed additives to prevent *Aeromonas hydrophila* infection in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Journal of Fish Diseases. 33: 413-420.
- Awad, E., Austin, D., Lyndon, A.R. 2013. Effect of black cumin seed oil (*Nigella sativa*) and nettle extract (Quercetin) on enhancement of immunity in rainbow trout. Aquaculture. 388: 193-197.
- Azizi, A., Yeganeh, S., Firouzbakhsh, F., Jan Khalili, Kh. 2016. Effect of feeding diet containing thyme (*Thymus vulgaris* L.) on growth performance, blood parameters and serum biochemical of Rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792). Journal of Applied Ichthyological Research. 4(2): 45-61.
- Azizi, E., Yeganeh, S., Firouzbakhsh, F., Janikhalili, K. 2017. Evaluation of oregano (*Origanum vulgare* L.) essential oil effect on growth indices and fillet quality of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during refrigerated storage (4 ± 1 °C). Iranian Scientific Fisheries Journal. 25(5): 93-110. (in Persian)
- Babaei Garmkhany, S., Yousofvand, N., Nasodi, G., Hatami, K. 2015. Effects of oral administration of red pepper (*Capsicum annuum*) and black pepper (*Piper nigrum*) powders on serum levels of blood cholesterol in male mice. Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology. 10(3): 13-20.
- Bilen, S., Unal, S., Guvensoy, 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.
- Bilen, S., Bulut, M. 2010. Effects of laurel (*Laurus nobilis*) on non-specific immune responses of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum). Journal of Animal and Veterinary Advances. 9(8): 1275 -1279.
- Dadvaran, S., Ghanei, M., Askari Sari, A. 2013. Effect of garlic extract (*Allium sativum*) on blood indices and Immune responses of Rainbow fingerlings. Journal of Herbal Drugs. 4: 162-169.
- Drabkin, D.L. 1945. Crystallographic and optical properties of human hemoglobin-a proposal for the standardization of hemoglobin. American Journal of the Medical Sciences. 209(2): 268-270.
- Haghighi, M., Sharif Rohani, M., Samadi, M., Tavoli, M., Eslami, M., Yusefi, R. 2014. Study of effects *Aloe vera* extract supplemented feed on hematological and immunological indices of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). International Journal of Advanced Biological and Biomedical Research. 2(6): 2143-2154.
- Hernandez, F., Madrid, J., Garcia, V., Orengo, J., Megias, M.D. 2004. Influence of two plant extracts on broilers performance, digestibility, and digestive organ size. Poultry Science. 83(2): 169-174.
- Hoston, A.H. 1990. Blood and circulation. In: Shreck CB, Moyle PB. Methods in fish biology. Bethesda, Maryland: American Fisheries Society, 273-335.

- Ispir, U., Mustafa, D. M. 2005. A Study on the Effects of Levamisole on the Immune System of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum). Turkey Journal Veterinary Animal Science. 29: 1169-1176.
- Iwama, G., Nakanishi, T. 1996. Innate immunity in fish. The Fish Immune System. Academic Press, London, UK. 73-114.
- Jian, J., Wu, Z. 2004. Influences of traditional Chinese medicine on nonspecific immunity of Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian). Fish and Shellfish Immunology. 16: 185-191.
- Kazemi, R., Poor Dehghani, M., Yousefi Jourdehi, A., Yar Mohammadi, M., Nasri Tajan, M. 2010. Physiology of circulatory system in aquatics and applied hematology techniques of fish. Bazargan Publication. 194 p. (in Persian)
- Lee, Y., Howard, L.R., Villalon, B. 1995. Flavonoids and antioxidant activity of fresh pepper (*Capsicum annuum*) cultivars. Journal of Food Science. 60: 473-476.
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., Randall, R.J. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. Journal of Biological Chemistry. 193(1): 265-275.
- Mehrabi, Z., Firouzbakhsh, F., Rahimi, G., Kolangi, H. 2017. The effect of adding Aloe Vera (*Aloe barbadensis*) in the diet on growth performance and some blood parameters and serum biochemical indices in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) challenged with *Saprolegnia parasitica*. Journal of Fisheries, Iranian Journal of Natural Resources. 70(1): 60-69.
- Mehrabi, Z., Firouzbakhsh, F., Jafarpour A. 2012. Effects of dietary supplementation of synbiotic on growth performance, serum biochemical parameters and carcass composition in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fingerlings. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition. 96: 474-481.
- Misra, C.K., Mukherjee, D., Meher, P.K. 2006. The immunomodulatory effects of tuftsin the non-specific immune system of Indian Major carp, *Labeo rohita*. Fish and shellfish immunology. 20: 728-738.
- Nya, E.J., Austin, B. 2011. Development of immunity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) to *Aeromonas hydrophila* after the dietary application of garlic. Fish and Shellfish Immunology. 30(3): 845-850.
- Raa, J. 1996. The use of immune-stimulatory substances in fish and shellfish farming. Rev. Fisheries Science. 4: 229-288.
- Rao, Y.V., Das, B.K., Jyotirmayee, P., Chakrabarti, R. 2006. Effect of *Achyronthesaspera* on the immunity and survival of *Labeorohita* infected with *Aeromonas hydrophila*. Fish and Shellfish Immunology. 20: 263-273.
- Ravelo, C., Magariños, B., Herrero, M.C., Costa, L., Toranzo, A.E., Romald, J.L. 2006. Use of adjuvant vaccines to lengthen the protection against *Lactococcus* in Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture. 251: 153-158.
- Sakai, M. 1998. Current research status of fish immunostimulants. Aquaculture. 172: 63-92.
- Sambaiyah, K., Satyanarayana, M.N. 1982. Influence of red pepper and Capsaicin on body compositional lipogenesis in rats. Journal of Bioscience. 425-430.
- Taghiyan, M., Nafisi Bahabadi, M., Banaei, M. 2013. An investigation on oral administration of Common yarrow on serum biochemical factors of Rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*). Aquatics Usage and Rearing Journal. 2(4): 73-87.
- Talebi, M., Khara, H., Zorieh Zahra, J., Ghobadi, S., Khodabandelo, A., Mirrasooli, E. 2013. Study on effect of red bell pepper on growth, pigmentation and blood factors of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). World Journal of Zoology. 8(1): 17-23.
- Topuz, A., Ozdemir, F. 2007. Assessment of carotenoids, capsaicinoids and ascorbic acid composition of some selected pepper cultivars (*Capsicum annuum* L.) grown in Turkey. Journal of Food Composition and Analysis. 20(7): 596-602.
- Wotton, I.D., Freeman, H. 1982. Microanalysis in Medical Biochemistry. Churchill, New York, USA.
- Yanar, M., Büyükçapar, H.M., Yanar, Y. 2016. Effects of hot and sweet red peppers (*Capsicum annuum*) as feed supplements on pigmentation, sensory properties and weight gain of Rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*). Annals of Animal Science. 16(3): 825-834.

- Yeganeh, S., Sotoudeh, A., Movaffagh, A.N. 2017. Effects of *Tribulus terrestris* extract on growth and reproductive performance of male convict cichlid (*Cichlasoma nigrofasciatum*). Turkish Journal Fish and Aquatic Sciences. 17: 1003-1007.
- Zolfaghari, A., Firouzbakhsh, F. 2014. The effect of Basil (*Ocimum basilicum*) aqueous extract on growth changes, hematology and serum biochemical parameters in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Journal of Veterinary Research. 69(4): 397- 404. (in Persian)