



اثر عصاره تجاری گیاه رزماری (*Rosmarinus officinalis*) بر میزان فعالیت برخی شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی و بیوشیمیایی در ماهی قرمز (*Carassius auratus*)

شلاله موسوی^{۱*}، مرضیه حیدریه^۲

۱. استادیار گروه بهداشت مواد غذایی و آبریان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

۲. دانشیار گروه دامپزشکی و علوم دامی، پژوهشکده کشاورزی هسته‌ای، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، کرج، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۸/۱۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۵/۰۹

چکیده

گیاه رزماری با نام علمی *Rosmarinus officinalis* دارای متابولیت‌های فعال زیستی مختلف با خواص آنتی‌اکسیدانی، ضد التهابی، ضد سرطانی و کاهش استرس اکسیداتیو است. مطالعه حاضر به منظور بررسی کارایی عصاره تجاری گیاه رزماری بر عملکرد برخی فراسنجه‌های آنتی‌اکسیدانی و بیوشیمیایی در ماهی قرمز (*Carassius auratus*) انجام شد. ماهی‌ها با میانگین وزنی 0.5 ± 0.07 g به دو تیمار و یک گروه شاهد تقسیم شدند و دو تیمار با غلظت‌های ۱ و ۲ گرم در کیلوگرم عصاره رزماری به مدت ۴۰ روز تغذیه شدند. در پایان آزمایش نتایج بدست آمده نشان داد که محصول پراکسیداسیون لیپیدی (MDA) در هر دو تیمار در مقایسه با گروه شاهد کاهش یافت ($P < 0.05$). فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، شامل فعالیت کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و گلوکاتایون پراکسیداز در هر دو تیمار در مقایسه با گروه شاهد بالاتر بود ($P < 0.05$). همچنین تغذیه با عصاره رزماری منجر به کاهش معنی‌دار میزان آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) تیمارهای آزمایشی گردید ($P < 0.05$). با استفاده از عصاره تجاری رزماری در میزان فعالیت گلوکاتایون اس-ترانسفراز و آلکالین فسفاتاز (ALP) در هر دو تیمار تغییری نسبت به گروه شاهد دیده نشد ($P > 0.05$). بنابراین نتایج مطالعه حاضر بیانگر این مهم است که مصرف خوراکی در دو سطح به کارگیری ۱ و ۲ گرم در کیلوگرم عصاره تجاری گیاه رزماری می‌تواند در بهبود عملکرد برخی شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی و محافظت از کبد در ماهی قرمز نقش مؤثری ایفا کند و نتایج بهتر نیازمند تحقیقات بیشتری می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: عصاره تجاری رزماری، ماهی قرمز، فراسنجه‌های آنتی‌اکسیدان، فراسنجه‌های بیوشیمیایی، پراکسیداسیون لیپیدی



Effects of *Rosmarinus officinalis* commercial extract on some antioxidant and biochemical indices in gold fish (*Carassius auratus*)

Shalaleh Mousavi^{1*}, Marzieh Heidarieh²

1. Department of Food Hygiene and Aquatic Animals, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tabriz, Tabriz, Iran.

2. Department of Veterinary and Animal Science, Nuclear Agriculture Research School, Nuclear Science and Technology Research Institute, Karaj, Iran.

Received: 26-Jul-2020

Accepted: 01-Nov-2020

Abstract

Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) has various biologically active metabolites with antioxidant, anti-inflammatory, anti-cancer and oxidative stress reduction properties. The current study was performed to examine the efficacy of dietary *Rosmarinus officinalis* commercial extract on some antioxidant and biochemical parameters in gold fish (*Carassius auratus*). Fish with mean weight 7.6 ± 0.5 g were divided into three groups and fed with 0 (as control group), 1 and 2 g kg⁻¹ *Rosmarinus officinalis* extract for 40 days. Based on the results, lower lipid peroxidation product (MDA) was observed in the treatment groups ($P < 0.05$). Meanwhile, activities of some antioxidant enzymes, including catalase, superoxide dismutase and glutathione peroxidase were higher in the treatment groups compared to the control group ($P < 0.05$). Feeding with *Rosmarinus officinalis* extract also led to a significant decrease in aspartate aminotransferase (AST) ($P < 0.05$), whereas no significant changes were noted in alkaline phosphatase (ALP) and glutathione S-transferase (GST) activities ($P > 0.05$). Therefore, the results of this study show that the administration of 1 and 2 g kg⁻¹ *Rosmarinus officinalis* extract had the potential to improve some antioxidant indices, as well as protecting the liver in gold fish and better results require more research.

Keywords: *Rosmarinus officinalis* commercial extract, gold fish, antioxidant indices, biochemical indices, lipid peroxidation.

۱. مقدمه

گرفته اثرات مثبت رزماری در حفاظت از کبد، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و در نتیجه کاهش استرس اکسیداتیو و ترمیم زخم در رت و انسان ثابت شده است (Raskovic et al., 2014; Minaiyan et al., 2011; De Oliveria et al., 2019). در برخی مطالعات اثرات مثبت رزماری بر رشد و فراسنجه‌های بیوشیمیایی و سیستم ایمنی گونه‌های مختلف ماهی مانند ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) و ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) مورد مطالعه قرار گرفته است که براساس این مطالعات عصاره رزماری موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و بهبود عملکرد کبد در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، ماهی کپور و سیم سر پلائی دریایی (*Sparus aurata*) می‌گردد (Peiretti et al., 2012; Ozyurt, 2013; Hernandez et al., 2015; Karatas et al., 2020).

استرس اکسیداتیو، ناشی از عدم تعادل بین سیستم‌های تولیدکننده و به دام اندازنده رادیکال آزاد و ترکیبات اکسیدان بوده که با افزایش تولید رادیکال آزاد یا کاهش فعالیت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی و یا هر دو همراه می‌باشد. سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی آنزیمی سلول شامل آنزیم‌هایی مانند سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، گلوتاتیون پراکسیداز و گلوتاتیون اس-ترانسفراز است (Birnie-Gauy et al., 2017). در آزمون‌های بیوشیمیایی افزایش آنزیم‌های کبدی مانند آسپارات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز و آلکالین فسفاتاز نشان‌دهنده نشت سلول‌های کبدی بوده که به دلیل آسیب غشای هپاتوسیت‌ها اتفاق می‌افتد. آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کبد موجب پاکسازی رادیکال‌های آزاد می‌شود که در نهایت منجر به کاهش اثرات مخرب سموم مختلف بر کبد می‌گردد. استرس

پرورش و نگهداری ماهیان زینتی همواره به عنوان یکی از صنایع سودآور مطرح بوده است. ارائه راهکارهای نوین و طراحی و ساخت مکمل‌های غذایی جدید در راستای افزایش تولید و بهره‌وری می‌تواند نقش به‌سزایی در توسعه پایدار صنعت تکثیر و پرورش ماهیان زینتی به عنوان یکی از زیر بخش‌های مهم صنعت آبی پروری داشته باشد. ماهی قرمز از محبوب‌ترین ماهیان زینتی محسوب می‌شود و مکرراً برای اهداف مختلف آزمایشی مورد مطالعه قرار می‌گیرد (Kuang et al., 2016). تکثیر و پرورش متراکم ماهیان زینتی، زمینه‌ساز استرس و بروز انواع بیماری‌های ویروسی، باکتریایی، قارچی و انگلی در ماهی است. از طرفی به دلیل افزایش روز افزون مقاومت‌های باکتریایی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های تجاری، استفاده از گیاهان به خاطر خصوصیات خاص از جمله خطر کمتر برای محیط زیست، در دسترس و ارزان قیمت بودن به عنوان مواد محرک سیستم ایمنی افزایش یافته است (Karatas et al., 2020).

گیاه رزماری با نام علمی *Rosmarinus officinalis* دارای متابولیت‌های فعال زیستی مختلف از دستهٔ مونوترپن‌ها، سسکوئی‌ترپن‌ها (مانند لینالول،^۱ گرانیول،^۲ اوژنول،^۳ اوسیمین،^۴ کارواکرول،^۵ پی‌سی‌سی‌سی‌سی‌سی‌سی،^۶ تیمول،^۷ میرسن،^۸ و فلاونوئیدهایی مانند لوتئولین است. به علاوه، اسیدهای چرب فعال زیستی، مانند اسید پالمیتیک،^۱ میریستیک^۱ و ترکیبات فنولیک (مانند اسید رزمارینیک^۱) نیز در این گیاه وجود دارد که بخش عمده‌ای از اثرات دارویی رزماری را موجب می‌شوند که شامل خواص آنتی‌اکسیدانی، ضد التهابی، ضد سرطانی و کاهش استرس اکسیداتیو می‌باشد (Reverter et al., 2017). براساس برخی مطالعات انجام

⁷ Thymol

⁸ Myrcene

⁹ Luteolin

¹ Palmitic acid 0

¹ Myristic acid 1

¹ Rosemarinic acid 2

¹ Linalool

² Geraniol

³ Eugenol

⁴ Ocimene

⁵ Carvacrol

⁶ Cymene

سلمان شهر، ایران) به خوراک تجاری پایه به دست آمد. غلظت انتخاب شده براساس اثرات مثبت ایجاد شده با این مقدار در مطالعه‌ای دیگر در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بود (Karatas et al., 2020). عصاره رزماری، با اسپری کردن ۲۰ میلی‌لیتر روغن ماهی به ازای هر کیلوگرم خوراک افزوده شد. در گروه کنترل نیز خوراک پایه فاقد عصاره رزماری مورد مصرف قرار گرفت. جهت یکسان سازی، به خوراک گروه کنترل تنها ۲۰ میلی‌لیتر روغن ماهی به ازای هر کیلوگرم جیره پایه اسپری گردید (Sheikhzadeh et al., 2019). پس از خشک شدن پلت‌ها، خوراک در داخل پلاستیک‌های جداگانه ریخته شد و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری گردید. غذاهای در ۲ نوبت در ساعات ۱۰ و ۱۷ انجام گرفت. قابل ذکر است به منظور حفظ سلامت خوراک و جلوگیری از واکنش‌ها و فعل و انفعالات باکتریایی در جیره، آماده‌سازی خوراک به صورت روزانه انجام گردید.

۱.۲. نحوه نمونه برداری

در پایان دوره (روز ۴۰ام آزمایش) تغذیه با عصاره گیاه رزماری، ده ماهی به صورت تصادفی از هر تانک شیشه‌ای به صورت جداگانه با عصاره گل میخک ($50 \mu\text{l l}^{-1}$) بی‌هوش شده و پس از خون‌گیری از ساقه دمی، نمونه‌های خونی به منظور جداسازی سرم به لوله‌های فاقد هپارین ریخته شد. پس از لخته شدن خون، سرم موجود در لوله‌های فاقد هپارین با استفاده از دستگاه سانتریفیوژ ($3000 \times g$) به مدت ۵ دقیقه جمع‌آوری و در دمای 20°C - نگهداری شد (Mousavi et al., 2020) و تمام آزمایشات در دانشکده دامپزشکی دانشگاه تبریز انجام گرفت.

۲.۲. سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدان

اندازه‌گیری میزان پراکسیداسیون لیپیدی با روش تیوباربیتوریک اسید انجام گرفت که به طور خلاصه به نمونه $2/5 \text{ ml TCA}$ ۲۰ درصد اضافه و در دور $1500 \times g$ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. $2/5 \text{ ml}$

اکسیداتیو در محیط سلولی منجر به تشکیل لیپید پراکسیدهای ناپایدار و واکنشگر می‌شود. تجزیه پراکسیدهای ناپایدار و مشتق شده از اسیدهای چرب غیراشباع منجر به تشکیل مالون‌دی‌آلدئید (MDA) می‌شود که سنجش آن در سرم، شاخص مناسبی جهت بررسی پراکسیداسیون لیپیدها محسوب می‌شود (Ural et al., 2015).

علیرغم مطالعات فراوان اثرات رزماری در موجودات خونگرم و حتی ماهیان پرورشی، مطالعات محدودی در ارتباط با اثرات تحریک ایمنی این گیاه در ماهیان زینتی وجود دارد. با توجه به اثرات مثبت رزماری بر سیستم ایمنی و فراسنجه‌های بیوشیمیایی در علم پزشکی و دامپزشکی، به نظر می‌رسد این ترکیب نقش مشابهی نیز در ماهی قرمز ایفا کند. مطالعه حاضر جهت بررسی تأثیر خوراکی عصاره تجاری (الکلی) گیاه رزماری بر تقویت عملکرد سیستم آنتی‌اکسیدانی و فعالیت آنزیم‌های کبدی در ماهی قرمز انجام گرفته است.

۲. مواد و روش‌ها

این مطالعه در مزرعه پرورش ماهیان آکواریومی در آمل انجام گرفت. در مجموع ۹۰ قطعه ماهی با میانگین وزنی $0/5 \pm 7/6$ گرم به صورت تصادفی و مساوی در شش تانک شیشه‌ای (دو تکرار برای هر گروه) با ابعاد $30 \times 20 \times 60$ سانتی‌متر قرار گرفتند. هوادهی در تانک‌ها با استفاده از سنگ هوا و تعویض روزانه آب تانک‌ها با آب تازه (۵۰ درصد) انجام گرفت. دمای آب و اکسیژن محلول در آب و pH در طول دوره ۴۰ روزه به ترتیب $24/5 - 25^\circ\text{C}$ درجه سانتی‌گراد، $7 - 7/5 \text{ mg l}^{-1}$ بود. خوراک تجاری پایه مورد استفاده در این مطالعه، مربوط به شرکت بیومار فرانسه بود و دارای میزان رطوبت ۱۱ درصد، پروتئین خام ۳۶ درصد، چربی کل ۱۴ درصد، خاکستر ۱۰ درصد، فیبر ۴ درصد بود.

جیره مورد استفاده با افزودن ۱ و ۲ گرم در کیلوگرم عصاره (الکلی) تجاری رزماری (شرکت سه‌جیسا،

در حضور آنزیم آسپاراتات آمینوترانسفراز است که در مرحله بعد اگزالواستات در حضور آنزیم مالات دهیدروژناز به ال-مالات تبدیل شده و کاهش جذب نوری واکنش در طول موج ۳۴۰ nm نانومتر قرائت شد (Sheikhzadeh *et al.*, 2012).

۴.۲. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۱۹ مورد سنجش قرار گرفت. در این تحقیق برای تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها از واریانس یک راهه آنوا One way ANOVA استفاده گردید. مقایسه تیمارها نیز با آزمون Tukey انجام و سطح معنی‌داری آزمون‌ها کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

۳. نتایج

میزان پراکسیداسیون لیپیدی در تیمارها در مقایسه با گروه شاهد کاهش معنی‌داری داشت ($P > 0/05$). بررسی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نیز نشان‌دهنده افزایش میزان فعالیت سوپراکسید دیسموتاز در غلظت 2 g kg^{-1} کاتالاز و گلوکاتایون پراکسیداز در هر دو تیمار در مقایسه با گروه شاهد بود ($P < 0/05$). اما اختلاف معنی‌داری در میزان فعالیت آنزیم گلوکاتایون اس-ترانسفراز در دو تیمار در مقایسه با گروه شاهد دیده نشد ($P > 0/05$) (جدول ۱).

فعالیت آنزیم آسپاراتات آمینو ترانسفراز در هر دو تیمار کاهش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد داشت. اما فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز در هر دو تیمار در مقایسه با گروه شاهد تغییر معنی‌داری را نشان ندادند ($P > 0/05$) (جدول ۲).

۴. بحث

امروزه استفاده از مواد محرک ایمنی به عنوان یک مکمل غذایی که قادر به بهبود دفاع غیراختصاصی و ایجاد مقاومت در برابر عوامل بیماری‌زا در زمان بروز استرس‌های

اسیدسولفوریک $0/05 \text{ M}$ مول و ۲ میلی‌لیتر تیوباریتوریک اسید $0/2$ درصد به رسوب حاصل از سانتریفیوژ اضافه شد و به مدت ۳۰ دقیقه در بن‌ماری قرار گرفت؛ سپس ۴ میلی‌لیتر n بوتانول به محلول اضافه و سانتریفیوژ گردید و پس از خنک شدن، میزان جذب نوری محلول رویی در طول موج ۵۳۲ nm توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر (Unico 2100 PC, China) قرائت شد (Bordoni *et al.*, 2019). اندازه‌گیری آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز در طول موج ۳۴۰ nm نانومتر و توسط کیت راندوکس انجام گرفت. اساس آزمایش بر اکسیداسیون گلوکاتایون پراکسیداز و احیاء آن توسط گلوکاتایون-ردوکتاز، اکسیداسیون NADPH و تولید NADP^+ استوار است (Aebi, 1974). فعالیت آنزیم کاتالاز براساس فرایند تجزیه پراکسید هیدروژن و تشکیل کمپلکس با ثبات با مولیبدات آمونیوم اندازه‌گیری شد. تغییرات رنگی مولیبدات و پراکسید هیدروژن در طول موج ۴۰۵ nm خوانده شد (Aebi, 1974). از کیت راندوکس جهت اندازه‌گیری آنزیم سوپراکسید دیسموتاز بر اثر فعالیت آنزیمی گزانتین اکسیداز استفاده شد و تولید رنگ فورمازین در طول موج ۵۰۵ nm قرائت شد (Aebi, 1974). میزان آنزیم گلوکاتایون اس-ترانسفراز به روش اسپکتروفوتومتری و با استفاده از دی تیو - بیس نیتروبنزویک اسید (DTNB) براساس روش المان انجام گرفت و در طول موج ۳۵۰ nm قرائت شد (Aebi, 1974).

۳.۲. سنجش فعالیت آنزیم‌های کبدی

سنجش آلکالین فسفاتاز، توسط کیت پارس آزمون انجام گرفت. در این روش پارانیتروفنیل فسفات بی‌رنگ تحت تأثیر آلکالین فسفاتاز به فسفات معدنی و پارانیتروفیل که ترکیب زرد رنگی است تبدیل می‌شود و جذب نوری آن در طول موج ۴۰۵ نانومتر قرائت شد (Sheikhzadeh *et al.*, 2012). به منظور اندازه‌گیری آنزیم آسپاراتات آمینوترانسفراز نیز از کیت پارس آزمون استفاده شد که اساس آزمون بر تشکیل اگزالواستات و ال‌گلوکاتامات

استفاده از مواد محرک رشد و ایمنی گیاهی در حال افزایش است.

فراوان حین دوره پرورش ماهی باشند، مورد توجه هستند. در سال‌های اخیر به دلیل توجه به حفظ محیط زیست و بهره‌گیری از مواد فاقد باقی ماندگی در محیط زیست،

جدول ۱- میزان فعالیت آنتی اکسیدانی در ماهی‌های قرمز تغذیه شده با عصاره تجاری گیاه رزماری و خوراک پایه

فاکتورهای بررسی شده	رزماری (۰ g kg ⁻¹)	رزماری (۱ g kg ⁻¹)	رزماری (۲ g kg ⁻¹)
میزان پراکسیداسیون لیپیدی (μmol mgpr)	۲۰/۲۸ ± ۰/۳۴*	۱۳/۷۳ ± ۰/۴۱**	۱۲/۱۸ ± ۰/۸۹**
سوپراکسید دیسموتاز (U mgpr)	۳/۱۷ ± ۰/۲۲*	۳/۳۵ ± ۰/۰۹*	۴/۵۴ ± ۰/۱۴**
کاتالاز (U mgpr)	۱۳/۸۳ ± ۱/۲۰*	۲۲/۰۱ ± ۰/۶۳**	۲۱/۸۸ ± ۰/۱۹**
گلوتاتیون اس-ترانسفراز (U mgpr)	۱۲/۹۳ ± ۰/۷۵	۱۳/۱۸ ± ۰/۵۹	۱۴/۰۴ ± ۰/۱۲
گلوتاتیون پراکسیداز (U mgpr)	۱۸/۳۱ ± ۱/۴۹*	۲۵/۱۷ ± ۱/۳۱**	۲۶ ± ۰/۲۳**

مقادیر به صورت (میانگین ± انحراف معیار) ارائه شده است.

*اعداد با حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد (P < ۰/۰۵).

جدول ۲- مقایسه میانگین فعالیت بیوشیمیایی در ماهی‌های قرمز تغذیه شده با عصاره رزماری و خوراک پایه

فاکتورهای بررسی شده	رزماری (۰ g kg ⁻¹)	رزماری (۱ g kg ⁻¹)	رزماری (۲ g kg ⁻¹)
آنزیم آسپارات آمینوترانسفراز (U l ⁻¹)	۱۱۸/۱۲ ± ۰/۴۰*	۸۶/۴۰ ± ۱/۲۱**	۸۴/۶۸ ± ۰/۹۰**
آنزیم آلکالین فسفاتاز (U l ⁻¹)	۵۶/۵۵ ± ۰/۰۸	۵۳/۳۲ ± ۰/۶۷	۵۴/۲۸ ± ۰/۲۹

مقادیر به صورت (میانگین ± انحراف معیار) ارائه شده است.

*اعداد با حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد (P < ۰/۰۵).

غیرا شباع که در ماهی فراوانند ایجاد می‌شود (Vinagre *et al.*, 2012).

در مطالعه حاضر تغذیه با عصاره تجاری گیاه رزماری موجب کاهش معنی‌دار در میزان مالون دی‌آلدئید در تیمارها نسبت به گروه شاهد شد و از طرفی موجب افزایش معنی‌دار فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مانند کاتالاز، گلوتاتیون پراکسیداز و سوپر اکسید دیسموتاز گردید. مطالعات دیگر نیز اثرات آنتی‌اکسیدان رزماری را بررسی و نتایج مطالع حاضر را تأیید می‌کنند (Rezanejad *et al.*, 2020). پیرتی و هم‌کاران (۲۰۱۲) نیز تأثیر سه غلظت ۰/۲٪، ۰/۱٪ و ۰/۳٪ روغن رزماری بر پراکسیداسیون لیپیدی فیله ماهی قزل‌آلا رنگین کمان را مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد روغن رزماری به خصوص در مقادیر ۰/۱٪ و ۰/۳٪ موجب بهبود کیفیت فیله و

استفاده از گیاه رزماری به دلیل تأثیر آن در کنترل بیماری‌ها در انسان و سایر جانداران و نیز حفظ کیفیت گوشت ماهی از دیرباز مورد توجه در علم پزشکی و دامپزشکی بوده است (Van Hai, 2015; Rezanejad *et al.*, 2019). علیرغم بررسی اثرات آنتی‌اکسیدانی رزماری در ماهی قزل‌آلا رنگین کمان، کپور معمولی و سیم سر طلائی دریایی، مطالعات بسیار محدودی به بررسی اثرات ایمنی و آنتی‌اکسیدانی این گیاه در ماهیان زینتی به جز ماهی قرمز پرداخته‌اند.

استرس اکسیداتیو در بدن نشان‌دهنده عدم تعادل بین تولید گونه‌های فعال اکسیژن و توان دفاع آنتی‌اکسیدانی برای سم‌زدایی این واسطه‌های فعال می‌باشد. مالون دی‌آلدئید محصول کوچک اما پایدار پراکسیداسیون لیپیدی است که از تجزیه پراکسیدهای ناپایدار اسیدهای چرب

از گیاه رزماری توصیه می‌شود.

همچنین در مطالعه حاضر تفاوت معنی‌داری در فعالیت آنزیم کبدی آلکالین فسفاتاز متعاقب استفاده از ۱ و ۲ گرم در کیلوگرم عصاره رزماری مشاهده نشد. در آزمون‌های بیوشیمیایی افزایش آنزیم‌های کبدی نشان‌دهنده نشت سلولی بوده که به دلیل آسیب غشای هپاتوسیت‌ها اتفاق می‌افتد. از طرفی میزان آنزیم آسپارات آمینو ترانسفراز در تیمارها کاهش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد داشتند، که مطالعه انجام شده توسط کارتاش و همکاران (۲۰۲۰) نتایج مشابهی را بود که در آن مقادیر آنزیم‌های آلانین آمینوترانسفراز پس از استفاده خوراکی ۱ و ۳ گرم در کیلوگرم رزماری و آسپارات آمینوترانسفراز پس از استفاده خوراکی ۳ گرم در کیلوگرم رزماری به طور معنی‌داری در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان کاهش یافت که نشان‌دهنده اثرات محافظتی مقادیر ۱ و ۳ گرم در کیلوگرم رزماری در کبد ماهی می‌باشد. میزان آنزیم آلانین آمینوترانسفراز در گروه شاهد و تیمارهای ۱ و ۳ گرم در کیلوگرم رزماری به ترتیب $4/01 \pm 36/8$ ، $1/9 \pm 17/2$ و $1/9 \pm 15/2$ واحد بین‌المللی در لیتر و میزان آنزیم آسپارات آمینوترانسفراز در گروه شاهد و تیمارهای ۱ و ۳ گرم در کیلوگرم رزماری به ترتیب $7/9 \pm 700$ ، $14/7 \pm 703/2$ و $7/4 \pm 631$ واحد بین‌المللی در لیتر بود (Karatas et al., 2020). را مادم (۲۰۱۷)، به بررسی اثر خوراکی ۰/۵ ml عصاره برگ رزماری (به مدت ۶ هفته) در رت‌های آلبینو مسموم شده با اتانول پرداخت. در گروه دریافت‌کننده رزماری علاوه بر کاهش معنی‌دار MDA و پراکسیداسیون لیپیدی، کاهش آنزیم‌های ALT، AST و ALP نیز مشاهده شد (Ramadan Samaha, 2017) که با نتایج مطالعه حاضر هم‌خوانی دارد. در مطالعات دیگر نیز عدم سمیت رزماری و نقش محافظتی آن در بافت کبد تأیید شده است (De Oliveria et al., 2019; Hernandez et al., 2015).

بنابراین نتایج این مطالعه نشان‌دهنده پتانسیل اثربخشی عصاره (الکلی) تجاری گیاه رزماری با دو غلظت ۱ و ۲ گرم در کیلوگرم به خوراک در حفاظت از کبد و

کاهش پراکسیداسیون لیپیدی در ضلالت ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان نگهداری شده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در طی مدت ۹ روز می‌شود (Peiretti et al., 2011). در مطالعه دیگر، راسکوویچ و همکاران (۲۰۱۴) به بررسی تأثیر خوراکی اسانس روغنی رزماری در رت‌های در معرض تتراکلرید کربن پرداختند. نتایج نشان داد پراکسیداسیون لیپیدی در بافت کبد این رت‌ها متعاقب استفاده از روغن رزماری با غلظت 10 mg kg^{-1} کاهش و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مانند کاتالاز، گلوکاتیون پراکسیداز و گلوکاتیون ردوکتاز به طور معنی‌داری افزایش می‌یابد (۱۲). کاراتاش و همکاران (۲۰۲۰)، اثرات مقادیر ۰/۴، ۰/۷، ۱ و ۳ گرم در کیلوگرم رزماری خوراکی به مدت ۴۰ روز بر شاخص‌های بیوشیمیایی، ایمنی و آنتی‌اکسیدانی در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان مورد بررسی قرار دادند. مقادیر ۰/۴ و ۰/۷ گرم در کیلوگرم هیچ تأثیری بر پارامترهای بررسی شده نداشت اما غلظت‌های ۱ و ۳ گرم در کیلوگرم موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های سوپر اکسید دیسموتاز و کاتالاز و ایمونوگلوبولین‌های سرمی گردید. افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بیانگر تحریک سیستم دفاعی بدن متعاقب استفاده از عصاره رزماری است (Karatas et al., 2020). به دلیل ترکیبات فلاونوئیدی و فنلی خود دارای ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بالایی می‌باشد (Moreno et al., 2009) که نتایج مطالعه حاضر نیز تأییدی بر این موضوع است.

از سوی دیگر، در مطالعه حاضر عصاره تجاری گیاه رزماری در دو غلظت ۱ و ۲ گرم در کیلوگرم خوراک تأثیری بر فعالیت سرمی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گلوکاتیون اس ترانسفراز نداشت که نیازمند مطالعات بیشتری در این زمینه است اما می‌توان گفت که اثرات مواد افزودنی در رژیم غذایی بر عملکرد آنزیم‌های مختلف ممکن است بسته به نمونه مورد بررسی، گونه، اندازه، غلظت ماده افزودنی، وضعیت تغذیه‌ای و فیزیولوژیکی متفاوت باشد (Sathishkumar et al., 2017) و سنجش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در دوره‌های زمانی مختلف پس از استفاده

تشکر و قدردانی

این مطالعه با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تبریز انجام گرفته است.

کاهش استرس اکسیداتیو به واسطه افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در ماهی قرمز است. که این اثرات مثبت در نهایت باعث افزایش تولید و کاهش هزینه پرورش این ماهی خواهد شد. بنابراین افزودن به خصوص میزان ۲ گرم عصاره تجاری گیاه رزماری در کیلوگرم خوراک ماهی قرمز توصیه می‌شود. اما انجام مطالعات تکمیلی در زمینه بررسی مکانیسم دقیق اثر این ماده به عنوان یک آنتی‌اکسیدان طبیعی و انجام آزمون‌های چالشی در گونه‌های مختلف ماهی ضروری به نظر می‌رسد.

References

۵. منابع

- Aebi, H., 1974. Methods of enzymatic analysis. In Bergmeyer, H.U., Ed., Verlag Chemie/Academic Press. Weinheim/New York. Pp. 673-690.
- Birnie-Gauyin, K., Costantini, D., Cooke, S.J., Willmore, W.G., 2017. A comparative and evolutionary approach to oxidative stress in fish: A review. *Fish and Fisheries* 18(5), 928-942.
- Bordoni, L., Fedeli, D., Nasuti, C., Maggi, F., Papa, F., Wabitsch, M., De Caterina, R., Gabbianelli, R., 2019. Antioxidant and Anti-Inflammatory Properties of *Nigella sativa* Oil in Human Pre-Adipocytes. *Antioxidants (Basel)* 8(2), 51.
- De Oliveria, J.R., Esteves Afonso Camargo, S., De Oliveria, L.D., 2019. *Rosmarinus officinalis* L. (rosemary) as therapeutic and prophylactic agent. *Journal of Biomedical Science* 26(1), 5.
- Hernandez, A., Garcia Garcia, B., Caballero, M., Hernandez, M.D., 2015. Preliminary insights into the incorporation of rosemary extract (*Rosmarinus officinalis* L.) in fish feed: influence on performance and physiology of gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Fish Physiology and Biochemistry* 41(4), 1065-1074.
- Karatas, T., Korkmaz, F., Karatas, A., Yildirim, S., 2020. Effects of Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) extract on growth, blood biochemistry, immunity, antioxidant, digestive enzymes and liver histopathology of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture Nutrition* <https://doi.org/10.1111/anu.13100>.
- Kuang, Y.K., Zheng, X.H., Li, C.Y., Li, X.M., Cao, D.C., Tong, G.H., LV, W.H., Xu, W., Zhou, Y., Zhang, X.F., Sun, Z.P., Mahboob, S., Al-Ghanim, K.A., Li, J.T., Sun, X.W., 2016. The genetic map of goldfish (*Carassius auratus*) provided insights to the divergent genome evolutions in the Cyprinidae family. *Scientific Reports* 6 34849, doi:10.1038/srep34849.
- Minaiyan, M., Ghannadi, A.R., Afsharipour, M., Mahzouni, P., 2011. Effects of extract and essential oil of *Rosmarinus officinalis* L. on TNBS-induced colitis in rats. *Research in Pharmaceutical Sciences* 6(1), 13-21.
- Moreno, S., Scheyer, T., Romano, C.S., Vojnov, A.A., 2006. Antioxidant and antimicrobial activities of rosemary extracts linked to their polyphenol composition. *Free Radical Research* 40(2), 223-231.
- Mousavi, S., Sheikhzadeh, N., Tayefi-Nasrabadi, H., Alizadeh-Salteh, S., Khani Oushani, A., Firouzmandi, M., Mardani, K., 2020. Administration of grape (*Vitis vinifera*) seed extract to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) modulates growth performance, some biochemical parameters, and antioxidant-relevant gene expression. *Fish Physiology and Biochemistry* 46(3), 777-786.
- Ozyurt, G., 2013. Effects of Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) extract addition on oxidative stability of fried sea bream (*Sparus aurata*) during chill storage (4°C). *Journal of Food Processing and Preservation* 37(6), 1039-1042.
- Peiretti, P.G., Gai, F., Ortoffi, M., Aigotti, R., Medana, C., 2012. Effects of Rosemary Oil (*Rosmarinus officinalis*) On the Shelf-Life of Minced Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) during Refrigerated Storage. *Foods* 1(1), 28-39.

- Ramadan Samaha, S. 2017. Effects of rosemary extract supplementation on ethanol induced liver injury in adult male albino rat. *Al-Azhar medical journal* 46(2), 373-382.
- Raskovic, A., Milanovic, I., Pavlovic, N., Cebovic, T., Vukmirovic, S., Mikov, M. 2014. Antioxidant activity of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) essential oil and its hepatoprotective potential. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 14(-), 225.
- Reverter, M., Tapissier-Bontemps, N., Sasal, P. and Saulnier, D., 2017. "Use of Medicinal Plants in Aquaculture". In: *Diagnosis and Control of Diseases of Fish and Shellfish* edited by Austin A, Newaj-Fyzul A, 223-261. New Jersey: John Wiley & Sons Ltd.
- Rezanejad, R., Heidarieh, M., Ojagh, S.M., Rezaei, M., Raeisi, M., Alishahi, A.R., 2020. Values of antioxidant activities (ABTS and DPPH) and ferric reducing and chelating powers of gamma-irradiated rosemary extract. *Radiochimica Acta*, 108(6), 477-482.
- Rezanejad, R., Ojagh, S.M., Heidarieh, M., Raeisi, M., Alishahi, A.R., Rafiee, G.R., 2019. The Impact of Diets Supplemented with Different Forms of Rosemary and BHA on Chemical, Microbial and Sensory Properties of Rainbow Trout Fillet. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 28(5), 478-494.
- Sathishkumar, T., Seetha Lakshmi, S., Archana, K., Aishwarya, M., Divya, S., Kumaresan, K., Stephen Raphael, V., Muthukumar, V., Krishnaveni, V., 2017. Evaluation of in vitro cholesterol esterase and α -amylase inhibitory activities of purified polyphenols from *Nigella sativa* seeds. *International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences* 8(3), 327-335.
- Sheikhzadeh, N., Tayefi-Nasrabadi, H., Khani Oushani, A., Najafi enferadi, H., 2012. Effects of *Haematococcus pluvialis* supplementation on antioxidant system and metabolism in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish Physiology and Biochemistry* 38(-), 413-419.
- Sheikhzadeh, N., Nootash, Sh., Khani Oushani, A., Mousavi, S., Tahapour, K., 2019. Expression analysis of IFN- γ , MX1, MX2, MX3 and HSP70 genes in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) administrated with green tea (*Camellia sinensis*). *Iranian Veterinary Journal* 15(3), 32-40.
- Ural, M.S., Karatas, F., Calta, M., 2015. Some Antioxidants and Malondialdehyde Levels in the Flesh of Rainbow Trout, (*Oncorhynchus mykiss* W., 1792) from Various Feeding Habitats. *Cellular and Molecular Biology* 61(7), 23-26.
- Van Hai, N., 2015. The use of medicinal plants as immunostimulants in aquaculture: A review. *Aquaculture* 446(-), 88-96.
- Vinagre, C., Madeira, D., Narciso, L., Cabra, H.N. and Diniz, M., 2012. Effect of temperature on oxidative stress in fish: Lipid peroxidation and catalase activity in the muscle of juvenile seabass, *Dicentrarchus labrax*. *Ecological Indicators* 23(-), 274-279.

