



# بررسی شاخص‌های رشد و تغذیه، آسیب‌شناسی بافت روده و خون‌شناسی بچه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) تغذیه شده با سطوح مختلف عصاره هیدروالکلی گیاه مرزه (*Satureja hortensis*)

محمد میرزایی<sup>۱\*</sup>، عبدالمجید حاجی‌مرادلو<sup>۲</sup>، علی جافرنوده<sup>۳</sup>، مرضیه ابوالفتحی<sup>۴</sup>

۱. کارشناسی ارشد گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط‌زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

۲. استاد گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط‌زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

۳. دانش‌آموخته دکتری گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط‌زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

۴. دانش‌آموخته دکتری گروه شیلات، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۳/۱۵

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۱/۰۲

## چکیده

استفاده از عصاره‌های گیاهی به‌عنوان افزودنی تغذیه‌ای در صنعت آبی‌پروری، باعث افزایش مقاومت آبزیان در برابر عوامل عفونی می‌شود و در عین حال به‌عنوان جایگزین آنتی‌بیوتیک‌های سنتی، سیستم ایمنی و رشد ماهیان را تحت پوشش قرار می‌دهد. مطالعه حاضر برای بررسی اثرات رژیم غذایی حاوی عصاره هیدروالکلی گیاه مرزه (*Satureja hortensis*) بر عملکرد رشد، پارامترهای خونی و آسیب‌شناسی بافت روده بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) طراحی گردید. بدین‌منظور، ۲۴۰ قطعه بچه ماهی با میانگین وزن  $2/02 \pm 0/02$  گرم به‌صورت یک طرح کاملاً تصادفی در ۴ گروه آزمایشی با سه تکرار به‌مدت ۶ هفته با جیره‌هایی شامل یک گروه شاهد و سه تیمار حاوی غلظت‌های ۰/۱ (تیمار یک)، ۰/۵ (تیمار دو) و ۱ (تیمار سه) درصد عصاره هیدروالکلی گیاه مرزه تغذیه شدند. نتایج نشان داد که شاخص‌های عملکرد رشد شامل وزن نهایی و افزایش وزن بدن و ضریب رشد ویژه در تیمار تغذیه شده با جیره حاوی ۱ درصد عصاره به‌طور معنی‌داری در مقایسه با گروه شاهد افزایش یافت. همچنین، تعداد سلول‌های سفید و قرمز خون و شاخص‌های خونی مانند میزان هماتوکریت در تیمارهای تغذیه شده با عصاره مرزه افزایش یافت ( $P < 0/05$ ). استفاده از عصاره هیدروالکلی گیاه مرزه در جیره غذایی بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان در هیچ یک از گروه‌ها تأثیرات منفی مانند واکنش‌های التهابی یا تخریبی بر قسمت انتهایی بافت روده بچه ماهیان نداشت. در مجموع، نتایج نشان داد که تغذیه با یک درصد عصاره هیدروالکلی مرزه در جیره غذایی می‌تواند به بهبود سلامت و رشد بهتر بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان کمک کند.

واژگان کلیدی: گیاه مرزه، قزل‌آلای رنگین‌کمان، عملکرد رشد، پارامترهای خون‌شناسی، بافت روده



## **Investigation of growth and nutritional indices, histopathology of the intestine, and hematological parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fry fed with different levels of hydroalcoholic extract of Savory (*Satureja hortensis*)**

**Mohammad Mirzaee<sup>1\*</sup>, Abdolmajid Hajimoradloo<sup>2</sup>, Ali Jafar nodeh<sup>3</sup>, Marzieh Abolfathi<sup>4</sup>**

1. M.Sc. student, Department of Fisheries, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

2. Professor, Department of Fisheries, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

3. PhD graduate, Department of Fisheries, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

4. PhD graduate, Department of Fisheries, Faculty of marine science and technology, university of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran

**Received: 21-Mar-2024**

**Accepted: 04-Jun-2024**

### **Abstract**

Using herbal extracts as nutritional additives in aquaculture industry increases the resistance of fish to infectious agents while also providing a substitute for traditional antibiotics, enhancing the immune system, and promoting the growth of fish. The present experiments were designed to investigate the effects of a diet containing hydroalcoholic extract of savory (*Satureja hortensis*) on the growth performance, hematological parameters, and histopathology of the intestine in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fry. For this purpose, 240 rainbow trout fry with an average weight of  $2.02 \pm 0.02$  grs were randomly distributed into 4 experimental groups with three replicates and fed diets containing concentrations of 0 (control), 0.1%, 0.5%, and 1% hydroalcoholic extract of savory for 6 weeks. The results showed that growth performance indices including final weight, body weight gain, and specific growth rate significantly increased in the group fed with a diet containing 1% extract compared to the control group. Additionally, the number of white and red blood cells, and hematocrit levels increased in the groups fed with savory extract ( $P < 0.05$ ). The use of hydroalcoholic extract of savory in the diet of rainbow trout fry had no negative effect on the distal intestine tissue of the fish in all groups. Overall, the results indicated that feeding with 1% hydroalcoholic extract of savory in the diet could improve the health and better growth of rainbow trout fry.

**Keywords:** *Satureja hortensis*, Rainbow trout, Growth performance, Hematological parameters, Intestine tissue

## ۱. مقدمه

تکثیر و پرورش ماهیان سردآبی به‌خصوص آزادماهیان از جمله قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) با توجه به خصوصیات شامل: سازگاری با شرایط متراکم پرورشی، سرعت رشد بالا، پذیرش خوراک‌های دستی، ارزش غذایی بالا و بازارپسندی مطلوب سبب شده این گونه، سهم تولید بالایی در میان ماهیان پرورشی سردآبی در کارگاه‌ها و مراکز تکثیر و پرورش کشورهای دنیا به‌خود اختصاص دهد (Webster and Lim, 2002). در صنعت رو به رشد آبی‌پروری هزینه‌های تأمین خوراک به‌صورت میانگین حدود ۴۰ تا ۶۰ درصد از کل هزینه‌های عملیات پرورشی را شامل می‌شود. از این‌رو، تغذیه در افزایش رشد، بهبود عملکرد سیستم ایمنی و مقاومت نسبت به عوامل بیماری‌زا نقش به‌سزایی دارد، بنابراین در جهت تحقق آبی‌پروری پایدار نیز، این جیره‌های غذایی باید میزان بازدهی و جذب بالایی داشته باشند (Cahu et al., 2009). در این راستا استفاده از مکمل‌های غذایی متفاوت در جهت کاهش آلودگی‌های زیست‌محیطی، افزایش قابلیت هضم خوراک، افزایش کارایی ضریب تبدیل غذایی، بهبود استفاده از مواد مغذی و نیز ارتقاء سیستم ایمنی برای رشد و تولید آبی‌پروری اهمیت زیادی دارد. با وجود اینکه استفاده از محرک‌های ایمنی نتایج مطلوب و جالب توجهی را ارائه داده است، اما نمی‌توان از آثار و عوارض جانبی احتمالی این مواد بر بافت‌های بدن آبی‌پرور به‌طور کامل چشم‌پوشی نمود؛ بنابراین بررسی آثار جانبی خصوصاً تغییرات آسیب‌شناسی بافتی ناشی از محرک‌های رشد و ایمنی در آبی‌پروری به‌نظر می‌رسد (Camargo and Martinez, 2007).

مرزه (*Satureja hortensis*) یک گیاه علفی از خانواده Lamiaceae است که در مناطق مختلف جهان رشد می‌کند (Kudelka and Kosowska, 2008) و از نظر خواص دارویی بیش از سایر گونه‌ها مورد توجه قرار گرفته است (Ghafarifarsani et al., 2022). تجزیه ترکیب تقریبی برگ‌های تازه مرزه حاوی ۷۲ درصد رطوبت، ۴/۲ درصد پروتئین، چربی (۱/۶۵٪)، کربوهیدرات (۴/۴۵٪)، فیبر (۸/۶٪) و خاکستر (۲/۱۱٪) است و سطوح قابل توجهی از مواد معدنی (پتاسیم، فسفر، کلسیم، منیزیم، آهن و سدیم) و ویتامین‌ها (نیاسین، پیریدوکسین، ریبوفلاوین، تیامین، ویتامین A و ویتامین C) را دارد (Fierascu et al., 2018; Karimi et al., 2012; Mumivand et al., 2010; Ravindran et al.,

2012). گیاه مرزه همچون دیگر اعضای خانواده نعنائیان حاوی ترکیبات زیست‌فعال متعددی نظیر ترکیبات فنلی (کارواکرول و تیمول)، مونوترپن‌ها (گاما ترپینن و پی‌سیمن) و فلاونوئیدها است که خاصیت آنتی‌اکسیدان، ضد میکروبی، ضد التهابی، تعدیل‌کننده ایمنی، افزایش اشتها و محرک رشد بودن آن در مطالعات متعددی اثبات شده است و می‌تواند به‌عنوان جایگزین مناسبی برای آنتی‌بیوتیک‌ها در صنایع غذایی و دارویی مورد استفاده قرار گیرد (Fierascu et al., 2018; Hajhashemi et al., 2012; Jalil et al., 2022). در سال‌های اخیر گزارشات متعددی از اثرات مثبت این گیاه بر بهبود عملکرد رشد، تحریک ایمنی و محافظت در برابر عوامل عفونی در آبی‌پرور منتشر شده است (Ghafarifarsani et al., 2022; Mousavi et al., 2016). به‌طور مثال، در مطالعه‌ای تأثیر اسانس مرزه تابستانی (*Satureja Hortensis*) بر برخی از شاخص‌های رشد، پارامترهای بیوشیمیایی و ایمنی سرم خون و موکوس و پارامترهای آنتی‌اکسیدانی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus Carpio*) در معرض علف کش Pretilachlor، نشان داده شد که استفاده از اسانس مرزه منجر به بهبود هضم و جذب مواد مغذی و در نتیجه رشد بهتر، تقویت سیستم ایمنی ماهی شد و اثر محافظتی برای ماهی در معرض علف کش داشت (Jalil et al., 2022).

از آنجا که عصاره‌های گیاهان ترکیبات پیچیده و گاهی ناشناخته‌ای دارند که احتمال بروز ایجاد سمیت در آنها زیاد است، مانند مواد ضد مغذی و یا ایجاد مزه نامطلوب که سبب عدم خوش‌خوراکی می‌گردد، لازم است تا در کنار بررسی اثرات مثبت، به اثرات منفی احتمالی ناشی از آنها نیز توجه شود. به‌طور مثال، بررسی اثرات احتمالی روی اندام‌هایی که در معرض مواد مؤثر گیاهان دارویی قرار می‌گیرند از آن جمله‌اند (Harikrishnan et al., 2011; Reverter et al., 2014). در مورد گیاه مرزه نیز علی‌رغم گزارش‌های متنوعی که در زمینه اثرات مثبت مختلف آن طی سال‌های اخیر در انواع ماهیان منتشر شده است ولی تاکنون اثرات سمی احتمالی آن روی بافت‌های ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان پرورشی به‌صورت محدودی بررسی شده است. بنابراین، در این مطالعه به‌عنوان تحقیق جدیدی در تکمیل مطالعات پیشین با نمونه‌برداری از روده که در کار جذب و متابولیسم موادی که از راه خوراکی تجویز می‌شوند، دخالت دارد، سلامت مقدار انتخابی عصاره هیدروالکلی گیاه مرزه (۱-۰/۱٪) به‌عنوان ماده محرک ایمنی و

رشد در این ماهی بررسی شد.

## ۲. مواد و روش کار

### ۱.۲. تهیه جیره‌های آزمایشی

به منظور تهیه جیره‌های آزمایشی، عصاره هیدروالکلی مرزه (شرکت داروسازی مروارید غرب-خراسان، ایران) در چهار سطح ۰ (شاهد)، ۰/۱، ۰/۵ و ۱ درصد به روش اسپری به جیره پایه (خوراک اکستروود شرکت کیمیاگران، شهرکرد-ایران) اضافه و به صورت یکنواخت و همگن مخلوط گردید. برای حفظ بهتر عصاره در جیره پایه، یک لایه نازک از محلول ژلاتین یک درصد روی خوراک‌ها اسپری شد و پس از خشک شدن در هوای آزاد در کیسه‌های نایلونی مشکی (برای جلوگیری از اثرات مخرب نور خورشید بر جیره خوراکی) بسته‌بندی گردید و تا زمان استفاده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. به منظور حفظ شرایط آزمایشی یکسان، به جیره گروه شاهد نیز مقدار مساوی ژلاتین اضافه شد (Zeppenfeld *et al.*, 2016).

### ۲.۲. آماده‌سازی شرایط آزمایش و تغذیه ماهیان

#### با جیره‌های آزمایشی

بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان مورد نیاز از یک مرکز خصوصی در استان گلستان، ایران تهیه و با رعایت اصول انتقال ماهیان به سالن آبی‌پروری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان منتقل شدند. پس از طی دوره سازگاری به شرایط آزمایشگاهی و تغذیه با جیره پایه (جدول ۱) به مدت

چهارده روز، تعداد ۲۴۰ قطعه بچه ماهی با میانگین وزن  $2 \pm 0.02/0.2$  گرم به‌طور تصادفی در چهار گروه آزمایشی (سه تکرار) در قالب یک طرح کاملاً تصادفی، توزیع و با جیره‌های حاوی سطوح مختلف عصاره هیدروالکلی مرزه (شاهد)، ۰/۱ (تیمار ۱)، ۰/۵ (تیمار ۲) و ۱ (تیمار ۳) درصد به مدت ۴۲ روز تغذیه شدند. هر واحد آزمایشی شامل یک مخزن آکواریومی به حجم ۱۱۵ لیتر (۸۰ سانتی‌متر طول  $\times$  ۶۰ سانتی‌متر عرض  $\times$  ۲۴ سانتی‌متر عمق) با تراکم ۲۰ قطعه در هر مخزن بود. در طی دوره آزمایش، بچه‌ماهیان روزانه ۳ مرتبه (۶:۰۰، ۱۲:۰۰ و ۱۸:۰۰ ساعت) به میزان ۴ درصد وزن بدن تغذیه شدند. میزان غذایی به ماهیان براساس زیست‌سنجی‌های ۱۴ روزه محاسبه و تعیین گردید. پارامترهای کیفی آب نظیر دما ( $13.5 \pm 1^\circ C$ )، پی‌اچ ( $7.54 \pm 0.41$ )، اکسیژن محلول ( $7.85 \pm 0.35$  mg/L) و آمونیاک ( $0.02$  میلی‌گرم بر لیتر) دو بار در هفته اندازه‌گیری و در محدوده قابل قبول برای ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان حفظ شدند. رژیم نوری طبیعی و روزانه ۵۰ درصد حجم آب مخازن با آب شهری کلرزدایی شده با تیوسولفات سدیم تعویض می‌شد.

### ۳.۲. سنجش پارامترهای عملکرد رشد و بازماندگی

در پایان دوره آزمایش و پس از قطع غذایی به مدت ۲۴ ساعت، ماهیان از هر تکرار صید و طول و وزن آنها با استفاده از خط‌کش با دقت میلی‌متر و ترازوی دیجیتال با دقت ۱/۱ گرم و تخته زیست‌سنجی اندازه‌گیری و شاخص‌های رشد و تغذیه با استفاده روابط جدول ۲ محاسبه گردید. تعداد تلفات ماهی نیز در هر گروه آزمایشی به‌طور روزانه ثبت و در پایان دوره آزمایش، درصد بازماندگی محاسبه گردید.

جدول ۱. ترکیب بیوشیمیایی جیره‌های آزمایشی

ترکیبات خوراک	درصد
پروتئین	۴۸
چربی	۱۵
فیبر	۱/۵
رطوبت	۱۰
عصاره هیدروالکلی مرزه	۰ تا ۱
اندازه خوراک (میلی‌متر)	$0.1 \pm 0.2$

جدول ۲. تعریف شاخص‌های رشد (Fynn-Aikins et al., 1992; Roosta and Hoseinifar, 2016).

تعریف	شاخص
وزن ابتدایی (گرم) - وزن نهایی (گرم)	افزایش وزن (گرم)
[تعداد روزها / (لگاریتم طبیعی وزن ابتدایی - لگاریتم طبیعی وزن نهایی)] × ۱۰۰	نرخ رشد ویژه (روز / %)
افزایش وزن (گرم) / میزان مصرف غذا (گرم)	ضریب تبدیل غذایی
(تعداد اولیه / تعداد باقی‌مانده) × ۱۰۰	نرخ بازماندگی (%)
[ $l^3$ (طول (سانتی‌متر)) / (وزن (گرم))] × ۱۰۰	ضریب چاقی ( $g/cm^3$ )
اکل خوراک مصرفی هر ماهی (گرم) / افزایش وزن بدن (گرم) × ۱۰۰	کارایی غذا

و بعد از خالی کردن محتویات روده با پنس استریل، در ویال‌های ۱/۵ سی‌سی حاوی فرمالین ۱۰ درصد فیکس شد و در نهایت نمونه‌های فیکس شده روده به‌منظور برش و رنگ‌آمیزی به آزمایشگاه بافت‌شناسی منتقل شدند. بعد از کامل شدن تثبیت بافت‌ها از محلول فرمالین خارج و مقاطع بافتی تهیه شد. آماده‌سازی بافت روده به روش بافت‌شناسی کلاسیک و رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ئوزین انجام گردید. پس از آماده‌سازی، از لام‌ها عکس‌برداری شد و با میکروسکوپ نوری مورد مطالعه قرار گرفتند.

### ۶.۲. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

قبل از انجام آزمون‌های آماری، نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون شاپیرو-ویلک بررسی گردید. پس از حصول اطمینان از نرمال بودن داده‌ها، جهت بررسی تأثیر عصاره هیدروالکلی مرزه بر نرخ بازماندگی و شاخص‌های رشد، شاخص‌های هماتولوژی و بافت‌شناسی بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان از روش تحلیل واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح اطمینان  $P=0/05$  انجام گرفت. تمام آنالیز داده‌ها به کمک نرم‌افزارهای آماری SPSS، نسخه ۲۲ و همچنین طراحی و رسم جداول با استفاده از Excel 2010 انجام و نتایج به‌صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار ارائه گردید.

## ۳. نتایج

### ۱.۳. عملکرد رشد و بقا

همان‌طور که در جدول ۳ مشاهده می‌شود، شاخص‌های عملکرد رشد شامل وزن نهایی، افزایش وزن بدن، ضریب رشد

### ۴.۲. نمونه‌گیری خون و شاخص‌های هماتولوژیک

نمونه‌گیری خون طبق روش Mohammadalikhani و همکاران (۲۰۲۰) با اندکی تغییرات صورت گرفت. در پایان دوره تغذیه و ۲۴ ساعت پس از آخرین غذادهی، تعداد ۱۰ قطعه ماهی به‌طور تصادفی از هر تکرار صید و با استفاده از محلول گل میخک (۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر) بی‌هوش شدند. سپس نمونه خون از سیاهرگ ساقه دمی ماهی‌ها گرفته شد. نمونه‌های خون به لوله‌های حاوی هپارین (ضد انعقاد) برای تحلیل پارامترهای هماتولوژی انتقال داده شد. شمارش گلبول قرمز و سفید خون با استفاده از لام هموسیستمتر انجام گردید. تعداد کل سلول‌های قرمز (RBC) و سلول‌های سفید خون (WBC) همچنین میزان هموگلوبین (Hb) و MCV طبق روش رفرنس اندازه‌گیری شد. اسلایدهای خون با روش گیمسا (Giemsa) رنگ‌آمیزی شد و ۱۰۰ لوکوسیت زیر میکروسکوپ نوری بررسی شدند و درصد نوع لوکوسیت‌ها تعیین گردید (Ghafarifarsani et al., 2021).

### ۵.۲. نمونه‌برداری بافت و بررسی‌های هیستولوژیکی

#### روده

به‌منظور ارزیابی اثرات بافتی سطوح مختلف عصاره هیدروالکلی گیاه مرزه در بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان، نمونه‌برداری در پایان دوره ۴۲ روزه پرورش صورت گرفت. ۲۴ ساعت پیش از انجام نمونه‌برداری، غذادهی بچه‌ماهیان قطع گردید. سپس به‌صورت تصادفی از هر تیمار تعداد ۳ قطعه ماهی (یک نمونه از هر تکرار) صید و توسط محلول گل میخک (۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر) بی‌هوش شدند. سپس با یک شکاف سرتاسری در شکم ماهیان، از روده نمونه‌برداری انجام گرفت. قسمت یک-سوم انتهایی روده جهت آزمایشات هیستومورفولوژی جدا گردید

تیمارهای تغذیه شده با عصاره مشاهده نشد ( $P > 0.05$ ). ضریب چاقی نیز در تیمار تغذیه شده با بالاترین غلظت عصاره (۱ درصد) به طور معنی داری در مقایسه با گروه شاهد کاهش یافت ( $P < 0.05$ ). افزودن عصاره به جیره غذایی تأثیر معنی داری بر ضریب تبدیل غذایی نداشت ( $P > 0.05$ ). هیچ گونه تلفاتی نیز در اثر مصرف جیره حاوی سطوح مختلف عصاره مشاهده نشد.

ویژه در ماهیان تغذیه شده با غلظت‌های مختلف عصاره هیدروالکی مرزه به طور معنی داری در مقایسه با گروه شاهد افزایش یافت ( $P < 0.05$ ). شاخص‌های وزن نهایی و افزایش وزن بدن یک افزایش وابسته به دوز نشان دادند، با بالاترین میزان در تیمار تغذیه شده با جیره حاوی ۱ درصد عصاره ( $P < 0.05$ ). در حالی که اختلاف معنی داری در شاخص ضریب رشد ویژه بین

جدول ۳. عملکرد رشد و درصد بازماندگی بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با سطوح مختلف عصاره هیدروالکی مرزه به مدت ۶ هفته

پارامترها	شاهد	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳
وزن اولیه (گرم)	۲/۰۱ ± ۰/۳	۲/۰۱ ± ۰/۲	۲/۰۱ ± ۰/۵	۲/۰۳ ± ۰/۲
وزن نهایی (گرم)	۸/۸۳ ± ۰/۲۳ <sup>c</sup>	۹/۶۵ ± ۰/۱۷ <sup>b</sup>	۹/۸۰ ± ۰/۲۷ <sup>ab</sup>	۱۰/۱۶ ± ۰/۲۰ <sup>a</sup>
افزایش وزن (گرم)	۶/۸۱ ± ۰/۲۴ <sup>c</sup>	۷/۶۳ ± ۰/۱۶ <sup>b</sup>	۷/۷۸ ± ۰/۳۰ <sup>ab</sup>	۸/۱۳ ± ۰/۱۸ <sup>a</sup>
نرخ رشد ویژه	۳/۵۱ ± ۰/۰۸ <sup>b</sup>	۳/۷۲ ± ۰/۰۳ <sup>a</sup>	۳/۷۶ ± ۰/۱ <sup>a</sup>	۳/۸۰ ± ۰/۰۲ <sup>a</sup>
فاکتور وضعیت	۱/۲۵ ± ۰/۰۶ <sup>a</sup>	۱/۲۷ ± ۰/۱ <sup>a</sup>	۱/۲۳ ± ۰/۰۹ <sup>a</sup>	۰/۹۵ ± ۰/۱ <sup>b</sup>
ضریب تبدیل غذایی	۰/۹ ± ۰/۰۷	۰/۸۶ ± ۰/۰۸	۰/۸۵ ± ۰/۰۵	۰/۸۵ ± ۰/۱
درصد بازماندگی	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
درصد کارایی غذا	۱۳۶/۷۴ ± ۰/۰۳ <sup>b</sup>	۱۳۷/۹۷ ± ۰/۰۱ <sup>b</sup>	۱۳۶/۲۵ ± ۰/۰۲ <sup>b</sup>	۱۴۰/۱۷ ± ۰/۰۲ <sup>a</sup>

مقادیر به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده‌اند. حروف غیر مشابه در هر ردیف نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی دار بین گروه‌های آزمایشی است ( $P < 0.05$ ).

اختلاف قابل توجهی نسبت به گروه کنترل داشت ( $P < 0.05$ ). درصد نوتروفیل‌ها در تیمارهای ۱ (۰/۱٪) و ۳ (۱٪) نسبت به گروه کنترل اختلاف معنی داری داشت ( $P < 0.05$ ). همچنین بیشترین مقدار آن متعلق به تیمار ۳ (۱٪) جیره حاوی بالاترین عصاره هیدروالکی مرزه اختصاص داشت. در درصد مونوسیت‌ها و ائوزینوفیل‌ها اختلاف قابل توجهی مشاهده نشد. اما بیشترین درصد ائوزینوفیل‌ها مربوط به تیمار ۳ (۱٪) بود.

### ۳.۳. بافت‌شناسی روده

تصاویر زیر حاصل بافت‌شناسی روده را نشان می‌دهد. نتایج آسیب‌شناسی نشان داد استفاده از عصاره هیدروالکی گیاه مرزه در جیره غذایی بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان در همه گروه‌ها تأثیر منفی و یا هیچ گونه ضایعه نامطلوبی (مانند واکنش‌های التهابی یا تخریبی) بر قسمت انتهایی بافت روده بچه ماهیان ندارد و آسیبی مشاهده نشد بلکه بهبود سطح جذب، ضخامت، طول و عمق کریپت پرزده‌های روده در تیمارهایی که از جیره‌های حاوی عصاره هیدروالکی مرزه استفاده کرده بودند مشاهده شد (شکل ۱).

### ۲.۳. شاخص‌های خون‌شناسی (شاخص‌های

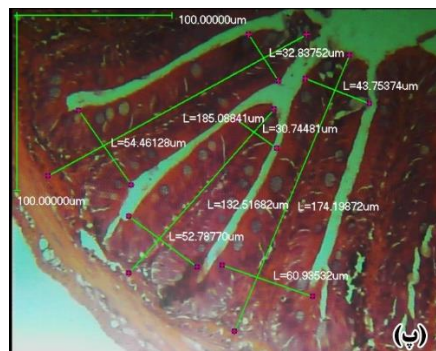
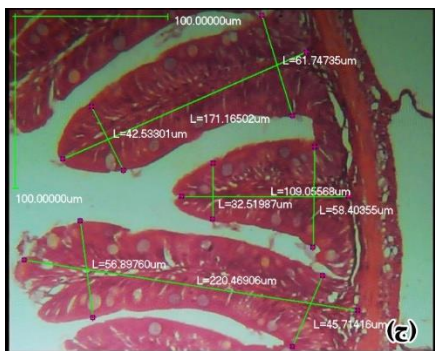
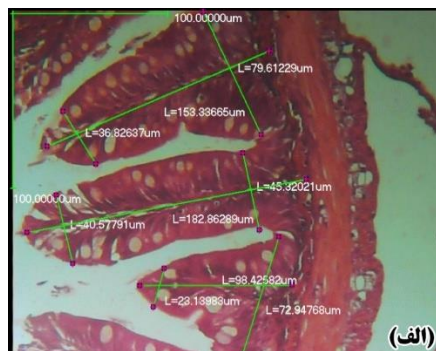
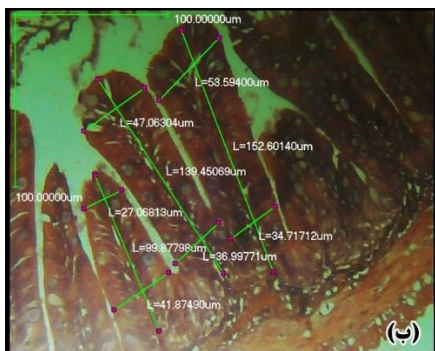
#### هماتولوژیک)

در پایان دوره، پس از ۶ هفته آزمایش تغذیه، عصاره هیدروالکی گیاه مرزه شاخص‌های خونی بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان را تحت تأثیر قرار داد. تعداد سلول‌های سفید خون به طور قابل توجهی ( $P < 0.05$ ) در ماهیان تغذیه شده با رژیم‌های غذایی غنی‌شده با عصاره هیدروالکی مرزه افزایش یافت. همچنین بیشترین افزایش متعلق به تیمار ۲ (۵ درصد) بود (جدول ۴). تعداد سلول‌های قرمز خون در تیمار ۱ (۰/۱٪) نسبت به گروه کنترل افزایش معنی داری داشت ( $P < 0.05$ ). مقدار هماتوکریت (% HTC) در ماهیانی که با رژیم‌های غذایی غنی‌شده با عصاره هیدروالکی مرزه تغذیه شده بودند، افزایش یافت و اختلاف معنی داری در تیمارهای ۱ (۰/۱٪) و ۲ (۰/۵٪) نسبت به گروه شاهد مشاهده شد. در میان تیمارهای آزمایشی، اختلاف معنی داری از نظر هموگلوبین، MCHC و MCH مشاهده نشد. افزایش معنی داری در مقدار شاخص MCV در تیمارهای ۲ (۰/۵٪) و ۳ (۰/۱٪) مشاهده شد. درصد لنفوسیت‌ها در تیمار ۲ (0.5%) بیشتر از سایر تیمارهای آزمایشی بود و

جدول ۴. پارامترهای خونی بچه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با سطوح مختلف عصاره هیدروالکلی مرزه به مدت ۶ هفته.

پارامترها	شاهد (جیره پایه)	تیمار ۱ (۰/۱ درصد عصاره هیدروالکلی مرزه)	تیمار ۲ (۰/۵ درصد عصاره هیدروالکلی مرزه)	تیمار ۳ (۱ درصد عصاره هیدروالکلی مرزه)
تعداد گلبول‌های سفید ( $\times 10^3$ cell/mm)	۲۵/۳۶ $\pm$ ۰/۳۲ <sup>d</sup>	۳۰/۱۵ $\pm$ ۱/۰۹ <sup>a</sup>	۴۰/۴ $\pm$ ۰/۱ <sup>a</sup>	۳۸/۰۵ $\pm$ ۰/۳۶ <sup>b</sup>
تعداد گلبول‌های قرمز ( $\times 10^6$ cell/mm <sup>3</sup> )	۱/۴۴ $\pm$ ۰/۰۳ <sup>bc</sup>	۱/۶ $\pm$ ۰/۰۴ <sup>a</sup>	۱/۵۱ $\pm$ ۰/۰۴ <sup>b</sup>	۱/۴۲ $\pm$ ۰/۰۵ <sup>c</sup>
هماتوکریت (%)	۳۴/۶۶ $\pm$ ۱/۵۲ <sup>c</sup>	۴۱/۳ $\pm$ ۰/۵۷ <sup>a</sup>	۴۰/۱۶ $\pm$ ۱/۴۴ <sup>ab</sup>	۳۷/۶۶ $\pm$ ۲/۵ <sup>bc</sup>
هموگلوبین (g/dl)	۵/۱۷ $\pm$ ۰/۹۴	۶/۰۸ $\pm$ ۰/۰۳	۶/۳۹ $\pm$ ۰/۸	۵/۷۷ $\pm$ ۱/۱۷
نسبت هموگلوبین گلبولی (%)	۱۴/۸۷ $\pm$ ۲/۱	۱۴/۷۱ $\pm$ ۰/۵۷	۱۵/۹۴ $\pm$ ۲/۳۴	۱۵/۳ $\pm$ ۱/۰۳
وزن متوسط هموگلوبین گلبولی (pg)	۳۵/۸۳ $\pm$ ۶/۱۸	۳۸/۰۲ $\pm$ ۱/۴۶	۴۲/۴ $\pm$ ۶/۴	۴۰/۶۵ $\pm$ ۲/۵۹
حجم متوسط گلبولی (fL)	۲۴۰/۲۴ $\pm$ ۱۱/۰۸ <sup>b</sup>	۲۵۸/۴۱ $\pm$ ۴/۱۶ <sup>ab</sup>	۲۶۵/۹ $\pm$ ۱۲/۴ <sup>a</sup>	۲۶۴/۵ $\pm$ ۹/۹۵ <sup>a</sup>
لنفوسیت (%)	۷۵/۳۳ $\pm$ ۲/۵ <sup>b</sup>	۷۰/۰۰ $\pm$ ۳/۰۰ <sup>c</sup>	۸۳ $\pm$ ۳/۶ <sup>a</sup>	۶۷/۶ $\pm$ ۱/۱۵ <sup>c</sup>
نوتروفیل (%)	۱۴ $\pm$ ۲/۶ <sup>b</sup>	۱۹/۳ $\pm$ ۲/۰۸ <sup>a</sup>	۱۱ $\pm$ ۲/۶۴ <sup>b</sup>	۲۲/۳ $\pm$ ۱/۵۲ <sup>a</sup>
مونوسیت (%)	۸/۳ $\pm$ ۱/۱۵	۸ $\pm$ ۱	۵ $\pm$ ۲/۶۴	۶ $\pm$ ۲
اوتوزینوفیل (%)	۲/۳۳ $\pm$ ۱/۱۵ <sup>ab</sup>	۲/۶۶ $\pm$ ۰/۵۷ <sup>ab</sup>	۱/۳۳ $\pm$ ۰/۵۷ <sup>b</sup>	۴ $\pm$ ۱ <sup>a</sup>

مقادیر به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار بیان شده‌اند. حروف غیر مشابه در هر ردیف نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی می‌باشد ( $P < 0.05$ ).



شکل ۱. نتایج بافت‌شناسی روده و بررسی تأثیر عصاره هیدروالکلی گیاه مرزه بر بافت روده انتهایی:

(الف) گروه شاهد، (ب) تیمار ۱ (۰/۱ درصد)، (پ) تیمار ۲ (۰/۵ درصد) و (ج) تیمار ۳ (۱ درصد).

#### ۴. بحث و نتیجه گیری نهایی

با افزایش تراکم ماهی در مخازن پرورشی و ایجاد شرایط نامساعد محیطی، ماهیان پرورشی با ضعف در سیستم ایمنی روبه‌رو می‌شوند. به‌همین دلیل، افزودنی‌های غذایی به‌عنوان محرک‌های ایمنی گسترده‌ای در پرورش ماهیان استفاده می‌شوند تا عملکرد رشد، پاسخ ایمنی و مقاومت در برابر بیماری در این آبزیان افزایش یابد. بهبود سلامت و بهره‌وری در برنامه‌های پرورش ماهی از اهداف اصلی صنعت آبی‌پروری در به‌شمار می‌رود. رشد ماهیان به ترکیب و کیفیت تغذیه‌ای که دریافت می‌کنند، وابسته است. به‌همین دلیل، گیاهان دارویی می‌توانند گزینه‌های مناسبی برای پیشگیری و درمان برخی از بیماری‌های شایع، بهبود روند رشد و افزایش بازماندگی و بقای ماهیان باشند (Mehrabi et al., 2020). محققین براین باورند گیاهان دارویی حاوی ترکیبات ویژه‌ای هستند که موجب تسریع روند هضم و جذب مواد مغذی، تقویت اثر درمانی و بهبود سلامت و نیز ارتقاء سیستم ایمنی بدن می‌گردند (Mirzaee and Safari, 2023). به‌دلیل اهمیت دارویی و فواید بی‌شمار گیاه مرزه، همانند دیگر اعضای خانواده نعنائیان، از جمله دارا بودن ترکیبات زیست‌فعال نظیر ترکیبات فنلی (کارواکرول و تیمول)، مونوترپن‌ها (گاما ترپینن و پی‌سیمن) و فلاونوئیدها که خاصیت آنتی‌اکسیدان، ضد میکروبی، ضد التهابی، تعدیل‌کننده ایمنی، افزایش اشتها و محرک رشد توسط مطالعات متعددی به اثبات رسیده است (Fierascu et al., 2018; Hajhashemi et al., 2022; Jalil et al., 2022)، هدف اصلی این مطالعه بررسی تأثیر عصاره هیدروالکلی این گیاه روی شاخص‌های متعدد بچه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به‌عنوان یک گونه مهم در آبی‌پروری بود. در این راستا، نتایج مطالعه حاضر نیز نشان داد افزودن عصاره هیدروالکلی گیاه مرزه در غلظت‌های ۱-۱/۰ درصد به جیره غذایی بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان منجر به بهبود معنی‌داری در شاخص‌های عملکرد رشد شامل وزن نهایی، افزایش وزن بدن، ضریب رشد ویژه در مقایسه با گروه شاهد شد. شاخص وزن نهایی و افزایش وزن بدن یک افزایش وابسته به غلظت نشان دادند با بالاترین میزان در تیمار تغذیه شده با جیره حاوی ۱ درصد عصاره، درحالی که اختلاف معنی‌داری در شاخص ضریب رشد ویژه بین تیمارهای تغذیه شده با عصاره مشاهده نشد. در گروهی که با بالاترین غلظت عصاره تغذیه شده بود، ضریب چاقی به‌طور قابل توجهی نسبت

به گروه شاهد کاهش یافت. افزودن عصاره به جیره غذایی تأثیر معنی‌داری بر ضریب تبدیل غذایی نداشت و هیچ تلفاتی در نتیجه مصرف جیره شامل سطوح مختلف عصاره مشاهده نشد. Jalil و همکاران (۲۰۲۲)، در تأیید مطالعه حاضر نشان دادند که شاخص میانگین وزن نهایی بچه ماهیان کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در معرض علف‌کش Pretilachlor با افزودن ۱ درصد عصاره مرزه تابستانی در مقایسه با گروه شاهد افزایش یافت. Ghafarifarsani و همکاران (۲۰۲۲) نیز همسو با مطالعه حاضر گزارش کردند که شاخص‌های عملکرد رشد و تغذیه شامل وزن نهایی، افزایش وزن، نرخ رشد ویژه و همچنین ضریب تبدیل غذایی در ماهی کلمه (*Rutilus caspicus*) تغذیه شده با جیره‌های حاوی اسانس مرزه به‌ویژه غلظت ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم خوراک به‌طور معنی‌داری در مقایسه با گروه شاهد بهبود یافت. تأثیر مثبت عصاره هیدروالکلی مرزه بر شاخص‌های رشد و بازماندگی در مطالعه حاضر همسو با مطالعات انجام شده می‌تواند در ارتباط با وجود مواد مغذی و انواع ویتامین‌ها به‌ویژه ویتامین‌های گروه B (Karimi et al., 2012; Mumivand et al., 2010; Soltani et al., 2013) پتانسیل بازدارندگی ترکیبات پلی‌فنولی آن بر رشد پاتوژن‌ها و افزایش جمعیت میکروارگانیسم‌های مفید روده و همچنین افزایش ترشحات آنزیمی روده و پانکراس باشد که هضم و جذب مواد مغذی و در نتیجه عملکرد رشد را بهبود می‌بخشد (Tepić et al., 2009). از طرفی، گیاه مرزه حاوی ترکیبات فعال زیستی متعددی نظیر کارواکرول و تیمول است که نقش آن در تحریک اشتها و بهبود بازده مصرف خوراک اثبات شده است (Mozafarian, 2006).

شاخص‌های خونی، نشانگرهای قابل اعتمادی از وضعیت سلامتی ماهی هستند که تحت شرایط پرورش قرار می‌گیرند. وضعیت ایمنی و ترکیب غذایی اساسی نیز بر روی این شاخص‌ها تأثیر می‌گذارد. شناخت این شاخص‌ها، هم از نظر تشخیص و هم از نظر اقتصادی، می‌تواند در شناسایی نوع تغذیه، تعیین شرایط بهداشتی و سلامت ماهی مفید باشد. در پایان آزمایش، شاخص‌های خونی بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان تحت تأثیر تغذیه با عصاره هیدروالکلی گیاه مرزه قرار گرفت. تعداد سلول‌های سفید خون در ماهیانی که با رژیم‌های غذایی غنی شده با عصاره هیدروالکلی مرزه تغذیه شده بودند به‌طور قابل توجهی افزایش یافت که بیشترین افزایش متعلق به تیمار ۲ بود. همچنین تعداد سلول‌های قرمز خون در تیمار ۱ نسبت به گروه



Mehrabi *et al.*, 2020; Mohammadalikhani *et al.*, 2020).

روده ماهیان یکی از مهمترین اندام‌ها برای هضم و جذب مواد ریز مغذی موجود در جیره غذایی آبزیان است. پرزها مسئول جذب این مواد مغذی هستند. افزایش ارتفاع پرزها نشان‌دهنده بهبود جذب مواد مغذی است. به همین جهت، بررسی بافت‌شناسی این عضو، روشی برای ارزیابی اثرات گیاهان دارویی است که به طریق خوراکی تجویز می‌گردند (Rašković *et al.*, 2011). پژوهشگران تأثیر نوع تغذیه، ترکیب مواد غذایی و ساختار ژنتیکی را برای شکل‌گیری پرزهای روده از نظر ضخامت و ارتفاع آن برای هر گونه ماهی منحصر به فرد دانسته‌اند. کنترل تغییرات بافتی ناشی از اثر مواد غذایی گیاهی در این ارگان، یکی از روش‌های مهم در زمینه تعیین میزان اثر منفی این مواد بر سلامت دستگاه گوارش ماهیان می‌باشد (Mai *et al.*, 2005; Ramezani-Fard *et al.*, 2011; Rašković *et al.*, 2011). به همین سبب، با نظر به اینکه در مطالعه حاضر بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان در تیمارهای مختلف توسط جیره‌های غذایی حاوی سطوح تقریباً یکسان پروتئین تغذیه شده بودند و نوع غذاهای نیز در تمام تیمارها یکسان بود، بنابراین بهبود سطح جذب، ضخامت، طول و عمق کریپت پرزهای روده در تیمارهایی که از جیره‌های حاوی عصاره هیدروالکلی مرزه استفاده کرده بودند را احتمالاً می‌توان به تأثیر این عصاره در جیره غذایی بچه ماهیان نسبت داد. التهاب روده در ماهیان تحت تأثیر عوامل مختلفی منجر به تخریب بافت روده شوند، از این عوامل می‌توان به عوامل محیطی (دماهای نامناسب، آب شور و...)، عفونت‌ها (باکتریایی، ویروسی یا قارچی که می‌توانند بافت روده را تحت تأثیر قرار داده و به‌عنوان عوامل التهابی عمل کنند)، تغذیه نامناسب و واکنش به سموم اشاره نمود. تغذیه نامناسب می‌تواند به نقص در سیستم ایمنی ماهیان منجر شود که سبب ضعف در سیستم دفاعی گردد و باعث شود باکتری‌ها و ویروس‌ها به راحتی به روده نفوذ کنند و التهاب ایجاد نمایند (Rašković *et al.*, 2011). در بررسی نتایج مربوط به آسیب‌شناسی بافت قدامی روده، هیچ گونه تغییرات تخریبی و یا التهابی در هیچ یک از تیمارهای مورد آزمایش مشاهده نگردید، بلکه افزایش ارتفاع پرزها و کاهش عمق چین-خوردگی‌ها در گروه‌هایی که از عصاره هیدروالکلی گیاه مرزه استفاده کرده بودند مشاهده شد، که این می‌تواند تأییدی در سلامت و کیفیت جیره‌های حاوی عصاره هیدروالکلی گیاه مرزه

کنترل افزایش معنی‌داری داشت. در بررسی فاکتورهای بیوشیمیایی خون ماهیان، بررسی پلاسمای خون بر بررسی سرم خون ارجحیت دارد. به‌خوبی مشخص است که هماتوکریت، هموگلوبین و سلول‌های قرمز به ایمنی غیر اختصاصی و عملکرد آن مرتبط می‌باشند به‌طوری‌که تعداد سلول‌های قرمز به‌عنوان شاخص سلامت ماهیان در نظر گرفته می‌شوند (Zhou *et al.*, 2004). مطالعات نشان داد که گیاه مرزه حاوی ترکیباتی از جمله فلاونوئیدها، مواد چرب، تانن، پی‌سیمن، کارواکرول و تیمول است (Mousavi *et al.*, 2016). استفاده از گیاهان دارویی در مطالعات متعدد منجر به افزایش تعداد گلبول‌های سفید می‌شود. این افزایش ناشی از وجود ترکیباتی مانند ترپنیولن، سیننول، لینالول، ترپینئول، لینالین، استات، تانن و فلاونوئید است. این ترکیبات قادر به بهبود فرآیند تولید گلبول‌های سفید هستند و یا می‌توانند تکثیر آن‌ها را تحریک کنند (Sadeghi *et al.*, 2014). افزایش سلول‌های قرمز خون پس از تغذیه با جیره‌های حاوی عصاره هیدروالکلی مرزه ممکن است به‌دلیل وجود ویتامین A، ویتامین B6، B9، ویتامین C، ویتامین B12 و آهن باشد که برای تولید سلول‌های قرمز خون لازم هستند. طبق یافته‌های Mehrabi و همکاران (۲۰۲۰) ممکن است حالت عملکرد عصاره هیدروالکلی مرزه در شاخص‌های خونی به اثر ویتامین C آن بر روی افزایش جذب آهن از روده ماهی باشد که با نتایج به‌دست آمده در مطالعه حاضر همسو است. همچنین افزایش در شمار سلول‌های سفید خون و لنفوسیت‌ها در ماهیانی که با عصاره هیدروالکلی مرزه تغذیه شده‌اند، ویژگی‌های ایمنونواستیمولانت و ضد عفونی‌کننده این گیاه را تأیید می‌کند. در میان تیمارهای آزمایشی، اختلاف معنی‌داری از نظر هموگلوبین، MCHC و MCH و درصد مونوسیت‌ها و ائوزینوفیل‌ها مشاهده نشد. مطالعات هماتولوژی انجام شده در زمینه اثرات تغذیه‌ای، بیماری‌های عفونی و آلاینده‌ها بیان می‌کنند که گلبول‌های قرمز شاخصی مهم و قابل اعتماد از منابع مختلف استرس هستند. کاهش تعداد گلبول‌های قرمز خون در تیمار ۳ را نیز احتمالاً باید در اثر کاهش استرس در نتیجه افزایش عملکرد و بهبود سیستم ایمنی دانست (Naigaga *et al.*, 2009; Řehulka, 2000). یافته‌های حاضر با افزایش پارامترهای خونی در قزل‌آلایی که با رژیم غذایی حاوی شیرین بیان (*Glycyrrhiza glabra*)، خرفه (*Portulaca oleracea*) و گزنه (*Urtica dioica*) تغذیه شده‌اند سازگار است (Darvishi *et al.*, 2022).

عصاره هیدروالکلی گیاه مرزه می‌تواند روند رشد ماهیان را به سبب توسعه دستگاه گوارش از طریق بهبود تغییرات مورفولوژیک بافت روده به لحاظ افزایش سطح جذب، ضخامت و طول پرزهای روده بهبود بخشیده، تسریع کند و برخی از شاخص‌های خونی و پاسخ‌های ایمنی را تحریک نماید.

استفاده شده بر ساختار روده بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان مورد سنجش باشد. به‌طور کلی، استفاده از عصاره‌های گیاهی در صنعت آبزی‌پروری می‌تواند منجر به افزایش مقاومت آبزیان در برابر عوامل عفونی شود و همچنین به‌عنوان جایگزینی برای آنتی‌بیوتیک‌های سنتی عمل کند. یک آزمایش که روی بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان انجام شد نشان داد تغذیه با

## ۵. منابع

## References

- Cahu, C.L., Gisbert, E., Villeneuve, L.A., Morais, S., Hamza, N., Wold, P.A., Zambonino Infante, J.L., 2009. Influence of dietary phospholipids on early ontogenesis of fish. *Aquaculture Research* 40(9), 989-999. DOI: 10.1111/j.1365-2109.2009.02190.x
- Camargo, M. M., Martinez, C.B., 2007. Histopathology of gills, kidney and liver of a Neotropical fish caged in an urban stream. *Neotropical Ichthyology* 5, 327-336. DOI: 10.1590/S1679-62252007000300013
- Darvishi, M., Shamsaie Mehrgan, M., Khajehrahimi, A.E., 2022. Effect of licorice (*Glycyrrhiza glabra*) extract as an immunostimulant on serum and skin mucus immune parameters, transcriptomic responses of immune-related gene, and disease resistance against *Yersinia ruckeri* in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Frontiers in Veterinary Science* 9, 811684. DOI: 10.3389/fvets.2022.811684
- Fierascu, I., Dinu-Pirvu, C.E., Fierascu, R.C., Velescu, B.S., Anuta, V., Ortan, A., Jinga, V., 2018. Phytochemical profile and biological activities of *Satureja hortensis* L.: A review of the last decade. *Molecules* 23(10), 2458. DOI: 10.3390/molecules23102458
- Fynn-Aikins, K., Hung, S. S. O., Liu, W., Li, H., 1992. Growth, lipogenesis and liver composition of juvenile white sturgeon fed different levels of D-glucose. *Aquaculture* 105(1), 61-72. DOI: h10.1016/0044-8486(92)90162-E
- Ghafariarsani, H., Hoseinifar, S.H., Aftabgard, M., Van Doan, H., 2022. The improving role of savory (*Satureja hortensis*) essential oil for Caspian roach (*Rutilus caspicus*) fry: Growth, haematological, immunological, and antioxidant parameters and resistance to salinity stress. *Aquaculture* 548, 737653. DOI:10.1016/j.aquaculture.2021.737653
- Ghafariarsani, H., Rashidian, G., Sheikhlari, A., Naderi Farsani, M., Hoseinifar, S. H., Van Doan, H., 2021. The use of dietary oak acorn extract to improve haematological parameters, mucosal and serum immunity, skin mucus bactericidal activity, and disease resistance in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture Research* 52(6), 2518-2527. DOI: 10.1111/are.15101
- Hajhashemi, V., Zolfaghari, B., Yousefi, A., 2012. Antinociceptive and anti-inflammatory activities of *Satureja hortensis* seed essential oil, hydroalcoholic and polyphenolic extracts in animal models. *Medical Principles and Practice* 21(2), 178-182. DOI: 10.1159/000333555
- Harikrishnan, R., Balasundaram, C., Heo, M.-S., 2011. Impact of plant products on innate and adaptive immune system of cultured finfish and shellfish. *Aquaculture* 317(1), 1-15. DOI:10.1016/j.aquaculture.2011.03.039
- Jalil, A.T., Abdelbasset, W.K., Shichiyakh, R.A., Widjaja, G., Altimari, U.S., Aravindhan, S., Thijail, H.A., Mustafa, Y.F., Naserabad, S., 2022. Protective effect of summer savory (*Satureja hortensis*) essential oil on some growth, biochemical, immune serum, mucosal immune system and antioxidant parameters of common carp (*Cyprinus carpio*) exposed to pretilachlor herbicide. DOI: 10.21203/rs.3.rs-1198387/v1

- Karimi, N., Yari, M., Ghasmpour, H.R., 2012. Identification and comparison of essential oil composition and mineral changes in different phenological stages of *Satureja hortensis* L. *Iranian Journal of Plant Physiology* 3(1), 577-582. (In Persian)
- Kudelka, W., Kosowska, A., 2008. Components of spices and herbs determining their functional properties and their role in human nutrition and prevention of diseases. *Cracow Review of Economics and Management* 78, 83-111 .
- Mai, K., Yu, H., Ma, H., Duan, Q., Gisbert, E., Infante, J. Z., Cahu, C. L., 2005. A histological study on the development of the digestive system of *Pseudosciaena crocea* larvae and juveniles. *Journal of Fish Biology* 67(4), 1094-1106. DOI: 10.1111/j.0022-1112.2005.00812.x
- Mehrabi, Z., Firouzbakhsh, F., Rahimi-Mianji, G., Paknejad, H., 2020. Immunity and growth improvement of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed dietary nettle (*Urtica dioica*) against experimental challenge with *Saprolegnia parasitica*. *Fish & Shellfish Immunology* 104, 74-82. DOI: 10.1016/j.fsi.2020.05.050
- Mirzaee, M., Safari, R., 2023. Stress in ornamental fish and the use of medicinal plants for its control. *Ornamental Aquatic* 10(3). 47-31. (In Persian) DOI: 20.1001.1.24234575.1402.10.3.4.6
- Mohammadalikhani, M., Shamsaei Mehrjan, M., Haghghi, M., Soltani, M., Kamali, A., 2020. Effects of dietary purslane (*Portulaca oleracea*) extract on growth performance, hematological indices and immune responses of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fry. *Iranian Journal of Fisheries Sciences* 19(5), 2660-2672. DOI: 10.22092/ijfs.2020.122576
- Mousavi, E., Mohammadiazarm, H., Mousavi, S. M., Ghatrami, E. R., 2016. Effects of inulin, savory and onion powders in diet of juveniles carp *Cyprinus carpio* (Linnaeus 1758) on gut micro flora, immune response and blood biochemical parameters. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 16(4), 831-838. DOI: 10.4194/1303-2712-v16\_4\_09
- Mozafarian, V. 2006. Culture Iran Names of Plants. In: The Contemporary Culture Press, Iran, Tehran.
- Mumivand, H., Babalar, M., Hadian, J., Tabatabaei, S. M. F., 2010. Influence of nitrogen and calcium carbonate application rates on the minerals content of summer savory (*Satureja hortensis* L.) leaves. *Horticulture Environment and Biotechnology* 51(3), 173-177 .
- Naigaga, I., Adeyemo, O. K., Alli, R. A., 2009. Effect of handling and transportation on haematology of african catfish (*Clarias gariepinus*). *Journal of Fisheries Sciences* 3(4), 333-341.
- RamezaniFard, E., Kamarudin, M., Harmin, S., Saad, C.R., Abd Satar, M., Daud, S.K., 2011. Ontogenic development of the mouth and digestive tract in larval Malaysian mahseer, *Tor tambroides* Bleeker. *Journal of Applied Ichthyology* 27(3), 920-927. DOI: 10.1111/j.1439-0426.2010.01598.x
- Rašković, B., Stanković, M., Marković, Z., Poleksić, V., 2011. Histological methods in the assessment of different feed effects on liver and intestine of fish. *Journal of Agricultural Sciences (Belgrade)* 56(1), 87-100. DOI: 10.2298/JAS1101087R
- Ravindran, P., Pillai, G., Divakaran, M. 2012. Other herbs and spices: mango ginger to wasabi. In *Handbook of herbs and spices*: Elsevier. DOI: 10.1533/9780857095688.557
- Řehulka, J., 2000. Influence of astaxanthin on growth rate, condition, and some blood indices of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture* 190(1), 27-47. DOI: 10.1016/S0044-8486(00)00383-5
- 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. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2014.05.048
- Roosta, Z., Hoseinifar, S. H., 2016. The effects of crowding stress on some epidermal mucus immune parameters, growth performance and survival rate of tiger barb (*Puntius tetrazona*). *Aquaculture Research* 47(5), 1682-1686 .

- Sadeghi, A. A., Mohamadi-Saei, M., Ahmadvand, H., 2014. The efficacy of dietary savory essential oil on reducing the toxicity of Aflatoxin B1 in broiler chicks. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 20(4), 481 .
- Soltani, M., Zarifmanesh, T., Zorriehzahra, S. J., 2013. Effect of *Zataria multiflora* essential oils on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) complement component activity and lysozyme. *Iranian Scientific Fisheries Journal* 21(4), 13-23. DOI:10.22092/isfj.2017.110083
- Tepić, A., Zeković, Z., Kravić, S., Mandić, A., 2009. Pigment content and fatty acid composition of paprika oleoresins obtained by conventional and supercritical carbon dioxide extraction. *CyTA–Journal of Food* 7(2), 95-102. DOI: 10.1080/19476330902940382
- Webster, C. D., Lim, C. 2002. *Nutrient requirements and feeding of finfish for aquaculture*: CABI publishing.
- Zeppenfeld ,C., Hernández, D., Santinón, J., Heinzmann, B., Da Cunha, M., Schmidt, D., Baldisserotto, B., 2016. Essential oil of *Aloysia triphylla* as feed additive promotes growth of silver catfish (*Rhamdia quelen*). *Aquaculture Nutrition* 22(4), 933-940. DOI: 10.1111/anu.12311
- Zhou, Q. C., Tan, B. P., Mai, K. S., Liu, Y. J., 2004. Apparent digestibility of selected feed ingredients for juvenile cobia *Rachycentron canadum*. *Aquaculture* 241(1), 441-451. DOI: /10.1016/j.aquaculture.2004.08.044