

(OPEN ACCESS)

**The effect of the hydroalcoholic extract of the savory plant
(*Satureja hortensis*) on the growth performance and
some innate immunity indicators of the serum and skin
mucus of rainbow trout fry (*Oncorhynchus mykiss*)**

**Mohammad Mirzaee^{*1}, Abdolmajid Hajimoradloo², Marzieh Abolfathi³,
Ali Jafar Nodeh⁴**

1. Corresponding Author, Dept. of Fisheries, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: mirzaee.mohammad1997@gmail.com
2. Dept. of Fisheries, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: a_hajimoradloo@gau.ac.ir
3. Dept. of Fisheries, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: m.abolfathi@gmail.com
4. Dept. of Fisheries, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: a.jafar55@gmail.com

Article Info

Article type:

Full Length Research Paper

Article history:

Received: 11.27.2023

Revised: 12.09.2023

Accepted: 12.10.2023

Keywords:

Growth performance,
Innate immunity,
Rainbow trout,
Satureja hortensis,
Skin mucus

ABSTRACT

Background and Objectives: The use of plant extracts in the aquaculture industry can lead to increased resistance of aquatic animals to infectious agents and also serve as an alternative to traditional antibiotics. The present study investigates the effect of a diet containing hydroalcoholic extract of summer savory (*Satureja hortensis*) on the growth performance and innate immune response of the skin and serum mucosa in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fry.

Materials and Methods: For this purpose, 240 fry with an average weight of 2.02 ± 0.02 grams were randomly divided into four experimental groups with three replicates and fed diets containing 0 (control), 1.0%, 5.0%, and 1% summer savory hydroalcoholic extract for a period of 6 weeks.

Results: The results showed that growth performance indices, including final weight, body weight gain, and specific growth rate, significantly increased in the group fed a diet containing 1% extract compared to the control group. However, a significant difference in the specific growth rate index was not observed among the groups fed with extract. Serum immune indices analysis showed that the activity of the lysozyme enzyme increased in the groups fed with different levels of summer savory extract compared to the control group, while the activity of alkaline phosphatase, aspartate aminotransferase, and alanine aminotransferase enzymes decreased. Analysis of innate mucosal immune indices also showed that the highest activity of alkaline phosphatase and lysozyme enzymes was related to the groups fed with a diet containing 5.0% and 1% extract, respectively. The concentration of soluble protein was not affected by the consumption of a diet containing extract.

Conclusion: Dietary supplementation with the hydroalcoholic extract of summer savory, especially at a level of 1%, can be considered a natural nutritional supplement to improve the growth and health of rainbow trout fry.

Cite this article: Mirzaee, Mohammad, Hajimoradloo, Abdolmajid, Abolfathi, Marzieh, Jafar Nodeh, Ali. 2025. The effect of the hydroalcoholic extract of the savory plant (*Satureja hortensis*) on the growth performance and some innate immunity indicators of the serum and skin mucus of rainbow trout fry (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics*, 14 (3), 117-138.



© The Author(s).

Doi: 10.22069/japu.2023.21955.1833

Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

تأثیر عصاره هیدروالکلی گیاه مرزه (*Satureja hortensis*) بر عملکرد رشد و برخی از شاخص‌های ایمنی ذاتی سرم و موکوس پوست بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

محمد میرزایی^{۱*}، عبدالمجید حاجی‌مرادلو^۲، مرضیه ابوالفتحی^۳، علی جعفرنوده^۴

۱. نویسنده مسئول، گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.
رایانامه: mirzaee.mohammad1997@gmail.com
۲. گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.
رایانامه: a_hajimoradloo@gu.ac.ir
۳. گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.
رایانامه: m.aboolfathi@gmail.com
۴. گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.
رایانامه: a.jafar55@gmail.com

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: مقاله کامل علمی- پژوهشی	سابقه و هدف: استفاده از عصاره‌های گیاهی در صنعت آبزی‌پروری می‌تواند منجر به افزایش مقاومت آبزیان در برابر عوامل عفونی شود و هم‌چنین به عنوان جایگزینی برای آنتی‌بیوتیک‌های سنتی عمل کند. مطالعه حاضر به هدف بررسی تأثیر جیره غذایی حاوی عصاره هیدروالکلی گیاه مرزه (<i>Satureja hortensis</i>) بر عملکرد رشد و پاسخ ایمنی ذاتی موکوس پوست و سرم بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) انجام شد.
تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۹/۰۶	
تاریخ ویرایش: ۱۴۰۲/۰۹/۱۸	
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۹/۱۹	
واژه‌های کلیدی:	مواد و روش‌ها: بدین‌منظور، ۲۴۰ قطعه بچه‌ماهی با میانگین وزن 0.2 ± 0.2 گرم به صورت تصادفی در ۴ گروه آزمایشی با سه تکرار به مدت ۶ هفته با جیره‌های حاوی غلظت‌های ۰ (شاهد)، ۰/۱، ۰/۵ و ۱ درصد عصاره هیدروالکلی گیاه مرزه تغذیه شدند.
ایمنی ذاتی، عملکرد رشد، قزل‌آلای رنگین‌کمان، مرزه، موکوس پوست	یافته‌ها: 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 به طور معنی‌داری در مقایسه با گروه شاهد افزایش یافت. اما اختلاف معنی‌داری در شاخص ضریب رشد ویژه بین تیمارهای تغذیه شده با عصاره مشاهده نشد. آنالیز شاخص‌های ایمنی سرم نشان داد که فعالیت آنزیم لیزوزیم در تیمارهای تغذیه شده با سطوح مختلف عصاره مرزه در مقایسه با گروه شاهد

افزایش یافت، درحالی که میزان فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز قلیایی، آسپارات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز کاهش یافت. آنالیز شاخص‌های ایمنی ذاتی موکوس پوست نیز نشان داد که بیش‌ترین میزان فعالیت آنزیم‌های آلکالین فسفاتاز قلیایی و لیزوزیم به ترتیب مربوط به تیمارهای تغذیه شده با جیره حاوی ۰/۵ و ۱ درصد عصاره بود. غلظت پروتئین محلول تحت تأثیر مصرف جیره حاوی عصاره قرار نگرفت.

نتیجه‌گیری: تجویز خوراکی عصاره هیدروالکلی مرزه به ویژه در سطح ۱ درصد می‌تواند به عنوان یک مکمل غذایی طبیعی به بهبود رشد و سلامت بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان کمک کند.

استناد: میرزایی، محمد، حاجی‌مرادلو، عبدالمجید، ابوالفتحی، مرضیه، جافرنوده، علی (۱۴۰۴). تأثیر عصاره هیدروالکلی گیاه مرزه (*Satureja hortensis*) بر عملکرد رشد و برخی از شاخص‌های ایمنی ذاتی سرم و موکوس پوست بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). نشریه بهره‌برداری و پرورش آبزیان، ۱۴ (۳)، ۱۳۸-۱۱۷.

Doi: 10.22069/japu.2023.21955.1833



© نویسندگان.

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

مقدمه

ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)، با تولید جهانی نزدیک به ۹۶۰ هزار تن، یک گونه اقتصادی مهم در صنعت آبزی‌پروری آب شیرین محسوب می‌گردد (۱). با توجه به افزایش نیاز و تقاضای بالا برای محصولات آبزی‌پروری، استفاده از سیستم‌های پرورش متراکم و فوق متراکم ضروری به نظر می‌رسد. علاوه بر این، تراکم بالا در سیستم‌های پرورشی متراکم، در صورت عدم کنترل مناسب شرایط پرورش، به عنوان یک چالش مهم، خطر کاهش کیفیت آب پرورش را افزایش می‌دهد. این مسئله می‌تواند منجر به شیوع بیماری‌های عفونی و غیرعفونی مختلف و خسارات اقتصادی قابل‌توجهی برای پرورش‌دهنده گردد. اگرچه در گذشته از داروهای شیمیایی زیادی شامل آنتی‌بیوتیک‌ها برای پیشگیری و درمان بیماری‌ها استفاده می‌شد، اما مصرف مداوم این داروها اثرات منفی زیادی از جمله مشکلات زیست‌محیطی، تخریب جوامع میکروبی در محیط‌های آبزی‌پروری و ظهور و گسترش سویه‌های مقاوم، سرکوب سیستم ایمنی ماهی، تجمع در بافت‌های ماهی و انتقال به مصرف‌کننده و در نتیجه تأثیر منفی بر بازار فروش و صادرات ماهی دارد (۲ و ۳)، از طرفی واکنش‌های نامطلوب ماهی در مقیاس انبوه دشوار و بسیار گران است (۴ و ۵). بنابراین، تهیه جیره‌های غذایی حاوی جاذب‌های غذایی و محرک‌های ایمنی که علاوه بر سازگاری ماهی به غذای دستی، افزایش رشد، قابلیت هضم و بازده غذایی، بتواند سلامت ماهی را از طریق افزایش مقاومت در برابر استرس‌های محیطی و پاتوژن‌های بیماری‌زا ارتقا بخشد، تأثیر به‌سزایی در افزایش راندمان تولید و توسعه پایدار آبزی‌پروری دارد. امروزه استفاده از مکمل‌های خوراکی دوست‌دار محیط زیست از جمله پروبیوتیک، پری‌بیوتیک، سین‌بیوتیک و گیاهان دارویی به بخش

جدایی‌ناپذیر فعالیت‌های آبزی‌پروری به منظور دستیابی به توان تولید بالا از طریق بهبود رشد و پیشگیری از بیماری‌ها تبدیل شده‌اند (۶، ۷، ۸، ۹، ۱۰) که از این بین مکمل گیاهی یا مشتقات آن به دلیل برتری‌های خاص خود از جمله قیمت پایین و امکان کشت در سطح وسیع، دسترسی آسان، اثرات جانبی کم‌تر بر سلامت ماهی و محیط زیست و کارایی بهتر در محیط آبی مورد توجه پژوهش‌گران قرار گرفته و در سال‌های اخیر استفاده از آن‌ها در بین پرورش‌دهندگان رواج یافته و نتایج مطلوبی نیز به دنبال داشته است (۱۱، ۱۲، ۱۳، ۱۴، ۱۵، ۱۶).

مرزه (*Satureja hortensis*) یک گیاه علفی از خانواده *Lamiaceae* است که در مناطق مختلف جهان رشد می‌کند (۱۷) و از نظر خواص دارویی بیش از سایر گونه‌ها مورد توجه قرار گرفته است (۱۸). آنالیز ترکیب تقریبی برگ‌های تازه مرزه نشان داده است که آن حاوی رطوبت (۷۲ درصد)، پروتئین (۴/۲ درصد)، چربی (۱/۶۵ درصد)، کربوهیدرات (۴/۴۵ درصد)، فیبر (۸/۶ درصد) و خاکستر (۲/۱۱ درصد) و سطوح قابل‌توجهی از مواد معدنی (پتاسیم، فسفر، کلسیم، منیزیم، آهن و سدیم) و ویتامین‌ها (نیاسین، پیریدوکسین، ریبوفلاوین، تیامین، ویتامین A و ویتامین C) می‌باشد (۱۹، ۲۰، ۲۱، ۲۲). گیاه مرزه همچنین حاوی ترکیبات زیست‌فعال متعددی مانند ترکیبات فنلی (کارواکرول و تیمول)، مونوترپن‌ها (گاما ترپینن و پی سیمن) و فلاونوئیدها می‌باشد که خاصیت آنتی‌اکسیدان، ضد میکروبی، ضد التهابی، تعدیل‌کننده ایمنی، افزایش اشتها و محرک رشد توسط مطالعات متعددی اثبات شده است و می‌تواند به عنوان جایگزین مناسبی برای آنتی‌بیوتیک‌ها در صنایع غذایی و دارویی مورد استفاده قرار گیرد (۱۹، ۲۳ و ۲۴). اخیراً عصاره مرزه به عنوان محرک رشد، تقویت‌کننده سیستم ایمنی و مقاومت در برابر عوامل بیماری‌زا در

صنعت آبزی‌پروری نیز مورد توجه قرار گرفته است. به‌عنوان مثال، غفاری‌فارسانی و همکاران (۲۰۲۳) (۲۵) گزارش کردند که شاخص‌های عملکرد رشد شامل وزن نهایی، افزایش وزن، نرخ رشد ویژه، ضریب تبدیل غذایی و پارامترهای ایمنی سرم مانند پروتئین کل و فعالیت لیپوزیم در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) تغذیه شده با جیره‌های حاوی ۱ و ۲ درصد اسانس مرزه به‌طور معنی‌داری بهبود یافت. محسنی و همکاران (۱۳۹۹) (۲۶) نیز نشان دادند که تجویز خوراکی عصاره متانولی مرزه در سطح ۲ درصد منجر به بهبود معنی‌داری در شاخص وزن نهایی و ضریب تبدیل غذایی و همچنین پاسخ ایمنی ذاتی و پارامترهای خون‌شناسی بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان شد.

عملکرد رشد شامل شاخص‌های وزن نهایی، درصد افزایش وزن بدن و نرخ رشد ویژه بیانگر وضعیت تغذیه آبزی و یکی از پارامترهای ضروری برای ارزیابی اثرات گیاهان دارویی در نظر گرفته می‌شود (۲۷). از طرفی، پارامترهای ایمنی ذاتی سرم خون به‌عنوان شاخص با ارزشی در بررسی پاسخ‌های فیزیولوژیکی آبزی به شرایط تغذیه‌ای و محیطی محسوب می‌شوند (۲۸ و ۲۹). اندازه‌گیری دقیق این شاخص‌ها و بررسی تغییرات آن‌ها اهمیت فراوانی در ایجاد شرایط بهینه پرورشی و مدیریت بهداشتی مزارع پرورش به‌خصوص در سیستم‌های متراکم دارد. در حال حاضر، گرایش زیادی نیز به مطالعه موکوس پوست به‌عنوان یک تکنیک غیرتهاجمی برای مطالعه فاکتورهای ایمنی ذاتی وجود دارد. موکوس به‌عنوان نخستین دیوار دفاعی بدن در برابر محیط عمل می‌کند و مطالعات آن امکان بررسی دقیق و غیرتهاجمی پاسخ‌های ایمنی به محیط را فراهم می‌کند (۳۰). این رویکرد این امکان را به ما می‌دهد که درک عمیق‌تری از تعاملات ایمنی ذاتی بدن به‌دست آوریم و اقدامات

بهبودی را در مدیریت و افزایش ایمنی طبیعی ارائه دهیم. با توجه به اهمیت سلامتی بدن در رشد بهتر پژوهش حاضر به بررسی تأثیر افزودن سطوح مختلف عصاره هیدروالکلی مرزه بر عملکرد رشد و مطالعه مقایسه‌ای پارامترهای ایمنی ذاتی موکوس پوست و سرم خون بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان پرداخته است.

مواد و روش‌ها

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 طور یکنواخت و همگن مخلوط گردید. برای حفظ بهتر عصاره در جیره پایه، یک لایه نازک از محلول ژلاتین یک درصد بر روی خوراک‌ها اسپری و پس از خشک شدن در هوای آزاد در کیسه‌های نایلونی مشکی (برای جلوگیری از اثرات مخرب نور خورشید بر جیره خوراکی) بسته بندی و تا زمان استفاده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. به‌منظور حفظ شرایط آزمایشی یکسان، به جیره گروه شاهد نیز مقدار مساوی ژلاتین اضافه شد.

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 آبزی‌پروری 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 دو هفته، تعداد ۲۴۰ قطعه بچه‌ماهی با میانگین وزن 0.02 ± 0.02 گرم به‌طور تصادفی در چهار گروه آزمایشی (سه تکرار) توزیع و با جیره‌های حاوی

زیست‌سنجی‌های ۱۴ روزه محاسبه و تعیین گردید. پارامترهای کیفی آب مانند دما (13.5 ± 1 درجه سانتی‌گراد)، pH (7.54 ± 0.41)، اکسیژن محلول (7.85 ± 0.35 میلی‌گرم بر لیتر) و آمونیاک (0.002 میلی‌گرم بر لیتر) دو بار در هفته اندازه‌گیری و در محدوده قابل‌قبول برای ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان حفظ شدند. رژیم نوری طبیعی و روزانه ۵۰ درصد حجم آب مخازن با آب شهری کلرزدايي شده با تیوسولفات سدیم تعویض می‌شد.

سطوح مختلف عصاره هیدروالکلی مرزه (شاهد)، ۰/۱ (تیمار ۱)، ۰/۵ (تیمار ۲) و ۱ (تیمار ۳) درصد به مدت ۶ هفته 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 بر اساس جدول غذادهی ارائه شده توسط شرکت تولیدکننده خوراک تغذیه شدند. میزان غذادهی به ماهیان براساس

جدول ۱- ترکیب تقریبی جیره‌های آزمایشی، بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده.

Table 1. Approximate composition of experimental diets, based on the manufacturer's instructions.

درصد Percentage	ترکیبات خوراک Feed ingredients
48	پروتئین Protein
15	چربی lipid
1/5	فیبر Fiber
10	رطوبت Moisture
0-1	عصاره هیدروالکلی مرزه Savory hydroalcoholic extract
1 ± 0.2	سایز خوراک (mm) Feed size (mm)

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.

سنجش پارامترهای عملکرد رشد و بازماندگی: در پایان دوره آزمایش و پس از قطع غذادهی 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 ۰/۰۱ گرم و تخته زیست‌سنجی

جدول ۲- تعریف شاخص های رشد (۳۱).

Table 2. Definition of growth indicators (31).

تعریف Definition	پارامتر Parameter
وزن ابتدایی (گرم) - وزن نهایی (گرم) Initial weight (grams) - Final weight (grams)	افزایش وزن (گرم) Weight gain (grams)
$[(\text{natural logarithm of initial weight} - \text{natural logarithm of final weight}) / \text{Number of days}] \times 100$	ضریب رشد ویژه (روز / درصد) Specific growth rate (days/%)
افزایش وزن (گرم) / میزان مصرف غذا (گرم) Weight gain (grams) / Food intake (grams)	ضریب تبدیل غذایی Food conversion ratio
$(\text{تعداد اولیه ماهیان} / \text{تعداد ماهیان باقی مانده}) \times 100$ (Initial number of fish / number of fish remaining) $\times 100$	نرخ بازماندگی (درصد) Survival rate (%)
$100 \times [(\text{طول ماهی (سانتی متر)} / (\text{وزن ماهی (گرم)})^{1/3})]$ [(fish length (cm)) / (fish weight (g)) ³] $\times 100$	ضریب چاقی (گرم بر سانتی مترمکعب) Obesity coefficient (g/cm ³)

میلی گرم در لیتر) بیهوش و به کیسه‌های پلی اتیلنی حاوی ۱۰ میلی لیتر بافر فسفات ۴۰ میلی مولار منتقل شد. کیسه‌ها را به آرامی به مدت ۲-۱ دقیقه تکان داده و سپس موکوس جمع‌آوری شده به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و با نیروی ۲۸۶۰ g سانتریفوژ گردید. سپس سوپرناتانت حاصل را به آرامی با سمپلر جمع‌آوری کرده و در میکروتیوپ‌هایی به حجم ۱/۵ میلی لیتر تقسیم‌بندی و تا زمان انجام آزمایش‌های بعدی در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

سنجش پارامترهای ایمنی غیراختصاصی

پارامترهای ایمنی ذاتی سرم خون: غلظت پروتئین محلول سرم با استفاده از کیت‌های تشخیص کمی شرکت پارس آزمون (کرج - ایران) مطابق با روش بیورت و با استفاده از دستگاه فتومتر در طول موج ۵۴۶ نانومتر اندازه‌گیری و بر حسب گرم بر دسی لیتر بیان شد.

نمونه‌گیری خون: نمونه‌گیری خون طبق روش محمدعلیخانی و همکاران (۲۰۲۰) (۳۲) 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 میلی گرم در لیتر) بیهوش شدند. سپس نمونه خون از سیاهرگ ساقه دمی ماهی‌ها گرفته شد. سپس نمونه‌های خون به لوله‌های فاقد هپارین منتقل و جهت جداسازی سرم به مدت ۱۵ دقیقه با نیروی ۲۵۰۰ سانتریفوژ شدند. مایع رویی حاصل در میکروتیوپ‌هایی به حجم ۰/۵ میلی لیتر تقسیم و جهت مراحل بعدی آزمایش‌ها در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

جمع‌آوری موکوس پوست: جمع‌آوری نمونه‌های موکوس پوست مطابق با روش ابوالفتحی و همکاران (۲۰۲۲) (۳۳)، با اندکی تغییرات انجام گرفت. در پایان دوره پرورش، تغذیه ماهیان ۲۴ ساعت قبل از نمونه‌گیری قطع و از هر تکرار ۵ قطعه ماهی به‌طور تصادفی صید و با استفاده از محلول گل میخک (۲۰۰

آنالیزهای آماری: 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، شاخص‌های رشد، و فاکتورهای ایمنی ذاتی موکوس پوست و سرم بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان از روش تحلیل واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح معنی‌داری $\alpha=0/05$ انجام گرفت. تمام آنالیزها به کمک نرم‌افزارهای آماری SPSS، نسخه ۲۲ و Excel2010 انجام و نتایج به‌صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار بیان گردید.

نتایج

عملکرد رشد و بقا: همان‌طورکه در جدول ۳ مشاهده می‌شود، شاخص‌های عملکرد رشد شامل وزن نهایی، افزایش وزن بدن، ضریب رشد ویژه در ماهیان تغذیه شده با غلظت‌های مختلف عصاره هیدروالکلی مرزه به‌طور معنی‌داری 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 ($P<0/05$)، درحالی‌که اختلاف معنی‌داری در شاخص ضریب رشد ویژه بین تیمارهای تغذیه شده با عصاره مشاهده نشد ($P>0/05$). ضریب چاقی نیز در تیمار تغذیه‌شده با بالاترین غلظت عصاره (۱ درصد) به‌طور معنی‌داری در مقایسه با گروه شاهد کاهش یافت ($P<0/05$). افزودن عصاره به جیره غذایی تأثیر معنی‌داری بر ضریب تبدیل غذایی نداشت ($P>0/05$). هیچ‌گونه تلفاتی نیز در اثر مصرف جیره حاوی سطوح مختلف عصاره مشاهده نشد.

فعالیت آنزیم لیزوزیم سرم به روش کدورت‌سنجی و با استفاده از سوسپانسیون سلول‌های میکروکوکوس لوتئوس (*Micrococcus luteus*) در بافر استات سدیم (۰/۰۲ مولار، pH=۵/۵) به عنوان سوبسترا در طول موج ۴۵۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (۳۴).

آنزیم فسفاتاز قلیایی (ALP) با استفاده از کیت‌های سنجش کمی (زیست‌شیمی ایران) به روش رنگ‌سنجی و تک‌محلوله با استفاده از سوبسترای پارا نیترو فنل فسفات در طول موج ۴۵۰ نانومتر اندازه‌گیری شد.

آنزیم‌های (AST) آسپارات آمینوترانسفراز و (ALT) آلانین آمینوترانسفراز با استفاده از کیت‌های سنجش کمی شرکت پارس آزمون (کرج، ایران) مطابق با روش توصیه شده توسط فدراسیون بین‌المللی شیمی بالینی و طب آزمایشگاهی (IFCC) طول موج ۳۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شد.

پارامترهای ایمنی ذاتی موکوس پوست: غلظت پروتئین محلول به روش لوری و همکاران (۱۹۵۱) (۳۵) و با استفاده از منحنی استاندارد آلبومین سرم گاوی و معرف رنگی فولین فنول سیو کالتیو در طول موج ۷۵۰ نانومتر اندازه‌گیری و بر حسب میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بیان شد.

فعالیت آنزیم لیزوزیم به روش کدورت‌سنجی و با استفاده از سوسپانسیون سلول‌های میکروکوکوس لوتئوس (*Micrococcus luteus*) در بافر استات سدیم (۰/۰۲ مولار، pH=۵/۵) به عنوان سوبسترا در طول موج ۴۵۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (۳۴).

فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی با استفاده از کیت‌های سنجش کمی (زیست‌شیمی ایران) به روش رنگ‌سنجی و تک‌محلوله با استفاده از سوبسترای پارا نیترو فنیل فسفات در طول موج ۴۵۰ نانومتر به مدت ۳ دقیقه اندازه‌گیری شد (۳۱).

جدول ۳- عملکرد رشد و درصد بازماندگی بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با سطوح مختلف عصاره هیدروالکلی مرزه به مدت ۶ هفته.

Table 3. Growth performance and survival rate of rainbow trout fry fed with different levels of savory hydroalcoholic extract for 6 weeks.

تیمار ۳ (۱ درصد عصاره هیدروالکلی مرزه) Treatment 3 (1% hydroalcoholic extract of savory)	تیمار ۲ (۰/۵ درصد عصاره هیدروالکلی مرزه) Treatment 2 (0.5% hydroalcoholic extract of savory)	تیمار ۱ (۰/۱ درصد عصاره هیدروالکلی مرزه) Treatment 1 (0.1% hydroalcoholic extract of savory)	شاهد (جیره پایه) Control (Base diet)	پارامترها Parameters
2.03 ± 0.02	2.01 ± 0.05	2.01 ± 0.02	2.01 ± 0.03	وزن اولیه (گرم) Initial weight (grams)
10.16 ± 0.2 ^a	9.8 ± 0.27 ^{ab}	9.65 ± 0.17 ^b	8.83 ± 0.23 ^c	وزن نهایی (گرم) Final weight (grams)
8.13 ± 0.18 ^a	7.78 ± 0.3 ^{ab}	7.63 ± 0.16 ^b	6.81 ± 0.24 ^c	افزایش وزن (گرم) Weight gain (grams)
3.8 ± 0.02 ^a	3.76 ± 0.1 ^a	3.72 ± 0.03 ^a	3.51 ± 0.08 ^b	ضریب رشد ویژه (درصد در روز) Specific growth rate (percentage per day)
0.95 ± 0.1 ^b	1.23 ± 0.09 ^a	1.27 ± 0.1 ^a	1.25 ± 0.06 ^a	فاکتور وضعیت Status factor
0.85 ± 0.1	0.85 ± 0.05	0.86 ± 0.08	0.9 ± 0.07	ضریب تبدیل غذایی Food conversion ratio
100	100	100	100	درصد بازماندگی (درصد) Survival rate (percentage)

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

Values are expressed as mean ± standard deviation. Different letters in each row indicate significant differences between experimental groups ($P < 0.05$)

فعالیت آنزیم لیزوزیم نیز در تیمارهای تغذیه شده با جیره‌های حاوی ۰/۵ و ۱ درصد عصاره به‌طور معنی‌داری در مقایسه با گروه شاهد افزایش یافت ($P < 0.05$)، اما اختلاف معنی‌داری در میزان این آنزیم در تیمار تغذیه شده با جیره حاوی ۰/۱ درصد عصاره و گروه شاهد مشاهده نشد ($P > 0.05$).

پارامترهای ایمنی ذاتی سرم: نتایج آنالیز پارامترهای ایمنی ذاتی سرم نشان داد که غلظت پروتئین محلول در هر سه تیمار تغذیه شده با جیره‌های حاوی سطوح مختلف عصاره هیدروالکلی مرزه در مقایسه با گروه شاهد به طور معنی‌داری افزایش یافت ($P < 0.05$)، هر چند اختلاف بین تیمارها معنی‌دار نبود ($P > 0.05$).

جدول ۴- پارامترهای ایمنی ذاتی سرم بچه ماهی قزل آلائی رنگین کمان تغذیه شده با سطوح مختلف عصاره هیدروالکلی مرزه به مدت ۶ هفته.

Table 4. Intrinsic immune parameters of rainbow trout serum fed with different levels of savory hydroalcoholic extract for 6 weeks.

پارامترها Parameters	شاهد (جیره پایه) Control (Base diet)	تیمار ۱ (۰/۱ درصد عصاره) Treatment 1 (0.1% hydroalcoholic extract of savory)	تیمار ۲ (۰/۵ درصد عصاره) Treatment 2 (0.5% hydroalcoholic extract of savory)	تیمار ۳ (۱ درصد عصاره) Treatment 3 (1% hydroalcoholic extract of savory)
پروتئین کل (g/dL) Total protein (g/dL)	3.04 ± 0.27 ^b	3.44 ± 0.21 ^a	3.53 ± 0.06 ^a	3.5 ± 0.05 ^a
لیزوزیم (U/ml) Lysozyme (U/ml)	23.59 ± 2.07 ^b	27.07 ± 2.98 ^b	54.29 ± 4.7 ^a	59.85 ± 3.95 ^a

مقادیر به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده‌اند. حروف غیرمشابه در هر ردیف نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی می‌باشد (P<۰/۰۵)

Values are expressed as mean ± standard deviation. Different letters in each row indicate significant differences between experimental groups (P<0.05)

شاخص‌های بیوشیمیایی سرم: همان‌طور که در جدول ۵ مشاهده می‌شود، افزودن سطوح مختلف عصاره هیدروالکلی مرزه به جیره غذایی منجر به کاهش معنی‌داری در غلظت آنزیم‌های متابولیکی سرم خون شامل فسفاتاز قلیایی، آلانین آمینوترانسفراز و

جدول ۵- شاخص‌های بیوشیمیایی سرم خون بچه ماهیان قزل آلائی رنگین کمان تغذیه شده با سطوح مختلف عصاره هیدروالکلی مرزه به مدت ۶ هفته.

Table 5. Serum biochemical indices of rainbow trout fry fed with different levels of savory hydroalcoholic extract for 6 weeks.

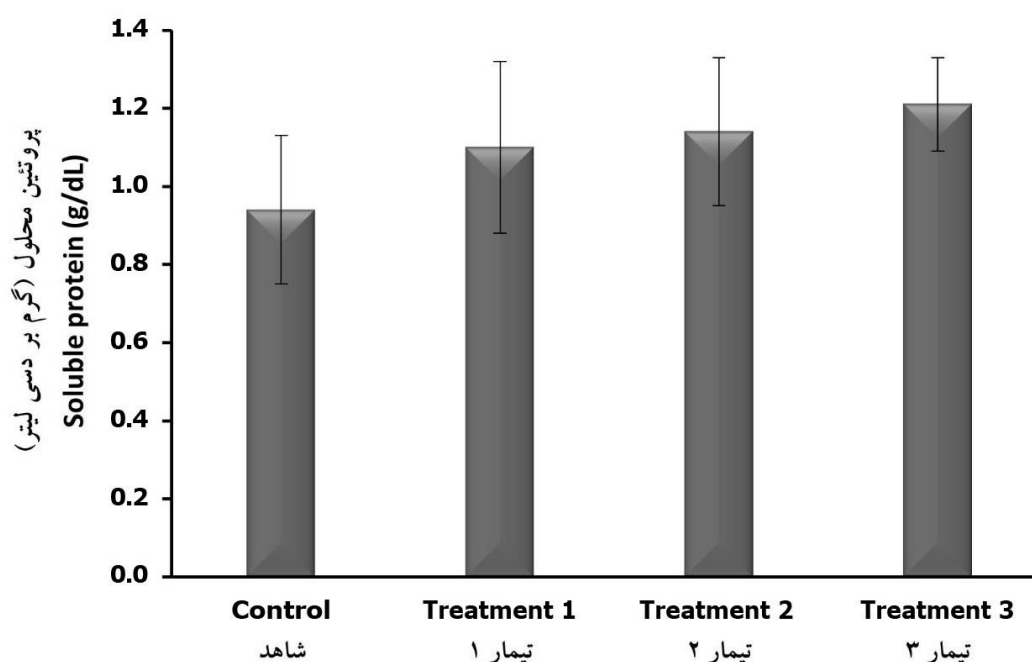
پارامترها Parameters	شاهد (جیره پایه) Control (Base diet)	تیمار ۱ (۰/۱ درصد عصاره) Treatment 1 (0.1% hydroalcoholic extract of savory)	تیمار ۲ (۰/۵ درصد عصاره) Treatment 2 (0.5% hydroalcoholic extract of savory)	تیمار ۳ (۱ درصد عصاره) Treatment 3 (1% hydroalcoholic extract of savory)
فسفاتاز قلیایی (U/L) ALP (U/L)	128.0 ± 19.41 ^a	17.09 ± 3.1 ^c	40.52 ± 6.3 ^b	15.8 ± 3.4 ^c
آسپاراتات آمینوترانسفراز (U/L) AST (U/L)	281.1 ± 19.42 ^b	324.54 ± 28.5 ^a	196.1 ± 16.17 ^d	243.85 ± 8.1 ^c
آلانین آمینوترانسفراز (U/L) ALT (U/L)	30.46 ± 4.6 ^a	20.04 ± 2.5 ^b	10.52 ± 2.18 ^c	21.14 ± 4.06 ^b

مقادیر به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده‌اند. حروف غیرمشابه در هر ردیف نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی می‌باشد (P<۰/۰۵)

Values are expressed as mean ± standard deviation. Different letters in each row indicate significant differences between experimental groups (P<0.05)

فعالیت آنزیم لیزوزیم و فسفاتاز قلیایی به ترتیب در تیمارهای تغذیه شده با جیره‌های حاوی ۱ و ۰/۵ درصد عصاره مشاهده شد ($P < 0.05$). (شکل‌های ۲ و ۳). اختلاف معنی‌داری در غلظت پروتئین محلول بین گروه شاهد و تیمارهای تغذیه شده با جیره‌های حاوی سطوح مختلف عصاره هیدروالکی مرزه مشاهده نشد ($P > 0.05$). (شکل ۱).

پارامترهای ایمنی ذاتی موکوس پوست: آنالیز شاخص‌های ایمنی ذاتی موکوس پوست نشان داد که میزان فعالیت آنزیم‌های لیزوزیم و فسفاتاز قلیایی در تیمار تغذیه شده با جیره حاوی ۰/۱ درصد در مقایسه با گروه شاهد به‌طور معنی‌داری کاهش یافت ($P < 0.05$), در حالی‌که با افزایش غلظت عصاره، میزان فعالیت این آنزیم‌ها به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ($P < 0.05$), به‌طوری‌که بالاترین میزان

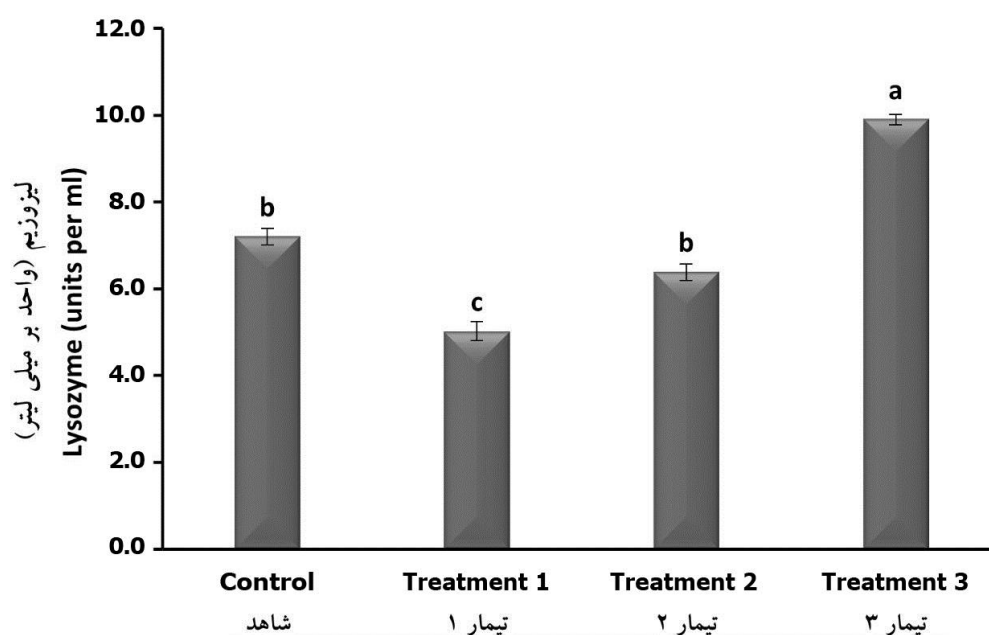


شکل ۱- غلظت پروتئین محلول موکوس پوست ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با جیره‌های حاوی سطوح مختلف عصاره هیدروالکی مرزه.

مقادیر به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار بیان شده‌اند ($n=3$). حروف مشابه نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($P < 0.05$).

Figure 1. Soluble protein concentration of skin mucus of rainbow trout fed diets containing different levels of savory hydroalcoholic extract.

Values are expressed as mean $\pm$ standard deviation ($n=3$). Similar letters indicate no significant difference ($P < 0.05$).

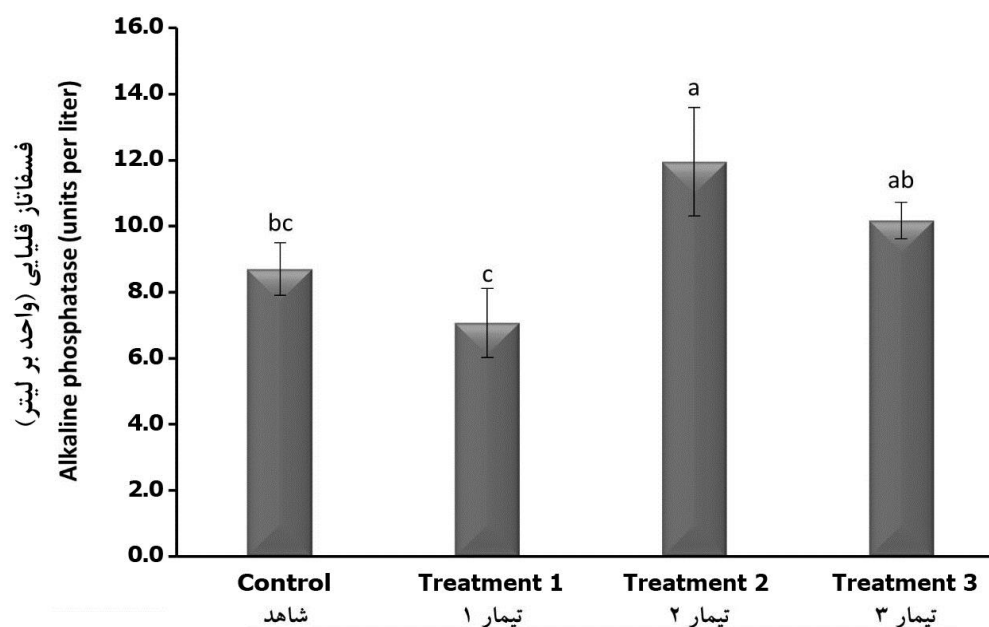


شکل ۲- فعالیت آنزیم لیزوزیم موکوس پوست ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با جیره‌های حاوی سطوح مختلف عصاره هیدروالکلی مرزه.

مقادیر به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار بیان شده‌اند ($n=3$). حروف مشابه نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($P<0.05$).

Figure 2. Lysozyme activity of skin mucus of rainbow trout fed diets containing different levels of Savory hydroalcoholic extract.

Values are expressed as mean $\pm$ standard deviation ($n=3$). Similar letters indicate no significant difference ($P<0.05$).



شکل ۳- فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی موکوس پوست ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با جیره‌های حاوی سطوح مختلف عصاره هیدروالکلی مرزه.

مقادیر به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار بیان شده‌اند ($n=3$). حروف مشابه نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($P<0.05$).

Figure 3. Alkaline phosphatase activity in skin mucus of rainbow trout fed diets containing different levels of savory hydroalcoholic extract.

Values are expressed as mean $\pm$ standard deviation ($n=3$). Similar letters indicate no significant difference ($P<0.05$).

بحث

تجویز خوراکی گیاهان داوریی به‌عنوان مکمل‌های غذایی با پایه طبیعی، کم هزینه ترین و بی‌خطرترین و در مواردی موثرترین شیوه برای تحریک سیستم ایمنی غیراختصاصی و بهبود عملکرد رشد آبزیان محسوب می‌شود (۳۶، ۳۷، ۳۸، ۳۹). در این راستا، نتایج مطالعه حاضر نیز نشان داد افزودن عصاره هیدروالکی مرزه در غلظت‌های ۱-۰/۱ 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. آنالیز پارامترهای ایمنی ذاتی نیز نشان داد که میزان فعالیت آنزیم لیزوزیم سرم و موکوس پوست در تیمار تغذیه شده با جیره حاوی ۱ درصد عصاره به‌طور معنی‌داری در مقایسه با گروه شاهد افزایش یافت. در حالی‌که شاخص‌های متابولیکی سرم خون مانند آنزیم‌های آلانین آمینو ترانسفراز (ALT)، آسپارات آمینو ترانسفراز (AST) و فسفاتاز قلیایی در تیمارهای تغذیه شده با عصاره در مقایسه با گروه شاهد کاهش یافت. با توجه به این‌که هزینه غذا بیش از ۵۰ درصد هزینه متغیر فعالیت‌های آبی‌پروری را شامل می‌شود، بنابراین بهبود کارایی مصرف غذا و عملکرد رشد با استفاده از مکمل‌های غذایی طبیعی اثرات چشم‌گیری بر بهینه‌سازی سود که هدف اولیه آبی‌پروری تجاری است، خواهد داشت. تأثیر گیاهان دارویی بر رشد و بقای موجودات آبی متغیر و بحث‌برانگیز می‌باشد. هر چند، مطالعات متعددی گزارش کرده‌اند که مکمل‌های گیاهی منجر به بهبود عملکرد رشد و تغذیه در آبزیان می‌شوند (۲۵، ۴۰، ۴۱، ۴۲). در این راستا، نتایج مطالعه حاضر نیز نشان داد که تجویز خوراکی عصاره هیدروالکی مرزه در غلظت‌های ۱-۰/۱ درصد منجر به بهبود عملکرد رشد بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان در پایان

دوره آزمایش شد. تیمار تغذیه شده با جیره حاوی بالاترین غلظت عصاره، بهترین عملکرد رشد را از نظر شاخص‌های وزن نهایی و افزایش وزن بدن داشت، هر چند ضریب چاقی در این تیمار در مقایسه با گروه شاهد و سایر تیمارهای آزمایشی کاهش یافت. جلیل و همکاران (۲۰۲۲) (۲۴)، در تأیید مطالعه حاضر نشان دادند که شاخص میانگین وزن نهایی بچه‌ماهیان کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در معرض علف‌کش با افزودن ۱ درصد عصاره مرزه تابستانی در مقایسه با گروه شاهد افزایش یافت. به‌طور مشابهی، محسنی و همکاران (۱۳۹۹) (۲۶) نیز نشان دادند که تجویز خوراکی عصاره متانولی مرزه در سطح ۲ درصد منجر به بهبود معنی‌داری در شاخص وزن نهایی و ضریب تبدیل غذایی بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان شد. غفاری‌فارسانی و همکاران (۲۰۲۲) (۱۸) نیز 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 به ویژه غلظت ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم خوراک به‌طور معنی‌داری در مقایسه با گروه شاهد بهبود یافت. تأثیر مثبت عصاره هیدروالکی مرزه بر شاخص‌های رشد و بازماندگی می‌تواند در ارتباط با وجود مواد مغذی و انواع ویتامین‌ها به‌ویژه ویتامین‌های گروه B (۲۰، ۲۱، ۴۳)، 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 (۴۴). از طرفی گیاه مرزه حاوی ترکیبات فعال زیستی متعددی مانند کارواکرول و تیمول است که نقش آن در تحریک اشتها و بهبود بازده مصرف خوراک اثبات شده است (۴۵).

سطح پروتئین سرم، به عنوان یکی از شاخص‌های مهم مکانیسم دفاع هومورال در ارزیابی وضعیت سلامت و استرس در گونه‌های مختلف آبزیان در نظر گرفته می‌شود (۴۶). در مطالعه حاضر نیز غلظت پروتئین سرم در هر سه تیمار تغذیه شده با جیره‌های حاوی سطوح مختلف عصاره هیدروالکلی مرزه در مقایسه با گروه شاهد افزایش یافت که می‌تواند در ارتباط با بهبود عملکرد کبد و در نتیجه افزایش سنتز پروتئین برای تولید مولکول‌های با ساختار پروتئینی دخیل در سیستم ایمنی غیراختصاصی ماهی مانند آنزیم‌های لیوزیم، انواع پروتئازها، پروتئین یا پپتیدهای ضد میکروبی از جمله لکتین و نشان‌دهنده وضعیت ایمنی بهتر باشد (۴۷، ۴۸). افزایش میزان فعالیت آنزیم لیوزیم در سرم خون و همچنین موکوس پوست تیمارهای تغذیه شده با عصاره هیدروالکلی مرزه بیانگر این مطلب می‌باشد. در تأیید یافته‌های مطالعه حاضر، غفاری‌فارسانی و همکاران (۲۰۲۳) (۲۵) و محسنی و همکاران (۱۳۹۹) (۲۶) افزایش معنی‌داری را در غلظت پروتئین و همچنین میزان فعالیت آنزیم لیوزیم در سرم خون بچه‌ماهیان کپور معمولی و قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با جیره‌های حاوی غلظت‌های ۱-۲ درصد عصاره مرزه گزارش کردند.

موکوس پوست، جز کلیدی سیستم ایمنی غیراختصاصی و اولین سد دفاعی ماهی در برابر هجوم عوامل بیماری‌زا محسوب می‌شود. از این‌رو، شاخص ایمنی ذاتی موکوس مانند ایمونوگلوبولین، پروتئین‌های مکمل، لکتین، لیوزیم، فسفاتاز قلیایی، انواع مختلف پروتئازها و سایر پروتئین‌ها و پپتیدهای ضد میکروبی (۴۹، ۵۰، ۵۱، ۵۲، ۵۳) به عنوان نشانگرهای زیستی قابل اعتماد برای ارزیابی وضعیت سلامت عمومی ماهی استفاده می‌شوند که ممکن است در پاسخ به فاکتورهای محیطی مانند تغذیه، استرس، آلودگی‌های محیطی و آسیب فیزیکی تغییر کند (۵۴، ۵۵، ۵۶).

نتایج مطالعه حاضر نیز نشان داد که میزان فعالیت آنزیم لیوزیم به‌عنوان قوی‌ترین آنزیم ضدباکتریایی سیستم ایمنی ذاتی در موکوس پوست بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با جیره حاوی ۱ درصد عصاره مرزه در مقایسه با گروه شاهد افزایش یافت، در حالی‌که تأثیر غلظت‌های پایین‌تر بر میزان فعالیت این آنزیم کاهشی و یا اینکه در مقایسه با گروه شاهد معنی‌دار نبود. به‌طور مشابهی، غفاری‌فارسانی و همکاران (۲۰۲۲) (۱۸) گزارش کردند که تجویز خوراکی عصاره مرزه در غلظت‌های ۴۰۰-۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم منجر به افزایش معنی‌داری در سطح آنزیم لیوزیم موکوس پوست بچه‌ماهی کلمه شد. در حالی‌که، جلیل و همکاران (۲۰۲۲) (۲۴) نشان دادند که افزودن عصاره مرزه تابستانی در غلظت ۱ درصد تأثیر معنی‌داری بر میزان فعالیت آنزیم لیوزیم موکوس پوست کپور معمولی نداشت. هر چند، مطالعات متعددی افزایش فعالیت آنزیم لیوزیم موکوس پوست قزل‌آلای رنگین‌کمان را در اثر تغذیه با جیره‌های حاوی سایر گیاهان دارویی به صورت پودر خام یا عصاره مانند شیرین‌بیان، پونه، آویشن، بلوط، فلفل آبی، گزنه، ترخون، سیاه دانه، موسیر و گل همیشه‌بهار گزارش کرده‌اند (۲۵، ۴۲، ۵۷، ۵۸، ۵۹). علاوه بر لیوزیم، موکوس پوست ماهی حاوی سایر آنزیم‌های دخیل در سیستم ایمنی غیراختصاصی مانند فسفاتاز قلیایی نیز می‌باشد که نقش آن به عنوان یک شاخص استرس در برخی از گونه‌ها از جمله ماهی سالمون آتلانتیک اثبات شده است (۶۰). همچنین این آنزیم به دلیل فعالیت ضدباکتریایی در فرآیند بهبود زخم و عفونت‌های انگلی نیز نقش حفاظتی دارد (۶۱ و ۶۲). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که میزان فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی در تیمارهای تغذیه شده با جیره‌های حاوی ۰/۵ و ۱ درصد عصاره مرزه در مقایسه با گروه شاهد افزایش یافت. در تأیید مطالعه حاضر، افزودن عصاره مرزه تابستانی به جیره غذایی

ماهی کپور معمولی و کلمه منجر به افزایش فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی در موکوس پوست شد (۱۸ و ۲۴). به طور مشابهی عادل و همکاران (۲۰۲۰) (۶۳) دریافتند تجویز خوراکی عصاره فلفل آبی در غلظت‌های ۱۰-۱۵ میلی گرم بر کیلوگرم منجر به افزایش معنی‌داری در فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی موکوس پوست ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان شد. برخلاف یافته‌های فوق، رئیسی و همکاران (۲۰۲۲) (۴۲) نشان دادند که میزان فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی در موکوس پوست ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با افزایش غلظت مخلوط عصاره‌های پونه، آویشن و زنیان از صفر (گروه شاهد) تا ۲ درصد به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. بهبود پارامترهای ایمنی ذاتی سرم یا موکوس پوست (آنزیم لیزوزیم و فسفاتاز قلیایی) بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با جیره حاوی سطوح مختلف عصاره مرزه می‌تواند در ارتباط با وجود ترکیبات زیست‌فعال متعدد موجود در عصاره مرزه مانند فنل‌ها (کارواکرول و تیمول)، مونوترپن‌ها (گاما ترپینن و پی سیمن) و ترکیبات فلاونوئیدی باشد که نقش آن‌ها در تحریک و تقویت سیستم ایمنی اثبات شده است (۶۴، ۶۵).

آنزیم‌های آلانین آمینو ترانسفراز، آسپاراتات آمینو ترانسفراز و فسفاتاز قلیایی از آنزیم‌های کلیدی متابولیک سلولی هستند و نقش مهمی را در متابولیسم پروتئین‌ها ایفا می‌کنند (۶۶). این آنزیم‌ها به عنوان شاخص‌های سلامت کبد محسوب می‌شوند و هر گونه افزایش قابل‌ملاحظه‌ای در میزان فعالیت این آنزیم‌ها در سرم خون می‌تواند به عنوان یک شاخص قابل اعتماد برای تغییر یا اختلال در عملکردهای متابولیکی کبد یا آسیب ساختاری در سطح بافت (نکروز بافتی) مورد استفاده قرار گیرد (۶۷). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تجویز خوراکی عصاره هیدروالکی مرزه در غلظت‌های ۱-۰/۱ درصد منجر به کاهش معنی‌داری در سطح سرمی این آنزیم‌ها

(به‌جز آنزیم آسپاراتات آمینو ترانسفراز در تیمار تغذیه شده با جیره حاوی ۰/۱ عصاره) شد که احتمالاً در ارتباط با افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی است که حملات رادیکال‌های آزاد را به کبد کاهش می‌دهد (۲۴). بنابراین می‌توان بیان نمود که مصرف جیره‌های حاوی عصاره هیدروالکی مرزه در غلظت‌های فوق تأثیری منفی بر عملکردهای متابولیکی بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان و همچنین سلامت کبد نداشت. غفاری‌فارسانی و همکاران (۲۰۲۳) (۲۵) همسو با مطالعه حاضر نشان دادند که تجویز خوراکی پودر گل همیشه‌بهار در غلظت ۱-۲ درصد منجر به کاهش معنی‌داری در غلظت آنزیم‌های آلانین آمینو ترانسفراز، آسپاراتات آمینو ترانسفراز و فسفاتاز قلیایی سرم خون ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان شد. در حالی‌که تغییر معنی‌داری در میزان فعالیت این آنزیم‌ها در قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با جیره حاوی ۰/۵-۲ درصد عصاره مرزه و پودر موسیر مشاهده نشد (۲۴، ۶۸).

نتیجه‌گیری کلی

به‌طور خلاصه، استفاده از عصاره‌های گیاهی در صنعت آبزی‌پروری می‌تواند منجر به افزایش مقاومت آبزیان در برابر عوامل عفونی شود و همچنین به عنوان جایگزینی برای آنتی‌بیوتیک‌های سنتی عمل کند. یک آزمایش بر روی بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان انجام شد که نشان داد تغذیه با عصاره هیدروالکی گیاه مرزه می‌تواند روند رشد ماهیان را بهبود بخشد تسریع کند و برخی از پاسخ‌های ایمنی را تحریک کند. همچنین، استفاده از عصاره مرزه می‌تواند سطح آنزیم‌های (ALP)، (AST) و (ALT) را در سرم ماهیان کاهش دهد و فعالیت آنزیم لیزوزیم و آلکالین فسفاتاز را در موکوس افزایش دهد. در کل، تغذیه با عصاره هیدروالکی مرزه می‌تواند به بهبود رشد و سلامت بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان کمک کند.

منابع

1. Food & Nations, A. O. o. t. U. (2020). *The state of world fisheries and aquaculture 2020: Sustainability in action*: Food and Agriculture Organization of the United Nations.
2. Romero, J., Feijoó, C. G., & Navarrete, P. (2012). Antibiotics in aquaculture—use, abuse and alternatives. *Health and environment in aquaculture*, 159, 159-198.
3. Sahu, M. K., Swarnakumar, N., Sivakumar, K., Thangaradjou, T., & Kannan, L. (2008). Probiotics in aquaculture: importance and future perspectives. *Indian journal of microbiology*, 48, 299-308.
4. Harikrishnan, R., Kim, M. C., Kim, J. S., Balasundaram, C., & Heo, M. S. (2011). Protective effect of herbal and probiotics enriched diet on haematological and immunity status of *Oplegnathus fasciatus* (Temminck & Schlegel) against *Edwardsiella tarda*. *Fish & Shellfish Immunology*, 30(3), 886-893.
5. Pasnik, D. J., Evans, J. J., Panangala, V. S., Klesius, P. H., Shelby, R. A., & Shoemaker, C. A. (2005). Antigenicity of *Streptococcus agalactiae* extracellular products and vaccine efficacy. *J Fish Dis*, 28(4), 205-212. doi:10.1111/j.1365-2761.2005.00619.x.
6. Abdel-Latif, H. M., Abdel-Tawwab, M., Khafaga, A. F., & Dawood, M. A. (2020). Dietary origanum essential oil improved antioxidative status, immune-related genes, and resistance of common carp (*Cyprinus carpio* L.) to *Aeromonas hydrophila* infection. *Fish & Shellfish Immunology*, 104, 1-7.
7. C De, B., Meena, D., Behera, B., Das, P., Das Mohapatra, P., & Sharma, A. (2014). Probiotics in fish and shellfish culture: immunomodulatory and ecophysiological responses. *Fish Physiology and Biochemistry*, 40, 921-971.
8. Daniels, C., & Hoseinifar, S. H. (2014). Prebiotic applications in shellfish. *Aquaculture nutrition: gut health, probiotics and prebiotics*, 401-418.
9. Hoseinifar, S. H., Ringø, E., Shenavar Masouleh, A., & Esteban, M. Á. (2016). Probiotic, prebiotic and synbiotic supplements in sturgeon aquaculture: a review. *Reviews in Aquaculture*, 8(1), 89-102.
10. Kiron, V. (2012). Fish immune system and its nutritional modulation for preventive health care. *Animal Feed Science and Technology*, 173(1-2), 111-133.
11. Dewi, N. R., Huang, H. T., Wu, Y. S., Liao, Z. H., Lin, Y. J., Lee, P. T., & Nan, F. H. (2021). Guava (*Psidium guajava*) leaf extract enhances immunity, growth, and resistance against *Vibrio parahaemolyticus* in white shrimp *Penaeus vannamei*. *Fish & Shellfish Immunology*, 118, 1-10.
12. Gisbert, E., Andree, K. B., Quintela, J. C., Caldach-Giner, J. A., Ipharraguerre, I. R., & Pérez-Sánchez, J. (2017). Olive oil bioactive compounds increase body weight, and improve gut health and integrity in gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Br J Nutr*, 117(3), 351-363. doi:10.1017/s0007114517000228.
13. Huang, H. T., Lee, P. T., Liao, Z. H., Chen, H. Y., & Nan, F. H. (2020). Effects of *Phyllanthus amarus* extract on nonspecific immune responses, growth, and resistance to *Vibrio alginolyticus* in white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Fish & Shellfish Immunology*, 107, 1-8.
14. Reyes-Cerpa, S., Vallejos-Vidal, E., Gonzalez-Bown, M. J., Morales-Reyes, J., Pérez-Stuardo, D., Vargas, D., & Reyes-López, F. E. (2018). Effect of yeast (*Xanthophyllomyces dendrorhous*) and plant (Saint John's wort, lemon balm, and rosemary) extract based functional diets on antioxidant and immune status of Atlantic salmon (*Salmo salar*) subjected to crowding stress. *Fish Shellfish Immunol*, 74, 250-259. doi:10.1016/j.fsi.2017.12.061.
15. Salomón, R., Firmino, J. P., Reyes-López, F. E., Andree, K. B., González-

- Silvera, D., Esteban, M. A., & Vallejos-Vidal, E. (2020). The growth promoting and immunomodulatory effects of a medicinal plant leaf extract obtained from *Salvia officinalis* and *Lippia citriodora* in gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Aquaculture*, 524, 735291.
16. Mirzaee, M., & Safari, R. (2023). Stress in ornamental fish and the use of medicinal plants for its control. *Ornamental Aquatic*, 10(3), 31-47. Retrieved from <http://ornamentalaquatics.ir/article-1-331-fa.html>. [In Persian]
17. 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 Rev. Econ. Manag*, 78, 83-111.
18. Ghafarifarsani, 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:<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737653>.
19. 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.
20. 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.
21. 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.
22. Ravindran, P., Pillai, G., & Divakaran, M. (2012). Other herbs and spices: mango ginger to wasabi. In *Handbook of herbs and spices* (pp. 557-582): Elsevier.
23. 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.
24. Jalil, A. T., Abdelbasset, W. K., Shichiyakh, R. A., Widjaja, G., Altamari, U. S., Aravindhana, S., & Naserabad, S. 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.
25. Ghafarifarsani, H., Aftabgard, M., Hoseinifar, S. H., Raeeszadeh, M., & Van Doan, H. (2023). Comparative effects of savory (*Satureja hortensis*), dill (*Anethum graveolens*), and mooseer (*Allium hirtifolium*) essential oils on growth, digestive, and immunoantioxidant parameters and resistance to *Aeromonas hydrophila* in juvenile common carp (*Cyprinus carpio*). *Aquaculture*, 572, 739541.
26. Mohseni, M., Soltanian, S., GHolamhoseini, A., Akhlaghi, M., Sharifiyazdi, H., & Hoseinzadeh, S. (2020). Investigating the effects of the methanolic extract of savory plant (*Satureja hortensis*) on growth, hematological and serum biochemical factors in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Animal Environment Quarterly*, 12(4), 371-380. doi:10.22034/aej.2020.131235.
27. Farag, M. R., Alagawany, M., Khalil, S. R., Moustafa, A. A., Mahmoud, H. K., & Abdel-Latif, H. M. (2021). *Astragalus membranaceus* polysaccharides modulate growth, hemato-biochemical indices, hepatic antioxidants, and expression of HSP70 and apoptosis-related genes in *Oreochromis niloticus*

- exposed to sub-lethal thallium toxicity. *Fish & Shellfish Immunology*, 118, 251-260.
28. Hedayati, S. A., Farsani, H. G., Naserabad, S. S., Hoseinifar, S. H., & Van Doan, H. (2019). Protective effect of dietary vitamin E on immunological and biochemical induction through silver nanoparticles (AgNPs) inclusion in diet and silver salt (AgNO₃) exposure on Zebrafish (*Danio rerio*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 222, 100-107.
29. Vali, S., Mohammadi, G., Tavabe, K. R., Moghadas, F., & Naserabad, S. S. (2020). The effects of silver nanoparticles (Ag-NPs) sublethal concentrations on common carp (*Cyprinus carpio*): Bioaccumulation, hematology, serum biochemistry and immunology, antioxidant enzymes, and skin mucosal responses. *Ecotoxicology and environmental safety*, 194, 110353.
30. Ishwarya, R., Rengarajan, J., & Vaseeharan, B. (2022). Functional Aspects of Fish Mucosal Lectins and Crustaceans with Its Applications. In P. Elumalai, B. Vaseeharan, & S. Lakshmi (Eds.), *Aquatic Lectins: Immune Defense, Biological Recognition and Molecular Advancements* (pp. 307-323). Singapore: Springer Nature Singapore.
31. 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.
32. Mohammadalikhani, M., Shamsaei Mehrjan, M., Haghighi, 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.
33. Abolfathi, M., Akbarzadeh, A., Hajmoradloo, A., Joshaghani, H. R., & Ross, N. W. (2022). Seasonal variations in the skin epidermal structure and mucosal immune parameters of rainbow trout skin (*Oncorhynchus mykiss*) at different stages of farming. *Fish & shellfish immunology*, 127, 965-974.
34. Esteban, M., Cuesta, A., Ortuno, J., & Meseguer, J. (2001). Immunomodulatory effects of dietary intake of chitin on gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) innate immune system. *Fish & Shellfish Immunology*, 11(4), 303-315.
35. Lowry, O., Rosebrough, N., Farr, A. L., & Randall, R. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of biological chemistry*, 193(1), 265-275.
36. Azizi, E., Yeganeh, S., Firouzbakhsh, F., & Janikhalili, K. (2016). Effects of dietary Supplemental thyme essence (*Thymus vulgaris* L.) on growth, hematological and serum biochemical parameters of Rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792). *Journal of Applied Ichthyological Research*, 4(2), 45-61. Retrieved from <http://jair.gonbad.ac.ir/article-1-304-en.html>.
37. Haghighi, H., Biard, S., Bigi, F., De Leo, R., Bedin, E., Pfeifer, F., & Pulvirenti, A. (2019). Comprehensive characterization of active chitosan-gelatin blend films enriched with different essential oils. *Food Hydrocolloids*, 95, 33-42.
38. Soltani, M., Sheikhzadeh, N., Ebrahimzadeh-Mousavi, H., & Zargar, A. (2010). Effects of Zataria multiflora essential oil on innate immune responses of common carp (*Cyprinus carpio*). *Journal of Fisheries and Aquatic Science*, 5(4), 191-199.
39. Van Doan, H., Hoseinifar, S. H., Jaturasitha, S., Dawood, M. A., & Harikrishnan, R. (2020). The effects of berberine powder supplementation on growth performance, skin mucus immune response, serum immunity, and disease resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings. *Aquaculture*, 520, 734927.

40. Firouzbakhsh, F., Haghparast, S., & Memarzadeh, M. R. (2021). Research Article: Study on the effects of red pepper (*Capsicum annuum*) extract on immune responses and resistance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) juveniles against *Yersinia ruckeri*. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 20(6), 1573-1588. Retrieved from <http://jifro.ir/article-1-3990-en.html>.
41. Hosseini Shekarabi, S. P., Javarsiani, L., Shamsaie Mehran, M., Dawood, M., & Adel, M. (2021). Growth performance, blood biochemistry profile, and immune response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed dietary Persian shallot (*Allium stipitatum*) powder. *Aquaculture*, 548, 737627. doi: **10.1016/j.aquaculture.2021.737627**.
42. Raissy, M., Ahmadi Kabootarkhani, M., Sanisales, K., Mohammadi, M., & Rashidian, G. (2022). The Synergistic Effects of Combined Use of *Mentha longifolia*, *Thymus carmanicus*, and *Trachyspermum copticum* on Growth Performance, Feed Utilization, and Expression of Key Immune Genes in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Frontiers in Veterinary Science*, 8, 810261.
43. Soltani, M., Zarifmanesh, T., & Zorriehzakra, 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**.
44. 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.
45. Mozafarian, V. (2006). Culture Iran Names of Plants. In: The Contemporary Culture Press, Iran, Tehran.
46. Iwama, G. K., & Nakanishi, T. (1996). *The fish immune system: organism, pathogen, and environment*. San Diego: Academic Press San Diego.
47. Fredrick, W. S., & Ravichandran, S. (2012). Hemolymph proteins in marine crustaceans. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(6), 496-502.
48. Pourmozaffar, S., Hajimoradloo, A., & Miandare, H. K. (2017). Dietary effect of apple cider vinegar and propionic acid on immune related transcriptional responses and growth performance in white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Fish & Shellfish Immunology*, 60, 65-71.
49. Cordero, H., Brinchmann, M. F., Cuesta, A., Meseguer, J., & Esteban, M. A. (2015). Skin mucus proteome map of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Proteomics*, 15(23-24), 4007-4020. doi: **10.1002/pmic.201500120**.
50. Fan, C., Wang, J., Zhang, X., & Song, J. (2015). Functional C1q is present in the skin mucus of Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*). *Integr Zool*, 10(1), 102-110. doi: **10.1111/1749-4877.12100**.
51. Ren, Y., Zhao, H., Su, B., Peatman, E., & Li, C. (2015). Expression profiling analysis of immune-related genes in channel catfish (*Ictalurus punctatus*) skin mucus following *Flavobacterium columnare* challenge. *Fish Shellfish Immunol*, 46(2), 537-542. doi: **10.1016/j.fsi.2015.07.021**.
52. Sanahuja, I., Fernández-Alacid, L., Ordóñez-Grande, B., Sánchez-Nuño, S., Ramos, A., Araujo, R. M., & Ibarz, A. (2019). Comparison of several non-specific skin mucus immune defences in three piscine species of aquaculture interest. *Fish Shellfish Immunol*, 89, 428-436. doi: **10.1016/j.fsi.2019.04.008**.
53. Xia, H., Liu, W., Wu, K., Wang, W., & Zhang, X. (2016). sIgZ exhibited maternal transmission in embryonic development and played a prominent role in mucosal immune response of *Megalabrama amblycephala*. *Fish Shellfish Immunol*, 54, 107-117. doi: **10.1016/j.fsi.2016.03.165**.

54. Brinchmann, M. F. (2016). Immune relevant molecules identified in the skin mucus of fish using -omics technologies. *Mol Biosyst*, 12(7), 2056-2063. doi:10.1039/c5mb00890e.
55. Carda-Diéguez, M., Ghai, R., Rodríguez-Valera, F., & Amaro, C. (2017). Wild eel microbiome reveals that skin mucus of fish could be a natural niche for aquatic mucosal pathogen evolution. *Microbiome*, 5(1), 162. doi:10.1186/s40168-017-0376-1.
56. Cordero, H., Brinchmann, M. F., Cuesta, A., & Esteban, M. A. (2017). Chronic wounds alter the proteome profile in skin mucus of farmed gilthead seabream. *BMC Genomics*, 18(1), 939. doi:10.1186/s12864-017-4349-3.
57. 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.
58. Ghafarifarسانی, 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.
59. Gholamhosseini, A., Hosseinzadeh, S., Soltanian, S., Banaee, M., Sureda, A., Rakhshaninejad, M., & Anbazpour, H. (2021). Effect of dietary supplements of *Artemisia dracuncululus* extract on the haemato-immunological and biochemical response, and growth performance of the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture Research*, 52(5), 2097-2109.
60. Ross, N. W., Firth, K. J., Wang, A., Burka, J. F., & Johnson, S. C. (2000). Changes in hydrolytic enzyme activities of naïve Atlantic salmon *Salmo salar* skin mucus due to infection with the salmon louse *Lepeophtheirus salmonis* and cortisol implantation. *Dis Aquat Organ*, 41(1), 43-51. doi:10.3354/dao041043.
61. Sheikhzadeh, N., Tayefi-Nasrabadi, H., Oushani, A. K., & Enferadi, M. H. (2012). Effects of *Haematococcus pluvialis* supplementation on antioxidant system and metabolism in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish Physiol Biochem*, 38(2), 413-419. doi:10.1007/s10695-011-9519-7.
62. Subramanian, S., MacKinnon, S. L., & Ross, N. W. (2007). A comparative study on innate immune parameters in the epidermal mucus of various fish species. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 148(3), 256-263.
63. Adel, M., Dawood, M. A., Shafiei, S., Sakhaie, F., & Shekarabi, S. P. H. (2020). Dietary *Polygonum minus* extract ameliorated the growth performance, humoral immune parameters, immune-related gene expression and resistance against *Yersinia ruckeri* in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 519, 734738.
64. Awad, E., & Awaad, A. (2017). Role of medicinal plants on growth performance and immune status in fish. *Fish & Shellfish Immunology*, 67, 40-54.
65. Panase, P., & Tiplado, P. (2018). Preliminary use of *Polygonum minus* Linn. leaf extract on growth performance, feed utilization, and some hematological indices of *Anabas testudineus* (Bloch, 1792). *Comparative Clinical Pathology*, 27, 147-153.
66. Padam, M. M., & Khoshvaghti, A. (2019). A Comparative Study on the Effects of Using Hydroalcoholic Extracts of *Linum Usitatissimum* and *Rosa Damascena* on Liver Function in Adult Male Rats. *QHMS*, 26(1), 54-67. doi:10.32598/hms.26.1.3116.1.

67. Kumar, M., Sharma, P., Garg, H., Kumar, R., Bhatia, V., & Sarin, S. K. (2011). Transient elastographic evaluation in adult subjects without overt liver disease: influence of alanine aminotransferase levels. *Journal of gastroenterology and hepatology*, 26(8), 1318-1325.
68. Shekarabi, S. P. H., Javarsiani, L., Mehrgan, M. S., Dawood, M. A., & Adel, M. (2022). Growth performance, blood biochemistry profile, and immune response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed dietary Persian shallot (*Allium stipitatum*) powder. *Aquaculture*, 548, 737627.