

## اثر مقادیر مختلف عصاره روغنی رزماری (*Rosmarinus officinalis*) بر شاخص‌های رشد و مورفولوژی روده بچه فیل ماهیان پرورشی (*Huso huso*)

مجتبی حق جو جهرمی<sup>۱</sup> عیسی ابراهیمی<sup>۲\*</sup> امین نعمت الهی<sup>۳</sup>

۱) دانش آموخته، دانشکده منابع طبیعی دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان - ایران

۲) گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان - ایران

۳) گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهر کرد، چهارمحال و بختیاری - ایران

(دریافت مقاله: ۵ دی ماه ۱۳۹۴، پذیرش نهایی: ۲۱ فروردین ماه ۱۳۹۵)

### چکیده

**زمینه مطالعه:** در سال‌های اخیر، استفاده خوراکی از گیاهان دارویی بعنوان عوامل محرک رشد و جایگزینی آن با مواد مصنوعی در آبرزی پروری مورد توجه قرار گرفته است. عصاره روغنی رزماری یکی از مواد دارویی گیاهی با خاصیت آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌باکتریایی است که اثرات آن در انسان و حیوانات به اثبات رسیده است. **هدف:** این مطالعه به منظور بررسی اثر سطوح مختلف عصاره روغنی رزماری بر شاخص‌های رشد و مورفولوژی روده بچه فیل ماهیان ۶ ماهه پرورشی طراحی و اجرا گردید. **روش کار:** تعداد ۱۲۶ قطعه بچه فیل ماهی با میانگین وزن  $5/28g \pm$  و  $13/94$  به شش گروه تقسیم شدند. گروه اول به عنوان شاهد با جیره پایه (فاقد عصاره رزماری)، گروه‌های دوم، سوم، چهارم و پنجم به ترتیب با جیره‌های حاوی  $1/10$ ،  $1/20$  و  $1/40$  عصاره روغنی رزماری به ازاء هر کیلوگرم جیره غذایی و گروه ششم با جیره حاوی  $0/03$  اکسی‌تتراسایکلین به ازاء هر کیلوگرم جیره غذایی به مدت ۸ هفته تغذیه شدند. در انتهای دوره آزمایش، شاخص‌های رشد (شامل وزن نهایی، ضریب رشد ویژه و ضریب تبدیل غذا) محاسبه گردید. علاوه بر این از روده فیل ماهیان نمونه‌برداری بعمل آمد و میانگین طول، عرض و سطح جذب پرزهای روده در هر تیمار مورد بررسی قرار گرفت. **نتایج:** نتایج نشان دهنده تأثیر معنی‌دار سطح  $1ml/kg$  عصاره روغنی رزماری بر افزایش طول ( $11mm \pm 0/1$ ) و  $2/25$ ، عرض ( $0/52 \pm 0/01$ ) و سطح جذب ( $1/17 \pm 0/07$  mm) پرز روده بود ( $p < 0/05$ ). در حالی که اختلاف معنی‌داری در شاخص‌های رشد بین تیمارهای مختلف مشاهده نشد ( $p > 0/05$ ). **نتیجه‌گیری نهایی:** با توجه به تأثیر معنی‌دار عصاره روغنی رزماری در افزایش سطح جذب روده بچه فیل ماهیان ۶ ماهه و هم چنین افزایش نسبی شاخص‌های رشد در ماهیان تغذیه شده با عصاره رزماری نسبت به تیمار شاهد، بنظر می‌رسد این ماده می‌تواند بعنوان یک عامل محرک رشد در جیره غذایی بچه فیل ماهیان ۶ ماهه پرورشی مورد استفاده قرار گیرد.

**واژه‌های کلیدی:** فیل ماهی، شاخص‌های رشد، مورفولوژی روده، عصاره روغنی رزماری

### مقدمه

پرورش متراکم ماهی، محیط فیزیکی استرس‌زایی را به وجود می‌آورد که باعث کاهش عملکرد سیستم ایمنی و حساسیت به بیماری‌های عفونی می‌شود (۵). بر همین اساس در سال‌های اخیر توجه بسیاری به استفاده از مواد محرک رشد و سیستم ایمنی معطوف شده است. این مواد، عصاره‌های زیستی یا سنتز شده‌ای هستند که رشد موجود و همچنین پاسخ‌های ایمنی بدن را تحریک می‌کنند (۱۰). استفاده از گیاهان یا فرآورده‌های حاصل از آنها در خوراک ماهیان، به عنوان یک راهکار مناسب برای افزایش رشد در ماهیان مدنظر قرار گرفته است (۴). عصاره‌های گیاهی گروه عمده‌ای از ترکیبات بدست آمده از گیاهان هستند که عموماً در میوه‌ها، سبزیجات، دانه‌ها، غلات و نوشیدنی‌های گیاهی یافت می‌شوند. محتوای شیمیایی مربوط به ترکیبات فعال گیاهی را بر اساس ساختار آنها می‌توان به آلکالوئیدها، فلاونوئیدها، رنگدانه‌ها، فنول‌ها، تریپن‌ها، استروئیدها و روغن‌های ضروری طبقه‌بندی کرد. ترکیبات گیاهی همچنین دارای خواص ضد استرس، محرک رشد و محرک سیستم ایمنی هستند (۵). در آبرزی پروری از گیاهان دارویی به منظور جلوگیری از فعالیت میکروبی، تسهیل رشد و بلوغ گونه‌های پرورشی استفاده می‌شود (۱۰). عصاره‌های گیاهی می‌توانند رشد و گسترش تعداد زیادی از عوامل بیماری‌زا را در روده

ماهیان خاویاری که با توجه به قدمت و تاریخچه طولانی حضور در اکوسیستم‌های آبی کره زمین به عنوان فسیل‌های زنده شناخته شده‌اند (۱۲). از با ارزش‌ترین گونه‌های جانوری کره زمین محسوب می‌شوند، متأسفانه عوامل گوناگون از جمله ساخت سدها، صید بی‌رویه، تخریب زیستگاه‌ها و مناطق تخم‌ریزی طبیعی این ماهیان بدلیل ورود آلودگی‌های کشاورزی، صنعتی و غیره باعث کاهش شدید ذخایر این ماهیان گردیده است. بطوری که آنها را در لیست گونه‌های در معرض خطر انقراض سازمان جهانی حفاظت از محیط زیست (IUCN) قرار داده است (۱۳). فیل ماهی یکی از مهمترین گونه‌های ماهیان خاویاری است که به دلیل رشد بسیار سریع گونه مناسبی برای آبرزی پروری محسوب می‌شود. پرورش فیل ماهی تا رسیدن به اندازه بازاری و یا در شرایط مناسب تا رسیدن به سن بلوغ باعث کاهش فشار بر جمعیت‌های طبیعی این ماهی در دریای خزر شده و می‌تواند بعنوان یک منبع تأمین پروتئینی و تولید خاویار مورد توجه قرار گیرد (۱۲). افزایش تراکم نگهداری ماهیان در محیط‌های پرورشی، یک عامل مهم در افزایش میزان تولید و سوددهی مزارع تجاری پرورش ماهی محسوب می‌شود (۱۰).



تانک‌های پرورشی به سیستم اضافه می‌گردید. پارامترهای فیزیکی شیمیایی آب شامل اکسیژن محلول، آمونیاک و pH بصورت هفتگی اندازه‌گیری شد و دوره نوری بصورت شرایط طبیعی (L۱۴:D۱۰) تنظیم گردید. دمای آب نیز به صورت روزانه اندازه‌گیری شد.

پارامترهای فیزیکی شیمیایی آب سیستم پرورش شامل؛ دما (°C)، اکسیژن محلول (ppm)، pH، سختی آب (میکروزیمنس) و آمونیم (ppm) در طی دوره آزمایش اندازه‌گیری و مقادیر آن (خطای استاندارد ± میانگین) به ترتیب برابر ۲۰/۲۹ ± ۳/۹۰، ۸/۶۸ ± ۰/۱۵، ۷/۷۲ ± ۰/۲۲، ۴۸۱ ± ۸/۰۰ و ۰/۴۴ ± ۰/۱۵ برآورد گردید. تمامی این پارامترها در حد مطلوب برای پرورش ماهیان خاویاری قرار داشت (۷).

**جیره‌های غذایی:** عصاره روغنی رزماری مورد نیاز برای انجام تحقیق به صورت استاندارد از شرکت داروسازی باریج اسانس کاشان تهیه گردید. به منظور بررسی وجود مواد با خاصیت آنتی‌اکسیدانی در عصاره رزماری تهیه شده، نتایج آنالیز GC-MC انجام شده توسط شرکت باریج اسانس کاشان بر روی عصاره رزماری خریداری شده، در جدول ۲ نشان داده شده است. شش جیره آزمایشی شامل یک جیره فاقد عصاره رزماری و آنتی‌بیوتیک اکسی‌تتراسایکلین به عنوان شاهد (تیمار یک)، یک جیره حاوی ۰/۰۳g اکسی‌تتراسایکلین به ازای هر کیلوگرم جیره غذایی (تیمار شش) و چهار جیره با مقادیر ۰/۱ml، ۱، ۱۰ و ۲۰ عصاره روغنی رزماری به ازاء هر کیلوگرم جیره غذایی (به ترتیب تیمارهای دو، سه، چهار و پنج) تهیه گردید. مواد تشکیل دهنده جیره‌های آزمایشی به صورت مستقل تهیه شده و پس از آسیاب کردن برای تولید جیره‌های غذایی مورد استفاده قرار گرفت. ارقام جیره‌های غذایی با توجه به احتیاجات غذایی بچه فیل ماهیان ۶ ماهه پرورشی تهیه گردید و سپس به کمک نرم‌افزار WUFFDA نسخه ۱، مقدار مورد نیاز هر کدام تعیین و صحت آنها مورد ارزیابی قرار گرفت. مواد تشکیل دهنده جیره‌های غذایی و آنالیز تقریبی آنها در جدول ۱ آورده شده است. پس از آماده نمودن مواد اولیه تشکیل دهنده جیره‌ها (جدول ۱)، ابتدا مواد اصلی (شامل آرد ماهی، کنجاله کلزا، کنجاله سویا، آرد ذرت، آرد گندم، آرد جو، کنجاله پنبه دانه، گلوتن ذرت و مکمل ویتامینه) با نسبت ارائه شده در جدول ۱ توسط میکسر صنعتی با یکدیگر مخلوط شده و پس از افزودن روغن ماهی (۶٪) و آب (تا حدی که رطوبت مناسب برای پلت‌زدن فراهم گردد) به صورت ترکیب مرطوب در آورده شد. در جیره حاوی آنتی‌بیوتیک، پودر اکسی‌تتراسایکلین به مواد خشک جیره پایه اضافه شد. در جیره‌های حاوی عصاره رزماری، عصاره رزماری توزین و با روغن ماهی مورد نیاز هر جیره مخلوط و به مواد خشک جیره پایه اضافه شد. برای اندازه‌گیری عصاره رزماری و افزودن آن به جیره، از استوانه مدرج ۱۰ml استفاده گردید. هر یک از جیره‌ها به طور جداگانه با چرخ گوشت با قطر منافذ ۲mm، به صورت پلت در آورده شد و در هوای اتاق به کمک پنکه به مدت یک روز خشک شد. پس از خشک شدن، پلت‌ها به قطعات مناسبی شکسته شد و

کنترل و محدود کنند. این ترکیبات همچنین می‌توانند از طریق تأثیر بر مورفولوژی روده بر میزان جذب مواد غذایی در جانوران و در نتیجه راندمان بهتر تغذیه تأثیر گذار باشند (۴).

Olad و همکاران در سال ۲۰۱۰، با بررسی اثر نوکلئوتیدها بر ساختار بافتی روده آزادماهی دریای خزر (*Salmo trutta caspius*) دریافتند که استفاده از نوکلئوتید در جیره این ماهی باعث افزایش معنی‌دار طول پرز روده نسبت به گروه شاهد شد. Tahmasebi و همکاران در سال ۲۰۰۸ تحقیق مشابهی را بر روی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) انجام دادند و به نتایج مشابهی دست یافتند (۱۹، ۱۶).

رزماری (*Rosmarinus officinalis*) گیاهی دیپلوئید و دو جنسی است که در منطقه مدیترانه رشد می‌کند (۲). روغن رزماری که با عصاره‌گیری از برگ‌های تازه و گل‌های این گیاه بدست می‌آید دارای خاصیت آنتی‌باکتریایی، ضدقارچی، آنتی‌اکسیدانی، ضد میکروبی و ضدسرطانی است. ترکیبات بسیاری نظیر فلاونوئیدها، دی‌ترین‌ها، استروئیدها و تری‌ترین‌ها نیز از رزماری استخراج شده است (۹، ۱۴). اثر درمانی رزماری بر بسیاری از بیماری‌های انسانی نظیر روماتیسم، تصلب شرائین، بیماری‌های عروق کرونر، مسمومیت کبدی، سرطان، زخم روده، آب مروارید، آسم تنفسی، زخم معده و کمبود تحرک اسپرم به اثبات رسیده است (۳). بنظر می‌رسد گیاه رزماری بدلیل داشتن خاصیت آنتی‌باکتریایی و آنتی‌اکسیدانی، بتواند از طریق اعمال اثرات آنتی‌باکتریایی بر میکروفلور روده و افزایش سطوح جذب روده باعث ایجاد تغییر ساختاری در آن و در نتیجه بهبود پارامترهای رشد شود. به دلیل وجود اطلاعات کم در مورد تأثیر گیاه رزماری بر شاخص‌های رشد و مورفولوژی روده ماهیان، این تحقیق با هدف بررسی تأثیر عصاره روغنی رزماری بر مورفولوژی روده بچه فیل ماهیان ۶ ماهه پرورشی و تأثیر آن بر میزان رشد این ماهی به انجام رسید.

## مواد و روش کار

**ماهی:** بچه‌فیل ماهیان مورد استفاده در این آزمایش حاصل تکثیر یک جفت فیل‌ماهی در فروردین ماه ۱۳۹۰ در کارگاه شهید مرجانی گرگان بود. بچه‌ماهیان پس از انتقال به سالن آبی پروری دانشکده منابع طبیعی دانشگاه صنعتی اصفهان و سازگاری با شرایط فیزیکی و شیمیایی آب و همچنین عادت‌دهی به جیره‌های ساخته شده (در طی ۲۰ روز)، به تعداد ۱۸۰ قطعه با میانگین وزنی ۵/۲۸g ± ۱۳۰/۹۴ بین تیمارهای آزمایشی توزیع شدند.

**سیستم پرورشی:** سیستم مورد استفاده برای انجام تحقیق شامل سیستم نیمه مدار بسته بود که از سه بخش، مخزن ذخیره به حجم ۳۱۲m، ۱۸ تانک پرورشی (۱۰ عدد ماهی در هر تانک) هر یک به حجم ۱۰۰l با ورودی و خروجی مجزا و سیستم فیلتراسیون تشکیل می‌شد. روزانه به میزان ۱۰٪ از آب سیستم برای جبران کاستی آب ناشی از نظافت



در کیسه‌های پلاستیکی تیره رنگ تا زمان مصرف درون یخچال با دمای ۴°C قرار داده شد.

**بررسی شاخص‌های رشد:** بمنظور اندازه‌گیری شاخص‌های رشد، تمامی ماهیان هر واحد آزمایشی، بصورت انفرادی هر ۱۴ روز یکبار مورد زیست‌سنجی قرار گرفتند و وزن و طول آنها ثبت گردید. با استفاده از داده‌های بدست آمده از زیست‌سنجی‌ها، میزان افزایش وزن، ضریب رشد ویژه و ضریب تبدیل غذا با استفاده از فرمول‌های زیر محاسبه شد (۱۸).

$$(W_1 - W_2) = \text{Weight gain (افزایش وزن بدن)}$$

افزایش وزن / غذای خورده شده (FCR) = ضریب تبدیل غذایی

$$\text{Specific} = \{(\ln W_1 - \ln W_2) / \text{پرورش}\}$$

Growth Rate) نرخ رشد ویژه

$$W_1 = \text{وزن اولیه}$$

$$W_2 = \text{وزن ثانویه}$$

**نمونه‌برداری:** در انتهای دوره آزمایش، از ماهیان هر تکرار پس از ۴۸

ساعت قطع غذاهای، ۲ قطعه ماهی به طور تصادفی انتخاب و به وسیله پودر گل میخک بیهوش شدند. در ابتدا روده ماهیان به طور کامل از حفره شکمی خارج شده و از قسمت میانی آن نمونه‌هایی به طول تقریبی ۲cm جدا گردید. سپس توسط نخ یک سمت نمونه روده بسته شده و فرمالین ۱۰٪ توسط سرنگ به داخل روده تزریق گردید. پس از آن سمت دیگر روده نیز با نخ گره زده شد تا دیواره و پرزهای روده روی هم قرار نگیرند و در هنگام تهیه برش شکل طبیعی خود را حفظ کنند. سپس قطعه روده جهت تثبیت شدن درون فرمالین ۱۰٪ قرار گرفت. مراحل تهیه لام از مقاطع روده شامل مراحل مختلف آب‌گیری، شفاف‌سازی، پارافینه کردن توسط دستگاه آماده‌سازی بافت (Tissue processor) و مراحل قالب‌گیری، برش و رنگ‌آمیزی در آزمایشگاه هیستوپاتولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهرکرد انجام شد.

**بررسی بافت‌ها:** جهت بررسی بافت روده ماهیان، از هر نمونه دو لام تهیه شد و لام‌ها توسط میکروسکوپ مدرج نوری مورد بررسی قرار گرفتند. از مقاطع بافتی تهیه شده عکس گرفته شد و میانگین طول و عرض پرزهای روده و همچنین سطح جذب پرز (میانگین طول پرز × میانگین عرض پرز) در هر تیمار محاسبه شد (۴).

**آنالیزهای آماری:** آزمایش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با شش تیمار و سه تکرار اجرا شد. با در نظر گرفتن هر تانک به عنوان یک واحد آزمایشی، داده‌های آماری به صورت میانگین ± خطای استاندارد گزارش گردیدند. جهت انجام محاسبات آماری از نرم افزار SPSS نسخه ۱۹ استفاده گردید. ابتدا نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگرونوف-اسمیرنوف بررسی گردید. پس از اطمینان از نرمال بودن داده‌ها و یکنواختی واریانس‌ها، از آزمون تجزیه واریانس یکطرفه (One-Way ANOVA) و آزمون Duncan در سطح اطمینان ۹۵٪، جهت بررسی وجود یا عدم وجود

اختلاف معنی‌دار بین تیمارها استفاده شد.

## نتایج

میزان بقاء اختلاف معنی‌داری را بین تیمارهای آزمایشی نشان نداد. برای اطمینان از وجود ترکیبات با خاصیت آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌باکتریایی، روغن رزماری تهیه شده توسط دستگاه GC-MS آنالیز گردید. نتایج آنالیز GC-MS روغن رزماری استفاده شده در این تحقیق در جدول ۲ نشان داده شده است (شرکت باریج اسانس کاشان).

نتایج حاصل از بررسی شاخص‌های رشد نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار در وزن نهایی ماهیان در تیمارهای مختلف آزمایشی بود ( $p < 0/05$ ) (جدول ۳). با این حال تیمارهای ۱ml/kg و ۱۰ml/kg عصاره رزماری و تیمار اکسی‌تتراسایکلین به ترتیب با مقدار ۱۶۴۵/۱۲ ± ۷۹/۵۰g و ۱۶۴۳/۶۳ ± ۱۵۳/۶۳g و ۱۶۴۴/۳۶ ± ۱۲۴/۰۰۶g و ۱۶۴۶/۳۱ ± ۱۲۴/۰۰۶g دارای بیشترین میانگین وزن نهایی در بین تیمارهای مورد آزمایش بودند. کم‌ترین میزان وزن نهایی ۱۵۱۵/۲۶ ± ۳۶/۷۱g به تیمار ۲۰ml/kg عصاره رزماری مربوط بود. به همین ترتیب اختلاف معنی‌داری در میزان ضریب رشد ویژه بین تیمارهای پرورشی مشاهده نشد ( $p > 0/05$ ). طبق اطلاعات ارائه شده در جدول ۳، بیشترین میزان ضریب رشد ویژه در تیمار اکسی‌تتراسایکلین با میانگین ۰/۱۴ ± ۰/۰۱۲٪ و بعد از آن به ترتیب در تیمارهای ۱۰ml/kg و ۱۰ و ۱۰ml/kg عصاره رزماری مشاهده شد که از تیمار شاهد با میانگین ۰/۳۶ ± ۰/۱۸۱٪ به طور قابل توجهی بیشتر بود اگرچه معنی‌دار بودن این تفاوت‌ها اثبات نشد ( $p > 0/05$ ). از میان تیمارهای تغذیه شده با سطوح مختلف عصاره رزماری، فیل ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی ۱۰ml/kg عصاره رزماری بیشترین ضریب رشد ویژه ۰/۱۱ ± ۰/۰۶٪ را نشان دادند، در حالی که کمترین میزان ضریب رشد ویژه در تیمار ۲۰ml/kg عصاره ۰/۱۱ ± ۰/۰۶٪ مشاهده شد. طبق اطلاعات ارائه شده در جدول ۳، اختلاف معنی‌داری در ضریب تبدیل غذا بین تیمارهای پرورشی مشاهده نشد. کمترین میزان ضریب تبدیل غذایی در تیمار حاوی اکسی‌تتراسایکلین ۰/۰۶ ± ۰/۱۲ و تیمار ۱۰ml/kg عصاره رزماری ۰/۰۴ ± ۰/۲۷ و بیشترین میزان این شاخص در تیمار ۲۰ml/kg عصاره رزماری ۰/۰۸ ± ۰/۱۵ مشاهده شد.

نتایج ارائه شده در جدول ۴، نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار ( $p < 0/05$ ) در طول، عرض و سطح جذب پرزهای روده فیل ماهیان تغذیه شده با مقادیر مختلف عصاره رزماری نسبت به دیگر تیمارها است. طول، عرض و سطح جذب پرز روده فیل ماهیان تغذیه شده با جیره‌های حاوی سطوح مختلف عصاره رزماری (بجز تیمار ۲۰ml/kg) به طور معنی‌داری بیشتر از تیمار اکسی‌تتراسایکلین بود ( $p < 0/05$ ). همچنین طول و عرض پرز روده ماهیان تیمار اکسی‌تتراسایکلین نیز به طور معنی‌داری بیشتر از دو تیمار شاهد و تیمار ۲۰ml/kg عصاره روغنی رزماری اندازه‌گیری شد ( $p < 0/05$ ).



جدول ۱. اجزای تشکیل دهنده جیره‌های غذایی و ترکیب غذای مورد استفاده (%).<sup>(۱)</sup> در هر کیلوگرم مکمل وجود دارد: ۴/۸ واحد بین‌المللی ویتامین آ، ۰/۸ واحد بین‌المللی ویتامین ای، ۰/۰۴kg ویتامین کا، ۰/۰۰۰۸kg ویتامین تیامین، ۰/۰۰۰۴kg ویتامین ریوفلاوین، ۰/۰۰۱۶kg ویتامین پیریدوکسین، ۰/۰۰۰۶kg ویتامین سیانو کوبالامین، ۰/۰۰۴kg پانتوتینیک اسید، ۰/۰۰۰۴kg نیکوتینیک اسید، ۰/۰۰۰۸kg فولیک اسید، ۰/۰۲kg بیوتین، ۰/۰۰۰۲kg کولین کلراید، ۰/۰۰۰۴kg من. ۰/۰۰۰۸kg ید، ۰/۰۱۲kg آهن، ۰/۰۲۲kg منگنز و ۰/۰۰۰۴kg سلنیوم.

اقلام غذایی	تیمارها	شاهد (۱)	عصاره روغنی رزماری (%)			
			۰/۱٪ (تیمار ۲)	۰/۱٪ (تیمار ۳)	۰/۱٪ (تیمار ۴)	۰/۲٪ (تیمار ۵)
آرد ماهی	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰	
کنجاله کلزا	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰	
کنجاله سویا	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰	
گندم و جو (۱:۱)	۸/۷	۸/۷	۸/۶	۷/۷	۷/۷	
ذرت	۸/۷	۸/۷	۸/۷	۸/۷	۸/۷	
کنجاله پنبه دانه	۸/۷	۸/۷	۸/۷	۸/۷	۸/۷	
روغن ماهی	۶	۶	۶	۶	۶	
مکمل معدنی و ویتامینه <sup>(*)</sup>	۱	۱	۱	۱	۱	
ملاس (هم‌بند)	۲/۵	۲/۵	۲/۵	۲/۵	۲/۵	
گلوتن ذرت	۴/۴	۴/۴	۴/۴	۴/۴	۴/۴	
عصاره رزماری	۰	۰/۱	۰/۱	۱	۲	
آنتی‌بیوتیک	۰	۰	۰	۰	۰/۰۰۳	

ترکیب شیمیایی غذای مورد استفاده (%)

پروتئین (%)	۳۷/۸۷	۳۷/۸۹	۳۷/۸۴	۳۷/۹۲	۳۷/۸۷
چربی (%)	۱۲/۰۵	۱۲/۱۴	۱۲/۲۱	۱۲/۳	۱۲/۰۸
رطوبت (%)	۶/۷۳	۶/۸۲	۶/۶۴	۶/۹۵	۶/۶۶
خاکستر (%)	۱۵/۸۶	۱۵/۶۳	۱۵/۹۲	۱۵/۶۱	۱۵/۷۱

جدول ۲. مهم‌ترین ترکیبات شیمیایی موجود در عصاره رزماری استفاده شده در این تحقیق (شرکت باربج اسانس کاشان).

نوع ترکیب شیمیایی	درصد جرمی (%)
alpha-Pinene	۲۷/۵۲۳
Camphene	۶/۲۷۶
Verbenene	۰/۳۹۵
beta-Pinene	۳/۴۹۹
beta-Myrcene	۷/۶۳۸
p-Cymene	۲/۹۸۰
Cineole-۱,۸	۱۵/۱۷۱
Camphor	۶/۸۰۴
Borneol	۸/۶۱۹
Verbenone	۸/۵۶۳
Borneol acetate	۶/۰۷۷

### بحث

افزایش وزن ماهیان تغذیه شده با جیره‌های حاوی مواد محرک رشد و سیستم ایمنی می‌تواند به علت افزایش میزان سلامتی، بهبود میزان هضم و جذب غذا، گسترش سطوح جذب مواد هضم شده در لوله گوارش و یا تحریک ترشح آنزیم‌های گوارشی توسط معده باشد (۱۲). علاوه بر این، مواد محرک رشد و سیستم ایمنی از طریق افزایش میزان هورمون رشد

در پلاسمای خون و افزایش میزان ترشح لیزوزیم در ماهیان باعث افزایش رشد می‌شود (۱۱). همچنین ثابت شده است که عصاره‌های بدست آمده از گیاهان و ادویه‌های مختلف و ترکیباتی نظیر نوکلئوتید که نقش محرک رشد را ایفا می‌کنند، از طریق اعمال اثرات آنتی‌باکتریایی بر میکروفلور روده و همچنین تحریک ترشح آنزیم‌های هاضمه باعث افزایش میزان هضم و جذب پروتئین‌ها، چربی‌ها و کربوهیدرات‌ها در جهت تحریک رشد می‌شود (۱۹، ۱۵). Bello و همکاران در سال ۲۰۱۲ در بررسی خود بر روی تأثیر برگ گردو و پیاز بر روی میزان رشد و ویژگی‌های مورفولوژی روده گربه‌ماهی (*Clarias gariepinus*) گزارش کردند که با افزایش میزان برگ گردو و پیاز در جیره، وزن نهایی و ضریب رشد ویژه افزایش یافت. در تحقیق حاضر علیرغم عدم وجود تفاوت معنی‌دار در وزن نهایی، ضریب رشد ویژه و ضریب تبدیل غذا در بین تیمارهای مورد آزمایش، روند افزایشی در این پارامترها در تیمارهای حاوی عصاره رزماری نسبت به تیمار شاهد مشاهده گردید. این واقعیت می‌تواند به کوتاه بودن دوره آزمایش نسبت داده شود، زیرا با توجه به روند تغییرات مشاهده شده در رشد فیل ماهیان تحت آزمایش، بنظر می‌رسد در صورت طولانی‌تر بودن دوره آزمایش این تفاوت‌ها می‌توانست در حد معنی‌دار بروز نماید. Diab و همکاران در سال ۲۰۰۸ در بررسی‌های خود بر روی تأثیر گیاه سیر (ماده محرک رشد و سیستم ایمنی) بر ماهی تیلاپیا به این نکته اشاره داشتند که استفاده کوتاه مدت از این گیاه (۴ هفته)، تأثیر معنی‌داری را بر میزان رشد ماهیان نداشت.

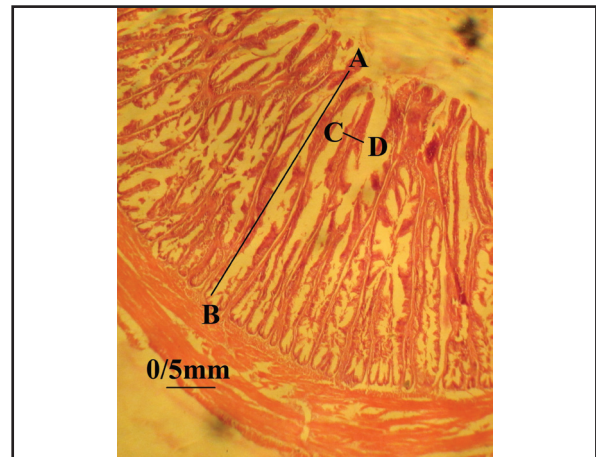
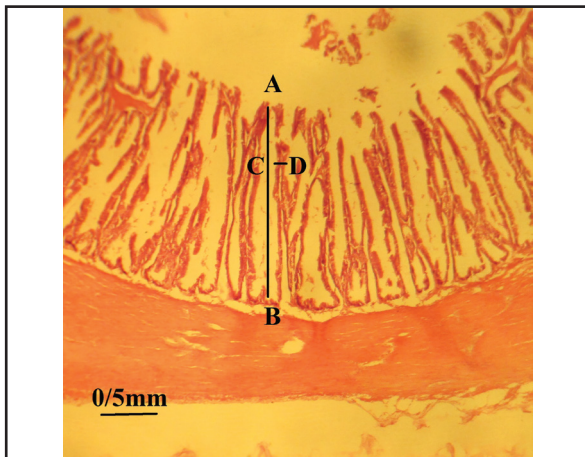


جدول ۳. نتایج حاصل از بررسی شاخص‌های رشد بچه فیل ماهیان ۶ ماهه پرورشی تغذیه شده با عصاره روغنی رزماری در تیمارهای مختلف در پایان هفته هشتم (میانگین  $\pm$  خطای استاندارد).

پارامترها	تیمارها	شاهد	۰/۱ ml/kg رزماری	۱ ml/kg رزماری	۱۰ ml/kg رزماری	۲۰ ml/kg رزماری	۳۰ g/kg اکسی‌تتراسایکلین
میانگین وزن اولیه (g)	۱۲۹/۳۷ $\pm$ ۶/۸۶		۱۳۰/۳۳ $\pm$ ۹/۵۴	۱۳۰/۴۳ $\pm$ ۴/۹۸	۱۳۲/۸۶ $\pm$ ۲/۹۸	۱۳۳/۰۰ $\pm$ ۰/۹۴	۱۲۹/۶۸ $\pm$ ۶/۴۲
وزن نهایی (g)	۱۵۶۸/۶۲ $\pm$ ۱۷۰/۴۷		۱۵۹۰/۵۷ $\pm$ ۱۴۳/۲۷	۱۶۴۵/۱۲ $\pm$ ۷۹/۵۰	۱۶۴۴/۳۶ $\pm$ ۱۵۳/۶۳	۱۵۱۵/۲۶ $\pm$ ۳۶/۷۱	۱۶۴۶/۳۱ $\pm$ ۱۲۴/۰۰۶
ضریب رشد ویژه	۷/۸۱ $\pm$ ۰/۳۶		۲/۰۶ $\pm$ ۰/۱۱	۲ $\pm$ ۰/۱۲	۷/۹۲ $\pm$ ۰/۳۹	۷/۶۰ $\pm$ ۰/۱۱	۲/۲۶ $\pm$ ۰/۱۴
ضریب تبدیل غذا	۷/۳۹ $\pm$ ۰/۲۶		۷/۳۰ $\pm$ ۰/۰۵	۷/۲۷ $\pm$ ۰/۰۴	۷/۳۵ $\pm$ ۰/۲۴	۷/۵۱ $\pm$ ۰/۰۸	۷/۲۰ $\pm$ ۰/۰۶

جدول ۴. نتایج حاصل از اندازه‌گیری طول پرز روده در تیمارهای مختلف آزمایشی (میانگین  $\pm$  خطای استاندارد). در هر ردیف، مقادیر دارای حرف مشترک، فاقد اختلاف معنی‌دار هستند ( $p < ۰/۰۵$ ).

پارامترها	تیمارها	شاهد	۰/۱ ml/kg RO	۱ ml/kg RO	۱۰ ml/kg RO	۲۰ ml/kg RO	۰/۰۳ g/kg اکسی‌تتراسایکلین
طول پرز روده (mm)	۷/۲۷ $\pm$ ۰/۱۲ <sup>a</sup>		۲/۰۰ $\pm$ ۰/۰۷ <sup>c</sup>	۲/۲۵ $\pm$ ۰/۱۱ <sup>c</sup>	۲/۱۰ $\pm$ ۰/۰۸ <sup>c</sup>	۷/۲۰ $\pm$ ۰/۰۶ <sup>a</sup>	۷/۶۶ $\pm$ ۰/۱۶ <sup>b</sup>
عرض پرز روده (mm)	۰/۲۲ $\pm$ ۰/۰۰ <sup>a</sup>		۰/۴۴ $\pm$ ۰/۰۱ <sup>c</sup>	۰/۵۲ $\pm$ ۰/۰۱ <sup>d</sup>	۰/۴۷ $\pm$ ۰/۰۱ <sup>c</sup>	۰/۲۲ $\pm$ ۰/۰۰ <sup>a</sup>	۰/۳۶ $\pm$ ۰/۰۰ <sup>b</sup>
سطح جذب پرز (mm <sup>۲</sup> )	۰/۲۷ $\pm$ ۰/۰۲ <sup>a</sup>		۰/۸۸ $\pm$ ۰/۰۴ <sup>c</sup>	۷/۱۷ $\pm$ ۰/۰۷ <sup>d</sup>	۰/۹۸ $\pm$ ۰/۰۳ <sup>c</sup>	۰/۲۷ $\pm$ ۰/۰۲ <sup>a</sup>	۰/۵۹ $\pm$ ۰/۰۴ <sup>b</sup>



تصویر ۱. مقاطع بافتی تهیه شده از روده فیل ماهیان تغذیه شده با سطوح مختلف عصاره روغنی رزماری در پایان هفته هشتم. تصویر راست: مقطع بافتی مربوط به گروه شاهد. تصویر چپ: مقطع بافتی مربوط به تیمار تغذیه شده با ۱۰ ml/kg عصاره رزماری. (بزرگنمایی: X۸). AB=طول پرز روده، CD=عرض پرز روده. رنگ آمیزی به روش هماتو-کسیلین و اتوزین.

سطوح بالاتر نشان‌دهنده تأثیر مثبت و بهینه این سطح از عصاره (۱ ml/kg) در جیره غذایی بر توسعه و تکامل پرزهای روده به عنوان سطح عمل آنزیم‌های گوارشی و فرایند جذب مواد مغذی در دستگاه گوارش است. طبیعی است که این توسعه اثر مثبتی بر عملکرد و راندمان فرایندهای هضم و جذب در دستگاه گوارش داشته و متعاقباً موجب بهبود عملکرد رشد در ماهیان این تیمارها شده و به صورت درصد افزایش وزن بدن، وزن نهایی، ضریب رشد ویژه و ضریب تبدیل غذایی بهتر منعکس شده است.

یافته‌های Tahmasebi و همکاران در سال ۲۰۰۸ در خصوص تأثیر مثبت نوکلئوتیدها بر طول پرزهای روده ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان انگشت قد و بهبود پارامترهای رشد ماهی، Olad و همکاران در سال ۲۰۱۰ در خصوص تأثیر نوکلئوتیدها بر ساختار روده و افزایش طول پرزهای روده در بچه‌ماهیان آزاد دریای خزر و Bello و همکاران در سال ۲۰۱۲ در خصوص تأثیر ترکیبات گیاهی بر افزایش سطح جذب پرزهای روده از طریق تأثیر بر طول و عرض این پرزها و بهبود پارامترهای رشد در ماهیان

کاهش نسبی وزن نهایی و ضریب رشد ویژه در تیمار ۲۰ ml/kg عصاره رزماری در مقابل افزایش ضریب تبدیل غذا در این تیمار می‌تواند ناشی از کاهش مطلوبیت غذا برای ماهیان مورد آزمایش باشد، چرا که بر اساس مشاهدات بعمل آمده در هنگام غذایی به ماهیان مشاهده شد که ماهیان مربوط به این تیمار (۲۰ ml/kg) به دلیل بوی تند غذا (ناشی از وجود مقدار زیاد عصاره رزماری در آن) از خوردن غذا امتناع می‌کردند. این امر می‌تواند باعث پایین‌تر بودن میزان رشد این تیمار نسبت به سایر تیمارها باشد. مطالعات مشابه در مورد بررسی اثر گیاهان دارویی بر پارامترهای رشد در حیوانات مزرعه نیز نشان‌دهنده امتناع حیوانات از خوردن خوراک‌هایی بوده است که به دلیل استفاده بیش از حد از این ترکیبات دارای بوی تند و افت مطبوعیت غذا بوده است (۳).

افزایش تدریجی میزان طول، عرض و سطح جذب پرزهای روده همزمان با افزایش سطح عصاره رزماری در تیمارهای غذایی از سطح صفر (تیمار شاهد) تا ۱ ml/kg عصاره رزماری و سپس سیر نزولی آن در



## References

1. Abutbul, S., Golan-Goldhirsh, A., Barazani, O., Zilberg, D. (2004) Use of *Rosmarinus officinalis* as a treatment against *Streptococcus iniae* in tilapia (*Oreochromis* sp.). *Aquaculture*. 238: 97-105.
2. Al-Sereitia, M.R., Abu-Amerb, K.M., Sena, P. (1999) Pharmacology of rosemary (*Rosmarinus officinalis* Linn.) and its therapeutic potentials. *Indian J Exp Biol*. 37: 124-131.
3. Bampidis, V.A., Christodoulou, V., Christaki, E., Florou-Paneri, P., Spais, A.B. (2005) Effect of dietary garlic bulb and garlic husk supplementation on performance and carcass characteristics of growing lambs. *Anim Feed Sci Technol*. 121: 273-283.
4. Bello, O.S., Emikpe, B.O., Olaifa, F.E. (2012) The body weight changes and gut morphometry of clariasgariepinus juveniles on feeds supplemented with walnut (*Tetracarpidium conophorum*) leaf and onion (*Allium cepa*) bulb residues. *Int J Morphol*. 30: 253-257.
5. Chakraborty, S.B., Hancz, C. (2011) Application of phytochemicals as immunostimulant, antipathogenic and antistress agents in finfish culture. *Rev Aquat*. 3: 103-119.
6. Diab, A.S., Aly, S.M., John, G., Abde-Hadi, Y., Mohammed, M.F. (2008) Effect of garlic, black seed and biogen as immunostimulants on the growth and survival of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (Teleosti: Cichlidae), and their response to artificial infection with *Pseudomonas fluorescens*. *Afr J Aquat Sci*. 33: 63-68.
7. Ebrahimi, E. (2011) Sturgeon Caviarian Fish Feeding Practices in Industrial Aquaculture. Isfahan University of Technology Publication Center (1<sup>st</sup> ed.) Isfahan, Iran.
8. Etemadi, H., Rezaei, M., AbedianKenary, A.M. (2008) Antibacterial and antioxidant potential of rosemary extract (*Rosmarinus officinalis*) on shelf life extension of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *J Food Sci Technol*. 5: 67-77.
9. Genena, A.K., Hense, H., Junior, A.S. (2008) Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) - a study of the composition, antioxidant and antimicrobial

مورد آزمایش با یافته‌های تحقیق حاضر در توافق کلی بوده و آنها را تأیید می‌کند. در مجموع با توجه به یافته‌های این تحقیق، استفاده از عصاره گیاه رزماری در سطح ۱ml/kg جیره به عنوان عامل محرک رشد و توسعه ساختار دستگاه گوارش در جیره غذایی بچه فیل ماهیان ۶ ماهه پرورشی قابل توصیه است.

## تشکر و قدردانی

بدینوسیله نویسندگان مراتب قدردانی خود را از مساعدت و همکاری صمیمانه معاونت محترم آبریان سازمان شیلات ایران و مدیریت محترم دفتر بازسازی ذخایر آبریان اعلام می‌نمایند. همچنین از زحمات آقایان مهندس ابراهیم متقی مسئول آزمایشگاه تغذیه آبریان دانشکده منابع طبیعی دانشگاه صنعتی اصفهان و مهندس آیت الله حاتم‌پور کارشناس بخش علوم تشریحی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهرکرد تشکر می‌نماییم.

activities of extracts obtained with supercritical carbon dioxide. *Ciencia e Tecnologia de Alimentos*. 28: 463-469.

10. Harikrishnan, R., Balasundaram, C., Heo, M.S. (2011a) Impact of plant products on innate and adaptive immune system of cultured finfish and shellfish. *Aquaculture*. 317: 1-15.
11. Heidarieh, M., Soltani, M., Tamimi, A.H., Toluie, M.H. (2011) Comparative effect of raw fiber (Vitacel) and alginic acid (Ergosan) on growth performance, immunocompetent cell population and plasma lysozyme content of giant sturgeon (*Huso huso*). *Turkish J Fish Aquat Sci*. 11: 445-450.
12. Hoseinifar, S.H., Mirvaghefi, A., Merrifield, L.D. (2011) The effects of dietary inactive brewer's yeast *Saccharomyces cerevisiae* var. *ellipsoideus* on the growth, physiological responses and gut microbiota of juvenile beluga (*Huso huso*). *Aquaculture*. 318: 90-94.
13. Jalali, M.A., Ahmadifar, E., Sudagar, M., Azari, T.G. (2009) Growth efficiency, body composition, survival and haematological changes in great sturgeon (*Huso huso* Linnaeus, 1758) juveniles fed diets supplemented with different levels of Ergosan. *Aquac Res*. 40: 804-809.



14. Jamshidi, R., Afzali, Z., Afzali, D. (2009) Chemical composition of hydrodistillation essential oil of rosemary in different origins in Iran and comparison with other countries. *Am Eurasian J Agric Environ Sci.* 5: 78-81.
15. Lee, D.H., Ra, C.S., Song, Y.H., Sung, K.I., Kim, J.D. (2012) Effects of dietary garlic extract on growth, feed utilization and whole body composition of juvenile sterlet sturgeon (*Acipenser ruthenus*). *Asian Australas J Anim Sci.* 25: 577-583.
16. Olad, S., Khodabande, S., Abedian, A., Mahmoodi, N.A. (2010) Investigation on *Salmo trutta caspius* intestinal variations on different levels of dietary nucleotide. *J Mar Sci Tech.* 10: 37-49.
17. Panigrahi, A., Azad, I.S. (2007) Microbial intervention for better fish health in aquaculture: the Indian scenario. *Fish Physiol Biochem.* 33: 429-40.
18. Ta'ati, R., Abolghasemi, S.J., Tatina, M., Tajan, M.N. (2012) Influence of prebiotic immunowall on growth performance, body composition and immunophysiological variables in juvenile great sturgeon, *Huso huso*. *Ann Biol Res.* 3: 4435-4441.
19. Tahmasebi-Kohyani, A., Keyvanshokoh, S., Nematollahi, A., Mahmoudi, N., Pasha-Zanoosi, H. (2008) Effects of dietary nucleotide on growth indices and intestinal morphology of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *J Mar Sci Tech.* 1: 45-54.
20. Wu, J.W., Lee, M.H., Ho, C.T., Chang, S.S. (1982) Elucidation of the chemical structures of natural antioxidants from rosemary. *J Amer Oil Chem Soc.* 59: 339-345.
21. Zaouali, Y., Bouzaine, T., Boussaid, M. (2010) Essential oils composition in two *Rosmarinus officinalis* L. varieties and incidence for antimicrobial and antioxidant activities. *Food Chem Toxicol.* 48: 3144-3152.



## The effect of rosemary oil extract (*Rosmarinus officinalis*) on growth parameters and gut morphology of beluga juveniles (*Huso huso*)

Haghjou Jahromi, M.<sup>1</sup>, Ebrahimi, E.<sup>2\*</sup>, Nematollahi, A.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Graduated from Department of Natural Resources, Isfahan University of Technology, Isfahan-Iran

<sup>2</sup>Department of Natural Resources, Division of Fisheries, Isfahan University of Technology, Isfahan-Iran

<sup>3</sup>Department of Food Hygiene, College of the Veterinary, Shahrekord University, Shahrekord-Iran

(Received 26 December 2015, Accepted 9 April 2016)

### Abstract:

**BACKGROUND:** In recent years, use of herbs as dietary irritant growth factors and replacing it with artificial materials in aquaculture is discussed. Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) oil is one of herbal medicines which its antioxidant and antibacterial properties have been proved in humans and animals. So it can be an alternative option in order to achieve artificial growth stimulants properties. **OBJECTIVES:** The purpose of this study was to investigate the effect of different levels of rosemary oil as a medicinal herb on growth parameters and gut morphology of beluga juveniles (*Huso huso*). **METHODS:** Six groups (three replicate/group) of 126 fish with initial mean body weight of  $130.94 \pm 5.28$ g were fed with diets containing 0 (control), 0/01, 0/1, 1 and 2 % of rosemary oil and a group of oxytetracyclin (30mg/kg) for 8 week. At the end of the trial, the growth parameters (final weight, specific growth rate and feed conversion ratio) were calculated. Then, beluga intestinal biopsy was performed and the mean villi length, width and surface were measured in the treatments. **RESULTS:** Significant increase were observed in villi length ( $2/25 \pm 0/11$ mm), width ( $0/52 \pm 0/01$ mm) and surface ( $1/17 \pm 0/07$ mm) in fish fed with diets containing 1ml/kg rosemary oil ( $p < 0/05$ ). There were no significant differences in growth parameters between treatments. **CONCLUSIONS:** According to the significant increase of beluga intestinal absorption area and slight improvement of growth parameters in fish fed with diets containing rosemary extract compared to the control group, it seems that rosemary oil can act as a growth stimulant. So it can be considered as an alternative to artificial growth stimulants in aquaculture industry.

**Keyword:** beluga, growth parameters, intestinal morphology, rosemary oil extract

### Figure Legends and Table Captions

**Table 1.** Ingredients and chemical analysis of the experimental diets (% of dry matter) containing different levels of rosemary oil.

**Table 2.** The main chemical components of rosemary extract used in this study (Barij Essence Kashan Company).

**Table 3.** Growth parameters of beluga juveniles fed with diets containing different levels of rosemary oil and oxytetracyclin for 8 weeks.

**Table 4.** Gut morphology parameters of beluga juveniles fed with diets containing different levels of rosemary oil and oxytetracyclin for 8 weeks.

**Figure 1.** Intestine tissue slides of beluga juveniles fed with diets containing different levels of rosemary oil and oxytetracyclin for 8 weeks. Right figure: intestine tissue of control group, left figure: intestine tissue of fish fed 10 ml/kg rosemary extract. (Magnitudes: 8 x). AB: Villi length, CD: Villi width. Stained with hematoxylin and eosin method.

\*Corresponding author's email: e\_ebrahimi@cc.iut.ac.ir, Tel: 031-33913565, Fax: 031-33912840

