

اثر مجزا و ترکیبی عصاره‌های کاسنی (*Cichorium intybus*) و علف‌چای (*Hypericum perforatum*) بر شاخص‌های ایمنی و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

لیلا فرض‌الهی^۱، کوروش سروی مغانلو^{۱*}، احمد ایمانی^۱

*k.sarvimoghanlou@urmia.ac.ir

۱- گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

تاریخ دریافت: دی ۱۳۹۷

تاریخ پذیرش: بهمن ۱۳۹۷

چکیده

این تحقیق با هدف بررسی تاثیر عصاره‌های کاسنی (*Cichorium intybus*) و علف‌چای (*Hypericum perforatum*) بر شاخص‌های ایمنی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان انجام گرفت. برای این منظور ۷۲۰ قطعه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به وزن متوسط 100 ± 5 گرم به طور تصادفی میان چهار گروه آزمایشی شامل جیره شاهد و جیره-های حاوی ۳٪ عصاره کاسنی، ۳٪ عصاره علف‌چای و ترکیب ۱/۵٪ عصاره کاسنی و ۱/۵٪ عصاره علف‌چای تقسیم شدند. آزمایش به مدت ۱۲ هفته بطول انجامید. شاخص‌های ایمنی سرم شامل فعالیت آنزیم لیزوزیم، جایگزین کمپلمان و سطح ایمونوگلوبولین کل به همراه فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند کاتالاز (CAT)، سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و گلوکاتیون پراکسیداز (GPX) کبد سنجیده شد. بر اساس نتایج بدست آمده، افزودن ۳٪ عصاره کاسنی به جیره غذایی موجب افزایش معنی‌دار میزان ایمونوگلوبولین کل و فعالیت آنزیم لیزوزیم نسبت به گروه شاهد شده است ($p < 0/05$). بالاترین میزان فعالیت جایگزین کمپلمان در تیمار حاوی ترکیب ۱/۵٪ عصاره کاسنی و ۱/۵٪ عصاره علف‌چای مشاهده شد. افزودن مجزا و ترکیبی عصاره‌های هر دو گیاه کاسنی و علف‌چای به جیره غذایی نیز منجر به افزایش فعالیت آنزیم‌های GPX و SOD نسبت به جیره شاهد گردید ($p < 0/05$). بیشترین و کمترین فعالیت آنزیم کاتالاز نیز بترتیب در گروه شاهد و تیمار ۳٪ علف‌چای مشاهده شد ($p < 0/05$). در نتیجه، افزودن ۳٪ عصاره گیاه کاسنی به جیره غذایی باعث بهبود شاخص‌های ایمنی و ۳٪ علف‌چای منجر بر افزایش سطح فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان شد.

کلمات کلیدی: کاسنی، علف‌چای، ایمنی، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، قزل‌آلای رنگین‌کمان

*نویسنده مسئول

مقدمه

با توجه به توسعه روش‌های جایگزین برای مدیریت بیماریها در آبزیان، همچنین تقویت ایمنی در ماهیان و در نتیجه مقاومت به پاتوژنها، در سال‌های اخیر استفاده از گیاهان دارویی توسط محققان، کارخانه‌های تهیه غذای آبزیان و شرکت‌های داروسازی مورد توجه قرار گرفته است. اخیراً بیش از ۶۰ گونه مختلف از گیاهان برای بهبود وضعیت ماهیان مورد مطالعه قرار گرفتند (Bulfon et al., 2015). این مکمل‌های خوراکی علاوه بر بهبود شاخص‌های رشد، منجر به تحریک سیستم ایمنی غیراختصاصی، افزایش تحمل تنش‌های محیطی و مقاومت در برابر بیماریهای عفونی در آبزیان می‌شود که تمامی این عوامل منجر به اقتصادی‌تر شدن تولید آبزیان می‌گردد (Rao et al., 2006). محرک‌های ایمنی ترکیبات زیستی طبیعی یا سنتتیک هستند که قابلیت فعال‌سازی سیستم ایمنی را دارند. بیشتر محرک‌های ایمنی سیستم ایمنی غیراختصاصی را بشدت تحت تاثیر قرار می‌دهند که برای ماهی بسیار مفید و کارآمد است و ممکن است اثرات مثبتی نیز بر تولید پادتن داشته باشد. همچنین محرک‌های ایمنی را می‌توان براحتی در دسترس ماهیان کوچکتر نیز قرار داد (Kunttu et al., 2009). گیاهان منبع عالی از مواد طبیعی و آنتی‌اکسیدان از جمله فلاونوئیدها، تری‌نوئیدها، لیگنان‌ها، سولفیدها، پلی‌فنول‌ها، کاروتنوئیدها، کومارین‌ها و استرول‌های گیاهی هستند (Embuscado, 2015). آنتی‌اکسیدانها ترکیباتی هستند که با استرس اکسیداتیو ناشی از عدم تعادل رادیکالهای آزاد اکسیژن^۱ (ROS) مقابله می‌کنند (Van den Ende et al., 2011). تولید اضافی ROS و یا نقص در سیستم دفاعی منجر به آسیب به بیوملکول‌های ارزشمند مانند DNA، لپیدها و پروتئین‌ها می‌گردد (Dimitrios, 2006) و ملکول‌های آنتی‌اکسیدانی در مقابله با رادیکال‌های آزاد نقش حفاظت‌کنندگی دارند (Conforti et al., 2009; Vijayavel et al., 2006). ماهیان نیز دارای مکانیسم آنتی‌اکسیدانی می‌باشند که از جمله آنها می‌توان به آنزیم‌های اختصاصی دفاع آنتی‌اکسیدانی شامل

سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT) و تعداد دیگری از آنزیم‌ها که مجموعه‌ای از دفاع آنتی‌اکسیدانی سلولی را بر عهده دارند، اشاره کرد (Halliwell and Gutteridge, 1990).

گیاه کاسنی (*Cichorium intybus*) متعلق به خانواده Asteraceae می‌باشد که به طور گسترده در آسیا و اروپا توزیع شده است. تمام قسمت‌های این گیاه دارای اهمیت پزشکی مهمی است که به علت حضور ترکیبات مهمی مانند آلکالوئیدها، آنولین، لاکتون، ساپونین‌ها و تانن‌ها می‌باشد (Abbas et al., 2015). کاسنی تازه حاوی ۶۸٪ اینولین، ۱۴٪ ساکارز، ۵٪ سلولز، ۶٪ پروتئین، ۴٪ خاکستر و ۳٪ ترکیبات دیگر است، در حالیکه کاسنی خشک شامل تقریباً ۹۸٪ اینولین و ۲٪ سایر ترکیبات است. این گیاه دارای نقش آنتی‌اکسیدانی و تقویت‌کنندگی سیستم ایمنی (Hassan and Yousef, 2010) و ضد قارچی (Aqil and Ahmad, 2003) می‌باشد.

علف چای (*H. perforatum*) یکی از گونه‌های جنس Hypericum می‌باشد که دارای ۴۰۰ گونه در سراسر جهان است. این گیاه بومی اروپا، شمال آفریقا، مدیترانه، ایران و بسیاری از قسمت‌های جهان است و دارای خواص ضد میکروبی، ضد ویروسی، ضد قارچی (Larypoor et al., 2009) خواص ضدافسردگی (Kasper, 2001; Altun et al., 2013) و خواص آنتی‌اکسیدانی (Silva et al., 2004; Zou et al., 2008) می‌باشد. علف چای از شش ترکیب اصلی شامل نفتودیانترنونا، فلوروگلسینولها، بیفلاونها، فلاونوئیدها، فنیل پرونها، پرانتوسیانیدونی‌ها به علاوه مقادیر کمتر تانن‌ها، گزانتونها، اسانس‌های ضروری و اسید آمینه تشکیل شده است (Saddiqe et al., 2010). در مطالعاتی متعدد اثرات آنتی‌اکسیدانی گیاهان مختلف از جمله مریم‌گلی (*Salvia officinalis*)، آویشن (*Thymvs vulgaris*)، نعناع (*Mentha spicata*)، علف چای (*H. perforatum*) و آلوئه‌ورا (*Aloe vera*) در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان مورد بررسی قرار گرفته است (گلستان و همکاران، ۱۳۹۳؛ Cilingir et al., 2017; Sonmez et al., 2015). به رغم مطالعات اخیر، در خصوص اثر این دو گیاه کاسنی و

¹ - Reactive Oxygen Species

داده شد تا خشک شود. در ادامه سطح دان‌ها با محلول ۱٪ ژلاتین پوشانده شد و دوباره برای ۲۴ ساعت در هوای آزاد قرار گرفت و در نهایت دان‌های تهیه شده در کیسه‌های فریزر به همراه مقداری ژل نم‌گیر با ثبت تاریخ در یخچال قرار داده شد (نازدار و همکاران، ۱۳۹۵).

جدول ۱: تجزیه تقریبی جیره غذایی تجاری (GFT2) شرکت فرادانه

Table 1: The proximate composition of commercial diet (GFT2, Faradaneh).

ترکیب	درصد
پروتئین خام	۴۰
چربی خام	۱۵
فیبر خام	۴
خاکستر	۸
رطوبت	۸
فسفر	۱

پرورش ماهیان

تعداد ۷۲۰ قطعه ماهی قزل‌آلا رنگین کمان با میانگین وزنی (± 100) گرم را بصورت تصادفی در ۱۲ حوضچه بتونی با ابعاد 125×120 سانتی‌متر، ارتفاع آب ۱۲۰ سانتی‌متر با جریان آب ورودی ۷ لیتر در ثانیه، دمای (± 13) درجه سانتی‌گراد، pH بین $7/3-6/8$ و اکسیژن محلول $\pm 0/5$ میلی‌گرم بر لیتر، توزیع شدند. در هر حوضچه ۶۰ قطعه ماهی برای مدت ۱۲ هفته با جیره‌های آزمایشی در قالب چهار تیمار و در سه تکرار شامل تیمار اول (شاهد): جیره تجاری بدون عصاره گیاهی، تیمار دوم: جیره تجاری حاوی ۳ درصد عصاره کاسنی، تیمار سوم: جیره تجاری حاوی ترکیب $1/5$ درصد عصاره علف چای + $1/5$ درصد عصاره کاسنی و تیمار چهارم: جیره تجاری حاوی ۳ درصد عصاره علف چای تغذیه گردیدند. دفعات غذایی دو بار در روز و $2/5$ درصد وزن بدن بود.

اندازه گیری شاخص‌های ایمنی غیراختصاصی سرم برای سنجش شاخص‌های ایمنی غیراختصاصی سرم پس از ۲۴ ساعت قطع غذا، ماهیان پرورشی به کمک پودر گل میخک با دوز 200 mg.mL^{-1} بیهوش شدند و خون‌گیری

علف چای بر شاخص‌های ایمنی و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سایر حیوانات از جمله موش و جوجه صورت (اسدی و همکاران، ۱۳۹۳؛ لندی و همکاران، ۱۳۸۹؛ Hassan and Yousef, 2010; Sańchez-Reus *et al.*, 2007)، مطالعات کمی در خصوص تأثیر جداگانه دو گیاه علف چای (*H. perforatum*) و کاسنی (*intybus*) بر شاخص‌های ایمنی و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی صورت گرفته است (قیاسی و همکاران، ۱۳۹۴؛ طبسی نژاد، ۱۳۹۵؛ سلطانی نژاد و همکاران، ۱۳۹۵؛ Cilingir *al.*, 2017). با این وجود، مطالعات اندکی در خصوص اثر ترکیبی این دو گیاه و اثر مقایسه‌ای بین این دو گیاه بر شاخص‌های ایمنی و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان صورت گرفته است. لذا، این تحقیق با هدف مذکور برنامه‌ریزی گردیده است.

مواد و روش کار

تهیه و آماده سازی عصاره‌های گیاهی کاسنی و علف چای

بعد از تهیه کاسنی و علف چای، به منظور تهیه عصاره، نیم کیلوگرم از هر گیاه بعد از آسیاب کردن به طور جداگانه داخل ارلن ۵ لیتری ریخته و با نسبت ۱:۲/۵ مخلوط اتانول ۹۶٪ و آب مقطر اضافه شد. سپس به مدت ۷۲ ساعت روی دستگاه شیکر (مدل FR 602) و در دمای اتاق مخلوط گردید و در نهایت با استفاده از صافی، تفاله گیاه از عصاره جدا شد. برای تغلیظ سازی تا حجم ۸۰۰ میلی لیتر با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد روتاری (مدل Laborata 4000 efficient شرکت Heidolph) استفاده شد (Saeidi *asl et al.*, 2017).

تهیه جیره‌های غذایی حاوی عصاره

در این مطالعه به منظور تولید غذای حاوی درصد‌های متفاوت از کاسنی و علف چای از جیره غذایی تجاری GFT2 ساخت شرکت فرادانه (جدول ۱) استفاده شد. پس از توزین غذاها، عصاره‌های هیدروالکلی گیاهان کاسنی و علف چای با توجه به تیمارهای غذایی به جیره غذایی اسپری شد و غذا به مدت ۲۴ ساعت در هوای آزاد قرار

درجه سانتی‌گراد در طول موج ۵۹۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل Biotek synergy HT) قرائت شد.

سنجش میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز با استفاده از روش رنگ سنجی در طول موج ۴۲۰ نانومتر سنجیده شد (Ewing and Janeron, 1995). میزان فعالیت آنزیم گلوکاتاتیون پراکسیداز (GPX) و کاتالاز طبق روش Weydert و Cullen (۲۰۱۰) و بوسیله دستگاه الیزا ریدر Biotek مدل EL۸۰۰ در طول موج ۴۱۲ نانومتر قرائت شد.

روش تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

برای آنالیز داده‌ها از آزمون تجزیه واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) و آزمون مقایسه میانگین توکی (Tukey's HSD test) استفاده شد و نتایج نهایی بصورت Mean±SE گزارش شد. البته قبل از انجام آنالیز واریانس، نرمال بودن داده‌ها با آزمون کولموگراف-اسمیرنوف (Kolmogorov-Smirnov) و همگنی واریانس‌ها با استفاده از آزمون لون (Leven) بررسی شد و حداقل سطح معنی‌داری ۵ درصد در نظر گرفته شد. برای انجام آنالیزهای آماری از نرم‌افزار SPSS و برای ترسیم نمودارها نیز از نرم‌افزار اکسل نسخه ۲۰۱۳ استفاده شد.

نتایج

مقادیر شاخص‌های ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در جدول ۲ ارائه شده است. براساس نتایج بدست آمده، افزودن عصاره‌های گیاهی منجر به افزایش فعالیت آنزیم لیزوزیم نسبت به گروه شاهد شده است ($p < 0.05$)، بطوریکه بیشترین مقدار در تیمار حاوی ۳٪ کاسنی و کمترین مقدار در تیمار شاهد مشاهده شد و اختلاف بین تیمارهای حاوی ۳٪ کاسنی و تیمار ترکیبی با جیره شاهد معنی‌دار بود ($p < 0.05$). علاوه بر این، ماهیان تغذیه شده با جیره دارای ۳٪ کاسنی بالاترین سطح ایمونوگلوبولین کل سرم را نشان دادند و تفاوت معنی‌داری با سایر تیمارها داشت.

از بخش ساقه دمی انجام شد. سپس سرم خون در ۵۰۰۰ دور و به مدت ۱۰ دقیقه توسط سانتریفیوژ جداسازی و تا زمان اندازه‌گیری در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. اندازه‌گیری لیزوزیم سرم، با استفاده از فعالیت باکتریایی و به روش کدورت سنجی بوسیله فعالیت باکتری *Micrococcus lysodeikticus* (ATCC4698) انجام گردید (Subramanian et al., 2007). فعالیت جایگزین کمپلمان به روش Ortuno و همکاران (۱۹۹۸) و با استفاده از همولیز گلبول‌های قرمز گوسفند اندازه‌گیری شد. سطح ایمونوگلوبولین کل سرم نیز بر اساس روش Siwicki و Anderson (۱۹۹۳) مورد سنجش قرار گرفت.

نمونه‌برداری و تهیه عصاره آنزیمی

در انتهای دوره آزمایشی به منظور تاثیر سطوح مختلف عصاره‌های کاسنی و علف چای بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان، بعد از بیهوشی، بافت کبد برداشته شد و بعد از شستشو با آب سرد در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. برای سنجش فعالیت آنزیمی نمونه‌ها از شرایط انجماد خارج شده و وزن گردیدند. سپس با نسبت وزن به حجم ۱ به ۳ با کلرید سدیم ۰/۲ مولار مخلوط شدند و در حضور یخ عمل یکنواخت سازی با هموژنایزر صورت گرفت. سوسپانسیون حاصل در ۵۰۰۰ rpm و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. برای سنجش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (سوپر اکسید دیسموتاز، گلوکاتاتیون پراکسیداز و کاتالاز) کیت‌های شرکت بیونیک مورد استفاده قرار گرفت (Qu et al., 2014).

تعیین مقدار پروتئین محلول در عصاره آنزیمی

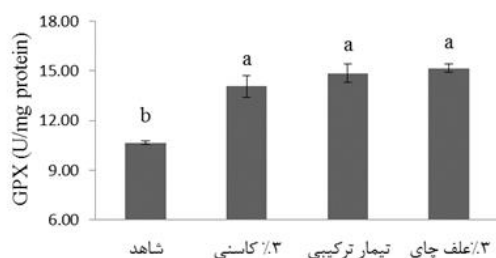
پروتئین محلول نمونه‌های هموژن شده ماهیان به روش Bradford (۱۹۷۶) سنجیده شد. جهت انجام این کار از آلبومین سرم‌گاو (BSA) به عنوان استاندارد استفاده گردید. جهت سنجش پروتئین محلول عصاره آنزیمی، ۲۵۰ میکرولیتر معرف برادفورد به ۵ میکرولیتر عصاره آنزیمی افزوده شد و پس از ۷ دقیقه آنکوباسیون در دمای ۲۵

جدول ۲: شاخص‌های ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در تیمارهای مختلف آزمایشی (Mean±SE)

Table 2: Immune system indices of rainbow trout in various experimental treatments (Mean±SE).

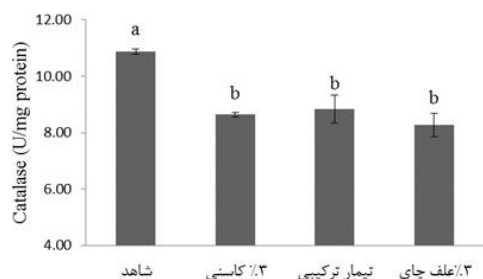
شاخص	شاهد	۳٪ کاسنی	۱/۵ درصد عصاره کاسنی و ۳٪ علف چای	۳٪ علف چای
ایمونو گلوبولین کل (mg/mL)	۲۷/۶۳±۰/۵۸ ^c	۳۶±۰/۹۰ ^a	۳۲/۳۶±۰/۶۳ ^b	۲۸/۸۳±۰/۷۸ ^c
فعالیت جایگزین کمپلمان (U/ml)	۱۲۳/۳۳±۲/۳۳ ^b	۱۳۲/۳۳±۲/۴۰ ^{ab}	۱۳۶±۲/۳۱ ^a	۱۲۷/۳۳±۲/۳۳ ^{ab}
لیزوزیم (U/ml/min)	۲۹/۶۶±۰/۸۸ ^c	۳۹/۶۷±۱/۲۰ ^a	۳۸±۱/۱۵ ^{ab}	۳۴±۰/۵۷ ^{bc}

حروف غیر مشابه در هر ردیف نشانه وجود اختلاف معنی‌دار آماری است ($p < 0.05$).



شکل ۲: فعالیت آنزیم GPX ماهیان گروه‌های مختلف آزمایشی. حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار است ($p < 0.05$).

Figure 2: GPX enzyme activity of various experimental groups. Columns with different letters are significantly different at $p < 0.05$.



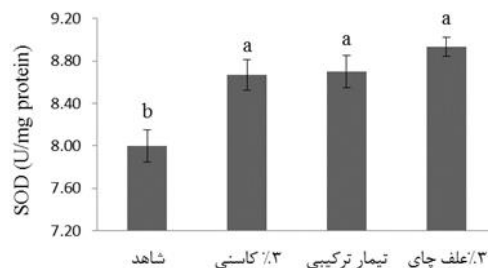
شکل ۳: فعالیت آنزیم Catalase ماهیان گروه‌های مختلف آزمایشی. حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار است ($p < 0.05$).

Figure 3: Catalase enzyme activity of various experimental groups. Columns with different letters are significantly different at $p < 0.05$.

بحث

رشد و توسعه صنعت آبی‌پروری مستلزم تراکم بالاتر ماهیان در واحد سطح تولید است. بهبود جیره‌های غذایی، تقویت سیستم ایمنی و افزایش مقاومت آبزیان پرورشی در برابر استرس و بیماری، از عوامل مهم در بالا بردن کارایی

نتایج شاخص فعالیت جایگزین کمپلمان نیز بیانگر این بود که جیره‌های حاوی عصاره‌های گیاهی منجر به افزایش این شاخص می‌گردد، ولی فقط تیمار ترکیبی تفاوت معنی‌داری نسبت به گروه شاهد نشان داد ($p < 0.05$). نتایج مربوط به فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در شکل‌های ۱ الی ۳ نشان داده شده است. بر اساس نتایج ارائه شده در شکل‌های ۱ و ۲، افزودن عصاره‌های گیاهی به جیره غذایی منجر به افزایش فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و گلوکاتایون پراکسیداز نسبت به گروه شاهد شده است ($p < 0.05$) بطوریکه بیشترین فعالیت این آنزیم‌ها در تیمارهای ۳٪ علف چای و تیمار ترکیبی و کمترین فعالیت آنها در تیمار شاهد مشاهده شد ($p < 0.05$). همچنین نتایج فعالیت آنزیم کاتالاز در شکل ۳ بیانگر آن است که بیشترین مقدار این شاخص در گروه شاهد و کمترین میزان فعالیت این آنزیم در تیمار حاوی ۳٪ علف چای مشاهده گردید ($p < 0.05$).



شکل ۱: فعالیت آنزیم SOD ماهیان گروه‌های مختلف آزمایشی. حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار است ($p < 0.05$).

Figure 1: SOD enzyme activity of various experimental groups. Columns with different letters are significantly different at $p < 0.05$.

تولید ماهیان است. در دهه اخیر از گیاهان دارویی به عنوان تحریک کننده‌های سیستم ایمنی، جهت ارتقاء مکانیسم دفاع غیر اختصاصی و افزایش مقاومت در برابر بیماری‌ها استفاده می‌شود (Chakrabarti and Rao, 2006). در تحقیق حاضر اثر دو گیاه کاسنی و علف چای بر شاخص‌های ایمنی مانند لیزوزیم، ایمونوگلوبین و سیستم جایگزین کمپلمان ماهی قزل‌آلای رنگین کمان بررسی شد. لیزوزیم یک آنزیم ضد باکتری قوی در سیستم ایمنی غیر اختصاصی است که در سرم خون حضور دارد و با هضم دیواره سلولی باکتری از تشکیل کلنی آنها پیشگیری می‌کند (Van Hai, 2015). در مطالعه حاضر، بالاترین فعالیت آنزیم لیزوزیم در تیمار ۳٪ کاسنی مشاهده شد. بنظر می‌رسد کاسنی غنی از اسید سیکوریک است که سیستم ایمنی را برای جلوگیری از التهاب و عفونت باکتریایی تا حد خاصی بخوبی تحریک می‌کند (Ahmad, 2009). نتایج مشابهی هنگام استفاده از سطوح مختلف نعنای فلفلی در جیره غذایی ماهی سفید (*Rutilus frisii kutum*) گزارش شده است (Adel et al., 2015). همچنین Harikrishnan و همکاران (۲۰۱۲) اثر عصاره انار را بر ماهی فلاندر ژاپنی (*Paralichthys olivaceus*) بررسی نموده و کمترین میزان آنزیم لیزوزیم را در گروه شاهد مشاهده نمودند. البته شایان ذکر است که عوامل متعددی بر میزان و قدرت ضد باکتریایی آنزیم لیزوزیم ماهیان تاثیرگذار است که از آن جمله می‌توان به فصل، جنس، گونه، سن، عوامل کیفی آب بویژه درجه حرارت آب، تغذیه، مراحل بلوغ جنسی، تحریک آنتی ژنی و عوامل استرس‌زا اشاره کرد (Grinde, 1989). ایمونوگلوبولین‌ها پروتئین‌های مهمی هستند که در پاسخ ایمنی همورال نقش دارند و IgM اولین ایمونوگلوبولینی است که در طی روند تکامل ایجاد می‌شود (Pilstrom and Bengten, 1996). در تحقیق حاضر بیشترین فعالیت ایمونوگلوبولین کل در تیمار ۳٪ کاسنی مشاهده گردید. این احتمال وجود دارد اینولین و الیگوفروکتوز که جزء فروکتان‌های اصلی کاسنی هستند که سبب تحریک سیستم ایمنی شوند و منجر به تولید اینترلوکین-۱۰، افزایش غلظت و ترشح IgA، افزایش

سلول‌های کشنده طحال، تولید اسید چرب زنجیر کوتاه و اتصال این ترکیب به لوکوسیت‌ها و فعال سازی آنها گردند (Chow, 2002; Hosono et al., 2003; Watzl et al., 2005). در تحقیق مشابهی ۲ میلی لیتر عصاره الکلی ریشه کاسنی به صورت محلول در یک لیتر آب آشامیدنی، موجب افزایش IgM و IgG در جوجه‌های گوشتی نسبت به گروه شاهد شد (اسدی و همکاران، ۱۳۹۳). در ماهیان فعالیت جایگزین کمپلمان به عنوان یکی از مکانیسم‌های کلیدی در پاکسازی پاتوژن‌ها به رسمیت شناخته شده است (Bilen et al., 2011). طبق نتایج بیشترین فعالیت کمپلمان مربوط به تیمار ترکیبی (۱/۵٪ کاسنی + ۱/۵٪ علف چای) و ۳٪ کاسنی بود. در راستای تحقیق حاضر، در مطالعه طبسی نژاد (۱۳۹۵) در مورد استفاده از علف چای (*H. perforatum*) در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان نشان از افزایش فعالیت کمپلمان در روز ۳۰ و ۶۰ آزمایش داشت. همچنین Thompson و همکاران (۱۹۹۵) و Dhur و همکاران (۱۹۹۱) بیان کردند که افزایش سطوح ویتامین A در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان منجر به افزایش فعالیت سیستم جایگزین کمپلمان و لیزوزیم می‌شود. از آنجایی که برگ گیاه کاسنی منبع خوبی از آنتوسیانین‌ها، ویتامین‌های A و C است، این احتمال وجود دارد ویتامین‌های موجود در این گیاه منجر به تحریک سیستم ایمنی می‌گردد (Ahmad, 2009). بسیاری از عصاره‌های گیاهی فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی دارند و برای درمان چندین بیماری از جمله سمیت کبدی کاربرد دارند (Abbas et al., 2015). در مطالعه حاضر افزودن عصاره‌های گیاهی به جیره غذایی منجر به افزایش فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و گلوکاتایون پراکسیداز نسبت به گروه شاهد شده است. علف چای غنی از فلاونوئید (در گل‌ها ۱۱/۷۱٪ و در برگ‌ها و ساقه ۷/۴٪) است. همچنین در تست‌های آزمایشگاهی مشخص شد که عنصر اصلی آن (کورستین و مشتقات آن دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی می‌باشند) (Zou et al., 2004). البته در جیره حاوی کاسنی نیز میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بالا بود. شاید علت را بتوان در ترکیبات کاسنی دانست. گیاه کاسنی منبع مهمی از

سویی، در تجزیه H_2O_2 به آب و اکسیژن نقش کاتالیزوری دارد و از سوی دیگر، در اکسیداسیون دهنده‌های هیدروژن مانند متانول، اتانول، فرمیک اسید و فنول‌ها، فعالیت پراکسیدی نشان می‌دهد. (Aebi, 1984).

در مجموع، نتایج حاصل از این مطالعه حاکی از آن است که استفاده از عصاره گیاه کاسنی در سطح ۳٪ جیره، بر بهبود برخی از شاخص‌های ایمنی و ۳٪ علف چای بر افزایش سطح فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تاثیر گذار می‌باشد. بنابراین، استفاده از این مکمل‌های خوراکی به عنوان محرک سیستم ایمنی و آنتی‌اکسیدانی در جیره غذایی قزل‌آلای رنگین‌کمان توصیه می‌شود.

منابع

اسدی، م.، محمدی، م. و روستایی علی مهر، م.، ۱۳۹۳. تأثیر عصاره الکلی کاسنی بر عملکرد و پاسخ ایمنی جوجه‌های گوشتی. پژوهش‌های تولیدات دامی، (۹): ۳۶-۴۹.

سلطانی نژاد، ز.، پیرعلی خیر آبادی، ا. و نیکوخواه، ف.، ۱۳۹۵. اثر مهارکنندگی و کشندگی عصاره اتانولی کرفس کوهی (*Kelussia odoratissima*) و کاسنی (*Cichorium intybus* L) بر باکتری استرپتوکوکوس اینیایی و لاکتوکوکوس گارویه. فصلنامه علوم و فنون شیلات، ۵ (۳): ۷۲-۶۵.

طیسی نژاد، ن.، ۱۳۹۵. تاثیر پودر گیاه علف چای (*Hypericum perforatum*) بر پاسخ‌های ایمنی و فراسنجه‌های خونی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) آلوده شده با باکتری *Yersinia ruckeri*. پایان نامه، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری. ۶۷ صفحه.

قیاسی، م.، آقاجانی، س.، بینایی، م.، پورغلام، ر. و باباعلیان امیری، ع.ر.، ۱۳۹۴. اثر عصاره آبی گیاه علف چای (*Hypericum perforatum*) بر شاخص‌های خونی، سرمی و بازماندگی قزل‌آلای رنگین‌کمان

ویتامین‌ها مانند K, B, C, D و ... است (Kitchin and Morgan, 2007). همچنین این گیاه دارای مقادیر بالایی از مواد معدنی مانند کلسیم، فسفر، پتاسیم، منیزیم، گوگرد، سدیم، کلسیم، مس، روی، آلومینیوم، سلنیوم، کبالت، کرم، نیکل، مولیبدن، سرب، آهن، کادمیوم، قلع و غیره می‌باشد (Neel et al., 2002). ویتامین C که به عنوان آنتی‌اکسیدان اصلی شناخته شده است، همچنین مواد معدنی مانند روی، منگنز، مس و آهن به عنوان کوآفکتورهای مهم آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مهم عمل می‌کنند (Srdic-Rajic and Konic Ristic, 2016).

در راستای تحقیق حاضر، Hassan و Yousef (۲۰۱۰) و El-Sayed و همکاران (۲۰۱۵) به نقش ارزشمند عصاره کاسنی (*C. intybus*) برای بهبود استرس اکسیداتیو پی‌ورده بودند. همچنین در مطالعه Sanchez-Reus و همکاران (۲۰۰۷)، اثر مثبت عصاره علف چای (*H. perforatum*) را در کاهش استرس اکسیداتیو گزارش کردند. لندی و همکاران (۱۳۸۹) نیز گزارش کردند، میزان ۱۰ گرم از علف چای (*H. perforatum*) بر کیلوگرم جیره غذایی جوجه گوشتی باعث بالاترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی در مقایسه با سایر گروه‌ها گردید. همچنین Clingir و همکاران (۲۰۱۷) اثرات مثبت عصاره علف چای (*H. perforatum*) بر وضعیت اکسیدانی و شاخص استرس اکسیداتیو ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بررسی نمودند. در مطالعه حاضر، میزان کاتالاز در گروه شاهد نسبت به سایر گروه‌ها افزایش داشته است. مشابه با تحقیق حاضر، Sonmez و همکاران (۲۰۱۵) در گزارشی اثرات آنتی‌اکسیدانی گیاهان مختلف از جمله مریم‌گلی (*Salvia officinalis*)، آویشن (*Thymus vulgaris*)، نعناع (*Mentha spicata*) را بر ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بررسی و کاهش سطح آنزیم کاتالاز را گزارش کردند. بنظر می‌رسد H_2O_2 یک محصول جانبی مضر است که برای جلوگیری از آسیب دیدگی سلول‌ها و بافت‌ها باید با سرعت به ترکیباتی که خطر کمتری دارند، تبدیل شود. بنابراین، امکان دارد آنزیم کاتالاز برای این تبدیل مصرف شود و در نتیجه کاهش یابد (Sonmez et al., 2015). در واقع، کاتالاز عملکردی دوگانه دارد. از

- Aebi, H., 1984.** Catalase in vitro. *Methods in Enzymology*, 105: 121-126. DOI: 10.1016/S0076-6879(84)05016-3.
- Ahmad, N., 2009.** Alloxan diabetes-induced oxidative stress and impairment of oxidative defense system in rat brain: neuroprotective effects of *Cichorium intybus*. *International Journal of Diabetes and Metabolism*, 17: 105-109. DOI: 10.1159/000497681.
- Altun, M.L., Sever Yilmaz, B., Erdogan Orhan, I. and Citoglu, G.S., 2013.** Assessment of cholinesterase and tyrosinase inhibitory and antioxidant effects of *Hypericum perforatum* L. (St. John's wort). *Industrial Crops and Products*, 43: 87-92. DOI: 10.1016/j.indcrop.2012.07.017.
- Aqil, F. and Ahmad, I., 2003.** Broad-spectrum antibacterial and antifungal properties of certain traditionally used Indian medicinal plants. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 19(6): 653-657. DOI: 10.1023/A:1025128104056.
- Bilen, S., Bulut, M., and Bilen, A.M., 2011.** Immunostimulant effects of *Cotinus coggyria* on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish and Shellfish Immunology*, 30: 451-455. DOI: 10.1016/j.fsi.2010.12.013.
- Bradford, M.M., 1976.** A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72: 248-254. DOI: 10.1016/0003-2697(76)90527-3.
- (*Oncorhynchus mykiss*) در شرایط استرس دمایی. فصلنامه علوم و فنون شیلات، ۴(۲): ۹۱-۱۰۱.
- گلستان، غ.، سلاطی، ا.پ.، کیوان شکوه، س.، ذاکری، م. و مرادیان، ح.، ۱۳۹۳. اثر سطوح مختلف آلوئه وراي خوراکی بر رشد و دفاع آنتی اکسیدانی قزل آلاي رنگين کمان (*Oncorhynchus mykiss*). اقیانوس شناسی، شماره ۱۹: ۲۶-۲۱.
- لندی، ن.، قلمکاری، غ.ر. و معطر، ف.، ۱۳۸۹. اثربخشی علف چای بر فعالیت ضد اکسیدانی تام سرم خون و پاسخ ایمنی همورال در جوجه های گوشتی. مجله پژوهش های نوین دامپزشکی، ۴: ۶۲-۵۵.
- نازدار، ن.، ایمانی، ا.، نوری، ف. و سروی مغانلو، ک.، ۱۳۹۵. فعالیت آنزیم‌های گوارشی و شاخص‌های رشد و تغذیه ماهی قزل آلاي رنگين کمان (*Oncorhynchus mykiss*) تغذیه شده با جیره‌های غذایی حاوی نانوذره نیکل و سیلیمارین. مجله علمی شیلات ایران، ۲۵ (۲): ۶۸-۵۱. DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110239
- Abbas, Z.K., Saggi, S., Sakeran, M.I., Zidan, N., Rehman, H. and Ansari, A.A., 2015.** Phytochemical, antioxidant and mineral composition of hydroalcoholic extract of chicory (*Cichorium intybus* L.) Leaves. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 22(3): 322-326. DOI: 10.1016/j.sjbs.2014.11.015.
- Adel, M., Abedian Amiri, A., Zorriehzahra, J., Nematollahi, A. and Esteban, M.A., 2015.** Effects of dietary peppermint (*Mentha piperita*) on growth performance, chemical body composition and hematological and immune parameters of fry Caspian white fish (*Rutilus frisii kutum*). *Fish and Shellfish Immunology*, 45: 841-847. DOI: 10.1016/j.fsi.2015.06.010.

- Bulfon, C., Volpatti, D. and Galeotti, M., 2015.** Current research on the use of plant-derived products in farmed fish. *Aquaculture Research*, 46: 513-551. DOI: 10.1111/are.12238.
- Chakrabarti, R., and Rao, Y.V., 2006.** *Achyranthes aspera* stimulates the immunity and enhances the antigen clearance in *Catla catla*. *International Immunopharmacology*, 6: 782-790. DOI: 10.1016/j.intimp.2005.11.020.
- Chow, J., 2002.** Probiotics and prebiotics: A brief overview. *Journal of Renal Nutrition*, 12: 76-86. DOI: 10.1053/jren.2002.31759.
- Cilingir, C., Diler, I., Ilhan, I. and Gultekin, F., 2017.** Effects of different levels of dietary centaury oil (*Hypericum perforatum* L.) on growth performance, some environmental stress parameters and antioxidant activity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Aquaculture Engineering and Fisheries Research*, 3:116-127. DOI: 10.3153/JAEFR17015.
- Conforti, F., Sosa, S., Marrelli, M., Menichini, F., Statti, G.A., Uzunou, D., Tubaro, A. and Menichini, F., 2009.** The protective ability of Mediterranean dietary plants against the oxidative damage: The role of radical oxygen species in inflammation and the polyphenol, flavonoid and sterol contents. *Food Chemistry*, 112: 587-594. DOI: 10.1016/j.foodchem.2008.06.013.
- Dhur, A., Galan, P. and Herberg, S., 1991.** Vitamin A deficiency and immunity. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, 11(1): 1-19. DOI: 10.3164/jcbtn.11.1.
- Dimitrios, B., 2006.** Sources of natural phenolic antioxidants. *Trends in Food Science and Technology*, 17: 505-512. DOI: 10.1016/j.tifs.2006.04.004.
- El-Sayed, Y.S., Lebda, M.A., Hassinin, M. and Neoman, S.A., 2015.** Chicory (*Cichorium intybus* L.) Root Extract Regulates the Oxidative Status and Antioxidant Gene Transcripts in CCl4-Induced Hepatotoxicity. *PLoS ONE*, 10(3): e0121549. DOI: 10.1371/journal.pone.0121549.
- Embuscado, M.E., 2015.** Herbs and spices as antioxidants for food preservation. *Handbook of Antioxidants for Food Preservation* Baltimore, MD, USA, 251-283. DOI: 10.1016/B978-1-78242-089-7.00011-7.
- Ewing, J.F. and Janeron D.R., 1995.** Microplate superoxide dismutase assay employing a nonenzymatic superoxide generator. *Analytical Biochemistry*, 232(2): 243-248. DOI: 10.1006/abio.1995.0014.
- Grinde, B., 1989.** Lysozyme from rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, as an antibacterial agent against fish pathogens. *Journal of Fish Disease*, 12: 95-104. DOI: 10.1111/j.1365-2761.1989.tb00281.x.
- Halliwell, B. and Gutteridge, J.M., 1990.** The antioxidants of human extracellular fluids. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 280(1): 1-8. DOI: 10.1016/0003-9861(90)90510-6.

- Harikrishnan, R., Kim, J.S., Kim, M.C., Balasundaram, C. and Heo, M.S., 2012.** Pomegranate enriched diet enhances the hematology, innate immune response, and disease resistance in olive flounder against *Philasterides dicentrarchi*. *Veterinary Parasitology*, 187: 147-156. DOI: 10.1016/j.vetpar.2011.12.006.
- Hassan, H.A. and Yousef, M.I., 2010.** Ameliorating effect of chicory (*Cichorium intybus* L.)-supplemented diet against nitrosamine precursors-induced liver injury and oxidative stress in male rats. *Food and Chemical Toxicology*, 48: 2163–2169. DOI: 10.1016/j.fct.2010.05.023.
- Hosono, A., Ozawa, A., Kato, R., Nakanishi, Y., Kimura, T. and Nakamura, R., 2003.** Dietary fructooligosaccharides induce immunoregulation of intestinal IgA secretion by murine Peyer's patch cells. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 67: 758-764. DOI: 10.1271/bbb.67.758.
- Kasper, S., 2001.** *Hypericum perforatum* -a Review of Clinical Studies. *Pharmacopsychiatry*, 34 (1): S51-S55. DOI: 10.1055/s-2001-15467.
- Kitchin, B. and Morgan, S.L., 2007.** Not just calcium and vitamin D: other nutritional considerations in osteoporosis. *Current Rheumatology Reports*, 9: 85–92. DOI: 10.1007/s11926-007-0027-9.
- Kunttu, H.M., Valtonen, E.T., Suomalainen, L.R., Vielma, J. and Jokinen, I.E., 2009.** The efficacy of two immunostimulants against *Flavobacterium columnare* infection in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish and Shellfish Immunology*, 26: 850-857. DOI: 10.1016/j.fsi.2009.03.013.
- Larypoor, M., Akhavansepahy, A., Rahimifard, N. and Rashedi, H., 2009.** Antidermatophyte activity of the essential oil of *Hypericum perforatum* of north of Iran. *Journal of Medicinal Plants*, 8: 110-117.
- Neel, J.P.S., Alloush, G.A., Belesky, D.P. and Clapham, W.M., 2002.** Influence of Rhizosphere Ionic Strength on Mineral Composition, Dry Matter Yield and Nutritive Value of Forage Chicory. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 188: 398-407. DOI: 10.1046/j.1439-037X.2002.00593.x.
- Ortuno, J., Esteban, M.A., Mulero, V. and Meseguer, J., 1998.** Methods for studying the haemolytic, chemoattractant and opsonic activities of seabream (*Sparus aurata* L.) serum. In *Methodology in fish Diseases Research*, 1: 97-100.
- Pilstrom, L. and Bengten, E., 1996.** Immunoglobulin in fish-genes, expression and structure. *Fish and Shellfish Immunology*, 6: 243-262. DOI: 10.1006/fsim.1996.0026.
- Qu, R., Feng, M., Wang, X., Qin, L., Wan, C., Wang, Z. and Wang, L., 2014.** Metal accumulation and oxidative stress biomarkers in liver of freshwater fish *Carassius auratus* following in vivo exposure to waterborne zinc under different

- pH values. *Aquatic Toxicology*, 150(2): 9-16. DOI: 10.1016/j.aquatox.2014.02.008.
- Rao, Y.Y., Das, B.K., Iyotymayee, P. and Chakrabarti, R., 2006.** Effect of *Achyranthes aspera* on the immunity and survival of *Labeo rohita* infected with *Aeromonas hydrophila*. *Fish and Shellfish Immunology*, 20(3): 265-273. DOI: 10.1016/j.fsi.2005.04.006.
- Sa´nchez-Reus, M.I., Go´mez del Rio, M.A., Iglesias, I., Elorza, M., Slowing, K. and Benedi´, J., 2007.** Standardized *Hypericum perforatum* reduces oxidative stress and increases gene expression of antioxidant enzymes on rotenone-exposed rats. *Neuropharmacology*, 52(2): 606-616. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2006.09.003.
- Saddiqe, Z., Naeem, I. and Maimoona, A., 2010.** A review of the antibacterial activity of *Hypericum perforatum* L. *Journal of Ethnopharmacology*, 131: 511-521. DOI: 10.1016/j.jep.2010.07.034.
- Saeidi asl, M.R., Adel, M., Caipang, C.M.A. and Dawood, A.O., 2017.** Immunological responses and disease resistance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) juveniles following dietary administration of stinging nettle (*Urtica dioica*). *Fish and Shellfish Immunology*, 71: 230-238. DOI: DOI: 10.1016/j.fsi.2017.10.016.
- Silva, B.A., Malva, J.O. and Dias, A.C., 2008.** St. John's Wort (*Hypericum perforatum*) extracts and isolated phenolic compounds are effective antioxidants in several in vitro models of oxidative stress. *Food Chemistry*, 110(3): 611-619. DOI: 10.1016/j.foodchem.2008.02.047.
- Siwicki, A.K. and Anderson, D.P., 1993.** Fish Disease Diagnosis and Prevention Methods. In: Nonspecific Defense Mechanisms Assay in Fish. II. Potential Killing Activity of Neutrophils and Macrophages Lysozyme Activity in Serum and Organs and Total Immunoglobulin Level in Serum. Polnd, Olsztyn, 105-112.
- Sonmez, A.Y., Bilen, S., Alak, G., Hisar, O., Yanik, T. and Biswas, G., 2015.** Growth performance and antioxidant enzyme activities in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) juveniles fed diets supplemented with sage, mint and thyme oils. *Fish Physiology and Biochemistry*, 41:165-175. DOI: 10.1007/s10695-014-0014-9.
- Srdic´-Rajic´, T. and Konic´Ristic, A. 2016.** Antioxidants: Role on Health and Prevention. *Encyclopedia of Food and Health*, 227-233. DOI: 10.1016/B978-0-12-384947-2.00038-6.
- Subramanian, S., MacKinnon, S.h.L. and Ross, N.W., 2007.** A comparative study on innate immune parameters the epidermal mucus of various fish species. *Comprative Biochemistry and Physiology*, 148: 256-263. DOI: 10.1016/j.cbpb.2007.06.003.
- Thompson, L, Choubert, G, Houlihan, D.F, and Secombes, C.J., 1995.** The effect of dietary vitamin A and astaxanthin on the immunocompetence of rainbow trout. *Aquaculture*, 133: 91-102. DOI: 10.1016/0044-8486(95)00024-V.

- Van den Ende, W., Peshev, D. and De Gara, L., 2011.** Disease prevention by natural antioxidants and prebiotics acting as ROS scavengers in the gastrointestinal tract. *Trends in Food Science and Technology*, 22: 689-697. DOI: 10.1016/j.tifs.2011.07.005.
- Van Hai, N., 2015.** The use of medicinal plants as immunostimulants in aquaculture: A review. *Aquaculture*, 446: 88-96. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2015.03.014.
- Vijayavel, K., Gopalakrishnan, S., Thilagam, H. and Balasubramanian, M.P., 2006.** Dietary ascorbic acid and α -tocopherol mitigates oxidative stress induced by copper in the thornfish *Terapon jarbua*. *Science of the Total Environment*, 372: 157-163. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2006.09.027.
- Watzl, B., Girrbaach, S. and Roller, M., 2005.** Inulin, oligofructose and immunomodulation. *British Journal of Nutrition*, 93: 49-55. DOI: 10.1079/BJN20041357.
- Weydert, C.J. and Cullen J.J., 2010.** Measurement of superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase in cultured cells and tissue, *Nature Protocols*, 5(1): 51-66. DOI: 10.1038/nprot.2009.197.
- Zou, Y., Lu, Y. and Wei, D., 2004.** Antioxidant activity of a flavonoid-rich extract of *Hypericum perforatum* L. in vitro. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(16): 5032-5039. DOI: 10.1021/jf049571r.

Single and combined effects of Chicory (*Cichorium intybus* L.) and *Hypericum perforatum* extracts on immune indices and antioxidant enzymes activity of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)

Farzollahi L.¹; Sarvi Moghanlou K.^{1*}; Imani A.¹

*k.sarvimoghanlou@urmia.ac.ir

1- Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, Urmia University, Urmia, Iran

Abstract

The aims of present study were to investigate the effects of Chicory (*Cichorium intybus* L.) and *Hypericum perforatum* extracts on immune indices and antioxidant enzymes activity of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). For this purpose, 720 fish with an average weight of 100 ± 5 g were randomly allocated to four distinct treatments including: a control group, 3% chicory extract, 3% extract of *H. perforatum* and combined treatment containing 1.5% chicory extract and 1.5% extract of (*H. perforatum*). The experiments lasted for 12 weeks. Immune parameters including lysozyme, alternative complement activity and total immunoglobulin content of serum along with the activity of antioxidant enzymes namely catalase, superoxide dismutase and glutathione peroxidase were measured. Our results showed that dietary supplementation of 3% chicory extract significantly increased total immunoglobulin and lysozyme enzyme activity compared to the control group ($p<0.05$). The highest level of alternative complement activity was observed in simultaneous supplementation of 1.5% chicory and 1.5% *H. perforatum* extract ($p<0.05$). Also, single and combined dietary inclusion of both herbal extracts resulted in increased SOD and GPX enzymes activity in comparison to control group received diet devoid of any herbal extract ($p<0.05$). In addition, the highest and lowest activity of catalase was observed in the control group and 3% *H. perforatum*, respectively ($p<0.05$). In conclusion, dietary inclusion of 3% Chicory extract would improve the immune indices and including 3% *H. perforatum* extract increased the antioxidant enzymes activity of rainbow trout.

Keywords: Chicory, *H. perforatum*, Immunity, Antioxidant enzymes, Rainbow trout

*Corresponding author