شیلات، مجله منابع طبیعی ایران
دوره ۷۳، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۹
صفحات ۵۱۳-۵۰۵

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

شلاله موسوی[1]*، مرضیه حیدریه[2]

۱. استادیار گروه بهداشت مواد غذایی و آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
۲. دانشیار گروه دامپزشکی و علوم دامی، پژوهشکده کشاورزی هسته‌ای، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، کرج، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹ /۰۵/۰۹ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۸/۱۴

چکیده

گیاه رزماری با نام علمی *Rosmarinus officinalis*، دارای متابولیت‌های فعال زیستیِ مختلف با خواص آنتی‌اکسیدانی، ضد التهابی، ضد سرطانی و کاهش استرس اکسیداتیو است. مطالعه حاضر به منظور بررسی کارایی عصاره تجاری گیاه رزماری بر عملکرد برخی فراسنجه‌های آنتی‌اکسیدانی و بیوشیمیایی در ماهی قرمز (*Carassius auratus*) انجام شد. ماهی‌ها با میانگین وزنی ۷/۶۰ ± ۰/۵ g به دو تیمار و یک گروه شاهد تقسیم شدند و دو تیمار با غلظت‌های ۱ و ۲ گرم در کیلوگرم عصاره رزماری به مدت ۴۰ روز تغذیه شدند. در پایان آزمایش نتایج بدست آمده نشان داد که محصول پراکسیداسیون لیپیدی (MDA) در هر دو تیمار در مقایسه با گروه شاهد کاهش یافت ($P < ۰/۰۵$). فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، شامل فعالیت کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز در هر دو تیمار در مقایسه با گروه شاهد بالاتر بود ($P < ۰/۰۵$). همچنین تغذیه با عصاره رزماری منجر به کاهش معنی‌دار میزان آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) تیمارهای آزمایشی گردید ($P < ۰/۰۵$). با استفاده از عصاره تجاری رزماری در میزان فعالیت گلوتاتیون اس- ترانسفراز و آلکالین‌فسفاتاز (ALP) در هر دو تیمار تغییری نسبت به گروه شاهد دیده نشد ($P > ۰/۰۵$). بنابراین نتایج مطالعه حاضر بیانگر این مهم است که مصرف خوراکی در دو سطح به‌کارگیری ۱ و ۲ گرم در کیلوگرم عصاره تجاری گیاه رزماری می‌تواند در بهبود عملکرد برخی شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی و محافظت از کبد در ماهی قرمز نقش مؤثری ایفا کند و نتایج بهتر نیازمند تحقیقات بیشتری می‌باشد.

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

* نویسنده مسئول: شلاله موسوی
Email: shalaleh.mousavi@tabrizu.ac.ir

Journal of Fisheries
Vol. 73, No. 4, Winter 2020
pp. 505-513

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

Shalaeh Mousavi[1*], Marzieh Heidarieh[2]

1. Department of Food Hygiene and Aquatic Animals, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tabriz, Tabriz, Iran.
2. Department of Veterinary and Animal Science, Nuclear Agriculture Research School, Nuclear Science and Technology Research Institute, Karaj, Iran.

Received: 26-Jul-2020 **Accepted: 01-Nov-2020**

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

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

Corresponding author: Shalaleh Mousavi Email: shalaleh.mousavi@tabrizu.ac.ir

۱. مقدمه

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

گیاه رزماری با نام علمی *Rosmarinus officinalis*، دارای متابولیت‌های فعال زیستیِ مختلف از دستهٔ مونوترپن‌ها، سسکوئی‌ترپن‌ها (مانند لینالول[1]، گرانیول[2]، اوژنول[3]، اوسیمن[4]، کارواکرول[5]، پی‌سیمن[6]، تیمول[7]، میرسن[8]) و فلاونوئیدهایی مانند لوتئولین[9] است. به علاوه، اسیدهای چرب فعال زیستی، مانند اسید پالمیتیک[10]، میریستیک[11] و ترکیبات فنولیک (مانند اسید رزمارینیک[12]) نیز در این گیاه وجود دارد که بخش عمده‌ای از اثرات داروئی رزماری را موجب می‌شوند که شامل خواص آنتی‌اکسیدانی، ضد التهابی، ضد سرطانی و کاهش استرس اکسیداتیو می‌باشد (Reverter et al., 2017). براساس برخی مطالعات انجام گرفته اثرات مثبت رزماری در حفاظت از کبد، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و در نتیجه کاهش استرس اکسیداتیو و ترمیم زخم در رت و انسان ثابت شده‌است (Raskovic *et al*., 2014; Minaiyan *et al*., 2011; De Oliveria et al., 2019). در برخی مطالعات اثرات مثبت رزماری بر رشد و فراسنجه‌های بیوشیمیایی و سیستم ایمنی گونه‌های مختلف ماهی مانند ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) و ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) مورد مطالعه قرار گرفته است که براساس این مطالعات عصاره رزماری موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و بهبود عملکرد کبد در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، ماهی کپور و سیم سر طلائی دریایی (*Sparus aurata*) می‌گردد (Peiretti *et al*., 2012; Ozyurt; 2013; Hernandez *et al*., 2015; Karatas *et al*., 2020).

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

[1] Linalool
[2] Geraniol
[3] Eugenol
[4] Ocimene
[5] Carvacrol
[6] Cymene
[7] Thymol
[8] Myrcene
[9] Luteolin
[10] Palmitic acid
[11] Myristic acid
[12] Rosemarinic acid

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

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

۲. مواد و روش‌ها

این مطالعه در مزرعه پرورش ماهیان آکواریومی در آمل انجام گرفت. در مجموع ۹۰ قطعه ماهی با میانگین وزنی ۰/۵ ± ۷/۶ گرم به صورت تصادفی و مساوی در شش تانک شیشه‌ای (دو تکرار برای هر گروه) با ابعاد ۲۰ × ۳۰ × ۶۰ سانتی‌متر قرار گرفتند. هوادهی در تانک‌ها با استفاده از سنگ هوا و تعویض روزانه آب تانک‌ها با آب تازه (۵۰ درصد) انجام گرفت. دمای آب و اکسیژن محلول در آب و pH در طول دوره ۴۰ روزه به ترتیب ۲۵-۲۴/۵ °C درجه سانتیگراد، ۷/۵-۷ $mg\ l^{-1}$ بود. خوراک تجاری پایه مورد استفاده در این مطالعه، مربوط به شرکت بیومار فرانسه بود و دارای میزان رطوبت ۱۱درصد، پروتئین خام ۳۶درصد، چربی کل ۱۴درصد، خاکستر ۱۰درصد، فیبر ۴درصد بود.

جیره مورد استفاده با افزودن ۱ و ۲ گرم در کیلوگرم عصاره (الکلی) تجاری رزماری (شرکت سهاجیسا، سلمان شهر، ایران) به خوراک تجاری پایه به دست آمد. غلظت انتخاب شده براساس اثرات مثبت ایجاد شده با این مقدار در مطالعه‌ای دیگر در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بود (Karatas *et al*., 2020). عصاره رزماری، با اسپری کردن ۲۰ میلی‌لیتر روغن ماهی به ازای هر کیلوگرم خوراک افزوده شد. در گروه کنترل نیز خوراک پایه فاقد عصاره رزماری مورد مصرف قرار گرفت. جهت یکسان سازی، به خوراک گروه کنترل تنها ۲۰ میلی‌لیتر روغن ماهی به ازای هر کیلوگرم جیره پایه اسپری گردید (Sheikhzadeh *et al*., 2019). پس از خشک شدن پلت‌ها، خوراک در داخل پلاستیک‌های جداگانه ریخته شد و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگه داری گردید. غذادهی در ۲ نوبت در ساعات ۱۰ و ۱۷ انجام گرفت. قابل ذکر است به منظور حفظ سلامت خوراک و جلوگیری از واکنش‌ها و فعل و انفعالات باکتریایی در جیره، آماده سازی خوراک به صورت روزانه انجام گردید.

۱.۲. نحوه نمونه‌برداری

در پایان دوره (روز ۴۰ام آزمایش) تغذیه با عصاره گیاه رزماری، ده ماهی به صورت تصادفی از هر تانک شیشه‌ای به صورت جداگانه با عصاره گل میخک (۵۰ $\mu l\ l^{-1}$) بی‌هوش شده و پس از خون‌گیری از ساقه دمی، نمونه‌های خونی به منظور جداسازی سرم به لوله‌های فاقد هپارین ریخته شد. پس از لخته شدن خون، سرم موجود در لوله‌های فاقد هپارین با استفاده از دستگاه سانتریفیوژ (۳۰۰۰ × g به مدت ۵ دقیقه) جمع‌آوری و در دمای ۲۰- °C نگهداری شد (Mousavi *et al*., 2020) و تمام آزمایشات در دانشکده دامپزشکی دانشگاه تبریز انجام گرفت.

۲.۲. سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدان

اندازه‌گیری میزان پراکسیداسیون لیپیدی با روش تیوباربیتوریک اسید انجام گرفت که به طور خلاصه به نمونه ۲/۵ ml TCA ۲۰درصد اضافه و در دور ۱۵۰۰ × g به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. ۲/۵ ml

اسیدسولفوریک M ۰/۰۵ مول و ۲ میلی‌لیتر تیوباربیتوریک اسید ۰/۲ درصد به رسوب حاصل از سانتریفیوژ اضافه شد و به مدت ۳۰ دقیقه در بن‌ماری قرار گرفت؛ سپس ۴ میلی‌لیتر n بوتانول به محلول اضافه و سانتریفیوژ گردید و پس از خنک شدن، میزان جذب نوری محلول رویی در طول موج ۵۳۲ nm توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (Unico 2100 PC, China) قرائت شد (Bordoni *et al*., 2019). اندازه‌گیری آنزیم گلوتاتیون‌پراکسیداز در طول موج ۳۴۰ nm نانو متر و توسط کیت راندوکس انجام گرفت. اساس آزمایش بر اکسیداسیون گلوتاتیون‌پراکسیداز و احیاء آن توسط گلوتاتیون–ردوکتاز، اکسیداسیدون NADPH و تولید NADP+ استوار است (Aebi, 1974). فعالیت آنزیم کاتالاز براساس فرایند تجزیه پراکسید هیدروژن و تشکیل کمپلکس با ثبات با مولیبدات آمونیوم اندازه‌گیری شد. تغییرات رنگی مولیبدات و پراکسید هیدروژن در طول موج ۴۰۵ nm خوانده شد (Aebi, 1974). از کیت راندوکس جهت اندازه‌گیری آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز بر اثر فعالیت آنزیمی گزانتین اکسیداز استفاده شد و تولید رنگ فورمازین در طول موج ۵۰۵ nm قرائت شد (Aebi, 1974). میزان آنزیم گلوتاتیون اس-ترانسفراز به روش اسپکتروفتومتری و با استفاده از دی تیو – بیس نیتروبنزوئیک اسید (DTNB) براساس روش المان انجام گرفت و در طول موج ۳۵۰ nm قرائت شد (Aebi, 1974).

۳.۲. سنجش فعالیت آنزیم‌های کبدی

سنجش آلکالین‌فسفاتاز، توسط کیت پارس آزمون انجام گرف.در این روش پارانیتروفنیل فسفات بی‌رنگ تحت تأثیر آلکالین فسفاتاز به فسفات معدنی و پارانیتروفیل که ترکیب زرد رنگی است تبدیل می شود و جذب نوری آن در طول موج ۴۰۵ نانومتر قرائت شد (Sheikhzadeh *et al*., 2012). به منظور اندازه‌گیری آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز نیز از کیت پارس آزمون استفاده شد که اساس آزمون بر تشکیل اگزالواستات و ال‌گلوتامات در حضور آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز است که در مرحله بعد اگزالواستات در حضور آنزیم مالات دهیدروژناز به ال-مالات تبدیل شده و کاهش جذب نوری واکنش در طول موج ۳۴۰ nm نانومتر قرائت شد (Sheikhzadeh *et al*., 2012).

۴.۲. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

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

۳. نتایج

میزان پراکسیداسیون لیپیدی در تیمارها در مقایسه با گروه شاهد کاهش معنی‌داری داشت ($P> ۰/۰۵$). بررسی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نیز نشان‌دهنده افزایش میزان فعالیت سوپراکسید دیسموتاز در غلظت ۲ $g\ kg^{-1}$، کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز در هر دو تیمار در مقایسه با گروه شاهد بود ($P< ۰/۰۵$). اما اختلاف معنی‌داری در میزان فعالیت آنزیم گلوتاتیون اس ترانسفراز در دو تیمار در مقایسه با گروه شاهد دیده نشد ($P> ۰/۰۵$) (جدول ۱).

فعالیت آنزیم آسپارتات آمینو ترانسفراز در هر دو تیمار کاهش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد داشت. اما فعالیت آنزیم آلکالین‌فسفاتاز در هر دو تیمار در مقایسه با گروه شاهد تغییر معنی‌داری را نشان ندادند ($P> ۰/۰۵$) (جدول ۲).

۴. بحث

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

فراوان حین دوره پرورش ماهی باشند، مورد توجه هستند. در سال‌های اخیر به دلیل توجه به حفظ محیط زیست و بهره‌گیری از مواد فاقد باقی‌ماندگی در محیط زیست، استفاده از مواد محرک رشد و ایمنی گیاهی در حال افزایش است.

جدول۱- میزان فعالیت آنتی اکسیدانی در ماهی‌های قرمز تغذیه شده با عصاره تجاری گیاه رزماری و خوراک پایه

فاکتورهای بررسی شده	(۰ g kg⁻) رزماری	(۱ g kg⁻) رزماری	(۲ g kg⁻) رزماری
میزان پراکسیداسیون لیپیدی (µmol mgpr⁻)	۲۰/۲۸ ± ۰/۳۴*	۱۳/۷۳ ± ۰/۴۱**	۱۲/۱۸ ± ۰/۸۹**
سوپراکسید دیسموتاز (U mgpr⁻)	۳/۱۷ ± ۰/۲۲*	۳/۳۵ ± ۰/۰۹*	۴/۵۴ ± ۰/۱۴ **
کاتالاز (U mgpr⁻)	۱۳/۸۳ ± ۱/۲۰*	۲۲/۰۱ ± ۰/۶۲**	۲۱/۸۸ ± ۰/۱۹ **
گلوتاتیون اس-ترانسفراز (U mgpr⁻)	۱۲/۹۳ ± ۰/۷۵	۱۳/۱۸ ± ۰/۵۹	۱۴/۰۴ ± ۰/۱۲
گلوتاتیون پراکسیداز (U mgpr⁻)	۱۸/۳۱ ± ۱/۴۹*	۲۵/۱۷ ± ۱/۳۱**	۲۶ ± ۰/۲۳ **

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

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

جدول۲- مقایسه میانگین فعالیت بیوشیمیایی در ماهی‌های قرمز تغذیه شده با عصاره رزماری و خوراک پایه

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

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

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

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

استرس اکسیداتیو در بدن نشان‌دهنده عدم تعادل بین تولید گونه‌های فعال اکسیژن و توان دفاع آنتی‌اکسیدانی برای سم‌زدائی این واسطه‌های فعال می‌باشد. مالون دی آلدئید محصول کوچک اما پایدار پراکسیداسیون لیپیدی است که از تجزیه پراکسیدهای ناپایدار اسیدهای چرب غیراشباع که در ماهی فراوانند ایجاد می شود (Vinagre *et al*., 2012).

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

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

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

همچنین در مطالعه حاضر تفاوت معنی‌داری در فعالیت آنزیم کبدی آلکالین فسفاتاز متعاقب استفاده از ۱ و ۲ گرم در کیلوگرم عصاره رزماری مشاهده نشد. در آزمون‌های بیوشیمیایی افزایش آنزیم‌های کبدی نشان‌دهنده نشت سلولی بوده که به دلیل آسیب غشای هپاتوسیت ها اتفاق می‌افتد. از طرفی میزان آنزیم آسپارتات آمینو ترانسفراز در تیمارها کاهش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد داشتند، که مطالعه انجام شده توسط کارتاش و همکاران (۲۰۲۰) نتایج مشابهی را بود که در آن مقادیر آنزیم‌های آلانین آمینوترانسفراز پس از استفاده خوراکی ۱ و ۳ گرم در کیلوگرم رزماری و آسپارا تات آمینوترانسفراز پس از استفاده خوراکی ۳ گرم در کیلوگرم رزماری به طور معنی‌داری در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان کاهش یافت که نشان‌دهنده اثرات محافظتی مقادیر ۱ و ۳ گرم در کیلوگرم رزماری در کبد ماهی می‌باشد. میزان آنزیم آلانین آمینوترانسفراز در گروه شاهد و تیمارهای ۱ و ۳ گرم در کیلوگرم رزماری به ترتیب ۴/۰۱ ± ۳۶/۸، ۱/۹ ± ۱۷/۲ و ۱/۹ ± ۱۵/۲ واحد بین‌المللی در لیتر و میزان آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز در گروه شاهد و تیمارهای ۱ و ۳ گرم در کیلوگرم رزماری به ترتیب ۷/۹ ± ۷۰۰، ۱۴/۷ ± ۷۰۳/۲ و ۷/۴ ± ۶۳۱ واحد بین‌المللی در لیتر بود (Karatas *et al*., 2020). رامادان (۲۰۱۷)، به بررسی اثر خوراکی ۰/۵ ml عصاره برگ رزماری (به مدت ۶ هفته) در رت‌های آلبینو مسموم شده با اتانول پرداخت. در گروه دریافت کننده رزماری علاوه بر کاهش معنی‌دار MDA و پراکسیداسیون لیپیدی، کاهش آنزیم های ALT، AST و ALP نیز مشاهده شد (Ramadan Samaha, 2017) که با نتایج مطالعه حاضر هم‌خوانی دارد. در مطالعات دیگر نیز عدم سمیت رزماری و نقش محافظتی آن در بافت کبد تائید شده است (De Oliveria *et al*., 2019; Hernandez *et al*., 2015).

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

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

تشکر و قدردانی

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

۵. منابع

References

Aebi, H., 1974. Methds of enzymatic analysis. In Bergmeyer, H.U., Ed., Verlag Chemie/Academic Press. Weinheim/NewYork. Pp. 673-690.

Birnie-Gauyin, K., Costantini, D., Cooke, S.J., Willmore, W.G., 2017. A comparative and evolutionary approach to oxidative stress in fish: A review. *Fish and Fisheries* 18(5), 928-942.

Bordoni, L., Fedeli, D., Nasuti, C., Maggi, F., Papa, F., Wabitsch, M., De Caterina, R., Gabbianelli, R., 2019. Antioxidant and Anti-Inflammatory Properties of *Nigella sativa* Oil in Human Pre-Adipocytes. *Antioxidants (Basel)* 8(2), 51.

De Oliveria, J.R., Esteves Afanso Camargo, S., De Oliveria, L.D., 2019. *Rosmarinus officinalis* L. (rosemary) as therapeutic and prophylactic agent. *Journal of Biomedical Science* 26(1), 5.

Hernandez, A., Garcia Garcia, B., Caballero, M., Hernandez, M.D., 2015. Preliminary insights into the incorporation of rosemary extract (*Rosmarinus officinalis L.*) in fish feed: influence on performance and physiology of gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Fish Physiology and Biochemistry* 41(4), 1065-1074.

Karatas, T., Korkmaz, F., Karatas, A., Yildirim, S., 2020. Effects of Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) extract on growth, blood biochemistry, immunity, antioxidant, digestive enzymes and liver histopathology of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss. Aquaculture Nutrition* https://doi.org/10.1111/anu.13100.

Kuang, Y.K., Zheng, X.H., Li, C.Y., Li, X.M., Cao, D.C., Tong, G.H., LV, W.H., Xu, W., Zhou, Y., Zhang, X.F., Sun, Z.P., Mahboob, S., Al-Ghanim, K.A., Li, J.T., Sun, X.W., 2016. The genetic map of goldfish (*Carassius auratus*) provided insights to the divergent genome evolutions in the Cyprinidae family. *Scientific Reports* 6 34849, doi:10.1038/srep34849.

Minaiyan, M., Ghannadi, A.R., Afsharipour, M., Mahzouni, P., 2011. Effects of extract and essential oil of *Rosmarinus officinalis L.* on TNBS-induced colitis in rats. *Research in Pharmaceutical Sciences* 6(1), 13-21.

Moreno, S., Scheyer, T., Romano, C.S., Vojnov, A.A., 2006. Antioxidant and antimicrobial activities of rosemary extracts linked to their polyphenol composition. *Free Radical Research* 40(2), 223-231.

Mousavi, S., Sheikhzadeh, N., Tayefi-Nasrabadi, H., Alizadeh-Salteh, S., Khani Oushani, A., Firouzamandi, M., Mardani, K., 2020. Administration of grape (Vitis vinifera) seed extract to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) modulates growth performance, some biochemical parameters, and antioxidant-relevant gene expression. *Fish Physiology and Biochemistry* 46(3), 777-786.

Ozyurt, G., 2013. Effects of Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) extract addition on oxidative stability of fried sea bream (*Sparus aurata*) during chill storage (4C). *Journal of Food Processing and Preservation* 37(6), 1039-1042.

Peiretti, P.G., Gai, F., Ortoffi, M., Aigotti, R., Medana, C., 2012. Effects of Rosemary Oil (*Rosmarinus officinalis*) On the Shelf-Life of Minced Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) during Refrigerated Storage. *Foods* 1(1), 28-39.

Ramadan Samaha, S. 2017. Effects of rosemary extract supplementation on ethanol induced liver injury in adult male albino rat. *Al-Azhar medical journal* 46(2), 373-382.

Raskovic, A., Milanovic, I., Pavlovic, N., Cebovic, T., Vukmirovic, S., Mikov, M. 2014. Antioxidant activity of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) essential oil and its hepatoprotective potential. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 14(-), 225.

Reverter, M., Tapissier-Bontemps, N., Sasal, P. and Saulnier, D., 2017. "Use of Medicinal Plants in Aquaculture". In: *Diagnosis and Control of Diseases of Fish and Shellfish* edited by Austin A, Newaj-Fyzul A, 223-261. New Jersey: John Wiley & Sons Ltd.

Rezanejad, R., Heidarieh, M., Ojagh, S.M., Rezaei, M., Raeisi, M., Alishahi, A.R., 2020. Values of antioxidant activities (ABTS and DPPH) and ferric reducing and chelating powers of gamma-irradiated rosemary extract. *Radiochimica Acta*, 108(6), 477–482.

Rezanejad, R., Ojagh, S.M., Heidarieh, M., Raeisi, M., Alishahi, A.R., Rafiee, G.R., 2019. The Impact of Diets Supplemented with Different Forms of Rosemary and BHA on Chemical, Microbial and Sensory Properties of Rainbow Trout Fillet. Journal of Aquatic Food Product Technology, 28(5), 478-494.

Sathishkumar, T., Seetha Lakshmi, S., Archana, K., Aishwarya, M., Divya, S., Kumaresan, K., Stephen Raphael, V., Muthukumaran, V., Krishnaveni, V., 2017. Evaluation of in vitro cholesterol esterase and α-amylase inhibitory activities of purified polyphenols from *Nigella sativa* seeds. *International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences* 8(3), 327-335.

Sheikhzadeh, N., Tayefi-Nasrabadi, H., Khani Oushani, A., Najafi enferadi, H., 2012. Effects of *Haematococcus pluvialis* supplementation on antioxidant system and metabolism in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish Physiology and Biochemistry* 38(-), 413-419.

Sheikhzadeh, N., Nootash, Sh., Khani Oushani, A., Mousavi, S., Tahapour, K., 2019. Expression analysis of IFN-γ, MX1, MX2, MX3 and HSP70 genes in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) administrated with green tea (*Camellia sinensis*). *Iranian Veterinary Journal* 15(3), 32-40.

Ural, M.S., Karatas, F., Calta, M., 2015. Some Antioxidants and Malondialdehyde Levels in the Flesh of Rainbow Trout, (*Oncorhynchus mykiss* W., 1792) from Various Feeding Habitats. *Cellular and Molecular Biology* 61(7), 23-26.

Van Hai, N., 2015. The use of medicinal plants as immunostimulants in aquaculture: A review. *Aquaculture* 446(-), 88–96.

Vinagre, C., Madeira, D., Narciso, L., Cabra, H.N. and Diniz, M., 2012. Effect of temperature on oxidative stress in fish: Lipid peroxidation and catalase activity in the muscle of juvenile seabass, *Dicentrarchus labrax*. *Ecological Indicators* 23(-), 274-279.