

بررسی تاثیر افزودن آلوئه ورا (*Aloe barbadensis*) به جیره غذایی بر عملکرد رشد و برخی شاخص‌های خونی و سرمی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در چالش با ساپروولگنیا پارازیتیکا

زینبده محرابی^۱، فرید فیروزبخش^{۲*}، قدرت اله رحیمی^۳، حامد کلنگی^۴

۱. دانشجوی دکتری شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران.

۲. دانشیار گروه شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران.

۳. استاد گروه علوم دامی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران.

۴. استادیار گروه شیلات و محیط زیست دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۲/۱۸ تاریخ تصویب: ۱۳۹۶/۷/۹

چکیده

در این تحقیق اثرات آلوئه ورا بر عملکرد رشد، شاخص‌های خون‌شناسی و بیوشیمیایی سرم و مقاومت ماهی در برابر ساپروولگنیا پارازیتیکا به مدت ۸ هفته مورد مطالعه قرار گرفت. پودر آلوئه ورا به میزان ۵، ۱۰ و ۱۵ گرم بر کیلوگرم به جیره‌ی غذایی پایه اضافه شد و در پایان ۸ هفته تغذیه، ماهیان در معرض قارچ ساپروولگنیا پارازیتیکا قرار گرفتند. نتایج نشان داد که تمامی تیمارهای تغذیه شده با آلوئه ورا افزایش معنی داری در ضریب رشد ویژه، افزایش وزن و کاهش ضریب تبدیل غذایی نسبت به تیمار شاهد نشان دادند. همچنین شاخص‌های خون‌شناسی و سرمی ماهیان تیمار شده با آلوئه ورا افزایش معنی داری نسبت به گروه شاهد داشتند. هر چند کاهش معنی دار تلفات در تیمار تغذیه شده با ۱۵ گرم آلوئه ورا بر کیلوگرم جیره نسبت به سایر تیمارها و شاهد بعد از چالش با قارچ ساپروولگنیا پارازیتیکا مشاهده شد ولی درصد بازماندگی ۵ گرم آلوئه ورا بر کیلوگرم جیره در مقایسه با شاهد افزایش معنی داری داشت. بر اساس نتایج حاصله، استفاده از پودر آلوئه ورا به ویژه به میزان ۵ گرم بر کیلوگرم در جیره ماهی قزل‌آلای رنگین کمان، به منظور بهبود شاخص‌های رشد و ایمنی و همچنین افزایش مقاومت ماهیان در برابر ساپروولگنیا پارازیتیکا توصیه می‌شود.

واژگان کلیدی: آلوئه ورا، رشد، پاسخ‌های ایمنی، ساپروولگنیا پارازیتیکا، قزل‌آلای رنگین کمان.

Archive of SID

۱. مقدمه

صنعت آبی‌پروری طی سالیان اخیر رشد و توسعه قابل توجهی داشته است به طوری که میزان رشد آن قابل قیاس با سایر بخش‌های تولیدکننده‌ی غذا برای انسان نیست (FAO, 2014). یکی از مهمترین عوامل زیان‌آور در صنعت آبی‌پروری بیماری‌های قارچی می‌باشند که از لحاظ درجه اهمیت بعد از بیماری‌های باکتریایی قرار دارند (Bruno and Woo, 1994). ساپروولگنیوز از دسته عفونت‌های قارچی و مهمترین بیماری قارچی ماهیان آب شیرین و تخم آن‌ها می‌باشد (Noga, 1996). هرگونه تغییر در شرایط فیزیولوژیکی ماهی که معمولاً به دنبال شرایط استرس‌زای ناشی از تراکم زیاد ماهی در استخر، حمل و نقل و دستکاری‌ها صورت می‌گیرد باعث تهاجم عوامل عفونی از جمله قارچ‌ها می‌شود (Woo and Bruno, 2011). از طرفی اثرات مخرب مواد شیمیایی نظیر مالاشیت گرین برای درمان ماهیان قارچ زده کاربرد آن‌ها را تا حد زیادی متوقف ساخته است (Woo and Bruno, 2011). در سال‌های اخیر استفاده از محرک‌های ایمنی با منشأ گیاهی به دلیل در دسترس تر بودن، خطرات کمتر برای محیط زیست و آبی‌پروری و قیمت پایین تر روندی رو به رشد در صنعت آبی‌پروری داشته است (Van Hai, 2015). این مکمل‌ها علاوه بر تحریک اشتها و بهبود شاخص‌های رشد، با تحریک سیستم ایمنی، منجر به افزایش مقاومت ماهی نسبت به استرس‌های محیطی و بیماری‌های مختلف آبزیان می‌گردند (Mohapatra et al., 2013; Reverter et al., 2014; Amirkhani and Firouzbakhs, 2015). به لحاظ تنوع مولکولی در عصاره‌های گیاهی و راحت‌تر تجزیه شدن ترکیبات حاصل از این گیاهان نسبت به داروهای سنتتیک، مقاومت دارویی در میکروارگانیسم‌ها به ندرت ایجاد می‌شود (Logambal et al., 2000; Olusola et al., 2013).

آلوئه‌ورا (*Aloe vera*) با ظاهری شبیه به کاکتوس از خانواده Liliaceae و بومی مناطق گرمسیری است که ترکیباتی نظیر آلوئین، فامودین، آنتراکینون، ایزوباربالوئین در آن یافت می‌شود (Atherton, 1998; Mandrioli et al., 2011). در مطالعات مختلف خواص دارویی بسیار متنوعی مانند

اثرات ضدالتهابی (Davis et al., 1994)، ضد ویروسی (Li et al., 2014)، ضد باکتریایی (Habeb et al., 2007)، ضد قارچی (Dasa et al., 2011)، ضد رادیواکتیویته (Shailja et al., 1998) و محرک سیستم ایمنی (Zanuzzo et al., 2012) به این گیاه نسبت داده شده است. از این رو با توجه به خواص دارویی فراوان گیاه آلوئه‌ورا، مطالعه‌ی حاضر به بررسی اثرات این گیاه بر عملکرد رشد، شاخص‌های خونی و ایمنی سرم و همچنین مقاومت ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان در برابر ساپروولگنیا پارازیتی‌کا پرداخته است.

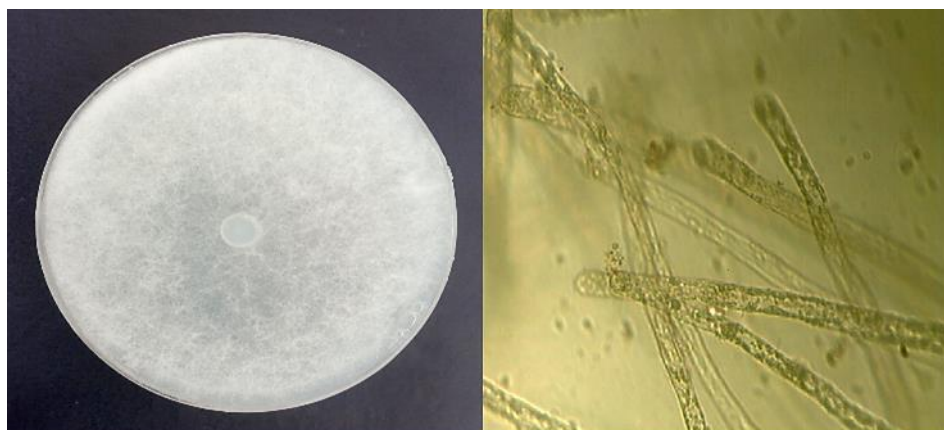
۲. مواد و روش‌ها

۲.۱. تهیه ماهی و شرایط پرورش

پس از تهیه‌ی ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان از مراکز معتبر پرورشی شمال کشور به منظور سازگاری آنها با شرایط جدید پرورشی، ماهیان با میانگین وزنی $10/89 \pm 0/67$ گرم در ۱۲ مخزن در قالب ۴ تیمار (۶۶ ماهی برای هر تیمار و در سه تکرار) توزیع شدند. میانگین پارامترهای فیزیوشیمیایی آب طی دوره پرورش شامل: دمای آب $15/14 \pm 0/79^{\circ}\text{C}$ ، اکسیژن محلول $7/14 \pm 0/13$ ppm و PH آب برابر $7/30 \pm 0/2$ بود.

۲.۲. آماده‌سازی جیره و دوره پرورش

در این مطالعه از غذای تجاری بیضاء ساخت ایران حاوی مقادیر پروتئین خام ۴۶٪، چربی خام ۱۴٪، فیبر خام ۲٪ و خاکستر ۱۵٪ به‌عنوان جیره پایه استفاده شد. برای تهیه‌ی جیره‌های غذایی تیمارهای مختلف، به ترتیب میزان ۵، ۱۰ و ۱۵ گرم از پودر آلوئه‌ورا وزن و به همراه آب مقطر به هر کیلوگرم از جیره‌ی پایه اضافه شد. در جیره‌ی غذایی گروه شاهد فقط آب مقطر به غذا اضافه شد. ترکیب خمیری حاصل با کمک چرخ گوشت به صورت رشته‌ای درآمده و پس از آن رشته‌ها در جریان هوای خشک و در سایه خشک و به شکل پلت خرد شدند. میزان غذای روزانه بچه‌ماهیان بر حسب درصد وزن بدن، دمای آب و براساس جدول غذادهی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان تعیین شد و ماهیان به مدت ۸ هفته و ۳ نوبت در روز (صبح، ظهر و عصر) با جیره‌های آماده شده تغذیه شدند.



(الف)

(ب)

شکل ۱- تصویر ماکرو سکویی (الف) و میکرو سکویی (ب) از قارچ ساپروولگنیا پارازیتیکا جدا سازی شده از قزل آلی رنگین کمان آلوده به قارچ.

پروتئین تام و آلبومین به روش (Bradford, 1976) و توسط کیت های تجاری زیست شیمی انجام شد. با به دست آوردن تفاضل این دو مقدار گلوبولین بدست آمد (Nayak *et al.*, 2008).

۵.۲. فعالیت لیزوزیم

۲۵ میکرولیتر سرم به میکرو پلیت های ۹۶ خانه ای الایزا، افزوده شد. سپس ۱۷۵ میکرولیتر سوسپانسیون باکتری *Micrococcus lysodeikticus* (Sigma M 3770) اضافه گردید. جذب نوری در دمای اتاق در طول موج ۴۵۰ نانومتر اندازه گیری شد. از لیزوزیم سفیده تخم مرغ لیوفلیزه شده (HEWL; Sigma, USA) به منظور ترسیم منحنی استاندارد استفاده گردید (Kumari, 2006).

۶.۲. تهیهی ژئوسپور قارچ ساپروولگنیا

پارازیتیکا

به منظور تهیه ایزولهی خالص قارچ، از قزل آلی رنگین کمان آلوده به قارچ نمونه گیری به عمل آمده و تایید جنس و گونه از طریق کلیدهای شناسایی معتبر انجام گرفت (شکل ۱). به منظور جداسازی ژئوسپور قارچ، قطعات مدور از آگار (به قطر ۱ سانتی متر) به همراه رشته های قارچی از پلیت به لوله های آزمایش حاوی آب مقطر استریل و بذر شاهدانه منتقل شد و به مدت یک هفته در دمای ۲۰-۱۸ درجه سانتی گراد انکوبه شد، پس از تشکیل ژئوسپورانژیوم و برای جداسازی ژئوسپور، محتوی لوله ها سانتریفیوژ (۳۰۰۰

۳.۲. ارزیابی فراسنجه های رشد

به منظور ارزیابی تأثیر سطوح مختلف پودر آلوده ورا بر شاخص های رشد بچه ماهیان قزل آلی رنگین کمان و مقایسه بین تیمارهای مختلف، به فاصله زمانی ۱۴ روز یکبار وزن ماهیان هر تیمار اندازه گیری شد. میانگین افزایش وزن بدن، ضریب رشد ویژه (SGR)، ضریب تبدیل غذایی (FCR) و درصد بازماندگی (SR%) طبق روابط زیر محاسبه شد.

وزن اولیه (g) - وزن نهایی (g) = افزایش وزن بدن (g)

$$\frac{(\ln(\text{وزن اولیه}) - \ln(\text{وزن نهایی}))}{\text{طول دوره پرورش}} \times 100 = \text{ضریب رشد ویژه}$$

$$\frac{\text{غذای خشک داده شده (g)}}{\text{وزن اضافه شده (g)}} = \text{ضریب تبدیل غذایی}$$

$$\frac{[\text{تعداد ماهیان اولیه} / \text{تعداد ماهیان باقی مانده}]}{\text{بازماندگی}} \times 100$$

۴.۲. خون گیری و انجام آزمایشات خون شناسی و

بیوشیمیایی سرم

در انتهای دوره، تعداد ۵ ماهی از هر تکرار به طور تصادفی انتخاب و بعد از بیهوشی با پودر گل میخک خونگیری از ورید ساقه ی دمی انجام شد. برای اندازه گیری هموگلوبین از روش سیانومت هموگلوبین (Houston, 1990)، همتاکریت از روش میکروهمتاکریت (Borges *et al.*, 2004) و شمارش کلی گلبول های سفید و قرمز به روش دستی و با استفاده از لام هموسیتومتر نتوبار و محلول نات-هریک انجام شد (Stoskopf, 1993). سنجش مقادیر



(الف)



(ب)

شکل ۲- تصویر قزل آلابی رنگین کمان قبل (الف) و بعد از فلس برداری از ناحیه-ی ساقه ی دم (ب).

از تلقیح قارچ، غذادهی و تعویض آب حذف شد و پس از این مدت تعویض آب روزانه به میزان ۲/۳ حجم آب آکواریوم و غذادهی طبق جدول تغذیه‌ای و درصد وزن بدن انجام گرفت. به منظور تایید تلفات ناشی از آلوده-سازی با قارچ و عدم تاثیر فلس برداری و حذف موکوس در تلفات، یک گروه شامل ۲۲ قطعه ماهی که عملیات فلس برداری و حذف موکوس در آنها انجام شده بود، به عنوان گروه کنترل برای هر یک از تیمارهای آلوده شده با ساپروولگنیا پارازیتیکا در نظر گرفته شد.

دور در دقیقه و به مدت ۱۰ دقیقه) شد. ابتدا شرایط لازم برای تولید زئوسپور آماده شد و پس از اطمینان از وجود سیست و یا زئوسپورهای ثانویه شمارش با لام هماسیتومتر انجام گرفت. دوز آلوده‌سازی براساس تحقیقات پیشین به میزان (3×10^5) زئوسپور به ازای هر لیتر در نظر گرفته شد (Firouzbaksh *et al.*, 2014).

۷.۲. آلوده‌سازی ماهیان با قارچ ساپروولگنیا پارازیتیکا

در پایان ۸ هفته تغذیه با آلوئه ورا، تعداد ۳۰ ماهی از هر تیمار (۳ تکرار ۱۰ تایی) جهت آزمایش بیماری‌زایی با قارچ به طور تصادفی انتخاب شدند. طبق روش Firouzbaksh و همکاران (۲۰۱۴) و با اندکی تغییرات، جهت ایجاد استرس و کاهش سطح محافظتی موکوس روی بدن ماهی و متعاقب آن افزایش نفوذپذیری زئوسپورها، بعد از بیهوش کردن ماهیان با پودر گل میخک، فلس برداری از ناحیه‌ی ساقه ی دم ماهیان به اندازه ۳ سانتیمتر انجام شد (شکل ۲). سپس ماهیان در دسته‌های ۵ تایی داخل توری (با اندازه چشمه ۶ میلی متر) قرار گرفته و به مدت ۱ دقیقه داخل آب به آرامی تکان داده شدند. سپس جهت حذف موکوس اضافی، سطح بدن ماهیان با آب شستشو داده شد. پس از آن ماهیان به آکواریوم‌های حاوی زئوسپور ساپروولگنیا پارازیتیکا ($3 \times 10^5 L^{-1}$) منتقل شدند. ۳ روز قبل از تلقیح قارچ، غذادهی و ۳ روز بعد

۸.۲. تجزیه و تحلیل آماری

نرمال بودن داده‌ها بر اساس آزمون Kolmogorov-Smirnov مورد ارزیابی قرار گرفت. تجزیه و تحلیل داده‌ها به روش تجزیه واریانس یکطرفه (ANOVA) در سطح اطمینان ۹۵٪ ($P < 0.05$) و با استفاده از نرم افزار SPSS۲۲ انجام شد. مقایسه میانگین‌ها نیز با آزمون توکی صورت گرفت. نتایج به صورت میانگین به همراه انحراف معیار نشان داده شده است.

۳. نتایج

تمامی تیمارهای تغذیه شده با سطوح مختلف آلوئه ورا، حتی کمترین سطح آن (۵ گرم بر کیلوگرم)، اختلاف معنی‌داری در افزایش وزن، ضریب رشد ویژه و ضریب تبدیل غذایی نسبت به گروه شاهد نشان دادند

جدول ۱- اثر مکمل سازی جیره قزل آلابی رنگین کمان با پودر آلوده ورا بر فراسنجه های رشد و ضریب تبدیل غذایی (میانگین \pm انحراف معیار) در مدت ۸ هفته

تیمار/شاخص	وزن اولیه (g)	افزایش وزن (g)	ضریب رشد ویژه (% day ⁻¹)	ضریب تبدیل غذایی
شاهد	۱۰/۸۹±۰/۸۸ ^a	۱۸/۰۷±۱/۵۱ ^a	۱/۷۴±۰/۱۸ ^a	۱/۵۲±۰/۱۲ ^a
آلوده ورا (۵ گرم بر کیلوگرم جیره)	۱۰/۸۳±۰/۹۶ ^a	۲۶/۲۸±۱/۴۷ ^b	۲/۱۹±۰/۱۸ ^b	۱/۱۹±۰/۰۷ ^b
آلوده ورا (۱۰ گرم بر کیلوگرم جیره)	۱۰/۸۸±۰/۶۹ ^a	۲۵/۸۰±۱/۵۳ ^b	۲/۱۶±۰/۱۴ ^b	۱/۲۳±۰/۰۷ ^b
آلوده ورا (۱۵ گرم بر کیلوگرم جیره)	۱۰/۹۷±۰/۵۰ ^a	۲۹/۰۱±۱/۰۶ ^b	۲/۲۹±۰/۰۹ ^b	۱/۱۶±۰/۰۴ ^a

حروف غیر همنام در هر ستون نشان دهنده ی تفاوت معنی دار در سطح ۰/۰۵ است.

جدول ۲- اثر مکمل سازی جیره قزل آلابی رنگین کمان با پودر آلوده ورا بر فراسنجه های خون شناسی (میانگین \pm انحراف معیار) در مدت ۸ هفته

تیمار/شاخص	گلبول سفید ($\times 10^3 \mu\text{L}$)	گلبول قرمز ($\times 10^6 \mu\text{L}$)	هماتوکریت (%)	هموگلوبین (g/dL)
شاهد	۱۳/۶۰±۰/۲۶ ^a	۰/۹۹±۰/۰۱ ^a	۲۹/۳۳±۱/۵۲ ^a	۸/۴۸±۰/۳۴ ^a
آلوده ورا (۵ گرم بر کیلوگرم جیره)	۱۷/۴۳±۰/۷۰ ^b	۱/۱۱±۰/۰۷ ^a	۴۰/۰۰±۱/۰۰ ^b	۱۳/۰۹±۰/۶۸ ^b
آلوده ورا (۱۰ گرم بر کیلوگرم جیره)	۱۷/۳۶±۱/۰۰ ^b	۱/۱۲±۰/۰۷ ^a	۳۸/۶۶±۰/۵۷ ^b	۱۲/۶۰±۰/۱۶ ^b
آلوده ورا (۱۵ گرم بر کیلوگرم جیره)	۱۸/۸۳±۰/۶۶ ^b	۱/۴۵±۰/۱۱ ^b	۴۵/۳۳±۰/۵۷ ^c	۱۳/۹۴±۰/۷۹ ^b

حروف غیر همنام در هر ستون نشان دهنده ی تفاوت معنی دار در سطح ۰/۰۵ است.

جدول ۲- اثر مکمل سازی جیره قزل آلابی رنگین کمان با پودر آلوده ورا بر فراسنجه های بیوشیمیایی سرم خون (میانگین \pm انحراف معیار) در مدت ۸ هفته

تیمار/شاخص	پروتئین تام (g/dL)	آلبومین (g/dL)	گلوبولین (g/dL)	آلبومین/گلوبولین
شاهد	۵/۱۵±۰/۰۹ ^a	۱/۳۴±۰/۰۱ ^a	۳/۸۱±۰/۱۵ ^a	۰/۳۵±۰/۰۴ ^a
آلوده ورا (۵ گرم بر کیلوگرم جیره)	۵/۷۷±۰/۱۰ ^b	۱/۸۱±۰/۰۷ ^b	۳/۹۶±۰/۱۱ ^a	۰/۴۵±۰/۰۲ ^b
آلوده ورا (۱۰ گرم بر کیلوگرم جیره)	۵/۷۵±۰/۲۳ ^b	۱/۸۰±۰/۰۱ ^b	۳/۹۴±۰/۱۴ ^a	۰/۴۵±۰/۰۱ ^b
آلوده ورا (۱۵ گرم بر کیلوگرم جیره)	۵/۹۰±۰/۰۹ ^b	۱/۸۶±۰/۰۸ ^b	۴/۰۳±۰/۰۸ ^a	۰/۴۶±۰/۰۲ ^b

حروف غیر همنام در هر ستون نشان دهنده ی تفاوت معنی دار در سطح ۰/۰۵ است.

(پروتئین تام، آلبومین و نسبت آلبومین به گلوبولین) ماهیان قزل آلابی رنگین کمان تغذیه شده با تمامی سطوح آلوده ورا را نسبت به تیمار شاهد نشان می دهد. بیشترین میزان گلوبولین در تیمار ۱۵ گرم بر کیلوگرم و کمترین میزان آن در تیمار شاهد ثبت شد و تیمارها از نظر این شاخص اختلاف معنی داری نشان ندادند ($P>0/05$).

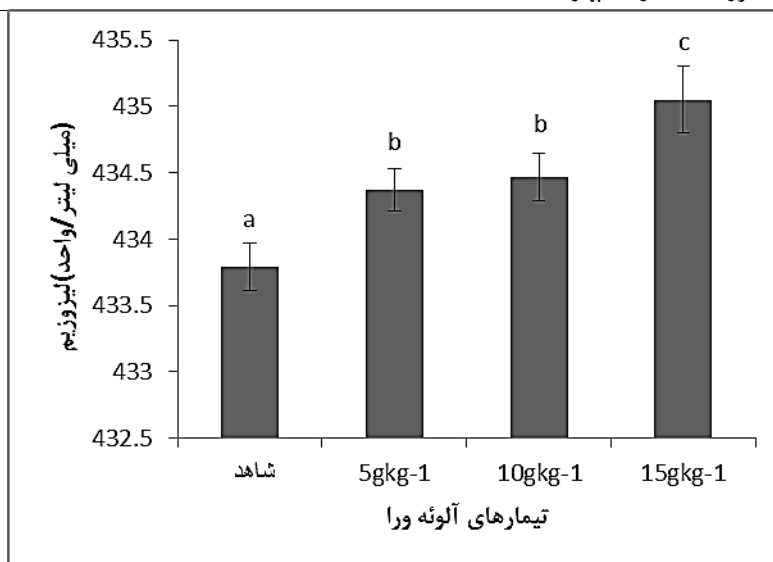
براساس نتایج نشان داده شده در شکل ۳، در پایان ۸ هفته، افزایش معنی دار در فعالیت لیزوزیم سرم ماهیان قزل آلابی رنگین کمان تغذیه شده با تمامی سطوح آلوده ورا نسبت به گروه شاهد مشاهده شد ($P<0/05$).

نتایج بازماندگی ماهیان در پایان ۲ هفته رویارویی با قارچ ساپروولگنیا پارازیتیکیا، کاهش معنی دار تلفات را در تیمارهای تغذیه شده با آلوده ورا نشان داد ($P<0/05$). بالاترین درصد بازماندگی در پایان آزمایش

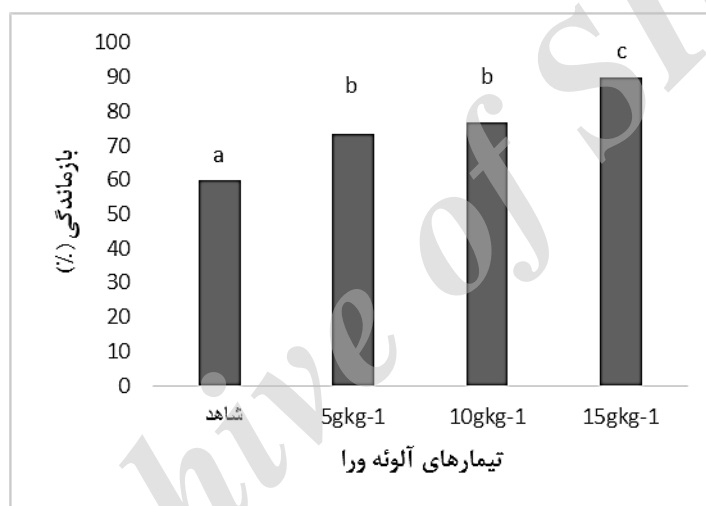
($P<0/05$) ولی در پارامترهای ذکر شده اختلاف معنی داری بین گروه های تغذیه شده با آلوده ورا مشاهده نشد ($P>0/05$) (جدول ۱). بازماندگی تمامی تیمارها در پایان ۸ هفته ۱۰۰ درصد ثبت شد.

نتایج فراسنجه های خون شناسی افزایش معنی دار تعداد گلبول های سفید همه تیمارهای تغذیه شده با آلوده ورا را نسبت به تیمار شاهد نشان داد ($P<0/05$). با وجود افزایش در تعداد گلبول های قرمز در تیمارهای تغذیه شده با آلوده ورا، فقط تیمار ۱۵ گرم بر کیلوگرم اختلاف معنی دار با تیمار شاهد نشان داد ($P<0/05$). درصد هماتوکریت و غلظت هموگلوبین در تیمارهای تغذیه شده با آلوده ورا به طور معنی داری بالاتر از تیمار شاهد بود ($P<0/05$) (جدول ۲).

نتایج ارائه شده در جدول ۳، افزایش معنی دار ($P<0/05$) فراسنجه های بیوشیمیایی سرم خون



شکل ۳- فعالیت لیزوزیم سرم در ماهیان قزل آلی رنگین کمان پس از ۸ هفته غذایی با سطوح مختلف آلوئه ورا (میانگین \pm انحراف معیار) (حروف غیر همنام نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح ۰/۰۵ بین تیمارهاست).



شکل ۴- درصد بازماندگی ماهیان قزل آلی رنگین کمان تغذیه شده با سطوح مختلف آلوئه ورا پس از ۲ هفته رویارویی با ساپروولگنیا پارازیتیکا (حروف غیر همنام نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح ۰/۰۵ بین تیمارهاست).

از اجزای سلولی تخصصی است که به شناسایی و پاسخ لازم علیه پاتوژن مربوطه کمک کرده و در نهایت منجر به افزایش قدرت ایمنی میزبان در برابر عامل بیماری‌زا می‌شود. به نظر می‌رسد که یکی از بهترین روش‌های تقویت قدرت دفاعی آبزیان برای مقابله با عوامل بیماری‌زا، بهبود عملکرد سیستم ایمنی به‌ویژه تحریک ایمنی ذاتی است. سیستم ایمنی ذاتی به‌عنوان اولین خط دفاعی در مقابل مهاجم عوامل بیماری‌زا در ماهیان اهمیت بیشتری نسبت به پستانداران دارد (Narnaware *et al.*, 1994). طیف گسترده‌ای از مواد مغذی-محرك ایمنی مثل پروتئین، لیپید، ویتامین، آنزیم، مواد معدنی، قند، لیگنین، ساپونین و

رویاریویی با قارچ، در تیمار ۱۵ گرم آلوئه ورا بر کیلوگرم جیره به‌دست آمد هر چند که تیمار ۵ گرم نیز افزایش بازماندگی معنی‌داری ($P < 0.05$) در مقایسه با شاهد داشت (شکل‌های ۴ و ۵). در گروه کنترل مرحله آلوده‌سازی ماهیان با ساپروولگنیا (ماهیان فلس‌برداری شده بدون آلودگی با قارچ) هیچگونه تلفاتی تا دو هفته پس از آزمایش مشاهده نشد.

۴. بحث و نتیجه‌گیری

توانایی و قدرت مبارزه سیستم ایمنی با عوامل بیماری‌زا، نیازمند آرایش پیچیده و هماهنگی مناسبی



(الف)



(ب)

شکل ۵- تصویر ماهی قزل آلای رنگین کمان بیمار در روز سوم (الف) و تیمار شده با آلوئه ورا با بهبود زخم در روز دوازدهم بعد از آلوده سازی با قارچ ساپروولگنیا پارازیتیکا (ب).

پی داشت و در نهایت باعث افزایش معنی دار بازماندگی آنها (بالای ۵۰٪) در مواجهه با ساپروولگنیا پارازیتیکا نسبت به گروه کنترل شد (Saha et al., 2016). نتایج حاصل از این مطالعه افزایش معنی دار فعالیت لیزوزیم و وابسته به دوز بودن آن را در پایان ۸ هفته غذایی با آلوئه ورا نشان داد. در مطالعه ای مشابه، مکمل سازی جیره ی قزل آلای رنگین کمان با آلوئه ورا (۱٪) منجر به افزایش معنی دار لیزوزیم سرم نسبت به گروه شاهد در مدت ۸ هفته شد (Haghighi et al., 2014).

پلی ساکاریدهای موجود در ژل آلوئه ورا محرک خون سازی و افزایش تعداد گلبول های قرمز است، همچنین عقیده بر این است که آسمانان موجود در ژل آلوئه ورا با افزایش تولید گلبول های سفید خون خصوصا ماکروفاژها نقش مهمی در افزایش ایمنی در برابر بیماری ها دارد (Channa et al., 2014). نتایج حاصل از این مطالعه افزایش تعداد گلبول های قرمز، سفید، درصد هماتوکریت و غلظت هموگلوبین را تحت تاثیر پودر آلوئه ورا نشان داد. همچنین افزایش میزان پروتئین تام، آلبومین و گلوبولین در تیمارهای تغذیه با آلوئه ورا ثبت شد، اگرچه مقادیر بدست آمده گلوبولین با وجود افزایش در تیمارها اختلاف معنی داری با شاهد نشان نداد. نتایج مشابه در بهبود شاخص های خونی و بیوشیمیایی سرم در مطالعات Amirkhani and Firouzbakhsh (۲۰۱۵) در بررسی اثر ریحان

اسید سالسیلیک در گیاه آلوئه ورا حضور دارند که به افزایش رشد و ایمنی در ماهیان کمک می کنند (Surjushe et al., 2008; Adesuyi et al., 2012). در مطالعه ی حاضر تغذیه ماهیان قزل آلای رنگین کمان با جیره ی غذایی مکمل شده با پودر آلوئه ورا، با بهبود پارامترهای ایمنی ماهیان باعث کاهش معنی دار تلفات در مواجهه با ساپروولگنیا پارازیتیکا نسبت به گروه کنترل شد. به طور مشابه ماهی Rockfish (*Sebastes schlegeli*) تغذیه شده با جیره ی حاوی ۰/۵ درصد پودر آلوئه ورا در مدت ۶ هفته، کاهش معنی داری در تلفات بعد از رویارویی با باکتری *Vibrio alginolyticus* نسبت به گروه کنترل نشان داد (Kim et al., 1999). همچنین در مطالعه ای دیگر بکارگیری عصاره ی اتانولی گیاه دارویی ریحان (*Ocimum basilicum*) به میزان ۴۰۰ میلی گرم در کیلوگرم جیره ی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در مدت ۶۰ روز علاوه بر بهبود فراسنجه های خون شناسی و بیوشیمیایی سرم خون، افزایش رشد و همچنین بقای ماهیان را در مواجهه با *Aeromonas hydrophila* در برداشت (Amirkhani and Firouzbakhsh, 2015). همچنین در مطالعات مشابه تغذیه ماهی *Labeo rohita* با جیره ی غذایی حاوی ۰/۰۲ درصد pyridoxine در مدت ۴۵ روز، بهبود پارامترهای ایمنی و خون شناسی ماهیان را در

شده است. در مجموع نتایج حاصل از این مطالعه بیانگر آن است که استفاده از پودر آلوئه ورا به ویژه به میزان ۵ گرم در هر کیلوگرم از جیره ماهیان قزل آلی رنگین کمان منجر به بهبود عملکرد رشد، تقویت سیستم ایمنی غیراختصاصی و افزایش مقاومت ماهی قزل آلی رنگین کمان در برابر فارچ ساپروولگنیا پارازیتیکا می شود

تقدیر و تشکر

دینوسیله از کارشناس محترم آزمایشگاه جناب آقای مهندس خسرو جانی خلیلی بخاطر کمک های بی دریغشان سپاسگزاری می شود.

References

- Adesuyi, D.A., Awosanya, A.O., Adaramola, F.B., Omeonu, A.L., 2012. Nutritional and phytochemical screening of *Aloe barbadensis*. *Current Research Journal of Biological Sciences* 4, 4-9.
- Amirkhani, N., Firouzabakhsh, F., 2015. Protective effects of basil (*Ocimum basilicum*) ethanolic extract supplementation diets against experimental *Aeromonas hydrophila* infection in common carp (*Cyprinus carpio*). *Aquaculture Research* 46, 716-724.
- Atherton, P., 1998. *Aloe vera* revised. *British Journal of Phytotherapy* 4, 176-183.
- Borges, A., Scotti, L., Siqueira, D.R., Jurinitz, D.F., Wassermann, G.F., 2004. Hematologic and serum biochemical values for hundi (*Rhamdia quelen*). *Fish Physiology and Biochemistry* 30, 21-25.
- Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein. *Annual Review of Biochemistry* 72, 248.
- Bruno, D.W., Woo, B.P. (Eds.), 1994. Fish Diseases Disorders, Viral, Bacterial and Fungal Infections, Volume 3.
- Channa, A.A., Qazi, I.H., Soomro, A.S., Shah, A.H., Gandahi, J.A., Korejo, A.R., Shah, I.A., Kalhor, N.A., Khaskeli, B., 2014. Effect of oral supplementation of *Aloe vera* extract on haematology indices and immune cells of blood in rabbit. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology* 8, 497-501.
- Dasa, S., Mishra, B., Gill, A.K., Ashrafa, S., Singha, A.K., Sinha, M., Sharma, S., Xess, I., Dalala, K., Singha, T.P., Dey, S.H., 2011. Isolation and characterization of novel protein with anti-fungal and anti-inflammatory properties from *Aloe vera* leaf gel. *International Journal of Biological Macromolecules* 48, 38-43.
- Davis, R.H., Donato, J.J., Hartman, G.M., Haas, R.C., 1994. Anti-inflammatory and wound healing activity of a growth substance in *Aloe vera*. *Journal of the American Podiatric Medical Association* 84, 77-81.
- FAO. Aquaculture Department, The state of world fisheries and aquaculture, 2014, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, p. 243.
- Firouzabakhsh, F., Mehrabi, Z., Heydari, M., Kalesi, M.K., Tajick, M.A., 2014. Protective effect of synbiotic against experimental *Saprolegnia parasitica* infection in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture Research* 45, 609-618.
- Habeeb, F., Stables, G., Bradbury, F., Nong, S., Cameron, P., Plevin, R., 2007. The inner gel component of *Aloe vera* suppresses bacterial-induced pro-inflammatory cytokines from human immune cells. *Methods* 42, 388-393.
- Haghighi, M., Rohani, S.M., Pourmoghim, H., Toliat, T., Samadi, M., Tavoli, M., Islami, M., Yusefi, R., 2014. Haemato-immunological indices in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fry fed with *Aloe vera* extract supplemented feed. *Journal of Coastal Life Medicine* 2, 350-356.
- Heidarieh, M., Mirvaghefi, R.A., Sepahil, A., Sheikhzadeh, N., Shahbazfar, A.M., Akbari, M., 2013. Effects of dietary *Aloe vera* on growth performance, skin and gastrointestinal morphology in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 13, 367-373.
- Houston, A.H., 1990. Blood and circulation. In: Schreck, C.B. and Moyle, P.B., (eds.) *Methods for fish biology*, American Fisheries Society, Bethesda, MD, USA. pp. 273-334.
- Heidarieh, M., Naftal Gabriel, 2013. (به مدت ۶ هفته) در تیلاپیا (*Oreochromis niloticus*) گزارش اثر آلوئه ورا بر تیلاپیا (*Oreochromis niloticus*) و همکاران (۲۰۱۵) در بررسی اثر آلوئه ورا بر تیلاپیا (*Oreochromis niloticus*) گزارش شد.
- Heidarieh, M., Naftal Gabriel, 2015. (به مدت ۶۰ روز) در تیلاپیا (*Oreochromis niloticus*) گزارش اختلاف معنی داری در افزایش وزن، ضریب رشد و ویژه ضریب تبدیل غذایی همگام با دیگر تیمارهای تغذیه شده نسبت به گروه شاهد نشان دادند. نتایج مشابه تحریک کنندگی رشد به هنگام استفاده از ژل آلوئه ورا (به مدت ۶ هفته) در تیلاپیا (*Oreochromis niloticus*) گزارش شد.

- Kim, K.H., Hwang, Y.J., Bai, S.C., 1999. Resistance to *Vibrio alginolyticus* in juvenile rockfish (*Sebastes schlegeli*) fed diets containing different doses of aloe. *Aquaculture* 180, 13-21.
- Kumari, J., 2006. Seasonal variation in the innate immune parameters of the Asian catfish *Clarias batrachus*. *Aquaculture* 252, 121-127.
- Li, S.W., Yang, T.C., Lai, C.C., 2014. Antiviral activity of Aloe-emodin against in fluenza A virus via galectin-3 up-regulation. *European Journal of Pharmacology* 27, 125-132.
- Logambal, S.M., Venkatalakshmi, S., Michael, R.D., 2000. Immunostimulatory effect of leaf extract of *Ocimum sanctum* Linn. In *Oreochromis mossambicus* (Peters). *Hydrobiologia* 430, 113-120.
- Mandrioli, R., Mercolini, L., Ferranti, A., Fanali, S., Raggi, M.R., 2011. Determination of aloe emodin in *Aloe vera* extracts and commercial formulations by HPLC with tandem UV absorption and fluorescence detection. *Food Chemistry* 126, 387-393.
- Mohapatra, S., Chakraborty, T., Kumar, V., DeBoeck, G., Mohanta, K.N., 2013. Aquaculture and stress management: a review of probiotic intervention: Stress management by probiotics administration. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition (Berl)* 97, 405-430.
- Naftal Gabriel, N., Qiang, J., He, J., Yu Ma, X., Kpundeh, M.D., Xu, P., 2015. Dietary Aloe vera supplementation on growth performance, some haemato-biochemical parameters and disease resistance against *Streptococcus iniae* in tilapia (GIFT). *Fish and Shellfish Immunology* 44, 504-514.
- Narnaware, Y.K., Baker, H.N., Tomlinson, M.G., 1994. The effect of various stress, corticosteroids and adrenergic agents on phagocytosis in the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Fish Physiology and Biochemistry* 13, 31-34.
- Nayak, S.K., Swain, P., Nanda, P.K., Dash, S., Shukla, S., Meher, P.K., Maiti, N.K., 2008. Effect of endotoxin on the immunity of Indian major carp, *Labeo rohita*. *Fish and Shellfish Immunology* 24, 394-399.
- Noga, E.J., 1996. *Fish diseases and diagnosis and treatment* Mosby- Year Book, Inc, St. Louis, Mo, 367 p.
- Olusola, S.E., Emikpe, B.O., Olaifa, F.E., 2013. The potentials of medicinal plants extracts as bioantimicrobial in aquaculture. *International Journal of Medicinal and Aromatic Plants* 3, 404-412.
- Reverter, M., Bontemps, N., Lecchini, D., Banaigs, B., Sasal, P., 2014. Use of plant extracts in fish aquaculture as an alternative to chemotherapy: Current status and future perspectives. *Aquaculture* 433, 50-61.
- Saha, H., Kumar Pal, A., Prasad Sahu, N., Kumar Saha, R., 2016. Feeding pyridoxine prevents *Saprolegnia parasitica* infection in fish *Labeo rohita*. *Fish and Shellfish Immunology* 59, 382-388.
- Shailja, P., Madhu, K., Ashok, K., Pande, S., Kumar, M., Kumar, A., 1998. Radioprotective efficacy of *Aloe vera* leaf extract. *Pharmaceutical Biology* 36, 227-232.
- Surjushe, A., Vasani, R., Saple, D.G., 2008. *Aloe vera*: a short review. *Indian Journal of Dermatology* 54, 163-166.
- Stoskopf, M.K. 1993. *Fish Medicine*, W.B. Sanders, Philadelphia, USA.
- Van Hai, N., 2015. The use of medicinal plants as immunostimulants in aquaculture: a review. *Aquaculture* 446, 88-96.
- Woo, P.T.R., Bruno, D.W., 2011. *Fish diseases and disorders, viral bacterial and fungal infections*, Vol. 3, CAB international publication, London.
- Zanuzzo, F.S., Biller-Takahashi, J.D., Urbinati, E.C., 2012. Effect of *Aloe vera* extract on the improvement of the respiratory activity of leukocytes of matrinxa during the transport stress. *Revista Brasileira de Zootecnia* 41, 2299-2302.