



## اثر عصاره هیدروالکلی نسترن کوهی (*Rosa canina L*) بر شاخص های رشد و خون شناسی قزل آلاهی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

سمانه السادات ملکی<sup>۱\*</sup>، روح اله رحیمی<sup>۲</sup>، شفیق شفیعی<sup>۳</sup>

۱- گروه شیلات و محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی و علوم زمین، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

۲- استادیار گروه شیلات و محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی و علوم زمین، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد،

ایران

۳- گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۲/۲۵

تاریخ ارسال: ۱۳۹۸/۱۱/۲۳

### چکیده

مطالعه حاضر به منظور بررسی اثر عصاره هیدروالکلی نسترن کوهی *Rosa canina L* بر فاکتورهای رشد و تغذیه و شاخص های ایمنی قزل آلاهی رنگین کمان انجام گرفت. در این تحقیق، ۲۳۰ قطعه ماهی با میانگین وزنی  $0.7 \pm 15$  به صورت تصادفی به تیمارهای آزمایش وارد شدند و با جیره های غذایی شامل: جیره غذایی فاقد نسترن کوهی به عنوان شاهد و حاوی ۲.۵، ۵ و ۱۰ گرم (g/kg) درخوراک عصاره نسترن کوهی با سه تکرار به مدت ۴۲ روز پرورش یا فتند. براساس یافته های این پژوهش، تیمار حاوی (g/kg) ۵ عصاره نسترن در کیلو گرم جیره غذایی به طور معنی داری بهترین ضریب تبدیل خوراک (FCR)، نرخ رشد ویژه (SGR)، ضریب چاقی (CF)، میانگین رشد روزانه (DGR) را داشت ( $p < 0.05$ ). در شاخص های خون شناسی شامل: گلبول های قرمز (RBC)، حجم متوسط سلولی (MCV)، هماتوکریت سلولی (MCH) هیچ اختلاف معنی داری را در بین تیمارهای آزمایش نشان نداد ( $p > 0.05$ ). شاخص WBC تفاوت معنی داری بین تیمارهای حاوی عصاره را نشان داد ( $p < 0.05$ ) و تیمار 10 (g/kg) عصاره با تیمار شاهد تفاوت معنی داری نشان نداد ( $p > 0.05$ ). تعداد لنفوسیت ها در تیمار غذایی حاوی ۱۰ g/kg در غذا، اختلاف معنی داری را با سایر تیمارها و تیمار شاهد داشت ( $p < 0.05$ ). تعداد نوتروفیل و مونوسیت بین تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی داری نشان نداد ( $p < 0.05$ ). نتایج این مطالعه نشان داد که استفاده از مقدار ۵ گرم در کیلو گرم عصاره هیدروالکلی نسترن کوهی در جیره غذایی منجر به افزایش شاخص های رشد و نیز مصرف ۱۰ گرم عصاره در کیلو گرم غذا منجر به افزایش شاخص های ایمنی در ماهی قزل آلا خواهد شد. بنابراین، می توان عصاره نسترن کوهی را به عنوان محرک رشد طبیعی و ایمنی در جیره غذایی قزل آلا رنگین کمان بکار برد.

واژگان کلیدی: عصاره هیدروالکلی، نسترن کوهی، رشد، خون شناسی، قزل آلاهی رنگین کمان





# Effect of hydroalcolic extract of *Rosa canina* L. on growth and immune indices of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)

Samaneh Sadat Malek<sup>1\*</sup>, Rohollah Rahimi<sup>2</sup>, Shafiqh Shafiei<sup>3</sup>

1-Department of Fisheries and Environmental Sciences, Faculty of Natural Resources and Earth Sciences, Shahrekord

2-Associate professor, Department of Fisheries and Environmental Sciences, Faculty of Natural Resources and Earth Sciences, Shahrekord

3-Department of Food Hygiene and Quality Control, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord University, Shahrekord, Iran

Received: 15-Feb-2020

Accepted: 17-Mar-2020

## Abstract

The present study aimed to investigate the effect of *Rosa canina* L. hydroalcolic extract on growth and nutrition factors and immune indices of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). In this study, 230 fish with weight average of  $15 \pm 0.7$  were randomly assigned in four groups and were studied for 42 days with three replications. The experimental treatments including *R. canina* L-free diet as the control treatment and treatments including 2.5, 5, and 10 (g/kg) *R. canina* were the experimental treatments. Fish were fed by 2% of their body weight twice a day and after two weeks, they were weighted and different growth and immune factors were examined. According to the findings of the growth indicators, the treatment containing 5(g/kg) *R.canina* significantly showed better (FCR), (SRG), (CF), (BWG) and (DGR) indicators ( $P < 0.05$ ). The results of measuring hematological indicators of (Hb), (RBC), (MCV), (MCH), and (MCHC) showed no significant difference between the treatments ( $p > 0.05$ ). WBC showed a significant difference between treatments containing extract ( $P < 0.05$ ) and the treatment 10( g/kg) showed no difference with the control treatment ( $P > 0.05$ ). The number of lymphocytes in the treatment group 10(g/kg) showed a significant difference with other treatments and the control treatment. No significant difference was observed between the treatments in terms of neutrophils and monocytes. The findings of this study show that the use of 5(g/kg) extract leads to increased growth indicators and 10 (g/kg) leads to increased growth indicators.

Key words: *R.canina* L, growth, immune, hydroalcolic extract, herbal, Rainbow trout (*oncorhynchus mykiss*)

## ۱. مقدمه

درغذای آبیان پرورشی متداول شده است (Kumari and Sahoo, 2006). نسترن کوهی با نام علمی (*Rosa canina L*) از تیره *Rosaceae* گیاهی درختچه‌ای و چند ساله است و به طور خودرو در مناطق خشک روی مناطق صخره‌ای و در بوته زارها می‌روید. این گیاه یکی از مهم‌ترین گیاهان دارویی است که میوه‌های آن حاوی ترکیبات دارویی و غذایی ارزشمند است (Omid beigi, 2016). میوه این گیاه سرشار از ویتامین‌های A، B و C است (Demir and Ozcan, 2001) و ترکیبات با ارزش دیگر مانند پلی فنول‌ها که رنگدانه‌هایی مانند فلاونوئیدها نیز از جمله این ترکیب‌ها هستند (Winkel-Shirly, 2002). پلی فنول‌ها خواص ضد میکروبی، ضد ویروسی و توانایی آنتی‌اکسیدانی بالایی دارند. همچنین حاوی مقادیر بالایی از کارتنوئیدها اند که گروه بزرگی از رنگدانه‌های گیاهی را تشکیل می‌دهند و دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی اند و رادیکال‌های آزاد در بدن انسان را خنثی می‌کنند (Kirakosyan et al., 2004). لیکوپن از کارتنوئیدهای مهم است و یک آنتی‌اکسیدان قوی به شمار می‌آید که در پیشگیری از بیماری‌های قلب و عروق و سرطان موثر است (Hodisan et al., 1997). این گیاه می‌تواند کاندیدای مناسبی برای درمان دیابت قندی نیز باشد و در تحقیقات آینده بایستی مورد توجه قرار گیرد. این گیاه غنی از عناصر و مواد معدنی فسفر، پتاسیم، کلسیم، روی، آهن، منیزیم، منگنزو سدیم و سایر ترکیبات کربوهیدرات‌ها و اسیدهای چرب است. لذا، از نظر غذایی و دارویی، گیاهی بسیار ارزشمند و مورد توجه است (Artik and Eksi, 1988; Dina et al., 2007). با توجه به خصوصیات ارزشمند این گیاه، در این پژوهش، اثر عصاره هیدروالکلی نسترن کوهی بر شاخص‌های رشد و شاخص‌های ایمنی قزل‌آلای رنگین کمان بررسی شد.

## ۲. مواد و روش‌ها

### ۲.۲. گیاه و روش عصاره‌گیری

گیاه نسترن کوهی از زیستگاه طبیعی استان چهارمحال و بختیاری جمع‌آوری شد. تایید و تطبیق گیاه در دانشگاه شهرکرد، دانشکده کشاورزی انجام گرفت. عصاره‌گیری گیاه برطبق روش (Ghasemi et al., 2010) انجام شد. به طور خلاصه، گیاه با آب مقطر شسته شد و

درسال‌های اخیر تولید در بخش آبی پروری افزایش یافته است و با توسعه چشم‌گیر و روزافزون این صنعت مواجه ایم. از این رو، توجه به صنعت آبی پروری برای تامین بخشی از نیاز غذایی مورد توجه جدی کشورها قرار گرفته است. امروزه قزل‌آلای رنگین کمان یکی از مهم‌ترین گونه‌های اقتصادی است که در بیشتر نقاط جهان پرورش داده می‌شود. مشخصه‌هایی که سبب برتری و گرایش روزافزون تکثیر و پرورش این ماهی می‌شود، شامل سازگاری با تراکم بالا در شرایط پرورشی، مقاومت در برابر شرایط نامطلوب محیطی، سازگاری خوب با تغذیه‌ی دستی و افزایش رشد بالا است (Faghani et al., 2008). در این بین، رشد روزافزون تقاضا برای تولید قزل‌آلای رنگین کمان منجر به استفاده از روش‌های پرورش متراکم گردیده است. با استفاده از روش‌های پرورش متراکم و افزایش تراکم ماهی در مخازن پرورشی، امکان شیوع بیماری‌های باکتریایی، ویروسی و انگلی نیز بیشتر شده است (Woo and Bruno, 2011). مدیریت بیماری در این زمینه باید با استفاده از روش‌های سازگار با محیط زیست و ماندگار انجام گیرد. در این ارتباط، در سال‌های اخیر استفاده از گیاهان دارویی به عنوان محرک ایمنی گسترش یافته و پژوهش‌های زیادی در این زمینه انجام شده است. ثابت شده است که بکارگیری گیاهان دارویی در جیره غذایی می‌تواند باعث افزایش پاسخ‌های ایمنی و مقاومت ماهی در برابر بیماری‌ها شود (Bulfon et al., 2015). کاربرد گیاهان دارویی به عنوان ترکیبات طبیعی و بی‌ضرر در آبی پروری جایگزینی برای آنتی‌بیوتیک‌ها و ایمونوپروفیلکتیک شناخته شده است (Van Hai, 2015). پژوهش‌ها نشان داده است، استفاده از گیاهان دارویی در غذای ماهیان منجر به بهبود شاخص‌های ایمنی مانند فعالیت لیزوزیم، فعالیت فاگوسیتوز، فعالیت کمپلمان، افزایش فعالیت انفجارتنفسی و افزایش پروتئین‌های پلاسما (گلوبین و آلبومین) می‌شود. محصولات مشتق شده از گیاه یک منبع نوید بخش از مولکول‌های زیست‌فعال است و در عین حال در دسترس، ارزان و بیولوژیک نیز هستند و اثرات جانبی کمی برجانداران و محیط زیست دارند. در این میان استفاده از برخی مواد محرک ایمنی

فردان، شهرکرد، ایران) قزل آلای رنگین کمان بود که بعد از خرد شدن در آزمایشگاه عصاره گیاهی گل نسترن گیاه *R. canina* به آنها اضافه شد. جیره های حاوی ۰،۵، ۲، ۵ و ۱۰ گرم در کیلوگرم خوراک آبزیان و تیمار صفر به عنوان گروه شاهد آماده شدند. با افزودن ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر به یک کیلو گرم جیره به همراه عصاره گیاهی غذای شاهد به صورت خمیر درآمد و با عبور دادن از چرخ گوشت به صورت رشته در آمدند. رشته ها در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد به مدت ۷۲ ساعت خشک شدند و در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شدند. از ماهیان هر دو هفته یکبار نمونه برداری شد و شاخص های رشد و خون در آنها اندازه گیری شد. ( Moghanlou *et al.*, 2018).

#### ۴،۲. آزمایشهای هماتولوژی

شمارش گلبول های قرمز (RBC) و گلبول های سفید (WBC) با استفاده از لام هموسیتمتر نئوبار انجام شد (Martins *et al.*, 2004). با استفاده از روش میکروهماتوکریت استاندارد اندازه گیری شد و نتایج به صورت درصد گزارش شد. سطح هموگلوبین (Hb) با استفاده از روش (cyanomethemoglobin spectrophotometry) به دست آمد (Collier, 1944). تعداد لکوسیت های مختلف (منوسیت، لنفوسیت و نوتروفیل) با استفاده از روش رنگ آمیزی (Giemsa) انجام شد و لکه های خون در زیر میکروسکوپ نوری مشخص شد (Ghiasi *et al.*, 2010). شاخص های خون شامل حجم متوسط سلولی (MCV)، میانگین هماتوکریت سلولی (MCH) و غلظت (MCHC) بر طبق (Seiverd, 1964) انجام شد. ۵،۲. خونگیری در پایان هفته ششم پس از ایمن سازی، از هر گروه تعداد ۶ ماهی به صورت تصادفی برداشت و با استفاده از اسانس میخک در مجاورت هواده بیهوش شدند و سپس نسبت به خونگیری از ورید ساقه دمی و تهیه گسترش های خونی اقدام گردید. نمونه خون گرفته شده در لوله های آزمایش بدون ماده ضد انعقاد هپارین و حاوی هپارین ریخته شد. خون حاوی ماده ضد انعقاد جهت آزمایشهای خونی به آزمایشگاه ار سال گردید و نمونه های غیر هپارینه ابتدا در دمای اتاق یک ساعت نگهداری و پس از انتقال به دمای ۴

در دمای اتاق زیر سایه خشک شد. سپس مواد گیاهی خشک شده پودر شد. (۲۰۰g) از مواد گیاهی پودر شده در (۵۰۰ ml) اتانول مرک ۹۸ درصد برای مدت ۴۸ ساعت قرار گرفت و داخل شیکر قرار داده شد تا برای عصاره گیری مناسب مهیا شد. پس از آن، عصاره گیاه از کاغذ صافی Whatman با مش ۱ میکرون عبور داده شد. عصاره تصفیه شده با استفاده از دستگاه rotary evaporator در دمای ۵۰ °C درجه سانتی گراد تغلیظ شد و پس از آن در آون با دمای ۵۰ درجه سانتی گراد خشک شد.

#### ۲،۲. ماهی و شرایط آزمایشگاهی

ماهی قزل آلای رنگین کمان از مزارع پرورشی تهیه و سپس به آزمایشگاه آبی پروری دانشگاه شهرکرد منتقل شد و ماهیان به مدت ۲ هفته با محیط آزمایش سازگار شدند. سپس ماهیان به واحد های آزمایش وارد شدند. طول دوره آزمایش ۶ هفته بود. در هر واحد آزمایش ۱۹ قطعه ماهی وارد شد. مخازن پرورشی دارای حجم ۳۰۰ لیتر بود و روزانه ده درصد آب هر مخزن تعویض شد. ماهیان دو بار در روز، به میزان ۲ درصد وزن بدن غذا دهی شدند. هوا دهی مخازن از طریق یک سیستم مرکزی هوا ده انجام شد.

#### ۳،۲. آماده سازی جیره ها یا تیمار های غذایی

غذای پایه ، پلت غذایی تجاری (فردان، شهرکرد، ایران) قزل آلای رنگین کمان بود که بعد از خرد شدن در آزمایشگاه عصاره گیاهی گل نسترن گیاه *R. canina* به آنها اضافه شد. جیره های حاوی ۰،۵، ۲، ۵ و ۱۰ گرم در کیلوگرم خوراک آبزیان و تیمار صفر به عنوان گروه شاهد آماده شدند. با افزودن ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر به یک کیلو گرم جیره به همراه عصاره گیاهی غذای شاهد به صورت خمیر درآمد و با عبور دادن از چرخ گوشت به صورت رشته در آمدند. رشته ها در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد به مدت ۷۲ ساعت خشک شدند و در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شدند. از ماهیان هر دو هفته یکبار نمونه برداری شد و شاخص های رشد و خون در آنها اندازه گیری شد. ( Moghanlou *et al.*, 2018).

غذای پایه ، پلت غذایی تجاری

ارزیابی شاخص‌های رشد و فاکتورهای خورشنا سی مورد ارزیابی قرار گرفت که نتایج حاصل از آن‌ها در زیر گزارش شده است.

### ۱.۳. شاخص‌های رشد

در جدول ۱، داده‌های مربوط به میانگین شاخص‌های رشد ماهی شامل ضریب تبدیل غذایی (FCR)، نرخ رشد ویژه (SGR)، فاکتور وضعیت (CF)، میانگین رشد روزانه (DGR)، نرخ افزایش وزن (BWG) و درصد بازماندگی در خون ماهیانی که با جیره حاوی عصاره گیاه نسترن کوهی ارائه شده است. میزان رشد ماهی اختلاف معنی داری را میان تیمارهای مختلف نشان نداد ( $p > 0.05$ ). ضریب تبدیل غذایی FCR در تیمارهای تغذیه شده با عصاره گیاه نسترن کوهی تفاوت معنی داری را نشان دادند ( $p < 0.05$ ). بین تیمار شاهد و تیمار (g/kg) ۱۰ هیچ اختلاف معنی داری مشاهده نشد ( $p < 0.05$ ). اما اختلاف معنی داری بین این دو تیمار با تیمارهای (g/kg) ۲.۵ و ۵ عصاره گیاه نسترن کوهی مشاهده گردید ( $p < 0.05$ ). همچنین بیشترین ضریب تبدیل غذایی مربوط به تیمار شاهد و تیمار (g/kg) ۱۰ تغذیه شده با عصاره گیاه بود و کمترین ضریب تبدیل غذایی مربوط به تیمار تغذیه شده با (g/kg) ۵ عصاره گیاه بود. شاخص رشد ویژه (SGR) اختلاف معنی داری را بین تیمارهای تغذیه شده با عصاره گیاه نسترن کوهی داشت ( $p < 0.05$ ). اختلاف معنی داری بین تیمارهای تغذیه شده با ۲.۵، ۵ و ۱۰ گرم بر کیلوگرم خوراک حاوی عصاره گیاه با تیمار شاهد مشاهده شد ( $p < 0.05$ ). بیشترین مقدار نرخ رشد ویژه را تیمار حاوی (g/kg) ۵ عصاره گیاه نشان داد و کمترین مقدار نرخ رشد ویژه در تیمار شاهد مشاهده شد. مقادیر میانگین فاکتور وضعیت (CF) هیچ اختلاف معنی داری را در بین تیمارهای نشان نداد ( $p > 0.05$ ). فاکتور رشد بیشترین مقدار را در تیمار (g/kg) ۵ عصاره گیاه و کمترین مقدار را در تیمار (g/kg) ۲.۵ داشت.

میانگین نرخ افزایش وزن اختلاف معنی دار را بین تیمارهای شاهد و (g/kg) ۱۰ و تیمارهای (g/kg) ۲.۵ و ۵ عصاره گیاه داشت ( $p < 0.05$ ). همچنین، اختلاف معنی داری بین تیمارهای (g/kg) ۲.۵ و ۵ عصاره نسترن کوهی مشاهده نشد ( $p > 0.05$ ). علی‌رغم این، بیشترین

درجه سانتیگراد به مدت یک شب نسبت به جدا سازی سرم از نمونه‌ها اقدام گردید. در نهایت سرم‌های جدا سازی شده در میکروتیوب‌های جداگانه توزیع و تا زمان استفاده در فریزر ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

### ۶.۲. شمارش لکوسیتی

به منظور بررسی اثرات محرک ایمنی بر نسبت لکوسیت‌ها از روش ارائه شده توسط (Klontz, 1994) استفاده گردید. بدین منظور گسترش‌های خونی تهیه شده ابتدا روی لام خشک و توسط متانول فیکس شد، سپس توسط گیمسا ۵ درصد رنگ آمیزی شد و زیر میکروسکوپ نوری شمارش تفریقی لکوسیت‌ها صورت گرفت.

در پایان آزمایش، نرخ افزایش وزن (WGR)، ضریب تبدیل غذایی (FCR)، نرخ رشد ویژه (SGR)، میانگین رشد روزانه (ADG)، فاکتور وضعیت (CF) گروه‌های مختلف براساس محاسبه معادلات زیر انجام گرفت (Moghanlou et al., 2018).

$$WGR = W_f - W_i$$

$$FCR = \text{Dry feed intake (g) / Weight gain (g)}$$

$$SGR (g \text{ day}^{-1}) = 100 (\ln W_f - \ln W_i) / t$$

$$CF (\%) = 100; \text{Body weight (g)} / [\text{Body length}]^3 (\text{cm})$$

$$ADF = W_f - W_i / t \text{ where } W_f \text{ is final body weight (g)}$$

Wi وزن نهایی بدن (g) و t طول دوره آزمایش (در روز) است.

### ۸.۲. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

طرح آزمایش، یک طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار بود. پس از بررسی نرمال بودن داده‌ها با آزمون کولموگراف-اسمیرنوف، از تجزیه واریانس یک طرفه One Way ANOVA برای مقایسه میانگین‌ها میان داده‌های تیمارهای آزمایش استفاده شد. برای تعیین سطح معنی داری بین تیمارها، از آزمون دانکن استفاده شد.

### ۳. نتایج

در این مطالعه، سنجش اثر عصاره گیاه نسترن کوهی (*Rosa canina L*) در گروه‌های مختلف بر پاسخ‌های

نداد ( $p > 0.05$ ). همچنین، بیشترین تعداد مربوط به تیمار شاهد بود و کمترین تعداد مربوط به تیمار تغذیه شده با ۵ کیلو گرم رژیم حاوی عصاره‌ی نسترن کوهی بود. مقادیر هماتوکریت تفاوت معنی را در بین تیمارهای مختلف نشان داد ( $p > 0.05$ ). روند تغییرات هماتوکریت در تیمار تغذیه شده با ۱۰ (g/kg) عصاره گیاه بیشترین میزان هماتوکریت مشاهده شد در حالی که در تیمار ۲,۵ (g/kg) عصاره گیاه کمترین میزان هماتوکریت ثبت شد. نتایج سنجش مقادیر حجم متوسط سلولی (MCV) هیچ تفاوت معنی داری را در بین تیمارهای مختلف نشان داد ( $p > 0.05$ ). بیشترین حجم متوسط سلولی در بین تیمارها مربوط به تیمار تغذیه شده با ۵ (g/kg) عصاره گیاه بود و کمترین حجم متوسط سلولی مربوط به تیمار تغذیه شده با ۲,۵ (g/kg) عصاره‌ی گیاه ثبت شد. نتایج سنجش میزان MCH در تیمارهای تغذیه شده با عصاره نسترن کوهی *R. canina* L در جدول ۲ ارائه شده است. هماتوکریت سلولی MCH تفاوت معنی داری را در بین تیمارهایی حاوی عصاره نسترن کوهی بودند نشان داد ( $p > 0.05$ ). کمترین مقدار مربوط به تیمار ۵ (g/kg) و بیشترین مقدار مربوط به تیمار حاوی ۱۰ (g/kg) عصاره نسترن کوهی بود. غلظت هماتوکریت سلولی MCH در خون ماهیان تغذیه شده با رژیم غذایی حاوی عصاره‌ی گیاه نسترن کوهی ارائه شده است. در هیچ یک از تیمارهای تغذیه شده تفاوت معنی داری بین تیمارهای مختلف مشاهده نمی‌شود ( $p > 0.05$ ). بیشترین غلظت هماتوکریت سلولی MCH مربوط به تیمار شاهد و کمترین غلظت MCH مربوط به تیمار تغذیه شده با ۵ (g/kg) عصاره‌ی گیاه نسترن کوهی بود. در این مطالعه، بیشترین تعداد لنفوسیت‌ها در گروه تغذیه شده با ۱۰ (g/kg) خوراک، اختلاف معنی داری را با سایر تیمارها داشت ( $p < 0.05$ ). تعداد نوتروفیل‌ها در بین تیمارها اختلاف معنی داری نداشت و در تیمارهای حاوی عصاره نسبت به تیمار شاهد کاهش نشان داد ( $p > 0.05$ ). همچنین، تعداد مونوسیت در بین تیمارها اختلاف معنی دار نداشت ( $p > 0.05$ ) و بیشترین تعداد مونوسیت مربوط به تیمار ۱۰ (g/kg) بود.

مقدار نرخ افزایش وزن مربوط به تیمار تغذیه شده با ۵ (g/kg) عصاره نسترن کوهی بود و کمترین مقدار نرخ افزایش وزن مربوط به تیمار ۱۰ (g/kg) عصاره گیاه بود. میانگین نرخ رشد روزانه (DGR)، بین تیمار شاهد و تیمار ۱۰ (g/kg) تفاوت معنی داری را نشان داد ( $p > 0.05$ ). همچنین، بین تیمار ۲,۵ با تیمار (g/kg) ۱۰ عصاره نسترن کوهی اختلاف معنی داری وجود نداشت ( $p > 0.05$ ). با این وجود تیمار ۵ (g/kg) عصاره گیاه با سایر تیمارها اختلاف معنی داری را نشان داد ( $p < 0.05$ ). بین تیمار تغذیه شده شاهد با تیمار تغذیه شده ۲,۵ (g/kg) عصاره نسترن کوهی اختلاف معنی داری وجود داشت ( $p > 0.05$ ). بیشترین نرخ رشد روزانه مربوط به تیمار تغذیه شده با ۵ (g/kg) عصاره نسترن کوهی و کمترین نرخ رشد روزانه مربوط به تیمار ۱۰ بود.

### ۲,۳. شاخص‌های خونشناسی

کمترین میزان هموگلوبین (Hb) مربوط به تیمار تغذیه شده با ۵ (g/kg) عصاره گیاه نسترن کوهی بود. بیشترین میزان هموگلوبین (Hb) سنجیده شده مربوط به تیمار شاهد بود. علی‌رغم این که میزان هموگلوبین (Hb) در تیمار شاهد بیش‌تر از سایر تیمارها بود، اما اختلاف معنی داری بین تیمار شاهد و بقیه تیمارها مشاهده نگردید ( $p > 0.05$ ). (جدول ۲). مقدار گلبول سفید WBC تفاوت معنی داری را بین تیمار شاهد با تیمار تغذیه شده با ۲,۵ و ۵ (g/kg) عصاره گیاه نسترن کوهی نشان داد ( $p < 0.05$ ). همچنین بین تیمار شاهد با تیمار تغذیه شده با ۱۰ گرم بر کیلوگرم خوراک حاوی عصاره گیاه هیچ اختلاف معنی داری مشاهده نشد ( $p > 0.05$ ). در این میان مقدار گلبول سفید WBC مربوط به گروه تغذیه شده با ۱۰ (g/kg) و کمترین مقدار گلبول سفید WBC مربوط به تیمار ۲,۵ گرم بر کیلوگرم عصاره‌ی گیاه بود. نتایج تعداد گلبول‌های قرمز در انتهای دوره آزمایش در جدول ۲ ارائه شده است. براساس نتایج به دست آمده، تعداد گلبول‌های قرمز در انتهای دوره آزمایش تفاوت معنی داری را بین تیمارهای مختلف نشان



جدول ۱: میانگین (انحراف معیار  $\pm$  میانگین) شاخص های ضریب تبدیل غذایی (FCR)، نرخ رشد ویژه (SGR)، فاکتور وضعیت (CF)، میانگین رشد روزانه (DGR)، نرخ افزایش وزن (BWG) و درصد بازماندگی در میان تیمارها در پایان آزمایش

|           | تیمارهای آزمایش (g/Kg) خوراک  |                               |                               |                               |
|-----------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
|           | 0                             | 2/5                           | 5                             | 10                            |
| FCR       | ۱/۴۲ $\pm$ ۰/۰۲۱ <sup>a</sup> | ۱/۳۱ $\pm$ ۰/۰۲۲ <sup>b</sup> | ۱/۲۵ $\pm$ ۰/۰۳ <sup>c</sup>  | ۱/۴۲ $\pm$ ۰/۰۳ <sup>a</sup>  |
| SGR       | ۱/۷۰ $\pm$ ۰/۰۲۲ <sup>a</sup> | ۱/۸۲ $\pm$ ۰/۰۴۴ <sup>b</sup> | ۱/۹۱ $\pm$ ۰/۰۷ <sup>b</sup>  | ۱/۸۸ $\pm$ ۰/۰۶ <sup>b</sup>  |
| CF        | ۰/۹۰ $\pm$ ۰/۰۲۲ <sup>a</sup> | ۰/۸۸ $\pm$ ۰/۰۰۴ <sup>a</sup> | ۰/۹۱ $\pm$ ۰/۰۳ <sup>a</sup>  | ۰/۹۰ $\pm$ ۰/۰۱ <sup>a</sup>  |
| BWG       | ۱۰۳/۳ $\pm$ ۱/۹۱ <sup>a</sup> | ۱۱۴/۸ $\pm$ ۳/۹۵ <sup>c</sup> | ۱۲۳/۶ $\pm$ ۳/۴ <sup>b</sup>  | ۱۰۳/۴ $\pm$ ۲/۸ <sup>a</sup>  |
| DGR       | ۰/۳۷ $\pm$ ۰/۰۰۶ <sup>a</sup> | ۰/۴۰ $\pm$ ۰/۰۱۱ <sup>a</sup> | ۰/۴۳ $\pm$ ۰/۰۱۲ <sup>b</sup> | ۰/۳۸ $\pm$ ۰/۰۱۶ <sup>a</sup> |
| %SERVIVAL | %۱۰۰                          | %۱۰۰                          | %۱۰۰                          | %۱۰۰                          |

جدول ۲: نتایج سنجش فاکتورهای خون شناسی گلبول های قرمز (RBC) و گلبول های سفید (WBC) هماتوکریت (PCV) حجم متوسط سلولی (MCV)، هماتوکریت سلولی (MCH)، غلظت (MCHC) و سطح هموگلوبین (Hb) در میان تیمارها در طول دوره آزمایش

|                           | تیمارهای آزمایش (g/Kg) خوراک   |                                |                                |                               |
|---------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|
|                           | 0                              | 2/5                            | 5                              | 10                            |
| Hb(gr/dl)                 | ۸/۳ $\pm$ ۰/۰۲۹۱               | ۷/۳ $\pm$ ۰/۰۷۲۱۱              | ۶/۵ $\pm$ ۱/۰۵                 | ۸/۲ $\pm$ ۰/۰۷۶۳۷             |
| MCV(fl)                   | ۳۶۱/۱۶ $\pm$ ۱/۳۰۴۵            | ۳۴۳/۰۳ $\pm$ ۳/۴۱۲             | ۳۸۱/۲۶ $\pm$ ۲/۵۸۹             | ۳۷۷/۹۳ $\pm$ ۰/۶۷             |
| WBC* 10 <sup>3</sup> /μl  | ۹/۵۴۱ $\pm$ ۱/۴۳۷ <sup>c</sup> | ۶/۵۰۰ $\pm$ ۱/۰۳۲ <sup>a</sup> | ۷/۹۱۶ $\pm$ ۱/۰۹۲ <sup>b</sup> | ۹/۹۵۸ $\pm$ ۱/۷۵ <sup>c</sup> |
| RBC * 10 <sup>6</sup> /μl | ۱/۲ $\pm$ ۰/۰۲۰۸۱              | ۱/۰۶ $\pm$ ۰/۰۱۵۲۷             | ۱/۰۳ $\pm$ ۰/۰۲۵۱              | ۱/۲ $\pm$ ۰/۰۱۷۳۲             |
| MCH(pg)                   | ۶۸/۷۳ $\pm$ ۱/۰۰۵              | ۶۸/۷۳ $\pm$ ۳/۳۸               | ۶۴/۶۶ $\pm$ ۱/۶۰۳              | ۶۹/۵۶ $\pm$ ۱/۰۸۴             |
| MCHC (gr/dl)              | ۱۲/۰۵ $\pm$ ۰/۰۳۷              | ۱۱/۵۸ $\pm$ ۰/۰۵۲              | ۱۲/۲۷ $\pm$ ۰/۰۴۵              | ۱۱/۵۰ $\pm$ ۰/۰۸۶             |
| لنفوسیت %                 | ۷۴/۸ $\pm$ ۱/۷۵ <sup>b</sup>   | ۶۹/۱ $\pm$ ۱/۲۵ <sup>a</sup>   | ۷۰/۶ $\pm$ ۱/۱۵ <sup>a</sup>   | ۸۸/۵ $\pm$ ۲/۱۷۹ <sup>c</sup> |
| نوטרوفیل %                | ۱۲/۰۵ $\pm$ ۰/۰۳۷              | ۱۱/۵۸ $\pm$ ۰/۰۵۲              | ۱۲/۲۷ $\pm$ ۰/۰۴۵              | ۱۱/۵۰ $\pm$ ۰/۰۸۶             |
| مونوسیت %                 | ۲/۳ $\pm$ ۰/۰۱                 | ۲/۴۳ $\pm$ ۰/۰۵۳               | ۲/۲۰ $\pm$ ۰/۰۲۶               | ۲/۵۳ $\pm$ ۰/۰۴۵              |

#### ۴. بحث و نتیجه گیری

داری منجر به بهبود ضریب تبدیل خوراک (FCR)، نرخ رشد ویژه (SGR)، فاکتور وضعیت (CF)، نرخ افزایش وزن (BWG)، نرخ رشد روزانه (DGR) در ماهی قزل آلاهی رنگین کمان جوان در مقایسه با سایر جیره ها خواهد شد.

نتایج حاصل از مطالعه حاضر حاکی از آن است که کاربرد جیره غذایی حاوی عصاره گیاه نسترن *R.canina L* در سطح (g/kg) ۵ گرم در کیلو گرم خوراک به طور معنی



محصولات گیاهی می توانند رشد و تثبیت یا کلون شدن تعداد بی شماری از عوامل بیماری زا و غیر بیماری زا باکتریایی را در روده ماهی کنترل و محدود کنند. این امر باعث بهره وری بیش تر جیره های غذایی می شود و مصرف آنها نیز منجر به رشد بهتر آبی می گردد (Bradford, 1976; Reverter *et al.*, 2014). ثابت شده است که مقدار مصرف عصاره در جیره غذایی تابعی از نوع گونه، سن، وزن آبی و شرایط محیطی و اثر عوامل استرس زا در طول دوره پرورش است (Moghanlou *et al.*, 2018). مصرف سطح بالایی از این مواد در جیره غذایی، باعث فعال شدن مهار کننده های آنزیمی خواهد شد. بسیاری از گیاهان حاوی این مهار کننده ها هستند و می توانند آبی را در برابر تخریب ناخواسته ناشی از ترشح بیش از حد آنزیم محافظت کنند. گیاهان دارویی حاوی مقادیر زیادی فلاونوئیدها و ترکیبات فعال بیولوژیکی اند، تجزیه بیو شیمیایی این گیاهان وجود مقادیر بالایی از این مواد را در گیاهان اثبات کرده است. در گیاه نسترن وحشی، ترکیبات موثره شامل آنتی اکسیدانهای مختلف از جمله فنولها و فلاونوئیدها وجود دارد. در دهه های اخیر، افزودنی های گیاهی به عنوان مواد قابل جایگزین آنتی بیوتیکها مورد توجه زیادی قرار گرفته اند. به طور کلی، افزودنی های خوراکی از طریق اثر بر فلور دستگاه گوارش و کنترل عوامل بیماری زا، نقش خود را در بهبود رشد نیز اعمال می نمایند.

ارزیابی شاخص های خون شناسی در آبی پروری، به عنوان ابزاری مهم و تشخیصی برای ارزیابی وضعیت سلامت، استرس و شرایط بیماری پذیرفته شده است (Rashidian *et al.*, 2020). شاخص های خون شناسی از جمله RBC، Ht و شاخص های مشتق شده از آنها مانند MCV (اندازه RBC)، MCH (مقدار Hb) و MCHC (محتوای Hb) به طور خاص برای نشان دادن وضعیت گلبولهای قرمز و قابلیت حمل اکسیژن در ماهی مشخص شده است (Houston, 1997). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که گنجاندن عصاره گیاه نسترن وحشی در جیره غذایی ماهی قزل آلا تاثیری بر شاخص های خون مانند حجم متوسط سلولی (MCV)، میانگین هماتوکریت سلولی (MCH)، غلظت MCHC (MCHC) گلبولهای قرمز (RBC)، گلبولهای سفید (WBC) و Ht، RBC ندارد. فاکتور گلبولهای سفید در تیمار

مطالعات بسیاری در مورد اثر احتمالی عصاره های گیاهی بر عملکرد رشد گزارش شده است. به عنوان مثال، در ماهی روهو (*Labeo victorianus* (Ningu) مصرف مکمل رشد گیاه گزنه (*stinging Urtica dioica*) در سطوح ۱ و ۵ درصد باعث افزایش شاخص های رشد و ایمنی شده است (Ngugi *et al.*, 2015). همین نتایج در فیل ماهی *Huso Huso* تغذیه شده با رژیم غذایی پیاز (*Allium cepa* (onion) در سطح ۰.۵ و ۱ درصد به دست آمده است (Akrami *et al.*, 2015) که با نتایج به دست آمده در این پژوهش مطابقت دارد. نشان داده شده است که عصاره آلوئه ورا در سطوح ۰.۵، ۱، ۲/۵ درصد می تواند اثر محرکی را بر رشد و اشتها ی کپور معمولی داشته باشد و افزایش وزن و نرخ رشد ویژه، پس از ۸ هفته تغذیه با این جیره ها، در این ماهی مشاهده شده است (Mahdavi *et al.*, 2013).

همچنین، Shalaby و همکاران (۲۰۰۶)، افزایش مصرف خوراک، نرخ رشد ویژه (SGR) و افزایش وزن تیلپایی نیل را پس از یک تغذیه با جیره غذایی حاوی (g/kg) ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰ گیاه سیر (*garlic*) برای ۱۲ هفته ثبت کرده اند (Shalaby *et al.*, 2006). چای سبز (*green tea* و دارچین، *cinnamon American ginseng* جیسینینگ آمریکایی نیز عملکرد خوبی را در رشد و ضریب تبدیل غذایی در ماهی تیلپا نشان داده اند (Abdel-Tawwab, 2012; Abdel-Tawwab *et al.*, 2011; Ahmad *et al.*, 2010). مصرف کافئین در جیره غذایی ماهی شانک سر پلائی (*Sea-bream* (*sparus aurata*) در سطوح ۱، ۲، ۵، ۱۰ درصد باعث افزایش رشد این ماهی شده است و با افزایش مقادیر این ترکیبات در جیره اثر منفی در رشد و طعم ماهی مشاهده شده است (Chatzifotis *et al.*, 2008).

مطالعات زیادی نشان داده اند که عصاره و یا مصرف برخی از گیاهان دارویی، در جیره غذایی آبی می توانند به عنوان محرک اشتها و رشد بر شاخص های رشد و ایمنی اثر داشته باشند. بیان شده است که این اثرات می توانند ناشی از تحریک در افزایش ترشح آنزیمهای گوارشی و نیز تاثیر بر انتخابی شدن یا افزایش فلور باکتریایی در دستگاه گوارش آبی باشد (Awad *et al.*, 2012; Harikrishnan *et al.*, 2012; Reverter *et al.*, 2014; Takaoka *et al.*, 2011; Van Hai, 2015) گیاهان و

میک در جیره غذایی ماهی قزل آلی رنگین کمان هیچ اثری را بر شاخص های خون شناسی نشان نداده است (Yılmaz and Ergün, 2018). سلول های ایمنی خون شامل بازوفیل، نوتروفیل، ائوزینوفیل، مونوسیت و لنفوسیت ها هستند. لنفوسیت ها سلول های مهمی هستند که با تولید آنتی بادی و همچنین تقویت فعالیت ماکروفاژها می توانند پاسخ ایمنی را در ماهی تحت تاثیر قرار دهند (Jalali et al., 2009). از طرف دیگر ماهی ها دارای یک سیستم دفاعی ذاتی پیچیده هستند که در مقایسه با ایمنی اختصاصی در برابر باکتری ها موثرترند (Low et al., 2016). گرانولوسیت ها، با پاسخ های دفاع ایمنی سلولی غیراختصاصی با عث غیر فعال کردن میکروارگانیسم های بیماری زا در بدن ماهیان استخوانی می شوند (Whyte, 2007). در این مطالعه، بیشترین تعداد لنفوسیت در ماهی در جیره غذایی حاوی ۱۰ گرم در کیلو گرم عصاره گیاهی نسترن وحشی مشاهده شد و سطح ایمنی را در ماهی قزل آلی رنگین کمان در مقایسه با تیمار های حاوی مقادیر کمتر افزایش داد و در جیره حاوی ۵ گرم در کیلو گرم اثر بهتری را به عنوان محرک رشد در ماهیان قزل آلی جوان نشان داد. این یافته ها را می توان به عنوان استاندارد مصرف عصاره گیاهی نسترن وحشی در در جیره غذایی ماهیان قزل آلی جوان مد نظر قرار گیرند.

۱۰، ۵، ۲/۵ گرم در کیلوگرم عصاره، در مقایسه با گروه شاهد کاهش معنی داری داشت. اما جیره حاوی (g/kg) ۱۰ گرم در کیلو گرم عصاره هیچ اختلاف معنی داری با گروه شاهد نشان نداد. گلبول های سفید اجزای اصلی پاسخ ایمنی ذاتی هستند که عملکرد ایمنی در ماهیان استخوانی را تنظیم می کنند و نقش اصلی را در مبارزه با بیماری ها ایفا می کنند (Yılmaz and Ergün, 2018). اثر محرک های ایمنی اسیدهای آلی در غلظت ۰،۵ در صد Trans\_cinnamic acid اسید سینامیک بر ماهیان جوان *Cirrhnus mrigala* و نیز بر ماهیان قزل آلی، نشان داده است که گلبول سفید در طول دوره پرورش و تغذیه با این جیره ها تغییر زیادی را ندارد (Yılmaz and Ergün, 2018). تعداد گلبول های سفید ماهی هیبرید تیلپیا *Oreochromis sp.* با تغذیه از جیره های حاوی ۲ درصد از انواع مختلف اسیدهای آلی شامل (formate, propionate, acetate, Butyrate) تنها کاهش رشد را در جیره حاوی اسید فرمات (formate) نشان داد (Kumar et al., 2017). به طور مشابه، در یک مطالعه دیگری افزودن ترکیب تجاری BioAcidUltera به عنوان یک محرک ایمنی به میزان ۰،۱ و ۰،۲ درصد در جیره غذایی ماهی قزل آلی رنگین کمان، هیچ تغییری در شاخص های خون شناسی (RBC, Ht, Hb) را در یک دوره ۶۰ روزه پرورش نشان نداده است (Saei et al., 2016). مصرف اسید سینا

## ۵. منابع

### References

- Abdel-Tawwab, M. 2012. The use of American ginseng (*Panax quinquefolium*) in practical diets for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*): growth performance and challenge with *Aeromonas hydrophila*. *Journal of Applied Aquaculture* 24, 366-376.
- Abdel-Tawwab, M., Ahmad, M. H., Seden, M. E., Sakr, S. F. 2010. Use of green tea, *Camellia sinensis* L., in practical diet for growth and protection of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), against *Aeromonas hydrophila* infection. *Journal of the World Aquaculture Society* 41, 203-213.
- Ahmad, M. H., El Mesallamy, A. M., Samir, F., Zahran, F. 2011. Effect of cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*) on growth performance, feed utilization, whole-body composition, and resistance to *Aeromonas hydrophila* in Nile tilapia. *Journal of Applied Aquaculture* 23, 289-298.
- Akrami, R., Gharaei, A., Mansour, M. R., Galeshi, A. 2015. Effects of dietary onion (*Allium cepa*) powder on growth, innate immune response and hemato-biochemical parameters of beluga (*Huso huso* Linnaeus, juvenile). *Fish & shellfish immunology* 45, 828-834.
- Artik, N., and Eksi, A. 1988. Studies on chemical composition of some wild fruits (*Rosa canina*, *Crataegus monogyna*, *Crataegus aronia*, *Vaccinium myrtillus* and *Berberis vulgaris*). *Food Industry*, 9, 33-34.
- Awad, E., Austin, B., Lyndon, A. 2012. Effect of dietary supplements on digestive enzymes and growth performance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum). *Journal of American Science* 8, 858-864.
- Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry* 72, 248-254.
- 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.
- Chatzifotis, S., Kokou, F., Ampatzis, K., Papadakis, I., Divanach, P., Dermon, C. 2008. Effects of dietary caffeine on growth, body composition, somatic indexes, and cerebral distribution of acetyl-cholinesterase and nitric oxide synthase in gilthead sea bream (*Sparus aurata*), reared in winter temperature. *Aquaculture nutrition* 14, 405-415.
- Collier, H. B. (1944). Standardization of blood haemoglobin determinations. *Canadian Medical Association Journal* 50, 550.
- Demir, F., and Ozcan, M. 2001. Chemical and technological properties of rose (*Rosa canina* L.) fruits grown wild in Turkey. *Journal of Food Engineering* 47(4), 333-336.
- Dina, R., Pal, A. K., Bhatena, Z. P., Sahu, N. P., Mukherjee, S. C. 2007. Dietary microbial levan grown enhances cellular non-specific immunity and survival of common carp (*Cyprinus carpio*) juveniles. *Fish Shellfish Immunol* 22, 477-486.
- Faghani, T., Takami, G. A., Kousha, A., Faghani, S. 2008. Surveying on alginic acid and anti-streptococcus vaccine effects on the growth performance, survival rate, hematological parameters in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *World Journal of Zoology* 3, 54-58.
- Ghasemi, P. A., Jahanbazi, P., Enteshari, S., Malekpoor, F., Hamed, B. 2010. Antimicrobial activity of some Iranian medicinal plants. *Archives of Biological Sciences* 62, 633-641.
- Ghiasi, F., Mirzargar, S., Badakhshan, H., Shamsi, S. 2010. Effects of low concentration of cadmium on the level of lysozyme in serum, leukocyte count and phagocytic index in *Cyprinus carpio* under the wintering conditions. *Journal of fisheries and Aquatic Science* 5, 113-119.
- Harikrishnan, R., Balasundaram, C., and Heo, M.S. 2012. Effect of Inonotus obliquus enriched diet on hematology, immune response, and disease protection in kelp grouper, *Epinephelus bruneus* against *Vibrio harveyi*. *Aquaculture* 344, 48-53.
- Hodisan, T., Socaciu, C., Ropan, I., Neamtu, G. 1997. Carotenoid composition of *Rosa canina* fruits determined by thin layer chromatography and high performance liquid chromatography. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 16(3), 521-528.
- Houston, A. H. 1997. Are the classical hematological variables acceptable indicators of fish health? *Transactions of the American Fisheries Society* 126, 879-894.
- Jalali, M. A., Ahmadifar, E., Sudagar, M., Takami, G. A. 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. *Aquaculture Research* 40, 804-809.
- Kirakosyan, A., Kauffman, P., Warber, S., Zick, S., Aaronson, K., Bolling, S., Chanc, S. 2004. Applied environmental stresses to enhance the levels of polyphenolics in leaves of hawthorn plants. *Physiologia Plantarum* 121, 182-6.
- Klontz, G. 1994. Fish hematology. Techniques in fish immunology. (Eds. Stolen, JS, Fletcher, TC, Rowley, AF, Kelikoff, TC, Kaatari, SL and Smith, SA). Vol. 3. SOS Publications, Fair Haven, New Jersey, USA.
- Kumar, P., Jain, K., Sardar, P., Sahu, N., Gupta, S. 2017. Dietary supplementation of acidifier: effect on growth performance and haemato-biochemical parameters in the diet of *Cirrhinus mrigala* juvenile. *Aquaculture International* 25, 2101-2116.
- Kumari, J., and Sahoo, P. 2006. Non-specific immune response of healthy and immunocompromised Asian catfish (*Clarias batrachus*) to several immunostimulants. *Aquaculture* 255, 133-141.
- Low, C. F., Mariana, N., Maha, A., Chee, H. Y., Fatimah, M. 2016. Identification of immune response-related genes and signalling pathways in spleen of *Vibrio parahaemolyticus*-infected *Epinephelus fuscoguttatus* (Forsk.) by next-generation sequencing. *Journal of fish diseases* 39, 389-394.
- Mahdavi, M., Hajimoradloo, A., Ghorbani, R. 2013. Effect of Aloe vera extract on growth parameters of common carp (*Cyprinus carpio*). *World Journal of Medical Sciences* 9, 55-60.
- Moghanlou, K. S., Isfahani, E. N., Dorafshan, S., Tukmechi, A., Aramli, M. S. 2018. Effects of dietary supplementation with *Stachys lavandulifolia* Vahl extract on growth performance, hemato-biochemical and innate immunity parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Animal Feed Science and Technology* 237, 98-105.
- Ngugi, C. C., Oyoo-Okoth, E., Mugo-Bundi, J., Orina, P. S., Chemoiwa, E. J., Aloo, P. A. 2015. Effects of dietary administration of stinging nettle (*Urtica dioica*) on the growth performance, biochemical, hematological and immunological parameters in juvenile and adult Victoria Labeo (*Labeo victorianus*) challenged with *Aeromonas hydrophila*. *Fish & shellfish immunology* 44, 533-541.
- Omid beigi, R. 2016. Production and processing of medicinal plants. *Astan Qods Islamic Research Foundation*, 348.
- Rashidian, G., Kajbaf, K., Prokić, M. D., Faggio, C. 2020. Extract of common mallow (*Malva sylvestris*) enhances growth, immunity, and resistance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fingerlings against *Yersinia ruckeri* infection. *Fish & Shellfish Immunology* 96, 254-261.
- 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.
- Saei, M., Beiranvand, K., Taei, H., Nekoubin, H. 2۰۱۶. Effects of different levels of BioAcid Ultra on growth performance, survival, hematological and biochemical parameters of fingerlings rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Aquaculture Research Dev* 7.
- Seiverd, C. E. 1964. Hematology for medical technologists. *Academic Medicine* 39, 867.
- Shalaby, A., Khattab, Y., Abdel Rahman, A. 2006. Effects of Garlic (*Allium sativum*) and chloramphenicol on growth performance, physiological parameters and survival of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases* 12, 172-201.
- Takaoka, O., Ji, S. C., Ishimaru, K., Lee, S. W., Jeong, G. S., Ito, J., Biswas, A., Takii, K. 2011. Effect of rotifer

- enrichment with herbal extracts on growth and resistance of red sea bream, *Pagrus major* (Temminck & Schlegel) larvae against *Vibrio anguillarum*. *Aquaculture Research* 42, 1824-1829.
- Van Hai, N. 2015. The use of medicinal plants as immunostimulants in aquaculture: a review. *Aquaculture* 446, 88-96.
- Whyte, S. K. (2007). The innate immune response of finfish—a review of current knowledge. *Fish & shellfish immunology* 23, 1127-1151.
- Winkel-Shirly, B. 2002. Biosynthesis of flavonoids and effects on stress. *Current Opinion in Plant Biology* 5, 218-223.
- Woo, P. T., and Bruno, D. 2011. "Fish Diseases and Disorders, Volume 3: Viral, Bacterial and Fungal Infections," CABI Boston.
- Yılmaz, S., Ergün, S. 2018. Trans-cinnamic acid application for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): I. Effects on haematological, serum biochemical, non-specific immune and head kidney gene expression responses. *Fish & shellfish immunology* 78, 140-157.