Archive of SID

تاثیر گیاه پنیرک (*Malva neglecta*) بر رشد، بقا و شاخص‌های خونی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

مژگان خدادادی*، هاشم مرمضی، مهران جواهری بابلی

گروه شیلات، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران.

*نویسنده مسئول: mjkhodadadadi@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۴/۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۵/۲۵

چکیده

این پژوهش در سال ۱۳۹۶ با هدف تاثیر استفاده از پودر گیاه پنیرک به عنوان یک نوع محرک ایمنی طبیعی بر پارامترهای رشد و شاخص های خونی ماهی کپور معمولی به مدت ۶۰ روز در مرکز تحقیقات تکثیر و پرورش آبزیان دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز اجرا شد.در مجموع ۳۶۰ قطعه ماهی پس از سازگاری در ۱۲ تانک ۳۰۰ لیتری (هر کدام حاوی ۳۰ قطعه با وزن اولیه ۰/۱۸±۱۸/۱۰ گرم) قرار داده شدند. تیمارهای مورد مطالعه شامل تیمار ۱ (بدون پودر پنیرک)، تیمار ۲ (۲ درصد)، تیمار ۳ (۴ درصد) و تیمار ۴ (۶ درصد) بودند. نتایج بررسی سلول های دفاعی نشان داد که مونوسیت‌ها و بازوفیل‌ها فقط در تیمارهای ۲ و ۱ مشاهده شدند. بالاترین میزان لنفوسیت‌ها در تیمار ۳ به ترتیب ۹۵/۵ و نوتروفیل‌ها در تیمار ۲، ۴۸/۱۶ درصد به دست آمد. بالاترین مقادیر فاکتور کمپلمان و قدرت باکتری‌کشی سرم در تیمار ۲ نسبت به تیمار شاهد به دست آمد ($P<$۰/۰۵)، اما درمورد لیزوزیم بالاترین مقدار در تیمار ۳ (۵۵/۵۴ g/dI) مشاهده شد ($P<$۰/۰۵). بالاترین مقادیر مربوط به فاکتورهای خونی MCH، MCV، MCHC، گلبول‌های سفید، گلبول‌های قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت در تیمار ۳ به ترتیب 10^{-1}(μm^3) ۱/۱۲، 10^{-1}(μm^3) ۵/۵۹، 10^{-1}(μm^3) ۳/۳۷، (10^3cell.mm^{-3}) ۱۷۳/۳۳، (10^6cell.mm^{-3}) ۱/۳۶، (g/dI) ۸/۳ و ۴۰/۶۶ درصد به دست آمد. پودر گیاه پنیرک تاثیر معنی داری بر روی رشد و بقای ماهی کپور معمولی نشان نداد ($P>$۰/۰۵)، البته در تیمارهای مورد بررسی (تیمار ۱، ۲ و ۳) در ماهی کپور مانند تیمار شاهد، به میزان ۱۰۰ درصد بقاء مشاهده شد. میزان ۴ درصد پودر گیاه پنیرک در جیره غذایی ماهی کپور معمولی سبب بهبود فاکتورهای خونی گردید. همچنین فرموله کردن ۲ درصد جیره از این گیاه دارویی سبب افزایش فاکتور کمپلمان و قدرت باکتری کشی سرم بدن ماهی کپور معمولی شد.

واژگان کلیدی: پنیرک، رشد، بقاء، شاخص های خونی،کپور معمولی.

مقدمه

آبزی‌پروری بخش در حال رشد کشاورزی و صنعت شیلات را در سراسر دنیا است (Gephart *et al*., 2020). افزایش تقاضای ماهی از طریق آبزی‌پروری در سال‌های گذشته به دلیل رشد سریع جمعیت، درآمد ناشی از این فعالیت و همچنین ارجحیت ماهی بر سایر پروتئین‌های حیوانی بوده است. در سال‌های اخیر دلیل رشد این صنعت به علت مسائل اجتماعی و فرهنگی، سلامت گوشت ماهی، افزایش آلودگی‌های محیط‌زیست در اکوسیستم‌های طبیعی و کاهش ذخایر آبزیان دریایی و آب شیرین می‌باشد (Amenyogbe *et al*., 2020). در صنعت آبزی‌پروری عوامل بیماری‌زا از عوامل کاهش‌دهنده تولید می‌باشد و برای حل این مشکل امروزه از محرک‌های سیستم ایمنی استفاده می‌کنند. نقش مهم سیستم ایمنی در حفظ سلامت آبزیان و تضمین بقا و رشد مناسب آن‌ها در طول دوره پرورش، سبب شده تا محققین به استفاده از انواع ترکیبات شیمیایی و طبیعی محرک و تقویت‌کننده سیستم ایمنی تمایل نشان می‌دهند (Dijkstra and Dixon, 2021). محرک‌های ایمنی با تقویت سیستم ایمنی غیراختصاصی، مقاومت ماهیان را در برابر بیماری‌های عفونی افزایش می‌دهند. این مواد به عنوان عوامل دارویی برای کنترل بیماری‌ها از اهمیت زیادی برخوردار هستند، زیرا فاقد هرگونه اثرات منفی موجود در آنتی‌بیوتیک‌ها بر محیط‌زیست هستند و

www.SID.ir

Archive of SID

باقیمانده‌های دارویی نامطلوب ایجاد نمی‌کنند (Sampantamit *et al*., 2020). از عملکردهای مهم محرک‌های ایمنی می‌توان به افزایش قدرت بیگانه‌خواری، افزایش تولید آنتی‌بادی، افزایش تولید لیزوزیم، افزایش مهاجرت گلبول‌های سفید اشاره نمود (Ismail and Al-Hamdani, 2019).

در سال‌های اخیر در آبزی‌پروری استفاده از گیاهان دارویی به عنوان محرک‌های ایمنی جهت تقویت سیستم ایمنی غیراختصاصی ماهیان پرورشی و روشی جهت پیشگیری و کنترل بیماری‌های آن‌ها رایج شده است. با توجه به مزیت‌های متعدد گیاهان دارویی نظیر خطرات جانبی کمتر به موجود زنده و محیط‌زیست، عدم ایجاد مقاومت دارویی، ارزان، پایدار و در دسترس بودن توجهات زیادی را در جهان و ایران به خود جلب کرده‌اند (خدادادی و همکاران، ۱۳۹۳). گیاهان دارویی با داشتن مزیت‌هایی از جمله در دسترس بودن و امکان تولید آن‌ها در سطح وسیع، قیمت مناسب و خطر کمتر برای محیط‌زیست و جانوران یا به‌اصطلاح دوستار محیط‌زیست، عدم ایجاد مقاومت نسبی عوامل بیماری‌زا به داروهای گیاهی همواره به‌عنوان جایگزین مناسب برای داروهای شیمیایی مورد توجه هستند (Mohammadi *et al*., 2019; Alagawany *et al*., 2020). در سال‌های اخیر مطالعات و تحقیقات زیادی در خصوص بررسی اثرات گیاهان دارویی در بهبود شاخص‌های رشد، تغذیه، بقا، فاکتورهای ایمنی و پارامترهای خونی در ماهیان انجام‌شده است (Hasanpour *et al*., 2017; Ismail and Al-Hamdani, 2019; Mohammadi*et al*., 2019; Hoseinifar *et al*., 2020; He *et al*., 2021)، زیرا این پارامترها شاخص بسیار خوبی برای تشخیص تغییرات فیزیولوژیکی بوده و به‌سرعت تحت تأثیر شرایط محیطی تغییر کرده و وضعیت سلامت ماهی را به‌خوبی تشریح می‌کنند (Dijkstra and Dixon, 2021).

پنیرک با نام علمی *Malva sylvestris* گیاهی است علفی، به ارتفاع تا ۶۰ سانتی‌متر و پایا که به صورت خودرو در بسیاری از نقاط می‌روید و برای استفاده نیز کشت می‌گردد (Mohammad Eini *et al*., 2014; Bilen *et al*., 2020). قسمت مورد استفاده پنیرک برگ و گل می‌باشند. البته در اکثر نواحی، گل پنیرک نیز استفاده می‌شود (Imtiaz *et al*., 2012; Yarijani *et al*., 2019). این گیاه در ایران رویش ندارد و گونه نزدیک به آن به نام *M. neglecta* می‌باشد. گونه موجود در ایران، به بلندی گونه‌ی اول نیست و به حالت تقریباً خوابیده است و حداکثر تا ۴۰ سانتی‌متر مرتفع می‌شود. برگ‌ها دارای حالت دایره‌ای و دندانه‌دار و گل‌ها، بنفش‌رنگ و کوچک هستند. قسمت مورد استفاده پنیرک در ایران، گل‌های بنفش رنگ خشک شده آن می‌باشد. محل رویش گیاه در ایران نواحی البرز، اطراف تهران، شمال ایران، آذربایجان، آستارا، اصفهان، نواحی مرکزی ایران، خراسان، دامغان، سمنان، جنوب ایران، کرمان، بلوچستان و سایر نقاط می‌باشند (رنجبر و همکاران، ۱۳۹۲؛ خدادادی و همکاران، ۱۳۹۳). برگ حاوی حدود ۸ درصد موسیلاژ می‌باشد که پس از هیدرولیز، تولید قندهای آرابینوز، گلوکز، رامنوز، گالاکتوز و اسید گالاکتورونیک اسید می‌کند. همچنین حاوی مقدار تانن و فلاونوئید نیز است (Mirghias *et al.,* 2015; Keyrouz *et al.,* 2017; Bilen *et al.,* 2019).

در یک مطالعه از ۲۱۰ قطعه ماهی گورامی طلایی (*Trichogaster trichopterus*) با میانگین وزنی ۵ گرم استفاده شده است. نتایج این تحقیق نشان داد تیمارهایی که از پنیرک در کنار خوراک بیومار استفاده نمودند، بیشترین رشد را داشتند، اگرچه متوسط وزن این نمونه‌ها (ماهیان تغذیه‌شده با پنیرک) تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد نشان داد ($P<۰/۰۵$) (خدادادی و همکاران، ۱۳۹۳). در بررسی دیگری با استفاده از پنیرک در سطح ۶ درصد در جیره باعث افزایش شاخص‌های رشد در ماهی پاسگانمی طلایی و نیز باعث افزایش میزان

www.SID.ir

Archive of SID

کارتنوئیدهای پوست در این ماهی گردید. پنیرک بیشتر باعث افزایش رنگ نارنجی-قرمز در ماهی گردیده بود. در پایان دوره آزمایش ماهی‌های تغذیه‌شده با جیره پنیرک (در همه غلظت‌ها) در کنار جیره تجاری بیومار حداکثر تجمع رنگ‌دانه را در پوست نشان دادند. با توجه به نتایج این تحقیق استفاده از پنیرک برای القاء رنگ مناسب در ماهی توصیه می‌گردد و این مواد می‌تواند به‌عنوان جایگزین مناسب برای آستاگزانتین که قیمت بسیار بالایی دارد، قرار گیرد (رنجبر و همکاران، ۱۳۹۲). با توجه به نقش محرک‌های ایمنی در پیشگیری و تقویت سیستم ایمنی که سبب کاهش تلفات و افزایش تولید ماهی کپور معمولی می‌شوند، در این مطالعه تأثیر استفاده از پودر گیاه پنیرک به‌عنوان یک نوع محرک ایمنی طبیعی بر پارامترهای رشد و شاخص‌های خونی ماهی کپور معمولی پرورشی مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در تابستان ۱۳۹۶ به مدت ۶۰ روز در مرکز تحقیقات تکثیر و پرورش آبزیان دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز اجرا شد. پیش از تغذیه با جیره غذایی موردمطالعه، ماهیان به مدت ۷ روز جهت سازگاری از جیره پایه تغذیه شدند و ۶۰ روز تغذیه با استفاده از پودر خشک گیاه پنیرک انجام شد. در این تحقیق از ۱۲ عدد تانک پلاستیکی ۳۰۰ لیتری استفاده شد. این تانک‌هاسرباز بوده و منبع تأمین نور، نور طبیعی در طول دوره آزمایش بوده است. در هر تانک ۳۰ عدد ماهی کپور معمولی با وزن اولیه ۱۰/۱۸±۱۸/۰ گرم و درمجموع ۱۲ تانک ۳۶۰ ماهی قرار داده شد. ۳ تانک به‌عنوان تانک‌های شاهد در نظر گرفته شد. پس از تهیه مواد اولیه مورد نیاز این آزمایش، در ابتدا آرد ماهی آسیاب و سپس از الک ۲ میلی‌متری عبور داده شد، سپس مطابق فرمولاسیون جیره‌های آزمایشی، مواد اولیه عمده با ترازوی دیجیتال با دقت یک گرم توزین شده که برای توزین ترکیباتی نظیر مخلوط مواد معدنی و ویتامینی از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم استفاده شد. سپس مواد اولیه خشک جیره‌ها با کمک روغن ماهی و آب در مخلوط‌کن به شکل خمیر درآمده و به مدت ۲۵ تا ۳۵ دقیقه عمل مخلوط سازی ادامه پیدا کرد. پس از شکل‌پذیری ترکیبات تا زمانی که مواد حالت خمیری حالت گرفتند، با استفاده از چرخ‌گوشت پارس خزر با قطر شبکه خروجی ۲ میلی‌متر آن‌ها را چرخ‌کرده و پلت‌های غذایی به دست آمد. این پلت پس از پهن شدن بر روی تورهای آلومینومی در سایه خشک شدند. غذاهای خشک شده پس از خرد شدن با دست درون ظروف پلاستیکی مخصوص نگهداری جیره ماهی ریخته شده و در محیطی خشک و خنک نگهداری شدند. در این پژوهش گیاه پنیرک از مزارع کشاورزی واقع در شهرستان سوسنگرد جمع‌آوری و پس از خشک شدن در سایه، پودر شدند (Du *et al*., 2005). سپس برای تهیه جیره‌هایی با سطوح صفر (شاهد)، ۲، ۴ و ۶ درصد از جیره پودر پنیرک فرموله شد (جدول ۱) (خدادادی و همکاران، ۱۳۹۳). در جدول ۲ آنالیز غذای مصرفی نشان داده شده است. برحسب نوع جیره آزمایشی سطوح مختلف پودر پنیرک به‌صورت پودر داخل به جیره اضافه و همراه سایر مواد خمیر شد. در پایان پلت‌های آماده شده تا زمان استفاده در یخچال نگهداری شدند. در این تحقیق میزان دفعات تغذیه در چهار نوبت و در ساعت‌های ۷، ۱۱، ۱۵ و ۱۹ بود. میزان غذادهی بر اساس وزن بدن ماهی کپور معمولی انجام شد، به‌این‌ترتیب که از هفته اول و دوم به اندازه سه درصد وزن بدن غذادهی صورت گرفت. در طول دوره پرورش، میانگین دمای آب در استخرهای پرورشی معادل ۱/۰۲±۲۶ درجه سانتی‌گراد بود. تعویض آب به‌صورت یک روز در میان انجام شد. نحوه تعویض آب از طریق خالی کردن آب از شیرهای که در تانک‌ها قرار داشت و همچنین سیفون کردن مواد و فضولات ماهیان انجام شد. هوادهی از طریق موتور برق و کانال‌کشی جهت انتقال هوا به داخل تانک‌ها انجام

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱ – آنالیز جیره ساخته‌شده در چهار تیمار آزمایشی.

مواد (درصد)	تیمار اول	تیمار دوم	تیمار سوم	تیمار چهارم
آرد ماهی	۲۵ درصد	۲۵ درصد	۲۵ درصد	۲۵ درصد
آرد سویا	۳۶ درصد	۳۶ درصد	۳۶ درصد	۳۶ درصد
آرد گندم	۲۰ درصد	۲۰ درصد	۲۰ درصد	۲۰ درصد
روغن ماهی	۸ درصد	۸ درصد	۸ درصد	۸ درصد
پودر پنیرک	۰ درصد	۲ درصد	۴ درصد	۶ درصد
ملاس	۲/۵ درصد	۲/۵ درصد	۲/۵ درصد	۲/۵ درصد
پرمیکس ویتامین	۱/۵ درصد	۱/۵ درصد	۱/۵ درصد	۱/۵ درصد
پرمیکس مواد معدنی	۱ درصد	۱ درصد	۱ درصد	۱ درصد
پرکننده	۶ درصد	۴ درصد	۲ درصد	۰
پروتئین	۳۵/۷۸ ± ۰/۳۲	۳۵/۹۶ ± ۰/۳۱	۳۵/۹۷ ± ۰/۶۱	۳۶/۱ ± ۰/۲۰
چربی	۱۳/۳۶ ± ۰/۱۱	۱۳/۳۶ ± ۰/۶۴	۱۲/۹۷ ± ۰/۴۴	۱۲/۶۴ ± ۰/۵۶
نیتروژن عاری از ازت	۲۸/۸۳ ± ۰/۳۰	۲۸/۶۰ ± ۰/۲۶	۲۹/۸۳ ± ۰/۹۶	۲۹/۳۰ ± ۰/۲۰
انرژی قابل هضم کیلو کالری بر کیلو گرم	۳۷۸۶۸/۱۲±۱۲	۳۷۸۴۸/۲۱±۵۶	۳۷۹۸۱/۱۵±۱۲	۳۷۵۳۶/۲۹±۶۲

شد. به‌منظور بررسی میزان رشد بچه ماهیان، ۳ بار در طول دوره ۶۰ روزه (روز صفر، روز ۳۰ و روز ۶۰) بیومتری بچه ماهیان انجام شد. درهر مرحله برای بیهوشی از پودر گل میخک به میزان ۱۰۰ میلی گرم در لیتر استفاده شد (علیشاهی و همکاران، ۱۳۹۲). بدین ترتیب که ۳ نمونه بچه ماهی از هر یک از تانک‌ها به‌صورت تصادفی صید شده و طول آن‌ها با تخته زیست‌سنجی و وزنشان با ترازویی با دقت یک گرم تعیین گردید. سپس متوسط وزنی و طولی بچه ماهیان هر تکرار محاسبه و ثبت شد.

شاخص‌های بیومتری بدن ماهیان مورد مطالعه و فاکتورهای تغذیه‌ای آن‌ها شامل افزایش وزن (Body weight increase)، درصد افزایش وزن (Percentage Weight Gain)، افزایش طول (Length Gain)، فاکتور وضعیت (Condition factor)، ضریب چاقی، میزان افزایش وزن روزانه (DGR)، ضریب تبدیل غذایی (Feed Conversation Ratio)، ضریب رشد ویژه (Specific Growth Ratio)، خوراک مصرفی (Feed intake)، کارایی غذا (درصد) (Feed efficiency) و درصد بقا (SR) به ترتیب به کمک رابطه‌های ۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۶، ۷، ۸، ۹،۱۰ و ۱۱ محاسبه شدند (Cui, 1988; El-Sayed, and El-Ghobashy, 2011):

رابطه ۱: افزایش وزن بدن = وزن نهایی ـ وزن اولیه

رابطه ۲: درصد افزایش وزن = متوسط وزن نهایی (گرم) ـ متوسط وزن اولیه (گرم) × ۱۰۰ / متوسط وزن اولیه (گرم)

رابطه ۳: افزایش طول بدن = میانگین طول ثانویه (سانتی‌متر) ـ میانگین طول اولیه (سانتی‌متر)

رابطه ۴: فاکتور وضعیت = وزن ماهی (گرم) / ۳ (طول برحسب سانتی‌متر) × ۱۰۰

رابطه ۵: ضریب چاقی = وزن ماهی (گرم) × ۱۰۰ / طول (سانتی‌متر)

رابطه ۶: افزایش وزن روزانه = متوسط وزن نهایی (گرم) ـ متوسط وزن اولیه (گرم) / تعداد روزهای پرورش

رابطه ۷: ضریب تبدیل غذایی = مقدار غذای خورده شده (گرم) / افزایش وزن بدن (گرم)

رابطه ۸: ضریب رشد ویژه =Ln (وزن ثانویه (گرم) ـ وزن اولیه (گرم) / تعداد روزهای پرورش × ۱۰۰

رابطه ۹: خوراک مصرفی٪=کل غذای خورده شده به ازای هرماهی× تعداد روزهای پرورش / (وزن نهایی × وزن اولیه)

رابطه ۱۰: کارایی غذا ٪ = افزایش وزن ماهی (گرم) / وزن غذای خورده شده (گرم) × ۱۰۰

رابطه ۱۱: درصد بقا ٪ =تعداد بچه ماهیان در پایان

www.SID.ir

Archive of SID

آزمایش / تعداد بچه ماهیان در ابتدای آزمایش × ۱۰۰

اندازه‌گیری پارامترهای خون‌شناسی ماهی در آزمایشگاه دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز و خون‌گیری از سیاهرگ وریدی ساقه دمی انجام شد. حجم فشرده گلبولی یا PCV با استفاده از لوله‌های میکروهماتوکریت و سانتریفوژ نمونه به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه با استفاده از سانتریفوژ به دست آمد. پس از مخلوط‌کردن ۰/۰۲ میلی‌لیتر خون با ۵ سی‌سی محلول تجارتی درابکین و پس از گذشت ۱۰ دقیقه، نمونه مخلوط شده به مدت ۱۰دقیقه به‌منظور رسوب ذرات هسته با سرعت ۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد. سپس جذب نوری محلول فوقانی در طول موج ۵۴۰ نانومتر به‌وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری و میزان هموگلوبین برحسب گرم در دسی لیتر محاسبه شد. شمارش کلی گلبول‌های قرمز ماهی به روش دستی و با استفاده از لام هماسیتومتر نئوبار صورت گرفت. برای شمارش گلبول‌های قرمز تا درجه ۰/۵ پی‌پت ملانژور قرمز خون کشیده شد و سپس تا درجه ۱۰۱ با محلول رقیق‌کننده نات ـ هریک رقیق (نسبت رقت ۱ به ۲۰۰) و سپس نمونه رقیق‌شده به لام هماسیتومتر نئوبار منتقل و پس از صرف زمان ۵ دقیقه برای ته‌نشین شدن گلبول‌های قرمز، تعداد گلبول‌های قرمز با بزرگ‌نمایی ۴۰ در پنج مربع ثانوی از مربع اولیه مرکزی شمارش و تعداد سلول شمارش‌شده در ضریب رقت یعنی عدد ۱۰۰۰۰ ضرب‌شد و تعداد گلبول‌های قرمز در میلی‌لیتر مکعب خون محاسبه گردید (Thrall, 2004).

برای شمارش تفریقی گلبول‌های سفید گسترش خون تهیه شد. برای این‌کار و قبل از مخلوط نمودن نمونه خون با ماده ضد انعقاد مستقیماً یک قطره خون بر روی لام قرارگرفت و سپس اقدام به تهیه گسترش‌گردید. گسترش‌های تهیه‌شده با الکل متیلیک تثبیت (فیکس) و سپس با استفاده از رنگ گیمسا به مدت ۲۰ دقیقه رنگ‌آمیزی شدند و پس از پایان رنگ‌آمیزی و شستشوی لام و خشک‌شدن گسترش با عدسی روغنی تعداد یک‌صد سلول سفید مورد شمارش و درصد هر یک از سلول‌ها محاسبه و ثبت گردید (رابطه ۱۲). شمارش کلی گلبول‌های سفید به روش مستقیم (هماسیتومتر) با رقیق کردن خون به نسبت ۱ به ۲۰۰ با محلول رقیق‌کننده نات ـ هریک صورت گرفت. اندیس‌های گلبولی با استفاده از رابطه‌های ۱۲ تا ۱۵ محاسبه شدند (Thrall, 2004):

رابطه ۱۲: تعدادگلبول‌های سفید = (تعداد کل گلبول‌های سفید شمارش‌شده در ۹ مربع بزرگ÷۱۰ درصد) × ۲۰۰

رابطه ۱۳: MCV = تعداد گلبول‌های قرمز (میلیون در میلی‌متر مکعب) / ۱۰ × هماتوکریت(درصد)

رابطه ۱۴: MCH = تعداد گلبول‌های قرمز(میلیون در میلی‌متر مکعب) / ۱۰ × هموگلوبین (گرم در دسی لیتر)

رابطه ۱۵: MCHC = هماتوکریت(درصد) / ۱۰۰ × هموگلوبین (گرم در دسی لیتر)

جهت اندازه‌گیری هموگلوبین (Hb، g/dl^{-1})، هماتوکریت (HCT، درصد) به روش Blaxhall و Daisley (۱۹۷۳) اندازه‌گیری شدند.

جهت اندازه‌گیری فعالیت کمپلمان از آزمایش همولیز در ژل آگار بهره‌گیری شد. جهت اندازه‌گیری فعالیت کمپلمان از آزمایش همولیز در ژل آگار بهره-گیری شد. ابتدا آگارز ۱/۵٪ در بافر فسفات (pH=۷/۲ حاوی ۰/۵ میلی مول کلرید منیزیم و ۱/۵ میلی مول کلرید کلسیم) تهیه شد. در دمای ۵۵-۵۰ درجه سانتی‌گرادبه میزان ۱/۵ درصد از گلبول قرمز خرگوش شسته شده با بافر فسفات (با تراکم $۱۰^{۸}$ ×۱ سلول در هر میلی‌لیتر) به آگارز اضافه شد. مخلوط آگارز حاوی گلبول‌های قرمز خرگوش داخل پلیت توزیع گردید. پلیت‌ها به مدت یک‌شب در یخچال ۴ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و سپس حفرات به قطر ۳ میلی‌متر و بافاصله ۲ سانتی‌متر از هم در پلیت‌ها ایجادشده و به هر گوده میزان ۲۰ میکرولیتر از سرم نمونه اضافه شد. پلیت‌ها در محیط مرطوب و دمای ۲۵ درجه به مدت ۴۸ ساعت انکوبه شده و قطر هاله لیز گلبولی اندازه‌گیری شد. برای سنجش فعالیت

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲ – نتایج تأثیر گیاه پنیرک (*Malva neglecta*) بر رشد و بقا ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) طی ۶۰ روز پرورش (سال ۱۳۹۶).

	شاهد	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳
وزن (گرم)	۳۸/۱±۷۶/۳۵ ^{a}	۴۰/۱±۹۳/۱۵ ^{a}	۴۰/۱±۴۳/۷۵ ^{a}	۴۰/۱±۱۰/۱۵ ^{a}
طول (سانتی‌متر)	۰±۱۵/۵۲ ^{a}	۱۵/۰±۳۳/۸۵ ^{a}	۱۵/۰±۳۳/۸۶ ^{a}	۱۵/۰±۶۶/۵۷^{a}
افزایش وزن (گرم)	۲۰/۱±۷۶/۱۵ ^{a}	۲۲/۱±۹۳/۲۶^{a}	۲۲/۱±۵/۱۰ ^{a}	۲۲/۱±۱۰/۷۵ ^{a}
درصد افزایش وزن (٪)	۱۱۵/۱۰±۳۷/۸۴ ^{a}	۱۲۷/۱۳±۴۱/۲۱ ^{a}	۱۲۵/۹±۴۶/۲۹ ^{a}	۱۲۲/۱۴±۷۷/۱۹ ^{a}
ضریب رشد ویژه (درصد/روز)	۱/۰±۲۷/۰۸ ^{a}	۱/۰±۳۶/۰۷ ^{a}	۱/۰±۳۵/۰۹ ^{a}	۱/۰±۳۳/۰۸ ^{a}
ضریب تبدیل غذایی	۱/۰±۸۷/۰۸ ^{a}	۱/۰±۷۰/۰۷ ^{a}	۱/۰±۷۳/۰۵ ^{a}	۱/۰±۷۶/۰۳ ^{a}
نسبت بازده غذایی	۰/۰±۵۳/۰۳ ^{a}	۰/۰±۵۸/۰۵ ^{a}	۰/۰±۵۷/۰۵ ^{a}	۰/۰±۵۶/۰۴ ^{a}
نسبت بازده پروتئین (٪)	۱/۰±۴۵/۰۷ ^{a}	۱/۰±۶۰/۰۷ ^{a}	۱/۰±۵۷/۰۵ ^{a}	۱/۰±۵۵/۰۷ ^{a}
ضریب افزایش رشد ویژه (٪)	۱/۰±۹۷/۰۷ ^{a}	۲/۰±۱۲/۱۰ ^{a}	۲/۰±۰۹/۰۹ ^{a}	۲/۰±۰۴/۰۸ ^{a}
فاکتور وضعیت	۱/۰±۱۴/۰۴ ^{a}	۱/۰±۱۴/۱۲ ^{a}	۱/۰±۱۲/۱۲ ^{a}	۱/۰±۰۴/۱۱ ^{a}
بقا (٪)	۱۰۰^{a}	۱۰۰ ^{a}	۱۰۰ ^{a}	۱۰۰^{a}

حروف غیرمشابه (a, b, c, d) در هر ردیف اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ را نشان می دهد.

آنزیمی لایزوزیم سرم از روش آگارز لیزوپلیت و پودر باکتری میکروکوکوس لیزودایکتیکوس (سیگما) توصیه‌شده توسط Ellis و همکاران (۱۹۹۸) استفاده گردید. برای اندازه‌گیری قدرت باکتری کشی سرم ابتدا باکتری آئروموناس‌هیدروفیلابه مدت ۴۸ ساعت در محیط TSB کشت داده شد و سپس سلول‌های باکتریایی با سانتریفوژ ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه جمع‌آوری و با افزودن مقداری بافرفسفات سدیم استریل به آن‌ها جذب نوری سوسپانسیون حاصله در طول‌موج ۵۴۰ نانومتر برابر ۱ تنظیم گردید. تعداد باکتری در سوسپانسیون حاصل شمارش شده و با استفاده از روش تهیه رقت‌های متوالی بر مبنای ده، سوسپانسیون 10^{5} cfu/ml باکتری در ژلاتین ورونال بافر ۰/۱ درصد استریل (pH =۷/۵ و حاوی ۰/۵ میلی‌مول در میلی‌لیتر یون کلسیم و ۰/۱۵ میلی‌مول در میلی‌لیتر یون منیزیم) تهیه گردید. نمونه‌های سرمی به نسبت ۱:۳ با بافر فوق رقیق گردیدند. سوسپانسیون باکتریایی حاصل به نسبت ۱:۱ با سرم رقیق‌شده مخلوط شده و به مدت ۹۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد با حرکت ملایم انکوبه گردیدند. علاوه بر نمونه‌های فعال، همان مقدار سرم از هر نمونه در بن‌ماری در دمای ۶۵ درجه غیر-فعال شده و همان روش برای نمونه‌های غیرفعال نیز انجام شد، سپس یک لوپ کامل از مخلوط سرم و باکتری در محیط کشت TSA کشت داده شد. تمامی مراحل در زیر هود و کنار شعله انجام شد. محیط‌ها به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردیده و سپس به کمک دستگاه کلونی‌کانتر تعداد پرگنه‌ی باکتریایی رشد یافته در روی محیط کشت شمارش گردید. نتایج به‌صورت متوسط تعداد باکتری شمارش‌شده برای هر نمونه مشخص‌شده و تعداد باکتری شمارش‌شده در هر تیمار نسبت به تیمار شاهد مقایسه گردید (Thrall, 2004).

آنالیز و محاسبات داده‌ها به کمک نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۸ و اکسل نسخه ۲۰۰۷ انجام شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها در قالب یک طرح تصادفی با استفاده از تست آنالیز واریانس یک‌طرفه، اختلاف موجود بین میانگین تیمارهای مورد بررسی مشخص، سپس با استفاده از آزمون دانکن معنی‌دار بودن تفاوت بین تیمارها در سطح ۹۵ درصد مشخص گردید.

نتایج

نتایج تأثیر عصاره گیاه پنیرک بر روی پارامترهای رشد و بقا ماهی کپور معمولی در جدول ۳ نشان داده شده است. در این بخش پارامترهای وزن، طول، افزایش وزن، درصد افزایش وزن، ضریب رشد ویژه،

www.SID.ir

Archive of SID

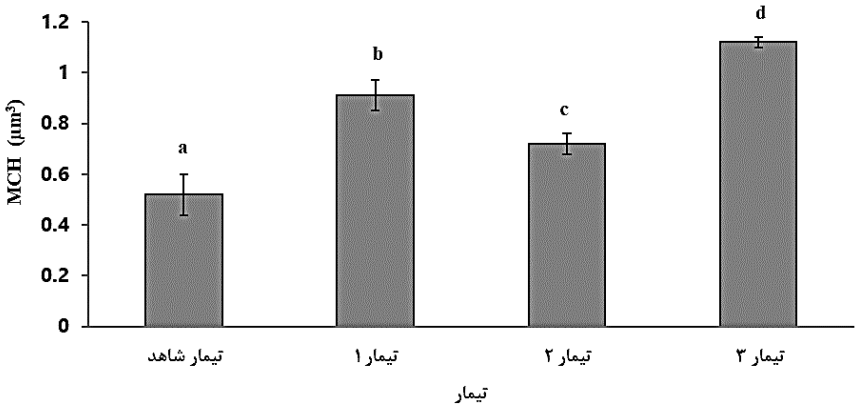
جدول ۳ – تأثیر گیاه پنیرک (*Malva neglecta*) بر سلول‌های دفاعی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) طی ۶۰ روز پرورش (سال ۱۳۹۶).

	شاهد	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳
لنفوسیت	۹۰/۱۶	۹۱/۵	۵۰/۳۳	۹۳/۱۴
منوسیت	۴/۵۱	۲/۸۴	۱/۵۱	۰/۷
نوتروفیل‌ها	۵/۳۳	۵/۳۳	۴۸/۱۶	۶/۱۶
بازوفیل	۰	۰/۳۳	۰	۰
ائوزینوفیل	۰	۰	۰	۰

جدول ۴ – تأثیر گیاه پنیرک (*Malva neglecta*) بر فاکتورهای ایمنی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) طی ۶۰ روز پرورش (سال ۱۳۹۶).

	شاهد	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳
کمپلمان (g/dl)	۰±۱۵۰/۰۰ ^{a}	۲۵۳/۲۶±۳۳/۷۷ ^{b}	۳۱۲/۲۰±۵۰/۹۱ ^{c}	۲۸۶/۲۰±۶۷/۵۵ ^{d}
قدرت باکتری‌کشی سرم	۳۷±۱۸۰/۲۷ ^{a}	۲۲۸/۲۶±۳۳/۷۷ ^{b}	۳۱۲/۲۰±۵۰/۹۱^{c}	۲۵۳/۲۵±۳۳/۵۵ ^{d}
لیزوزیم (g/dl)	۴۹/۷±۱۲/۴۰^{a}	۴۶/۴±۳۸/۱۵ ^{a}	۴۷/۵±۱۶/۷۴ ^{a}	۵۵/۶±۵۴/۰۴^{b}

حروف غیرمشابه (a, b, c, d) در هر ردیف اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ را نشان می دهد.



شکل ۱ – تأثیر عصاره گیاه پنیرک (*Malva neglecta*) بر روی فاکتور MCH ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) طی دوره پرورش ۶۰ روز در سال ۱۳۹۶ (حروف غیرمشابه (a, b, c, d) در هر ستون اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ را نشان می‌دهد).

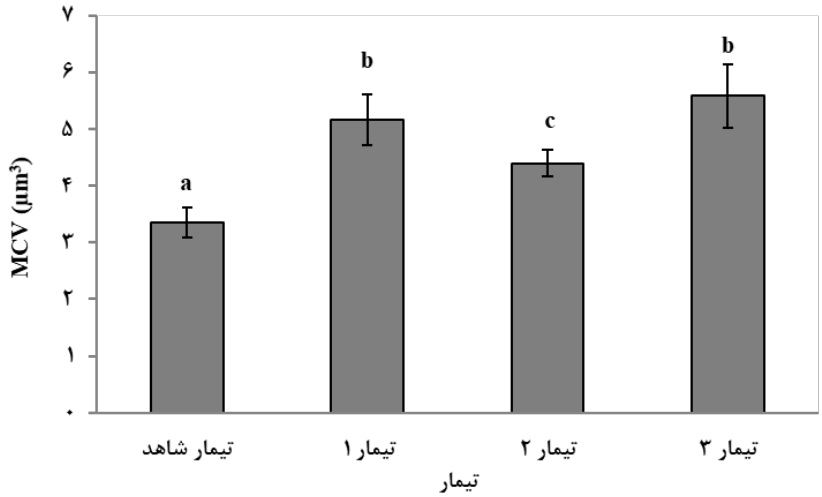
ضریب تبدیل غذایی، نسبت بازده غذایی، نسبت بازده پروتئین، درصد افزایش رشد ویژه، درصد افزایش وزن روزانه و درصد بقا بین تیمار شاهد و سه تیمار ۲، ۳ و ۴ مقایسه شده است که نشان داد که تاثیر گیاه پنیرک بر شاخص های رشد و تغذیه ماهی کپور معمولی در تیمارهای مورد مطالعه اختلاف معنی داری نداشت ($P>0/05$). به عبارت دیگر درمورد پودر گیاه پنیرک تاثیر معنی داری بر روی رشد ماهی کپور معمولی طی ۶۰ روش پرورش مشاهده نشد ($P>0/05$). درمورد فاکتور بقا نیز اختلاف معنی‌داری در تیمارهای مورد مطالعه وجود نداشت ($P>0/05$)، اما در تیمارهای ۱، ۲ و ۳ نیز ۱۰۰ درصد بقای ماهیان کپور معمولی مشاهده شد که می توان بیان کرد که گیاه پنیرک بر روی بقای این ماهی تاثیر داشته و سبب شده تا تلفات ماهی ایجاد نشود (جدول ۲).

نتایج سلول‌های دفاعی بدن ماهی کپور معمولی نشان داد که مونوسیت‌ها و بازوفیل‌ها به ترتیب فقط در تیمارهای ۲ و ۱ مشاهده شدند. بالاترین میزان لنفوسیت‌ها در تیمار ۳، ۹۵/۵ درصد به دست آمد. ائوزینوفیل‌ها در هیچ‌یک از تیمارها مشاهده نشدند (جدول ۳).

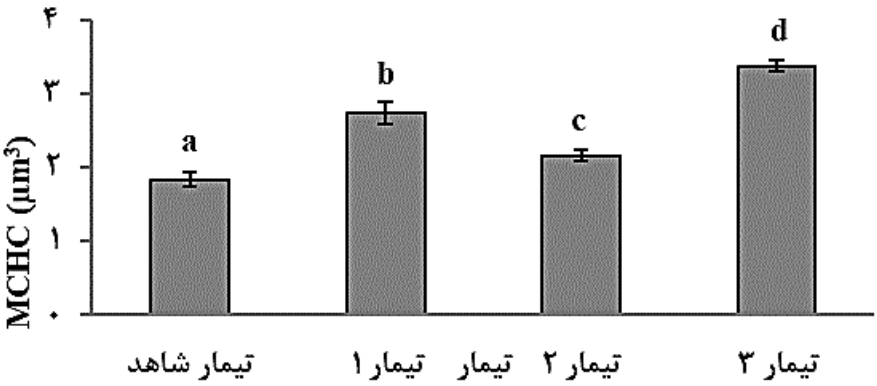
درمورد فاکتور کمپلمان و قدرت باکتری کشی سرم در تیمار شاهد با تیمارهای مورد مطالعه اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($P<0/05$) و درمورد لیزوزیم نیز در تیمار ۳ با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری

www.SID.ir

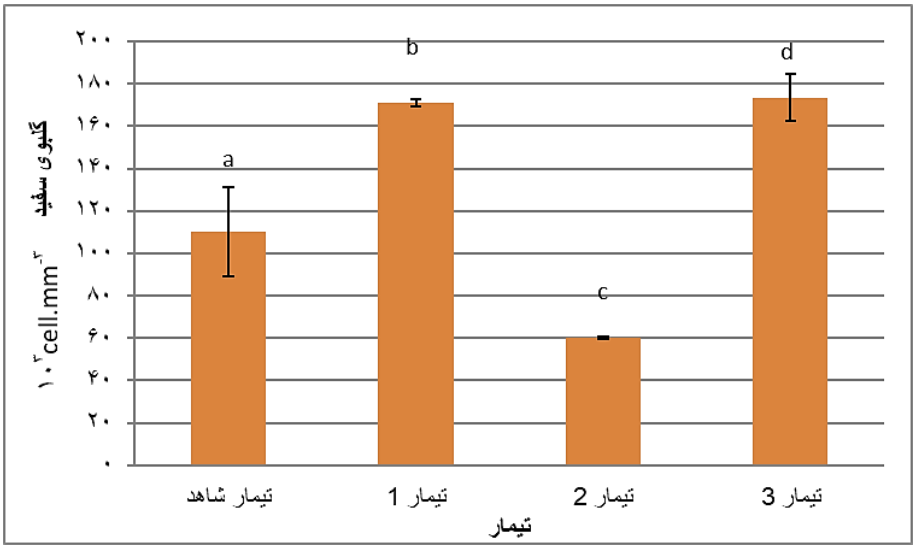
Archive of SID



شکل ۲ – تأثیر عصاره گیاه پنیرک (*Malva neglecta*) بر روی فاکتور MCV ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) طی دوره پرورش ۶۰ روز در سال ۱۳۹۶ (حروف غیرمشابه (a, b, c, d) در هر ستون اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ را نشان می‌دهد).



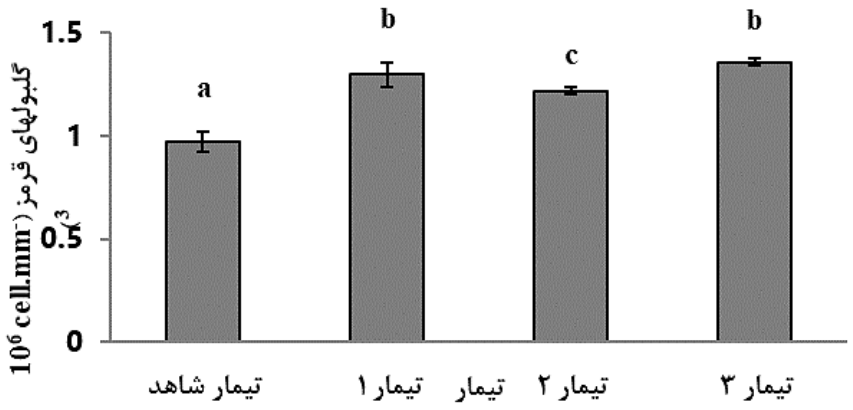
شکل ۳ – تأثیر عصاره گیاه پنیرک (*Malva neglecta*) بر روی فاکتور MCHC ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) طی دوره پرورش ۶۰ روز در سال ۱۳۹۶ (حروف غیرمشابه (a, b, c, d) در هر ستون اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ را نشان می‌دهد).



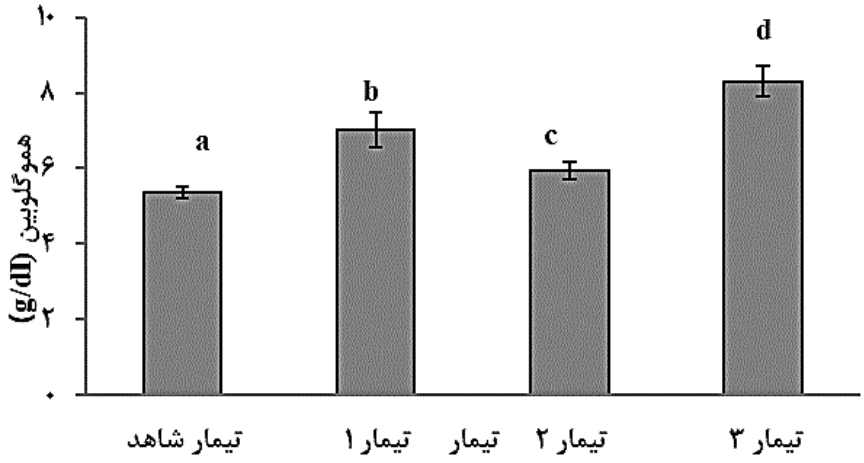
شکل ۴– تأثیر عصاره گیاه پنیرک (*Malva neglecta*) بر روی گلبول‌های سفید ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) طی دوره پرورش ۶۰ روز در سال ۱۳۹۶ (حروف غیرمشابه (a, b, c, d) در هر ستون اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ را نشان می‌دهد).

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۵ – تأثیر عصاره گیاه پنیرک (*Malva neglecta*) بر روی گلبول‌های قرمز ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) طی دوره پرورش ۶۰ روز در سال ۱۳۹۶ (حروف غیرمشابه (a, b, c, d) در هر ستون اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ را نشان می‌دهد).



شکل ۶ – تأثیر عصاره گیاه پنیرک (*Malva neglecta*) بر روی هموگلوبین ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) طی دوره پرورش ۶۰ روز در سال ۱۳۹۶ (حروف غیرمشابه (a, b, c, d) در هر ستون اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ را نشان می‌دهد).

مشاهده شد ($P<$۰/۰۵). بالاترین مقادیر فاکتور کمپلمان و قدرت باکتری کشی سر در تیمار ۲ نسبت به تیمار شاهد به دست آمد ($P<$۰/۰۵)، اما درمورد لیزوزیم بالاترین مقدار در تیمار ۳ (۵۵/۵۴ g/dl) مشاهده شد ($P<$۰/۰۵) (جدول ۴).

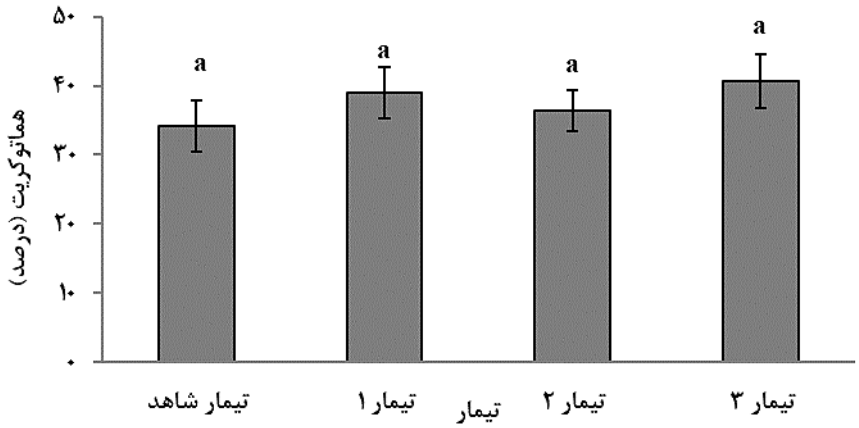
در این پژوهش درمورد مقادیر فاکتورهای خونی MCH، MCV، MCHC، گلبول‌های سفید، گلبول های قرمز و هموگلوبین در تیمار ۳ نسبت به تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($P<$۰/۰۵)، اما بین مقادیر هماتوکریت در تیمارهای مورد مطالعه اختلاف معنی داری مشاهده نشد ($P>$۰/۰۵). همان طور که در شکل های ۱ تا ۷ ارائه شده است بالاترین مقادیر مربوط به فاکتورهای خونی MCH، MCV، MCHC، گلبول‌های سفید، گلبول‌های قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت در تیمار ۳ به ترتیب 10^{-1}(μm^3) ۱/۱۲، 10^{-1}(μm^3) ۵/۵۹، 10^{-1}(μm^3) ۳/۳۷، (10^3cell.mm^{-3}) ۱۷۳/۳۳، (10^6cell.mm^{-3}) ۱/۳۶، (g/dl) ۸/۳ و ۴۰/۶۶ درصد به دست آمد.

بحث

همزمان با پیشرفت صنعت آبزی پروری و پرورش ماهیان، رشد و بقای ماهیان در مراحل تکثیر و پروش اهمیت بالایی دارد که با افزایش مقاومت سیستم ایمنی و فاکتورهای خونی ماهی نیز می توان در راستای رشد مناسب جهت پرواربندی و فروش اقدام کرد (Ismail and Al-Hamdani, 2019; He *et al.*, 2021). یکی از محرک‌های مورد مطالعه در

www.SID.ir

Archive of SID



شکل 7– تأثیر عصاره گیاه پنیرک (*Malva neglecta*) بر روی هماتوکریت ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) طی دوره پرورش ۶۰ روز در سال ۱۳۹۶ (حروف غیرمشابه (a, b, c, d) در هر ستون اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ را نشان می‌دهد).

سال‌های اخیر، گیاهان دارویی هستند که می‌توانند در جیره غذایی ماهیان اضافه شده و تاثیر آن بر شاخص های مختلف بررسی گردد (Alagawany *et al.*, 2020).

در این تحقیق پودر گیاه پنیرک تأثیر معنی‌داری بر روی شاخص‌های رشدی کپور نداشته است. به‌عبارت‌دیگر ضریب رشد ویژه ماهی کپور معمولی در تیمار ۳ نسبت به تیمار شاهد افزایش نشان داد، اما این افزایش رشد اختلاف معنی‌داری نداشت ($P>0/05$). در مطالعه‌ای دیگر نیز افزودن گیاه پنیرک در جیره غذایی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) نشان داد که تأثیری در ضریب رشد ویژه نداشت (Bilen *et al.*, 2020) و با نتایج این پژوهش هم‌خوانی دارد. در تحقیق دیگری بر روی ماهی سیکلید (*Amphiophus labiatus*) افزودن عصاره خام گیاه آلوئه ورا در تغذیه این ماهی تأثیری در رشد آن گزارش نشد (علیشاهی، ۱۳۸۹). همچنین Perez-Jimenez و همکاران (۲۰۱۳) نشان دادند که رشد در تیمار تغذیه شده با چای سفید در ماهی *Sparus aurata* کمتر بود که با نتایج این تحقیق مطابقت داشتند. در مطالعه‌ای دیگر بر روی ۲۱۰ قطعه ماهی گورامی طلایی، تأثیر دارویی گیاه پنیرک (*Malva neglecta*) در غلظت‌های مختلف ۲، ۴ و ۶ درصد به مدت ۶۰ روز تغذیه نشان داد که تیمارهایی که از پنیرک در کنار خوراک بیومار استفاده نمودند بیشترین رشد را داشتند، اگرچه متوسط وزن این نمونه‌ها (ماهیان تغذیه شده با پنیرک) تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد نشان ندادند ($P>0/05$) (خدادادی و همکاران، ۱۳۹۳). در بررسی دیگری پژوهشگران نشان دادند که استفاده از پنیرک در سطح ۶ درصد در جیره باعث افزایش شاخص‌های رشد در ماهی گورامی طلایی گردید (رنجبر و همکاران، ۱۳۹۲) که با نتایج تحقیق حاضر هم‌خوانی نداشت. در بررسی دیگری که با افزودن گیاه سیر به جیره غذایی بچه ماهیان قزل‌آلا انجام شده، از مطلوبیت بالایی برخوردار بوده و از بین سطوح میزان سیر استفاده شده جیره حاوی ۱ درصد در مجموع از مطلوبیت بالاتری در خصوص اثر بر روند میزان کمی وکیفی مشخصه‌های رشد وزنی و طولی در بچه ماهی قزل‌آلا نسبت به جیره فاقد سیر و مقادیر استفاده شده سیر در جیره‌ها برخوردار بوده است (خدادادی و همکاران، ۱۳۹۱).

در این بررسی بقای ماهیان کپور معمولی در تیمار ۱، ۲ و ۳ مانند تیمار شاهد نیز ۱۰۰ درصد به دست آمد. در بسیاری از تحقیقات گزارش شده است که افزودن گیاهان دارویی به جیره غذایی ماهیان سبب بقای آن‌ها می‌شود (Hoseinifar *et al.*, 2020; He *et al.*, 2021; Acar *et al.*, 2021; Avazeh *et al.*, 2021). Ji و همکاران (۲۰۰۷) نیز نشان دادند که بهترین بقاء در تیمارهای حاوی

www.SID.ir

Archive of SID

گیاهان دارویی به دست آمد که با نتایج این تحقیق هم‌خوانی دارد. از نظر ترکیب شیمیایی پنیرک منبعی غنی از ویتامین‌های A، B و C می‌باشد که ویتامین C نیز به‌نوبه خود باعث افزایش ایمنی و مقاومت علیه بیماری‌ها می‌شود. در برگ‌های پنیرک مواد با ارزش فراوان مانند آنتی‌اکسیدان‌های قوی نظیر فنل (حدود ۳۸۶/۴۵ میلی‌گرم بر گرم)، فلاونوئید (حدود ۱۲۱۰/۸۱ میلی‌گرم بر گرم)، کاروتنوئید (حدود ۰/۱۹ میلی‌گرم بر گرم)، توکوفرول و اسیدهای چرب اشباع‌نشده وجود دارد. برگ‌های سبز آن دارای بالاترین سطح UFA (در حدود ۸۴ درصد) می‌باشد. اسیدهای چرب عمده در پنیرک لینولئیک (C_{18}:2) یا W_6 و لینولنیک (C_{18}:3) یا W_3 و اسید پالمتیک (C_{16}:0) می‌باشد که برای رشد و سلامتی موردنیاز است (زرگری، ۱۳۷۲؛ Shale *et al*., 2005).

در این پژوهش مقادیر فاکتورهای خونی شامل MCH، MCV، MCHC، گلبول‌های سفید، گلبول‌های قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت در تیمار ۳ نسبت به سایر تیمارهای مورد مطالعه بالاتر به دست آمد (P<۰/۰۵). همچنین فاکتور کمپلمان و قدرت باکتری کشی سرم نیز در تیمار ۲ بالاترین مقدار را داشتند (P<۰/۰۵). به عبارت دیگر افزودن گیاه پنیرک سبب بهبود فاکتورهای خونی و ایمنی بدن ماهی کپور معمولی شد. در بررسی Rashidian و همکاران (۲۰۲۰) استفاده از ۵ درصد عصاره پنیرک در جیره ماهی قزل‌آلای رنگین کمان افزایش در RBC و WBC مشاهده نمودند و افزایش در شاخص‌های خونی را به دلیل دسترسی به مقادیر بالاتر ویتامین C، کاروتن، کلسیم و آهن در سیستم گردش خون در نتیجه جذب بیشتر در روده در تیمارهای پنیرک می‌باشد که با نتایج این بررسی مطابقت داشت. Bilen و همکاران (۲۰۲۰)، با افزودن گیاه پنیرک در جیره غذایی ماهی کپور معمولی نشان دادند که تأثیری در فاکتورهای خونی نظیر گلبول‌های سفید، گلبول‌های قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت نداشت که با نتیجه این پژوهش هم‌خوانی ندارد. احتمالاً این عدم هم‌خوانی می تواند به دلیل تفاوت در شرایط زیستی و اکولوژیک محیط پرورش و تغذیه ماهی نظیر دفعات تغذیه، زمان تغذیه، شرایط فیزیکی و شیمیایی آب، نوع عوامل بیماری زا و تراکم آن‌ها در آب باشد. همچنین سوخت و ساز بدن و فیزیولوژیک ماهیان نیز تاثیرگذار است (Perez-Jimenez *et al.,* 2013; Bilen *et al.*, 2019). در بررسی افزودن پودر چای سبز به جیره غذایی کپور معمولی، نتایج بررسی شاخص‌های خونی نشان داد که میزان گلبول‌های سفید، هماتوکریت و هموگلوبین اختلاف معنی‌داری را با سایر تیمارها داشته است (P<۰/۰۵)، اما تعداد گلبول‌های قرمز تحت تأثیر هیچ‌کدام از موارد آزمایشی قرار نگرفت (P>۰/۰۵). به‌طورکلی تجویز پودر چای سبز در سطح ۱/۵ درصد به‌صورت خوراکی باعث تحریک برخی شاخص‌های خونی گردید (رنجبر و خدادادی، ۱۳۹۵).

در بررسی افزودن چای سبز به جیره غذایی کپور معمولی نتایج نشان داد که میزان فعالیت لایزوزیم اختلاف معنی‌داری را با تیمار شاهد داشته است. به‌طور کلی تجویز پودر چای سبز در سطح ۱/۵ درصد به‌صورت خوراکی باعث تحریک میزان فعالیت لایزوزیم می‌گردد و این ماده به‌عنوان محرک ایمنی در بچه ماهی کپور معمولی قابل استفاده است (رنجبر و خدادادی، ۱۳۹۴). همچنین در فاکتور پروتئین تام و ایمنوگلوبولین نیز تأثیر معنی‌داری مشاهده شد (P<۰/۰۵). به‌طورکلی تجویز پودر چای سبز در سطح ۱/۵ درصد به‌صورت خوراکی باعث تحریک برخی فاکتورهای ایمنی غیراختصاصی می‌گردد و این ماده به‌عنوان محرک ایمنی در بچه ماهی کپور معمولی قابل‌استفاده است (خدادادی و رنجبر، ۱۳۹۵). در تحقیقات دیگر نیز اثرات سرخارگل در تحریک ایمنی ماهی کپور علفخوار و بر روی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تأیید شده است (پورغلام و همکاران، ۱۳۹۲؛ علیشاهی و همکاران، ۱۳۹۶). ایزدی و همکاران (۱۳۹۳) نشان دادند که اسانس گیاه سرخارگل دارای اثرات ضدمیکروبی قابل

www.SID.ir

Archive of SID

ملاحظه‌ای می‌باشد و می‌تواند به‌عنوان جایگزینی مناسب برای آنتی‌بیوتیک‌های سنتزی که مقاومت میکروبی به آن‌ها رو به افزایش است، به کار رود. گیاه سرخارگل دارای اثرات تقویت‌کننده بر سیستم ایمنی ذاتی قزل‌آلای رنگین‌کمان بوده و غلظت‌های بالاتر آن (۱/۵ گرم) نتایج بهتری به همراه دارد. ضمناً می‌توان ادعا نمود استفاده از عصاره سرخارگل (۱/۵ گرم بر کیلوگرم غذا) باعث افزایش مقاومت بچه ماهیان قزل‌آلا در برابر استرپتوکوکوزیس شده و می‌توان از آن به‌عنوان محرک ایمنی در جیره غذایی استفاده نمود (پورغلام و همکاران، ۱۳۹۲) که نتایج این تحقیقات با نتایج این پژوهش هم‌خوانی دارند. در تحقیقاتی دیگر نیز گزارش شده است که گیاه پنیرک تحریک کننده ایمنی طبیعی و ارزان قیمت برای مقاومت در برابر بیماری‌ها و عوامل بیماری‌زا برای ماهیانه هستند (Bilen *et al.*, 2019; Bilen *et al.*, 2020; Rashidian *et al.*, 2020). از این‌رو می‌توان از این گیاه در صنعت آبزی‌پروری به‌عنوان یک تحریک کننده ایمنی استفاده کرد (Benso *et al.,* 2015; Delfine *et al.,* 2017).

نتیجه‌گیری

در این پژوهش نتایج نشان داد که میزان ۶ درصد پودر گیاه پنیرک به جیره غذایی سبب بهبود فاکتورهای خونی ماهی کپور معمولی می‌شود. همچنین فرموله کردن ۴ درصد از این گیاه دارویی سبب افزایش فاکتور کمپلمان و قدرت باکتری کشی سرم بدن ماهی کپور شد. در این تحقیق عصاره گیاه پنیرک تأثیر معنی‌داری بر روی شاخص‌های رشدی کپور نداشته است ولی بقای ماهیان کپور معمولی بررسی شده در این پژوهش در تیمار ۱، ۲ و ۳ همانند تیمار شاهد ۱۰۰ درصد به دست آمد.

منابع

ایزدی ز.، سروش‌زاده، ع.، مدرس‌ثانوی س.ع.م.، اثنی‌عشری م.، داودی پ. ۱۳۹۳. بررسی اثرات ضد میکروبی اسانس گیاه سرخارگل (*Echinacea purpurea*) و شناسایی ترکیب‌های شیمیایی آن. نشریه طب جنوب، ۱۷ (۱): ۵۸-۶۹.

پورغلام ر.، شریف روحانی م.، صفری ر.، سعیدی ع.ا.، بینایی م.، نجفیان ر.، بانکه ساز ز.، تقوی م.ج.، سپهداری ا. ۱۳۹۲. اثر عصاره سرخار گل (*Echinacea purpurea*) بر برخی شاخص‌های ایمنی و بازماندگی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در برابر با استرپتوکوک. مجله علمی شیلات ایران، ۲۲(۳): ۱-۱۲.

خدادادی م.، پیغان ر.، حمیداوی ا. ۱۳۹۱. بررسی تأثیر افزودنی خوراکی پودر سیر خام *Alliumsativum* بر روی شاخص‌های رشد ماهی کپور معمولی *Cyprinus carpio*. نشریه علوم درمانگاهی و دامپزشکی ایران، ۶(۲): ۱۷-۲۶.

خدادادی م.، آوخ کیسمی م.، رنجبر ش. ۱۳۹۳. مقایسه رشد ماهی گورامی طلایی (*Trichogaster trichopterus*) با خوراندن پنیرک (*Malva neglecta*) و گشنیز (*Coriandrum sativum*). مجله تحقیقات آزمایشگاهی دامپزشکی، ۶(۲): ۱۵۲-۱۴۳.

خدادادی م.، شاپوری م.، جواهری بابلی م.، علمداری ر. ۱۳۹۴. اثر چغندر لبویی (*Beta vulgaris*) و کلم برگ قرمز (*Brasissica oleracea*) بر شاخص‌های رشد ماهی گلدفیش (*Carassius auratus*). مجله پژوهش‌های علوم و فنون دریایی، ۱۰(۲): ۳۲-۲۰.

خدادادی م.، رنجبر ش. ۱۳۹۵. تأثیر افزودن پودر چای سبز (*Camellia sinensis*) به جیره غذایی بر برخی فاکتورهای ایمنی و پروتئین‌های سرم در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). مجله دامپزشکی ایران، ۱۲ (۲): ۵۴-۴۳.

رنجبر ا.، خدادادی م.، آوخ‌کیسمی م.، صالح‌پور ع. ۱۳۹۲. مقایسه اثر استفاده از کاروتنوئیدهای طبیعی گیاه پنیرک (*Malva neglecta*) و گشنیز (*Coriandrum sativum*) به‌صورت جداگانه بر میزان رنگ‌پذیری پوست ماهی گورامی طلایی (*Trichogaster trichopterus*). مجله آبزیان و شیلات، ۴(۱۴): ۱۵-۸.

رنجبر ش.، خدادادی م. ۱۳۹۴. بررسی اثر افزودن پودر

www.SID.ir

Archive of SID

چای سبز (*Camellia sinensis*) به جیره غذایی و تأثیر آن بر میزان فعالیت لایزوزیم در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). دومین کنفرانس ملی کشاورزی و توسعه، تهران، ۱۴ صفحه.

رنجبر ش.، خدادادی م. ۱۳۹۵. تأثیر پودر چای سبز (*Camellia sinensis*) بر برخی شاخص‌های خونی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). مجله اکو بیولوژی تالاب. ۸(۱):۳۹-۵۰.

زرگری ع. ۱۳۷۲. گیاهان دارویی ایران، جلد چهارم، چاپ پنجم، انتشارات دانشگاه تهران، صفحات ۱۱۵و ۶۱۲-۶۰۵.

علیشاهی م. ۱۳۸۹. بررسی اثر سطوح مختلف عصاره خام گیاه آلوئه ورا بر شاخص‌های رشد و میزان مقاومت در برابر عفونت باکتری آئروموناس هیدروفیلا در ماهی سیکلید (*Amphiophus labiatus*). مجله زیست‌شناسی دریا، ۲(۴): ۴۶-۴۱.

علیشاهی م.، چشمه ب.، پیغان ر.، قربانپور م.، محمدیان ت. ۱۳۹۲. بررسی تاثیر بیهوشی با MS222، اسانس گل میخک و فنوکسی اتانول بر برخی شاخص‌های ایمنی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). مجله اکوبیولوژی تالاب، ۵(۱۸): ۲۳-۳۱.

علیشاهی م.، مصباح م.، شیرالی ط. ۱۳۹۶. مقایسه تأثیرتجویز خوراکی و تزریقی عصاره گیاه سرخارگل (*Echinacea purpurea*) بر برخی شاخص‌های خونی و ایمنی ماهی کپور علفخوار (*Ctenopharyngodon idella*). مجله تحقیقات دامپزشکی، ۲۷(۲): ۲۵۹-۲۵۱.

Acar U., Kesbic O.S., Yilmaz S., Inanan B.E., Zemheri-Navruz F., Terzi F., Fazio F., Parrino V. 2021. Effects of essential oil derived from the bitter orange (*Citrus aurantium*) on growth performance, histology and gene expression levels in Common Carp Juveniles (*Cyprinus carpio*). *Animals* 11(5), 1431.

Alagawany M., Abd El-Hack M.E., Saeed M., Naveed M., Arain M.A., Arif M., Tiwari R., Khandia R., Khurana S.K., Karthik, K., Yatoo M.I. 2020. Nutritional applications and beneficial health applications of green tea and l-theanine in some animal species: A review. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 104 (1), 245-256.

Amenyogbe E., Chen G., Wang Z., Huang J., Huang B., Li H. 2020. The exploitation of probiotics, prebiotics and synbiotics in aquaculture: present study, limitations and future directions: a review. *Aquaculture International* 28, 1-25.

Avazeh A., Adel M., Shekarabi S.P.H., Emamadi H., Dawood M.A., Omidi A.H., Bavarsad M. 2021. Effects of dietary pomegranate peel meal on the growth performance, blood indices, and innate immune response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Annals of Animal Science* 21 (1), 233-244.

Benso B., Rosalen P.L., Alencar S.M., Murata R.M. 2015. *Malva sylvestris* inhibits inflammatory response in oralhuman cells. An in vitro infection model. *PLoS One* 19(10), e0140331

Bilen S., Kenanoglu O.N., Terzi E., Ozdemir R.C., Sonmez A.Y. 2019. Effects of tetra (*Cotinus coggygria*) and common mallow (*Malva sylvestris*) plant extracts on growth performance and immune response in Gilthead Sea bream (*Sparus aurata*) and European Sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture* 512, 734251.

Bilen S., Filogh A.M., Ali A.B., Kenanoglu O.N., Zoral M.A. 2020. Effect of common mallow (*Malva sylvestris*) dietary supplementation on growth performance, digestive enzyme activities, haemotological and immune responses of common carp (*Cyprinus carpio*). *Aquaculture International* 28(1), 73-84.

Cui Y., Wootton R.J. 1988. Bioenergetics of growth of a cyprinid, *Phoxinus phoxinus* (L): the effect of ration and temperature on growth rate and efficiency. *Journal of Fish Biology* 33, 763-773.

Delfine S., Marrelli M., Conforti F., Formisano C., Rigano D., Menichini F., Senatore F. 2017. Variation of Malvasylvestris essential oil yield, chemical composition and biological activity in response to different environmentsacross southern Italy. *Ind Crop Prod* 98, 29-37.

Du Z., Liu Y.J., Tian L.X., Wang J.T., Wang Y., Liang G.Y. 2005. Effect of dietary lipid level on growth, Feed composition and body composition by juvenile grass carp (*Cetenopharyngodon idella*). *Aquaculture Nutrition* 11, 139-146.

El-Sayed A.F.M., El-Ghobashy A.E. 2011. Effects of tank colour and feed colour on

www.SID.ir

Archive of SID

21(6), 816-822.

Mohammadi F., Choobkar N., Moradi Z. 2019. Accessibility the fry of *Mugil cephalus* to the extract of *Camellia sinensis* concerning growth performance and haematology indices. *Iranian Journal of Aquatic Animal Health* 5(1), 17-25.

Perez-Jimenez A., Peres H., Rubio V., Olive-Teles A. 2013. Effects of diet supplementation with white tea and methionine on lipid metabolism of gilthead sea bream juvenile (*Sparus aurata*). *Fish physiology Biochemistry* 39, 661-670.

Rashidian Gh., Kajbaf K., Prokić M.D., Faggio C. 2020. Extract of common mallow (*Malvae sylvestris*) enhances growth, immunity, and resistance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fingerlings against Yersinia ruckeri infection. *Fish and Shellfish Immunology* 96, 254-261

Sampantamit T., Ho L., Lachat C., Sutummawong N., Sorgeloos P., Goethals P. 2020. Aquaculture production and its environmental sustainability in Thailand: challenges and potential solutions. *Sustainability* 12(5), 2010.

Shale T.L., Stirk W.A., Staden J.V. 2005. Variation in antibacterial and anti-inflammatory activity of different growth forms of *Malva parviflora* and evidence for synergism of the anti-inflammatory compounds. *Journal of Ethnopharmacology* 96, 325-330.

Thrall M.A. 2004. Veterinary hematology and clinical chemistry, Lppincott Williams & Wilkins, USA. 402 p.

Yarijani Z.M., Najafi H., Shackebaei D., Madami S.H., Modarresi M., Jassemi S.V. 2019. Amelioration of renal and hepatic function, oxidative stress, inflammation and histopathologic damages by *Malva sylvestris* extract ingentamicin induced renal toxicity. *Biomed Pharmacother* 112,108635.

growth and feed utilization of thinlip mullet (*Liza ramada*) larvae. *Aquaculture Research* 42(8), 1163-1169.

Dijkstra J.M., Dixon B. 2021. Immunogenetics special issue 2021: Fish Immunology. *Immunogenetics* 73, 1-3.

Gephart J.A., Golden C.D., Asche F., Belton B., Brugere C., Froehlich H.E., Fry J.P., Halpern B.S., Hicks C.C., Jones R.C., Klinger D.H. 2020. Scenarios for global aquaculture and its role in human nutrition. *Reviews in Fisheries Science and Aquaculture* 3: 1-7.

Hoseinifar S.H., Shakouri M., Van Doan H., Shafiei S., Yousefi M., Raeisi M., Yousefi, S., Harikrishnan R., Reverter M. 2020. Dietary supplementation of lemon verbena (*Aloysia citrodora*) improved immunity, immune-related genes expression and antioxidant enzymes in rainbow trout (Oncorrhyncus mykiss). *Fish and Shellfish Immunology* 99, 379-385.

Imtiaz B., Fozia W., Abdul Rehman A., Ullah, H., Iqbal H., Wahab A., Almas M., Ahmad I. 2012. Antimicrobial activity of *Malva neglecta* and Nasturtium microphyllum. *International Journal* of *Research* in *Ayurveda* and *Pharmacy* 3(5), 808.

Ismail R., Al-Hamdani A. 2019. Effect of probiotic (Poultrystar®) and heat stress on some blood parameters in common carp (*Cyprinus carpio* L.). Iraqi Veterinary Science, 33: 221–225.

Ji, S-C., Takaoka, O., Jeong, G-S., Lee, S-W., Ishimaru, K., Seoka, M., Takii K. 2007. Dietary medicinal herbs improve growth and some non-specific immunity of red sea bream *Pagrus major*. *Fisheries Science* 73(1), 63-69.

Keyrouz E., El Feghali P.A.R., Jaafar M., Nawas T. 2017. *Malva neglecta*: A natural inhibitor of bacterial growth and biofilm formation. *Journal of Medicinal Plants Research* 11(24), 380-386.

Mirghiasi S.M., Akhzari M., Vassaf M., Akbari A., Baghi S.M. 2015. The Effect of *Malva neglecta* on the Reduction of Inflammatory Agents in Patients with Osteoarthritis. *Molecular Biology* 4(4), 135.

Mohammad Eini A., Shayegh J., Moharrami Fard M. 2014. Comparison of Antibacterial Effect of *Malva Sylvestris* L (Aerial and Root Organs) by MIC. *Jagadguru Sri Shivarathreeshwara Universit**y*** (JSSU)

www.SID.ir

Archive of SID

The effect *Malva neglecta* on growth, survival and heamatological parameters in *Cyprinus carpio*

Mojgan Khodadadi*, Hashem Maramazi, Mehran Javaheri Baboli

Department of Aquaculture, Ahvaz Branch, Islamic Azad University, Ahvaz, Iran.
*Corresponding author: mjkhodadadadi@gmail.com
Received: 2021/6/22 Accepted: 2021/8/16

Abstract

This survey was done to study the effect of the powder of *Malva neglecta* as a natural immune stimulant on growth factors and heamatological in *Cyprinus carpio* in summer 2016 during 60 days rearing period in aquaculture center of Islamic azad university, Ahvaz Branch. After adaptation, a totalof 360 fish were placed in 12 300-liters tanks, that 30 of fish (initial weight, 18.10±0.18 gr) were in every tank. The treatments were included control (0 gr/Kg), treatment 1 (2%), treatment 2 (4 %) and treatment 3 (6%) of *Malva neglecta* powder. The results of defence cells in Cyprinus carpio were showed that Monocyts and Basiphyls observed just in treatment 1 and 2. The highest Lymphocyts and Noutrophilsw were counted respectively 95.5% (treatment 3) 48.16% (treatment 2). The Eosinophyls were not present in any of treatments. MCH (1.12 $\mu m^3 10^{-1}$) was showed in treatment three. The highest of complement factor and killing bacterial serum power were caculated in treatment 2 comparison to control (P<0.05) but the highest of Lysosim observed in treatment 3 (55.54 g/dI) (P<0.05). The highest MCV, MCHC, WBC, RBC, Hg and HCT in treatment 3 were calculated respectively 1.12 $(\mu m^3)10^{-1}$, 5.59 $(\mu m^3)10^{-1}$, 3.37 $(\mu m^3)10^{-1}$, 173.33 (10^3cell.mm^{-3}), 1.36 (10^6 cell.mm^{-3}) 8.3 (g/dI) and 40.66%. The *Malva neglecta* powder were showed no significant difference in growth factor and survival in *Cyprinus carpio* (P>0.05) but were observed 100% survival in fish in treatment 1, 2 and 3. The Value of 4% of powder *Malva neglecta* in diet caused improvement heamatological factors in *Cyprinus carpio*. Also 2 percent of powder in diet were cause of increasing complement factor and killing bacterial serum in this fish.

Keywords: *Malva neglecta*, Growth, Survival, Hematological indices, Common carp.

www.SID.ir