

بررسی اثر رنگدانه پودر شاتوت (*Moras nigra*) بر شاخص‌های هماتولوژیک و بیوشیمیایی خون و بافت شناسی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

فاطمه مقدس^۱، شایان قبادی^{*}، سید مهدی حسینی‌فرد^۱

چکیده

در مطالعه حاضر اثرات سطوح مختلف پودر شاتوت بر برخی از فاکتورهای ایمنی و پارامترهای خونی در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان مورد بررسی قرار گرفت. بچه ماهیان با میانگین وزن 75 ± 0.1 گرم به تعداد ۳۲۰ قطعه در ۱۲ حوضچه به صورت تصادفی توزیع و به مدت ۸ هفته با سطوح مختلف، صفر (گروه شاهد)، ۲۰، ۴۰ و ۶۰ ppm شاتوت در جیره پایه، غذایی شدند. نتایج نشان داد که تیمارهای تغذیه شده با بیشترین میزان شاتوت دارای بیشترین میزان فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز، پروتئین کل بود و اختلاف معنی‌داری بین تیمارها وجود داشت ($P < 0.05$). شمارش گلبول‌های قرمز و سفید خون اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای تغذیه شده با شاتوت و گروه شاهد داشت ($P < 0.05$). نتایج حاصل از بررسی پارامترهای بیوشیمیایی خون نشان داد که بیشترین میزان گلوکز و کلسترول در گروه شاهد و کمترین مقدار در تیمارهای تغذیه شده با سطح بالای پودر شاتوت وجود دارد و بین تیمار اختلاف معنی‌داری وجود دارد ($P < 0.05$). همچنین نتایج حاصل از بررسی پروتئین کل نشان داد که بین تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری وجود دارد ($P < 0.05$). نتایج این مطالعه نشان داد که استفاده از شاتوت موجب بهبود میزان فاکتورهای خونی در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان نسبت به تیمار شاهد شده‌است.

کلید واژه: پودر شاتوت، ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، (*oncorhynchus mykiss*).

۱- مقدمه

تولید آبزیان از دو منبع آبی‌پروری و صید در پنج دهه اخیر به صورت مستمر افزایش یافته و در سال ۲۰۱۲ به رقم ۱۵۸ میلیون تن رسید. نرخ افزایش تولید آبزیان برای مصرف انسانی در پنج دهه گذشته به طور متوسط معادل ۳/۲ درصد بوده که نسبت به نرخ افزایش جمعیت جهانی در همین زمان ۱/۶ درصد بوده و این حاکی از افزایش میانگین مصرف سرانه آبزیان در جهان بوده است. مصرف سرانه آبزیان از مقدار ۹/۹ کیلوگرم در دهه ۱۹۶۰ به بیش از ۱۹/۲ کیلوگرم در سال ۲۰۱۲ رسیده است که نمایانگر استقبال عمومی جهان از افزایش مصرف آبزیان است (Treves-Brown, 2013). این افزایش مصرف مستلزم پرورش ماهی در شیوه‌های گسترده و وسیع است. ماهی معمولاً در محیط محصور از جمله استخر و یا قفس‌های توری پرورش داده می‌شود که برای افزایش میزان تولید در چنین فضایی میزان تراکم‌ماهی در سطح را افزایش می‌دهند. در نتیجه این کار عوامل استرس‌زای زیادی از جمله تراکم بیش‌ازحد، حمل‌ونقل، تیماربندی و کیفیت پایین آب بر سلامت ماهی تأثیر منفی می‌گذارند (Li et al., 2004). این شرایط موجب ضعف فیزیولوژیکی و افزایش حساسیت ماهی به عوامل بیماری‌زا و نیز راهی برای بروز طیف وسیعی از بیماری‌ها هستند. محیط استرس‌زا و پرتنش خود نیز عاملی برای سرکوب سیستم ایمنی و افزایش حساسیت نسبت به بیماری‌های عفونی در آبزیان می‌شود. با وجود اقدامات پیشگیرانه تا حدی موفق از جمله پیشگیری بهداشتی، ضدعفونی، آنتی‌بیوتیک‌ها، واکسن‌ها و شیمی‌درمانی در ۲۰ سال گذشته، اما هنوز هم متأسفانه این‌گونه بیماری‌ها هزینه‌های اقتصادی زیادی بر جای می‌گذارند؛ زیرا استفاده بیش‌از حد از مواد شیمیایی و آنتی‌بیوتیک‌ها موجب عوارض جانبی و مرگ‌ومیر ماهی می‌شود (Bondad-Reantaso et al., 2005).

در سیستم‌های آبی‌پروری، به صورت گسترده از آنتی‌بیوتیک‌ها و مواد شیمیایی برای کنترل و درمان بیماری‌ها استفاده می‌شد اما این داروها و مواد شیمیایی دارای مشکلاتی از جمله سرکوب سیستم ایمنی و تجمع در بافت (Harikrishnan et al., 2009; Rijkers et al., 1980) و نیز از طرفی موجب توسعه پاتوژن‌های مقاوم در برابر بیماری می‌شوند (Smith et al., 1994). تجمع مواد شیمیایی در محیط‌زیست و در بدن ماهی موجب اعمال مقررات سخت‌گیرانه و محدود کردن استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها و تعدادی از مواد شیمیایی شده است (Treves-Brown, 2013; Alderman and Hastings, 1998). کاهش هزینه‌های پرورش از طریق بهبود جیره‌های غذایی و نیز افزایش مقاومت آبزیان پرورشی در برابر شرایط استرس‌زای پرورش و نیز بیماری‌ها، یکی از موارد مهم در بالا بردن کارایی تولید ماهی و نیز کمک به بقای نسل و جلوگیری از انقراض است؛ زیرا باتوجه به در معرض خطر انقراض قرار گرفتن گونه‌های زیادی از ماهیان تجاری اهمیت تحقیقات در زمینه بهبود جیره غذایی روزبه‌روز محسوس‌تر می‌شود. از جمله ماهیان معروف پرورشی در کشور ایران قزل‌آلای رنگین کمان می‌باشد. ماهی قزل‌آلای رنگین کمان

(*Oncorhynchus mykiss*). یکی از گونه‌های محبوب و دارای ارزش اقتصادی بالایی در بین ماهیان پرورشی است و تنها گونه از آزاد ماهیان است که در مزارع ایران پرورش داده می‌شود. کاروتنوئیدها به طور کلی باعث افزایش قدرت سیستم ایمنی بدن از طریق افزایش تولید پادتن، جلوگیری از اکسیداسیون چربی‌ها، محافظت سلول‌ها در مقابل آسیب‌های ناشی از اکسیداسیون، کاهش استرس، محافظت اندام‌های بدن از آسیب‌های ناشی از اشعه ماورا بنفش و همچنین باعث افزایش رشد و بازماندگی و لقاح و افزایش رنگ‌پذیری در گوشت ماهی‌ها می‌گردند و با توجه به این که این رنگدانه‌ها در بدن ماهی ساخته نمی‌شوند باید به جیره غذایی ماهی‌ها اضافه گردند و با توجه به گران قیمت بودن کاروتنوئید و وجود این کاروتنوئیدها در منابع گیاهی می‌توان از رنگدانه‌های گیاهی در جیره غذایی ماهیان استفاده کرد و میزان لقاح، بازماندگی، تولید تخم و بهبود کیفیت تخم را در ماهیان بالا می‌برد.

یکی از روش‌های مهم برای کاهش تلفات لاروها در مراکز تکثیر و پرورش، استفاده از مواد محرک ایمنی و مکمل‌های غذایی می‌باشد (Peddie et al., 2005). محرک‌های ایمنی قادر به خنثی کردن فعالیت پاتوژن‌های فرصت‌طلب و افزایش قدرت دفاعی بوده از این‌رو باعث بهبود رشد و کاهش مرگ‌ومیر در سرتاسر دوره تولید در آبزیان می‌شوند و بنابراین به صورت گسترده در مزارع به منظور مدیریت سلامت مورد استفاده قرار می‌گیرند (Sakai, 1999; Wijendra and Pathiratne, 2007). شاتوت بانام علمی *Morus nigra* به خانواده Moreae تعلق دارد. (Kapoor, 2000). شاتوت شامل ترکیبات: کلسیم، فسفر، سدیم، پتاسیم، آهن، کروم، منیزیم، کبالت، روی، سلنیوم، جیوه، کلر، بروم، فلور، روبیدیوم، اسکاندیوم، سسیوم، تیامین، ریبوفلاوین، نیاسین، پیروودوکسین و ویتامین‌ها (C, A, E)، روغن چرب ثابت، رزین‌ها، پروتئین‌ها، سلولز و پیتوزنمی‌باشد (Afzal et al., 2011).

از ویژگی‌های بارز شاتوت این است که برای طیف وسیع و گسترده‌ای از بیماری‌ها مورد استفاده قرار گرفته است (Ernst and Pittler, 2000) و این به دلیل داشتن خواص آنتی‌اکسیدانی (Grzanna et al., 2005)، فعالیت ضدسرطانی و تأثیر بر سلول‌های سرطانی، خاصیت ضد تهوع، کاهش فشارخوندر انسان (Sang et al., 2009)، درمان بیماری‌های قلبی و عروقی (Nicoll and Henein, 2007)، کنترل‌کننده باکتری‌های بیماری‌زا (Jagetia et al., 2003)، فعالیت ضد قارچی (Agarwal et al., 2011)، فعالیت ضدویروسی و تقویت‌کننده سیستم ایمنی بدن موجودات (Austin, 2007; Ai et al., 2007) می‌باشد.

با توجه به کاربردهای ارائه‌شده از شاتوت و ترکیبات معدنی موجود در آن واثبات تأثیر آن‌ها بر سیستم ایمنی طی تحقیقات انجام‌شده از جمله سلنیوم به‌عنوان یک ریزمغذی ضروری در جیره غذای ماهی عمل می‌کند و می‌تواند باعث بهبود وظایف سیستم ایمنی گردد (Lin and Shiau, 2005). همچنین

تحقیقات دیگر نشان می‌دهند که بهبود شاخص‌های رشد و پاسخ‌های سیستم ایمنی در ماهی وابستگی مستقیمی به وجود مکمل‌هایی مانند ویتامین E (Obach et al., 1993)، ویتامین A (Thompson et al., 1994)، ویتامین C، کولین کلراید و کلسیم پانتوتنات (Yano, 1996) در جیره غذایی دارد.

۲- مواد و روش‌ها

این طرح شامل ۵ تیمار و هر تیمار ۳ تکرار می‌باشد.
تیمار ۱: شاهد.

تیمار ۲: آستاگزانتین با دوز ۴۱ ppm

تیمار ۳، ۴ و ۵: پودر شاه‌توت با دوزهای ۲۰، ۴۰ و ۶۰ ppm

برای انجام این طرح از ۱۵ حوضچه با ابعاد ۲×۲ متر و با عمق آبیگری ۷۰cm استفاده خواهد شد. ابتدا تمامی حوضچه‌ها توسط آهک ضد عفونی می‌شوند و پس از شستشو و آبیگری در هر حوضچه تعداد ۳۰ عدد بچه‌ماهی قزل‌آلا با وزن اولیه حدود ۳۰ گرم ذخیره‌سازی خواهند شد. پس از یک هفته آدپتاسیون، غذایی با جیره‌های آزمایشی و روزانه در ۳ نوبت (ساعت‌های ۸، ۱۲ و ۱۶) انجام می‌شود. جیره پایه بصورت پلت تجاری بوده و جیره‌های آزمایشی بوسیله پوشش دادن پلت‌ها با رنگدانه‌های مورد نظر به روش آغشته‌کردن با روغن تهیه خواهند شد. طول این دوره ۵۶ روز می‌باشد.

در پایان دوره آزمایش، از هر حوضچه ۳ ماهی به طور تصادفی انتخاب شدند، پس از بیهوش کردن ماهی‌ها توسط محلول عصاره گل میخک (۵ میلی‌گرم در لیتر)، عمل خون‌گیری از ناحیه ساقه دمی ماهیان انجام شد.

خون هر ماهی وارد ۲ لوله آزمایش استریل گردید، یک لوله حاوی ماده ضد انعقاد EDTA برای ارزیابی فاکتورهای خونی و دیگری فاقد ماده ضد انعقاد برای ارزیابی فاکتورهای سرمی خون بود. آزمایش در یک قالب طرح کاملاً تصادفی انجام گردید و برای هر تیمار سه تکرار در نظر گرفته شد. بعد از مرتب کردن داده‌ها، از روش آنالیز واریانس یک طرفه استفاده شد. داده‌ها توسط آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد با یکدیگر مقایسه شدند. تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم افزار SPSS 16 انجام شد.

۲- نتایج

نتایج به دست آمده از بررسی پروتئین کل و فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز اختلاف معنی داری را بین تیمارهای تغذیه شده با سطوح ۴۰ و ۶۰ ppm شاتوت و گروه شاهد نشان داد ($p < 0.05$).

جدول ۴-۱ میانگین (\pm انحراف معیار) میزان پروتئین کل و فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز در قزل آلی رنگین

کمان که با غذای پایه و سطوح مخت

تیمار	شاتوت ۲۰	شاتوت ۴۰	شاتوت ۶۰	آستاگزانتین ۴۱	شاهد
آلکالین فسفاتاز (IU/L)	۲۹/۷۹±۲/۲۱ ^c	۴۵/۷۳±۱/۴ ^b	۵۳/۷۶±۲/۶۶ ^a	۳۲/۳۱±۱/۴۵ ^c	۳۰/۰۳±۰/۲۳ ^c
پروتئین کل (g/dl)	۵/۵۹±۰/۰۸ ^c	۷/۹۸±۰/۰۶ ^b	۸/۳۴±۰/۱۷ ^a	۵/۴۱±۰/۲۱ ^c	۴/۳۸±۰/۰۵ ^c

بیشترین و کمترین پروتئین کل مربوط به تیمار شاتوت ۶۰ و ۲۰ ppm بود، همچنین بیشترین و کمترین میزان آلکالین فسفاتاز نیز مربوط به تیمار شاتوت ۶۰ و ۲۰ ppm بود.

بررسی برخی از پارامترهای بیوشیمیایی خون نشان داد که پودر شاتوت توانسته به طور معنی داری بر برخی از این شاخص ها تاثیر گذار باشد. بررسی گلوکز و کلسترول خون نشان داد که کمترین مقدار مربوط به تیمار تغذیه شده با سطح بالای شاتوت بوده و بیشترین مقدار مربوط به گروه آستاگزانتین است. همچنین بین تیمارهای تغذیه شده با ۴۰ و ۶۰ ppm شاتوت با گروه شاهد اختلاف معنی داری وجود داشت ($p < 0.05$).

بیشترین و کم ترین میزان آلبومین مربوط به تیمار شاتوت ۶۰ ppm و شاهد بود که به ترتیب برابر با ۳/۰۱±۰/۲۵ و ۱/۸۶±۰/۱۸ به دست آمد. با توجه به آنالیز داده های به دست آمده پودر شاتوت تاثیر معناداری بر میزان آلبومین خون ماهی قزل آلی رنگین کمان داشته است.

بیشترین و کمترین میزان تریگلیسیرید مربوط به آستاگزانتین ۴۱ ppm و شاتوت ۶۰ ppm بود که برابر با ۱۷۸/۰۵±۳۷/۰۷ و ۱۱۲/۰۹±۳۵/۰۲ می باشد. بر اساس آنالیز داده های به دست آمده بین تیمارهای مختلف شاتوت اختلاف معناداری با تیمار شاهد مشاهده گردید.

بیشترین و کمترین میزان LDH مربوط به تیمار شاتوت ۶۰ و شاهد بود که به ترتیب برابر با ۲۸۹۱/۲۸±۱۷۰/۲۱ و ۱۱۸۵/۰۱±۵۱/۸۶ می باشد.

بیشترین و کمترین مقدار ALT مربوط به تیمار شاهد و شاتوت ۶۰ بود و به ترتیب برابر با ۲۳/۸۱±۵/۱۹ و ۵/۹۲±۰/۹۴ است.

بیشترین و کمترین میزان AST مربوط به تیمار شاهد و شاتوت ۶۰ بود و به ترتیب برابر با ۲۵/۴۳±۱/۳۹ و ۱۶/۵۴±۴/۷ بود.

نتایج به دست آمده از بررسی فاکتورهای خونی نشان می دهد که بیشترین تعداد گلبول های سفید و قرمز خون مربوط به تیمار شاتوت ۶۰ ppm می باشد و بین تیمارهای مختلف و تیمار شاهد اختلاف معناداری وجود داشت ($p < 0.05$).

جدول ۴-۲ میانگین (\pm انحراف معیار) گلبول های سفید و قرمز خون ماهی قزل آلی رنگین کمان تغذیه شده با غذای

پایه و شاتوت ۲۰، ۴۰ و ۶۰ ppm و آستاگزانتین ۴۱ ppm

تیمار	شاهد	آستاگزانتین	شاتوت ۲۰	شاتوت ۴۰	شاتوت ۶۰
RBC($10^6/mm$)	$1/26 \pm 0/001^e$	$1/27 \pm 0/002^d$	$1/28 \pm 0/007^c$	$1/34 \pm 0/002^b$	$1/39 \pm 0/001^a$
WBC($10^3/mm$)	$10/23 \pm 1/45^c$	$10/93 \pm 1/45^c$	$11/27 \pm 2/04^b$	$11/67 \pm 3/84^b$	$12/7 \pm 1/15^a$

(وجود حروف غیر همسان بر روی اعداد نشانگر وجود اختلاف معنی دار است ($p < 0/05$))

جدول ۴-۳ میانگین و انحراف معیار فاکتور های سرمی خون

تیمار	شاهد	آستاگزانتین ۴۱ ppm	شاتوت ۲۰ ppm	شاتوت ۴۰ ppm	شاتوت ۶۰ ppm
گلوکز	$88/45 \pm 4/75^{ab}$	$90/51 \pm 12/88^a$	$85/87 \pm 3/71^{ab}$	$74/46 \pm 1/17^b$	$90/51 \pm 2/0^a$
کلسترول	$198/24 \pm 20/91^{ab}$	$201/23 \pm 38/34^a$	$185/02 \pm 53/20^{ab}$	$145/06 \pm 27/29^b$	$140/56 \pm 25/27^b$
آلبومین	$1/86 \pm 0/18^c$	$2/02 \pm 0/32^c$	$2/35 \pm 0/26^{bc}$	$2/75 \pm 0/11^{bc}$	$3/01 \pm 0/25^a$
تری‌گلیسیرید	$175/08 \pm 29/08^c$	$178/05 \pm 37/07^c$	$130/04 \pm 39/43^b$	$125/08 \pm 32/86^b$	$112/09 \pm 35/02^{ab}$
LDH	$1185/01 \pm 51/86^c$	$2380/21 \pm 761/58^a$	$1745/21 \pm 186/03^{bc}$	$103455/61^{bc}$ 1922	$2891/28 \pm 170/21^a$
ALT	$23/81 \pm 5/19^c$	$13/02 \pm 3/69^b$	$12/11 \pm 1/27^b$	$7/02 \pm 1/27^a$	$5/92 \pm 0/94^a$
AST	$25/43 \pm 1/39^b$	$23/78 \pm 8/15^b$	$21/44 \pm 6/31^b$	$22/92 \pm 4/99^b$	$16/54 \pm 4/70^a$
آلکالین فسفاتاز IU/L	$29/79 \pm 2/21^c$	$45/73 \pm 1/4^b$	$53/76 \pm 2/66^a$	$32/31 \pm 1/45^c$	$30/03 \pm 0/23^c$
پروتئین کل (g/dl)	$5/59 \pm 0/08^c$	$7/98 \pm 0/06^b$	$8/34 \pm 0/17^a$	$5/41 \pm 0/21^c$	$4/38 \pm 0/05^c$

(وجود حروف غیر همسان بر روی اعداد نشانگر وجود اختلاف معنی دار است ($p < 0/05$))

۳- بحث

آنزیم آلکالین فسفاتاز در بدن ماهی آتلانتیک سالمون به عنوان شاخصی برای استرس می باشد و به دلیل فعالیت هیدرولیتیکی، به عنوان یک عامل ضد باکتریایی شناخته می شود و نیز در بهبود زخم و عفونت انگلی نقش محافظتی دارد (Subramanian et al., 2007; Ross and et al., 2000). در رابطه با تأثیر

محرك‌های ایمنی بر میزان فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز در ماهیان، اطلاعات محدودی وجود دارد. بر اساس گزارش ارائه شده توسط Sheikhzadeh و همکاران در سال ۲۰۱۲، محرك ایمنی ارگوسان موجب افزایش معنادار فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز در ماهی قزل‌آلا شده است.

همچنین پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس موجب افزایش فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز در ماهی تایگر بارب شده است (روستا و همکاران، ۱۳۹۲) در این مطالعه نیز، فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز در ماهی قزل‌آلای تغذیه شده با شاتوت طی ۸ هفته، افزایش معناداری را نسبت به گروه شاهد نشان می‌دهد.

نتایج این مطالعه افزایش میزان پروتئین کل را در ماهیان تغذیه شده با شاتوت نسبت به گروه شاهد نشان می‌دهد؛ که این نتایج هم‌راستا با نتایج به دست آمده از مطالعات انجام شده توسط Sheikhzadeh و همکاران در سال ۲۰۱۲ می‌باشد که با افزودن محرك ایمنی ساکاروماکسیس سرروزیه به جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان نشان داد که پروتئین کل موجود در موكوس افزایش معنی‌داری را نسبت به گروه شاهد نشان می‌دهد. همچنین نتایج این مطالعه با نتایج استفاده از پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (روستا و همکاران، ۱۳۹۲)، ویتامین A (شریفیان و همکاران، ۱۳۹۲)، محرك ایمنی ارگوسان (Sheikhzadeh et al., 2012a) و پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازائی (Hernandez et al., 2010) به ترتیب در جیره غذایی ماهیان تایگر بارب، کلمه، قزل‌آلای رنگین‌کمان و *Poecilopsis gracilic* مطابقت دارد.

مطالعه در زمینه فاکتورهای خونی ماهیان به‌طور عملی و گسترده از دهه ۱۹۸۰ میلادی و به‌طور عمده روی کپور ماهیان و قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) صورت گرفت (کاظمی و همکاران، ۱۳۹۲; Bahmani et al., 2011). یافته‌های به دست آمده از پژوهش‌های خون‌شناسی آبریاندر ارزیابی وضعیت سلامت آبریان، ارزیابی مقاومت غیراختصاصی آبریان مولد، جداسازی گله‌های مولد مناسب به منظور تولید لارو و بچه ماهیان سالم و مقاوم می‌تواند مؤثر واقع شود (Kazemi et al., 2010). بیان دقیق مقایسه داده‌های خونی بین افراد یک‌گونه و گونه‌های مختلف امری دشوار است. زیرا خصوصیات فیزیولوژیک خون و سرم خون ماهیان با تغییرات محیطی، اختلاف گونه‌ها، روش‌های نمونه برداری، مرحله رشد و نمو، اندازه نمونه‌ها (Bani and Haghi, 2011) استرس ناشی از صید و نمونه برداری، رژیم غذایی، سن، مرحله تولیدمثلی، جنسیت، فعالیت‌های فردی، شرایط پرورش، تراکم، اکسیژن محلول و شوری (Hoseinifar et al., 2011)، به آسانی تغییر می‌کند و روی مقدار داده‌های خون‌شناسی تأثیر می‌گذارد.

سرعت حرکت ماهیان، مرحله رسیدگی جنسی، فعالیت زیاد و شکل بدن آن‌ها با گلبول‌های قرمز خون ارتباط دارد (Satheeshkumar et al., 2012).

از طرف دیگر مقادیر بالای گلبول قرمز و غلظت هموگلوبین خون پاسخی به افزایش تقاضای سوخت‌وساز در بدن است. افزایش تعداد گلبول‌های قرمز خون بیانگر تقاضای بالای نیاز اکسیژنی برای دستیابی به اکسیژن بیشتر جهت سوخت‌وساز بالاتر می‌باشد (Zhouand et al., 2000 ; Satheeshkumar et al., 2012) در نتیجه با افزایش طول، سن، مرحله جنسی و تغذیه ماهی (Kori-Siakpere et al., 2005)، تعداد گلبول‌های قرمز و هموگلوبین نیز افزایش می‌یابد.

تعداد گلبول‌های سفید و نسبت انواع آن‌ها یکی از شاخص‌های مهم سلامتی و وضعیت سیستم ایمنی در جانوران می‌باشد (Shalaby et al., 2006).

نتایج این مطالعه نشان داد که بیشترین تعداد گلبول‌های قرمز و سفید در تیمارهای تغذیه‌شده با بیشترین درصد شاتوت بود؛ اختلاف معنی‌داری بین سطوح مختلف شاتوت با گروه شاهد نیز وجود دارد. نتایج این مطالعه می‌تواند همراستا و مغایر با نتایج بسیاری از مطالعه‌های دیگر باشد. نتایج حاصل از افزودن پودر زنجبیل با سطوح ۵۰۰، ۱۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم، در جیره غذایی ماهی کاتلا کاتلا^۱ نشان داد که سطح بالای پودر زنجبیل (۱۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) موجب بالا بردن میزان هموگلوبین، فعالیت فاگوسیتوزی و برخی از فاکتورهای ایمنی از جمله پروتئین کل سرم فعالیت ضد باکتریایی سرم نسبت به سایر سطوح و گروه کنترل گردید (Arulvasu et al., 2013) افزودن زنجبیل به جیره غذایی ماهی قزل‌آلا به مدت ۱۴ روز، اختلاف معنی‌داری در تعداد گلبول‌های قرمز، سفید و میزان هماتوکریت در تیمارهای سطوح مختلف زنجبیل با گروه شاهد نشان داد (Nya and Austn, 2009). همچنین زنجبیل موجب افزایش گلبول‌های قرمز و سفید خون، افزایش فعالیت فاگوسیتوزی در ماهی باس‌دریایی (Talpur et al., 2013)، افزایش فاکتورهای سیستم ایمنی غیراختصاصی از جمله گلبول‌های سفید، فاگوسیتوز و فعالیت تنفس سلولی در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (Düğenci et al., 2003) و افزایش گلبول‌های قرمز و سفید و مقدار هماتوکریت در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان شده است (Haghighi and Rohani, 2013).

از سایر مطالعه‌هایی که دارای نتایج مشابه با نتایج این مطالعه هستند، می‌توان به تأثیر جیره حاوی ۰/۵ درصد عصاره گیاه خار مریم^۲ بر تعداد گلبول‌های سفید در ماهی کپور معمولی (علیشاهی و همکاران، ۱۳۹۰) و نیز بررسی تأثیر مخلوط عصاره‌های گیاهی تولسی، ادویه‌کاری و شاهدانه در مطالعه Harikrishnan و همکاران در سال ۲۰۰۹، بر روی ماهی کاراس طلایی^۳ اشاره نمود. همچنین نتایج این مطالعه، با نتایج مطالعه مربوط به افزودن عصاره گیاه مورخوش^۴ به میزان ۱۵۰، ۳۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم

1. *Catla catla*
2. *marianum Sil*
3. *Carassius auratus*
4. *Zhumeria majdae*

در کیلوگرم به جیره غذایی گربه ماهی^۱ به مدت ۴۵ روز مغایرت داشت. به طوری که اختلاف معنی داری در تعداد گلبول‌های سفید، قرمز، میزان هماتوکریت و هموگلوبین مشاهده نشد.

همچنین Fazllolahzadeh و همکاران در سال ۲۰۱۱ با افزودن پودر سیر به میزان ۰/۳، ۰/۴۵ و ۰/۶ گرم در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، شاخص‌های خونی و فعالیت‌های پلاسمارا مورد بررسی قرار دادند که اختلاف معنی داری را بین سطوح مختلف پودر سیر و گروه شاهد مشاهده نکردند.

نتایج حاصل از بررسی شاخص‌های گلبولی این مطالعه نیز با نتایج حاصل از مطالعه تأثیر روغن سیاه‌دانه بر فاکتورهای خونی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان هم راستا می‌باشد (Ekanem and Yusuf, 2008). در بررسی اثر زنجبیل در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای در مدت زمان ۱۴ روز، اختلاف معنی داری در شاخص‌های گلبولی تیمارهای سطوح مختلف زنجبیل با گروه شاهد مشاهده نشد (Nya and Austin, 2009).

همچنین در بررسی اثر عصاره‌های گیاهی اکیناسه، آویشن، کندر و محرک‌های ایمنی لوامیزول و ارگوسان بر روی ماهی کپور معمولی (علیشاهی و همکاران، ۱۳۹۰) اختلاف معنی داری در شاخص‌های گلبولی، بین محرک‌های ایمنی و عصاره گیاهی با گروه شاهد مشاهده نشد که با نتایج حاصل از این مطالعه مغایر می‌باشد.

فراوانی لنفوسیت‌ها به شدت تحت تأثیر فصل، دما، سن و مواد آلاینده محیطی می‌باشد. به طوری که با سرد شدن هوا و کاهش دمای آب، وجود مواد سمی و دارویی به شدت کاهش می‌یابد (Collazos et al., 1998) ولی در فصول گرم و بلوغ و افزایش سن، افزایش می‌یابد (Bahmani d et al., 2001).

گلوکز موجود در سرم یکی از متابولیت‌های اصلی در سوخت‌وساز کربوهیدرات‌ها است (Artacho et al., 2007). علاوه بر این میزان گلوکز سرم به طور گسترده به عنوان شاخصی برای استرس در ماهی استفاده می‌شود (Turan et al., 2007). در این مطالعه میزان گلوکز در ماهیان تیمار شده با شاتوت در مقایسه با گروه شاهد به طور معنی داری کاهش یافت. نتایج حاصل ممکن است به دلیل بالا رفتن میزان انسولین پلازما و متعاقب آن تأثیر بر میزان گلوکز توسط محرک‌های گیاهی باشد (Awad, 2010) و یا به دلیل فعال شدن سنتز گلیکوژن کبدی که نشان از سالم بودن آن می‌باشد (Ji et al., 2007).

بیشترین بخش پروتئین سرم در کبد سنتز می‌شود که می‌تواند به عنوان شاخص عملکرد کبد استفاده شود. کاهش پروتئین کل ویژگی بارز بسیاری از بیماری‌ها است و ممکن است به دلیل بیماری کبدی، کاهش جذب یا از دست دادن پروتئین رخ دهد (Bekcan et al., 2006).

بنابراین افزایش سطح پروتئین‌ها شاخص مناسبی جهت بررسی وضعیت ایمنی ماهی می‌باشد (Siwicki et al., 1994). در مطالعه کنونی میزان پروتئین کل در مقایسه با گروه شاهد افزایش معنی داری

نشان داد.

کلسترویل ترکیبی ضروری برای ساختار غشا سلولی است. این ماده می‌تواند به‌عنوان یک شاخص وضعیت تغذیه‌ای در حیوانات استفاده شود (Kamal and Omar, 2011). افزایش غلظت کلسترویل خون می‌تواند در نتیجه آسیب کبدی یا سندرم کلیه باشد (Sancho et al., 1997)، همچنین می‌تواند نشان‌دهنده‌ی عدم تعادل لیپیدهای جیره باشد (Hasanalipour et al., 2013) در این مطالعه میزان کلسترویل خون در تیمارهای تغذیه‌شده با شاتوت کاهش معنی‌داری را نسبت به گروه شاهد نشان داد. در مطالعه‌ای که بر روی تأثیر گیاه زنجبیل بر ماهی کپور هندی توسط Arulvasu و همکاران در سال ۲۰۱۳ انجام شد، گزارشی ارائه شد مبنی بر اینکه سطح بالای زنجبیل موجب افزایش پروتئین کل خون می‌گردد که با نتایج حاصل از این مطالعه همخوانی دارد. نتایج حاصل از این مطالعه نیز همراستا با نتایج مطالعه Banaee و همکاران در سال ۲۰۱۱ می‌باشد که گزارش کردند افزودن مکمل گیاهی خارمریم به جیره غذایی قزل‌آلا سبب کاهش گلوکز و کلسترویل و افزایش پروتئین کل می‌گردد.

همچنین افزودن عصاره پیاز و سیر به جیره غذایی گربه ماهی آفریقایی نتایج مشابه با نتایج این مطالعه را ارائه می‌دهد (Al-Salahy, 2002). همچنین Harikrishnan و همکاران در سال ۲۰۱۰ بیان نمودند که استفاده از مکمل‌های گیاهی در جیره غذایی ماهی قرمز، می‌تواند موجب کاهش گلوکز و کلسترویل و افزایش پروتئین کل گردد.

صنعت آبی‌پروری از اهمیت فراوانی برخوردار بوده و پرورش متراکم و فوق متراکم ماهیان آب‌های شور و شیرین به‌صورت سالیانه در حال افزایش است. به‌موازات افزایش تولید و نیز تراکم ماهی در واحد سطح، عوامل استرس‌زای زیادی از جمله تراکم بیش‌ازحد، حمل‌ونقل، تیمار بندی و کیفیت پایین آب بر سلامت ماهی تأثیر منفی می‌گذارند (Li et al., 2004) این شرایط موجب ضعف فیزیولوژیکی و افزایش حساسیت ماهی به عوامل بیماری‌زا و نیز راهی برای بروز طیف وسیعی از بیماری‌ها هستند. محیط استرس‌زا و پرتنش خود نیز عاملی برای سرکوب سیستم ایمنی و افزایش حساسیت نسبت به بیماری‌های عفونی در آبزیان می‌شود.

باوجود اقدامات پیشگیرانه تا حدی موفق از جمله پیشگیری بهداشتی، ضد عفونی، آنتی‌بیوتیک‌ها، واکسن‌ها و شیمی‌درمانی در ۲۰ سال گذشته، اما هنوز هم متأسفانه این‌گونه بیماری‌ها هزینه‌های اقتصادی زیادی بر جای می‌گذارند. زیرا استفاده بیش‌ازحد از مواد شیمیایی آنتی‌بیوتیک‌ها موجب عوارض جانبی و مرگ‌ومیر ماهی می‌شود (Bondad-Reantaso et al., 2005). همچنین استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها و دارو-های شیمیایی تبعاتی از جمله خطر مقاوم‌شدن پاتوژن‌ها به داروها، باقی‌ماندن داروها در گوشت ماهیان مورد تغذیه انسان و نیز آلودگی‌های زیست‌محیطی را به دنبال داشته است (Tangestani et al., 2011).

امروزه افزودنی‌های مختلفی از جمله پروبیوتیک‌ها، پریبیوتیک‌ها و آنزیم‌ها برای بهبود کیفیت غذا، افزایش رشد و کمک به توانایی‌های ماهی برای تحمل شرایط محیط پرورشی به غذا اضافه می‌شوند. به دلیل محدودیت‌های قانونی در استفاده از مواد شیمیایی از جمله آنتی‌بیوتیک‌ها و هورمون‌ها در غذای آبزیان و جانوران خوراکی مورد مصرف انسان، استفاده از مواد افزودنی گیاهی به‌عنوان یک ماده طبیعی به‌منظور افزایش سرعت رشد و بهبود کارایی غذا در صنعت غذای آبزیان گسترش زیادی پیدا کرده است (چگینی و همکاران، ۱۳۹۱).

افزودنی‌های گیاهی، افزودنی‌های به‌دست‌آمده از گیاهان دارویی یا عصاره گیاهان است. آن‌ها در طیف گسترده‌ای توسط انسان و نیز حیوانات از جمله ماهی مورد استفاده قرار می‌گیرند (Gabor et al., 2010). گیاهان دارویی به‌منظور افزایش عملکردهای مختلف مانند محرک رشد و اشتها (Shalaby et al., 2006)، ضد استرس (Citarasu, 2010)، عملکردهای ایمنی (Dorucu et al., 2009)، تغییر جنسیت (Ghosal and Chakraborty, 2004)، رنگ گوشت، میزان تخم‌گذاری، وضعیت خونی و بیوشیمیایی و نیز افزایش مقاومت به بیماری در ماهیان پرورشی به دلیل ترکیبات فعال مختلف گزارش شده است (Zaki et al., 2012).

بدیهی است در کشور ما ضمن وجود تنوع و فراوانی گیاهان دارویی، زمینه‌های فراوانی برای تحقیقات و بهره‌گیری از این گیاهان وجود دارد.

منابع

۱. چگینی، ح.ر.، کرامت امیرکلایی، ع.، جعفرپور، س.ع. و فیروزبخش، ف. (۱۳۹۱). اثر سطوح مکمل ساپونین (*Quillaj saponaria*) بر پارامترهای رشد و ترکیب شیمیایی لاشه لاروهای قزل-آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). مجله بهره‌برداری و پرورش آبزیان، جلد اول، شماره اول، ۱۴-۱ ص.
۲. روستا، ز. حاجی مرادلو، ع. حسینی فر، س. ح. و وکیلی، ف. (۱۳۹۲). اثرات سطوح مختلف پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (*acidophilus Lactobacillus*) بر فعالیت ضدباکتریایی و برخی شاخص‌های ایمنی موکوسی ماهی تایگر بارب (*tetrazona Puntius*). مجله بوم‌شناسی آبزیان ۳ (۲) ۱۳۹۲: ۱۳-۲۰ ص.
۳. شریفیان، م. (۱۳۹۲). تأثیر سطوح متفاوت ویتامین A بر خصوصیات ضدباکتریایی موکوس اپیدرم ماهی کلمه (*Rutilus rutilus caspicus*) پایان‌نامه کارشناسی ارشد. دانشکده شیلات و محیط‌زیست. دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.
۴. علیشاهی، م.، سلطانی، م. و اسمعیلی‌راد، ا. (۱۳۹۰). تأثیر تجویز خوراکی عصاره خار مریم (*Silybummarianum*) بر پاسخ‌های ایمنی ماهی کپور معمولی. مجله تحقیقات دامپزشکی، دوره

5. **Afzal, M., Al-Hadidi, D., Menon, M., Pesek, J., and Dhami, M. (2011).** Ginger: an ethnomedical, chemical and pharmacological review. *Drug metabolism and drug interactions*, 18(3-4), 159-190.
6. **Agarwal, M., Walia, S., Dhingra, S., and Khambay, B. P. S. (2001).** Insect growth inhibition, antifeedant and antifungal activity of compounds isolated/derived from *Zingiber officinale* Roscoe (*ginger*) rhizomes. *Pest Management Science*, 57(3), 289-300 .
7. **Ai, Q., Mai, K., Zhang, L., Tan, B., Zhang, W., Xu, W., and Li, H. (2007).** Effects of dietary β -1, 3 glucan on innate immune response of large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea*. *Fish and Shellfish Immunology*, 22(4), 394-402.
8. **Al-Salahy, M. (2002).** Some physiological studies on the effect of onion and garlic juices on the fish (*Clarias lazera*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 27(1-2), 129-142.
9. **Alderman, D., and Hastings, T. (1998).** Antibiotic use in aquaculture: development of antibiotic resistance-potential for consumer health risks. *International journal of food science and technology*, 33(2), 139-155.
10. **Artacho, P., Soto-Gamboa, M., Verdugo, C., and Nespolo, R. F. (2007).** Blood biochemistry reveals malnutrition in black-necked swans (*Cygnus melanocoryphus*) living in a conservation priority area. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular and Integrative Physiology*, 146(2), 283-290.
11. **Arulvasu, C., Mani, K., Chandhirasekar, D., Prabhu, D., and Sivagnanam, S. (2013).** Effect of dietary administration of (*Zingiber officinale*) on growth, survival and immune response of Indian major carp (*Catla catla*Ham). *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.*, 5, 108-115.
12. **Awad, E. S. (2010).** Studies on plant based dietary supplements for control of *Aeromonas hydrophila* infections in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Heriot-Watt University.
13. **Bahmani, M., Kazemi, R., and Donskaya, P. (2001).** A comparative study of some hematological features in young reared sturgeons (*Acipenser persicus* and *Huso huso*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 24(2), 135-140.
14. **Banaee, M., Sureda, A., Mirvaghefi, A. R., and Rafei, G. R. (2011).** Effects of long-term silymarin oral supplementation on the blood biochemical profile of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish physiology and biochemistry*, 37(4), 885-896.
15. **Bani, A., and, H. Aghai, A. (2011).** Temporal variations in haematological and biochemical indices of the Caspian kutum, (*Rutilus frisii kutum*). *Ichthyological research*, 58(2), 126-133.
16. **Bekcan, S., Dogankaya, L., and Cakirogullari, G. C. (2006).** Growth and body composition of European catfish (*Silurus glanis*) fed diets containing different percentages of protein.
17. **Bondad-Reantaso, M. G., Subasinghe, R. P., Arthur, J. R., Ogawa, K., Chinabut, S., Adlard, R., Shariff, M. (2005).** Disease and health management in Asian aquaculture. *Veterinary parasitology*, 132(3), 249-272.
18. **Citarasu, T. (2010).** Herbal biomedicines: a new opportunity for aquaculture industry. *Aquaculture International*, 18(3), 403-414.
19. **Collazos, M. E., Ortega, E., Barriga, C., and Rodríguez, A. B. (1998).** Seasonal variation in haematological parameters in male and female *Tinca tinca*. *Molecular and cellular biochemistry*, 183(12): 165 – 168.
20. **Dorucu, M., Colak, S. O., Ispir, U., Altinterim, B., and Celayir, Y. 2(009).** The effect of black cumin seeds, (*Nigella sativa*), on the immune response of

- rainbowtrout(*Oncorhynchus mykiss*). *Medecine Aquaculture Journal*, 2(1), 1-7.
21. **Düğenci, S. K., Arda, N., and Candan, A. (2003)**. Some medicinal plants as immunostimulant for fish. *Journal of Ethnopharmacology*, 88(1), 99-106.
 22. **Ekanem, J. T., and Yusuf, O. K. (2008)**. Some biochemical and haematological effects of blackseed (*Nigella sativa*) oil on Trypanosoma brucei-infected rats. *African Journal of Biotechnology*, 7(2).
 23. **Ernst, E., and Pittler, M. (2000)**. Efficacy of ginger for nausea and vomiting: a systematic review of randomized clinical trials. *British journal of anaesthesia*, 84(3), 367-371.
 24. **Fazlollahzadeh, F., Keramati, K., Nazifi, S., Shirian, S., and Seifi, S. (2011)**. Effect of garlic (*Allium sativum*) on hematological parameters and plasma activities of ALT and AST of Rainbow trout in temperature stress.
 25. **Gabor, E. F., Şara, A., and Barbu, A. (2010)**. The effects of some phytoadditives on growth, health and meat quality on different species of fish. *Scientific Papers Animal Science and Biotechnologies*, 43(1), 61-65.
 26. **Ghosal, I., and Chakraborty, S. B.** Effects of the Aqueous Leaf Extract Of Basella Alba on Sex Reversal of Nile Tilapia (*Oreochromis Niloticus*) .
 27. **Grzanna, R., Lindmark, L., and Frondoza, C. G. (2005)**. Ginger-an herbal medicinal product with broad anti-inflammatory actions. *Journal of medicinal food*, 8(2), 125-132.
 28. **Haghighi, M., and Rohani, M. S. (2013)**. The effects of powdered ginger (*Zingiber officinale*) on the haematological and immunological parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal Medicine Plant Herbal Thermology Research*, 8-12 .
 29. **Harikrishnan, R., Balasundaram, C., Kim, M. C., Kim, J.-S., Han, Y. J., and Heo, M.-S. (2009)**. Innate immune response and disease resistance in *Carassius auratus* by triherbal solvent extracts. *Fish and shellfish immunology*, 27(3), 508-515.
 30. **Harikrishnan, R., Heo, J., Balasundaram, C., Kim, M. C., Kim, J. S., Han, Y. J., and Heo, M. S. (2010)**. Effect of traditional Korean medicinal (TKM) triherbal extract on the innate immune system and disease resistance in *Paralichthys olivaceus* against *Uronema marinum*. *Veterinary parasitology*, 170(1), 1-7.
 31. **Hasanalipour, A., Eagderi, S., Poorbagher, H., and Bahmani, M. (2013)**. Effects of stocking density on blood cortisol, glucose and cholesterol levels of immature Siberian Sturgeon (*Acipenser baerii Brandt*). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 13(1).
 32. **Hernandez, L., Barrera, T., Mejia, J., Mejia, G., Del Carmen, M., Dosta, M., Sotres, J. (2010)**. Effects of the commercial probiotic *Lactobacillus casei* on the growth, protein content of skin mucus and stress resistance of juveniles of the Porthole livebearer *Poeciliopsis gracilis (Poeciliidae)*. *Aquaculture Nutrition*, 16(4), 407-411.
 33. **Hoseinifar, S. H., Mirvaghefi, A., Merrifield, D. L., Amiri, B. M., Yelghi, S., and Bastami, K. D. (2011)**. The study of some haematological and serum biochemical parameters of juvenile beluga (*Huso huso*) fed oligofructose. *Fish physiology and biochemistry*, 37(1), 91-96.
 34. **Jagetia, G. C., Baliga, M. S., Venkatesh, P., and Ulloor, J. N. (2003)**. Influence of ginger rhizome (*Zingiber officinale*) on survival, glutathione and lipid peroxidation in mice after whole-body exposure to gamma radiation. *Radiation research*, 160(5), 584-592.
 35. **Ji, S. C., Takaoka, O., Jeong, G. S., Lee, S. W., Ishimaru, K., Seoka, M., and 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.
36. **Kamal, S. M., and Omar, W. A. (2011).** Effect of different stocking densities on hematological and biochemical parameters of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) fingerlings. Life science journal – acta Zhengzhou university overseas edition, 8(4), 580-586.
 37. **Kapoor, L. (2000).** Handbook of Ayurvedic medicinal plants: Herbal reference library (Vol. 2): CRC press.
 38. **Kazemi, R., Pourdehghani, M., Yousefi Jourdehi, A., Yarmohammadi, M., and Nasri Tajan, M. (2010).** Cardiovascular system physiology of aquatic animals and applied techniques of fish hematology. Shabak published book .
 39. **Kori-Siakpere, O., Ake, J., and Idoge, E. (2005).** Haematological characteristics of the African snakehead (*Parachanna obscura*). African Journal of Biotechnology, 4(6).
 40. **Li, P., Lewis, D. H., and Gatlin, D. M. (2004).** Dietary oligonucleotides from yeast RNA influence immune responses and resistance of hybrid striped bass (*Morone chrysops* × *Morone saxatilis*) to *Streptococcus iniae* infection. Fish and shellfish immunology, 16(5), 561-569.
 41. **Lin, Y.-H., and Shiau, S.-Y. (2005).** Dietary selenium requirements of juvenile grouper (*Epinephelus malabaricus*). Aquaculture, 250(1), 356-363.
 42. **Nicoll, R., and Henein, M. Y. (2009).** Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe): a hot remedy for cardiovascular disease? International journal of cardiology, 131(3), 408-409.
 43. **Nya, E. J., and Austin, B. (2009).** Use of dietary ginger (*Zingiber officinale*) as an immunostimulant to control *Aeromonas hydrophila* infections in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Journal of fish diseases, 32(11), 971-977.
 44. **Obach, A., Quentel, C., and Laurencin, F. B. (1993).** Dicen trarch us la brax. Diseases of Aquatic Organisms, 15, 175-185.
 45. **Peddie, S., Davidson, G., Eccersall, S., and Wardle, R. (2005).** The effects of Aquavac Ergosan on growth and survival in juvenile (*Chinook salmon*) . Aquaculture Health International, 3, 23-24.
 46. **Rijkers, G., Teunissen, A., Van Oosterom, R., and Van Muiswinkel, W. (1980).** The immune system of cyprinid fish. The immunosuppressive effect of the antibiotic oxytetracycline in carp (*Cyprinus carpio*). Aquaculture, 19(2), 177-189.
 47. **Ross, N., Firth, K., Wang, A., Burka, J. F., and Johnson, S. (2000).** Changes in hydrolytic enzyme activities of naive Atlantic salmon *Salmo salar* skin mucus due to infection with the salmon louse *Lepeophtheirus salmonis* and cortisol implantation. Diseases of Aquatic Organisms, 41(1), 43.
 48. **Sakai, M. (1999).** Current research status of fish immunostimulants. Aquaculture, 172(1), 63-92.
 49. **Sancho, E., Ferrando, M., and Andreu, E. (1997).** Sublethal effects of an organophosphate insecticide on the European eel (*Anguilla anguilla*). Ecotoxicology and environmental safety, 36(1), 57-65.
 50. **Sang, S., Hong, J., Wu, H., Liu, J., Yang, C. S., Pan, M. H., . . . Ho, C. T. (2009).** Increased growth inhibitory effects on human cancer cells and anti-inflammatory potency of shogaols from *Zingiber officinale* relative to gingerols. Journal of agricultural and food chemistry, 57(22), 10645-10650.
 51. **Satheeshkumar, P., Ananthan, G., Kumar, D. S., and Jagadeesan, L. (2012).** Haematology and biochemical parameters of different feeding behaviour of teleost fishes from Vellar estuary, India. Comparative Clinical Pathology, 21(6), 1187-1191.

52. **Shalaby, A., Khattab, Y., and 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(2), 172-201 .
53. **Sheikhzadeh, N., Heidarieh, M., Pashaki, A. K., Nofouzi, K., Farshbafi, M. A., and Akbari, M. (2012)a.** Hilyses, fermented *Saccharomyces cerevisiae*, enhances the growth performance and skin non-specific immune parameters in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish and shellfish immunology*, 32(6), 1083-1087.
54. **Sheikhzadeh, N., Karimi Pashaki, A., Nofouzi, K., Heidarieh, M., and Tayefi-Nasrabadi, H. (2012) b.** Effects of dietary Ergosan on cutaneous mucosal immune response in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish and Shellfish Immunology*, 32(3), 407-410.
55. **Siwicki, A. K., Anderson, D. P., and Rumsey, G. L. (1994).** Dietary intake of immunostimulants by rainbow trout affects non-specific immunity and protection against furunculosis. *Veterinary immunology and immunopathology*, 41(1), 125-139.
56. **Smith, P., Hiney, M. P., and Samuelsen, O. B. (1994).** Bacterial resistance to antimicrobial agents used in fish farming: a critical evaluation of method and meaning. *Annual review of fish diseases*, 4, 273-313.
57. **Subramanian, S., MacKinnon, S. L., and Ross, N. W. (2007).** A comparative study on innate immune parameters in the epidermal mucus of various fish species. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 148(3), 256-263.
58. **Ta'ati, R., Soltani, M., Bahmani, M., and Zamini, A. (2011).** Growth performance, carcass composition, and immunophysiological indices in juvenile greatsturgeon (*Huso huso*) fed on commercial prebiotic, *Immunoster*. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 10(2), 324-335.
59. **Talpur, A. D., Ikhwanuddin, M., and Ambok Bolong, A.-M. (2013).** Nutritional effects of ginger (*Zingiber officinale*) on immune response of Asian sea bass (*Lates calcarifer*) and disease resistance against *Vibrio harveyi*. *Aquaculture*, 400-401(0), 46-52.
60. **Tangestani, R., Doughikollae, E., Ebrahimi, E., and Zare, P. (2011).** Effects of garlic essential oil as an immunostimulant on hematological indices of juvenile beluga (*Huso huso*). *Journal of Veterinary Research*, 66(3), 209-216, 279.
61. **Thompson, I., Fletcher, T., Houlihan, D., and Secombes, C. (1994).** The effect of dietary vitamin A on the immunocompetence of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 12(6), 513-523.
62. **Treves-Brown, K. M. (2013).** *Applied fish pharmacology* (Vol. 3): Springer Science and Business Media.
63. **Turan, F., Gurlek, M., and Yaglioglu, D. (2007).** Dietary *red clover* (*Trifolium pratense*) on growth performance of common carp (*Cyprinus carpio*). *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 6(12), 1429-1433.
64. **Wijendra, G., and Pathiratne, A. (2007).** Evaluation of immune responses in an Indian carp (*Labeo Rohita*) fed with Levamisole incorporated diet. *Journal Science University Kelaniya*, 3, 17-28.
65. **Yano, T. (1996).** The nonspecific immune system: humoral defense. *The fish immune system: organism, pathogen and environment*, 15, 105-157.
66. **Zaki, M., Labib, E., Nour, A., Tonsy, H., and Mahmoud, S. (2012).** Effect some medicinal plants diets on mono sex Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), growth performance, feed utilization and physiological parameters. *APCBEE Procbedia*, 4, 220-227.

-
69. **Zhou, X., Li, M., Abbas, K., and Wang, W. (2009).** Comparison of haematology and serum biochemistry of cultured and wild Dojo loach *Misgurnus anguillicaudatus*. *Fish physiology and biochemistry*, 35(3), 435.