

# بررسی آسیب‌شناسی بافتی کبد، کلیه، روده و آبشش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان پرورشی (*Oncorhynchus mykiss*) تغذیه شده با غذای حاوی ۱٪ پودر عصاره گیاه صبر زرد (*Aloe vera*)

حمید پورمقیم<sup>۱</sup>، مسعود حقیقی<sup>۲\*</sup>، مصطفی شریف‌روحانی<sup>۳</sup>

## چکیده

علیرغم کاربرد روز افزون گیاه صبرزرد در آبزیان، تاکنون سمیت احتمالی آن در قزل‌آلای رنگین‌کمان بررسی نشده است. هدف این تحقیق بررسی احتمال بروز برخی جراحات بافتی در ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با غذای حاوی پودر عصاره آبی - الکلی ۱٪ از گیاه دارویی صبرزرد بود. تعداد ۶۰۰ قطعه بچه ماهی سالم در محدوده وزنی ۱۳ گرم، بطور تصادفی در ۲ گروه مساوی و هر گروه شامل ۳ تکرار قرار گرفتند. گروه‌ها شامل گروه تیمار با صبرزرد (۱٪) و گروه کنترل (دارونما ۱٪) می‌شدند که قبلاً تدارک غذا برای آنها انجام شده بود. در پایان هفته دهم آزمایش از هر تکرار تعداد ۲ قطعه ماهی صید و نمونه برداری از کبد، روده، کلیه و آبشش آنها انجام شد. نمونه‌ها در فرمالین ۱۰٪ ثابت شده، سپس با هماتوکسیلین و ائوزین رنگ آمیزی گردیدند. نهایتاً توسط میکروسکوپ نوری ارزیابی شدند. در نتایج بافت‌شناسی روده هیچ تغییری در گروه صبرزرد مشاهده نشد. برخی بافت‌های کبد و کلیه ماهیان تیمار با صبرزرد در جاتی از توسعه مراکز ملانوماکروفاژی را نشان داد که این تغییرات محدود بافتی، عکس‌العمل طبیعی بافت‌های مورد مطالعه نسبت به ماده خارجی بوده و ضایعه جدی محسوب نمی‌شدند. برخی بافت‌های آبشش در هر دو گروه هیپرپلازی سلول‌های پوششی تیغه اولیه را نشان داد که ارتباطی با تیمار دارویی نداشته و مربوط به شرایط محیطی و کیفیت آب بود. بر اساس یافته‌های فوق ظاهراً دز انتخابی ماده محرک ایمنی صبرزرد برای اندام‌های حیاتی مطالعه شده این تحقیق اثرات تخریبی نداشته است.

واژگان کلیدی: قزل‌آلای رنگین‌کمان، صبر زرد، آسیب‌شناسی بافتی

تاریخ دریافت: ۹۴/۹/۲۵ تاریخ پذیرش: ۹۴/۱۲/۴

## مقدمه

گیاه دارویی صبرزرد (*Aloe vera*) از زمان‌های قدیم به دلیل اثرات منحصر به فرد به ویژه در زیبایی و شادابی پوست انسان شناخته شده بوده و در طب سنتی مصر، آفریقا، یونان و ایران

جایگاه ویژه‌ای داشته است. در طب جدید هم پس از آنکه ژل آلوئه‌ورا در یک کارآزمایی بالینی، توسط *Williams* و همکاران در سال ۱۹۹۶ مورد ارزیابی قرار گرفت، در نشریه رادیولوژی آمریکا استفاده از گیاه فوق برای پیشگیری از آسیب پوستی ناشی از اشعه ایکس توصیه گردید (۱۳). تحقیقات وسیعی بر روی خواص این گیاه انجام شده و امروزه یکی از متداول‌ترین گیاهانی است که در صنایع مختلف دارویی، غذایی، آرایشی و بهداشتی کاربرد دارد (۹).

خواص ضد میکروبی، ضد ویروسی، ترمیم ضایعات پوستی و تاثیر بر رشد و تحریک سیستم ایمنی صبرزرد در انسان و حیوانات خونگرم اثبات شده می‌باشد (۴). در ماهی‌ها نیز طی سال‌های اخیر چندین گزارش از تاثیرات مثبت این گیاه بر محافظت از کبد و بافت‌های دیگر در مسمومیت‌ها، عملکرد رشد، ترمیم زخم، تحریک ایمنی و افزایش مقاومت در برابر عوامل عفونی منتشر شده است (۱۱ و ۱۰، ۵، ۴). اثر تحریک کننده سیستم ایمنی غیر اختصاصی در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان توسط پودر عصاره آبی - الکلی صبرزرد با غلظت ۱٪ در ترکیب با غذا و تجویز مسیر گوارشی در مطالعات قبلی به اثبات رسیده است (۹). ولی از آنجایی که عصاره‌های گیاهان ترکیبات پیچیده و گاهی ناشناخته‌ای دارند که احتمال بروز ایجاد سمیت در آنها زیاد است، لازم است تا در کنار بررسی اثرات مثبت، به اثرات منفی احتمالی ناشی از آنها نیز توجه شود.

۱- دانش آموخته دکترای تخصصی فارماکولوژی، گروه علوم پایه دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲\* مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، مرکز تحقیقات ماهیان سرد آبی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تنکابن، ایران Masoudi26@yahoo.com

۳- مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

دماسازی به استخرهای گرد بتونی منتقل شده و برای مدت ۲ هفته جهت سازگاری با محیط نگهداری شدند. سپس برای انجام آزمایش، ماهیان به ۲ گروه تیمار با صبرزرد و کنترل تقسیم و هر گروه با ۳ تکرار در مجموع در ۶ استخر گرد بتونی با ظرفیت آبی ۱۰۰۰ لیتر (هر استخر حاوی ۱۰۰ عدد بچه ماهی ۱۳ گرمی) توزیع شدند. تغذیه ماهی‌های هر گروه با غذای فراهم شده خاص، فقط یک بار در روز و در اولین وعده غذایی (ساعت ۸ صبح) صورت می‌گرفت و در بقیه وعده‌ها از غذای معمولی (بدون مواد افزودنی) استفاده می‌شد و این کار به مدت ۱۰ هفته انجام شد (۹). در پایان هفته دهم از هر تکرار دو نمونه ماهی صید گردید که پس از بیهوش شدن با MS222 کالبد گشایی شده، از هر ماهی ۴ نمونه مربوط به کلیه، کبد، روده و آبشش اخذ گردید و در فرمالین ۱۰٪ در داخل ظروف مخصوص نمونه‌برداری قرار گرفت. باتوجه به اینکه ۶ تکرار داشتیم مجموعاً ۱۲ ماهی جهت نمونه‌برداری، صید و کالبدگشایی گردید که از هر ماهی نیز ۴ عضو، یعنی در مجموع ۴۸ بافت جهت بررسی بافت‌شناسی فراهم گردید. نمونه‌ها به آزمایشگاه بافت‌شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران منتقل گردیدند. تهیه مقاطع میکروسکوپی و رنگ‌آمیزی به روش هماتوکسیلین و ائوزین (H&E) طبق روش‌های استاندارد صورت پذیرفته و مقاطع تهیه شده با میکروسکوپ نوری مطالعه گردیدند.

### نتایج

در بررسی نمونه‌های کبد، تنها دو مورد افزایش خفیف مراکز ملانوماکروفاژ در ماهیان تیمار با صبرزرد مشاهده گردید (نگاره ۱). نمونه‌های مربوط به روده در هر دو گروه سالم بوده و هیچ‌گونه تغییرات بافت‌شناسی را نشان نمی‌دادند (نگاره ۲). در نمونه‌های کلیه گروه صبرزرد نیز دو مورد توسعه مراکز ملانوماکروفاژ با شدت متوسط مشاهده گردید (نگاره ۳). نمونه‌های آبشش در هر دو گروه کنترل و تیمار با صبرزرد

از جمله، اثراتی که احتمال بروز آنها بر روی ارگان‌های در معرض گیاه دارویی وجود دارد. چنین مطالعاتی قبل از پیشنهاد استفاده از هر گونه دارو یا عصاره‌ای در سطح صنعتی، صورت پذیرفته و در مورد بسیاری عصاره‌هایی که امروز در بازار حضور دارند، راستی آزمایی قبلاً انجام گرفته است (۴). در مورد گیاه صبرزرد نیز علیرغم گزارشات متنوعی که در زمینه اثرات مختلف آن طی سال‌های اخیر در انواع ماهیان منتشر شده ولی تاکنون تاثیرات سمی احتمالی آن بر روی بافت‌های ماهی قزل‌آلای رنگین کمان پرورشی بررسی نشده است، لذا در این مطالعه با نمونه برداری از روده، کبد و کلیه که در کار جذب، متابولیسم و دفع موادی که از راه خوراکی تجویز می‌شوند دخالت دارند، سلامت دز انتخابی صبرزرد (۰.۱٪) به عنوان ماده محرک ایمنی در این ماهی بررسی شده است. وضعیت آبشش‌ها نیز صرفاً به عنوان شاخصی برای بررسی کیفیت آب مورد مطالعه قرار گرفته است.

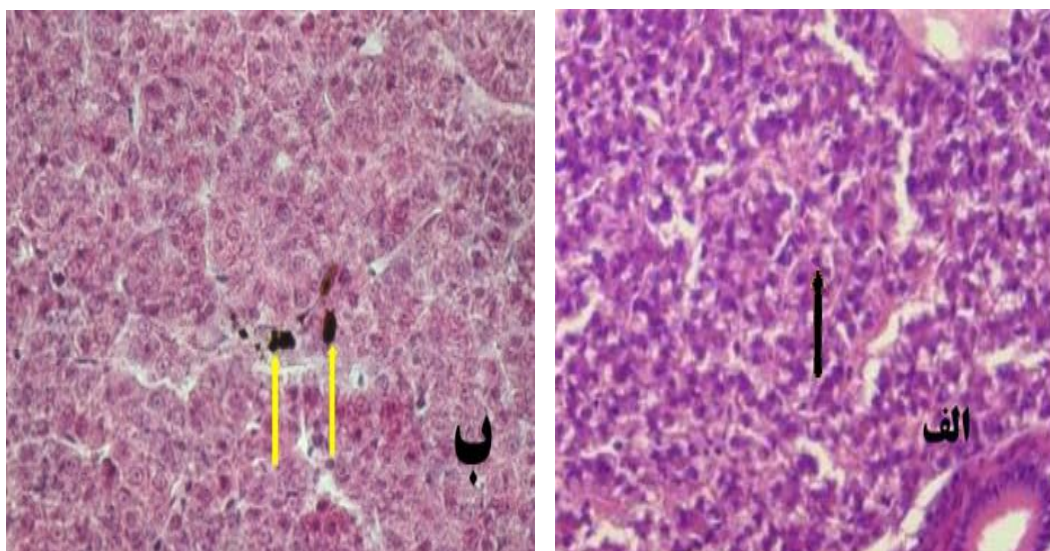
### مواد و روش کار

در شروع تحقیق برگ‌های کاملاً ارگانیک گیاه آلوئه ورا طبی از شرکت هاوین کشت جنوب خریداری شد. عصاره‌گیری آبی - الکلی در شرکت کشت و صنعت سها جیسا و تبدیل عصاره به پودر خشک در مرکز رشد فرآورده‌های دارویی دانشکده داروسازی تهران انجام گرفت. پودر عصاره خشک شده در یک کارگاه تولید غذای قزل‌آلا در تنکابن به نسبت ۱٪ به غذا افزوده شد و مکمل غذایی گروه صبرزرد آماده شد. برای آماده سازی غذای گروه کنترل نیز ترکیبی از ۱٪ دارونما (مخلوطی از پودر تالک و لاکتوز) به غذای پایه افزوده شد.

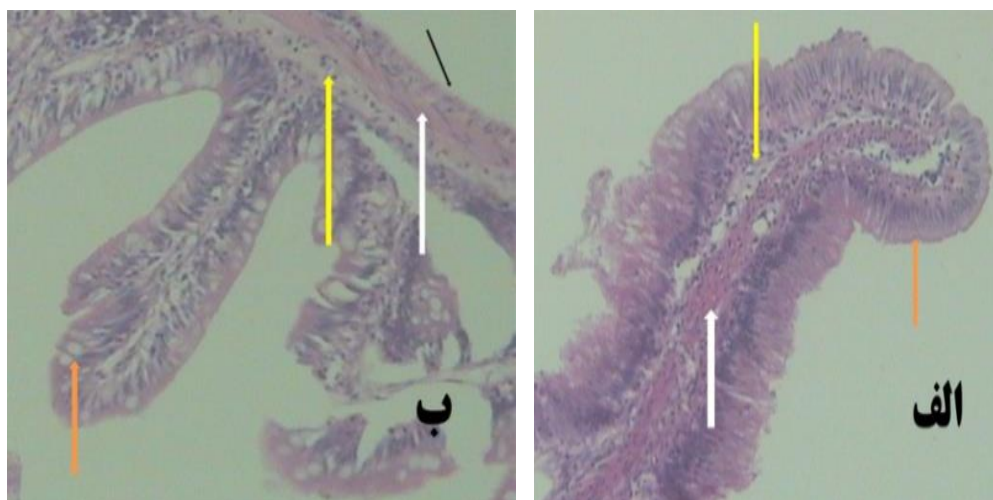
تعداد ۶۰۰ قطعه بچه ماهی قزل‌آلا رنگین کمان با میانگین وزنی ۱۳ گرم، پس از اطمینان از سلامتی ظاهری ماهی‌ها با توجه به علایم بالینی، از یک کارگاه معتبر تکثیر ماهی و تحت نظارت بهداشتی در تنکابن تأمین گردید و به مرکز تحقیقات ماهیان سردآبی کشور در تنکابن منتقل شد. ماهیان پس از هم

ارگان‌های مطالعه شده واکنش‌های نکروتیک یا التهابی مشاهده نگردید. شاخص‌های بررسی شده در ارگان‌ها و نتایج حاصل در جداول ۴-۱ ذکر شده است.

درجاتی از هیپرپلازی سلول‌های اپیتلیوم پوششی در انتهای لاملاهای اولیه، پرخونی و در یک مورد گریزی شدن انتهای لاملای ثانویه را در گروه صبرزرد نشان می‌داد ولی ضایعات التهاب و تخریبی مشاهده نشد (نگاره ۴). در هیچ کدام از

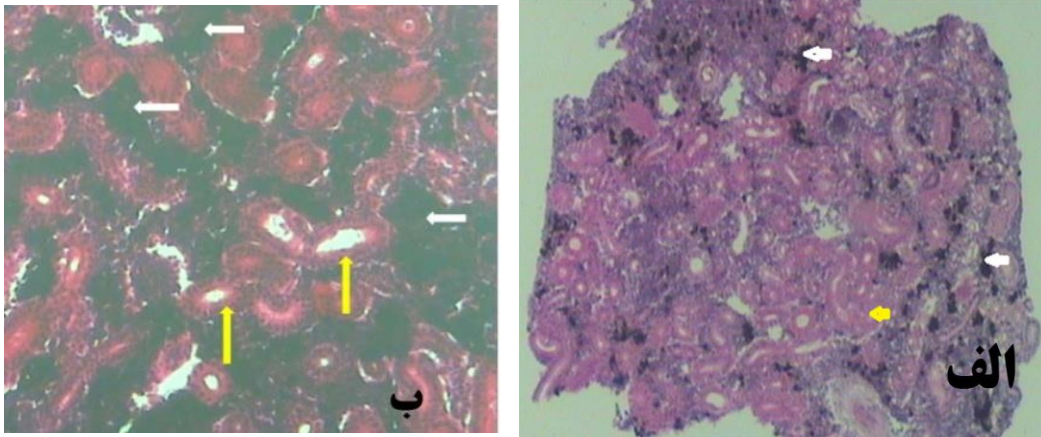


نگاره ۱- الف) کبد در گروه کنترل، سلول‌های سالم (پیکان سیاه) مشاهده می‌شود (H&E, X 40). ب) کبد در گروه صبرزرد، وسعت مختصر مراکز ملانوماکروفاژی کبد (پیکان زرد) مشاهده می‌شود. H&E, X 10.



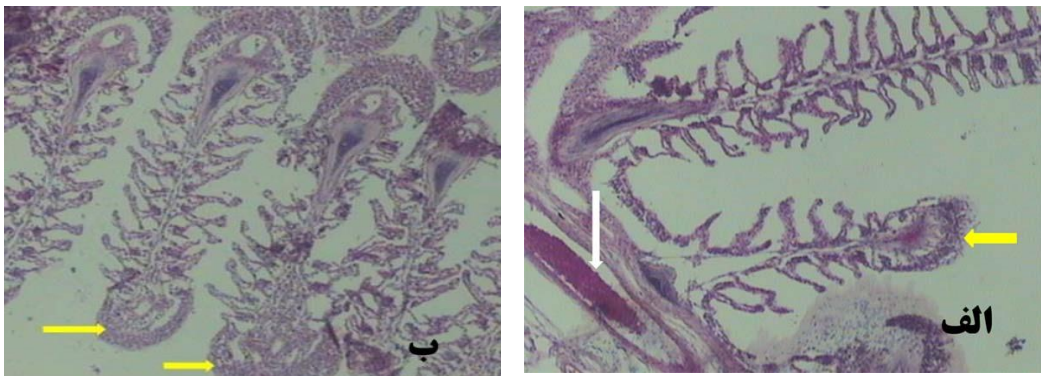
نگاره ۲- الف) ساختمان یک خمل سالم روده در گروه کنترل، لایه مخاطی (پیکان سفید)، لایه زیرمخاطی (پیکان زرد)، لایه عضلانی (پیکان سفید) مشاهده می‌شوند. H&E, X 10.

ب) روده سالم در گروه صبر زرد. لایه مخاطی (پیکان سفید)، لایه زیر مخاطی همراه با سلول‌های اتوزینوفیلیک (پیکان زرد)، لایه عضلانی (پیکان نارنجی)، لایه سروزی (پیکان سیاه). هیچ واکنش التهابی یا تخریبی دیده نمی‌شود. H&E, X40.



نگاره ۳- الف) کلیه طبیعی در گروه کنترل. پراکندگی طبیعی و کم وسعت مراکز ملانوماکروفاز (پیکان سفید) و لوله‌های ادراری سالم (پیکان زرد) مشاهده می‌شوند. H&E, X 10

ب) کلیه در گروه صبر زرد. مراکز ملانوماکروفاز (پیکان سفید) توسعه یافته اند. لوله‌های ادراری (پیکان زرد) سالم هستند H&E, X 40



نگاره ۴- الف) آبشش در گروه کنترل. هیپرپلازی انتهای لاملای اولیه و فیوز شدن لاملاهای ثانوی (پیکان زرد)، پرخونی واضح در رگ خونی (پیکان سفید) مشاهده می‌شود. H&E, X40

ب) آبشش در گروه صبر زرد. هیپرپلازی انتهای لاملای اولیه و فیوز شدن لاملاهای ثانوی (پیکان زرد)، مشاهده می‌شود. H&E, X10

جدول ۱. بررسی شاخص‌های آسیب‌شناسی کبد

گروه	تیمار	التهاب	دژنراسانس	نکروز	پرخونی	مراکز ملانوماکروفاز	سایر موارد
۱	شاهد	---	---	---	---	---	---
۲	صبر زرد	---	---	---	---	*۲	---

--- عدم وجود ضایعه آسیب‌شناسی \* شدت ضایعه مختصر

جدول ۲. بررسی شاخص‌های آسیب‌شناسی روده

گروه	تیمار	التهاب	نکروز	پرخونی	آگزودا	سایر موارد
۱	شاهد	---	---	---	---	---
۲	صبر زرد	---	---	---	---	---

--- عدم وجود ضایعه آسیب‌شناسی

جدول ۳. بررسی شاخص‌های آسیب‌شناسی کلیه

گروه	تیمار	التهاب	نکروز	اتساع کپسول بومن	مراکز ملانوماکروفاژ	سایر موارد
۱	شاهد	—	—	—	—	—
۲	صبرزرد	—	—	—	**۲	—

— عدم وجود ضایعه آسیب‌شناسی\*\* شدت ضایعه متوسط

جدول ۴. شاخص‌های آسیب‌شناسی آبشش

گروه	تیمار	التهاب	نکروز	پرخونی	هیپرپلازی بافت پوششی	سایر موارد
۱	شاهد	—	—	*۱	**۲	—
۲	صبرزرد	—	—	*۱	**۲	گریز شدن لاملای ثانوی

— عدم وجود ضایعه آسیب‌شناسی\*\* شدت ضایعه مختصر  
\*\* شدت ضایعه متوسط

## بحث

بر روی سلول‌های کبدی ماهی، هنگامی که در معرض غلظت‌های سمی فلز کرم قرار گرفتند به اثبات رسیده بود (۱۴). در بررسی نتایج مربوط به روده هیچ گونه تغییرات التهابی یا تخریبی در هیچ یک از گروه‌های کنترل و یا تیمار مشاهده نشد که این تأییدی بر سلامت جیره‌های استفاده شده بر ساختار روده بود. در واقع جهت ارزیابی تأثیر خوراکی عصاره‌های گیاهی بر روی ساختار بافت‌شناسی این عضو معمولاً از روش‌های سنجش کمی استفاده می‌کنند (۱۰). از جمله در تحقیقی که به تأثیر غلظت‌های مختلف خوراکی آلوئه ورا، به همراه جیره غذایی بر روی روده قزل‌آلای رنگین‌کمان پرداخته شده بود، اعلام گردید که با افزایش غلظت آلوئه ورا، تعداد خمل‌های روده و طول آنها افزایش یافته، پهنای آنها کاهش و تعداد سلول‌های جامی در واحد سطح افزایش می‌یابد که مجموع این رخدادها باعث بهبود در عملکرد جذب مواد غذایی و همچنین افزایش مکانیزم محافظتی - افزایش ترشح موکوس - می‌شود (۱۰).

در بررسی نتایج مربوط به کلیه در گروه صبرزرد هیچگونه ضایعه‌ای در بافت خونساز و لوله‌های ادراری مشاهده نشد و بیشترین موردی که در گروه تیمار با صبرزرد مشاهده گردید توسعه مراکز ملانو ماکروفاژی در بافت کلیه بود که عارضه

کبد و روده، مهمترین ارگان‌ها برای هضم و جذب مواد مغذی موجود در خوراک آبزیان هستند، بنابراین بررسی‌های بافت‌شناسی این دو عضو روش انتخابی برای ارزیابی تأثیرات گیاهان دارویی است که به روش خوراکی تجویز می‌شوند (۱۲). کبد ماهی به آسیب‌های شیمیایی بسیار حساس است و این موضوع به واسطه جریان نسبتاً آهسته خون کبد در مقایسه با برون ده قلبی و به همان میزان ارتباط بسیار نزدیکتر هپاتوسیت‌ها با سیستم صفراوی ماهی در مقایسه با پستانداران می‌باشد. سرعت جریان صفرای ماهی پنجاه بار کمتر از سرعت جریان مشابه آن در پستانداران است و این سبب تصفیه آهسته تر مواد شیمیایی و متابولیت‌ها در کبد ماهی نسبت به کبد پستانداران می‌شود (۲). در بررسی نتایج مربوط به کبد در گروه صبر زرد ضایعه قابل توجهی مشاهده نشد و فقط در برخی موارد شاهد مختصری افزایش مراکز ملانوماکروفاژ و پرخونی بودیم. در مطالعه‌ای که علیشاهی و همکاران در ماهی کپور انجام دادند، با تجویز عصاره آلوئه ورا هیچ گونه ضایعه‌ای در کبد این ماهی مشاهده نشده بود (۴). همچنین در تحقیقاتی که Zodape انجام داده اثر محافظتی عصاره آلوئه‌ورا

اپتلیال پوشش داده شده بودند. هیچ‌گونه واکنش تخریبی یا التهابی نیز مشاهده نشد. لذا آسیب‌های رخ داده شده در برخی نمونه‌های آبشش نیز آسیب جدی محسوب نمی‌شدند. نتایج یافته‌های آسیب‌شناسی در کبد، روده، کلیه و حتی آبشش‌ها سلامت دز انتخاب شده از گیاه دارویی صبرزرد را در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان پرورشی نشان داد.

### تشکر و سپاسگزاری

مجریان این طرح از موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، به جهت تامین ماهی، غذا و امکانات پرورشی توسط آن موسسه محترم قدردانی می‌نمایند. همچنین مراتب سپاسگزاری خود را از آزمایشگاه بافت‌شناسی دانشکده علوم دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات تهران، بالاخص آقای مهندس عابدی در تدارک لام‌های مربوطه اعلام می‌دارند. از آقایان: دکتر عباس توسلی و دکتر آرمان قربانزاده در قرائت لام‌ها تشکر ویژه می‌شود.

### فهرست منابع

- ۱- افضل‌ی، ف.، شریف‌پور، ع.، سلطانی، م.، ابطحی، ب.، (۱۳۸۹): بررسی تغییرات بافتی کبد، کلیه و آبشش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان ناشی از حمام باماده ضد عفونی کننده آکواجرم، فصلنامه علمی تحقیقات منابع طبیعی تجدید شونده، پیش شماره اول: ۷۰-۶۳.
- ۲- پیغان، ر.، مهجور، الف.، (۱۳۸۶): آسیب‌شناسی ماهی (ترجمه) (تالیف روبرتس، آرژ.)، چاپ اول، انتشارات دانشگاه شهید چمران، اهواز، ایران: ۱۸۷-۱۸۴، ۲۲۱-۲۲۹.
- ۳- شاهسونی، د.، فرهودی، م.، موتقی، الف.، کیخا، ف.، (۱۳۸۶): بررسی بالینی و آسیب‌شناسی اثرات فنی توئین سدیم در بافت‌های آبشش، کبد و کلیه در ماهی حوض، نشریه پژوهش و سازندگی در امور دام و آبزیان، ۱۵۵: ۷۴-۱۵۰.
- ۴- علیشاهی، م.، حیدری، ب.، محمدیان، ب.، (۱۳۹۲): اثرات غلظت‌های سمی عصاره خام آلوئه را بر برخی شاخص‌های خونی، ایمنی، و بافت‌های ماهی کپور معمولی

پاتولوژیک جدی محسوب نگردیده و واکنش طبیعی این بافت در برابر عوامل خارجی تحریک کننده می‌باشند (۱،۳،۶،۷،۸ و ۱۴). طی این واکنش رنگ‌دانه‌ها از سلول‌های رنگ‌دانه‌ای آزاد شده و در برابر عامل مزاحم از اندام دفاع می‌کنند، سپس توسط ماکروفاژها بلعیده شده و از بدن دفع می‌شوند (۳ و ۶). در مطالعات آسیب‌شناسی که قبلاً با عصاره خام آلوئه‌ورا و با غلظت‌های مختلف بر روی ماهی کپور صورت گرفته است، اعلام گردید که هیچ‌گونه ضایعه‌ای در کلیه و همچنین کبد و طحال رخ نداده است (۴) و این تقریباً موافق بررسی ما می‌باشد که فقط افزایش مراکز ملانوماکروفاژ در این عضو ثبت گردید. با توجه به تجویز خوراکی عصاره‌ی گیاه صبرزرد و دارونما، ارزیابی آسیب‌شناسی کبد، روده و کلیه، جهت بررسی وضعیت سلامت دز انتخابی انجام پذیرفت ولی بررسی بافت‌شناسی آبشش‌ها ارتباطی با تجویز خوراکی دارو نداشته و صرفاً به عنوان شاخص تعیین وضعیت کیفیت آب بررسی گردید. آبشش‌ها اولین اندامی هستند که پس از قرار گرفتن در معرض هرگونه ماده خارجی تحریک شده و عکس‌العمل دفاعی نشان می‌دهند (۱). ساختمان ظریف آبشش‌ها به روش‌های مختلف به مواد شیمیایی واکنش نشان می‌دهند که به نوع عامل محرک، شدت و مدت زمان مجاورت با آن بستگی دارد (۳). ضایعه آبششی مشاهده شده در این مطالعه شامل هیپرپلازی سلول‌های اپتلیال انتهای لاملاهای اولیه در برخی از نمونه‌ها در هر دو گروه صبرزرد و کنترل مشاهده شد. این سلول‌ها ترشح کننده موکوس بوده و به عنوان یک واکنش دفاعی در پاسخ به شرایط غیر مطلوب یا بهینه نبودن آب بروز می‌نمایند. بروز ضایعات آبششی فوق ارتباطی با تأثیر مواد دارویی مورد استفاده در مطالعه نداشته و در مطالعات قبلی انجام شده با مواد فوق نیز گزارش نشده است (۱۰). در همه نمونه‌های آبشش‌ها لاملاهای ثانویه به شکل منظمی در طرفین لاملاهای اولیه قرار گرفته، عروق مویرگی لاملاها توسط تعداد زیادی سلول‌های پیلاز پشتیبانی گردیده و لاملاهای اولیه و ثانویه توسط سلول‌های

- radiation-induced skin toxicity. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 36(2):345-349.
- 14- Zodape, G.V. (2010): Effect of Aloe Vera juice on toxicity induced by metal (chromium) in Labeorohita. *J. Appl. Sci. Res.* 6(11):1788-1793.
- (*cyprinus carpio*). مجله شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد آزاد شهر، ۷(۷):۸۴-۷۳.
- ۵- مصباح، م، علیشاهی، م، صابری افشار، ف، محمدیان، ب، (۱۳۹۲): بررسی هیستوپاتولوژیک اثر عصاره گیاه آلوئه ورا در ترمیم زخم ماهی کپور معمولی، مجله دامپزشکی ایران، ۷(۹): ۱۱۲-۱۰۵.
- 6- Ayaz, Z., Ekmekci, G., Ozmen, M., Yerli, S.V. (2007): Histopathological changes in the livers and kidneys of fish in Sariyar Reservoir. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 23(2):242-249.
- 7- Aly, S., Abd-Allah, O., Mahmood, A., Gafer, H. (2011): Efficiency of levamisole in improving the immune response of cat fish to *Aeromonas hydro philavaccine*: clinic pathological studies. *Mediterr. Aquac. J.* 4(1):18-26.
- 8- El-Bouhi, Z.M., EL-Qelsh, M.E. (1993): Evaluation of the antihelmintic efficacy of levamisole and its side effects on *Tilapia nilotica* (*Oreochromis niloticus*). *Zagazig vet. J.* 21(3):497-511.
- 9- Haghghi, M., Sharif Rohani, M., Pourmoghim, H., Toliat, T. (2014): Haemato-immunological indices in Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fry fed with Aloe vera extract supplemented feed. *J. Coast. Lifemed.* 2(5):350-356.
- 10- Heidarieh, M., Mirvaghefi, A.R., Sepahi, A., Sheikhzadeh, N., Shahbazfar, A., Akbari, M. (2013): Effects of dietary aloe vera on growth performance, skin and gastrointestinal morphology in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Turk. J. Fish. Aquat. Sci.* 13(2):367-373.
- 11- Kim, K.H., Hwang, Y.J., Bai, S.C. (1999): Resistance to *Vibrio alginolyticus* in juvenile rockfish (*Sebastes schlegel*) fed diets containing different doses of aloe. *Aquaculture.* 180(1):13-21.
- 12- Raskovic, B., Marko, B., Stankovic, M., Markovic, Z., Poleski, v. (2011): Histological methods in the assessment of different feed effects on liver and intestine of fish. *J. Agric. Sci.* 56(1):87-100.
- 13- Williams, M.S., Burk, M., Loprinzi, C.L. (1996): Phase III double-blind evaluation of an *Aloe vera* gel as a prophylactic agent for

