



تأثیر عصاره گیاه مورخوش *Zhumeria majdae* در جیره غذایی بر شاخص‌های رشد، خون‌شناسی و ایمنی‌شناسی گربه ماهی *Pangasianodon hypophthalmus*

محمد هادی رضایی^۱، ایمان سوری نژاد^{۲*}، سیاوش سلطانیان^۳، مرتضی یوسف زادی^۴

^۱ گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه هرمزگان

^۲ گروه شیلات، دانشکده علوم و فنون اقیانوسی و جوی، دانشگاه هرمزگان

^۳ گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز

^۴ گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم پایه، دانشگاه هرمزگان

تاریخچه مقاله: چکیده

دریافت: ۹۲/۰۸/۰۸
اصلاح: ۹۲/۱۰/۱۹
پذیرش: ۹۲/۱۰/۱۹

با توجه به اثرات محرک‌های ایمنی گیاهی در تقویت سیستم ایمنی و رشد آبزیان، تأثیر عصاره یک گیاه بومی و دارویی استان هرمزگان به نام مورخوش *Zhumeria majdae* بر برخی شاخص‌های رشد و ایمنی غیراختصاصی گربه ماهی پنگوسی *Pangasianodon hypophthalmus* با میانگین وزنی $1/27 \pm 0/24$ بررسی شد. ماهیان با چهار جیره غذایی حاوی ۰، ۱۵۰، ۳۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم غذا از عصاره به ترتیب در تیمارهای کنترل ۱، ۲ و ۳ به مدت ۴۵ روز تغذیه شدند و در پایان دوره، شاخص‌های رشد، خون‌شناسی و ایمنی‌شناسی با استفاده از آزمون دانکن آنالیز شد. اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای مختلف از نظر فاکتورهای رشد ضریب رشد ویژه، کارایی غذا و شاخص رشد روزانه در روز پانزدهم، سی‌ام و چهل و پنجم دوره مشاهده نشد. میزان بازماندگی در تیمارهای حاوی عصاره ۱۰۰ درصد بود. بیشترین میزان هماتوکریت در تیمار سوم ($46/67 \pm 7/64$)، بیشترین تعداد گلبول قرمز ($3/10 \pm 0/6 \times 10^6$) و سفید ($7/40 \pm 0/3 \times 10^3$) و همچنین بیشترین مقدار پروتئین کل و آلبومین در تیمار کنترل، بیشترین میزان هموگلوبین، MCV و MCH در تیمار اول و بیشترین فعالیت NBT و میزان MCHC در تیمار دوم به دست آمد. در شمارش تفریقی گلبول‌های سفید خون، بالاترین درصد نوتروفیل در تیمار کنترل، بالاترین درصد لنفوسیت در تیمار اول و بالاترین درصد منوسیت در تیمار سوم مشاهده گردید. بیشترین میزان لیوزیم خون در تیمارهای به ترتیب سوم و کنترل و کمترین میزان در تیمار دوم محاسبه شد ($P < 0/05$).

کلمات کلیدی:

عصاره
مورخوش
خون‌شناسی

مقدمه

ماهیان معمولاً در فضاهای بسته مانند استخرها، مخازن و قفس‌ها مورد پرورش قرار گرفته و همواره تلاش می‌شود تا مقدار تولید در واحد حجم یا واحد سطح افزایش یابد. از طرفی افزایش تراکم با ایجاد شرایط تنش به خصوص کاهش اکسیژن، افزایش مواد دفعی و... از نظر فیزیولوژی ماهیان را ضعیف نموده و احتمال مواجه شدن آن‌ها را با عوامل بیماری‌زا افزایش داده که در نهایت منجر به ایجاد شرایط مخاطره‌آمیز برای سلامت ماهیان خواهد شد (Sakai, 1998). از عمده‌ترین مخاطراتی که

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: sourinejad@hormozgan.ac.ir

پرورش دهندگان ماهی با آن مواجه هستند، کاهش میزان زنده مانی خصوصاً در مراحل اولیه زندگی می‌باشد. لذا تقویت و ارتقای سیستم ایمنی و دفاعی بدن ماهیان به ویژه در گونه‌های با ارزش و اقتصادی از اصلی ترین نیازهای پرورش دهندگان می‌باشد. ثابت شده است که فاکتورهایی از قبیل صفات ژنتیکی، فصل، درجه حرارت، آلودگی، دستکاری و استرس تراکم، ترکیب جیره و افزودنی‌های غذایی نظیر محرک‌های ایمنی و پروبیوتیک‌ها و نیز تاثیرات بیماری و واکسیناسیون می‌توانند روی سیستم ایمنی غیراختصاصی یا ذاتی تاثیرگذار باشند (Magnadottir, 2006).

تجویزهای دارویی متعددی برای درمان آلودگی‌های مختلف ماهیان خصوصاً آلودگی‌های باکتریایی وجود دارد که از جمله مهمترین آنها می‌توان به استفاده از آنتی بیوتیک‌ها اشاره نمود. با این حال، مواجهه با موضوع مقاومت باکتری‌ها در مقابل آنتی بیوتیک‌ها و توسعه گونه‌های باکتری مقاوم درآینده، تجمع و باقی ماندن مواد آنتی بیوتیکی در بدن ماهیان پرورشی و همچنین اثرات آلاینده‌های این داروها بر محیط زیست و عدم تاثیر آنتی بیوتیک‌ها در درمان بیماری‌های ویروسی از مهمترین مشکلات استفاده از آنتی بیوتیک‌ها قلمداد می‌شود (Aoki, 1992). در خصوص واکسیناسیون نیز اگرچه واکسینه کردن ماهیان یکی از موثرترین روش‌های کنترل بیماری‌های عفونی ماهی است، اما هنوز واکسن‌های تجاری با کارایی مناسب علیه برخی از بیماری‌های مهم ویروسی، باکتریایی و یا انگلی تولید نشده‌اند (Ardo et al., 2008).

امروزه یکی از روشهای موثر در پیشگیری و کنترل این گونه بیماری‌ها و آلودگی‌ها استفاده از انواع محرک‌های ایمنی می‌باشد. اغلب محرک‌های ایمنی مورد استفاده در آبزیان فاقد هر گونه اثرات منفی موجود در داروهای ضد باکتریایی و واکسن‌ها بر محیط زیست هستند و چون اکثراً جزو ترکیبات طبیعی محسوب می‌شوند، باقیمانده‌های دارویی نامطلوب ایجاد نمی‌کنند (Dugenci et al., 2003). محرک‌های ایمنی قادر به افزایش قدرت دفاعی و خنثی کردن فعالیت پاتوژن‌های فرصت طلب بوده و از این رو باعث بهبود رشد و کاهش مرگ و میر در سرتاسر دوره تولید در آبزیان می‌شوند و بنابراین به صورت گسترده در مزارع به منظور مدیریت سلامت مورد استفاده قرار می‌گیرند (Raa, 2000). اخیراً در آبی پروری استفاده از ترکیبات گیاهی به عنوان محرک‌های ایمنی جهت تقویت سیستم ایمنی غیراختصاصی ماهیان پرورشی رایج شده است (Rao et al., 2006). برخی گیاهان منبعی غنی از تانن‌ها، پلی ساکاریدها، آلکالوئیدها، فلاوونوئیدها، ساپونین‌ها و پلی پپتیدها هستند که نقش‌های مختلفی از جمله داشتن اثرات ضد میکروبی و تقویت سیستم ایمنی ماهیان برای آنها مشخص شده است. با مروری بر مطالعات انجام شده در این زمینه به نظر می‌رسد استفاده از گیاهان دارویی به عنوان محرک‌های ایمنی جایگزین مناسبی برای آنتی بیوتیک‌ها، واکسن‌ها و ترکیبات سنتزی باشند (Ardo et al., 2008; Rao et al., 2006).

گره ماهی آسیایی گونه‌ای از خانواده گره ماهیان با نام علمی *Pangasianodon hypophthalmus*، از راسته *Siluriformes* و خانواده *Pangasiidae* (www.fishbase.org) می‌باشد (شکل ۱). این گونه در کشور ما به عنوان ماهی زینتی و در بسیاری از کشورها از جمله کشورهای جنوب شرقی آسیا به عنوان غذا مطرح بوده و دارای ارزش خوراکی با بازار پسندی بسیار بالا می‌باشد. گره ماهی پنگوسی نقش مهمی را در آبی پروری آسیا و صید تجاری ایفا می‌کند و در کشورهای جنوب شرقی آسیا بخش زیادی از تولیدات آبی پروری را به خود اختصاص می‌دهد. گونه گره ماهی پنگوسی گونه آب شیرین بوده و به طور معمول جزو ماهیان سایز بزرگ حاره ای است که به بالادست رودخانه برای یافتن مکان تخم ریزی مهاجرت سالیانه انجام می‌دهد و در دشتهای سیلابی نیز تغذیه می‌نماید (So et al., 2006). بر اساس بررسی‌هایی که از کارگاه‌های پرورش ماهیان زینتی به عمل آمده است، یکی از مشکلاتی که پرورش دهندگان این ماهی زینتی با آن مواجه هستند تلفات زیاد آن خصوصاً در مراحل لاروری و بچه ماهی می‌باشد که به نظر می‌رسد به دلیل ضعف در سیستم ایمنی این گونه در سیستم تکثیر و پرورش مصنوعی باشد.



شکل ۱. گره ماهی پنگوسی *Pangasianodon hypophthalmus*

گیاه مورخوش با نام علمی *Zhumeria majdae* از خانواده نعنائیان یک گونه منحصر به فرد در ایران است که تنها در مناطق جغرافیایی محدودی در جنوب ایران از جمله استان هرمزگان یافت می‌شود و انحصاری این استان است. این گیاه تنها گونه موجود در ایران از جنس *Zhumeria* است. برگ‌های این گیاه سال‌های زیادی به عنوان دارو توسط مردم محلی جنوب کشور برای تسکین دردهای معده و به عنوان داروی ضد عفونی‌کننده استفاده می‌شده است. با توجه به مطالعات انجام شده نوع و مقدار ترکیبات موجود در اسانس برگ مورخوش با بقیه گیاهان متعلق به تیره نعناع متفاوت بوده به طوری که دو مونوترپن لینالول و کامفور بیش از ۷۵ درصد حجم اسانس را تشکیل می‌دهند. بوی خوش و تند گیاه مورخوش احتمالاً مرتبط با حضور موادی مانند لیمونن، کامفور و لینالول و خاصیت ضد نفخ آن به علت وجود لینالول است و کامفور نیز ترکیبی آنتی‌سپتیک و مقوی قلب است. همچنین گیاه مورخوش دارای اثرات ضد میکروبی و ضد عفونی‌کننده می‌باشد که به دلیل وجود کامفور و لینالول است (Majroohi, 2008). خاصیت ضد درد و ضد عفونی‌کنندگی عصاره الکلی این گیاه نیز در موش گزارش شده است (Hosseinzadeh et al., 2002). در مطالعاتی که توسط Arman و همکاران (۲۰۰۹) بر روی این گیاه انجام گردید، فعالیت ضد میکروبی عصاره این گیاه بر روی ۷ نوع باکتری گرم مثبت و گرم منفی شامل *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Bacillus subtilis* و *Enterococcus faecalis* و همچنین ۳ نوع قارچ *Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisiae* و *Aspergillus niger* بررسی شد. نتایج به دست آمده طبق روش انتشار دیسکی و MIC حاکی از آن بود که عصاره این گیاه دارای یک اثر قوی بر باکتری‌های گرم مثبت و دارای اثر ملایم تری بر باکتری‌های گرم منفی به جهت کنترل فعالیت ضد میکروبی آن‌ها می‌باشد. تاکنون گزارشی در مورد استفاده از این گیاه به عنوان محرک سیستم ایمنی در آبزیان ارائه نشده است. با توجه به اهمیت دارویی این گیاه در استان هرمزگان و تایید فعالیت ضد میکروبی عصاره آن، در تحقیق حاضر استفاده از عصاره این گیاه برای نخستین بار به عنوان محرک سیستم ایمنی در آبزیان در ماهی گونه *Pangasianodon hypophthalmus* مورد بررسی قرار می‌گیرد.

مواد و روش‌ها

آماده سازی سالن تکثیر

تحقیق حاضر در یکی از سالن‌های تکثیر و پرورش ماهیان زینتی شهرستان شیراز و با خرید ۸۰۰ قطعه بچه ماهی پنگوسی از کشور تایلند آغاز شد. بچه ماهی‌های پنگوسی دوره سازش پذیری را به مدت ۱۴ روز در دمای $25 \pm 0.21/30$ درجه سانتیگراد و اکسیژن محلول برابر با $77 \pm 0.94/6$ ppm و pH برابر با $11 \pm 0.05/8$ گذراندند. طی دوره سازش پذیری بچه ماهیان روزی یک وعده با غذای تجاری cp که خاص گربه ماهیان است تغذیه شدند. پس از پایان دوره سازش پذیری، بچه ماهی‌های پنگوسی با میانگین وزنی $24 \pm 0.27/1$ گرم و میانگین طولی $45 \pm 0.5/5$ سانتی‌متر شمارش شده و با تراکم ۳۷ قطعه به ازای هر تانک، به آکواریوم‌های پرورش منتقل شدند. تیمارهای مورد استفاده در تحقیق حاضر شامل چهار جیره غذایی با سطوح مختلف از عصاره گیاه مورد آزمایش بودند که با سه تکرار برای هر تیمار در طی یک دوره ۴۵ روزه در ۱۲ عدد آکواریوم ۱۵۰ لیتری به شرح جدول ۱ مورد استفاده قرار گرفتند.

جدول ۱. تعداد تیمارها و سطوح مختلف عصاره گیاه مورخوش در جیره گربه ماهی پنگوسی در تحقیق حاضر

شماره تیمار	تیمار
۱ (شاهد)	غذای کنسانتره cp به عنوان تیمار شاهد
۲ (Z1)	غذای کنسانتره cp + ۱۵۰ میلی گرم عصاره گیاه مورخوش به ازای هر کیلوگرم جیره غذایی
۳ (Z2)	غذای کنسانتره cp + ۳۰۰ میلی گرم عصاره گیاه مورخوش به ازای هر کیلوگرم جیره غذایی
۴ (Z3)	غذای کنسانتره cp + ۶۰۰ میلی گرم عصاره گیاه مورخوش به ازای هر کیلوگرم جیره غذایی

عصاره گیری، تهیه جیره و غذادهی به ماهیان

به منظور عصاره گیری از گیاه مورخوش، ابتدا جمع آوری این گیاه از منطقه خیرآباد بندرعباس انجام شده و سپس این گیاهان در شرایط کنترل شده خشک شدند. در مرحله بعد قسمت‌های مورد نیاز شامل ساقه و برگ گیاهان توسط آسیاب پودر شده و به مدت ۴۸ ساعت در متانول ۷۰٪ قرار گرفتند (Citarasu *et al.*, 2006). سپس محلول حاصل از کاغذ صافی عبور و الکل آن توسط دستگاه روتاری در دمای ۴۰ درجه سانتیگراد جداسازی شد. عصاره حاصل توسط دستگاه فریزدرایر به صورت پودر درآمده و در دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری شد (Arabshahi-Delouee and Urooj, 2007). ابتدا یک کیلوگرم غذای کنسانتره cp، ویژه گربه ماهیان (ساخت کشور تایلند) توزین گردید. پس از محاسبه میزان عصاره گیاهی مورد نیاز برای هر تیمار، مقدار عصاره محاسبه شده در آب حل شده و با غذا مخلوط گردید. سپس مخلوط به هم زده شد تا به صورت همگن درآید و سپس در مجاورت جریان هوای ملایم که توسط فن ایجاد گردیده بود خشک شد. جیره تهیه شده تا زمان استفاده در فریزر در دمای ۳۰- نگهداری گردید. آنالیز تقریبی غذای ساخته شده در جدول ۲ آمده است. آنالیز جیره غذایی در آزمایشگاه دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز صورت گرفت.

جدول ۲. آنالیز تقریبی غذای ساخته شده برای بچه ماهی پنگوسی در تیمارهای تحقیق و گروه کنترل

پروتئین (%)	چربی (%)	خاکستر (%)	ماده خشک (%)
۳۰/۴۷	۴	۱۰/۶۶	۹۱/۴

مقدار غذای روزانه با توجه به درصد وزن بدن (توده زنده) محاسبه شده و در دو نوبت صبح و عصر، به میزان ۷٪ وزن بدن (در حد سیری) در اختیار بچه ماهیان قرار گرفت. دوره نوری جهت پرورش بچه ماهیان، به صورت ۶ ساعت تاریکی و ۱۸ ساعت روشنایی اجرا شد. عمل سیفون کردن به صورت یک روز در میان انجام شده و باقیمانده غذایی و مدفوع ماهی ها از مخازن خارج می گردید. همچنین تلفات بچه ماهیان در آکواریوم ها به صورت روزانه ثبت می شد. شاخص‌های کیفی آب شامل اکسیژن، دما، مواد جامد محلول و pH در طول دوره‌ی ۴۵ روزه‌ی آزمایش و به صورت هر ۳ روز یک بار سنجیده شد. میانگین شاخص‌های کیفی آب در جدول ۳ ارائه شده است.

جدول ۳. میانگین شاخص‌های کیفی آب در طول دوره‌ی ۴۵ روزه‌ی تحقیق

اکسیژن محلول (ppm)	دما (°C)	pH	مواد جامد محلول (mg/l)
۶/۹۴±۰/۷۷	۳۰/۲۱±۰/۲۵	۸/۰۵±۰/۱۱	۳۸۵/۷۴±۲۶/۰۳

زیست سنجی و بررسی شاخص‌های رشد و درصد بازماندگی بچه ماهی‌ها

جهت بررسی اثر عصاره مصرفی در غذای بچه ماهیان پنگوسی بر رشد آن‌ها، اندازه گیری وزن با ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۱ گرم و اندازه‌گیری طول با کولیس با دقت ۰/۰۲ میلی متر انجام شد. شاخص‌های رشد ماهیان شامل کارایی غذا (^۱FER)، شاخص رشد روزانه (^۲DGI) و ضریب رشد ویژه (^۳SGR) در روزهای ۱۵، ۳۰ و ۴۵ دوره تحقیق و همچنین درصد بازماندگی (^۴SP) در پایان دوره از طریق فرمول زیر مورد محاسبه قرار گرفتند (Whittington *et al.*, 2005).

$$^{-1}(\text{وزن خشک غذای مصرفی}) \times \text{وزن اولیه} - \text{وزن ثانویه} = \text{کارایی غذا}$$

¹ Feed Efficiency Ratio² Daily Growth Index³ Specific Growth Rate⁴ Survival Percentage

$$\begin{aligned} &^{-1} (\text{تعداد روزها}) \times \text{وزن اولیه} - \text{وزن نهایی} = \text{شاخص رشد روزانه} \\ &100 \times (\text{تعداد روزها})^{-1} \times [\text{Ln} (\text{وزن اولیه (میلی گرم)}) - \text{Ln} (\text{وزن نهایی (میلی گرم)})] = \text{ضریب رشد ویژه} \\ &100 \times (\text{تعداد لاروهای اولیه}) \times (\text{تعداد لاروهای ثانویه}) = \text{درصد بازماندگی} \end{aligned}$$

بررسی شاخص‌های خونی و ایمنی بچه ماهیان

جهت بررسی شاخص‌های خونی و ایمنی بچه ماهیان، در پایان دوره پرورش از طریق قطع ساقه دمی از ماهیان خونگیری گردید. بدین منظور تعداد ۵ قطعه ماهی از هر تکرار به صورت تصادفی صید شده و پس از بیهوشی با استفاده از عصاره گل میخک با غلظت ۲۵۰ ppm نسبت به خونگیری از ماهیان اقدام شد. برای اندازه‌گیری شاخص‌های MCV (nm³)، MCH و MCHC (μg/cell) از روابط ذیل استفاده شد:

$$\text{MCHC} = \text{Hb} \times 10 / \text{Hct}$$

$$\text{MCV} = \text{Hct} \times 10 / \text{RBC} (\text{million})$$

$$\text{MCH} = \text{Hb} \times 10 / \text{RBC} (\text{million})$$

میزان درصد هماتوکریت خون بچه ماهیان در آخر دوره اندازه‌گیری شد. برای این منظور پس از قطع ساقه دمی، از ماهی‌ها خونگیری شده و تعیین میزان هماتوکریت خون توسط سانتریفیوژ در دور ۳۰۰۰g به مدت ۵ دقیقه انجام گرفت. برای اندازه‌گیری هموگلوبین (g/dL) از روش سیان مت هموگلوبین استفاده شد که بدین منظور با استفاده از دستگاه نیمه اتوماتیک اسپکتروفوتومتر، OD محلول اندازه‌گیری و با مقایسه با منحنی استاندارد، مقدار هموگلوبین در طول موج ۵۴۰ نانومتر تعیین گردید. به منظور شمارش تعداد گلبول‌های قرمز و سفید خون، مقداری هیپارین را جهت جلوگیری از انعقاد خون درون میکروتیوپ ریخته و به همان میزان خون ماهی به آن اضافه شد. سپس نمونه‌ها در کنار یخ به آزمایشگاه منتقل شده و به مدت ۱۵-۱۰ دقیقه در محلول رنگ اتوزین قرار گرفته و توسط لام نئوبار شمارش گلبول‌ها انجام شد. شمارش افتراقی گلبول‌های سفید نیز از روی لام رنگ شده با گیمسا انجام گرفت. تست NBT به عنوان شاخصی برای بررسی فرآیند فاگوسیتوز در سلول‌های خونی است. این تست یکی از آزمون‌های مفید در بررسی اختلالات عملکردی نوتروفیل‌ها است، به این صورت که با اندازه‌گیری آن قبل و بعد از انجام آزمایش و مقایسه آن با یکدیگر می‌توان مشاهده کرد که فرآیند فاگوسیتوزی در سلول‌های خونی افزایش یا کاهش داشته است. عملکرد این تست به این صورت است که سلول‌هایی که فرآیند فاگوسیتوز در خون انجام می‌دهند را به رنگ آبی در می‌آورد در حالیکه بقیه سلول‌ها بی‌رنگ می‌مانند و با شمارش افتراقی آن‌ها می‌توان میزان آن را به دست آورد. تولید اکسیژن در فرآیند فاگوسیتوزی خون به وسیله تست NBT، با دستگاه اسپکتروفوتومتر اندازه‌گیری شد (Wijendra and Pathiratne, 2007). فعالیت لیزوزیم نیز طبق روش Yan و همکاران (۲۰۰۱) و از طریق نورسنجی اندازه‌گیری گردید.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از روش آنالیز واریانس یک طرفه (One-Way ANOVA) انجام شد. ابتدا نرمال بودن داده‌ها با آزمون کولموگوروف اسمیرنوف و همگنی واریانس‌ها به وسیله آزمون Leven تست گردید. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون آماری دانکن در سطح ۵ درصد استفاده شد. از نرم افزار SPSS (Version 16) برای آنالیز آماری و از Excel برای رسم نمودارها استفاده گردید.

نتایج

فاکتورهای رشد ماهیان

نتایج سنجش فاکتورهای رشد ماهیان شامل ضریب رشد ویژه SGR، کارایی غذا FER و شاخص رشد روزانه DGI در روزهای ۱۵، ۳۰ و ۴۵ دوره تحقیق در جدول ۴ ارائه شده است. بر اساس آنالیز آماری اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای مختلف حاوی

عصاره مورخوش از نظر فاکتورهای رشد سنجیده شده در روز پانزدهم، سی ام و چهل و پنجم دوره تحقیق مشاهده نمی شود ($P > 0.05$).

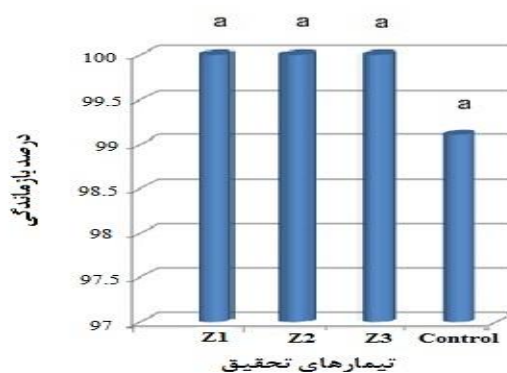
جدول ۴. میانگین شاخص های رشد بچه ماهی پنگوسی در تیمارهای مختلف عصاره مورخوش در طول دوره تحقیق

روز	تیمار	فاکتورهای رشد		
		وزن تر (گرم)	طول کل (cm)	SGR
روز پانزدهم	Z1	2/02 ± 0/12 ^a	6/47 ± 0/16 ^a	4/68 ± 0/38 ^a
	Z2	2/11 ± 0/23 ^a	6/59 ± 0/24 ^a	4/69 ± 0/69 ^a
	Z3	2/08 ± 0/27 ^a	6/55 ± 0/27 ^a	4/85 ± 0/86 ^a
روز سی ام	شاهد	2/07 ± 0/18 ^a	6/42 ± 0/15 ^a	4/82 ± 0/56 ^a
	Z1	6/41 ± 0/55 ^a	9/34 ± 0/21 ^a	6/19 ± 0/29 ^a
	Z2	6/60 ± 0/68 ^a	9/54 ± 0/37 ^a	6/28 ± 0/33 ^a
روز چهل و پنجم	Z3	6/43 ± 0/30 ^a	9/36 ± 0/17 ^a	6/20 ± 0/16 ^a
	شاهد	6/57 ± 0/54 ^a	9/40 ± 0/15 ^a	6/27 ± 0/27 ^a
	Z1	8/92 ± 0/43 ^a	10/27 ± 0/18 ^a	4/86 ± 0/11 ^a
روز چهل و پنجم	Z2	9/12 ± 0/51 ^a	10/47 ± 0/25 ^a	4/90 ± 0/13 ^a
	Z3	9/54 ± 1/39 ^a	10/56 ± 0/59 ^a	4/50 ± 0/32 ^a
	شاهد	9/41 ± 1/45 ^a	10/57 ± 0/47 ^a	4/97 ± 0/33 ^a

حروف مشابه در جدول نشان دهنده عدم تفاوت معنی دار آماری می باشد ($P > 0.05$).

درصد بازماندگی

بر اساس نتایج به دست آمده، بچه ماهیانی که از عصاره گیاه مورخوش در جیره غذایی آنها استفاده شده بود بازماندگی ۱۰۰ درصد نشان دادند که در مقایسه با گروه کنترل بیانگر درصد بالاتری از بازماندگی بود هر چند تفاوت محاسبه شده از نظر آماری معنی دار نبود (شکل ۲) ($P > 0.05$).



شکل ۲. میانگین درصد بازماندگی بچه ماهی پنگوسی در تیمارهای مختلف عصاره مورخوش در پایان دوره تحقیق، حروف مشابه در جدول نشان دهنده عدم تفاوت معنی دار آماری می باشد ($P > 0.05$).

شاخص های خون شناسی و ایمنی شناسی ماهیان

میزان هماتوکریت، میانگین تعداد گلبول قرمز و سفید، میزان هموگلوبین، میزان پروتئین کل، میزان آلبومین، میزان لیزوزیم و فعالیت NBT در پایان دوره در جدول ۵ ارائه شده است. بر اساس نتایج به دست آمده، میزان لیزوزیم در تیمارهای مختلف متفاوت بود به طوریکه بیشترین مقدار لیزوزیم مربوط به تیمار Z3 و کنترل و کمترین مقدار لیزوزیم مربوط به تیمار Z2 می باشد ($P < 0.05$). همانگونه که از داده‌های جدول ۵ مشخص می شود بیشترین میزان هماتوکریت در تیمار سوم (تغذیه شده

با ۶۰۰ میلی گرم عصاره گیاهی به ازای هر کیلوگرم جیره غذایی)، بیشترین تعداد گلبول قرمز و سفید و همچنین بیشترین مقدار پروتئین کل و آلبومین در تیمار کنترل، بیشترین میزان هموگلوبین در تیمار اول (تغذیه شده با ۱۵۰ میلی گرم عصاره گیاهی به ازای هر کیلوگرم جیره غذایی) و بیشترین فعالیت NBT در تیمار دوم (تغذیه شده با ۳۰۰ میلی گرم عصاره گیاهی به ازای هر کیلوگرم جیره غذایی) به دست آمده است.

جدول ۵. میانگین شاخص های خونی بچه ماهی پنگوسی در تیمار مورخوش در پایان دوره ۴۵ روزه ی تحقیق

شاخص	تیمار	Control	Z1	Z2	Z3
هماتوکریت (درصد)		۴۵/۳۳±۴/۱۶ ^a	۴۳/۶۷±۵/۵۱ ^a	۴۴/۶۷±۳/۰۵ ^a	۴۶/۶۷±۷/۶۴ ^a
تعداد گلبول قرمز (cell/ml) (×۱۰ ^۶)		۳/۱۰±۰/۶ ^a	۲/۴۸±۰/۶ ^a	۲/۳۷±۰/۶ ^a	۲/۳۴±۰/۶ ^a
تعداد گلبول سفید (cell/ml) (×۱۰ ^۳)		۷/۴۰±۰/۳ ^a	۷/۳۳±۰/۳ ^a	۶/۳۰±۰/۳ ^a	۷/۲۷±۰/۳ ^a
میزان هموگلوبین (g/dl)		۱۰/۷۵±۰/۰۷ ^a	۱۱/۵۰±۰/۸۵ ^a	۱۱/۰۶±۰/۷۶ ^a	۱۱/۲۰±۰/۲۰ ^a
میزان پروتئین کل (µg/ml)		۳/۰۲±۰/۴۱ ^a	۳/۰۰±۰/۱۴ ^a	۲/۹۲±۰/۰۷ ^a	۲/۷۳±۰/۱۱ ^a
میزان آلبومین (µg/ml)		۰/۹۴±۰/۲۴ ^a	۰/۹۳±۰/۱۴ ^a	۰/۸۶±۰/۰۳ ^a	۰/۸۰±۰/۰۵ ^a
میزان لیزوزیم (µg/ml)		۰/۰۴۲±۰/۰۰۶ ^a	۰/۰۳۵±۰/۰۰۳ ^b	۰/۰۲۵±۰/۰۰۳ ^c	۰/۰۵۰±۰/۰۰۱ ^a
فعالیت NBT		۰/۹۶±۰/۸۲ ^a	۰/۸۹±۱/۱۰ ^a	۱/۳۶±۱/۰۴ ^a	۰/۳۹±۰/۳۳ ^a

حروف مشابه در جدول نشان دهنده عدم تفاوت معنی دار می باشد (P> ۰/۰۵).

نتایج شمارش افتراقی گلبول های سفید شامل درصد نوتروفیل، لنفوسیت و منوسیت در تیمارهای مورخوش در جدول ۶ ارائه شده است. با توجه به داده های جدول ۶، بالاترین درصد نوتروفیل در تیمار کنترل، بالاترین درصد لنفوسیت در تیمار اول و بالاترین درصد منوسیت در تیمار سوم مشاهده گردید هرچند این تفاوتها معنی دار نبود (P> ۰/۰۵).

جدول ۶. نتایج شمارش افتراقی گلبول های سفید گربه ماهی پنگوسی در پایان دوره در تیمارهای مختلف

شاخص	تیمار	Control	Z1	Z2	Z3
درصد نوتروفیل		۳۲/۶۷±۳/۵۱ ^a	۲۳/۰۰±۳/۶۰ ^a	۲۷/۰۰±۲/۰۰ ^a	۲۳/۶۷±۵/۵۰ ^a
درصد لنفوسیت		۶۶/۳۳±۲/۵۲ ^a	۷۶/۶۷±۳/۰۵ ^a	۷۲/۳۳±۱/۱۵ ^a	۷۴/۶۷±۵/۷۷ ^a
درصد منوسیت		۱/۰۰±۰/۱۰ ^a	۰/۵۸±۰/۳۳ ^a	۱/۰۰±۰/۱۰ ^a	۱/۶۷±۰/۵۸ ^a

حروف مشابه در جدول نشان دهنده عدم تفاوت معنی دار می باشد (P> ۰/۰۵).

نتایج سنجش میزان MCV، MCHC، MCH در پایان دوره ۴۵ روزه در جدول ۷ ارائه شده است. بر اساس نتایج به دست آمده تفاوت معنی داری از این لحاظ بین سطوح مختلف عصاره مورخوش در جیره مشاهده نمی شود (P> ۰/۰۵) هرچند میزان MCV و MCH در تیمار اول و میزان MCHC در تیمار دوم بیشتر بود.

جدول ۷. مقادیر شاخص های MCV، MCHC، MCH در تیمارهای مورخوش در پایان دوره ۴۵ روزه

شاخص خونی	Control	Z1	Z2	Z3
MCV (nm ³)	۱۴۷/۵۵±۱۲/۶۶ ^a	۱۶۱±۵/۰۹ ^a	۱۴۶/۳۷±۶/۴۴ ^a	۱۵۳/۲±۸/۹۲ ^a
MCHC (g/dl)	۳۰/۷۵±۲/۷۶ ^a	۳۱/۶۷±۴/۳۱ ^a	۳۱/۹۷±۱/۹۵ ^a	۳۱/۴±۱/۸۱ ^a
MCH (µg/cell)	۴۴/۸±۰/۴۲ ^a	۵۱/۰۵±۸/۵۵ ^a	۴۶/۷±۱/۰۸ ^a	۴۸±۰/۰۱ ^a

حروف مشابه در جدول نشان دهنده عدم تفاوت معنی دار می باشد (P> ۰/۰۵).

بحث

تأثیر تجویز عصاره های گیاهی بر گونه های مختلف آبی به صورت تزریق درون صفاقی، حمام و یا خوراکی توسط محققین متعددی در سطح جهان مورد بررسی قرار گرفته است. در این تحقیق نیز تأثیر دریافت خوراکی عصاره گیاه بومی مورخوش بر شاخص های رشد و بازماندگی، خون شناسی و تقویت سیستم ایمنی بچه ماهی پنگوسی *Pangasianodon hypophthalmus* مورد بررسی قرار گرفت. در مقایسه نتایج تحقیق حاضر با سایر مطالعات، Fall و Ndong (۲۰۰۱) بیان نمودند مقادیر مختلف سیر در جیره غذایی تأثیری بر افزایش رشد بچه ماهیان هیبرید تیلاپیا با میانگین وزن حدود ۲۵ گرم ندارد و حتی در سطح ۰/۵ گرم در کیلوگرم غذا باعث کاهش ۲۰ درصدی رشد بعد از گذشت ۲ تا ۴ هفته می شود. نتایج تحقیق دیگری که توسط Prasad و Priyanka (۲۰۱۱) بر روی عصاره میوه *Garcinia gummi-gutta* با سطوح ۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۲۰۰۰ و ۳۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم جیره در گربه ماهی پنگوسی گونه *Pangasianodon hypophthalmus* منتشر شد، کاهش وزن و کاهش نرخ رشد ویژه را نشان داد. دلیل این کاهش وزن و نرخ رشد ویژه به ترکیبات موجود در عصاره این میوه از جمله هیدروکسی سیتریک اسید (hydroxy citric acid) نسبت داده شد. از جمله اثرات این اسید کاهش سنتز اسیدهای چرب، کاهش لیپوژنز، کاهش دریافت غذا و بنابراین افزایش گلیکوژن و کاهش وزن می باشد.

در تحقیقی که توسط Dada و Ikuerowo (۲۰۰۹) انجام شد، تأثیر عصاره الکلی گیاه *Garcinia kola* بر رشد مولدین گربه ماهی آفریقایی *Clarias gariepinus* با دامنه وزنی ۲۵۰-۲۴۵/۲ گرم مورد بررسی قرار گرفت. برای این منظور عصاره این گیاه با غلظت های ۰، ۰/۲۵، ۰/۵، ۱ و ۲ گرم عصاره در هر کیلوگرم جیره به ماهیان به مدت ۵۶ روز خوراندند و برخلاف نتایج فعلی، در پایان مشخص شد که بیماری که از جیره حاوی ۱ گرم عصاره در هر کیلوگرم جیره تغذیه شده بودند تفاوت معنی داری را نسبت به دیگر تیمارها نشان داده است. در سال ۲۰۰۷، Seung-cheol و همکاران اثر ترکیب پودر چند گیاه دارویی در جیره غذایی ماهی فلاندر ژاپنی *Japanese flounder* و تأثیر آن بر رشد این ماهی را بررسی نمودند. در این تحقیق پودر گیاهان دارویی *Crataegi fructus*، *Artemisia capillaries*، *Massa medicata fermentata* و *Cnidium officinale* با هم ترکیب شده و با غلظت های ۰/۱، ۰/۳، ۰/۵ و ۱ گرم در ۱۰۰ گرم جیره غذایی به ماهیان انگشت قد به مدت ۸ هفته خوراندند. ماهیانی که با جیره حاوی ۰/۳، ۰/۵ و ۱ گرم در ۱۰۰ گرم جیره تغذیه شده بودند افزایش وزن بیشتری را نسبت به تیمار شاهد و تیماری که با جیره حاوی ۰/۱ گرم پودر گیاهی در ۱۰۰ گرم جیره تغذیه شده بود نشان دادند. آزمایش مشابهی توسط دانشمندان فوق در سال ۲۰۰۷ در ماهی *Red seabream* (*Pagrus major*) با میانگین وزنی 24 ± 0.2 گرم به مدت ۱۲ هفته صورت گرفت که در پایان تحقیق ماهیان تغذیه شده با جیره دارای غلظت ۰/۵ گرم پودر ترکیبی گیاهان در ۱۰۰ گرم جیره غذایی نرخ رشد ویژه بهتری را نسبت به تیمار کنترل نشان دادند. با توجه به عدم تأثیر معنی دار عصاره گیاه مورخوش بر شاخص های رشد گربه ماهی پنگوسی در تحقیق حاضر دلایل این مساله می تواند بهینه نبودن دوز عصاره مورد استفاده در جیره و یا ماهیت ترکیبات شیمیایی موجود در عصاره باشد که باعث عدم تأثیر بر شاخص های رشد ماهی و یا کاهش دریافت غذا توسط ماهیان شده است. بررسی دقیق ترکیبات موجود در عصاره این گیاه و تعیین دوز بهینه برای مطالعات آینده در این زمینه پیشنهاد می گردد.

در خصوص میزان بازماندگی، بچه ماهیانی که از عصاره گیاه مورخوش در جیره غذایی آنها استفاده شده بود بازماندگی ۱۰۰ درصد را نشان دادند که در مقایسه با گروه کنترل بیانگر درصد بالاتری از بازماندگی بود هر چند تفاوت آماری معنی داری بین تیمارها مشاهده نگردید ($P > 0.05$). موافق نتایج این تحقیق، در مطالعه انجام شده توسط Prasad و Priyanka (۲۰۱۱) در بررسی تأثیر عصاره میوه *Garcinia gummi-gutta* بر بازماندگی گربه ماهی *Pangasianodon hypophthalmus* با وزن ۱۷/۵ تا ۳۰/۵ گرم نیز تفاوت آماری معنی داری بین تیمارهای اصلی و کنترل مشاهده نگردید. نتایج تحقیق موید آن بود که علیرغم اثرات مثبت عصاره این میوه در افزایش برخی شاخص های ایمنی شناختی خون ماهیان، این عصاره فاقد اثرات سمی و مضر بر سلامت ماهیان می باشد که این اثرات مضر ممکن است باعث تلفات در بچه ماهیان به هنگام استفاده در جیره غذایی شود. در تناقض با نتایج تحقیق حاضر، Pratheepa و همکاران (۲۰۱۰) تأثیر عصاره برگ گیاه *Aegle marmelos* را در دوزهای ۵، ۱۰، ۲۰، ۲۵ و ۵۰ گرم بر کیلوگرم غذا در جیره ماهیان بر روی ماهی کپور مورد بررسی قرار دادند که در پایان دوره مشخص شد درصد بازماندگی در تیمارهایی که با غلظت های ۵ و ۱۰ گرم بر کیلوگرم غذا از عصاره تغذیه شده بودند، بیشتر از سایر تیمارها بوده است. در تحقیق حاضر به دلیل اینکه شرایط نگهداری ماهیان پنگوسی در آکواریوم کاملاً کنترل شده و در حالت بهینه

قرار داشت تلفات قابل توجهی در تیمار کنترل و سایر تیمارها مشاهده نگردید به طوری که تیمارهای اصلی، بازماندگی ۱۰۰ درصد و تیمار کنترل بازماندگی بالای ۹۹ درصد نشان دادند. انجام آزمایش‌های مشابه در شرایط کارگاهی نگهداری بچه ماهیان پنگوسی که برای پرورش‌دهندگان تلفات زیادی را در مقایسه با شرایط آکواریوم به همراه دارد و مقایسه رشد و بازماندگی در شرایط کارگاهی با شرایط استفاده از تیمارهای بهینه گیاهی و همچنین مقایسه میزان بازماندگی تیمارهای دریافت کننده جیره حاوی این عصاره هنگام چالش باکتریایی و در شرایط تحمل انواع استرس از قبیل استرس دمایی، استرس تراکم، استرس حمل و نقل و غیره برای مطالعات آینده در این خصوص قابل پیشنهاد است.

در تحقیق حاضر که اثرات عصاره های گیاهی بر هماتوکریت خون گربه ماهی پنگوسی مورد بررسی قرار گرفت، تفاوت های معنی داری در میزان هماتوکریت خون در بین تیمارهای مختلف مشاهده نگردید. Fazlolahzadeh و همکاران (۲۰۱۱) تاثیر افزودن پودر سیر در جیره را بر روی شاخص های خونی و فعالیت های پلازما در ماهی قزل آلائی رنگین کمان ۵۰ گرمی مورد بررسی قرار دادند. همانند نتایج تحقیق حاضر تفاوت معنی داری در میزان هماتوکریت بین گروه های مختلف مورد آزمایش و تیمار شاهد مشاهده نگردید. البته در تحقیق دیگری که Dorucu و همکاران (۲۰۰۹) اثر دانه های زیره سیاه *Nigella sativa* را بر روی پاسخ ایمنی ماهی قزل آلائی رنگین کمان با میانگین وزن ۳۴ گرم بررسی نمودند میزان هماتوکریت و تعداد سلول های لکوسیت خون در ماهیانی که با جیره حاوی ۲/۵ درصد زیره سیاه تغذیه شده بودند به طور معنی داری بیشتر از گروه شاهد بود.

در خصوص سایر شاخص های خون شناسی نتایج موافق و مخالف تحقیق حاضر به وفور یافت می شود. در مورد تاثیر عصاره های گیاهی بر تعداد گلبول های سفید خون می توان به تحقیق Alishahi و همکاران (۲۰۱۱) در مورد تاثیر عصاره گیاه خار مریم (*Silybum marianum*) در ماهی کپور معمولی و مطالعه Harikrishnan و همکاران (۲۰۰۹) در ماهی طلایی (*Carassius auratus*) به عنوان نتایج مخالف و Watanuki و همکاران (۲۰۰۶) در ماهی کپور و Tatina و همکاران (۲۰۱۰) در تاس ماهی به عنوان نتایج مطابق با تحقیق حاضر اشاره نمود.

در مورد اندیس های گلبولی (MCH، MCV و MCHC) نیز تحقیقات مشابه، نتایج موافق و متناقضی داشته اند به طوری که Yusuf و Ekanem (۲۰۰۸) تغییر این فاکتورها و Harikrishnan و همکاران (۲۰۰۹) عدم تغییر این فاکتورها را گزارش نموده اند.

همچنین Nya و Austin (۲۰۰۹) افزایش درصد نوتروفیل و لنفوسیت در قزل آلائی رنگین کمان تغذیه شده با پودر گیاه زنجبیل و Fazlolahzadeh و همکاران (۲۰۱۱) افزایش درصد لنفوسیت و کاهش درصد نوتروفیل را در ماهی قزل آلائی رنگین کمان تغذیه شده با پودر سیر نشان دادند.

در سال ۲۰۱۰، Hajibeglou و Sudagar در بررسی تاثیر عصاره ۱۱ گیاه دارویی مختلف بر فاکتورهای خون شناسی و ایمنی ماهی کپور معمولی، افزایش میزان هموگلوبین و آلبومین و Pratheepa و همکاران (۲۰۱۰) در بررسی تاثیر عصاره برگ گیاه *Aegle marmelos* بر فاکتورهای خونی ماهی کپور معمولی، افزایش میزان هموگلوبین و میزان NBT را در مقایسه با تیمار شاهد گزارش نمودند.

سنجش سطح پروتئین های سرم خون شاخص مناسبی برای بررسی وضعیت ایمنی شناسی ماهی می باشد. در تحقیق حاضر میزان پروتئین کل سرم خون تفاوت معنی داری را بین تیمارهای مختلف دریافت کننده عصاره مورخوش نشان نداد. در تناقض با نتایج تحقیق حاضر می توان به تحقیق Alishahi و همکاران (۲۰۱۱) در مورد تاثیر تجویز خوراکی عصاره گیاه خار مریم (*Silybum marianum*) بر پاسخ های ایمنی ماهی کپور معمولی، Dugenci و همکاران (۲۰۰۳) در مورد تاثیرات ایمنی شناختی عصاره سه گیاه دارویش *Viscum album*، گزنه *Urtica dioica* و زنجبیل *Zingiber officinale* بر ماهیان قزل آلائی رنگین کمان، Dorucu و همکاران (۲۰۰۹) در بررسی اثر دانه های زیره سیاه *Nigella sativa* بر پاسخ ایمنی ماهی قزل آلائی رنگین کمان و Pratheepa و همکاران (۲۰۱۰) در مطالعه تاثیر عصاره برگ گیاه *Aegle marmelos* بر روی ماهی کپور معمولی اشاره نمود. در تطابق با نتایج تحقیق حاضر در تحقیقات مشابه دیگری که توسط Misra و همکاران (۲۰۰۶) در قزل آلائی رنگین کمان و Ispir و Mustafa (۲۰۰۵) در کپور هندی *labeo rohita* انجام شد، علیرغم گزارش برخی شاخص های تحریک

ایمنی در تعدادی از فرآورده های گیاهی، عدم تاثیر این عصاره ها بر میزان پروتئین کل و گلوبولین سرم در گونه های مورد بررسی گزارش گردید.

در تحقیق حاضر سنجش فعالیت فاگوسیتوزی سلول های نوتروفیل خون از طریق تست NBT که از مشخصه های ایمنی ذاتی در ماهیان می باشد بیانگر افزایش این فعالیت در تیمار تغذیه شده با ۳۰۰ میلی گرم عصاره گیاهی نسبت به تیمار کنترل می باشد هر چند به علت دامنه تغییرات در تیمارهای مختلف این تفاوت معنی دار نبود. نتایج مشابهی توسط Wijendra و Pathiratne (۲۰۰۷) در کپور هندی *Labeo rohita* گزارش شد بدین صورت که تجویز خوراکی محرک ایمنی levamisole هر چند باعث افزایش فعالیت NBT در تیمارهای دریافت کننده این محرک گردید اما به علت دامنه تغییرات زیاد بین تیمارها، این تفاوت معنی دار نبود. افزایش معنی دار میزان NBT در کپور معمولی پس از دریافت عصاره درخت پر *Cotinus coggygia* به میزان ۱/۵ و ۱/۰۵ گرم در کیلوگرم جیره غذایی (Bilen et al., 2013) و همچنین افزایش این شاخص در میگوی سفید هندی *Fenneropenaeus indicus* تغذیه شده با جیره حاوی عصاره مخمر دریایی *Debaryomyces hansenii* (Sarlın and Philip, 2011) از جمله جدیدترین تحقیقات دارای نتایج متفاوت با تحقیق فعلی در مورد این شاخص می باشند.

بر اساس نتایج به دست آمده، تیمارهایی که با جیره حاوی عصاره گیاه مورخوش تغذیه شده بودند، تفاوت معنی داری را در میزان لیروزیم نشان دادند. میزان فعالیت لیروزیم سرم به عنوان یک شاخص با اهمیت ایمنی غیر اختصاصی در ماهی می باشد (Sakai, 1999). در تحقیق Alishahi و همکاران (۲۰۱۱)، ۲۰ روز پس از تجویز خوراکی عصاره گیاه خار مریم *Silybum marianum*، افزایش معنی داری در فعالیت لیروزیم سرم ماهی کپور معمولی نسبت به تیمار شاهد مشاهده گردید. همچنین افزایش فعالیت لیروزیم سرم در ماهی کاراس (Chen et al., 2003)، ماهی Large yellow croaker (Jian and Wu, 2003) و ماهی کپور معمولی (Jian and Wu, 2004) بعد از تجویز خوراکی عصاره های گیاهی بومی گزارش شده است. با توجه به این که نتایج موافق و مخالف با تحقیق حاضر به وفور مشاهده می شود می توان یکی از دلایل این پدیده را در ترکیبات موجود در عصاره های مختلف و یا به عبارتی ماهیت عصاره ها دانست. بنابراین انجام تحقیقات بیشتر و تخصصی تر بر روی اثرات ایمنی شناختی ترکیبات موجود در عصاره مورخوش در آبزیان پیشنهاد می شود. همچنین با توجه به اینکه دوزهای مختلفی از عصاره های گیاهی در این گونه تحقیقات استفاده می شود که می تواند بر نتایج مطالعات اثرگذار باشد، لذا تحقیق بر روی دوزهای قابل استفاده عصاره مورخوش و سایر عصاره های گیاهی در جیره و رسیدن به دوز بهینه به منظور بررسی تاثیرات آنها بر شاخص های رشد و ایمنی شناختی خون گونه های مختلف ماهیان قابل پیشنهاد می باشد.

منابع

- Alishahi, M., Soltani, M., Mesbah, M., Esmaeilli Rad, A. 2011. Effects of dietary *Silybum marianum* extract on immune parameters of the common carp (*Cyprinus carpio*). *Veterinary Research*. 66(3): 255-263.
- Aoki, T. 1992. Chemotherapy and drug resistance in fish farms in Japan. In: Shariff, M., Subasighe, R.P., Arthur, J.R. (Eds.). *Diseases in Asian Aquaculture*. Fish Health Section, Asian Fisheries Society, Manila, Philippines. pp. 519-529.
- Arabshahi-delouee, S., Urooj, A. 2007. Antioxidant properties of various solvent extracts of mulberry (*Morus indica* L.) leaves. *Food Chain*. 102: 1233-1240.
- Ardo, L., Yin, G., Xu, P., Varadi, L., Szigeti, G., Jeney, Z., Jeney, G. 2008. Chinese herbs (*Astragalus membranaceus* and *Lonicera japonica*) and boron enhance the non-specific immune response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and resistance against *Aeromonas hydrophyla*. *Aquaculture*. 275: 26-33.
- Arman, M., Yousefzadi, M., Nejad Ebrahimi, S. 2009. Antimicrobial activity and composition of the essential oil from *Zhumeria majdae* Rech. f. & Wendelbo. *Essential Oil-Bearing Plants*. 12(5): 630-634.
- Bilen, S., Yilmaz, S., Bilen, A.M. 2013. Influence of Tetra (*Cotinus coggygia*) extract against *Vibrio anguillarum* infection in Koi carp, *Cyprinus carpio* with reference to haematological and immunological changes. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 13: 527-532.

- Chen, X., Wu, Z., Yin, J. 2003. Effects of four species of herbs on immune function of *Carassius auratus gibelio*. Fisheries Science of China. 10: 36-40.
- Citarasu, T., Sivaram, V., Immanuel, G., Rout, N., Murugan, V. 2006. Influence of selected Indian immunostimulat herbs against white spot syndrome virus (wssv) infection in black tiger shrimp, *Penaeus monodon* with reference to haematological, biochemical and immunological changes. Fish and shellfish immunology. 21: 372-384.
- Dada, A.A., Ikuerowo, M. 2009. Effects of ethanolic extracts of *Garcinia kola* seeds on growth and haematology of catfish (*Clarias gariepinus*) broodstock. African Journal of Agricultural Research 4(4): 344-347.
- Dorucu, M., Ozesen Colak, S., Ispir, U., Altinterim, B., Celayir, Y. 2009. The effect of Black Cumin Seeds, *Nigella sativa*, on the immune response of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Mediterranean Aquaculture Journal. 2(2): 1-7.
- Dugenci, S.K., Arda, N., Candan, A. 2003. Some medicinal plants as immunostimulant for fish. Ethnopharmacology. 88: 99-106.
- Ekanem, J.T., Yusuf, O.K. 2008. Some biochemical and haematological effects of black seed (*Nigella sativa*) oil on Trypanosoma brucei-infected rats. African Journal of Biotechnology. 4(3): 153-157.
- Fazlolahzadeh, F., Keramati, K., Nazifi, S., Shirian, S., Seifi, S. 2011. Effect of Garlic (*Allium sativum*) on hematological parameters and plasma activities of alt and ast of Rainbow trout in temperature stress. Australian Journal of Basic and Applied Sciences. 5(9): 84-90.
- Hajibeglou, A., Sudagar M. 2010. Immune response of common carp (*Cyprinus carpio*) fed with herbal immunostimulants diets. Agricultural Journal. 5(3): 163-172.
- Harikrishnan, R., Balasundaram. C., Heo. M.S. 2009. Herbal supplementation diets effects on hematology and innate immunity in goldfish. Fish and Shellfish Immunology. 28: 211-225.
- Hosseinzadeh, H., Ramezani, M., Fadishei, M., Mahmoudi, M. 2002. Antinociceptive, antiinflammatory and acute toxicity effects of *Zhumeria majdae* extracts in mice and rats. Phytomedicine. 9: 135 -141.
- Ispir, U., Mustafa, D.M. 2005. A Study on the Effects of Levamisole on the Immune System of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum). Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences. 29: 1169-1176.
- Jian, J., Wu, Z. 2003. Effects of traditional Chinese medicine on nonspecific immunity and disease resistance of large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea* (Richardson). Aquaculture. 218: 1-9.
- Jian, J., Wu, Z. 2004. Influences of traditional Chinese medicine on nonspecific immunity of Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian). Fish and Shellfish Immunology. 16: 185-191.
- Magnadottir, B. 2006. Innate immunity of fish (overview). Fish and Shellfish Immunology. 20: 137-151.
- Majroohi, A.A. 2008. Investigation of quantity and quality changes in chemical components of *Zhumeria majdae* leaves at different stages of growth. Pharmaceutical plants. 8(1): 107-113.
- Misra, C.K., Kumar Das, B., Mukherjee, S. C., Pattnaik, P. 2006. Effect of long term administration of dietary β -glucan on immunity, growth and survival of *Labeo rohita* fingerlings. Aquaculture. 255: 82-94.
- Ndong, D., Fall, J. 2011. The effect of garlic (*Allium sativum*) on growth and immune responses of hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus x Oreochromis aureus*). Department of Aquaculture, College of Life Sciences National Taiwan Ocean University Keelung, Taiwan. 202, ROC.
- Nya, E.J., Austin, B. 2009. Use of dietary ginger, *Zingiber officinale Roscoe*, as an immunostimulant to control *Aeromonas hydrophila* infections in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Fish Diseases. 32: 971-977.
- Prasad, G., Priyanka, G.L. 2011. Effect of fruit rind extract of garcinia gummi-gutta on haematology and plasma biochemistry of catfish pangasianodon hypophthalmus. Asian Journal of Biochemistry. 6(3): 240-251.
- Prathepa, V., Ramesh, S., Sukumaran, N. 2010. Immunomodulatory effect of *Aegle marmelos* leaf extract on freshwater fish *Cyprinus carpio* infected by bacterial pathogen *Aeromonas hydrophila*. Pharmaceutical Biology. 48(11): 1224-1239.
- Raa, J. 2000. The use of immune-stimulants in fish and shellfish feeds. Memorias del V Simposium International.pp. 47-56.

- Rao, Y.Y., Das, B.K., Iyotymayee, P., Chakrabarti, R. 2006. Effect of *Achyranthes aspera* on the immunity and survival of *Labeo rohita* infected with *Aeromonas hydrophila*. *Fish and Shellfish Immunology*. 20: 265-273.
- Sarlin, P.J., Philip, R. 2011. Efficacy of marine yeasts and baker's yeast as immunostimulants in *Fenneropenaeus indicus*: A comparative study. *Aquaculture*. 321: 173-178.
- Sakai, D.K. 1998. Delayed maturation in the colonial coral *Gonasteria aspera* (Scleractina): whole-colony mortality, colony growth and polyp egg production. *Researches on Population Ecology*. 40: 287-292.
- Sakai, M. 1999. Current research status of fish immunostimulants. *Aquaculture*. 172: 63-92.
- Seung-Cheol J.I., Gwan-Sik, J., Gwang-Soon, I.M., Si-Woo, L., Jin-Hyung, Y., Kenji, T. 2007. Dietary medicinal herbs improve growth performance, fatty acid utilization, and stress recovery of *Japanese flounder*. *Fisheries Science*. 73: 70-76.
- So, N., Maes, G.E., Volckaert, F.A.M. 2006. High genetic diversity in cryptic populations of the migratory sutchi catfish *Pangasianodon hypophthalmus* in the Mekong River. *Heredity*. 96: 166-174.
- Tatina, M., Bahmani, M., Soltani, M., Abtahi, B., Gharibkhani, M. 2010. Effects of different levels of dietary Vitamins C and E on some of hematological and biochemical parameters of sterlet (*Acipenser ruthenus*). *Journal of Fisheries and Aquatic Science*. 5: 1-11.
- Watanuki, H., Ota, K., Malina, A.C., Tassakka, A., Sakai, M. 2006. Immunostimulant effects of dietary *Spirulina platensis* on carp, *Cyprinus carpio*. *Aquaculture*. 258: 157-163.
- Whittington, R., Lim, C., Klesius, P. 2005. Effect of dietary h-glucan levels on the growth response and efficacy of *Streptococcus iniae* vaccine in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture*. 248: 217-225.
- Wijendra, G.D.N.P., Pathiratne, A. 2007. Evaluation of immune responses in an Indian carp, *Labeo rohita* (hamilton) fed with levamisole incorporated diet. *Journal of Science of the University of Kelaniya*. 3: 17-28.
- Yan, Q.P., Su, Y.Q., Wang, J., Zhuo, H.M., Pi, L.B., Zhang, Z.X. 2001. The effect of immune additive on the immunity function of farmed *Pseudosciana crocea* (Richardson). *Journal of Jimei University (Natural Science)*. 6(2): 134-137.