

تعیین برخی شاخص‌های خونی و ایمنی بچه ماهیان استرلیاد (*Acipenser ruthenus*) تغذیه‌شده با سطوح مختلف افزودنی گیاهی

چکیده

هدف از این تحقیق ارزیابی تأثیر سطوح مختلف افزودنی گیاهی بر روی پارامترهای خونی و ایمنی در بچه ماهی استرلیاد (*Acipenser ruthenus*) می‌باشد. این تحقیق در سال ۱۳۹۳ بر روی بچه ماهی استرلیاد پرورشی انجام شد. طرح آزمایش کاملاً تصادفی در قالب ۴ تیمار و هر یک در ۳ تکرار طراحی گردید. این افزودنی گیاهی شامل کارواکرول، آنتول و لیمونن در ۴ سطح، ۰، ۱، ۱/۵، ۲ گرم در کیلوگرم به جیره غذایی پایه اضافه گردید. ۷۲ عدد بچه ماهی استرلیاد با میانگین وزنی $11/35 \pm 88/60$ گرم، با تراکم ۶ عدد، در ۱۲ وان فایبرگلاس ۱۰۰ لیتری بر اساس ۳ درصد وزن بدن به‌صورت دستی به مدت ۶۰ روز تغذیه شدند و در پایان آزمایش شاخص‌های خونی (گلبول قرمز، گلبول سفید، هموگلوبین، هماتوکریت، حجم متوسط گلبول‌های قرمز، متوسط وزن هموگلوبین سلولی، میانگین غلظت هموگلوبین سلولی، نوتروفیل‌ها، لنفوسیت‌ها، مونوسیت‌ها، اتوزینوفیل‌ها) و ایمنی (ایمونوگلوبین کل، لیز وزیم، IgM) موردسنجش قرار گرفتند. نتایج تحقیق نشان داد که در تعداد گلبول قرمز، تعداد گلبول سفید، میزان هموگلوبین، میزان هماتوکریت و تعداد نوتروفیل، اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده شد ($p < 0/05$). هر سه تیمار تغذیه‌شده با افزودنی گیاهی تعداد لنفوسیت بیشتری نسبت به تیمار شاهد داشتند ($p < 0/05$). در سایر فاکتورهای خونی اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده نشده است ($p > 0/05$). در بررسی پارامترهای ایمنی مشخص گردید که در میزان لیز وزیم به ترتیب در سطوح ۲ و ۱/۵ گرم بر کیلوگرم نسبت به تیمار شاهد افزایش مشاهده شد ($p < 0/05$). ایمونوگلوبولین M (IgM) در کل تیمارها نسبت به تیمار شاهد افزایش داشت ($p > 0/05$). نتایج کلی نشان داد که افزودنی گیاهی در سطح ۲ گرم در کیلوگرم می‌تواند باعث بهبود برخی از شاخص‌های خونی و ایمنی اختصاصی و غیراختصاصی بچه ماهیان استرلیاد گردد.

واژگان کلیدی: استرلیاد *Acipenser ruthenus*، افزودنی گیاهی، شاخص‌های خونی و ایمنی.

محمدعلی بیشه بان^{*۱}

عباسعلی زمینی^۲

مهرداد نصری تجن^۳

۱. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد شیلات، واحد

رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران

۲. دانشیار گروه شیلات، واحد لاهیجان، دانشگاه

آزاد اسلامی، لاهیجان، ایران

۳. استادیار گروه شیلات، واحد بندرانزلی، دانشگاه

آزاد اسلامی، بندرانزلی، ایران

*مسئول مکاتبات:

bisheban1@gmail.com

کد مقاله: ۱۳۹۵۰۲۰۳۷۷

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۰/۰۵

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۱۱/۱۵

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه کارشناسی

ارشد است.

مقدمه

امروزه محققین معتقدند تنها راه نجات ذخایر بارزش تاس ماهیان انجام فعالیت‌های تحقیقاتی و اجرایی باهدف حفظ و بازسازی ذخایر و توسعه فن پرورش تاس ماهیان در محیط‌های پرورشی، ممانعت از صید غیرقانونی و همکاری با سازمان‌های بین‌المللی جهت حفظ تنوع زیستی و گونه‌های در حال انقراض است. نتایج مطالعات علمی نشان داده که کارایی تغذیه، درصد غذایی، درجه حرارت آب و اندازه ماهی ازجمله عوامل اقتصادی هستند که قابلیت تولید تجاری ماهیان را تعیین می‌کنند (Brett and Groves, 1979). بنابراین به‌منظور افزایش بازده تولید و فراهم آوردن سوددهی بیشتر، ارزیابی اقتصادی تغذیه و تعیین نیازهای غذایی ماهیان بسیار ضروری می‌باشد (Deng, 2000). برای تولید تجاری و

تعیین برخی شاخص‌های خونی و ایمنی بچه ماهیان استرلیاد (*Acipenser ruthenus*) تغذیه‌شده با سطوح مختلف افزودنی گیاهی / بیشه‌بان و همکاران

کارآمد تاس ماهیان، مدیریت قوی، شرایط مناسب پرورش، غذادهی با جیره‌های مناسب که ترکیبات ارزان‌تر و درعین‌حال مؤثرتر که رشد بهینه و کمترین مقدار ضریب تبدیل غذایی را داشته باشد، ضروری به نظر می‌رسد (Hung and Lutes, 1987). در حال حاضر معضل عمده در آبی‌پروری تجاری، بهبود جیره غذایی فرموله شده برای افزایش رشد و ارتقاء سلامت ماهیان می‌باشد. محققین معتقدند که افزایش کارایی تغذیه در تولید آبزیان، به ترکیبات سازنده مواد غذایی نظیر پروتئین، چربی‌ها، ویتامین‌ها، مواد معدنی، قیمت و در دسترس بودن آن بستگی دارد (Chebanov and Billard, 2001). سرعت رشد و مقاومت به بیماری‌ها در آبزیان پرورشی دو مسئله بسیار مهم و موردتوجه هستند (Li and Gatlin, 2005). بیماری‌های میکروبی باعث کاهش زیادی در تولید آبی‌پروری متمرکزم شده است و نیاز است برای بهتر شدن ایمنی و بازماندگی ماهیان و سود اقتصادی در این مورد کنترل صورت گیرد. در تعداد زیادی از ماهیان دریایی بیماری‌های میکروبی به‌طور ویژه در طول تولید ماهیان جوان باعث مرگ‌ومیر توده زیادی از ماهیان شده است و تولید ماهیان را به میزان پایدار در مقیاس صنعتی محدود کرده است (Skjermo and Vadstein, 1999). به‌طور سنتی آنتی‌بیوتیک‌ها در غذاهای آبزیان برای جلوگیری و درمان بیماری‌های باکتریایی اضافه‌شده‌اند. گزارش شده است که آنتی‌بیوتیک‌ها می‌توانند میزان رشد و کارایی تغذیه ماهیان را از طریق کشتن باکتری‌های بیماری‌زا روده افزایش دهند، اما استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها ممکن است تظاهر به درمان کند یعنی گونه‌های باکتریایی که بیشتر مقاوم هستند نسبت به درمان آنتی‌بیوتیکی جواب نداده و درنتیجه خطرهای زیست‌محیطی را ایجاد کند (Lopez-Madrid et al., 2003). توجه به خطرات آنتی‌بیوتیک‌ها و ممنوعیت آن‌ها در بسیاری از کشورهای پیشرفته این دگرگونی‌ها در سیاست دولت‌ها در آبی‌پروری تأثیر گذاشته و بنابراین توسعه روش‌های دیگری برای کنترل بیماری‌ها خیلی سریع موردتوجه قرارگرفته‌اند ازجمله این روش‌ها استفاده از مکمل‌های غذایی شامل پروبیوتیک‌ها، پری‌بیوتیکی‌ها و محرک‌های ایمنی هستند که مورد استقبال زیادی قرار گرفتند (Li and Gatlin, 2005). اخیراً در آبی‌پروری استفاده از ترکیبات گیاهی به‌عنوان محرک‌های ایمنی جهت تقویت سیستم ایمنی غیراختصاصی ماهیان پرورشی رایج شده است (Rao et al., 2006). محرک‌های رشد و ایمنی که منشأ گیاهی دارند، مزیت‌های متعددی نسبت به محرک‌های رشد و ایمنی مصنوعی دارند که از این مزیت‌ها می‌توان به در دسترس بودن، آسیب کمتر برای محیط‌زیست و جانور و امکان تولید در سطح وسیع باقیمت پایین اشاره نمود (Francis et al., 2001). افزودنی گیاهی یا فایتوژنیک مورداستفاده در تحقیق حاضر بهبوددهنده طعم خوراک و اشتهاآور بوده و حاوی ترکیباتی از قبیل کارواکرول که از پونه عصاره‌گیری شده و دارای اثرات شدید ضد میکروبی و آنتی‌اکسیداسیونی قوی بوده، آنت‌ول که از بادیان رومی عصاره‌گیری شده و دارای خاصیت ضدویروسی و ضد قارچی بوده و محرک قوی اشتها است و لیمون که از مرکبات عصاره‌گیری شده و دارای خواص ضد میکروبی قوی و افزایش‌دهنده طعم غذا می‌باشد (قهرمان، ۱۳۷۸؛ زرگری، ۱۳۹۰). این ترکیب گیاهی، خوش‌خوراکی جیره را افزایش می‌دهد، درنتیجه مصرف خوراک افزایش می‌یابد. همچنین سیگنال‌هایی به دستگاه گوارش برای آغاز ترشح آنزیم‌های هضمی ارسال شد (Biomim, 2014). برخی گیاهان منبعی غنی از تانن‌ها، پلی‌ساکاریدها، آلکالوئیدها، فلاوونوئیدها، ساپونین‌ها و پلی‌پپتیدها هستند که نقش‌های مختلفی ازجمله داشتن اثرات ضد میکروبی و تقویت سیستم ایمنی ماهیان برای آن‌ها مشخص شده است. با مروری بر مطالعات انجام‌شده در این زمینه به نظر می‌رسد استفاده از گیاهان دارویی به‌عنوان محرک‌های ایمنی جایگزین مناسبی برای آنتی‌بیوتیک‌ها، واکسن‌ها و ترکیبات سنتزی باشند (Rao et al., 2006; Ardo et al., 2008). اثر برخی گیاهان بر ایمنی غیراختصاصی در ماهی استرلیاد (*Acipenser ruthenus*) (نجف‌پور مقدم و همکاران، ۱۳۹۲؛ رئیسی و همکاران، ۱۳۹۳)، در فیل‌ماهی (*Huso huso*) (بهمنی و همکاران، ۱۳۸۳، ۱۳۸۴ و ۱۳۸۶؛ یوسفی جوردی و همکاران، ۱۳۹۲، Jourdehi Yousefi et al., 2014)، کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) (طاعتی و نوعی تعادلی، ۱۳۹۴؛ Hajibeglou and Sudagar, 2010)، کپور هندی (*Catla* catla) (Dey and Chandra, 1995)، کپور هندی (*Labeo rohita*) (Nguyen et al., 2002)، قزل‌آلای رنگین‌کمان (*mykiss*) (Oncorhynchus) (احمدی‌تر و همکاران، ۱۳۸۹؛ چگینی و همکاران، ۱۳۹۱؛ Oskoi et al., 2011؛ Aly, 2012؛ Ayokanmi dada, 2012)، (and Mohamed, 2010; Aly et al., 2008; Salaby et al., 2006; Francis et al., 2001) باس دریایی (*Lates calcarifer*)

(Talpur, 2014)، مورد ارزیابی قرار گرفته است. بالین وجود تاکنون مطالعه‌ای در خصوص تأثیر سطوح مختلف این افزودنی گیاهی بر پارامترهای خونی و ایمنی ماهی استرلیاد صورت نگرفته است. لذا در این پژوهش پارامترهای خونی و ایمنی بچه ماهیان استرلیاد تغذیه‌شده با سطوح مختلف افزودنی گیاهی شامل کارواکرول (Carvacrol) و آنتون (Anethole) و لیمونن (Limonene) مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

این مطالعه در قالب طرح آزمایش کاملاً تصادفی با ۴ تیمار و هر یک در ۳ تکرار انجام شد. بدین صورت که تیمار (۱) از ۱ گرم افزودنی گیاهی در ۱ کیلوگرم غذا و تیمار (۲) از ۱/۵ گرم افزودنی گیاهی در ۱ کیلوگرم غذا و تیمار (۳) از ۲ گرم افزودنی گیاهی در ۱ کیلوگرم غذا و تیمار (۴) یا شاهد بدون افزودنی گیاهی در جیره غذایی در نظر گرفته شد. افزودنی گیاهی شامل کارواکرول، آنتون، لیمونن (کارواکرول از پونه عصاره‌گیری شد، آنتون از بادیان رومی عصاره‌گیری شد، لیمونن از مرکبات عصاره‌گیری شد) بود (شرکت - Biomin® اتریش).

در هر تیمار ۱۸ عدد بچه ماهی خاویاری استرلیاد قرار داده شد (حوضچه‌های مدور فایبرگلاس ۱۰۰ لیتری مجهز به هواده و تخلیه آب مرکزی) که وزن متوسط آن‌ها 11.35 ± 88.60 گرم (ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم) و میانگین طول 1.45 ± 3.0 سانتی‌متر بود، (ریزسج دیجیتال با دقت ۰/۰۱ میلی‌متر). غذادهی به مقدار ۳ درصد میانگین وزن روزانه در ۳ نوبت صبح، ظهر، عصر هر ۸ ساعت به مدت ۲ ماه انجام شد. در طی دوره پرورش میانگین دمای آب ۲۲/۸ درجه سانتی‌گراد، $pH = 8.6$ و میانگین اکسیژن محلول به میزان ۱۰ میلی‌گرم در لیتر بود، عملیات زیست‌سنجی در طی دوره در ۳ نوبت (ابتدای دوره، میان دوره، پایان دوره) انجام گرفت.

به‌منظور آماده‌سازی غذا، مقادیر ۱، ۱/۵، ۲ گرم افزودنی گیاهی، در ۱ کیلوگرم جیره را با آسیاب برقی آرد نموده و آن را با مقداری آب به‌خوبی مخلوط نموده تا حالت خمیری نسبتاً سفتی به خود بگیرد، سپس این مخلوط خمیری نسبتاً سفت توسط چرخ‌گوشت به‌صورت رشته‌های ماکارونی شکل درآمده و توسط تیغه برش به قطعه‌های متناسب با اندازه دهان ماهی (پلت‌ها) تبدیل شد و پس از آن پلت‌های مرطوب در خشک‌کن با دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت خشک گردید. سپس جیره‌های آماده‌شده جهت استفاده گروه‌های تیماری توزین و بسته‌بندی و شماره‌گذاری شده و در فریزر در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان مصرف نگهداری شدند، یک ساعت قبل از توزیع غذا، جیره‌ها از یخ‌زن خارج و پس از متعادل شدن با دمای محیط، توزین و در اختیار بچه ماهیان قرار داده شد (سید حسنی و همکاران، ۱۳۹۲). بعد از مدت ۸ هفته پرورش و گذشت ۲۴ ساعت از زمان قطع تغذیه و اطمینان کامل از دفع محتویات لوله گوارش، از هر تیمار ۶ عدد ماهی (مجموعاً ۲۴ نمونه) به‌صورت تصادفی صیدشده و عملیات خون‌گیری از رگ دمی واقع در پشت باله مخرجی ماهی استرلیاد صورت گرفت. جهت انجام مطالعات خون‌شناسی از سرنگ‌هایی با حجم ۲ سی‌سی استفاده گردید. بعد از گرفتن ۲ سی‌سی خون توسط سرنگ از ساقه دمی این ماهیان ۰/۵ سی‌سی خون به داخل ریال آغشته به ماده ضد انعقاد خون (هپارین) شماره‌گذاری شده جهت انجام مطالعات فاکتورهای خونی ریخته و ۱/۵ سی‌سی باقیمانده به داخل ویال غیر هپارینه شماره‌گذاری شده جهت بررسی فاکتورهای ایمنی ریخته شد، جهت انجام مطالعات سرولوژی خون موجود در لوله‌های اپندروف فاقد ماده ضد انعقاد خون (هپارین) توسط سانتریفوژ (مدل Labofuge ساخت شرکت Heraeussepach) با ۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شده، سرم جدا و با سمپلر در اپندروف‌های تازه ریخته سپس نمونه‌ها در یک کلمن حاوی یخ خشک و به‌دوراز تکان‌های شدید به آزمایشگاه خون‌شناسی ارسال گردید. لازم به ذکر است در هنگام خون‌گیری مواد بی‌هوش‌کننده به علل احتمال تأثیر بر روی سطوح شاخص‌های خونی استفاده نگردید (Jalali-hajabadi et al., 2009).

شاخص‌های خونی شامل تعداد گلبول‌های قرمز (RBC) و تعداد گلبول‌های سفید (WBC) با استفاده از محلول Lewis و لایم نیوبار پیشرفته شمارش شدند (Klontz, 1994). هماتوکریت از روش میکروهماتوکریت و با استفاده از میکروسانتریفوژ هماتوکریت و به کمک خط‌کش

تعیین برخی شاخص‌های خونی و ایمنی بچه ماهیان استرلیاد (*Acipenser ruthenus*) تغذیه‌شده با سطوح مختلف افزودنی گیاهی / بیشه‌بان و همکاران

مخصوص هماتوکریت برحسب درصد اندازه‌گیری شد (کاظمی و همکاران، ۱۳۸۹؛ Klontz, 1994). اندازه‌گیری هموگلوبین به روش سیان مت هموگلوبین به کمک دستگاه اسپکتروفتومتر و استفاده از محلول اندازه‌گیری و با مقایسه منحنی استاندارد مقدار آن تعیین گردید (عامری مهابادی، ۱۳۷۸). شمارش افتراقی گلبول‌های سفید شامل لنفوسیت، نئوتروفیل، نوتروفیل و مونوسیت به روش رنگ‌آمیزی گیس ما با استفاده از لام نئوبار پیشرفته انجام گرفت (کاظمی و همکاران، ۱۳۸۹؛ Klontz, 1994). متوسط حجم گلبول قرمز (MCV)، متوسط هموگلوبین گلبول قرمز (MCH) و متوسط غلظت هموگلوبین سلولی (MCHC) طبق روش‌های محاسبه استاندارد اندازه‌گیری شدند (عامری مهابادی، ۱۳۷۸؛ Klontz, 1994). اندازه‌گیری لیز وزیم به روش طیف‌سنجی با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر انجام شد (Ellis, 1990). اندازه‌گیری میزان ایمنوگلوبولین M و ایمنوگلوبولین کل از روش کدورت‌سنجی با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر انجام گرفت (عامری مهابادی، ۱۳۷۸؛ Khoshbavar Rostami Yamamoto and Yonemasu, 1999 ; et al., 2006). اندازه‌گیری شاخص‌های خونی و ایمنی در آزمایشگاه تخصصی دامپزشکی و پرومید گیلان انجام گرفت.

این تحقیق در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام گرفت. در ابتدا نرمال بودن داده‌ها با آزمون (شاپیرو-وی لک) تست گردید با توجه به نرمال بودن توزیع داده‌ها، برای مقایسه میانگین بین تیمارهای تغذیه‌ای از آزمون تجزیه واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) و برای جداسازی گروه‌های همگن از آزمون توکی در سطح احتمال ۵ درصد استفاده شد. نرم‌افزار آماری SPSS ویرایش هجدهم برای تجزیه و تحلیل داده‌ها و نرم‌افزار اکسل ۲۰۰۷ برای رسم نمودارها به کار برده شدند.

نتایج

نتایج اندازه‌گیری فاکتورهای خونی: نتایج نشان داده است که در تعداد گلبول قرمز (RBC)، تعداد گلبول سفید (WBC)، میزان هموگلوبین (Hb)، میزان هماتوکریت (PCV) و تعداد نوتروفیل، تعداد لنفوسیت اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده شد ($p < 0.05$)، هر سه تیمار حاوی افزودنی گیاهی در شاخص‌های MCV و MCHC نسبت به شاهد افزایش را نشان دادند ($p > 0.05$)، تعداد مونوسیت‌ها در ماهیان تغذیه‌شده با افزودنی گیاهی در سطح ۲ گرم در کیلوگرم نسبت به شاهد افزایش داشت ($p > 0.05$)، در سایر فاکتورهای خونی اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده نشده است ($P > 0.05$)، (جدول ۱).

جدول ۱: تأثیر سطوح مختلف افزودنی گیاهی بر فاکتورهای خونی بچه ماهیان استرلیاد (*Acipenser ruthenus*) در

پایان هفته هشتم.

شاخص‌های خونی	سطوح افزودنی گیاهی			
	۰ (گرم)	۱ (گرم)	۱/۵ (گرم)	۲ (گرم)
گلبول سفید ($10^3 \times$ میکرو لیتر)	$12/36 \pm 0/51^c$	$7/33 \pm 0/58^a$	$8/36 \pm 1/01^{ab}$	$10/5 \pm 1/11^{bc}$
گلبول قرمز ($10^6 \times$ میکرو لیتر)	$0/75 \pm 0/06^b$	$0/58 \pm 0/03^a$	$0/66 \pm 0/02^{ab}$	$0/69 \pm 0/01^b$
هموگلوبین (گرم / دسی لیتر)	$7/57 \pm 0/57^b$	$5/97 \pm 0/31^a$	$6/70 \pm 0/26^{ab}$	$6/97 \pm 0/21^b$
هماتوکریت (درصد)	$38 \pm 3/61^b$	$29/33 \pm 1/53^a$	$32/67 \pm 1/53^{ab}$	35 ± 1^b
MCV (فمتو لیتر)	$100 \pm 1/73$	$101/3 \pm 0/58$	$100/7 \pm 1/16$	101 ± 1
MCH (پی کو گرم)	$53/3 \pm 57/5$	$49/8 \pm 1/73$	$49/17 \pm 11/59$	$50/6 \pm 3 \pm 1/53$
MCHC (درصد)	$19/67 \pm 0/58$	20 ± 0	$20/67 \pm 0/58$	$19/67 \pm 0/58$
نوتروفیل (درصد)	$33/67 \pm 0/58^b$	$28/67 \pm 0/58^a$	$28/67 \pm 0/58^a$	31 ± 1^b

شاخص‌های خونی	سطوح افزودنی گیاهی			
	۰ (گرم)	۱ (گرم)	۱/۵ (گرم)	۲ (گرم)
لنفوسیت (درصد)	۶۴/۳۳±۱/۱۶ ^a	۶۸/۶۷±۰/۵۸ ^b	۶۸/۳۳±۰/۵۸ ^b	۶۸/۳۳±۰/۵۸ ^b
مونوسیت (درصد)	۲/۳۳±۰/۵۸	۲/۳۳±۰/۵۸	۲/۳۳±۰/۵۸	۲/۶۷±۰/۵۸
ائوزینوفیل (درصد)	۰/۶۷±۱/۱۶	۰/۳۳±۰/۵۸	۰/۳۳±۰/۵۸	۰/۳۳±۰/۵۸

(انحراف معیار ± میانگین)، حروف لاتین غیرمشترک در هر ردیف، نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار آماری بین تیمارها است ($P < 0.05$).

نتایج نشان داده است که بین تیمارهای موردبررسی نسبت به شاهد، از نظر میزان ایمونوگلوبولین کل خون و لیز وزیم، اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده گردید ($P < 0.05$)، اما در IgM اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده نشد ($P > 0.05$). میزان ایمونوگلوبولین کل در سطح ۲ گرم نسبت به شاهد افزایش داشت، میزان شاخص لیز وزیم به ترتیب در تیمار ۲ و ۱/۵ و ۱ گرم در کیلوگرم افزودنی گیاهی نسبت به شاهد افزایش را نشان داد و ایمونوگلوبولین M (IgM) نیز در کل تیمارها نسبت به شاهد افزایش داشت (جدول ۲).

جدول ۲: تأثیر سطوح مختلف افزودنی گیاهی بر فاکتورهای ایمنی خون بچه ماهیان استرلیاد (*Acipenser ruthenus*) در پایان هفته هشتم.

فاکتورهای ایمنی خون	سطوح افزودنی گیاهی			
	۰ (گرم)	۱ (گرم)	۱/۵ (گرم)	۲ (گرم)
ایمونوگلوبولین کل (میلی‌گرم در دسی لیتر)	۱۴±۱ ^b	۹/۶۷±۰/۵۸ ^a	۱۲/۳۳±۰/۵۸ ^b	۱۵±۲ ^b
لیز وزیم (میکروگرم در میلی‌لیتر)	۹/۳۳±۱/۵۳ ^a	۱۰±۱ ^{ab}	۱۳±۱ ^{bc}	۱۴/۳۳±۱/۵۳ ^c
IgM (میلی‌گرم در دسی لیتر)	۱۱/۶۷±۲/۵۲	۱۳/۶۷±۳/۷۹	۱۳/۳۳±۲/۰۸	۱۷/۳۳±۴/۰۴

(انحراف معیار ± میانگین)، حروف لاتین غیرمشترک در هر ردیف، نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار آماری بین تیمارها است ($P < 0.05$).

بحث و نتیجه‌گیری

در سال‌های اخیر جهت پیشگیری یا کنترل بیماری یا افزایش ایمنی به گیاهان دارویی توجه بیشتری شده است. گیاهان و محصولات گیاهی در حال حاضر نقش مهمی در آبی‌پروری دارد. این گیاهان به‌خصوص اگر از گیاهان بومی منطقه باشند ارزان و در دسترس هستند. در چند دهه‌ی اخیر استفاده از گیاهان دارویی با توجه به مزیت‌های متعدد از جمله آثار جانبی کمتر بر موجود زنده و محیط‌زیست، عدم ایجاد مقاومت دارویی، ارزان بودن، پایدار و در دسترس بودن توجه زیادی را در سطح جهان به‌ویژه کشورهای پیشرفته به خود جلب نموده است (رجحان، ۱۳۸۷). افزودنی گیاهی مورد استفاده در این تحقیق حاوی عصاره‌های کارواکرول، آنتول و لیمونن بوده که به‌عنوان محرک رشد و اشتهاآور در ماهیان محسوب شده و ضمن خوش‌خوراک کردن جیره سبب رشد بیشتر ماهیان نیز شده است. یکی از عوامل اقتصادی بودن پرورش آبزیان پایین بودن ضریب تبدیل غذا است، چراکه علاوه بر کاهش هزینه‌های غذا و غذادهی به سبب مقدار کمتر غذادهی، از آلودگی ثانویه آب محیط پرورش و به تبع آن کاهش پارامترهای کیفی آب جلوگیری خواهد کرد (فلاح‌کار و همکاران، ۱۳۸۵). محرک‌های رشد گیاهی مزیت‌های متعددی نسبت به محرک‌های رشد مصنوعی دارند. از این مزیت‌ها می‌توان به در دسترس بودن، آسیب کمتر برای محیط‌زیست و جانور و امکان تولید در سطح وسیع باقیمت پایین اشاره نمود. نقش سودمند و تأثیرگذار محرک‌های گیاهی بر روی رشد، شاخص‌های خونی و ایمنی ماهیان به‌طور گسترده‌ای توسط محققین مختلف گزارش شده است (Ashraf and Goda, 2008). خون به‌عنوان یک بافت سیال و سهل‌الوصول یکی از مهم‌ترین مایعات زیستی بدن بوده که تحت تأثیر حالات مختلف فیزیولوژیک و پاتولوژی، ترکیبات آن دستخوش نوسان و تغییر می‌گردند. لذا در اختیار

تعیین برخی شاخص‌های خونی و ایمنی بچه ماهیان استرلیاد (*Acipenser ruthenus*) تغذیه‌شده با سطوح مختلف افزودنی گیاهی / بیشه‌بان و همکاران

داشتن مقادیر طبیعی پارامترهای خونی و بررسی چگونگی تغییرات آن‌ها در بیماری‌های مختلف همواره از ابزار مهم تشخیص در بسیاری از بیماری‌های آبزیان بوده است. شاخص‌های خونی در ماهیان می‌تواند متأثر از مواردی چون گونه پرورشی، اندازه، سن، وضعیت فیزیولوژیکی، شرایط محیطی و رژیم غذایی باشد (حسینی فر و همکاران، ۱۳۹۰).

شناخت فاکتورهای خونی نه تنها در تشخیص گونه مهم است بلکه از نظر اقتصادی نیز می‌تواند در شناسایی بیماری‌ها، نوع تغذیه و تعیین شرایط بهداشتی و سلامت ماهی مفید باشد (Bahmani et al., 2001). شاخص‌های خونی ماهیان به عوامل مختلفی از قبیل گونه، اندازه، سن، وضعیت فیزیولوژیکی، شرایط محیطی، رژیم غذایی (کمیت و کیفیت غذا، مواد تشکیل دهنده جیره، منابع پروتئینی، ویتامین‌ها و محرک‌های رشد) بستگی دارد (Lim et al., 2000; Irianto and Austin, 2002; Brunt and Austin, 2005).

مطالعه قاسمی پیر بلوطی و همکاران (۱۳۹۰) نشان داد که استفاده از عصاره گیاهان مرزه بختیاری و خوزستانی، آویشن شیرازی، زرین گیاه و پونه کوهی منجر به افزایش معنی‌دار جمعیت گلبول‌های سفید به‌خصوص نوترون‌ها در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌گردد. در ماهیان سیستم ایمنی ذاتی یا غیراختصاصی یک مکانیسم دفاعی اساسی در برابر عوامل بیماری‌زا محسوب می‌شود، تقویت این سیستم برای ماهیان پرورشی بسیار ارزشمند است چراکه ماهیان در شرایط پرورشی در برابر بسیاری از عوامل باکتریایی فرصت‌طلب آسیب‌پذیرند (Dixon and Stet, 2001).

احمدی‌تر و همکاران (۱۳۸۹) بیان داشتند که کاربرد مکمل Next Enhance 150 (حاوی کاراکرول و تیمول) در سطح ۰، ۱، ۲، ۳ گرم در کیلوگرم جیره ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به‌استثنای درصد لنفوسیت تفاوت معنی‌داری را در شاخص‌های خونی ایجاد نکرد. در مطالعه‌ای دیگر، تجویز خوراکی محرک‌های ایمنی مصنوعی ارگوسان و لوامیزول و عصاره‌های گیاهی سرخارگل، آویشن و کندر بر فاکتورهای خونی ماهی اسکار (*Astronotus ocellatus*) مورد بررسی قرار گرفت. در تیمارهای سرخارگل و ارگوسان افزایش نسبی تعداد گلبول‌های سفید مشاهده گردید (علیشاهی و همکاران، ۱۳۹۱). باوجوداین روزی وهم کاران (۱۳۹۲) با افزودن دارچین در سطوح ۰/۱، ۰/۲، ۰/۳ و ۱ در جیره ماهی گرین ترور (*Andinocara rivulatus*) اظهار نمودند که ماهیان تغذیه‌شده با جیره ۰/۱ پودر دارچین در تعداد گلبول‌های سفید، درصد لنفوسیت و نوتروفیل اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد داشتند. افزایش تعداد لنفوسیت در تحقیق حاضر مشاهده گردید. تعداد لنفوسیت تنها در اثر استرس و طولانی شدن کمبود اکسیژن محلول آب، در خون ماهیان کاهش نشان می‌دهد (کاظمی و همکاران، ۱۳۸۹) و این نشانه این است که آب محیط پرورش از کیفیت مناسبی برخوردار بوده است، در این تحقیق نیز درصد لنفوسیت در ماهیان تغذیه‌شده با افزودنی گیاهی در سطح ۲ گرم در کیلوگرم نسبت به شاهد افزایش داشت ($p < 0.05$). داروهای گیاهی از جمله محرک‌های سیستم ایمنی هستند که با تأثیرگذاری بر سیستم ایمنی ماهیان موجب فعال شدن سلول‌های مؤثر در ایمنی می‌شوند که از آن جمله اثرات احتمالی آن، افزایش فعالیت سلول‌های ماکروفاژی، افزایش سلول‌های فاگوسیتوز کننده (نوترون‌ها و منوسیت‌ها)، افزایش تعداد لنفوسیت‌ها و ایمونوگلوبولین‌های سرم و افزایش فعالیت لیزوزیم می‌باشد. استفاده از این مواد ابزار مؤثری برای افزایش شاخص‌های رشد، ظرفیت سیستم ایمنی و مقاومت ماهی در برابر بیماری‌های شایع بوده و تحقیق در مورد استفاده از مکمل‌ها، روند رو به رشدی دارد (Hosseinfar et al., 2010). گیاهان دارویی دارای اثرات شناخته‌شده و اثبات‌شده بر سیستم ایمنی موجودات مختلف می‌باشند (امیدیگی، ۱۳۹۰). این اثر به دلیل تحریک ایمنی غیراختصاصی میزبان تأثیر بر ایمنی سلولی یا ایمنی همورال صورت می‌پذیرد. تاکنون مطالعات فراوانی در خصوص ارتقاء ایمنی در ماهیان به‌واسطه استفاده از ترکیبات مختلف محرک ایمنی انجام‌شده که در این میان گیاهان به‌واسطه اثر مناسب و نداشتن آثار جانبی به‌کرات توصیه‌شده‌اند (علیشاهی و همکاران، ۱۳۹۱; Guojun et al., 2006). مواد محرک ایمنی گروه نسبتاً وسیعی از ترکیبات با مشاء طبیعی یا مصنوعی را در برمی‌گیرند که با مکانیسم‌های مختلف با تحریک سیستم ایمنی غیراختصاصی ماهیان منجر به افزایش توان مقاومت ماهی در برابر عوامل عفونی می‌گردند، برای مثال می‌توان به افزایش تعداد گلبول‌های سفید خون، ارتقاء توان فاگوسیتوز، افزایش میزان لیزوزیم و ایمونوگلوبولین M (IgM) اشاره کرد (Harikrishnan et al., 2011). این امر با توجه

مقاومت‌های ضد میکروبی وسیعی که در مزارع پرورش ماهی در ایران گزارش شد است، اهمیت بالایی دارد (Raissy and Moumeni, 2014).

استفاده از پودر زردچوبه و سیر در جیره غذایی لارو کپور ماهی هندی (*Catla catla*) موجب افزایش مقاومت آن نسبت به بیماری و در نتیجه افزایش نرخ بقای آن در دوره پرورشی گردید (Dey and Chandra, 1995). در این میان ترکیبات با منشأ طبیعی و بخصوص افزودنی‌های گیاهی به واسطه نداشتن عوارض برای ماهی و یا مصرف‌کننده و همچنین قیمت مناسب اولویت بالاتری دارند. در بررسی اثرات ضد میکروبی و نیز تنظیم‌کنندگی سیستم ایمنی تعدادی از گیاهان دارویی سنتی چینی شامل *Zingiber officinulle*, *aloevera*, *Angelica sp.*, *Astragalus membrances*, *Panax ginseng*, *Ganoderma lucidua*, *Scutellaria sp.* گیاهان در نهایت باعث تأثیرات مثبت بر روی سیستم ایمنی می‌شوند (Tan and Vanitha, 2004). در گوپی (*Poecilia reticulata*) افزودن سرخارگل به جیره غذایی باعث افزایش ضریب چاقی و پاسخ ایمنی می‌شود (Guz et al., 2011). استفاده از عصاره گیاهی گیاهان دارویی *Lonicera japonica*, *Isatis indigotica*, *Rheum officinale*, *Andrographis paniculata* در رژیم غذایی ماهی کپور موجب تقویت سیستم ایمنی آن‌ها گردید (Chen et al., 2003).

احمدی و همکاران (۱۳۸۹) استفاده از گیاه خار مریم (*Silybum mariumum*) بر میزان ایمونوگلوبولین M سرم ماهی قزل‌آلا را فاقد تأثیر معنی‌دار گزارش نمودند. میزان ایمونوگلوبولین M یکی از شاخص‌های مهم ایمنی همورال است که در این مطالعه تفاوتی بین میزان آن در سرم ماهیان گروه شاهد و سایر ماهیان مشاهده نگردید. از طرف دیگر میزان لیز وزیم سرم که شاخص بسیار مهمی در ایمنی همورال محسوب می‌گردد، در به ترتیب در سطوح ۲ و ۱/۵ گرم در کیلوگرم نسبت به گروه شاهد افزایش داشته است و اختلاف آماری معنی‌داری را نشان می‌دهد که اهمیت بسزایی در ارتقاء سیستم ایمنی ماهیان دارد. بخصوص ماهیان خاویاری که لیز وزیم نقش مهم‌تری در دفاع غیراختصاصی دارد. در ماهی گوپی مشاهده شد که عصاره سرخارگل موجب افزایش وزن و پاسخ ایمنی می‌شود، افزایش پارامترهای ایمنی غیراختصاصی از طریق استفاده از اکیناسه در جیره غذایی مکمل می‌توان یک فاکتور مهم در پیشگیری بیماری باکتریایی ماهی و کاهش مرگ‌ومیر باشد، همچنین اکیناسه نقش مهمی در کنترل بیماری ماهی‌های تزینی ایفا می‌کند (Guz et al., 2011).

مطالعات نشان داده که مصرف سه ماه مکمل غذایی با اکیناسه باعث افزایش مقاومت در برابر بیماری آئروموناس هیدروفیلا در تیلپیا می‌شوند (Aly and Mohamed, 2010).

نتایج بررسی‌ها نشان‌دهنده اثرات گیاه نعنای فلفلی به عنوان محرک رشد و ایمنی در طیور و گونه‌های آبی از قبیل ماهی کپور معمولی (*Cyprinus caprio*) و باس دریایی (*Lates calcarifer*) بوده است (Talpur, 2014; Hajibeglou and Sudagar, 2010).

میزان رشد و مقاومت تیلپا نیل در برابر بیماری *Pseudomonas fluorescens* در استخرهای خاکی بررسی کردند که افزایش وزن، ضریب چاقی، مقدار هماتوکریت، فعالیت لیز وزیم و افزایش تعداد لوکوسیت را نشان داد و همچنین میزان بازماندگی در این ماهیان افزایش یافت (Aly et al., 2008).

افزودن مکمل غذایی حاوی عصاره گیاهی *Catharanthus roseus* به جیره غذایی ماهی کپور هندی (*Labeo rohita*) موجب افزایش پاسخ ایمنی این ماهی گردید (Nguyen et al., 2002).

Oskoi و همکارانش (۲۰۱۱) عصاره گیاه سرخارگل را به جیره قزل‌آلای رنگین‌کمان به میزان ۰/۵۰ - ۰/۲۵ گرم در کیلوگرم اضافه کردند که اثرات مثبتی بر روی برخی شاخص‌های رشد، پارامترهای خون‌شناسی و بیوشیمیایی مشاهده نمودند.

لیز وزیم از مهم‌ترین اجزای ایمنی غیراختصاصی ماهی محسوب می‌شود که موجب تخریب جداره باکتری‌ها، فعال‌سازی کم پلمان و افزایش فعالیت بیگانه‌خواری در ماهی می‌شود. افزایش میزان فعالیت لیز وزیم سرم گویای بهبود وضعیت ایمنی ماهی است و افزایش آن به مقابله بهتر

تعیین برخی شاخص‌های خونی و ایمنی بچه ماهیان استرلیاد (*Acipenser ruthenus*) تغذیه‌شده با سطوح مختلف افزودنی گیاهی / بیشه‌بان و همکاران

سیستم ایمنی ماهی در برابر عوامل عفونی و استرس‌زا کمک می‌نماید. افزایش فعالیت لیز وزیم متعاقب تجویز برخی محرک‌های ایمنی، واکسن‌ها و برخی پریوتیک‌ها در ماهی مشاهده شده است (Alishahi et al., 2010).

در صنعت آبزی‌پروری عوامل بیماری‌زا از عوامل کاهش‌دهنده تولید می‌باشد. برای حل این مشکل امروزه از محرک‌های سیستم ایمنی استفاده می‌کنند و از آنجایی که برخی گیاهان دارویی دارای طیف وسیعی از خواص مفید از جمله تحریک و تقویت سیستم ایمنی هستند به همین علت استفاده از آن‌ها در پرورش ماهی سبب بهبود تولید می‌گردد (جایند و همکاران، ۱۳۸۰).

در تحقیقی (قاسمی پیر بلوطی و همکاران، ۱۳۹۰) تحت عنوان اثر اسانس چند گیاه دارویی بر سیستم ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*mykiss* *Oncorhynchus*) عنوان نمودند که افزودن ۱ درصد اسانس گیاهان دارویی بخصوص پونه به همراه جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان سبب تقویت سیستم ایمنی ماهی می‌شود.

طاعتی و نوعی تعادلی (۱۳۹۴) در تحقیقی با عنوان تعیین عملکرد رشد و برخی از پارامترهای خونی و ایمنی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) تغذیه‌شده با سطوح مختلف کارواکرول، آنتون و لیمونن نتیجه گرفتند که سطح ۲ گرم در کیلوگرم افزودنی گیاهی دوز مطلوبی برای پرورش کپور ماهیان بوده و باعث افزایش در شاخص‌های رشد، کاهش ضریب تبدیل غذایی، افزایش تعداد گلبول‌های سفید، درصد لنفوسیت و افزایش فعالیت لیز وزیم به عنوان ایمنی غیراختصاصی و IgM به عنوان ایمنی اختصاصی در بچه کپور ماهیان شده است. در پژوهش حاضر نیز بیشترین میزان لیز وزیم به عنوان ایمنی غیراختصاصی به ترتیب در تیمارهای ۲ و ۱/۵ گرم در کیلوگرم مشاهده گردید و درصد لنفوسیت در هر سه تیمار آزمایشی نسبت به شاهد بالاتر بود ($P < 0.05$).

همچنین در تحقیق مشابه دیگری رئیسی و همکاران (۱۳۹۳) اعلام نمودند که در مطالعه تأثیر اسانس گیاهان پونه کوهی (*Mentha longifolia*) و رازیانه (بادیان) (*Foeniculum vulgare*) و آویشن شیرازی (*Zataria multiflora*) بر ایمنی غیراختصاصی ماهی استرلیاد (*Acipenser ruthenus*) نتایج حاکی از ارتقاء برخی شاخص‌های ایمنی سلولی و همورال بخصوص لیز وزیم و IgM و درصد نوترون‌ها در ماهی استرلیاد متعاقب استفاده از اسانس گیاهان مورد اشاره می‌باشد.

نجف پور مقدم و همکاران (۱۳۹۲) در اظهارنظری متفاوت از نتایج این تحقیق استفاده از غلظت ۰/۵ درصد عصاره گل سردار گل (*Echinacea purpurea*) بر شاخص‌های ایمنی غیراختصاصی ماهی استرلیاد را بی‌تأثیر عنوان کردند، اگرچه غلظت بیش‌تر از (۱ و ۲ درصد) افزایش معنی‌داری در میزان لیز وزیم، پروتئین تام و ایموگلوبولین M را منجر شده بود.

استفاده از انواع متنوع افزودنی‌های گیاهی به منظور ارتقای شاخص‌های رشد و بهبود پارامترهای خونی و ایمنی ماهیان نیاز به مطالعات بیشتری بر روی سنین مختلف گونه‌های ماهیان دارد تا بتوان نتایج ضدونقیض دانشمندان را تفسیر نمود. باین وجود، اختلاف موجود در نتایج تحقیقات دانشمندان مختلف را می‌توان به نوع گونه پرورشی، اندازه، سن، طول دوره پرورش، شرایط محیطی، رفتارهای تغذیه‌ای، خصوصیات فیزیولوژیک گونه، نوع مواد اولیه به کاررفته در تهیه جیره‌های غذایی، کمیت و کیفیت آن‌ها، نوع افزودنی گیاهی و ترکیب انواع اسانس‌های آن و میزان سطح مورد استفاده ربط داد (طاعتی و نوعی تعادلی، ۱۳۹۴).

به‌طور کلی نظر به نتایج به‌دست‌آمده در این مطالعه سطح ۲ گرم در کیلوگرم افزودنی گیاهی میزان مناسبی برای پرورش بچه ماهیان استرلیاد به شمار می‌رود، همچنین در این تحقیق می‌توان به بهبود سیستم ایمنی غیراختصاصی بر اساس افزایش معنی‌دار لیز وزیم در این تیمار و نیز افزایش ایموگلوبولین کل و ایموگلوبولین M (از پارامترهای ایمنی اختصاصی) و درصد لنفوسیت‌ها و منوسیت‌ها در گروه آزمایشی پیشنهادی (سطح ۲ گرم در کیلوگرم افزودنی گیاهی) نسبت به گروه شاهد اشاره نمود.

منابع

- احمدی، ک.، وثوقی، ع. ا.، میر واقفی، ع.ر.، عطایی مهر، ب. و بنایی، م.، ۱۳۸۹. تأثیر عصاره خوراکی گیاه دارویی خار مریم بر برخی فاکتورهای ایمنی غیراختصاصی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان. زیست‌شناسی دریا، سال دوم، شماره ۷، صفحات ۲۶-۱۹.
- احمدی فر، الف.، اکرمی، ر.، پور علی مطلق، س.، قلیچی، الف. و نوری، س.، ۱۳۸۹. استفاده از افزودنی Next Enhance ۱۵۰ (تیمور و کارواکرو) به‌منظور بررسی کارایی رشد، ترکیبات مغذی بدن و شاخص‌های خونی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). مجله دانشگاه آزاد اسلامی واحد آزادشهر، سال چهارم، شماره چهارم، صفحات ۸۳-۹۱.
- امید بیگی، ر.، ۱۳۹۰. تولید و فرآوری گیاهان دارویی. جلد دوم، انتشارات: آستان قدس رضوی، ۲۴۵ ص.
- بهمنی، م.، کاظمی، ر.، امینی، ک.، محسنی، م.، دونسکایا، پ. و. و پیسکونووا، ل. ن.، ۱۳۸۳. گزارش نهایی پروژه ارزیابی کیفی تاس ماهیان چندین ساله در شرایط پرورش مصنوعی. پروژه مشترک با انستیتو KaspNIRKH روسیه، انتشارات موسسه تحقیقات شیلات ایران، ۷۷ ص.
- بهمنی، م.، کاظمی، ر.، وهابی، ی.، حالجیان، ع.، محسنی، م.، پور دهقانی، م.، یوسفی، الف. و دژندیان، س.، ۱۳۸۶. گزارش نهایی پروژه بررسی امکان تکثیر مصنوعی ماهی ازون برون پرورشی (مولدسازی، تکثیر مصنوعی و تولید بچه ماهی از متولیدین تاس ماهیان پرورشی). انتشارات موسسه تحقیقات شیلات ایران، ۱۳۲ ص.
- بهمنی، م.، کاظمی، ر.، وهابی، ی.، حالجیان، ع.، ملک زاده، م.، ر.، محسنی، م. و مجازی امیری، ب.، ۱۳۸۴. گزارش نهایی پروژه مطالعه فیزیولوژیک جهت بررسی نارسایی‌ها در القای تکثیر مصنوعی ماهی ازون برون. انتشارات موسسه تحقیقات شیلات ایران، ۱۰۶ ص.
- جایمند، ک.، میرزا، م.، جمزاد، ز. و وفاکر باهر، ز.، ۱۳۸۰. بررسی اسانس پونه *Mentha longifolia*. فصلنامه تحقیقات گیاهان دارویی و معطر، شماره ۱۱، صفحات ۱-۹.
- چگینی، ح.، ر.، امیر کلایی، ع. و.، جعفرپور، ع. و فیروز بخش، ف.، ۱۳۹۱. اثر مکمل سایونین بر پارامترهای رشد و ترکیب شیمیایی لاشه لاروهای قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). مجله بهره‌برداری و پرورش آبزیان، جلد اول، شماره اول، صفحات ۵۲-۴۱.
- حسینی فر، ح.، میر واقفی، ع.، مجازی امیری، ب.، خوش‌باور رستمی، ح. و درویش بسطامی، ک.، ۱۳۹۰. بررسی تأثیر پریبیوتیک الیگوفروکتوز بر پارهای از شاخص‌های خونی بچه‌فیل‌ماهیان پرورشی (*Huso huso*). مجله علمی شیلات ایران، ۲۰(۲): ۳۶-۲۷.
- رجحان، م.، ۱۳۸۷. دارو و درمان گیاهی. انتشارات فرهیختگان علوی، چاپ پنجم، صفحه ۲۸۷.
- روزی، ی.، مورکی، ن.، ذریه زهرا، س.ج. و حقیقی، م.، ۱۳۹۲. بررسی اثر سطوح مختلف پودر دارچین در جیره غذایی ماهی گرین ترور (*Andinocara rivulatus*) بر شاخص‌های خونی، گلوکز خون و میزان بقا. فصلنامه علوم تکثیر و آبی‌پروری. سال اول، پیش‌شماره سوم، صفحات ۵۲-۴۱.
- رئیس، م.، فخریان، م.، جعفریان، م. و ورشوئی، ح.، ۱۳۹۳. مطالعه تأثیر اسانس برخی گیاهان بر ایمنی غیراختصاصی ماهی استرلیاد (*Acipenser ruthenus*). مجله زیست‌شناسی دریا، سال ششم، شماره بیست و یکم، صفحات ۲۸-۲۳.
- زرگری، ع.، ۱۳۹۰. گیاهان دارویی. انتشارات دانشگاه تهران، ۸۳۶ ص.
- سید حسنی، م.، ح.، محسنی، م.، پور علی، ح. ر. و یزدانی ساداتی، م.، ۱۳۹۲. تأثیر سطوح پروتئین و نسبت‌های مختلف کربوهیدرات به چربی بر رشد و ترکیب بیوشیمیایی لاشه فیل‌ماهی جوان پرورشی (*Huso huso*). فصلنامه علوم و فنون شیلات، دوره دوم، شماره ۱، صفحات ۷۰-۵۵.
- طاعتی، ر.، نوعی تعالی، ح.، ۱۳۹۴. تعیین عملکرد رشد و برخی از پارامترهای خونی و ایمنی بچه ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) تغذیه‌شده با سطوح مختلف کارواکرو، آنتون و لیمون. مجله زیست‌شناسی دریا، سال ششم، شماره بیست و پنجم، صفحات ۴۲-۳۵.
- عامری مهابادی، م.، ۱۳۸۷. روش‌های آزمایشگاهی هماتولوژی دامپزشکی. انتشارات دانشگاه تهران، ۱۲۶ ص.
- علیشاهی، م.، سلطانی، م.، مصباح، م. و زرگر، ا.، ۱۳۹۱. اثرات تحریک ایمنی و رشد لوامیزول، ارگوسان و سه عصاره گیاهی در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). مجله تحقیقات دامپزشکی، شماره ۲، صفحات ۱۵۵-۱۴۹.
- فلاح‌ت کار، ب.، سلطانی، م.، ابطحی، ب.، لباسی، م.، ر.، پور کاظمی، م. و یاسمی، م.، ۱۳۸۵. تأثیر ویتامین C بر برخی پارامترهای رشد، نرخ بازماندگی و شاخص کبدی در فیل‌ماهیان جوان پرورشی. مجله پژوهش سازندگی، شماره ۷۲، صفحات ۱۰۳-۹۸.

تعیین برخی شاخص‌های خونی و ایمنی بچه ماهیان استرلیاد (*Acipenser ruthenus*) تغذیه‌شده با سطوح مختلف افزودنی گیاهی / بیشه‌بان و همکاران

- قاسمی پیر بلوطی، ع.، پیر علی، ا.، پیشکار، غ.، جلالی، م.، ع.، رئیس، م.، جعفریان، م. و حامدی، ب.، ۱۳۹۰. اثر اسانس چند گیاه دارویی بر سیستم ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). فصلنامه داروهای گیاهی، سال دوم، شماره ۲، صفحات ۱۵۵-۱۴۹.
- قهرمان، الف.، ۱۳۸۷. کروموفیت‌های ایران. (سیستماتیک گیاهی) جلد سوم، انتشارات مرکز نشر دانشگاهی، ۷۷۵ ص.
- کاظمی، ر.، پور دهقانی، م.، یوسفی جوردی، الف.، یارمحمدی، م. و نصری تجن، م.، ۱۳۸۹. فیزیولوژی دستگاه گردش خون آبزیان و فنون کاربردی خون‌شناسی ماهیان. انتشارات بازرگان، ۱۹۴ ص.
- نجف پور مقدم، م.، سلاطی، ا. پ.، کیوان شکوه، س.، یآوری، و. و پاشا زانوسی، ح.، ۱۳۹۲. تأثیر عصاره خوراکی گیاه دارویی سرخارگل (*Echinacea purpurea*) بر برخی شاخص‌های خونی ماهی استرلیاد (*Acipenser ruthenus*). سومین همایش ملی کشاورزی، آبزیان و غذا.
- یوسفی جوردی، الف.، سوداگر، م.، بهمنی، م.، حسینی، س. ع.، دهقانی، الف. الف. و یزدانی، م. ع.، ۱۳۹۲. مقایسه اثرات فیتواستروژن‌های جنی استین و اکوال بر سطوح هورمون‌های استروئید جنسی در فیل‌ماهی ماده (*Huso huso*) پرورشی. فصلنامه محیط‌زیست جانوری، سال پنجم، شماره ۲، صفحات ۵۷-۵۱.
- Alishahi, M., Ranjbar, M. M., Ghorbanpour, M., Peyghan, R., Mesbah, M. and Razi Jalali, M., 2010. Effects of dietary *Aloe vera* on some specific and nonspecific immunity in the common carp (*Cyprinus carpio*). International Journal of Veterinary Research, 4(3): 189-195.
- Aly, S.M. and Mohamed, M. F., 2010. Echinacea purpurea and Alliumsativum as immunostimulants in fish culture using Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 94: 31-39.
- Aly, S.M., Mohamed, M. F. and John, G., 2008. Echinacea as immunostimulatory agent in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) via earthen pond experiment. 8th International Symposium on Tilapia in Aquaculture.
- Ardo, L., Yin, G., Xu, P., Varadi, L., Szigeti, G., Jeney, Z. and 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.
- Ashraf, M. A. and Goda, S., 2008. Effect of Dietary Ginseng Herb (Ginsana-G115) supplementation on growth, feed utilization, and hematological indices of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), fingerlings. Journal of the World Aquaculture Society, 39: 205-214.
- Ayokanmi dada, A., 2012. Effects of herbal growth promoter feed additive in fish meal on the performance of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). The Egyptian Academic Journal of Biological Sciences, 4(1): 111-117.
- Bahmani, M., Kazemi, R. and Donskaya, P., 2001. A comparative study of some haematological features in young reared sturgeons (*Acipenser persicus* and *Huso huso*). Fish Physiology and Biochemistry, 24: 135-140.
- Biomin P. E. P., 2014. Trial Trial with Channel Catfish (*Ictalurus punctatus*). Biomin® Trials is published by the export department of Biomin Holding GmbH Editor: Goncalo Santos Industriestrasse 21, A-3130 Herzogenburg, Austria. 4P.
- Brett, J. R. and Groves, T. D. D., 1979. Physiology energetics. In: W.S. Hoar, D.j. Randall and J.R. Brett (eds). Fish physiology. Academic Press. New York, USA. Vol.VIII, pp: 279-352.
- Brunt, J. and Austin, B., 2005. Use of a probiotic to control lactococcosis and streptococcosis in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Journal of Fish Disease, 28:693-701.
- Chebanov, M. and Billard, R., 2001. The culture of sturgeon in Russia: production of juveniles for stocking and meat for human consumption. Aqua Living Resource, 14: 375-381.
- Chen, X., Wu, Z., Yin, J. and Li, L., 2003. Effects of four species of herbs on immune function of *Carassius auratus gibelio*. Journal of Fishery Sciences of China. 10:36-40.
- Deng, K., 2000. Artificial reproduction and early life stages of the green sturgeon (*Acipenser medirostris*). M.Sc thesis, University of California, Davis. 63p.
- Dey, R. K. and Chandra, S., 1995. Preliminary studies to raise disease resistant seed (fry) of Indian major carp, *Catla catla* (Ham.) through herbal treatment of spawn. Fishing Chimes, 23-25 (March).
- Dixon, B. and Stet, R. J. M., 2001. Aquaculture biotechnology, the relationship between major histocompatibility receptors and innate immunity in teleost fish. Developmental and Compative Immunology-Journal, 25: 683-699.

- Ellis, A. E., 1990.** Lysozyme assays. In: Techniques in Fish Immunology. Stolen, J.S., Fletcher, D.P., Anderson, B.S. and Van Muiswinkel, W.B. (eds). SOS Publication, USA. pp. 101-103.
- Francis, G., Makkar, H. P. S. and Becker, K., 2001.** Effects of Quillaja saponins on growth, metabolism, egg production, and muscle cholesterol in individually reared Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Comparative Biochemistry and Physiology, 129: 105-114.
- Guojun, Y., Galina, J., Timea, R., Pao Xu Xie, J. and Zsigmond, J., 2006.** Effect of two Chinese herbs (*Astragalus radix* and *Scutellaria radix*) on non-specific immune response of tilapia, *Oreochromis niloticus*. Aquaculture, 253: 39-47.
- Guz, L., Sopinska, A. and Oniszczyk, T., 2011.** Effect of Echinacea purpurea on growth and survival of guppy (*Poecilia reticulata*) challenged with *Aeromonas bestiarum*. Aquaculture Nutrition, 17: 695-700.
- Hajibeglou, A. and Sudagar, M., 2010.** Immune response of common carp (*Cyprinus caprio*) fed with herbal immunostimulants diets. Agricultural Journal, 5(3): 163-172.
- Harikrishnan, R., Balasundaram, C. and Heo, M. S., 2011.** Impact of plant products on innate and adaptive immune system of cultured finfish and shellfish. Aquaculture, 317: 1-15.
- Hosseinfar, S.H., Zare, P. and Merrifield, D.L., 2010.** The effects of inulin on growth factors and survival of the Indian white shrimp larvae and post-larvae (*Fenneropenaeus indicus*). Aquaculture Research, 41(9): 348-352.
- Hung, S. S. O. and Lutes, P. B., 1987.** Optimum feeding rate of hatchery produced juvenile white Sturgeon (*Acipenser transmontanus*) at 20 C. Aquaculture, 65: 307-317.
- Irianto, A. and Austin, B., 2002.** Use of probiotics to control furunculosis in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Journal of Fish Disease, 25: 333-342.
- Jalali-hajiabadi, M. A., Sadeghi, A. A., Mahbobi sofiyani, N., Chamani, M. and Riyazi, Gh., 2009.** The effect of dietary L-carnitine supplementation on blood factors and growth of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Journal of Agriculture Science and Natural resource, 47: 105-115.
- Khoshbavar Rostami, H., Soltani, M. and Hassani, M. D., 2006.** Hematological and biochemical changes in blood serum of beluga fry sturgeon (*Huso huso*) after chronic exposure to diazinon. Iranian Journal of Fisheries Sciences, 5(2): 53-66.
- Klontz, G. W., 1994.** Fish hematology. In: Techniques in fish immunology. Stolen, J.S., Fletcher, T.C., Rowley, A.F., Kelikoff, T.C., Kaatari, S.L. and Smith, S.A. (eds). Vol. 3. SOS Publications, Fair Haven, New Jersey, USA. pp.121-132.
- Li, P. and Galtin III, D. M., 2005.** Evaluation of the prebiotic Grobionic AE and brewers yeast as dietary supplements for sub adult hybride Striped bass (*Morone chrysops* × *M. saxatilis*) challenged in situ with *Mycobacterium marinum*. Aquaculture, 248: 197-205.
- Lim, C., Klesius, P. H., Li, M. H. and Robinson, E. H., 2000.** Interaction between dietary levels of iron and vitamin C on growth, hematology, immune response and resistance of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) to *Edwardsiella ictaluri* challenge. Aquaculture, 185: 313-327.
- Lopez-Madrid, W., Olvera-Nova, M.A., Guzman-Mendez, B. E. and Lara-Flores, M., 2003.** Use of the bacteria *Sterptococcus faecium* and *lactobacillus* and the yeast *Sacchchromyces cervisia* as growth parameter in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Aquaculture, 216:193-210.
- Nguyen, T. T. T., Mukherjee, S. C. and Pani, P. K., 2002.** Studies on the immunostimulatory effect of certain plant extracts on fish. Abstracts: AH-13, The Sixth Indian Fisheries Forum, Mumbai, India:153 pp.
- Oskoi Bohlouli, S., Tahmasebi Kohyani, A., Paresh, A., Salati, A. P. and Sadeghi, E., 2011.** Effects of dietary administration of *Echinacea purpurea* on growth indices and biochemical and hematological indices in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fingerlings. Fish Physiology and Biochemistry, 38: 1029-1034.
- Raissy, M. and Moumeni, M., 2014.** Detection of antibiotic resistance genes in some *Lactococcus garvieae* strains isolated from infected rainbow trout. Iranian Journal of Fisheries Sciences, Accepted.
- Rao, Y. Y., Das, B. K., Iyotymayee, P. and 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.

- Salaby, S., Das, B. K., Pradhan, I., Mohapatra, B. C., Mishra, B. K. and Sarangi, N., 2006.** Effect of *Magnifera indica* kernel as a feed additive on immunity and resistance to *Aeromonas hydrophila* in *Labeo rohita* finger lings. *Fish and Shellfish immunology*, 23: 109-118.
- Skjermo, J. and Vadstein, O., 1999.** Techniques for microbial control in the intensive rearing of marine larvae. *Aquaculture*, 177: 333-334.
- Talpur, A. D., 2014.** *Mentha piperita* (Peppermint) as feed additive enhanced growth performance, survival, immune response and disease resistance of Asian seabass, *Lates calcarifer* (Bloch) against *Vibrio harveyi* infection. *Aquaculture*, (420-421): 71-78.
- Tan, K. H. and Vanitha, J., 2004.** Immuno modulatory and antimicrobial Effects of some Traditional chinese medicinal herbs: A Review., *Current medicinal chemistry*, 11:1423-1430.
- Yamamoto, T. and Yonemasu, K., 1999.** Multiple molecular forms of serum immunoglobulin M in a patient with Waldenstrom's macroglobulinemia. *Clinica Chimica Acta*, 289: 173-176.
- Yousefi Jourdehi, A., Sudagar, M., Bahmani, M., Hosseini, S. A., Dehghani, A. A. and Yazdani, M. A., 2014.** Comparative study of dietary soy phytoestrogens genistein and equol effects on growth parameters and ovarian development in farmed female beluga sturgeon, *Huso huso*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 40: 117-128.