



مقاله علمی - پژوهشی:

ارزیابی تجویز جیره‌ای ترکیب گزنه (*Urtica dioica*) و آقطی (*Sambucus ebulus*) بر شاخص‌های رشد، خون، ایمنی و بازماندگی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در مواجهه با آئروموناس هیدروفیلا (*Aeromonas hydrophilla*)

محمد بینائی^۱، ابولفضل سپهداری^۲، مریم قیاسی^{۳*}، علیرضا باباعلیان امیری^۳، حمزه علی متانی^۴، فرشیده حبیبی^۱

*ghiasimaryam4@gmail.com

۱ - پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، ساری، ایران.

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

۳ - اداره بهداشت و مدیریت بیماریهای آبزیان، اداره کل دامپزشکی استان مازندران، ساری، ایران.

۴ - مرکز بازسازی و حفاظت از ذخایر ژنتیکی آبزیان شهید رجایی، ساری، ایران.

تاریخ پذیرش: مهر ۱۴۰۱

تاریخ دریافت: شهریور ۱۴۰۱

چکیده

در این بررسی پودر برگ خشک گیاهان گزنه و آقطی در دو ترکیب و سه تیمار، تیمار ۱ (۵۰ گرم آقطی + ۶۰ گرم گزنه در هر کیلو گرم جیره)، تیمار ۲ (۵۰ گرم آقطی + ۱۲۰ گرم گزنه در هر کیلوگرم جیره) و شاهد (جیره معمولی) به جیره غذایی افزوده و طی ۸ هفته تعداد ۱۸۰ عدد ماهی کپور (گرم $2/74 \pm 52/64$) با آن تغذیه شدند. خونگیری در هفته ۴ و ۸ آزمایش و زیست‌سنجی در پایان دوره انجام شد. در پایان هفته ۸ ماهیان با باکتری آئروموناس هیدروفیلا مواجهه داده شدند. نتایج نشان داد که وزن نهایی، افزایش وزن بدن و ضریب رشد ویژه در تیمار ۲ و میزان ضریب تبدیل غذایی این تیمار در مقایسه با شاهد به طور معنی‌داری به ترتیب افزایش و کاهش داشت. ولی مقادیر MCHC، MCH، MCV، گلوکز، کلسترول، آلبومین، آلانین آمینوترانسفراز و آسپاراتات آمینوترانسفراز تفاوت معنی‌داری بین تیمارها و شاهد نشان ندادند. در هفته ۴ و ۸، میزان گلبول‌های قرمز، هماتوکریت و هموگلوبین تیمارها به طور معنی‌داری بیشتر از شاهد بود. در پایان هفته ۴، میزان گلبول سفید بین تیمار ۲ و شاهد تفاوت معنی‌دار داشت، ولی در پایان هفته ۸، این شاخص در تیمارها افزایش معنی‌داری نسبت به شاهد داشت. درصد سلول‌های نوتروفیل، پروتئین تام و IgM تیمارها در هفته ۴ و ۸ افزایش معنی‌داری در مقایسه با شاهد داشت. میزان تری‌گلیسرید تیمارها در هفته ۸ کاهش معنی‌داری در مقایسه با شاهد داشت. طی هفته ۴ و ۸، فعالیت لیزوزیم تیمارها در مقایسه با شاهد افزایش معنی‌داری داشت و بیشترین فعالیت در تیمار ۲ بود. در هفته ۴، تولید رادیکال آزاد اکسیژن تیمار ۲ افزایش معنی‌داری در مقایسه با شاهد داشت، ولی در هفته ۸، افزایش معنی‌دار در تیمارها نسبت به شاهد دیده شد. درصد بقاء پس از مواجهه با باکتری آئروموناس هیدروفیلا در تیمار ۱، ۲ و شاهد به ترتیب ۷۱/۶، ۶۹/۹ و ۲۲/۶ درصد بود. نتایج این بررسی نشان داد که استفاده از ترکیب دو گیاه گزنه و آقطی در هر دو تیمار می‌تواند موجب بهبود رشد و ایمنی در ماهیان کپور گردد، ولی تیمار ۲ نتایج بهتری داشت.

لغات کلیدی: کپور، آئروموناس هیدروفیلا، گزنه، آقطی، پروتئین تام سرم، لیزوزیم، ضریب رشد ویژه

*نویسنده مسئول

مقدمه

ماهی کپور از مهم‌ترین گونه‌های ماهیان استخوانی است که به دلیل ویژگی‌های منحصربه‌فرد خود به یکی از مهم‌ترین گونه‌های پرورشی در دنیا تبدیل شده و میزان تولید آن در سال ۲۰۱۹ به ۲۸ میلیون تن رسیده است (Raftowicz, 2020). در صنعت آبی‌پروری ایران، کپور ماهیان از جایگاه ویژه‌ای برخوردارند (حسینی شکرابی و همکاران، ۱۴۰۰) و میزان تولید آنها طی سالهای ۹۹-۱۳۹۴، یک افزایش ۱۹/۲ درصدی نشان داد. ولی این افزایش تولید فقط با ۷/۲٪ افزایش مساحت زیر کشت همراه بوده است (سالنامه آماری شیلات ایران، ۱۴۰۰) و افزایش تولید به‌دست آمده ناشی از افزایش تراکم در واحد سطح بوده است. امروزه به دلیل محدودیت منابع آب و زمین، آبی‌پروری به سمت سیستم‌های پرورش نیمه متراکم و متراکم سوق داده شده ولی این افزایش تراکم موجب بروز استرس و در نهایت تضعیف ایمنی ماهیان شده است (Hoseini et al., 2019; Fazelan et al., 2019). و زمینه ابتلا آنها را به بیماری‌های عفونی فراهم می‌کند. یکی از مهم‌ترین و متداول‌ترین باکتری‌های بیماری‌زا در ماهیان کپور پرورشی *آئروموناس هیدروفیلا* می‌باشد. هرچند مطالعات نشان می‌دهد، این باکتری در شرایط عادی جزو فلور طبیعی آب محل پرورش، پوست و دستگاه گوارش این ماهیان است، ولی در شرایط بروز استرس می‌تواند موجب سپتی سمی، درماتیت همراه با خونریزی و در نهایت مرگ ماهیان شود (Ruzauskas et al., 2021). از سوی دیگر، مشخص شده، پلاسمیدها به عنوان DNA خارج کروموزومی، کد کننده حدت این باکتری بوده است و با قابلیت انتقال در بین نمونه‌های *آئروموناس هیدروفیلا*، نقش مهمی در افزایش مقاومت میکروبی و بروز حدت در این گروه از باکتری‌ها دارند. لذا، استفاده مکرر از آنتی‌بیوتیک‌ها در آبی‌پروری می‌تواند منجر به افزایش مقاومت در این باکتری از طریق انتقال پلاسمیدها شود و از سوی دیگر، سطوح غیرقابل قبول بقایای آنتی‌بیوتیک را در گوشت ماهیان ایجاد کند (Stratev and Odeyemi, 2016). هرچند واکسیناسیون با واکسن‌های کشته و تخفیف حدت‌یافته برای کنترل عفونت ناشی از این باکتری در ماهیان از نتایج بسیار خوبی برخوردار بوده (Mzula et al., 2019)، ولی تاثیر

شرایط محیطی بر کارایی واکسن، خطر جهش در جهت افزایش حدت در واکسن‌های تخفیف حدت یافته، ایجاد استرس در واکسیناسیون به روش تزریقی، هزینه بالا و دشواری واکسیناسیون به روش تزریقی برای مقیاسی بزرگ از ماهیان، مهم‌ترین مشکل در مسیر توسعه واکسیناسیون در برابر این باکتری بوده و نیازمندی به مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها را به طور کامل برطرف ننموده است (Sihag and Sharma, 2012; Soliman et al., 2019). بنابراین، تقاضا برای جایگزینی محصولات طبیعی به جای آنتی‌بیوتیک‌ها با تمرکز بر گیاهان دارویی که با محیط و بهداشت عمومی سازگاری دارند، افزایش یافته است. گیاهان دارویی به دلیل داشتن اثرات ضد استرس، ضد التهاب، تحریک کننده سیستم ایمنی، خواص ضد میکروبی و انگلی، محرک رشد و خواص آنتی‌اکسیدانی، داشتن متابولیت‌های بی‌ضرر و قیمت ارزان، از مهم‌ترین گزینه‌ها در جهت ارتقاء سلامت و ایمنی ماهیان شناخته شده‌اند (Elumalai et al., 2020). گزنه (*Urtica dioica*) و آقطی (*Sambucus ebulus*) دو گیاه دارویی شناخته شده بومی در استان مازندران هستند (کاظمی تبار و همکاران، ۱۳۹۴; Shokrzadeh and Saeedi, 2010). ترکیبات فنلی و فلاونوئیدها، تانن‌ها، ترکیبات فرار، اسیدهای چرب، پلی ساکاریدها، کومارین، ایزولکتین‌ها، استرول‌ها، ترین‌ها، پروتئین‌ها، ویتامین‌ها (به‌خصوص ویتامین C) و مواد معدنی (به‌خصوص آهن)، از جمله اجزاء شیمیایی اصلی گیاه گزنه هستند (Joshi et al., 2014). مطالعات مختلف نشان داده، استفاده از گیاه گزنه موجب بهبود شاخص‌های خونی، سرمی، ایمنی و رشد در قزل آلا (گرابلی افرا و همکاران، ۱۳۹۸; Bilen et al., 2016; Saeidi et al., 2017; Mehrabi et al., 2020; Zare et al., 2021)، فیل ماهی (Binaii et al., 2015; Nobahar et al., 2014)، ماهی *Lebao* (*Labeo victorianus*) (Ngugi et al., 2015) و سیچلید گورخری (*Amatitlania nigrofasciata*) (Jafari et al., 2022) شده است. مهم‌ترین ترکیبات شناخته شده در گیاه آقطی شامل فلاونوئیدها (روتین، کوئرستین، ایزوکوئرستین، آستراگالین و نیکتوفلورین)، اسیدهای فنلی، موسیلاژ، تانن، آلکالوئیدها، تری‌ترین، پکتین، رزین، ویتامین‌های A و C، آنتوسیانین، سیانوژیک

گلیکوزید (سامبونیگرین)، گلی کوزیدهای قلبی، مشتقات کافئیک اسید، انواع ابولیتین و مواد فرار هستند (مازندرانی و همکاران ۱۳۹۰; Shokrzadeh and Saeedi Saravi, 2010). اطلاعات در خصوص تأثیر این گیاه بر ماهیان نسبتاً محدود است، ولی مطالعات نشان داده که تجویز جیره‌ای آن به صورت برگ خشک یا عصاره، اثرات مثبتی بر شاخص‌های خونی، سرمی، ایمنی و رشد در قزل‌آلا (Ghiasi et al., 2018 a,b) و کپور پرورشی (حسینی شکرآبی و همکاران، ۱۴۰۰) داشته است. مطالعات متعدد نشان داده که استفاده هم‌زمان از دو یا چند گیاه دارویی در دوز مشابه، از اثربخشی بیشتری نسبت به زمانی که فقط از یک گیاه استفاده شده است، وجود دارد و این امر احتمالاً می‌تواند به اثرات تقویت‌کنندگی (سینرژیستی) ترکیبات فعال (بیواکتیو) موجود در گیاهان و اثر آنها بر عملکرد سیستم ایمنی، گوارش و بافت خونساز ماهیان مرتبط باشد (Elabd et al., 2016; Hoseinifar et al., 2017; Jahanjoo et al., 2018; Xu et al., 2020; Ghafarifarسانی et al., 2021; Raissy et al., 2022). این موضوع به‌خوبی اثبات شده است که غذا بخش مهمی از هزینه آبی‌پروری در سیستم متراکم (۸۰ - ۵۰٪ مخارج تولید) را به‌خود اختصاص می‌دهد. لذا، به‌کارگیری مکمل‌های غذایی ارزان با اثرات بهبود بخشی به رشد و ایمنی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (Hoseinifar et al., 2017). با توجه به اثرات مثبت دو گیاه گزنه و آقطی بر شاخص‌های رشد، ایمنی، سرم و خون در ماهیان مختلف، در این مطالعه تلاش شده است، اثرات ناشی از مصرف جیره‌ای ترکیب این دو گیاه بر شاخص‌های خون، ایمنی، رشد و مقاومت در برابر باکتری *آئروموناس هیدروفیلا* در ماهی کپور مورد ارزیابی قرار گیرد.

روش کار

آماده‌سازی جیره

برگ گیاهان گزنه و آقطی پس از جمع‌آوری (از منطقه عباس آباد بهشهر و شناسایی و تأیید در مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان مازندران)، در سایه خشک و با استفاده از آسیاب برقی پودر شده و تا زمان استفاده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. این

تحقیق در ۳ تیمار (هر تیمار شامل سه تکرار)، تیمار ۱ (۵۰ گرم آقطی + ۶۰ گرم گزنه در هر کیلو گرم جیره)، تیمار ۲ (۵۰ گرم آقطی + ۱۲۰ گرم گزنه در هر کیلوگرم جیره) و شاهد (بدون افزودن گیاه) طراحی شد. مقدار مصرف گیاهان در جیره براساس نتایج حاصل از مطالعات قبلی انجام شده بر گزنه و آقطی در پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، انتخاب گردید (Binaii et al., 2014; Ghiasi et al., 2018 a,b). برای کار از جیره تجاری (شرکت ۲۱ بیضا، ایران) مخصوص کپور ماهیان (حاوی ۳۶/۵ درصد پروتئین، ۸/۷ درصد چربی، ۹/۷ درصد خاکستر و میزان انرژی ۳۹۵۰ کیلوکالری بر کیلوگرم جیره) استفاده شد. جیره تجاری با آب مخلوط (۱۰۰ میلی‌لیتر برای یک کیلو غذا) و با خردکن آسیاب و مقادیر مورد نظر پودر برگ به آن اضافه شد و با دستگاه پلت ساز (تکنو صنعت، ایران) پلت‌هایی با قطر ۵ میلی‌متر تهیه شد. پلت‌های مذکور به مدت ۱۸ ساعت در ۴۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند، سپس در کیسه‌های پلاستیکی بسته‌بندی شده و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد تا زمان مصرف نگهداری شدند (Binaii et al., 2014).

سیستم پرورش

تعداد ۱۸۰ عدد ماهی کپور معمولی (میانگین وزن اولیه ۵۲/۶۴±۲/۷۴ گرم) تهیه شده از مرکز بازاری و حفاظت از ذخایر ژنتیکی آبزیان شهید رجایی (ساری - سمسکنده) در ۹ ونیر با گنجایش ۲۰۰۰ لیتر آب (با احتساب سه تیمار با سه تکرار و هر تکرار حاوی ۳۰ عدد ماهی) تقسیم شدند. پس از اطمینان از سلامت ماهیان (دو هفته آدپتاسیون)، با جیره‌های پیش بینی شده به مدت ۸ هفته تغذیه شدند. منبع آب چاه و میانگین شاخص‌های فیزیکی و شیمیایی آب طی دوره آزمایش شامل اکسیژن محلول (۷/۸±۰/۶ میلی‌گرم در لیتر)، دما (۲۲/۲±۱/۲) درجه سانتی‌گراد) و pH (۷/۸±۰/۴) بود. میزان غذای روزانه ماهیان بر حسب درصد وزن بدن، دمای آب و بر اساس جدول غذایی، ۳-۳/۵ درصد وزن بدن و غذادهی سه با در روز (صبح، ظهر، عصر) به صورت دستی انجام شد. روزانه مدفوع و سایر مواد باقی‌مانده از کف ونیروها سیفون و حدود یک سوم آب هر ونیرو تعویض شد.

زیست‌سنجی و خون‌گیری

در پایان هفته ۴ و ۸ آزمایش، پس از ۲۴ ساعت قطع غذا، ۱۲ ماهی از هر تیمار (۴ ماهی از هر تکرار) به طور تصادفی صید و بیهوش شده (پودر گل میخک ۰/۵ گرم در لیتر) و با ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم وزن شدند و خون‌گیری از ساقه دمی ۹ ماهی از هر تیمار با سرنگ استریل انجام شد. از هر ماهی حدود دو میلی‌لیتر خون

اندازه‌گیری شاخص‌های رشد

افزایش وزن بدن: وزن ابتدایی بر حسب گرم - وزن نهایی بر حسب گرم = افزایش وزن بدن (گرم)
ضریب رشد ویژه: $100 \times \{(\text{تعداد روزهای پرورش}) / (\text{میانگین وزن اولیه} - \text{میانگین وزن ثانویه})\}$
ضریب تبدیل غذایی: افزایش وزن بدن بر حسب گرم / مقدار غذای خورده شده بر حسب گرم (Tacon, 1990)

اندازه‌گیری شاخص‌های خونی

برای شمارش گلبولی، نمونه خون با محلول ریس به نسبت ۱ به ۲۰۰ (برای گلبول قرمز) و ۱ به ۲۰ (برای گلبول سفید) رقیق شده و در نهایت سلول‌ها با استفاده از لام هموسیتمتر شمارش شدند. میزان هماتوکریت با استفاده از لوله میکروهماتوکریت پس از سانتریفوژ (۵ دقیقه در ۱۰۰۰ دور در دقیقه) با استفاده از خط‌کش مخصوص انجام گردید. میزان هموگلوبین نیز با استفاده از روش سیانومت هموگلوبین انجام شد. شمارش افتراقی گلبول‌های سفید خون با تهیه گسترش خون و رنگ آمیزی با رنگ گیمسا و شمارش در زیر میکروسکوپ نوری انجام شد. حجم متوسط گلبولی (MCV)، میزان هموگلوبین گلبولی (MCH)، غلظت متوسط هموگلوبین گلبولی (MCHC) براساس فرمول‌های مربوطه محاسبه گردید (Blaxhall and Daisley, 1973).

اندازه‌گیری شاخص‌های سرمی و ایمنی

شاخص‌های چون گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسرید، پروتئین تام سرم، آلبومین، آلانین آمینوترانسفراز، آلانین آسپارات آمینو ترانسفراز و IgM تام سرم با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر (Eurolyzer ساخت بلژیک) و کیت تجاری (شرکت پارس آزمون، ایران) انجام شد (Binaii et al., 2014). برای تعیین فعالیت لیزوزیم سرم از روش Ellis (۱۹۹۰) استفاده شد. سطح فعالیت لیزوزیم به روش

گرفته شد که نیمی به میکروتیوب حاوی ماده ضد انعقاد هیپارین (۰/۲ میلی گرم در هر لیتر خون) و نیمه دیگر به میکروتیوب فاقد هیپارین منتقل شده و نمونه‌ها در کنار یخ به پژوهشکده اکولوژی دریای خزر منتقل شدند (قیاسی و همکاران، ۱۴۰۱).

کدورت سنجی و با استفاده از سوسپانسیون باکتری میکروکوکوس لیزودیکتیکوس (سیگما، آمریکا) و آنزیم مورامیداز صورت گرفت. ارزیابی تولید رادیکال آزاد اکسیژن (فعالیت انفجار تنفسی) براساس روش Ghiasi و همکاران (۲۰۱۸C) و با استفاده از دستگاه Luminoscan Ascent (Thermo, Finland) انجام گردید.

مواجهه‌سازی با باکتری

پس از پایان دوره، ۳۰ عدد ماهی از هر تیمار با باکتری *آئروموناس هیدروفیلا* (با شماره دستیابی JF313402) با تزریق ۰/۱ میلی لیتر باکتری با غلظت نهایی $10^7 \times 1/2$ (CFU/ml) به صورت داخل صفاقی مواجهه داده شدند و روند مرگ و میر تا ۱۴ روز پس از مواجهه بررسی شد. تلفات و علائم بالینی در هر تیمار به صورت روزانه ثبت و درصد بقاء محاسبه گردید. جهت تأیید بیماری در ماهیان واجد علائم بالینی از بافت کلیه در محیط کشت (TSA) کشت داده شده و به مدت ۴۸ ساعت در درجه حرارت ۲۵ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شد (Soltanian et al., 2016).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS۲۰ و استفاده از تجزیه واریانس یک طرفه (ANOVA) و مقایسه میانگین بین تیمارهای مختلف بر اساس آزمون

داد که میزان وزن نهایی، افزایش وزن بدن و ضریب رشد ویژه به طور معنی‌داری در تیمار ۲ در مقایسه با گروه شاهد افزایش معنی دار داشت ($p < 0.05$) درحالی‌که میزان ضریب تبدیل غذایی در این تیمار به طور معنی‌داری کمتر از شاهد بود ($p > 0.05$) (جدول ۱). در این شاخص‌ها تفاوت معنی‌داری بین دو تیمار نبود ($p > 0.05$).

چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تعیین گردید (Zar, 1994).

نتایج

شاخص‌های رشد

در پایان هفته ۸، نتایج مربوط به شاخص‌های رشد نشان

جدول ۱: مقایسه میانگین شاخص‌های رشد ماهیان کپور در تیمار ۱، ۲ و شاهد بعد از هفته ۸

Table 1: Comparison of the common carp growth performance of treatment 1, 2 and control groups after week 8

شاخص	شاهد	تیمار ۱	تیمار ۲
وزن اولیه (گرم)	$52/64 \pm 2/71^a$	$52/12 \pm 2/96$	$52/49 \pm 2/55^a$
وزن نهایی (گرم)	$114/91 \pm 3/49^a$	$128/91 \pm 5/54^{ab}$	$141/19 \pm 6/45^b$
افزایش وزن بدن (گرم)	$62/31 \pm 5/76^a$	$74/79 \pm 4/37^{ab}$	$84/97 \pm 5/21^b$
ضریب رشد ویژه (%)	$0/72 \pm 0/08^a$	$0/91 \pm 0/14^{ab}$	$1/07 \pm 0/09^b$
ضریب تبدیل غذایی	$2/93 \pm 0/24^b$	$2/62 \pm 0/23^{ab}$	$2/41 \pm 0/21^a$

حروف مشابه در هر ردیف نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار است. مقادیر مشاهده شده در جدول بیانگر میانگین $\pm$ خطای انحراف معیار

شاخص‌های خون‌شناسی

شاهد ($p < 0.05$) و درصد لنفوسیت شاهد به طور معنی‌داری بیشتر از دو گروه تیمار بود ($p < 0.05$). در پایان هفته ۸، نتایج گلبول‌های قرمز، هموگلوبین، هماتوکریت، MCV، MCH، و MCHC مشابه پایان هفته ۴ بود، ولی میزان گلبول‌های سفید در هر دو تیمار افزایش معنی‌داری نسبت به شاهد داشت ($p < 0.05$) و تفاوت معنی‌داری بین درصد لنفوسیت و نوتروفیل بین تیمارها و شاهد مشاهده شد (جدول ۲).

در پایان هفته ۴، میانگین مقدار گلبول‌های قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت به طور معنی‌داری در تیمارها نسبت به شاهد افزایش داشت ($p < 0.05$)، ولی بین دو تیمار تفاوت معنی‌دار مشاهده نشد ($p < 0.05$). همچنین تفاوت معنی‌داری در مقادیر MCV، MCH، و MCHC در بین تیمارها و شاهد مشاهده نشد. میانگین مقدار گلبول‌های سفید در تیمار ۲ به طور معنی‌داری بیشتر از شاهد بود ($p < 0.05$) و در شمارش تفریقی گلبول‌های سفید، درصد نوتروفیل تیمارها به طور معنی‌داری بیشتر از

جدول ۲: مقایسه میانگین شاخص‌های خون‌شناسی ماهیان کپور تیمار ۱، ۲ و شاهد بعد از هفته ۴ و ۸

Table 2: Comparison of the common carp hematological indices of treatment 2, 1 and control groups after week 4 and 8

زمان نمونه برداری	تیمار	گلبول قرمز سلول 10^6 (mm ⁻³)	گلبول سفید سلول (mm ⁻³)	هماتوکریت (%)	هموگلوبین (gdL ⁻¹)	MCV* (fL)
هفته ۴ آزمایش	تیمار ۲	$2/24 \pm 0/10^b$	$15437/50 \pm 892/22^b$	$40/38 \pm 0/60^b$	$15/21 \pm 0/25^b$	$209/76 \pm 3/42^a$
	تیمار ۱	$2/00 \pm 0/11^b$	$14087/50 \pm 409/21^{ab}$	$39/62 \pm 1/29^b$	$14/95 \pm 0/59^b$	$200/59 \pm 7/77^a$
	شاهد	$1/68 \pm 0/11^a$	$11087/50 \pm 652/31^a$	$36/75 \pm 0/75^a$	$13/41 \pm 0/28^a$	$198/66 \pm 7/85^a$
هفته ۸ آزمایش	تیمار ۲	$2/57 \pm 0/02^b$	$16850 \pm 405/49^b$	$44/63 \pm 0/18^b$	$16/63 \pm 0/18^b$	$210/26 \pm 1/02^a$
	تیمار ۱	$2/48 \pm 0/10^b$	$14812/50 \pm 124/63^b$	$45/13 \pm 1/10^b$	$15/12 \pm 0/10^b$	$201/26 \pm 3/10^a$
	شاهد	$2/18 \pm 0/03^a$	$10063/50 \pm 962/12^a$	$41/13 \pm 0/47^a$	$13/37 \pm 0/47^a$	$199/56 \pm 3/58^a$

زمان نمونه برداری	تیمار	گلبول قرمز سلول ^{۱۰۶} (mm ⁻³)	گلبول سفید سلول (mm ⁻³)	هماتوکریت (%)	هموگلوبین (gdL ⁻¹)	MCV* (fL)
		MCH* (pg)	MCHC* (%)	لنفوسیت (%)	نوتروفیل (%)	
هفته ۴ آزمایش	تیمار ۲	۸۳/۸۶ ± ۴/۵۵ ^a	۳۷/۶۳ ± ۱/۵۵ ^a	۸۲/۷۵ ± ۱/۴۶ ^a	۱۷/۲۵ ± ۱/۶۸ ^a	
	تیمار ۱	۷۵/۲۲ ± ۱/۶۱ ^a	۳۶/۵۸ ± ۱/۶۱ ^a	۸۴/۸۷ ± ۱/۱۰ ^a	۱۵/۱۴ ± ۱/۱۰ ^a	
	شاهد	۶۸/۷۷ ± ۳/۰۵ ^a	۳۶/۵۰ ± ۱/۰۵ ^a	۹۶/۲۵ ± ۱/۶۷ ^b	۳/۷۵ ± ۰/۶۷ ^b	
هفته ۸ آزمایش	تیمار ۲	۸۲/۸۰ ± ۲/۱۸ ^a	۳۷/۸۰ ± ۲/۱۸ ^a	۸۸/۳۵ ± ۲/۳۶ ^a	۱۱/۷۵ ± ۲/۳۶ ^a	
	تیمار ۱	۷۵/۱۳ ± ۱/۵۶ ^a	۳۶/۹۳ ± ۱/۵۶ ^a	۸۶/۳۸ ± ۱/۸۳ ^a	۱۳/۶۲ ± ۱/۸۳ ^a	
	شاهد	۶۹/۱۳ ± ۲/۴۷ ^a	۳۶/۱۳ ± ۲/۴۷ ^a	۹۴/۷۵ ± ۱/۲۳ ^b	۵/۲۵ ± ۱/۲۳ ^b	

*حجم متوسط گلبولی (MCV)، میزان هموگلوبین گلبولی (MCH) و غلظت متوسط هموگلوبین گلبولی (MCHC)

وجود حروف غیرمشابه در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنادار در سطح ۵ درصد است ($p < 0.05$).

شاخص‌های بیوشیمیایی خون

در پایان هفته ۴، هیچ تفاوت معنی‌داری در میزان گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسرید، آلبومین، ALT و AST بین گروه‌های تیمار و شاهد وجود نداشت، ولی میزان پروتئین تام سرم در تیمارها افزایش معنی‌داری در مقایسه با شاهد

داشت ($p < 0.05$). در پایان هفته ۸، میزان گلوکز، کلسترول، آلبومین، ALT، AST و پروتئین تام مشابه هفته چهار بود، ولی میزان تری‌گلیسرید تیمار ۲ کاهش معنی‌داری در مقایسه با تیمار ۱ و شاهد داشت ($p < 0.05$) (جدول ۳).

جدول ۳: مقایسه میانگین شاخص‌های بیوشیمیایی ماهیان کپور تیمار ۲، ۱ و شاهد بعد از هفته ۴ و ۸

Table3: Comparison of the common carp biochemical indices of treatment 2, 1 and control groups after week 4 and 8

زمان نمونه برداری	تیمار	گلوکز gdL ⁻¹	کلسترول mgdL ⁻¹	تری‌گلیسرید mgdL ⁻¹	پروتئین تام gdL ⁻¹
هفته ۴ آزمایش	تیمار ۲	۷۰/۳۲ ± ۲/۳۵ ^a	۱۲۰/۶۴ ± ۱۱/۴۸ ^a	۱۶۵/۵۵ ± ۸/۶۱ ^a	۳/۶۶ ± ۰/۲۳ ^b
	تیمار ۱	۶۸/۱۳ ± ۲/۶۰ ^a	۱۲۱/۷۳ ± ۶/۳۱ ^a	۱۷۸/۳۴ ± ۱۱/۰۶ ^a	۳/۴۰ ± ۰/۱۶ ^b
	شاهد	۷۲/۳۴ ± ۷/۱۹ ^a	۱۲۴/۲۳ ± ۶/۰۳ ^a	۱۸۸/۰۵ ± ۱۶/۲۲ ^a	۲/۷۸ ± ۰/۱۰ ^a
هفته ۸ آزمایش	تیمار ۲	۶۷/۴۵ ± ۵/۳۰ ^a	۱۲۱/۲۶ ± ۷/۰۷ ^a	۲۲۳/۸۱ ± ۶/۵۴ ^a	۳/۵۵ ± ۰/۱۷ ^b
	تیمار ۱	۷۲/۳۱ ± ۶/۸۱ ^a	۱۳۸/۹۳ ± ۷/۵۱ ^a	۲۵۷/۷۰ ± ۵/۶۵ ^b	۳/۴۸ ± ۰/۱۹ ^b
	شاهد	۸۱/۲۱ ± ۵/۶۱ ^a	۱۳۹/۶۵ ± ۶/۳۰ ^a	۲۷۲/۱۸ ± ۱۰/۶۹ ^b	۲/۹۶ ± ۰/۰۳ ^a
هفته ۴ آزمایش	تیمار ۲	۲/۲۸ ± ۰/۰۵ ^a	۴/۴۸ ± ۰/۵۰ ^a	۷۲/۷۳ ± ۴/۷۷ ^a	
	تیمار ۱	۲/۲۶ ± ۰/۱۱ ^a	۵/۷۶ ± ۰/۲۰ ^a	۸۴/۹۶ ± ۱۰/۶۳ ^a	
	شاهد	۱/۹۷ ± ۰/۵۶ ^a	۶/۶۵ ± ۰/۷۷ ^a	۸۵/۵۳ ± ۱۱/۵۴ ^a	
هفته ۸ آزمایش	تیمار ۲	۲/۵۶ ± ۰/۱۲ ^a	۶/۳۵ ± ۱/۴۸ ^a	۶۴/۷۲ ± ۵/۵۷ ^a	
	تیمار ۱	۲/۳۴ ± ۰/۲۹ ^a	۶/۳۷ ± ۰/۸۲ ^a	۷۲/۵۱ ± ۸/۷۲ ^a	
	شاهد	۱/۹۹ ± ۰/۰۳ ^a	۶/۵۱ ± ۰/۷۱ ^a	۷۵/۳۰ ± ۸/۸۰ ^a	

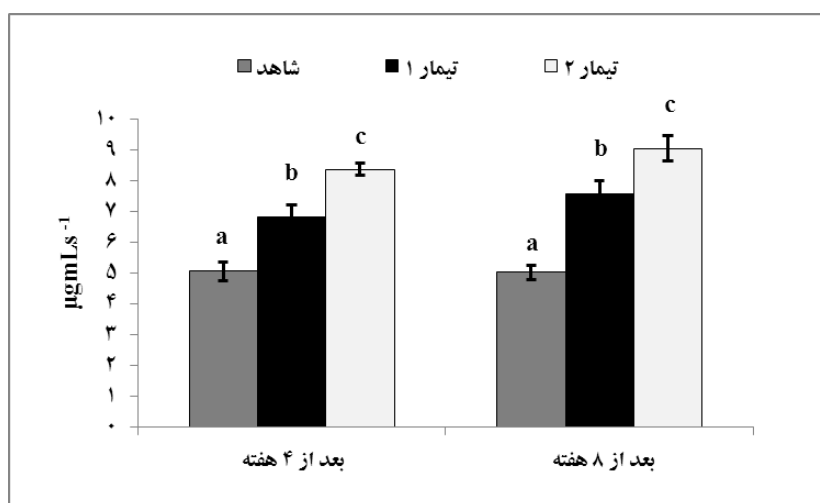
* آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آسپارات آمینوترانسفراز (AST)

وجود حروف غیرمشابه در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنادار در سطح ۵ درصد است ($p < 0.05$).

ایمنی شناسی

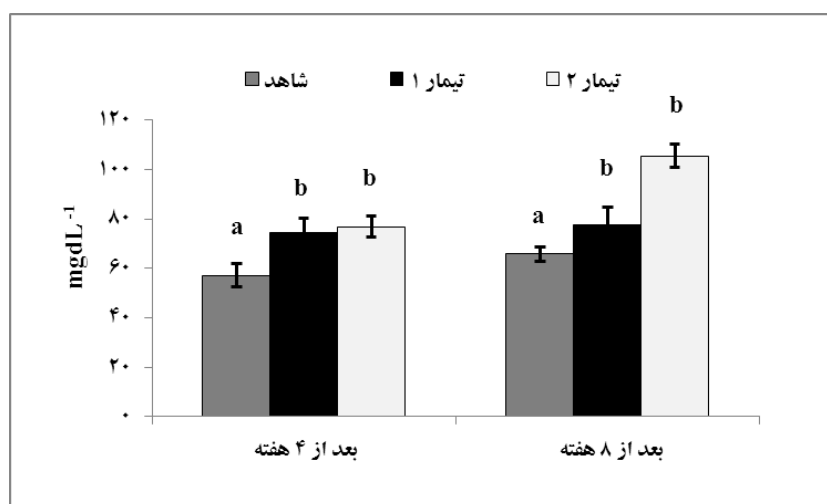
(شکل ۲). در پایان هفته ۴، میزان تولید رادیکال آزاد اکسیژن (فعالیت انفجار تنفسی) تنها در تیمار ۲ افزایش معنی داری با شاهد نشان داد ($p < 0.05$) ولی در پایان هفته ۸ میزان این شاخص در تیمارها افزایش معنی داری در مقایسه با شاهد نشان داد (شکل ۳). ($p < 0.05$)

در پایان هفته ۴ و ۸، فعالیت لیزوزیم گروه های تیمار افزایش معنی داری نسبت به شاهد داشت و میزان این شاخص در تیمار ۲ به طور معنی داری بیشتر از دو گروه دیگر بود (شکل ۱). نتایج ارزیابی میزان IgM تام سرم نشان داد که میزان این شاخص در پایان هفته ۴ و ۸ در گروه های تیمار به طور معنی داری بیشتر بود



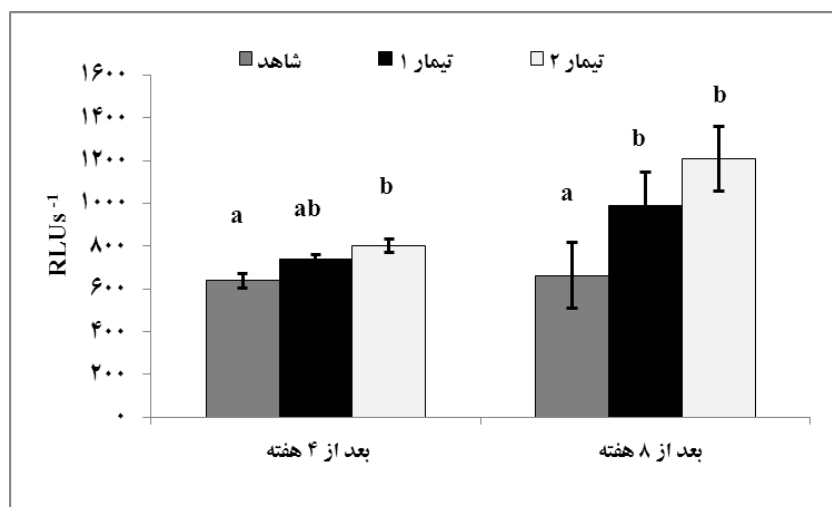
شکل ۱: مقایسه میانگین فعالیت لیزوزیم ماهیان کپور تیمار ۲، ۱ و شاهد بعد از هفته ۴ و ۸ (حروف غیر یکسان نشان دهنده تفاوت معنی دار بین هر گروه است).

Figure 1: Comparison of the common carp lysozyme activity of treatment 2, 1 and control groups week 4 and 8



شکل ۲: مقایسه میانگین میزان IgM تام سرم ماهیان کپور تیمار ۲، ۱ و شاهد بعد از هفته ۴ و ۸ (حروف غیر یکسان نشان دهنده تفاوت معنی دار بین هر گروه است).

Figure 2: Comparison of the common carp IgM of treatment 2, 1 and control groups week 4 and 8



شکل ۳: مقایسه میانگین تولید رادیکال آزاد اکسیژن (انفجار تنفسی) ماهیان کپور تیمار ۲، ۱ و شاهد بعد از هفته ۴ و ۸ (حروف غیر یکسان نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین هر گروه است).

Figure 3: Comparison of the common carp oxygen free radicals production (respiratory burst) of treatment 2, 1 and control groups after week 4 and 8

نتایج این بررسی نشان داد که استفاده از ترکیب گزنه و آقطی موجب افزایش معنی‌دار وزن نهایی، افزایش وزن بدن و ضریب رشد ویژه و کاهش معنی‌دار ضریب تبدیل غذایی در تیمار ۲ در مقایسه با شاهد شده است. بررسی‌ها نشان داده است، گیاه گزنه در ماهیان قزل‌آلا (گرایی افرا و همکاران، ۱۳۹۸؛ Saeidi et al., 2016; Bilen et al., 2017; Mehrabi et al., 2020; Zare et al., 2021)، ماهی *Labeo victorinus* (Ngugi et al., 2015) و سیچلید گورخری (*Amatitlania nigrofasciata*) (Jafari et al., 2022) و گیاه آقطی در کپور پرورشی (حسینی شکرآبی و همکاران، ۱۴۰۰)، موجب بهبود شاخص‌های رشد شده‌اند. مطالعات نشان داده است، استفاده تک یا ترکیبی گیاهان دارویی توانسته است، شاخص‌های رشد کپور را بهبود بخشد. مصرف عصاره اتانولی آلونه را در دوزهای ۰/۱، ۰/۵ و ۲/۵ درصد طی ۸ هفته در بچه ماهیان کپور بهبود معنی‌داری را در شاخص‌های رشد در دوز ۲/۵ درصد نشان داد (Mahdavi et al., 2013). وضعیت رشد ماهیان کپور تغذیه شده با دوزهای ۰/۲۵، ۰/۵، ۱ و ۲ درصد با عصاره زنجبیل طی ۸ هفته، در دوز ۲ درصد به طور معنی‌داری بهتر از سایر گروه‌ها بود (Abbasi Ghadikolaei et al., 2017). مشابه همین نتایج در بچه ماهیان انگشت‌قد کپور پس از

مواجهه با باکتری *آئروموناس هیدروفیلا*

نتایج حاصل از ارزیابی مواجهه ماهیان کپور با باکتری *آئروموناس هیدروفیلا* نشان داد که بالاترین درصد بازماندگی مربوط به گروه‌های تیمار بوده است به‌طوری‌که درصد بازماندگی ۷۱/۶، ۶۹/۹ درصد به ترتیب مربوط به تیمار ۲ و ۱ بود. این نتایج در حالی به‌دست آمد که درصد بازماندگی در شاهد تنها ۲۲/۶ درصد بود.

بحث

امروزه استفاده از گیاهان دارویی در آبی‌پروری به عنوان محرک ایمنی توانسته است مکانیسم‌های ایمنی ذاتی ماهیان را در برابر عوامل بیماری‌زا در شرایط استرس‌زا مانند تراکم زیاد، رقم بندی، حمل و نقل، واکسیناسیون و تولید مثل افزایش دهد. همچنین برخی از گیاهان دارویی یا ترکیب آنها در جیره بهبود شاخص‌های رشد را در مقایسه با جیره معمولی در ماهیان سبب شده‌اند (Hoseinifar et al., 2020). در مطالعه حاضر، ترکیب دو گیاه گزنه و آقطی اثرات مثبتی بر شاخص‌های رشد و ایمنی ماهیان کپور در مقایسه با شاهد داشت. شایان ذکر است، این مطالعه برای اولین بار اثرات ترکیب استفاده از این دو گیاه را در ماهیان مورد ارزیابی قرار داده است.

تغذیه با عصاره مورد در غلظت‌های ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ درصد طی ۴۹ روز به دست آمد (Hoseinifar et al., 2017). در تغذیه کپور انگشت قد با عصاره برگ لیموی ایرانی در غلظت‌های ۰/۱، ۰/۵ و ۱ درصد به مدت ۴۵ روز، بهبود معنی‌دار شاخص‌های رشد در غلظت ۱ درصد مشاهده شد (Bilen et al., 2021). در استفاده از ترکیبی گیاهان دارویی، عصاره بلوط، گشنیز و گل ختمی به میزان ۰/۵، ۱، ۳ و ۵ درصد جیره ماهی کپور طی ۶۰ روز، بهترین نتایج رشد را در بالاترین درصد مصرفی از سه گیاه نشان داد (Raissy et al., 2022). همچنین ترکیب پنیرک، مرزنگوش و موسیر به میزان ۰/۵، ۱، ۲، ۳ و ۵ درصد در جیره ماهیان کپور طی ۶۰ روز، بهبود معنی‌دار شاخص‌های رشد را به جز در ۰/۵ درصد، در سایر مقادیر نشان داد (Ghafariarsani et al., 2021). مطالعات دیگری در استفاده ترکیبی از گیاهان دارویی چینی وجود دارد که چنین روندی را در بآس دریایی ژاپنی نیز نشان می‌دهد (Wang et al., 2017; Xu et al., 2020). نقش گیاهان دارویی در کنترل رشد و ممانعت از کلونیزه شدن باکتری‌های بیماری‌زا یا غیر بیماری‌زا در دستگاه گوارش به خصوص روده ماهیان، کمک به ترشح بهتر آنزیم‌های گوارشی و افزایش اشتها، به اثبات رسیده است و همین موضوع ممکن است دلیل بهره‌وری بیشتر در استفاده از غذا و افزایش رشد و بهبود بازده خوراک باشد (Shakya, 2017). خون تنها بافت سیال مهره‌داران است که تغییر در آن اثرات مهمی بر سلامت دارد و ارزیابی تغییرات شاخص‌های خونی، یکی از روش‌های مناسب ارزیابی سلامت ماهی است (قیاسی و همکاران، ۱۳۹۹). نتایج این بررسی نشان داد، میزان گلبول‌های قرمز، هماتوکریت و هموگلوبین افزایش معنی‌داری در تیمارها در مقایسه با شاهد داشت، ولی میزان MCV، MCH و MCHC اگرچه از نظر عددی در مقایسه با شاهد افزایش داشت، ولی معنی‌دار نبود. در تجویز برگ خشک گزنه به فیل ماهی در غلظت‌های ۳، ۶ و ۱۲ درصد به مدت ۸ هفته، میزان گلبول قرمز، هماتوکریت، هموگلوبین و MCHC در گروه دریافت‌کننده ۱۲ درصد به طور معنی‌داری بیشتر از شاهد بود (Bianii et al., 2014). در تجویز برگ خشک آقطی به میزان ۲/۵، ۵ و ۱۰ درصد جیره به ماهیان

قزل‌آلا به مدت ۸ هفته، میزان گلبول قرمز، هماتوکریت، هموگلوبین در تیمار ۵ درصد، تفاوت معنی‌داری با سایر گروه‌ها نشان داد (Ghiasi et al., 2018a). همچنین بهبود این شاخص‌ها در ماهیان کپور با تجویز ترکیبی بلوط، گشنیز و گل ختمی به میزان ۱، ۳ و ۵ درصد نیز مشاهده شد (Raissy et al., 2022). در مطالعات انجام شده بر ترکیبات شیمیایی برگ گزنه و آقطی مشخص شده است، ویتامین C و آهن از ترکیباتی هستند که به فراوانی در این دو گیاه وجود دارند (Shokrzadeh and Saeedi Saravi, 2010; Bhusal et al., 2022). آن‌جایی‌که آهن عنصر مهمی در روند خون‌سازی است و وجود ویتامین C در جذب آهن ضروری است، لذا به نظر می‌رسد وجود این دو ترکیب در کنار هم سبب بهبود شاخص‌های خونی شده است (Lim et al., 2000). تعداد گلبول‌های سفید و جمعیت گروه‌های مختلف تشکیل‌دهنده آن نمای کلی از وضعیت ایمنی ماهی را نشان می‌دهد و بسیاری از مطالعات نشان داده است که گیاهان دارویی قادر به افزایش تعداد گلبول‌های سفید ماهیان هستند (Anjusha et al., 2019). در پایان هفته ۴، افزایش معنی‌دار گلبول‌های سفید تنها در تیمار ۲ در مقایسه با شاهد وجود داشت درحالی‌که در پایان هفته ۸، این شاخص در گروه‌های تیمار به طور معنی‌داری بیشتر از شاهد بود. مطالعات قبلی بر دو گیاه گزنه و آقطی در فیل ماهی و قزل‌آلا، قابلیت این دو گیاه را در افزایش تعداد این سلول‌ها نشان می‌دهد (Bianii et al., 2014; Ghiasi et al., 2018a). همچنین تجویز آلون‌ه‌ورا، پوست پسته، حنا، برگ لیمو، ترکیب پنیرک، مرزنگوش و موسیر و ترکیب بلوط، گشنیز و گل ختمی موجب افزایش معنی‌دار گلبول‌های سفید ماهیان کپور شده‌اند (Alishahi et al., 2010; Soltanian and Fereidouni, 2016; Bilen et al., 2021; Ghafariarsani et al., 2021; Raissy et al., 2022). مطالعات نشان داده است، وجود ترکیبات پلی‌ساکاریدی موجود در گیاهان دارویی و شناسایی این ترکیبات به وسیله گیرنده‌های TLR^۱ موجود در سطح ماکروفاژ و به دنبال آن تولید اینترلوکین ۱ و اینترفرون

¹ Toll like receptor (TLR)

۴ و ۸ آزمایش افزایش معنی‌داری را در گروه‌های تیمار در مقایسه با شاهد نشان داد. مطالعات مختلفی در خصوص تاثیر گیاهان دارویی بر سطح ایمونوگلوبولین تام سرم در ماهیان کپور انجام شده و نشان داده است، تجویز جیره‌ای چای کوهی، آلوئه ورا، دارواش، سیاه دانه، بومادران، پودر تخم شنبلیله، ترکیب پنیرک، مرزنگوش و موسیر و نیز ترکیب بلوط، گشنیز و گل ختمی موجب افزایش ایمونوگلوبولین‌ها در ماهیان کپور می‌شوند (Alishahi et al., 2010; Bahrami Babahydar et al., 2014; Roohi et al., 2015; Adel et al., 2016b; Ghafarifarsani et al., 2021; Raissy et al., 2022). مکانیسم این افزایش به‌خوبی روشن نیست، ولی از آنجایی‌که مهم‌ترین منبع IgM گلبول‌های سفید هستند (Hordvik, 2015) و در این بررسی تعداد آنها به طور معنی‌دار افزایش داشته است، به‌نظر می‌رسد این موضوع دلیل افزایش IgM را توجیه می‌کند. یکی از اولین سدهای دفاعی ماهیان در برابر عوامل بیماری‌زا، لیزوزیم است. لیزوزیم پپتیدی است که از قابلیت انهدام باکتری‌های گرم‌مثبت و تا حدودی باکتری‌های گرم‌منفی برخوردار است (Magnadóttir, 2006). طی هفته ۴ و ۸ آزمایش، فعالیت لیزوزیم در گروه‌های تیمار در مقایسه با شاهد افزایش معنی‌داری داشت و بیشترین میزان آن در تیمار ۲ بود. در مطالعات مشابه، تجویز جیره‌ای بومادران، آلوئه ورا، فرفیون، بکرای، دارواش، سیاه دانه، مورد، ترکیب پنیرک، مرزنگوش و موسیر و نیز ترکیب بلوط، گشنیز و گل ختمی موجب افزایش فعالیت لیزوزیم شده است (Alishahi et al., 2010; Pratheepa and Sukumaran, 2014; Adel et al., 2016b; Hoseinifar et al., 2017; Ghafarifarsani et al., 2021; Raissy et al., 2022). در مطالعات متعدد به دنبال استفاده از تجویز جیره‌ای گیاهان دارویی نشان می‌دهد که ترکیبات فعال موجود در آنها قادر به افزایش عملکرد این فاکتور مهم ایمنی ذاتی در ماهیان بوده و موجب بهبود عملکرد ایمنی و افزایش مقاومت ماهیان در برابر عوامل عفونی شده است (Elumalai et al., 2020). مواجهه با باکتری بیماری‌زا و میزان بازماندگی ماهیان یکی از مهم‌ترین روش‌های

گاما یکی از مکانیسم‌های موثر در روند تکثیر و افزایش گلبول‌های سفید می‌باشد (Soltani et al., 2018). بیگانه‌خواری و تولید رادیکال آزاد اکسیژن (انفجار تنفسی) یکی از مهم‌ترین مکانیسم‌های دفاعی در ماهیان است که به‌وسیله سلول‌های بیگانه‌خوار در خون (نوتروفیل و مونوسیت) و بافت‌ها (ماکروفاژ) انجام می‌شوند (Adel et al., 2016a). طی این بررسی، درصد نوتروفیل‌ها در تیمارها افزایش معنی‌داری در مقایسه با شاهد داشت. همچنین تولید رادیکال آزاد اکسیژن (انفجار تنفسی) با گذشت زمان افزایش معنی‌داری در مقایسه با شاهد پیدا کرد. Akbay و همکاران (۲۰۰۳) نشان دادند که وجود فلاونوئیدهای گلیکوزیدی موجود در گیاه گزنه موجب افزایش تعداد نوتروفیل و تولید رادیکال آزاد اکسیژن در خون انسان می‌شود. از سوی دیگر، وجود ترکیبات فلاونوئیدی مثل کوئرستین در گیاه آقطی نیز می‌تواند در این فعالیت نقش داشته باشد (مازندرانی و همکاران، ۱۳۹۰) و به‌نظر می‌رسد این موضوع دلیل این تغییرات در گروه‌های تیمار در مقایسه با شاهد باشد. میزان گلوکز، کلسترول، آلبومین و آنزیم‌های ALT و AST در دو مرحله نمونه‌برداری، تفاوت معنی‌داری در بین تیمارها و شاهد نداشت، ولی در هفته ۸، تری‌گلیسرید در گروه‌های تیمار در مقایسه با شاهد کاهش معنی‌داری داشت. کارواکرول موجود در گیاه گزنه و ترکیبات آنتوسانین در گیاه آقطی به عوامل موثر در تصحیح پروفایل چربی در جوجه گوشتی و انسان شناخته شده‌اند (Lee et al., 2014; Ivanova et al., 2003) و احتمالاً با استفاده توأم، اثرات سینرژیستی بر کاهش این شاخص در سرم ماهیان داشته‌اند. نتایج نشان داد، میزان پروتئین تام سرم در هفته ۴ و ۸ آزمایش در گروه‌های تیمار به طور معنی‌داری بیشتر از شاهد بود. مطالعات مختلف نشان داده است، استفاده از گیاهان دارویی به صورت مجزا یا ترکیبی موجب افزایش میزان پروتئین تام در ماهی کپور شده‌اند (Roohi et al., 2015; Ghafarifarsani et al., 2021; Raissy et al., 2022) و افزایش پروتئین تام سرم در ماهیان به عنوان شاخصی در ارزیابی عملکرد ایمنی آنها مورد توجه است (قیاسی و همکاران، ۱۳۹۹; Wang et al., 2016). در این بررسی میزان IgM تام سرم در هفته

منابع

- حسینی شکرابی، س.پ.، شاه رکنی، ش.، نظری، ک.، شمسایی مهرجان، م.، توتونچی مشهور، س.، ۱۴۰۰. تأثیر سطوح مختلف عصاره گیاه آقطی (*Sambucus ebulus*) بر عملکرد رشد و پاسخ های ایمنی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). مجله علمی شیلات ایران، ۳۰(۱): ۹۲ - ۸۳.
- سالنامه آماری سازمان شیلات ایران، ۱۴۰۰. سالنامه آماری شیلات ایران ۱۳۹۹ - ۱۳۹۴، معاونت برنامه ریزی و مدیریت منابع، ۶۴ صفحه.
- قیاسی، م.، بینایی، م.، سپهداری، ا.، ذریه زهرا، س.م.ج.، صفری، ر.، کاکولکی، ش.، یارمحمدی، م.، قاسمی، م. و تقوی رستمی، م.ج.، ۱۳۹۹. معرفی برخی شاخص های سرم، ایمنی و خون به عنوان شاخص سلامت در مولدین قزل آلا ی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) عاری از عوامل بیماریزای خاص. مجله علمی شیلات ایران، ۲۹(۴): ۱۰ - ۱.
- قیاسی، م.، بینایی، م.، قانندیا، ب.، فارابی، س.م.و. و علوی، ا.ا.، ۱۴۰۱. ارزیابی اثر اسانس اکالیپتوس (*Eucalyptus globulus*) بر شاخص های رشد، خون، ایمنی و افزایش مقاومت در برابر آئروموناس هیدروفیلا (*Aeromonas hydrophila*) در ماهیان کپور پرورشی (*Cyprinus carpio*). مجله توسعه آبی پروری، ۱۶(۲): ۱۳۱ - ۱۱۹.
- کاظمی تبار، س.ک.، حق پناه، م.، هاشمی، س.ح. و علوی، س.، ۱۳۹۴. بررسی تنوع ژنتیکی توده های گزنه (*Urtica dioica*) استان مازندران با استفاده از نشانگر ISSR. زیست فناوری گیاهان دارویی، ۱۱(۱): ۵۳ - ۴۵.
- گرایلی افرا، ع.، اورجی، ح.، کرامت، ع. و صفری، ر.، ۱۳۹۸. مقایسه استفاده از عصاره الکلی و نانوریزپوشانی شده گیاه گزنه (*Urtica dioica*) بر عملکرد رشد و شاخص های خونی قزل آلا ی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*). تغذیه آبزیان، ۵ (۲): ۱۱۳ - ۱۰۱.

ارزیابی عملکرد ایمنی است. مطالعات مختلف نشان داده، استفاده از گیاهان دارویی موجب افزایش ماندگاری ماهیان پس از مواجهه با *آئروموناس هیدروفیلا* شده اند (Alishahi et al., 2010; Pratheepa and Sukumaran, 2014; Bilen et al., 2021; Raissy et al., 2022). باتوجه به نتایج حاصل از ارزیابی پاسخ های ایمنی در این مطالعه، بیشتر بودن درصد ماندگاری ماهیان گروه تیمار به شاهد کاملاً قابل توجیه است.

در یک نتیجه گیری کلی، در این بررسی هر چند هر دو تیمار اثرات مثبت بر شاخص های خونی، سرمی و رشد داشتند، ولی در مجموع تأثیرات بهتر در تیمار ۲ مشاهده شد. به نظر می رسد، ترکیب دو گیاه گزنه و آقطی که از گیاهان بومی استان مازندران هستند و در سراسر این استان به وفور یافت می شوند، قابلیت معرفی را به عنوان محرک رشد و ایمنی را به صنعت آبی پروری استان و کشور دارند. لذا، ضروری است تا مطالعات تکمیلی در خصوص ارزیابی ترکیب عصاره میکروکپسوله آنها در سطح آزمایشگاهی و فارمی انجام شود تا زمینه برای ارائه محصولی بومی سازی شده که کاملاً وابسته به منابع داخلی و بی نیاز از خروج ارز و سرمایه از کشور است، با هدف ارتقاء رشد و ایمنی ماهیان فراهم گردد.

تشکر و قدردانی

این مقاله مستخرج از اطلاعات پروژه با عنوان "تأثیر ترکیب گیاه گزنه و آقطی بر وضعیت رشد، شاخص های خونی، سرمی، ایمنی و بازماندگی کپور در مواجهه با *آئروموناس هیدروفیلا*" با کد مصوب ۹۶۱۱۳۵-۵۳-۱۲-۷۶ با بودجه اداره کل شیلات استان مازندران در پژوهشکده اکولوژی دریای خزر اجرا شده است. نویسندگان این مقاله بر خود لازم می دانند تا از همه همکارانی که در اداره کل شیلات استان مازندران، پژوهشکده اکولوژی دریای خزر و مرکز بازسازی و حفاظت از ذخایر ژنتیکی آبزیان شهید رجایی که در اجرای این پروژه یاری رسانده اند، تشکر و قدردانی نمایند.

- 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.
- Anjusha, K.V., Mamun, M.A.A., Dharmakar, P. and Shamima N., 2019. Effect of medicinal herbs on hematology of fishes. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 8 (9): 2371-2376.
Doi:10.20546/ijcmas.2019.809.274.
- Bahrami Babaheydari, S., Paykan Heyrati, F., Akhlaghi, M. and Dorafshan, S., 2014. The dietary wood betony, *Stachys lavandulifolia* Vahl extract as a growth promoter and immune enhancer in common carp (*Cyprinus carpio*). *Iranian Journal of Veterinary Research*, 15(49): 359-363.
- Bhusal, K.K., Magar, S.K., Thapa, R., Lamsal, A., Bhandari, S., Maharjan, R., Shrestha, S. and Shrestha, J., 2022. Nutritional and pharmacological importance of stinging nettle (*Urtica dioica* L.): a review. *Heliyon*, 8: e09717. Doi: 10.1016/j.heliyon.2022.e09717
- Binaii, M., Ghiasi, M., Farabi, S.M.V., Pourgholam, R., Fazli, H., Safari, R., Alavi, S.E., Taghavi, M.J. and Bankehs, Z., 2014. Biochemical and hemato-immunological parameters in juvenile beluga (*Huso huso*) following the diet supplemented with nettle (*Urtica dioica*). *Fish and Shellfish Immunology*, 36: 46-51. Doi: 10.1016/j.fsi.2013.10.001.
- مازندرانی، م.، جمشیدی، م. و فتح آبادی، م.، ۱۳۹۰. بررسی مهمترین مواد موثره گیاه دارویی آقطی (*Sambucus ebulus*) در دو رویشگاه مختلف استان مازندران، فصلنامه پژوهش‌های علوم گیاهی، ۲۱: ۶۷ – ۵۸.
- Abbasi Ghadikolaei, H., Kamali, A., Soltani, M. and Sharifian, M., 2017. Effects of *Zingiber officinale* powder on growth parameters, survival rate and biochemical composition of body in juvenile common carp (*Cyprinus carpio*), *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 16(1):67-85.
- Adel, M., Pourgholam, R., Zorriehzahra, J. and Ghiasi, M., 2016a. Hemato-Immunological and biochemical parameters, skin antibacterial activity, and survival in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) following the diet supplemented with *Mentha piperita* against *Yersinia ruckeri*. *Fish and Shellfish Immunology*, 55: 267-273. Doi:10.1016/j.fsi.2016.05.040
- Adel, M., Gholaghaie, M., Binaii, M., Khanjanyc, P. and Awadd, E., 2016b. Effect of dietary *Achillea wilhelmsii* extract on growth performance, and immune status of common carp (*Cyprinus carpio*). *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 7(6): 1037- 1046.
- Akbay, P., Basaran, A.A., Undeger, U. and Basaran, N., 2003. In vitro immunomodulatory activity of flavonoid glycosides from *Urtica dioica* L. *Phytotherapy Research*, 17(1):34-37. Doi:10.1002/ptr.1068.

- Bilen, S., Ünal, S. and Güvensoy, H., 2016.** Effects of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) and nettle (*urtica dioica*) methanolic extracts on immune responses and resistance to *Aeromonas hydrophila* in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), *Aquaculture*, 454: 90-94 (2015). Doi: 10.1016/j.aquaculture.2015.12.010.
- Bilen, S., Ali, G.A.M., Daw Amhamed, I. and Almagbrok, A.A., 2021.** Modulatory effects of laurel-leaf cistus (*Cistus laurifolius*) ethanolic extract on innate immune responses and disease resistance in common carp (*Cyprinus carpio*). *Fish and Shellfish Immunology*, 116: 98–106. Doi: 10.1016/j.fsi.2021.07.001.
- Blaxhall, P.C. and Daisley, W., 1973.** Routine haematological methods for use with fish blood. *Journal of Fish Biology*, 5:771-781. Doi:10.1111/j.1095-8649.1973.tb04510.x.
- Elabd, H., Wang, H., Shaheen, A., Yao, H. and Abbass, A., 2016.** Feeding *Glycyrrhiza glabra* (liquorice) and *Astragalus membranaceus* (AM) alters innate immune and physiological responses in yellow perch (*Perca flavescens*). *Fish and Shellfish Immunology*, 54:374-384. Doi:10.1016/j.fsi.2016.04.024.
- Ellis, A.E., 1990.** Lysozyme assay. In Stolen J.S, Fletcher,T.C., Anderson, D.P., Robertson, B.S., Van Muiswinkel, W.R., (eds) *Techniques in fish immunology*, New Jersey., USA.
- Elumalai, P., Kurian, A., Lakshmi, S., Faggio, C., Estebanc, M. A. and Ringød, E., 2020.** Herbal immunomodulators in aquaculture. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*, 33-57. Doi:10.1080/23308249.2020.1779651.
- Fazelan, Z., Vatnikov, Y.A., Evgeny ., Kulikov, E.V., Plushikov, V.G. and Yousefi, M., 2019.** Effects of dietary ginger (*Zingiber officinale*) administration on growth performance and stress, immunological, and antioxidant responses of common carp (*Cyprinus carpio*) reared under high stocking density. *Aquaculture*, 5: 734833. Doi: 10.1016/j.aquaculture.2019.734833.
- Ghafariarsani, H., Hoseinifar, S.H., Adorian, T.J., Ferrigolo, F.R.G., Raissy, M. and Doan, H.V., 2021.** The effects of combined inclusion of *Malvae sylvestris*, *Origanum vulgare*, and *Allium hirtifolium* boiss for common carp (*Cyprinus carpio*) diet: growth performance, antioxidant defense, and immunological parameters. *Fish and Shellfish Immunology*, 119: 670-677. Doi: 10.1016/j.fsi.2021.10.014.
- Ghiasi, M., Binaii, M., Khoshbavar Rostami, H., Zahedi, A., Adel, M., Habibi, H., 2018a.** Effect of dietary supplementation of dwarf elder (*Sambucus ebulus*) on the some immune response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Paper presented at the 7th National Congress on Medicinal Plants, Shiraz University, 12-14 May, Shiraz, 2018
- Ghiasi, M., Binaii, M., Khoshbavar Rostami, H., Zahedi, A. and Habibi, H., 2018b.** Hemato-biochemical parameters in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) following the diet supplemented

- with dwarf elder (*Sambucus ebulus*). Paper presented at the 7th National Congress on Medicinal Plants, Shiraz University, 12-14 May, Shiraz, 2018
- Ghiasi, M., Binaii, M., Naghavi, A., Khoshbavar Rostami, H., Nori, H. and Amerizadeh, A., 2018c.** Inclusion of *Pediococcus acidilactici* as probiotic candidate in diets for beluga (*Huso huso*) modifies biochemical parameters and improves immune functions, *Fish Physiology Biochemistry*, 44:1099–1107. Doi: 10.1007/s10695-018-0497-x.
- Hordvik, I., 2015,** Immunoglobulin Isotypes in Atlantic Salmon, *Salmo Salar*, *Biomolecules*, 5:166-177. Doi:10.3390/biom5010166.
- Hoseini, S.M., Yousefi, M., Hoseinifar, S.H. and Van Doan, H., 2019.** Effects of dietary arginine supplementation on growth, biochemical, and immunological responses of common carp, (*Cyprinus carpio* L.), stressed by stocking density. *Aquaculture*, 503: 452-459. Doi:10.1016/j.aquaculture.2019.01.03
- Hoseinifar, SH., Khodadadian Zou, H., Kolangi Miandare, H., Van Doan, H., Nicholas Romano, N. and Dadar, M., 2017.** Enrichment of common carp (*Cyprinus carpio*) diet with medlar (*Mespilus germanica*) leaf extract: Effects on skin mucosal immunity and growth performance. *Fish and Shellfish Immunology*, 67: 346-352. Doi:10.1016/j.fsi.2017.06.023.
- Hoseinifar, S.H., Sun, Y.Z., Zhou, Z., Doan, H.V., Simon J., Davies, S.J. and Harikrishnan, R., 2020.** Boosting immune function and disease bio- control through environment-friendly and sustainable approaches in finfish aquaculture: herbal therapy scenarios. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*, 303-321. Doi: 10.1080/23308249.2020.1731420.
- Ivanova, D., Tasinov, O. and Kiselova-Kaneva, Y., 2014.** Improved lipid profile and increased serum antioxidant capacity in healthy volunteers after *Sambucus ebulus* L. fruit infusion consumption. *International Journal of Food Science and Nutrition*, 65 (6): 740-744. Doi: 10.3109/09637486.2014.898256.
- Jafari, N., Abdollahpour, H., Karimzadeh, M. and Falahatkar, B., 2022.** A potential role of nettle (*Urtica dioica*) extract on growth, biochemical changes and reproductive performance of convict cichlid (*Amatitlania nigrofasciata*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 48:133–144. Doi: 10.1007/s10695-021-01039-z
- Jahanjoo, V., Yahyavi, M., Akrami, R. and Bahri, A.H., 2018.** Influence of adding garlic (*Allium sativum*), ginger (*zingiber officinale*), thyme (*Thymus vulgaris*) and their combination on the growth performance, haemato-immunological parameters and disease resistance to photobacterium damsela in sobaity sea bream (*Sparidentex hasta*) fry. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 18: 633-645. Doi:10.4194/1303-2712-v18_4_15.
- Joshi, B.C., Mukhija, M. and Kalia, A.N., 2014.** Pharmacognostical review of *Urtica*

- dioica* L. *International Journal of Green Pharmacy*, 8: 201-209.
- Lee, K.W., Everts, H. and Beyen, A.C., 2003.** Dietary carvacrol lowers body gain but improves feed conversion in female broiler chickens. *Journal of Applied Poultry Research*, 12(4): 394-399. Doi:10.1093/japr/12.4.394.
- 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. Doi:10.1016/S0044-8486(99)00352-X.
- Magnadóttir, B., 2006.** Innate immunity of fish (over view). *Fish and Shellfish Immunology*, 20:137-151. Doi: 10.1016/j.fsi.2004.09.006.
- Mahdavi, M., Hajimoradloo, A. and Ghorbani, R., 2013.** Effect of Aloe vera extract on growth parameters of common carp (*Cyprinus carpio*). *World Journal of Medical Sciences*, 9(1): 55-60. Doi:10.5829/idosi.wjms.2013.9.1.75128.
- Mehrabi, Z., Firouzbakhsh, F., Rahimi-Mianji, G. and Paknejad, H., 2020.** Immunity and growth improvement of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed dietary nettle (*Urtica dioica*) against experimental challenge with *Saprolegnia parasitica*. *Fish and Shellfish Immunology*, 104:74-82. Doi:10.1016/j.fsi.2020.05.050.
- Mzula, A., Wambura, P.N., Mdegela, R.H. and Shirima, G.M., 2019.** Current state of modern biotechnological-based *Aeromonas hydrophila* vaccines for aquaculture: a systematic review. *Hindawi, BioMed Research International*. Doi:10.1155/2019/3768948.
- Ngugi, C.C., Oyoo-Okoth, E., Mugo-Bundi, J., SagweOrina, P., Chemoiwa, E.J. and Aloob, P.A., 2015.** Effects of dietary administration of stinging nettle (*Urtica dioica*) on the growth performance, biochemical, hematological and immunological parameters in juvenile and adult Victoria Labeo (*Labeo victorianus*) challenged with *Aeromonas hydrophila*. *Fish and Shellfish Immunology*, 44(2): 533-54. Doi:10.1016/j.fsi.2015.03.025.
- Nobahar, Z., Gholipour-Kanani, H., Kakoolaki, S. and Jafaryan, H., 2015.** Effect of garlic (*Allium sativum*) and nettle (*Urtica dioica*) on growth performance and hematological parameters of beluga (*Huso huso*). *Iranian Journal of Aquatic Animal Health*, 1 (1): 63-69.
- Pratheepa, V. and Sukumaran, N., 2014.** Effect of Euphorbia hirta plant leaf extract on immunostimulant response of *Aeromonas hydrophila* infected *Cyprinus carpio*, *Peer J*, Doi:10.7717/peerj.671.
- Raftowicz, M., 2022.** Prospects for the development of the demand for carp in poland among young consumers. *International Journal Environment Research Public Health*. 19, 3831. Doi:10.3390/ijerph19073831
- Raissy, M., Ghafarifarsani, H., Hoseinifar, S.H., El-Haroun, E.R., Shahbazi Naserabad, S. and Doan, H.V., 2022.** The effect of dietary combined herbs extracts

- (oak acorn, coriander, and common mallow) on growth, digestive enzymes, antioxidant and immune response, and resistance against *Aeromonas hydrophila* infection in common carp, *Cyprinus carpio*. *Aquaculture*, 546:737287. Doi: 10.1016/j.aquaculture.2021.737287.
- Roohi, Z., Imanpoor, M.R., Jafari, V. and Taghizadeh, V., 2015.** The use of fenugreek seed meal in fish diets: growth performance, haematological and biochemical parameters, survival and stress resistance of common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Aquaculture Research*, 1–7, Doi:10.1111/are.12962.
- Ruzauskas, M., Armalytė, J., Lastauskienė, E., Šiugždinienė, R., Klimienė, I., Mockeliūnas, R. and Bartkienė, E., 2021.** Antimicrobial resistance profiles of microbiota in common carps (*Cyprinus carpio*) from aquacultured and wild fish populations. *Animals*, 11, 929. Doi: 10.3390/ani11040929.
- Saeidi asl, M.R., Adel, M., Caipang, C.M.A. and Dawood, M.A.O., 2017.** Immunological responses and disease resistance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) juveniles following dietary administration of stinging nettle (*Urtica dioica*). *Fish and Shellfish Immunology*, 71:230–238. Doi:10.1016/j.fsi.2017.10.016.
- Shakya, S.R., 2017.** Effect of herbs and herbal products feed supplements on growth in fishes: a review. *Nepal Journal of Biotechnology*, 5(1): 58–63. Doi:10.3126/njb.v5i1.18870.
- Shokrzadeh, M. and Saeedi Saravi, S.S., 2010.** The chemistry, pharmacology and clinical properties of *Sambucus ebulus*: a review. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(2): 095–103. Doi:10.5897/JMPR09.026.
- Sihag, R.C. and Sharma, P., 2012.** Probiotics: the new ecofriendly alternative measures of disease control for sustainable aquaculture. *Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 7 (2): 72–103. Doi: 10.3923/jfas.2012.72.103.
- Soliman, W.S., Shaapan, R.M., Mohamed, L.A. and Gayed, S.S., 2019.** Recent biocontrol measures for fish bacterial diseases, in particular to probiotics, bio-encapsulated vaccines, and phage. *Open Veterinary Journal*, 9(3):190–195. Doi: 10.4314/ovj.v9i3.2.
- Soltani, M., Lymbery, A., Song, S.K. and Hosseini Shekarabi, P., 2018.** Adjuvant effects of medicinal herbs and probiotics for fish vaccines. *Reviews in Aquaculture*, 1–17. Doi: 10.1111/raq.12295.
- Soltanian, S., Fereidouni, M.S., 2016.** Effect of Henna (*Lawsonia inermis*) extract on the immunity and survival of common carp, *Cyprinus carpio* infected with *Aeromonas hydrophila*. *International Aquatic Research*, 8:247–261. Doi: 10.1007/s40071-016-0141-2.
- Stratev, D. and Odeyemi, O.A., 2016.** Antimicrobial resistance of *Aeromonas hydrophila* isolated from different food sources: A mini-review. *Journal of Infection and Public Health*, 9(5): 535–544. Doi:10.1016/j.jiph.2015.10.006.

- Tacon, A.G., 1990.** Standard methods for the nutrition and feeding of farmed fish and shrimp. Feeding Methods. Agent Laboratories Press, Redmond, Taoka; p. 131–138.
- Wang, E., Chen, X., Wang, K., Wang, J., Chen, D., Y., Lai a, W. and Wei, X., 2016.** Plant polysaccharides used as immunostimulants enhance innate immune response and disease resistance against *Aeromonas hydrophila* infection in fish. *Fish and Shellfish Immunology*, 59:196-202. Doi:10.1016/j.fsi.2016.10.039
- Wang, C.Y., Li, Z.B., Sun, Y.Z., Chen, Q., Li, W.J, Huang, Y.C. and Lu, J., 2017.** Effects of Chinese herbal medicines mixture on growth performance digestive enzyme activity immune response of juvenile Japanese seabass, *Lateolabrax japonicas*. *Aquaculture Nutrition*, 1–11. Doi: 10.1111/anu.12597.
- Xu, A., Shang-Guan, J., Lia, Z., Gao, Z., Huang, Y.C. and Chen, Q., 2020.** Effects of dietary Chinese herbal medicines mixture on feeding attraction activity, growth performance, nonspecific immunity and digestive enzyme activity of Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*). *Aquaculture Reports*, 17, 100304. Doi: 10.1016/j.aqrep.2020.100304.
- Zar, J.H., 1994.** Bio statistical analysis. Pearson, New Jersey, USA; 662 P.
- Zare, M., Mirzakhani, M.K. and Stejskal, V., 2021.** Growth, body proximate composition and selected blood parameters of rainbow trout *Onchorhynchus mykiss* fingerlings fed on a diet supplemented with nettle *Urtica dioica* and tarragon *Artemisia dracuncululus*. *Aquaculture Research*, 00:1–12. Doi: 10.1111/are.15444.

Evaluation of dietary administration of nettle (*Urtica dioica*) and dwarf elder (*Sambucus ebulus*) on growth, hematological, immunological indices and survival of common carp (*Cyprinus carpio*) against *Aeromonas hydrophila*

Binaii M.¹; Ghiasi M.^{1*}; Sepahdari A.²; Babaalian Amiri A.R.³; Mattani H.⁴; Habibi F.¹

*ghiasimaryam4@gmail.com

1-Caspian Sea Ecology Research Center, Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Sari, Iran

2- Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Tehran, Iran.

3- Aquatic Animal Health and Diseases Department Mazandaran Provincial Veterinary Service, Sari, Iran

4- Shahid Rajaei Aquatic Genetic Resources Restoration and Protection Center, Sari, Iran.

Abstract

In this study, dry leaf powder of nettle and dwarf elder in two combinations and three treatments including treatment 1 (dwarf elder 50 g + nettle 60 g/ kg diet), treatment 2 (dwarf elder 50 g + nettle 120 g g/ kg diet) and control (normal diet) were used and 180 carp (52.64 ± 2.74 g) were fed during 8 weeks. The blood samples were taken in the 4 and 8 week of the trial. At the end of week 8, the fish were challenged to *Aeromonas hydrophila*. The results showed that the final weight, body weight gain and specific growth rate in treatment 2 and the food conversion factor of this treatment significantly increased and decreased, respectively, compared to the control. The levels of MCV, MCH, MCHC, glucose, cholesterol, albumin, alanine aminotransferase and aspartate aminotransferase were not shown any significant difference between the treatments and the control. In the 4th and 8th week, the amount of red blood cells, hematocrit and hemoglobin of the treatments were significantly higher than the control. At the end of week 4, the amount of white blood cells was significantly different between treatment 2 and the control, but at the end of week 8, this index increased significantly in the treatments compared to the control. The percentage of neutrophil cells, total protein and total IgM in the treatments in weeks 4 and 8 were increased significantly compared to the control. The amount of triglycerides of the treatments in the 8th week had a significant decrease compared to the control. During the 4th and 8th week, the lysozyme activity of the treatments increased significantly compared to the control, and the highest activity was in treatment 2. In week 4, the oxygen free radical production of treatment 2 had a significant increase compared to the control, but in week 8, a significant increase were seen in the treatments compared to the control. The percentages of survival after challenging to *Aeromonas hydrophila* were 71.6%, 69.9% and 22.6% in the treatment 1, 2 and control, respectively. The results of this study showed that using the combination of nettle and dwarf elder in both treatments can improve the growth and safety of carp fish, but treatment 2 had better results.

Keywords: Carp, *Aeromonas hydrophila*, Nettle, Dwarf elder, Total protein, Lysozyme, SGR

*Corresponding author