شیلات، مجله منابع طبیعی ایران
دوره ۷۲، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۸
صفحات ۴۰۸-۳۹۹

اثر عصاره هیدروالکلی نسترن کوهی (*Rosa canina L*) بر شاخص های رشد و خون‌شناسی قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

سمانه السادات ملکی [1]*، روح اله رحیمی[2]، شفیق شفیعی[3]

۱- گروه شیلات و محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی و علوم زمین، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران
۲- استادیارگروه شیلات و محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی و علوم زمین، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران
۳- گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

تاریخ ارسال: ۱۳۹۸/۱۱/۲۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۲/۲۵

چکیده

مطالعه حا ضر به منظور برر سی اثر ع صاره هیدروالکلی ن سترن کوهی *Rosa canina* L. بر فاکتورهای ر شد و تغذیه و شاخص‌های ایمنی قزل آلای رنگین کمان انجام گرفت. در این تحقیق، ۲۳۰ قطعه ماهی با میانگین وزنی ۰٫۷± ۱۵به صورت تصادفی به تیمارهای آزمایش وارد شدند و با جیره های غذایی شامل: جیره غذایی فاقد نسترن کوهی به عنوان شاهد و حاوی ۲٫۵، ۵ و ۱۰گرم (g/kg درخوراک) عصاره نسترن کوهی با سه تکرار به مدت ۴۲ روز پرورش یا فتند. براساس یافته‌های این پژوهش، تیمار حاوی (g/kg) ۵ گرم عصاره نسترن درکیلو گرم جیره غذایی به طور معنی‌داری بهترین ضـریب تبدیل خوراک(FCR)، نرخ رشـد ویژه (SGR)، ضـریب چاقی (CF)، (BWG) میانگین رشـد روزانه (DGR) را دا شت (p<۰٫۰۵). در شاخص‌های خون شنا سی شامل: گلبول‌های قرمز (RBC)،حجم متو سط سلولی (MCV)، هماتوکریت سلولی MCH (MCHC) هیچ اختلاف معنی‌داری را در بین تیمارهای آزمایش نشـان نداد (p>۰٫۰۵). شـاخصWBC تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای حاوی عصاره را نشان داد (p<۰٫۰۵) و تیمار (g/kg) 10 عصاره با تیمار شاهد تفاوت معنی‌داری نشان نداد(p>۰٫۰۵). تعداد لنفوسیت‌ها در تیمار غذایی حاوری باg/kg ۱۰ کیلو گرم در غذا، اختلاف معنی داری را با سـایر تیمارها و تیمارشـاهد داشـت(p<۰٫۰۵). تعداد نوتروفیل و مونوسـیت بین تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی‌داری نشان نداد(p<۰٫۰۵). نتایج این مطالعه نشان داد که استفاده از مقدار ۵ گرم در کیلو گرم عصاره هیدروالکلی نسترن کوهی در جیره غذایی منجر به افزایش شاخص‌های ر شد و نیز مصرف ۱۰ گرم عصاره در کیلو گرم غذا منجر به افزایش شاخص‌های ایمنی در ماهی قزل آلا خواهد شد. بنابراین، می‌توان عصاره نسترن کوهی را به عنوان محرک ر شد طبیعی و ایمنی در جیره غذایی قزل آلا رنگین کمان بکار برد.

واژگان کلیدی: عصاره هیدرالکلی، نسترن کوهی، رشد، خون‌شناسی، قزل آلای رنگین کمان

* نویسنده مسئول: سمانه السادات ملکی
Email: s.smaleki97@gmail.com

Journal of Fisheries
Vol. 72, No. 4, winter 2019
pp. 399-408

Effect of hydroalcolic extract of *Rosa canina* L. on growth and immune indices of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss)*

Samaneh Sadat Malek [1*], Rohollah Rahimi[2], Shafigh Shafiei[3]

1-Department of Fisheries and Environmental Sciences, Faculty of Natural Resources and Earth Sciences, Shahrekord
2-Associate professor, Department of Fisheries and Environmental Sciences, Faculty of Natural Resources and Earth Sciences, Shahrekord
3-Department of Food Hygiene and Quality Control, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord University, Shahrekord, Iran

Received: 15-Feb-2020 **Accepted: 17-Mar-2020**

Abstract
The present study aimed to investigate the effect of *Rosa canina* L. hydroalcolic extract on growth and nutrition factors and immune indices of *rainbow trout (Oncorhynchus mykiss)*. In this study, 230 fish with weight average of 15±0.7 were randomly assigned in four groups and were studies for 42 days with three replications. The experimental treatments including *R. canina* L-free diet as the control treatment and treatments including 2.5, 5, and 10 (g/kg) R. canina were the experimental treatments. Fish were fed by 2% of their body weight twice a day and after two weeks, they were weighted and different growth and immune factors were examined. According to the findings of the growth indicators, the treatment containing 5(g/kg) *R.canina* significantly showed better (FCR), (SRG), (CF), (BWG) and (DGR) indicators ($P<0.05$). The results of measuring hematological indicators of (Hb), (RBC), (MCV), (MCH), and (MCHC) showed no significant difference between the treatments ($p>0.05$). WBC showed a significant difference between treatments containing extract ($P<0.05$) and the treatment 10(g/kg)showed no difference with the control treatment ($P>0.05$).The number of lymphocytes in the treatment group10(g/kg) showed a significant difference with other treatments and the control treatment. No significant difference was observed between the treatments in terms of neutrophils and monocytes. The findings of this study show that the use of 5(g/kg) extract leads to increased growth indicators and 10 (g/kg)leads to increased growth indicators.
Key words: *R.canina* L, growth, immune, hydroalcolic extract, herbal, Rainbow trout (*oncorhynchus mykiss*)

Corresponding author: Samaneh Sadat Malek Email: *s.smaleki97@gmail.com*

۱. مقدمه

درسال‌های اخیر تولید در بخش آبزی پروری افزایش یافته است و با توسعه چشم‌گیر و روز افزون این صنعت مواجه ایم. ازاین رو، توجه به صنعت آبزی پروری برای تامین بخشی از نیاز غذایی مورد توجه جدی کشورها قرارگرفته است. امروزه قزل آلای رنگین کمان یکی از مهم‌ترین گونه‌های اقتصادی است که در بیشتر نقاط جهان پرورش داده می‌شود. مشخصه‌هایی که سبب برتری و گرایش روز افزون تکثیروپرورش این ماهی می‌شود، شامل سازگاری با تراکم بالا در شرایط پرورشی، مقاومت در برابر شرایط نامطلوب محیطی، سازگاری خوب با تغذیه‌ی دستی و افزایش رشد بالا است(Faghani *et al*., 2008). دراین بین، رشد روز افزون تقاضا برای تولید قزل آلای رنگین کمان منجر به استفاده از روش های پرورش متراکم گردیده است. با استفاده از روش های پرورش متراکم و افزایش تراکم ماهی در مخازن پرورشی، امکان شیوع بیماری‌های باکتریایی، ویروسی و انگلی نیزبیشترشده است(Woo and Bruno, 2011). مدیریت بیماری دراین زمینه باید با استفاده از روش‌های سازگاربا محیط زیست و ماندگار انجام گیرد. در این ارتباط، در سال‌های اخیر استفاده ازگیاهان دارویی به عنوان محرک ایمنی گسترش یافته و پژوهش های زیادی دز این زمینه انجام شده است. ثابت شده است که بکار گیری گیا هان دارویی در جیره غذایی می تواند باعث افزایش پاسخ‌های ایمنی و مقاومت ماهی در برابر بیماری‌ها شود(Bulfon *et al*., 2015). کاربرد گیاهان دارویی به عنوان ترکیبات طبیعی و بی ضرردرآبزی پروری جایگزینی برای آنتی بیوتیک‌ها وایمنوپروفیلاکتیک شناخته شده است (Van Hai, 2015). پژوهش ها نشان داده است، استفاده از گیاهان داروئی در غذای ماهیان منجر به بهبود شاخص‌های ایمنی مانند فعالیت لیزوزیم، فعالیت فاگوسیتوز، فعالیت کمپلمان، افزایش فعالیت انفجارتنفسی و افزایش پروتئین‌های پلاسما(گلوبین و آلبومین) می‌شود. محصولات مشتق شده از گیاه یک منبع نوید بخش از مولکول‌های زیست فعال است و در عین حال در دسترس، ارزان و بیولوژیک نیز هستند و اثرات جانبی کمی برجانداران و محیط زیست دارند.

در این میان استفاده ازبرخی مواد محرک ایمنی درغذای آبزیان پرورشی متداول شده است(Kumari and Sahoo, 2006). نسترن کوهی با نام علمی (*Rosa canina L*) از تیره *Rosaceae* گیاهی درختچه‌ای و چند ساله است و به طور خودرو در مناطق خشک روی مناطق صخره‌ای و در بوته زارها می روید. این گیاه یکی از مهم‌ترین گیاهان داروئی است که میوه‌های آن حاوی ترکیبات دارویی و غذایی ارزشمند است (Omid beigi, 2016). میوه این گیاه سرشار از ویتامین‌های A، B و C است (Demir and Ozcan, 2001) و ترکیبات با ارزش دیگر مانند پلی فنول‌ها که رنگدانه‌هایی مانند فلاونوئیدها نیز ازجمله این ترکیب ها هستند (Winkel-Shirly, 2002). پلی فنول‌ها خواص ضد میکروبی، ضد ویروسی و توانایی آنتی اکسیدانی بالایی دارند. همچنین حاوی مقادیر بالایی ازکارتنوئیدها اند که گروه بزرگی ازرنگدانه‌های گیاهی را تشکیل می دهند و دارای خاصیت آنتی اکسیدانی اند و رادیکال‌های آزاد در بدن انسان را خنثی می‌کنند (Kirakosyan *et al*., 2004). لیکوپن از کارتنوئیدهای مهم است و یک آنتی اکسیدان قوی به شمار می‌آید که در پیشگیری از بیماری های قلب وعروق و سرطان موثراست (Hodisan *et al*., 1997). این گیاه می تواند کاندیدای مناسبی برای درمان دیابت قندی نیز باشد و در تحقیقات آینده بایستی مورد توجه قرار گیرد. این گیاه غنی ازعناصر و مواد معدنی فسفر، پتاسیم، کلسیم، روی، آهن، منیزیم، منگنزو سدیم و سایرترکیبات کربوهیدارت‌ها واسیدهای چرب است. لذا، از نظر غذایی و داروئی، گیاهی بسیارارز شمند و مورد توجه است Artik (and Eksi, 1988; Dina *et al*., 2007).. با توجه به خصوصیات ارزشمند این گیاه، در این پژوهش، اثر عصاره هیدروالکلی نسترن کوهی بر شاخص های رشد و شاخص‌های ایمنی قزل آلای رنگین کمان بررسی شد.

۲.مواد و روش‌ها

۲,۲. گیاه و روش عصاره گیری

گیاه نسترن کوهی از زیستگاه طبیعی استان چهارمحال و بختیاری جمع آوری شد. تایید و تطبیق گیاه در دانشگاه شهرکرد، دانشکده کشاورزی انجام گرفت. عصاره‌گیری گیاه برطبق روش(Ghasemi *et al*., 2010) انجام شد. به طورخلاصه، گیاه با آب مقطر شسته شد و

در دمای اتاق زیرسایه خشک شد. سپس موادگیاهی خشک شده پودر شد. (۲۰۰g) ازموادگیاهی پودرشده در (۵۰۰ml) اتانول مرک ۹۸ درصد برای مدت۴۸ ساعت قرار گرفت و داخل شیکر قرار داده شد تا برای عصاره گیری مناسب مهیا شد. پس ازآن، عصاره گیاه از کاغذ صافیWhatman با مش ۱ میکرون عبور داده شد. عصاره تصفیه شده با استفاده از دستگاه rotary evaporator دردمای°C ۵۰ درجه سانتی گراد تغلیظ شد و پس از آن در آون با دمای ۵۰ درجه سانتی گراد خشک شد.

۲,۲. ماهی و شرایط آزمایشگاهی

ماهی قزل آلای رنگین کمان از مزارع پرورشی تهیه و سپس به آزمایشگاه آبزی پروری دانشگاه شهرکرد منتقل شد و ماهیان به مدت ۲ هفته با محیط آزمایش سازگار شدند. سپس ماهیان به واحد های آزمایش وارد شدند. طول دوره آزمایش ۶ هفته بود. در هر واحد آزمایش ۱۹ قطعه ماهی وارد شد. مخازن پرورشی دارای حجم۳۰۰ لیتربود و روزانه ده درصد آب هر مخزن تعویض شد. ماهیان دو بار در روز، به میزان ۲ درصد وزن بدن غذا دهی شدند. هوا دهی مخازن از طریق یک سیستم مرکزی هوا ده انجام شد.

۳,۲. آماده سازی جیرها یا تیمار های غذایی

غذای پایه ، پلت غذایی تجاری (فرادانه،شهرکرد،ایران) قزل آلای رنگین کمان بود که بعد از خرد شدن در آزمایشگاه عصاره گیاهی گل نسترن گیاه*R .canina* به آنها اضافه شد. جیره های حاوی۰، ۲,۵، ۵ و ۱۰ گرم در کیلوگرم خوراک آبزیان و تیمار صفر به عنوان گروه شاهد آماده شدند. با افزودن ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر به یک کیلو گرم جیره به همراه عصاره گیاهی غذای شاهد به صورت خمیر درآمد و با عبور دادن از چرخ گوشت به صورت رشته در آمدند. رشته ها در دمای ۵۰درجه سانتی گراد به مدت ۷۲ساعت خشک شدند و دردمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شدند. از ماهیان هر دو هفته یکبار نمونه بر داری شد و شاخص های رشد و خون در آنها اندازه گیری شد. (Moghanlou *et al*., 2018).

غذای پایه ، پلت غذایی تجاری (فرادانه،شهرکرد،ایران) قزل آلای رنگین کمان بود که بعد از خرد شدن در آزمایشگاه عصاره گیاهی گل نسترن گیاه*R .canina* به آنها اضافه شد. جیره های حاوی۰، ۲,۵، ۵ و ۱۰ گرم در کیلوگرم خوراک آبزیان و تیمار صفر به عنوان گروه شاهد آماده شدند. با افزودن ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر به یک کیلو گرم جیره به همراه عصاره گیاهی غذای شاهد به صورت خمیر درآمد و با عبور دادن از چرخ گوشت به صورت رشته در آمدند. رشته ها در دمای ۵۰درجه سانتی گراد به مدت ۷۲ساعت خشک شدند و دردمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شدند. از ماهیان هر دو هفته یکبار نمونه بر داری شد و شاخص های رشد و خون در آنها اندازه گیری شد. (Moghanlou *et al*., 2018).

۴,۲. آزمایشهای هماتولوژی

شمارش گلبول های قرمز (RBC) وگلبول های سفید (WBC) بااستفاده از لام هموسیتومتر نئوبار انجام شد (Martins *et al*., 2004). بااستفاده از روش میکروهماتوکریت استاندارد اندازه گیری شد و نتایج به صورت درصد گزارش شد. سطح هموگلوبین(Hb) بااستفاده از روش cyanomethemoglobin) spectrophotometry) به دست آمد((Collier, 1944. تعداد لکوسیت‌های مختلف (منوسیت، لنفوسیت و نوتروفیل) با استفاده از روش رنگ آمیزی (Giemsa) انجام شد و لکه‌های خون در زیر میکروسکوپ نوری مشخص شد((Ghiasi *et al*., 2010. شاخص‌های خون شامل حجم متوسط سلولی (MCV)، میانگین هماتوکریت سلولی (MCH) و غلظت MCH(MCHC) برطبق((Seiverd, 1964 انجام شد.

۵,۲. خونگیری

در پایان هفته ششم پس از ایمن سازی، از هر گروه تعداد ۶ ماهی به صورت تصادفی برداشت و با استفاده از اسانس میخک در مجاورت هواده بیهوش شدند و سپس نسبت به خونگیری از ورید ساقه دمی و تهیه گسترش های‌خونی اقدام گردید. نمونه خون گرفته شده در لوله‌های آزمایش بدون ماده ضد انعقاد هپارین و حاوی هپارین ریخته شد. خون حاوی ماده ضد انعقاد جهت آزمایشهای خونی به آزمایشگاه ارسال گردید و نمونه‌های غیر هپارینه ابتدا در دمای اتاق یک ساعت نگهداری و پس از انتقال به دمای ۴

درجه سانتیگراد به مدت یک شب نسبت به جدا سازی سرم از نمونه ها اقدام گردید. در نهایت سرم‌های جدا سازی شده در میکروتیوب‌های جداگانه توزیع و تا زمان استفاده در فریزر ۷۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند.

۶,۲. شمارش لکوسیتی

به منظور بررسی اثرات محرک ایمنی بر نسبت لکوسیت‌ها از روش ارائه شده توسط (Klontz, 1994) استفاده گردید. بدین منظور گسترش‌های خونی تهیه شده ابتدا روی لام خشک و توسط متانول فیکس شد، سپس توسط گیمسا ۵ درصد رنگ آمیزی شد و زیر میکرو سکوپ نوری شمارش تفریقی لکو سیت ها صورت گرفت.

در پایان آزمایش، نرخ افزایش وزن (WGR)، ضریب تبدیل غذایی (FCR)، نرخ رشد ویژه (SGR)، میانگین رشد روزانه (ADG)، فاکتور وضعیت (CF) گروه‌های مختلف براساس محاسبه معادلات زیر انجام گرفت(Moghanlou et al., 2018).

WGR=Wf−Wi

FCR=Dry feed intake (g)/Weight gain (g)

SGR (g day−1)=100 (Ln Wf−Ln Wi)/t

CF (%)=100; Body weight (g)/[Body length]3(cm)

ADF=Wf−Wi/t where Wf is final body weight (g)

Wi وزن نهایی بدن (g) و t طول دوره آزمایش (در روز) است.

۸,۲.. تجزیه و تحلیل آماری داده ها

طرح آزمایش، یک طرح کاملا تصادفی با ۳ تکرار بود. پس از بررسی نر مال بودن داده ها با آزمون کولموگراف-اسمیرنوف، از تجزیه واریانس یک طرفه One Way ANOVAبرای مقایسه میانگین ها میان داده های تیمارهای آزمایش ا ستفاده شد. برای تعیین سطح معنی داری بین تیمارها ، از آزمون دانکن استفاده شد.

۳.نتایج

در این مطالعه، سنجش اثر عصاره گیاه نسترن کوهی (*Rosa canina L*) در گروه‌های مختلف بر پاسخ‌های ارزیابی شاخص‌های ر شد و فاکتورهای خونشنا سی مورد ارزیابی قرار گرفت که نتایج حاصل از آن‌ها در زیر گزارش شده است.

۱,۳. شاخص‌های رشد

در جدول۱، داده های مربوط به میانگین شاخص‌های ر شد ماهی شامل ضریب تبدیل غذایی(FCR)، نرخ ر شد ویژه(SGR)، فاکتور وضعیت (CF) ، میانگین رشد روزانه (DGR) ، نرخ افزایش وزن (BWG) ودرصد بازماندگی در خون ماهیانی که با جیره حاوی عصاره گیاه نسترن کوهی ارائه شده است. میزان رشد ماهی اختلاف معنی داری را میان تیمارهای مختلف نشان نداد (p >۰,۰۵). ضریب تبدیل غذاییFCR در تیمارهای تغذیه شده با عصاره‌ی گیاه نسترن کوهی تفاوت معنی داری را نشان داد ند(p<۰,۰۵). بین تیمار شاهد و تیمار (g/kg) ۱۰هیچ اختلاف معنی داری مشاهده نشد(p<۰,۰۵). اما اختلاف منعی داری بین این دو تیمار با تیمارهای (g/kg) ۲,۵ و ۵ عصاره‌ی گیاه نسترن کوهی مشاهده گرد ید(p<۰,۰۵). همچنین بیش‌ترین ضر یب تبد یل غذایی مربوط به تیمار شاهد و تیمار (g/kg) ۱۰ تغذیه شده با عصاره‌ی گیاه بود و کم‌ترین ضریب تبدیل غذایی مربوط به تیمار تغذیه شده با ۵(g/kg)عصاره‌ی گیاه بود. شاخص رشد ویژه(SGR) اختلاف معنی داری را بین تیمارهای تغذیه شده با عصاره گیاه نسترن کوهی داشت(p<۰,۰۵). اختلاف معنی داری بین تیمار های تغذ یه شده با ۲,۵ ، ۵ و ۱۰ گرم بر کیلوگرم خوراک حاوی عصاره‌ی گیاه با تیمار شاهد مشاهده شد(p<۰,۰۵). بیشترین مقدار نرخ رشد ویژه را تیمار حاوی(g/kg) ۵ عصاره گیاه نشان داد و کمترین مقدار نرخ رشد ویژه درتیمار شاهد مشاهده شد. مقادیر میانگین فاکتور وضعیت(CF) هیچ اختلاف معنی داری را در بین تیمارهای نشان نداد(p>۰,۰۵). فاکتور رشد بیشترین مقدار را در تیمار (g/kg) ۵ عصاره‌ی وکمترین مقدار را در تیمار(g/kg) ۲,۵ داشت.

م یانگین نرخ افزایش وزن اختلاف معنی دار را بین تیمارهای شاهد و(g/kg) ۱۰ و تیمارهای (g/kg) ۲,۵ و ۵ عصاره‌ی گیاه داشت(p<۰,۰۵). همچنین، اختلاف معنی داری بین تیمارهای (g/kg) ۲,۵ و ۵ عصاره نسترن کوهی م شاهده ن شد(p>۰,۰۵). علی رغم این، بیش‌ترین

مقدار نرخ افزایش وزن مربوط به تیمار تغذیه شده با (g/kg) ۵ عصاره نسترن کوهی بود و کم‌ترین مقدار نرخ افزایش وزن مربوط به تیمار(g/kg) ۱۰ عصاره گیاه بود. میانگین نرخ رشد روزانه(DGR) ، بین تیمار شاهد و تیمار(g/kg) ۱۰ تفاوت معنی داری را نشان داد(p>۰,۰۵). همچنین، بین تیمار ۲,۵ با تیمار (g/kg) ۱۰ عصاره نسترن کوهی اختلاف معنی داری وجود نداشت(p>۰,۰۵). با این وجود تیمار(g/kg) ۵ عصاره گیاه با سایر تیمار ها اختلاف معنی داری را نشان داد(p<0.05). بین تیمار تغذیه شده شاهد با تیمارتغذیه شده ۲,۵ (g/kg) ۵ عصاره نسترن کوهی اختلاف معنی داری وجود دا شت(p>۰,۰۵). بیش‌ترین نرخ ر شد روزانه مربوط به تیمار تغذیه شده با(g/kg) ۵ عصاره نسترن کوهی و کم‌ترین نرخ رشد روزانه مربوط به تیما(g/kg) ۱۰ بود.

۲,۳. شاخص های خونشناسی

کمترین میزان هموگلوبین(Hb) مربوط به تیمار تغذیه شده با(g/kg) ۵ عصاره گیاه نسترن کوهی بود. بیشترین میزان همو گلوبین(Hb) سنجیده شده مربوط به تیمار شاهد بود. علی رغم این‌که میزان هموگلوبین(Hb) در تیمار شاهد بیش‌تر از سایر تیمارها بود، اما اختلاف معنی داری بین تیمار شاهد و بقیه تیمارها مشاهده نگر ید(p>۰,۰۵). (جدول ۲). مقدار گلبول سفید WBCتفاوت معنی داری را بین تیمار شاهد با تیمار تغذیه شده با (g/kg) ۲,۵ و ۵ عصاره گیاه نسترن کوهی نشان نداد(p<۰,۰۵). همچنین بین تیمار شاهد با تیمار تغذیه شده با ۱۰ گرم برکیلوگرم خوراک حاوی عصاره گیاه هیچ اختلاف معنی داری مشاهده نشد(p>۰,۰۵). در این میان مقدار گلبول سفید WBC مربوط به گروه تغذیه شده با (g/kg) ۱۰ و کم‌ترین مقدار گلبول سفید WBCمربوط به تیمار ۲,۵ گرم بر کیلوگرم عصاره‌ی گیاه بود. نتایج تعداد گلبول‌های قرمز در انتهای دوره آزمایش در جدول۲ ارائه شده است. براساس نتایج به دست آمده، تعداد گلبول های قرمز در انتهای دوره آز مایش تفاوت معنی داری را بین تیمارهای مختلف نشان نداد ند(p>۰,۰۵). همچنین، بیش‌ترین تعداد مربوط به تیمار شاهد بود و کم‌ترین تعداد مربوط به تیمار تغذیه شده با ۵ کیلو گرم رژیم حاوی عصاره‌ی نسترن کوهی بود. مقادیر هماتوکریت تفاوت معنی را در بین تیمارهای مختلف نشان نداد(p>۰,۰۵). روند تغییرات هماتوکریت Hb در تیمار تغذیه شده با (g/kg) ۱۰ عصاره گیاه بیش‌ترین میزان هماتوکریت مشاهده شد در حالی که در تیمار (g/kg) ۲,۵ عصاره گیاه کم‌ترین میزان هماتوکریت ثبت شد. نتایج سنجش مقادیر حجم متوسط سلولی(MCV) هیچ تفاوت معنی داری را در بین تیمارهای مختلف نشان نداد(p>۰,۰۵). بیش‌ترین حجم متوسط سلولی در بین تیمارها مربوط به تیمار تغذیه شده با (g/kg) ۵ عصاره گیاه بود و کمترین حجم متوسط سلولی مربوط به تیمار تغذیه شده با (g/kg) ۲,۵ عصاره‌ی گیاه ثبت شد. نتایج سنجش میزان MCH در تیمارهای تغذیه شده باعصاره نسترن کوهی *R.canina L*درجدول ۲ ارائه شده است. هماتوکریت سلولی MCH تفاوت معنی داری را در بین تیمارهایی حاوی عصاره نسترن کوهی بودند نشان نداد(p>۰,۰۵). کم‌ترین مقدار مربوط به تیمار (g/kg) ۵ و بیش‌ترین مقدار مربوط به تیمارحاوی (g/kg) ۱۰ گرم عصاره نسترن کوهی بود. غلظت هماتوکریت سلولی MCH در خون ماهیان تغذیه شده با رژیم غذایی حاوی عصاره‌ی گیاه نسترن کوهی ارائه شده است. درهیچ یک از تیمارهای تغذیه شده تفاوت معنی داری بین تیمارهای مختلف مشاهده نمی‌شود(p>۰,۰۵). بیش‌ترین غلظت هماتوکریت سلولی MCHمربوط به تیمار شاهد و کمترین غلظت MCH مربوط به تیمار تغذیه شده با (g/kg) ۵ عصاره‌ی گیاه نسترن کوهی بود. در این مطالعه، بیش‌ترین تعداد لنفوسیت‌ها در گروه تغذیه شده با (g/kg) ۱۰ خوراک، اختلاف معنی‌داری را با سایر تیمارها داشت(p<۰,۰۵). تعداد نوتروفیل ها در بین تیمار ها اختلاف معنی داری نداشت و در تیمارهای حاوی عصاره نسبت به تیمار شاهد کاهش نشان داد(p>۰,۰۵). همچنین، تعداد مونوسیت در بین تیمار ها اختلاف معنی دار نداشت(p>۰,۰۵) و بیش‌ترین تعداد مونوسیت مربوط به تیمار(g/kg) ۱۰ بود.

جدول ۱: میانگین (انحراف معیار ± میانگین) شاخص های ضریب تبدیل غذایی(FCR)، نرخ رشد ویژه(SGR)، فاکتور وضعیت (CF) ، میانگین رشد روزانه (DGR) ، نرخ افزایش وزن (BWG) و درصد بازماندگی در میان تیمارها در پایان آزمایش

	تیمارهای آزمایش (g/Kg) خوراک			
	0	2/5	5	10
FCR	۱/۴۲±۰/۰۲۱a	۱/۳۱±۰/۰۲۲b	۱/۲۵±۰/۰۳c	۱/۴۲±۰/۰۳a
SGR	۱/۷۰±۰/۰۲۲a	۱/۸۲±۰/۰۴۴b	۱/۹۱±۰/۰۷b	۱/۸۸±۰/۰۶b
CF	۰/۹۰±۰/۰۲۲a	۰/۸۸±۰/۰۰۴a	۰/۹۱±۰/۰۳a	۰/۹۰±۰/۰۱a
BWG	۱۰۳/۳±۱/۹۱a	۱۱۴/۸±۳/۹۵c	۱۲۳/۶±۳/۴b	۱۰۳/۴±۲/۸a
DGR	۰/۳۷±۰/۰۰۶a	۰/۴۰±۰/۱۱a	۰/۴۳±۰/۰۱۲b	۰/۳۸±۰/۱۶a
%SERVIRAL	٪۱۰۰	٪۱۰۰	٪۱۰۰	٪۱۰۰

جدول۲: نتایج سنجش فاکتورهای خون‌شناسی گلبول‌های قرمز (RBC) وگلبول‌های سفید (WBC) **هماتوکریت (PCV) حجم متوسط سلولی (MCV)، هماتوکریت سلولی (MCH) ، غلظت MCH(MCHC)و سطح هموگلوبین(Hb) در میان تیمارها در طول دوره آزمایش**

	تیمارهای آزمایش (g/Kg) خوراک			
	0	2/5	5	10
Hb(gr/dl)	۸/۳±۰/۵۲۹۱	۷/۳±۰/۷۲۱۱	۶/۵±۱/۵	۸/۲±۰/۷۶۳۷
MCV(fL)	۳۶۱/۱۶±۱/۳۰۴۵	۳۴۳/۰۳±۳/۴۱۲	۳۸۱/۲۶±۲/۵۸۹	۳۷۷/۹۳±۰/۶۷
WBC* 10^3/µl	۹/۵۴۱±۱/۴۳۷c	۶/۵۰۰±۱/۰۳۲a	۷/۹۱۶±۱/۰۹۲b	۹/۹۵۸±۱/۷۵c
RBC * 10^6/µl	۱/۲±۰/۲۰۸۱	۱/۰۶±۰/۱۵۲۷	۱/۰۳±۰/۲۵۱	۱/۲±۰/۱۷۳۲
MCH(pg)	۶۸/۷۳±۱/۰۰۵	۶۸/۷۳±۳/۳۸	۶۴/۶۶±۱/۶۰۳	۶۹/۵۶±۱/۰۸۴
MCHC (gr/dl)	۱۲/۰۵±۰/۳۷	۱۱/۵۸±۰/۵۲	۱۲/۲۷±۰/۴۵	۱۱/۵۰±۰/۸۶
لنفوسیت%	۷۴/۸±۱/۷۵b	۶۹/۱±۱/۲۵a	۷۰/۶±۱/۱۵۴a	۸۸/۵±۲/۱۷۹c
نوتروفیل%	۱۲/۰۵±۰/۳۷	۱۱/۵۸±۰/۵۲	۱۲/۲۷±۰/۴۵	۱۱/۵۰±۰/۸۶
مونوسیت%	۲/۳±۰/۱	۲/۴۳±۰/۵۳	۲/۲۰±۰/۲۶	۲/۵۳±۰/۴۵

۴. بحث ونتیجه گیری

نتایج حاصل از مطالعه حاضر حاکی از آن است که کاربرد جیره غذایی حاوی عصاره گیاه نسترن *R.canina L* در سطح (g/kg) ۵ گرم در کیلو گرم خوراک به طور معنی داری منجر به بهبود ضریب تبدیل خوراک(FCR)، نرخ رشد ویژه(SGR)، فاکتور وضعیت(CF)، نرخ افزایش وزن(BWG)، نرخ رشد روزانه(DGR) در ماهی قزل آلای رنگین کمان جوان در مقایسه با سایر جیره ها خواهد شد.

مطالعات بسیاری در مورد اثر احتمالی عصاره‌های گیاهی بر عملکرد رشد گزارش شده است. به عنوان مثال، در ماهی روهو(*Labeo victorianus (Ningu*) مصرف مکمل رشد گیاه گزنه *Urtica dioica(stinging nettle)* در سطوح ۱ و ۵ درصد باعث افزایش شاخص های رشد و ایمنی شده است(Ngugi *et al*., 2015)، همین نتایج در فیل ماهی *Huso Huso* تغذیه شده با رژیم غذایی پیاز *Allium cepa(onion)* در سطح ۰٫۵ و ۱ درصد به دست آمده است(Akrami *et al*., 2015) که با نتایج به دست آمده در این پژوهش مطابقت دارد. نشان داده شده است که عصاره آلوئه ورا در سطوح۰/۵، ۰/۱، ۲/۵ درصد می تواند اثر محرکی را بر رشد و اشتهای کپور معمولی داشته باشد و افزایش وزن و نرخ رشد ویژه، پس از ۸ هفته تغذیه با این جیره ها، در این ماهی مشاهده شده است (Mahdavi *et al*., 2013) . همچنین، Shalaby و همکاران ۲۰۰۶، افزایش مصرف خوراک، نرخ رشد ویژه(SGR) و افزایش وزن تیلاپیای نیل را پس از یک تغذیه با جیره غذایی حاوی (g/kg) ۱۰،۲۰،۳۰،۴۰ گیاه سیر *(garlic)* برای۱۲ هفته ثبت کرده اند(Shalaby *et al*., 2006). چای سبز *green tea* و دارچین, *cinnamon American ginseng* جیسنینگ آمریکایی نیز عملکرد خوبی را در رشد و ضریب تبدیل غذایی در ماهی تیلاپیا نشان داده اند (Abdel-Tawwab, 2012; Abdel-Tawwab *et al*., 2010; Ahmad *et al*., 2011). مصرف کافئین در جیره غذایی ماهی شانک سر طلائی *Sea-bream(sparus aurata)* در سطوح۱، ۰٫۲، ۰٫۵ درصد باعث افزایش رشد این ماهی شده است و با افزایش مقادیر این ترکیبات در جیره اثر منفی در رشد و طعم ماهی مشاهده شده است (*Chatzifotis et al*., 2008). مطالعات زیادی نشان داده‌اند که عصاره و یا مصرف برخی از گیاهان دارویی، در جیره غذایی آبزیان، می‌توانند به عنوان محرک اشتها و رشد بر شاخص های رشد و ایمنی اثر داشته باشند. بیان شده است که این اثرات می توانند ناشی از تحریک در افزایش ترشح آنزیم‌های گوارشی و نیز تاثیر بر انتخابی شدن یا افزایش فلور باکتریایی در دستگاه گوارش آبزی باشد (Awad *et al*., 2012; Harikrishnan *et al*., 2012; Reverter *et al*., 2014; Takaoka *et al*., 2011; Van Hai, 2015). گیاهان و محصولات گیاهی می توانند رشد و تثبیت یا کلون شدن تعداد بی‌شماری از عوامل بیماری‌زا و غیر بیماری‌زا ی باکتریایی را در روده ماهی کنترل و محدود کنند. این امر باعث بهره وری بیش‌تر جیره های غذایی می شود و مصرف آنها نیز منجر به رشد بهتر آبزی می گردد (Bradford, 1976; Reverter *et al*., 2014). ثابت شده است که مقدار مصرف عصاره در جیره غذایی تابعی از نوع گونه، سن، وزن آبزی و شرایط محیطی و اثر عوامل استرس زا در طول دوره پرورش است(Moghanlou *et al*., 2018). مصرف سطح بالایی از این مواد در جیره غذایی، باعث فعال شدن مهار کننده‌های آنزیمی خواهد شد. بسیاری از گیاهان حاوی این مهار کننده‌ها هستند و می توانند آبزی را در برابر تخریب ناخواسته ناشی از ترشح بیش از حد آنزیم محافظت کنند. گیاهان دارویی حاوی مقادیر زیادی فلاوونوئیدها و ترکیبات فعال بیولوژیکی اند، تجزیه بیو شیمیایی این گیاهان وجود مقادیر بالایی از این مواد را در گیاهان اثبات کرده است. در گیاه نسترن وحشی، ترکیبات موثره شامل آنتی اکسیدانهای مختلف از جمله فنول‌ها و فلاوونوئیدها وجود دارد. در دهه‌های اخیر، افزودنی‌های گیاهی به عنوان مواد قابل جایگزین آنتی بیوتیک‌ها مورد توجه زیادی قرارگرفته‌اند. به طور کلی، افزودنی‌های خوراکی از طریق اثر بر فلور دستگاه گوارش و کنترل عوامل بیماری‌زا، نقش خود را در بهبود رشد نیز اعمال می‌نمایند.

ارزیابی شاخص های خون شناسی در آبزی پروری، به عنوان ابزاری مهم و تشخیصی برای ارزیابی وضعیت سلامت، استرس و شرایط بیماری پذیرفته شده است(Rashidian *et al*., 2020). شاخص های خون شناسی از جمله RBC، Ht و شاخص‌های مشتق شده از آن‌ها مانند MCV (اندازه RBC)، MCH(مقدار Hb) وMCHC (محتوای Hb) به طور خاص برای نشان دادن وضعیت گلبولهای قرمز و قابلیت حمل اکسیژن در ماهی مشخص شده است(Houston, 1997). نتایج مطالعه حاضر نشان دادکه گنجاندن عصاره گیاه نسترن وحشی در جیره غذایی ماهی قزل آلا تاثیری بر شاخص های خون مانند حجم متوسط سلولی (MCV)، میانگین هماتوکریت سلولی (MCH)، غلظت MCH(MCHC) گلبول‌های قرمز (RBC) ، گلبول‌های سفید (WBC) و Hb،Ht RBC ندارد. فاکتور گلبول‌های سفید در تیمار

۲/۵، ۵ ، ۱۰گرم در کیلوگرم عصاره، در مقایسه با گروه شاهد کاهش معنی‌داری دا شت. اما جیره حاوی (g/kg) ۱۰گرم در کیلو گرم عصاره هیچ اختلاف معنی داری با گروه شاهد نشان نداد. گلبول‌های سفید اجزای اصلی پاسخ ایمنی ذاتی هستند که عملکرد ایمنی در ماهیان ا ستخوانی را تنظیم می‌کنند و نقش ا صلی را در مبارزه با بیماری ها ایفا می کنند(Yılmaz and Ergün, 2018). اثر محرک های ایمنی اسیدهای آلی در غلظت ۰,۵ در صد Trans_cinnamic acid اسید سینامیک بر ماهیان جوان مریگال *Cirrhnus mrigala* و *نیز* بر ماهیان قزل آلا، نشان داده است که گلبول سفید در طول دور ه پرورش و تغذیه با این جیره ها تغییر زیادی را ندارد(Yılmaz and Ergün, 2018) . تعداد گلبول‌های سفید ماهی هیبرید تیلاپیا *Oreochromis sp.* با تغذیه ازجیره های حاوی ۲ درصد از انواع مختلف اسیدهای آلی شامل Butyrate، acetate، propionate، formate) تنها کا هش رشد را در جیره حاوی اسید فرمات formate نشان داد ه است(Kumar *et al*., 2017). به طور مشابه، در یک مطالعه دیگری افزودن ترکیب تجاری BioAcidUltera به عنوان یک محرک ایمنی به میزان ۰,۱ و ۰,۲ درصد در جیره غذایی ماهی قزل آلای رنگین کمان، هیچ تغییری در شاخص های خون شنا سی (Hb، Ht، RBC) را در یک دوره ۶۰ روزه پرورش نشان نداده است(Saei *et al*., 2016) . مصرف اسید سینا میک درجیره غذایی ماهی قزل آلای رنگین کمان هیچ اثری را بر شاخص های خون شنا سی نشان نداده ا ست(Yılmaz and Ergün, 2018) . سلول‌های ایمنی خون شامل بازوفیل، نوتروفیل، ائوزینوفیل، مونوسیت و لنفوسیت‌ها هستند. لنفوسیت‌ها سلول‌های مهمی هستند که با تول ید آنتی بادی و همچنین تقو یت فعالیت ماکروفاژها می‌توانند پاسخ ایمنی را در ماهی تحت تاثیر قرار دهند(Jalali *et al*., 2009). از طرف دیگر ماهی‌ها دارای یک سیستم دفاعی ذاتی پیچیده هستند که در مقایسه با ایمنی اختصاصی در برابر باکتری ها موثرتر ند(Low *et al*., 2016). گرانولوسیت ها ، با پا سخ‌های دفاع ایمنی سلولی غیراخت صا صی با عث غیر فعال کردن میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا در بدن ماهیان استخوانی می شوند(Whyte, 2007). در این مطالعه، بیش‌ترین تعداد لنفوسیت در ماهی در جیره غذایی حاوی ۱۰ گرم در کیلو گرم عصاره گیاهی نسترن وحشی مشاهده شد و سطح ایمنی را در ماهی قزل آلای رنگین کمان در مقایسه با تیمار های حاوی مقادیر کمتر افزایش داد و در جیره حاوی ۵ گرم در کیلو گرم اثر بهتری را به عنوان محرک ر شد در ماهیان قزل آلای جوان نشان داد. این یافته ها را می توان به عنوان استاندارد مصرف عصاره گیاهی نسترن وحشی در در جیره غذایی ماهیان قزل آلای جوان مد نظر قرار گیرند.

۵. منابع

References

Abdel-Tawwab, M. 2012. The use of American ginseng (*Panax quinquefolium*) in practical diets for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*): growth performance and challenge with Aeromonas hydrophila. *Journal of Applied Aquaculture* 24, 366-376.

Abdel-Tawwab, M ,Ahmad, M. H., Seden, M. E., Sakr, S. F. 2010. Use of green tea, Camellia sinensis L., in practical diet for growth and protection of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), against *Aeromonas hydrophila* infection. *Journal of the World Aquaculture Society* 41, 203-213.

Ahmad, M. H., El Mesallamy, A. M., Samir, F., Zahran, F. 2011. Effect of cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*) on growth performance, feed utilization, whole-body composition, and resistance to Aeromonas hydrophila in nile tilapia. *Journal of Applied Aquaculture* 23, 289-298.

Akrami, R., Gharaei, A., Mansour, M. R., Galeshi, A. 2015. Effects of dietary onion (*Allium cepa*) powder on growth, innate immune response and hemato–biochemical parameters of beluga (*Huso huso* Linnaeus, juvenile. *Fish & shellfish immunology* 45, 828-834.

Artik, N., and Eksi, A. 1988. Studies on chemical composition of some wild fruits (Rosa canina, Crataegus monogyna, Crataegus aronia, Vaccinium myrtillus and Berberis vulgaris). Food Industry, 9, 33-34.

Awad, E., Austin, B., Lyndon, A. 2012. Effect of dietary supplements on digestive enzymes and growth performance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum). *Journal of American Science* 8, 858-864.

Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry* 72, 248-254.

Bulfon, C., Volpatti, D., and Galeotti, M. 2015. Current research on the use of plant-derived products in farmed fish.

Aquaculture Research 46, 513-551.
Chatzifotis, S., Kokou, F., Ampatzis, K., Papadakis, I., Divanach, P., Dermon, C. 2008. Effects of dietary caffeine on growth, body composition, somatic indexes, and cerebral distribution of acetyl-cholinesterase and nitric oxide synthase in gilthead sea bream (*Sparus aurata*), reared in winter temperature. *Aquaculture nutrition* 14, 405-415.
Collier, H. B. (1944). Standardization of blood haemoglobin determinations. *Canadian Medical Association Journal* 50, 550.
Demir, F., and Ozcan, M. 2001. Chemical and technological properties of rose (*Rosa canina* L.) fruits grown wild in Turkey, *Journal of Food Engineering* 47(4), 333-336.
Dina, R., Pal, A. K., Bhathena, Z. P., Sahu, N. P., Mukherjee, S. C. 2007. Dietary microbial levan grown enhances cellular non-specifc immunity and survival of common carp (*Cyprinus carpio*) juveniles. . *Fish Shellfish Immunol* 22, 477-486.
Faghani, T., Takami, G. A., Kousha, A., Faghani, S. 2008. Surveying on alginic acid and anti-streptococcus vaccine effects on the growth performance, survival rate, hematological parameters in rainbow trout (*Oncorhynchos mykiss*). *World Journal of Zoology* 3, 54-58.
Ghasemi, P. A., Jahanbazi, P., Enteshari, S., Malekpoor, F., Hamedi, B. 2010. Antimicrobial activity of some Iranian medicinal plants. *Archives of Biological Sciences* 62, 633-641.
Ghiasi, F., Mirzargar, S., Badakhshan, H., Shamsi, S. 2010. Effects of low concentration of cadmium on the level of lysozyme in serum, leukocyte count and phagocytic index in *Cyprinus carpio* under the wintering conditions. *Journal of fisheries and Aquatic Science* 5, 113-119.
Harikrishnan, R., Balasundaram, C., and Heo, M.S. 2012. Effect of Inonotus obliquus enriched diet on hematology, immune response, and disease protection in kelp grouper, *Epinephelus bruneus* against Vibrio harveyi. *Aquaculture* 344, 48-53.
Hodisan, T., Socaciu, C., Ropan, I., Neamtu, G. 1997. Carotenoid composition of *Rosa canina* fruits determined by thin layer chromatography and high performance liquid chromatography. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 16(3), 521-528.
Houston, A. H. 1997. Are the classical hematological variables acceptable indicators of fish health? *Transactions of the American Fisheries Society* 126, 879-894.
Jalali, M. A., Ahmadifar, E., Sudagar, M., Takami, G. A. 2009. Growth efficiency, body composition, survival and haematological changes in great sturgeon (*Huso huso* Linnaeus, 1758) juveniles fed diets supplemented with different levels of Ergosan. *Aquaculture Research* 40, 804-809.
Kirakosyan, A., Kauffman, P., Warber , S., Zick, S., Aaronson, K., Bolling, S., Chanc, S. 2004. Applied environmental stresses to enhance the levels of polyphenolics in leaves of hawthorn plants. *Physiologia Plantarum* 121, 182–6.
Klontz, G. 1994. Fish hematology. Techniques in fish immunology.(Eds. Stolen, JS, Fletcher, TC, Rowley, AF, Kelikoff, TC, Kaatari, SL and Smith, SA). Vol. 3. SOS Publications, Fair Haven, New Jersey, USA.
Kumar, P., Jain, K., Sardar, P., Sahu, N., Gupta, S. 2017. Dietary supplementation of acidifier: effect on growth performance and haemato-biochemical parameters in the diet of Cirrhinus mrigala juvenile. *Aquaculture International* 25, 2101-2116.
Kumari, J., and Sahoo, P. 2006. Non-specific immune response of healthy and immunocompromised Asian catfish (*Clarias batrachus*) to several immunostimulants. *Aquaculture* 255, 133-141.
Low, C. F., Mariana, N., Maha, A., Chee, H. Y., Fatimah, M. 2016. Identification of immune response-related genes and signalling pathways in spleen of Vibrio parahaemolyticus-infected *Epinephelus fuscoguttatus* (Forskal) by next-generation sequencing. *Journal of fish diseases* 39, 389-394.
Mahdavi, M., Hajimoradloo, A., Ghorbani, R. 2013. Effect of Aloe vera extract on growth parameters of common carp (Cyprinus carpio). *World Journal of Medical Sciences* 9, 55-60.
Moghanlou, K. S., Isfahani, E. N., Dorafshan, S., Tukmechi, A., Aramli, M. S. 2018. Effects of dietary supplementation with Stachys lavandulifolia Vahl extract on growth performance, hemato-biochemical and innate immunity parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Animal Feed Science and Technology* 237, 98-105.
Ngugi, C. C., Oyoo-Okoth, E., Mugo-Bundi, J., Orina, P. S., Chemoiwa, E. J., Aloo, 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 & shellfish immunology* 44, 533-541.
Omid beigi, R. 2016. Production and processing of medicinal plants. *Astan Qods Islamic Research Foundation*, 348.
Rashidian, G., Kajbaf, K., Prokić, M. D., Faggio, C. 2020. Extract of common mallow (*Malvae sylvestris*) enhances growth, immunity, and resistance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fingerlings against Yersinia ruckeri infection. *Fish & Shellfish Immunology* 96, 254-261.
Reverter, M., Bontemps, N., Lecchini, D., Banaigs, B., Sasal, P. 2014. Use of plant extracts in fish aquaculture as an alternative to chemotherapy: current status and future perspectives. *Aquaculture* 433, 50-61.
Saei, M., Beiranvand, K., Taee, H., Nekoubin, H. ۲۰۱۶. Effects of different levels of BioAcid Ultra on growth performance, survival, hematologichal and biochemical parameters of fingerlings rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Aquaculture Reseach Dev* 7.
Seiverd, C. E. 1964. Hematology for medical technologists. *Academic Medicine* 39, 867.
Shalaby, A., Khattab, Y., Abdel Rahman, A. 2006. Effects of Garlic (*Allium sativum*) and chloramphenicol on growth performance, physiological parameters and survival of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases* 12, 172-201.
Takaoka, O., Ji, S. C., Ishimaru, K., Lee, S. W., Jeong, G. S., Ito, J., Biswas, A., Takii, K. 2011. Effect of rotifer

enrichment with herbal extracts on growth and resistance of red sea bream, *Pagrus major* (Temminck & Schlegel) larvae against *Vibrio anguillarum*. *Aquaculture Research* 42, 1824-1829.
Van Hai, N. 2015. The use of medicinal plants as immunostimulants in aquaculture: a review. *Aquaculture* 446, 88-96.
Whyte, S. K. (2007). The innate immune response of finfish–a review of current knowledge. *Fish & shellfish immunology* 23, 1127-1151.
Winkel-Shirly, B. 2002. Biosynthesis of flavonoids and effects on sress. *Current Opinion in Plant Biology* 5, 218-223.
Woo, P. T., and Bruno, D. 2011. "Fish Diseases and Disorders, Volume 3: Viral, Bacterial and Fungal Infections," CABI Boston.
Yılmaz, S., Ergün, S. 2018. Trans-cinnamic acid application for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): I. Effects on haematological, serum biochemical, non-specific immune and head kidney gene expression responses. *Fish & shellfish immunology* 78, 140-157.