

تاثیر گیاه پنیرک (*Malva neglecta*) بر رشد، بقا و شاخص‌های خونی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

مزگان خدادادی*، هاشم مرضی، مهران جواهری بابلی

گروه شیلات، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران.

*نویسنده مسئول: mjkhodadadi@gmail.com

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۵/۲۵

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۴/۱

چکیده

این پژوهش در سال ۱۳۹۶ با هدف تاثیر استفاده از پودر گیاه پنیرک به عنوان یک نوع محرک ایمنی طبیعی بر پارامترهای رشد و شاخص‌های خونی ماهی کپور معمولی به مدت ۶۰ روز در مرکز تحقیقات تکثیر و پرورش آبزیان دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز اجرا شد. در مجموع ۳۶۰ قطعه ماهی پس از سازگاری در ۱۲ تانک ۳۰۰ لیتری (هر کدام حاوی ۳۰ قطعه با وزن اولیه $18/10 \pm 0/18$ گرم) قرار داده شدند. تیمارهای مورد مطالعه شامل تیمار ۱ (بدون پودر پنیرک)، تیمار ۲ (۲ درصد)، تیمار ۳ (۴ درصد) و تیمار ۴ (۶ درصد) بودند. نتایج بررسی سلول‌های دفاعی نشان داد که مونوسیت‌ها و بازوفیل‌ها فقط در تیمارهای ۲ و ۱ مشاهده شدند. بالاترین میزان لنفوسیت‌ها در تیمار ۳ به ترتیب ۹۵/۵ و نوتروفیل‌ها در تیمار ۲، ۴۸/۱۶ درصد به دست آمد. بالاترین مقادیر فاکتور کمپلمان و قدرت باکتری‌کشی سرم در تیمار ۲ نسبت به تیمار شاهد به دست آمد ($P < 0/05$)، اما در مورد لیوزیم بالاترین مقدار در تیمار ۳ ($55/54 \text{ g/dl}$) مشاهده شد ($P < 0/05$). بالاترین مقادیر مربوط به فاکتورهای خونی MCHC، MCV، MCH، گلبول‌های سفید، گلبول‌های قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت در تیمار ۳ به ترتیب $10^{-1} (1/12 \mu\text{m}^3)$ ، $10^{-1} (5/59 \mu\text{m}^3)$ ، $10^{-1} (3/37 \mu\text{m}^3)$ ، $10^3 \text{ cell.mm}^{-3}$ (۱۷۳/۳۳)، $10^6 \text{ cell.mm}^{-3}$ (۱/۳۶)، $1/36 \text{ (g/dl)}$ و $40/66$ درصد به دست آمد. پودر گیاه پنیرک تاثیر معنی داری بر روی رشد و بقای ماهی کپور معمولی نشان نداد ($P > 0/05$)، البته در تیمارهای مورد بررسی (تیمار ۱، ۲ و ۳) در ماهی کپور مانند تیمار شاهد، به میزان ۱۰۰ درصد بقاء مشاهده شد. میزان ۴ درصد پودر گیاه پنیرک در جیره غذایی ماهی کپور معمولی سبب بهبود فاکتورهای خونی گردید. همچنین فرموله کردن ۲ درصد جیره از این گیاه دارویی سبب افزایش فاکتور کمپلمان و قدرت باکتری‌کشی سرم بدن ماهی کپور معمولی شد.

واژگان کلیدی: پنیرک، رشد، بقاء، شاخص‌های خونی، کپور معمولی.

مقدمه

تولید می‌باشد و برای حل این مشکل امروزه از محرک‌های سیستم ایمنی استفاده می‌کنند. نقش مهم سیستم ایمنی در حفظ سلامت آبزیان و تضمین بقا و رشد مناسب آن‌ها در طول دوره پرورش، سبب شده تا محققین به استفاده از انواع ترکیبات شیمیایی و طبیعی محرک و تقویت‌کننده سیستم ایمنی تمایل نشان می‌دهند (Dijkstra and Dixon, 2021). محرک‌های ایمنی با تقویت سیستم ایمنی غیراختصاصی، مقاومت ماهیان را در برابر بیماری‌های عفونی افزایش می‌دهند. این مواد به عنوان عوامل دارویی برای کنترل بیماری‌ها از اهمیت زیادی برخوردار هستند، زیرا فاقد هرگونه اثرات منفی موجود در آنتی‌بیوتیک‌ها بر محیط‌زیست هستند و

آبزی‌پروری بخش در حال رشد کشاورزی و صنعت شیلات را در سراسر دنیا است (Gephart et al., 2020). افزایش تقاضای ماهی از طریق آبزی‌پروری در سال‌های گذشته به دلیل رشد سریع جمعیت، درآمد ناشی از این فعالیت و همچنین ارجحیت ماهی بر سایر پروتئین‌های حیوانی بوده است. در سال‌های اخیر دلیل رشد این صنعت به علت مسائل اجتماعی و فرهنگی، سلامت گوشت ماهی، افزایش آلودگی‌های محیط‌زیست در اکوسیستم‌های طبیعی و کاهش ذخایر آبزیان دریایی و آب شیرین می‌باشد (Amenyogbe et al., 2020). در صنعت آبزی‌پروری عوامل بیماری‌زا از عوامل کاهش‌دهنده

است علفی، به ارتفاع تا ۶۰ سانتی‌متر و پایا که به صورت خودرو در بسیاری از نقاط می‌روید و برای استفاده نیز کشت می‌گردد (Mohammad Eini et al., 2014; Bilen et al., 2020). قسمت مورد استفاده پنیرک برگ و گل می‌باشند. البته در اکثر نواحی، گل پنیرک نیز استفاده می‌شود (Imtiaz et al., 2012; Yarijani et al., 2019). این گیاه در ایران رویش ندارد و گونه نزدیک به آن به نام *M. neglecta* می‌باشد. گونه موجود در ایران، به بلندی گونه‌ی اول نیست و به حالت تقریباً خوابیده است و حداکثر تا ۴۰ سانتی‌متر مرتفع می‌شود. برگ‌ها دارای حالت دایره‌ای و دنداندار و گل‌ها، بنفش‌رنگ و کوچک هستند. قسمت مورد استفاده پنیرک در ایران، گل‌های بنفش رنگ خشک شده آن می‌باشد. محل رویش گیاه در ایران نواحی البرز، اطراف تهران، شمال ایران، آذربایجان، آستارا، اصفهان، نواحی مرکزی ایران، خراسان، دامغان، سمنان، جنوب ایران، کرمان، بلوچستان و سایر نقاط می‌باشند (رنجبر و همکاران، ۱۳۹۲؛ خدادادی و همکاران، ۱۳۹۳). برگ حاوی حدود ۸ درصد موسیلاژ می‌باشد که پس از هیدرولیز، تولید قندهای آرابینوز، گلوکز، رامنوز، گالاکتوز و اسید گالاکتورونیک اسید می‌کند. همچنین حاوی مقدار تانن و فلاونوئید نیز است (Mirghias et al., 2015; Keyrouz et al., 2017; Bilen et al., 2019).

در یک مطالعه از ۲۱۰ قطعه ماهی گورامی طلایی (*Trichogaster trichopterus*) با میانگین وزنی ۵ گرم استفاده شده است. نتایج این تحقیق نشان داد تیمارهایی که از پنیرک در کنار خوراک بیومار استفاده نمودند، بیشترین رشد را داشتند، اگرچه متوسط وزن این نمونه‌ها (ماهیان تغذیه‌شده با پنیرک) تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد نشان داد ($P < 0.05$) (خدادادی و همکاران، ۱۳۹۳). در بررسی دیگری با استفاده از پنیرک در سطح ۶ درصد در جیره باعث افزایش شاخص‌های رشد در ماهی پاسگانمی طلایی و نیز باعث افزایش میزان

باقیمانده‌های دارویی نامطلوب ایجاد نمی‌کنند (Sampantamit et al., 2020). از عملکردهای مهم محرک‌های ایمنی می‌توان به افزایش قدرت بیگانه‌خواری، افزایش تولید آنتی‌بادی، افزایش تولید لیزوزیم، افزایش مهاجرت گلبول‌های سفید اشاره نمود (Ismail and Al-Hamdani, 2019).

در سال‌های اخیر در آبی‌پروری استفاده از گیاهان دارویی به عنوان محرک‌های ایمنی جهت تقویت سیستم ایمنی غیراختصاصی ماهیان پرورشی و روشی جهت پیشگیری و کنترل بیماری‌های آن‌ها رایج شده است. با توجه به مزیت‌های متعدد گیاهان دارویی نظیر خطرات جانبی کمتر به موجود زنده و محیط‌زیست، عدم ایجاد مقاومت دارویی، ارزان، پایدار و در دسترس بودن توجهات زیادی را در جهان و ایران به خود جلب کرده‌اند (خدادادی و همکاران، ۱۳۹۳). گیاهان دارویی با داشتن مزیت‌هایی از جمله در دسترس بودن و امکان تولید آن‌ها در سطح وسیع، قیمت مناسب و خطر کمتر برای محیط‌زیست و جانوران یا به اصطلاح دوستار محیط‌زیست، عدم ایجاد مقاومت نسبی عوامل بیماری‌زا به داروهای گیاهی همواره به‌عنوان جایگزین مناسب برای داروهای شیمیایی مورد توجه هستند (Mohammadi et al., 2019; Alagawany et al., 2020). در سال‌های اخیر مطالعات و تحقیقات زیادی در خصوص بررسی اثرات گیاهان دارویی در بهبود شاخص‌های رشد، تغذیه، بقا، فاکتورهای ایمنی و پارامترهای خونی در ماهیان انجام شده است (Hasanpour et al., 2017; Ismail and Al-Hamdani, 2019; Mohammadi et al., 2019; Hoseinifar et al., 2021; He et al., 2020). زیرا این پارامترها شاخص بسیار خوبی برای تشخیص تغییرات فیزیولوژیکی بوده و به سرعت تحت تأثیر شرایط محیطی تغییر کرده و وضعیت سلامت ماهی را به خوبی تشریح می‌کنند (Dijkstra and Dixon, 2021).

پنیرک با نام علمی *Malva sylvestris* گیاهی

ترکیباتی نظیر مخلوط مواد معدنی و ویتامینی از ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۱ گرم استفاده شد. سپس مواد اولیه خشک جیره‌ها با کمک روغن ماهی و آب در مخلوط‌کن به شکل خمیر درآمده و به مدت ۲۵ تا ۳۵ دقیقه عمل مخلوط سازی ادامه پیدا کرد. پس از شکل‌پذیری ترکیبات تا زمانی که مواد حالت خمیری حالت گرفتند، با استفاده از چرخ‌گوشته پارس خزر با قطر شبکه خروجی ۲ میلی‌متر آن‌ها را چرخ‌کرده و پلت‌های غذایی به دست آمد. این پلت پس از پهن شدن بر روی تورهای آلومینومی در سایه خشک شدند. غذاهای خشک شده پس از خرد شدن با دست درون ظروف پلاستیکی مخصوص نگهداری جیره ماهی ریخته شده و در محیطی خشک و خنک نگهداری شدند. در این پژوهش گیاه پنیرک از مزارع کشاورزی واقع در شهرستان سوسنگرد جمع‌آوری و پس از خشک شدن در سایه، پودر شدند (Du et al., 2005). سپس برای تهیه جیره‌هایی با سطوح صفر (شاهد)، ۲، ۴ و ۶ درصد از جیره پودر پنیرک فرموله شد (جدول ۱) (خدادادی و همکاران، ۱۳۹۳). در جدول ۲ آنالیز غذای مصرفی نشان داده شده است. برحسب نوع جیره آزمایشی سطوح مختلف پودر پنیرک به صورت پودر داخل به جیره اضافه و همراه سایر مواد خمیر شد. در پایان پلت‌های آماده شده تا زمان استفاده در یخچال نگهداری شدند. در این تحقیق میزان دفعات تغذیه در چهار نوبت و در ساعت‌های ۷، ۱۱، ۱۵ و ۱۹ بود. میزان غذادهی بر اساس وزن بدن ماهی کپور معمولی انجام شد، به این ترتیب که از هفته اول و دوم به اندازه سه درصد وزن بدن غذادهی صورت گرفت. در طول دوره پرورش، میانگین دمای آب در استخرهای پرورشی معادل $26 \pm 1/02$ درجه سانتی‌گراد بود. تعویض آب به صورت یک روز در میان انجام شد. نحوه تعویض آب از طریق خالی کردن آب از شیرهای که در تانک‌ها قرار داشت و همچنین سیفون کردن مواد و فضولات ماهیان انجام شد. هوادهی از طریق موتور برق و کانال‌کشی جهت انتقال هوا به داخل تانک‌ها انجام

کارتنوئیدهای پوست در این ماهی گردید. پنیرک بیشتر باعث افزایش رنگ نارنجی-قرمز در ماهی گردیده بود. در پایان دوره آزمایش ماهی‌های تغذیه شده با جیره پنیرک (در همه غلظت‌ها) در کنار جیره تجاری بیومار حداکثر تجمع رنگ‌دانه را در پوست نشان دادند. با توجه به نتایج این تحقیق استفاده از پنیرک برای القاء رنگ مناسب در ماهی توصیه می‌گردد و این مواد می‌تواند به‌عنوان جایگزین مناسب برای آستاگزانتین که قیمت بسیار بالایی دارد، قرار گیرد (رنجبر و همکاران، ۱۳۹۲). با توجه به نقش محرک‌های ایمنی در پیشگیری و تقویت سیستم ایمنی که سبب کاهش تلفات و افزایش تولید ماهی کپور معمولی می‌شوند، در این مطالعه تأثیر استفاده از پودر گیاه پنیرک به‌عنوان یک نوع محرک ایمنی طبیعی بر پارامترهای رشد و شاخص‌های خونی ماهی کپور معمولی پرورشی مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در تابستان ۱۳۹۶ به مدت ۶۰ روز در مرکز تحقیقات تکثیر و پرورش آبزیان دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز اجرا شد. پیش از تغذیه با جیره غذایی مورد مطالعه، ماهیان به مدت ۷ روز جهت سازگاری از جیره پایه تغذیه شدند و ۶۰ روز تغذیه با استفاده از پودر خشک گیاه پنیرک انجام شد. در این تحقیق از ۱۲ عدد تانک پلاستیکی ۳۰۰ لیتری استفاده شد. این تانک‌ها سرباز بوده و منبع تأمین نور، نور طبیعی در طول دوره آزمایش بوده است. در هر تانک ۳۰ عدد ماهی کپور معمولی با وزن اولیه $18/0 \pm 10/18$ گرم و در مجموع ۱۲ تانک ۳۶۰ ماهی قرار داده شد. ۳ تانک به‌عنوان تانک‌های شاهد در نظر گرفته شد. پس از تهیه مواد اولیه مورد نیاز این آزمایش، در ابتدا آرد ماهی آسیاب و سپس از الک ۲ میلی‌متری عبور داده شد، سپس مطابق فرمولاسیون جیره‌های آزمایشی، مواد اولیه عمده با ترازوی دیجیتالی با دقت یک گرم توزین شده که برای توزین

جدول ۱ - آنالیز جیره ساخته شده در چهار تیمار آزمایشی.

مواد (درصد)	تیمار اول	تیمار دوم	تیمار سوم	تیمار چهارم
آرد ماهی	۲۵ درصد	۲۵ درصد	۲۵ درصد	۲۵ درصد
آرد سویا	۳۶ درصد	۳۶ درصد	۳۶ درصد	۳۶ درصد
آرد گندم	۲۰ درصد	۲۰ درصد	۲۰ درصد	۲۰ درصد
روغن ماهی	۸ درصد	۸ درصد	۸ درصد	۸ درصد
پودر پنیرک	۰ درصد	۲ درصد	۴ درصد	۶ درصد
ملاس	۲/۵ درصد	۲/۵ درصد	۲/۵ درصد	۲/۵ درصد
پرمیکس ویتامین	۱/۵ درصد	۱/۵ درصد	۱/۵ درصد	۱/۵ درصد
پرمیکس مواد معدنی	۱ درصد	۱ درصد	۱ درصد	۱ درصد
پرکننده	۶ درصد	۴ درصد	۲ درصد	۰
پروتئین	۳۵/۷۸ ± ۰/۳۲	۳۵/۹۶ ± ۰/۳۱	۳۵/۹۷ ± ۰/۶۱	۳۶/۱ ± ۰/۲۰
چربی	۱۳/۳۶ ± ۰/۱۱	۱۳/۳۶ ± ۰/۶۴	۱۲/۹۷ ± ۰/۴۴	۱۲/۶۴ ± ۰/۵۶
نیتروژن عاری از ازت	۲۸/۸۳ ± ۰/۳۰	۲۸/۶۰ ± ۰/۲۶	۲۹/۸۳ ± ۰/۹۶	۲۹/۳۰ ± ۰/۲۰
انرژی قابل هضم	۳۷۸۶۸/۱۲ ± ۱۲	۳۷۸۴۸/۲۱ ± ۵۶	۳۷۹۸۱/۱۵ ± ۱۲	۳۷۵۳۶/۲۹ ± ۶۲
کیلو کالری بر کیلو گرم				

محاسبه شدند (Cui, 1988; El-Sayed, and El-Ghobashy, 2011):

- رابطه ۱: افزایش وزن بدن = وزن نهایی - وزن اولیه
- رابطه ۲: درصد افزایش وزن = متوسط وزن نهایی (گرم) - متوسط وزن اولیه (گرم) × ۱۰۰ / متوسط وزن اولیه (گرم)
- رابطه ۳: افزایش طول بدن = میانگین طول ثانویه (سانتی متر) - میانگین طول اولیه (سانتی متر)
- رابطه ۴: فاکتور وضعیت = وزن ماهی (گرم) / ۳ (طول بر حسب سانتی متر) × ۱۰۰
- رابطه ۵: ضریب چاقی = وزن ماهی (گرم) × ۱۰۰ / طول (سانتی متر)
- رابطه ۶: افزایش وزن روزانه = متوسط وزن نهایی (گرم) - متوسط وزن اولیه (گرم) / تعداد روزهای پرورش
- رابطه ۷: ضریب تبدیل غذایی = مقدار غذای خورده شده (گرم) / افزایش وزن بدن (گرم)
- رابطه ۸: ضریب رشد ویژه Ln = (وزن ثانویه (گرم) - وزن اولیه (گرم)) / تعداد روزهای پرورش × ۱۰۰
- رابطه ۹: خوراک مصرفی % = کل غذای خورده شده به ازای هر ماهی × تعداد روزهای پرورش / (وزن نهایی × وزن اولیه)
- رابطه ۱۰: کارایی غذا % = افزایش وزن ماهی (گرم) / وزن غذای خورده شده (گرم) × ۱۰۰
- رابطه ۱۱: درصد بقا % = تعداد بچه ماهیان در پایان

شد. به منظور بررسی میزان رشد بچه ماهیان، ۳ بار در طول دوره ۶۰ روزه (روز صفر، روز ۳۰ و روز ۶۰) بیومتری بچه ماهیان انجام شد. در هر مرحله برای بیهوشی از پودر گل میخک به میزان ۱۰۰ میلی گرم در لیتر استفاده شد (علیشاهی و همکاران، ۱۳۹۲). بدین ترتیب که ۳ نمونه بچه ماهی از هر یک از تانکها به صورت تصادفی صید شده و طول آنها با تخته زیست‌سنجی و وزنشان با ترازویی با دقت یک گرم تعیین گردید. سپس متوسط وزنی و طولی بچه ماهیان هر تکرار محاسبه و ثبت شد. شاخص‌های بیومتری بدن ماهیان مورد مطالعه و فاکتورهای تغذیه‌ای آنها شامل افزایش وزن (Body weight increase)، درصد افزایش وزن (Percentage Weight Gain)، افزایش طول (Length Gain)، فاکتور وضعیت (Condition factor)، ضریب چاقی، میزان افزایش وزن روزانه (DGR)، ضریب تبدیل غذایی (Conversion Ratio)، ضریب رشد ویژه (Specific Growth Ratio)، خوراک مصرفی (Feed intake)، کارایی غذا (درصد) (efficiency) و درصد بقا (SR) به ترتیب به کمک رابطه‌های ۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۶، ۷، ۸، ۹، ۱۰ و ۱۱

عدسی روغنی تعداد یک‌صد سلول سفید مورد شمارش و درصد هر یک از سلول‌ها محاسبه و ثبت گردید (رابطه ۱۲). شمارش کلی گلبول‌های سفید به روش مستقیم (هماسیتومتر) با رقیق کردن خون به نسبت ۱ به ۲۰۰ با محلول رقیق‌کننده نات - هر یک صورت گرفت. اندیس‌های گلبولی با استفاده از رابطه‌های ۱۲ تا ۱۵ محاسبه شدند (Thrall, 2004):

رابطه ۱۲: تعداد گلبول‌های سفید = (تعداد کل گلبول‌های سفید شمارش شده در ۹ مربع بزرگ + ۱۰ درصد) × ۲۰۰
 رابطه ۱۳: MCV = تعداد گلبول‌های قرمز (میلیون در میلی‌متر مکعب) / ۱۰ × هماتوکریت (درصد)
 رابطه ۱۴: MCH = تعداد گلبول‌های قرمز (میلیون در میلی‌متر مکعب) / ۱۰ × هموگلوبین (گرم در دسی لیتر)
 رابطه ۱۵: MCHC = هماتوکریت (درصد) / ۱۰۰ × هموگلوبین (گرم در دسی لیتر)

جهت اندازه‌گیری هموگلوبین (Hb, g/dl⁻¹), هماتوکریت (HCT, درصد) به روش Blaxhall و Daisley (۱۹۷۳) اندازه‌گیری شدند.

جهت اندازه‌گیری فعالیت کمپلمان از آزمایش همولیز در ژل آگار بهره‌گیری شد. جهت اندازه‌گیری فعالیت کمپلمان از آزمایش همولیز در ژل آگار بهره‌گیری شد. ابتدا آگارز ۱/۵٪ در بافر فسفات (pH=۷/۲) حاوی ۰/۵ میلی مول کلرید منیزیم و ۱/۵ میلی مول کلرید کلسیم) تهیه شد. در دمای ۵۵-۵۰ درجه سانتی‌گراد به میزان ۱/۵ درصد از گلبول قرمز خرگوش شسته شده با بافر فسفات (با تراکم ۱×۱۰^۸ سلول در هر میلی‌لیتر) به آگارز اضافه شد. مخلوط آگارز حاوی گلبول‌های قرمز خرگوش داخل پلیت توزیع گردید. پلیت‌ها به مدت یک‌شب در یخچال ۴ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و سپس حفرات به قطر ۳ میلی‌متر و بافاصله ۲ سانتی‌متر از هم در پلیت‌ها ایجاد شده و به هر گوده میزان ۲۰ میکرولیتر از سرم نمونه اضافه شد. پلیت‌ها در محیط مرطوب و دمای ۲۵ درجه به مدت ۴۸ ساعت انکوبه شده و قطر هاله لیز گلبولی اندازه‌گیری شد. برای سنجش فعالیت

آزمایش / تعداد بچه ماهیان در ابتدای آزمایش × ۱۰۰
 اندازه‌گیری پارامترهای خون‌شناسی ماهی در آزمایشگاه دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز و خون‌گیری از سیاهرگ وریدی ساقه دمی انجام شد. حجم فشرده گلبولی یا PCV با استفاده از لوله‌های میکروهماتوکریت و سانتریفوژ نمونه به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه با استفاده از سانتریفوژ به دست آمد. پس از مخلوط کردن ۰/۲ میلی‌لیتر خون با ۵ سی‌سی محلول تجارتي درابکین و پس از گذشت ۱۰ دقیقه، نمونه مخلوط شده به مدت ۱۰ دقیقه به منظور رسوب ذرات هسته با سرعت ۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد. سپس جذب نوری محلول فوقانی در طول موج ۵۴۰ نانومتر به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری و میزان هموگلوبین برحسب گرم در دسی لیتر محاسبه شد. شمارش کلی گلبول‌های قرمز ماهی به روش دستی و با استفاده از لام هماسیتومتر نئوبار صورت گرفت. برای شمارش گلبول‌های قرمز تا درجه ۰/۵ پی‌پت ملانژور قرمز خون کشیده شد و سپس تا درجه ۱۰۱ با محلول رقیق‌کننده نات - هر یک رقیق (نسبت رقت ۱ به ۲۰۰) و سپس نمونه رقیق شده به لام هماسیتومتر نئوبار منتقل و پس از صرف زمان ۵ دقیقه برای ته‌نشین شدن گلبول‌های قرمز، تعداد گلبول‌های قرمز با بزرگ‌نمایی ۴۰ در پنج مربع ثانوی از مربع اولیه مرکزی شمارش و تعداد سلول شمارش شده در ضریب رقت یعنی عدد ۱۰۰۰۰ ضرب شد و تعداد گلبول‌های قرمز در میلی‌لیتر مکعب خون محاسبه گردید (Thrall, 2004).

برای شمارش تفریقی گلبول‌های سفید گسترش خون تهیه شد. برای این کار و قبل از مخلوط نمودن نمونه خون با ماده ضد انعقاد مستقیماً یک قطره خون بر روی لام قرار گرفت و سپس اقدام به تهیه گسترش - گردید. گسترش‌های تهیه شده با الکل متیلیک تثبیت (فیکس) و سپس با استفاده از رنگ گیمسا به مدت ۲۰ دقیقه رنگ‌آمیزی شدند و پس از پایان رنگ - آمیزی و شستشوی لام و خشک شدن گسترش با

جدول ۲ - نتایج تأثیر گیاه پنیرک (*Malva neglecta*) بر رشد و بقا ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) طی ۶۰ روز پرورش (سال ۱۳۹۶).

شاهد	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳
وزن (گرم)	۳۸/۱±۷۶/۳۵ ^a	۴۰/۱±۴۳/۷۵ ^a	۴۰/۱±۱۰/۱۵ ^a
طول (سانتی متر)	۰±۱۵/۵۲ ^a	۱۵/۰±۳۳/۸۶ ^a	۱۵/۰±۵۶/۵۷ ^a
افزایش وزن (گرم)	۲۰/۱±۷۶/۱۵ ^a	۲۲/۱±۵/۱۰ ^a	۲۲/۱±۱۰/۷۵ ^a
درصد افزایش وزن (%)	۱۱۵/۱۰±۳۷/۸۴ ^a	۱۲۷/۹±۴۶/۲۹ ^a	۱۲۲/۱۴±۷۷/۱۹ ^a
ضریب رشد ویژه (درصد/روز)	۱/۰±۲۷/۰۸ ^a	۱/۰±۳۵/۰۹ ^a	۱/۰±۳۳/۰۸ ^a
ضریب تبدیل غذایی	۱/۰±۸۷/۰۸ ^a	۱/۰±۷۳/۰۵ ^a	۱/۰±۷۶/۰۳ ^a
نسبت بازده غذایی	۰/۰±۵۳/۰۳ ^a	۰/۰±۵۷/۰۵ ^a	۰/۰±۵۶/۰۴ ^a
نسبت بازده پروتئین (%)	۱/۰±۴۵/۰۷ ^a	۱/۰±۵۷/۰۵ ^a	۱/۰±۵۵/۰۷ ^a
ضریب افزایش رشد ویژه (%)	۱/۰±۹۷/۰۷ ^a	۲/۰±۰۹/۰۹ ^a	۲/۰±۰۴/۰۸ ^a
فاکتور وضعیت	۱/۰±۱۴/۰۴ ^a	۱/۰±۱۲/۱۲ ^a	۱/۰±۰۴/۱۱ ^a
بقا (%)	۱۰۰ ^a	۱۰۰ ^a	۱۰۰ ^a

حروف غیرمشابه (a, b, c, d) در هر ردیف اختلاف معنی دار در سطح ۰/۰۵ را نشان می دهد.

انجام شد، سپس یک لوپ کامل از مخلوط سرم و باکتری در محیط کشت TSA کشت داده شد. تمامی مراحل در زیر هود و کنار شعله انجام شد. محیطها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد انکوبه گردیده و سپس به کمک دستگاه کلونی کانتور تعداد پرگنه‌ی باکتریایی رشد یافته در روی محیط کشت شمارش گردید. نتایج به صورت متوسط تعداد باکتری شمارش شده برای هر نمونه مشخص شده و تعداد باکتری شمارش شده در هر تیمار نسبت به تیمار شاهد مقایسه گردید (Thrall, 2004).

آنالیز و محاسبات داده‌ها به کمک نرم افزار SPSS نسخه ۱۸ و اکسل نسخه ۲۰۰۷ انجام شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها در قالب یک طرح تصادفی با استفاده از تست آنالیز واریانس یک طرفه، اختلاف موجود بین میانگین تیمارهای مورد بررسی مشخص، سپس با استفاده از آزمون دانکن معنی دار بودن تفاوت بین تیمارها در سطح ۹۵ درصد مشخص گردید.

نتایج

نتایج تأثیر عصاره گیاه پنیرک بر روی پارامترهای رشد و بقا ماهی کپور معمولی در جدول ۳ نشان داده شده است. در این بخش پارامترهای وزن، طول، افزایش وزن، درصد افزایش وزن، ضریب رشد ویژه و

آنزیمی لایزوزیم سرم از روش آگارز لیزوپلیت و پودر باکتری میکروکوکوس لیزودایکتیکوس (سیگما) توصیه شده توسط Ellis و همکاران (۱۹۹۸) استفاده گردید. برای اندازه گیری قدرت باکتری کشی سرم ابتدا باکتری آئروموناس هیدروفیلا به مدت ۴۸ ساعت در محیط TSB کشت داده شد و سپس سلولهای باکتریایی با سانتریفوژ ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه جمع آوری و با افزودن مقداری بافر فسفات سدیم استریل به آنها جذب نوری سوسپانسیون حاصله در طول موج ۵۴۰ نانومتر برابر ۱ تنظیم گردید. تعداد باکتری در سوسپانسیون حاصل شمارش شده و با استفاده از روش تهیه رقت‌های متوالی بر مبنای ده، سوسپانسیون 10^5 cfu/ml باکتری در ژلاتین ورونا بافر ۰/۱ درصد استریل (pH=۷/۵ و حاوی ۰/۵ میلی مول در میلی لیتر یون کلسیم و ۰/۱۵ میلی مول در میلی لیتر یون منیزیم) تهیه گردید. نمونه‌های سرمی به نسبت ۱:۳ با بافر فوق رقیق گردیدند. سوسپانسیون باکتریایی حاصل به نسبت ۱:۱ با سرم رقیق شده مخلوط شده و به مدت ۹۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد با حرکت ملایم انکوبه گردیدند. علاوه بر نمونه‌های فعال، همان مقدار سرم از هر نمونه در بن ماری در دمای ۶۵ درجه غیر-فعال شده و همان روش برای نمونه‌های غیرفعال نیز

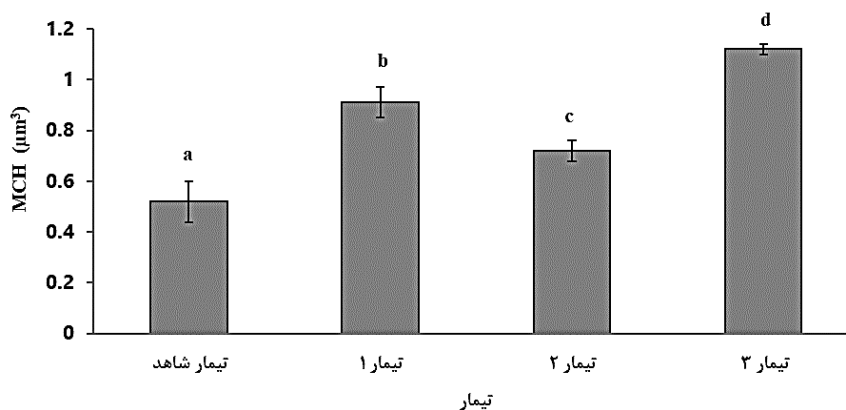
جدول ۳ - تأثیر گیاه پنیرک (*Malva neglecta*) بر سلول‌های دفاعی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) طی ۶۰ روز پرورش (سال ۱۳۹۶).

شاهد	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳
لنفوسیت	۹۱/۵	۵۰/۳۳	۹۳/۱۴
منوسیت	۲/۸۴	۱/۵۱	۰/۷
نوتروفیل‌ها	۵/۳۳	۴۸/۱۶	۶/۱۶
بازوفیل	۰/۳۳	۰	۰
ائوزینوفیل	۰	۰	۰

جدول ۴ - تأثیر گیاه پنیرک (*Malva neglecta*) بر فاکتورهای ایمنی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) طی ۶۰ روز پرورش (سال ۱۳۹۶).

شاهد	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳
کمپلمان (g/dl)	$253/26 \pm 23/77^b$	$312/20 \pm 50/91^c$	$286/20 \pm 67/55^d$
قدرت باکتری‌کشی سرم	$228/26 \pm 23/77^b$	$312/20 \pm 50/91^c$	$253/25 \pm 23/55^d$
لیزوزیم (g/dl)	$46/4 \pm 38/15^a$	$47/5 \pm 16/74^a$	$55/6 \pm 54/04^b$

حروف غیرمشابه (a, b, c, d) در هر ردیف اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ را نشان می‌دهد.



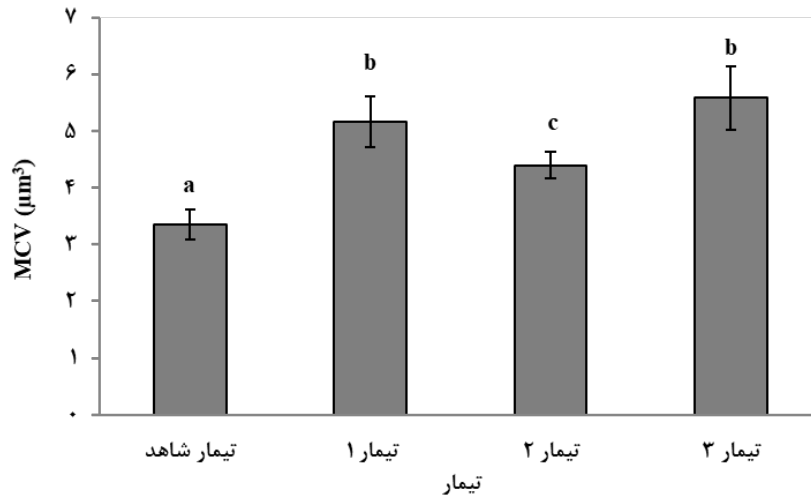
شکل ۱ - تأثیر عصاره گیاه پنیرک (*Malva neglecta*) بر روی فاکتور MCH ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) طی دوره پرورش ۶۰ روز در سال ۱۳۹۶ (حروف غیرمشابه (a, b, c, d) در هر ستون اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ را نشان می‌دهد).

کرد که گیاه پنیرک بر روی بقای این ماهی تأثیر داشته و سبب شده تا تلفات ماهی ایجاد نشود (جدول ۲).

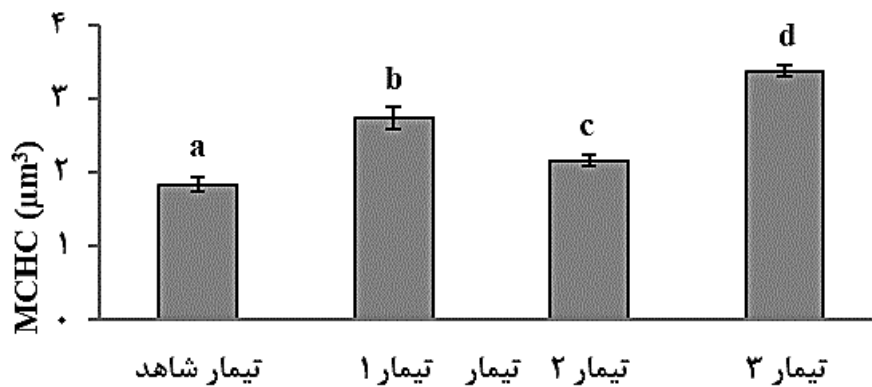
نتایج سلول‌های دفاعی بدن ماهی کپور معمولی نشان داد که مونوسیت‌ها و بازوفیل‌ها به ترتیب فقط در تیمارهای ۲ و ۱ مشاهده شدند. بالاترین میزان لنفوسیت‌ها در تیمار ۳، ۹۵/۵ درصد به دست آمد. ائوزینوفیل‌ها در هیچ‌یک از تیمارها مشاهده نشدند (جدول ۳).

درمورد فاکتور کمپلمان و قدرت باکتری‌کشی سرم در تیمار شاهد با تیمارهای مورد مطالعه اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($P < 0/05$) و درمورد لیزوزیم نیز در تیمار ۳ با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری

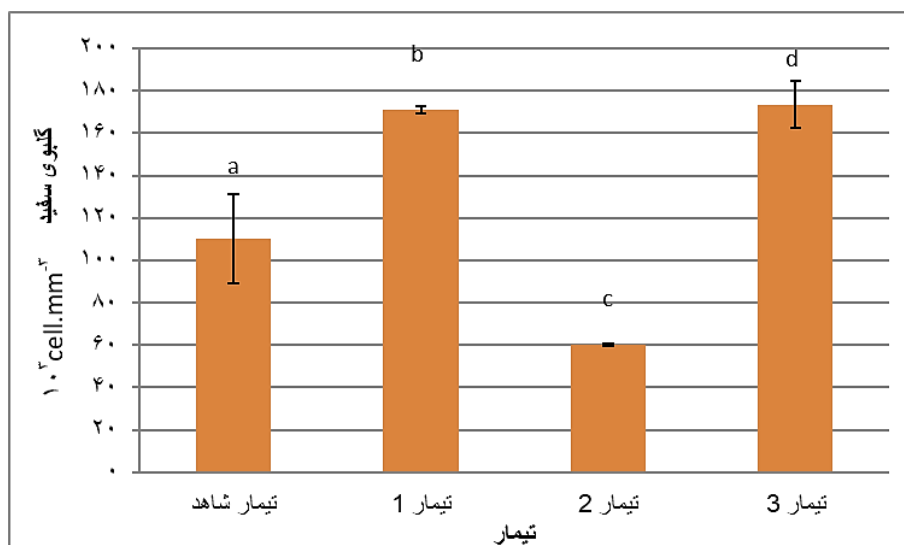
ضریب تبدیل غذایی، نسبت بازده غذایی، نسبت بازده پروتئین، درصد افزایش رشد ویژه، درصد افزایش وزن روزانه و درصد بقا بین تیمار شاهد و سه تیمار ۲، ۳ و ۴ مقایسه شده است که نشان داد که تأثیر گیاه پنیرک بر شاخص‌های رشد و تغذیه ماهی کپور معمولی در تیمارهای مورد مطالعه اختلاف معنی‌داری نداشت ($P > 0/05$). به عبارت دیگر درمورد پودر گیاه پنیرک تأثیر معنی‌داری بر روی رشد ماهی کپور معمولی طی ۶۰ روز پرورش مشاهده نشد ($P > 0/05$). درمورد فاکتور بقا نیز اختلاف معنی‌داری در تیمارهای مورد مطالعه وجود نداشت ($P > 0/05$), اما در تیمارهای ۱، ۲ و ۳ نیز ۱۰۰ درصد بقای ماهیان کپور معمولی مشاهده شد که می‌توان بیان



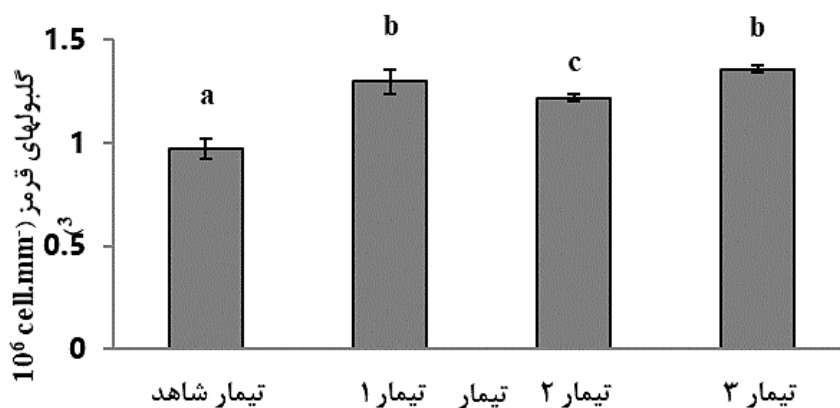
شکل ۲- تأثیر عصاره گیاه پنیرک (*Malva neglecta*) بر روی فاکتور MCV ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) طی دوره پرورش ۶۰ روز در سال ۱۳۹۶ (حروف غیرمشابه (a, b, c, d) در هر ستون اختلاف معنی دار در سطح ۰/۰۵ را نشان می دهد).



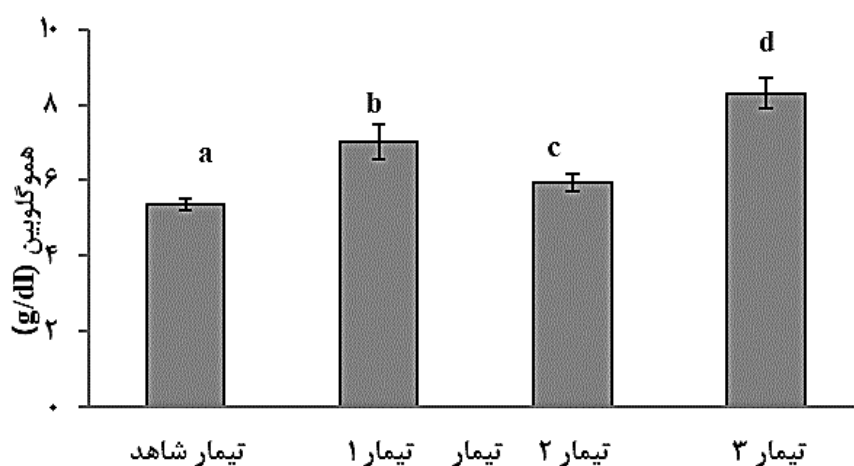
شکل ۳- تأثیر عصاره گیاه پنیرک (*Malva neglecta*) بر روی فاکتور MCHC ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) طی دوره پرورش ۶۰ روز در سال ۱۳۹۶ (حروف غیرمشابه (a, b, c, d) در هر ستون اختلاف معنی دار در سطح ۰/۰۵ را نشان می دهد).



شکل ۴- تأثیر عصاره گیاه پنیرک (*Malva neglecta*) بر روی گلبول های سفید ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) طی دوره پرورش ۶۰ روز در سال ۱۳۹۶ (حروف غیرمشابه (a, b, c, d) در هر ستون اختلاف معنی دار در سطح ۰/۰۵ را نشان می دهد).



شکل ۵ - تأثیر عصاره گیاه پنیرک (*Malva neglecta*) بر روی گلبول‌های قرمز ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) طی دوره پرورش ۶۰ روز در سال ۱۳۹۶ (حروف غیرمشابه (a, b, c, d) در هر ستون اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ را نشان می‌دهد).



شکل ۶ - تأثیر عصاره گیاه پنیرک (*Malva neglecta*) بر روی هموگلوبین ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) طی دوره پرورش ۶۰ روز در سال ۱۳۹۶ (حروف غیرمشابه (a, b, c, d) در هر ستون اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ را نشان می‌دهد).

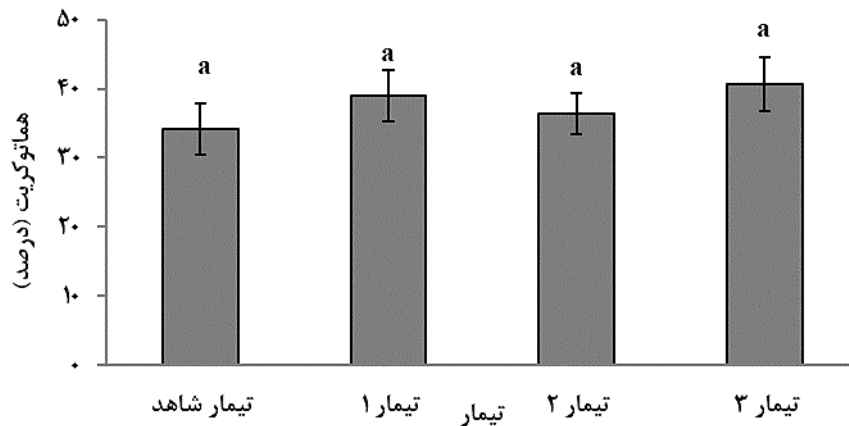
گلبول‌های قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت در تیمار ۳ به ترتیب $10^{-1} (\mu\text{m}^3)$ ۱/۱۲، $10^{-1} (\mu\text{m}^3)$ ۵/۵۹، $10^{-1} (\mu\text{m}^3)$ ۳/۳۷، $10^3 \text{ cell.mm}^{-3}$ ۱۷۳/۳۳، $10^6 \text{ cell.mm}^{-3}$ ۱/۳۶، g/dl ۸/۳ و ۴۰/۶۶ درصد به دست آمد.

بحث

همزمان با پیشرفت صنعت آبی پروری و پرورش ماهیان، رشد و بقای ماهیان در مراحل تکثیر و پرورش اهمیت بالایی دارد که با افزایش مقاومت سیستم ایمنی و فاکتورهای خونی ماهی نیز می‌توان در راستای رشد مناسب جهت پروراندی و فروش اقدام کرد (Ismail and Al-Hamdani, 2019; He et al., 2021). یکی از محرک‌های مورد مطالعه در

مشاهده شد ($P < 0.05$). بالاترین مقادیر فاکتور کمپلمان و قدرت باکتری کشی سر در تیمار ۲ نسبت به تیمار شاهد به دست آمد ($P < 0.05$)، اما در مورد لیزوزیم بالاترین مقدار در تیمار ۳ ($55/54 \text{ g/dl}$) مشاهده شد ($P < 0.05$) (جدول ۴).

در این پژوهش در مورد مقادیر فاکتورهای خونی MCH، MCV، MCHC، گلبول‌های سفید، گلبول‌های قرمز و هموگلوبین در تیمار ۳ نسبت به تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($P < 0.05$)، اما بین مقادیر هماتوکریت در تیمارهای مورد مطالعه اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P > 0.05$). همان‌طور که در شکل‌های ۱ تا ۷ ارائه شده است بالاترین مقادیر مربوط به فاکتورهای خونی MCH، MCV، MCHC، گلبول‌های سفید،



شکل 7- تأثیر عصاره گیاه پنیرک (*Malva neglecta*) بر روی هماتوکریت ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) طی دوره پرورش ۶۰ روز در سال ۱۳۹۶ (حروف غیرمشابه (a, b, c, d) در هر ستون اختلاف معنی دار در سطح ۰/۰۵ را نشان می‌دهد).

بیشترین رشد را داشتند، اگرچه متوسط وزن این نمونه‌ها (ماهیان تغذیه شده با پنیرک) تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد نشان ندادند ($P > 0.05$) (خدادادی و همکاران، ۱۳۹۳). در بررسی دیگری پژوهشگران نشان دادند که استفاده از پنیرک در سطح ۶ درصد در جیره باعث افزایش شاخص‌های رشد در ماهی گورامی طلایی گردید (رنجبر و همکاران، ۱۳۹۲) که با نتایج تحقیق حاضر هم‌خوانی نداشت. در بررسی دیگری که با افزودن گیاه سیر به جیره غذایی بچه ماهیان قزل‌آلا انجام شده، از مطلوبیت بالایی برخوردار بوده و از بین سطوح میزان سیر استفاده شده جیره حاوی ۱ درصد در مجموع از مطلوبیت بالاتری در خصوص اثر بر روند میزان کمی و کیفی مشخصه‌های رشد وزنی و طولی در بچه ماهی قزل‌آلا نسبت به جیره فاقد سیر و مقادیر استفاده شده سیر در جیره‌ها برخوردار بوده است (خدادادی و همکاران، ۱۳۹۱).

در این بررسی بقای ماهیان کپور معمولی در تیمار ۱، ۲ و ۳ مانند تیمار شاهد نیز ۱۰۰ درصد به دست آمد. در بسیاری از تحقیقات گزارش شده است که افزودن گیاهان دارویی به جیره غذایی ماهیان سبب بقای آن‌ها می‌شود (Hoseinifar et al., 2020; He et al., 2021; Acar et al., 2021; Ji و همکاران (۲۰۰۷) نیز نشان دادند که بهترین بقاء در تیمارهای حاوی

سال‌های اخیر، گیاهان دارویی هستند که می‌توانند در جیره غذایی ماهیان اضافه شده و تأثیر آن بر شاخص‌های مختلف بررسی گردد (Alagawany et al., 2020).

در این تحقیق پودر گیاه پنیرک تأثیر معنی‌داری بر روی شاخص‌های رشدی کپور نداشته است. به عبارت دیگر ضریب رشد ویژه ماهی کپور معمولی در تیمار ۳ نسبت به تیمار شاهد افزایش نشان داد، اما این افزایش رشد اختلاف معنی‌داری نداشت ($P > 0.05$). در مطالعه‌ای دیگر نیز افزودن گیاه پنیرک در جیره غذایی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) نشان داد که تأثیری در ضریب رشد ویژه نداشت (Bilen et al., 2020) و با نتایج این پژوهش هم‌خوانی دارد. در تحقیق دیگری بر روی ماهی سیکلید (*Amphiphys labiatus*) افزودن عصاره خام گیاه آلوئه‌ورا در تغذیه این ماهی تأثیری در رشد آن گزارش نشد (علیشاهی، ۱۳۸۹). همچنین Perez-Jimenez و همکاران (۲۰۱۳) نشان دادند که رشد در تیمار تغذیه شده با چای سفید در ماهی *Sparus aurata* کمتر بود که با نتایج این تحقیق مطابقت داشتند. در مطالعه‌ای دیگر بر روی ۲۱۰ قطعه ماهی گورامی طلایی، تأثیر دارویی گیاه پنیرک (*Malva neglecta*) در غلظت‌های مختلف ۲، ۴ و ۶ درصد به مدت ۶۰ روز تغذیه نشان داد که تیمارهایی که از پنیرک در کنار خوراک بیومار استفاده نمودند

ندارد. احتمالاً این عدم هم‌خوانی می‌تواند به دلیل تفاوت در شرایط زیستی و اکولوژیک محیط پرورش و تغذیه ماهی نظیر دفعات تغذیه، زمان تغذیه، شرایط فیزیکی و شیمیایی آب، نوع عوامل بیماری‌زا و تراکم آن‌ها در آب باشد. همچنین سوخت و ساز بدن و فیزیولوژیک ماهیان نیز تاثیرگذار است (Perez-Jimenez *et al.*, 2013; Bilen *et al.*, 2019). در بررسی افزودن پودر چای سبز به جیره غذایی کپور معمولی، نتایج بررسی شاخص‌های خونی نشان داد که میزان گلبول‌های سفید، هماتوکریت و هموگلوبین اختلاف معنی‌داری را با سایر تیمارها داشته است ($P < 0.05$)، اما تعداد گلبول‌های قرمز تحت تأثیر هیچ‌کدام از موارد آزمایشی قرار نگرفت ($P > 0.05$). به‌طور کلی تجویز پودر چای سبز در سطح ۱/۵ درصد به‌صورت خوراکی باعث تحریک برخی شاخص‌های خونی گردید (رنجبر و خدادادی، ۱۳۹۵).

در بررسی افزودن چای سبز به جیره غذایی کپور معمولی نتایج نشان داد که میزان فعالیت لایزوزیم اختلاف معنی‌داری را با تیمار شاهد داشته است. به‌طور کلی تجویز پودر چای سبز در سطح ۱/۵ درصد به‌صورت خوراکی باعث تحریک میزان فعالیت لایزوزیم می‌گردد و این ماده به‌عنوان محرک ایمنی در بچه ماهی کپور معمولی قابل استفاده است (رنجبر و خدادادی، ۱۳۹۴). همچنین در فاکتور پروتئین تام و ایمنوگلوبولین نیز تأثیر معنی‌داری مشاهده شد ($P < 0.05$). به‌طور کلی تجویز پودر چای سبز در سطح ۱/۵ درصد به‌صورت خوراکی باعث تحریک برخی فاکتورهای ایمنی غیراختصاصی می‌گردد و این ماده به‌عنوان محرک ایمنی در بچه ماهی کپور معمولی قابل استفاده است (خدادادی و رنجبر، ۱۳۹۵). در تحقیقات دیگر نیز اثرات سرخارگل در تحریک ایمنی ماهی کپور علفخوار و بر روی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تأیید شده است (پورغلام و همکاران، ۱۳۹۲؛ علیشاهی و همکاران، ۱۳۹۶). ایزدی و همکاران (۱۳۹۳) نشان دادند که اسانس گیاه سرخارگل دارای اثرات ضد میکروبی قابل

گیاهان دارویی به دست آمد که با نتایج این تحقیق هم‌خوانی دارد. از نظر ترکیب شیمیایی پنیرک منبعی غنی از ویتامین‌های A، B و C می‌باشد که ویتامین C نیز به‌نوبه خود باعث افزایش ایمنی و مقاومت علیه بیماری‌ها می‌شود. در برگ‌های پنیرک مواد با ارزش فراوان مانند آنتی‌اکسیدان‌های قوی نظیر فنل (حدود ۳۸۶/۴۵ میلی‌گرم بر گرم)، فلاونوئید (حدود ۱۲۱۰/۸۱ میلی‌گرم بر گرم)، کاروتنوئید (حدود ۰/۱۹ میلی‌گرم بر گرم)، توکوفرول و اسیدهای چرب اشباع‌نشده وجود دارد. برگ‌های سبز آن دارای بالاترین سطح UFA (در حدود ۸۴ درصد) می‌باشد. اسیدهای چرب عمده در پنیرک لینولئیک ($C_{18:2}$) یا W_6 و لینولنیک ($C_{18:3}$) یا W_3 و اسید پالمیتیک ($C_{16:0}$) می‌باشد که برای رشد و سلامتی مورد نیاز است (زرگری، ۱۳۷۲؛ Shale *et al.*, 2005).

در این پژوهش مقادیر فاکتورهای خونی شامل MCH، MCV، MCHC، گلبول‌های سفید، گلبول‌های قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت در تیمار ۳ نسبت به سایر تیمارهای مورد مطالعه بالاتر به دست آمد ($P < 0.05$). همچنین فاکتور کمپلمان و قدرت باکتری‌کشی سرم نیز در تیمار ۲ بالاترین مقدار را داشتند ($P < 0.05$). به عبارت دیگر افزودن گیاه پنیرک سبب بهبود فاکتورهای خونی و ایمنی بدن ماهی کپور معمولی شد. در بررسی Rashidian و همکاران (۲۰۲۰) استفاده از ۵ درصد عصاره پنیرک در جیره ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان افزایش در RBC و WBC مشاهده نمودند و افزایش در شاخص‌های خونی را به دلیل دسترسی به مقادیر بالاتر ویتامین C، کاروتن، کلسیم و آهن در سیستم گردش خون در نتیجه جذب بیشتر در روده در تیمارهای پنیرک می‌باشد که با نتایج این بررسی مطابقت داشت. Bilen و همکاران (۲۰۲۰)، با افزودن گیاه پنیرک در جیره غذایی ماهی کپور معمولی نشان دادند که تأثیری در فاکتورهای خونی نظیر گلبول‌های سفید، گلبول‌های قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت نداشت که با نتیجه این پژوهش هم‌خوانی

میکروبی اسانس گیاه سرخارگل (*Echinacea purpurea*) و شناسایی ترکیب‌های شیمیایی آن. نشریه طب جنوب، ۱۷ (۱): ۵۸-۶۹.

پورغلام ر، شریف روحانی م، صفری ر، سعیدی ع.ا، بینایی م، نجفیان ر، بانکه ساز ز، تقوی م.ج، سپهداری ا. ۱۳۹۲. اثر عصاره سرخار گل (*Echinacea purpurea*) بر برخی شاخص‌های ایمنی و بازماندگی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در برابر با استرپتوکوک. مجله علمی شیلات ایران، ۲۲(۳): ۱-۱۲.

خدادادی م، پیغان ر، حمیدآوی ا. ۱۳۹۱. بررسی تأثیر افزودنی خوراکی پودر سیر خام (*Alliumsativum*) بر روی شاخص‌های رشد ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). نشریه علوم درمانگاهی و دامپزشکی ایران، ۶(۲): ۱۷-۲۶.

خدادادی م، آوخ کیسمی م، رنجبر ش. ۱۳۹۳. مقایسه رشد ماهی گورامی طلایی (*Trichogaster trichopterus*) با خوراندن پنیرک (*Malva neglecta*) و گشنیز (*Coriandrum sativum*). مجله تحقیقات آزمایشگاهی دامپزشکی، ۶(۲): ۱۵۲-۱۴۳.

خدادادی م، شاپوری م، جواهری بابلی م، علمداری ر. ۱۳۹۴. اثر چغندر لبویی (*Beta vulgaris*) و کلم برگ قرمز (*Brasissica oleracea*) بر شاخص‌های رشد ماهی گلدفیش (*Carassius auratus*). مجله پژوهش‌های علوم و فنون دریایی، ۱۰(۲): ۲۰-۳۲.

خدادادی م، رنجبر ش. ۱۳۹۵. تأثیر افزودن پودر چای سبز (*Camellia sinensis*) به جیره غذایی بر برخی فاکتورهای ایمنی و پروتئین‌های سرم در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). مجله دامپزشکی ایران، ۱۲ (۲): ۴۳-۵۴.

رنجبر ا، خدادادی م، آوخ کیسمی م، صالح‌پور ع. ۱۳۹۲. مقایسه اثر استفاده از کاروتنوئیدهای طبیعی گیاه پنیرک (*Malva neglecta*) و گشنیز (*Coriandrum sativum*) به صورت جداگانه بر میزان رنگ‌پذیری پوست ماهی گورامی طلایی (*Trichogaster trichopterus*). مجله آبزیان و شیلات، ۴(۱۴): ۱۵-۸.

رنجبر ش، خدادادی م. ۱۳۹۴. بررسی اثر افزودن پودر

ملاحظه‌ای می‌باشد و می‌تواند به‌عنوان جایگزینی مناسب برای آنتی‌بیوتیک‌های سنتزی که مقاومت میکروبی به آن‌ها رو به افزایش است، به کار رود. گیاه سرخارگل دارای اثرات تقویت‌کننده بر سیستم ایمنی ذاتی قزل‌آلای رنگین‌کمان بوده و غلظت‌های بالاتر آن (۱/۵ گرم) نتایج بهتری به همراه دارد. ضمناً می‌توان ادعا نمود استفاده از عصاره سرخارگل (۱/۵ گرم بر کیلوگرم غذا) باعث افزایش مقاومت بچه ماهیان قزل‌آلا در برابر استرپتوکوکوزیس شده و می‌توان از آن به‌عنوان محرک ایمنی در جیره غذایی استفاده نمود (پورغلام و همکاران، ۱۳۹۲) که نتایج این تحقیقات با نتایج این پژوهش هم‌خوانی دارند. در تحقیقاتی دیگر نیز گزارش شده است که گیاه پنیرک تحریک‌کننده ایمنی طبیعی و ارزان قیمت برای مقاومت در برابر بیماری‌ها و عوامل بیماری‌زا برای ماهیانه هستند (*Bilen et al., 2019; Bilen et al., 2020; Rashidian et al., 2020*). از این رو می‌توان از این گیاه در صنعت آبی‌پروری به‌عنوان یک تحریک‌کننده ایمنی استفاده کرد (*Benso et al., 2015; Delfine et al., 2017*).

نتیجه‌گیری

در این پژوهش نتایج نشان داد که میزان ۶ درصد پودر گیاه پنیرک به جیره غذایی سبب بهبود فاکتورهای خونی ماهی کپور معمولی می‌شود. همچنین فرموله کردن ۴ درصد از این گیاه دارویی سبب افزایش فاکتور کمپلمان و قدرت باکتری کشی سرم بدن ماهی کپور شد. در این تحقیق عصاره گیاه پنیرک تأثیر معنی‌داری بر روی شاخص‌های رشدی کپور نداشته است ولی بقای ماهیان کپور معمولی بررسی شده در این پژوهش در تیمار ۱، ۲ و ۳ همانند تیمار شاهد ۱۰۰ درصد به دست آمد.

منابع

ایزدی ز، سروش‌زاده، ع، مدرس‌ثانوی س.ع.م، اثنی‌عشری م، داودی پ. ۱۳۹۳. بررسی اثرات ضد

- Huang B., Li H. 2020. The exploitation of probiotics, prebiotics and synbiotics in aquaculture: present study, limitations and future directions: a review. *Aquaculture International* 28, 1-25.
- Avazeh A., Adel M., Shekarabi S.P.H., Emamadi H., Dawood M.A., Omid A.H., Bavarsad M. 2021. Effects of dietary pomegranate peel meal on the growth performance, blood indices, and innate immune response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Annals of Animal Science* 21 (1), 233-244.
- Benso B., Rosalen P.L., Alencar S.M., Murata R.M. 2015. *Malva sylvestris* inhibits inflammatory response in oral human cells. An in vitro infection model. *PLoS One* 19(10), e0140331
- Bilen S., Kenanoglu O.N., Terzi E., Ozdemir R.C., Sonmez A.Y. 2019. Effects of tetra (*Cotinus coggygia*) and common mallow (*Malva sylvestris*) plant extracts on growth performance and immune response in Gilthead Sea bream (*Sparus aurata*) and European Sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture* 512, 734251.
- Bilen S., Filogh A.M., Ali A.B., Kenanoglu O.N., Zoral M.A. 2020. Effect of common mallow (*Malva sylvestris*) dietary supplementation on growth performance, digestive enzyme activities, haematological and immune responses of common carp (*Cyprinus carpio*). *Aquaculture International* 28(1), 73-84.
- Cui Y., Wootton R.J. 1988. Bioenergetics of growth of a cyprinid, *Phoxinus phoxinus* (L): the effect of ration and temperature on growth rate and efficiency. *Journal of Fish Biology* 33, 763-773.
- Delfino S., Marrelli M., Conforti F., Formisano C., Rigano D., Menichini F., Senatore F. 2017. Variation of *Malvasylvestris* essential oil yield, chemical composition and biological activity in response to different environments across southern Italy. *Ind Crop Prod* 98, 29-37.
- Du Z., Liu Y.J., Tian L.X., Wang J.T., Wang Y., Liang G.Y. 2005. Effect of dietary lipid level on growth, Feed composition and body composition by juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Aquaculture Nutrition* 11, 139-146.
- El-Sayed A.F.M., El-Ghobashy A.E. 2011. Effects of tank colour and feed colour on
- چای سبز (*Camellia sinensis*) به جیره غذایی و تأثیر آن بر میزان فعالیت لایزوزیم در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). دومین کنفرانس ملی کشاورزی و توسعه، تهران، ۱۴ صفحه.
- رنجبر ش.، خدادادی م. ۱۳۹۵. تأثیر پودر چای سبز (*Camellia sinensis*) بر برخی شاخص‌های خونی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). مجله اکو بیولوژی تالاب. ۸(۱): ۳۹-۵۰.
- زرگری ع. ۱۳۷۲. گیاهان دارویی ایران، جلد چهارم، چاپ پنجم، انتشارات دانشگاه تهران، صفحات ۱۱۵ و ۱۱۲-۶۰۵.
- علیشاهی م. ۱۳۸۹. بررسی اثر سطوح مختلف عصاره خام گیاه آلوئه ورا بر شاخص‌های رشد و میزان مقاومت در برابر عفونت باکتری آئروموناس هیدروفیلا در ماهی سیکلید (*Amphiphys labiatus*). مجله زیست‌شناسی دریا، ۲(۴): ۴۶-۴۱.
- علیشاهی م.، چشمه ب.، پیغان ر.، قربانپور م.، محمدیان ت. ۱۳۹۲. بررسی تأثیر بییهوشی با MS222، اسانس گل میخک و فنوکسی اتانول بر برخی شاخص‌های ایمنی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). مجله اکوبیولوژی تالاب، ۵(۱۸): ۲۳-۳۱.
- علیشاهی م.، مصباح م.، شیرالی ط. ۱۳۹۶. مقایسه تأثیر تجویز خوراکی و تزریقی عصاره گیاه سرخارگل (*Echinacea purpurea*) بر برخی شاخص‌های خونی و ایمنی ماهی کپور علفخوار (*Ctenopharyngodon idella*). مجله تحقیقات دامپزشکی، ۲۷(۲): ۲۵۹-۲۵۱.
- Acar U., Kesbic O.S., Yilmaz S., Inanan B.E., Zemheri-Navruz F., Terzi F., Fazio F., Parrino V. 2021. Effects of essential oil derived from the bitter orange (*Citrus aurantium*) on growth performance, histology and gene expression levels in Common Carp Juveniles (*Cyprinus carpio*). *Animals* 11(5), 1431.
- Alagawany M., Abd El-Hack M.E., Saeed M., Naveed M., Arain M.A., Arif M., Tiwari R., Khandia R., Khurana S.K., Karthik, K., Yatoo M.I. 2020. Nutritional applications and beneficial health applications of green tea and l-theanine in some animal species: A review. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 104 (1), 245-256.
- Amenyogbe E., Chen G., Wang Z., Huang J.,

- 21(6), 816-822.
- Mohammadi F., Choobkar N., Moradi Z. 2019. Accessibility the fry of *Mugil cephalus* to the extract of *Camellia sinensis* concerning growth performance and haematology indices. *Iranian Journal of Aquatic Animal Health* 5(1), 17-25.
- Perez-Jimenez A., Peres H., Rubio V., Olive-Teles A. 2013. Effects of diet supplementation with white tea and methionine on lipid metabolism of gilthead sea bream juvenile (*Sparus aurata*). *Fish physiology Biochemistry* 39, 661-670.
- Rashidian Gh., Kajbaf K., Prokić M.D., Faggio C. 2020. Extract of common mallow (*Malva sylvestris*) enhances growth, immunity, and resistance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fingerlings against *Yersinia ruckeri* infection. *Fish and Shellfish Immunology* 96, 254-261
- Sampantamit T., Ho L., Lachat C., Sutummawong N., Sorgeloos P., Goethals P. 2020. Aquaculture production and its environmental sustainability in Thailand: challenges and potential solutions. *Sustainability* 12(5), 2010.
- Shale T.L., Stirk W.A., Staden J.V. 2005. Variation in antibacterial and anti-inflammatory activity of different growth forms of *Malva parviflora* and evidence for synergism of the anti-inflammatory compounds. *Journal of Ethnopharmacology* 96, 325-330.
- Thrall M.A. 2004. Veterinary hematology and clinical chemistry, Lppincott Williams & Wilkins, USA. 402 p.
- Yarijani Z.M., Najafi H., Shackebaei D., Madami S.H., Modarresi M., Jassemi S.V. 2019. Amelioration of renal and hepatic function, oxidative stress, inflammation and histopathologic damages by *Malva sylvestris* extract ingentamicin induced renal toxicity. *Biomed Pharmacother* 112,108635.
- growth and feed utilization of thinlip mullet (*Liza ramada*) larvae. *Aquaculture Research* 42(8), 1163-1169.
- Dijkstra J.M., Dixon B. 2021. Immunogenetics special issue 2021: Fish Immunology. *Immunogenetics* 73, 1-3.
- Gephart J.A., Golden C.D., Asche F., Belton B., Brugere C., Froehlich H.E., Fry J.P., Halpern B.S., Hicks C.C., Jones R.C., Klinger D.H. 2020. Scenarios for global aquaculture and its role in human nutrition. *Reviews in Fisheries Science and Aquaculture* 3: 1-7.
- Hoseinifar S.H., Shakouri M., Van Doan H., Shafiei S., Yousefi M., Raeisi M., Yousefi S., Harikrishnan R., Reverter M. 2020. Dietary supplementation of lemon verbena (*Aloysia citrodora*) improved immunity, immune-related genes expression and antioxidant enzymes in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish and Shellfish Immunology* 99, 379-385.
- Imtiaz B., Fozia W., Abdul Rehman A., Ullah, H., Iqbal H., Wahab A., Almas M., Ahmad I. 2012. Antimicrobial activity of *Malva neglecta* and *Nasturtium microphyllum*. *International Journal of Research in Ayurveda and Pharmacy* 3(5), 808.
- Ismail R., Al-Hamdani A. 2019. Effect of probiotic (Poultrystar®) and heat stress on some blood parameters in common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Iraqi Veterinary Science*, 33: 221-225.
- Ji, S-C., Takaoka, O., Jeong, G-S., Lee, S-W., Ishimaru, K., Seoka, M., Takii K. 2007. Dietary medicinal herbs improve growth and some non-specific immunity of red sea bream *Pagrus major*. *Fisheries Science* 73(1), 63-69.
- Keyrouz E., El Feghali P.A.R., Jaafar M., Nawas T. 2017. *Malva neglecta*: A natural inhibitor of bacterial growth and biofilm formation. *Journal of Medicinal Plants Research* 11(24), 380-386.
- Mirghiasi S.M., Akhzari M., Vassaf M., Akbari A., Baghi S.M. 2015. The Effect of *Malva neglecta* on the Reduction of Inflammatory Agents in Patients with Osteoarthritis. *Molecular Biology* 4(4), 135.
- Mohammad Eini A., Shayegh J., Moharrami Fard M. 2014. Comparison of Antibacterial Effect of *Malva Sylvestris* L (Aerial and Root Organs) by MIC. *Jagadguru Sri Shivarathreeshwara University (JSSU)*

The effect *Malva neglecta* on growth, survival and hematological parameters in *Cyprinus carpio*

Mojgan Khodadadi*, Hashem Maramazi, Mehran Javaheri Baboli

Department of Aquaculture, Ahvaz Branch, Islamic Azad University, Ahvaz, Iran.

*Corresponding author: mjkhodadadadi@gmail.com

Received: 2021/6/22

Accepted: 2021/8/16

Abstract

This survey was done to study the effect of the powder of *Malva neglecta* as a natural immune stimulant on growth factors and hematological in *Cyprinus carpio* in summer 2016 during 60 days rearing period in aquaculture center of Islamic azad university, Ahvaz Branch. After adaptation, a total of 360 fish were placed in 12 300-liters tanks, that 30 of fish (initial weight, 18.10 ± 0.18 gr) were in every tank. The treatments were included control (0 gr/Kg), treatment 1 (2%), treatment 2 (4 %) and treatment 3 (6%) of *Malva neglecta* powder. The results of defence cells in *Cyprinus carpio* were showed that Monocytes and Basiphyls observed just in treatment 1 and 2. The highest Lymphocyt and Noutrophilsw were counted respectively 95.5% (treatment 3) 48.16% (treatment 2). The Eosinophyls were not present in any of treatments. MCH ($1.12 \mu\text{m}^3 10^{-1}$) was showed in treatment three. The highest of complement factor and killing bacterial serum power were calculated in treatment 2 comparison to control ($P < 0.05$) but the highest of Lysosim observed in treatment 3 (55.54 g/dl) ($P < 0.05$). The highest MCV, MCHC, WBC, RBC, Hg and HCT in treatment 3 were calculated respectively $1.12 (\mu\text{m}^3) 10^{-1}$, $5.59 (\mu\text{m}^3) 10^{-1}$, $3.37 (\mu\text{m}^3) 10^{-1}$, $173.33 (10^3 \text{cell} \cdot \text{mm}^{-3})$, $1.36 (10^6 \text{cell} \cdot \text{mm}^{-3})$ 8.3 (g/dl) and 40.66%. The *Malva neglecta* powder were showed no significant difference in growth factor and survival in *Cyprinus carpio* ($P > 0.05$) but were observed 100% survival in fish in treatment 1, 2 and 3. The Value of 4% of powder *Malva neglecta* in diet caused improvement hematological factors in *Cyprinus carpio*. Also 2 percent of powder in diet were cause of increasing complement factor and killing bacterial serum in this fish.

Keywords: *Malva neglecta*, Growth, Survival, Hematological indices, Common carp.