"مقاله پژوهشی"

ارزیابی اثر اسانس اکالیپتوس (*Eucalyptus globulus*) بر شاخص‌های رشد، خون، ایمنی و افزایش مقاومت در برابر آئروموناس هیدروفیلا (*Aeromonas hydrophila*) در ماهیان کپور پرورشی (*Cyprinus carpio*)

مریم قیاسی[1*]، محمد بینایی[1]، بابک قائدنیا[2]، سید محمد وحید فارابی[1]، احترام السادات علوی[1]

۱ - پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، ساری، ایران
۲ - موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۳/۲۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۷/۱۲

چکیده

امروزه استفاده از گیاهان دارویی به عنوان محرک رشد و ایمنی جایگاه ویژه‌ای در صنعت آبزی‌پروری یافته‌است. در این بررسی اثر اسانس اکالیپتوس بر شاخص‌های خون، ایمنی، رشد و مقاومت کپور در برابر آئروموناس هیدروفیلا مورد ارزیابی قرارگرفت. ۲۴۰ عدد ماهی کپور (با میانگین وزنی ۰/۶ ± ۵۳/۶۴ گرم) در چهار تیمار شامل شاهد و سه گروه تیمار با اسانس اکالیپتوس به میزان ۰/۱۵، ۰/۳ و ۰/۶ میلی‌لیتر به ازاء کیلوگرم وزن ماهی به مدت ۸ هفته تغذیه شدند. در پایان هفته هشتم آزمایش، ۱۲ ماهی از هر گروه بیهوش و زیست سنجی شدند. سپس از ۹ عدد آنها خون‌گیری انجام شد. همچنین در همین زمان ۳۰ ماهی از هر تیمار با تزریق داخل صفاقی ۰/۱ میلی‌لیتر باکتری آئروموناس هیدروفیلا (با شماره دستیابی JF313402) با غلظت نهایی $1/2\times10^{7}$ CFU/ml مواجهه و میزان تلفات تا دو هفته ثبت‌گردید. نتایج نشان داد میزان گلبول قرمز و هموگلوبین در تمام تیمارها در مقایسه با شاهد افزایش معنی‌دار داشت، ولی هماتوکریت فقط در تیمارهای ۰/۳ و ۰/۶ بطور معنی‌داری از شاهد بیشتر بود. تعداد گلبول‌های سفید، میزان رادیکال آزاد اکسیژن، لیزوزیم و IgM با روند افزایش دوز عصاره افزایش معنی‌داری در گروه‌های تیمار نسبت به شاهد داشتند. ولی میزان آنزیم‌های سرمی ALT و AST تفاوت معنی‌داری را بین گروه‌های تیمار و شاهد نشان نداند. شاخص‌های رشد شامل میزان وزن نهایی، افزایش وزن بدن و ضریب رشد ویژه بطور معنی‌داری در تیمار ۰/۶ در مقایسه با گروه شاهد افزایش معنی‌دار داشت، ولی میزان ضریب تبدیل غذایی بطور معنی‌داری کمتر بود. بعد از مواجهه با باکتری آئروموناس هیدروفیلا درصد بقا پس از ۱۴ روز در گروه‌های شاهد، تیمار ۰/۱۵، ۰/۳ و ۰/۶ به ترتیب ۳۷/۸، ۵۴/۶۱، ۷۱/۹۳ و ۸۶/۲۳٪ بود. براساس نتایج به نظر می‌رسد اسانس اکالیپتوس یک محرک ایمنی و رشد مناسب در ماهیان کپور است و می‌تواند در پرورش کپورماهیان مورد استفاده قراربگیرد.

کلمات کلیدی: کپور معمولی، اکالیپتوس، آئروموناس هیدروفیلا، لیزوزیم، ضریب رشد ویژه.

* عهده‌دار مکاتبات: ghiasimaryam4@gmail.com

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-01-30]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1401.16.2.10.4]
[DOI: 10.52547/aqudev.16.2.119]

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-01-30]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1401.16.2.10.4]

[DOI: 10.52547/aqudev.16.2.119]

مقدمه

آبزی‌پروری در دنیای صنعتی روبه رشد با هدف تولید پروتئین حیوانی با کیفیت است. در بین ماهیان پرورشی، کپورماهیان از مهمترین ماهیان پرورشی آب شیرین هستند، بطوری که میزان تولید جهانی آنها از سال ۲۰۱۰ تا ۲۰۱۸، ۲۲/۱٪ افزایش داشته است (FAO, 2020). تولید این گروه از ماهیان در ایران از جایگاه ویژه‌ای برخوردار بوده و میزان تولید ماهیان گرمابی از سال ۱۳۹۴ تا ۱۳۹۹، یک افزایش ۱۹/۲ ٪ را نشان می‌دهد. این درحالی است که این افزایش تولید تنها در کنار ۷/۲٪ افزایش مساحت زیر کشت بدست آمده (سالنامه آماری شیلات ایران، ۱۴۰۰) و این افزایش تولید ناشی از افزایش تراکم در واحد سطح بوده است. محدودیت منابع آب و زمین، آبزی‌پروری را به سمت سیستم‌های پرورش نیمه متراکم و متراکم سوق داده، ولی این افزایش تراکم موجب افزایش استرس و در نهایت تضعیف ایمنی و حساسیت ماهیان به بیماری‌های عفونی شده‌است (Harikrishnan, 2011). آنتی بیوتیک‌ها مهم‌ترین ترکیبات مصرفی در کنترل بیماری‌های عفونی هستند، ولی ایجاد سوش‌های میکروبی مقاوم به درمان، هزینه بالا دارو درمانی، تخریب فلور میکروبی آب و ایجاد باقی‌ماندگی در گوشت ماهیان محدودیت مصرف آنها را سبب شده است (Biswas *et al.*, 2010; Bulfon *et al.*, 2015; Erguig *et al.*, 2015; Syahidah *et al.*, 2015; Cabello *et al.*, 2016; Sneeringer *et al.*, 2019). هرچند واکسیناسیون یکی از روش‌های موثر پیش‌گیری از بروز بیماری‌های عفونی شناخته شده ولی به دلیل تفاوت‌های آنتی‌ژنی و نیز قیمت بالای واکسن محدودیت‌هایی در مصرف دارد. به همین دلیل محققین درصدد یافتن ترکیبات با قابلیت تحریک سیستم ایمنی و افزایش مقاومت ماهی در برابر پاتوژن‌ها هستند (Bulfon *et al.*, 2013). 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 بی‌ضررو قیمت ارزان از مهم‌ترین گزینه‌ها در جهت ارتقا سلامت و ایمنی ماهیان شناخته شده‌اند (Elumalai *et al.*, 2020). گیاه اکالیپتوس بومی استرالیا است ولی از حدود ۸۰ سال پیش وارد ایران شده و امروزه در بسیاری از نقاط کشور خصوصا در استان‌های جنوبی و شمالی کشور به فراوانی یافت می‌شود (صادقی و همکاران، ۱۳۹۷). ۳۰۰ گونه اکالیپتوس در جهان وجود دارد، ولی تنها ۲۰ گونه از نظر تولید اسانس با مصارف دارویی و صنعتی ارزش اقتصادی دارند و *Eucalyptus globulus* یکی از آنها است. تهیه اسانس از بخش‌های مختلف این گیاه شامل برگ، پوست ساقه، شکوفه، ریشه و میوه انجام می‌شود (Barbosa *et al.*, 2016). مطالعات مختلف نشان داده است که اسانس گرفته شده از این گیاه واجد خواص آنتی‌اکسیدانی، ضد ویروس، باکتری، انگل، قارچ، ضد دیابت، بهبود دهنده زخم، ضد سرطان، ممانعت کننده از ایجاد پلاک دندانی، ضد التهاب، بهبود دهنده بیماریهای تنفسی و مالاریا است (Kumar and Laxmidhar, 2011).

مطالعات محدودی در خصوص اثرات مفید اسانس این گیاه در ماهیان پرورشی انجام شده‌است. Khosravi و همکاران (۲۰۱۲) نشان دادند که اسانس اکالیپتوس قادر به کنترل آلودگی‌های قارچی در هچری ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان است. اسانس *Eucalyptus globulus* مانع از رشد برخی باکتری‌های بیماری‌زا در ماهی مانند استرپتوکوکوس اینیایی، استرپتوکوکوس پارایوبریس، لاکتوکوکوس گارویه، ادرواردزیلا تاردا، فتوباکتریوم دمسلا و ویبریو هاروی (Park *et al.*, 2016) و آئروموناس هیدروفیلا (رودبارکی و همکاران، ۱۳۹۶) در شرایط آزمایشگاهی شده و به عنوان ترکیبی مناسب برای مقابله با بیماری‌های عفونی در ماهیان پیشنهاد شده‌است. مطالعه رودبارکی و همکاران (۱۳۹۷) نشان داد استفاده از عصاره هیدروالکلی اکالیپتوس خصوصا در غلظت‌های پایین به عنوان یک ترکیب ضدمیکروبی در کنترل عفونت ناشی از آئروموناس هیدروفیلا در ماهی آمور قابل استفاده‌است. همچنین نتایج بدست آمده در خصوص مصرف خوراکی اسانس اکالیپتوس در ماهیان کپور پرورشی نشان داده که استفاده از اسانس این گیاه قادر به بهبود پاسخ‌های ایمنی در کپور ماهیان پرورشی است (شیخ زاده و همکاران ۱۳۸۸، Sheikhzadeh *et al.*,2011). از آنجایی که تاکنون اطلاعات جامعی در خصوص تاثیر مصرف خوراکی اسانس *Eucalyptus globulus* در کپور ماهیان پرورشی انجام نشده است، لذا در این مطالعه تلاش شده تا تاثیرات مصرف جیره‌ای این اسانس بر شاخص‌های خون، سرم، ایمنی و رشد کپور پرورشی و نیز مقاومت آنها در برابر باکتری آئروموناس هیدروفیلا مورد ارزیابی قرارگیرد.

مواد و روش‌ها

آماده سازی جیره: اسانس گیاه اکالیپتوس (شرکت باریج اسانس، ایران) در دوزهای ۰/۱۵، ۰/۳ و ۰/۶ میلی‌لیتر به ازاء کیلوگرم وزن ماهی با استفاده از روغن مایع به غذای تجاری (بیضا ۲۱، ایران) افزوده شد (Gholipourkanani *et al.*, 2017).

شرایط پرورش: تعداد ۲۴۰ عدد ماهی کپور (متوسط وزن گرم ۰/۶ ± ۵۳/۶۴) از یکی از مزارع پرورش ماهیان گرمابی در شهرستان جویبار تهیه و در ۱۲ تانک با گنجایش ۲۵۰ لیتر (در هر تانک ۱۵ عدد ماهی) توزیع شدند. ماهیان به مدت دو هفته آداپتاسیون را پشت سرگذاشته و در این مدت با جیره پایه (شرکت بیضا ۲۱) تغذیه شدند. پس از اطمینان از سلامت ماهیان، تیمار بندی و با جیره‌های پیش بینی شده به مدت ۸ هفته تغذیه‌شدند. آب مورد استفاده برای پرورش آب چاه بود که پس از هوادهی وارد تانک‌ها می‌شد. میانگین شاخص‌های فیزیکی و شیمیایی آب شامل اکسیژن محلول ۷/۸±۰/۶ میلی‌گرم در لیتر، دما ۲۲/۱±۲/۲ درجه سانتی‌گراد و pH ۷/۰±۸/۴ بود. میزان غذای روزانه ماهیان بر حسب درصد وزن بدن، دمای آب و بر اساس جدول غذادهی ۳/۵-۳ درصد وزن بدن تعیین شد. تعداد دفعات غذادهی سه با در روز (صبح، ظهر، عصر) به صورت دستی انجام می‌شد. تعویض آب تانک‌ها به صورت روزانه و به میزان ۵۰-۴۰ درصد حجم هر تانک انجام می‌شد.

خون‌گیری: بعد از ۸ هفته تغذیه، ماهیان ۲۴ ساعت قطع غذا و تعداد ۱۲ ماهی از هر تیمار بطور تصادفی صید و با استفاده از پودرگل میخک (۰/۵ گرم در لیتر) (قیاسی و همکاران، ۱۳۹۹) بیهوش و وزن آنها با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱گرم اندازه-

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-01-30]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1401.16.2.10.4]
[DOI: 10.52547/aqudev.16.2.119]

گیری و ثبت‌شد. خون‌گیری از ساقه دمی ۹ ماهی از هر تیمار با سرنگ استریل انجام و ۲ میلی‌لیتر خون اخذ و ۱ میلی‌لیتر از آن به میکروتیوب حاوی ماده ضد انعقاد هپارین (۰/۲ میلی‌گرم در هر لیتر خون) و ۱ میلی لیتر آن به میکروتیوب فاقد هپارین منتقل شد. نمونه‌ها در کنار یخ سریعاً به آزمایشگاه خون‌شناسی پژوهشکده اکولوژی دریای خزر منتقل شدند (قیاسی و همکاران، ۱۳۹۹).

اندازه گیری شاخص‌های رشد: شاخص‌های رشد شامل میانگین افزایش وزن بدن، ، ضریب رشد ویژه و ضریب تبدیل غذایی طبق روابط زیر محاسبه گردید (Tacon, 1990).

افزایش وزن بدن: وزن ابتدایی بر حسب گرم - وزن نهایی بر حسب گرم = افزایش وزن بدن (برحسب گرم)

ضریب رشد ویژه : ۱۰۰ ×{(تعداد روزهای پرورش)/(میانگین وزن اولیه - میانگین وزن ثانویه)}

ضریب تبدیل غذایی: افزایش وزن بدن بر حسب گرم/ مقدار غذای خورده شده بر حسب گرم

اندازه گیری شاخص‌های خونی: برای شمارش گلبول قرمز و سفید، 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 هموسیتومتر شمارش شدند. میزان هماتوکریت با استفاده از لوله میکروهماتوکریت پس از سانتریفوژ (۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰rpm) با استفاده از خط- کش مخصوص انجام‌گردید. 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 (Lee *et al.*, 1998).

اندازه گیری شاخص‌های سرمی و ایمنی: ارزیابی شاخص‌هایی چون پروتئین تام سرم، آلبومین، IgM تام سرم، آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و آلانین آسپارتات آمینو ترانسفراز (AST) با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر(Eurolayzer ساخت بلژیک) و با استفاده از کیت تجاری (شرکت پارس آزمون، ایران) انجام شد (Binaii *et al.*, 2014). در تعیین میزان فعالیت لیزوزیم سرم از روشEllis (۱۹۹۰) استفاده شد. سطح فعالیت لیزوزیم به روش کدورت سنجی و با استفاده از سوسپانسیون باکتری میکروکوکوس لیزودیکتیکوس(سیگما، آمریکا) و آنزیم مورآمیداز صورت گرفت. جهت ارزیابی میزان تولید رادیکال آزاد اکسیژن براساس روش توضیح داده شده توسط Ghiasi و همکاران (۲۰۱۸) و با استفاده از دستگاه Luminoscan Ascent (Thermo, Finland) انجام گردید.

مواجهه سازی با باکتری: پس از پایان دوره، تیمارهای مختلف با باکتری آئروموناس هیدروفیلا (با شماره دستیابی JF313402) با تزریق ۰/۱ میلی‌لیتر باکتری با غلظت نهایی $۱/۲\times۱۰^{۷}$ (CFU/ml) به صورت داخل صفاقی مواجهه داده‌شدند. روند مرگ و میر در تیمارهای مورد آزمایش به مدت ۱۴ روز مورد بررسی قرارگرفت. تلفات و علائم بالینی در هر تیمار بصورت روزانه ثبت‌گردید تا درصد بقا محاسبه گردد. جهت تائید تشخیص بیماری در ماهیان واجد علائم بالینی ازبافت‌های کلیه و کبد نمونه تهیه و بر روی محیط کشت (TSA) کشت داده و به مدت ۴۸ ساعت در درجه حرارت ۲۵ درجه سانتی‌گرادگرمخانه گذاری شد (Soltanian *et al.*, 2016).

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-01-30]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1401.16.2.10.4]
[DOI: 10.52547/aqudev.16.2.119]

تجزیه و تحلیل آماری: تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS ۲۰ و با استفاده از تجزیه واریانس یک طرفه (ANOVA) و مقایسه میانگین بین تیمارهای مختلف بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تعیین گردید (Zar, 1994).

نتایج

نتایج مربوط به ارزیابی شاخص‌های خونی در جدول ۱ آمده‌است. براساس نتایج تعداد گلبول قرمز و میزان هموگلوبین در تمام تیمارها بطور معنی‌داری بیشتر از شاهد بود ($p<0.05$). میانگین درصد هماتوکریت در تیمارهای ۰/۳ و ۰/۶ بطور معنی‌داری در مقایسه با شاهد افزایش داشت ($p<0.05$). تعداد گلبول‌های سفید با روند افزایش دوز عصاره افزایش معنی‌دار پیداکرد، بطوریکه تیمارهای ۰/۳ و ۰/۶ افزایش معنی‌داری در مقایسه با شاهد داشتند ($p<0.05$) و بیشترین میزان در بین تیمارها نیز مربوط به تیمار ۰/۶ بود. میانگین درصد لنفوسیت در تیمار ۰/۶ در مقایسه با سایر تیمارها کاهش معنی‌دار داشت ($p<0.05$)، در حالیکه نتایج میانگین درصد نوتروفیل کاملا عکس این بود. همان‌طورکه در جدول ۲ آمده است نتایج شاخص‌های سرمی نشان می‌دهدکه میزان پروتئین تام و آلبومین سرم تنها در تیمار ۰/۶ در مقایسه با شاهد افزایش معنی‌دار داشته است ($p<0.05$). در ارزیابی آنزیم‌های سرمی ALT و AST تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های تیمار و شاهد مشاهده نشد ($p>0.05$). در خصوص شاخص‌های ایمنی، میزان لیزوزیم در تیمارهای ۰/۳ و ۰/۶ در مقایسه با شاهد افزایش معنی‌داری داشت ($p<0.05$). همچنین میزان IgM تام سرم در تیمار ۰/۳ و ۰/۶ در مقایسه با تیمار ۰/۱۵ و شاهد افزایش معنی‌داری را نشان داد ($p<0.05$) (جدول ۲). ارزیابی میانگین تولید رادیکال آزاد اکسیژن نشان داد که افزایش این شاخص وابسته به دوز بوده و در تیمارهای ۰/۳ و ۰/۶ افزایش معنی‌داری در مقایسه با شاهد داشته ($p<0.05$) و در بین گروه‌های تیمار، گروه ۰/۶ بیشترین میزان را داشته‌است (شکل۱). نتایج مربوط به شاخص‌های رشد نشان داد که میزان وزن نهایی، افزایش وزن بدن و ضریب رشد ویژه بطور معنی‌داری در تیمار ۰/۶ در مقایسه با گروه شاهد افزایش معنی‌دار داشته است ($p<0.05$) درحالیکه میزان ضریب تبدیل غذایی در این تیمار بطور معنی‌داری کمتر از گروه شاهد بود ($p<0.05$). نتایج درصد بقا ماهیان پس از تجویز باکتری آئروموناس هیدروفیلا نشان داد که میزان درصد بقا پس از ۱۴ روز در گروه‌های شاهد، تیمار ۰/۱۵، ۰/۳ و ۰/۶ به ترتیب ۳۷/۸، ۵۴/۶۱، ۷۱/۹۳ و ۸۶/۲۳٪ بوده است (جدول ۳).

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-01-30]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1401.16.2.10.4]
[DOI: 10.52547/aqudev.16.2.119]

جدول ۱: مقایسه میانگین شاخص‌های خونی ماهیان کپور تغذیه شده با دوزهای مختلف اسانس اکالیپتوس بعد از ۸ هفته

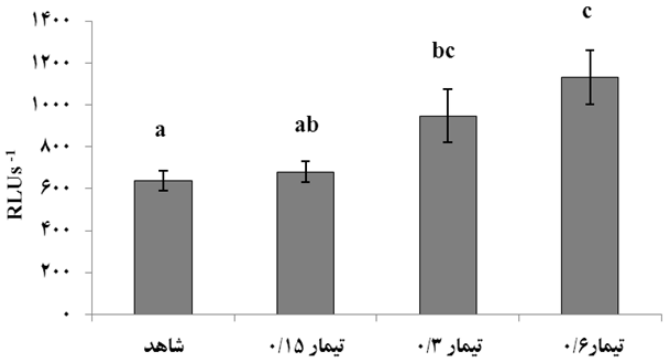
شاخص / تیمار	گلبول قرمز (mm^{-3} ۱۰ ۶سلول)	هموگلوبین (gdL^{-1})	هماتوکریت (٪)	گلبول سفید (mm^{-3} سلول)	لنفوسیت (٪)	نوتروفیل (٪)
شاهد	۱/۴۰ ± ۰/۵۶ a	۲/۷۵ ± ۰/۱۴ a	۱۰/۴۹ ± ۰/۳۶ a	۸۶۵۵ ± ۳۸۹/۴۸ a	۵۸/۳۰ ± ۱/۶۷ b	۴۱/۷۰ ± ۱/۶۷ a
تیمار ۰/۱۵	۱/۶۰ ± ۰/۳۹ b	۳/۷۲ ± ۰/۱۱ b	۱۱/۸۶ ± ۰/۳۹ ab	۹۵۱۵ ± ۲۱۸/۳۳ ab	۵۶/۳۰ ± ۱/۴۳ ab	۴۳/۷۰ ± ۱/۴۳ ab
تیمار ۰/۳	۱/۶۱ ± ۰/۳۲b	۳/۷۶ ± ۰/۱۷b	۱۲/۰۹ ± ۰/۵۴b	۱۰۱۵۰ ± ۴۴۷/۰۳bc	۵۵/۳۰ ± ۲/۰۷b	۴۴/۷۰ ± ۲/۰۷b
تیمار ۰/۶	۱/۸۰ ± ۰/۸۹ b	۴/۲۳ ± ۰/۲۷ b	۱۳/۲۷ ± ۰/۶۲ b	۱۰۹۹۰ ± ۱۲۹/۴۸ c	۵۱/۷۰ ± ۲/۳۹ a	۴۸/۳۰ ± ۲/۳۹ b

جدول ۲: مقایسه میانگین شاخص‌های سرمی ماهیان کپور تغذیه شده با دوزهای مختلف اسانس اکالیپتوس بعد از ۸ هفته

شاخص / تیمار	پروتئین تام gdL^{-1}	آلبومین gdL^{-1}	ALT $IUdL^{-1}$	AST $IUdL^{-1}$	IgM تام $mgdL^{-1}$	لیزوزیم μgmL^{-1}
شاهد	۳/۳۳ ± ۰/۱۱ a	۱/۴۰ ± ۰/۱۱ a	۷/۱۳ ± ۱/۲۰ a	۷۹/۱۸ ± ۶/۹۶ a	۵۶/۵۷ ± ۳/۸۹ a	۴/۹۹ ± ۰/۶۹ a
تیمار ۰/۱۵	۳/۶۰ ± ۰/۱۶ a	۱/۸۹ ± ۰/۱۶ ab	۷/۰۷ ± ۰/۶۷a	۷۶/۱۵ ± ۷/۳۶ a	۶۲/۵۷ ± ۳/۹۲ a	۵/۲۸ ± ۰/۹۴ ab
تیمار ۰/۳	۳/۷۹ ± ۰/۶۷ab	۱/۸۴ ± ۰/۱۸ab	۶/۱۸ ± ۰/۶۶a	۷۳/۹۲ ± ۷/۲۱a	۷۷/۲۲ ± ۳/۶۴b	۵/۶۹ ± ۰/۲۱b
تیمار ۰/۶	۴/۱۷ ± ۰/۲۰ b	۲/۱۶ ± ۰/۲۱ b	۵/۹۹ ± ۰/۲۱a	۶۲/۴۲ ± ۴/۶۶ a	۷۸/۱۹ ± ۵/۰۸ b	۷/۰۳ ± ۰/۳۷ b

جدول ۳: مقایسه میانگین شاخص‌های رشد ماهیان کپور تغذیه شده با دوزهای مختلف اسانس اکالیپتوس بعد از ۸ هفته

شاخص	شاهد	تیمار ۰/۱۵	تیمار ۰/۳	تیمار ۰/۶
وزن اولیه (گرم)	۵۲/۵۸ ± ۲/۹۴ a	۵۳/۴۱ ± ۲/۵۵ a	۵۴/۱۲ ± ۱/۹۶ a	۵۳/۴۹ ۲±/۵۵ a
وزن نهایی (گرم)	۱۱۴/۹۱ ± ۳/۴۹ a	۱۲۱/۶۶ ± ۲/۸۰ ab	۱۲۸/۹۱ ± ۵/۵۴ ab	۱۴۱/۱۹ ± ۶/۴۵ b
افزایش وزن بدن (گرم)	۶۲/۳۱ ± ۵/۷۶ a	۶۸/۷۱ ± ۳/۶۰ ab	۷۴/۷۹ ± ۴/۳۷ ab	۸۴/۹۷ ± ۵/۲۱ b
ضریب رشد ویژه(٪)	۰/۷۲ ± ۰/۰۸ a	۰/۸۵ ± ۰/۰۵ ab	۰/۹۱ ± ۰/۱۴ ab	۱/۰۷ ± ۰/۰۹ b
ضریب تبدیل غذایی	۲/۹۳ ± ۰/۲۴ b	۲/۶۷ ± ۰/۲۲ ab	۲/۶۲ ± ۰/۲۳ ab	۲/۴۱ ± ۰/۲۱ a



شکل۱: مقایسه میانگین تولید رادیکال آزاد اکسیژن ماهیان کپور تغذیه شده با دوزهای مختلف اسانس اکالیپتوس بعد از ۸ هفته

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-01-30]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1401.16.2.10.4]
[DOI: 10.52547/aqudev.16.2.119]

بحث

استفاده از محرک‌های ایمنی با منشا گیاهی با توجه به مزیت‌های متعدد، در سالهای اخیر جایگاه ویژه‌ای در تحقیقات آبزی‌پروری یافته و بررسی اثرات تحریک رشد و ایمنی و افزایش مقاومت ماهیان در برابر بیماری‌های عفونی در پی تجویز فرآورده‌های گیاهی هدف بسیاری از تحقیقات قرارگرفته‌است (Stratev *et al.*, 2018; Shakya, 2017). نتایج این بررسی نشان داد که استفاده از اسانس *Eucalyptus globulus* سبب افزایش معنی‌دار میزان گلبول قرمز و سفید، هماتوکریت و هموگلوبین ماهیان کپور شده است. Belo (۲۰۱۵) نشان داد که افزودن برگ خشک شده این گیاه به جیره غذایی بلدرچین ژاپنی سبب افزایش میزان گلبول‌های قرمز و سفید، هموگلوبین و هماتوکریت شده‌است. همچنین در تجویز جیره‌ای اکالیپتول (مهمترین ترکیب تشکیل دهنده اسانس اکالیپتوس) به کپور ماهیان به میزان ۰/۵ و ۱٪ در کیلوگرم جیره به مدت ۱۴ روز میزان گلبول‌های قرمز و سفید و هموگلوبین در گروهای تیمار بطور معنی‌داری افزایش داشت (Hoseini *et al.*, 2018). بررسی‌های مختلف نشان داده‌است که برگ و اسانس حاصل از برگ گیاه *Eucalyptus globulus* سرشار از ویتامین C، بتا کاروتن، B12، آهن، روی و منیزیوم است (Hayat *et al.*, 2015). مطالعات نشان داده ویتامین C نقش مهمی در جذب آهن دارد (Adel and Khara, 2016) و غنی بودن اسانس این گیاه از این دو ماده می‌تواند دلیل افزایش تعداد گلبول‌های قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت باشد. همچنین اکالیپتوس به دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی می‌تواند روند خون‌سازی را بهبود بخشیده و تولید گلبول‌های سفید و قرمز را افزایش دهد (Cho, 2012; Ciftci *et al.*, 2011). بیگانه‌خواری و تولید رادیکال آزاد اکسیژن یکی از مهم‌ترین مکانیسم‌های باکتری‌کشی در ماهیان است که توسط سلول‌های بیگانه‌خوار در خون (نوتروفیل و مونوسیت) و بافت‌ها (ماکروفاژ) انجام گرفته و سبب حذف باکتری‌ها می‌شوند (Adel *et al*, 2016). در این بررسی میزان تولید رادیکال آزاد اکسیژن در تیمارهای ۰/۳ و ۰/۶ بطور معنی‌داری در مقایسه با شاهد افزایش داشت. Serafino و همکاران (۲۰۰۸) نشان دادند فعالیت بیگانه خواری و تولید رادیکال آزاد اکسیژن مونوسیت‌های انسان در شرایط آزمایشگاهی پس از مواجهه با اسانس اکالیپتوس افزایش می‌یابد. از سوی دیگر در بررسی حاضر معلوم شد تعداد نوتروفیل‌ها در دو تیمار ۰/۳ و ۰/۶ نیز افزایش معنی داری در مقایسه با شاهد داشته است، که خود می‌تواند افزایش معنی‌دار تولید رادیکال آزاد اکسیژن در این مطالعه را توجیه نماید. در این مطالعه تعداد لنفوسیت‌ها در تیمارها در مقایسه با شاهد کمتر بود. باید توجه داشت این کاهش دلیل بر کم شدن لنفوسیت‌ها نیست بلکه به دلیل روش شمارش این سلولها است. در روش شمارش تفریقی با استفاده از گسترش خون بر روی لام، ۱۰۰ عدد سلول شمارش می‌شود و تعداد سلول‌ها در این ۱۰۰ عدد محاسبه میشود و به دلیل تراکم بیشتر نوتروفیل شمارش شده درصد لنفوسیت در محاسبه نهایی کمتر شده است (قیاسی و همکاران، ۱۳۹۹) . اصولا افزایش پروتئین تام سرم و آلبومین معمولا با ایجاد پاسخ‌های قوی ایمنی در ماهیان همراه‌است (Ghiasi *et al.*, 2018). در این بررسی میزان پروتئین تام و آلبومین سرم در تیمار ۰/۶ در مقایسه با شاهد افزایش معنی‌دار داشت. مطالعه Hoseini و همکاران (۲۰۱۸) نشان داد تجویز

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-01-30]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1401.16.2.10.4]
[DOI: 10.52547/aqudev.16.2.119]

اکالیپتوس به میزان ۰/۵ و ۱٪ جیره مانع از کاهش میزان آلبومین در ماهیان کپور بعد از مواجهه با سولفات مس گردید. سولفات مس با بهم زدن فشار اسمزی سبب مرگ ماهی می‌شود و آلبومین به عنوان مهم‌ترین ترکیب پروتئینی حفظ کننده این فشار ضامن بقای ماهی است (Hoseini *et a*l., 2016). لذا استفاده از این ترکیب سبب افزایش بازماندگی ماهیان در مواجهه با سولفات مس شد. در این تحقیق میزان آنزیم‌های کبدی ALT و AST در بین گروه‌های تیمار و شاهد فاقد تفاوت معنی‌دار بود. ALT و AST آنزیم‌هایی هستند که به فراوانی در کبد وجود دارند و افزایش میزان آنها می‌تواند ناشی از آسیب کبدی باشد (Ghiasi *et al.*, 2018). در تجویز آکالیپتول به ماهیان کپور در مواجهه با سولفات مس تفاوت معنی‌داری در میزان ALT مشاهده نشد ولی میزان AST در دوز ۱٪ کاهش معنی‌دار در مقایسه با شاهد داشت. درحالیکه تجویز اسانس آویشن شیرازی به ماهیان کپور میزان AST و ALT در گروه تیمار در مقایسه با شاهد تفاوت معنی‌داری نداشت (Mohiseni *et al.*, 2019). به نظر می‌رسد استفاده از ترکیبات موثره (اکالیپتول) در مقایسه با اسانس کامل می‌تواند با تفاوتهایی در یافته‌های سرمی همراه داشته باشد، هرچند که دلیل آن چندان روشن نیست. IgM مهمترین آنتی بادی سرم در ماهیان است، ولی در پوست و آبشش نیز حضور دارد و تنها ایمونوگلوبولین سرمی است که سبب محافظت ماهیان استخوانی در برابر عوامل بیماریزای عفونی می‌شود (Hordvik, 2015). طی این بررسی میزان IgM بطور معنی‌داری در تیمارهای ۰/۳ و ۰/۶ در مقایسه با شاهد و تیمار ۰/۱۵ افزایش معنی‌دار داشت. مصرف گیاهان دارویی چون زردچوبه (Giri *et al.*, 2019)، سیر (Karimi Pashak *et al.*,2018) و خار مریم (علیشاهی و همکاران، ۱۳۹۰) سبب افزایش میزان IgM در ماهیان کپور شده‌است. مکانیسم این افزایش به خوبی روشن نیست ولی از آنجایی که مهمترین منبع IgM گلبولهای سفید هستند (Hordvik, 2015)، در این بررسی تعداد آنها بطور معنی‌دار افزایش داشته است دلیل افزایش IgM را می‌تواند توجیه‌کند. لیزوزیم بخش مهم و موثری از سیستم ایمنی ذاتی است و محرک های ایمنی اغلب سبب افزایش آن در ماهی می‌شوند (Saurabh and Sahoo, 2008). در این مطالعه میزان لیزوزیم در تیمارهای ۰/۳ و ۰/۶ بطور معنی‌داری در مقایسه با شاهد افزایش داشت. افزایش لیزوزیم در ماهیان کپور به دنبال مصرف عصاره گیاه سلمک (*Chenopodium album*) (Amhamed *et al.*, 2018)، خار مریم (علیشاهی و همکاران، ۱۳۹۰)، رهمانیا (*Rehmannia glutinosa*) (Feng et al., 2020)، زردچوبه (Giri *et al.*, 2019) و اکالیپتول(Hoseini *et al.*, 2018) نیز مشاهده شده است. این مطالعات نشان می‌دهد که استفاده از گیاهان دارویی سبب تقویت ایمنی ذاتی در کپورماهیان می‌شود. در این بررسی بهبود در وزن نهایی، افزایش وزن بدن، ضریب رشد ویزه و ضریب تبدیل غذایی مشاهده شد. بهبود شاخص‌های رشد با مصرف مرزنجوش(*Oregano vulgaris*)(Abdel-Latif *et al.*, 2020)، گیاه سلمک (Amhamed *et al.*, 2018)، چای کوهی (*Stachys lavandulifolia*) (Bahrami Babahydari *et al.*, 2014)، آلوئه ورا (Khanal *et al.*, 2020)، آویشن شیرازی(*Zataria multiflora*) (Mohiseni *et al.*, 2019) زنجبیل (عباسی قادیکلایی و همکاران، ۱۳۹۷) و سیر(Karimi Pashaki *et al.*,2018) نیز در ماهیان کپور مشاهده شده است. به

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-01-30]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1401.16.2.10.4]
[DOI: 10.52547/aqudev.16.2.119]

نظر می‌رسد بهبود شاخص‌های رشد با استفاده از گیاهان دارویی ارتباط مستقیمی با ترکیبات بیواکتیو موجود در آنها دارد، که از یک سو سبب بهبود وضعیت ایمنی کپورماهیان شده و از سوی دیگر با بهبود ساختار میکروبی دستگاه گوارش، عملکرد آنزیمی و نیز ساختار اپیتلیوم پوششی روده افزایش جذب و راندمان غذایی را سبب می‌شود. در نهایت به رشد بهتر و ضریب تبدیل کمتر منجر می‌شوند (Parvaaz *et al.*, 2020). در این مطالعه پس از مواجهه ماهیان در پایان هفته ۸ آزمایش با باکتری آئروموناس هیدروفیلا درصد بقا در پایان دوره ۱۴ روزه در گروه شاهد، تیمار ۰/۱۵، تیمار ۰/۳ و تیمار۰/۶ به ترتیب ۳۷/۸، ۵۴/۶۱، ۷۱/۹۳ و ۸۶/۲۳٪ بود. مطالعات مختلف نشان داده است که استفاده از اسانس و عصاره گیاهان دارویی مانند عصاره حنا (Soltanian and Fereidouni, 2016)، زردچوبه (Abdel-Tawwab and Abbass, 2016) و اسانس مرزنجوش(Abdel-Latif *et al.*, 2020) سبب افزایش مقاومت و بقا ماهیان کپور در مواجهه با باکتری آئروموناس هیدروفیلا شده است. از مهمترین اثرات مصرف گیاهان دارویی (در اشکال مختلف خشک، عصاره و اسانس) در ماهیان، بهبود شاخص‌های ایمنی چون فعالیت لیزوزیم، تولید رادیکال آزاد اکسیژن، میزان گلبول‌های سفید و گلوبولین‌ها بوده‌است (Buflon, 2015). به نظر می‌رسد بهبود عملکرد ایمنی ماهیان کپور پس از دریافت اسانس اکالیپتوس و نیز خاصیت ضد میکروبی این اسانس (Park *et al.*,2016؛ رودبارکی و همکاران، ۱۳۹۷) سبب شده تا ماهیان دریافت کننده اسانس ماندگاری بیشتری در مقایسه با شاهد در مواجهه با باکتری آئروموناس هیدروفیلا داشته‌باشند. باتوجه به نتایج این بررسی به نظر می‌رسد اسانس اکالیپتوس در دوز ۰/۳ تا ۰/۶ میلی لیتر به ازاء هر کیلوگرم وزن ماهی با بهبود شاخص‌های رشد، ایمنی و افزایش مقاومت به عنوان یک مکمل خوراکی محرک رشد و ایمنی درماهیان کپور پرورشی می‌تواند مطرح شود. بنابراین مطالعات بعدی باید در جهت شناسایی مکانیسم عمل این عصاره و تاثیرات آن بر رشد و ایمنی و تولید فرم کپسوله آن جهت استفاده آسان در خوراک متمرکز گردد.

سپاسگزاری

در اینجا بر خود لازم می‌دانیم از زحمات تمام کسانی که ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند سپاسگزاری نماییم.

منابع

۱. رودبارکی، س.م.ص.، ارشاد، ه.، خارا ، ح.، معصوم زاده، م.، ۱۳۹۶. اثرات سمیت حاد (LC50) عصاره هیدروالکلی اکالیپتوس بر بافت کبد و بافت آبشش ماهی آمور(*Cetenopharyngodon idella*) و فعالیت ضد باکتریایی آن علیه *Aeromonas hydophila*. فیزیولوژی و بیوتکنولوژی آبزیان، ۵(۳)، ۷۳ -۵۹ .

۲. رودبارکی، س.م.ص.، ارشاد، ه.، خارا ، ح.، معصوم زاده، م.، ۱۳۹۷. تاثیر مقادیر مختلف عصاره هیدروالکلی اکالیپتوس بر فراسنجه‌های خونی ماهیان آمور (*Ctenopharyngodon idella*) آلوده شده به باکتری آئروموناس هیدروفیلا (*Aeromonas hydrophila*). مجله پژوهش‌های جانوری، ۳۱(۱)، ۹۲ – ۷۹.

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-01-30]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1401.16.2.10.4]
[DOI: 10.52547/aqudev.16.2.119]

۳. سالنامه آماری سازمان شیلات ایران ۱۳۹۹ - ۱۳۹۴، ۱۴۰۰، سازمان شیلات ایران.

۴. شیخ‌زاده، ن.، سلطانی، م.، ابراهیم زاده موسوی، ح.ع.، خسروی، ع. ر.، باقری، ه.، فتحی، ع.، زرگر، ا.، ۱۳۸۸. مطالعه اثر اسانس اکالیپتوس(*Eucalyptus globulus*) بر برخی فاکتورهای ایمنی ماهی کپور معمولی(*Cyprinus carpio*). مجله تحقیقات دامپزشکی، ۶۴(۱)، ۵۴ – ۴۷.

۵. صادقی، س.م.، سردابی، ح.، کازرونی، ح.، شریفی، م.، فرار، ن.، رشوند، س.، ۱۳۹۷، سازگاری و عملکرد گونه های صنعتی اکالیپتوس در استان بوشهر (دشتستان). فصلنامه علمی پژوهشی تحقیقات جنگل و صنوبر ایران، ۲۶(۲)، ۲۷۵-۲۶۴.

۶. عباسی قادیکلائی، ح.، کمالی، ا.، سلطانی، م.، شریفیان، م.، ۱۳۹۷، مطالعه مصرف کوتاه مدت پودر زنجبیل(*officinale Zingiber*) بر برخی شاخص‌های رشد ماهی کپور معمولی جوان در جیره تجاری. نشریه علمی توسعه آبزی پروری، ۱۲(۱)، ۵۴ – ۴۵.

۷. علیشاهی، م.، سلطانی، م.، مصباح، م.، اسمعیلی راد، ا.، ۱۳۹۰، تجویز عصاره خوراکی خار مریم (*Silybum marinum*) بر پاسخهای ایمنی ماهی کپور معمولی. مجله تحقیقات دامپزشکی، ۶۶(۳)، ۲۶۳ – ۲۵۵.

۸. قیاسی، م.، سلیمانی، ن.، شجاعی، ل.، بینایی، م.، ۱۳۹۹. ارزیابی تغییرات برخی شاخص‌های خونی، سرمی و ایمنی ماهیان کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) طی زمستان گذرانی. نشریه علمی توسعه آبزی پروری، ۱۴(۱)، ۹۱ – ۸۱.

9. Abdel-Latifa, H.M.R., Mohsen Abdel-Tawwab, M., Khafaga, A.F., Dawoodd, M.A.O., 2020. Dietary oregano essential oil improved the growth performance via enhancing the intestinal morphometry and hepato-renal functions of common carp (*Cyprinus carpio* L.) fingerlings. Aquaculture, 526, 735432.
10. Abdel-Tawwab, M., Abbass, F.E., 2016. Turmeric powder, *Curcuma longa* L., in common carp, *Cyprinus carpio* L., diets: growth performance, innate immunity, and challenge against pathogenic *Aeromonas hydrophila* infection. Journal of the World Aquaculture Society, 48(2), 303-312.
11. Adel, A., Khara, H., 2016. The effects of different dietary vitamin C and iron levels on the growth, hematological and immunological parameters of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* fingerlings, Iranian Journal of Fisheries Sciences, 15(2), 886-897.
12. Adel, M., Pourgholam, R., Zorriehzahra, J., Ghiasi, M., 2016. Hemato e 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.
13. Amhamed, I.D., Mohamed, G. A., Almabrok, A. A., Altıef, T. A. S., Bilen, S., 2018, Efficacy of dietary *Chenopodium album* extract on some health parameters, digestive enzymes and growth performance in juvenile *Cyprinus carpio*, Alinteri Journal of Agriculture Sciences, 33(2), 165-176.
14. Bahrami Babahydari, S., Dorafshan, S., Paykan Heyrati, F., Mahboobi Soofiani, N., Vahabi, M. R., 2014, the physiological changes, growth performance and whole-body composition of common carp, *Cyprinus carpio* fed on diet containing wood betony, *Stachys lavandulifolia* extract, Journal of Agricultural Science and Technology, 16, 1565-1574.
15. Barbosa, L.C.A., Filomeno, C.A., Teixeira, R.R., 2016. Chemical variability and

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-01-30]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1401.16.2.10.4]
[DOI: 10.52547/aqudev.16.2.119]

biological activities of *Eucalyptus spp*. essential oils. Molecules, 21(12),1671.
16. Binaii, M., Ghiasi, M., Farabi, S. M. V., Pourgholam, R., Fazli, H., Safari, R., Alavi, SE., Taghavi, MJ., Bankehsaz, Z., 2014. Biochemical and hemato-immunological parameters in juvenile beluga (*Huso huso)* following the diet supplemented with nettle (*Urtica dioica*). Fish and Sellfish Immunology, 36, 46-51.
17. Biswas, G., Korenaga, H., Nagamine, R., Kawahara, S., Takeda, S., Kikuchi, Y. and Sakai, M., 2013. Cytokine mediated immune responses in the Japanese pufferfish (*Takifugu rubripes*) administered with heat-killed *Lactobacillus paracasei* spp. *paracasei* (06TCa22) isolated from the Mongolian dairy product. International Immunopharmacology, 17, 358-365.
18. 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
19. Cabello, F.C., Godfrey, H.P., Buschmann, A.H., Dölz, H.J., 2016. Aquaculture as yet another environmental gateway to the development and globalisation of antimicrobial resistance. The Lancet Infectious Diseases, 16, 127-133.
20. Cho, K. H., 2012. 1, 8-cineole protected human lipoproteins from modification by oxidation and glycation and exhibited serum lipid-lowering and anti-inflammatory activity in zebra fish. BMB R eports, 45, 565– 750.
21. Ciftci, O., Ozdemir, I., Tanyildizi, S., Yildiz, S., & Oguzturk, H., 2011. Antioxidative effects of curcumin, β-myrcene and 1, 8-cineole against 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin-induced oxidative stress in rats liver. Toxicology and Industrial Health, 27, 447–453.
22. Ellis, A. E., 1990. In: Stolen JS, Fletcher TC, Anderson DP, Robertson BS, Van Muisvinkel WR (eds) Lysozyme assay in techniques in fish immunology. Fair Haven, USA.
23. Elumalai, P., Kurian, A., Lakshmi, S., Faggio, C., Estebanc, M. A., Ringød, E., 2020. Herbal immunomodulators in aquaculture. Reviews in Fisheries Science & Aquaculture. 33-57.
24. Erguig, M., Yahyaoui, A., Fekhaoui, M., Dakki, M., 2015. The use of garlic in aquaculture. European Journal of Biotechnology and Bioscience, 8, 28-33.
25. FAO. 2020. The State of World Fisheries and Aquaculture 2020. Sustainability in action. Rome.
26. Feng, J., Cai., Z., Zhang, X., Chen, Y., Chang, X., Wang, X., Qin, C., Yan, X., Ma, X., Zhang, J., Nie, G., 2020. The effects of oral *Rehmannia glutinosa* polysaccharide administration on immune responses, antioxidant activity and resistance against *Aeromonas hydrophila* in the common carp, *Cyprinus carpio* L. Front in Immunology. 1-12.
27. Ghiasi, M., Binaii, M., Naghavi, A., Khoshbavar Rostami, H., Nori, H., Amerizadeh, A., 2018. 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.
28. Gholipourkanani, H., Jamali, F., Jafaryan, H., Gholamalipour Alamdari, E., 2017, Dietary effect of *Lippia citrodora* essential oil on some hematological, biochemical, growth performance and body composition of *Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758. Iranian Journal of Aquatic Animal Health, 3(1), 1-15.
29. Giria, S.S., Sukumaran, V., Park, S.C., 2019. Effects of bioactive substance from turmeric on growth, skin mucosal immunity and antioxidant factors in common carp, *Cyprinus carpio*. Fish and Shellfish Immunology, 92, 612–620.
30. Harikrishnan, R., Balasundaram, C., Heo, M.S., 2011. Impact of plant products on innate and adaptive immune system of cultured finfish and shellfish. Aquaculture, 317(1-4). 1-15.
31. Hayat, U., Jilani, M.I., Rehman, R., Nadeem, F., 2015. A review on *Eucalyptus globulus*: a new perspective in therapeutics. International Journal of Chemical and Biochemical Sciences, 8, 85-9.

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-01-30]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1401.16.2.10.4]
[DOI: 10.52547/aqudev.16.2.119]

multipurpose tree. International Journal of Research Ayurveda and Pharmacy, 2 (5), 1527-1530.
40. Lee, R.G., Foerster, J., Jukens, J., Paraskevas, F., Greer, J.P., Rodgers, G.M., 1998. Wintrobe's clinical hematology. 10th ed. New York: Lippincott, Williams and Wilkins;. p. 1484.
41. Mohiseni, M., Sadeghian, M., Nematdust Haghi, B., Bagheri, D., 2019, Effects of dietary Shirazi thyme (*Zataria multiflora* Boiss) and vitamin E on growth and biochemical parameters in common carp (*Cyprinus carpio*). Iranian Journal of Fisheries Sciences, 18(3), 517-530.
42. Park, J.W., Wendt, M., Heo, G.J., 2016. Antimicrobial activity of essential oil of Eucalyptus *globulus* against fish pathogenic bacteria. Laboratory Animal Research, 32(2), 87-90.
43. Parvaaz, Q. U., Asimi, O. A., Kumar, A., Ahmed Shah, F., Ahmed Khan, I., Bhat, B. A., 2020. Use of medicinal plants as growth and antioxidant agent in the diet of common carp (*Cyprinus carpio* Var. communis) fingerlings. Livestock Research International, 8 (2), 34-41.
44. Saurabh, S., Sahoo, P. K., 2008. Lysozyme: an important defence molecule of fish innate immune system. Aquaculture Research, 39, 223-239.
45. Serafino, A., Sinibaldi Vallebona, P., Andreola, F., Zonfrillo, M., Mercuri, L., Federici, M., Rasi, G., Garaci, E., Pierimarchi, P., 2008. Stimulatory effect of Eucalyptus essential oil on innate cell-mediated immune response. BMC Immunology, 9, 17.
46. 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.
47. Sheikhzadeh, N., Soltani, M., Ebrahimzadeh-Mousavi, H. A., Shahbazian, N. Norouzi, M., 2011. Effects of *Zataria multiflora* and *Eucalyptus globolus* essential oils on haematological parameters and respiratory burst activity in *Cyprinus carpio*. Iranian Journal of Fisheries Sciences, 10(2), 316-323.
32. Hordvik, I., 2015, Immunoglobulin Isotypes in Atlantic Salmon, *Salmo Salar*. Biomolecules, 5, 166-177.
33. Hoseini, S. M., Hedayati, A., Mirghaed, A. T., Ghelichpour, M., 2016. Toxic effects of copper sulfate and copper nanoparticles on minerals, enzymes, thyroid hormones and protein fractions of plasma and histopathology in common carp *Cyprinus carpio*. Experimental and Toxicologic Pathology, 68, 493–503.
34. Hoseini, S.M., Hoseinifar, S. H., Van Doan, H., 2018. Effect of dietary eucalyptol on stress markers, enzyme activities and immune indicators in serum and haematological characteristics of common carp (*Cyprinus carpio*) exposed to toxic concentration of ambient copper. Aquaculture Research, 49(9), 3045-3054.
35. Karimi Pashaki, A., Zorriehzahra, S.M.J., Ghasemi, M, Sharif Rohani, M., Hosseini, S. M., 2018. Effects of dietary Garlic extract on some blood, immunity and growth parameters of Common Carp fingerlings (*Cyprinus carpio*). Iranian Journal of Aquatic Animal Health, 4(2), 28-39.
36. Kassahun, A., Feleke, G., 2019. Chemical composition and physico-chemical analysis of *Eucalyptus globulus* leave and oil. Science Journal of Chemistry, 7(2), 36-38.
37. Khanal, M., Lamichhane, S., Bhattarai, A., Kayastha, B.L., Labh, S. N., 2021. Extract of aloe vera (*Aloe barbadensis* Miller) enhances the growth, protein contents, and gastrosomatic index (GaSI) of common carp *Cyprinus carpio*. Journal of Nutrition and Metabolism, 1-14.
38. Khosravi, A.R., Shokri, H., Sharifrohani, M., Ebrahimzadeh-Mousavi, H.E., Mousavi, Z., 2012. Evaluation of the antifungal activity of *Zataria multiflora, Geranium herbarium*, and *Eucalyptus camaldolensis* essential oils on *Saprolegnia parasitica*– infected rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) eggs. Foodborne Pathogens and Disease, 7, 674-679.
39. Kumar, H.D., Laxmihar, S., 2011. A review on phytochemical and pharmacological of *Eucaliptus globus*: a

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-01-30]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1401.16.2.10.4]
[DOI: 10.52547/aqudev.16.2.119]

48. Sneeringer, S., Bowman, M., Clancy, M., 2019. The US and EU animal pharmaceutical industries in the age of antibiotic resistance; USDA Economic Research Service Report Number 264; USDA: Washington, DC, USA.
49. 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.
50. Stratev, D., Zhelyazkov, G., Noundou, X. S., Krause, R. W. M., 2018. Beneficial effects of medicinal plants in fish diseases. Aquaculture International, 26, 289–308.
51. Syahidah, A., Saad, C.R., Daud, H.M., Abdelhadi, Y.M., 2015. Status and potential of herbal applications in aquaculture: A review. Iranian Journal of Fisheries Sciences, 14, 27-44.
52. Tacon, A.G., 1990. Standard methods for the nutrition and feeding of farmed fish and shrimp. Feeding Methods. Agent Laboratories Press, Redmond, Taoka, 131–138.
53. Zar, J.H., 1994. Biostatistical analysis. New Jersey: Prentice-Hall; p. 662.

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-01-30]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1401.16.2.10.4]
[DOI: 10.52547/aqudev.16.2.119]