

اثر عصاره دارویش و سیاه دانه بر بقاء فاکتورهای رشد و مقاومت در برابر عفونت با آثروموناس هیدروفیلاد در ماهی طلایی

مجتبی علیشاهی* مهرزاد مصباح

گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز-ایران.

(دریافت مقاله: ۲۴ بهمن ماه ۱۳۹۰، پذیرش نهایی: ۳ خرداد ماه ۱۳۹۱)

چکیده

زمینه مطالعه: اخیراً، استفاده از محرک‌های ایمنی و رشد با منشأ گیاهی در آبی پروری در سرتاسر جهان رواج یافته است. هدف: این مطالعه به منظور بررسی اثر تجویز خوراکی عصاره‌های دو گیاه دارویش (*Viscum album*) و سیاه‌دانه (*Nigella sativa*) بر میزان بازماندگی، فاکتورهای رشد و مقاومت در برابر عفونت با آثروموناس هیدروفیلاد در ماهی طلایی (*Carassius auratus*) انجام شد. روش کار: ۲۷۰ قطعه ماهی طلایی به دو گروه ایمن و غیرایمن و هر گروه به سه تیمار دارویش، سیاه‌دانه و کنترل (در سه تکرار) تقسیم شدند. ماهی‌های هر تیمار به مدت ۴۹ روز با خوراک حاوی ۰/۵٪ عصاره تغذیه شد، گروه کنترل با خوراک فاقد عصاره تغذیه گردید. در انتهای دوره، میزان بازماندگی، فاکتورهای رشد و مقاومت در برابر عفونت با باکتری آثروموناس هیدروفیلاد بین تیمارها مقایسه شد. نتایج: درصد تلفات ماهی‌ها در گروه‌های مختلف ۱۲ تا ۹۳٪ بود و تجویز این دو عصاره تأثیری در میزان بازماندگی تیمارها نداشت (۰/۰۵ > p). ضریب تبدیل غذایی و درصد افزایش وزن در تیمار دارویش به ترتیب ۲/۵۶±۰/۳۱ و ۱۳۱/۶±۲۵/۰۵٪ و در تیمار کنترل به ترتیب ۳/۱۲±۰/۳۷ و ۷۳/۲±۴/۵۳٪ بود که در تیمار دارویش افزایش معنی‌داری نشان داد (۰/۰۵ < p)، ولی در تیمار سیاه‌دانه فاکتورهای رشد تغییر معنی‌داری نسبت به تیمار کنترل نداشتند (۰/۱۵ > p). تلفات بعد از چالش باکتریایی نیز در تیمارهای تغذیه شده با دارویش کاهش معنی‌داری نشان داد (۰/۰۵ < p)، به طوری که تلفات در تیمار ایمن و غیرایمن تغذیه شده با دارویش به ترتیب ۴۰ و ۸۰٪ بود، در صورتی که در تیمارهای کنترل به ترتیب ۶۳/۳ و ۱۰۰٪ بود. سیاه‌دانه تأثیری در تلفات بعد از چالش ایجاد نمود (۰/۴۵ > p). نتیجه‌گیری نهایی: مصرف خوراکی عصاره دارویش در ماهی طلایی اثرات تحریک‌ایمنی و رشد مشابه آنچه در حیوانات خونگرم گزارش شده دارد ولی سیاه‌دانه فاقد چنین اثراتی است.

واژه‌های کلیدی: عصاره گیاه دارویش، سیاه‌دانه، ماهی طلایی، فاکتورهای رشد، آثروموناس هیدروفیلاد.

تحریک سیستم ایمنی به آن نسبت داده می‌شود (۶، ۲۱، ۲۲). نقش عصاره این گیاه در بهبود وضعیت ایمنی اختصاصی و غیر اختصاصی حیوانات خونگرم به کرات گزارش شده است (۱۳). همچنین Choi و همکاران در سال ۲۰۰۸ با استفاده از عصاره گونه کره‌ای گیاه دارویش بصورت خوراکی در مار ماهی افزایش مقاومت ماهی در برابر عفونت‌های باکتریایی را گزارش نمودند (۶).

گیاه سیاه‌دانه *Nigella sativa* یک گیاه دولپه‌ای از خانواده Ranunculaceae است که بصورت خودرو در نقاط مختلف کشور وجود دارد (۲۲) و اثرات ضد باکتریایی (۱۴)، ضد ویروسی (۱)، آنتی‌اکسیدان و تحریک‌ایمنی در حیوانات خونگرم (۸) به آن نسبت داده شده است. بیشتر مطالعات روی اثرات دارویی عصاره این گیاه مربوط به افزایش مقاومت در برابر بیماری‌ها و تحریک ایمنی آن می‌باشد (۷، ۱۸، ۱۹).

ماهی طلایی *Carassius auratus* از خانواده Cyprinidae بوده و از متنوع‌ترین و پرطرفدارترین ماهیان زینتی به شمار می‌آید (۱۶) که به علت تحمل بالا نسبت به شرایط محیطی سخت و سازگاری بالا مورد توجه محققین بوده است. بر اساس مطالعات انجام شده، دو گیاه سیاه‌دانه و دارویش بصورت خودرو در نقاط مختلف کشور می‌رویند (۲۲)، لذا با توجه به اثرات تحریک‌ایمنی ثابت شده این دو گیاه در حیوانات خونگرم و

مقدمه

ویژگی‌های خاص سیستم ایمنی ماهی باعث شده است که استفاده از محرک‌های ایمنی اهمیت بیشتری نسبت به حیوانات خونگرم داشته باشد (۱۵). به همین دلیل در سال‌های اخیر استفاده از این مواد در بهداشت آب‌زیان جایگاه ویژه‌ای یافته است. از طرفی تمایل شدید به حذف آنتی‌بیوتیک‌ها در آبی پروری بعلت هزینه بالا، ایجاد مقاومت‌های دارویی، مشکلات زیست محیطی، پایین آوردن کیفیت گوشت و مشکلات اجرایی تجویز، باعث شده است توجه به محرک‌های ایمنی بعنوان جایگزینی برای آنتی‌بیوتیک درمانی، بیشتر مورد توجه واقع گردد (۱۱، ۱۵).

در چند دهه اخیر استفاده از گیاهان دارویی با توجه به مزیت‌های متعدد، از جمله خطرات زیست محیطی حداقل، عدم ایجاد مقاومت دارویی، ارزان، پایدار و دسترسی بودن، توجهات زیادی را در سطح جهان به خود جلب نموده است. از این رو در بین محرک‌های ایمنی متعدد، محرک‌های ایمنی با منشأ گیاهی دارای ارجحیت می‌باشند (۵، ۱۵). گیاه دارویش یک گیاه جنگلی نیمه انگل است که در اکثر مناطق جنگلی کشور یافت می‌شود و خواص متعدد دارویی از جمله خواص



آئروموناتس هیدرو فیلا به میزان دو برابر دوز ایجاد کننده ۵۰٪ تلفات به روش تزریق داخل صفاقی، تزریق گردیدند. تعداد تلفات روزانه به مدت ده روز ثبت و در انتها تلفات تجمعی هر تیمار مشخص و مقایسه گردید.

آنالیز آماری: تفاوت میانگین‌ها با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یکطرفه "One-way ANOVA" و تست تکمیلی Duncan توسط نرم افزار SPSS و پیرایش ۱۶ بررسی گردید.

نتایج

نتایج تحقیق در جدول ۱ و نمودارهای ۱ و ۲ آورده شده است. درصد تلفات طول دوره در تیمارهای مختلف تحت تاثیر تجویز عصاره‌ها قرار نگرفت، ولی نرخ رشد ویژه (SGR) و درصد افزایش وزن در تیمارهای تغذیه شده با دارو (ایمن و غیر ایمن) نسبت به تیمارهای شاهد افزایش معنی داری را نشان داد ($p < 0/05$). البته سیاه دانه در هر دو تیمار ایمن و غیر ایمن تاثیر معنی داری روی درصد افزایش وزن نداشت (جدول ۱). تجویز هر دو عصاره باعث کاهش ضریب تبدیل غذایی (FCR) در تیمارهای ایمن گردید، ولی در تیمارهای غیر ایمن فقط دارو باعث کاهش معنی دار ضریب تبدیل غذایی را باعث شد ($p < 0/05$).

ضمناً عصاره سیاه دانه تاثیری در درصد تلفات بعد از چالش با باکتری زنده آئروموناتس هیدرو فیلا در تیمار ایمن و غیر ایمن نداشت ($p > 0/05$) هر چند تلفات در تیمارهای ایمن بطور معنی داری نسبت به تیمارهای غیر ایمن کاهش یافته بود (نمودار ۱). تجویز خوراکی عصاره دارو باعث افزایش مقاومت در برابر عفونت آئروموناتس را در هر دو تیمار ایمن و غیر ایمن باعث شد ($p < 0/05$) که کاهش درصد تلفات در تیمارهای تغذیه شده با دارو نسبت به گروه‌های کنترل موید این واقعیت است (نمودار ۱).

بحث

در این تحقیق نیز تجویز خوراکی عصاره گیاه دارو باعث بهبود برخی فاکتورهای رشد و مقاومت در برابر عفونت آئروموناتس گردید ($p < 0/05$). هر چند این عصاره بر میزان تلفات طول دوره تحقیق تاثیر معنی داری نداشت و میزان تلفات طول دوره در تیمارها بین ۹/۳۳ تا ۱۲٪ بود ($p > 0/05$). عصاره سیاه دانه نیز در بین فاکتورهای مورد بررسی فقط در کاهش ضریب تبدیل غذایی نقش داشت.

تاثیر محرک‌های ایمنی در بهبود فاکتورهای رشد ماهی به کرات گزارش گردیده است (۱۵). مثلاً بتا گلوکان و LPS باکتری (۱۷)، کیتوزان (۹) لوامیزول (۴) و آرگوسان (۱۱) علاوه بر تحریک ایمنی، بهبود فاکتورهای رشدی ماهی را نیز باعث شده اند. اصولاً بهبود وضعیت ایمنی ماهی، به طرق مختلف در بهبود فاکتورهای رشد موثر است (۱۵). در این تحقیق نیز عصاره خوراکی دارو باعث تحریک فاکتورهای رشد (نرخ رشد ویژه، درصد افزایش وزن و ضریب تبدیل غذایی) را باعث شد. که احتمالاً تحت اثر بهبود وضعیت ایمنی ماهی بوده است. Choi و همکاران در سال ۲۰۰۸ در

اطلاعات بسیار محدود در مورد اثرات این دو گیاه در حیوانات خونسرد بویژه آبزیان (۶)، در این تحقیق، اثرات این دو گیاه بر تحریک ایمنی و بهبود فاکتورهای رشد و مقاومت در برابر عفونت با باکتری آئروموناتس هیدرو فیلا در ماهی طلایی (بعنوان ماهی مدل) مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش کار

تعداد ۲۷۰ قطعه ماهی طلایی با وزن متوسط $11g \pm 0/9$ پرورش یافته در مرکز تحقیقات ماهیان آکواریومی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز استفاده گردید. تعداد ۱۸ آکواریوم ۶۰L برای انجام طرح در نظر گرفته شد. بعد از ضد عفونی و آماده سازی آکواریوم‌ها، آبگیری آنها صورت گرفت.

برای تهیه عصاره از گیاهان مورد بررسی از روش پرکولاسیون استفاده گردید. دارو از جنگل‌های غرب استان مازندران و سیاه دانه از استان خوزستان تهیه گردید. ابتدا گیاهان در تاریکی خشک شده و آسیاب گردیدند. محصول با الکل مخلوط و بوسیله دستگاه تقطیر عصاره گیری انجام شد. الکل عصاره تبخیر گردیده و عصاره غلیظ شده برای تحقیق استفاده گردید. خوراک ماهی طلایی با آب مخلوط شده و بصورت خمیر درآمد. میزان ۵g از ماده‌ی خشک عصاره به یک کیلوگرم خوراک بصورت همگن اضافه گردید. با چرخ گوشت خوراک سازی خوراک بصورت رشته‌های با سایز مناسب درآمده و بعد از آبگیری در کیسه‌های نایلونی بسته بندی و در یخچال $4^{\circ}C$ تا زمان استفاده نگهداری گردید.

ماهی‌ها بصورت کاملاً تصادفی بصورت زیر بین ۱۸ آکواریوم ۶۰L تقسیم گردیدند. به هر آکواریوم ۱۵ قطعه ماهی معرفی گردید. تیمارها شامل شش تیمار (هر تیمار در سه تکرار) به ترتیب زیر بود: ۱- تیمار دارو، ایمن، ۲- دارو، غیر ایمن، ۳- سیاه دانه، ایمن، ۴- سیاه دانه، غیر ایمن، ۵- شاهد ایمن و ۶- شاهد غیر ایمن.

کلیه تیمارها با خوراک‌های مخصوص هر گروه به مدت ۷ هفته تغذیه گردیدند.

باکتری آئروموناتس هیدرو فیلا غیر فعال شده با فرمالین به میزان ۵۰μL برای ایمن سازی گروه ایمن استفاده گردید. ایمن سازی در روز صفر و ۱۴ و به روش تزریق داخل صفاقی انجام شد.

وزن ماهی‌ها در هر تیمار در ابتدای تحقیق اندازه گیری شد. بعد از تغذیه تیمارها با خوراک‌های مشخص شده به مدت ۴۰ روز، تعداد تلفات ماهی در طول تحقیق، وزن نهایی ماهی‌ها و میزان خوراک مصرفی نیز ثبت گردید.

شاخص‌های رشد شامل ضریب تبدیل غذایی، درصد افزایش وزن، ضریب تبدیل غذایی و نرخ رشد ویژه (SGR) از فرمول‌های استاندارد منابع تعیین شاخص‌های رشد اندازه گیری گردید.

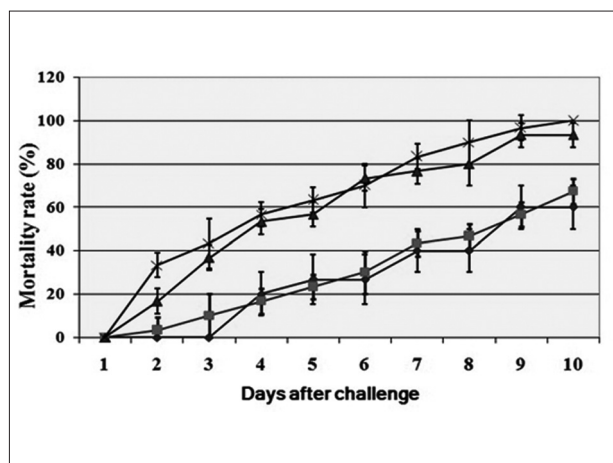
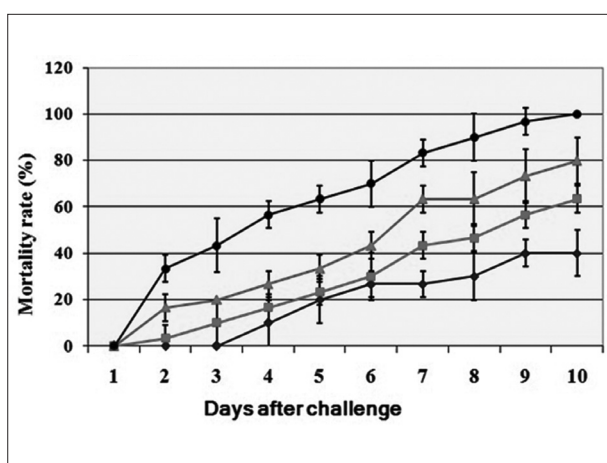
درصد بازماندگی یا میزان بقاء نیز بین تیمارها مقایسه گردید.

بعد از پایان دوره ماهی‌های باقیمانده در هر تیمار با باکتری زنده



جدول ۱- مقایسه تلفات طول دوره و اندیس‌های رشد (ضریب تبدیل غذایی، ضریب رشد ویژه، ضریب تبدیل غذایی و درصد افزایش وزن) در طول دوره پرورش در ۶ تیمار مورد بررسی (اعداد بصورت Mean±SD آورده شده است). حروف لاتین غیر همنام نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح ۰/۰۵ در هر ستون است. * تیمارهای ایمن شده با باکتری آتروموناس هیدروفیلای غیر فعال شده با فرمالین.

تیمار	گروه	تلفات طول دوره (%)	SGR(g)	FCR	درصد افزایش وزن (%)
دارویش		۹/۳۳±۲/۳۱ ^a	۰/۵۶±۰/۰۷ ^a	۲/۱۶±۰/۳۶ ^c	۱۴۲/۶±۱۷/۵۰ ^a
سیاه دانه	ایمن*	۱۰/۶۷±۶/۱۱ ^a	۰/۴۶±۰/۰۸ ^{ab}	۲/۱۴±۰/۲۰ ^c	۸۲/۸±۱۶/۱۶ ^b
کنترل		۱۰/۶۷±۴/۶۲ ^a	۰/۳۹±۰/۰۱ ^b	۲/۶۶±۰/۲۴ ^b	۶۹/۶±۲۳/۹۴ ^b
دارویش		۱۲±۴/۳۱ ^a	۰/۵۷±۰/۰۸ ^a	۲/۵۶±۰/۳۱ ^b	۱۳۱/۶±۲۵/۰۵ ^a
سیاه دانه	غیر ایمن	۹/۳۳±۶/۳۳ ^a	۰/۴۶±۰/۰۹ ^{ab}	۳/۱۶±۰/۲۹ ^a	۱۱۲/۸±۲۶/۸۸ ^{ab}
کنترل		۱۲±۴/۱۱ ^a	۰/۳۷±۰/۰۸ ^b	۳/۱۲±۰/۳۷ ^a	۷۳/۲±۴/۵۳ ^b



نمودار ۲- مقایسه تلفات تجمعی بعد از چالش با باکتری آتروموناس هیدروفلا در تیمارهای ایمن و غیر ایمن تغذیه شده با عصاره سیاه دانه در مقایسه با گروه کنترل (Mean±SD).
 ● Immunized+V.album ▲ Immunized Control
 ■ Non-Immunized+V.album ● Control

نمودار ۱- مقایسه تلفات تجمعی بعد از چالش با باکتری آتروموناس هیدروفلا در تیمارهای ایمن و غیر ایمن تغذیه شده با عصاره سیاه دانه در مقایسه با گروه کنترل (Mean±SD).
 ● Immunized ▲ Non-Immunized+N.sativa
 ■ Immunized Control × Control

باکتری آتروموناس هیدروفیلا است. با توجه به نمودار ۲، کارایی واکسن بکاررفته (تیمار ایمن بدون عصاره) کمتر از ۴۰٪ و با افزودن عصاره دارویش حدود ۶۰٪ می باشد. Ghanavati در سال ۲۰۱۰ نیز اثرات مشابهی را از این عصاره در کپور معمولی گزارش نمود. تفاوت تلفات تیمارهای ایمن و غیر ایمن در این نمودار نیز به حضور آنتی بادی اختصاصی ضد آتروموناس هیدروفیلا در سرم ماهی‌های ایمن مربوط می باشد.

تطابق تقریبی نتایج بررسی فاکتورهای رشد و میزان مقاومت در برابر عفونت باکتریایی در بین تیمارها، تایید کننده این فرضیه است که تقویت ایمنی ماهی ارتباط مستقیمی با رشد ماهی دارد. تحقیقات مشابه روی محرک‌های ایمنی ماهی نیز چنین فرضیه‌ای را تایید می نماید (۹، ۱۷). با وجود گزارشات متعدد تحریک ایمنی عصاره گیاه سیاه دانه در حیوانات خونگرم (۷، ۱۴، ۱۸)، در این تحقیق عصاره این گیاه تغییری در بازماندگی، مقاومت ماهی طلایی در برابر عفونت باکتریایی (در تیمار ایمن و غیر ایمن) و فاکتورهای رشد ماهی طلایی ایجاد ننمود (p=۰/۴۵)، البته بهبود

مار ماهی و Ghanavati در سال ۲۰۱۰ در ماهی کپور نیز تحریک ایمنی بدنبال تجویز این عصاره را گزارش نمودند (۶). میزان تلفات بعد از چالش با باکتری زنده آتروموناس هیدروفیلا در تیمارهای ایمن و غیر ایمن تغذیه شده با عصاره دارویش کاهش معنی داری نسبت به تیمارهای شاهد نشان داد (p<۰/۰۵). Gopalakannan و همکاران در سال ۲۰۰۶ نیز افزایش مقاومت در برابر عفونت آتروموناسی بدنبال تجویز کیتین و کیتوزان (محرک‌های ایمنی) در کپور معمولی را گزارش نمودند (۹). گزارشات مشابهی از اثر آلوئه ورا (۲) و دارویش (۳) و سایر عصاره‌های گیاهی (۱۰، ۱۲، ۲۰) در افزایش مقاومت ماهی کپور معمولی در برابر عفونت با باکتری آتروموناس هیدروفیلا وجود دارد. کاهش تلفات در تیمارهای غیر ایمن تغذیه شده با عصاره دارویش نسبت به گروه کنترل نشان دهنده تحریک ایمنی غیر اختصاصی در این ماهی است. در صورتی که کاهش معنی دار درصد تلفات در تیمار ایمن تغذیه شده با دارویش نسبت به تیمار شاهد نشان دهنده اثرات ادجوانی این عصاره و افزایش کارایی واکسن ضد



References

1. Abuharfeil, N.M., Salim, M., Von Kleist, S. (2001) Augmentation of natural killer cell activity *in vivo* against tumour cells by some wild plants from Jordan. *Phytother Res.* 15:109-13.
2. Alishahi, M., Ranjbar, M.M., Ghorbanpour, M., Peyghan, R., Mesbah, M., Razi jalali, M. (2010) Effects of dietary Aloe vera on specific and nonspecific immunity of Common carp (*Cyprinus carpio*), *J. Vet. Res.* 4: 85-91.
3. Alishahi, M., Soltani, M., Mesbah, M., Esmaili, M.A. (2011) Effects of dietary Silybum marianum extraction immune parameters of the common carp, *J. Vet. Res.* 65:255-263.
4. Alvarez-pellitero, P., Stija-Bobadilla, A., Bermuolez, R., Quiroga, M.I. (2006) Levamisole activates several innate immune factors in *Scophthalmus maximus* (1) (Teleostei) *Int. J. Immunopathol. Pharmacol.* 19: 727-738.
5. Chen, X., Wu, Z., Yin, J. (2003) Effects of four species of herbs on immune function of *Carassius auratus gibelio*. *J. Fish Sci. China.* 10:36-40.
6. Choi, S.H., Park, K.H., Yoon, T.J., Kim, J.B., Jang, Y.S. (2008) Dietary Korean mistletoe enhances cellular non-specific immune responses and survival of Japanese eel (*Anguilla japonica*), *Fish Shellfish Immunol.* 24: 67-73.
7. Daoud, A.K. (2006) Effects of oral ingestion of *Nigella sativa* seeds (*Black Cumin*) on murine immune system. *J. Allergy. clin. Immunol.* 115: 886-888.
8. Fararh, K.M., Atoji, Y., Shimizu, Y., Shiina, T., Nikami, H., Takewaki, T. (2004) Mechanisms of the hypoglycaemic and immunopotentiating effects of *Nigella sativa* L. oil in streptozotocin-induced diabetic hamsters. *Res. Vet. Sci.* 77:123-9.
9. Gopalakannan, A., Arul, V. (2006) Immunomodulatory effects of dietary intake of chitin, chitosan and levamisole on the immune system of *Cyprinus carpio* and control of *Aeromonas hydrophila* infection in ponds. *Aquaculture.* 255: 179-187.
10. Harikrishnan, R., Nisha, M.R., Balasundaram. C., ضریب تبدیل غذایی در تیمار ایمن تغذیه شده با سیاه دانه نسبت به تیمار کنترل مشاهده گردید ($p < 0.05$). به نظر می رسد استفاده از محصولات دیگر دارویی این گیاه (عصاره آبی، اسانس و ...) و نیز تغییر میزان مصرف و دوره ی زمانی استفاده، می تواند نتایج بهتری را بدنبال داشته باشد. همچنین تفاوت تاثیر عصاره این گیاه در ماهی طلایی و حیوانات خونگرم را می توان به تفاوت های سیستم ایمنی ماهی با حیوانات خونگرم نسبت داد. Alishahi و همکاران در سال ۲۰۱۱ تجویز عصاره خوراکی گیاه خار مریم (۳) و Ghanavati در سال ۲۰۱۰ نیز تجویز عصاره سیاه دانه در ماهی کپور را فاقد اثری در افزایش مقاومت در برابر عفونت آئروموناسی دانستند. که با یافته های این تحقیق تطابق دارد.

به طور کلی می توان نتیجه گرفت که عصاره دارویش نه تنها به عنوان محرک ایمنی بلکه به عنوان محرک رشد در ماهی طلایی نقش داشته و کارایی واکسن آئروموناس را نیز در این ماهی بهبود می بخشد. اما عصاره سیاه دانه فاقد چنین اثراتی می باشد.

تشکر و قدردانی

این تحقیق با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز انجام گرفت.

- (2003) Hematological and biochemical parameters in common carp, *Cyprinus carpio*, following herbal treatment for *Aeromonas hydrophila* infection. *Aquaculture.* 221: 41-50.
11. Heidarieh, M., Afsharnasab, M., Soltani, M., Dashtyannasab, A., Rajabifar, S., Sheikhzadeh, N. (2010) Effects of ergosan and vibromax to prevent vibriosis and WSSV in *Litopenaeus vannamei*. *J. Fisher. Aqua. Sci.* 5:120-125.
12. Jian, J., Wu, Z. (2003) Effects of traditional Chinese medicine on nonspecific immunity and disease resistance of large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea* (Richardson). *Aquaculture.* 218: 1-9.
13. Lyu, S. Y., Park, S.M., Choung, B.Y., Park, W.B. (2000) Comparative study of Korean (*Viscum album var. coloratum*) and European mistletoe (*Viscum*



- album*). Arch. Pharm. Res. 23:592-598.
14. Morsi, N.M. (2000) Antimicrobial effect of crude extracts of *Nigella sativa* on multiple antibiotics-resistant bacteria. Acta. Microbiol. Polonica. 49: 63-74.
 15. Raa, J. (1996) The use of immuno-stimulatory substances in fish and shellfish farming. Rev. Fish. Sci. 4: 229-288.
 16. Sattari, M. (2007) Systematic Ichthyology, Haghshenas publication. Tehran, Iran.
 17. Selvaraj, V., Sampath, K., Vaithilingam, S. (2006) Adjuvant and immunostimulatory effects of b-glucan administration in combination with lipopolysaccharide enhances survival and some immune parameters in carp challenged with *Aeromonas hydrophila*. Vet. Immunol. Immunopathol. 114: 15-24.
 18. Swamy, S.M., Tan, B.K. (2000) Cytotoxic and immunopotentiating effects of ethanolic extract of *Nigella sativa* L. seeds. J. Ethnopharmacol. 70:1-7.
 19. Wu, D., Meydani, M., Leka, L.S., Nightingale, Z., Handelman, G.J., Blumberg, J.B. (2005) Effect of dietary supplementation with black currant seed oil on the immune response of healthy elderly subjects. Am. J. Clin. Nutr. 70:536-43.
 20. Yin, G., Ardo, L., Thompson, K.D., Adams, A., Jeney, Z., Jeney, G. (2009) Chinese herba (*Astragalus radix* and *Ganoderma lucidum*) enhance immune response of carp, *Cyprinus carpio*, and protection against *Aeromonas hydrophila*. Fish Shellfish Immunol. 26: 140-145.
 21. Yoon, T.J., Yoo, Y.C., Kang, T.B., Her, E., Kim, K., Azuma, I. (2001) Cellular and humoral adjuvant activity of lectins isolated from Korean mistletoe (*Viscum album coloratum*). Int. Immunopharmacol. 1:881-889.
 22. Zargari, A. (2006) Medicinal Plants. (6th ed.). Tehran University publication. Tehran, Iran.



Effects of *Viscum album* and *Nigella sativa* extracts on survival rate, growth factors and resistance to *Aeromonas hydrophila* infection in gold fish (*Carassius auratus*)

Alishahi, M.* , Mesbah, M.

Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University, Ahvaz-Iran.

(Received 12 February 2012 , Accepted 22 May 2012)

Abstract:

BACKGROUND: Recently several types of herbal immune and growth stimulants have been used in aquaculture throughout the world. **OBJECTIVES:** This study was performed to evaluate the effects of oral administration of *Viscum album* and *Nigella sativa* extracts, on survival rate, growth factors and resistance against *Aeromonas hydrophila* infection in gold fish. **METHODS:** 270 gold fishes were divided into 2 immune and non-immune groups and each group into 3 treatments; *V.album*, *N.sativa* and control (each with 3 repeats). Each treatment groups fed for 7 weeks with food supplemented with 0.5% of *V.album*, *N.sativa* or water. At the end of treatment, survival rate, growth factors and resistance to *A.hydrophila* infection were compared among the groups. **RESULTS:** Percentage of mortality in different groups were 9.33 to 12% and prescription of either extracts has no significant effect on survival of groups ($p>0.05$). Food conversion rate and percentage of weight gain were 2.56 ± 0.31 and $131.6\pm 25.05\%$ in *V.album* treatment and 3.12 ± 0.37 and $73.2\pm 4.53\%$ in control treatment, respectively which showed a significant increase ($p<0.05$), growth factors didn't show any significant difference between *N.sativa* and control treatments ($p=0.15$). Mortality rate after bacterial infection showed a significant decrease in *V.album* treatment ($p<0.05$) in a way that mortality in *V.album* treatments of immune and non-immune groups were 40 and 80% and in control treatment were 63.3 and 100%, respectively. *N.sativa* had no significant effect on mortality after challenge ($p=0.45$). **CONCLUSIONS:** Oral administration of *V.album* in gold fish has similar effects on immune and growth stimulation as those reported in other warm-blooded animals but *N. sativa* didn't show such effects.

Key words: *Aeromonas hydrophila*, gold fish, growth factors, *Nigella sativa*, *Viscum album* extract.

Figure Legends and Tabel Captions

Table 1. Comparison of mortality rate and growth indices (food conversion rate, specific growth rate, weight gain percentage) in 6 experimental groups. Significant differences ($p<0.05$) are marked by different letters.

Graph 1. Comparison of cumulative mortality in treated groups by *Nigella sativa* extract and control group, followed by challenge with *Aeromonas hydrophila* (Mean \pm SD). \blacktriangleleft Immunized \blacktriangleright Non- Immunized+N.sativa \blacksquare Immunized Control \times Control

Graph 2. Comparison of cumulative mortality in treated groups by *Viscum album* extract and control group, followed by challenge with *Aeromonas hydrophila* (Mean \pm SD). \blacktriangleleft Immunized+*V.album* \blacktriangleright Immunized Control \blacksquare Non-Immunized+*V.album* \blacklozenge Control

