ارزیابی اثر عصاره هیدروالکلی گزنه (*Urtica dioica*) بر برخی شاخص‌های خون‌شناسی و بیوشیمیایی خون ماهی قرمز (*Carassius auratus*)

- **شبنم نژادمقدم:** گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، صندوق پستی: ۱۵۷۳۹-۴۹۱۳۸، گرگان، ایران
- **محمدرضا ایمانپور*:** گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، صندوق پستی: ۱۵۷۳۹-۴۹۱۳۸، گرگان، ایران
- **ولی‌اله جعفری:** گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، صندوق پستی: ۱۵۷۳۹-۴۹۱۳۸، گرگان، ایران
- **رقیه صفری:** گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، صندوق پستی: ۱۵۷۳۹-۴۹۱۳۸، گرگان، ایران

تاریخ دریافت: خرداد ۱۳۹۶ تاریخ پذیرش: شهریور ۱۳۹۶

چکیده

امروزه در آبزی‌پروری استفاده از محرک‌های ایمنی به‌ویژه گیاهان دارویی به‌عنوان جایگزین مواد شیمیایی و آنتی‌بیوتیک‌ها در کنترل و پیشگیری بیماری‌های آبزیان مورد توجه بسیاری از محققین قرار گرفته است. این مطالعه به‌منظور ارزیابی اثر تجویز رژیم غذایی عصاره گیاهی گزنه (*Urtica dioica*) بر برخی پارامترهای خون‌شناسی و بیوشیمیایی خون ماهی قرمز (*Carassius auratus*) به‌مدت ۸ هفته صورت گرفته است. تیمارهای آزمایشی ۳ تیمار عصاره گیاه گزنه با دوزهای ۲، ٤ و ۸ گرم در کیلوگرم غذا و یک تیمار شاهد (بدون عصاره گیاهی)، هرکدام با ۲ تکرار حاوی ۵ ماهی با میانگین وزنی ۴/۷۰±۲۱/۸۸، در ۸ مخزن توزیع شدند. نتایج نشان داد که افزایش میزان عصاره گیاهی سبب بهبود شاخص‌های خونی و بیوشیمیایی شد که البته این افزایش در هیچ‌یک از پارامترهای اندازه‌گیری‌شده در بین تیمارها معنی‌دار نبود. به‌طوری‌که میزان شاخص‌های خون‌شناسی (گلبول قرمز و سفید، هماتوکریت) و اندیس‌های خونی (MCV، MCH و MCHC) بین تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی‌داری نشان ندادند ($p>0/05$). میزان آلبومین در تیمار تغذیه شده با عصاره گزنه به‌ویژه در سطح ٤ گرم بر کیلوگرم غذا به‌طور معنی‌داری ($p<0/05$) نسبت به گروه شاهد و سایر تیمارهای تغذیه شده با عصاره گزنه افزایش نشان داد. در مقایسه مقادیر گلوکز، کلسترول و تری‌گلیسیرید سرم خون ماهیان قرمز تغذیه شده با عصاره گزنه در پایان آزمایش با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری ($p>0/05$) مشاهده نگردید. به‌طورکلی می‌توان نتیجه گرفت که غلظت‌های بالای گزنه می‌تواند موجب بهبود عملکرد برخی شاخص‌های فیزیولوژیک ماهی قرمز گردند.

کلمات کلیدی: عصاره گزنه، ماهی قرمز، شاخص‌های خونی و بیوشیمیایی

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: mrimanpoor@yahoo.com

مقدمه

صنعت آبزی‌پروری در سال‌های اخیر رشد و توسعه قابل توجهی داشته است به‌طوری‌که نرخ رشد سالانه آن بیشتر از سایر صنایع بوده است (FAO، ۲۰۱۴). صنعت تکثیر و پرورش ماهیان زینتی یکی از زیربخش‌های مهم صنعت آبزی‌پروری است که در سال‌های اخیر باعث اشتغال‌زایی و افزایش درآمد در کشور شده است. تجارت ماهی زینتی در بخش آبزی‌پروری به جهت ارزش بالای آن در صادرات از اهمیت اقتصادی قابل توجهی برخوردار است (Zuanon و Salaro، ۲۰۱۱). ماهی قرمز (*Carassius auratus*) از خانواده کپور ماهیان (Cyprinidae) از لحاظ زیستی و تغذیه‌ای شبیه کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) است (Vesogh و Mostageer، ۱۹۹۵). این گونه در اندازه کوچک به بلوغ جنسی می‌رسد و لقاح مصنوعی و پرورش لارو نسبتاً آسانی دارد (Wiegand و همکاران، ۱۹۸۹). بنابراین ماهی قرمز به‌عنوان یک مدل مناسب جهت مطالعه تغذیه‌ای در لارو و بچه‌ماهی کپورماهیان می‌باشد. برخی از مطالعات اولیه براساس نیازهای تغذیه‌ای ماهیان همه‌چیزخوار گرمابی پایه‌گذاری شده‌است (Sales و Janssens، ۲۰۰۳). استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها و مواد شیمیایی حتی اگر دارای اثرات مثبت در برابر کنترل عوامل بیماری‌زا باشند باتوجه به دسترسی سخت، هزینه بالا، ایجاد مقاومت در عامل بیماری‌زا، مشکلات زیست‌محیطی، اثرات باقی‌مانده و تضعیف سیستم ایمنی میزبان توصیه نمی‌شوند (Citarasu و همکاران، ۲۰۰۲). بنابراین جستجو برای یک منبع جایگزین با منشأ گیاهی ضروری به‌نظر می‌رسد چرا که گیاهان دارویی منابع بی‌خطر و ارزان‌تر نسبت به مواد سنتتیک می‌باشند. رواج گرایش جهانی به سمت آبزی‌پروری سبز و توسعه سیستم‌های ارگانیک (بیش‌ترین استفاده از مواد طبیعی و استفاده حداقل از مواد شیمیایی) و با توجه به غنای سرزمینی و تنوع گیاهان دارویی کشور، می‌توان از گیاهان بومی ایران برای تقویت عملکرد سیستم ایمنی، درمان و پیشگیری از بیماری‌ها استفاده نمود (بهمنی و همکاران، ۱۳۹۳). در این میان گیاه گزنه (*Urtica dioica*) از گیاهان دارویی مورد استفاده در طب سنتی می‌باشد که در درمان بسیاری از بیماری‌ها کاربرد دارد (Dugenci و همکاران، ۲۰۰۳؛ Viegi و همکاران، ۲۰۰۳).

گزنه یک گیاه چندساله با نام علمی *Urtica dioica* L متعلق به خانواده Urticaceae می‌باشد (Lourdes و همکاران، ۲۰۰۸). حداکثر ارتفاع این گیاه ۲ تا ۴ متر می‌باشد و دارای برگ نوک‌تیز و گل‌های سفید و زردرنگ می‌باشد (Krystofova و همکاران، ۲۰۱۰). برگ گیاه گزنه سرشار از ترکیبات فعال زیستی است، ترکیبات فیتوشیمیایی گزنه شامل فلاونوئیدها، لیگنان، اسیدهای چرب، استرول، پلی‌ساکاریدها، گلیکوپروتئین‌ها، کاروتنوئیدها، پلاستوسیانین‌ها و لکتین می‌باشد (Sajfrtova و همکاران، ۲۰۰۵) که می‌تواند برای پیشگیری و درمان بیماری‌ها درانسان و حیوانات مورد استفاده قرار گیرد (Dar و همکاران، ۲۰۱۲). گزارشات متعددی مبنی بر تأثیر عصاره گیاه گزنه بر بهبود عملکرد فیزیولوژیک و سیستم ایمنی ماهی ارائه شده است (Dugenci و همکاران، ۲۰۰۳؛ Awad و همکاران، ۲۰۱۳؛ Binaii و همکاران، ۲۰۱۴؛ Chelladurai و همکاران، ۲۰۱۴؛ همایون‌پور، ۱۳۹۴ و نژادمقدم و صفری، در دست چاپ). پارامترهای خونی ماهی تابع تغییرات محیط می‌باشد. عواملی مانند بیماری، استرس، شرایط تغذیه‌ای، آلودگی و... در تغییر شاخص‌های خونی مؤثر می‌باشند (Haney و همکاران، ۱۹۹۲). دانش پارامترهای خون به‌عنوان یک ابزار مفید و مؤثر در بررسی و نظارت بر تغییرات فیزیولوژیک و پاتولوژیک در ماهی می‌باشد (Ruane و همکاران، ۲۰۰۰؛ Ranzani Paiva و همکاران، ۲۰۰۵؛ Kori-Siakpere و همکاران، ۲۰۰۵؛ Ghiraldelli و همکاران، ۲۰۰۶). اجزای خون یک روش قابل اعتماد برای توصیف شرایط طبیعی ماهی سالم می‌باشد و با تجزیه و تحلیل سلول‌های خونی وضعیت بیماری را می‌توان شناسایی کرد (Cataldi و همکاران، ۱۹۹۸؛ Anderson، ۲۰۰۳). استفاده از برخی گیاهان در رژیم غذایی تا حد زیادی سبب استفاده بهینه از رژیم غذایی، افزایش عملکرد رشد، افزایش بهبود شاخص‌های خونی و فیزیولوژیک در ماهی شده است و فعالیت‌های مختلفی از گیاهان دارویی مانند ضداسترس، محرک ایمنی و ضدمیکروبی و غیره نیز گزارش شده است (Citarasu و همکاران، ۲۰۰۲).

از آن‌جایی‌که تاکنون مطالعه جامعی درخصوص تأثیر استفاده از گیاه گزنه بر روی برخی پارامترهای خون‌شناسی و بیوشیمیایی (مؤلفه‌های دخیل در سیستم ایمنی غیراختصاصی بدن) در جیره غذایی ماهی قرمز صورت نگرفته است، لذا در مطالعه حاضر تأثیر سطوح مختلف عصاره این گیاه در جیره بر شاخص‌های خونی و بیوشیمیایی ماهی قرمز مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

تهیه و نگه‌داری ماهیان: این مطالعه در آزمایشگاه پرورش ماهی شهیدفضلی‌برآبادی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع‌طبیعی گرگان انجام شد. تعداد ۴۰ عدد ماهی قرمز با میانگین وزنی ۴/۷۰± ۲۱/۸۸ به‌طور تصادفی در ۷ مخزن فایبرگلاس (هر تیمار با ۲ تکرار و ۵ ماهی در هر مخزن) قرار گرفت. قبل از شروع آزمایش به‌مدت دوهفته ماهیان جهت سازگاری با محیط با جیره پایه تغذیه شدند. عصاره هیدروالکلی گیاه گزنه با ماده مؤثره ۲۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر از شرکت آدنیس گل‌داروی تهران تهیه شد. این بررسی در قالب یک طرح کاملاً تصادفی

انجام شد و تیمارهای آزمایشی در ۷ گروه در یک دوره به‌مدت ۸ هفته غذادهی با جیره غذایی حاوی سطوح مختلف از عصاره گیاهی بومادران و گزنه با دوزهای ۰، ۲، ۴ و ۸ گرم در کیلوگرم غذا انجام گرفت. جهت پایداری عصاره در آب از محلول ژلاتین ۴ درصد در جیره‌های غذایی استفاده شد. جیره‌های غذایی تا زمان مصرف در داخل پلاستیک در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند. غذادهی ماهیان آزمایشی طی دوره آزمایش روزانه و به‌میزان ۲ درصد وزن بدن صورت گرفت. جهت حفظ کیفیت آب هفته‌ای دوبار دوسوم حجم آب مخازن پرورشی تعویض شده و مدفوع ماهی و باقی‌مانده غذا از طریق سیفون کردن از محیط خارج گردید.

اندازه‌گیری شاخص‌های خون‌شناسی: پارامترهای خون‌شناسی شامل تعداد گلبول قرمز و سفید، هماتوکریت، هموگلوبین، اندیس‌های خونی (MCH، MCV و MCHC) مورد سنجش قرار گرفت. بدین منظور در انتهای دوره جهت نمونه‌برداری خون ۲۴ ساعت قبل غذادهی قطع شد. جهت بی‌هوش کردن ماهیان از عصاره گل میخک به‌عنوان ماده بی‌هوشی استفاده شد. در ادامه ماهیانی که از نظر ظاهری سالم بودند به‌طور تصادفی انتخاب و برای جلوگیری از ورود موکوس و آب به نمونه خون، ماهیان کاملاً خشک گردیده و از ناحیه ساقه دمی خونگیری صورت گرفت. نمونه‌های خون جهت سنجش شاخص‌های خون‌شناسی در ویال‌های حاوی ماده ضدانعقاد خون (هپارین) قرار گرفته و تا زمان آزمایش در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند. جهت تعیین شاخص‌های خونی از روش‌های توصیف شده توسط Houston (۱۹۹۰) (برای خون‌شناسی ماهیان) استفاده شد. شمارش گلبول‌های قرمز پس از رقیق‌سازی با محلول دیس (با رقت ۱:۲۰۰) با استفاده از لام نئوبار یا هموسیتومتر صورت گرفت. ۵ مربع از ۲۵ مربع میانی لام نئوبار جهت شمارش گلبول قرمز مورد استفاده قرار گرفت و عدد حاصل در ۱۰۰۰۰ ضرب شد (که این عدد تعداد گلبول‌های قرمز در یک میلی‌متر مکعب خون می‌باشد) (Basu و همکاران، ۲۰۰۱).

جهت شمارش تعداد گلبول‌های سفید خون با استفاده از لام نئوبار با رقت ۱ به ۲۰۰ با استفاده از محلول دیس صورت گرفت. بعد از انتقال خون بر روی سطح لام تعداد گلبول‌های سفید در مربع‌های بزرگ اطراف شمارش و بدین ترتیب تعداد کل گلبول‌های سفید شمارش گردید (کاظمی و همکاران، ۱۳۸۹). تعیین درصد هماتوکریت (HCT) با روش میکروهماتوکریت با استفاده از دستگاه میکروسانتریفیوژ و خط‌کش مخصوص سنجیده شد (Rehulka، ۲۰۰۰). سنجش مقدار هموگلوبین خون با استفاده از روش استاندارد سیانومت هموگلوبین توسط دستگاه اسپکتوفوتومتر و با استفاده از کیت تشخیصی شرکت پارس آزمون در طول موج ۵۴۰ نانومتر انجام گرفت. بدین منظور ابتدا در هر لوله آزمایش ۵ میلی‌لیتر محلول درابکین ریخته و سپس ۲۰ میکرولیتر نمونه خون به آن اضافه شد. جهت همگن شدن محلول لوله‌های آزمایش به‌مدت ۱ دقیقه بر روی دستگاه شیکر قرار گرفت و سپس با کمک دستگاه اسپکت عدد ABS تعیین و با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد (Blaxhall و Daisley، ۱۹۷۳).

میزان هموگلوبین= 36/8 *ABS: شاخص‌های گلبولی ازجمله میانگین حجم گلبول قرمز (MCV)، میانگین هموگلوبین در گلبول قرمز (MCH)، میانگین غلظت هموگلوبین در گلبول قرمز (MCHC) بر اساس فرمول زیر محاسبه شد (Lee و همکاران، ۱۹۹۸):

MCV= هماتوکریت/ تعداد یاخته‌های قرمز (برحسب میلیون بر متر مکعب) ×۱۰

MCH= هموگلوبین (گرم در دسی‌لیتر)/تعداد یاخته‌های قرمز (برحسب میلیون بر مترمکعب) ×۱۰

MCHC= هموگلوبین (برحسب گرم در دسی‌لیتر) / هماتوکریت ×۱۰۰

اندازه‌گیری شاخص‌های بیوشیمیایی خون: در انتهای دوره آزمایش، به‌منظور ارزیابی تأثیر سطوح مختلف عصاره گزنه بر برخی شاخص‌های بیوشیمیایی خون (گلوکز، کلسترول، آلبومین، تری‌گلیسرید و پروتئین کل) ماهی قرمز و مقایسه بین تیمارهای مختلف مقداری خون به ویال‌های فاقد ماده ضدانعقاد منتقل گردید. سپس با استفاده از دستگاه سانتریفیوژ (Germany, D-7200 Tutilige 7) به‌مدت ۷ دقیقه با دور ۶۰۰۰ دور در دقیقه نمونه‌های سرم جدا و تا زمان انجام آزمایشات در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند (Feldman و همکاران، ۲۰۰۰). میزان گلوکز، تری‌گلیسرید، آلبومین و پروتئین کل (در طول موج ۵۴۶ نانومتر) به‌روش فوتومتریک و با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر (Model WPA-S2000-UV/VIS, Cambridge-UK) و کیت‌های تجاری (پارس آزمون، ایران) اندازه‌گیری شد (Thomas و همکاران، ۱۹۹۸).

تجزیه و تحلیل آماری: این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۷ تیمار و ۲ تکرار انجام شد. داده‌های به‌دست‌آمده به کمک آنالیز واریانس یک‌طرفه (One Way Anova) و با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS21 مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. هم‌چنین برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن در سطح ۵ درصد استفاده شد.

نتایج

اثرات سطوح مختلف عصاره گزنه (۰، ۲، ۴ و ۸ گرم در کیلوگرم غذا) جیره بر شاخص‌های خون‌شناسی ماهی قرمز در جدول ۱ آمده است. بعد از ۶ هفته دوره آزمایش، تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که میزان شاخص‌های خون‌شناسی (گلبول قرمز و سفید، هماتوکریت) و اندیس‌های خونی (MCV، MCH و MCHC) بین تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی‌داری نشان ندادند ($p>0/05$).

جدول ۱: مقایسه میانگین شاخص‌های خون‌شناسی ماهی قرمز تغذیه شده با سطوح مختلف عصاره گیاهی گزنه (۰، ۲، ۴ و ۸ گرم در کیلوگرم غذا)

شاخص‌های خونی	شاهد	گزنه ۲ گرم	گزنه ۴ گرم	گزنه ۸ گرم
گلبول قرمز ($\times 10^6$)	۱/۷۱±۰/۵۴	۱/۶۳±۰/۳۰	۱/۹۵±۰/۳۴	۱/۶۳±۰/۱۰
هموگلوبین (گرم بر دسی‌لیتر)	۷/۴۸±۱/۵۳	۶/۱۸±۱/۶۱	۷/۱۷±۰/۶۲	۷/۳۹±۰/۳۱
هماتوکریت (درصد)	۳۰/۰۸±۴/۸۳	۲۶/۶۶±۲/۳۵	۲۷/۰۰±۱/۴۱	۳۱/۷۵±۳/۸۸
MCV (فمتولیتر)	۱۷۹/۹۸±۲۸/۹۳	۱۶۷/۳۲±۴۵/۵۱	۱۳۹/۶۵±۱۷/۵۱	۱۹۳/۸۲±۱۱/۲۱
MCH (پیکوگرم)	۴۴/۴۸±۵/۱۷	۳۹/۴۱±۱۷/۱۹	۳۷/۰۰±۳/۳۶	۴۵/۳۹±۴/۸۵
MCHC (درصد)	۲۴/۸۰/±۱/۱۱	۲۳/۰۰±۴/۰۱	۲۶/۵۵±۰/۹۲	۲۳/۵۳±۳/۸۶
گلبول سفید $\times 10^3$	۱۲/۲±۷/۴۰	۱۱/۳±۲/۴۰	۱۳/۸±۴/۸۰	۱۵/۲±۰/۸۲

نبود حروف متفاوت در هر ستون نشانه عدم وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($p>0/05$).

نتایج حاصل از اثرات سطوح مختلف عصاره گیاهی گزنه جیره (۰، ۲، ۴ و ۸ گرم در کیلوگرم غذا) بر شاخص‌های بیوشیمیایی سرم در جدول ۲ ارائه شده است. در پایان آزمایش ماهیان تیمار تغذیه شده با عصاره گزنه به‌ویژه در سطح ۴ گرم بر کیلوگرم غذا به‌طور معنی‌داری میزان آلبومین بالاتری نسبت به گروه شاهد و سایر تیمارهای تغذیه شده با عصاره گزنه نشان دادند ($p<0/05$). میزان آلبومین سایر تیمارها نیز از تیمار شاهد مقادیر بالاتری را نشان دادند هرچند این افزایش معنی‌دار نبود ($p>0/05$). در مقایسه مقادیر گلوکز و کلسترول سرم خون ماهیان قرمز تغذیه شده با عصاره گزنه و بومادران در پایان آزمایش با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید ($p>0/05$).

جدول ۲: مقایسه میانگین شاخص‌های بیوشیمیایی ماهی قرمزتغذیه شده با سطوح مختلف عصاره گیاهی گزنه (۰، ۲، ۴ و ۸ گرم در کیلوگرم غذا)

پارامترهای بیوشیمیایی سرم	شاهد	گزنه ۲گرم	گزنه ۴گرم	گزنه ۸گرم
گلوکز	۳۲/۸۵±۲۴/۵۳	۲۶/۳۲±۱۸/۱۸	۲۲/۶۵±۸/۰۷	۴۵/۹۱±۷/۷۹
پروتئین کل	۳/۹۰±۰/۲۷	۴/۱۲±۰/۵۱	۴/۲۰±۱/۳۱	۵/۷۲±۱/۶۹
آلبومین	^{b}۱/۹۹±۰/۶۳	^{b}۱/۹۱±۰/۳۴	^{a}۳/۱۶±۰/۰۰	^{b}۲/۱۰±۰/۱۷
کلسترول	۱۶۱/۳۷±۵۷/۶۹	۲۰۳/۹۷±۱۸/۸۹	۲۴۲/۲۳±۴۹/۵۲	۲۱۵/۸۸±۲۳/۹۹

حروف انگلیسی متفاوت بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد بین تیمارها در هر فاکتور بیوشیمیایی پلاسما می‌باشد.

بحث

آبزی‌پروری یکی از فعالیت‌های اقتصادی مهم در بسیاری از کشورها است. بنابراین توسعه اقدامات مؤثر برای بهبود وضعیت سلامت آبزیان با استفاده از اثر ضدباکتریایی و یا ویروسی واکسن‌ها یا محرک‌های ایمنی در رژیم غذایی می‌تواند مفید واقع شود (Muiswinkel، ۲۰۰۸). یکی از استراتژی‌های اصلی در حال توسعه استقرار یک رژیم تغذیه‌ای مناسب می‌باشد که منجر به رشد مطلوب، سلامت و بقای آبزی شود. گیاهان دارویی دارای ترکیبات مختلفی ازجمله مولکول‌هایی با خواص محرک ایمنی می‌باشند که باعث تقویت سیستم ایمنی هومورال و سلولی می‌شوند (Brufau و همکاران، ۲۰۱۵). پاسخ‌های فیزیولوژیک ماهی می‌تواند تحت تأثیر محرک‌های ایمنی گیاهی مانند عصاره گزنه قرار گیرد. مطالعه حاضر فرصت استفاده از گیاهان دارویی که موجب افزایش ایمنی و کاهش استرس را در ماهی قرمز ارائه می‌کند. خون یکی از اجزای فعال دخیل در تبادل گازهای تنفسی بین بدن و محیط زیست آبزی و کمک به سوخت و ساز بدن می‌باشد. به این دلیل شاخص‌های خونی و بیوشیمیایی سرم به‌طور عمده به‌عنوان شاخص شرایط فیزیولوژیکی یا پاسخ به استرس تحت‌کشنده در ماهی مطرح می‌باشند (Cataldi و همکاران، ۱۹۹۸؛ Belanger و همکاران، ۲۰۰۱). هم‌چنین به‌عنوان یک ابزار مفید در ارزیابی سیستم ایمنی بدن آن‌ها می‌باشد (Ballarin و همکاران، ۲۰۰۴؛ Tavares-Dias و Moraes، ۲۰۰۷). بهبود عوامل هومورال باعث افزایش فاگوسیتوز و به‌دنبال آن بهبود عملکرد سیستم ایمنی بدن در ماهی را به‌دنبال دارد (Chung و Secombes، ۱۹۸۷). بنابراین توسعه و استانداردسازی روش‌های بررسی پاسخ‌های ایمنی هومورال برای کنترل بیماری‌ها در آبزی‌پروری از اهمیت بالایی برخوردار است.

هماتوکریت، غلظت هموگلوبین و گلبول قرمز نشان‌دهنده ظرفیت حمل اکسیژن می‌باشند (Graham و همکاران، ۱۹۸۵؛ Tavares-Dias و Moraes، ۲۰۰۷؛ Wells و همکاران، ۲۰۰۵). در مطالعه حاضر تغییرات معنی‌داری در سطح هماتوکریت در بین تیمارهای آزمایشی

مشاهده نشد (p>۰/۰۵). در بسیاری از مطالعات پیشین نیز افزایش در میزان هماتوکریت در اثر استفاده از محرک‌های ایمنی بین تیمارهای مورد آزمایش مشاهده نشده است (Binaii و همکاران، ۲۰۱۴). گلبول‌های سفید سلول دفاعی بدن هستند (Fazio و همکاران، ۲۰۱۳). تعداد گبول‌های سفید نشان‌دهنده توانایی حیوانات جهت پاسخ ایمنی و مبارزه با بیماری می‌باشد به‌طوری که گونه‌های با سطح بالاتر گلبول‌های سفید به‌طور مؤثرتری قادر به مبارزه به عفونت‌ها خواهند بود (Douglass و Jane، ۲۰۱۰). با توجه به نتایج موجود در جدول ۱ تعداد گلبول سفید خون ماهیان تغذیه شده با عصاره گزنه با وجود یک روند افزایشی در بین تیمارهای آزمایشی اما اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (p>۰/۰۵). در مطالعه Binaii و همکاران (۲۰۱۴) اثرات سطوح متفاوت گزنه جیره غذایی بر پارامترهای خونی، بیوشیمیایی سرم و ایمنی در فیل ماهی(*Huso huso*) مورد بررسی قرار گرفت. پس از ۴ هفته تغییر قابل ملاحظه‌ای در غلظت میزان هموگلوبین، متوسط هموگلوبین سلول (MCHC)، مجموع گلبول‌های سفید خون یافت نشد. گلوکز خون برای فعالیت مغز ضروری می‌باشد (Soengas، ۲۰۰۲).

سطح گلوکز به‌راحتی تحت تأثیر تغییر عوامل داخلی و خارجی قرار می‌گیرد. این موضوع به‌عنوان شاخص بیوشیمیایی، میزان نرمال بودن وضعیت فیزیولوژیک ماهی را توضیح می‌دهد. بررسی میزان گلوکز خون سریع‌ترین و مقرون به صرفه‌ترین روش ارزیابی وضغیت استرس در ماهی می‌باشد (Popescu و Colab، ۱۹۹۰). اگرچه در این بررسی سطوح گلوکز جیره در تیمارهای تغذیه شده با عصاره گزنه اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد نشان نداد(p>۰/۰۵) اما مقدار گلوکز خون یک روند کاهشی در بین تیمارهای آزمایشی داشت. مطابق با این نتایج استفاده از عصاره گزنه در جیره غذایی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncor hynchusmykiss*)(NafisiBahabadi و همکاران، ۲۰۱۴) تغییر معنی‌داری در سطح گلوکز خون گزارش نشده است (p>۰/۰۵).

سطح پروتئین‌های خون از مهم‌ترین عوامل خون می‌باشند که یکی از شاخص‌های مکانیسم دفاعی هومورال محسوب می‌شوند و به عنوان یک شاخص بالینی در ارزیابی سلامت و وضعیت استرس در گونه‌های آبزیان مطرح می‌باشند (Peyghan و همکاران، ۲۰۱۴۷). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که افزودن سطوح مختلف عصاره گزنه به جیره غذایی ماهی قرمز اثرات معنی‌داری بر میزان آلبومین در تیمار ۴ گرم بر کیلوگرم غذا گزنه در مقایسه با تیمار شاهد داشته است. در حالی‌که میزان پروتئین کل با توجه به روند افزایشی تیمارهای آزمایشی نسبت به گروه شاهد اختلاف معنی‌داری را از خود نشان نداد (p>۰/۰۵) که با مطالعه Binaii و همکاران (۲۰۱۴) مطابقت دارد. در برخی مطالعات پیشین نیز گیاه گزنه سبب ارتقا فعالیت‌های سلولی و افزایش سطح پروتین پلاسما و آلبومین در ماهی قزل‌آلا و کپور معمولی شده است (Gabor و همکاران، ۲۰۱۰). افزایش سطوح پروتئین‌های پلاسما پاسخ ایمنی قوی‌تری را به‌همراه دارد (Wiegertjes و همکاران، ۱۹۹۶). دلیل اختلافات در نتایج مطالعات مختلف می‌تواند به‌دلیل نحوه مصرف گیاه و واکنش سیستم ایمنی در بین گونه‌های ماهی باشد (Binaii و همکاران، ۲۰۱۴). محققین در سایر مطالعات نیز عدم تغییر در سطح آلبومین و پروتئین کل خون ماهی‌های تحت تیمار برخی محرک‌های گیاهی نظیر عصاره پیاز، سیر و سیلی‌مارین در گربه‌ماهی نیز گزارش نمودند (Al-Salahy و همکاران، ۲۰۰۲). باتوجه به کاهش کلسترول در بین تیمارهای آزمایشی تغذیه‌شده با گزنه در این آزمایش اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (p>۰/۰۵).

البته باید توجه داشت که تفسیر تجزیه و تحلیل پارامترهای خونی به‌دلیل اختلاف درون و برون‌گونه‌ای ماهیان بسیار مشکل است. اختلافاتی از قبیل روش‌های نمونه‌برداری و آزمایشگاهی (Soivio و Nikinmaa، ۱۹۸۱)، اندازه(Macey و Potter، ۱۹۸۱؛ Aldrin و همکاران، ۱۹۸۴)، جنس ماهی (Atkinson و همکاران، ۱۹۷۸؛ Murray، ۱۹۸۴)، تراکم جمعیت (Murray و Burton، ۱۹۷۸؛ Murray، ۱۹۸۴) و شرایط استرس (Ling و Wells، ۱۹۸۵؛ Torres و همکاران، ۱۹۸۶) می‌توانند بر تفسیر نتایج تأثیر بگذارند.

در مطالعات پیشین برخی محرک‌های گیاهی همانند نتایج مطالعه حاضر تأثیر معنی‌داری بر شاخص‌های خونی نداشته اما در بخش دیگر این محرک‌ها بر عملکرد ایمنی و بیان ژن ماهی اثر مثبت را از خود نشان دادند. در مطالعه‌ای نژادمقدم و صفری (در دست چاپ) اثر مثبت گیاه گزنه (طی دوره پرورش ۶ ماهه) بر عملکرد ایمنی و بیان ژن ماهی قرمز را گزارش نمودند که احتمالاً عوامل ذکر شده در بالا موجب اختلاف در نتایج ایمنی هومورال و سلولی شده است. به‌نظر می‌رسد که علاوه بر عوامل محیطی و گونه ماهی مدت زمان استفاده از عصاره گیاهی نیز می‌تواند منجر به اختلافات در شاخص‌های مورد بررسی شود.

استفاده از محرک‌های گیاهی یک راه حل مناسب به‌جای استفاده از مواد شیمیایی و آنتی‌بیوتیک‌ها می‌باشد. میزان دوز مصرفی بهینه عصاره گیاهان دارویی در جیره غذایی نیز هنوز هم ناشناخته است، بنابراین تعیین یک استاندارد برای استفاده از گیاهان دارویی در آبزی پروری نیاز به مطالعات بیش‌تری دارد. هم‌چنین کشف و پیاده‌سازی اطلاعات در کاربرد گیاهان دارویی به شکل پایدار در آبزی‌پروری دو برابر بیش‌تر نیاز به مطالعه از بخش کشاورزی و انسان می‌باشد. عصاره گزنه با تحت تأثیر قرار دادن برخی از پارامترهای خونی می‌تواند سبب بهبود عملکرد فیزیولوژیک بدن به‌ویژه در سطوح بالا شود. در این خصوص تحقیقات بیش‌تری جهت روشن شدن مکانیسم عمل گزنه میزان دوز مناسب هم‌چنین طول دوره پرورش مورد نیاز است.

منابع

۱. **بهمنی، م.؛ حسینی‌فرد، س.م. و اهدایی، م.، ۱۳۹۳.** مطالعه اثرات عصاره‌های آبی و الکلی گیاه مرزنجوش (*Origanum vulgare* L.) بر درصد بقاء و برخی از شاخص های خونی ماهی کپور معمولی آلوده با آئروموناس هیدرو فیلا (*Aeromunas hydrophila*). فصلنامه علمی پژوهشی اکوبیولوژی تالاب. سال ۶، شماره ۲۱، صفحات ۷۳ تا ۸۱.

۲. **زرگری، ع.، ۱۳۷۵.** گیاهان دارویی. انتشارات دانشگاه تهران. چاپ چهارم. صفحات ۱۰۶ تا ۱۱۷.

۳. **کاظمی، ر.ا.؛ پوردهقانی، م.؛ یوسفی‌جوردهی، ا.؛ یارمحمدی، م. و نصری‌تجن، م.، ۱۳۸۹.** فیزیولوژی دستگاه گردش خون آبزیان و فنون کاربردی خون‌شناسی ماهیان. انتشارات بازرگان، ۱۹۴ صفحه.

۴. **نژادمقدم، ش. و صفری، ر.** در دست چاپ. ارزیابی اثر عصاره گیاه گزنه (*Utrica dioica L*) بر پاسخ ایمنی موکوسی و بیان ژن مربوط به ایمنی TNF-alfa در ماهی قرمز (*Carassius auratus gibelio*).

۵. **همایون‌پور، م.، ۱۳۹۴.** تاثیر پودر گزنه بر شاخص‌های رشد و بازماندگی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). پایان‌نامه کارشناسی ارشد تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده شیلات، دانشگاه زابل. ۵۸ صفحه.

۶. **Aldrin, J.F.; Messager, J.L. and Saleun, S., 1984.** Analyses sanguines de turbots d'elevages immature8 (*Scophtalmus maximus* L.). Aquaculture. Vol. 40, pp: 17-25.

۷. **Allardice, P., 2003.** A-Z of companion planting. United Kingdom: Harper Collins Publishers; 1993. 208 p.

۸. **Al-Salahy, M.B., 2002**. Some physiological studies on the effect of onion and garlic juices on the fish, *Clarias lazera*. Fish Physiology and Biochemistry. Vol. 27, pp: 129-142.

۹. **Anderson, D.P., 2003.** Disease of Fishes. Narendra Publishing House Delhi. pp: 22-73.

۱۰. **Atkinson, E. and Judd, F.W., 1978.** Comparative hematology of *Lepomis microlophus* and *Ciehlasoma ceyanoguttatum.* Copeia. Vol. 2, pp: 230-237.

۱۱. **Awad, E.; Austin, D.R. and Lyndon, A., 2013.** Effect of black cumin seed oil (*Nigella sativa*) and nettle extract (Quercetin) on enhancement of immunity in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Aquaculture. Vol. 388-391, pp: 193-197.

۱۲. **Ballarin, L.; Dalloro, M.; Bertotto, D.; Libertini, A.; Francenscon, A. And Babaro, A., 2004.** Haematological parameters in *Umbrina cirrosa* (Teleostei, Sciaenidae): a comparison between diploid and triploid specimens. Comparative biochemistry and physiology. Vol. 138, pp: 45-51.

۱۳. **Basu, N.; Nakano, T.; Grau, E.G. and Iwama, G.L., 2001.** The effect of cortisol on heat stock protein 70 levels in two fish species. General and Comparative Endocrinology. Vol. 124, pp: 97-105.

۱۴. **Belanger, J.M.; Son, J.H.; Laugero, K.D.; Moberg, G.P.; Dorochov, S.I.; Lankford, S.E. and Cech, J.J., 2001.** Effects of short-term management stress and ACTH injections on plasma cortisol levels in cultured white sturgeon, *Acipenser transmontanus*. Aquaculture. Vol. 203, pp; 165-176.

۱۵. **Binaii, M.; Ghiasi, M.; Farabi, M.; Pourgholam, R.; Fazli, H.; Safari, R.; Alavi, E.; Taghavi, M. and Bankehsaz, Z., 2014.** Biochemical and hemato-immunological parameters in juvenile beluga (*Huso huso*) following the diet supplemented with nettle (*Urtica dioica*). Fish and Shellfish Immunology. Vol. 36, pp: 46-51.

۱۶. **Blaxhall, P.C. and Daisley, W., 1973.** Routine haematological methods for use with fish blood. Journal of Fish Biology. Vol. 5, pp: 771-781.

۱۷. **Brufa, J.; Esteve, E. and Tarradas, J., 2015.** Review of immune stimulator substances/agents that are susceptible of being used as feed additives: mode of action and identification of end-points for efficacy assessment. External Scientific assessment. pp: 1-267.

۱۸. **Cataldi, E.; Di Marco, P.; Mandich, A. and Cataudella, S., 1998.** Serum parameters of Adriatic Sturgeon *Acipenser naccarii* (Pisces: Acipenseriformes): Effects of temperature and stress. Comparative Biochemistry and Physiology. Vol. 120, pp: 273-278.

۱۹. **Chang. J.P.; Johnson. J.D.; Van Goor, F.; Wong, C.J.; Yunker, W.K.; Uretsky, A.D.; Taylor, D.; Jobin, R.M.; Wong, A.O. and Goldberg, J.I., 2000.** Signal transduction mechanisms mediating secretion in goldfish gonadotropes and somatotropes. Biochem. Cell Biol. Vol. 78, pp: 139-153.

۲۰. **Chelladurai, G.; Veni, T.; Mohanraj, J. and agarajan, R.N., 2014.** Effect of Herbal Extracts Supplemented diets on Non Specific Immunity and Resistance to *Aeromonas hydrophila* in Indian cat fish (*Mystus montanus*). Journal of Zoological and Bioscience. Vol. 1, No. 1, pp: 10-14.

۲۱. **Citarasu, T.; Sekar, R.R; Babu, M.M. and Marian, M.P., 2002.** Developing Artemia enriched herbal diet for producing quality larvae in *Penaeus monodon*. Asian Fish Sci. Vol. 15, pp: 21-32.

۲۲. **Dar, S.A.; Ganai, A.F.; Yousuf, A.R.; Balkhi, M.U.H.; Bhat, T.M. and Bhat, F.A., 2012.** Bioactive potential of leaf extracts from *Urtica dioica* L. against fish and human pathogenic bacteria. African Journal of Microbiology Research. Vol. 41, pp: 6893-6899.

۲۳. **Douglass, J.W. and Jane, K.W., 2010.** Schalm's Veterinary Hematology. John Wiley and Sons, Blackwell Publishing Ltd. 1232 p.

۲۴. **Dugenci, S.K.; Arda, N. and Candan, A., 2003.** Some medicinal plants as immunostimulant for fish. Journal of Ethnopharmacology. Vol. 88, No. 1, PP: 99-106.

۲۵. **FAO. 2014.** Aquaculture Department The state of world fisheries and aquaculture 2014. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome. 243 p.

۲۶. **Fazio, F.; Marafioti, S.; Arfuso1, F.; Piccione1, G. and Faggio, C., 2013.** Comparative study of the biochemical and haematological parameters of four wild Tyrrhenian fish species. Veterinarni Medicina. Vol. 58, pp: 576-581.

۲۷. **Feldman, B. F.; Zinkl, J. G. and Jain, N.C., 2000.** Schalm's Veterinary Hematology. 5th ed. Lippincott Williams and Wilkins. pp: 1120-1124.

۲۸. **Gabor, E.F.; Şara, A. and Barbu A., 2010**. The effects of some Phyto-additives on growth, health and meat quality on different species of fish. Scientific Papers: Animal Sciences and Biotechnologies. Vol. 43, pp: 61-65.

۲۹. **Ghasemi, H.A.; Taherpour, K.; Hajkhodadadi, I. and Akhavan-Salamat, H., 2014**. Comparative Effects of Nettle (*Urtica Dioica*) and Commercial Feed Additives on Productive Performance and Blood Lipid Profile of Broiler Chickens. Journal of Animal Science Advances. Vol. 4, pp: 633-640.

۳۰. **Ghiraldelli, L.; Martins, M.L.; Yamashita, M.M. and Jeronimo, G.T., 2006.** Ectoparasites influence on the hematological parameters of Nile tilapia and carp cultured in the State of Santa Catarina, South Brazil. Journal of Fisheries and Aquatic Science. Vol. 1, pp: 270-276.

۳۱. **Graham, M.S.; Haedrich, R.L. and Fletcher, G.L., 1985.** Hematology of three deep-sea fishes: A refection of low metabolic rates. Comparative Biochemistry and Physiology. Vol. 80, pp: 79-84.

۳۲. **Haney, D.C.; Hursh, D.A; Mix, M.C. and Winton, J.R., 1992.** Physiological and hematological changes in chum salmon artificially infected with Erythrocytic Necrosis Virus. Journal of Aquatic Animal Health. Vol. 4, pp: 48-57.

۳۳. **Houston, A., 1990.** Blood and circulation, In: Shreck CB, Moyle PB (Editors). Methods for fish biology. American Fisheries Society, Bethesda, Maryland. 704 p.

۳۴. **Kori-Siakpere, O.; Ake, J.E.G. and Idoge, E., 2005.** Haematological characteristics of the African snakehead, *Parachacnna obscura*. African Journal of Biotechnology Academic Journals. Vol. 6, pp: 527-530.

۳۵. **Krystofova, O.; Adam, V.; Babula, P.; Zehnalek, J.; Beklova, M.; Havel, L. and Kizek, R., 2010.** Effects of Various Doses of Selenite on Stinging Nettle (*Urtica dioica* L.). International Journal of Environmental Research and Public Health. Vol. 7, pp: 3804-3815.

۳۶. **Ling, N. and Wells, R.M.G., 1985**. Plasma catecholamines and erythrocyte swelling following capture stress in a marine teleost tish. Comparative Biochemistry and Physiology. Vol. 82, pp: 231-234.

۳۷. **Lourdes, R.F.; Jorge, R.E.; Scott, B.; Dea H.R. and Eliseo, T., 2008.** Risks and benefits of commonly used herbal medicines in Mexico. Toxicology and Applied Pharmacology. Vol. 227, pp: 125-135.

۳۸. **Macey, D.J. and Potter, I.C., 1981**. Measurements of various blood cell parameters during the life cycle of the southern hemisphere lamprey, *Georria austrulis Gray*. Comparative Biochemistry and Physiology. Vol. 69, pp: 815-823.

۳۹. **Murray, S.A., 1984.** Hematological study of the bluegill *Lepomis macrochirus* Raf. Comp. Biochem. Physiology. Vol. 78A, pp:787-791.

۴۰. **Murray, S.A. and Burton, C.B., 1979.** Effects of density on goldfish blood-II. Cell morphology. Comparative Biochemistry and Physiology. Vol. 62, pp: 559-562.

۴۱. **Muiswinkel, V., 2008.** A history of fish immunology and vaccination I. The early days. Fish and Shellfish Immunology. Vol. 25, pp: 397-408.

۴۲. **Nafisi Bahabadi, M., Banaee, M., Taghiyan, M. and Nematdoust Haghi, B., 2014**. Effects of dietary administration of yarrow extract on growth performance and blood biochemical parameters of rainbow trout (*Oncorhynchusmykiss*). International Journal of Aquatic Biology. Vol. 2, No. 5, pp: 275-285.

۴۳. **Peyghan, R.; Khadjeh, GH.H. and Enayati, A., 2014.** Effect of water salinity on total protein and electrophoretic pattern of serum proteins of grass carp, *Ctenopharyngodon idella*. Veterinary Research Forum. Vol. 5, pp: 225-229.

۴۴. **Popescu, I.C. and Si colab, M., 1990.** Tehnologii de refacere, substituire şi ameliorare a cvercetelor slab productive (Remake, substitution and amelioration techenologies for low productive oaks), Bucureşti.

۴۵. **Ranzani-Paiva, M.J.T.; Felizardo, N.N. and Luque, J.L., 2005.** Parasitological and hematological analysis of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1757 from Guarapiranga reservoir, Sao Paulo State, Brazil. Acta Scientiarum. Vol. 27, pp: 231-237.

۴۶. **Rehulka, J., 2000.** Influence of astaxanthin on growth rate, condition, and some blood indices of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Journal of Aquaculture. Vol. 190, pp: 27-47.

۴۷. **Ruane, N.M.; Nolan, D.T.; Rotlant, J.; Costello, E.J. and Weendellar Bonga, S.E., 2000.** Experimental exposure of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) to the infective stages of the sea louse *Lepeophtheirus salmonis* (Kroyer) influ-ences the physiological response to an acute stressor. Fish and Shellfish Immunology. Vol. 10, pp: 451-463.

۴۸. **Sajfrtova, M.H.; Sovova, L.; Opletal, and Bartlova, M., 2005.** Near-critical extraction of β-sitosterol and scopoletin from stinging nettle roots. The Journal of Supercritical Fluids. Vol. 35. pp: 111-116.

۴۹. **Sales, J. and Janssens, G.P.J., 2003.** Nutrient requirements of ornamental fish. Aquatic Living Resources, Vol. 16, pp: 533-540.

۵۰. **Soengas, J.L. and Aldegunde, M., 2002.** Energy metabolism of fish brain. Comparative Biochemistry and Physiology. Vol. 131, pp: 271-296.

۵۱. **Soivio, A. and Nikinmaa, M. 1981.** The swelling of erythrocytes in relation to the oxygen affinity of the blood of the rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. In Stress and Fish (Edited by Pickering A. D.). Academic Press, London. pp: 103-l 19

۵۲. **Tavares, M. and Moraes, F.R., 2007.** Leukocyte and thrombocyte reference values for channel catfish (*Ictalurus punctatus* Raf.), with an assessment of morphological, cytochemical, and ultrastructural features. Veterinary Clinical Pathology. Vol. 36, pp: 49-54.

۵۳. **Thomas, L., 1998.** Clinical Laboratory Diagnostics. Lsl ed. Frankfort: TH-Books Verlagsgesellschaft. pp: 652-656.

۵۴. **Torres, P., Duthie, G.G. and Tort, L., 1986.** Statistical relations of some blood parameters along recovery from imposed stress in dog fish. Reu. Esp. Physiology. Vol. 42, pp: 7-14.

۵۵. **Vesogh, G.H. and Mostageer, B., 1995.** Freshwater fish. Press Tehran University of Iran. 317 p.

۵۶. **Viegi, L.; Pieroni, A.; Guarrera, P.M. and Vangelisti, R., 2003.** A review of plants used in folk veterinary medicine in Italy as basis for a databank. Journal of Ethnopharmacology. Vol. 89, pp: 221-244.

۵۷. **Wells, R.M.G.; Baldwins, J.; Seymour.S.; Christian, K. and Brittain, T., 2005.** Red blood cell function and haematology in two tropical freshwater fishes from Australia. Comp. Biochem Physiology. Vol. 141, pp: 87-93.

۵۸. **Wiegand, M.D.; Hataley, J.M.; Kitchen, C.L. and Buchanan, L.G., 1989.** Induction of developmental abnormalities in larval goldfish, *Carassius auratus* (L) under cool incubation conditions. Journal of Fish Biology. Vol. 35, pp: 85-95.

۵۹. **Zuanon, J.A.S. and Salaro, A.L., 2011.** Nutrition Aquaculture. The Dietary Dilemma. http://www .pondone. co.uk/guide _ feeding_fish.php