



## اثر عصاره آبی گیاه علف چای (*Hypericum perforatum*) بر شاخص های خونی، سرمی و بازماندگی قزل آلاهی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در شرایط استرس گرمایی

مریم قیاسی<sup>۱\*</sup>، سعیده آقاجانی<sup>۲</sup>، محمد بینایی<sup>۳</sup>، رضا پورغلام<sup>۴</sup>، علیرضا باباعلیان امیری<sup>۵</sup>

۱- استادیار، پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، ساری

۲- دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد واحد دامغان

۳- کارشناس ارشد، پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، ساری

۴- دانشیار، پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، ساری

۵- کارشناس ارشد، اداره کل دامپزشکی استان مازندران، ساری

تاریخ پذیرش: ۹۴/۰۴/۲۱

تاریخ دریافت: ۹۳/۰۶/۱۱

\* نویسنده مسئول: ghiasimaryam4@gmail.com

### چکیده

طی یک مطالعه ۲۷ روزه، تعداد ۳۶۰ عدد قزل آلاهی رنگین کمان ( $1/6 \pm 97/2$  گرم) در در دوزهای ۲۵۰، ۵۰۰، ۷۵۰ و ۱۰۰۰ ppm عصاره آبی علف چای (به ترتیب T0، T25، T50 و T75) به شکل غوطه-وری طی دو مرحله ۵ روزه منقطع با فاصله ۱۰ روز در شرایط استرس گرمایی  $2 \pm 20$  درجه سانتیگراد قرار گرفته و در پایان هر مرحله (روزهای ۱۲ و ۲۷) خونگیری گردید. در نتایج مرحله اول، تعداد گلبولهای قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت تفاوت معنی داری را بین تیمارها و شاهد نشان نداد، اما در مرحله دوم افزایش معنی دار این شاخصها در تیمارهای T50 و T75 نسبت به T0 و T25 مشاهده شد. تعداد گلبولهای سفید، لنفوسیتها، میزان پروتئین تام، آلبومین و Igm تام شاهد در هر دو مرحله به طور معنی داری کمتر از تیمارها بود، ولی شمارش نوتروفیلها عکس این بود. طی دو مرحله، تفاوت معنی داری در اندیسهای MCV و MCH بین تیمار و شاهد وجود نداشت. میزان MCHC تفاوت معنی داری در مرحله اول در بین گروههای آزمایشی نداشت ولی در مرحله دوم، افزایش معنی دار آن در تیمار T75 در مقایسه با T25 و T0 مشهود بود. میزان گلوکز در مرحله دوم در T50 و T75 کاهش معنی داری نسبت به T0 و T25 داشت. میزان آنزیمهای کبدی AST و ALT در مرحله دوم در تیمار T75 نسبت به سایر گروهها افزایش معنی دار داشت. بیشترین و کمترین درصد بازماندگی به ترتیب

مربوط به T50 و T0 بود. براساس نتایج، گیاه علف چای قابلیت کنترل عوارض بروز استرس و افزایش ماندگاری ماهی قزل‌آلا را در مواجهه با استرس گرمایی مزمن دارد.

**کلید واژگان:** استرس گرمایی، گیاه علف چای، قزل‌آلای رنگین‌کمان، بازماندگی، شاخص‌های خونی و سرمی

#### مقدمه

ناشی از استرس در ماهیان مختلف را نشان داده است (Yin et al. 2006; Sahu et al. 2007; Xie et al. 2008).

در ایران ۱۷ گونه گیاه علف چای (*Hypericum sp.*) وجود دارد که تنها گونه *H. perforatum* ارزش زیادی از نظر دارویی داشته و در شمال و شمال غرب ایران رشد آن فراوان است (Riazi et al. 2011). این گیاه به دلیل دارا بودن یک ترکیب دی‌آنترونی به نام هایپرسیین در دنیا به‌عنوان دارویی مهم در درمان افسردگی شناخته شده است (Zou et al. 2004; Vattikuti and Ciddi, 2005). اما مطالعات دیگری نشان داد که این گیاه خواص ضد سرطان، ضد باکتری، ضد ویروس (به‌ویژه در افراد مبتلا به ایدز) و ضد قارچ (به‌ویژه در برابر قارچ‌های درماتوفیتی) نیز دارد (Öztürk et al. 2007; Perera et al. 2008; Martarelli et al. 2004; Larypoor et al. 2009). خواص متعدد این گیاه را می‌توان به تنوع ترکیبات موجود در این گیاه نسبت داد، زیرا این گیاه غنی از ترکیبات فلاونوی، فلاونوئیدی، فلوروگلوکوسینول و نفتودیاترون است که اثرهای آنتی‌اکسیدانی و محرک ایمنی قوی دارند (Zou et al. 2004).

ارزیابی شاخص‌های خونی و سرمی، اطلاعات ارزشمندی را در خصوص تأثیرات استرس و عوارض بالینی ناشی از آن در اختیار محققان قرار می‌دهد. این شاخص‌ها ابزاری مفید در بررسی اثر استرس‌های تحت حاد محیطی بر سلامت ماهیان هستند (Abdelhadi et al. 2010). در این مطالعه، تأثیر عصاره آبی گیاه علف چای بر شاخص‌های خونی، سرمی و بازماندگی ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان قرار گرفته در برابر استرس گرمایی،

در ماهیان پرورشی عواملی چون تغییر دمای آب، تراکم بالا، نقل و انتقال، تغییرات ناگهانی فاکتورهای فیزیکیوشیمیایی آب، تغییر ناگهانی جیره و دستکاری‌های نامناسب از مهم‌ترین عوامل استرس‌زا هستند (Wendelaar Bonga 1997; Gomes et al. 2003). اگرچه دامنه حرارتی که قزل‌آلای رنگین‌کمان در آن می‌تواند زنده بماند بین صفر تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد است، اما دمای مناسب رشد این ماهی بین ۹ تا ۱۷ درجه سانتی‌گراد است و مواجهه این ماهی با دمایی بیش از این سبب بروز استرس می‌گردد و اگر این استرس طولانی شود، می‌تواند منجر به کاهش رشد، تضعیف ایمنی، اختلالات تولید مثلی و کاهش بازماندگی شود (Barton et al. 2002; Nikoskelainen et al. 2008; Valenzuela et al. 2004).

طی دهه اخیر استان مازندران یکی از استان‌های مهم در امر آبی‌پروری، به‌ویژه تولید قزل‌آلای رنگین‌کمان شناخته شده است (Iranian Fisheries Organization 2014). از آنجایی که پرورش این ماهی در استان در تمام ایام سال صورت می‌گیرد، یکی از مشکلات پرورش‌دهندگان افزایش دما در فصول گرم و تلفات ناشی از استرس گرمایی است (Ghiasi et al. 2013). امروزه استفاده از عواملی که سبب تحریک رشد و افزایش سطح ایمنی می‌شوند موجب شده تا مقاومت ماهی در برابر شرایط نامساعد محیطی و عوامل استرس‌زا افزایش یابد. مطالعات متعددی، اثرات گیاهان دارویی را در بهبود رشد، ارتقای سطح ایمنی، مقاومت در برابر عفونت‌ها و کاهش عوارض

با هدف معرفی یک گیاه دارویی جدید با خاصیت ضد استرس و محرک ایمنی به صنعت آبی‌پروری کشور بررسی شده است.

#### مواد و روش‌ها

آماده‌سازی عصاره گیاه علف چای: ابتدا گیاه علف چای از منطقه کوهستانی کیاسر (استان مازندران) تهیه و به تأیید اداره منابع طبیعی استان مازندران رسید. پس از خشک کردن سرشاخه‌های گل‌دار این گیاه در سایه، آسیاب شده، میزان ۵۰۰ گرم از پودر حاصل شده در ۳ لیتر آب مقطر خیسانده و به مدت ۷۲ ساعت در بن‌ماری (دمای آب ۵ ± ۳۵ درجه سانتی‌گراد) قرار داده و سپس مخلوط فوق توسط کاغذ صافی معمولی صاف شد. برای ارزیابی میزان ماده خشک موجود در محلول به دست آمده ۱۰۰ میلی‌لیتر از محلول فوق در حرارت غیرمستقیم خشک و میزان ماده خشک به‌جا مانده توزین و مشخص گردید که در هر ۱۰۰ میلی‌لیتر عصاره ۱ گرم ماده خشک وجود داشت.

تیماربندی: تعداد ۳۶۰ عدد ماهی قزل‌آلا با متوسط وزن  $9\text{V}/7 \pm 1/6$  گرم از یکی از مراکز تکثیر و پرورش اطراف شهر ساری تهیه و به پژوهشکده اکولوژی دریای خزر انتقال داده شد. ماهیان به وان‌های پلاستیکی ۱۰۰ لیتری (چهار تیمار به همراه سه تکرار، در مجموع ۱۲ وان و ۳۰ عدد ماهی در هر وان) انتقال یافتند. تعویض آب به‌طور روزانه و هوادهی از یک کمپرسور مرکزی با استفاده از سنگ هوادهی انجام شد. برای سازگاری، ماهیان به مدت یک هفته در حرارت  $2 \pm 15$  درجه سانتی‌گراد قرار گرفته و طی این مدت با استفاده از جیره تجاری (شرکت بیضا، با ۴۳٪ پروتئین و ۱۵٪ چربی) به میزان ۲٪ بیوماس طی سه مرحله (ساعت ۹، ۱۴ و ۱۹) تغذیه شدند. پس از سازگاری، برای قرار دادن ماهیان در معرض استرس ناشی

از دمای بالا با استفاده از سیستم گرمایشی دمای آب به  $2 \pm 20$  سانتی‌گراد افزایش یافت. پس از پنج روز قرار گرفتن در معرض این حرارت (روز ششم آزمایش) به آب وان‌های گروه‌های تیمار ۲۵۰، ۵۰۰، و ۷۵۰ ppm از عصاره آبی افزوده شد. پس از ۵ روز غوطه‌وری (روز یازدهم آزمایش) آب وان‌ها با آب معمولی تعویض و ۱۰ روز بعد (روز ۲۱ آزمایش) مجدد ماهیان به مدت ۵ روز در معرض دوزهای ذکر شده قرار گرفته و در روز ۲۷ آزمایش مجدد آب وان‌ها با آب معمولی تعویض شد.

نمونه‌برداری و ارزیابی شاخص‌های خونی و سرمی: تهیه نمونه‌های خون در روز ۱۲ و ۲۷ آزمایش انجام شد. ابتدا ماهیان با غلظت ۲۰۰ ppm عصاره گل میخک بیهوش شده و با استفاده از سرنگ از ساقه دمی ۱۰ عدد ماهی از هر تیمار خون‌گیری گردید. نمونه‌های خون به دو میکروتیوب هپارینه و غیرهپارینه منتقل شد. از نمونه هپارینه برای ارزیابی شاخص‌های خون‌شناسی استفاده گردید. نمونه‌های غیرهپارینه به مدت ۲ ساعت در حرارت اتاق نگهداری و پس از تشکیل لخته به مدت ۲۰ دقیقه در  $1500\text{g}$  سانتریفوژ و سرم به دست آمده در دمای  $20 -$  درجه سانتی‌گراد تا زمان مصرف نگهداری شد. برای شمارش گلبول قرمز و سفید، نمونه 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 هموسیتمتر شمارش شدند. شمارش تفریقی با استفاده از گسترش خونی رنگ شده با گیمسا انجام گردید. میزان هماتوکریت با استفاده از لوله میکروهماتوکریت پس از سانتریفوژ (۵ دقیقه در  $10000\text{rpm}$ ) با استفاده از خط‌کش مخصوص انجام شد. میزان هموگلوبین نیز با استفاده از روش سیانومت هموگلوبین انجام گردید (Blaxhall and Daisley, 1973). محاسبه اندیس‌های خونی شامل حجم

متوسط سلولولی (MCV)، هموگلوبین متوسط سلولولی (MCH)، غلظت متوسط هموگلوبین سلولولی (MCHC) بر اساس فرمول و میزان گلبول‌های قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت انجام گردید (Lee et al., 1998). ارزیابی فاکتورهای سرمی شامل گلوکز، پروتئین تام سرم، آلبومین، ایمونوگلوبولین M تام سرم (IgM)، آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) و آلانین آمینوترانسفراز (ALT) با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر (Eurolyzer ساخت بلژیک) و با استفاده از کیت تجاری (شرکت پارس آزمون، ایران) انجام شد (Shahsavani et al 2010).

ارزیابی درصد بازماندگی: تعداد تلفات در دوره آزمایش به طور روزانه ثبت و در انتها تعداد تلفات بر تعداد اولیه ماهیان در هر تیمار تقسیم و در ۱۰۰ ضرب شد. تجزیه و تحلیل آماری: آنالیز آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS19 انجام گردید. برای پی بردن به اثر عصاره بر شاخص‌های مختلف با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) تجزیه و تحلیل داده‌ها انجام شد. برای مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح معنادار ۰/۰۵ استفاده شد (Zar, 1994).

### نتایج

نتایج ارزیابی شاخص‌های خونی: نتایج تأثیر مقادیر مختلف عصاره آبی گیاه علف چای بر شاخص‌های خونی در جدول ۱ آمده است. در مرحله اول تفاوت معناداری در تعداد گلبول‌های قرمز بین تیمارها و شاهد وجود نداشت. اما در مرحله دوم این شاخص در شاهد به طور معناداری کمتر از تیمارهای T50 و T75 بود. در ارزیابی میزان هموگلوبین و هماتوکریت در مرحله اول تفاوت معناداری در بین گروه‌های آزمایشی مشاهده نشد، ولی در مرحله دوم افزایش معنادار این دو فاکتور در تیمار T50 و T75

نسبت به T0 و T25 وجود داشت. ارزیابی میزان MCV و MCH در هر دو مرحله نمونه‌برداری، تفاوت معناداری را بین گروه‌های آزمایشی نشان نداد. اما با وجود عدم تفاوت میزان MCHC در مرحله اول در بین گروه‌های آزمایشی، در مرحله دوم افزایش معنادار این شاخص در تیمار T75 در مقایسه با تیمار T0 و T25 وجود داشت. نتایج شمارش گلبول‌های سفید نشان داد که در هر دو مرحله گروه شاهد کاهش معناداری نسبت به گروه‌های تیمار در این شاخص داشته است و نیز در مرحله دوم تعداد گلبول‌های سفید تیمار T50 و T75 افزایش معناداری نسبت به T25 داشته است. در شمارش تفریقی گلبول‌های سفید مشخص گردید که تعداد لنفوسیت‌ها به طور معناداری در هر دو مرحله در گروه‌های تیمار بیشتر از شاهد بود، در حالی که تعداد نوتروفیل‌ها در هر دو مرحله در گروه‌های تیمار به طور معناداری کمتر از شاهد بود.

نتایج ارزیابی شاخص‌های سرمی: نتایج تأثیر مقادیر مختلف عصاره آبی گیاه علف چای بر شاخص‌های سرمی در جدول ۲ آمده است. براساس نتایج به دست آمده، میزان گلوکز در مرحله اول تفاوت معناداری در بین گروه‌های آزمایشی نداشت، اما در مرحله دوم، میزان آن در تیمارهای T50 و T75 کاهش معناداری در مقایسه با T0 و T25 داشت. این در حالی است که در هر دو مرحله، میزان پروتئین تام و آلبومین سرم کاهش معناداری در تیمار T0 و T25 در مقایسه با دو تیمار دیگر داشت. میزان IgM تام سرم در هر دو مرحله نمونه‌برداری کاهش معناداری را در شاهد نسبت به تیمارها نشان داد. همچنین در مرحله دوم میزان این فاکتور در تیمار T50 افزایش معناداری را نسبت به سایر تیمارها داشت. میزان دو آنزیم ALT و AST در مرحله اول تفاوت معناداری بین گروه‌های آزمایشی نشان

اثر عصاره آبی گیاه علف چای... قیاسی و همکاران

نداد، اما در مرحله دوم میزان این دو آنزیم در تیمار T75 نتایج درصد بازماندگی: نتایج نشان داد که درصد افزایش معناداری نسبت به سایر تیمارها نشان داد. بازماندگی در تیمارهای T0، T25، T50 و T75 به ترتیب ۰/۴۶٪، ۰/۶۳٪، ۰/۷۹٪ و ۰/۷۴٪ بوده است.

جدول ۱ مقایسه میانگین شاخص‌های خونی ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان تحت استرس گرمایی طی دو مرحله مواجهه با عصاره آبی علف چای

تیمار				شاخص	
T <sub>75</sub>	T <sub>50</sub>	T <sub>25</sub>	T <sub>0</sub>	مرحله	
۹/۹۶ ± ۰/۳۶ <sup>ab</sup>	۹/۵۲ ± ۰/۵۳ <sup>ab</sup>	۸/۹۴ ± ۰/۹۱ <sup>a</sup>	۸/۷۲ ± ۰/۴۵ <sup>a</sup>	۱	تعداد گلبول‌های قرمز
۱۰/۲۴ ± ۰/۶۹ <sup>b</sup>	۱۰/۱۸ ± ۰/۶۹ <sup>b</sup>	۸/۹۶ ± ۰/۸۵ <sup>ab</sup>	۷/۹۲ ± ۰/۴۲ <sup>a</sup>	۲	( $\text{mm}^3 \times 10^6$ )
۱۱/۳ ± ۰/۳ <sup>ab</sup>	۱۰/۷ ± ۰/۵ <sup>ab</sup>	۹/۹ ± ۰/۷ <sup>a</sup>	۹/۹ ± ۰/۳ <sup>a</sup>	۱	هموگلوبین ( $\text{gdL}^{-1}$ )
۱۱/۷ ± ۰/۵ <sup>b</sup>	۱۱/۵ ± ۰/۶ <sup>b</sup>	۹/۹ ± ۰/۵ <sup>ab</sup>	۹/۱ ± ۰/۴ <sup>a</sup>	۲	
۳۷ ± ۱ <sup>ab</sup>	۳۵/۲ ± ۱/۴ <sup>ab</sup>	۳۲/۸ ± ۲ <sup>a</sup>	۳۲ ± ۰/۹ <sup>a</sup>	۱	هماتوکریت (%)
۳۸/۲ ± ۱/۴ <sup>b</sup>	۳۷/۶ ± ۲ <sup>b</sup>	۳۲/۶ ± ۱/۶ <sup>ab</sup>	۳۰/۲ ± ۱/۲ <sup>a</sup>	۲	
۳۷۲/۱ ± ۵ <sup>a</sup>	۳۷۱/۵ ± ۹/۸ <sup>a</sup>	۳۷۲/۷ ± ۱۴/۶ <sup>a</sup>	۳۷۵/۹ ± ۱۰/۵ <sup>a</sup>	۱	MCV (fL)
۳۷۶/۲ ± ۱۲/۳ <sup>a</sup>	۳۷۱/۴ ± ۱۰/۱ <sup>a</sup>	۳۶۹/۵ ± ۱۵/۴ <sup>a</sup>	۳۸۲/۴ ± ۵/۵ <sup>a</sup>	۲	
۱۱۳/۹ ± ۱/۳ <sup>a</sup>	۱۱۳/۲ ± ۲/۸ <sup>a</sup>	۱۱۲/۶ ± ۳/۷ <sup>a</sup>	۱۱۳/۷ ± ۲/۹ <sup>a</sup>	۱	MCH (pg)
۱۱۵/۴ ± ۳/۴ <sup>a</sup>	۱۱۳/۷ ± ۲/۹ <sup>a</sup>	۱۱۱/۶ ± ۴/۲ <sup>a</sup>	۱۱۴/۷ ± ۱/۱ <sup>a</sup>	۲	
۳۰/۶ ± ۰/۱ <sup>a</sup>	۳۰/۴ ± ۰/۱ <sup>a</sup>	۳۰/۲ ± ۰/۲ <sup>a</sup>	۳۰/۱ ± ۰/۱ <sup>a</sup>	۱	MCHC ( $\text{gdL}^{-1}$ )
۳۰/۷ ± ۰/۱ <sup>b</sup>	۳۰/۶ ± ۰/۱ <sup>ab</sup>	۳۰/۲ ± ۰/۱ <sup>a</sup>	۲۹/۹ ± ۰/۱ <sup>a</sup>	۲	
۷/۳۲ ± ۰/۶ <sup>b</sup>	۷/۲۴ ± ۰/۵۰ <sup>b</sup>	۶/۸۸ ± ۰/۵۰ <sup>b</sup>	۴/۷۰ ± ۰/۳ <sup>a</sup>	۱	تعداد گلبول‌های سفید × ۱۰ <sup>۳</sup>
۸/۹۰ ± ۰/۳۳ <sup>b</sup>	۸/۸۰ ± ۰/۳۵ <sup>b</sup>	۷/۳۶ ± ۰/۵۰ <sup>b</sup>	۳/۶۴ ± ۰/۳۰ <sup>a</sup>	۲	( $\text{mm}^3 \times 10^3$ )
۹۸ ± ۰/۶ <sup>b</sup>	۹۷ ± ۳/۰ <sup>b</sup>	۹۶ ± ۰/۵ <sup>b</sup>	۹۳ ± ۰/۷ <sup>a</sup>	۱	لنفوسیت (%)
۹۸/۴ ± ۰/۴ <sup>b</sup>	۹۸/۲ ± ۰/۵ <sup>b</sup>	۹۷ ± ۰/۴ <sup>b</sup>	۹۱/۲ ± ۰/۷ <sup>a</sup>	۲	
۲ ± ۰/۶ <sup>a</sup>	۳ ± ۰/۴ <sup>a</sup>	۴ ± ۰/۳ <sup>a</sup>	۷ ± ۰/۷ <sup>b</sup>	۱	نوتروفیل (%)
۱/۶ ± ۰/۳ <sup>a</sup>	۱/۸ ± ۰/۴ <sup>a</sup>	۳ ± ۰/۴ <sup>a</sup>	۷/۸ ± ۰/۸ <sup>b</sup>	۲	

حروف نامشابه در هر ردیف نشان دهنده وجود اختلاف معنادار است ( $P < 0.05$ ). مقادیر مشاهده شده در جدول بیانگر میانگین ± خطای انحراف معیار است

جدول ۲ مقایسه میانگین شاخص‌های سرمی ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان تحت استرس گرمایی طی دو مرحله مواجهه با عصاره آبی علف چای

تیمار				شاخص	
T <sub>75</sub>	T <sub>50</sub>	T <sub>25</sub>	T <sub>0</sub>	مرحله	
۷۶ ± ۲/۲ <sup>ab</sup>	۸۲ ± ۳ <sup>ab</sup>	۸۵/۸ ± ۴ <sup>b</sup>	۸۶/۱ ± ۳/۵ <sup>b</sup>	۱	گلوکز ( $\text{mgdL}^{-1}$ )
۵۸/۲ ± ۲/۵ <sup>a</sup>	۵۳/۴ ± ۵/۶ <sup>a</sup>	۷۱ ± ۷/۱ <sup>b</sup>	۷۷ ± ۳/۵ <sup>b</sup>	۲	

۳/۷ ± ۰/۲ <sup>b</sup>	۳/۶ ± ۰/۲ <sup>b</sup>	۲/۷ ± ۰/۲ <sup>a</sup>	۲/۵ ± ۰/۱ <sup>a</sup>	۱	پروتئین تام (gdL <sup>-1</sup> )
۳/۹ ± ۰/۳ <sup>b</sup>	۳/۷ ± ۰/۲ <sup>b</sup>	۲/۸ ± ۰/۳ <sup>a</sup>	۲/۴ ± ۰/۱ <sup>a</sup>	۲	
۲/۴ ± ۰/۲ <sup>b</sup>	۲/۱ ± ۰/۲ <sup>b</sup>	۱/۵ ± ۰/۱ <sup>a</sup>	۱/۳ ± ۰/۱ <sup>a</sup>	۱	آلبومین (mgdL <sup>-1</sup> )
۲/۶ ± ۰/۲ <sup>b</sup>	۲/۵ ± ۰/۲ <sup>b</sup>	۱/۶ ± ۰/۱ <sup>a</sup>	۱/۲ ± ۰/۱ <sup>a</sup>	۲	
ادامه جدول					
۸۲/۹ ± ۶/۳ <sup>c</sup>	۷۶/۹ ± ۴/۷ <sup>bc</sup>	۶۷ ± ۸/۴ <sup>b</sup>	۴۶/۵ ± ۶/۴ <sup>a</sup>	۱	IgM تام (mgdL <sup>-1</sup> )
۸۵/۷ ± ۸/۲ <sup>bc</sup>	۹۴/۷ ± ۲/۵ <sup>c</sup>	۷۱/۱ ± ۵/۴ <sup>b</sup>	۳۸/۹ ± ۲/۳ <sup>a</sup>	۲	
۵/۲ ± ۰/۵ <sup>a</sup>	۳/۹ ± ۰/۴ <sup>a</sup>	۳/۷ ± ۰/۵ <sup>a</sup>	۳/۳ ± ۰/۴ <sup>a</sup>	۱	ALT (IUdL <sup>-1</sup> )
۹/۲ ± ۰/۳ <sup>b</sup>	۴/۴ ± ۰/۶ <sup>a</sup>	۴/۶ ± ۱ <sup>a</sup>	۴ ± ۱/۴ <sup>a</sup>	۲	
۱۴۳/۴ ± ۱۲/۶ <sup>a</sup>	۱۳۳/۸ ± ۶/۸ <sup>a</sup>	۱۴۶/۳ ± ۵/۲ <sup>a</sup>	۱۵۰/۹ ± ۱۰/۷ <sup>a</sup>	۱	AST (IUdL <sup>-1</sup> )
۲۵۰/۴ ± ۱۳/۸ <sup>b</sup>	۱۵۹/۵ ± ۱۴/۱ <sup>a</sup>	۱۶۶ ± ۱۳/۲ <sup>a</sup>	۱۳۴/۵ ± ۱۱/۷ <sup>a</sup>	۲	

حروف نامشابه در هر ردیف نشان دهنده وجود اختلاف معنادار است ( $p < 0.05$ ). مقادیر مشاهده شده در جدول بیانگر میانگین  $\pm$  خطای انحراف معیار است

### بحث

کاهش یافته و نیز تخریب گلبول‌های قرمز افزایش می‌یابد. به نظر می‌رسد تجمع ترکیبات اکسیداتیو تشکیل شده در کبد و کلیه ناشی از استرس دلیل این مسئله باشند (Pascual et al. 2003). از سوی دیگر، مطالعات نشان داده است که گیاه علف چای غنی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی مانند فلاونوئیدهاست که از خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالایی برخوردارند (Cote et al., 2010). بنابراین به نظر می‌رسد بهبود فاکتورهای خونی در گروه تیمار در برابر استرس گرمایی ممکن است ناشی از تأثیر مثبت این ترکیبات باشد. در این بررسی استرس گرمایی موجب کاهش گلبول‌های سفید و لنفوسیت‌ها گروه شاهد در مقایسه با تیمارها شد. مطالعات نشان داده است کاهش گلبول‌های سفید نتیجه‌ای رایج در ماهیان تحت استرس گرمایی است (Langston et al. 2002; Pettersen et al. 2010; Valenzuela et al. 2008; Jokinen et al. 2005). همچنین در بروز استرس صرف‌نظر از عامل ایجاد کننده آن، کاهش تعداد لنفوسیت و افزایش تعداد نوتروفیل‌ها مشاهده شده که ناشی از کاهش تعداد لنفوسیت‌ها در کبد و طحال ماهیان تحت استرس بوده است (Peters and

توانایی ماهیان سردآبی در حفظ رشد و توان فیزیولوژیک در برابر افزایش دمای آب بسیار مورد توجه محققان بوده است، زیرا این امر سبب بروز استرس می‌شود که در نهایت عوارض ناشی از آن موجب تلفات و خسارات اقتصادی به صنعت آبزی‌پروری می‌گردد (Jeney et al., 1997; Alcorn et al., 2002; Valenzuela et al., 2008). این بررسی نشان داد که قرار گرفتن قزل‌آلا در معرض گرما موجب کاهش معنادار تعداد گلبول‌های قرمز، میزان هموگلوبین، هماتوکریت و MCHC در گروه شاهد نسبت به تیمارها شد ولی تأثیری بر MCV و MCH نداشت. مشابه این نتایج در مطالعات برخی از محققان نشان داده است که استرس گرمایی موجب کاهش تعداد گلبول‌های قرمز، هماتوکریت و هموگلوبین در Sockeye salmon، Atlantic halibut و Atlantic salmon شده است (Alcorn et al. 2002; Langston et al. 2002; Jokinen et al. 2010). بر اساس مطالعات Peters و Schwarzer (1985) طی روند استرس مزمن تعداد پرواریتروبلاست‌ها (سلول‌های پیش ساز گلبول‌های قرمز)

است که میزان پروتئین تام سرم در استرس‌های حاد افزایش می‌یابد در حالی‌که استرس مزمن موجب کاهش آن می‌گردد (Chen et al. 1992; Jeney et al. 1997). پروتئین تام سرم مجموعه‌ای از آلبومین و گلوبولین‌هاست و آلبومین یک حامل پروتئینی مهم در نقل و انتقال ترکیبات و عناصر مختلف در سیستم گردش خون ماهی است (Banaee et al. 2011). در بروز استرس مزمن به دلیل تجمع ترکیبات اکسیداتیو در کبد و کلیه به‌عنوان اصلی‌ترین اندام‌های سازنده آلبومین و گلوبولین‌ها، آسیب‌های ایجاد شده در این دو اندام موجب کاهش میزان پروتئین تام سرم می‌گردد (Pascual et al. 2003) و شاید به همین دلیل است که میزان این شاخص در ماهیان هنگامی‌که برای مدت نسبتاً طولانی در دمای نامناسب (دمایی بالاتر و یا پایین‌تر از دمای مناسب رشد) نگهداری می‌شوند، کاهش می‌یابد (Langston et al. 2002; Jokinen et al. 2010; Liu et al. 2012). مطالعه از عصاره ریواس (*Rheum officinale*) به‌عنوان ضد استرس موجب بهبود پروتئین تام سرم و آلبومین در کپور معمولی و نوعی ماهی سرخو (*Megalobrama amblycephala*) به‌ترتیب تحت استرس تراکم و گرما شده است (Xie et al. 2008; Liu et al. 2012). در این بررسی نیز گیاه علف چای تأثیر مشابه مطالعات بالا را داشته است. به‌نظر می‌رسد استفاده از گیاهان دارویی و از جمله گیاه علف چای که حاوی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی هستند (Cote et al., 2010) تا حدود زیادی قادر به رفع این نقیصه بوده است.

تغییرات میزان IgM تام سرم در این مطالعه در گروه شاهد مشابه تغییرات پروتئین تام و آلبومین بوده است. مطالعات متعدد نشان داده است که افزایش دما می‌تواند موجب افزایش این فاکتور گردد، زیرا این پدیده در Sea

از سوی دیگر، استفاده از گیاهان دارویی در مطالعات متعدد سبب افزایش تعداد گلبول‌های سفید شده که آن را ناشی از وجود ترکیباتی مانند فلاون‌ها و فلاونوئیدها می‌دانند که سبب بهبود روند تولید گلبول‌های سفید و یا موجب تحریک تکثیر آنها می‌شوند (Galina et al, 2009; Citarasu, 2010). از آنجایی که گیاه علف چای غنی از این ترکیبات است (Zou et al. 2004)، به‌نظر می‌رسد این مسئله در گروه‌های تیمار موجب افزایش تعداد گلبول‌های سفید و نیز جلوگیری از تغییر در ساختار جمعیت گلبول‌های سفید شده است. در این مطالعه میزان گلوکز در گروه شاهد در مرحله دوم نمونه‌برداری به‌طور معناداری بیشتر از تیمار T50 و T75 بود. به‌طور کلی در زمان بروز استرس، نیاز بیشتری به انرژی وجود دارد و همین امر موجب افزایش سریع گلوکز خون می‌گردد (Pottinger 1998; Hsieha et al. 2003, Frisch and Anderson 2005; Xie et al. 2008). معمولاً پس از یک استرس حاد میزان گلوکز خون به‌سرعت افزایش می‌یابد (Cnaani 2006) اما در استرس‌های مزمن میزان گلوکز خون به‌تدریج کاهش یافته و حتی به میزان اولیه بازمی‌گردد (Hsieha et al 2003). براساس نتایج حاصل به‌نظر می‌رسد گیاه علف چای قابلیت ضد استرس وابسته به دوز داشته و توانسته میزان گلوکز گروه‌های تیمار را پایین نگاه دارد. یکی از تغییرات قابل توجه در شاخص‌های سرمی در این بررسی مربوط به میزان پروتئین تام و آلبومین و کاهش معنادار آن در تیمارهای T0 و T25 در مقایسه با T50 و T75 است. اصولاً ارزیابی میزان پروتئین تام و آلبومین به‌عنوان یک شاخص مهم در پاسخ به استرس‌های محیطی ارزیابی می‌گردد (Adham et al. 1997). تحقیقات نشان داده

شده است. بررسی‌ها نشان داده است که استفاده از گیاه گل تاج خروس (*Lipidium meyenii*)، بادرنجبویه (*Melissa officinalis*)، آلوئه‌ورا، بوزیدان (*Withania somnifera*)، زنجبیل (*Zingiber officinale*)، پنجه مرغی (*Cynodon dactylon*)، دارچین (*Cinnamomum zeylanicum*)، برگ گردو (*Juglans regia*) و نعناع (*Mentha piperita*) موجب افزایش درصد بقا در ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان، تیلاپیا (*Oreochromis mossambicus*) و کپور معمولی شده است (Lee et al. 2004; Immanuel et al. 2009; Farahi et al. 2012; Hajibeglu and Sudagar 2010).

در یک ارزیابی کلی، استفاده از گیاهان دارویی در آبی‌پروری بدون شک اثرهای مفیدی بر سلامت ماهیان و بازدهی تولید دارد. نتایج مطالعه حاضر بر اساس داده‌های خونی و سرمی نشان داده است که گیاه علف چای می‌تواند مقاومت و بازماندگی ماهی قزل‌آلا را در برابر استرس گرمایی افزایش داده و در دوز ۵۰۰ppm بهترین تأثیر را داشته است. از آنجایی که این بررسی برای اولین بار تأثیر این گیاه را بر ماهیان قزل‌آلای تحت استرس گرمایی به روش غوطه‌وری با عصاره آبی این گیاه بررسی کرده، به نظر می‌رسد برای دستیابی به اطلاعات بیشتر در تعیین دوز مناسب خوراکی این گیاه، ارزیابی اثرهای مفید و یا عوارض جانبی احتمالی آن و نیز معرفی این گیاه در شکل مناسب تجاری به صنعت آبی‌پروری برای مصرف در مراکز تکثیر و پرورش ماهیان نیاز به مطالعات بیشتر و تکمیلی دارد.

#### منابع

Abdelhadi, Y. M., Saleh, O. S. and Sakr, S. F. 2010. Study on the effect of wormseed plants; *Artemisia cina* L. and Chamomile; *Matricaria chamomilla* L. on growth parameters and immune

Cecchini and Saroglia 2002; Varsamos et al. 2006), Atlantic salmon (Jokinen et al. 2010), Atlantic Halibut (Hoare et al. 2002), Nile tilapia (Magnadóttir et al. 1999) and cod (Dominguez et al. 2005). اینک مشاهده شده است. اینک چرا تغییرات IgM در قزل‌آلای رنگین‌کمان مشابه مطالعات دیگر نبود، بر ما معلوم نیست و ممکن است این امر مربوط به تفاوت گونه‌ای باشد. از سوی دیگر، افزایش میزان IgM با افزایش لنفوسیت‌ها در این مطالعه هم‌خوانی دارد و شاید بتوان بروز افزایش IgM را تابعی از افزایش این سلول‌ها در گروه‌های تیمار نسبت به شاهد دانست. در این بررسی میزان ALT و AST تیمار T75 در مرحله دوم به‌طورمعناداری بیشتر از سایر گروه‌ها بود. مطالعات نشان داده است که بروز استرس می‌تواند موجب افزایش فعالیت این دو آنزیم گردد (Cho et al. 1994) که این امر برخلاف نتیجه به‌دست آمده در این بررسی است. معمولاً افزایش دو آنزیم ALT و AST در مواقعی که آزرده‌گی کبدی اتفاق افتاده باشد، افزایش می‌یابد (Park et al. 2012). مطالعات نشان داده در ۲/۴٪ افراد مبتلا به افسردگی که برای درمان از گیاه علف چای استفاده کرده‌اند، عوارض کبدی مشاهده شده است (Greeson et al. 2001). همچنین عوارض کبدی در موش‌های رات باردار که بیش از ۱۰۰ mg/Kg از عصاره این گیاه را دریافت داشته‌اند، نیز مشاهده شده است (Vattikuti and Ciddi, 2005). بنابراین به‌نظر می‌رسد افزایش این دو آنزیم در تیمار T75 تا حدودی مربوط به آزرده‌گی کبدی در ماهیان این تیمار باشد. ارزیابی درصد بازماندگی نشان داد که بالاترین میزان بازماندگی مربوط به تیمار T50 بوده است و تیمارهای T25، T75 و T0 پس از آن قرار گرفته‌اند. تأثیر مصرف گیاهان دارویی بر افزایش میزان بازماندگی ماهیان توسط محققان دیگر نیز مشاهده



cranberries and their biological properties. Critical reviews in food science and nutrition,50: 666-679

**Cubero, L and Molinero, A. 1997.** Handling confinement and anesthetic exposure induces changes in the blood and tissue immune characteristics of gilthead sea bream. *Diseases Aquatic Organisms*. 31:89-94

**Dominguez, M., Takemura, A. and Tsuchiya, M. 2005.** Effects of changes in environmental factors on the non-specific immune response of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L. *Aquaculture Research*, 36:391-397

**Farahi, A., Kasiri, M., Sudagar, M., Soleimani Iraei, M. and Zorriehzahara, S.M.J. 2012.** Effect of dietary supplementation of *Melissa officinalis* and *Aloe vera* on hematological traits, lipid oxidation of carcass and performance in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Online Journal of Animal and Feed Research*, 2(1): 01-05

**Frisch, A. and Anderson, T. 2005.** Physiological stress responses of two species of coral trout (*Plectropomus leopardus* and *Plectropomus maculatus*). *Comparative Biochemistry and Physiology*, 140: 317-327

**Galina J, Yin G, Ardo L. and Jeney. Z. 2009.** The use of immunostimulating herbs in fish. An overview of research. *Fish Physiology and Biochemistry*, 35:669-676

**Ghiasi, M., Zorrieh Zahra, S.J., Bahonar, A.R., Pourgholam, R., Farabi, S.M.V., Binaii, M., and Saeedi, A.A. 2013.** Evaluation of health management of breeding and rearing rainbow trout

(*Oncorhynchus mykiss*) farms in Mazandaran province. *Journal of Fisheries, Islamic Azad University, Azadshahr Branch*, 7:103-112(In Persian)

**Gomes. L. C, Araujo-Lima. C. A. R. M, Roubach..R., Chippari-Gomes. A. R., Lopes. N. P. and Urbinati. E .C. 2003.** Effect of fish density during transportation on stress and mortality of juvenile tambaqui *Colossoma macropomum*. *Journal of the World Aquaculture Society*,34: 76-84

**Greeson, J.M., Sanford, B. and Monti, D.A.2001.** St. John's wort (*Hypericum perforatum*): a review of the current pharmacological, toxicological, and clinical literature. *Psychopharmacology*,153:402-414

response of African catfish, *Clarias gariepinus*. *Journal of Fisheries International*, 5:1 - 7

**Adhama, K., Khairallaa, A., Abu- Shabanaa, M., Abdel- Maguida N. and Abdel- Moneim, A. 1997.** Environmental stress in lake maryut and physiological response of *Tilapia zilli* Gerv. *Journal of Environmental Science and Health*, 32: 2585-2598

**Alcorn, S.W., Murra, A. L. and Pascho, R. J. 2002.** Effects of rearing temperature on immune functions in sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*). *Fish and Shellfish Immunology*. 12:303-334

**Banaee, M., Sureda, A., Mirvaghefi, A. R. and Rafei, G. R. 2011.** Effect of long-term silymarin oral supplementaion on the blood biochemical profile of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish Physiology and Biochemistry*. 37:885-896

**Barton, B. A., Morgan. J. D. and Vijayan, M. M. 2002.** Physiological and condition-related indicators of environmental stress in fish. Physiological and condition-related indicators of environmental stress in fish. Chapter 4 in S.M. Adams, editor. *Biological indicators of aquatic ecosystem stress*. American Fisheries Society, Bethesda, Maryland: 111 – 148

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

**Cecchini, S. and Saroglia, M. 2002.** Antibody response in sea bass(*Dicentrarchus labrax* L.) in relation to water temperature and oxygenation. *Aquaculture Resarch*.33:607-613.

**Chen, J. C. and Lin, C. Y. 1992.** Oxygen consumption and ammonia-N excretion of *Penaeus chinensis* juveniles exposed to ambient ammonia at different salinity levels. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 102:287-291

**Cho, Y. J., Kim, Y. Y., Lee, N. G. and Choi, Y. G. 1994.** Basic studies on developing equipment for waterless transportation of live fish. *Bulletin of the Korean Fisheries Society*. 27:501-508

**Citarasu, T. 2010.** Herbal biomedicines: a new opportunity for aquaculture industry. *Aquaculture International*, 18: 403-414

**Cnaan, A. 2006.** Genetic perspective on stress response and disease resistance in aquaculture. *Israeli Journal of Aquaculture*, 58:378-383

**Cote, J., Caillet, S., Doyon, G., Sylvain, J.F. and Lacroix, M. 2010.** Bioactive compounds in

- Wintrobe's-clinical hematology, 10th edn. Lippincott Williams & Wilkins, New York.
- Lee, K.J., Dabrowski, K., Rinchar, J., Gomez, C., Guz, L. and Vilchez, C. 2004.** Supplementation of maca (*Lepidium meyenii*) tuber meal in diets improves growth rate and survival of rainbowtrout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) alevins and juveniles. *Aquaculture Research*, 35: 215-223
- Liu, B., Xie, J., Ge, X., Xu, P., Miao, L., Zhou, Q. and Pan, L. 2012.** Comparison study of the effect of anthraquinone extract and emodin from *Rheum officinale* Bali on the physiological response, disease resistance of *Megalobrama amblycephala* under high temperature stress. *Turkish Journal Fisheries and Aquaculture Science*, 12:905-916
- Magnadóttir, B., Jónsdóttir, H., Helgason, S., Björnsson, B., Jørgensen, T. O. and Píllström, L. 1999.** Humoral immune parameters in Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) II. The effects of size and gender under different environmental conditions. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 122(2):181-188.
- Martarelli, D., Martarelli, B., Pediconi, D., Nabissi, M. I., Perfumi, M. and Pompei, P. 2004.** *Hypericum perforatum* methanolic extract inhibits growth of human prostatic carcinoma cell line orthotopically implanted in nude mice. *Cancer Letter*, 210:27-33.
- Nikoskelainen, S., Bylund, G and Lilius, E. M. 2004.** Effect of environmental temperature on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) innate immunity. *Developmental and Comparative Immunology*, 28:581-92
- Öztürka, N., Korkmaz, S. and Öztürkb, Y. 2007.** Wound-healing activity of St. John's Wort (*Hypericum perforatum* L.) on chicken embryonic fibroblasts. *Journal of Ethnopharmacology*, 111:33 – 39
- Park, I.S., Hur, J.W. and Choi, J.W. 2012.** Hematological Responses, Survival, and Respiratory Exchange in the Olive Flounder, *Paralichthys olivaceus*, during Starvation. *Asian-Australasian Journal Animal Science*, 25: 1276 – 1284.
- Pascual, P., Pedrajas, J.R., Toribio, F., Lo'pez-Barea, J. and Peinado, J. 2003.** Effect of food deprivation on oxidative stress biomarkers in fish (*Sparus aurata*). *Chemico-Biological Interactions*, 145:191-199
- Perera, T., Berna, A., Scott, K., Lemaitre-Guillier, C. and Bernier, F. 2008.** Proteins related to St. John's Wort p27SJ, a suppressor of HIV-1 expression, are ubiquitous in plants. *Photochemistry*, 69:865-72
- Hajibeglou, A. A and Sudagar, M. 2010.** Immune response of common carp (*Cyprinus carpio*) fed with herbal immunostimulants diets. *Agricultural Journal*, 5(3):163 - 172
- Hoare, R., Hovland, H., Langston, A. L., Imsland, A., Stefansson, S. O., Mulcahy, M. and Wergeland, H. I. 2002.** Susceptibility of three different strains of juvenile Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) cultured at two different temperatures to *Vibrio anguillarum* and temperature effect on antibody response. *Fish and Shellfish Immunology*, 13:111-23.
- Hsieha, S. L., Chenb, Y. N. and Kuo, C. M. 2003.** Physiological responses, desaturase activity, and fatty acid composition in milkfish (*Chanos chanos*) under cold acclimation. *Aquaculture*, 220:903-918
- Immanuel, G., Uma, R. P. UMA, Iyapparaj, P., Citarasu, T., Punitha, S. M., Michael Babu, M. and Palavesam, A. 2009.** Dietary medicinal plant extracts improve growth, immune activity and survival of tilapia *Oreochromis mossambicus*. *Journal of Fish Biology*, 74: 1462-1475
- Iranian Fisheries Organization. 2014.** Fisheries Statistic yearbook, planning and development office, fisheries public relative development. 64p
- Jeney, G., Galeotti, M., Volpatti, D., Geny, Z. and Anderson, D. P. 1997 .** Prevention of stress in rainbow trout (*Oncorhynchus mikiss*) fed diets containing different doses of glucan. *Aquaculture*, 154:1-15
- Jokinen, I. E., Salo, H. M., Markkula, E., Rikalainen, K., Arts, M. T. and Browman, H. I. 2010.** Additive effects of enhanced ambient ultraviolet B radiation and increased temperature on immune function, growth and physiological condition of juvenile (parr) Atlantic salmon, *Salmo salar*. *Fish and Shellfish Immunology*, 30:102-8
- Langstona, A. L., Hoarea, R., Stefanssona, M., Fitzgeralda, R., Wergelandb, H. and Mulcahya, M. 2002.** The effect of temperature on non-specific defence parameters of three strains of juvenile Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.). *Fish and Shellfish Immunology*, 12:61-76
- Larypoor, M., Akhavansepahy, A., Rahimifard, N. and Rashedi, H. 2009.** Antidermatophyte activity of the essential oil of *Hypericum perforatum* of north of Iran. *Journal of Medicinal Plants*, 8:110-117
- Lee, R.G., Foerster, J., Jukens, J., Paraskevas, F., Greer, J. P. and Rodgers, G.M. 1998.**

- parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish Physiology and Biochemistry*,34:159-67
- Varsamos, S., Flik, G., Pepin, J. F., Bonga, S.E. and Breuil, G. 2006.** Husbandry stress during early life stages affects the stress response and health status of juvenile sea bass, *Dicentrarchus labrax* Fish and Shellfish Immunology;20:83-96.
- Vattikuti, R. and Ciddi, V. 2005.** An overview on *Hypericum perforatum* Linn. *Natural Product Radiance*,4:368 -381
- Wendelaar Bonga. S.E. 1997.** The stress response in fish, *Physiological reviews*,77: 591-625.
- Xie, J., Liu, B., Zhou, Q., Su, Y., He, Y., Pan, L., Ge, X. and Xu, P. 2008.** Effects of anthraquinone extract from rhubarb *Rheum officinale* Bail on the crowding stress response and growth of common carp *Cyprinus carpio* var. Jian. *Aquaculture*,281:5-11
- Yin, G., Jeney, G., Racz, T., Xu, P., Jun, X. and Jeney, Z. 2006.** Effect of two Chinese herbs (*Astragalus radix* and *Scutellaria radix*) on non-specific immune response of tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture*, 253:39-47
- Zar, J.H. 1994.** Biostatistical analysis, Prentice-Hall, New Jersey, 662 pp
- Zou, Y., Lu, Y. and Wei, D. 2004.** Antioxidant Activity of a Flavonoid-Rich Extract of *Hypericum perforatum* L. in Vitro. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 52:5032-5039.
- Peters, G. and Schwarzer, R. 1985.** Changes in hemopoietic tissue of rainbow trout under influence of stress. *Diseases Aquatic Organism*,1:1-10
- Pettersen, E. F., Bjørløw, I., Hagland. T. J. and Wergeland, H. I. 2005.** Effect of seawater temperature on leucocyte populations in Atlantic salmon post-smolts. *Veterinary Immunology and Immunopathology*,106:65-76.
- Pottinger, T. G. 1998.** Changes in blood cortisol, glucose and lactate in carp retained in anglers' keepnets. *Fish Biology*,53:728-742
- Riazi, A., Majnoun Hosseini, N., Naghdi Badi, H., Naghavi, M. R., Rezazadeh, S. H. and Ajani, Y. 2011.** The study of morphological characteristics of St. John's Wort (*Hypericum perforatum* L.) populations in Iran's natural habitats. *Journal of Medicinal Plans*,10:49-64
- Sahu, S., Das, B. K., Mishra, B. K., Pradhan, J. and Sarangi, N. 2007.** Effect of *Allium sativum* on the immunity and survival of *Labeo rohita* infected with *Aeromonas hydrophila*. *Journal of Applied Ichthyology*, 23:80-86.
- Shahsavani, D., Mohri, M. and Gholipour Kanani, H. 2010.** Determination of normal values of some blood serum enzymes in *Acipenser stellatus* Pallas. *Fish Physiology and Biochemistry*, 36: 39-43
- Valenzuela, A. E., Silva, V. M. and Klempau, A.E. 2008.** Effects of different artificial photoperiods and temperatures on haematological

## Effect of aqueous extracts of *Hypericum perforatum* on hemato- serological parameters and survival of rainbow trout (*Oncorhynchus mikiss*) under thermal stress

Maryam Ghiasi<sup>1\*</sup>, Saeideh Aghajani<sup>2</sup>, Mohammad Binaii<sup>3</sup>, Reza Pourgholam<sup>4</sup>, Alireza Babaalian Amiri<sup>5</sup>

1 – Assistant Prof., Caspian Sea Ecology Research Center, Sari

2 – M.Sc. Graduated, Islamic Azad university of Damghan, Damghan

3 – M.Sc. Graduated, Caspian Sea Ecology Research Center, Sari

4 – Associate Prof., Caspian Sea Ecology Research Center, Sari

5 - M.Sc. Graduated, Veterinarian Department of Mazandaran Province, Sari

\*Corresponding author: ghiasimaryam4@gmail.com

### Abstract

A 27 day study was undertaken to evaluate the effects of aqueous extracts of *Hypericum perforatum* on hemato-serological parameters and survival of rainbow trout (*Oncorhynchus mikiss*) under thermal stress ( $20 \pm 2$  °C). A total of 360 rainbow trout ( $97.2 \pm 1.6$ g) were divided randomly into four groups and immersed in different concentrations (0, 250, 500 and 750 ppm) (T0, T25, T50 and T75) of aqueous extracts of *H. perforatum*. The blood samples were collected on day 12 and 27 and hemato-serological parameters were determined. In stage 1, the total red blood cell, hemoglobin and hematocrit didn't show a significant difference among controls and treatments but in stage 2, those parameters were significantly increased in T50 and T75 compared to T0 and T25. The total white blood cell, lymphocytes, total protein, albumin, and total IgM showed a significant increase in treatments compared to control but the results in the neutrophils was opposit. The MCV and MCH didn't significantly change in two stages but the MCHC of T75 were significantly higher than T0 and T25. The glucose of T50 and T75 were significantly lower than T0 and T25. The hepatic enzymes, ALT and AST of T75 significantly increased compared to other groups in stage2. The highest and lowest survival rates were observed in T50 and T0, respectively. Based on the results, it seems that *Hypericum perforatum* could control the effects of stress and increase the survival rate of rainbow trout when exposed to chronic heat stress.

**Keywords:** Thermal stress, *Hypericum perforatum*, Rainbow trout, Survival, Hemato- serological parameters