

مقاله علمی - پژوهشی:

ارزیابی اثرات حمام با غلظت‌های مختلف عصاره هیدروالکلی آلوئه‌ورا (*Aloe brabradensis*) بر کنترل ساپروولگنیازیس، شاخص‌های خونی و پاسخ‌های ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

نرگس عالیشاه^۱، فرید فیروزبخش^{۱*}، زبینه محرابی^۱

*f.firouzbakhsh@sanru.ac.ir

۱- گروه شیلات، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران،

تاریخ دریافت: مهر ۱۳۹۹

تاریخ پذیرش: خرداد ۱۴۰۰

چکیده

هدف از این تحقیق بررسی اثر غلظت‌های مختلف عصاره هیدروالکلی گیاه آلوئه‌ورا با روش حمام‌درمانی بر شاخص‌های سرمی، خونی و کنترل بیماری ساپروولگنیازیس در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان بود. بدین منظور، ۱۸۰ ماهی با میانگین وزن 22 ± 0.27 گرم پس از ۱۰ روز سازگاری با محیط، در ۴ چهار گروه آزمایش و دو گروه شاهد منفی (بدون آلودگی و بدون درمان با آلوئه‌ورا) و شاهد مثبت (با آلودگی و بدون درمان با آلوئه‌ورا) با سه تکرار (هر تکرار ۳۰ قطعه ماهی) به طور تصادفی تقسیم شدند. پس از فلس‌برداری از ساقه دمی ماهیان، به استثناء گروه شاهد منفی سایر گروه‌ها با غلظت 3×10^5 ژئوسپور *Saprolegnia parasitica* در هر لیتر آب به مدت ۴ ساعت آلوده شدند. پس از آن، چهار گروه آزمایش روزانه یک ساعت و به مدت یک هفته به ترتیب ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم در لیتر عصاره هیدروالکلی آلوئه‌ورا دریافت کردند. بررسی نتایج آزمایش‌ها در پایان یک هفته حمام‌دهی با غلظت‌های مختلف آلوئه‌ورا (هفته اول) و یک هفته پس از قطع حمام‌دهی (هفته دوم)، نشان داد که شاخص‌های خون‌شناسی، بیوشیمیایی سرم و ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان درمان شده ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر عصاره هیدروالکلی آلوئه‌ورا به صورت معنی‌داری افزایش یافته است. همچنین در این غلظت کم‌ترین تلفات در ماهیان مشاهده شد که نسبت به گروه کنترل مثبت تفاوت معنی‌دار آماری داشت ($p < 0.05$). با توجه به نتایج به‌دست آمده می‌توان گفت که عصاره هیدروالکلی آلوئه‌ورا، اثر ضد قارچی علیه *S. parasitica* دارد و برای درمان می‌توان حمام با غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر روزانه به مدت یک ساعت، برای یک دوره یک هفته‌ای را پیشنهاد نمود.

کلمات کلیدی: آلوئه‌ورا، ساپروولگنیازیس، قزل‌آلای رنگین کمان، حمام درمانی، خون‌شناسی

*نویسنده مسئول

مقدمه

ساپروولگنیا پارازیتیکا (*Saprolegnia parasitica*) متعلق به گروه کپک‌های آبی و جزو خانواده ساپروولگنیاسه می‌باشد که در صنعت تکثیر و پرورش آبزیان مشکلات بسیاری را ایجاد کرده است و در تمام مراحل زندگی ماهیان تأثیرگذار است. این اوومیسیت با ایجاد میسیلیوم در اندام‌های سطحی منجر به عفونت در ماهیان می‌شود (Ebrahimzadeh Mousavi et al., 2007). مالاشیت‌گرین به دلیل حلالیت بالا در آب و اثر قوی قارچ‌کشی برای درمان عفونت‌های قارچی ماهیان و تخم آنها استفاده می‌شد (Alderman and Clifton, 1993)، اما امروزه به دلیل اثبات خاصیت سرطان‌زایی استفاده از آن در بسیاری از کشورها ممنوع شده است (Meyer and Jorgenson, 1983). سایر جایگزین‌ها مانند فرمالین، پرمنگنات پتاسیم و پراکسید هیدروژن معرفی شده‌اند که به دلیل ماهیت شیمیایی و عوارض جانبی برای مصرف کننده و قیمت بالا مورد استقبال قرار نگرفتند. از این‌رو، نیاز به جایگزینی سایر روش‌ها برای درمان‌های شیمیایی بیماری‌های قارچی احساس می‌شود (Ebrahimzadeh Mousavi et al., 2007).

استفاده از مشتقات گیاهی به دلیل سمیت پایین، حداقل اثرات مخرب محیطی، نسبتاً ارزان و اثر پایدار می‌توانند جایگزین مناسبی برای داروهای شیمیایی باشد. گیاه آلوئه‌ورا (*Aloe brabradensis*) در برگ‌های خود غلظت بالایی از ترکیبات آنتراکینون به همراه یک ژل شفاف دارد. این ژل حاوی آنتی‌اکسیدان و واجد خواص ضد ویروس، ضد باکتری و ترمیم‌کننده زخم است (Shakib et al., 2019). این گیاه ویژه نواحی گرمسیری با پراکنش جهانی است و از نظر پلی‌ساکاریدها (سلولز، پکتین، گلوکومانان، آسمانان و مانوز) بسیار غنی است. اثرات دارویی آلوئه‌ورا با پلی‌ساکاریدهای موجود در ژل آن ارتباط نزدیکی دارد. بخش بزرگی از برگ‌های این گیاه حاوی آب همراه با سایر مواد تشکیل‌دهنده جامد (تقریباً ۱-۵٪) است. گزارش شده است که ۷۵٪ ماده فعال شامل ویتامین‌های محلول در آب (ویتامین C)، چربی (ویتامین A و E)، مواد معدنی، آنزیم‌ها، پلی‌ساکاریدهای ساده و پیچیده،

اسیدهای آلی و ترکیبات فنلی هستند و نیز طیف گسترده‌ای از اثرات دارویی مانند ضد التهاب، ضد قارچ و ضد داروهای رادیواکتیو می‌باشند (Mehrabi and Firouzbakhsh, 2020). چندین مطالعه اثر ژل آلوئه‌ورا در تحریک سیستم ایمنی، افزایش رشد و بهبود زخم در ماهیان را تایید کرده‌اند. از جمله این مطالعات می‌توان به اثر عصاره آلوئه‌ورا بر افزایش ایمنی و رشد ماهی شیربت (*Tor grypus*) (Safari et al., 2019) و بهبود زخم‌های حاصل از تخم‌کشی و افزایش ایمنی در مولدین ماهی *Brycon amazonicus* اشاره کرد (Zanuzzo et al., 2015). در مطالعه Mehrabi و همکاران (۲۰۱۹) نیز تأثیر مثبت استفاده از گیاه آلوئه‌ورا بر رشد و ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به ثبت رسید. با توجه به اینکه تاکنون پژوهشی پیرامون استفاده از عصاره گیاه آلوئه‌ورا به روش درمان در آب و بررسی اثرات آن بر عملکرد سیستم ایمنی در مواجهه با بیماری قارچی ساپروولگنیازیس در آبزیان صورت نگرفته است و با توجه به فراوانی منابع این گیاه دارویی در کشور، مطالعه حاضر با هدف بهبود شاخص‌های خونی، ایمنی و نیز کنترل بیماری ساپروولگنیازیس در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان آلوده به ساپروولگنیا پارازیتیکا (*S. parasitica*) تحت حمام‌درمانی با عصاره هیدروالکلی آلوئه‌ورا طراحی شده است.

مواد و روش کار

آماده سازی ژئوسپور *Saprolegnia parasitica*

برای این آزمایش از استوک خالص قارچ ساپروولگنیا پارازیتیکا (KC۹۹۲۷۱۷) جدا شده از ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان استفاده شد. رشته‌های رشد یافته در محیط ساپروود دکستروز آگار به صورت قطعات مدور (به قطر ۱ سانتی‌متر) به لوله‌های آزمایش حاوی آب مقطر استریل و بذر شاهدانه منتقل و به مدت یک هفته در دمای ۲۰-۱۸ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. سپس ژئوسپورهای تشکیل شده به‌وسیله لام هموسیتومتر شمارش و جهت مواجهه استفاده شدند (Firouzbakhsh et al., 2014).

خونگیری و انجام آزمایش‌ها

خونگیری از ماهیان در دو مرحله و با یک هفته فاصله انجام شد، مرحله اول در پایان یک هفته حمام‌دهی با غلظت‌های مختلف عصاره هیدروالکلی آلوئه‌ورا (هفته اول) و مرحله دوم یک هفته پس از قطع درمان (هفته دوم) انجام شد (Alishahi et al., 2019). گلبول‌های سفید و قرمز با استفاده از لام هموسیئومتر و محلول رقیق کننده نات-هریک شمارش شدند (Stoskopf, 1993). اندازه‌گیری هماتوکریت نیز به روش میکرو هماتوکریت انجام شد (Borges et al., 2004). میزان هموگلوبین نیز به روش سیانومت هموگلوبین اندازه‌گیری شد. برای تهیه سرم، نمونه خون لخته شده، بدون استفاده از ماده ضد انعقاد سانتریفیوژ و سرم آن استحصال شد و به منظور سنجش فراسنجه‌های بیوشیمیایی و ایمنی سرم به فریزر -۷۰ درجه سانتی‌گراد انتقال پیدا کرد. اندازه‌گیری پروتئین تام و آلبومین به روش Bradford (۱۹۷۶) و به وسیله کیت‌های آزمایشگاهی تجاری (زیست شیمی، تهران، ایران) انجام گرفت. گلوبولین نیز با تفاضل غلظت‌های پروتئین تام و آلبومین اندازه‌گیری شد (Nayak et al., 2008). فعالیت لیزوزیم با استفاده از روش Kumari و همکاران (۲۰۰۶) بر اساس لیز باکتری گرم مثبت *Micrococcus lysodeikticus* (Sigma ۳۷۷۰M) حساس به آنزیم لیزوزیم اندازه‌گیری شد. جهت سنجش فعالیت انفجار تنفسی لوکوسیت (NBT) از روش Sahoo و همکاران (۲۰۰۵) استفاده شد. برای سنجش میزان عامل مکمل (ACH۵۰) نیز از روش Matsuyama و همکاران (۱۹۸۸) استفاده شد.

روش تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار آماری SPSS نسخه ۲۳ انجام شد. نرمال بودن داده‌ها بر اساس آزمون Kolmogorov-Smirnov بررسی شد. مقایسه بین میانگین‌ها با روش آنالیز واریانس یک طرفه و اختلاف بین میانگین‌ها با کمک آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح معنی داری ۰/۰۵ صورت گرفت. برای رسم نمودارها نیز از برنامه Excel استفاده شد.

مواجهه ماهیان با قارچ *Saprolegnia parasitica*

ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان از یک مرکز معتبر و دارای گواهی سلامت تهیه و به سالن پرورش منتقل شدند. به منظور ضدعفونی سطح بدن ماهیان از آلودگی‌های احتمالی، به مدت یک دقیقه در حمام نمک ۵ درصد قرار گرفتند و برای سازگاری با محیط جدید به مدت ۱۰ روز نگهداری شدند (Alishahi et al., 2019). طی این مدت ماهیان با غذای تجاری ساخت شرکت بیضاء تغذیه شدند. برای ایجاد استرس و افزایش نفوذ پذیری ژئوسپور قارچ، پس از بیهوش شدن ماهیان با پودر گل میخک (۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) در ناحیه ساقه دمی به طول ۳ سانتی‌متر فلس‌برداری انجام شد (Mehrabi et al., 2019). سپس ماهیان هر تکرار به استثنا گروه شاهد منفی با غلظت 3×10^5 ژئوسپور در هر لیتر به مدت ۴ ساعت به روش ساکن در تانک‌های حاوی ۷۵ لیتر آب مواجهه داده شدند (Firouzbaksh et al., 2014). در نهایت ۱۸۰ قطعه ماهی با میانگین وزنی 22 ± 0.27 گرم در ۶ گروه آزمایشی با سه تکرار (هر تکرار ۱۰ قطعه ماهی) به طور تصادفی در ۱۸ تانک مدور ۲۵۰ لیتری با حجم ۱۰۰ لیتر آب چاه تقسیم شدند. تا ۳ روز بعد از چالش با ژئوسپور، غذادهی و تعویض آب صورت نگرفت. سپس ماهیان با غذای تجاری (شرکت بیضاء) به میزان ۲/۵٪ وزن بدن و در ۳ نوبت روزانه تغذیه شدند. همچنین روزانه ۵۰٪ آب تانک‌ها تعویض شد. شش روز پس از چالش با مشاهده اولین علائم ظاهری ساپروولگنیازیس (ظهور توده‌های پنبه‌ای کرک مانند در ناحیه‌ی فلس‌برداری شده) در حداقل ۱۰ درصد ماهیان گروه شاهد، حمام درمانی با پودر عصاره هیدروالکلی آلوئه‌ورا خریداری شده از شرکت گیاه اسانس گرگان با غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر در ۴ تیمار به مدت یک ساعت در روز به مدت یک هفته ادامه یافت. همچنین وضعیت ماهیان تا یک هفته پس از پایان درمان نیز مورد بررسی قرار گرفت. دو گروه دیگر نیز شامل گروه‌های کنترل مثبت (با آلودگی و بدون درمان با آلوئه‌ورا) و کنترل منفی (بدون آلودگی و بدون درمان با آلوئه‌ورا) بودند. در مدت آزمایش میانگین دما، 15 ± 0.79 درجه سانتی‌گراد، 7.3 ± 0.2 pH، اکسیژن محلول، 7.14 ± 0.13 میلی‌گرم بر لیتر و نیز سختی آب، ۶۰۰ میلی‌گرم بر لیتر کربنات کلسیم ثبت شد.

نتایج

شاخص‌های خون‌شناسی

بر اساس نتایج ارائه شده در جدول ۱، در هفته اول و دوم نمونه برداری میزان هموگلوبین در تیمارهای ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر عصاره هیدروالکلی آلوئه‌ورا نسبت به تیمارهای شاهد و ۵۰ میلی گرم بر لیتر افزایش معنی‌دار داشت ($p < 0/05$). همچنین بیشترین میزان هموگلوبین در هفته اول در تیمار ۱۵۰ و در هفته دوم در تیمار ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر عصاره هیدروالکلی آلوئه‌ورا ثبت شد. بیشترین تعداد گلبول‌های قرمز در هفته اول و دوم نیز در

تیمار ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر عصاره هیدروالکلی آلوئه‌ورا ثبت شد. از نظر درصد هماتوکریت بیشترین میزان مربوط به تیمار ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر بود که در هفته اول با تیمارهای شاهد منفی و مثبت و تیمار ۲۰۰ میلی گرم و در هفته دوم با تمامی تیمارها اختلاف معنی دار آماری داشت ($p < 0/05$). از لحاظ تعداد گلبولهای سفید، تیمار ۱۰۰ میلی گرم در هفته اول و دوم افزایش معنی داری داشت ($p < 0/05$) نسبت به سایر تیمارها و گروه‌های شاهد نشان داده است (جدول ۱).

جدول ۱: شاخص‌های خونی قزل‌آلای رنگین‌کمان آلوده به قارچ *Saprolegnia parvitytica* (S. parasitica) در پایان یک هفته حمام دهی با عصاره هیدروالکلی آلوئه‌ورا (هفته اول) و پایان یک هفته پس از قطع حمام دهی (هفته دوم) (حروف غیر همنام در هر ستون نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح ۰/۰۵ است).

Table 1: Hematological parameters of rainbow trout infected with *Saprolegnia parasitica* after one-week therapy by *Aloe vera* extract (first week) and one week after it (second week)

شاخص‌های خونی	آلوئه‌ورا (میلی گرم / لیتر)	هفته اول	هفته دوم
هموگلوبین (g/dL)	کنترل منفی (۰)	۷/۳۶±۰/۰۱ ^{bc}	۷/۲۸±۰/۰۸ ^b
	کنترل مثبت (۰)	۷/۱۸±۰/۰۱ ^c	۷/۲۰±۰/۰۲ ^b
	۵۰	۷/۶۷±۰/۰۱ ^b	۷/۴۹±۰/۰۱۳ ^b
	۱۰۰	۸/۶۶±۰/۰۱ ^a	۸/۲۵±۰/۰۲۱ ^a
	۱۵۰	۸/۸۴±۰/۰۲۳ ^a	۸/۰۰±۰/۰۱۰ ^a
	۲۰۰	۸/۵۸±۰/۰۱ ^a	۷/۹۹±۰/۰۵۰ ^a
تعداد گلبول‌های سفید (×۱۰ ^۲ μL)	کنترل منفی (۰)	۱۴/۰۶±۰/۰۱۱ ^b	۱۷/۰۰±۰/۰۲۰۰ ^b
	کنترل مثبت (۰)	۱۳/۵۰±۰/۰۱۵ ^b	۱۴/۳۶±۰/۰۲۶ ^c
	۵۰	۱۵/۰۶±۰/۰۱۱ ^b	۱۵/۵۳±۰/۰۶۴ ^c
	۱۰۰	۱۸/۴۰±۰/۰۲۷۰ ^a	۱۷/۶۰±۰/۰۳۱ ^a
	۱۵۰	۱۵/۰۰±۰/۰۱۰۵ ^b	۱۵/۱۶±۰/۰۵۴ ^c
	۲۰۰	۱۶/۸۰±۰/۰۹۸ ^{ab}	۱۵/۴۰±۰/۰۱۰ ^c
تعداد گلبول قرمز (×۱۰ ^۶ μL)	کنترل منفی (۰)	۰/۷۸±۰/۰۰۸ ^b	۰/۷۵±۰/۰۰۳ ^{ab}
	کنترل مثبت (۰)	۰/۶۶±۰/۰۰۳ ^b	۰/۶۹±۰/۰۰۱ ^b
	۵۰	۰/۹۰±۰/۰۰۷ ^{ab}	۰/۸۴±۰/۰۰۵ ^{ab}
	۱۰۰	۰/۹۶±۰/۰۰۱ ^a	۰/۸۹±۰/۰۰۱ ^a
	۱۵۰	۰/۸۵±۰/۰۱۴ ^{ab}	۰/۸۳±۰/۰۲۳ ^{ab}
	۲۰۰	۰/۹۱±۰/۰۰۸ ^{ab}	۰/۸۵±۰/۰۰۴ ^{ab}
هماتوکریت (%)	کنترل منفی (۰)	۳۳/۳۰±۰/۰۱۵۲ ^{bc}	۳۲/۶۰±۰/۰۱۵۲ ^{cd}
	کنترل مثبت (۰)	۳۲/۰۰±۰/۰۱۰۰ ^c	۳۱/۴۰±۰/۰۱۵۷ ^d
	۵۰	۳۶/۳۰±۰/۰۱۵۲ ^{ab}	۳۳/۰۰±۰/۰۱۵۳ ^c
	۱۰۰	۳۹/۰۰±۰/۰۱۰۰ ^a	۳۸/۳۰±۰/۰۱۵۷ ^a
	۱۵۰	۳۴/۳۳±۰/۰۰۳۰ ^{ab}	۳۴/۹۳±۰/۰۱۵۳ ^{bc}
	۲۰۰	۳۷/۳۰±۰/۰۱۱۵ ^b	۳۶/۶۰±۰/۰۱۱۵ ^b

شاخص‌های بیوشیمیایی سرم

با توجه به جدول ۲، در هفته اول (پایان یک هفته حمام‌دهی با عصاره آلوئه‌ورا) و هفته دوم (پایان یک هفته پس از قطع حمام‌دهی با عصاره آلوئه‌ورا) بیش‌ترین میزان پروتئین تام در تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم ثبت شد که با تمامی تیمارها دارای اختلاف معنی‌دار آماری بود ($p < 0/05$). بیش‌ترین میزان آلبومین نیز در هفته‌های اول و دوم در تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم ثبت شد که این افزایش در هر دو

هفته با سایر تیمارها اختلاف معنی‌دار داشت ($p < 0/05$). از لحاظ میزان گلبولین نیز بیش‌ترین مقدار مربوط به تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم بود که در هفته اول با تمام تیمارها اختلاف معنی‌دار آماری داشت ($p < 0/05$). بیش‌ترین میزان نسبت آلبومین به گلبولین در هر دو هفته در تیمار کنترل مثبت ثبت شد که اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها نداشت ($p > 0/05$).

جدول ۲: مقایسه میانگین شاخص‌های بیوشیمیایی سرم فزل‌آلای رنگین‌کمان آلوده به قارچ *Saprolegnia parasitica* (پارازیتیکا) در پایان یک هفته حمام‌دهی با عصاره هیدروآلکلی آلوئه‌ورا (هفته اول) و پایان یک هفته پس از قطع حمام‌دهی (هفته دوم) (حروف غیر همنام در هر ستون نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است).

Table 2: Biochemical parameters of rainbow trout infected with *Saprolegnia parasitica* after one-week therapy by Aloe vera extract (first week) and one week after it (second week)

شاخص‌های سرمی	آلوئه‌ورا (میلی‌گرم/لیتر)	هفته اول	هفته دوم
پروتئین تام (g/dL)	کنترل منفی (۰)	۳/۶۹±۰/۱۲ ^b	۳/۷۱±۰/۰۰ ^b
	کنترل مثبت (۰)	۳/۶۴±۰/۳۲ ^b	۳/۸۳±۰/۰۵ ^b
	۵۰	۳/۵۷±۰/۳۰ ^b	۳/۷۲±۰/۱۸ ^b
	۱۰۰	۵/۱۹±۰/۲۰ ^a	۴/۴۲±۰/۱۳ ^a
	۱۵۰	۳/۶۶±۰/۴۶ ^b	۳/۸۰±۰/۰۳۰ ^b
	۲۰۰	۳/۷۸±۰/۴۷ ^b	۳/۷۶±۰/۰۷ ^b
آلبومین (g/dL)	کنترل منفی (۰)	۱/۷۵±۰/۰۴ ^b	۱/۷۱±۰/۰۱ ^c
	کنترل مثبت (۰)	۱/۷۶±۰/۰۷ ^b	۱/۸۵±۰/۰۳ ^b
	۵۰	۱/۷۱±۰/۰۲ ^b	۱/۷۴±۰/۰۱ ^c
	۱۰۰	۲/۰۰±۰/۰۶ ^a	۱/۹۸±۰/۰۲ ^a
	۱۵۰	۱/۷۰±۰/۰۳ ^b	۱/۷۸±۰/۰۷ ^{bc}
	۲۰۰	۱/۸۲±۰/۰۲ ^b	۱/۸۱±۰/۰۹ ^{bc}
گلبولین (g/dL)	کنترل منفی (۰)	۱/۹۴±۰/۰۵ ^b	۲/۰۰±۰/۰۱ ^a
	کنترل مثبت (۰)	۱/۸۸±۰/۲۰ ^b	۱/۹۷±۰/۰۲ ^a
	۵۰	۱/۸۶±۰/۴۸ ^b	۱/۹۲±۰/۶۴ ^a
	۱۰۰	۳/۱۹±۰/۱۱ ^a	۲/۴۴±۰/۴۷ ^a
	۱۵۰	۱/۹۶±۰/۴۰ ^b	۲/۰۲±۰/۶۱ ^a
	۲۰۰	۱/۹۷±۰/۴۰ ^b	۱/۹۵±۰/۱۷ ^a
آلبومین/گلبولین	کنترل منفی (۰)	۰/۹۰±۰/۱۹ ^a	۰/۸۵±۰/۰۱ ^a
	کنترل مثبت (۰)	۰/۹۴±۰/۰۴ ^a	۰/۹۴±۰/۰۰ ^a
	۵۰	۰/۹۱±۰/۳۹ ^a	۰/۹۰±۰/۰۹ ^a
	۱۰۰	۰/۶۲±۰/۰۱ ^a	۰/۸۱±۰/۱۴ ^a
	۱۵۰	۰/۸۶±۰/۱۶ ^a	۰/۸۸±۰/۰۵ ^a
	۲۰۰	۰/۹۲±۰/۱۱ ^a	۰/۹۲±۰/۰۴ ^a

شاخص‌های ایمنی

با توجه به جدول ۳، بیش‌ترین میزان فعالیت لیزوزیم سرم در هفته اول (پایان یک هفته حمام‌دهی با عصاره آلوئه‌ورا) و هفته دوم (پایان یک هفته پس از قطع حمام‌دهی با عصاره آلوئه‌ورا) در تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم مشاهده شد که با همه گروه‌ها اختلاف معنی‌دار داشت ($p < 0/05$). افزایش فعالیت انفجار تنفسی لوکوسیت‌ها، در تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم در هر دو هفته نمونه‌برداری نسبت به تیمارهای کنترل مثبت و

منفی و تیمار ۵۰ میلی‌گرم اختلاف معنی‌داری را نشان داد ($p < 0/05$). بیشترین فعالیت سیستم کمپلمان در هفته اول در تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم مشاهده شد که با گروه‌های کنترل و ۵۰ میلی‌گرم اختلاف معنی‌داری داشت ($p < 0/05$). در هفته دوم بیشترین میزان فعالیت سیستم کمپلمان در تیمارهای ۱۰۰ میلی‌گرم مشاهده شد که با تیمار کنترل و سایر تیمارهای آلوئه‌ورا اختلاف آماری معنی‌داری ($p < 0/05$) نشان داد.

جدول ۳: مقایسه میانگین شاخص‌های ایمنی سرم قزل‌آلای رنگین کمان آلوده به قارچ *Saprolegnia parazitica* (S. parasitica) در پایان یک هفته حمام‌دهی با عصاره هیدروالکلی آلوئه‌ورا (هفته اول) و پایان یک هفته پس از قطع حمام‌دهی (هفته دوم) (حروف غیر همنام در هر ستون نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است).

Table 3: Immunological parameters of rainbow trout infected with *Saprolegnia parasitica* after one-week therapy by *Aloe vera* extract (first week) and one week after it (second week).

شاخص‌های ایمنی	آلوئه‌ورا میلی‌گرم / لیتر	هفته اول	هفته دوم
انفجار تنفسی (OD at ۵۴۰nm)	کنترل منفی (۰)	۰/۵۱±۰/۰۰ ^a	۰/۵۱±۰/۰۰ ^a
	کنترل مثبت (۰)	۰/۶۵±۰/۰۰ ^b	۰/۶۵±۰/۰۰ ^b
	۵۰	۰/۶۵±۰/۰۰ ^b	۰/۶۶±۰/۰۰ ^c
	۱۰۰	۰/۶۹±۰/۰۱ ^c	۰/۶۸±۰/۰۰ ^d
	۱۵۰	۰/۶۹±۰/۰۰ ^c	۰/۶۸±۰/۰۰ ^d
	۲۰۰	۰/۶۹±۰/۰۰ ^c	۰/۶۸±۰/۰۰ ^d
لیزوزیم (U/ml)	کنترل منفی (۰)	۴۳۳/۸۸±۰/۱۱ ^a	۴۳۳/۴۵±۰/۲۲ ^a
	کنترل مثبت (۰)	۴۳۵/۱۰±۰/۲۵ ^b	۴۳۵/۵۶±۰/۱۱ ^b
	۵۰	۴۳۵/۷۱±۰/۳۰ ^c	۴۳۵/۴۴±۰/۲۱ ^b
	۱۰۰	۴۳۸/۴۵±۰/۱۵ ^e	۴۳۹/۴۵±۰/۲۵ ^d
	۱۵۰	۴۳۷/۹۴±۰/۰۴ ^d	۴۳۷/۷۸±۰/۱۱ ^c
	۲۰۰	۴۳۷/۶۰±۰/۱۸ ^d	۴۳۸/۶۰±۰/۰۷ ^c
فعالیت سیستم کمپلمان (U/ml)	کنترل منفی (۰)	۳۶/۲۹±۲/۹۵ ^a	۴۱/۰۵±۰/۷۵ ^a
	کنترل مثبت (۰)	۷۰/۸۱±۲/۲۰ ^b	۶۶/۵۹±۲/۸۵ ^b
	۵۰	۱۷۲/۴۳±۲/۰۶ ^c	۱۷۲/۴۳±۲/۵۰ ^c
	۱۰۰	۱۹۲/۸۵±۲/۴۹ ^e	۱۹۲/۵۲±۲/۶۶ ^f
	۱۵۰	۱۸۴/۴۱±۲/۶۵ ^d	۱۸۴/۰۸±۲/۳۷ ^e
	۲۰۰	۱۸۱/۲۹±۱/۰۶ ^d	۱۷۷/۶۲±۱/۴۸ ^d

درصد بازماندگی

با توجه به نتایج ارائه شده در جدول ۴، علاوه بر بازماندگی ۱۰۰ درصدی گروه کنترل منفی، بیش‌ترین میزان بازماندگی پس از گذشت ۱۴ روز از آلودگی ماهیان با زئوسپور *Saprolegnia parazitica* در گروه ۱۰۰ میلی‌گرم بر

لیتر عصاره آلوئه‌ورا (۹۰٪) مشاهده شد که همراه با گروه ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر (۸۷٪) بیشترین اختلاف معنی‌دار را با سایر گروه‌های درمان شده با آلوئه‌ورا و گروه کنترل مثبت (۳۳٪) داشتند ($p < 0/05$).

کمپلکس آلفا-کتوگلو تارات دهیدروژناز در چرخه کربس دارد، می‌تواند باعث افزایش تعداد سلول‌های خونی به‌ویژه گلبول‌های قرمز شود (Hamman, 2008). این خاصیت به وجود فلاونوئیدها، مواد معدنی و پلی‌ساکاریدها نسبت داده شده است. برای ترمیم یک بافت آسیب‌دیده نیز میزان خون‌رسانی به آن ناحیه باید افزایش یابد، در نتیجه تعداد گلبول‌های قرمز نیز با افزایش حجم خون افزایش خواهند یافت. گلبول‌های سفید شامل نوتروفیل‌ها، لنفوسیت‌ها و مونوسیت‌ها هستند که خط اصلی دفاعی بدن را تشکیل می‌دهند و فرآیند از بین بردن عامل بیماری‌زا را تسهیل می‌کنند (Devi et al., 2019). بر همین اساس افزایش گلبول‌های سفید در تیمارهای آلوده با قارچ نشان‌دهنده افزایش فعالیت بدن برای سرکوب و مقابله با عامل بیماری‌زاست. همچنین عقیده بر این است که آسمانان موجود در ژل آلوئه‌ورا با افزایش تولید گلبول‌های سفید خون به‌خصوص ماکروفاژها که نقش مهمی در افزایش ایمنی در برابر بیماری‌ها دارند، ارتباط دارد (Channa et al., 2014). افزایش تعداد گلبول‌های سفید در تیمارهای حمام داده شده با عصاره نسبت به گروه‌های کنترل می‌تواند به دلیل اثر تحریک‌کنندگی سیستم ایمنی بدن ناشی از این گیاه باشد به‌طوری‌که در تیمارهای تحت درمان با عصاره در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر، بیش‌ترین تعداد گلبول‌های سفید مشاهده شد که این تعداد با همه تیمارها در هر دو هفته اختلاف معنی‌دار آماری داشت. نتایج مشابه در بهبود شاخص‌های خون‌شناسی در مطالعات مختلف گزارش شده است که از آن جمله می‌توان به اثر آلوئه‌ورا بر ماهی تیلپیا (*Oreochromis niloticus*) (Gabriel et al., 2015) اثر عصاره آبی-الکلی برگ زیتون بر ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) (Karimi Pashaki et al., 2019) اثر آلوئه‌ورا بر ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (Bazari et al., 2019) و تاس ماهی سبیری (Moghaddam et al., 2016) نشان داد که شاخص‌های خونی به دنبال استفاده از عصاره‌های گیاهی در ماهیان بهبود خواهند یافت.

جدول ۴: درصد بازماندگی قزل‌آلای رنگین‌کمان ۱۴ روز پس از

چالش با *Saprolegnia parasitica*

(حروف غیر همنام در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار

در سطح ۰/۰۵ است.)

Table 4: Survival percentage in rainbow trout after 14 days infection with *Saprolegnia parasitica*

بازماندگی پایان دوره (درصد)	تیمارها (میلی‌گرم/لیتر)
۱۰۰ ^a	کنترل منفی
۳۴ ^d	کنترل مثبت
۸۰ ^c	۵۰
۹۰ ^b	۱۰۰
۸۷ ^b	۱۵۰
۸۳ ^c	۲۰۰

بحث

آزمایش‌های خون‌شناسی و آنالیز اجزاء سرم خون به عنوان ابزاری مناسب به منظور تشخیص اختلالات متابولیک و ارزیابی وضعیت سلامتی ماهیان در شرایط پرورشی مورد استفاده قرار می‌گیرد. شاخص‌های مربوط به خون مانند گلبول قرمز و گلبول‌های سفید یکی از بخش‌های اصلی سیستم ایمنی غیر اختصاصی سلولی هستند که نوسان در تعداد آنها می‌تواند به عنوان یک شاخص مناسب در ارتباط با پاسخ ماهیان به عوامل بیماری‌زا مطرح باشد (Ahmadifar et al., 2009). در مطالعات قبلی بهبود شاخص‌های خونی ماهیان در پی استفاده از عصاره گیاه آلوئه‌ورا گزارش شده است (Zanuzzo et al., 2015; Alishah et al., 2017). با توجه به نتایج به‌دست آمده در این مطالعه، شاخص‌های خونی تحت تأثیر عصاره هیدروالکلی آلوئه‌ورا افزایش یافته است. افزایش گلبول‌های قرمز در تیمارهای حمام داده شده با عصاره می‌تواند به دلیل نقش ترمیمی گیاه آلوئه‌ورا در بافت‌های آسیب‌دیده باشد (Akbari, 2015; Zanuzzo et al., 2015). ژل آلوئه‌ورا علاوه بر خاصیت تحریک سیستم ایمنی نقش مهمی در ترمیم زخم دارد (Golestan et al., 2015). علاوه بر این، ژل آلوئه‌ورا حاوی اسیدهای آمینه ضروری و ترکیباتی چون اسید فولیک، ریبوفلاوین و تیامین است و با توجه به اینکه تیامین یک عامل مهم در جذب گلوکز در گلبول‌های قرمز است و نقش مهمی در تحریک سلول‌های خون ساز با تشکیل

بیشترین بازماندگی در طول دوره آزمایش با میزان ۹۰٪ در تیمار ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر مشاهده شد که اختلاف معنی دار آماری با گروه کنترل مثبت داشت. این نتایج با مطالعه Alishahi و همکاران (۲۰۱۹) که به بررسی اثر حمام درمانی با عصاره هیدروالکلی گزنه و مقاومت در برابر ساپروولگنیا پارازیتیکا پرداخته است، مطابقت داشت. Mesbah و همکاران (۲۰۱۴) نیز اثرات التیامی زخم پوستی ماهی کپور معمولی با حمام عصاره آلوئه‌ورا ۱۰ درصد به مدت ۱۵ دقیقه در روز را گزارش کردند که نشان از اثر مثبت این گیاه بر بازماندگی ماهیان به روش حمام درمانی دارد. همچنین افزایش بازماندگی ماهیان پس از تغذیه با آلوئه‌ورا نیز گزارش شده است. از آن جمله می‌توان به افزایش بازماندگی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان تغذیه شده با عصاره هیدروآتانولی آلوئه‌ورا به میزان ۱٪ جیره پس از آلوده شدن با باکتری استرپتوکوکوس اینیه (Tafi et al., 2020)، افزایش بازماندگی ماهی شیطان قرمز (*Amphilophus labiatus*) با تجویز ۰/۵ درصد عصاره خام گیاه آلوئه‌ورا پس از چالش با باکتری *آئروموناس هیدروفیلا* (Alishahi, 2011)، بازماندگی ۱۰۰ درصدی تاس ماهی سیبری تغذیه شده با نانوذرات آلوئه‌ورا (Sharif Rohani et al., 2017) و عصاره آلوئه‌ورا (Bazari Moghaddam et al., 2016) اشاره کرد. همان‌طوری که بیان شد، تحقیقات متعددی نقش تقویت کننده سیستم ایمنی آبزیان را تحت تاثیر استفاده از گیاه آلوئه‌ورا به دلیل وجود ترکیباتی مثل فلاونوئیدها، اسید سالیسیلیک، ویتامین ها و پلی ساکاریدها نشان داده‌اند. در مطالعه حاضر نیز حمام ماهی قزل‌آلای رنگین کمان با عصاره هیدروالکلی آلوئه‌ورا به عنوان یک گیاه دارویی می‌تواند سبب بهبود توان سیستم ایمنی آنها در برابر قارچ ساپروولگنیا پارازیتیکا (*S. parasitica*) شود. در نتیجه حمام درمانی ماهیان با غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر عصاره این گیاه می‌تواند برای افزایش توان دفاعی و ممانعت از تضعیف سیستم ایمنی بدن در مقابل ساپروولگنیا یس مفید باشد.

پروتئین‌های سرم نقش اساسی در ایمنی ذاتی دارند و افزایش میزان پروتئین کل سرم و میزان گلبولین سرم پاسخ ایمنی ذاتی ماهی را در برابر ورود عوامل بیماری‌زا نشان می‌دهد (Haghighi et al., 2014). هرچند که آلبومین برای حفظ فشار اسمزی مورد نیاز توزیع مناسب مایعات بدن حیاتی است و به عنوان حامل ترکیبات مختلف در پلاسما عمل می‌کند، ولی افزایش پروتئین کل و آلبومین سرم به عنوان منابع ایمنی ذاتی در نظر گرفته شده‌اند (Nay and Austin, 2009). در این مطالعه میزان پروتئین‌های سرم در تیمارهای آزمایش نسبت به گروه‌های کنترل روند افزایشی داشت که با مطالعه بررسی اثر عصاره آلوئه‌ورا بر ایمنی ذاتی و دفاع آنتی اکسیدانی ماهی *Labeo rohita* مطابقت داشت (Devi et al., 2019).

میزان لیزوزیم سرم نیز طی هر دو زمان نمونه‌برداری در تیمارهای آزمایش نسبت به گروه‌های کنترل افزایش معنی‌داری داشت، فعالیت لیزوزیم سرم می‌تواند در نتیجه افزایش تعداد سلول‌های بیگانه‌خوار باشد (Adel et al., 2020) که به دلیل اثر تحریک کنندگی گیاه آلوئه‌ورا بر سیستم ایمنی افزایش یافته بود. بیشترین میزان انفجار تنفسی و فعالیت سیستم کمپلمان در تیمار ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر مشاهده شد. افزایش فاکتورهای ایمنی در گروه‌های تحت درمان با عصاره آلوئه‌ورا می‌تواند به دلیل وجود فلاونوئیدها و پلی ساکارید آسمانان باشد. بهبود فعالیت سیستم کمپلمان و میزان لیزوزیم سرم و نیز میزان انفجار تنفسی تحت تأثیر استفاده از عصاره آلوئه‌ورا نیز مشاهده شد (Devi et al., 2019; Mehrabi et al., 2019). Zanzuzo و همکاران (۲۰۱۵) نشان دادند که حمام ماهیان مولد با آلوئه‌ورا سبب افزایش فعالیت انفجار تنفسی و مقاومت آنها در برابر استرس و بیماری‌ها می‌شود. همچنین در بررسی اثر گیاه آلوئه‌ورا بر ماهی *Piaractus mesopotamicus* به چالش کشیده شده با *آئروموناس هیدروفیلا* (*Aeromonas hydrophila*) افزایش سطح لیزوزیم در گروه‌های آزمایشی به ثبت رسید (de Assis and Urbinati, 2020).

منابع

- immunological indices of *Oncorhynchus mykiss* in farm scale. *Iranian Journal of Veterinary Medicine*, 11(4): 383-394. DOI:10.22059/ijvm.2017.231790.1004806.
- Alishah, N., Firouzbakhsh, F. and Mehrabi, Z., 2019.** Bathing effects of nettle (*Urtica dioica*) hydroalcoholic extract on immunological and hematological indices in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) infected with *Saprolegnia* fungal. *Iranian Scientific Fisheries Journal*, 28(4): 55-67. DOI:10.22092/isfj.2019.119417.
- Bazari Moghaddam, S., Haghighi, M., Sharif Rohani, M., Hamidi, M. and Ghasemi, M., 2016.** Effects of *Aloe vera* extract on growth indices, carcass composition and bacterial flora of intestine in Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*). *Iranian Scientific Fisheries Journal*, 25(1): 39-52.
- Borges, A., Scotti, L.V., Siqueira, D.R., Jurinitz, D.F. and Wassermann, G.F., 2004.** Hematologic and serum biochemical values for jundiá (*Rhamdia quelen*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 30(1): 21-25. DOI:10.1007/s10695-004-5000-1.
- Bradford, M.M., 1976.** A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochemistry*, 72(1-2): 248-254. DOI:10.1016/0003-2697(76)90527-3.
- Adel, M., Dadar, M., Zorriehzahra, J., Elahi, R. and Stadtlander, T., 2020.** Antifungal activity and chemical composition of Iranian medicinal herbs against fish pathogenic fungus, *Saprolegnia parasitica*. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 19(6): 3239-3254. DOI:20.1001.1.15622916.2020.19.6.5.7
- Ahmadifar, E., Azari Takami, G.A. and Sudagar, M., 2009.** Growth performance, survival and immunostimulation, of Beluga (*Huso huso*) juvenile following dietary administration of alginic acid (Ergosan). *Pakistan Journal of Nutrition*, 8(3): 227-232. DOI:10.3923/pjn.2009.227.232.
- Akbari, P., 2015.** Effect of *Aloe vera* extract on wound healing in (*Mugil cephalus*). *Journal of Animal Research (Iranian Journal of Biology)*, 28(3): 383-388.
- Alderman, D.J. and Clifton, H., 1993.** Malachite green: a pharmacokinetic study in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Journal of Fish Diseases*, 16: 297-311. DOI:10.1111/j.1365-2761.1993.tb00864.x.
- Alishahi, M., 2011.** Effects of different levels of *Aloe vera* crude extract on the growth rate and resistance against *Aeromonas hydrophila* infection in *Amphilophus labiatus*. *Journal of Marine Biology*, 2(4): 41-46.
- Alishahi, M., Tulaby Dezfuly, Z., Mohammadian, T. and Mesbah, M., 2017.** Effects of *Aloe vera* crude extract on growth performance and some hemato-

- Channa, A.A., Qazi, I.H., Soomro, S.A., Shah, A.H., Gandahi, J.A., Korejo, R.A., Shah, I.A., Kalhor, N.A. and Khaskeli, B., 2014.** Effect of oral supplementation of *Aloe vera* extract on haematology indices and immune cells of blood in rabbit. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 8: 497-501. DOI: 2010.5897/AJPP2014.4018.
- de Assis, R.W.S. and Urbinati, E.C., 2020.** Physiological activity of *Aloe vera* in pacu (*Piaractus mesopotamicus*) inoculated with *Aeromonas hydrophila*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 46: 1421-1430. DOI:10.1007/s10695-020-00800-0.
- Devi, G., Harikrishnan, R., Paray, B.A., Al-Sadoon, M.K., Hoseinifar, S.H. and Balasundaram, C., 2019.** Effects of aloe-emodin on innate immunity, antioxidant and immune cytokines mechanisms in the head kidney leucocytes of *Labeo rohita* against *Aphanomyces invadans*. *Fish and Shellfish Immunology*, 87: 669-678. DOI:10.1016/j.fsi.2019.02.006.
- Ebrahimzadeh Mousavi, H.A., Hoosseinifard, S.M., Khosravi, A.R., Soltani, M. and Yosefian, M., 2007.** Isolation and identification of parasite and saprophyte fungi from fungal affected eggs of the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Mazandaran province. *Veterinary Research*, 62(3): 163-168.
- Firouzbakhsh, F., Afsarian, M.H., Hooshangi, S. and Badali, H., 2014.** Evaluation of in vitro antifungal activity of *Foeniculum*, *Achillea*, *Satureja*, *Cinnamomum* and *Artemisia* against *Saprolegnia parasitica*. *Arak Medical University Journal*, 17(5): 60-69.
- Firouzbakhsh, F., Mehrabi, Z., Heydari, M., Khalesi, M.K. and Tajick, M.A., 2014.** Protective effects of a synbiotic against experimental *Saprolegnia parasitica* infection in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture Research*, 45(4): 609-618. DOI:10.1111/j.1365-2109.2012.03261.x
- Gabriel, N.N., Qiang, J., He, J., Ma, X.Y., Kpundeh, M.D. and Xu, P., 2015.** Dietary *Aloe vera* supplementation on growth performance, some haemato-biochemical parameters and disease resistance against *Streptococcus iniae* in tilapia (GIFT). *Fish and Shellfish Immunology*, 44(2): 504-514. DOI:10.1016/j.fsi.2015.03.002.
- Golestan, G., Salati, A.P., Keyvanshokoo, S., Zakeri, M. and Moradian, H., 2015.** Effect of dietary *Aloe vera* on growth and lipid peroxidation indices in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University*, 6(1): 63 – 67.
- Haghighi, M., Sharif Rohani, M., Samadi, M., Tavoli, M., Eslami, M. and Yusefi, R., 2014.** Study of effects *Aloe vera* extract supplemented feed on hematological and immunological indices of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *International Journal of Advanced Biological and Biomedical Research*, 2(6): 2143-2154. DOI: 10.33945/SAMI/IJABBR.

- Hamman, J.H., 2008.** Composition and applications of *Aloe vera* leaf gel. *Molecules*, 13(8): 1599-1616. DOI:10.3390/molecules13081599
- Karimi Pashaki, A., Ghasemi, M., Zorrieh Zahra, J., Shrif Rohani, M. and Hosseini, S.M., 2019.** Effect of diets containing aqueous alcoholic extract of olive leaf (*Olea europaea* L.) on growth performance and some blood and immune parameters in common carp (*Cyprinus carpio*) fingerlings. *Iranian Scientific Fisheries Journal*, 27(2): 71-80. DOI: 10.220092/ISFJ.2018.116698.
- Kumari, J., Sahoo, P.K., Swain, T., Sahoo, S.K., Sahu, A.K. and Mohanty, B.R., 2006.** Seasonal variation in the innate immune parameters of the Asian catfish (*Clarias batrachus*). *Aquaculture*, 252(2-4): 121-127. DOI:10.1016/j.aquaculture.2005.07.025.
- Matsuyama, H., Tanaka, K., Nakao, M. and Yano, T., 1988.** Characterization of the alternative complement pathway of carp. *Developmental and Comparative Immunology*, 12(2): 403-408. DOI:10.1016/0145-305X(88)90015-8.
- Mehrabi, Z., Firouzbakhsh, F., Rahimi-Mianji, G. and Paknejad, H., 2019.** Immunostimulatory effect of *Aloe vera* (*Aloe barbadensis*) on non-specific immune response, immune gene expression, and experimental challenge with *Saprolegnia parasitica* in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 500: 330-338. DOI:10.1016/j.aquaculture.2019.01.025.
- Mehrabi, Z. and Firouzbakhsh, F., 2020.** Short-term effects of feeding powdered *Aloe vera* (*Aloe barbadensis*) and nettle (*Urtica dioica*) on growth performance and stimulation of innate immune responses in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Comparative Clinical Pathology*, 29(2): 441-449. DOI:10.1007/s00580-019-03068-w.
- Mesbah, M., Alishahi, M., Saberi Afshar, and Mohammadian, 2014.** Histopathological study of the influence of *Aloe vera* extract on wound healing in common carp (*Cyprinus carpio*). *Iranian Veterinary Journal*, 9(4): 11-25.
- Meyer, F.P. and Jorgenson, T.A., 1983.** Teratological and other effects of malachite green on development of rainbow trout and rabbits. *Transactions of the American Fisheries Society*, 112(6): 818-824. DOI:10.1577/15488659(1983)112%3C818:TAOEOM%3E2.0.CO;2.
- Nayak, S.K., Swain, P., Nanda, P.K., Dash, S., Shukla, S., Meher, P.K. and Maiti, N.K., 2008.** Effect of endotoxin on the immunity of Indian major carp, *Labeo rohita*. *Fish and Shellfish Immunology*, 24(4): 394-399. DOI:10.1016/j.fsi.2007.09.005 PMID:18289877.
- Nya, E.J. and Austin, B., 2011.** Development of immunity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) to *Aeromonas hydrophila* after the dietary

- application of garlic. *Fish and Shellfish Immunology*, 30(3): 845–850.
- Safari, M., Chelehmal Dezfouli Nejad, M., Mesbah, M. and Jangaran Nejad, A., 2019.** Effects of *Aloe vera* extract on growth and some hematological parameters of shirbot, *Tor grypup* (Heckel, 1843). *Iranian Scientific Fisheries Journal*, 18(3): 445-456. DOI: 10.22092/ijfs.2018.118042.
- Sahoo, P.K., Kumari, J., Mishra, B.K., 2005.** Non-specific immune responses in juveniles of Indian major carps. *Journal of Applied Ichthyology*, 21(2): 151-155. DOI:10.1111/j.1439-0426.2004.00606.x.
- Shakib, Z., Shahraki, N., Razavi, B.M. and Hosseinzadeh, H., 2019.** *Aloe vera* as an herbal medicine in the treatment of metabolic syndrome: A review. *Phytotherapy Research*, 33(10): 2649-2660. DOI:10.1002/ptr.6465
- Sharif Rohani, M., Haghighi, M. and Bazari Moghadam, S., 2017.** Study on nanoparticles of *Aleo vera* extract on growth performance, survival rate and body composition in Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*). *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 16: 457-468. DOI:20.1001.1.15622916.2017.16.2.1.4
- Stoskopf, M.K., 1993.** *Fish Medicine*. W.B. Sanders. Philadelphia. USA. 220P.
- Tafi, A.A., Meshkini, S., Tukmechi, A., Alishahi, M. and Noori, F., 2020.** Therapeutic and Histopathological Effect of *Aloe vera* and *Salvia officinalis* Hydroethanolic Extracts against *Streptococcus iniae* in Rainbow Trout. *Archives of Razi Institute*, 75(2):275-287. DOI:10.22092/ari.2019.122855.1232.
- Zanuzzo, F.S., Zaiden, S.F., Senhorini, J.A., Marzocchi-Machado, C.M. and Urbinati, E.C., 2015.** *Aloe vera* bathing improved physical and humoral protection in breeding stock after induced spawning in matrinxã (*Brycon amazonicus*). *Fish and Shellfish Immunology*, 45(1): 132-140. DOI:10.1016/j.fsi.2015.02.017 PMID: 25703714.

Effect different concentrations of hydro-alcoholic *Aloe vera* (*Aloe brabadensis*) extract by bath therapy on blood indices and immune responses and control of saprolegniasis in rainbow trout

Alishah N.¹; Firouzbakhsh F.^{1*}; Mehrabi, Z.¹

*f.firouzbakhsh@sanru.ac.ir

1-Department of Fisheries, Faculty of Animal Sciences and Fisheries, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran

Abstract

The aim of this study was to evaluate the effect of hydroalcoholic extract of *Aloe vera* plant by bath therapy on immunological and blood parameters and control of saprolegniasis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). After two weeks of adaptation, fish with an average weight of 22 ± 0.27 g were randomly divided into 6 experimental treatments with three replications (30 fish repetitions each). After scaling from the caudal fin, the fish were infected with 3×10^5 zoospores of *Saprolegnia parasitica* per litter for 4 hours. After that, four treatments received 50, 100, 150 and 200 mg/L *Aloe vera* hydroalcoholic extract for one hour daily for one week. The other two treatments belonged to the positive control groups (with infection and without *Aloe vera* treatment) and the negative control group (without infection and without *Aloe vera* treatment). Evaluation of hematological and immunological parameters at the end of one week of bathing with the above concentrations (first week) and one week after cessation of bathing (second week) showed that hematological, biochemical and immunological parameters of rainbow trout (*O. mykiss*) treated with 100 mg/l *Aloe vera* hydroalcoholic extract was significantly increased. Also, at this concentration of hydroalcoholic extract of *Aloe vera*, minimal losses were observed, which was statistically significant compared to the control group. According to the results, treatment of rainbow trout with saprolegniasis with 100 mg of hydroalcoholic extract of *Aloe vera* per litter can improve immune function and increase their survival against saprolegniasis.

Keywords: *Aloe vera*, Saprolegniasis, Rainbow trout, Bath therapy, Hematology

*Corresponding author