

مقاله علمی - پژوهشی:

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

نرگس عالیشاه^۱، فرید فیروزبخش^{*}^۱، زینده 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 پذیرش: خرداد ۱۴۰۰

تاریخ دریافت: مهر ۱۳۹۹

چکیده

هدف از این تحقیق بررسی اثر غلظت‌های مختلف عصاره‌ی هیدروالکلی گیاه آلوئه‌ورا با روش حمام‌درمانی بر شاخص‌های سرمی، خونی و کنترل بیماری ساپرولگنیازیس 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 آلدگی و بدون درمان با آلوئه‌ورا) و شاهد مثبت (با آلدگی و بدون درمان با آلوئه‌ورا) با سه تکرار 30×10^5 زئوسپور تقسیم شدند. پس از فلسفه‌داری از ساقه دمی ماهیان، به استثناء گروه شاهد منفی سایر گروه‌ها با غلظت 5×10^5 زئوسپور در *Saprolegnia parasitica* در هر لیتر آب به مدت ۴ ساعت آلدود شدند. پس از آن، چهار گروه آزمایش روزانه یک ساعت و به مدت یک هفته به ترتیب 50 ، 100 ، 150 و 200 میلی‌گرم 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 خون‌شناختی، بیوشیمیایی سرم و ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان درمان شده 100 میلی‌گرم بر لیتر عصاره هیدروالکلی آلوئه‌ورا به صورت معنی‌داری افزایش یافته است. همچنین در این غلظت کم ترین تلفات در ماهیان مشاهده شد که نسبت به گروه کنترل مثبت تفاوت معنی‌دار آماری داشت ($p < 0.05$). با توجه به نتایج به دست آمده می‌توان گفت که عصاره هیدروالکلی آلوئه‌ورا، اثر ضد قارچی علیه *S. parasitica* دارد و برای درمان می‌توان حمام با غلظت 100 میلی‌گرم بر لیتر روزانه به مدت یک ساعت، برای یک دوره یک هفته‌ای را پیشنهاد نمود.

لغات کلیدی: آلوئه‌ورا، ساپرولگنیازیس، قزل‌آلای رنگین کمان، حمام درمانی، خون‌شناختی

^{*}نویسنده مسئول

۴ مقدمه

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 (Safari et al., 2019) (Tor grypus) و بهبود زخم‌های حاصل از تخم‌کشی و افزایش ایمنی در مولدین ماهی Zanuzzo et al., 2015) استفاده می‌شود. در مطالعه Mehrabi و همکاران (۲۰۱۹) نیز تاثیر مثبت استفاده از گیاه آلوئه‌ورا بر رشد و ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به ثبت رسید. با توجه به اینکه تاکتون 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 ساپرولگنیازیس 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 ساپرولگنیازیس در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان آلوهه به ساپرولگنیا پارازیکا (*S. parasitica*) تحت حمام‌درمانی با عصاره هیدروالکلی آلوئه‌ورا طراحی شده است.

مواد و روش کار

آماده سازی زئوسپور *Saprolegnia parasitica*
برای این آزمایش از استوک خالص قارچ ساپرولگنیا پارازیکا (KC992217) جدا شده از ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان استفاده شد. رشته‌های رشد یافته در محیط ساپرولگنیا در دسترس قرار گرفتند. این زل حاوی آنتی‌اکسیدان و واجد خواص ضد ویروس، ضد باکتری و ترمیم‌کننده زخم است (Shakib et al., 2019). این گیاه ویژه نواحی گرم‌مسیری با پراکنش جهانی است و از نظر پلی‌ساقاریدها (سلولز، پکتین، گلوكومانان، آسمانان و مانوز) بسیار غنی است. اثرات دارویی آلوئه‌ورا با پلی‌ساقاریدهای موجود در ژل آن ارتباط نزدیکی دارد. بخش بزرگی از برگ‌های این گیاه حاوی آب همراه با سایر مواد تشکیل‌دهنده جامد (تقریباً ۱۰/۵٪) است. گزارش شده است که ۷۵٪ ماده فعال شامل ویتامین‌های محلول در آب (ویتامین C)، چربی (ویتامین A و E)، مواد معدنی، آزیمهای ساده و پیچیده،

ساپرولگنیا پارازیکا (*Saprolegnia parasitica*) متعلق به گروه کپک‌های آبی و جزو خانواده ساپرولگنیاسه می‌باشد که در صنعت تکثیر و پرورش آبزیان مشکلات بسیاری را ایجاد کرده است و در تمام مراحل زندگی ماهیان تاثیرگذار است. این اوومیست 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 سرطان‌زاوی استفاده از آن در بسیاری از کشورها ممنوع شده است (Meyer and Jorgenson, 1983) سایر جایگزین‌ها مانند فرمالین، پرمنگنات‌پتاسیم و پراکسید هیدروژن معروفی 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 مشتقهای گیاهی به دلیل سمیت پایین، حداقل اثرات مخرب محیطی، نسبتاً ارزان و اثر پایدار می‌توانند جایگزین مناسبی برای داروهای شیمیایی باشد. گیاه آلوئه‌ورا (*Aloe brabadiensis*) 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 گرم‌مسیری با پراکنش جهانی است و از نظر پلی‌ساقاریدها (سلولز، پکتین، گلوكومانان، آسمانان و مانوز) بسیار غنی است. اثرات دارویی آلوئه‌ورا با پلی‌ساقاریدهای موجود در ژل آن ارتباط نزدیکی دارد. بخش بزرگی از برگ‌های این گیاه حاوی آب همراه با سایر مواد تشکیل‌دهنده جامد (تقریباً ۱۰/۵٪) است. گزارش شده است که ۷۵٪ ماده فعال شامل ویتامین‌های محلول در آب (ویتامین C)، چربی (ویتامین A و E)، مواد معدنی، آزیمهای ساده و پیچیده،

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). گلbulوهای سفید و قرمز با استفاده از لام هموسیتوتمتر و محلول رقیق کننده نات‌هایریک شمارش شدند (Stoskopf, 1993). اندازه‌گیری هماتوکریت نیز به روش میکرو هماتوکریت اندازه شد (Borges *et al.*, 2004). میزان هموگلوبین نیز انجام شد (Mehrabi *et al.*, 2019). سپس ماهیان با غذای تجاري ساخت شرکت بیضاء تغذیه شدند. برای ایجاد استرس و افزایش نفوذ پذیری زئوسپور 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 (Firouzbakhsh *et al.*, 2014). سپس ماهیان هر تکرار به استثنای گروه شاهد منفی با غلظت 3×10^5 زئوسپور در هر لیتر به مدت ۴ ساعت به روش ساکن در تانک‌های حاوی ۷۵ لیتر آب در مواجهه داده شدند (Bradford, ۱۹۷۶). 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 دور ۲۵۰ لیتری با حجم ۱۰۰ لیتر آب چاه تقسیم شدند. تا ۳ روز بعد از چالش با زئوسپور، غذادهی و تعویض آب صورت نگرفت. سپس ماهیان با غذای تجاري (شرکت بیضاء) به میزان $2/5$ ٪ وزن بدن و در ۳ نوبت روزانه تغذیه شدند. همچنان روزانه 50% آب تانک‌ها تعویض شد. شش روز پس از چالش با مشاهده اولین علائم ظاهری ساپرولگنیازیس (ظهور توده‌های پنبه‌ای کرک مانند در ناحیه‌ی فلس‌برداری شده) در حداقل ۱۰ درصد ماهیان گروه شاهد، حمام درمانی با پودر عصاره هیدروالکلی آلوئهورای خردباری 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. همچنان وضعیت ماهیان تا یک هفته پس از پایان درمان نیز مورد بررسی قرار گرفت. دو گروه دیگر نیز شامل گروه‌های کنترل مثبت (با آلدگی و بدون درمان با آلوئهورا) و کنترل منفی (بدون آلدگی و بدون درمان با آلوئهورا) بودند. در مدت آزمایش میانگین دما، 15 ± 0.79 درجه سانتی‌گراد، $pH = 7.3 \pm 0.2$ و اکسیژن محلول، 7.14 ± 0.13 میلی‌گرم بر لیتر و نیز سختی آب، 600 میلی‌گرم بر لیتر کربنات کلیم ثبت 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 5% صورت گرفت. برای رسم نمودارها نیز از برنامه Excel استفاده شد.

Saprolegnia parasitica مواد ماهیان با قارچ

ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان از یک مرکز معتبر و دارای گواهی سلامت تهیه و به سالن پرورش منتقل شدند. به منظور ضدآفونی سطح بدن ماهیان از آلدگی‌های 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 تجاري ساخت شرکت بیضاء تغذیه شدند. برای ایجاد استرس و افزایش نفوذ پذیری زئوسپور 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 استثنای گروه شاهد منفی با غلظت 3×10^5 زئوسپور در هر لیتر به مدت ۴ ساعت به روش ساکن در تانک‌های حاوی ۷۵ لیتر آب در مواجهه داده شدند (Firouzbakhsh *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 دور ۲۵۰ لیتری با حجم ۱۰۰ لیتر آب چاه تقسیم شدند. تا ۳ روز بعد از چالش با زئوسپور، غذادهی و تعویض آب صورت نگرفت. سپس ماهیان با غذای تجاري (شرکت بیضاء) به میزان $2/5$ ٪ وزن بدن و در ۳ نوبت روزانه تغذیه شدند. همچنان روزانه 50% آب تانک‌ها تعویض شد. شش روز پس از چالش با مشاهده اولین علائم ظاهری ساپرولگنیازیس (ظهور توده‌های پنبه‌ای کرک مانند در ناحیه‌ی فلس‌برداری شده) در حداقل ۱۰ درصد ماهیان گروه شاهد، حمام درمانی با پودر عصاره هیدروالکلی آلوئهورای خردباری 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. همچنان وضعیت ماهیان تا یک هفته پس از پایان درمان نیز مورد بررسی قرار گرفت. دو گروه دیگر نیز شامل گروه‌های کنترل مثبت (با آلدگی و بدون درمان با آلوئهورا) و کنترل منفی (بدون آلدگی و بدون درمان با آلوئهورا) بودند. در مدت آزمایش میانگین دما، 15 ± 0.79 درجه سانتی‌گراد، $pH = 7.3 \pm 0.2$ و اکسیژن محلول، 7.14 ± 0.13 میلی‌گرم بر لیتر و نیز سختی آب، 600 میلی‌گرم بر لیتر کربنات کلیم ثبت شد.

نتایج

شاخص‌های خون‌شناختی

تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر عصاره هیدروالکلی آلوئه‌ورا ثبت شد. از نظر درصد هماتوکریت بیشترین میزان مربوط به تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر بود که در هفته اول با تیمارهای شاهد منفی و مثبت و تیمار ۲۰۰ میلی‌گرم و در هفته دوم با تمامی تیمارها اختلاف معنی دار آماری داشت ($p<0.05$). از لحاظ تعداد گلوبول‌های سفید، تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم در هفته اول و دوم افزایش معنی داری ($p<0.05$) نسبت به سایر تیمارها و گروه‌های شاهد نشان داده است (جدول ۱).

بر اساس نتایج ارائه شده در جدول ۱، در هفته اول و دوم نمونه برداری میزان هموگلوبین در تیمارهای، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر عصاره هیدروالکلی آلوئه‌ورا نسبت به تیمارهای شاهد و ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر افزایش معنی دار داشت ($p<0.05$). همچنین بیشترین میزان هموگلوبین در هفته اول در تیمار ۱۵۰ و در هفته دوم در تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر عصاره هیدروالکلی آلوئه‌ورا ثبت شد. بیشترین تعداد گلوبول‌های قرمز در هفته اول و دوم نیز در

جدول ۱: شاخص‌های خونی قزل‌آلای رنگین‌کمان آلووده به قارچ ساپرولگنیا پارازیتیکا (*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 0.05 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 (g/dL)	آلوئه‌ورا (میلی‌گرم / لیتر)	کنترل منفی (۰)	کنترل مثبت (۰)	هفتة دوم	هفتة اول
تعداد گلوبول‌های سفید ($\times 10^3 \mu\text{L}$)					
۷/۲۸±۰/۰۸ ^b	۷/۲۶±۰/۰۱ ^{bc}	کنترل منفی (۰)	کنترل مثبت (۰)		
۷/۲۰±۰/۲۰ ^b	۷/۱۸±۰/۰۱ ^c				
۷/۴۹±۰/۱۳ ^b	۷/۶۷±۰/۰۱ ^b	۵۰			
۸/۲۵±۰/۲۱ ^a	۸/۶۶±۰/۰۱ ^a	۱۰۰			
۸/۰۰±۰/۱۰ ^a	۸/۸۴±۰/۲۲ ^a	۱۵۰			
۷/۹۹±۰/۰۵ ^a	۸/۵۸±۰/۰۱ ^a	۲۰۰			
۱۷/۰۰±۲/۰۰ ^b	۱۴/۰۶±۰/۱۱ ^b	کنترل منفی (۰)	کنترل مثبت (۰)		
۱۴/۳۶±۰/۲۶ ^c	۱۳/۵۰±۱/۱۵ ^b				
۱۵/۵۳±۱/۶۴ ^c	۱۵/۰۶±۰/۱۱ ^b	۵۰			
۱۷/۶۰±۱/۳۱ ^a	۱۸/۴۰±۲/۷۰ ^a	۱۰۰			
۱۵/۱۸±۰/۰۴ ^c	۱۵/۰۰±۱/۰۵ ^b	۱۵۰			
۱۵/۴۰±۱/۰۱ ^c	۱۶/۸۰±۰/۹۸ ^{ab}	۲۰۰			
تعداد گلوبول قرمز ($\times 10^6 \mu\text{L}$)					
۰/۷۵±۰/۰۲ ^{ab}	۰/۷۸±۰/۰۸ ^b	کنترل منفی (۰)	کنترل مثبت (۰)		
۰/۶۹±۰/۰۱ ^b	۰/۶۶±۰/۰۳ ^b				
۰/۸۴±۰/۰۵ ^{ab}	۰/۹۰±۰/۰۷ ^{ab}	۵۰			
۰/۸۹±۰/۰۱ ^a	۰/۹۶±۰/۰۱ ^a	۱۰۰			
۰/۸۳±۰/۰۲ ^{ab}	۰/۸۵±۰/۱۴ ^{ab}	۱۵۰			
۰/۸۵±۰/۰۴ ^{ab}	۰/۹۱±۰/۰۸ ^{ab}	۲۰۰			
هماتوکریت (%)					
۳۲/۸۰±۱/۰۵ ^{cd}	۳۲/۳۰±۱/۰۵ ^{bc}	کنترل منفی (۰)	کنترل مثبت (۰)		
۳۱/۴۰±۰/۰۵ ^d	۳۲/۰۰±۱/۰۰ ^c				
۳۲/۰۰±۱/۰۵ ^c	۳۶/۳۰±۱/۰۵ ^{ab}	۵۰			
۳۸/۳۰±۰/۰۵ ^a	۳۹/۰۰±۱/۰۰ ^a	۱۰۰			
۳۴/۹۳±۱/۰۵ ^{bc}	۳۴/۳۳±۳/۰۰ ^{ab}	۱۵۰			
۳۶/۶۰±۱/۱۵ ^b	۳۷/۳۰±۱/۱۵ ^b	۲۰۰			

هفته با سایر تیمارها اختلاف معنی دار داشت ($p<0/05$). از لحاظ میزان گلوبولین نیز بیشترین مقدار مربوط به تیمار ۱۰۰ میلی گرم بود که در هفته اول با تمام تیمارها اختلاف معنی دار آماری داشت ($p<0/05$). بیشترین میزان نسبت آلبومین به گلوبولین در هر دو هفته در تیمار کنترل مشبت شد که اختلاف معنی داری با سایر تیمارها نداشت ($p>0/05$).

شاخص های 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 میلی گرم ثبت شد که با تمامی تیمارها دارای اختلاف معنی دار آماری بود ($p<0/05$). بیشترین میزان آلبومین نیز در هفته های اول و دوم در تیمار ۱۰۰ میلی گرم ثبت شد که این افزایش در هر دو

جدول ۲: مقایسه میانگین شاخص های بیوشیمیایی سرم قزل آلا رنگین کمان آلوده به قارچ ساپرولگنیا پارازیتیکا (*S. parasitica*) در پایان یک هفته حمام دهی با عصاره هیدرولالکلی آلوئه ورا (هفته اول) و پایان یک هفته پس از قطع حمام دهی (هفته دوم)
حرروف غیر همنام در هر ستون نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح $0/05$ 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)

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

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 (پایان یک هفته پس از قطع حمامدهی با عصاره آلوئه‌ورا) در تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم مشاهده شد که با تیمار کنترل و تیمارهای ۱۰۰ میلی‌گرم مشاهده شد که با تیمار کنترل و سایر تیمارهای آلوئه‌ورا اختلاف آماری معنی‌داری داشت ($p<0/05$) نشان داد.

شاخص‌های ایمنی
با توجه به جدول ۳، بیشترین میزان فعالیت لیزوژیم 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

جدول ۳: مقایسه میانگین شاخص‌های ایمنی سرم قزل‌آلای رنگین کمان آلووده به قارچ ساپرولگنیا پارازیتیکا (*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 $0/05$ 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	آلوئه‌ورا (OD at ۵۴۰nm)	انفجار تنفسی (OD at ۵۴۰nm)
لیزوژیم (U/ml)			
کنترل منفی (۰)	۰/۵۱±۰/۰۰ ^a	۰/۵۱±۰/۰۰ ^a	۰/۵۱±۰/۰۰ ^a
کنترل مثبت (۰)	۰/۸۵±۰/۰۰ ^b	۰/۸۵±۰/۰۰ ^b	۰/۸۵±۰/۰۰ ^b
۵۰	۰/۶۶±۰/۰۰ ^c	۰/۶۵±۰/۰۰ ^b	۰/۶۵±۰/۰۰ ^b
۱۰۰	۰/۶۸±۰/۰۰ ^d	۰/۶۹±۰/۰۰ ^c	۰/۶۹±۰/۰۰ ^c
۱۵۰	۰/۶۸±۰/۰۰ ^d	۰/۶۹±۰/۰۰ ^c	۰/۶۹±۰/۰۰ ^c
۲۰۰	۰/۶۸±۰/۰۰ ^d	۰/۶۹±۰/۰۰ ^c	۰/۶۹±۰/۰۰ ^c
فعالیت سیستم کمپلمان (U/ml)			
کنترل منفی (۰)	۴۳۳/۴۵±۰/۲۲ ^a	۴۳۳/۸۸±۰/۱۱ ^a	۴۳۳/۴۵±۰/۲۲ ^a
کنترل مثبت (۰)	۴۳۵/۵۶±۰/۱۱ ^b	۴۳۵/۱۰±۰/۲۵ ^b	۴۳۵/۵۶±۰/۱۱ ^b
۵۰	۴۳۵/۴۴±۰/۲۱ ^b	۴۳۵/۷۱±۰/۳۰ ^c	۴۳۵/۴۴±۰/۲۱ ^b
۱۰۰	۴۳۹/۴۵±۰/۲۵ ^d	۴۳۸/۴۵±۰/۱۵ ^e	۴۳۹/۴۵±۰/۲۵ ^d
۱۵۰	۴۳۷/۷۸±۰/۱۱ ^c	۴۳۷/۹۴±۰/۰۴ ^d	۴۳۷/۷۸±۰/۱۱ ^c
۲۰۰	۴۳۸/۶۰±۰/۰۷ ^c	۴۳۷/۶۰±۰/۱۸ ^d	۴۳۸/۶۰±۰/۰۷ ^c
درصد بازماندگی			
بازماندگی ۱۰۰	۴۱/۰۵±۰/۷۵ ^a	۳۶/۲۹±۲/۹۵ ^a	۴۱/۰۵±۰/۷۵ ^a
بازماندگی ۱۴	۶۶/۵۹±۲/۸۵ ^b	۷۰/۸۱±۲/۲۰ ^b	۶۶/۵۹±۲/۸۵ ^b
میزان بازماندگی ۱۴ روز از آلودگی ماهیان با زئوسپور ساپرولگنیا پارازیتیکا در گروه ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر	۱۷۲/۴۳±۲/۵۰ ^c	۱۷۲/۴۳±۲/۰۶ ^c	۱۷۲/۴۳±۲/۵۰ ^c
۱۰۰	۱۹۲/۵۲±۲/۶۶ ^f	۱۹۲/۸۵±۲/۴۹ ^e	۱۹۲/۵۲±۲/۶۶ ^f
۱۵۰	۱۸۴/۰۸±۲/۳۷ ^e	۱۸۴/۴۱±۲/۶۵ ^d	۱۸۴/۰۸±۲/۳۷ ^e
۲۰۰	۱۷۷/۶۲±۱/۴۸ ^d	۱۸۱/۲۹±۱/۰۶ ^d	۱۷۷/۶۲±۱/۴۸ ^d

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

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 ساپرولگنیا پارازیتیکا در گروه ۱۰۰ میلی‌گرم بر

کمپلکس آلفا-کتوگلوتارات دهیدروژنаз در چرخه کربس دارد، می‌تواند باعث افزایش تعداد سلول‌های خونی بهویژه گلبول‌های قرمز شود (Hamman, 2008). این خاصیت به وجود فلاؤنوتئیدها، مواد معدنی و پلی‌ساکاریدها نسبت داده شده است. برای ترمیم یک بافت آسیب‌دیده نیز میزان خون‌رسانی به آن ناچیه باید افزایش یابد، در نتیجه تعداد گلبول‌های قرمز نیز با افزایش حجم خون افزایش خواهد 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 به خصوص 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 تحریک کنندگی سیستم ایمنی بدن ناشی از این گیاه باشد به طوری که 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 تیلاپیا (*Oreochromis niloticus*) (Gabriel *et al.*, 2015) اثر عصاره آبی-الکلی برگ زیتون بر ماهی کپور معمولی Karimi Pashaki *et al.*, (Cyprinus carpio) (2019) اثر آلوئه‌ورا بر ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان Bazari (*Mehrabi et al.*, 2019) و تاس‌ماهی سیبری (Moghaddam *et al.*, 2016) نشان داد که شاخص‌های خونی به دنبال استفاده از عصاره‌های گیاهی در ماهیان بهبود خواهد یافت.

جدول ۴: درصد بازماندگی قزل‌آلای رنگین کمان ۱۴ روز پس از چالش با *Saprolegnia parasitica*

(حروف غیر همنام در هر ستون نشان دهنده 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)
کنترل منفی	۱۰۰ ^a
کنترل مثبت	۳۴ ^d
۵	۸۰ ^c
۱۰	۹۰ ^b
۱۵	۸۷ ^b
۲۰	۸۳ ^c

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 بهمود 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، ریوفلاوین 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 میلی‌گرم بر لیتر مشاهده شد که اختلاف معنی‌دار آماری با گروه کنترل مثبت داشت. این نتایج با مطالعه Alishahi و همکاران (۲۰۱۹) که به بررسی اثر حمام‌درمانی با عصاره هیدرولالکلی گزنه و مقاومت در برابر ساپرولگنیا 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 هیدرولاتانولی آلوئه‌ورا به میزان ۱٪ جیره پس از آلوود شدن با باکتری استرپتوکوکوس اینیه (Tafí 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. همان‌طوری‌که 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، ویتامین‌ها و پلی‌ساقاریدها نشان داده‌اند. در مطالعه حاضر نیز حمام ماهی قزل‌آلای رنگین کمان با عصاره هیدرولالکلی آلوئه‌ورا به عنوان یک گیاه دارویی می‌تواند سبب بهبود توان سیستم ایمنی آنها در برابر قارچ ساپرولگنیا پارازیتیکا (*S. parasitica*) شود. در نتیجه حمام‌درمانی ماهیان با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر عصاره این گیاه می‌تواند برای افزایش توان دفاعی و ممانعت از تضعیف سیستم ایمنی بدن در مقابل ساپرولگنیا زیس 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 (Haghghi 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 Devi et al., (2019) مطابقت داشت (Labeo rohita).

میزان لیزوژیم سرم نیز طی هر دو زمان نمونه‌برداری در تیمارهای آزمایش نسبت به گروه‌های کنترل افزایش معنی‌داری داشت، فعالیت لیزوژیم سرم می‌تواند در نتیجه افزایش تعداد سلول‌های بیگانه‌خوار باشد (Adel et al., 2020) که به دلیل اثر تحریک کننده‌گی گیاه آلوئه‌ورا بر سیستم ایمنی افزایش یافته بود. بیشترین میزان لیزوژیم سرم در تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر مشاهده شد. افزایش فاکتورهای ایمنی در گروه‌های تحت درمان با عصاره آلوئه‌ورا می‌تواند به دلیل وجود فلاونوئیدها و پلی‌ساقارید آسمانان باشد. بهبود فعالیت سیستم کمپلمان کمپلمان در تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم مشاهده شد. افزایش فاکتورهای ایمنی در انجار تنفسی تحت تأثیر استفاده از عصاره آلوئه‌ورا نیز مشاهده شد (Devi et al., 2019; Mehrabi et al., 2015) و همکاران (۲۰۱۵) نشان دادند که حمام ماهیان مولد با آلوئه‌ورا سبب افزایش فعالیت انجار تنفسی و مقاومت آنها در برابر استرس و بیماری‌ها می‌شود. همچنین در بررسی اثر گیاه آلوئه‌ورا بر ماهی (*Piaractusme sopotamicus*) به چالش کشیده شده با آئروموناس هیدروفیلا (*Aeromonas hydrophila*) افزایش سطح لیزوژیم 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., Haghghi, 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 serumbiochemical 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 alginicacid (Ergosan). *Pakistan Journal of Nutrition*, 8(3): 227232. 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., Kalhoro, 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 *Aeromonashydrophila*. *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 saprophytic 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 probiotic 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., Keyvanshokooh, 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.
- Haghghi, 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): 818824. 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 Dezfooli Nejad, M., Mesbah, M. and Jangaran Nejad, A., 2019.** Effects of *Aloe vera* extract on growth and some hematological parameters of shirbot, *Tor grypus* (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., Haghghi, 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. Pilladelphia. 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 brabadiensis*) 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