بهره‌برداری و پرورش آبزیان
جلد هشتم، شماره دوم، تابستان ۱۳۹۸
۶۱-۷۲
http://japu.gau.ac.ir
DOI: 10.22069/japu.2019.14356.1418

اثرات تزریق داخل صفاقی عصاره گیاه گلرنگ *Carthamus tinctorius* در دو حلال اتانول و سرم فیزیولوژی بر برخی شاخص‌های خون‌شناسی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان *Oncorhynchus mykiss*

اشکان زرگری[۱]، *محمد مازندرانی[۲] و سید مرتضی حسینی[۳]

[۱]دانشجوی کارشناسی‌ارشد گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشگاه تربیت مدرس، مازندران، نور،
[۲]دانشیار آموزشی گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گلستان، گرگان،
[۳]استادیار پژوهشی مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی ایران، مرکز تحقیقات ذخایر آبزیان آب‌های داخلی، گلستان، گرگان
تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۹/۱۳؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۰/۱۶

چکیده

در بررسی‌های متعددی اثرات عصاره‌های گیاهی به‌عنوان تقویت ایمنی در ماهیان مختلف مورد توجه قرار گرفته است. در بررسی حاضر اثرات تزریق داخل صفاقی عصاره گیاه گلرنگ (*Carthamus tinctorius*) در دو حلال الکل اتانول و سرم فیزیولوژی در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) مورد بررسی قرار گرفته است. به این منظور برای هر کدام از حلال‌ها ۳ گروه تیمار، یک گروه شاهد مثبت (تزریق با سرم فیزیولوژی) و یک گروه شاهد منفی (بدون تزریق) در نظر گرفت شد. ماهیان گروه‌های تیمار به‌ترتیب با غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ (میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن) عصاره گلرنگ مورد تزریق قرار گرفتند. در این بررسی ماهیانی که با حلال الکلی مورد تزریق قرار گرفتند تلفاتی بین ٤ ± ۱۵ تا ۳ ± ۲۰ ثبت گردید و این در حالی است که هیچ تلفاتی در ماهیانی که با حلالی سرم فیزیولوژی تزریق شدند مشاهده نگردید. بر اساس نتایج بررسی‌های خون‌شناسی در تمام ماهیان تزریق شده با عصاره گلرنگ تعداد گلبول‌های سفید به‌طور معنی‌داری در زمان‌های ۳، ۷ و ۱۰ روز پس از مواجهه پایین‌تر اندازه‌گیری شد ($P<۰/۰۵$). همچنین در ماهیانی که با حلال سرم فیزیولوژی عصاره گلرنگ را دریافت نمودند در روز دهم پس از تزریق مقادیر MCV و MCH به‌طور معنی‌داری در مقایسه با گروه شاهد پایین‌تر بود که این حالت در ماهیانی که با حلال الکلی تزریق شدند ثبت نگردید ($P<۰/۰۵$). در نهایت بر اساس بررسی حاضر می‌توان گفت استفاده از روش تزریقی عصاره گلرنگ در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان مناسب نمی‌باشد.

واژه‌های کلیدی: تزریق داخل صفاقی، خون‌شناسی، قزل‌آلای رنگین‌کمان، گلرنگ

* مسئول مکاتبه: mazandarani57@gmail.com

مقدمه

در بین منابع غذایی، آبزیان به‌دلیل برخورداری از گوشتی با ارزش غذایی بالا دارای اهمیت ویژه‌ای هستند؛ به‌طوری‌که تامین بخش مهمی از منابع غذای جهان و سلامت جمعیت روز افزون بر عهده آبزی‌پروری می‌باشد (فائو، ۲۰۱٤). قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) یکی از گونه‌های با ارزش اقتصادی در جهان محصوب می‌شود و عمده‌ترین گونه در صنعت پرورش ماهیان سردآبی می‌باشد (فائو، ۲۰۱٤).

در سال‌های اخیر هم‌زمان با توسعه صنعت آبزی‌پروری به‌دلیل افزایش تراکم و استرس ناشی از آن شیوع بیماری‌های مختلف در این مزارع یکی از عوامل محدودکننده و زیان‌آور به حساب می‌آید در بسیاری از موارد درمان بیماری در مزارع با هزینه‌های بالا همراه است به همین دلیل در بسیاری موارد پیشگیری از طریق افزایش ایمنی بدن ماهیان بسیار مقرون به صرفه‌تر است. استفاده از عصاره‌های گیاهی به‌عنوان محرک ایمنی در سال‌های اخیر به‌دلیل عوارض جانبی کم‌تر بیش‌تر مورد توجه قرار گرفته است.در این راستا گیاه گلرنگ (*Carthamus tinctorius*) گیاه یک‌ساله از خانواده Asteraceae (ویلا و همکاران، ۲۰۱۷) می‌باشد. گزارش‌های متعددی نشان می‌دهد که این گیاه غنی از فلاونوئیدها، آلکالوئیدها، پلی‌اتیلن‌ها، آلکان- دیول[1]، اسیدهای چرب، استروئیدها و لیگنان‌ها است و اثرات درمانی فراوان از جمله گسترش عروق کرونری، بهبود ایسکمی میوکارد قلب، ضداکسیداسیون قوی، ضدهیپوکسی، ضدافسردگی و ضدالتهاب در انسان و موجودات آزمایشگاهی برای آن گزارش شده است (ژو و همکاران، ۲۰۱٤).

علی‌رغم بررسی‌های گسترده در رابطه با اثرات گیاه گلرنگ در موش و سایر موجودات آزمایشگاهی، در ازیان در این زمینه بررسی‌های اندکی صورت گرفته است و در عین‌حال عمده این بررسی‌ها بیش‌تر به اثرات تغذیه‌ای این گیاه در ماهیان محدود شده است. به‌عنوان مثال مطالعه لیم و همکاران (۱۹۹۷) اثرات منابع مختلف چربی از جمله روغن گلرنگ را در رژیم غذایی بر شاخص‌های مختلف افزایش وزن، تبدیل غذا، بقا و ترکیب اسید چرب در میگوهای جوان (*Penaeus vannamei*) مورد بررسی قرار دادند. آلتونداگ و همکاران (۲۰۱۳) جهت بررسی اثرات رژیم غذایی حاوی روغن گلرنگ و روغن ماهی به‌عنوان منبع چربی بر رشد، تبدیل غذا و ترکیب بدن در کفشک ماهی (*Psetta maxima*) نشان داد که استفاده از روغن گلرنگ به جای روغن ماهی در خوراک کفشک‌ماهی‌ها تأثیر منفی بر رشد، تغذیه و ارزش‌های مربوط به عملکرد رشد ایجاد نمی‌کند و موجب افزایش وزن و سرعت رشد ویژه می‌شود. در مطالعه درنکباسی و همکاران (۲۰۱۵) تأثیر رژیم غذایی غنی‌شده با روغن گلرنگ و روغن کلزا بر رشد، استفاده از خوراک، ترکیب بدن و اسید چرب عظله و کبد در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) مورد بررسی قرار گرفت. در پژوهش دادرس و همکاران (۲۰۱٦) افزودن ۱٪ و ۲٪ پودر گلرنگ در رژیم غذایی فیل‌ماهی (*Huso huso*) بر فاکتورهای رشد و برخی آنزیم‌های کبدی و شاخص‌های ایمنی بررسی شد. دهقانی قمشانی و همکاران (۲۰۱۷) درباره اثر تغذیه‌ای عصاره هیدروالکلی گیاه گلرنگ (*C. tinctorius*) بر شاخص‌های خون‌شناسی و استرسی در مواجهه با شوری در بچه‌ماهیان کپور معمولی بررسی نمودند. همان‌گونه که عنوان گردید تاکنون هیچ بررسی در رابطه با اثرات تزریق داخل صفاقی عصاره این گیاه در ماهیان صورت نگرفته است.

1- Alkane-diol

خون به‌طور مستقیم یا غیرمستقیم تحت‌تأثیر فرآیندهای فیزیولوژیک بدن قرار دارد. در نتیجه سنجش مقدار تغییرات پارامترهای مختلف آن جهت تعیین بیماری یا آسیب احتمالی و حتی تعیین تأثیر مواد تجویز شده به بدن رایج می‌باشد (بارتون، ۲۰۰۲). به همین دلیل بررسی‌های خون‌شناسی یکی از روش‌های معمول و مناسب در تشخیص وضعیت فیزیولوژیکی و سلامت موجودات است (کایرون، ۲۰۱۲). یکی از روش‌های بررسی اثرات داروها در آبزیان استفاده از روش تزریقی آن‌ها است زیرا در این روش دارو به‌صورت کنترل شده به میزان مورد نظر به هر نمونه تجویز می‌گردد در عین‌حال در بسیاری از موارد ترکیبات دارویی می‌توانند به‌عنوان افزایش‌دهنده ایمنی بدن به همراه واکسن‌های تزریقی در جانوران مورد استفاده قرار بگیرد.

با توجه به اثرات گسترده یاد شده برای عصاره گلرنگ در موجودات آزمایشگاهی و عدم وجود سابقه پژوهش مناسب در زمینه اثرات عصاره این گیاه در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در بررسی حاضر اثرات تزریق داخل صفاقی عصاره گلرنگ بر شاخص‌های خون‌شناسی در دو حلال الکلی و نرمال سالین (NaCl، ۰/۹٪) مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

تهیه ماهی و شرایط نگهداری: ماهی‌های قزل‌آلای رنگین‌کمان با میانگین وزن ۱۰۰±٦ gr و طول متوسط ۲۳±٤ cm تهیه و آداپتاسیون به‌مدت یک هفته صورت گرفت و در طی این مدت ماهی‌ها با غذای تجاری تغذیه شدند (جدول ۱).

جدول ۱- آنالیز تقریبی ترکیب‌های موجود در خوراک اکسترود ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (GFT1، شرکت فرادانه).

	پروتئین خام	چربی خام	فیبر خام	خاکستر	رطوبت	فسفر
مقدار حداقل ترکیب‌ها	۳۸	۱۳	۲	۷	۵	۱
مقدار حداکثر ترکیب‌ها	٤۲	۱۷	٤	۱۱	۱۱	۱/۵

روش استخراج عصاره: به‌منظور آماده‌سازی عصاره تزریقی، گل‌های خشک شده گیاه گلرنگ تهیه و از آن عصاره اتانولی ساخته شد (هریکریشنان و همکاران، ۲۰۰۹). به‌طور خلاصه، گل‌های گلرنگ آسیاب و مقدار ۵ لیتر اتانول ٪۹٦ به عنوان حلال به ۵۰۰ گرم پودر خشک گلرنگ اضافه شد (به نسبت ۱ به ۱۰). مخلوط پس از ترکیب شدن به ظرف شیشه‌ای تیره رنگ منتقل و به‌مدت ۷ روز در دمای اتاق (^{o}C ۲۵) روی دستگاه شیکر قرار گرفت. سپس محلول حاصله با هدف حذف ذره‌های معلق نامحلول و دکانته توسط کاغذ صافی استریل فیلتر شد و پس از خشک کردن حلال به کمک آون، باقی مانده مواد به‌عنوان عصاره اتانولی در ظرف‌های استریل بسته‌بندی گردید.

تزریق عصاره و تیماربندی و نمونه‌برداری: عصاره حاصله با استفاده حلال اتانول ٪۹٦ و سرم فیزیولوژی هر کدام جداگانه به‌صورت محلول در دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن ماهی (هریکریشنان و همکاران، ۲۰۰۹) آماده شد. ماهی‌ها به ۱۰ تیمار با سه تکرار تقسیم و در دو گروه کلی

قرار گرفتند. در گروه اول سه تیمار به‌ترتیب با دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در ۰/۲ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی به‌صورت داخل صفاقی تزریق شدند همچنین در این گروه برای تیمار شاهد مثبت مقدار ۰/۲ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی به تنهایی تجویز شد. در گروه دوم دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم محلول در ۰/۲ میلی‌لیتر اتانول ٪۹۶ به سه تیمار مجزا به روش داخل صفاقی تزریق شد (هریکریشنان و همکاران، ۲۰۰۹). در این گروه برای تیمار شاهد مثبت مقدار ۰/۲ میلی‌لیتر اتانول ٪۹۶ به تنهایی تجویز شد. برای هر گروه به‌طور مجزا تیمار شاهد منفی بدون تزریق در نظر گرفته شد. ماهی‌های تزریق شده به مخزن‌های ۵۰۰ لیتری با حجم آب ۲۰۰ لیتر و با امکان جریان دائمی آب به مقدار دو لیتر در دقیقه (هر تیمار حاوی ٤٥ عدد ماهی) منتقل شدند.

نمونه‌برداری از خون ماهیان در روزهای سوم، هفتم و دهم بعد از تزریق با بیهوش کردن ماهی به کمک محلول ٪۰/۳ پودر میخک صورت گرفت و نمونه خون هر ماهی به‌صورت مجزا به میکروتیوب‌های حاوی سدیم هپارین ریخته شدند.

فاکتورهای سنجش‌شده: تعداد گلبول‌های قرمز و سفید با استفاده از لام نئوبار، شمارش افتراقی گلبول‌های سفید با روش استاندارد، اندازه‌گیری هماتوکریت با استفاده از روش لوله‌های میکروهماتوکریت و سنجش هموگلوبین با استفاده از روش سیان‌مت‌هموگلوبین صورت گرفت (بلکس‌هال، ۱۹۷۲).

حجم متوسط گلبول قرمز (MCV)، هموگلوبین متوسط گلبول قرمز (MCH) و غلظت متوسط هموگلوبین گلبول قرمز (MCHC) براساس رابطه‌های تعیین‌شده محاسبه شدند (دیسی و همکاران، ۱۹۸٤).

$$MCV = \frac{Hct\ (\%) \times 10}{RBC\ (10^6 / mm^3)}$$

$$MCH = \frac{Hb\ (g/L)}{RBC\ (10^6 / mm^3)}$$

$$MCHC = \frac{Hb\ (g / 100\ ml)}{Hct\ (\%)}$$

تجزیه و تحلیل آماری: داده‌های به‌دست آمده بعد از بررسی همگنی توسط نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲، جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها از آنالیز واریانس یک‌طرفه (one way ANONA) و آزمون دانکن جهت بررسی معنی‌دار بودن میانگین‌ها استفاده شد و نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel (Microsoft office, ۲۰۱٦) ترسیم شدند.

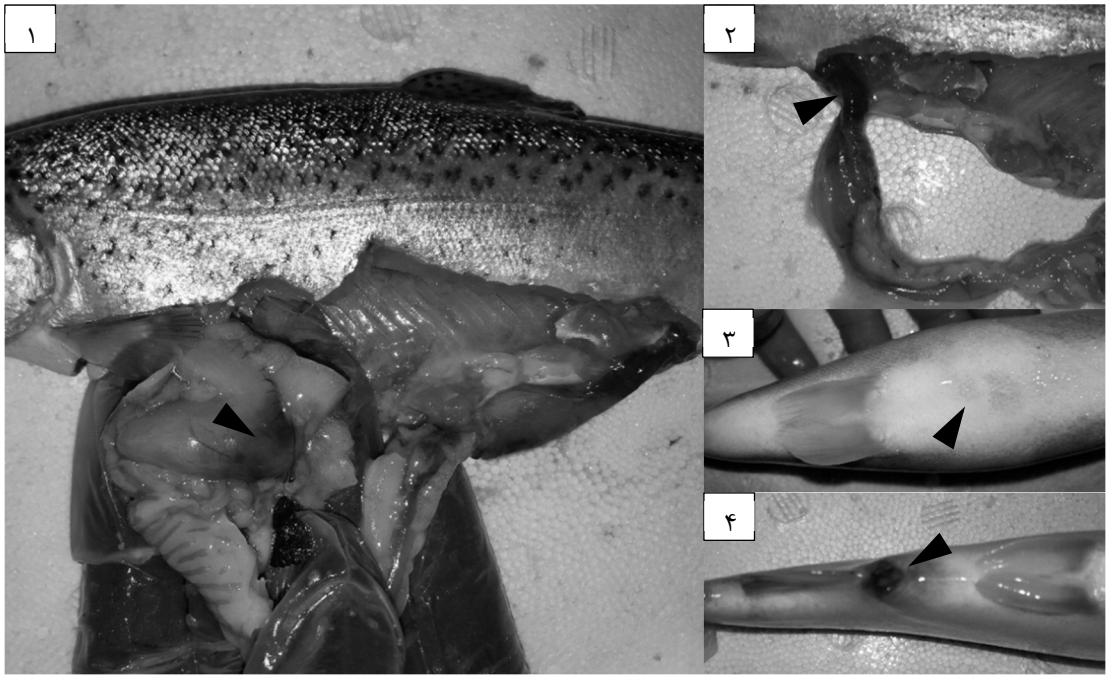
نتایج

اثر ترزیق عصاره گیاه گلرنگ بر بقا: در دوره تزریق روند تلفات به‌صورت روزانه ثبت شد. در این بررسی، تزریق عصاره محلول در سرم فیزیولوژی هیچ تلفاتی نداشت اما در تزریق عصاره محلول در اتانول ٪۹٦ تلفات متعدد در تیمارها شمارش شدند (جدول ۲).

جدول ۲- تلفات ماهی‌های قزل‌آلای رنگین‌کمان به تفکیک برای عصاره محلول در سرم فیزیولوژی و عصاره محلول در اتانول ٪۹۶ از لحظه تزریق تا پایان روز دهم.

عصاره اتانولی گلرنگ محلول در سرم فیزیولوژی			عصاره اتانولی گلرنگ محلول در اتانول ٪۹۶		
	شاهد منفی	–		شاهد منفی	–
	شاهد مثبت	–		شاهد مثبت	٪۱۵ ±٤
مجموع تلفات (٪)	دوز ۵۰ میلی‌گرم	–	مجموع تلفات (٪)	دوز ۵۰ میلی‌گرم	٪۱۷ ±٤
	دوز ۱۰۰ میلی‌گرم	–		دوز ۱۰۰ میلی‌گرم	٪۱۷ ±۲
	دوز ۲۰۰ میلی‌گرم	–		دوز ۲۰۰ میلی‌گرم	٪۲۰ ±۳

در تزریق عصاره محلول در اتانول ٪۹۶ تمامی ماهی‌ها در محل تزریق دچار عفونت و نکروز بافت عضله شده بودند. همچنین علائمی مانند بی‌اشتهایی، آب‌آوردگی شکم، پرخونی و خونریزی روده و معده مشاهده شد (شکل ۱).



شکل ۱- آسیب‌های وارد شده به محوطه شکمی در اثر تزریق عصاره محلول در اتانول ٪۹۶. توضیح: ۱ خونریزی در معده. ۲ روده پر خون. ۳ خون‌ریزی و آسیت در محل شکم. ٤ مخرج پر خون و ملتهب.

شمارش تعداد گلبول‌های سفید و قرمز: افزایش معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) در گلبول‌های قرمز خون گروه حلال در سرم فیزیولوژی در دوز ۲۰۰ میلی‌گرم روز دهم بعد از تزریق دیده شد (جدول ۳). در گروه حلال اتانول ٪۹۶ کاهش معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) در تعداد گلبول‌های قرمز روز دهم بعد از تزریق در دوز ۵۰ میلی‌گرم عصاره دیده شد (جدول ۳).

جدول ۳- تغییرات تعداد گلبول‌های قرمز خون ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در روزهای سوم، هفتم و دهم پس از تزیق در دو حلال سرم فیزیولوژی و اتانول ٪۹۶.

		شاهد منفی	شاهد مثبت	دوز ۵۰ میلی‌گرم	دوز ۱۰۰ میلی‌گرم	دوز ۲۰۰ میلی‌گرم
RBC گروه محلول در سرم فیزیولوژی	روز سوم	۱۳۸۸۳۳۳ ±۱۲۸۷۴۸[a]	۱۳۴۵۰۰۰ ±۹۴۲۶۰[a]	۱۲۷۶۶۶۶ ±۷۰۰۷۹[a]	۱۴۱۰۰۰۰ ±۴۴۲۷۱[a]	۱۲۳۱۶۶۶ ±۵۹۱۲۷[a]
	روز هفتم	۱۳۶۸۳۳۳ ±۴۷۱۴۶[a]	۱۲۶۵۰۰۰ ±۶۲۴۳۶[a]	۱۱۶۰۰۰۰ ±۵۹۲۷۳[a]	۱۲۴۰۰۰۰ ±۱۰۱۵۲۱[a]	۱۲۱۱۶۶۶ ±۸۸۵۵۹[a]
	روز دهم	۱۱۱۰۰۰۰ ±۴۵۸۹۸[b]	۱۲۲۰۰۰۰ ±۶۱۲۶۴[ab]	۱۲۵۶۶۶۶ ±۳۹۳۸۴[ab]	۱۲۵۵۰۰۰ ±۳۸۱۸۸[ab]	۱۳۵۳۳۳۳ ±۷۵۱۲۹[a]
RBC گروه محلول در اتانول ٪۹۶	روز سوم	۱۴۸۶۶۶۶ ±۹۰۷۹۸[a]	۱۵۳۱۶۶۶ ±۹۲۴۹۹[a]	۱۴۴۳۳۳۳ ±۲۴۳۱۲[a]	۱۳۸۶۰۰۰ ±۱۱۹۲۷۲[a]	۱۳۰۰۰۰۰ ±۲۳۲۳۷[a]
	روز هفتم	۱۰۸۸۳۳۳ ±۴۶۲۱۸/۰۸[a]	۱۰۶۸۳۳۳ ±۱۴۰۷۴۶/۰۳[a]	۱۰۷۲۰۰۰ ±۶۳۱۱۸[a]	۱۱۰۳۳۳۳ ±۶۵۲۰۰[a]	۹۹۳۳۳۳ ±۲۴۵۸۵[a]
	روز دهم	۱۲۲۰۰۰۰ ±۶۹۰۴۱/۰۵[ab]	۱۱۳۸۰۰۰ ±۳۲۱۵۵[abc]	۱۰۲۸۳۳۳ ±۴۹۶۹۳[c]	۱۲۵۲۵۰۰ ±۱۱۳۰۱۷[a]	۱۰۵۶۶۶۶ ±۲۶۲۸۸[bc]

* حروف انگلیسی متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در بین تیمارها می‌باشد (P<۰/۰۵). انحراف معیار± میانگین.

تعداد گلبول‌های سفید در دوز ۲۰۰ میلی‌گرم در روز سوم و هفتم در مقایسه با شاهد منفی در گروه محلول در سرم فیزیولوژی به‌طور معنی‌دار (P<۰/۰۵) کاهش یافت (جدول ٤). تعداد گلبول‌های سفید در گروه محلول در اتانول ٪۹۶ در روز سوم و هفتم در مقایسه با شاهد منفی کاهش معنی‌داری (P<۰/۰۵) داشت اما افزایش معنی‌داری (P<۰/۰۵) در تعداد گلبول‌های سفید نمونه‌های روز دهم در هر سه دوز تجربی در مقایسه با شاهد منفی و مثبت دیده شد (جدول ٤).

جدول ٤- تغییرات تعداد گلبول‌های سفید خون ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در روزهای سوم، هفتم و دهم پس از تزیق در دو گروه حلال سرم فیزیولوژی و اتانول ٪۹۶.

		شاهد منفی	شاهد مثبت	دوز ۵۰ میلی‌گرم	دوز ۱۰۰ میلی‌گرم	دوز ۲۰۰ میلی‌گرم
WBC گروه محلول در سرم فیزیولوژی	روز سوم	۲۱۸۶۶ ±۱۵۲۰[a]	۲۱۲۰۰ ±۳۲۴۸[ab]	۱۹۸۶۶ ±۱۸۴۳[ab]	۱۷۶۶۶ ±۲۰۲۵[ab]	۱۴۷۶۶ ±۸۶۷[b]
	روز هفتم	۲۶۱۶۶ ±۲۸۱۳[a]	۲۴۰۰۰ ±۲۱۱۷[ab]	۲۳۲۶۶ ±۱۵۰۴[ab]	۲۰۵۳۳ ±۱۶۷۵[ab]	۱۸۷۶۶ ±۱۴۲۵[b]
	روز دهم	۲۷۹۰۰ ±۲۱۵۸[a]	۲۷۳۳۳ ±۲۹۴۱/۰۵[a]	۲۳۱۰۰ ±۲۲۳۱[a]	۲۳۰۶۶ ±۱۸۸۴[a]	۲۲۹۰۰ ±۲۲۲۲[a]
WBC گروه محلول در اتانول ٪۹۶	روز سوم	۲۳۹۰۰ ±۲۸۳۳[a]	۱۲۵۰۰ ±۱۰۹۶[b]	۱۵۴۴۰ ±۱۶۲۰[b]	۱۲۰۵۰ ±۲۱۹۲[b]	۱۱۱۶۶ ±۹۸۹[b]
	روز هفتم	۱۹۰۶۶ ±۱۴۰۵[a]	۱۱۳۲۰ ±۱۸۴۸[b]	۱۱۱۲۰ ±۱۴۷۸[b]	۱۱۱۳۳ ±۱۰۴۳[b]	۱۳۴۸۰ ±۱۵۶۴/۱[b]
	روز دهم	۱۳۷۳۳ ±۷۴۰[b]	۱۲۷۵۰ ±۱۱۱۷[b]	۱۷۰۴۰ ±۲۴۱۲[ab]	۲۱۰۴۰ ±۱۶۹۳[a]	۱۶۴۰۰ ±۲۸۴۶/۰۵[ab]

* حروف انگلیسی متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در بین تیمارها می‌باشد (P<۰/۰۵). انحراف معیار± میانگین.

تعیین درصد افتراقی گلبول‌های سفید: در شمارش افتراقی گلبول‌های سفید با توجه به جدول‌های ۵ و ٦ در هر دو گروه حلال تفاوت معنی‌داری (P>۰/۰۵) در تعداد انواع گلبول‌های سفید دیده نشد (جدول‌های ۵ و ٦).

جدول ۵- تغییرات درصد گلبول‌های سفید در خون ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان تزریق شده با عصاره گلرنگ محلول در سرم فیزیولوژی استریل (میانگین ± انحراف معیار).

		شاهد منفی		شاهد مثبت		دوز ۵۰		دوز ۱۰۰		دوز ۲۰۰	
روز سوم پس از تزریق (گروه محلول در سرم فیزیولوژی)	E(%)	۰/۵	۰±[a]	۰/۵	۰±[a]	۰/۵	۰±[a]	۰/۵	۰±[a]	۰/۵	۰±[a]
	M(%)	۵/۵	۱±[a]	۵/۳	۱±/۵۲[a]	۵/٤	۱±/۱٦[a]	۵/٦٦	۱±[a]	۵/٦۳	۱±[a]
	N(%)	٦/٦۷	۰±/۵۷[a]	٦/۳٤	۰±/۵[a]	٦/۷	۰±/۵۷[a]	٦/۵	۱±/۱[a]	٦/۳	۱±/۵۳[a]
	L(%)	۸۸	۱±[a]	۸۸/٦۷	۱±/۱[a]	۸۷/۷٦	۳±[a]	۸۸	۲±[a]	۸۷/۸٦	۲±/۲۵[a]
روز هفتم پس از تزریق (گروه محلول در سرم فیزیولوژی)	E(%)	۰/۵	۰±[a]	۱	۰±[a]	۰/۵	۰±[a]	۰/۵	۰±[a]	۱	۰±[a]
	M(%)	۵/۲	۱±[a]	۵/۳	۱±[a]	۵	۱±/۵[a]	۵	۱±[a]	۵/٤	۱±[a]
	N(%)	۷	۱±[a]	٦	۲±[a]	٦	۱±[a]	٦/۲	۲±[a]	٦/٦	۰±/۵[a]
	L(%)	۸۷	۲±[a]	۸۸	۱±[a]	۸۸	۱±/۱[a]	۸۷/۸	۱±/۵[a]	۸۸	۱±[a]
روز دهم پس از تزریق (گروه محلول در سرم فیزیولوژی)	E(%)	۰/۵	۰±[a]	۱	۰±[a]	۰/۵	۰±[a]	۱	۰±[a]	۱	۰±[a]
	M(%)	۵/٦	۰±/۵[a]	۵	۱±[a]	۵	۱±/۱٦[a]	۵	۱±[a]	۵	۱±[a]
	N(%)	٦	۱±[a]	٦	۱±[a]	۷	۰±/۵[a]	٦	۱±[a]	٦	۱±[a]
	L(%)	۸۸/۷	۲±[a]	۸۸	۲±/۵[a]	۸۷	۲±[a]	۸۹	۱±[a]	۸۸/۹	۱±/۵۲[a]

[*] حروف یکسان در هر ستون نشان‌دهنده عدم تفات معنی‌دار (P>۰/۰۵) می‌باشد لنفوسیت (L)، نوتروفیل (N)، مونوسیت (M) و ائوزینوفیل (E).

جدول ٦- تغییرات درصد گلبول‌های سفید در خون ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان تزریق شده با عصاره گلرنگ محلول در اتانول ۹٦٪ (میانگین ± انحراف معیار).

		شاهد منفی		شاهد مثبت		دوز ۵۰		دوز ۱۰۰		دوز ۲۰۰	
روز سوم پس از تزریق (گروه محلول در اتانول ۹٦٪)	E(%)	۰/۵	۰±[a]	۱	۰±/۵[a]	۱/۵	۱±[a]	۱/۵	۱±[a]	۱/۵	۱±/۱[a]
	M(%)	۵/٦۳	۰±/۵[a]	۵/۵۱	۱±[a]	۵/۵۳	۱±[a]	۵	۱±[a]	۵	۰±/۵[a]
	N(%)	٦	۰±/۵[a]	۷/۳٤	۰±[a]	۷	۱±[a]	۷	۱±[a]	۷	۱±[a]
	L(%)	۸۸/۵	۱±[a]	۸٦	۱±/۵[a]	۸۷	۱±[a]	۸۷	۱±[a]	۸٦	۲±[a]
روز هفتم پس از تزریق (گروه محلول در اتانول ۹٦٪)	E(%)	۰/۵	۰±[a]	۱	۰±/۵[a]	۱/۵	۰±/۵[a]	۱/۵	۰±/۵۲[a]	۱/۵	۰±/۵۷[a]
	M(%)	۵/۵	۱±[a]	۵/۵	۱±[a]	۵	۱±[a]	۵	۱±[a]	۵	۱±[a]
	N(%)	٦	۱±[a]	۷	۱±[a]	۷	۰±/۵[a]	۷	۰±/۵[a]	۷	۱±[a]
	L(%)	۸۸	۱±[a]	۸۷	۱±[a]	۸۷	۱±[a]	۸۸	۱±[a]	۸۸	۱±[a]
روز دهم پس از تزریق (گروه محلول در اتانول ۹٦٪)	E(%)	۰/۵	۰±[a]	۱	۰±[a]	۱/۵	۱±[a]	۱/۵	۱±[a]	۱/۵	۰±/۵[a]
	M(%)	۵	۱±[a]	۵	۱±[a]	۵	۱±[a]	۵	۰±/۵[a]	۵	۰±/۵[a]
	N(%)	٦	۱±[a]	۷	۱±[a]	۷	۱±[a]	۷	۱±[a]	۷	۱±[a]
	L(%)	۸۸	۱±/۵[a]	۸۷	۱±[a]	۸۸	۰±/۵[a]	۸۷	۲±[a]	۸٦	۲±[a]
	L(%)	۸۸/۷	۲±[a]	۸۸	۲±/۵[a]	۸۷	۲±[a]	۸۹	۱±[a]	۸۸/۹	۱±/۵۲[a]

[*] حروف یکسان در هر ستون نشان‌دهنده عدم تفات معنی‌دار (P>۰/۰۵) می‌باشد لنفوسیت (L)، نوتروفیل (N)، مونوسیت (M) و ائوزینوفیل (E).

تعیین درصد هماتوکریت، سطح هموگلوبین، MCV، MCH و MCHC: مقدار هموگلوبین در گروه محلول در سرم فیزیولوژی و نیز در گروه محلول در اتانول ٪۹۶ در دوز ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در روز سوم کاهش معنی‌داری (P<۰/۰۵) نشان داد (جدول ۷).

جدول ۷- تغییرات هموگلوبین خون ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تزریق شده با عصاره گلرنگ در دو حلال سرم فیزیولوژی و اتانول ٪۹۶ در روزهای سوم، هفتم و دهم پس از مواجهه.

		شاهد منفی	شاهد مثبت	دوز ۵۰ میلی‌گرم	دوز ۱۰۰ میلی‌گرم	دوز ۲۰۰ میلی‌گرم
Hb گروه محلول در سرم فیزیولوژی (gr/dl)	روز سوم	۸ ±۰/۱^{a}	۸ ±۰/۰۷^{ab}	۸ ±۰/۰۸^{ab}	۷ ±۰/۲^{b}	۷ ±۰/۱^{b}
	روز هفتم	۸ ±۰/۰۸^{a}	۸ ±۰/۱^{a}	۸/۰۶ ±۰/۱۲^{a}	۸/۰۷ ±۰/۱^{a}	۷ ±۰/۱^{a}
	روز دهم	۷ ±۰/۱^{a}	۷ ±۰/۰۹^{a}	۷ ±۰/۰۹^{a}	۷ ±۰/۱^{a}	۷ ±۰/۳^{a}
Hb گروه محلول در اتانول ٪۹۶ (gr/dl)	روز سوم	۸ ±۰/۲^{a}	۷ ±۰/۱^{a}	۷ ±۰/۱^{a}	۶ ±۰/۱۱^{b}	۶ ±۰/۲^{b}
	روز هفتم	۶ ±۰/۲^{a}	۶ ±۰/۵^{a}	۷ ±۰/۱^{a}	۶ ±۰/۰۹^{a}	۶ ±۰/۱^{a}
	روز دهم	۷ ±۰/۱^{a}	۷ ±۰/۱^{a}	۶ ±۰/۱^{a}	۷ ±۰/۱^{a}	۶ ±۰/۱^{a}

* حروف انگلیسی متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در بین تیمارها می‌باشد (P<۰/۰۵). انحراف معیار± میانگین.

در اندازه‌گیری‌های میکروهماتوکریت حاصل از خون تام هپارینه کاهش معنی‌دار (P<۰/۰۵) تنها در دوز ۲۰۰ میلی‌گرم در روز سوم دیده شد (جدول ۸).

جدول ۸- تغییرات هموگلوبین خون ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تزریق شده با عصاره گلرنگ در دو حلال سرم فیزیولوژی و اتانول ٪۹۶ در روزهای سوم، هفتم و دهم پس از مواجهه (میانگین ± انحراف معیار).

		شاهد منفی	شاهد مثبت	دوز ۵۰ میلی‌گرم	دوز ۱۰۰ میلی‌گرم	دوز ۲۰۰ میلی‌گرم
PCV گروه محلول در سرم فیزیولوژی	روز سوم	۴۷ ±۱^{a}	۴۵ ±۲^{ab}	۴۱ ±۲^{ab}	۴۴ ±۱^{ab}	۴۰ ±۳^{b}
	روز هفتم	۴۴ ±۲^{a}	۴۳/۱ ±۱^{a}	۴۲ ±۱^{a}	۴۲/۱ ±۲^{a}	۴۱ ±۱/۱^{a}
	روز دهم	۴۳/۰۹ ±۱^{a}	۴۱ ±۱^{a}	۴۱ ±۲^{a}	۴۰ ±۲^{a}	۴۰ ±۱^{a}
PCV گروه محلول در اتانول ٪۹۶	روز سوم	۴۳ ±۲^{a}	۴۴/۰۸ ±۳^{a}	۴۱ ±۱^{a}	۴۰ ±۱/۰۵^{a}	۳۸ ±۲^{a}
	روز هفتم	۴۱ ±۱^{a}	۳۸ ±۳^{a}	۳۷ ±۲^{a}	۳۷/۰۸ ±۱^{a}	۳۷ ±۱^{a}
	روز دهم	۴۰ ±۳^{a}	۴۰ ±۲^{a}	۳۴ ±۳^{a}	۴۳ ±۳^{a}	۳۹ ±۲^{a}

* حروف انگلیسی متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در بین تیمارها می‌باشد (P<۰/۰۵).

کاهش معنی‌دار (P<۰/۰۵) حجم متوسط گلبول قرمز (MCV) تنها در گروه محلول در سرم فیزیولوژی و در روز دهم برای هر سه دوز ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم دیده شد (جدول ۹).

جدول ۹- تغییرات میانگین حجم متوسط گلبول‌های (MCV) خون ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تزریق شده با عصاره گلرنگ در دو حلال سرم فیزیولوژی و اتانول ٪۹۶ در روزهای سوم، هفتم و دهم پس از مواجهه (میانگین ± انحراف معیار).

		شاهد منفی	شاهد مثبت	دوز ۵۰ میلی‌گرم	دوز ۱۰۰ میلی‌گرم	دوز ۲۰۰ میلی‌گرم
MCV گروه محلول در سرم فیزیولوژی	روز سوم	۳۶۲/۰۴ ±۲۲^{a}	۳۴۵ ±۲۵^{a}	۳۲۹ ±۱۶^{a}	۳۱۹ ±۱۱^{a}	۳۲۹ ±۲۴^{a}
	روز هفتم	۳۶۸ ±۲۶^{a}	۳۴۳ ±۱۳^{a}	۳۵۲ ±۶^{a}	۳۱۳ ±۲۹^{a}	۳۳۷ ±۱۹^{a}
	روز دهم	۳۹۱ ±۱۹^{a}	۳۴۷ ±۱۹^{ab}	۳۱۳ ±۱۲^{b}	۳۱۸ ±۱۵^{b}	۳۰۴ ±۱۲^{b}
MCV گروه محلول در اتانول ٪۹۶	روز سوم	۳۰۰ ±۱۹^{a}	۲۸۹ ±۱۷^{a}	۲۸۸ ±۸^{a}	۳۰۵ ±۲۰^{a}	۲۹۸ ±۲۳^{a}
	روز هفتم	۳۸۰ ±۲۶^{a}	۴۰۴ ±۴۷^{a}	۳۲۷ ±۱۷^{a}	۳۴۲ ±۲۶^{a}	۳۴۷ ±۲۲^{a}
	روز دهم	۳۷۶ ±۳۵/۰۹^{a}	۳۶۷ ±۲۳^{a}	۳۳۲ ±۲۶^{a}	۳۱۲ ±۳۴^{a}	۳۷۰ ±۲۸^{a}

* حروف انگلیسی متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در بین تیمارها می‌باشد (P<۰/۰۵).

میانگین وزن هموگلوبین در یک گلبول قرمز (MCH) در روز دهم مربوط به گروه محلول در سرم فیزیولوژی به‌صورت معنی‌داری (P<۰/۰۵) در دوز ۲۰۰ میلی‌گرم کاهش یافت (جدول ۱۰).

جدول ۱۰- تغییرات میانگین هموگلوبین متوسط گلبول‌های قرمز (MCH) خون ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تزریق شده با عصاره گلرنگ در دو حلال سرم فیزیولوژی و اتانول ٪۹۶ در روزهای سوم، هفتم و دهم پس از مواجهه (میانگین ± انحراف معیار).

		شاهد منفی	شاهد مثبت	دوز ۵۰ میلی‌گرم	دوز ۱۰۰ میلی‌گرم	دوز ۲۰۰ میلی‌گرم
MCH گروه محلول در سرم فیزیولوژی	روز سوم	۶۶ ±۴^{a}	۶۱ ±۴^{a}	۵۹ ±۲^{a}	۵۵ ±۳^{a}	۶۱ ±۲^{a}
	روز هفتم	۷۱ ±۵^{a}	۶۶ ±۲^{a}	۶۹/۰۵ ±۳/۰۸^{a}	۵۹ ±۳/۰۱^{a}	۶۱ ±۵/۱^{a}
	روز دهم	۶۷ ±۲^{a}	۶۶/۰۵ ±۴^{ab}	۶۴/۰۹ ±۲^{ab}	۶۳ ±۲^{ab}	۵۶ ±۲^{b}
MCH گروه محلول در اتانول ٪۹۶	روز سوم	۵۷ ±۳^{a}	۴۷ ±۳/۰۹^{a}	۵۱ ±۲^{a}	۵۰ ±۴^{a}	۵۱ ±۳^{a}
	روز هفتم	۶۱ ±۴^{a}	۷۳ ±۱۴^{a}	۶۰ ±۵^{a}	۵۶ ±۲^{a}	۵۹ ±۳/۰۶^{a}
	روز دهم	۶۸ ±۵^{a}	۶۴ ±۴^{a}	۶۲ ±۴^{a}	۶۲ ±۷^{a}	۶۲ ±۲^{a}

* حروف انگلیسی متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در بین تیمارها می‌باشد (P<۰/۰۵).

غلظت متوسط هموگلوبین گلبول‌های قرمز (MCHC) در نتیجه تزریق عصاره محلول در سرم فیزیولوژی در روز هفتم منجر به کاهش معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) در دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بود (جدول ۱۱).

جدول ۱۱- تغییرات میانگین غلظت متوسط هموگلوبین (MCHC) خون ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تزریق شده با عصاره گلرنگ در دو حلال سرم فیزیولوژی و اتانول ٪۹۶ در روزهای سوم، هفتم و دهم پس از مواجهه (میانگین ± انحراف معیار).

		شاهد منفی	شاهد مثبت	دوز ۵۰ میلی‌گرم	دوز ۱۰۰ میلی‌گرم	دوز ۲۰۰ میلی‌گرم
MCHC گروه محلول در سرم فیزیولوژی	روز سوم	۱۸ ±۰/۶^{a}	۱۹ ±۱^{a}	۱۸ ±۰/۰۳^{a}	۱۷ ±۱^{a}	۱۸ ±۱^{a}
	روز هفتم	۱۹ ±۰/۵^{ab}	۱۹ ±۰/۶^{a}	۱۹/۰۸ ±۱^{ab}	۱۸ ±۱/۰۴^{ab}	۱۷ ±۱/۰۶^{b}
	روز دهم	۱۷ ±۱^{a}	۱۹ ±۱^{a}	۱۹ ±۰/۶^{a}	۱۹ ±۱^{a}	۱۹ ±۰/۶^{a}
MCHC گروه محلول در اتانول ٪۹۶	روز سوم	۱۷ ±۱^{a}	۱۶ ±۱/۰۶^{a}	۱۶ ±۱^{a}	۱۷ ±۱/۰۴^{a}	۱۷ ±۱^{a}
	روز هفتم	۱۶ ±۱/۱^{a}	۱۷ ±۱^{a}	۱۸ ±۱^{a}	۱۶ ±۱^{a}	۱۷ ±۱/۱^{a}
	روز دهم	۱۷ ±۱^{a}	۱۶ ±۱^{a}	۱۷ ±۰/۶^{a}	۱۶ ±۱^{a}	۱۶ ±۱^{a}

* حروف انگلیسی متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در بین تیمارها می‌باشد ($P<۰/۰۵$).

بحث

در مورد استفاده از عصاره گیاه گلرنگ بر روی حیوانات آزمایشگاهی و طیور پژوهش‌هایی صورت گرفته که هر کدام نتایج متفاوتی از مصرف این ماده را نشان می‌دهند. به‌عنوان مثال در نتایج مطالعه ملکیان و حسن‌آبادی (۲۰۱۱) بر روی تأثیر استفاده از سطوح مختلف دانه کامل گلرنگ (*C. tinctorius*) به مقدار صفر، ٪۵، ٪۱۰، ٪۱۵ و ٪۲۰ جیره بر روی جوجه‌های گوشتی نشان داد که در انتهای دوره (۴۲ روزگی) استفاده از دانه کامل گلرنگ در جیره غذایی جوجه‌ها در دوره ۲۱ تا ۴۲ روزگی تأثیر معنی‌داری بر افزایش وزن روزانه، مصرف خوراک و ضریب تبدیل غذایی نداشت. در تجزیه و تحلیل لاشه نیز بین تیمارهای تجربی اختلاف معنی‌داری وجود نشد. در پژوهش لوو و همکاران (۱۹۹۱) تزریق مقدار ۵۰-۴۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره گلرنگ در موش باعث کاهش غلظت لایزوزیم سرم و عملکرد فاگوسیتوزی ماکروفاژهای حفره صفاق و لوکوسیت‌های خون شد. مطالعه لویی منفرد و سلاطی (۲۰۱۲) نشان داد که درمان با دوزهای ۱/۴ و ۲/۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره گیاه گلرنگ موجب کاهش در اندازه ناحیه لوبی در کل جفت، وزن، قطر و ضخامت جفت در مقایسه با گروه شاهد شده است ($P<۰/۰۵$). همچنین در این موش‌ها تعداد نوزادان در روزهای ۵، ۱۵، ۲۵ و ۴۲ پس از تولد کاهش معنی‌داری یافت.

تأثیر استفاده از عصاره گلرنگ با اهداف متفاوت بر آبزیان نیز به‌طور محدودی مطالعه شده است. برای مثال اثر تغذیه‌ای عصاره هیدروالکلی گیاه گلرنگ (*C. tinctorius*) بر شاخص‌های خون‌شناسی و تأثیر آن در مواجهه با استرس شوری در بچه‌ماهیان کپور معمولی در پژوهش دهقانی قمشانی و همکاران (۲۰۱۷) مطالعه شده است. نتایج این پژوهش نشان

داد قبل از استرس شوری در گروه شاهد تعداد گلبول‌های قرمز به‌طور معنی‌دار بالاتر از گروه‌های تجربی بود و تعداد گلبول‌های سفید کم‌تر از گروه‌های تجربی ثبت شد (P<۰/۰۵)، اما در تمامی گروه‌ها ٦ ساعت بعد از استرس شوری تعداد گلبول‌های قرمز، هماتوکریت و هموگلوبین افزایش یافت (P<۰/۰۵). در پژوهش دادرس و همکاران (۲۰۱٦) تأثیر دو نوع گیاه دارویی به‌عنوان مکمل غذایی شامل گل رز (*Rosa canina*) و گلرنگ (*C. tinctorius*) بر رشد، فاکتورهای خون‌شناسی و پاسخ ایمنی ذاتی در فیل‌ماهی جوان (*Huso huso*) بررسی شد. پاسخ ایمنی ذاتی (فعالیت لیزوزیم و ACH50) به‌طور معنی‌داری در ماهی‌های تغذیه شده با جیره حاوی ٪۲ مکمل گیاهی در مقایسه با سایر گروه‌ها (P<۰/۰۵) بیش‌تر بود. نتایج این بررسی نشان داد که گیاهان دارویی رز و گلرنگ می‌توانند به‌عنوان یک مکمل غذایی مفید برای بهبود پارامترهای فیزیولوژیکی و افزایش پاسخ ایمنی در فیل‌ماهی جوان استفاده شوند.

در مطالعه حاضر استفاده از عصاره اتانولی گلرنگ باعث کاهش MCV و MCHC در گروه محلول در سرم فیزیولوژی با دوز ۲۰۰ میلی‌گرم شده است و موجب ایجاد کم‌خونی میکروسیتیک هیپوکرومیک در روز دهم بعد از تزریق شده است. این نوع کم‌خونی در گروه محلول در اتانول ٪۹٦ دیده نشد اما تلفات ثبت شده در ماهیان این گروه به‌طور معنی‌داری (P<۰/۰۵) نسبت به گروه شاهد منفی افزایش پیدا کرد. با توجه به کاهش معنی‌دار (P<۰/۰۵) تعداد گلبول‌های سفید در هر دو گروه حلال سرم فیزیولوژی و اتانول ٪۹٦ می‌توان نتیجه گرفت که استفاده از این عصاره به‌صورت تزریقی برای ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان پیشنهاد نمی‌شود و برای تأثیر قطعی آن نیاز به مطالعت بیش‌تر در آبزیان ضروری است.

منابع

1. Altundag, M.S., Tiril, S.U., and Ozdemir, A. 2014. Effects of safflower oil supplementation in diet on growth performance and body fatty acid composition of turbot (*Psetta maxima*). Aquaculture international. 22: 2. 597-605.
2. Barton, B.A. 2002. Stress in fishes: a diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids. Integrative and comparative biology. 42: 3. 517-525.
3. Blaxhall, P.C. 1972. The haematological assessment of the health of freshwater fish. J. Fish Biol. 4: 4. 593-604.
4. Dacie, J.V., and Lewis, S.M. 1984. Practical Haematology. 6th Edition. Churchill Livingstone Publishers. Singapore. 453p.
5. Dadras, H., Hayatbakhsh, M.R., Shelton, W.L., and Golpour, A. 2016. Effects of dietary administration of Rose hip and Safflower on growth performance, haematological, biochemical parameters and innate immune response of Beluga, *Huso huso* (Linnaeus, 1758). Fish & shellfish immunology. 59: 109-114.
6. Dehghani Ghomeshani, M., Mazandarani, M., Sudagar, M., and Hosseini, S.M. 2017. Haematological study of safflower (*Carthamus tinctorius*) extract fed common carp (*Cyprinus carpio*) fingerlings exposed to sub lethal salinity stress. Breed. Aquacul. Sci. J. 5: 4. 55-69.
7. Dernekbaşı, S., Kerim, M., and Alagil, F. 2015. Effect of Dietary Safflower and Canola Oil on Growth Performance, Body, and Fatty Acid Composition of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). J. Aqua. Food Prod. Technol. 24: 2. 131-142.
8. FAO. 2014. State of World Fisheries and Aquaculture. FAO, Rome.
9. Harikrishnan, R., Balasundaram, C., Kim, M.C., Kim, J.S., Han, Y.J., and Heo, M.S. 2009. Innate immune response and disease resistance in *Carassius auratus* by

triherbal solvent extracts. Fish and shellfish immunology. 27: 3. 508-515.
10. Kiron, V. 2012. Fish immune system and its nutritional modulation for preventive health care. Animal Feed Science Technology. 173: 111-133.
11. Lim, C., Ako, H., Brown, C.L., and Hahn, K. 1997. Growth response and fatty acid composition of juvenile *Penaeus vannamei* fed different sources of dietary lipid. Aquaculture. 151: 1-4. 143-153.
12. Louei Monfared, A., and Salat, A.P. 2012. The effects of *Carthamus tinctorius* L. on placental histomorphology and survival of the neonates in mice. Avicenna J. Phytomed. 2: 3. 146-152.
13. Lu, Z.W., Liu, F., Hu, J., Bian, D., and Li, F.G. 1991. Suppressive effects of safflower yellow on immune functions. Acta pharmacologica Sinica, 12: 6. 537-542.
14. Malekian, M., and Hasan abadi, A. 2011. Effect of different levels of safflower seed on the performance of broiler chickens from 21 to 42 days. Iran. J. Anim. Sci. Res. 3: 1. 1-8.
15. Villa, C., Costa, J., Oliveira, M.B.P., and Mafra, I. 2017. Novel quantitative real-time PCR approach to determine safflower (*Carthamus tinctorius*) adulteration in saffron (*Crocus sativus*). Food Chemistry. 229: 680-687.
16. Zhou, X., Tang, L., Xu, Y., Zhou, G., and Wang, Z. 2014. Towards a better understanding of medicinal uses of *Carthamus tinctorius* L. in traditional Chinese medicine: A phytochemical and pharmacological review. J. Ethnopharmacol. 151: 1. 27-43.