دانشگاه گنبد کاووس
نشریه "پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی"
دوره هفتم، شماره چهارم، زمستان ۹۸
http://jair.gonbad.ac.ir

اثرات عصاره اتانولی گیاه گلرنگ (*Carthamus tinctorius*) بر ایمنی غیراختصاصی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792)

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

[۱] دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشگاه تربیت مدرس، مازندران، ایران

[۲] دانشیار گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشگاه علوم گشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

[۳] استادیار سازمان تحقیقات، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی، مرکز تحقیقات ذخایرآبزیان آبهای داخلی، گرگان، ایران

تاریخ ارسال: ۹۷/۲/۵ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۷/۳/۱۹

چکیده

در بررسی حاضر اثرات تزریق داخل صفاقی عصاره گیاه گلرنگ (*Carthamus tinctorius*) بر ایمنی غیراختصاصی و برخی شاخص‌های سرمی خون ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) مورد بررسی قرار گرفته است. به این منظور، ماهی‌های قزل‌آلای رنگین‌کمان با میانگین وزن ۱۰۰ گرم تهیه و با سطوح مختلف عصاره گلرنگ به‌صورت داخل صفاقی تزریق شدند. در این بررسی یک گروه شاهد منفی (بدون تزریق)، یک گروه شاهد مثبت (تزریق با ۰/۲ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی) و سه گروه تیمار تجربی به‌ترتیب با غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ (میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن در حجم ۰/۲ میلی‌لیتر) تزریق شدند. نمونه‌برداری در روزهای سوم، هفتم و دهم بعد از تزریق انجام شد و مقادیر پروتئین کل سرم، ایمنوگلوبولین کل، فعالیت لایزوزیم سرم، فعالیت سیستم کمپلمان و گلوکز خون سنجش گردید. براساس نتایج تزریق عصاره گلرنگ باعث کاهش معنی‌دار تعداد گلبول‌های سفید در روزهای سوم، هفتم و دهم شد. همچنین به‌کار بردن این ماده منجر به کاهش معنی‌دار سطوح گلوکز خون، فعالیت لایزوزیم، ایمنوگلوبولین کل و پروتئین کل سرم خون شد در عین‌حال در فعالیت کمپلمان تغییر معنا داری ایجاد نشد. با در نظر گرفتن نتایج به‌دست آمده استفاده از عصاره گلرنگ در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌تواند منجر به کاهش و ضعف سیستم ایمنی غیراختصاصی شود.

***واژه‌های کلیدی*: *O. mykiss*، گلرنگ، کمپلمان، ایمنوگلوبولین کل، لایزوزیم**

*نویسنده مسئول: mazandarani@gau.ac.ir

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-02]

مقدمه

گلرنگ (*Carthamus tinctorius*) گیاهی علفی متعلق به خانواده Asteraceae است. ارزش اقتصادی گلرنگ به دانه‌های آن که منبع مهمی از اسیدهای چرب اشباع نشده هستند بستگی دارد (Pearl and Burke, 2014). گلرنگ سرشار از فلاونوئیدها، آلکالوئیدها، پلی-استیلن‌ها، آلکان-دیول، اسیدهای چرب، استروئیدها، لیگنان‌ها و ترکیبات دیگری است که اثرات متعددی از جمله فعالیت‌های بیولوژیکی گسترده از جمله گشاد کننده عروق کرونری و بهبود ایسکمی میوکارد قلب، تعدیل سیستم ایمنی بدن، ضداکسیداسیون، ضد هیپوکسی، ضد التهاب و ضد استرس برای آن عنوان شده است (Zhou *et al*., 2014). در بسیاری موارد کشت این گیاه به‌دلیل استفاده از روغن هسته آن صورت می‌گیرد اما در کنار این موضوع کاربردهای صنعتی دیگری نیز دارد، به‌عنوان مثال گلبرگ‌های این گیاه حاوی رنگدانه‌های زرد و قرمز (به‌عنوان مثال کارتامین) است که معمولا به‌عنوان رنگ خوراکی در صنایع غذایی و دارویی به‌کار برده می‌شود. کارتامین موجود در این گیاه باعث وجود رنگ قرمز می‌شود که به‌همین دلیل از آن به‌عنوان زعفران تقلبی (رنگ زعفران) یاد می‌شود (Torelli *et al*., 2014; Petrakis *et al*., 2015).

آبزی‌پروری به‌عنوان یک صنعت مهم و درحال توسعه محسوب می‌شود که شامل بیش از ۳۰۰ گونه مختلف ماهی است و اهمیت اقتصادی بالا و وظیفه بسیار مهمی در جهت فراهم ساختن غذای سالم جامعه دارد. ماهی قزل آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) به‌علت سهولت در پرورش و تکنیک‌های آن و همچنین تقاضای بالای مصرف‌کنندگان در سراسر جهان از اهمیت زیادی دارد (FAO, 2014). در راستای رسیدن به بالاترین عملکرد در تولید، یک راه مناسب و مقرون به‌صرفه افزایش توان سیستم ایمنی با استفاده از مواد طبیعی و بی‌خطری است که به محیط زیست و مصرف کنندگان آسیب وارد نکند. دراین راستا بررسی‌های محدودی در رابطه با اثرات عصاره گلرنگ در برخی از ماهیان صورت گرفته است. به‌عنوان مثال در تحقیق دادرس و همکاران (Dadras *et al*., 2016) تأثیر افزودن پودر گلرنگ در رژیم غذایی (*Huso huso*) بر سیستم ایمنی بررسی شد. کاربرد خوراکی عصاره هیدروالکلی گیاه گلرنگ (*C. tinctorius*) بر شاخص‌های خون‌شناسی و تأثیر آن در مواجهه با استرس شوری در بچه‌ماهیان کپور معمولی در مطالعه دهقانی‌قمیشانی و همکاران (Dehghani Ghomeshani *et al*., 2017) بررسی شده است. مطالعه درنکباشی و همکاران (Dernekbaşi *et al*., 2015) جهت بررسی تأثیر رژیم غذایی غنی‌شده با روغن گلرنگ و روغن کلزا بر رشد، استفاده از خوراک، ترکیب‌های بدن و اسید چرب عضله‌ها و کبد در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) انجام شد.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-02]

باتوجه به اطلاعات بسیار محدود تأثیر استفاده از عصاره گیاه گلرنگ در ماهیان، در بررسی حاضر اثرات عصاره تزریقی گلرنگ بر برخی از شاخص‌های ایمنی در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

ماهی‌های قزل‌آلای رنگین‌کمان با میانگین وزن ۵±۱۰۰ گرم تهیه و در طی یک هفته آداپتاسیون از غذای تجاری استفاده شد. به‌منظور آماده‌سازی عصاره تزریقی، از گل‌های خشک‌شده گیاه گلرنگ عصاره اتانولی ساخته شد (Harikrishnan *et al*., 2009). گل‌های گلرنگ پس از شسته شدن با آب مقطر استریل، خشک شده و توسط آسیاب برقی به پودر تبدیل شد. مقدار ۵ لیتر اتانول ۹۶٪ به‌عنوان حلال به ۵۰۰ گرم پودر خشک گلرنگ اضافه شد (به نسبت ۱ به ۱۰). مخلوط پس از ترکیب شدن به ظرف تیره رنگ منتقل و به مدت ۷ روز در دمای اتاق (۲۵ ^{o}C) روی دستگاه شیکر قرار گرفت. بعد از این مدت محلول حاصله با هدف حذف ذرات معلق نامحلول و دکانته توسط کاغذ صافی استریل فیلتر شد و حلال از طریق خشک‌کردن (با استفاده از آون) جدا شد و در آخر باقی مانده مواد به‌عنوان عصاره اتانولی در ظرف استریل بسته‌بندی شد. عصاره به‌دست آمده در سرم فیزیولوژی با دمای ۴۰ ^{o}C به‌صورت محلول در دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن ماهی ساخته و بعد از بیهوش کردن ماهی‌ها با محلول یک گرم بر لیتر پودر میخک به‌صورت داخل صفاقی به آنها تزریق شد. به این منظور ۳ گروه تیمار گلرنگ، یک گروه شاهد منفی و یک گروه شاهد مثبت در نظر گفته شد. ماهیان سه گروه تیمار به‌ترتیب توسط غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ (میلی‌گرم/ کیلوگرم وزن) عصاره گلرنگ به‌صورت محلول در ۰/۲ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی مورد تزریق قرار گرفتند. به گروه شاهد مثبت ۰/۲ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی تزریق شد و در گروه شاهد منفی تزریقی صورت نگرفت. پس از تزریق، ماهیان هر گروه به مخزن‌های فایبرگلاس با حجم آب ۲۰۰ لیتر و با امکان جریان دائمی آب به مقدار دو لیتر در دقیقه (هر تیمار حاوی ۴۵ عدد ماهی) منتقل شدند.

نمونه‌برداری از خون ماهیان در روزهای سوم، هفتم و دهم پس از تزریق صورت گرفت. خون ماهی‌های مربوط به هر تیمار به‌صورت جدا گرفته شد و به میکروتیوب‌های جداگانه ریخته شد و بعد از لخته شدن، در دمای ۴ ^{o}C با دور ۴۰۰۰ rpm به‌مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شده و سرم‌های جدا شده به میکروتیوب‌های جدید منتقل شدند و تا زمان انجام آزمایش در فریزر ۸۰- قرار گرفتند.

در این آزمایش فعالیت لیزوزیم سرم خون با کمک اسپکتوفوتومتری به روش الیس (Ellis, 1990) سنجش شد. این روش با استفاده از کشت تازه باکتری *Micrococcus luteus* خریداری شده از مرکز منطقه‌ای کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های صنعتی ایران با شماره 1408 (CIP A270) و تهیه

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-02]

سوسپانسیون باکتریایی با جذب نوری ۰/۶–۰/۷ در فسفات بافر ۰/۰۵ مولار (pH= ۶/۲) صورت گرفت. سپس با اضافه کردن سرم به سوسپانسیون جذب در طول موج ۵۰۰ نانومتر (Biochrom, Libra S12) خوانده شد و روند کاهشی آن ثبت گردید. فعالیت کمپلمان سرم (ACH50) با استفاده از گلبول‌های قرمز دفیبرینه گوسفند (شرکت داروش) در بافر EGTA-Mg^{++}-Gelatin-Veronal طبق روش یانو (Yano, 1992) اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری پروتئین کل در سرم خون با استفاده از روش توماس (Thomas, 1998) و جانسون و همکاران (Johnson *et al*., 1999) صورت گرفت. ایمنوگلوبولین کل حاصل از اختلاف میزان پروتئین سرم قبل و بعد از ته‌نشینی با پلی‌اتیلن‌گلیکول به روش اسویکی (Siwicki and Anderson, 1993) مشخص شد. سنجش گلوکز با استفاده از اسپکتوفتومتر به روش‌های (Barham and Trinder, 1972; Thomas, 1998; Sacks, 1999) اندازه‌گیری شد. فنل کل به روش مک‌دونالد و همکاران (McDonald *et al*., 2001) سنجیده شد و درصد ترکیبات آنتی‌اکسیدانی کل به روش ییلدیریم و همکاران (Yildirim *et al*., 2001) و ترکیبات فلاونوئیدی به روش چانگ و همکاران (Chang *et al*., 2002) اندازه‌گیری شد. همچنین در روز دهم پس از مواجهه، بررسی شاخص‌های خون‌شناسی صورت گرفت. در این راستا، تعداد گلبول‌های سفید، تعداد گلبول‌های قرمز، هماتوکریت و هموگلوبین و نیز محاسبه اندیس‌های خونی شامل حجم متوسط گلبول قرمز (MCV)، هموگلوبین متوسط گلبول قرمز (MCH) و غلظت متوسط هموگلوبین گلبول قرمز (MCHC) براساس رابطه‌های ارائه شده توسط داسی و لیویس (Dacie and Lewis, 1984) محاسبه شدند.

$$MCHC = \frac{Hb\ (g/100\ ml)}{Hct\ (\%)} \qquad MCH = \frac{Hb\ (g/L) \times 10}{RBC\ (10^6/mm^3)} \qquad MCV = \frac{Hct\ (\%) \times 10}{RBC\ (10^6/mm^3)}$$

جهت بررسی آماری نتایج نهایی از نرم افزار SPSS-22 و جهت رسم شکل‌ها از نرم افزار Excel-2016 استفاده شد. نتایج بررسی شاخص‌های مورد مطالعه به‌صورت میانگین± انحراف استاندارد برای تیمارهای مختلف بیان گردید. به‌دلیل عدم امکان تعیین دامنه طبیعی و ثابت شاخص‌های خونی و سرمی در موجودات خونسرد، نتایج هرکدام از نمونه‌برداری‌ها به‌صورت مجزا و مستقل از یکدیگر محاسبه گردیده و لذا نمونه‌برداری‌ها در زمان‌های مختلف باهم مقایسه نشد. به‌همین دلیل برای بررسی میانگین‌ها در هر دوره از نمونه‌برداری، از آنالیز واریانس یک طرفه (one way ANOVA) در سطح اطمینان ٪۹۵ استفاده ($p<۰/۰۵$) شده و مقادیر p کمتر از ۰/۰۵ معنی‌داری تلقی گردید.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-02]

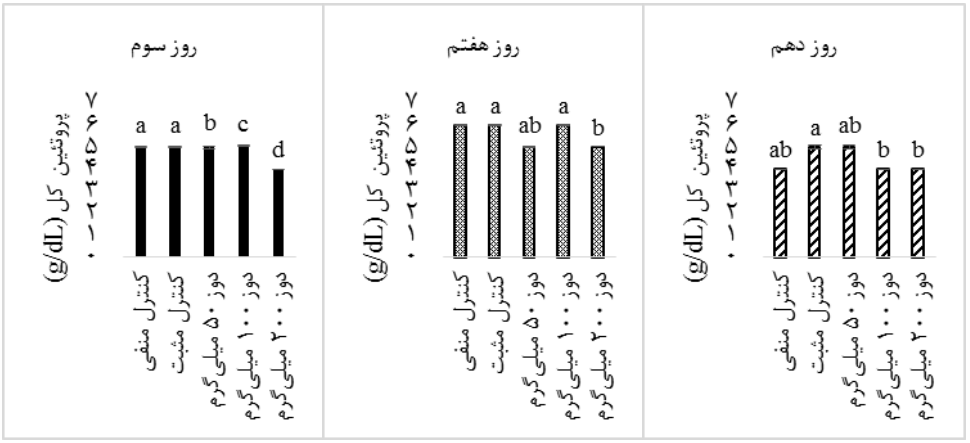
نتایج

در اندازه‌گیری‌های تام ترکیبات ضداکسیدانی، فنلی و فلاونوئیدی در عصاره اتانولی گیاه گلرنگ، مقدار این ترکیبات به‌ترتیب ۵۳/۰۴ درصد، ۱/۵۸ و ۴/۹۳ میلی‌گرم در هر گرم عصاره به‌دست آمد (جدول ۱).

جدول ۱- میانگین مقدار ترکیبات ضداکسیدان، فنل و فلاونوئید در عصاره اتانولی گیاه گلرنگ (میانگین ± انحراف استاندارد) مورد استفاده در بررسی اثرات تزریق داخل صفاقی عصاره گیاه گلرنگ بر ایمنی غیراختصاصی و برخی شاخص‌های سرمی خون ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*)

	ضداکسیدان (%)	فلاونوئید (mg/g)	فنل (mg/g)
میانگین	۵۳/۰۴ ± ۲	۱/۵۸ ± ۰/۰۶۳	۴/۹۳ ± ۰

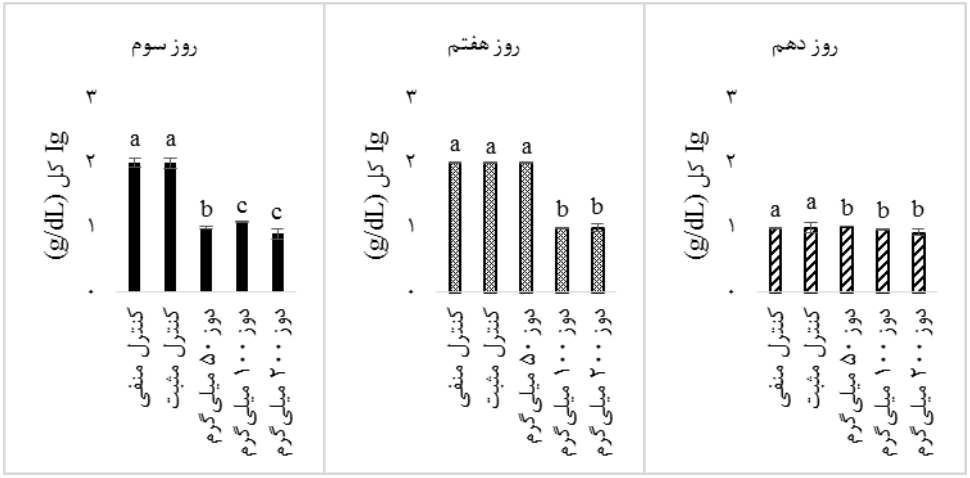
مقدار پروتئین کل سرم در تزریق دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در هر سه دوره نمونه‌برداری کاهش معنی‌داری را ($p<0/05$) در سطح پروتئین سرم نشان داد (شکل۱).



شکل ۱- میانگین میزان تغییرات پروتئین کل در سرم خون ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) تزریق‌شده با سطوح مختلف عصاره گلرنگ. *: نمونه‌برداری در زمان‌های مختلف به‌صورت کاملاً مستقل از یکدیگر در نظر گرفته شده است.

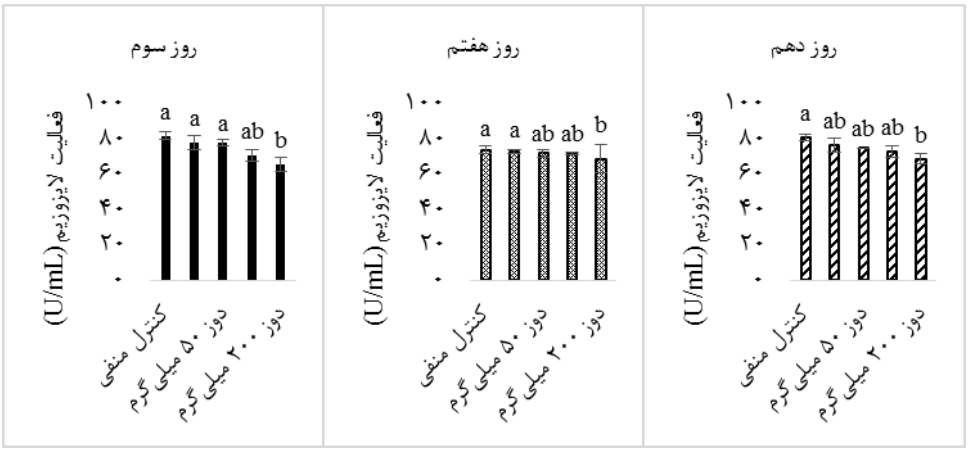
مقدار ایمنوگلوبولین کل نیز مطابق با شکل ۲ در تزریق دوز ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در روز سوم، هفتم و دهم کاهش معنی‌داری ($p<0/05$) را نشان داد (شکل۲).

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-02]



شکل ۲- میانگین میزان تغییرات ایمنوگلوبولین کل در سرم خون ماهیان قزل‌آلای‌رنگین‌کمان (*O. mykiss*) تزریق‌شده با سطوح مختلف عصاره گلرنگ. *: نمونه‌برداری در زمان‌های مختلف به‌صورت کاملاً مستقل از یکدیگر در نظر گرفته شده است.

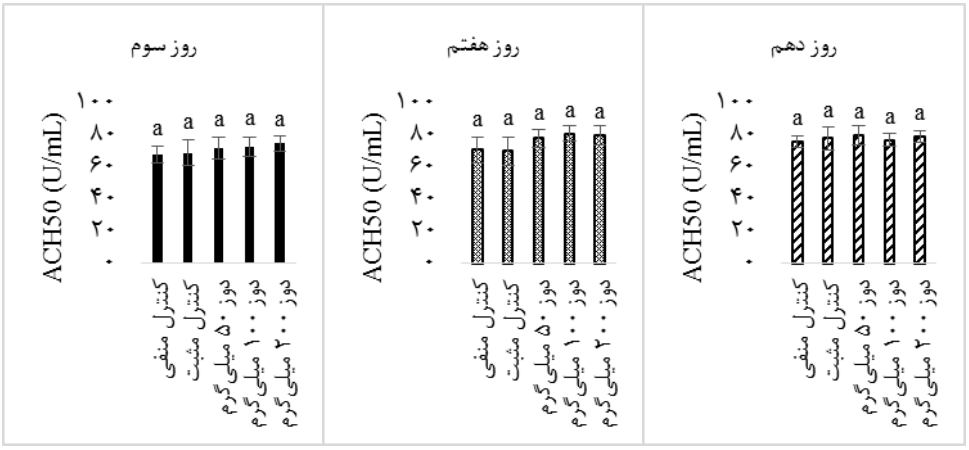
طبق شکل ۳ سنجش فعالیت لایزوزیم سرم خون براساس واحد در میلی‌لیتر کاهش معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) در دوز ۲۰۰ میلی‌گرم در نمونه برداری‌های روز سوم، هفتم و دهم نشان داد (شکل ۳).



شکل ۳- میانگین میزان تغییرات فعالیت لایزوزیم کل در سرم خون ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) تزریق‌شده با سطوح مختلف عصاره گلرنگ. *: نمونه‌برداری در زمان‌های مختلف به‌صورت کاملاً مستقل از یکدیگر در نظر گرفته شده است.

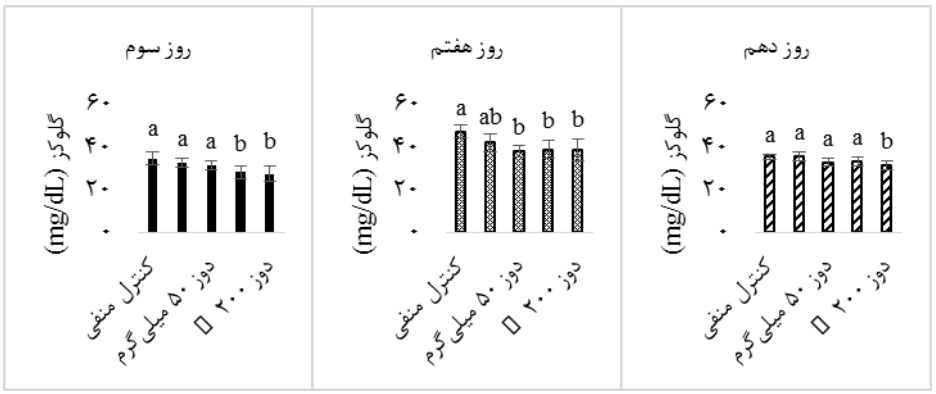
اندازه‌گیری مقدار فعالیت کمپلمان با استفاده از خون دفیبرینه گوسفند تغییر معنی‌داری را در دوره آزمایش نشان نداد (شکل۴).

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-02]



شکل ۴- میانگین میزان تغییرات فعالیت سیستم کمپلمان در سرم خون ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) تزریق‌شده با سطوح مختلف عصاره گلرنگ. ❋: نمونه‌برداری در زمان‌های مختلف به‌صورت کاملاً مستقل از یکدیگر در نظر گرفته شده است.

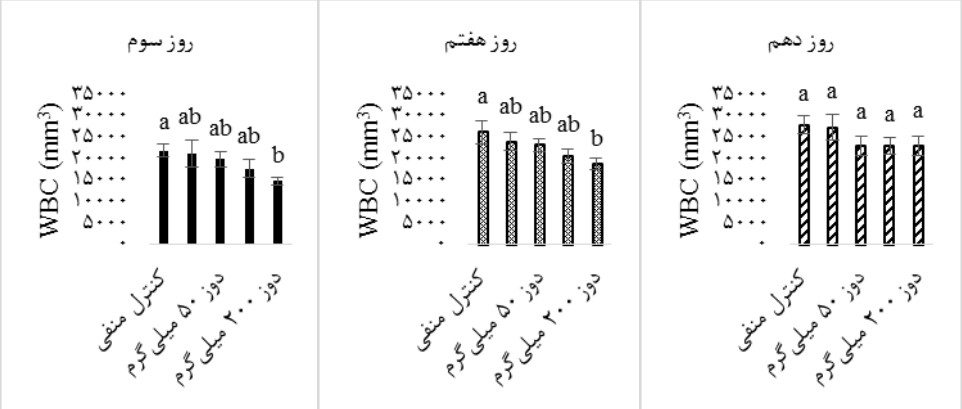
مقدار گلوکز موجود در سرم خون پس از اندازه‌گیری در نمونه‌های روز سوم و هفتم در دوز ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم کاهش معنی داری را نشان داد ($p<۰/۰۵$) اما در روز دهم این کاهش معنی‌دار فقط در مقدار دوز ۲۰۰ میلی‌گرم دیده شد (شکل۵).



شکل ۵- میانگین میزان تغییرات گلوکز در سرم خون ماهیان قزل‌آلای‌رنگین‌کمان (*O. mykiss*) تزریق‌شده با سطوح مختلف عصاره گلرنگ. ❋: نمونه‌برداری در زمان‌های مختلف به‌صورت کاملاً مستقل از یکدیگر در نظر گرفته شده است.

تعداد گلبول‌های سفید خون در روز سوم و هفتم برای دوز ۲۰۰ میلی‌گرم کاهش معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) داشت اما در روز دهم کاهش غیرمعنی‌داری ($p>۰/۰۵$) را نشان داد (شکل۶).

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-02]



شکل ۶- میانگین سطح تعداد گلبول‌های سفید خون ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) تزریق‌شده با مختلف عصاره گلرنگ. ❋: نمونه‌برداری در زمان‌های مختلف به‌صورت کاملاً مستقل از یکدیگر در نظر گرفته شده است.

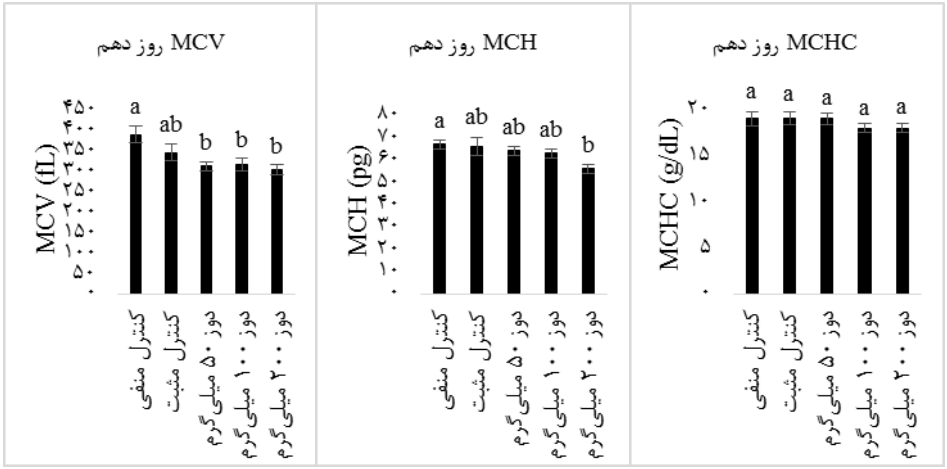
مطالعات خون‌شناسی در پایان دوره نشان داد با افزایش دوز تجویز شده از عصاره گلرنگ تعداد گلبول‌های قرمز نیز افزایش یافت. به‌طوری‌که بیشترین تعداد گلبول قرمز در دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن مشاهده شد ($p<۰/۰۵$). اما سطح هموگلوبین و درصد هماتوکریت تغییر معنی‌داری را نشان نداد ($p>۰/۰۵$). همچنین سطح MCHC به‌طور معنی‌دار کاهش نداشت ($p>۰/۰۵$)، اما باعث کاهش معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) در سطح MCV و MCH در دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن ماهی شد (جدول ۲ و شکل ۷).

جدول ۲- تعداد گلبول‌های قرمز، سطح هموگلوبین و درصد هماتوکریت نمونه‌ها قزل‌آلای‌رنگین‌کمان (*O. mykiss*) در پایان دوره آزمایش بررسی اثرات تزریق داخل صفاقی عصاره گیاه گلرنگ بر ایمنی غیراختصاصی و برخی شاخص‌های سرمی خون

تیمارها	RBC ($\times 10^6$)	هموگلوبین (g/dL)	هماتوکریت (%)
کنترل منفی	۱/۱۱ ± ۰/۴۶^{b}	۸/۳۴ ± ۱/۲۳^{a}	۴۳/۲ ± ۲/۱^{a}
کنترل مثبت	۱/۲۲ ± ۰/۶۲^{ab}	۸/۴۹ ± ۱/۰۱^{a}	۴۱/۳ ± ۳/۱۵^{a}
دوز ۵۰ میلی‌گرم	۱/۲۶ ± ۰/۳۹^{ab}	۷/۹۴ ± ۰/۷۴^{a}	۴۱/۶ ± ۲/۸۶^{a}
دوز ۱۰۰ میلی‌گرم	۱/۲۶ ± ۰/۳۸^{ab}	۸/۰۷ ± ۰/۸۰^{a}	۴۰/۲ ± ۳/۸^{a}
دوز ۲۰۰ میلی‌گرم	۱/۳۶ ± ۰/۷۵^{a}	۷/۷۲ ± ۰/۷۱^{a}	۴۰/۵ ± ۴/۱۱^{a}

❋: حروف انگلیسی متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در میانگین‌ها ($p<۰/۰۵$) می‌باشد.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-02]



شکل ۷- میانگین سطح اندیس‌های خونی (MCV، MCH و MCHC) ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) مربوط به روز دهم بعد از تزریق عصاره گلرنگ.

بحث و نتیجه‌گیری

مطالعه در رابطه با اثرات عصاره گلرنگ در ماهیان بسیار محدود است و ما قادر به یافتن بررسی مشابهی که در رابطه با اثرات تزریقی عصاره این گیاه در ماهیان باشد نشده‌ایم. همان‌گونه که در نتایج مشاهده شد، در تجزیه و تحلیل ترکیبات عصاره گلرنگ، فعالیت ضداکسیدانی این ماده بیش از ۵۰٪ محاسبه شد که می‌تواند بیانگر خاصیت ضداکسیدان و ضدهیپوکسی این ماده باشد. در تحقیق ژو و همکاران (Zhou *et al.*, 2014) نیز وجود ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در گیاه گلرنگ گزارش شده است. همچنین در بررسی دیگری کارتاموس قرمز (Carthamus Red) موجود در عصاره گلرنگ از جمله ترکیب فعال فلاونوئیدی گزارش شده که مقدار عمده آن کارتامین می‌باشد و به‌عنوان یک آنتی-اکسیدان اثبات شده است (Hiramatsu *et al.*, 2009; Wu *et al.*, 2013).

در این تحقیق تزریق عصاره گلرنگ منجر به کاهش معنی‌دار سطح قند خون در قزل‌آلای رنگین-کمان گردید. به‌نظر می‌رسد این بررسی در ماهیان برای اولین بار مورد مطالعه قرار گرفته باشد اما در بررسی‌های مشابه عصاره تزریقی گلرنگ باعث کاهش قندخون در موش آزمایشگاهی شده است (Rahimi *et al.*, 2009; Asgari *et al.*, 2013). مطالعه‌های انجام شده درباره تأثیر این عصاره بر سیستم ایمنی ماهیان نیز بسیار اندک است و عمده این تحقیقات در موش آزمایشگاهی صورت گرفته است که با بررسی آنها نتایج متناقضی یافت می‌شود. به‌عبارت دیگر هم اثرات منفی و هم اثرات مثبت این عصاره بر سیستم ایمنی موش آزمایشگاهی دیده شده است. گزارشاتی مبنی بر اثرات منفی استفاده

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-02]

از عصاره گلرنگ بر ایمنی اختصاصی و غیراختصاصی در مطالعه‌های انجام شده توسط وو و همکاران (Wu *et al*., 2011) و السنفی (Al-Snafi, 2015, 2016) در موش آزمایشگاهی وجود دارد. لو و همکاران (Lu *et al*., 1991) دریافتند عصاره استخراج شده از *C. tinctorius* به مقدار ۵۰ تا ۴۵۰ میلی‌گرم بر گیلوگرم در تزریق به موش‌ها منجر به کاهش در غلظت لیزوزیم سرم و کاهش عملکرد فاگوسیتوزی ماکروفاژها و کاهش لکوسیت‌های موجود در خون می‌شود.

در زمینه استفاده از گیاه گلرنگ در آبزیان اطلاعات محدودی وجود دارد که تماماً از طریق خوراندن عصاره یا پودر گلرنگ انجام گرفته‌اند و هیچ اطلاعاتی مبنی بر تأثیر تزریقی این عصاره وجود ندارد. در این رابطه دادرس و همکاران (Dadras *et al*., 2016) گزارش دادند که افزودن ۱٪ و ۲٪ پودر گلرنگ در رژیم غذایی فیل‌ماهی (*Huso huso*) منجر به افزایش ایمنوگلوبولین کل، فعالیت لیزوزیم، افزایش تعداد گلبول‌های سفید خون گردید. همچنین در مطالعه دهقانی‌قمیشانی و همکاران (Dehghani Ghomeshani *et al*., 2017) استفاده خوراکی از عصاره هیدروالکلی گیاه گلرنگ (*C. tinctorius*) بر شاخص‌های خون‌شناسی و تأثیر آن در مواجهه با استرس شوری در بچه‌ماهیان کپور معمولی نشان داد تعداد گلبول‌های قرمز، هماتوکریت و هموگلوبین ۶ ساعت بعد از استرس شوری در تمامی گروه‌های تجربی افزایش می‌یابد.

با درنظرگرفتن افزایش تعداد گلبول‌های قرمز و دیده نشدن تغییر در هموگلوبین و درصد هماتوکرین و همچنین با کاهش غلظت هموگلوبین متوسط گلبول قرمز و حجم متوسط گلبولی، می‌توان گفت استفاده از عصاره گلرنگ در دوزهای بالا می‌تواند منجر به ایجاد کم خونی میکروسیتیک هیپوکرومیک در روز دهم بعد از تزریق شود. از جمله شاخص‌های مناسب جهت تخمین فعالیت سیستم ایمنی در ماهیان سنجش مقدار پروتیئن کل سرم خون و گلبولین می‌باشد (Rao and Chakrabarti, 2004). تقریباً بیشتر پروتئین‌های پلاسما در کبد سنتز می‌شوند و سطوح پایین پروتئین پلاسما می‌تواند نشان دهنده بیماری کبد یا سندروم نفروتیک باشد که در آن مقدار بیش از حدی از پروتیئن‌های پلاسما توسط کلیه‌ها از خون خارج می‌شود. درصورتی‌که سطوح بالای پروتئین پلاسما به‌طورکلی ممکن است به‌دلیل بیماری کبدی، پاسخ التهابی یا پاسخ ایمنی باشد (Hall *et al*., 2012). علاوه بر آن، پلاسماسل‌ها که در اثر تحریک لنفوسیت‌ها تولید می‌شود، قادر به ترشح ایمنوگلوبولین‌ها هستند. تحقیق‌های متعدد انجام شده توسط محققان نشان داده است که گلبول‌های سفید عامل اصلی تولید انواع ترکیبات بیوشیمیایی هستند و با افزایش گلبول‌های سفید ترکیب‌هایی مانند پروتئین کل سرم، پپتیدهای ضد باکتری، لایزوزیم و کمپلمان افزایش می‌یابند (Misra *et al*., 2006). در این مطالعه استفاده از عصاره گلرنگ به‌صورت تزریقی در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان منجر به کاهش گلبول‌های سفید و ترکیب‌های مشتق شده از آن‌ها شد که می‌تواند از جمله دلایلی برای

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-02]

کاهش سیستم ایمنی اختصاصی و غیراختصاصی در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تیمار شده با این عصاره عنوان شود. در روش سنجش کمپلمان با استفاده از گلبول قرمز که نشان‌دهنده مسیر جایگذین کمپلمان است، ثابت بودن فعالیت سیستم کمپلمان ممکن است با فعالیت سیستم کمپلمان از طریق مسیرهای متفاوت دیگر در ارتباط باشد (Alexander and Ingram, 1992; Farries and Atkinson, 1991).

براساس خون‌شناسی گروه‌های مختلف ماهیان در مطالعه حاضر، همان‌گونه که در قسمت نتایج آورده شده است در ماهیانی که با عصاره گلرنگ تزریق شدند (به‌خصوص در ماهیانی که ۲۰۰ میلی-گرم/کیلو عصاره دریافت نمودند) تعداد گلبول‌های قرمز افزایش معنی‌دار نشان داد. در عین‌حال براساس تغییر اندیس MCV می‌توان گفت گلبول قرمز در تمامی ماهیانی که عصاره دریافت نمودند دچار میکروسیتیک (کاهش حجم) شده است و در عین‌حال براساس کاهش MCH می‌توان گفت این گلبول‌ها علاوه بر میکروسیتیک شدن دچار کاهش هموگلوبین‌سلولی (به‌خصوص در ماهیانی که ۲۰۰ میلی‌گرم/کیلو عصاره دریافت نمودند) یا هیپوکرومیک نیز شده‌اند (Clauss *et al*., 2008).

در مطالعه حاضر باتوجه به کاهش در مقدار لایزوزیم سرم خون، کاهش ایمنوگلوبولین، کاهش پروتئین کل و کاهش تعداد گلبول‌های قرمز و سفید نشان‌دهنده این است که استفاده از این ماده در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به‌صورت تزریقی منجر به کاهش ایمنی اختصاصی و غیراختصاصی می‌شود که در نتیجه استفاده از عصاره گیاه گلرنگ به‌صورت تزریقی در قزل‌آلای رنگین‌کمان را با محدودیت روبه‌رو می‌کند. باتوجه به اینکه بررسی حاضر اولین تحقیق در زمینه تأثیر تزریقی این ماده می‌باشد و همچنین وجود تناقض‌ها در تحقیق‌های انجام شده توسط سایر محققین، برای نتیجه‌گیری قطعی در زمینه تجویز این ماده بر آبزیان مطالعه‌های بیشتر ضروری می‌باشد.

منابع

Alexander J.B., Ingram G.A. 1992. Noncellular nonspecific defence mechanisms of fish. Annual Review of Fish Diseases, 2: 249-279.

Al-Snafi A.E. 2015. The chemical constituents and pharmacological importance of *Carthamus tinctorius*-An Overview. Journal of Pharmaceutical Biology, 5(3): 143-166.

Al-Snafi A.E. 2016. Immunological effects of medicinal plants: A review (part 2). Immunology, Endocrine and Metabolic Agents in Medicinal Chemistry, 16(2): 100-121.

Asgari S., Rahimi P., Madani H., Mahzoni P., Kabiri N. 2013. Preventive effect of hydroalcoholic extract of *Carthamus tinctorius* petal in appearance of type 1-

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-02]

diabetes mellitus in adult male rats. Iranian Journal of Biology, 26(1): 145-153. (In Persian).

Barham D., Trinder P. 1972. An improved colour reagent for the determination of blood glucose by the oxidase system. Analyst, 97(1151): 142-145.

Chang C.C., Yang M.H., Wen H.M., Chern J.C. 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. Journal of Food and Drug Analysis, 10(3): 178 -182.

Clauss T.M., Dove A.D.M., Arnold J.E. 2008. Hematologic Disorders of Fish. Veterinary Clinics of North America Exotic Animal Practice, 11(3): 445-462.

Dacie J.V., Lewis S.M. 1984. Practical Hematology. 6th Edition. Churchill Livingstone Publishers. Singapore, pp: 22-27.

Dadras H., Hayatbakhsh M.R., Shelton W.L., Golpour A. 2016. Effects of dietary administration of Rose hip and Safflower on growth performance, hematological, biochemical parameters and innate immune response of Beluga, *Huso huso* (Linnaeus, 1758). Fish and Shellfish Immunology, 59: 109-114.

Dehghani Ghomeshani M., Mazandarani M., Sudagar M., Hosseini S.M. 2017. Hematological study of safflower (*Carthamus tinctorius*) extract fed common carp (*Cyprinus carpio*) fingerlings exposed to sub lethal salinity stress. Breeding and Aquaculture Sciences Journal, 5(4): 55-69. (In Persian)

Dernekbaşi S., Kerim M., Alagil F. 2015. Effect of Dietary Safflower and Canola Oil on Growth Performance, Body, and Fatty Acid Composition of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). Journal of Aquatic Food Product Technology, 24(2): 131-142.

Ellis A.E. 1990. Lysozyme assays. Techniques in Fish Immunology, 1: 101-103.

FAO. 2014. Fishery and Aquaculture Statistics Yearbook. Rome, Italy, FAO Publications, 103 P.

Farries T.C., Atkinson J.P. 1991. Evolution of the complement system. Immunology Today, 12(9): 295-300.

Hall A.P., Elcombe C.R., Foster J.R., Harada T., Kaufmann W., Knippel A., Küttler K., Malarkey D.E., Maronpot R.R., Nishikawa A., Nolte T. 2012. Liver hypertrophy: a review of adaptive (adverse and non-adverse) changes-conclusions from the 3rd International ESTP Expert Workshop. Toxicological Pathology, 40(7): 971-994.

Harikrishnan R., Balasundaram C., Kim M.C., Kim J.S., Han Y.J., Heo M.S. 2009. Innate immune response and disease resistance in *Carassius auratus* by trihedral solvent extracts. Fish and Shellfish Immunology, 27(3): 508-515.

Hiramatsu M., Takahashi T., Komatsu M., Kido T., Kasahara Y. 2009. Antioxidant and neuroprotective activities of Mogami-benibana (safflower, *Carthamus tinctorius* Linne). Neurochemical Research, 34(4): 795-805.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-02]

Johnson M.A., Rohlfs E.M., Silverman L.M. 1999. Determination of proteins in urine. Burtis CA, Ashwood ER, Teitz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd Ed, Philadelphia: WB Saunders, USA, pp: 525-526.

Lu Z.W., Liu F., Hu J., Bian D., Li F.G. 1991. Suppressive effects of safflower yellow on immune functions. Acta Pharmacologica Sinica, 12(6): 537-542.

McDonald S., Prenzler P.D., Antolovich M., Robards K. 2001. Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts. Food Chemistry, 73(1): 73-84.

Misra C.K., Das B.K., Mukherjee S.C., Meher P.K. 2006. The immunomodulatory effects of tuftsin on the non-specific immune system of Indian Major carp, *Labeo rohita*. Fish and Shellfish Immunology, 20(5): 728-738.

Pearl S.A., Burke J.M. 2014. Genetic diversity in *Carthamus tinctorius* (Asteraceae; safflower), an underutilized oilseed crop. American Journal of Botany, 101(10): 1640-1650.

Petrakis E.A., Cagliani L.R., Polissiou M.G., Consonni R. 2015. Evaluation of saffron (*Crocus sativus* L.) adulteration with plant adulterants by 1HNMR metabolite fingerprinting. Food Chemistry, 173: 890-896.

Rahimi P., Asgari S., Madani H., Mahzoni P. 2009. Hypoglycemic Effect of Hydroalcoholic Extract of *Carthamus Tinctorius* Petal on Alloxan- Induced Diabetic Rats. Journal of Science and Health, 4(2): 1-5. (In Persian)

Rao Y.V., Chakrabarti R. 2004. Enhanced anti-proteases in *Labeo rohita* fed with diet containing herbal ingredients. Indian Journal of Clinical Biochemistry, 19(2): 132-134.

Sacks D.B. 1999. BFACP Carbohydrates In: Burtis CA, Ashwood ER (Eds.). Tietz Book of Clinical Chemistry, pp: 787-790.

Siwicki A.K., Anderson D.P. 1993. Nonspecific defense mechanisms assay in fish. II. Potential killing activity of neutrophils and monocytes, lysozyme activity in serum and organs and total immunoglobulin (Ig) level in serum. Fish Diseases Diagnosis and Prevention Methods. FAO-Project GCP/INT/526/JPN, IFI Olsztyn, pp: 105-112.

Thomas L. 1998. Clinical laboratory diagnostics: Use and assessment of clinical laboratory results. TH-Books Verlagsgesellschaft. Frankfurt/Main, Germany. 1727 P.

Torelli A., Marieschi M., Bruni R. 2014. Authentication of saffron (*Crocus sativus* L.) in different processed, retail products by means of SCAR markers. Food Control, 36(1): 126-131.

Wu S., Yue Y., Tian H., Li Z., Li X., He W., Ding H. 2013. Carthamus red from *Carthamus tinctorius* L. exerts antioxidant and hepatoprotective effect against CCl 4-induced liver damage in rats via the Nrf2 pathway. Journal of Ethno Pharmacology, 148(2): 570-578.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-02]

Wu W., Jin M., Tong J., Wang X.F., Zang B.X. 2011. Inhibitory effect of hydroxysafflor yellow A against PMN activation induced by LPS. Acta Pharmaceutica Sinica, 46(2): 153-157.

Yano T. 1992. Assays of hemolytic complement activity. Techniques in Fish Immunology, 131-141.

Yildirim A., Mavi A., Kara A.A. 2001. Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex crispus* L. extracts. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 49(8): 4083-4089.

Zhou X., Tang L., Xu Y., Zhou G., Wang Z. 2014. Towards a better understanding of medicinal uses of *Carthamus tinctorius* L. in traditional Chinese medicine: a phytochemical and pharmacological review. Journal of Ethno Pharmacology, 151(1): 27-43.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-02]

Effect of safflower (*Carthamus tinctorius*) extract on the non-specific immune system of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792)

Zargari A[1]., Mazandarani M[2*]., Hoseini S.M[3].

[1] M.Sc., Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources and Marin Sciences, Tarbiat Modares University, Noor, Iran

[2] Associate Professor, Department of Fisheries, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.

[3] Assistant Professor, Inland Waters Aquatic Stocks Research Centre, Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Gorgan, Iran

Received: 25-4-2018 ; Accepted: 9-6-2018

Abstract

In the present study, the effects of intraperitoneal injection of *Carthamus tinctorius* extract on the non-specific immune system and some serological parameters of rainbow trout (*O. mykiss*) were investigated. Fish (average weight of 100±10 g) were intraperitoneally injected by different levels of safflower extract. In this regard, fish were divided into five different groups including two control groups: one negative control group (no injection) and the other positive control group (injection of 0.2 ml physiologic solution). The other three groups received 50, 100, and 200 mg/kg of *C. tinctorius* extract, respectively. Blood samples were taken on the third, seventh, and tenth days after injection and then total protein, total immunoglobulin, lysozyme activity, complement, and glucose levels were determined. The results showed that safflower extract injection led to a significant decrease in the number of white blood cells on the third, seventh, and tenth days. Moreover, glucose, lysozyme activity, total immunoglobulin, and total protein levels significantly decreased. There was no significant change in complement activity among all groups. According to the results, the utilization of safflower extract can decrease the non-specific immune system activities in rainbow trout.

Keywords: *O. mykiss*, Safflower, Complement, Total immunoglobulin, Lysozyme.

*Corresponding author; mazandarani@gau.ac.ir

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-02]