

اثر پودر فلفل پاپریکا (*Capsicum annum*) بر فراسنجه‌های خونی گورخر ماهی (*Danio rerio*)

کسری لطفی^۱، سید پژمان حسینی شکرابی^{۱*}، نگار محمدی^۱، امین آوازه^۲

*hosseini@srbiau.ac.ir

۱- گروه شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران

۲- گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

تاریخ پذیرش: دی ۱۳۹۸

تاریخ دریافت: آبان ۱۳۹۸

چکیده

به منظور بررسی تأثیر پودر فلفل پاپریکا بر فراسنجه‌های خونی گورخر ماهی تعداد ۴۸۰ قطعه بچه ماهی با وزن اولیه ۰/۰۵ گرم و طول کل ۱/۷۱ میلی‌متر در یک طرح آزمایشی تصادفی با چهار تیمار و ۳ تکرار، بین ۱۲ آکواریوم تقسیم شدند. بدین منظور، جیره های آزمایشی با مقادیر صفر (شاهد)، ۱ (تیمار ۱)، ۲ (تیمار ۲) و ۳ (تیمار ۳) درصد پودر پاپریکا تهیه شدند و ماهیان به مدت ۵۶ روز پرورش داده شدند. در پایان دوره پرورش، نتایج نشان داد که اکثر پارامترهای خونی در بین تیمارها فاقد اختلاف معنی‌دار بود ($p > 0/05$) در حالیکه بیشترین تعداد گلبول‌های سفید در تیمارهای ۲ و ۳ نسبت به سایر تیمارها ثبت شد ($p < 0/05$). همچنین شمارش افتراقی لکوسیت‌ها نشان داد بیشترین درصد لنفوسیت و مونوسیت در مقایسه با گروه شاهد در تیمار ۲ و ۳ درصد مشاهده شد ($p < 0/05$). به طور کلی، تجویز خوراکی پودر فلفل دلمه‌ای به‌ویژه در سطح ۳ درصد می‌تواند سبب بهبود برخی فراسنجه‌های خونی گورخر ماهی گردد.

کلمات کلیدی: گورخر ماهی، فلفل، پاپریکا، فراسنجه‌های خونی

مقدمه

در گذشته داروها و افزودنی‌های طبیعی و گیاهی بدلیل عواملی مانند در دسترس بودن و نسبتاً کم هزینه بودن، نداشتن اثرات تخریبی بر محیط زیست و کم بودن یا نادر بودن عوارض جانبی در مقایسه با داروهای شیمیایی سبب شده تا این منابع ارزشمند گیاهی از ارزش و جایگاه خاصی در صنعت آبی‌پروری به جهت بهبود رشد و سیستم ایمنی ماهیان و سایر آبزیان برخوردار باشند (Sowunmi., 2003). امروزه با توجه به پتانسیل و قابلیت بسیار بالای ترکیبات گیاهی بوده که از جمله این منابع گیاهی شناخته شده، فلفل دلمه‌ای قرمز یا پاپریکا (*Capsicum annum*) از خانواده Solanaceae را می‌توان نام برد. فلفل پاپریکا منبع غنی از ویتامین A و دارای ترکیبات آنتی‌اکسیدانی قوی مانند ویتامین C و کاروتنوئیدها می‌باشد (Kim et al., 2016). کایسایسین از اجزای فعال فلفل قرمز دلمه‌ای می‌باشد که بواسطه ماهیت شیمیایی خود، سبب تحریک سیستم ایمنی می‌شود (Talebi et al., 2013).

تقویت سیستم ایمنی ماهی‌ها از طریق افزودن مکمل‌های غذایی می‌تواند راه حل مناسبی برای پیشگیری از بروز ضعف در سیستم ایمنی آنها گردد. ترکیب بسیاری از پودرهای گیاهی قادر به از بین بردن انواع ترکیبات فعال اکسیژن‌دار می‌باشند و به موجب آن می‌توانند به طور مستقیم اثرات تنش اکسایشی را کاهش دهند (ربیعی، ۱۳۹۶). این ترکیبات همچنین می‌توانند به طور غیر مستقیم و از طریق فعال نمودن سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی، نقش حفاظتی خود را اعمال نمایند (ربیعی، ۱۳۹۶). استفاده از گیاهان دارویی در جیره غذایی به‌عنوان ترکیبات ضد قارچ و ضد باکتری و همچنین به‌عنوان ترکیبات محرک سیستم ایمنی در افزایش توان سیستم ایمنی ماهیان از دیرباز مرسوم بوده است (Naghdi badi and Makizadeh Tafti, 2007).

خون به‌عنوان یک بافت سیال و سهل الوصول، یکی از مهم‌ترین مایعات بیولوژیک بدن بوده است که ترکیبات آن تحت تأثیر حالات مختلف فیزیولوژیک، دستخوش نوسان و تغییر می‌گردد (خواجه و پیغان، ۱۳۸۶). یکی از شاخص‌های مهم و قابل اطمینان در بررسی وضعیت سلامتی و فیزیولوژیک ماهیان، سنجش پارامترهای خونی آنها است که نسبت به سایر

روش‌ها ساده‌تر و کم هزینه‌تر می‌باشد (ربیعی، ۱۳۹۶). به طور کلی، فراسنجه‌های خونی در ماهیان می‌توانند تحت عواملی مانند شرایط تغذیه و محیط پرورش، عوامل محیطی، گونه و سن قرار گیرند (Fanouraki et al., 2007). مکانیسم‌های دفاعی ایمنی غیراختصاصی در ماهیان مانند سایر مهره‌داران، به لحاظ ساختاری و واکنشی پیچیده بوده و یکی از این مکانیسم‌های سیستم دفاعی غیراختصاصی سلولی بر پایه فعالیت و تعداد لوکوسیت‌ها (ماکروفاژها، نوتروفیل‌ها و لنفوسیت‌ها) می‌باشد (Shapawi and Zamry, 2016). سیستم ایمنی غیراختصاصی سلولی می‌تواند تا حدود زیادی بیانگر وضعیت ایمنی ماهیان باشد (احمدی فر و همکاران، ۱۳۸۸). بنابراین، مطالعه فراسنجه‌های خونی از جهات مختلفی اهمیت فراوانی در تشخیص اختلالات فیزیولوژیک و بیماری‌ها دارد (محمدی و همکاران، ۱۳۹۱). در خصوص استفاده از فلفل پاپریکا در خوراک آبزیان به عنوان یک مکمل غذایی جهت بررسی میزان فراسنجه‌های خونی تحقیقات محدودی انجام شده است. برای مثال، Azimi و همکاران (۲۰۱۴) با تحقیق بر تأثیر فلفل دلمه‌ای بر فاکتورهای خونی ماهی فلاور (*Cichlasoma sp.*) به این نتیجه رسیدند که ۱۰ گرم بر کیلوگرم فلفل دلمه‌ای قرمز سبب افزایش معنی‌دار اکثر فراسنجه‌های خونی نسبت به گروه شاهد شد. در تحقیق Lee و همکاران (۲۰۱۰) بر تأثیر سطوح مختلف پاپریکا بر رشد و رنگدانه پوست ماهی *Zacco platypus* استفاده از ۸ درصد پاپریکا در جیره غذایی و تغذیه این ماهی به مدت ۶ هفته بدون اثر بر عملکرد رشد باعث بهبود رنگدانه‌های پوست این ماهی می‌شود. همچنین در آزمایش Yilmaz و همکاران (۲۰۱۳) بر ماهی تیلپیا موزامبیک (*Oreochromis mossambicus*)، با استفاده از جیره غذایی حاوی پاپریکا و آستاگزانتین، به این نتیجه رسیدند که استفاده از پاپریکا با غلظت ۴۰-۶۰ میلی‌گرم/کیلوگرم خوراک به عنوان یک منبع طبیعی جایگزین آستاگزانتین موجب می‌شود که پارامترهای رشد و فاکتورهای کیفی رنگ پوست ماهیان بهتر شود. Parrino و همکاران (۲۰۱۹) نیز با تأثیر فلفل تند بر شاخص‌های خونی و پارامترهای رشد ماهی قزل‌آلا رنگین کمان نشان دادند که استفاده از جیره غذایی غنی شده با ۱ درصد فلفل تند سبب بهبود پارامترهای خونی می‌شود.

گورخر ماهی یا زبرا (*Danio rerio* Hamilton, 1822) متعلق به خانواده کپورماهیان است. زیستگاه طبیعی این ماهی، در آبهای شیرین مناطق گرمسیری و در محدوده دمایی ۲۶-۲۲ درجه سانتی گراد و در دامنه pH ۶/۸-۷/۵ است. اندازه تقریبی آنها در زمان بلوغ به ۵ سانتی متر می رسد و به علت عادت پذیری خوبی که به شرایط اسارت دارند، از جمله ماهیان زینتی محبوب محسوب می شوند (Spence et al., 2008). علاوه بر این، از آنجایی که گورخر ماهی دارای ویژگی های منحصر بفردی شامل مراحل لاروی کوتاه، تکامل خارج رحمی و شفافیت لاروها می باشد، مطالعات بسیاری بر این ماهی به عنوان یک مدل زیستی-پزشکی انجام شده است (Bates et al., 2006; Ganguly et al., 2010; Nekoubin et al., 2012). بنابراین، هدف از این تحقیق استفاده از سطوح مختلف پودر فلفل پاپریکا در جیره غذایی گورخر ماهی و بررسی فراسنجه های خونی آن برای اولین بار بوده است.

مواد و روش ها

تهیه ماهی و شرایط پرورش

این تحقیق با ۱۲ عدد آکواریوم با اندازه ۳۰×۳۰×۳۰ سانتی متر (۲۵ لیتر حجم آب گیری) در آزمایشگاه دانشگاه آزاد

اسلامی واحد علوم تحقیقات (تهران) انجام شد. تعداد ۴۸۰ عدد لارو گورخر ماهی با وزن اولیه ۰/۰۵ گرم و طول کل ۱/۷۱ میلی متر از یکی از مراکز تکثیر در تهران خریداری و به آزمایشگاه منتقل شدند، تمامی ماهی ها به صورت دسته های ۴۰ عددی در بین آکواریوم ها پس از انجام فرآیند همدمایی به صورت تصادفی توزیع شدند. به منظور سازگاری هرچه بهتر ماهیان با شرایط جدید با جیره تجاری (بیومار فرانسه) به مدت ۲ هفته با این جیره تغذیه شدند. آنالیز ترکیبات تقریبی جیره تجاری مورد استفاده شامل: ۵۸ درصد پروتئین خام، ۱۵ درصد چربی خام، ۱/۶ درصد خاکستر، ۱۱/۵ درصد رطوبت و ۰/۵ درصد فیبر خام بود. طی روند آزمایش، هفته ای یک بار فاکتورهای شیمی آب شامل شاخص های pH (اکسیژن محلول (pH/Mv/Temp 827 Metrohm, Swiss) TDS-3 (TPS, 90FL-T Techrentals, Singapore) دما (HM, Korea) و نیتريت (DR 1900 HACH, USA) مورد پایش قرار گرفتند (جدول ۱). دوره نوردهی نیز ۱۴ ساعت روشنایی و ۱۰ ساعت تاریکی در نظر گرفته شد، عملیات سیفون به منظور جمع آوری فضولات و جایگزین نمودن آب تبخیر شده نیز به مقدار ۱۰ درصد حجم آب آکواریوم ها هفته ای یک مرتبه با آب هوادهی شده، هم دما و بدون کلر انجام شد.

جدول ۱: اندازه گیری برخی فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب پرورش گورخر ماهی در طول آزمایش

pH	اکسیژن محلول (میلی گرم در لیتر)	دما (سانتی گراد)	نیتريت (میلی گرم در لیتر)
۷/۲۶ ± ۰/۳۸	۶/۷ ± ۰/۲	۲۵/۳۴ ± ۰/۳۹	۰/۰۰۵ ± ۰/۰۰۳

روز (ساعات ۷، ۱۳ و ۱۹) به میزان ۵ درصد وزن بدن تغذیه شدند.

اندازه گیری فراسنجه های خونی

پس از اتمام دوره ۵۶ روزه، ماهیان به مدت ۲۴ ساعت قطع غذا شدند و سپس عملیات خون گیری انجام شد، بدین منظور ابتدا یک عدد ماهی بیهوش شده در پودر گل میخک ۲ درصد (Murtha and Keller, 2003) را از سمت دم داخل میکروتیوبی که از قبل انتهای آن قطع شده بود قرار داد و قطع ساقه دمی انجام گرفت. در محل قطع ساقه دمی و

تهیه جیره های آزمایشی

پودر پاپریکا بصورت کاملاً بهداشتی از شرکت گلها (تهران، ایران) خریداری شد. برای تهیه جیره های آزمایشی، ابتدا محلول ۲ درصد ژلاتین با مقادیر ۰ (شاهد)، ۱ (تیمار ۱)، ۲ (تیمار ۲) و ۳ (تیمار ۳) درصد پودر پاپریکا تهیه و سپس روی جیره تجاری اسپری شدند. پس از خشک شدن جیره ها در معرض هوای آزاد در داخل ظروف پلاستیکی درب دار ریخته و در یخچال در دمای ۴ درجه نگهداری تا زمان استفاده نگهداری شدند. ماهیان طی یک دوره ۵۶ روزه روزی ۳ بار در

$$MCH (Pg) = \frac{\text{هموگلوبین}}{\text{گلبول قرمز به میلیون}} \times 10 \quad (\text{Radu et al., 2009})$$

تجزیه و تحلیل آماری

تمامی آزمایش‌ها در این تحقیق با سه تکرار انجام شد و داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار نشان داده شد. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار آماری SPSS نسخه ۲۱ صورت گرفت. جهت تعیین نرمال سازی داده‌ها از آزمون کلموگروف-اسمیرنوف استفاده شد. برای مقایسه میانگین‌ها از آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و آزمون چند دامنه‌ای دانکن با خطای ۵ درصد استفاده گردید. همچنین برای ترسیم نمودارها از نرم افزار Excel نسخه ۲۰۱۳ استفاده شد.

نتایج

اثرات سطوح مختلف پودر فلفل پاپریکا بر شاخص‌های خونی ماهی گور خری در جدول (۲) ارائه شده است. نتایج نشان داد که افزودن پودر فلفل پاپریکا به جیره غذایی تأثیر معنی‌داری را بر تعداد گلبول‌های سفید (WBC) داشته و تفاوت معنی‌داری بین تیمار ۲ و ۳ درصد پودر فلفل پاپریکا در جیره با تیمار شاهد و تیمار تغذیه شده با ۲ درصد پودر فلفل پاپریکا در جیره مشاهده شد ($P < 0.05$). در شاخص‌های تعداد گلبول قرمز (RBC)، همتوکریت، هموگلوبین، MCV، MCH و MCHC تفاوت معنی‌داری از نظر آماری میان تمامی تیمارها تغذیه شده مشاهده نشد. به طور کلی، با افزودن پودر فلفل این شاخص‌ها نیز افزایش بدون معنی داشتند ($P > 0.05$). مقایسه نتایج حاصل از آنالیز لکوسیت‌های خون ماهیان در انتهای آزمایش (جدول ۲) بیشترین درصد لنفوسیت و مونوسیت را در ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی ۲ و ۳ درصد پودر فلفل پاپریکا نشان داد که از نظر آماری تفاوت معنی‌داری را با تیمار شاهد و تیمار ۲ درصد پودر فلفل پاپریکا نشان دادند ($P < 0.05$). هر چند بین تیمار ۲ و ۳ درصد تفاوت معنی‌داری در درصد لنفوسیت و مونوسیت مشاهده نشد ($P > 0.05$).

همچنین انتها اپندورف یک قطره هپارین برای جلوگیری از انعقاد خون قرار داده شد. برای سنجش پارامترهای خونی از هر آکواریوم ۱۲ قطعه ماهی به صورت تصادفی نمونه‌گیری شد. سپس میکروتیوپ‌ها به مدت ۵ دقیقه با ۴۰ دور در دقیقه و دمای ۱۱ درجه سانتی گراد داخل میکروسانتریفیوژ (MIKRO 200R Hettich, Germany) سانتریفیوژ نموده تا نمونه خونی در انتهای اپندورف جمع گردد (Murtha and Keller, 2003).

گلبول قرمز به کمک محلول Lewis و با کمک پیت ملانژور و لام نئوبار شمارش شدند (Lewis, 1975). برای شمارش گلبول سفید از ملانژور سفید استفاده و با استفاده از لام نئوبار شمارش انجام شد (AOAC, 2005). برای اندازه‌گیری هموگلوبین از روش سیانمت هموگلوبین استفاده شد که اساس این روش بر مبنای همولیز گلبول قرمز در محلول درآبکین و آزاد شدن هموگلوبین بود (Lewis, 1975). همتوکریت به روش میکرو با استفاده از لوله‌های موئینه هپارینه و انسداد انتهای لوله با خمیر همتوکریت و قرار دادن آن در دستگاه میکروسانتریفیوژ همتولوژی (MIKRO 200R Hettich-Germany) با ۱۲۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه و سپس با استفاده از خط کش همتوکریت اندازه‌گیری شد (Sowunmi., 2003). شمارش افتراقی گلبول‌های سفید نیز با استفاده از روش تهیه گسترش خونی و رنگ‌آمیزی آن با گیمسا و مشاهده زیر میکروسکوپ (عدسی ۴۰) و شمارش آنها به روش زیگزاگ با استفاده از دستگاه شمارنده دستی انجام شد (Merrifield et al., 2010). در نهایت شاخص‌های حجم متوسط گلبول قرمز خون (^{1}MCV)، هموگلوبین متوسط گلبول قرمز خون (^{2}MCH)، غلظت متوسط هموگلوبین سلول‌های قرمز ($^{3}MCHC$) نیز طبق فرمول‌های ذیل اندازه‌گیری شدند:

$$MCHC (g/dL) = \frac{\text{هموگلوبین}}{\text{هماتوکریت}} \times 100 \quad (\text{Radu et al., 2009})$$

$$MCV (Fl) = \frac{\text{هماتوکریت}}{\text{گلبول قرمز به میلیون}} \times 10 \quad (\text{Radu et al., 2009})$$

¹ Mean Corpuscular Volume

² Mean Corpuscular Haemoglobin

³ Mean corpuscular hemoglobin concentration

جدول ۲: تغییرات فراسنجه‌های خونی در گورخر ماهی تغذیه شده با سطوح مختلف پودر فلفل پاپریکا به مدت ۵۶ روز

مقادیر مختلف پودر پاپریکا				پارامترها
شاهد (۰)	۱ درصد	۲ درصد	۳ درصد	
$6/0 \pm 40/42^b$	$6/0 \pm 35/64^b$	$7/0 \pm 0/85^a$	$6/0 \pm 85/49^a$	WBC ^۳ ($\times 10^3$ mm)
$13/0 \pm 10/57^a$	$13/2 \pm 0/12^a$	$13/0 \pm 55/92^a$	$14/1 \pm 20/70^a$	RBC ^۳ ($\times 10^5$ mm)
$33/1 \pm 0/41^a$	$34/1 \pm 0/41^a$	$34/0 \pm 5/71^a$	$36/1 \pm 0/41^a$	(درصد) همتوکریت
$6/0 \pm 15/35^a$	$6/0 \pm 0/71^a$	$6/0 \pm 45/21^a$	$6/0 \pm 60/42^a$	(g/dL) هموگلوبین
$250/7 \pm 0/07^a$	$254/8 \pm 0/49^a$	$254/12 \pm 5/02^a$	$251/2 \pm 0/83^a$	(fL) MCV
$46/0 \pm 90/71^a$	$46/2 \pm 30/12^a$	$48/3 \pm 75/32^a$	$46/2 \pm 60/55^a$	(Pg) MCH
$18/0 \pm 60/28^a$	$18/0 \pm 15/21^a$	$18/0 \pm 65/21^a$	$18/0 \pm 80/28^a$	(g/dL) MCHC
$76/7 \pm 0/6^b$	$76/0 \pm 0/6^{ab}$	$78/7 \pm 1/5^a$	$78/3 \pm 1/5^a$	لنفوسیت (درصد)
$6/7 \pm 1/5^a$	$5/3 \pm 0/6^a$	$3/3 \pm 0/6^a$	$4/0 \pm 1/5^a$	نوتروفیل (درصد)
$15/7 \pm 1/5^b$	$16/0 \pm 1/0^{ab}$	$18/0 \pm 1/0^a$	$17/7 \pm 0/6^a$	مونوسیت (درصد)
$0/5 \pm 0/7^a$	$0/5 \pm 0/7^a$	$1/7 \pm 1/5^a$	$1/3 \pm 0/6^a$	ائوزوفیل (درصد)
				بازوفیل (درصد)

* حروف غیرهمسان در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی داری در سطح ۵ درصد است (n=3). داده‌ها بصورت میانگین $\pm$ انحراف معیار می‌باشد. WBC: تعداد گلبول‌های سفید، RBC: تعداد گلبول‌های قرمز، MCV: حجم متوسط گلبول قرمز خون، MCH: هموگلوبین متوسط گلبول قرمز خون و MCHC غلظت متوسط هموگلوبین سلول‌های قرمز.

درصد نوتروفیل و ائوزینوفیل در بین تیمارهای آزمایشی تفاوت معنی‌داری نداشت ($P > 0/05$) با این وجود، ماهیانی دریافت کننده جیره حاوی پودر فلفل پاپریکا، از درصد ائوزینوفیل بیشتری نسبت به تیمار شاهد برخوردار بودند.

بحث

ارزیابی فراسنجه‌های خونی اطلاعات ارزشمندی را درباره وضعیت سلامت ماهی‌ها فراهم می‌کند. یکی از روش‌های بررسی خصوصیات فیزیولوژیک ماهیان تعیین فاکتورهای سلولی و بیوشیمیایی خون است. هر گونه ماهی الگوی خونی ویژه‌ای دارد و بررسی جداگانه فاکتورهای خونی در ماهی‌های مختلف می‌تواند اطلاعات مهمی از خصوصیات فیزیولوژیک یک گونه ماهی مشخص نماید (Sowunmi, 2003). اکثر فرآیندهای فیزیولوژیک ماهیان به شرایط محیطی و تغذیه وابسته بوده و لذا مقادیر طبیعی فاکتورهای خونی برای هر گروه از ماهیان در یک محیط ممکن است برای گروه دیگر متفاوت باشد (Bani and Haghi vayghan, 2011). در واقع، تغییر پارامترهای خونی، پاسخ یک گونه مشخص ماهی

به تغییرات محیط زیست و شرایط پرورش در آن زمان خاص می‌باشد (Hosseini et al., 2011). در مطالعه حاضر، پودر پاپریکا اثرات معنی‌داری بر تعداد گلبول‌های سفید میزان لنفوسیت و مونوسیت داشت که در تیمارهای ۲ و ۳ درصد دارای تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد و ۱ درصد بود در حالیکه سایر شاخص‌های خونی، تعداد گلبول قرمز (RBC)، همتوکریت، هموگلوبین، MCV، MCH و MCHC در بین تیمارهای آزمایشی فاقد اختلاف معنی‌دار بودند. به طور مشابه، ناظران و همکاران (۱۳۹۲) تأثیر تغذیه پودر سیر را بر فیل ماهی بررسی کردند و همانند این تحقیق به نتایج مشابهی دست یافتند که فاکتورهای خونی غلظت هموگلوبین، حجم متوسط گلبول قرمز، فیل ماهی اختلاف بدون معنی نسبت به شاهد داشتند ولی تعداد گلبول‌های سفید این ماهی همانند این پژوهش حاضر دارای افزایش معنی‌داری بودند. نتایج این مطالعه نشان دهنده افزایش معنی‌دار تعداد WBC در ماهیان تغذیه شده با ۲ و ۳ درصد پودر پاپریکا در مقایسه با گروه شاهد بود. در واقع، فراوانی گلبول‌های سفید خون شاخص سلامت ماهی محسوب می‌گردد، زیرا آمادگی بدن در

لوکوسیت‌ها سبب افزایش قدرت سیستم ایمنی بدن شوند (Sakai, 1999). همچنین لنفوسیت‌ها به عنوان بخشی از لوکوسیت‌ها وظیفه‌ی تولید آنتی‌بادی در برابر آنتی‌ژن‌ها برعهده دارند. لذا، در ایمنی غیر اختصاصی نسبت به ایمنی اختصاصی (نسبت به حیوانات خونگرم) تأثیر مواد محرک ایمنی را بیشتر نشان می‌دهد (Alishahi et al., 2010). در این مطالعه با افزایش درصد پاپریکا در جیره غذایی ماهی گورخری توانست تعداد گلبول‌های سفید، مونوسیت و لنفوسیت را نسبت به گروه شاهد به دلیل سرشار بودن پاپریکا از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، کاراتنوئیدی، فنولی و انواع ویتامین‌ها بهبود دهد. به طور مشابه، Talebi و همکاران (۲۰۱۳) با تأثیر فلفل پاپریکا بر ایمنی غیراختصاصی ماهی قزل‌آلا، بیان کردند که این افزودنی گیاهی در مقدار ۵۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم سبب تقویت سیستم ایمنی غیراختصاصی و افزایش تعداد گلبول‌های سفید و مقدار لنفوسیت‌ها می‌شود که دلیل این افزایش را نیز وجود کاراتنوئید در فلفل ذکر کردند.

نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج به دست آمده، تغذیه ماهی گورخری با فلفل پاپریکا بخصوص در سطوح ۳ درصد سبب بهبود برخی فراسنجه‌های خونی گردید که می‌تواند بیان‌گر اثرات مثبت این افزودنی غذایی بر پارامترهای خونی باشد. اگرچه تحقیقات تکمیلی در خصوص افزودن این افزودنی در شاخص‌های رشد و ایمنی ضروری به نظر می‌رسد، اما به مزرعه داران ماهیان زینتی و یا آکواراریوم‌داران توصیه می‌شود در جهت بهبود برخی پارامترهای خونی و در نتیجه افزایش سلامت کلی ماهیان، با جیره تجاری ماهی گورخری با فلفل پاپریکا در سطوح ۳ درصد غنی‌سازی گردد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از همکاری‌های مسئول محترم آزمایشگاه شیلات دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، آقای مهندس حمید فتحعلیان تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

برابر دفاع سلولی را نمایان می‌سازد (Savari et al., 2011) و نشانگر واکنش بدن به عفونت و سایر عوامل فیزیولوژیک می‌باشد (سراجیان و همکاران، ۱۳۸۶). از جمله عوامل مؤثر بر تعداد گلبول سفید می‌توان به استرس، بیماری، عوامل آلاینده، تغذیه، شرایط اکولوژیک، سن و جنس اشاره نمود (قهرمان، ۱۳۷۵). در پاسخ به استرس‌های موجود در محیط آبی کاهش تعداد گلبول‌های سفید می‌تواند بیانگر سرکوب سیستم ایمنی و افزایش میزان آن نشان دهنده پاسخ به استرس یا عفونت باشد (Adams and Society, 2002). همچنین افزایش گلبول سفید در دامنه نرمال می‌تواند نشان دهنده ارتقاء و تحریک سیستم ایمنی باشد (Ahmadifar et al., 2009). داروهای گیاهی از جمله محرک‌های سیستم ایمنی هستند که با تأثیر گذاری بر سیستم ایمنی ماهیان موجب فعال شدن سلول‌های مؤثر در ایمنی می‌شوند و تحقیق در مورد استفاده از این مکمل‌ها، روند رو به رشدی دارد (Hosseinifar et al., 2010). فلفل گیاهی است که دارای ترکیبات آنتی‌اکسیدانی فراوانی است (Wollenweber et al., 1995). از مهم‌ترین آنها می‌توان به ویتامین‌هایی مانند ریبوفلاوین، نیاسین، تیامین، ویتامین C و A اشاره کرد، همچنین سایر ترکیبات آنتی‌اکسیدانی مانند اسیدهای چرب غیر اشباع، گزانتوکسین، کاروتنوئیدها، فلاونوئیدها و اسیدفولیک در فلفل پاپریکا از عوامل محرک سیستم ایمنی تلقی می‌شوند (Eidi et al., 2009). نتایج شمارش افتراقی لکوسیت‌ها در این مطالعه نشان داد که درصد لنفوسیت و مونوسیت نسبت به سایر شاخص‌ها در تیمارهای ۲ و ۳ درصد دارای افزایش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل داشتند. تعداد گلبول‌های سفید و ترکیبات آن از شاخص‌های مهم ماهی و یکی از بخش‌های اصلی سیستم ایمنی غیراختصاصی سلولی هستند (احمدی‌فر و همکاران، ۱۳۸۸). گلبول‌های سفید خون ماهیان به دو گروه گرانولوسیت (نوتروفیل، بازوفیل و ائوزینوفیل) و آگرانولوسیت (مونوسیت، لنفوسیت) تقسیم می‌شوند (Roberts, 2001). گرانولوسیت به همراه مونوسیت‌ها نقش مهمی را در بیگانه‌خواری و سیستم ایمنی ذاتی یاخته‌ای ایفاء می‌کنند (Stoskopf, 1993; Roberts, 2001; Ellis, 1981). بررسی‌ها نشان می‌دهند که ترکیبات تحریک کننده سیستم ایمنی می‌توانند از طریق افزایش فعالیت فاگوسیتوزی

منابع

- Ahmadifar, E., Azari Takami, G. 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.
- Alishahi, M., Ranjbar, M.M., Ghorbanpour, M., Peyghan, R., Mesbah, M. and Razi Jalali, M., 2010. Effects of dietary Aloe vera on some specific and nonspecific immunity in the common carp (*Cyprinus carpio*). *International Journal of Veterinary Research*, 4(3), 189-195.
- AOAC, 2005. Official Method of Analysis 17th (end), Washington. DC: Association of Official Analytical Chemists.
- Azimi, a., Imanpoor, M.R., Maleknejad, R. and Shokrollahi, S., 2014. Effects of natural and synthetic pigments on flower horn fish (*Cichlasoma Sp.*) *Blood Parameters*, 2 (11): 2761-2767.
- Bani, A. and Haghi Vayghan, A., 2011. Temporal variations in haematological and biochemical indices of the Caspian kutum, *Rutilus frisii kutum*. *Ichthyology Research*. Springer. 58, 126-133.
- Bates, J.M., Mittage, E., Kuhlman, J., Baden, K.N., Cheesman, S.E. and Guillemin, K., 2006. Distinct signals from the microbiota promote different aspects of zebrafish gut differentiation. *Developmental Biology* 297: 374-386.
- احمدی فر، ا.، جلالی، م.ع.، سوداگر، م.، آذری تاکامی، ق. و محمدی زرج آباد، ا.، ۱۳۸۸. اثرات آکوآک آرگوسان (*Aquavac Ergosam*) بر میزان رشد، بازماندگی و شاخص‌های مربوط به خون در ماهیان جوان (*Huso huso*)، مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی، ۱۶(۱): ۷۲-۸۰.
- خواجه، غ. و پیغان، ر. ۱۳۸۶. بررسی برخی فاکتورهای بیوشیمیایی سرم خون ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*Onchorhynchus mykiss*) پرورش یافته د استخرهای خاکی، مجله تحقیقات دامپزشکی، ۶۲(۳): ۱۹۷-۲۰۳.
- ربعی، م. ۱۳۹۶. اثر درمانی تجویز عصاره برگ و سرشاخه‌های گیاه مو بر سیستم ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در مسمومیت تجربی با سم دیازینون. مجله پژوهش‌های جانوری، ۳۰(۳): ۳۰۸-۳۱۶.
- سراجیان، ش.، زمینی، ع.، یوسفیان، م.، سعیدی، ع.ا. و جعفری، ع. ۱۳۸۶. بررسی مقایسه‌ای سطوح برخی از هورمون‌های استروئیدی جنسی سرم خون در مولدین نارس و بالغ کفال طلایی دریای خزر (*Liza auratus*). مجله شیلات دانشگاه آزاد اسلامی واحد آزادشهر، ۲(۳): ۵۱-۶۰.
- قهرمان، ا.، ۱۳۷۵. گاریوفیت‌های ایران (سیستماتیک گیاهی). مرکز نشر دانشگاهی تهران، جلد دوم.
- محمدی، م.، تجری، م.، شانسی، ن.، کلنگی میاندرد، ح.، عظیمی، ع. و هاشمی رستمی، م. ۱۳۹۱. نوسانات شوری بر برخی فاکتورهای بیوشیمیایی سرم خون بچه تاس ماهی انگشت قد (*Acipenser persicus*) ایرانی، مجله توسعه آبی‌پروری، ۶(۲): ۶۷-۷۹.
- ناظریان، س.، قلی‌پور کنعانی، ح.، جعفریان، ح.ا.، سلطانی، م. و اسماعیلی ملأ، ع. ۱۳۹۲. تأثیر تغذیه‌ای پودر سیر بر شاخص‌های هماتولوژیک فیل ماهی (*Huso huso*). فصلنامه علوم تکثیر و آبی‌پروری، ۱(۳): ۶۹-۷۸.
- Adams, S.M. and Society, A.F., 2002. Biological Indicators of Aquatic Ecosystem Stress, American Fisheries Society.

- Eidi, A., Eidi, M. and Badiei, L., 2009. Antinociceptive effects of ethanolic extract of parsley (*Petroselinum crispum* L.) leaves in mice. *Medical Sciences*, 3, 19(3): 181-186.
- Ellis, A.E., 1981. Stress and modulation of defence mechanisms in fish. In: Pickering, A.D. (Ed), stress and fish. Academic press, London. pp. 147-169.
- Fanouraki, E., Divanach, F. and Pavlidis, M., 2007. Baseline values for acute and chronic stress indicators in sexually immature red porgy (*Pagrus pagrus*). *Aquaculture*, 265: 294-304.
- Ganguly, S., Paul, I. and Mukhopadhyay, S.K., 2010. Application and effectiveness of immunostimulants, probiotics and prebiotics in aquaculture: a review. *The Israel Journal of Aquaculture*, 62(3): 130-138.
- Hosseinfar, S.H., Zare, P. and Merrifield, D.L., 2010. The effects of inulin on growth factors and survival of the Indian white shrimp larvae and post-larvae (*Fenneropenaeus indicus*). *Aquaculture Research*, 41(9), 348-352.
- Kim, J.S., An, C.G., Park, J.S., Lim, Y. P. and Kim, S., 2016. Carotenoid profiling from 27 types of paprika (*Capsicum annum* L.) with different colors, shapes, and cultivation methods. *Food Chemistry*, 201, 64-71.
- Lee, C.R., Pham, M.A. and Lee, S.M., 2010. Effects of Dietary Paprika and Lipid Levels on Growth and Skin Pigmentation of Pale Chub (*Zacco platypus*). *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 23(6):724-732.
- Lewis, S., 1975. Practical haematology. Edinburgh. New York. Churchill Livingstone. New York: distributed by Longman, 629P.
- Merrifield, D.L., Dimitroglou, A., Foey, A., Davies, S.J., Baker, R.T.M., Bogwald, J., Castex, M. and Ringo, E. 2010. The current status and future focus of probiotic and prebiotic applications for salmonids. *J Aqua*, 302 (1-2), 1-18.
- Murtha, J.M. and Keller, E.T., 2003. Characterization of the heat shock response in mature zebrafish (*Danio rerio*). *Jornal of Sciencedirect*, 38(6):683-691.
- Naghdi Badi, H. and Makizadeh Tafti, M., 2007. A review on Thymus species. *Journal of Medicinal Plants*, 7, pp.1-13.
- Nekoubin, H., Gharedaashi, E., Imanpour, M.R., Nowferesti, H. and Asgharimoghadam, A., 2012. The influence of symbiotic (*Biominimbo*) on growth factors and survival rate of zebrafish (*Danio rerio*) larvae via supplementation with Biomar. *Global Vterinaria*, 8(5): 503-506.
- Parrino, V., Sabri Kesbic, O., Acar. U. and Fazio, F., 2019. Hot pepper (*Capsicum sp.*) oil and its effects on growth performance and blood parameters in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Natural Product Reserch*, 1-5.
- Radu, D., Oprea, L., Bucur, C., Costache, M. and Oprea, L., 2009. Characteristics of Haematological Parameters for Carp Culture and Koi (*Cyprinus carpio* Linneaus, 1758) Reared in an Intensive System. *Animal Science and Biotechnologies*, 66: 366-343.

- Roberts, R.J., 2001.** Fish pathology. Sounders, London. 472P.
- Sakai, M., 1999.** Current research status of fish immunostimulants. *Aquaculture*, 172(1-2): 63-92.
- Savari, A., Hedayati, A. and Safahieh, A., 2011.** Characterization of blood cells and hematological parameters of yellowfin sea bream (*Acanthopagrus latus*) in some creeks of Persian Gulf. *World Journal of Zoology*. 6: 26-32.
- Shapawi, R. and Zamry A.A., 2016.** Response of Asian seabass, *Lates calcarifer* juvenile fed with different seaweed-based diets. *Journal of Applied Animal Research*, 44; 121-125.
- Sowunmi, A.A., 2003.** Hematology of the African catfish (*Clarias gariepinus*) from Eleiyele Reservoir, Ibadan South-West, Nigeria. *The Zoologist*, 2: 85-91.
- Spence, R., Gerlach, G., Lawrence. C. and Smith, C., 2008.** The behavior and ecology of the Zebrafish, *Danio rerio*. *Biological Reviews*, 83 (1): 13-34.
- Stoskopf, M.K., 1993** Fish Medicine Philadelphia, W.B. Saunders Co.
- Svetina, A., Matasin, Z., Tofant, A., Vucemilo, M. and Fuan, N., 2002.** Haematology and some blood chemical parameters of young carp till the age of three years. *Acta Veterinaria Hungarica*, 50: 67-459.
- Talebi, M., Khara, H., Zoriehzahra, J., Ghobadi, S.h., Khodabandelo, A. and Mirrasooli, E., 2013.** Study on effect of red bell pepper on growth, pigmentation and blood factors of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *World Journal of Zoology*, 8 (1):17-23.
- Wollenweber, E., Dorr, M. and Rustayan, A., 1995** Dorema auchri, the first umbelliferous plant found to produce exudates flavonoids. *Phytochemistry*, 38: 1417-27.
- Yilmaz, S., Ergun, S. and Soytaş, N., 2013.** Enhancement of Growth Performance and Pigmentation in Red Oreochromis mossambicus Associated with Dietary Intake of Astaxanthin, Paprika, or Capsicum. *Evol's Publication*, 65:1-7.

Effect of paprika pepper powder (*Capsicum annum*) on blood parameters of zebrafish (*Danio rerio*)

Lotfi K.¹; Hosseini Shokrabi S.P.^{1*}; Mohammadi N.¹; Avazeh A.²

*hosseini@srbiau.ac.ir

1-Department of Fisheries Science, Science and Reseach Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

2- Department of Fisheries Science, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Tehran, Iran.

Abstract

In this study the effect of paprika pepper powder on the blood parameters of Zebrafish was evaluated. A total number of 480 zebrafish with 0.05g initial body weight and total length of 1.71 mm were randomly to 4 treatments (with three replications) and were divided into 12 aquariums. For this purpose, experimental diets with control group without any additive (control diet), 1(treatment 1), 2 (treatment 2), and 3 (treatment 3) percent of paprika powder were reared for 56 days. At the end of the experiment period, the results showed that some blood parameters did not significantly differ among treatments ($P>0.05$). However, the highest number of white blood cells was recorded in treatments 2 and 3 compared to other groups ($P<0.05$). Also, the differential count of leukocytes showed that the highest percentage of lymphocytes and monocytes were observed in 2 and 3 % treatments compared to the control group ($P<0.05$). In general, oral administration of paprika powder, especially at 3% can improve some blood parameters of zebrafish.

Keywords: Zebrafish, Pepper, Paprika, Blood parameters