Archive of SID

تأثیر عصاره پونه (*Mentha longifolia*) بر فاکتورهای بیوشیمیایی خون و شاخص‌های رشد ماهی کپور(*Cyprinus carpio*)

مهدی بنایی[1*]، بهزاد نعمت‌دوست حقی[1]، پروانه شوکت[1]

۱. گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی و محیط‌زیست، دانشگاه صنعتی خاتم‌الانبیاء (ص) بهبهان، بهبهان، ایران، کدپستی: ۴۷۱۸۹-۶۳۶۱۶

تاریخ دریافت: ۲ اردیبهشت ۱۳۹۵ تاریخ پذیرش: ۱۵ شهریور ۱۳۹۵

چکیده

هدف از این مطالعه، ارزیابی پیش‌بالینی تأثیر تجویز عصاره آبی-الکلی پونه بر فاکتورهای بیوشیمیایی خون و شاخص‌های رشد ماهی کپور است. در این آزمایش، ۱۴۴ عدد ماهی کپور معمولی (با میانگین وزنی ۱۰/۷۵±۸۷/۸۵ گرم) به مدت ۴۵ روز با غذای تجاری غنی‌شده با عصاره هیدرو الکلی پونه در غلظت‌های ۰/۰ (کنترل)، ۰/۱، ۰/۵ و ۱ درصد به ازای هر کیلوگرم غذا تغذیه شدند. پس از گذشت ۱۵،۳۰ و ۴۵ روز از آغاز آزمایش، ۹ ماهی از هر تیمار به‌صورت تصادفی صید و از ساقه‌ی دمی آنها خون‌گیری شد. تلفاتی در بین ماهی‌ها در طی دوره آزمایش مشاهده نگردید. افزایش معنی‌داری در سطوح گلوکز، فعالیت آنزیم آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و آلکالین‌فسفاتاز (ALP) در ماهی‌های تحت تیمار ۰/۵ و ۱ درصد عصاره‌ی پونه در روز ۴۵ مشاهده شد ($P<0/05$). سطح آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز (AST)، لاکتات دهیدروژناز (LDH)، کلسترول خون و آلبومین در روزهای ۳۰ و ۴۵ آزمایش در خون ماهی‌های تحت تیمار غلظت‌های ۱ درصد عصاره‌ی پونه به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ($P<0/05$). همچنین افزایش معنی‌داری در سطح تری‌گلیسرید و کراتینین خون ماهی‌های تحت تیمار غلظت ۱ درصد عصاره‌ی پونه در روز ۳۰ آزمایش دیده شد. درحالی‌که سطح گلبولین خون ماهی‌های تحت تیمار غلظت ۱ درصد عصاره‌ی پونه در روز ۴۵ از آزمایش به‌طور معنی‌داری کاهش یافت ($P<0/05$)؛ اما فعالیت آنزیم کراتین فسفوکیناز (CPK) تنها در روز ۱۵ آزمایش به‌طور معنی‌داری در خون ماهی‌های تحت تیمار غلظت ۰/۱ درصد عصاره‌ی پونه افزایش یافت. تجویز ۰/۵ و ۱ درصد از عصاره‌ی پونه سبب کاهش نرخ رشد ویژه، وزن به‌دست‌آمده و وزن نهایی در روز ۳۰ و ۴۵ آزمایش و افزایش معنی‌داری ضریب تبدیل غذایی گردید. درحالی‌که بر اساس نتایج این تحقیق، تجویز عصاره‌ی پونه تأثیری بر شاخص چاقی ماهی‌ها نداشت. نتایج مطالعه پیش‌بالینی بررسی اثر عصاره پونه بر ماهی کپور معمولی حاکی از این است که تجویز پونه (در غلظت‌های بیش از ۵ گرم) می‌تواند با ایجاد سمیت سلولی بر فاکتورهای بیوشیمیایی خون و شاخص‌های رشد ماهی‌ها تأثیری منفی داشته باشد.

کلمات کلیدی: فاکتورهای بیوشیمیایی، شاخص‌های رشد، پونه، کپور

* عهده‌دار مکاتبات (✉)، mahdibanaee@yahoo.com

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

باوجود تمامی مزایای استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در درمان و پیشگیری از بیماری‌های آبزیان، تحقیقات اخیر نشان می‌دهد که بقایای آنتی‌بیوتیک‌های موجود در لاشه ماهی‌ها، می‌تواند منجر به پیدایش سویه‌های مقاوم در بدن مصرف‌کنندگان گردد و به یک مانع بزرگ زیستی در درمان بسیاری از بیماری‌های باکتریایی که در درمان آنها از آنتی‌بیوتیک‌های مشابه استفاده می‌شود، بدل گردد. عصاره‌های گیاهی غالباً به دلیل دارا بودن ترکیبات فیتوشیمیایی مختلف با خاصیت آنتی باکتریایی و آنتی‌اکسیدانی، به‌صورت سنتی در درمان و کنترل برخی از بیماری‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند (Frankič *et al*., 2009). لذا در طی سال‌های اخیر استفاده از گیاهان دارویی در پیشگیری و درمان بسیاری از بیماری‌های آبزیان (Harikrishnan, *et al*., 2010) و همچنین افزایش و تقویت توان سیستم ایمنی ماهی‌ها بسیار مورد توجه محققین قرارگرفته است (Ardó *et al*., 2008; Yin *et al*., 2009; Dorucu *et al*., 2009; Bilen and Bulut, 2010; Asadi *et al*., 2012; Ahmadi *et al*., 2012a). تأثیر سینرژیک استفاده توأم از عصاره گیاهان دارویی و داروهای سنتتیک، واکسن‌ها و نیز ترکیبات محرک ایمنی از دیگر مزایای استفاده از عصاره گیاهان دارویی در فارماکولوژی دامپزشکی است. بسیاری از این ترکیبات ممکن است با ضدعفونی کردن سیستم گوارش، تحریک اشتها و همچنین تحریک پانکراس جهت افزایش سطح سنتز و ترشح آنزیم‌های گوارشی، قابلیت هضم و گوارش را در جانوران افزایش دهند (نوبخت و همکاران، ۱۳۹۲).

یکی از گیاهان دارویی پرکاربرد در طب سنتی ایران، گیاه پونه *Mentha longifolia* (L.) Huds. از خانواده‌ی Lamiaceae است (Sher and Khan, 2007)؛ و برگ‌ها و جوانه‌های تازه‌ی آن به دلیل داشتن ترکیبات بیوشیمیایی مختلفی ازجمله اسید سینامیک، اگلیکون، گلیکوزاید یا فلاونوئیدهای استیله شده و استرادیول‌های گلیکوزایدی و روغن‌های ضروری نظیر ۱،۸- کینول، منتول، کاروون، لیمونن، اکسید پیپریتون، بتا کاریوفیلن، اپوکسید ترانس پیپریتون و پولگون (جدول ۱) دارای خاصیت ضد قارچی، ضدالتهابی، ضد میکروبی، گندزدایی و ضدعفونی کنندگی و آنتی‌اکسیدانی است (Ali *et al*., 2002; Koliopoulos *et al*., 2010) و در دفع حشرات موذی، درمان اختلال گوارشی، بی‌اشتهایی و اختلالات کبدی و درمان تب، سردرد، ناراحتی‌های گوارشی و سوءهاضمه و نیز به‌عنوان طعم‌دهنده در صنایع غذایی مورداستفاده قرار می‌گیرد (Ahmad *et al*., 2012b).

خاصیت ضد باکتریایی ترکیبات فیتوشیمیایی موجود در اسانس پونه و مکانیسم باکتریسیدی آنها به وجود ترکیبات فعال مونوترپنی به‌ویژه پولگون، منتول و ۱-۸ سینئول (محمودی و همکاران، ۱۳۹۰) و پتانسیل آنها در پیشگیری از رشد باکتری‌ها و همچنین تخریب غشای سلولی آنها نسبت داده می‌شود (Hafedh *et al*., 2007). اثر ضد باکتریایی و آنتی‌اکسیدانی اسانس بسیاری از گونه‌های پونه علیه باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی (Moreno *et al*., 2002) نظیر باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و اشرشیاکلی (رضایی و رسولی، ۱۳۷۹) و هلیکوباکتر پیلوری (نوری‌زاده و همکاران، ۱۳۸۳)، باسیلوس‌ها و برخی از گونه‌های قارچی نظیر آسپرژیلوس، فوزاریوم و پنی‌سیلیوم (Gulluce *et al*., 2007) مورد بررسی و مطالعه قرار گرفته است. از این‌رو این گیاه ممکن است کاندیدای مناسبی برای بدل شدن به یک داروی گیاهی قابل

www.SID.ir

Archive of SID

تجویز در آبزی‌پروری باشد. بااین‌وجود، اگر مبنای انتخاب این گیاه مانند اغلب گیاهان دارویی در تحقیقات صورت گرفته بر روی آبزیان بر اساس خواص درمانی آنها باشد ممکن است در دست‌یابی به هدف مطلوب چندان موفق نباشیم؛ زیرا این گیاه به دلیل داشتن ترکیباتی مانند منتول و پولگون ممکن است برای ماهی‌ها سمی باشد. از سویی دیگر این گیاه می‌تواند با تأثیر بر سیستم تولیدمثلی جانوران نر و کاهش میل جنسی، سنتز و ترشح هورمون‌های دخیل در کنترل بلوغ و رسیدگی جنسی (شریعتی و همکاران، ۱۳۹۰) در روند تکثیر و تولیدمثل ماهی‌ها نیز اختلال به وجود آورد. از این‌رو توجه به جنبه‌های سم‌شناسی دارویی، به‌ویژه انجام هرگونه آزمایش پیش‌بالینی استاندارد و تعیین سلامت دارویی پیش از تجویز گیاه موردنظر به‌عنوان یک داروی جدید امری ضروری و اجتناب‌ناپذیر است.

لذا پیش از تجویز عملی یک ترکیب به‌عنوان دارو می‌بایست با انجام یک سری آزمایش‌های متداول، جنبه‌های مختلف فارماکولوژی و سم‌شناسی ترکیب موردنظر بر اندام‌های هدف مورد بررسی قرار گیرد؛ اما ازآنجایی‌که پایش و ارزیابی سلامت و عملکرد صحیح این اندام‌ها به‌ویژه در زمانی که مشاهده‌ی مستقیم تغییرات در بافت‌ها در موجود زنده مقدور نبوده و مشکل است، می‌توان با ارزیابی تغییرات پارامترهای بیوشیمیایی خون، به اطلاعات نسبتاً کاملی از وضعیت فیزیولوژیکی سلول‌ها و بافت‌ها به‌ویژه بافت کبد، دست‌یابیم. این اطلاعات می‌تواند در ارزیابی تأثیر دارویی و سم‌شناسی دارویی به‌منظور تعیین دوز غیر سمی دارو مفید باشد (Banaee *et al*., 2011).

هدف از این مطالعه بررسی اثرات پیش‌بالینی تجویز نسبت‌های مختلف عصاره پونه به‌صورت خوراکی بر فاکتورهای بیوشیمیایی خون ماهی کپور معمولی به‌منظور امکان‌سنجی استفاده از این گیاه در جیره غذایی به‌عنوان یک داروی احتمالی یا افزودنی خوراکی است؛ تا بدین ترتیب احتمال وجود هرگونه تأثیر سوء ناشی تجویز عصاره پونه بر ماهی‌ها مورد بررسی قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

ماهی

۱۴۴ عدد ماهی کپور معمولی (با میانگین وزنی ۱۰/۷۵±۸۷/۸۵ گرم) به‌طور تصادفی در ۱۲ مخزن فایبرگلاس (۲۰۰ لیتری) مجهز به هواده و با تعویض روزانه ۲۰ درصدی آب توزیع گردید. پیش از شروع آزمایش، ماهی‌ها به مدت ۲ هفته با شرایط آزمایشگاهی (۲±۲۲ °C دمای، دوره‌ی نوری L/8 D ۱۶، اکسیژن ۱±۶ mg/L، سختی ۲۰±۴۰۰ بر اساس کربنات کلسیم، ۰/۲±۷/۴ pH)، آزمایشگاه تکثیر و پرورش دانشکده منابع طبیعی و محیط‌زیست دانشگاه خاتم‌الانبیاء (ص) بهبهان، سازگار گردیدند. در طی دوره‌ی سازگاری ماهی‌ها با جیره‌ی تجاری کپور به‌صورت دو بار در روز و در حد سیری تغذیه شدند.

عصاره گیاه پونه

گیاه پونه *Mentha longifolia* (L.) Huds. به‌صورت خشک از عطاری خریداری گردید. سپس با آسیاب برقی پودر گردید. پس از الک کردن پودر پونه، به ترتیب جهت تهیه عصاره‌ی ۰/۱، ۰/۵ و ۱ درصدی، مقدار ۱۰۰ گرم از پودر پونه با ۳۰۰ سی‌سی

www.SID.ir

Archive of SID

الکل اتیلیک و ۳۰۰ سی‌سی آب مقطر (به نسبت ۱ به ۱) مخلوط گردید. مخلوط حاصل به مدت ۴۸ ساعت بر روی دستگاه شیکر قرار داده شد. سپس، عصاره هیدرو الکلی به‌وسیله کاغذ صافی، صاف گردید. سپس با قرار دادن عصاره هیدرو الکلی در انکوباتور با دمای ۵۰ درجه‌ی سانتی‌گراد، عصاره تغلیظ و درنهایت عصاره خشک تهیه شد. سپس به ترتیب ۱، ۵ و ۱۰ گرم از عصاره خشک به جیره غذایی ماهی‌ها افزوده گردید.

جدول ۱: ترکیب فیتوشیمیایی عصاره پونه‌ی *Mentha longifolia* L. (Mahmoudi, 2014).

نام ترکیب	درصد	نام ترکیب	درصد
آلفاپینن	۱/۸۶	کامفن	۰/۵۷
سابینن	۰/۵۲	۲- بتاپینن	۳/۰۷
بتامیرسن	۰/۵۰	۳- اکتانول	۰/۶۰
۱، ۸- سینئول	۱۵/۸۹	پارامنتا ۳، ۸ دیئن	۰/۵۴
ایزوپنتیل ۲- منتیل-بوتانوات	۰/۹۱	پارامنت ۳ان ۸ال	۷
منتوفوران	۱۱/۱۸	سیس ایزو پولگون	۹/۷۴
بورنئول	۱/۰۱	نئو ایزو دی‌هیدروکاروئول	۱/۷۸
پولگون	۳۱/۵۴	۲ سیکلوهگزان ۱ وان	۳/۸۰
۱ دسن	۱/۵۸	پیپریتونون اکساید	۰/۳۴
سیس جاسمون	۰/۴۰	۱، ۴ بنزن دی‌آمین	۰/۳۵
اسپاتولنون	۰/۵۲	کاریوفیلن اکساید	۱/۶۰

طرح آزمایش

آزمایش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی و با ۳ تیمار آزمایشی و ۱ گروه کنترل شامل ماهی‌های تحت تیمار غذای تجاری غنی‌شده با عصاره هیدرو الکلی پونه در غلظت‌های ۰/۱، ۰/۵ و ۱ درصد به ازای هر کیلوگرم غذای تجاری و هر یک با ۳ تکرار انجام گرفت. ماهی‌ها روزانه ۲ بار و در حد سیری با جیره‌های غذایی فوق تغذیه شدند. پس از گذشت ۱۵،۳۰ و ۴۵ روز از آغاز آزمایش، ۹ ماهی از هر تیمار به‌صورت تصادفی صید و پس از بی‌هوش نمودن آنها با محلول پودر گل میخک (۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر)، از ساقه‌ی دمی آنها با استفاده از سرنگ‌های خلاءدار حاوی ماده‌ی ضد انعقاد هپارین خون‌گیری شد (Nafisi Bahabadi *et al.*, 2014).

فاکتورهای بیوشیمیایی خون

پس از خون‌گیری از کمان خونی ساقه‌ی دمی ماهی‌ها، خون به درون اپندروف ۲ میلی‌لیتری ریخته شد و پس از سانتریفیوژ آنها با دستگاه میکروسانتریفیوژ با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه، پلاسما تهیه گردید. پلاسمای به‌دست‌آمده نیز تا انجام مراحل آزمایش‌های بیوشیمیایی در فریزر ۲۱- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری گردید (Nafisi Bahabadi, *et al.*, 2014). اندازه‌گیری فاکتورهای بیوشیمیایی خون با استفاده از کیت‌های تهیه‌شده از شرکت پارس آزمون و

www.SID.ir

Archive of SID

با دستگاه اسپکتروفتومتری UV/Vis (مدل ۲۱۰۰ یونیکو آمریکا) صورت گرفت. سطح پروتئین تام پلاسما بر اساس واکنش و در طول‌موج ۵۴۰ نانومتر، آلبومین پلاسما بر اساس واکنش برموکرزول‌گرین و در طول‌موج ۶۳۰ نانومتر، گلبولین پلاسما بر اساس نسبت آلبومین از پروتئین تام پلاسما (Johnson *et al.*, 1999)، گلوکز پلاسما بر اساس روش آنزیمی گلوکز اکسیداز و در طول‌موج ۵۰۰ نانومتر، سطح کلسترول پلاسما نیز به روش آنزیمی (CHO-PAP) در طول‌موج ۵۱۰ نانومتر و تری‌گلیسرید بر اساس روش آنزیمی GPO-PAP و در طول‌موج ۵۱۰ نانومتر اندازه‌گیری گردید (Thomas, 1998). کراتینین به روش Jaffe و پس از واکنش با اسید پیکریک در طول‌موج ۵۱۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (Foster-Swanson *et al.*, 1994). سطح فعالیت آنزیم‌های آسپارتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز پلاسما بر اساس مقدار مصرف NADPH و تبدیل آن به NAD^+ در طول‌موج ۳۴۰ نانومتر، لاکتات دهیدروژناز پلاسما بر اساس تبدیل پیرووات به لاکتات در طول‌موج ۳۴۰ نانومتر، آلکالین فسفاتاز بر اساس تبدیل نیتروفنیل فسفات به نیتروفنول و فسفات و در طول‌موج ۴۰۵ نانومتر تعیین و بر اساس میزان جذب نوری OD و فرمول ارائه‌شده در دستورالعمل کیت‌ها محاسبه گردید (Moss and Henderson, 1999).

شاخص‌های رشد

شاخص‌های مختلف رشد، وزن نهایی، درصد وزن به‌دست‌آمده، نرخ رشد ویژه و ضریب تبدیل غذایی نیز پس از ریخت سنجی و وزن‌کشی ماهی‌ها، در پایان هر مرحله از نمونه‌برداری بر اساس فرمول‌های زیر محاسبه گردید.

$$\text{وزن بدست آمده (\%)} = \frac{\text{وزن اولیه} - \text{وزن نهایی}}{\text{وزن اولیه}} \times 100$$

$$\text{نرخ رشد ویژه (SGR)} = \frac{\text{Ln (وزن نهایی بدن)} - \text{Ln (وزن اولیه بدن)}}{\text{طول دوره آزمایش}} \times 100$$

$$\text{ضریب تبدیل غذایی (FCR)} = \frac{\text{غذای دریافتی (g)}}{\text{وزن تر بدست آمده (g)}}$$

$$\text{شاخص چاقی (CF)} = \frac{\text{وزن نهایی}}{(\text{طول نهایی})^3} \times 100$$

تجزیه‌وتحلیل آمار

تجزیه‌وتحلیل داده‌ها به روش آنالیز واریانس یک‌طرفه (One way ANOVA) انجام گرفت. نرمال بودن داده‌ها نیز بر اساس آزمون Kolmogorov-Smirnov Normality Test با استفاده از نرم‌افزار SPSS 19 انجام و مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۹٪ (α = ۰/۰۱) صورت گرفت.

نتایج

در طی دوره‌ی آزمایش هیچ‌گونه تلفاتی در بین ماهی‌های تحت تیمار جیره‌ی حاوی عصاره‌ی پونه مشاهده نگردید. افزایش چشمگیری در حجم کیسه‌ی صفرا در ماهی‌های تحت تیمار جیره‌ی حاوی عصاره‌ی پونه، مهم‌ترین تغییر بالینی مشاهده‌شده در طی دوره‌ی آزمایش بود. با توجه به محتویات سیستم گوارش و

www.SID.ir

Archive of SID

رفتار تغذیه‌ی ماهی‌ها، تغییری در اشتهای ماهی‌ها نیز مشاهده نگردید.

وزن نهایی ماهی‌های تحت تیمار ۰/۵ درصد از عصاره‌ی پونه در روز ۴۵ آزمایش کاهش معنی‌داری نشان می‌دهد. نرخ رشد ویژه و وزن به‌دست‌آمده در روز ۱۵ آزمایش تنها در ماهی‌هایی که از جیره‌ی حاوی ۰/۵ درصد عصاره تغذیه کردند، کاهش یافت، اما کاهش نرخ رشد ویژه و وزن به‌دست‌آمده در ماهی‌های تحت تیمار ۰/۵ و ۱ درصد از عصاره‌ی پونه در روزهای ۳۰ و ۴۵ آزمایش کاملاً معنی‌دار است.

جدول ۲: وزن اولیه، وزن نهایی و شاخص‌های رشد ماهی‌های تحت تیمار غلظت‌های مختلف عصاره‌ی پونه

فاکتورهای رشد	نسبت‌های مختلف عصاره پونه (گرم)	روز اول	روز پانزدهم	روز سی‌ام	روز چهل و پنجم
وزن اولیه (گرم)	کنترل (صفر)	۸۹/۳۷±۱۱/۸۸^{a}			
	۱	۸۶/۱۳±۱۱/۹۱^{a}			
	۵	۸۶/۰۷±۱۰/۸۲^{a}			
	۱۰	۸۹/۷۷±۸/۱۰^{a}			
وزن نهایی (گرم)	کنترل (صفر)		۱۰۴/۵±۱۰/۹۳^{a}	۱۱۲/۵۰±۷/۸۴^{a}	۱۱۵/۵±۱۷/۹۷^{b}
	۱		۱۱۰/۱۰±۶/۴۷^{a}	۱۱۲/۸۶±۱۹/۵^{a}	۱۱۴/۸۹±۱۷/۴^{b}
	۵		۹۹/۷۶±۱۱/۶۵^{a}	۱۰۳/۱±۱۴/۱۶^{a}	۹۰/۵۲±۱۱/۲۸^{a}
	۱۰		۱۰۲/۱۲±۱۱/۷^{a}	۱۱۰/۲۲±۸/۰۱^{a}	۹۲/۸۴±۶/۹۶^{ab}
درصد وزن به‌دست‌آمده	کنترل (صفر)		۲۰/۸۲±۴/۷۳^{b}	۲۴/۸۱±۲/۷۳^{b}	۳۰/۱۰±۵/۱۰^{b}
	۱		۱۸/۳۶±۲/۹۰^{ab}	۲۷/۶۳±۴۴/۴۰^{b}	۳۵/۸۵±۱۷/۲۰^{b}
	۵		۱۳/۷۸±۱/۱۷^{a}	۱۱/۴۹±۴/۳۶^{a}	۹/۲۲±۳/۳۲^{a}
	۱۰		۱۶/۳۸±۳/۴۴^{ab}	۱۴/۹۱±۳/۷۴^{a}	۷/۲۴±۳/۸۳^{a}
نرخ رشد ویژه	کنترل (صفر)		۱/۲۶±۰/۲۵^{b}	۰/۷۴±۰/۰۷^{b}	۰/۵۸±۰/۰۹^{b}
	۱		۱/۱۲±۰/۱۶^{ab}	۰/۸۱±۰/۱۲^{b}	۰/۶۷±۰/۲۷^{b}
	۵		۰/۸۶±۰/۰۷^{a}	۰/۳۶±۰/۱۳^{a}	۰/۲۰±۰/۰۷^{a}
	۱۰		۱/۰۱±۰/۲۰^{ab}	۰/۴۶±۰/۱۱^{a}	۰/۱۵±۰/۰۸^{a}
ضریب تبدیل غذایی	کنترل (صفر)		۲/۰۹±۰/۳۹^{a}	۲/۰۴±۰/۲۰^{a}	۱/۷۰±۰/۲۵^{a}
	۱		۲/۳۴±۰/۳۶^{a}	۱/۸۵±۰/۳۱^{a}	۱/۶۶±۰/۷۰^{a}
	۵		۳/۰۷±۰/۲۷^{b}	۴/۹۰±۱/۹۲^{b}	۶/۲۳±۲/۷۲^{b}
	۱۰		۲/۶۷±۰/۶۰^{ab}	۳/۵۴±۰/۹۲^{ab}	۸/۱۰±۲/۸۲^{b}
فاکتور وضعیت (شاخص چاقی)	کنترل (صفر)		۵/۷۳±۰/۱۹^{a}	۴/۸۲±۰/۱۴^{a}	۴/۵۳±۰/۳۰^{ab}
	۱		۵/۶۱±۰/۴۷^{a}	۵/۰۸±۰/۲۱^{a}	۵/۰۹±۰/۵۴^{b}
	۵		۶/۵۰±۱/۰۵^{a}	۵/۰۹±۰/۶۳^{a}	۴/۱۲±۰/۵۶^{a}
	۱۰		۶/۲۵±۰/۵۸^{a}	۵/۲۷±۰/۶۳^{a}	۳/۸۹±۰/۳۳^{a}

داده‌ها به‌صورت mean±S.D. در جداول ارائه‌شده است. اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای مختلف نیز با حروف الفبای انگلیسی مشخص‌شده است.

www.SID.ir

Archive of SID

ضریب تبدیل غذایی در ماهی‌های تحت تیمار ۰/۵ درصد از عصاره‌ی پونه در طول دوره‌ی آزمایش افزایش معنی‌داری داشت. تغذیه ماهی‌ها با جیره‌ی حاوی ۱ درصد عصاره‌ی پونه در روز ۴۵ آزمایش سبب افزایش معنی‌دار ضریب تبدیل غذایی گردید. نتایج نشان می‌دهد که تجویز عصاره‌ی پونه تأثیری بر شاخص چاقی ماهی‌ها ندارد (جدول ۲).

اگرچه پس از گذشت ۱۵ و ۳۰ روز تغییر معنی‌داری در سطح گلوکز خون ماهی‌های تحت تیمار غلظت‌های مختلف عصاره‌ی پونه مشاهده نگردید؛ اما پس از ۴۵ روز از شروع آزمایش، سطح گلوکز خون ماهی‌هایی که با جیره‌ی غذای غنی‌شده با ۰/۵ و ۱ درصد عصاره‌ی پونه به‌طور معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) افزایش یافت (جدول ۳).

در طول دوره‌ی آزمایش، تغییر معنی‌داری ($P>۰/۰۵$) در سطح پروتئین تام خون ماهی‌های تحت تیمار غلظت‌های مختلف عصاره‌ی پونه مشاهده نگردید. در روزهای ۳۰ و ۴۵ آزمایش، سطح آلبومین در خون ماهی‌های تحت تیمار غلظت ۱ درصد عصاره‌ی پونه در مقایسه با گروه کنترل به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ($P<۰/۰۵$). نتایج نشان می‌دهد، سطح گلبولین خون ماهی‌های تحت تیمار غلظت ۱ درصد از عصاره‌ی پونه در روز ۴۵ از آزمایش به‌طور معنی‌داری کاهش یافت ($P<۰/۰۵$). این در حالی است که سطح گلبولین خون ماهی‌های تحت تیمار غلظت‌های ۰/۱ و ۰/۵ درصد تغییر معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل در طول دوره آزمایش نداشته است (جدول ۳).

اگرچه، تغییر معنی‌داری ($P>۰/۰۵$) در سطح کلسترول خون ماهی‌های تحت تیمار غلظت‌های مختلف عصاره‌ی پونه در روز ۱۵ آزمایش مشاهده نگردید؛ اما سطح کلسترول در خون ماهی‌هایی که با جیره‌ی غنی‌شده با غلظت ۱٪ عصاره پونه تغذیه شدند در روز ۳۰ و ۴۵ آزمایش به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ($P<۰/۰۵$). سطح کلسترول در خون ماهی‌های تحت تیمار غلظت ۰/۱ درصد عصاره پونه در روز ۳۰ آزمایش، به‌طور معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل بود ($P<۰/۰۵$).

سطح کراتینین خون ماهی‌های تحت تیمار غلظت ۱ درصد عصاره‌ی پونه در روز ۳۰ آزمایش به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (جدول ۳).

در روز ۱۵ آزمایش، تغییر معنی‌داری ($P>۰/۰۵$) در سطح فعالیت آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز در خون ماهی‌های تحت تیمار غلظت‌های مختلف عصاره‌ی پونه مشاهده نگردید؛ اما سطح فعالیت آنزیم AST در روزهای ۳۰ و ۴۵ آزمایش در خون ماهی‌های تحت تیمار غلظت‌های ۰/۵ و ۱ درصد عصاره‌ی پونه به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ($P<۰/۰۵$).

در روزهای ۱۵ و ۳۰ آزمایش، تغییر معنی‌داری ($P>۰/۰۵$) در سطح فعالیت آنزیم آلانین آمینوترانسفراز در خون ماهی‌های تحت تیمار غلظت‌های مختلف عصاره‌ی پونه مشاهده نگردید؛ اما سطح فعالیت آنزیم ALT در روز ۴۵ آزمایش در خون ماهی‌های تحت تیمار غلظت‌های ۰/۵ و ۱ درصد عصاره‌ی پونه به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ($P<۰/۰۵$).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۳: تغییرات سطوح فاکتورهای بیوشیمیایی خون ماهی‌های تحت تیمار غلظت‌های مختلف عصاره‌ی پونه

فاکتورهای بیوشیمیایی خون	نسبت‌های مختلف عصاره پونه (گرم)	روزهای نمونه‌برداری ۱۵	۳۰	۴۵
	کنترل (صفر)	۸۸/۸۰±۱۰/۵۶^{a}	۸۵/۱۴±۱۳/۸۴^{a}	۵۵/۷۰±۹/۳۱^{a}
گلوکز	۱	۷۷/۷۳±۱۳/۷۷^{a}	۸۱/۳۲±۸/۷۶^{a}	۶۶/۷۱±۵/۵۵^{a}
(میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	۵	۸۲/۹۸±۷/۴۶^{a}	۸۲/۵۸±۱۱/۵۱^{a}	۸۶/۷۲±۹/۷۷^{b}
	۱۰	۸۸/۷۵±۸/۴۱^{a}	۹۹/۸۶±۱۱/۲۵^{a}	۹۵/۵۴±۷/۷۶^{b}
	کنترل (صفر)	۳/۶۰±۰/۵۴^{a}	۳/۳۱±۰/۱۷^{a}	۳/۸۳±۰/۲۸^{a}
پروتئین تام	۱	۳/۳۴±۰/۱۱^{a}	۲/۸۵±۰/۲۹^{a}	۴/۱۵±۰/۴۱^{a}
(گرم بر دسی‌لیتر)	۵	۳/۴۸±۰/۳۴^{a}	۳/۳۷±۰/۳۴^{a}	۳/۶۹±۰/۴۴^{a}
	۱۰	۳/۱۳±۰/۲۲^{a}	۳/۳۴±۰/۴۹^{a}	۳/۸۹±۰/۳۷^{a}
	کنترل (صفر)	۲/۱۷±۰/۱۹^{b}	۲/۰۳±۰/۱۲^{bc}	۱/۸۷±۰/۳۳^{a}
آلبومین	۱	۱/۷۶±۰/۱۳^{a}	۱/۶۳±۰/۰۸^{a}	۱/۷۵±۰/۲۳^{a}
(گرم بر دسی‌لیتر)	۵	۱/۹۱±۰/۲۰^{ab}	۱/۹۶±۰/۰۶^{b}	۲/۳۸±۰/۱۷^{b}
	۱۰	۱/۹۱±۰/۱۸^{ab}	۲/۲۸±۰/۳۴^{c}	۲/۹۰±۰/۲۵^{c}
	کنترل (صفر)	۱/۴۳±۰/۳۸^{a}	۱/۲۸±۰/۲۲^{a}	۱/۹۵±۰/۵۸^{bc}
گلبولین	۱	۱/۵۸±۰/۰۷^{a}	۱/۲۲±۰/۲۶^{a}	۲/۴۱±۰/۲۶^{c}
(گرم بر دسی‌لیتر)	۵	۱/۵۷±۰/۴۸^{a}	۱/۴۲±۰/۳۵^{a}	۱/۳۱±۰/۵۸^{ab}
	۱۰	۱/۲۲±۰/۲۹^{a}	۱/۰۶±۰/۳۰^{a}	۱/۰۰±۰/۳۹^{a}
	کنترل (صفر)	۱۲۰/۰۲±۲۰/۳۱^{a}	۱۱۱/۵۴±۷/۴۸^{a}	۱۲۸/۷۳±۲۵/۲۷^{a}
کلسترول	۱	۱۱۶/۸۶±۱۵/۶۹^{a}	۱۳۷/۱۹±۲۱/۷۵^{b}	۱۳۶/۳۱±۱۲/۲۱^{ab}
(میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	۵	۱۲۰/۵۹±۱۸/۶۱^{a}	۱۲۴/۲۲±۲۲/۰۵^{ab}	۱۳۷/۹۱±۱۷/۳۳^{ab}
	۱۰	۱۱۰/۰۷±۱۳/۸۱^{a}	۱۳۹/۲۹±۲۰/۳۰^{b}	۱۵۱/۵۳±۳۴/۴۶^{b}
	کنترل (صفر)	۲۱۰/۳۱±۳۰/۲۹^{a}	۱۹۵/۳۵±۴۹/۲۴^{a}	۲۲۹/۷۴±۱۰/۵۵^{b}
تری‌گلیسرید	۱	۱۷۵/۳۰±۱۴/۹۲^{a}	۲۰۴/۲۸±۱۴/۴۵^{a}	۱۸۴/۵۰±۳۹/۶۲^{a}
(میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	۵	۲۰۷/۱۲±۱۳/۶۳^{a}	۲۳۶/۲۸±۲۹/۷۵^{ab}	۲۱۵/۷۴±۱۸/۳۲^{ab}
	۱۰	۲۰۰/۱۴±۲۵/۶۵^{a}	۲۵۵/۷۵±۱۵/۴۰^{b}	۲۴۷/۱۰±۲۳/۶۳^{b}
	کنترل (صفر)	۱/۰۶±۰/۲۴^{a}	۰/۷۳±۰/۰۷^{a}	۰/۹۴±۰/۰۷^{a}
کراتینین	۱	۱/۰۷±۰/۲۳^{a}	۱/۰۰±۰/۲۴^{ab}	۱/۰۴±۰/۱۲^{a}
(میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	۵	۱/۱۱±۰/۱۹^{a}	۱/۲۰±۰/۱۹^{bc}	۰/۹۸±۰/۰۸^{a}
	۱۰	۱/۱۰±۰/۲۴^{a}	۱/۳۸±۰/۱۶^{c}	۱/۰۳±۰/۱۱^{a}

داده‌ها به‌صورت mean±S.D. در جداول ارائه‌شده است. اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای مختلف نیز با حروف الفبای انگلیسی مشخص‌شده است.

www.SID.ir

Archive of SID

در روز ۱۵ آزمایش، تغییر معنی‌داری ($P>۰/۰۵$) در سطح فعالیت آنزیم لاکتات دهیدروژناز در خون ماهی‌های تحت تیمار غلظت‌های مختلف عصاره‌ی پونه مشاهده نگردید؛ اما افزایش معنی‌داری در سطح فعالیت آنزیم LDH در خون ماهی‌های تحت تیمار غلظت‌های ۰/۵ درصد عصاره‌ی پونه در روز ۳۰ آزمایش مشاهده گردید. همچنین، سطح فعالیت آنزیم LDH در روزهای ۳۰ و ۴۵ آزمایش در خون ماهی‌های تحت تیمار غلظت‌های ۱ درصد عصاره‌ی پونه به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ($P<۰/۰۵$).

جدول ۴: تغییرات سطوح فعالیت آنزیم‌های پلاسمای ماهی‌های تحت تیمار غلظت‌های مختلف عصاره‌ی پونه

آنزیم‌های پلاسما	نسبت‌های مختلف عصاره پونه (گرم)	روزهای نمونه‌برداری ۱۵	۳۰	۴۵
	کنترل (صفر)	۸۵/۰۸±۱۱/۱۷^{a}	۶۲/۸۵±۱۷/۶۳^{a}	۷۷/۰۵±۲۱/۰۷^{a}
آسپارتات آمینوترانسفراز	۱	۷۹/۳۸±۵/۱۲^{a}	۷۸/۸۶±۱۳/۸۲^{a}	۷۲/۹۳±۵/۷۴^{a}
(واحد بین‌المللی بر لیتر)	۵	۸۶/۵۱±۸/۵۲^{a}	۱۰۸/۵۰±۱۲/۲۶^{b}	۱۱۳/۵۰±۱۳/۲۰^{b}
	۱۰	۹۰/۷۲±۹/۷۴^{a}	۱۱۰/۷۶±۱۵/۳۳^{b}	۱۲۸/۳۷±۱۷/۰۲^{b}
آلانین آمینوترانسفراز	کنترل (صفر)	۱۰/۵۶±۲/۱۴^{a}	۱۰/۹۵±۲/۶۱^{a}	۱۰/۲۱±۱/۰۳^{a}
(واحد بین‌المللی بر لیتر)	۱	۱۰/۰۳±۱/۶۵^{a}	۹/۸۷±۱/۵۸^{a}	۹/۷۹±۱/۴۳^{a}
	۵	۱۰/۵۲±۱/۶۹^{a}	۱۱/۸۰±۱/۶۴^{a}	۱۸/۵۳±۱/۵۸^{b}
	۱۰	۱۱/۱۵±۲/۱۴^{a}	۱۲/۴۹±۲/۳۰^{a}	۲۱/۱۹±۱/۹۶^{b}
آلکالین‌فسفاتاز	کنترل (صفر)	۶۵/۶۳±۱۲/۸۴^{b}	۹۱/۶۶±۱۲/۸۵^{a}	۸۰/۱۴±۱۱/۸۷^{ab}
(واحد بین‌المللی بر لیتر)	۱	۴۵/۱۱±۶/۰۰^{a}	۱۰۷/۵۷±۱۴/۷۰^{ab}	۷۸/۰۲±۱۵/۴۸^{ab}
	۵	۴۵/۷۲±۴/۳۳^{a}	۱۳۵/۰۱±۲۹/۳۱^{b}	۶۴/۱۱±۸/۴۸^{a}
	۱۰	۵۰/۳۶±۴/۴۰^{a}	۱۲۵/۴۸±۱۹/۴۸^{b}	۹۲/۴۱±۹/۸۵^{b}
لاکتات دهیدروژناز	کنترل (صفر)	۲۱۹/۷۵±۳۵/۷۲^{a}	۲۳۵/۸۰±۲۴/۰۹^{a}	۲۶۱/۷۸±۲۵/۳۷^{a}
(واحد بین‌المللی بر لیتر)	۱	۲۴۶/۴۶±۳۳/۱۹^{a}	۳۰۴/۷۹±۵۰/۹۹^{ab}	۲۴۲/۳۴±۲۷/۳۱^{a}
	۵	۲۴۴/۳۸±۲۰/۹۵^{a}	۳۲۵/۲۳±۶۰/۳۴^{b}	۴۲۱/۷۰±۳۲/۳۹^{b}
	۱۰	۲۳۶/۶۶±۳۳/۷۷^{a}	۳۱۰/۸۲±۴۵/۰۴^{ab}	۳۹۸/۰۲±۵۱/۶۶^{b}
کراتین‌فسفوکیناز	کنترل (صفر)	۸۱۰/۷۱±۱۰۸/۴۵^{a}	۸۴۵/۶۵±۱۲۳/۵۴^{ab}	۱۱۴۱/۷۷±۱۶۵/۳۶^{a}
(واحد بین‌المللی بر لیتر)	۱	۱۲۰۲/۶۹±۱۶۱/۹۳^{b}	۷۹۷/۴۱±۷۴/۱۵^{a}	۹۹۴/۰۴±۱۶۷/۴۳^{a}
	۵	۱۰۱۴/۹۱±۲۸۷/۴۶^{ab}	۱۰۲۵/۴۷±۱۸۴/۳۳^{b}	۱۱۵۷/۱۲±۱۷۲/۸۶^{a}
	۱۰	۹۲۵/۰۵±۱۴۰/۱۷^{a}	۷۳۶/۴۲±۷۷/۴۷^{a}	۱۰۶۸/۰۰±۱۶۴/۴۸^{a}

داده‌ها به‌صورت mean±S.D. در جداول ارائه‌شده است. اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای مختلف نیز با حروف الفبای انگلیسی مشخص‌شده است.

www.SID.ir

Archive of SID

سطح فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز در روز ۱۵ آزمایش به‌طور معنی‌داری در خون ماهی‌های تحت تیمار غلظت‌های مختلف عصاره‌ی پونه کاهش یافت؛ اما سطح فعالیت آنزیم ALP در روز ۳۰ آزمایش در خون ماهی‌های تحت تیمار غلظت‌های ۰/۵ درصد عصاره‌ی پونه و در روز ۴۵ آزمایش در خون ماهی‌های تحت تیمار غلظت‌های ۰/۵ و ۱ درصد عصاره‌ی پونه به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ($P<۰/۰۵$).

سطح فعالیت آنزیم کراتین فسفوکیناز در روز ۱۵ آزمایش به‌طور معنی‌داری در خون ماهی‌های تحت تیمار غلظت ۰/۱ درصد عصاره‌ی پونه افزایش یافت؛ اما تغییر معنی‌داری در سطح فعالیت آنزیم CPK در دیگر نمونه‌ها مشاهده نگردید (جدول ۴).

بحث

استفاده از ترکیبات جدید به‌عنوان دارو در جیره‌ی غذایی ماهی‌ها مستلزم تحقیقات و پژوهش‌های بسیاری بر روی تأثیر این ترکیبات بر وضعیت فیزیولوژیک و سلامت جانوران است. لذا، در این آزمایش پس از بررسی تغییر فاکتورهای بیوشیمیایی تأثیرات سم‌شناسی و فارماکولوژی عصاره گیاه پونه موردبررسی قرار گرفت. در طول دوره‌ی آزمایش، مرگ‌ومیر در هیچ‌یک از گروه‌های تحت تیمار و نیز گروه کنترل دیده نشد.

تغذیه ماهی‌ها با جیره‌ی غنی‌شده با ۰/۱ درصد عصاره پونه سبب بهبود فاکتورهای رشد در ماهی‌ها گردید. درحالی‌که وزن نهایی ماهی‌های تحت تیمار ۰/۵ درصد از عصاره‌ی پونه در روز ۴۵ آزمایش کاهش معنی‌داری یافت. کاهش نرخ رشد ویژه و وزن به‌دست‌آمده در ماهی‌های تحت تیمار ۰/۵ و ۱ درصد از عصاره‌ی پونه در روزهای ۳۰ و ۴۵ آزمایش از دیگر تأثیرات عصاره پونه بر فاکتورهای رشد ماهی‌های کپور است. اگرچه وجود ترکیبات محرک رشد و فلاونوئیدها در بسیاری از گیاهان می‌تواند بر روی اشتها و رفتار تغذیه ماهی‌ها تأثیر بسزایی داشته باشد. اما وجود برخی ترکیبات و اسیدهای چرب سمی موجود در عصاره‌ی پونه سبب کاهش نرخ رشد در ماهی‌ها، شده است. به‌عبارتی‌دیگر ماهی‌ها، انرژی دریافتی از مواد غذایی را به‌جای آن‌که صرف رشد کنند، صرف برقرار هموستازی و مقابله با تأثیرات سمی ترکیبات موجود در عصاره پونه کرده‌اند.

افزایش ضریب تبدیل غذایی در ماهی‌های تحت تیمار ۱ درصد عصاره‌ی پونه نشان‌دهنده‌ی تأثیر تجویز عصاره پونه در کاهش کارایی بهره‌وری ماهی‌ها از مواد غذایی است. کاهش کارایی سیستم گوارشی و افزایش نیاز ماهی‌ها به انرژی بیشتر جهت مقابله با اثر مسمومیت با ترکیبات موجود در عصاره‌ی پونه سبب شده تا ضریب تبدیل غذایی در این ماهی‌ها افزایش یابد. اگرچه استفاده از عصاره‌ی پونه در جیره تأثیر معنی‌داری بر روی شاخص چاقی نداشته است؛ اما عصاره‌ی این گیاه تأثیری منفی بر دیگر شاخص‌های رشد ماهی‌ها داشته است.

تغییرات غلظت گلوکز در بسیاری از موارد با آسیب‌های وارده به کلیه ماهی‌ها و اختلالات کبدی مرتبط است (Banaee *et al*., 2011). افزایش سطح گلوکز خون ماهی‌هایی که با جیره‌ی غذای غنی‌شده با ۰/۵ و ۱ درصد عصاره‌ی پونه به مدت ۴۵ روز تغذیه‌شده‌اند حاکی از مسمومیت دارویی یا غذایی این ماهی‌ها است. این افزایش را می‌توان به مسمومیت با پولگون و منتوفوران موجود در عصاره پونه و نکروز

www.SID.ir

Archive of SID

بافت هپاتوپانکراس ماهی‌ها نسبت داد. با افزایش غلظت و دوره زمانی تجویز، تأثیر دیگر مواد موجود در عصاره پونه نظیر منتول، ۸،۱- سینول، پنین، پیپریدین و پیپریدین اکسید ممکن است سبب افزایش انرژی‌خواهی سلولی جهت مقابله با اثرات سمیت سلولی ناشی از تجویز غلظت بیش‌ازحد دارو گردد. لذا افزایش سطح گلوکز خون در چنین شرایطی طبیعی به نظر می‌رسد. افزایش سطح گلوکز خون یا هیپرگلیسمی همچنین نشان‌دهنده‌ی بروز اختلال درروند متابولیسم کربوهیدرات‌ها است که معمولاً ناشی از افزایش تجزیه گلیکوژن کبدی است. به‌عبارتی‌دیگر کاهش ذخایر گلیکوژن کبدی و افزایش گلوکز خون یکی از معمولی‌ترین واکنش‌های ماهی‌ها در مسمومیت است (Banaee *et al*., 2011). درواقع در چنین شرایطی، گلوکز ۶- فسفات حاصل از تجزیه‌ی گلیکوژن کبدی، به‌وسیله‌ی گلوکز ۶-فسفاتاز هیدرولیز شده و گلوکز حاصل به داخل خون آزاد می‌گردد. کاهش فعالیت آنزیم G6PDH در کبد و نیز گلوکز خون در موش‌های تحت تیمار پولگون و منتوفوران مشاهده‌شده است (Madyastha and Raj, 1994; Vadiraja *et al*., 1998). مشابه این وضعیت در ماهی‌های قزل‌آلای رنگین‌کمانی که با غلظت ۸۰۰ میلی‌گرم سیلی‌مارین تغذیه شدند نیز مشاهده‌شده است (Banaee *et al*., 2011). این در حالی است که تجویز عصاره‌ی بومادران به‌صورت خوراکی به ماهی‌های قزل‌آلای رنگین‌کمان تأثیری بر روی سطح گلوکز خون ماهی‌ها نداشته است (Nafisi Bahabadi *et al*., 2014). کاهش سطح گلوکز خون ماهی‌های قزل‌آلای رنگین‌کمان *Oncorhynchus mykiss*، تحت تیمار غلظت‌های پایین‌تر از ۴۰۰ میلی‌گرم عصاره سیلی‌مارین (*Silybum marianum* L.) (Banaee *et al*., 2011) و نیز گربه‌ماهی‌های *Clarias lazera*، تحت تیمار عصاره پیاز (*Allium cepa*) و سیر (*Allium sativum*) (Al-Salahy, 2002) قرارگرفته‌اند نیز گزارش‌شده است.

سلول‌های پارانشیم بافت کبد مسئول سنتز پروتئین‌های پلاسما است که شامل آلبومین‌ها، فیبرینوژن، فاکتورهای انعقادی و گلوبولین‌ها می‌شود. سطح پروتئین تام پلاسما نیز متأثر از ذخیره پروتئینی بافت‌ها، به‌ویژه بافت کبد است. نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که تجویز خوراکی عصاره پونه تأثیری بر سطح پروتئین تام خون ماهی‌های نداشته است. درحالی‌که تجویز عصاره آبی الکلی پونه به موش‌های آزمایشی سبب کاهش معنی‌دار پروتئین کل و آلبومین گردید (مختاری و همکاران، ۱۳۸۷). پولگون و منتوفوران با باند شدن به ماکرومولکول‌ها به‌ویژه پروتئین‌ها در بافت کبد، شش و کبد سبب ایجاد سمیت سلولی می‌گردد. لذا شدت مسمومیت ایجادشده به میزان دسترسی زیستی سلول‌ها به پولگون و منتوفوران و نیز باند شدن آنها به پروتئین‌های سلولی بستگی دارد (National Toxicology Program, 2011). ازآنجایی‌که آلبومین در انتقال داروها در گردش خون جانوران نقش دارند، لذا افزایش سطح آلبومین در خون ماهی‌های تحت تیمار غلظت ۱ درصد عصاره‌ی پونه در روزهای ۳۰ و ۴۵ آزمایش، می‌تواند روند توزیع ترکیبات مؤثر پونه را در خون افزایش دهد. لذا افزایش آلبومین ممکن است سبب افزایش سطح دسترسی زیستی پولگون و منتوفوران برای بافت‌های مختلف گردد. افزایش نسبی سطح آلبومین در ماهی‌های تحت تیمار مکمل دارویی سیلی‌مارین (Banaee *et al*., 2011)، عصاره بومادران

www.SID.ir

Archive of SID

(Nafisi Bahabadi *et al*., 2014) و گل ختمی (بنایی و همکاران، ۱۳۹۳) نیز گزارش‌شده است.

گلوبولین‌ها، دومین گروه از پروتئین‌های تام پلاسمایی می‌باشند که شامل سه دسته آلفا گلبولین، بتا گلبولین و گاما گلبولین می‌شود. آلفا و بتا گلبولین به‌عنوان پروتئین‌های حامل عمل می‌کنند و گاما گلبولین نقش بسزایی در فعالیت‌های ایمنولوژیکی جانوران ایفا می‌کنند. کاهش سطح گلبولین خون ماهی‌های تحت تیمار غلظت ۱ درصد از عصاره‌ی پونه در روز ۴۵ از آزمایش ممکن است نشان‌دهنده کاهش سطح گلبولین‌های حامل و یا گاما گلبولین‌های فعال در سیستم ایمنی ماهی باشد. این در حالی است که تجویز برخی از ترکیبات گیاهی نظیر بومادران (Nafisi Bahabadi *et al*., 2014) و عصاره سیلی‌مارین (Banaee *et al*., 2011) به ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان سبب افزایش نسبی سطح گلبولین و تقویت سیستم ایمنی آنها گردید. نتیجه مطالعات Al-Salahy (۲۰۰۲) نشان می‌دهد که تغذیه گربه‌ماهی با جیره‌ی غذایی غنی‌شده با عصاره پیاز و سیر، تغییر معنی‌داری در سطح آلبومین و پروتئین تام ایجاد نکرد.

افزایش سطح کلسترول در خون ماهی‌هایی که با جیره‌ی غنی‌شده با غلظت ۱ و ۰/۱ درصد عصاره پونه تغذیه شدند در روز ۳۰ و ۴۵ آزمایش ممکن است نشان‌دهنده‌ی بروز سمیت سلولی، پراکسیداسیون لیپیدی و اختلالات کبدی در ماهی‌ها در اثر مسمومیت با پولگون موجود در عصاره پونه باشد. انسداد مجاری صفراوی، مسمومیت کبدی، اختلال در عملکرد پانکراس و حتی افزایش گلوکز خون، تخریب ساختار غشاهای زیستی ازجمله غشای سلول‌های عصبی می‌تواند عامل افزایش کلسترول پلاسما باشد (Banaee *et al*., 2011). در شرایطی که ماهی‌ها تحت استرس ناشی از مسمومیت غذایی با ترکیبات ضد تغذیه‌ای موجود در عصاره‌ی پونه قرارگرفته‌اند، افزایش گلوکز خون و اختلال در عملکرد پانکراس، می‌تواند موجب افزایش اکسیداسیون گلوکز در بافت‌ها و به تبعیت آن افزایش سطح کلسترول گردد. گلوکز در مسیر گلیکولیز به پیرووات تبدیل می‌شود و پیرووات نیز در بافت‌های هوازی به استیل CoA متابولیزه می‌شود که می‌تواند به‌عنوان پیش ساز اسیدهای چرب و کلسترول در چرخه‌ی اسیدسیتریک عمل نماید (Murray *et al*., 2003).

افزایش سطح تری‌گلیسرید خون ماهی‌های تحت تیمار غلظت ۱ درصد عصاره‌ی پونه در روز ۳۰ آزمایش نیز می‌تواند نشان‌دهنده‌ی مسمومیت ماهی‌ها باشد. این در حالی است که ممکن است عصاره‌ی برخی از گیاهان، از طریق افزایش سطح فعالیت آنزیم ۷ آلفا کلسترول‌هیدروکسیلاز در سلول‌های کبدی موجب افزایش دفع میزان کلسترول و کاهش سنتز کلسترول سلولی شوند. کاهش سطح کلسترول و تری‌گلیسرید در خون ماهی‌های قزل‌آلای رنگین‌کمان و گربه‌ماهی که به ترتیب تحت تیمار عصاره سیلی‌مارین (Banaee *et al*., 2011)، بومادران (Nafisi Bahabadi *et al*., 2014) و عصاره پیاز و سیر (Al-Salahy, 2002) ازجمله‌ی این موارد است.

کراتینین یک محصول کاتابولیک کراتین‌فسفات عضلانی است، که در انقباض عضلات اسکلتی مورد استفاده قرار می‌گیرد. کراتینین در نتیجه دهیدراسیون غیرآنزیمی و غیرقابل برگشت در ماهیچه‌ها و همچنین در پی حذف فسفات از کراتین‌فسفات تولید می‌شود و پس از آزاد شدن به داخل مایع خارج سلولی، از طریق

www.SID.ir

Archive of SID

کلیه‌ها دفع می‌گردد (Murray *et al*., 2003). افزایش سطح کراتینین خون ماهی‌های تحت تیمار غلظت ۱ درصد عصاره‌ی پونه در روز ۳۰ آزمایش ممکن است ناشی از افزایش فرایند تجزیه فسفوریل‌کراتین حاصل از فسفوریله شدن کراتین، در خون و یا اختلال در فرایند دفع کلیوی کراتینین در این ماهی‌ها باشد. اختلال در فعالیت فیلتراسیون گلومرولی و افزایش سطح کراتینین در خون ماهی‌های تحت تیمار دارویی ۸۰۰ میلی‌گرم سیلی‌مارین، نیز به‌وسیله‌ی Banaee و همکاران (۲۰۱۱) گزارش گردید.

نقش سیتوکروم P450 در سم‌زدایی و متابولیسم پولگون بسیار حائز اهمیت است. اکسیداسیون پولگون به ۹- هیدروکسی پولگون و سپس به منتوفوران و نیز تولید ۸- پولگون الدهید سبب افزایش رادیکال‌های آزاد شده و شرایط را برای پراکسیداسیون لیپیدی غشای سلولی مهیا می‌کند (National Toxicology Program, 2011; Kamatou *et al*., 2013). از این‌رو در اثر آسیب به غشای سلولی ممکن است آنزیم‌های آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) و آلانین آمینوترانسفراز (ALT) که در داخل میتوکندری سلول‌ها در بافت‌های مختلفی نظیر کبد، قلب، ماهیچه‌های اسکلتی، کلیه، پانکراس، طحال، گلبول‌های قرمز و آبشش ماهی‌ها یافت می‌شود به داخل خون آزاد شوند و سطح فعالیت آنها در خون افزایش یابد (Banaee *et al*., 2011). از این‌رو افزایش سطح فعالیت آنزیم AST و ALT در خون ماهی‌های تحت تیمار غلظت‌های ۰/۵ و ۱ درصد عصاره‌ی پونه در روزهای ۳۰ و ۴۵ آزمایش، ممکن است نشان از بروز مسمومیت سلولی با ترکیبات فیتوشیمیایی موجود در عصاره پونه از جمله پولگون، ایزوپولگون، پیپریتنون و منتوفوران و نیز آسیب وارده به غشای سلولی در اثر استرس اکسیداتیو باشد. ازآنجایی‌که این آنزیم‌ها نقش مهمی در مراحل نهایی تجزیه پروتئین جهت تولید ATP دارند؛ افزایش فعالیت آنها، نقش مؤثری در استفاده از اسیدهای آمینه در فرایند اکسیداسیون یا گلوکوژنز بازی می‌کند (Banaee *et al*., 2011) و شاخص بالینی مناسبی جهت تشخیص آسیب‌های وارد به کبد محسوب می‌شود. تغذیه ماهی تیلاپیا با مخلوط از ترکیبات گیاهی سبب افزایش AST و ALT در خون گردید که این امر به اختلال در عملکرد کبد ناشی از وجود مواد ضد تغذیه‌ای در ترکیبات گیاهی داده‌شده است (Soltan *et al*., 2008). افزایش فعالیت آنزیم‌های آمینوترانسفراز در خون موش‌های تحت تیمار پولگون و منتوفوران، در اثر آسیب وارده به غشای سلول‌های کبدی نیز مؤید این امر است (Madyastha and Raj, 1994; Nelson *et al*., 1992; Vadiraja *et al*., 1998). آسیب‌های هیستوپاتولوژیک وارده به کبد موش‌های تحت تیمار پولگون نشان‌دهنده سمیت این ماده است (Thorup *et al*., 1983). تجویز اسانس *Mentha pulegium* (حاوی ۶۲-۹۷ درصد پولگون) می‌تواند سبب مسمومیت شدید توأم با نکروز بافت کبد، ادم شش‌ها و خونریزی داخلی و در نهایت منجر به مرگ در موش‌های آزمایشی گردید (Anderson *et al*., 1996). این در حالی است که تجویز عصاره آبی الکلی پونه سبب کاهش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های آسپارتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز در موش‌های آزمایشی گردید (مختاری و همکاران، ۱۳۸۷).

کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سلولی، افزایش رادیکال‌های آزاد در طی متابولیسم پولگون، منتوفوران، ایزوپولگون و پیپریتنون سبب بروز استرس اکسیداتیو و

www.SID.ir

Archive of SID

تخریب غشای سلولی (National Toxicology Program, 2011) و نیز آزاد شدن آنزیم LDH به داخل خون خواهد شد. لذا افزایش معنی‌داری در سطح فعالیت آنزیم LDH در خون ماهی‌های تحت تیمار غلظت‌های ۰/۵ و ۱ درصد عصاره‌ی پونه نیز ممکن است نشان‌دهنده‌ی بروز تغییرات متابولیکی ناشی از مسمومیت با ترکیبات فیتوشیمیایی موجود در عصاره پونه باشد. به‌عبارتی‌دیگر در شرایطی که ماهی‌ها در معرض یک عامل استرس‌زا قرار می‌گیرند، روند کاتابولیسم گلیکوژن و گلوکز به سمت تشکیل لاکتات در عضلات ماهی‌های تحت استرس پیش می‌رود (Murray *et al*., 2003) و این امر افزایش سطح LDH را در پی دارد.

آلکالین‌فسفاتاز (ALP)، آنزیمی است که در اپیتلیوم مجاری صفراوی، سلول‌های کبدی و نیز در مخاط روده و کلیه‌ها یافت می‌شود. در کبد این آنزیم در سلول‌های کوپفر موجود است. این سلول‌ها سیستم جمع‌آوری صفراوی را می‌پوشانند. لذا سطح این آنزیم در انسداد مجاری صفراوی داخل و خارج کبدی، سیروزی و اختلالات کبدی به‌شدت افزایش می‌یابد (Banaee *et al*., 2011). افزایش معنی‌داری در سطح فعالیت آنزیم ALP در خون ماهی‌های تحت تیمار غلظت‌های ۰/۵ و ۱ درصد عصاره‌ی پونه نیز ممکن است نشان‌دهنده‌ی بروز سمیت سلولی است؛ که این امر ممکن است آزاد شدن آنزیم آلکالین‌فسفاتاز از سلول‌های آسیب‌دیده و در نتیجه افزایش سطح این آنزیم در خون شده باشد. افزایش ALP در خون ماهی-های قزل‌آلای رنگین‌کمان تحت تیمار ۰/۵ درصد عصاره گل ختمی مشاهده‌شده است (بنایی و همکاران، ۱۳۹۳). در مقابل، مختاری و همکاران (۱۳۸۷) گزارش کردند که کاهش فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز در موش‌های تحت تیمار عصاره آبی الکلی پونه می‌تواند حاکی از تأثیر سمی عصاره این گیاه بر اپیتلیوم مجاری صفراوی و ایجاد کلستاز و یا حتی اختلال در روند استخوان‌سازی باشد.

کراتین فسفوکیناز (CK) آنزیمی است که در ماهیچه‌های اسکلتی، قلب، آبشش‌ها و مغز ماهی‌ها یافت می‌شود (Banaee *et al*., 2011). افزایش سطح فعالیت آنزیم کراتین فسفوکیناز در خون ماهی‌های تحت تیمار غلظت ۰/۱ درصد عصاره‌ی پونه در روز ۱۵ آزمایش نشان‌دهنده‌ی بروز مسمومیت سلولی در ماهی‌ها و افزایش انرژی‌خواهی سلولی است؛ زیرا این آنزیم نقش مهمی در فسفوریلاسیون کراتین و سنتز کراتین‌فسفات و سنتز مجدد مولکول پرانرژی ATP از ADP دارد (Dorucu *et al*., 2009).

کاهش گلوتاتیون سلولی و بروز استرس اکسیداتیو، نکروز بافت کبد و نیز آسیب شدید وارده به سیستم تنفسی از مهم‌ترین مکانیسم‌های مسمومیت با پولگون، ایزوپولگون، پیپریتنون و منتوفوران است (National Toxicology Program, 2011). لذا در مواردی تجویز پونه ممکن است سبب تغییر سطح فاکتورهای بیوشیمیایی خون جانوران آزمایشی گردد؛ اما با توجه به وجود انواع فلاونوئیدها و آنتی‌اکسیدان‌ها در عصاره‌ی گیاه پونه، استفاده از غلظت‌های پایین عصاره‌ی پونه نه‌تنها سبب ایجاد مسمومیت سلولی نمی‌شود، بلکه حتی می‌تواند از تشکیل رادیکال‌های آزاد جلوگیری کند و آنها را خنثی نماید (Khan *et al*., 2011). ازاین‌رو با در نظر گرفتن تأثیر عصاره هیدرو الکلی پونه بر فاکتورهای بیوشیمیایی و شاخص-های رشد ماهی کپور معمولی می‌توان چنین اذعان کرد

www.SID.ir

Archive of SID

که عصاره این گیاه دارویی در غلظت‌های ۰/۵ و ۱ درصد برای ماهی‌ها سمی بوده و می‌تواند موجب بروز مسمومیت در ماهی‌ها شود.

سپاسگزاری

این مقاله حاصل طرح پژوهشی با کد ۹۲۰۸ بوده و با حمایت مدیریت محترم پژوهشی دانشگاه صنعتی خاتم‌الانبیاء (ص) بهبهان انجام‌شده است. بدین‌وسیله نویسندگان این مقاله مراتب قدردانی و سپاس خود را از مسئولین ذی‌ربط اعلام می‌دارند.

منابع

۱. بنایی، م.، نعمت‌دوست حقی، ب.، سلیمانی و.، فلاح‌پور، ف.، محیسنی، م.، ۱۳۹۳. ارزیابی پیش‌بالینی تجویز خوراکی نسبت‌های مختلف عصاره گل ختمی (*Althaea officinalis* L.) بر فاکتورهای بیوشیمیایی خون ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). مجله بوم‌شناسی آبزیان، ۴(۳)، ۲۶-۲۰.

۲. رضایی، م.ب.، رسولی، ا.، ۱۳۷۹. فعالیت بیولوژیکی و ترکیبات شیمیایی اسانس آویشن (*Thymus x-porlock*) و پونه (*Mentha longifolia*). مجله دانشور پزشکی، ۸(۳۱)، ۸-۱.

۳. شریعتی، م.، اسفندیاری، آ.، مدرسی، م.، رحمانی، ز.، ۱۳۹۰. اثر ضد باروری عصاره آب الکلی برگ گیاه پونه در موش‌های صحرایی نر بالغ. فصلنامه دانشگاه علوم پزشکی سبزوار (اسرار)، ۱۹(۶۳)، ۴۱-۳۴.

۴. محمودی، ر.، تاجیک، ح.، فرشید، ا.ع.، احسانی، ع.، زارع، پ.، مرادی، م.، ۱۳۹۰. تعیین ترکیبات شیمیایی و اثرات ضدمیکروبی اسانس پونه کوهی علیه باکتری استافیلوکوکوس اورئوس. مجله ارمغان دانش، ۱۶(۶۵)، ۴۱۲-۴۰۰.

۵. مختاری، م.، شریعتی، م.، خداپرست، ل.، ۱۳۸۷. بررسی اثرات عصاره آبی –الکلی برگ گیاه پونه بر روی فاکتورهای عملکردی کبد در موش صحرایی نر. فصلنامه دانشگاه علوم پزشکی سبزوار (اسرار)، ۱۵(۴۸)، ۸۱-۷۳.

۶. نوبخت، ع.، رحیم‌زاده، م.ر.، صفامهر، ع.ر.، ۱۳۹۲. بررسی اثر سطوح مختلف مخلوط گیاهان دارویی گزنه، پونه و کاکوتی بر عملکرد، کیفیت لاشه و پارامترهای بیوشیمیایی و سلول‌های سفید خون جوجه‌های گوشتی. فصلنامه علمی پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۲۹(۱)، ۲۲۴-۲۱۵.

۷. نوری‌زاده، ع.، میرزا پور، ط.، قاسمی، ک.ا.، رضوی، س.م.، لطیفی‌نوید، س.، ۱۳۸۳. بررسی آثار ضدباکتریایی عصاره‌های نعناع، شیرین‌بیان، پونه، بابونه و آویشن بر هلیکوباکتر پیلوری. مجله دانشور پزشکی، ۱۱(۵۲)، ۷۲-۶۷.

8. Ahmad, N., Fazal, H., Ahmad, I., Haider Abbasi, B., 2012a. Free radical scavenging (DPPH) potential in nine *Mentha* species. Toxicolology and Industrial Health, 28(1), 83-89.
9. Ahmadi, K., Banaee, M., Vosoghei, A.R., Mirvaghefei, A.R., Ataeimehr, B., 2012b. Evaluation of the immunomodulatory effects of silymarin extract (*Silybum marianum*) on some immune parameters of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Actinopterygii: Salmoniformes: Salmonidae). Acta Ichthyologica Et Piscatoria, 42 (2), 113–120.
10. Ali, M.S., Saleem, M., Ahmad, W., Parvez, M., Yamdagni, R., 2002. A chlorinated monoterpene ketone, acylated â-sitosterol glycosides and a flavanone glycoside from *Mentha longifolia* (Lamiaceae). Phytochemistry, 59, 889–895.
11. Al-Salahy, M.B. 2002. Some physiological studies on the effect of onion and garlic juices on the fish, *Clarias lazera*. Fish Physiology and Biochemistry, 27, 129–142.
12. Anderson, I.B., Mullen, W.H. Meeker, J.E. Khojasteh-Bakht, S.C. Oishi, S. Nelson, S.D. Blanc, P.D. 1996. Pennyroyal toxicity: measurement of toxic metabolite levels in two cases and a review of the literature. Annals Internal Medicine, 124, 726-734.
13. Ardó, L., Yin, G., Xu, P., Váradi, L., Szigeti, G., Jeney, Z., Jeney, G., 2008. Chinese herbs (*Astragalus membranaceus* and *Lonicera japonica*) and boron enhance the non-specific immune response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and resistance against *Aeromonas hydrophila*. Aquaculture, 275, 26-33.

www.SID.ir

Archive of SID

14. Asadi, M.S., Mirvaghefei, A.R., Nematollahi, M.A., Banaee, M., Ahmadi, K., 2012. Effects of Watercress (*Nasturtium nasturtium*) extract on some immunological parameters of rainbow trout (*Oncorhynchusmykiss*). Open Veterinary Journal, 2(1), 32-39.
15. Banaee, M., Sureda, A., Mirvaghefi, A.R., Rafei. G.R., 2011. Effects of long-term silymarin oral supplementation on the blood biochemical profile of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Fish Physiology and Biochemistry, 37, 887-896.
16. Bilen, S., Bulut, M., 2010. Effects of laurel (*Laurus nobilis*) on the non-specific immune responses of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Journal of Animal and Veterinary Advances, 9(8), 1275-1279.
17. Dorucu, M., Ozesen Colak, S., Ispir, U., Altinterim, B., Celayir, Y., 2009. The effect of black cumin seeds, *Nigella sativa*, on the immune response of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Mediterranean Aquaculture Journal, 2(1), 27-33.
18. Foster-Swanson, A., Swartzentruber, M., Roberts, P., 1994. Refrence interval studies of the rate-blancked creatinine/jaffe method on BM/Hitachi Systems in six U.S. Laboratories. Clinical Chemistry, Abstract No 361.
19. Frankič, T. Voljč, M. Salobir, J. Rezar, V. 2009. Use of herbs and spices and their extracts in animal nutrition. Acta argiculturae Slovenica, 94, 95-102.
20. Gulluce, M. Sahin, F. Sokmen, M. Ozer, H. Daferera, D. Sokmen, A. Polissiou, M. Adiguzel, A. Ozkan, H. 2007. Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oils and methanol extract from *Mentha longifolia* L. ssp. *Longifolia*. Food Chemistry, 103(4), 1449-1456.
21. Hafedh, H. Fethi, B.N. Emira, N. Mejdi, S. Emira, N. Amina, B. 2010. Effect of *Mentha longifolia* L. spp *longifolia* essential oil on the morphology of four pathogenic bacteria visualized by atomic force microscopy. African Journal of Microbiology Research, 4(11), 1122-1127.
22. Harikrishnan, R., Balasundaram, C., Heo, M.S., 2010. Herbal supplementation diets on hematology and innate immunity in goldfish against *Aeromonas hydrophila*. Fish and Shellfish Immunology, 28, 354-361.
23. Johnson, A.M., Rohlfs, E.M., Silverman, L.M., 1999. Proteins. In: Burtis, C.A., Ashwood, E,R., editors. Tietz textbook of clinical chemistry. 3rd ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company. 477-540.
24. Kamatou, G.P.P., Vermaak, I., Viljoen, A.M., Lawrence, B.M., 2013. Menthol: A simple monoterpene with remarkable biological properties. Photochemistry, 96, 15–25.
25. Khan, R.A., Khan, F.U., Ahmad, M., Shah, A.S., Khan, N.S., Khan, M.R., Shah, M.S., 2011. Phytotoxic and antibacterial assays of crude methanolic extract of *Mentha longifolia* (Linn.). African Journal of Pharmacy and Pharmacology, 1(4), 175-200
26. Koliopoulos, G., Pitarokili, D., Kioulos, E., Michaelakis, A., Tzakou, O., 2010. Chemical composition and larvicidal evaluation of *Mentha*, *Salvia*, and *Melissa* essential oils against the West Nile virus mosquito *Culex pipiens*. Parasitology Research, 107, 327-335.
27. Madyastha, K.M., Raj, C.P., 1994. Effects of menthofuran, a monoterpene furan on rat liver microsomal enzymes, *in vivo*. Toxicology, 89(2), 119-25.
28. Mahmoudi, R., 2014. Effect of *Mentha longifolia* L. eseential oil on physicochemical properties of the Bio-Ayran. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 17(1), 56-66.
29. Moreno, L., Bello, R., Primo-Yufera, E., Esplugues, J., 2002. Pharmacological properties of the methanol extract from *Mentha suaveolens Ehrh.* Phytotherapy Research, 16, 10-13.
30. Moss, D.V., Henderson, A.R., 1999. Clinical enzymology In: Burtis, C.A., Ashwood, E.R., editors. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 617-721.
31. Murray, R.K., Granner, D.K., Mayes, P.A., Rodwell, V.W., 2003. Harper's Illustrated Biochemistry, Twenty-Sixth Edition. Lange Medical Books/McGraw-Hill (Medical Publishing Division). New York, 402 p.
32. Nafisi Bahabadi, M., Banaee, M., Taghiyan, M., Nematdoust Haghi, B., 2014. Effects of dietary administration of yarrow extract on growth performance and blood biochemical parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). International Journal of Aquatic Biology, 2(5), 275-285.
33. National Toxicology Program. 2011. Toxicology and carcinogenesis studies of pulegone (CAS No. 89-82-7) in F344/N rats and B6C3F1 mice (gavage studies). National Toxicology Program Technical Report Series, 563, 1-201.
34. Nelson, S.D., McClanahan, R.H., Thomassen, D., Gordon, W.P., Knebel, N., 1992. Investigations of mechanisms of reactive metabolite formation from (R)-(+)-pulegone. Xenobiotica, 22(9-10), 1157-1164.

www.SID.ir

Archive of SID

35. Sher, Z., Khan, Z.D., 2007. Floristic composition, life form and leaf spectra of the vegetation of Chagharzai Valley, District Buner. Pakistan Journal of Plant Sciences, 13(1), 57-66.
36. Soltan, M.A., Hanafy M.A., Wafa, M.I.A., 2008. An Evaluation of fermented silage made form fish by products as a feed ingredient for African catfish (*Clarius gariepinus*). Global Veterinaria, 2, 80-86.
37. Thomas, L. 1998. Clinical laboratory diagnostics. 1st ed Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft, 65-71.
38. Thorup, I., Würtzen, G., Carstensen, J., Olsen, P., 1983. Short toxicity study in rats dosed with pulegone and menthol. Toxicology Letters, 19(3), 207-210.
39. Vadiraja, B.B., Gaikwad, N.W., Madyastha, K.M., 1998. Hepatoprotective effect of C-phycocyanin: protection for carbon tetrachloride and R-(+)-pulegone-mediated hepatotoxicty in rats. Biochemical and Biophysical Research Communications, 249(2), 428-31.
40. Yin, G., Ardo, L., Thompson, K.D., Adams, A., Jeney, Z., Jeney, G., 2009. Chinese herbs (*Astragalus radix* and *Ganoderma lucidum*) enhance immune response of carp, *Cyprinus carpio*, and protection against *Aeromonas hydrophila*. Fish and Shellfish Immunology, 26, 140-145.

www.SID.ir