مقاله کامل علمی- پژوهشی

بهره‌برداری و پرورش آبزیان
جلد نهم، شماره چهارم، زمستان ۱۳۹۹
۳۵-٤٤
http://japu.gau.ac.ir
DOI: 10.22069/japu.2021.17606.1550

# اثرات تغذیه‌ای عصاره هیدروالکلی آویشن (*Thymus vulgaris*) بر مقاومت و برخی فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون در بچه‌ماهیان کپور معمولی (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758) در مواجهه با تنش شوری

**زینب رضا قلی‌تبار[1]، ولی‌اله جعفری*[2] و محمد مازندرانی[2]**

[1]دانشجوی کارشناسی‌ارشد گروه تکثیر و پرورش شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی، گرگان، ایران،
[2]دانشیار گروه تکثیر و پرورش شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی، گرگان، ایران
تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰٦/۰٦؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰٦/۳۱

## چکیده

به‌منظور افزایش مقاومت ماهیان در برابر استرس‌های محیطی؛ می‌توان از افزودنی‌های تغذیه‌ای در جیره غذایی ماهیان استفاده کرد. در این خصوص، تعداد ۱۸۰ ماهی با میانگین وزنی (۱۰/۸٤±۰/۰٦۳) گرم در چهار تیمار و با ۳ تکرار و ۱۵ قطعه ماهی در هر تکرار و با جیره‌های حاوی صفر، ۰/۵، ۱، و ۲ درصد عصاره گیاه آویشن در مدت ۷۰ روز تغذیه، بررسی شدند. در پایان دوره ۳۰ قطعه ماهی از هر تیمار به‌مدت ۱۲ ساعت تحت تنش شوری ۱۳ ppt (برای بررسی پارامترهای بیوشیمیایی) و ١٤ (برای سنجش بقا و میزان مقاومت) قرار گرفتند. به‌این منظور خون‌گیری در زمان‌های قبل از تنش، ٦، ٢٤، ۷۲ و ١٦٨ ساعت پس از تنش انجام شد. در این بررسی افزودن عصاره گیاه آویشن در مدت پرورش، اثر معنی‌داری بر مقاومت ماهی در مواجهه با تنش شوری نداشت (P>۰/۰۵). مقادیر کورتیزول، گلوکز، پروتئین کل، آلبومین قبل از تنش شوری اختلاف معنی‌دار بین تیمارها نشان نداد (P>۰/۰۵). با افزایش شوری کورتیزول و گلوکز نیز افزایش یافتند که همه تیمارها تغییر معنی‌داری نسبت به قبل ازتنش شوری نشان دادند (P<۰/۰۵). در این بررسی آلبومین و پروتئین کل اختلاف معنی‌داری در زمان‌های مختف خون‌گیری نداشتند (P>۰/۰۵). بر اساس نتایج بررسی حاضر افزودن عصاره آویشن در سطوح ۰/۵، ۱ و ۲ درصد جیره تأثیری مقاومت ماهی و نیز فراسنجه‌های بیوشیمیایی خونی ماهی کپور معمولی در مواجهه با استرس شوری نداشت.

***واژه‌های کلیدی:*** استرس شوری، عصاره آویشن، فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون، ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)، مقاومت

* مسئول مکاتبه: vjafari110@yahoo.com

## مقدمه

استرس یک جریان فیزیولوژیک است که در زمان مواجهه ماهی با تهدیدات دریافتی و با قرار دادن در شرایط ماوراء سطح تحمل عادی آن ایجاد می‌شود (فرانسیس فلوید، ۲۰۰۹؛ رمسای، ۲۰۰٦). پاسخ به استرس یک مکانیسم سازشی است که به ماهی اجازه می‌دهد تا به مقابله با عوامل استرس‌زا بپردازد، به‌عبارتی از این طریق وضعیت طبیعی بدن خود را حفظ کند (بارتون و ایواما، ۱۹۹۱). از جمله عوامل تنش‌زا و تأثیرگذار بر حیات، سوخت‌وساز و پراکنش آبزیان، شوری می‌باشد که فرآیندهای رشد و نمو موجود را تحت‌تأثیر قرار می‌دهد. بازماندگی جانور در یک محیط، به توانایی اسمزی آن موجود در تطابق با شوری محیطی که در آن زندگی می‌کند وابسته است (وارساموز و همکاران، ۲۰۰۵).

فاکتورهای خونی به‌میزان زیادی به‌عنوان نشانگرهای فیزیولوژیکی واکنش به استرس در ماهی‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد (کاتالدی و همکاران، ۱۹۹۸). میزان هورمون کورتیزول پلاسما و تغییر در متابولیسم کربوهیدرات‌ها مانند میزان گلوکز می‌تواند به‌عنوان شاخص عمومی استرس مورد استفاده قرارداد (سانتوس و پاچیکو، ۱۹۹٦). هم‌چنین کورتیزول در تنظیم اسمزی نقش دارد و به توانایی ماهی در نگهداری آب و الکترولیت‌های بدن کمک می‌کند (مامسن و همکاران، ۱۹۹۹).

ماهی کپور معمولی از جمله ماهیان گرمابی و سومین گونه معروف جهان محسوب می‌شود که به‌طور گسترده به سراسر دنیا معرفی شده است. هم‌چنین این ماهی یکی از گونه‌های مهم پرورشی دنیا می‌باشد که دارای ارزش تجاری بالایی است (رحمان، ۲۰۱۵). در سال‌های اخیر به‌منظور بازسازی ذخایر ماهیان استخوانی دریای خزر تکثیر مصنوعی این ماهیان و نیز پرورش تا مرحله انگشت‌قد در این مراکز انجام شده و سپس در رودخانه‌های منتهی به دریا رهاسازی می‌گردند. در بسیاری مواقع رهاسازی این ماهیان تا مردادماه ادامه می‌یابد که متأسفانه رودخانه‌های استان گلستان در ایام مذکور بسیار کم‌آب بوده و بعضاً با پیشرفت آب دریا به این رودخانه، ماهیان کپور در مواجهه با نوسانات شوری قرار می‌گیرند.

باتوجه به اهمیت ماهی کپور معمولی در صنعت پرورش ماهیان گرمابی و اهتمام به افزایش قدرت سیستم ایمنی ماهی در برابر عوامل استرس‌زا می‌توان از طریق مکمل‌های غذایی به اهداف مورد نظر نزدیک شد. آویشن (*Thymus vulgaris*) یکی از گیاهان تیره نعناعیان (Lamiaceae) است که حاوی ۰/۸ تا ۲/٦ درصد (معمولاً ۱ درصد) اسانس است که مواد مؤثره آن شامل کاراکول، پاراسیمول، لینالول و تیمول که مهم‌ترین آن تیمول (٤۰ درصد) می‌باشد. بنابراین در این پژوهش تأثیر عصاره آویشن به‌دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی که دارای اثرات تحریک‌کننده ایمنی می‌باشد؛ بر مقاومت و برخی فراسنجه‌های خونی در مواجهه با تنش شوری در بچه‌ماهیان کپور معمولی در طی یک دوره پرورش ۷۰ روزه مورد بررسی قرار گرفته است.

## مواد و روش‌ها

**تهیه ماهی و طرح آزمایش:** بعد از تهیه تعداد ۱۸۰ قطعه بچه‌ماهی کپور معمولی وانتقال به مخازن ۲۵۰ لیتری مرکز تحقیقات آبزی‌پروری شهید ناصر فضلی‌برآبادی در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ماهیان به‌مدت ١٤ روز با محیط جدید سازگار شدند. در این مدت با غذای اکسترود کپور معمولی (SFC2، شرکت فرادانه) ٤۲ درصد، چربی ۱۱ درصد، فیبرخام ٤ درصد، خاکستر ۱۰ درصد، فسفر ۱/۲ درصد) تغذیه شدند. پس از دوره

سازگاری، ماهی‌ها بیومتری شده و با میانگین وزنی ۱۰/۸٤۰±۰/۰٦۰ گرم و میانگین طولی (۹/۲۱±۰/٤۲) سانتی‌متر با تراکم ۱۵ عدد ماهی و در ۳ تکرار ذخیره‌سازی شدند. طول دوره غذادهی ۷۰ روز بود (دهقانی و همکاران، ۲۰۱٦). فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی مانند درجه حرارت، pH و اکسیژن محلول به‌صورت هفتگی اندازه‌گیری می‌شد. میانگین دما، اکسیژن و pH به‌ترتیب ۲۱/۷±۰/۱٤ درجه سانتی‌گراد، ٦±۰/۵ میلی‌گرم و ۸±۰/۰۸ بود.

**جدول ۱- ترکیب شیمیایی جیره غذای پایه.**

| پروتئین | چربی | فیبر خام | خاکستر | فسفر |
|---|---|---|---|---|
| ٤۲ درصد | ۱۱ درصد | ٤ درصد | ۱۰ درصد | ۲ درصد |

**روش عصاره‌گیری:** قسمت رویشی گیاه آویشن شامل ساقه و برگ از عطاری تهیه و توسط آسیاب برقی پودر شده و ۱۰۰۰ گرم از پودر حاصل درون ظروف پلاستیکی ریخته شد و به آن اتانول ۹٦ درصد به‌میزان ۱:۵ (۱۰۰۰ گرم پودر گیاه با ۵ لیتر اتانول ۹٦ درصد) اضافه شد، به‌طوری‌که سطح پودر را پوشاند. محلول به‌دست آمده، به‌مدت ٤۸ ساعت روی دستگاه شیکر و در دمای اتاق قرار گرفت و بعداز آن توسط کاغذ صافی (کاغذ واتمن #1) صاف گردید. در مرحله بعد به تفاله باقی‌مانده اتانول ۷۰ درصد اضافه و بعد از ۲٤ ساعت محلول صاف شد. محلول‌های صاف شده با هم مخلوط و در دستگاه آون معمولی (دمای ٤۰ تا ۵۰ درجه سانتی‌گراد) قرار گرفت. پس از تبخیر آب و الکل عصاره غلیظ و قیری شکلی به‌دست آمد که تا زمان استفاده در یخچال و در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (اردمگلو و همکاران، ۲۰۰۳).

**تهیه غذا:** در این پژوهش عصاره گیاه آویشن در چهار سطح متفاوت شامل صفر (تیمار شاهد)، ۰/۵ (تیمار ۱)، ۱ (تیمار ۲)، ۲ (تیمار ۳) درصد در جیره غذایی لحاظ شد. برای ساخت جیره موردنظر، ابتدا به مقدار ۰/۵، ۱، ۲ درصد عصاره وزن شده در آب ولرم حل شدند (یلماز و همکاران، ۲۰۱۲). و بعد از آن محلول موردنظر با ۲ درصد ژلاتین مخلوط و بر روی غذا اسپری شد و سپس غذا در داخل سینی به‌مدت ٤۸ ساعت در دمای اتاق قرار گرفت تا خشک شود. پس از آن در بسته‌های مناسب و در یخچال در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد تا موقع استفاده نگهداری شدند. براساس نتایج حاصل از زیست‌سنجی؛ غذای روزانه هر آکواریوم مشخص می‌شد و پس ازتوزین به ماهیان داده می‌شد. مقدار غذای روزانه ۵ درصد وزن بدن بود.

**تنش شوری و فرآیند خونگیری:** در پایان ۷۰ روز غذادهی با عصاره آویشن ازماهیان در قبل از تنش شوری خون‌گیری به عمل آمد (خونگیری اول)، سپس تیمارها از آب با شوری صفر به‌مدت ۱۲ ساعت تحت تنش شوری ppt ۱۳که با نمک خوراکی بدون ید تنظیم شده بود قرار گرفتند. بعد از اتمام ۱۲ ساعت تنش ماهیان دوباره به آکواریوم قبل که بدون آب شور بود منتقل شدند و بعد از بیهوش شدن ماهی توسط عصاره گل میخک، ٦ مرحله خونگیری انجام شد که شامل: قبل از تنش شوری (خونگیری اول) صفر ساعت (خونگیری دوم)، ٦ ساعت (خونگیری سوم)، ۲٤ ساعت (خونگیری چهارم)، ۷۲ ساعت (خونگیری پنجم) و ۱٦۸ ساعت (خونگیری ششم) بعد از تنش شوری انجام شد (ایمان‌پور و همکاران، ۲۰۱۲). در هر کدام از دوره‌های خونگیری، از هر تکرار ۵ ماهی به‌صورت تصادفی انتخاب و با استفاده از سرنگ ۲

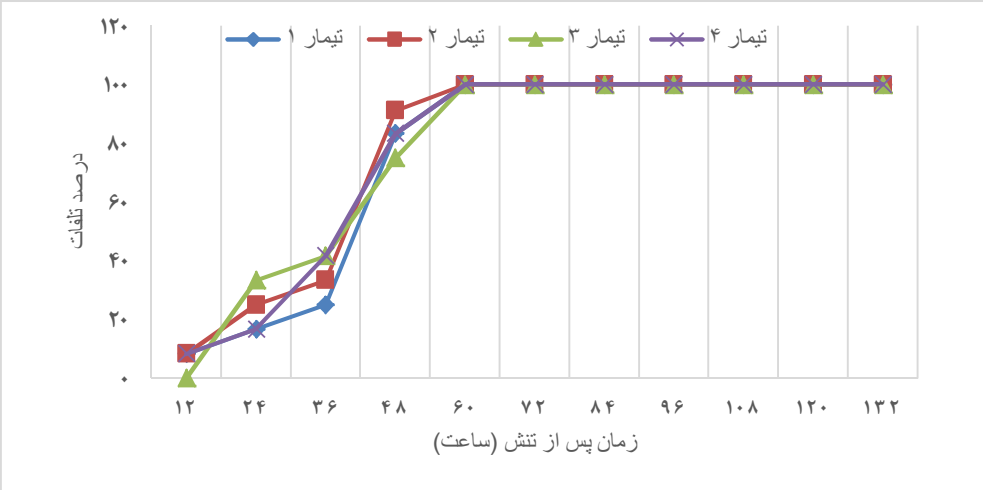
سی‌سی آغشته به هپارین از ساقه دمی خونگیری شد و نمونه‌های خون به تیوپ‌های ۱/۵ سی‌سی انتقال یافت. سپس با استفاده از سانتریفیوژ (۱۰ دقیقه با دور ۵۰۰۰) پلاسمای خون از بقیه اجزای خون جدا و توسط سمپلر به تیوپ‌هایی که مشخصات مربوط به هر تیمار توسط بر چسب روی آن نصب شده بود منتقل گردید و در دمای ۲۰- °C تا زمان انجام آزمایش‌ها ذخیره‌سازی شد.

## آزمایش‌های خونی

**اندازه‌گیری پارامترهای بیوشیمیایی خون:** پارامترهای بیوشیمیایی اندازه‌گیری شده در این آزمایش شامل: کورتیزول، گلوکز، پروتئین کل و آلبومین بود. گلوکز، پروتئین کل و آلبومین با استفاده از کیت‌های تجاری پارس آزمون و با دستگاه اسپکتروفتومتری (Biochrom, libra S12) و براساس دستورالعمل داخل کیت‌ها اندازه‌گیری شدند. کورتیزول نیز با استفاده از کیت تجاری IBL و با دستگاه الایزا (مدل UNISCO 2100) اندازه‌گیری شد. مقدار کلر با استفاده از کیت تجاری زیست‌شیمی و براساس دستورالعمل داخل کیت اندازه‌گیری شد. سدیم پلاسما نیز به روش فلیم فتومتری اندازه‌گیری شد (حسینی و همکاران، ۲۰۱٦).

**تنظیم اسمزی و تنش شوری:** برای بررسی میزان مقاومت و بازماندگی بچه‌ماهیان کپور معمولی، برای هر تیمار تعداد ۱۲ قطعه بچه‌ماهی (در یک تکرار) در نظر گرفته شد و سپس مستقیماً در معرض شوری ۱۵ گرم بر لیتر (جعفری و همکاران، ۲۰۱۹) که شوری آن با نمک خوراکی بدون ید تنظیم شده بود، قرار گرفتند و میزان تلفات به مدت ٤۸ ساعت شمارش شدند.

**بررسی‌های آماری:** نتایج حاصل از بررسی جهت بررسی آماری پژوهش حاضر نرم‌افزارهای SPSS18 و Excel مورد استفاده قرار گرفت. در این راستا در ابتدا نرمال بودن داده‌ها با نرم‌افزار کولموگروف-اسمیرنوف مورد تأیید قرار گرفته و همه داده‌ها به‌صورت میانگین ± انحراف استاندارد ثبت گردید. هم‌چنین جهت بررسی وجود اختلاف معنی‌دار برای میانگین‌ها از روش روش آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد (P<۰/۰۵) استفاده گردید.




**شکل ۱- میزان بقا و مقاومت به تنش شوری ۱۵ گرم بر لیتر.**

** تیمار ۱ (تیمار شاهد)، تیمار ۲ (ماهیان تغذیه شده با جیره ۰/۵ درصد عصاره)، تیمار (ماهیان تغذیه شده با جیره ۱ درصد عصاره)، تیمار ۳ (ماهیان تغذیه شده با جیره ۲ درصد عصاره).

طبق شکل ۱ تلفات از زمان ۱۲ ساعت پس از تنش در تیمارها شروع شد و در طول مدت مواجهه با شوری، بچه‌ماهیانی که از عصاره گیاه آویشن در جیره غذایی آن‌ها استفاده شده بود، تفاوت معنی‌داری در میزان تلفات با تیمار شاهد نداشتند (P>۰/۰۵).

**جدول ۲- غییرات غلظت آلبومین خون بچه‌ماهیان کپور معمولی تغذیه شده با عصاره آویشن تحت تنش شوری.**

| آلبومین (g/dl) | تیمار ۱ (شاهد) | تیمار ۲ (۰/۵ درصد عصاره) | تیمار ۳ (۱ درصد عصاره) | تیمار ٤ (۲ درصد عصاره) |
|---|---|---|---|---|
| قبل از تنش | ۳/٦۲±۰/۲۹$^{aA}$ | ۳/۸۳±۰/٦۳$^{aA}$ | ۳/۰۵±۰/۸٤۳$^{aA}$ | ۳/۹۸±۰/٤۷$^{aA}$ |
| زمان صفر | ۳/۳٦±۰/۸۲$^{aA}$ | ۳/٤۱±۰/۲٤$^{aA}$ | ۳/۵۷±۰/۵۷$^{aA}$ | ۳/۸۸±۰/٤۹۷$^{aA}$ |
| ٦ ساعت پس از تنش | ۳/٤۱±۰/۳٤$^{aA}$ | ۳/٤٤±۰/۱۳۰$^{aA}$ | ۳/۸۱±/۰۳۲$^{aA}$ | ۳/۵۵±۰/۳۲۱$^{aA}$ |
| ۲٤ ساعت پس از تنش | ۳/۲۸±۰/٦٦$^{aA}$ | ۳/۳۹±۰/۸۷۷$^{aA}$ | ۳/۱٤±۰/۷۷۵$^{aA}$ | ۳/۲۸±۰/۳۹٦$^{aA}$ |
| ۷۲ ساعت پس از تنش | ۲/۸۱±۰/۷٤$^{aA}$ | ۲/۹۲±۰/۳۰۵$^{aA}$ | ۳/۰۹±۰/٤٦۲$^{aA}$ | ۲/۸٦±۰/۵۰$^{aA}$ |
| ۱٦۸ ساعت پس از تنش | ۲/۸٤±۰/٦۵$^{aA}$ | ۳/۰۹±۰/۷۵٤$^{aA}$ | ۲/۸٤±۰/۲۲۷$^{aA}$ | ۳/۰۱±۰/٤٦۰$^{aA}$ |

** حروف انگلیسی بزرگ غیرمشابه در هر ستون و حروف انگلیسی کوچک غیرمشابه در هر ردیف، بیانگر اختلاف معنادار در سطح ۰/۰۵ است.

طبق جدول ۲ در زمان‌های مختلف خونگیری تفاوت معنی‌داری در میزان آلبومین خون بین تیمارهای مورد بررسی مشاهده نشد (P>۰/۰۵).

**جدول ۳- تغییرات غلظت کورتیزول خون بچه‌ماهیان کپور معمولی تغذیه شده با عصاره آویشن تحت تنش شوری.**

| کورتیزول (ngr/ml) | تیمار ۱ (شاهد) | تیمار ۲ (۰/۵ درصد عصاره) | تیمار ۳ (۱ درصد عصاره) | تیمار ٤ (۲ درصد عصاره) |
|---|---|---|---|---|
| زمان قبل از تنش | ۵۵۸±۱٦/۹۷$^{abB}$ | ۵۷٤±۲۲/۲۷$^{bB}$ | ۵۳۲±۱۹/۲۸$^{aB}$ | ۵٦٦/٦٦±۲۰/۲$^{abB}$ |
| زمان صفر | ٦۱۲/٦٦ ±۱۵/۷$^{aC}$ | ٦٤٦/٦٦±۱٦/۰۷$^{aC}$ | ٦۳۹±۲٦/۱۰$^{aC}$ | ٦۲۹/٦٦±۲٦/۵۷$^{aC}$ |
| ٦ ساعت پس از تنش | ٤۹۲±۱۹/۲۸$^{aA}$ | ٤۹۰±۱۸/۰۲$^{aA}$ | ٤۸۸/۳۳±۱٤/۱۸$^{aA}$ | ٤۹۰±۲۲/۹۱$^{aA}$ |
| ۲٤ ساعت پس از تنش | ٤۸۲/٦۳±۲۰/٤۷$^{Aa}$ | ٤۷۸/۳۵±۱۲/۵۸$^{aA}$ | ٤٦۵±۱۸/۰۲$^{aA}$ | ٤٦۹±۱۵/۳۹$^{aA}$ |
| ۷۲ ساعت پس از تنش | ٤۷۳/٦٦±۱۳/۰۵$^{aA}$ | ٤٦۳± ۱۵/۲۷$^{aA}$ | ٤۵۹±۱۳/۸۹$^{aA}$ | ٤۵۳/۳۳±۲۲/۵٤$^{aA}$ |
| ۱٦۸ ساعت پس از تنش | ٤٦۹±۱۷/۳٤$^{aA}$ | ٤۵۸±۱٤/٤۳$^{aA}$ | ٤۵۲/۳۳±۲۵/۱$^{Aa}$ | ٤٤۹/۳۳±۲٦/۷٦$^{aA}$ |

* حروف انگلیسی بزرگ غیرمشابه در هر ستون و حروف انگلیسی کوچک غیرمشابه در هر ردیف، بیانگر اختلاف معنادار در سطح ۰/۰۵ است.

طبق جدول ۳ در زمان قبل از تنش شوری بین تیمارهای تغذیه شده با عصاره آویشن و تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (P>۰/۰۵). با افزایش شوری کورتیزول نیز افزایش یافت که همه تیمارها تغییر معنی‌داری نسبت به قبل از تنش شوری نشان دادند (P<۰/۰۵). در ٦ ساعت بعد از تنش، میزان کورتیزول کاهش معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵). در زمان ۲٤، ۷۲ و ۱٦۸ساعت بعد از تنش تغییر معنی‌داری در میزان کورتیزول خون ماهیان مورد بررسی مشاهده نشد (P>۰/۰۵).

**جدول ٤- تغییرات غلظت گلوکز خون بچه‌ماهیان کپور معمولی تغذیه شده با عصاره آویشن تحت تنش شوری.**

| گلوکز (mg/dl) | تیمار ۱ (شاهد) | تیمار ۲ (۰/۵ درصد عصاره) | تیمار ۳ (۱ درصد عصاره) | تیمار ٤ (۲ درصد عصاره) |
|---|---|---|---|---|
| زمان قبل از تنش | ۸۰/۰٦±٥/۱۹$^{aAB}$ | ۸٤/۷٦±۹/۱۳$^{aA}$ | ۹۸/۳۷±۱۰/٦٦$^{abAB}$ | ۱۰۹/۳۱±۱٤/۰٥$^{bAB}$ |
| زمان صفر | ۱۱٦/٥٥±٦/۷۸$^{aC}$ | ۱۱٥/٥۲±٥/۲۹$^{aB}$ | ۱۲۲/۹۸±۲۳/۱۲$^{aB}$ | ۱۳۲/۳۱±۱٥/۷۲$^{aD}$ |
| ٦ ساعت پس از تنش | ۱۱۱/۹۲±۱۲/٥٦$^{aC}$ | ۱۱۰/۹۱±۱٤/۱۱$^{aB}$ | ۱۱۳/۱۳±۱۸/٥۹$^{aB}$ | ۱۲۳/٥٤±۹/٤٥$^{aCD}$ |
| ۲٤ ساعت پس از تنش | ۹۰/۰۸±٦/٥۲$^{aB}$ | ۸٦/۰٦±۱٦/٤٥$^{aA}$ | ۷۷/۰۱±۱٦/۳۰$^{aA}$ | ۹٦/۸٦±۷/٥٦$^{aB}$ |
| ۷۲ ساعت پس از تنش | ٦۷/۰۹±٦/٥۸$^{aA}$ | ۷۳/٦۰±۲۱/۸٥$^{aA}$ | ۷۰/٦۸±۱۰/٦۱$^{aA}$ | ۹۰/۸۷±۱/٤٥$^{aAB}$ |
| ۱٦۸ ساعت پس از تنش | ٦٥/۰۸±۱٤/۲۹$^{aA}$ | ٦۲/۸۲±٥/۲$^{aA}$ | ٦٦/٥۲±۱۷/٦۷$^{aA}$ | ۷۳/۷۰±۲٥/۸۲$^{aA}$ |

* حروف انگلیسی بزرگ غیرمشابه در هر ستونو حروف انگلیسی کوچک غیرمشابه در هر ردیف، بیانگر اختلاف معنادار در سطح ۰/۰٥ است.

در زمان قبل از تنش شوری اختلاف معنی‌داری بین تیمار شاهد و تیمارهای تغذیه شده با عصاره آویشن مشاهده نشد (P>۰/۰٥). با افزایش شوری گلوکز افزایش یافت که این افزایش در همه تیمارها معنی‌دار بود (P<۰/۰٥). اما تیمارها نسبت به هم اختلاف معنی‌داری نشان ندادند (P>۰/۰٥). ٦ ساعت پس از تنش تفاوتی در تیمارها مشاهده نشد (P>۰/۰٥). در ۲٤ ساعت پس از تنش گلوکز خون کاهش یافت که این کاهش در همه تیمارها نسبت به زمان قبل معنی‌دار بود (P<۰/۰٥). اما تیمارها با هم اختلاف معنی‌داری نشان ندادند (P>۰/۰٥). ۷۲ ساعت بعد از تنش گلوکز خون در تیمار شاهد کاهش معنی‌داری نسبت به زمان قبل نشان داد (P<۰/۰٥). در ۱٦۸ ساعت پس از تنش تغییر معنی‌داری در میزان گلوکز خون مشاهده نشد (P>۰/۰٥).

**جدول ٥- تغییرات غلظت پروتئین کل خون بچه‌ماهیان کپور معمولی تغذیه شده با سطوح مختلف عصاره آویشن تحت تنش شوری.**

| پروتئین کل (g/dl) | تیمار ۱ (شاهد) | تیمار ۲ (۰/۵ درصد عصاره) | تیمار ۳ (۱ درصد عصاره) | تیمار ٤ (۲ درصد عصاره) |
|---|---|---|---|---|
| زمان قبل از تنش | ۳/۹۰±۰/۸۷$^{aA}$ | ۳/۹۱±۰/۲٥$^{aA}$ | ۳/۸۳±۰/٦۲$^{aA}$ | ۳/۷۸±۰/۲۹۳$^{aA}$ |
| زمان صفر | ٤/٥۲±۰/٥۹$^{aA}$ | ٤/٤۷±۰/۲$^{aA}$ | ٤/٥۸±۰/۳۳$^{aA}$ | ۳/۹۱±۰/۳۳۷$^{aA}$ |
| ٦ ساعت پس از تنش | ٤/٤۸±۰/۱۱$^{aA}$ | ٤/۲٥±۰/۲۲$^{aA}$ | ٤/٤۰٦±۰/۹۳$^{aA}$ | ۳/۹٦±۰/۲۷$^{aA}$ |
| ۲٤ ساعت پس از تنش | ٤/۱٤±۰/۹۲$^{aA}$ | ٤/۳±۰/٤٤$^{aA}$ | ۳/۸٥±۰/۷٦$^{aA}$ | ٤/۱۰±۰/۳۷$^{aA}$ |
| ۷۲ ساعت پس از تنش | ٤/۲۲±۰/۳٥$^{aA}$ | ٤/۰٦±۰/۳۹$^{aA}$ | ۳/٤۲±۰/٥۱$^{aA}$ | ۳/۸۹±۰/۳۳$^{aA}$ |
| ۱٦۸ ساعت پس از تنش | ۳/٥۳±۰/۹$^{aA}$ | ۳/۸٤±۰/٤٤$^{aA}$ | ۳/٥۲±۰/۲۷$^{aA}$ | ۳/٦۱±۰/۲٥$^{aA}$ |

* حروف انگلیسی بزرگ غیرمشابه در هر ستون و حروف انگلیسی کوچک غیرمشابه در هر ردیف، بیانگر اختلاف معنادار در سطح ۰/۰٥ است.

در زمان‌های مختلف خونگیری تفاوت معنی‌داری در میزان پروتئین خون بین تیمارهای مورد بررسی مشاهده نشد (P>۰/۰۵).

## بحث

شوری یکی از فراسنجه‌های محیطی است که بر فیزیولوژی، جذب غذا و کارایی رشد در گونه‌ها تأثیرگذار است (روبیو و همکاران، ۲۰۰۵). مقاومت در برابر تنش شوری تحت عواملی مانند: میزان شوری، عوامل محیطی مانند دما، گونه، دستکاری، اندازه، سن، مراحل مختلف زیستی و شرایط تغذیه‌ای می‌باشد. بروز تلفات دسته جمعی در ماهیان نشان‌دهنده عدم توانایی ماهیان در سازگاری با عوامل محیطی است و تلفات فردی (در صورت همگن بودن شرایط دستکاری و محیطی) تحت‌تأثیر عدم توانایی‌های فردی در سازگاری با شرایط ایجاد شده حاصل می‌شود (کریشنا و میسنکو، ۱۹۷۸). درصد بازماندگی نیز نشان‌دهنده ایمنی در مقابل عوامل بیماریزا و تنش‌های محیطی می‌باشد (احمد و همکاران، ۲۰۱۱). در این پژوهش تفاوت معنی‌داری دربازماندگی و بقای ماهیان مورد بررسی در مواجهه با تنش شوری ۱۵ میلی‌گرم بر لیتر مشاهده نشد که با بعضی مشاهدات همخوانی دارد (ایمان‌پور و همکاران، ۲۰۱۲) نشان دادند مکمل گیاهی سنگروویت تفاوتی در بازماندگی و مقاومت بچه‌ماهیان کپور معمولی تحت تنش شوری ایجاد نکرد با بررسی جیره غذایی حاوی عصاره گلرنگ دریافتند که این عصاره باعث بقا و مقاومت در برابر تنش شوری ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر می‌شود. تفاوت‌های ایجاد شده نسبت به سایر بررسی‌ها می‌تواند به‌دلیل ماهیت مواد مورد استفاده، تنش ایجاد شده و سن و گونه ماهی مورد آزمایش باشد.

کورتیزول یک کورتیکواستروئید است که تأثیر مهمی در تنظیم اسمزی ماهیان دریازی دارد (بیک‌زاده و همکاران، ۲۰۱۵). کورتیزول به‌عنوان واکنش اولیه ماهیان به تنش در خون رها می‌شود و به ماهی در نگهداری آب و الکترولیت‌های بدن کمک می‌کند (مامسن و همکاران، ۱۹۹۹). گلوکز کربوهیدراتی است که دارای نقش مهمی در تولید انرژی جانوران با تولید ATP دارد. تحت شرایط تنش‌زا، کاتکولامین و کورتیزول با تأثیر بر کبد سبب القاء گلیکولیز یا گلوکونئوژنزیز می‌شود و در نتیجه میزان گلوکز پلاسما افزایش می‌یابد (اکسلورد و ریسین، ۱۹۸٤). در این بررسی با افزایش شوری کورتیزول و گلوکز نیز به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (P<۰/۰۵). که با بررسی‌های سایر پژوهشگران در این رابطه همخوانی دارد. (مکوندی و همکاران، ۲۰۱۲) گزارش کردند که با افزایش کورتیزول ماهی کپور علفخوار انگشت‌قد تحت تنش شوری، مقدار گلوکز نیز افزایش پیدا کرده است (مصباح و همکاران، ۲۰۱۵) در پژوهشی نشان دادند که هورمون کورتیزول در ماهی بنی می‌تواند تحت‌تأثیر شوری محیط قرار گیرد. (امینی و همکاران، ۲۰۰٤) نشان دادند که با افزایش شوری در ماهی کپورسطح کورتیزول در خون افزایش و سطح گلوکز خون کاهش یافت (تاکاشی و همکاران، ۲۰۰۳) نیز افزایش هورمون کورتیزول در ماهی تیلاپیای موزامبیک که در آب دریا قرار گرفته بود را بررسی کردند و نشان دادند که مواجهه با شوری باعث ایجاد استرس و افزایش کورتیزول پلاسما می‌شود. بنابراین افزایش گلوکز به جهت تامین انرژی مورد نیاز برای مقابله با استرس ایجاد شده را می‌توان توجیه نمود. با این‌حال؛ میزان کورتیزول و گلوکز در ماهیان تغذیه شده با آویشن در مقایسه با گروه شاهد تفاوت معنی‌داری نداشت (P>۰/۰۵). این بدین معناست که عصاره آویشن تأثیری در افزایش توانایی ماهی در مقابل تنش شوری نداشته است.

پروتئین به‌عنوان منبع مهم انرژی در ماهیان محسوب می‌شود، ازاین‌رو غلظت پروتئین کل پلاسما می‌تواند فاکتور مهمی جهت تعیین سلامتی و تنش باشد (اولا و همکاران، ۱۹۹۸). سنجش سطح پروتئین‌های پلاسما شاخص مناسبی برای بررسی وضعیت ایمنی‌شناسی ماهی می‌باشد به همین دلیل هر گونه تغییر در سطح آلبومین و پروتئین کل پلاسما می‌تواند به‌عنوان یک شاخص بالینی در سنجش سلامت سیستم ایمنی، کبد و کلیه جانوران مورد استفاده قرار گیرد (جان، ۲۰۰۷). در این مطالعه، میزان پروتئین کل و مقدار آلبومین در تیمارهای عصاره نسبت به تیمار شاهد تغییر معنی‌داری نشان نداد. (بنایی و همکاران، ۲۰۱۱) گزارش کردند که استفاده از مکمل گیاهی خارمریم در جیره قزل‌آلای رنگین‌کمان سبب کاهش گلوکز و افزایش پروتئین کل می‌شود (شریف روحانی و همکاران، ۲۰۱۳) نشان دادند که تجویز عصاره چند گیاه دارویی به ماهی کپور معمولی تغییری در سطح آلبومین پلاسما ایجاد نکرده، ولی باعث افزایش سطح پروتئین کل شده است (روحی و همکاران، ۲۰۱۵) نشان دادند که عصاره سیاه‌دانه باعث افزایش پروتئین پلاسما شده است.

طبق نتایج به‌دست آمده عصاره گیاه آویشن تأثیری در بقای بچه‌ماهیان کپور معمولی در برابر تنش شوری ۱۵ گرم بر لیتر تأثیر نداشت. فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون در تیمارهای عصاره تحت تنش شوری، تغییر معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد نشان ندادند که نشان‌دهنده بی‌اثر بودن گیاه آویشن بر کاهش تنش در ماهی‌ها است. به‌دلیل کم بودن مطالعات انجام شده بر روی تأثیر دوزهای متفاوت عصاره آویشن بر مقاومت و فاکتورهای بیوشیمیایی خون ماهی کپور؛ ضرورت انجام مطالعات بیش‌تر و هم‌چنین بررسی استفاده از عصاره گیاهان دیگر به‌منظور ارزیابی تأثیر بر مقاومت و فراسنجه‌های خونی می‌تواند در زمینه افزایش توانایی این ماهی در برابر استرش شوری راهگشا باشد.

## منابع


Ahmad, M.H., El Mesallamy, A.M.D., Samir, F., and Zahran, F. 2011. Effect of Cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*) on growth performance, feed utilization, whole-body composition, and resistance to *Aeromonas hydrophila* in Nile Tilapia. J. Appl. Aquacul. 23: 289-298.

Amini, H., Oryan, Sh., and Parivar, K. 2004. Effects of stress induced by sodium chloride on blood glucose and cortisol hormone in common carp. Iran. J. Fish. 3: 12. 35-42.

Axelord, J., and Reisine, T.D. 1984. Stress hormones: Their interaction and regulation Science. 224: 459-542.

Banaee, M., Sureda, A., Mirvaghefi, A.R., and Rafei, G.R. 2011. Effects of long-termsilymarine oral supplementation on the blood biochemical profile of rainbowtrout (*Oncorhynchus mykiss*). Fish physiology and Biochemistry, 37: 885-896.

Barton, B.A., and Iwama, G.K. 1991. Physiological changes in fish from stress inaquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. Annual Review of Fish Diseases, 1: 3-26.

Beikzadeh, A., Imanpoor, M.R., and Taghizadeh, V. 2015. Effect of oral cortisol on growth, survival rate, hematocrit and biochemical blood parameters in Common Carp (*Cyprinus carpio*) fingerling. J. Anim. Environ. 7: 1. 259-266.

Dehghani Ghamshani, M., Mazandarani, M., Sudagar, M., and Hoseini, S.M. 2016. Haematological study of safflower (*Carthamus tinctorius*) extract fed common carp (*Cyprinus carpio*) fingerlings exposed to sub lethal salinity stress. 5: 4. 55-69.

Erdemoglu, N., Kupeli, E., and Yesilada, E. 2003. Anti–inflammatory and antinociceptiveassessment of plants used as remedy in Turkish folk medicine. J. Ethnopharmacol. 89: 123-129.

F, rancis-Floyd, R. 2009. Stress - Its Role in Fish Disease. University of Florida. IFAS Extension, Pp: 1-4.

Imanpoor, M.R., Shabanpoor, B., Taghizadeh, V., and Hanaee Kashani, Z. 2012. Effect of dietary thyme oil and vitamin E on growth, survival and serum lipoproteins of common carp (*Cyprinus carpio*). Report number: 90.

Jafari, V., Noor Gholipoor, S., Imanpoor, M.R., and Hosseinifar, S.H. 2019. Effect of different glycine levels on growth indices, food intake, survival rate and resistance to salinity stress exposure in common carp (*Cyprinus carpio*). 11: 2. 197-204.

John, P.J. 2007. Alteration of certain blood parameters of freshwater teleost *Mystus vittatus* after chronic exposure to metasystox and sevin. Fish Physiology Biochemistry, 33: 15-20.

Hoseini, M., Taheri Mirghaed, A., Mazandarani, M., and Zoheiri, F. 2016. Serum cortisol, glucose thyroid hormones' and non-specific immune responses of Persian sturgeon, Acipenser persicus to exogenous tryptophan and acute stress. Aquculture, 462: 17-23.

Krayushina, L.S., and Moiseyenko, S.N. 1978. Functonal characteristics of osmoregulation inecologically different species of sturgeons (*Acipenseridae*) in a hypertonic environment. J. Appl. Ichthyol. 17: 3. 441-447.

Makvandi, H., Khodadadi, M., Keyvanshokoh, S., Mohammadi, I., and Makvandi, Z. 2012. Effect of salinity stress on cortisol hormone and glucose in grass carp fingerlings. J. Aqua. Fish. 2: 8. 77-84.

Mesbah, M., Mohammadian, T., Karami E., Molayem rafter, T., and Nazari, M. 2015. Effect of salinity stress on some of the hematological parameters and mesopotami chthys sharpeyi (*Mesopotamichthys Sharpeyi*). J. Aqua. Ecol. 5: 2. 68-78.

Mommsen, T.P., Vijayan, M.M., and Moon, T.W. 1999. Cortisol in teleosts: dynamics, mechanisms of action, and metabolic regulation. Reviews in Fish Biology pand Fisheries. 9: 211-268.

Mazandarani, M., Dehghani Ghamshani, M., Sudagar, M., and Hosseini, S.M. 2105. mprovement of common carp (*Cyprinus carpio*) fingerlings resistance to salinity stress with dietary safflower (*Carthamus tinctorius* L.) extract supplementation. 13: 2. 97-106.

Olla, B.L., Davis, M.W., and Ryer, C.H. 1998. Understanding how the hatchery environment represses or promotes the development of behavioral survival skills. Bulletin of Marine Science, 62: 531-550.

Rahman M.M. 2015. Role of Common Carp (*Cyprinus carpio*) in aquaculture production systems. Frontiers in Life Science, Pp: 1-12.

Ramsay, J.M., Feist, G.W., Varga, Z.M., Westerfield, M., Kent, M.L., and Schreck, B. 2006. Whole- body Cortisol is an indicator of crowding stress in adult zebrafish, *Danio rerio*. Aquaculture, 258: 565-574.

Rubio, V.C., Sánchez-Vázquez, F.J., and Madrid, J.A. 2005. Effects of salinity on food intake and macronutrient selection in European sea bass. Physiol. Behavior. 85: 3. 333-339.

Roohi, Z., Imanpoor, M.R., and Taghizadeh, V. 2015. Effect of Caraway (*Carum carvi*) on Growth Factors and Some Blood Parameters in Common carp (*Cyprinus carpio*). J. Anim. Environ. 7: 1. 105-112.

Santos, M.A., and Pacheco, M. 1996. *Anguilla anguilla* L. Stress biomarkers recovery in clean water and secondary treated pulp mill effluent. Ecotoxicology and Environmental Safety, 35: 96-100.

Sharif Rohani, M., Masoumzadeh, M., Haghighi, M., Jalilpoor, J., Pourdehghani, M., Shenavar, Masouleh, A., Alizadeh, M., and Bazari Moghaddam, S. 2013. Effects of oral administration of *Zataria multiflora* essential oil on some blood and serum parameters in *Acipenser persicus*. Iran. J. Fish. Sci. 12: 4. 908-915.

Takahashi, H., Sakamoto, T., Hyodo, S., Shepherd, B.S., Kaneko, T., and Gordon Grau, E.G. 2006. Expression of glucocorticoid receptor in the intestine of a euryhaline teleost, the Mozambique tilapia (*Oreochromis mossambicus*): Effect of seawater exposure and cortisol treatment. Life Sciences, 78: 2329-2335.

Varsamos, S., Nebel, C., and Charmantier, G. 2005. Ontogeny of osmoregulation in post-embryonic fish. Comparative Biochemistry and Physiology A: Molecularand Integrative Pysiological. 141: 401-429.

Yilmaz, S., Ergün S., and Türk, N. 2012. Effects of cumin-supplemented diets on growth and disease (*Streptococcus iniae*) resistance of tilapia (*Oreochromis mossambicus*). J. Aquacul. 64: 1-5.