



دانشگاه گنبد کاووس

نشریه "پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی"

دوره هفتم، شماره چهارم، زمستان ۹۸

<http://jair.gonbad.ac.ir>

اثرات تغذیه‌ای عصاره هیدروالکلی آویشن (*Thymus vulgaris*) بر عملکرد رشد و برخی فراسنجه‌های خونی بچه‌ماهیان کپور معمولی *Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758 در مواجهه با تنش شوری

زینب رضاقلی تبار^۱، ولی‌اله جعفری^{۲*}، محمد مازندرانی^۲

^۱ دانشجوی کارشناسی ارشد تکثیر و پرورش شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی، گرگان، ایران

^۲ دانشیار گروه تکثیر و پرورش شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی، گرگان، ایران

تاریخ ارسال: ۹۵/۱۰/۲۰؛ تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۲/۲۲

چکیده

به‌منظور بررسی اثرات عصاره آویشن در کپور معمولی (*C. carpio*)، تعداد ۱۸۰ ماهی با میانگین وزنی $(10/84 \pm 0/63)$ گرم به چهار تیمار و با ۳ تکرار و ۱۵ قطعه ماهی در هر تکرار به‌طور تصادفی تقسیم شده و با جیره‌های حاوی صفر، ۰/۵، ۱، و ۲ درصد عصاره گیاه آویشن به‌مدت ۷۰ روز تغذیه شدند. در پایان دوره ۳۰ قطعه ماهی از هر تیمار به‌مدت ۱۲ ساعت تحت تنش شوری ۱۳ ppt قرار گرفته و مورد بررسی خون‌شناسی قرار گرفتند. به‌این منظور خون‌گیری در زمان‌های قبل از تنش، ۶، ۲۴ و ۷۲ ساعت پس از تنش انجام شد. در این بررسی افزودن عصاره گیاه آویشن در مدت پرورش، اثر معنی‌داری بر شاخص‌های رشد نداشت. در بررسی‌های خون‌شناسی هماتوکریت بعد از تنش شوری افزایش معنی‌داری در تیمارهای شاهد و تیمار ۰/۵٪ نسبت به قبل از تنش شوری نشان داد. هماتوکریت خون در ۷۲ ساعت بعد از تنش شوری در تیمار ۱ و ۲٪ با شاهد اختلاف معنی‌دار داشت. مقدار هموگلوبین ۶ ساعت پس از تنش شوری، فقط در تیمارهای تغذیه‌شده با عصاره آویشن افزایش معنی‌داری را نسبت به قبل از تنش شوری نشان داد. در میزان گلبول سفید و قرمز خون و نیز مقادیر اندیس‌های خونی (MCH، MCV، و MCHC) قبل و بعد از تنش شوری بین تیمارها تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. بر اساس نتایج بررسی حاضر افزودن عصاره آویشن در سطوح ۰/۵، ۱ و ۲ درصد جیره تأثیری در شاخص‌های رشد و نیز فراسنجه‌های خونی ماهی کپور معمولی در مواجهه با استرس شوری نداشت.

واژه‌های کلیدی: *C. carpio*، عصاره آویشن، فراسنجه‌های خونی، استرس شوری

*نویسنده مسئول: 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 (Ramsay *et al.*, 2006). اسارت، دستکاری، تراکم جمعیت، حمل و نقل و همچنین بیهوشی باعث ایجاد تنش در ماهیان است (Bolasina, 2011). از جمله عوامل تنش‌زا و تأثیرگذار بر حیات، سوخت و ساز و پراکنش آبزیان، شوری است که فرآیندهای رشد و نمو موجود را تحت تأثیر قرار می‌دهد. بازماندگی جانور در یک محیط، به توانایی اسمزی آن موجود در تطابق با شوری محیطی که در آن زندگی می‌کند وابسته است (Varmaso *et al.*, 2005). فاکتورهای هماتولوژیکی به عنوان ابزاری مفید برای مشاهده سلامت ماهی بیان شده است و در تفسیر پاسخ‌های فیزیولوژیکی در مواجهه با تنش‌های وارد شده به وسیله عوامل محیطی، مورد استفاده قرار می‌گیرد (Chen *et al.*, 2004).

پرورش متراکم و مصنوعی ماهیان باعث تنش و تغییر وضعیت فیزیولوژیکی در ماهیان می‌شود و در صورتی که این تنش کنترل نگردد منجر به کاهش رشد ماهیان می‌شود. تنش علاوه بر اینکه اثرات نامطلوبی بر رشد ماهی دارد، باعث کاهش توانایی مقاومت در مقابل شرایط نامساعد محیطی و بیماری‌ها می‌شود (Imanpoor *et al.*, 2012). در راستای ضرورت استفاده از ظرفیت‌های مختلف در افزایش بهره‌وری در پرورش ماهیان استفاده از محرک‌های رشد و ایمنی به عنوان راهکاری در توسعه کیفی این صنعت بسیار مورد توجه قرار گرفته است (Alishahi *et al.*, 2011). برخی مطالعات نشان داده‌اند که عصاره گیاهان مختلف می‌تواند باعث بهبود ضریب تبدیل غذایی، کاهش زمان دوره پرورش برای عرضه به بازار و در نتیجه کاهش هزینه‌های پرورشی شود (Javed *et al.*, 2009). در این راستا آویشن (*Thymus vulgaris*) یکی از گیاهان تیره نعناعیان (Lamiaceae) است که حاوی ۰/۸ تا ۲/۶ درصد (معمولاً ۱٪) اسانس است که مواد مؤثره آن شامل کاراکول، پاراسیمول، لینالول و تیمول که مهمترین آن تیمول (۴۰٪) می‌باشد (Naghdi Badi and Makkizadeh, 2003) مطالعاتی در زمینه تأثیر این عصاره بر فراسنجه‌های رشد (Abdi *et al.*, 2010; Imanpoor *et al.*, 2012; Alishahi *et al.*, 2012)، خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی (Soltan Dallal *et al.*, 2012; Nessrien *et al.*, 2007; Sharif Salih *et al.*, 2012)، سیستم ایمنی (Akbari *et al.*, 2015) اشاره نمود که در اکثر این تحقیقات وجود این خواص در عصاره آویشن به اثبات رسیده است. ماهی کپور معمولی از جمله ماهیان گرمابی و سومین گونه معروف جهان محسوب می‌شود که به طور گسترده به سراسر دنیا معرفی شده است. هم‌چنین این ماهی یکی از گونه‌های مهم پرورشی دنیا می‌باشد که دارای ارزش تجاری بالایی است (Rahman, 2015). با توجه به اهمیت ماهی کپور معمولی در صنعت پرورش ماهیان گرمابی (به عنوان یکی از پرطرفدارترین ماهیان) و اهتمام به افزایش رشد، کاهش ضریب تبدیل غذایی

در مراحل پرورش ماهی کپور و افزایش قدرت سیستم ایمنی ماهی در برابر عوامل استرس‌زا می‌توان از طریق مکمل‌های غذایی به اهداف موردنظر نزدیک شد. 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 می‌شوند. در بسیاری مواقع رهاسازی این ماهیان تا مردادماه ادامه می‌یابد که متأسفانه رودخانه‌های استان گلستان در ایام مذکور بسیار کم آب بوده و بعضاً با پیشرفت آب دریا به این رودخانه‌ها شوری آنها تا ۱۲ گرم درلیتر می‌رسد. به‌همین دلیل در این بررسی فراسنجه‌های خون‌شناسی در مواجهه با این شوری در این ماهی مورد ارزیابی قرار گرفته است. لذا در این تحقیق تأثیر عصاره آویشن به‌دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی که دارای اثرات تحریک‌کننده ایمنی می‌باشد؛ بر شاخص‌های رشد و فاکتورهای خونی در مواجهه با تنش شوری در بچه‌ماهیان کپور معمولی در طی یک دوره پرورش ۷۰ روزه مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

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 ۹۶٪ به میزان ۱:۵ (۱۰۰۰ گرم پودر گیاه با ۵ لیتر اتانول ۹۶٪) اضافه شد، به‌طوری‌که سطح پودر را پوشاند. محلول به‌دست آمده، به‌مدت ۴۸ ساعت روی دستگاه شیکر و در دمای اتاق قرار گرفت و بعد از آن توسط کاغذ صافی (کاغذ واتمن شماره ۱) صاف گردید. در مرحله بعد به تفاله باقی‌مانده اتانول ۷۰٪ اضافه و بعد از ۲۴ ساعت محلول صاف شد. محلول‌های صاف شده باهم مخلوط و در دستگاه آون معمولی (دمای ۴۰ 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 ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (Erdemoglu et al., 2003).

بعد از تهیه تعداد ۱۸۰ قطعه بچه‌ماهی کپور معمولی و انتقال به مخازن ۲۵۰ لیتری مرکز تحقیقات آبی‌پروری شهید ناصر فضلی‌برآبادی در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ماهیان به مدت ۱۴ روز با محیط جدید سازگار شدند. در این مدت با غذای اکستروژن کپور معمولی شرکت فرادانه (SFC2)، پروتئین ۴۲٪، چربی ۱۱٪، فیبرخام ۴٪، خاکستر ۱۰٪، فسفر ۱/۲٪ تغذیه شدند. پس از دوره سازگاری، ماهی‌ها بیومتری شده و با میانگین وزنی $10/840 \pm 0/060$ گرم و میانگین طولی $(9/21 \pm 0/42)$ سانتی‌متر با تراکم ۱۵ عدد ماهی و در ۳ تکرار ذخیره‌سازی شدند. طول دوره غذایی ۷۰ روز بود. فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی مانند دما، pH و اکسیژن محلول به‌صورت هفتگی اندازه‌گیری می‌شد. میانگین دما، اکسیژن و pH به‌ترتیب $21/7 \pm 0/14$ درجه سانتی‌گراد، $6 \pm 0/5$ میلی‌گرم و $8 \pm 0/8$ بود.

در این تحقیق عصاره گیاه آویشن در چهار سطح متفاوت شامل صفر (تیمارشاهد)، ۰/۵ (تیمار ۱)، ۱ (تیمار ۲)، ۲ (تیمار ۳) درصد در جیره غذایی لحاظ شد. برای ساخت جیره مورد نظر، ابتدا به مقدار ۰/۵، ۱، ۲ درصد عصاره وزن شده در آب ولرم حل شدند (Yilmaz et al., 2012) و بعد از آن محلول مورد نظر با ۲٪ ژلاتین مخلوط و بر روی غذا اسپری شد و سپس غذا در داخل سینی به مدت ۴۸ ساعت در دمای اتاق قرار گرفت تا خشک شود. پس از آن در بسته‌های مناسب و در یخچال در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد تا موقع استفاده نگهداری شد. براساس نتایج حاصل از زیست‌سنجی، غذای روزانه هر آکواریوم مشخص می‌شد و پس از توزین به ماهیان داده می‌شد. مقدار غذای روزانه ۵٪ وزن بدن بود. در پایان ۷۰ روز غذادهی با عصاره آویشن از ماهیان در قبل از تنش شوری خون‌گیری به عمل آمد (خون‌گیری اول). سپس تیمارها از آب با شوری صفر به مدت ۱۲ ساعت تحت تنش شوری ۱۳ ppt که 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 ۳ مرحله خون‌گیری شامل: ۶ ساعت (خون‌گیری دوم)، ۲۴ ساعت (خون‌گیری سوم) و ۷۲ ساعت (خون‌گیری چهارم)؛ بعد از تنش شوری انجام شد (Imanpoor et al., 2012). در هر کدام از دوره‌های خون‌گیری، از هر تکرار ۵ ماهی به صورت تصادفی انتخاب و با استفاده از سرنگ ۲ سی‌سی آغشته به هیپارین 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 برچسب روی آن نصب شده بود منتقل گردید و در دمای °C ۲۰- تا زمان انجام آزمایشات ذخیره سازی شد.

بعد از اتمام مراحل پرورش شاخص‌های مختلف رشد طبق رابطه‌های موجود به شرح زیر تعیین گردید: (Dorojan et al., 2015).

وزن ابتدای دوره - وزن انتهای دوره = افزایش وزن بدن

$100 \times \frac{\text{وزن ابتدای دوره} - \text{وزن انتهای دوره}}{\text{وزن ابتدای دوره}} = \text{درصد افزایش وزن بدن}$

$100 \times \frac{\text{طول دوره آزمایش}}{\text{لگاریتم طبیعی وزن اولیه} - \text{لگاریتم طبیعی وزن نهایی}} = \text{نرخ رشد ویژه}$

$100 \times \frac{\text{طول کل ماهی برحسب سانتی‌متر}}{\text{وزن ماهی برحسب گرم}} = \text{فاکتور وضعیت}$

گرم وزن بدست آمده ماهی - غذای خورده شده (گرم) = ضریب تبدیل غذایی

$100 \times \frac{\text{تعداد ماهیان در انتهای دوره آزمایش} - \text{تعداد ماهیان در ابتدای دوره آزمایش}}{\text{تعداد ماهیان در ابتدای دوره آزمایش}} = \text{بازماندگی}$

برای تعیین مقدار هماتوکریت از روش میکروهماتوکریت استفاده شد. تعداد گلبول‌های سفید و گلبول‌های قرمز با استفاده از لام نئوبار و بعد از رقیق‌سازی خون با محلول دایس شمارش شدند. برای تعیین مقدار هموگلوبین خون از کیت تجاری زیست‌شیمی استفاده شد. حجم متوسط گلبولی خون

(MCV)، هموگلوبین گلبولی خون (MCH) و غلظت هموگلوبین گلبولی خون (MCHC) با استفاده از رابطه‌های زیر اندازه‌گیری شد (Feldman et al., 2000).

$100 \times [\text{تعداد گلبول‌های قرمز (میلیون در میلی‌متر مکعب)} \div \text{هماتوکریت}] = \text{حجم متوسط گلبولی}$
 $10 \times [\text{تعداد گلبول‌های قرمز (میلیون در میلی‌متر مکعب)} \div \text{هموگلوبین (گرم در دسی‌لیتر)}] = \text{متوسط هموگلوبین گلبولی}$
 $100 \times [\text{هماتوکریت (درصد)} \div \text{هموگلوبین (گرم در دسی‌لیتر)}] = \text{غلظت هموگلوبین گلبولی}$

نتایج حاصل از بررسی جهت بررسی آماری تحقیق حاضر نرم‌افزارهای SPSS-18 و Excell مورد استفاده قرار گرفت. در این راستا در ابتدا نرمال بودن داده‌ها با نرم‌افزار کولموگروف-اسمیرنوف مورد تأیید قرار گرفته و کلیه داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف استاندارد ثبت شد. همچنین جهت بررسی وجود اختلاف معنی‌دار برای میانگن‌ها از روش روش آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۵٪ ($p < 0.05$) استفاده شد.

نتایج

نتایج حاصل از تأثیر عصاره آویشن بر فراسنجه‌های رشد در جدول ۱ قابل مشاهده است. بر این اساس فراسنجه‌های رشد تغییر معنی‌داری را در طول دوره پرورش نشان نداد ($p > 0.05$).

جدول ۱- مقایسه شاخص‌های رشد بچه‌ماهیان کپور معمولی (*C. carpio*) پس از ۷۰ روز تغذیه با سطوح مختلف عصاره گیاه آویشن

شاخص‌های رشد	تیمار ۱ (شاهد)	تیمار ۲ (۰/۵ درصد عصاره)	تیمار ۳ (۱ درصد عصاره)	تیمار ۴ (۲ درصد عصاره)
میانگین وزن اولیه (گرم)	۱۰/۸۷ $\pm$ ۰/۰۳۳	۱۰/۷۸ $\pm$ ۰/۰۴۱	۱۰/۷۹ $\pm$ ۰/۰۴۶	۱۰/۹۰ $\pm$ ۰/۰۳۵
میانگین وزن انتهایی (گرم)	۲۰/۰۲ $\pm$ ۲/۰۳	۲۰/۸۲ $\pm$ ۱/۹۵	۱۸/۶۴ $\pm$ ۰/۹۱	۲۰/۲۲ $\pm$ ۱/۵۲
میانگین طول ابتدایی (سانتی‌متر)	۰/۲۵ $\pm$ ۰/۰۶	۹/۱۸ $\pm$ ۰/۰۷	۹/۶۹ $\pm$ ۰/۰۹۷	۹/۲۹ $\pm$ ۰/۰۵
میانگین طول انتهایی (سانتی‌متر)	۱۰/۸ $\pm$ ۰/۳۳	۱۰/۹۵ $\pm$ ۰/۳۲	۱۰/۵۲ $\pm$ ۰/۳۲	۱۰/۹۳ $\pm$ ۰/۰۷
افزایش وزن بدن (گرم)	۹/۱۵ $\pm$ ۲/۰۵	۱۰/۰۳ $\pm$ ۱/۹۱	۷/۸۴ $\pm$ ۰/۹۴	۹/۸۷ $\pm$ ۱/۴۸
درصد افزایش وزن بدن	۸۴/۲۴ $\pm$ ۱۹/۰۸۲	۹۳/۰۴ $\pm$ ۱۷/۴۶	۷۲/۶۸ $\pm$ ۹/۱۱	۸۵/۳۶ $\pm$ ۱۳/۳۹
نرخ رشد ویژه (درصد در روز)	۰/۱۳ $\pm$ ۰/۰۲۹	۰/۱۴ $\pm$ ۰/۰۲۷	۰/۱۱ $\pm$ ۰/۰۱۳	۰/۱۳ $\pm$ ۰/۰۲۱
شاخص وضعیت	۱/۵۵ $\pm$ ۰/۱۶	۱/۶۵ $\pm$ ۰/۱۳	۱/۴۸ $\pm$ ۰/۰۸۹	۱/۵۵ $\pm$ ۰/۱۰۳
ضریب تبدیل غذایی	۳/۴۳ $\pm$ ۰/۵۲	۳/۲۳ $\pm$ ۰/۵۴	۳/۵۸ $\pm$ ۰/۱۷	۳/۳۹ $\pm$ ۰/۴۹
نرخ بقا (درصد)	۹۵/۸۳ $\pm$ ۳/۶۰	۹۵/۸۳ $\pm$ ۳/۶۰	۸۹/۵۸ $\pm$ ۱۳/۰۱۰	۹۳/۷۵ $\pm$ ۶/۲۵

نتایج حاصل از بررسی‌های فراسنجه‌های خون‌شناسی در جدول ۲ آورده شده است. همان‌گونه که قابل مشاهده است هماتوکریت خون در زمان ۶ ساعت بعد از تنش شوری افزایش معنی‌داری در همه تیمارها غیر از تیمار ۳ نسبت به قبل از شوری داشت ($p < 0.05$). هماتوکریت خون در ۲۴ ساعت بعد از

تنش شوری در تیمار ۲ و در زمان ۷۲ ساعت پس از تنش در تیمار ۳ و ۴ باشد اختلاف معنی‌دار داشت ($p < 0.05$). مقدار هموگلوبین پس از تنش شوری، فقط در تیمارهای عصاره افزایش معنی‌داری را نسبت به قبل از تنش شوری نشان داد ($p < 0.05$). اما بین تیمارها تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($p > 0.05$). در بررسی گلبول سفید و قرمز تفاوت معناداری بین تیمارها و شاهد مشاهده نشد ($p > 0.05$). حجم متوسط گلبولی خون (MCV)، هموگلوبین گلبولی خون (MCH) و غلظت هموگلوبین گلبولی خون (MCHC) در زمان‌های خون‌گیری و تیمارها اختلاف معنی‌داری نشان ندادند ($p > 0.05$).

بحث و نتیجه‌گیری

آبزی‌پروری موفق زمانی حادث می‌گردد که هم‌زمان افزایش فراسنجه‌های رشد و سلامت ماهیان مد نظر باشد (Dorojan et al., 2015). در راستای رسیدن به این هدف، سال‌های اخیر استفاده از ترکیبات محرک رشد و ایمنی متعددی در جیره غذایی آبزیان پرورشی توسط محققین مورد بررسی قرار گرفته است. علی‌رغم این موضوع که در اکثر گزارشات عصاره این گیاه خاصیت تحریک ایمنی داشته است، اما گزارشات مربوط به تأثیرگذاری آن بر رشد ماهیان بسیار متنوع می‌باشد به‌طوری‌که در برخی گزارشات افزودن عصاره آویشن در جیره غذایی باعث بهبود فراسنجه‌های رشد گردید اما در گزارشات دیگر هیچ تأثیری بر رشد ماهیان نداشت. به‌عنوان مثال دوروجان و همکاران (Dorojan et al., 2015) نشان دادند که افزودن ۱٪ عصاره این گیاه به جیره در مدت ۵ هفته منجر به افزایش رشد ماهی استرلیاد شد. سونمز و همکاران (Sonmez et al., 2015)، نتیجه گرفتند که آویشن و مریم‌گلی می‌توانند به‌عنوان مکمل رشد و اسیدهای چرب ضروری تأثیر مثبت در تغذیه قزل‌آلا داشته باشد. در بررسی مشابهی عصاره ۱٪ آویشن در جیره غذایی سیم دریایی (*Dicentrarchus labrax*) باعث بهبود فراسنجه‌های رشد در این ماهی گردید (Yilmaz et al., 2012). آنها دلیل این بهبود روند رشد را این‌گونه بیان کردند که گیاهان باعث تحریک ترشح آنزیم‌های پانکراس می‌شوند که از عوامل مهم در هضم مواد مغذی و جذب آنهاست (Frankic et al., 2009).

اثرات تغذیه‌ای عصاره هیدروالکلی آویشن (*Thymus vulgaris*) بر عملکرد رشد و...

جدول ۲- تغییرات فراسنجه‌های خون‌شناسی در بچه‌ماهیان کپور معمولی (*C. carpio*) تغذیه‌شده با سطوح مختلف عصاره آویشن تحت تنش شوری

تیمار ۱ (شاهد)	تیمار ۲ (۰/۵ درصد)	تیمار ۳ (۱ درصد عصاره)	تیمار ۴ (۲ درصد عصاره)
زمان قبل از تنش	۳۰/۱۱±۱/۲۳ ^{aA}	۳۱/۶۶±۱/۵۲ ^{aA}	۳۰±۱ ^{aA}
۶ ساعت پس از تنش	۳۳/۶۶±۱/۰۴ ^{abB}	۳۴/۳۳±۰/۷۶ ^{bB}	۳۱/۵±۰/۸۶ ^{aAB}
هماتوکریت (٪)	۳۲/۳۳±۱/۵۴ ^{aAB}	۳۳/۳۳±۰/۵۷ ^{abA}	۳۱/۳۳±۱/۵۲ ^{aAB}
۲۴ ساعت پس از تنش	۳۰/۳۳±۱/۵ ^{aA}	۳۲/۵±۰/۸۶ ^{abAB}	۳۳±۱/۸۲ ^{bB}
۷۲ ساعت پس از تنش	۳۰/۹۹±۰/۶۱ ^{aA}	۸/۰۴±۰/۱۳ ^{aA}	۸/۵۹±۰/۹۸ ^{aA}
زمان قبل از تنش	۹/۴۵±۱/۱۷ ^{aA}	۹/۵۶±۱/۰۶ ^{aB}	۱۰/۵۵±۰/۶۸ ^{aB}
هموگلوبین	۸/۱۱±۰/۰۶ ^{aA}	۸/۸۶±۰/۴۴ ^{abAB}	۸/۳۱±۰/۴۸ ^{bA}
۶ ساعت پس از تنش	۸/۲۳±۰/۵۴ ^{aA}	۸/۶۲±۰/۶ ^{aAB}	۸/۵۴±۰/۷۷ ^{aA}
۲۴ ساعت پس از تنش	۱/۲۴±۰/۱۹ ^{aA}	۱/۲۷±۰/۲۸ ^{aA}	۱/۴۶±۰/۶۷ ^{aA}
۷۲ ساعت پس از تنش	۱/۳۱±۰/۴۲ ^{aA}	۱/۲۵±۰/۲۳ ^{aA}	۱/۴۳±۰/۲۵ ^{aA}
گلبول قرمز (mm ³ ×10 ⁶)	۱/۲۴±۰/۴۸ ^{aA}	۱/۳۵±۰/۲۵ ^{aA}	۱/۳۵±۰/۶۴ ^{aA}
۶ ساعت پس از تنش	۱/۰۸±۰/۳۸ ^{aA}	۱/۲۷±۰/۵۴ ^{aA}	۱/۳±۰/۷۹ ^{aA}
۲۴ ساعت پس از تنش	۱/۱۳±۱/۵۱ ^{aA}	۱/۱۸±۱/۴۴ ^{aA}	۱/۰۵±۰/۹۷ ^{aA}
گلبول سفید	۹/۳۳±۱/۲۵ ^{aA}	۱۰/۲±۱/۰۶ ^{aA}	۹/۱۶±۱/۲۵ ^{aA}
۶ ساعت پس از شوری	۱۰/۶۶±۱/۵۲ ^{aA}	۱۰/۲۶±۱/۴۵ ^{aA}	۹/۸۳±۱/۱۳ ^{aA}
۲۴ ساعت پس از شوری	۱۱/۸۳±۰/۹۲ ^{-aA}	۱۱/۴±۱/۱۱ ^{aA}	۱۱/۱۶±۰/۵۸ ^{aA}
۷۲ ساعت پس از شوری	۶۶/۰۶±۱۱/۲۸ ^{aA}	۶۶/۶۶±۲۰/۶۷ ^{aA}	۶۴/۳۷±۲۶/۷۷ ^{aA}
زمان قبل از تنش	۷۷/۲۹±۲۶/۷۶ ^{aA}	۷۵/۱۱±۵/۱۵ ^{aA}	۷۴/۶۸±۸/۱۱ ^{aA}
۶ ساعت پس از تنش	۷۶/۸۸±۹/۳۲ ^{aA}	۵۸/۰۵±۹/۰۷ ^{aA}	۷۰/۵۹±۲۹/۳۴ ^{aA}
۲۴ ساعت پس از تنش	۷۹/۷۰±۳۱/۵۰ ^{aA}	۷۴/۰۲±۲۲/۴۷ ^{aA}	۸۸/۷۳±۲۵/۲۶ ^{aA}
۷۲ ساعت پس از تنش	۲۸/۰۷±۱/۶۶ ^{aA}	۲۵/۵۶±۱/۰۳ ^{aA}	۲۶/۷۰±۴/۱۳ ^{aA}
زمان قبل از تنش	۲۸/۰۶±۳/۱۱ ^{aA}	۲۷/۲۰±۳/۶۴ ^{aA}	۳۲/۸۹±۲/۱۱ ^{aA}
۶ ساعت پس از شوری	۲۹/۴۲±۲/۵۷ ^{aA}	۲۸/۳۰±۲/۸۴ ^{aA}	۳۰/۸۴±۲/۸۰ ^{aA}
۲۴ ساعت پس از تنش	۲۷/۰۵±۱/۸۶ ^{aA}	۲۶/۵۱±۱/۳۶ ^{aA}	۲۷/۱۰±۴/۶۱ ^{aA}
۷۲ ساعت پس از تنش	۲۳۸/۶۹±۴۶/۳۳ ^{aA}	۲۵۸/۸۷±۶۹/۳۴ ^{aA}	۲۴۰/۱۹±۸۴/۶۹ ^{aA}
زمان قبل از تنش	۲۷۲/۷۳±۸۰/۴۲ ^{aA}	۲۷۴/۶۶±۳۳/۳۳ ^{aA}	۲۲۴/۲۵±۳۹/۶۰ ^{aA}
۶ ساعت پس از تنش	۲۵۲/۶۶±۵۰/۹۱ ^{aA}	۲۵۹/۶۱±۷۳/۳۴ ^{aA}	۲۲۶/۰۴±۷۰/۰۷ ^{aA}
۲۴ ساعت پس از تنش	۳۰۱/۱۶±۵۹/۴۳ ^{aA}	۳۴۷/۷۶±۷۹/۴۵ ^{aA}	۳۰/۶۵±۵۱/۱۳ ^{aA}
۷۲ ساعت پس از تنش			

حروف انگلیسی بزرگ و کوچک غیرمشابه به ترتیب بیانگر اختلاف معنادار در سطح ۰/۰۵ در هر ستون و ردیف است. داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار است.

در مطالعه حاضر افزودن ۰/۵، ۱ و ۲ درصدی عصاره آویشن در جیره غذایی منجر به بهبود فراسنجه‌های رشد در ماهی کپور معمولی نگردید که با بررسی‌های مشابه دیگری همخوانی دارد. تغذیه با ۰/۵٪ عصاره اکیناسه و کندر دارای اثرات تحریک رشد و ایمنی در ماهی اسکار (*Astronorus ocellatus*) بود. اما عصاره آویشن در جیره غذایی هیچ تأثیری در رشد و سیستم ایمنی ماهی اسکار نداشت (Alishahi et al., 2012). در بررسی دیگری تغذیه با ۰/۵٪ عصاره اکیناسه خوارکی در مدت ۷ هفته باعث بهبود فراسنجه‌های رشد در ماهی اسکار شد ولی برای عصاره‌های آویشن و لوامیزول چنین خاصیتی تأیید نشد (Abdi et al., 2010). در بررسی ایمان‌پور و همکاران (Imanpoor et al., 2012) افزودن ۱٪ روغن آویشن در جیره غذایی بر فراسنجه‌های رشد ماهی کپور معمولی تأثیرگذار نبود. همچنین براساس گزارش علیشاهی و همکاران (Alishahi et al., 2012) افزودن ارگوسان، عصاره سرخارگل (*Echinacea purpurea*) و لوامیزول در جیره غذایی تحریک رشد در ماهی کپور معمولی را به‌دنبال داشته ولی عصاره آویشن و کندر فاقد این تأثیر بودند. هر چند بقای ماهی در بین تیمارها در طول دوره تحقیق تفاوت معنی‌داری را نشان نداد، ولی باید به این نکته توجه داشت که تأثیر محرک‌های ایمنی در میزان بقای ماهی معمولاً در دوره‌های طولانی‌تر (۶ ماه) باعث ایجاد تغییرات معنی‌دار می‌شود (Heidarieh et al., 2010).

تغییر در پارامترهای هماتولوژیکی از جمله واکنش‌هایی است که جانور در پاسخ به تنش از خود نشان می‌دهد. بخشی از این تغییرات وابسته به ویژگی‌های خود گلبول‌های قرمز است مانند تغییر در اندازه سلول و میزان ذخیره هموگلوبین و بخشی دیگر به غلظت پلاسما بستگی دارد که می‌تواند اثر خود را به‌صورت تغییر در تعداد گلبول‌ها در واحد حجم و هم‌چنین تغییر میزان هماتوکریت نشان دهد (Milligan and Wood, 1982). براساس نتایج بدست آمده، فاکتور هماتوکریت در ماهیان مورد بررسی افزایش معنی‌داری در تیمار شاهد و تیمار تغذیه شده با ۱٪ عصاره نسبت به قبل از شوری داشت. ۷۲ ساعت بعد از تنش تیمار ۳ و ۴ در میزان هماتوکریت خون تغییر معنی‌داری با شاهد داشتند. در ارتباط با شوری و میزان هماتوکریت، در برخی از ماهیان اختلاف معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد که این وضعیت را به‌علت عدم وابستگی تغییرات اسمزی با نیاز اکسیژنی ماهی دانسته‌اند (Ziegeweid and Black, 2010). در عین‌حال افزایش هموگلوبین در ۶ ساعت پس از تنش در تیمارهای تغذیه شده با عصاره ۰/۵٪، ۱٪ و ۲٪ ثبت گردید. که این افزایش می‌تواند منجر به افزایش قدرت اکسیژن‌رسانی و در نتیجه تحمل بهتر شرایط استرسی گردد. در سایر فراسنجه‌ها تغییر معنی‌داری بین تیمارهای مختلف در طی ۷۲ ساعت پس از تنش ثبت نگردید. در گزارش اکبری و همکاران (Akbari et al., 2015) تعداد گلبول‌های قرمز خون ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در تیمارهای تغذیه‌شده با عصاره ۰/۵٪، ۱٪ و ۲٪ به‌مدت ۷ هفته با آویشن تغییری نشان ندادند. اما گلبول‌های سفید در

تیمارهای تغذیه‌شده با آویشن نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت. در بررسی علیشاهی و همکاران (Alishahi *et al.*, 2012) تغذیه با عصاره آویشن، لوامیزول، ارگوسان و سه عصاره گیاهی سرخارگل، کندر و آویشن در ماهی کپور باعث تغییر در فراسنجه‌های خونی ماهی کپور معمولی نگردید. در بررسی دیگری ۸ هفته تغذیه با ۱٪ عصاره آویشن منجر به افزایش فعالیت فاگوسیتوز گلبول‌های سفید و نیز افزایش تعداد گلبول‌های سفید و قرمز خون ماهی تیلاپیا گردید (Gultepe *et al.*, 2014). شریف‌روحانی و همکاران (Sharif Rohani *et al.*, 2013)، با بررسی اثر عصاره آویشن بر برخی فراسنجه‌های خونی قره‌برون نتیجه گرفتند که همتوکریت و گلبول‌های سفید تفاوت معناداری بین تیمارها از خود نشان ندادند. در بررسی حاضر همان‌گونه که مشاهده می‌گردد تغییری در تعداد گلبول‌های سفید در هیچ کدام از تیمارها ثبت نگردید در عین حال این تغییر در طی ۷۲ ساعت پس از تنش نیز معنی‌دار نبوده است. تفاوت‌های مشاهده شده در نتایج حاصل از مطالعات مختلف می‌تواند ناشی از تفاوت در محدوده اپتیمم شوری هر ماهی و همچنین قابلیت تطابق ماهی با تغییرات شوری باشد (Morgan and Iwama, 1991).

در این مطالعه، نرخ بازماندگی در بین تیمارها در مواجهه با تنش شوری تفاوت معنی‌دار نداشت. طبق یافته‌های کوراتا (Kurata, 1959)، بقاء ماهیان به توانایی عملکرد مایعات بدن، حداقل برای مدت کوتاهی نسبت به شرایط غیرطبیعی اسمز درونی و غلظت یونی بستگی دارد. ماهیان به‌منظور برگرداندن سطح استرس اسمزی نزدیک به حالت طبیعی، می‌توانند مایعات بدن را تنظیم کنند. مهاجرت یا انتقال ناگهانی ماهی از آب شیرین به دریا، به‌طور طبیعی منجر به افزایش غلظت اسمزی سرم خون و تغییر در محتوای یونی ماهیان می‌شود (Gordon, 1959). احتمال می‌رود این تنش شوری برای ماهیان سائز مورد بررسی حاضر چندان تنش‌زا نباشد، با توجه به بازماندگی بچه‌ماهیان کپور در مواجهه با تنش شوری ۱۳ ppt، ماهیان مذکور را می‌توان مستقیماً در دریا رهاسازی نمود و این امر در شرایط خشکی و کم آبی رودخانه‌ها می‌تواند بسیار مفید باشد. براساس نتایج بررسی حاضر افزودن عصاره آویشن در سطوح ۰/۵، ۱ و ۲ درصد جیره تأثیری در شاخص‌های رشد و فراسنجه‌های خونی ماهی کپور معمولی در مواجهه با استرس شوری نداشت. بررسی استفاده از گیاه آویشن در مقادیر بالاتر به‌منظور ارزیابی تأثیر این گیاه بر فاکتورهای رشد، بقا و شاخص‌های خونی توصیه می‌شود.

منابع

Abdi A., Alishahi D., Misbah M. 2010. Comparison of the effect of levamisol, Echinacea extract and Thyme on survival and growth factor in Oscar.

- Proceeding of the 1st Iranian ornamental fishes Conference, pp: 1-7. (In Persian).
- Akbari P., Ghareghani poor M., Fereidouni M.S. 2015. Effect of *Zataria multifelora* Boiss and *Menta pulegium* extract on Phagocytosis, Lysozume, Respiratory Burst and blood Cells of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum). Journal of Veterinary Research, 70(4): 447-454.
- Alishahi M., Mesbah M., Namjavan F., Sabzevaryzadeh M., Razy Jalaly M. 2012. Compare the effect of some immune-stimulating chemical plant Oscar fish (*Astronotus ocellatus*). Iranian Veterinary Journal, 8(2): 58-68. (In Persian).
- Alishahi M., Soltan M., Mesbah M., Esmaeilli Rad A. 2011. Effects of *dietarysilybum marianum* extrecton immune parameters of the Common carp (*Cyprinus carpio*). Journal of Veterinary Research, 66(3): 255-263.
- Alishahi M., Soltani M., Mesbah M., Zargar A. 2012. Immunostimulatory and growth stimulation Effects of Ergosan, Levamisole and herbal extracts in *Cyprinus carpio*. Journal of Veterinary Research, 67(2): 135-142.
- Bolasina S.N. 2011. Stress respone of juvenile flounder (*Paralichthys orbignyanus*, *Valeniennes Poecilia*) reticulate. Diseases of Aquatic Organisms, 38: 135-142.
- Chen C., Wooster G.A., Bowser P.R. 2004. Comparative blood chemistry and histopathology of Tilapia infected with *Vibrio vulnificus* or *Streptococcus iniae* or exposed to carbon tetrachloride, gentamicin or copper sulfate. Aquaculture, 239: 421-443.
- Dorojan O.G., Cristea V., Crețu M., Coadă M.T., Dediu Grecu I.R., Placinta S. 2015. Effect of thyme (*Thymus vulgaris*) and vitamin E on growth performance and body composition of *Acipenser stellatus* juveniles. Aquaculture, Aquarium, Conservation & Legislation International Journal of the Bioflux Society, 8(2): 195-202.
- Erdemoglu N., Kupeli E., Yesilada E. 2003. Anti-inflammatory and antinociceptive assessment of plants used as remedy in Turkish folk medicine. Journal of Ethnopharmacology, 89: 123-129.
- Feldman B.F., Zinkl J.G., Jian N.C. 2000. Schalm's veterinary hematology. 3rd Edition, Lippincott Williams and Wilkins publication, Philadelphia, USA, pp: 32-36.
- Frankic T, Voljc M., Salbobir J., Rexar V. 2009. Use of herbs spices and their extracts in animal nutrition. Acta Agriculturae Slovenica, 94(2): 95-102.
- Gordon M.S. 1959. Ionic regulation in the brown trout (*Salmon trutta*). Journal of Experimental Biology, 36: 227-252.
- Gultepe N., Bilen S., Yilmaz S., Guroy D., Aydin S. 2014. Effects of herbs and spice on health status of tilapia (*Oreochromis mossambicus*) challenged with *Streptococcus iniae*. Acta Veterinaria Brno, 83: 125-131.
- Heidarieh M., Afsharnasab M., Soltani M., Dashtyannasab A., Rajabifar S. Sheikhzadeh N. 2010. Effects of ergosan and vibromax to prevent vibriosis and

- WSSV in *Litopenaeus vannamei*, Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 5: 120-125.
- Imanpoor M.R., Shabanpoor B., Taghizadeh V., Hanaee Kashani Z. 2012. Effect of dietary thyme oil and vitamin E on growth, survival and serum lipoproteins of common carp (*Cyprinus carpio*). M.Sc. thesis. Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran. (In Persian).
- Javed M., Durrani F.R., Hafees A., Khan R.U., Ahmad I. 2009. Effect of aqueous extract of plant mixture on carcass quality of broiler chicks. ARPN Journal of Agriculture Biology Science, 4: 37-40.
- Kurata H. 1959. Preliminary report on the rearing of herring larvae. Bulletin Hokkaido Resource Fish Laboratory, 20:117-138.
- Milligan C.L., Wood C.M. 1982. Disturbances in hematology, fluid volume distribution and circulatory function associated with low environmental pH in the rainbow trout, *Salmo gairdneri*. The Journal of Experimental Biology, 99: 397-415.
- Morgan L.D., Iwama G.K. 1991. Effects of salinity on growth, metabolism, and ion regulation in juvenile rainbow and steelhead trout (*Oncorhynchus mykiss*) and fall Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 48: 2083-2094.
- Naghdi Badi H., Makkizadeh M. 2003. Review of common thyme. Journal of Medicinal Plants, 2(7): 1-12.
- Nessrien M.N., Abou-Taleb Y. 2007. Antioxidant and Antimicrobial Effects of Marjoram and Thyme in Coated Refrigerated Semi Fried Mullet Fish Fillets. World Journal of Dairy and Food Sciences, 2(1): 1-9.
- Rahman M.M. 2015. Role of Common Carp (*Cyprinus carpio*) in aquaculture production systems. Frontiers in Life Science, 8(4): 1-12.
- Ramsay J.M., Feist G.W., Varga Z.M., Westerfield M., Kent M.L., Schreck C.B. 2006. Whole- body Cortisol is an indicator of crowding stress in adult zebra fish, *Danio rerio*. Aquaculture, 258: 565-574.
- Sharif Rohani M., Masoumzadeh M., Haghighi M., Jalilpoor Pourdehghani M., Shenvavar Masouleh A., Alizadeh M., Bazari Moghdam S. 2013. Effects of oral administration of *zataria multiflora* essential oil on some blood and serum parameters in *Acipenser persicus*. Iranian Journal of Fisheries Sciences, 12(4): 908-915.
- Sharif Salih S. 2012. The Antimicrobial Activity of Ethanol Extract of *Thymus vulgaris* on *Salmonella typhi* in Rabbits. British Journal of Pharmacology and Toxicology, 3(4): 147-150.
- Soltan Dallal D.M., Bayat M., Yazdi D.H., Amir S.A., Ghorbanzadeh Meshkani M., Abedi D. 2012. Antimicrobial effect of *zataria multiflora* antibiotic-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from food. Scientific Journal of Kurdistan University of Medical Sciences, 17(2). 21-29. (In Persian).

- Sonmez A.Y., Bilen S., Albayrak M., Yilmaz S., Biswas G., Hisar O., Yanık T. 2015. Effects of Dietary Supplementation of Herbal Oils Containing 1,8-cineole, Carvacrol or Pulegone on Growth Performance, Survival, Fatty Acid Composition, and Liver and Kidney Histology of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Fingerlings. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 15(4): 813-819.
- Varmaso S., Nebel C., Charmantier G. 2005. Ontogeny of osmoregulation in post-embryonic. Fish Comparative Biochemistry and Physiology A: Molecular and Integrative Physiological, 141: 401-429.
- Yilmaz S., Ergün S., Çelik E.S. 2012. Effects of herbal supplements on growth performance of sea bass (*Dicentrarchus labrax*): Change in body composition and some blood parameters. Journal of Bioscience Biotechnology, 1(3): 217-222.
- Ziegeweid J.R., Black M.C. 2010. Hematocrit and plasma osmolality values of young-of-year shortnose sturgeon following acute exposures to combinations of salinity and temperature. Fish Physiology and Biochemistry, 36: 963-968.

Effects of dietary thyme (*Thymus vulgaris*) extract on growth indices and some hematological parameters in Common carp *Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758 exposed to salinity stress

Reza Gholitabar Z¹., Jafari V^{2*}., Mazandarani M³.

¹ M.Sc., Department of Fisheries, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

² Associate Professor, Department of Fisheries, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

³ Assistant Professor, Department of Fisheries, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

Received: 9-1-2017 ; Accepted: 12-5-2018

Abstract

To survey the effects of dietary thyme extract on common carp (*C. carpio*), 180 fish (average weight; 10.84 ± 0.063) were divided into four groups with triplicates (each replicate with 15 fish) and fed with different levels of dietary thyme extract including 0, 0.5, 1, and 2 % for 70 days. At the end of the rearing period, 30 fish from each group were exposed to 13 ppt salinity for 12 h and were studied for hematological parameters. Blood samples were withdrawn from caudal peduncles before and after 6, 24, and 72 h salinity stress. In the present study, thyme extract supplementation in diet had no effect on growth performance. Hematology investigation after salinity stress revealed an increment in hematocrit level in the 0.5 % treatment compared to the control group. Also, the hematocrit level was significantly different in 1% and 2% treatments compared with the control after 72 h salinity stress. Hemoglobin levels were significantly increased in treated groups after 6 h salinity stress. White blood cells (WBC) number, red blood cell (RBC) number, and hematological parameters (MCV, MCH, MCHC value) didn't show significant differences among all studied treatments. Consequently, 0.5, 1, and 2 % of dietary thyme extract had no effect on growth performances and hematological parameters in common carp during salinity stress conditions.

Keywords: *C. carpio*, Thyme extract, Hematological parameters, Salinity stress.

*Corresponding author; vjafari110@yahoo.com