



## مقایسه تأثیر تیمول بر کاهش استرس در حمل و نقل کوتاه‌مدت مولدین ماهی سفید (*Rutilus kutum*) (Nordmann, 1840) در رودخانه‌های شیروود و سردآبرود استان مازندران

محسن پورعباسعلی<sup>۱</sup>، حجت اله جعفریان<sup>۱\*</sup>، حسین آدینه<sup>۱</sup>، رحمان پاتیمار<sup>۱</sup>، محمد فرهنگی<sup>۱</sup>

<sup>۱</sup> گروه شیلات، دانشکده علوم کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران.

نوع مقاله:

پژوهشی اصیل

تاریخچه مقاله:

دریافت: ۳/۰۹/۱۱

پذیرش: ۳/۱۰/۰۴

نویسنده مسئول مکاتبه:

حجت اله جعفریان، گروه شیلات،  
دانشکده علوم کشاورزی و منابع  
طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد  
کاووس، ایران.

ایمیل:

hojat.jafaryan@gmail.com

چکیده

مطالعه حاضر به بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف تیمول بر کاهش استرس در حمل‌ونقل کوتاه‌مدت مولدین ماهی سفید (*Rutilus kutum*) پرداخته است. در این تحقیق، ۲۴ عدد ماهی از رودخانه‌های شیروود و سردآبرود (مازندران) با میانگین وزنی  $910/25 \pm 321/51$  و  $911/75 \pm 284/06$  گرم صید شدند. مولدین در ۱۲ کیسه پلاستیکی شفاف با ظرفیت ۵۰ لیتر و حجم آب ۱۵ لیتر به مدت سه ساعت حمل شدند. غلظت‌های مختلف تیمول (شاهد،  $0/25$ ،  $0/375$  و  $0/50$  میلی‌گرم در لیتر) به آب اضافه شد. نمونه خون از ورید ساقه دمی گرفته شد و شاخص‌های بیوشیمیایی سرم اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که تیمول به‌طور معنی‌داری باعث کاهش گلوکز، کورتیزول، ایمونوگلوبولین کل و مالون دی آلدئید و افزایش لیزوزیم، کمپلمان، کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز شد ( $p < 0/05$ ). همچنین، سطح گلوکز در تیمارهای  $0/375$  و  $0/50$  میلی‌گرم تیمول در مولدین رودخانه سردآبرود بیشتر بود ( $p < 0/05$ )، در حالی که سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری نداشتند ( $p > 0/05$ ). غلظت کورتیزول نیز تحت تأثیر غلظت‌های بالای تیمول در مولدین سردآبرود افزایش یافت ( $p < 0/05$ ). اما در گروه شاهد و تیمار  $0/25$  میلی‌گرم تیمول در مولدین صید شده از رودخانه شیروود در سطح بالاتری قرار داشت ( $p < 0/05$ ). میزان لیزوزیم در تیمار  $0/50$  میلی‌گرم تیمول در مولدین رودخانه سردآبرود بیشتر بود ( $p < 0/05$ ). فعالیت کمپلمان، ایمونوگلوبولین کل، کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و مالون دی آلدئید نیز در تمامی تیمارهای آزمایشی و گروه شاهد در مولدین رودخانه شیروود به‌طور معنی‌داری بیشتر بود ( $p < 0/05$ ). در نهایت، به نظر می‌رسد استفاده از  $0/50$  میلی‌گرم تیمول می‌تواند به کاهش استرس در حمل‌ونقل‌های کوتاه‌مدت مولدین ماهی سفید کمک کند.

واژه‌های کلیدی: کیسه پلاستیکی، شاخص‌های بیوشیمیایی سرم، فعالیت آنزیمی، پروتئین کل، گلوکز

### ۱ | مقدمه

روش‌های متداول و مورد استفاده برای حمل و نقل ماهیان استفاده از کیسه‌های پلاستیکی حاوی آب و اکسیژن است (Carneiro and Urbinati, 2001). طبق گزارشات این روش اثرات منفی بر کیفیت آب و سلامت ماهیان دارد. به عنوان مثال، افزایش آمونیاک، کاهش pH و اکسیژن محلول، و افزایش سطح کورتیزول و گلوکز از جمله پیامدهای استرس ناشی از حمل و نقل ماهیان توسط کیسه‌های پلاستیکی گزارش است. سیستم ایمنی ماهی را مختل کرده و حساسیت به بیماری‌ها را افزایش دهد (Mirghaed

عملیات مختلف از جمله صید، جابجایی و حمل و نقل ماهیان از جمله فرایندهای رایج و ضروری در فرایندهای صید و محیط‌های آبی‌پروری هستند. این عملیات به عنوان منبع استرس برای ماهیان شناخته می‌شوند و احتمالاً تغییرات رفتاری، فیزیولوژیکی و آسیب‌های جسمی را برای ماهیان به همراه دارند که در نهایت سلامت ماهیان را تحت تأثیر قرار خواهد داد (Rehman et al., 2017; Barton, 2002).

حمل و نقل نامناسب می‌تواند به ایجاد استرس در ماهیان و تغییر در پارامترهای کیفی آب منجر شود. یکی از

- Félix؛ Tennant *et al.*, 2019) موجودات نیز کمک می‌کند (Calabrese *et al.*, 2024 *et al.*, 2021).
- تیمول (۲-ایزوپروپیل-۵-متیل‌فنل) ترکیبی فنولی است که در برخی گیاهان از جمله آویشن (*Thymus vulgaris*) (Yousefi *et al.*, 2018)، مرزنگوش (*Origanum heracleoticum*)، ریحان (*Ocimum gratissimum*)، زنیان (*Carum copticum*)، لعل کوهستان (*Oliveria decumbens* Vent) و مرزه (*Satureja L*) یافت می‌شود (Escobar *et al.*, 2020). این ماده اثرات مفیدی روی خواص آنتی‌اکسیدانی، ضد التهابی، ضد میکروبی، ضد ویروسی، ضد سرطانی و ایمنی‌زایی دارد (Escobar *et al.*, 2020). این ماده دارای خواص بیهوش‌کنندگی نیز می‌باشد (Aydın and Barbas, 2020). اخیراً تیمول به عنوان یک آرام‌بخش طبیعی مورد توجه قرار گرفته است. این ترکیب نه تنها خاصیت ضد درد دارد، بلکه بر روی کانال‌های سدیم و پتاسیم و همچنین گیرنده‌های GABAA و آدرنرژیک  $\alpha$  و  $\beta$  تأثیر می‌گذارد. این ویژگی‌ها باعث می‌شود که تیمول گزینه‌ای جذاب برای کاهش استرس و آرامش بخشی در شرایط مختلف باشد (Guimarães *et al.*, 2013). اثرات مفید تیمول احتمالاً به دلیل به توانایی آن در جذب رادیکال‌های بسیار واکنش‌پذیر و افزایش آنتی‌اکسیدان‌های سلولی آنزیمی و غیر آنزیمی است که منجر به کاهش آسیب اکسیداتیو به ماکرومولکول‌های مختلف از جمله لیپیدها و پروتئین‌ها می‌شود (Hoseini and Yousefi, 2019)؛ (Alagawany *et al.*, 2021).
- طبق نتایج به دست آمده تیمول اثرات مفیدی روی عملکرد رشد، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و مقاومت در برابر عوامل بیماری‌زا در گربه ماهی کانال (*Ictalurus punctatus*) (Zheng *et al.*, 2009) و گربه ماهی (*R. quelen*) (Bianchini *et al.*, 2017) دارد. استفاده از ۱۵۰-۲۰ میلی گرم بر لیتر تیمول باعث بیهوشی ماهی کپور (*Cyprinus carpio*) شد. سیستم آنتی‌اکسیدانی را تقویت کرد و عوارض جانبی کمتری نسبت به سایر مواد بیهوش‌کننده مانند اوژنول در القای استرس، استرس اکسیداتیو و آسیب بافتی نشان داد (Yousefi *et al.*, 2018).
- در مطالعه‌ای دیگر، Mirzargar *et al.*, (2021) گزارش کردند که استفاده از ۵ میلی‌گرم تیمول در هر لیتر آب حمل و نقل ماهی کپور منجر به کاهش استرس شد، در حالی که غلظت‌های بالاتر باعث تشدید استرس شد. ترکیب Tort, Parodi *et al.*, 2014 and Ghelichpour, 2019 (2011).
- در سال‌های اخیر، تدابیر متنوعی برای کاهش استرس ناشی از حمل و نقل در ماهیان مورد توجه قرار گرفته است. استفاده از مواد آرام‌بخش در آب از مهم‌ترین روش‌های مورد استفاده می‌باشد (Aydın and Barbas, 2020; Rodrigues, 2009; Brandão *et al.*, 2021; Zahl *et al.*, 2009). این مواد به منظور جلوگیری از آسیب‌های فیزیکی و کاهش پاسخ‌های فیزیولوژیکی به استرس استفاده می‌شوند تا سلامت ماهیان بهبود یابد (Tondolo *et al.*, 2013). استفاده از غلظت‌های پایین مواد آرام‌بخش می‌تواند فعالیت بدنی را کاهش داده و منجر به کاهش استرس در ماهیان گردد (Zeppenfeld, 2014; Becker *et al.*, 2012; Parodi *et al.*, 2014). استفاده از مواد گیاهی به دلیل مزایای بالقوه‌ای که بر سلامت ماهیان دارند مورد توجه بیشتری برای آرام‌بخشی و حمل و نقل ماهیان قرار گرفته است (Hoseini *et al.*, 2019; Souza *et al.*, 2019; Can and Sümer, 2019; Rodrigues *et al.*, 2020; Aydın and Barbas, 2020). در مطالعه Toni *et al.*, (2015) گزارش شد که روغن به‌لیموی سفید (*Lippia alba*) نسبت به ۲-فنوکسی اتانول باعث افزایش استرس (افزایش سطح کورتیزول، گلوکز و لاکتات) در ماهی سیم دریایی (*Sparus aurata*) طی حمل و نقل چهار ساعته شد. به‌طور مشابه، حمل و نقل ماهی فلاندر برزیلی (*Paralichthys orbignyanus*) با روغن به‌لیمو (*Aloysia gratissima*) و ریحان میخکی (*Ocimum gratissimum*) نیز تفاوت آماری معنی‌داری در سطح گلوکز نشان داد (Benovit *et al.*, 2012). استفاده از اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی *L. alba* (Azambuja *et al.*, 2011)، به‌لیمو (*Aloysia triphylla*) (Zeppenfeld *et al.*, 2014)، و کنزاليا (*Candalia buxifolia*) (Salbego *et al.*, 2015) طی حمل و نقل منجر به کاهش استرس و شرایط اکسیداتیو در گربه ماهی نقره‌ای (*Rhamdia quelen*) شد. این تناقضات به وضوح اهمیت بهینه‌سازی غلظت‌های مورد استفاده از مواد آرام‌بخش را طی فرآیند حمل و نقل آبریان نمایان می‌سازد. در واقع، انتخاب مناسب غلظت این مواد می‌تواند اثرات مثبت و منفی معنی‌داری روی گونه‌های مختلف آبریان داشته باشد. بنابراین، توجه به این نکته نه تنها برای حفظ سلامت و رفاه ماهیان ضروری است، بلکه به بهبود کیفیت حمل و نقل و کاهش استرس در این

۰/۳۷۵ و ۰/۵۰ میلی‌گرم در لیتر) به هر کیسه اضافه شد. درب کیسه‌ها محکم بسته شد. مولدین درون کیسه‌های پلاستیکی به مدت ۳ ساعت توسط وانت تا کارگاه تکثیر و پرورش ماهیان شهید رجایی (ساری) منتقل شدند. بلافاصله پس از حمل و نقل از تمامی ماهیان خون‌گیری از طریق ورید ساقه دمی با استفاده از سرنگ و سرسوزن مناسب (۵ mL) انجام شد.

از هر نمونه تقریباً ۲ میلی‌لیتر خون تهیه گردید که به اپندروف‌های فاقد ماده ضد انعقاد منتقل شد. نمونه‌های خون به سرعت در کنار یخ به آزمایشگاه ارسال شدند. نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. سپس درون دستگاه سانتریفیوژ قرار گرفتند. با سرعت  $5000 \times \text{rpm}$  به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند. سرم از سلول‌های خونی جداسازی و سرم‌های حاصل با استفاده از سمپلر به اپندروف‌های جدید منتقل گردید. این سرم‌ها تا زمان شروع آزمایشات در فریزر با دمای  $-80$  درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (Singer et al., 2002).

سنجش پارامترهای بیوشیمیایی توسط دستگاه اتوآنالایزر (Mindray BS-200، چین) طبق دستورالعمل شرکت سازنده با استفاده از کیت‌های تجاری شرکت پارس آزمون (تهران) انجام شد. سنجش میزان پروتئین کل به روش بیوره<sup>۱</sup>، گلوکز به روش گلوکز اکسیداز<sup>۲</sup>، آلانین آمینو ترانسفراز (ALT<sup>۳</sup>) و اسپاراتات آمینو ترانسفراز (AST<sup>۴</sup>) به روش رنگ سنجی کینتیک، آلکالین فسفاتاز (ALP<sup>۵</sup>) به روش آنزیماتیک کینتیک، آل‌بومین به روش بروموکرزول گرین<sup>۶</sup> (Borges et al., 2004) و کورتیزول به روش ELISA مستقیم با استفاده از کیت سنجش هورمون کورتیزول (Deane and Woo, 2003) اندازه‌گیری شد. میزان فعالیت آنزیم لیزوزیم نیز با استفاده از روش کدورت-سنجی از طریق سنجش میزان فعالیت باکتریایی *Micrococcus lysodeikticus* اندازه‌گیری شد (Subramanian et al., 2007).

قبل و بعد از حمل و نقل شاخص‌های فیزیوشیمیایی آب مورد سنجش قرار گرفتند. میانگین دمای آب  $24 \pm 1$  درجه سانتی‌گراد، اکسیژن محلول  $7/30 \pm 1/00$  میلی‌گرم

تیمول و کارواکرول نیز غلظت نیتریک اکسید (NO) را در آب کاهش داد، کارایی تغذیه را بهبود بخشید. برخی پارامترهای ایمنی ذاتی را تحت تأثیر قرار داد. ظرفیت‌های حفاظتی آنتی‌اکسیدانی را در فیله قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) طی پنج روز ذخیره‌سازی در یخچال افزایش داد (Giannenas et al., 2012).

ماهی سفید (*Rutilus kutum*) از مهم‌ترین آبزیان بومی دریای خزر می‌باشد که به دلیل ارزش غذایی و اقتصادی بالای آن توجه ویژه‌ای به نگهداری آن وجود دارد. استفاده از ترکیبات طبیعی مانند تیمول می‌تواند راه‌حلی مناسب برای کاهش استرس و حفظ سلامت این گونه به ویژه بعد از صید و حمل و نقل آن‌ها به مراکز تکثیر باشد. با توجه به نبود اطلاعات کافی درباره کارایی و اثرات بخشی تیمول در حمل و نقل ماهی‌هان مولد، به خصوص ماهی سفید، مطالعه حاضر روی پاسخ‌های استرس و فعالیت آنزیمی ناشی از این ترکیب طی حمل و نقل‌های کوتاه مدت مولدین ماهی سفید با کیسه‌های پلاستیکی تمرکز دارد.

## ۲ | مواد و روش‌ها

تحقیق حاضر در غالب طرح کاملاً تصادفی طراحی و اجرا شد. برای انجام تحقیق ۲۴ عدد ماهی مولد در فروردین ماه ۱۴۰۲ طی دوره تخم‌ریزی ماهی سفید (اسفند تا فروردین) توسط تور گوشگیر با اندازه چشمه ۲۸ میلی‌متر از دو رودخانه شیروود و سردآبرود در استان مازندران صید شدند. پس از صید طول کل و وزن مولدین به ترتیب توسط تخته زیست سنجی با دقت ۱ میلی‌متر و ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۱ گرم اندازه‌گیری شد. میانگین طول کل و وزن مولدین رودخانه شیروود به ترتیب  $5/35 \pm 45/33$  سانتی‌متر و  $321/51 \pm 910/25$  گرم و رودخانه سردآبرود به ترتیب  $6/22 \pm 45/01$  سانتی‌متر و  $384/06 \pm 911/75$  گرم بود. به منظور بررسی تأثیر تیمول بر پارامترهای بیوشیمیایی سرم، ابتدا مولدین صید شده از هر رودخانه در ۱۲ کیسه پلاستیکی حاوی ۱۵ لیتر آب و ۳۵ لیتر اکسیژن خالص با تراکم دو عدد ماهی مولد در هر کیسه پلاستیکی ذخیره‌سازی شدند. هر تیمار شامل سه کیسه پلاستیکی (تکرار) بود. سپس غلظت‌های مختلف تیمول (۰ (شاهد)، ۰/۲۵،

<sup>4</sup> Aspartate transaminase

<sup>5</sup> Alkaline phosphatase

<sup>6</sup> Bromocresol Green

<sup>1</sup> Biuret

<sup>2</sup> Glucose oxidase

<sup>3</sup> Alanine transaminase

تیومول به طور معنی‌داری کمتر از گروه شاهد بود ( $p < 0/05$ ). کمترین میزان گلوکز ( $1/50 \pm 76/50$  میلی-گرم بر دسی لیتر)، کورتیزول ( $0/50 \pm 83/50$  نانوگرم بر میلی‌لیتر) و فعالیت کاتالاز ( $0/10 \pm 14/20$  واحد در میلی‌لیتر) در تیمار  $0/50$  میلی‌گرم تیمول در هر لیتر آب حمل و نقل ثبت شد.

میزان فعالیت آنزیم مالون دی‌آلدئید در تیمار تحت تاثیر  $0/25$  میلی‌گرم تیمول به طور معنی‌داری بیشتر از گروه شاهد بود ( $p < 0/05$ ). اما در تیمار تحت تاثیر  $0/50$  میلی‌گرم تیمول به طور معنی‌داری کمتر از گروه شاهد بود ( $p < 0/05$ ). فعالیت لیزوزیم و سوپراکسید دیسموتاز در تمامی تیمارهای تحت تاثیر تیمول به طور معنی‌داری بیشتر از گروه شاهد بود ( $p < 0/05$ ).

فعالیت کمپلمان و ایمنوگلوبولین کل نیز در تیمارهای  $0/375$  و  $0/50$  میلی‌گرم در لیتر تیمول به طور معنی‌داری بیشتر از گروه شاهد بود ( $p < 0/05$ ); اما بین تیمار  $0/25$  میلی‌گرم تیمول و گروه شاهد اختلاف آماری معنی‌داری وجود نداشت ( $p > 0/05$ ).

بر لیتر، هدایت الکتریکی  $370 \pm 49$  میکروزیمنس بر سانتی‌متر و  $7/80 \pm 0/89$  pH بود.

برای انجام تحلیل‌های آماری، ابتدا نرمال بودن داده‌ها توسط آزمون شاپیرو-ویلک<sup>۷</sup> و بررسی همگنی واریانس‌ها توسط آزمون لوون بررسی شد. پس تأیید نرمال بودن داده‌ها، اختلاف کلی بین میانگین‌ها با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه<sup>۸</sup> و آزمون تعقیبی دانکن<sup>۹</sup> مقایسه شد. همچنین، برای مقایسه پارامترهای اندازه‌گیری شده بین دو رودخانه از آزمون t-test در سطح اطمینان ۹۵٪ بهره گرفته شد. تمامی آنالیزهای آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۳ و رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار اکسل نسخه ۲۰۱۳ انجام شد.

### ۳ | نتایج

در جدول ۱، نتایج شاخص‌های بیوشیمیایی سرم خون در نمونه‌های صید شده از رودخانه شیرود آورده شده است. نتایج آنالیز واریانس یک‌طرفه نشان داد که میزان گلوکز، کورتیزول و فعالیت آنزیم کاتالاز در تیمارهای تحت تاثیر

جدول ۱: مقایسه پارامترهای بیوشیمیایی سرم خون مولدین صید شده از رودخانه شیرود تحت تاثیر تیمول در حمل و نقل‌های کوتاه مدت

شاخص	گروه شاهد	T1 ( $0/25$ mg/l)	T2 ( $0/375$ mg/l)	T3 ( $0/50$ mg/l)
گلوکز (mg/dl)	$146/00 \pm 1/00^a$	$126/00 \pm 3/00^b$	$80/50 \pm 1/50^c$	$76/50 \pm 1/50^d$
کورتیزول (ng/ml)	$192/00 \pm 5/00^a$	$166/00 \pm 5/00^b$	$95/50 \pm 1/50^c$	$83/50 \pm 0/50^d$
لیزوزیم (u/ml/min)	$22/55 \pm 1/05^d$	$24/90 \pm 0/80^c$	$28/90 \pm 0/70^a$	$26/95 \pm 0/75^b$
فعالیت کمپلمان (u/ml)	$131/50 \pm 0/50^b$	$132/50 \pm 3/50^b$	$138/50 \pm 0/50^a$	$137/00 \pm 1/00^a$
ایمنوگلوبولین کل (mg/ml)	$29/35 \pm 0/15^b$	$29/50 \pm 0/80^b$	$30/80 \pm 0/40^a$	$30/20 \pm 0/40^{ab}$
کاتالاز (u/ml)	$15/40 \pm 0/10^a$	$15/05 \pm 0/15^b$	$14/70 \pm 0/10^c$	$14/20 \pm 0/10^d$
سوپراکسید دیسموتاز (u/ml)	$65/95 \pm 0/35^c$	$76/40 \pm 1/20^a$	$73/45 \pm 0/75^b$	$72/75 \pm 0/85^b$
مالون دی‌آلدئید (nmol/ml)	$216/00 \pm 15/00^b$	$256/50 \pm 4/50^a$	$211/00 \pm 6/00^b$	$175/00 \pm 8/00^c$

\*حروف غیرمتشابه در هر ردیف بیانگر وجود اختلاف آماری معنی‌دار می‌باشد ( $p < 0/05$ ).

در حالی که فعالیت لیزوزیم، فعالیت کمپلمان، ایمنوگلوبولین کل و سوپراکسید دیسموتاز در تمامی تیمارهای تحت تاثیر تیمول به طور معنی‌داری بیشتر از گروه شاهد بود ( $p < 0/05$ ).

در جدول ۲، نتایج ارزیابی شاخص‌های بیوشیمیایی سرم خون نمونه‌های صید شده از رودخانه سردآبرود آورده شده است. بر اساس نتایج به دست آمده میزان گلوکز، کورتیزول، کاتالاز و مالون دی‌آلدئید در تمامی تیمارهای تحت تاثیر تیمول به طور معنی‌داری کمتر از گروه شاهد بود

<sup>9</sup> Duncan test

<sup>7</sup>Shapiro-Wilk test

<sup>8</sup> One-Way ANOVA

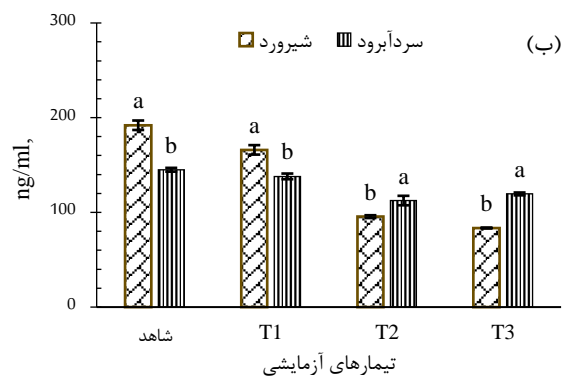
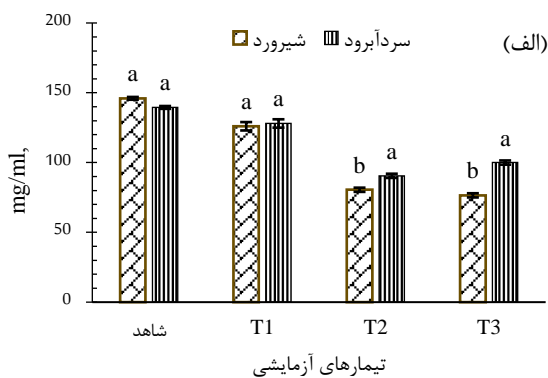
جدول ۲: مقایسه پارامترهای بیوشیمیایی سرم خون مولدین صید شده از رودخانه سردآبرود تحت تاثیر تیمول در حمل و نقل‌های کوتاه مدت

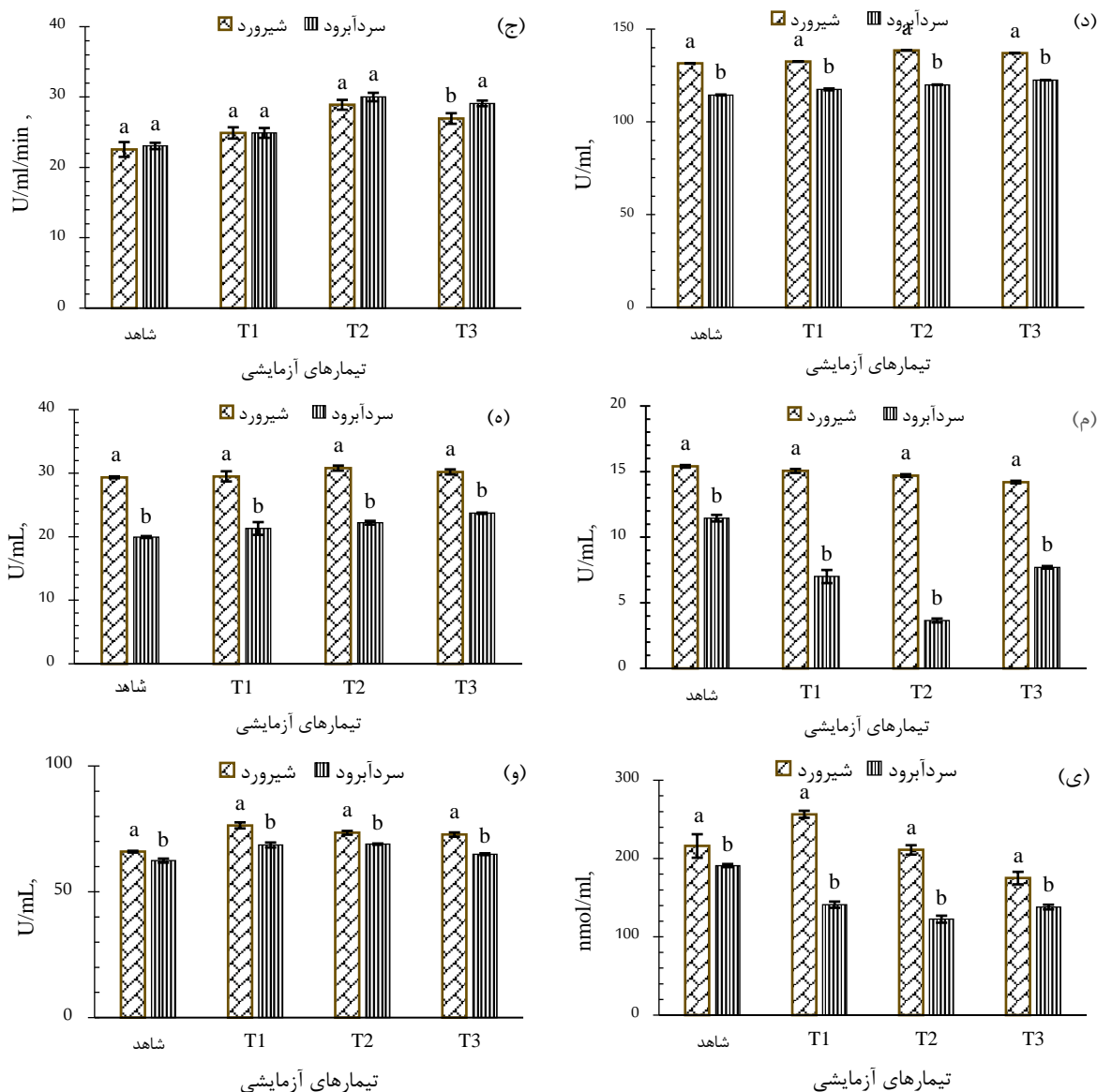
T3 (۰/۵۰ mg/l)	T2 (۰/۳۷۵ mg/l)	T1 (۰/۲۵ mg/l)	گروه شاهد	شاخص
۱۰۰/۰۰ ± ۲/۰۰ <sup>c</sup>	۹۰/۵۰ ± ۱/۵۰ <sup>d</sup>	۱۲۸/۰۰ ± ۲/۰۰ <sup>b</sup>	۱۳۹/۵۰ ± ۵/۵۰ <sup>a</sup>	گلوکز (mg/dl)
۱۱۹/۵۰ ± ۱/۵۰ <sup>c</sup>	۱۱۲/۰۰ ± ۵/۰۰ <sup>d</sup>	۱۳۸/۰۰ ± ۳/۰۰ <sup>b</sup>	۱۴۵/۰۰ ± ۲/۰۰ <sup>a</sup>	کورتیزول (ng/ml)
۲۹/۱۰ ± ۰/۴۰ <sup>a</sup>	۳۰/۰۰ ± ۰/۶۰ <sup>a</sup>	۲۴/۹۰ ± ۰/۷۰ <sup>b</sup>	۲۳/۰۲ ± ۰/۴۵ <sup>c</sup>	لیپوزیم (u/ml/min)
۱۲۲/۵۰ ± ۰/۵۰ <sup>a</sup>	۱۲۰/۰۰ ± ۱/۰۰ <sup>b</sup>	۱۱۷/۵۰ ± ۰/۵۰ <sup>c</sup>	۱۱۴/۵۰ ± ۰/۵۰ <sup>d</sup>	فعالیت کمپلمان (u/ml)
۲۳/۷۰ ± ۰/۱۰ <sup>a</sup>	۲۲/۲۰ ± ۰/۳۰ <sup>b</sup>	۲۱/۳۰ ± ۰/۱۰ <sup>c</sup>	۱۹/۹۵ ± ۰/۱۵ <sup>d</sup>	ایمنوگلوبولین کل (mg/ml)
۷/۷۰ ± ۰/۱۰ <sup>b</sup>	۳/۶۵ ± ۰/۱۵ <sup>d</sup>	۷/۰۰ ± ۰/۵۰ <sup>c</sup>	۱۱/۴۵ ± ۰/۲۵ <sup>a</sup>	کاتالاز (u/ml)
۶۴/۹۵ ± ۰/۳۵ <sup>b</sup>	۶۸/۹۵ ± ۰/۲۵ <sup>a</sup>	۶۸/۶۰ ± ۱/۰۰ <sup>a</sup>	۶۲/۴۰ ± ۰/۸۰ <sup>c</sup>	سوپراکسید دیسموتاز (u/ml)
۱۳۸/۰۰ ± ۳/۰۰ <sup>c</sup>	۱۲۲/۵۰ ± ۴/۵۰ <sup>b</sup>	۱۴۱/۰۰ ± ۴/۰۰ <sup>b</sup>	۱۹۱/۰۰ ± ۲/۰۰ <sup>a</sup>	مالون دی آلدئید (nmol/ml)

\*حروف غیرمتشابه در هر ردیف بیانگر وجود اختلاف آماری معنی‌دار می‌باشد (p<۰/۰۵).

تیمول قرار داشتند، به طور معنی‌داری بیشتر از مولدین رودخانه شیروود بود (p<۰/۰۱). فعالیت لیپوزیم در مولدین صید شده از دو رودخانه در گروه شاهد و تیمارهای ۰/۲۵ و ۰/۳۷۵ میلی‌گرم تیمول اختلاف آماری معنی‌داری نشان نداد (p<۰/۰۵). اما در سرم مولدین صید شده از رودخانه سردآبرود که تحت تأثیر ۰/۵۰ میلی‌گرم بر لیتر تیمول قرار داشتند، به طور معنی‌داری بیشتر از مولدین صید شده از رودخانه شیروود بود (p<۰/۰۱). فعالیت کمپلمان، ایمنوگلوبولین کل، کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و مالون دی‌آلدئید در سرم خون مولدین صید شده از رودخانه شیروود که تحت تأثیر گروه شاهد و تیمارهای ۰/۲۵، ۰/۳۷۵ و ۰/۵۰ میلی‌گرم بر لیتر تیمول بودند، به طور معنی‌داری بالاتر از مولدین رودخانه سردآبرود بود (p<۰/۰۱).

در شکل ۱ مقایسه شاخص‌های بیوشیمیایی سرم در مولدین صید شده از دو رودخانه ارائه شده است. بر اساس نتایج به دست آمده سطح گلوکز در گروه شاهد و تیمار با ۰/۲۵ میلی‌گرم بر لیتر تیمول اختلاف آماری معنی‌داری وجود نداشت (p<۰/۰۵). اما در غلظت‌های بالاتر (۰/۳۷۵ و ۰/۵۰ میلی‌گرم در لیتر)، در سرم خون مولدین صید شده از رودخانه سردآبرود به طور معنی‌داری بیشتر از مولدین رودخانه شیروود بود (p<۰/۰۱). غلظت کورتیزول در سرم خون مولدین صید شده از رودخانه شیروود که تحت تأثیر گروه شاهد و تیمار ۰/۲۵ میلی‌گرم بر لیتر تیمول بودند، به طور معنی‌داری بیشتر از مولدین رودخانه سردآبرود بود (p<۰/۰۵). در مقابل، در مولدین صید شده از رودخانه سردآبرود که تحت تأثیر ۰/۳۷۵ و ۰/۵۰ میلی‌گرم بر لیتر





شکل ۱: مقایسه شاخص‌های بیوشیمیایی سرم بین مولدین ماهی سفید در دو رودخانه شیروود و سردآبرود تحت تاثیر تیمول؛ الف) گلوکز، ب) کورتیزول، ج) لیزوزیم، د) کمپلمان، ه) ایمنوگلوبولین کل، م) کاتالاز، و) سوپر اکسید دیسموتاز و ی) مالون دی آلدهید. \*حروف غیرمتشابه روی هر ستون بیانگر وجود اختلاف آماری معنی‌دار می‌باشد ( $p < 0.05$ ).

در همین ارتباط نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تیمول یک ماده مؤثر با عوارض جانبی کم‌تر طی حمل و نقل مولدین ماهی سفید دریای خزر می‌باشد. این ماده باعث پاسخ‌های استرس کمتری نسبت به گروه شاهد طی قرارگرفتن در شرایط حمل و نقل کوتاه‌مدت توسط کیسه‌های پلاستیکی می‌شود. بر اساس نتایج به دست آمده کمترین میزان گلوکز، کورتیزول، کاتالاز و مالون دی آلدهید در تیمار تحت تاثیر ۰/۵۰ میلی‌گرم تیمول در هر لیتر آب حمل و نقل ثبت شد. تیمول همچنین باعث افزایش میزان لیزوزیم و سوپراکسید دیسموتاز نیز شد. بیشترین میزان فعالیت کمپلمان، لیزوزیم و ایمونوگلوبولین کل در تیمار

#### ۴ | بحث و نتیجه‌گیری

تعیین پارامترهای خون‌شناسی به عنوان ابزاری مهم برای آزمایش مشکلات سلامتی در ماهیان شناخته می‌شود که به طور گسترده‌ای مورد استفاده قرار می‌گیرد. این شاخص‌ها اهمیت زیادی برای نظارت بر تأثیرات تغییر زیستگاه بر زیست‌شناسی ماهیان دارد (Ahmed and Sheikh, 2020).

تحت تاثیر ۰/۳۷۵ میلی گرم و بیشترین میزان فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز در تیمار تحت تاثیر ۰/۲۵ میلی گرم بر لیتر تیمول ثبت شد. در تأیید این نتایج چندین مطالعه پیشنهاد کرده‌اند که بیهوش‌کننده‌های گیاهی دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی کمتری برای حمل و نقل ماهیان هستند (Gressler *et al.*, 2014; Salbego *et al.*, 2014; Zeppenfeld *et al.*, 2014; Salbego *et al.*, 2015; Saccol Mirzargar *et al.*, *et al.*, 2017a; Saccol *et al.*, 2017b 2022) که مشابه نتایج حاضر درباره تیمول بود.

کورتیزول، به عنوان هورمون اصلی استرس، به مدت طولانی به عنوان یک نشانگر قابل اعتماد از استرس در ماهی‌ها شناخته شده است (Sadoul and Geffroy, 2019).

همچنین، گلوکز نیز به عنوان یک نشانگر حساس از استرس‌های محیطی در ماهی‌ها مورد توجه قرار گرفته است. تغییرات در سطوح این دو شاخص می‌تواند نشان‌دهنده وجود استرس و آلودگی‌های محیطی باشد (Uddin *et al.*, 2018). کاهش سطح گلوکز و کورتیزول در ماهی‌ها می‌تواند به تقویت سیستم ایمنی آن‌ها و افزایش توانایی‌شان برای مقابله با عفونت‌ها منجر شود (Uddin *et al.*, 2018; Parra *et al.*, 2015). در شرایط استرس، محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-غدد فوق کلیوی فعال می‌شود که این امر منجر به افزایش سطح کورتیزول سرم و سایر کورتیکواستروئیدها برای مقابله با اختلالات فیزیولوژیکی می‌گردد (Banaee *et al.*, 2019; Gagnon *et al.*, 2006).

در تحقیق حاضر میزان گلوکز و کورتیزول در هر دو گروه ماهیان مورد مطالعه که تحت تاثیر تیمول بودند کمتر از گروه شاهد بود. کمترین میزان گلوکز و کورتیزول در ماهیان صید شده از رودخانه شیروود در تیمار تحت تاثیر ۰/۵۰ میلی گرم تیمول و در ماهیان صید شده از رودخانه سردآبرود در تیمار تحت تاثیر ۰/۳۷۵ میلی گرم تیمول ثبت شد. تیمول، که یک ترکیب طبیعی موجود در گیاهان است، به عنوان یک عامل ضد استرس شناخته می‌شود. تحقیقات نشان داده‌اند که تیمول می‌تواند به کاهش پاسخ‌های استرس در ماهی‌ها کمک کند و در نتیجه سطح گلوکز و کورتیزول را کاهش دهد. این اثر ممکن است به دلیل توانایی تیمول در بهبود عملکرد سیستم ایمنی و کاهش

التهاب باشد (Uddin *et al.*, 2018).

مقایسه نتایج بین دو رودخانه نیز نشان داد که میزان گلوکز و کورتیزول در گروه شاهد و تیمار تحت تاثیر ۰/۲۵ میلی گرم تیمول در مولدین صید شده از رودخانه شیروود به طور معنی‌داری بیشتر از مولدین رودخانه سردآبرود بود؛ اما در غلظت‌های بالاتر میزان این دو شاخص در سرم خون مولدین صید شده از رودخانه سردآبرود در سطح بالاتری قرار داشت. این تفاوت‌ها احتمالاً ناشی از شرایط زیست‌محیطی متفاوت، مانند کیفیت آب و وجود آلاینده‌ها باشد که می‌تواند بر سطح استرس و در نتیجه سطح کورتیزول تأثیرگذار باشد (Hontela *et al.*, 1992; Lemos *et al.*, 2023).

در ماهیان، پاسخ ایمنی ذاتی نقش عمده‌ای در مقابله با پاتوژن‌های مهاجم ایفا می‌کند زیرا پاسخ ایمنی اکتسابی نسبت به آنچه در پستانداران وجود دارد، کمتر مؤثر است (Kordon *et al.*, 2019). داده‌های ما نشان‌دهنده بهبود وضعیت ایمنی ذاتی در گروه ماهیان در معرض تیمول بود که با افزایش سطح سرمی IgM، فعالیت کمپلمان و همچنین فعالیت‌های لیزوزیم مشخص شد. مقایسه نتایج بین مولدین دو رودخانه نشان داد که میزان لیزوزیم در سرم خون مولدین دو رودخانه فاقد هر گونه اختلاف آماری معنی‌دار بود؛ اما فعالیت کمپلمان و ایمونوگلوبولین سرم در مولدین رودخانه شیروود به طور معنی‌داری بیشتر از مولدین رودخانه سردآبرود بود. IgM، مولکول ایمنوگلوبولین غالب در ماهیان استخوانی است که در پاسخ‌های ایمنی اکتسابی و ذاتی دخالت دارد. این مولکول می‌تواند روی سطح سلول‌های B بیان شود یا به عنوان یک آنتی‌بادی آزاد شود (Flajnik and Kasahara, 2010). ایمنوگلوبولین کل به فعال‌سازی سیستم کمپلمان کمک می‌کند که میکروارگانسیم‌های مهاجم را تخریب و اوپسونیزه<sup>۱۰</sup> می‌کند (Boshra *et al.*, 2004). افزایش سطح ایمنوگلوبولین‌ها عملکرد و تعداد لنفوسیت‌های B را ارتقا می‌دهد (Farag *et al.*, 2021). لیزوزیم برای تخریب سلول‌های باکتریایی و فعال‌سازی فاگوسیتوز و سیستم کمپلمان ضروری است. فعالیت افزایش یافته در تیمارهای تحت تاثیر تیمول احتمالاً به دلیل عملکرد بهبود یافته و افزایش تعداد

<sup>۱۰</sup> فرآیندی که در آن میکروارگانسیم‌ها یا پاتوژن‌ها با آنتی‌بادی‌ها پوشانده می‌شوند تا برای فاگوسیتوز (بلعیدن توسط سلول‌های ایمنی) آماده شوند.

پراکسیداسیون چربی شناخته می‌شود. طبق نتایج به دست آمده فعالیت این آنزیم یک پاسخ وابسته به دوز نسبت به تیمول توسط مولدین ماهی سفید دارد. فعالیت مالون دی آلدئید در غلظت‌های پایین‌تر ممکن است استرس اکسیداتیو را القا کنند و غلظت‌های بالاتر ممکن است آن را کاهش دهند (Liu et al., 2011; Keramati et al., 2010). مقایسه نتایج بین دو رودخانه در خصوص میزان فعالیت کاتالاز و سوپر اکسید دیسموتاز نیز احتمالاً بیانگر عوامل محیطی بالقوه‌ای است که سلامت ماهیان و پاسخ‌های استرس اکسیداتیو را در اکوسیستم‌های آبی مختلف تحت تأثیر قرار می‌دهد (Shi et al., 2022). بر اساس این یافته‌ها، حمل و نقل ماهی سفید در شرایط مورد بررسی تأثیر منفی بر سلامت کبد نداشته است. این نتایج با مطالعات پیشین روی ماهی تترا (*Hyphessobrycon callistus*) و گربه‌ماهی بومی برزیل (*Lophosilurus alexandri*) مطابقت دارد؛ به گونه‌ای که حمل و نقل این گونه‌ها نیز تأثیری بر سطح آلانین آمینوترانسفراز خون نداشته است (Pan et al., 2010; Boaventura et al., 2021). همچنین، حمل و نقل ماهی کپور نیز تأثیری بر فعالیت آلکالین فسفاتاز پلاسما نیز نداشت (Dobšiková et al., 2009). در تحقیق (Yousefi et al., 2018) گزارش شد که اوژنول منجر به افزایش معنی‌دار مالون دی آلدئید در مقایسه با تیمول پس از بیهوشی کوتاه مدت شد. پس از قرار گرفتن در معرض طولانی مدت نیز اوژنول منجر به افزایش معنی‌دار کورتیزول، گلوکز، مالون دی‌الدهید و کاهش کاتالاز در مقایسه با تیمول شد. (Hoseini (2022) نیز گزارش داد که استفاده از ۵ میلی‌گرم تیمول در هر لیتر آب حمل و نقل ماهیان کپور در کیسه‌های پلاستیکی باعث افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های آسپارات آمینوترانسفراز و لاکتات دهیدروژناز شد.

در مجموع، بر اساس نتایج به دست آمده استفاده از تیمول در غلظت‌های بالا (۰/۳۷۵ تا ۰/۵۰ میلی‌گرم در هر لیتر) تأثیرات مثبتی روی کاهش استرس و افزایش پاسخ‌های ایمنی مولدین ماهی سفید طی حمل و نقل‌های کوتاه مدت (۳ ساعته) توسط کیسه‌های پلاستیکی داشت. بطوریکه کاهش سطح گلوکز و کورتیزول در غلظت‌های مذکور نشان‌دهنده کاهش استرس ناشی از حمل و نقل بود. علاوه بر این، استفاده از ۰/۳۷۵ تا ۰/۵۰ میلی‌گرم در لیتر تیمول

گلوبول‌های سفید تولیدکننده لیزوزیم، مانند ماکروفاژها و نوتروفیل‌ها باشد (Saurabh and Sahoo, 2008). طبق گزارشات اثر محافظتی تیمول احتمالاً به دلیل فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن می‌باشد که شامل فعال‌سازی اجزای ایمنی ذاتی مانند ایمونوگلوبولین‌ها، لیزوزیم و مولکول‌های کمپلمان و افزایش تکثیر لنفوسیت‌ها و نرخ‌های فاگوسیتوز است. (Alagawany et al., 2021; Khalil et al., 2020; Ibrahim et al., 2022). مطابق با یافته‌های تحقیق حاضر، تأثیر تحریک‌کنندگی ایمنی توسط تیمول در تحقیقات قبلی روی گونه‌های مختلف ماهی از طریق افزایش فعالیت لیزوزیم و سطوح ایمونوگلوبولین نیز گزارش شده است (Hoseini and Yousefi, 2019; Amer et al., 2018; Wassif and Ibrahim et al., 2022; Kong et al., 2021; Mohammed, 2022). در تایید این موارد، Li و همکاران (۲۰۲۲) گزارش دادند که افزودن تیمول به جیره غذایی *Channa argus* به طور معنی‌داری سم‌زدایی ناشی از دلتامترین را با افزایش سطوح سرمی نشانگرهای ایمنی هومورال (IgM و لیزوزیم، C3 و C4) بهبود بخشید. طبق گزارش (Yousefi et al., 2024) مکمل‌سازی جیره‌های غذایی توسط ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تیمول نیز می‌تواند قدرت آنتی‌اکسیدانی را در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تقویت کند.

در مطالعات مختلف توجه زیادی به استرس اکسیداتیو در ارتباط با اکوتوکسیکولوژی شده است. بنابراین، فعالیت‌های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز به عنوان نشانگرهای مهم و قابل اعتماد برای استرس اکسیداتیو در نظر گرفته می‌شوند (Liu et al., 2011). در تحقیق حاضر میزان فعالیت کاتالاز در مولدین صید شده از هر دورودخانه کمتر از گروه شاهد بود. این موضوع نشان می‌دهد که قرارگیری در شرایط محیطی خاص یا درمان‌ها ممکن است توانایی ماهی‌ها را در کاهش استرس اکسیداتیو به طور مؤثر تحت تأثیر قرار دهد (Liu et al., 2011). فعالیت سوپراکسید دیسموتاز در هر دو گروه ماهیان صید شده بین تیمارهای آزمایشی تحت تأثیر تیمول به طور معنی‌داری بیشتر از گروه شاهد بود. این نتایج احتمالاً نشان‌دهنده یک پاسخ جبرانی به استرس اکسیداتیو باشد، زیرا سوپر اکسید دیسموتاز نقش مهمی در سم‌زدایی رادیکال‌های سوپراکسید ایفا می‌کند (Shi et al., 2022). فعالیت مالون دی‌الدهید به عنوان نشانگر

- Biochemical and physiological effect of dietary supplements of ZnO nanoparticles on common carp (*Cyprinus carpio*). *International Journal of Aquatic Biology*, 7(1), pp.56-64. <https://doi.org/10.22034/ijab.v7i1.590>
- Becker, A.G., Parodi, T.V., Heldwein, C.G., Zeppenfeld, C.C., Heinzmann, B.M. and Baldisserotto, B., 2012. Transportation of silver catfish, *Rhamdia quelen*, in water with eugenol and the essential oil of *Lippia alba*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 38, pp.789-796. <https://doi.org/10.1007/s10695-011-9562-4>
- Benovit, S.C., Gressler, L.T., de Lima Silva, L., de Oliveira Garcia, L., Okamoto, M.H., dos Santos Pedron, J., Sampaio, L.A., Rodrigues, R.V., Heinzmann, B.M. and Baldisserotto, B., 2012. Anesthesia and transport of Brazilian flounder, *Paralichthys orbignyanus*, with essential oils of *Aloysia gratissima* and *Ocimum gratissimum*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 43(6), p.896. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1749-7345.2012.00604.x>
- Boaventura, T.P., Souza, C.F., Ferreira, A.L., Favero, G.C., Baldisserotto, M.D., Heinzmann, B.M., Baldisserotto, B. and Luz, R.K., 2021. The use of *Ocimum gratissimum* L. essential oil during the transport of *Lophiosilurus alexandri*: Water quality, hematology, blood biochemistry and oxidative stress. *Aquaculture*, 531, p.735964. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735964>
- Calabrese, S., Jonassen, T. M., Steigum, E., Åsnes, H. Ø., Imsland, A. K. D., Saude, C. S., ... and Höglund, E., 2024. Does sedation with AQUIS® mitigate transport stress and post transport mortality in ballan wrasse (*Labrus bergylta* e)? *Frontiers in Veterinary Science*, 11, p. 1347062. <https://doi.org/10.3389/fvets.2024.1347062>
- Can, E. and SÜMER, E., 2019. Anesthetic and sedative efficacy of peppermint (*Mentha piperita*) and lavender (*Lavandula angustifolia*) essential oils in blue dolphin cichlid (*Cyrtocara moorii*). *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 43(3), pp.334-341. <http://dx.doi.org/10.3906/vet-1809-22>
- Carneiro, P., & Urbinati, E. C. (2001). Salt as a stress response mitigator of *matrinxã*, *Brycon cephalus* (Günther), during transport. *Aquaculture Research*, 32, 297-304. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2109.2001.00558.x>
- Dobšíková, R., Svobodová, Z.V.A.F., Bláhová, J.V.A.F., Modra, H. and Velíšek, J., 2009. The با افزایش فعالیت لیزوزیم و کمپلمان توانست به بهبود وضعیت ایمنی مولدین نیز کمک کند. این شرایط احتمالاً جهت کاهش استرس ناشی از صید و حمل و نقل مولدین ماهی سفید به مراکز تکثیر و پرورش موثر خواهد بود. برای اطمینان از نتایج به‌دست آمده، انجام تحقیقات بیشتر جهت بررسی عوارض جانبی احتمالی و همچنین بهینه‌سازی دوز مصرفی ضروری است تا از اثرات منفی ناشی از تغییرات محیطی جلوگیری شود.
- ۵ | ملاحظات اخلاقی**
- موردی توسط نویسندگان گزارش نشده است.
- REFERENCES**
- Ahmed, I. and Sheikh, Z.A., 2020. Comparative study of hematological parameters of snow trout *Schizopyge plagiostomus* and *Schizopyge niger* inhabiting two different habitats. *The European Zoological Journal*, 87(1), pp.12-19. <https://doi.org/10.1080/24750263.2019.1705647>
- Alagawany, M., Farag, M.R., Abdelnour, S.A. and Elnesr, S.S., 2021. A review on the beneficial effect of thymol on health and production of fish. *Reviews in Aquaculture*, 13(1), pp.632-641. <https://doi.org/10.1111/raq.12490>
- Amer, S.A., Metwally, A.E. and Ahmed, S.A., 2018. The influence of dietary supplementation of cinnamaldehyde and thymol on the growth performance, immunity and antioxidant status of monosex Nile tilapia fingerlings (*Oreochromis niloticus*). *The Egyptian Journal of Aquatic Research*, 44(3), pp.251-256. <https://doi.org/10.1016/j.ejar.2018.07.004>
- Aydın, B. and Barbas, L.A.L., 2020. Sedative and anesthetic properties of essential oils and their active compounds in fish: A review. *Aquaculture*, 520, p.734999. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.734999>
- Azambuja, C.R., Mattiazzi, J., Riffel, A.P.K., Finamor, I.A., de Oliveira Garcia, L., Heldwein, C.G., Heinzmann, B.M., Baldisserotto, B., Pavanato, M.A. and Llesuy, S.F., 2011. Effect of the essential oil of *Lippia alba* on oxidative stress parameters in silver catfish (*Rhamdia quelen*) subjected to transport. *Aquaculture*, 319(1-2), pp.156-161. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.06.002>
- Banaee, M., Vaziriyani, M., Derikvandy, A., Hagi, B.N. and Mohiseni, M., 2019.

- 45(6), pp.1061-1072.  
<https://doi.org/10.1111/are.12043>
- Guimarães, A.G., Quintans, J.S. and Quintans-Júnior, L.J., 2013. Monoterpenes with analgesic activity—a systematic review. *Phytotherapy research*, 27(1), pp.1-15.  
<https://doi.org/10.1002/ptr.4686>
- Hontela, A., Rasmussen, J.B., Audet, C. and Chevalier, G., 1992. Impaired cortisol stress response in fish from environments polluted by PAHs, PCBs, and mercury. *Archives of Environmental Contamination and toxicology*, 22, pp.278-283.  
<https://doi.org/10.1007/BF00212086>
- Hoseini, S.M. and Yousefi, M., 2019. Beneficial effects of thyme (*Thymus vulgaris*) extract on oxytetracycline- induced stress response, immunosuppression, oxidative stress and enzymatic changes in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture nutrition*, 25(2), pp.298-309.  
<https://doi.org/10.1111/anu.12853>
- Hoseini, S.M., 2022. The effect of adding thymol to water on thyroid hormones, proteins and plasma enzymes in common carp (*Cyprinus carpio*). *Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics*, 11 (1), pp.45-56.  
<https://doi.org/10.22069/japu.2022.19656.1616>
- Hoseini, S.M., Taheri Mirghaed, A. and Yousefi, M., 2019. Application of herbal anaesthetics in aquaculture. *Reviews in Aquaculture*, 11(3), pp.550-564.  
<https://doi.org/10.1111/raq.12245>
- Ibrahim, D., Shahin, S.E., Alqahtani, L.S., Hassan, Z., Althobaiti, F., Albogami, S., Soliman, M.M., El-Malt, R.M., Al-Harathi, H.F., Alqadri, N. and Elabbasy, M.T., 2022. Exploring the interactive effects of thymol and Thymoquinone: moving towards an enhanced performance, gross margin, immunity and *Aeromonas sobria* resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Animals*, 12(21), p.3034. <https://doi.org/10.3390/ani12213034>
- Keramati, V., Jamili, S.H. and Ramin, M., 2010. Effect of diazinon on catalase antioxidant enzyme activity in liver tissue of *Rutilus rutilus*. *Journal of Fisheries and Aquatic Science*, 5(5), pp.368-376.  
<https://doi.org/10.3923/jfas.2010.368.376>
- Khalil, S.R., Zheng, C., Abou-Zeid, S.M., Farag, M.R., Elsabbagh, H.S., Siddique, M.S., Azzam, M.M., Di Cerbo, A. and Elkhadrawey, B.A., 2023. Modulatory effect of thymol on the immune response and susceptibility to *Aeromonas hydrophila* infection in Nile effect of transport on biochemical and haematological indices of common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Czech Journal of Animal Science*, 54(11), pp.510-518.  
<https://doi.org/10.17221/52/2009-CJAS>
- Escobar, A., Perez, M., Romanelli, G. and Blustein, G., 2020. Thymol bioactivity: A review focusing on practical applications. *Arabian Journal of Chemistry*, 13(12), pp.9243-9269.  
<https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2020.11.009>
- Farag, M.R., Moselhy, A.A., El-Mleeh, A., Aljuaydi, S.H., Ismail, T.A., Di Cerbo, A., Crescenzo, G. and Abou-Zeid, S.M., 2021. Quercetin alleviates the immunotoxic impact mediated by oxidative stress and inflammation induced by doxorubicin exposure in rats. *Antioxidants*, 10(12), p.1906.  
<https://doi.org/10.3390/antiox10121906>
- Félix, L., Correia, R., Sequeira, R., Ribeiro, C., Monteiro, S., Antunes, L., ... & Valentim, A. (2021). MS-222 and Propofol Sedation during and after the Simulated Transport of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Biology*, 10(12), p. 1309.  
<https://doi.org/10.3390/biology10121309>
- Flajnik, M.F. and Kasahara, M., 2010. Origin and evolution of the adaptive immune system: genetic events and selective pressures. *Nature Reviews Genetics*, 11(1), pp.47-59.  
<https://doi.org/10.1038/nrg2703>
- Gagnon, A., Jumarie, C. and Hontela, A., 2006. Effects of Cu on plasma cortisol and cortisol secretion by adrenocortical cells of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquatic toxicology*, 78(1), pp.59-65.  
<https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2006.02.004>
- Giannenas, I., Triantafyllou, E., Stavrakakis, S., Margaroni, M., Mavridis, S., Steiner, T. and Karagouni, E., 2012. Assessment of dietary supplementation with carvacrol or thymol containing feed additives on performance, intestinal microbiota and antioxidant status of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 350, pp.26-32.  
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.04.027>
- Gressler, L.T., Riffel, A.P.K., Parodi, T.V., Saccol, E.M.H., Koakoski, G., da Costa, S.T., Pavanato, M.A., Heinzmann, B.M., Caron, B., Schmidt, D. and Llesuy, S.F., 2014. Silver catfish *Rhamdia quelen* immersion anaesthesia with essential oil of *Aloysia triphylla* (L'Hérit) Britton or tricaine methanesulfonate: effect on stress response and antioxidant status. *Aquaculture research*,

- 9(1), pp.27-34.  
[https://www.aquaculturesciences.ir/article\\_134592.html?lang=en](https://www.aquaculturesciences.ir/article_134592.html?lang=en)
- Mirzargar, S.S., Taheri Mirghaed, A., Hoseini, S.M., Ghelichpour, M., Shahbazi, M. and Yousefi, M., 2022. Biochemical responses of common carp, *Cyprinus carpio*, to transportation in plastic bags using thymol as a sedative agent. *Aquaculture Research*, 53(1), pp.191-198.  
<http://dx.doi.org/10.1111/are.15564>
- Palić, D., Herolt, D. M., Andreassen, C. B., Menzel, B. W., and Roth, J. A., 2006. Anesthetic efficacy of tricaine methanesulfonate, metomidate and eugenol: effects on plasma cortisol concentration and neutrophil function in fathead minnows (*Pimephales promelas* Rafinesque, 1820). *Aquaculture*, 254(1-4), pp. 675-685.
- Pan, C.H., Chien, Y.H. and Wang, Y.J., 2010. The antioxidant capacity response to hypoxia stress during transportation of characins (*Hyphessobrycon callistus* Boulenger) fed diets supplemented with carotenoids. *Aquaculture Research*, 41(7), pp.973-981.  
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2009.02380.x>
- Parodi, T.V., Cunha, M.A., Becker, A.G., Zeppenfeld, C.C., Martins, D.I., Koakoski, G., Barcellos, L.G., Heinzmann, B.M. and Baldisserotto, B., 2014. Anesthetic activity of the essential oil of *Aloysia triphylla* and effectiveness in reducing stress during transport of albino and gray strains of silver catfish, *Rhamdia quelen*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 40, pp.323-334.  
<https://doi.org/10.1007/s10695-013-9845-z>
- Parra, D., Reyes-Lopez, F.E. and Tort, L., 2015. Mucosal immunity and B cells in teleosts: effect of vaccination and stress. *Frontiers in immunology*, 6, p.354.  
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2015.00354>
- Rehman, S., Gora, A.H., Ahmad, I. and Rasool, S.I., 2017. Stress in aquaculture hatcheries: source, impact and mitigation. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(10), pp.3030-3045.  
<http://dx.doi.org/10.20546/ijemas.2017.610.357>
- Rodrigues Brandão, F., de Melo Souza, D.C., de Alexandre Sebastião, F., Maia Chaves, F.C., Ribeiro Bizzo, H., de Almeida O'Sullivan, F.L. and Campos Chagas, E., 2022. Essential oils as anaesthetics and sedatives in native Brazilian fish, with a special emphasis on *Colossoma macropomum*: A review. *Aquaculture Research*, 53(3), pp.767-781.
- tilapia fish exposed to zinc oxide nanoparticles. *Aquatic Toxicology*, 259, p.106523.  
<https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2023.106523>
- Kong, Y.D., Li, M., Xia, C.G., Zhao, J., Niu, X.T., Shan, X.F. and Wang, G.Q., 2021. The optimum thymol requirement in diets of *Channa argus*: effects on growth, antioxidant capability, immune response and disease resistance. *Aquaculture Nutrition*, 27(3), pp.712-722.  
<https://doi.org/10.1111/anu.13217>
- Kordon, A.O., Karsi, A. and Pinchuk, L., 2018. Innate immune responses in fish: antigen presenting cells and professional phagocytes. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 18(9), pp.1123-1139.  
[http://dx.doi.org/10.4194/1303-2712-v18\\_9\\_11](http://dx.doi.org/10.4194/1303-2712-v18_9_11)
- Lemos, L.S., Angarica, L.M., Hauser-Davis, R.A. and Quinete, N., 2023. Cortisol as a stress indicator in fish: sampling methods, analytical techniques, and organic pollutant exposure assessments. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 20(13), p.6237.  
<https://doi.org/10.3390/ijerph20136237>
- Li, M., Wu, X., Zou, J., Lai, Y., Zhang, J., Chen, X., Niu, X., Kong, Y. and Wang, G., 2022. Protective effects of thymol on deltamethrin-induced toxicity of *Channa argus* in association with the NF-κB/Nrf2/p53 pathway. *Aquaculture*, 559, p.738429.  
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.738429>
- Liu, X.Q., Li, K.F., Du, J., Li, J. and Li, R., 2011. Growth rate, catalase and superoxide dismutase activities in rock carp (*Procypris rabaudi* Tchang) exposed to supersaturated total dissolved gas. *Journal of Zhejiang University Science B*, 12, pp.909-914.  
<https://doi.org/10.1631/jzus.B1100071>
- Mirghaed, A.T. and Ghelichpour, M., 2019. Effects of anesthesia and salt treatment on stress responses, and immunological and hydromineral characteristics of common carp (*Cyprinus carpio*, Linnaeus, 1758) subjected to transportation. *Aquaculture*, 501, pp.1-6.  
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.11.008>
- Mirzargar, S. S., Taheri Mirghaed, A., Hoseini, S. M., Ghelichpour, M., Shahnazi, M., and Yousefi, M., 2021. Effects of adding Thymol to water on hematological and immunological parameters of common carp (*Cyprinus carpio*) during transportation. *Aquaculture Sciences*,

- Shi, Q., Xiong, X., Wen, Z., Qin, C., Li, R., Zhang, Z., Gong, Q. and Wu, X., 2022. Cu/Zn superoxide dismutase and catalase of Yangtze sturgeon, *Acipenser dabryanus*: Molecular cloning, tissue distribution and response to fasting and refeeding. *Fishes*, 7(1), p.35. <https://doi.org/10.3390/fishes7010035>
- Souza, C.D.F., Baldissera, M.D., Baldisserotto, B., Heinzmann, B.M., Martos-Sitcha, J.A. and Mancera, J.M., 2019. Essential oils as stress-reducing agents for fish aquaculture: a review. *Frontiers in physiology*, 10, p.785. <https://doi.org/10.3389/fphys.2019.00785>
- Tennant, L. A., Vaage, B. M., and Ward, D. L., 2019. An evaluation of sedatives for use in transport of juvenile endangered fishes in plastic bags. *Journal of Fish and Wildlife Management*, 10(2), pp. 532-543. <https://doi.org/10.3996/032019-JFWM-016>
- Tondolo, J.S.M., Amaral, L.D.P., Simões, L.N., Garlet, Q.I., Schindler, B., Oliveira, T.M., Silva, B.F.D., Gomes, L.D.C., Baldisserotto, B., Mallmann, C.A. and Heinzmann, B.M., 2013. Anesthesia and transport of fat snook *Centropomus parallelus* with the essential oil of *Nectandra megapotamica* (Spreng.) Mez. *Neotropical Ichthyology*, 11, pp.667-674. <https://doi.org/10.1590/S1679-62252013000300020>
- Toni, C., Martos-Sitcha, J.A., Baldisserotto, B., Heinzmann, B.M., de Lima Silva, L., Martínez-Rodríguez, G. and Mancera, J.M., 2015. Sedative effect of 2-phenoxyethanol and essential oil of *Lippia alba* on stress response in gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Research in veterinary science*, 103, pp.20-27. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2015.09.006>
- Tort, L., 2011. Stress and immune modulation in fish. *Developmental & Comparative Immunology*, 35(12), pp.1366-1375. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2011.07.002>
- Wassif, I.M. and Mohammed, R.S., 2022. Use of Thyme and Thymol as Immunostimulant Agents to control Experimental *Aeromonas hydrophyla* Infection in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Zagazig Veterinary Journal*, 50(3), pp.241-254. <https://doi.org/10.21608/zvjz.2022.150326.1185>
- Yousefi, M., Hoseini, S.M., Vatnikov, Y.A., Karamyan, A. and Kulikov, E.V., 2024. Dietary Thymol Supplementation Promotes Antioxidant Responses and Thermal Stress Resistance in Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Animals*, 14(20), p.2988. <https://doi.org/10.3390/ani14202988>
- <https://doi.org/10.1111/are.15650>
- Sacol, E.M., Londero, É.P., Bressan, C.A., Salbego, J., Gressler, L.T., Silva, L.V., Mourão, R.H., Oliveira, R.B., Llesuy, S.F., Baldisserotto, B. and Pavanato, M.A., 2017a. Oxidative and biochemical responses in *Brycon amazonicus* anesthetized and sedated with *Myrcia sylvatica* (G. Mey.) DC. and *Curcuma longa* L. essential oils. *Veterinary anaesthesia and analgesia*, 44(3), pp.555-566. <https://doi.org/10.1016/j.vaa.2016.08.005>
- Sacol, E.M., Toni, C., Pês, T.S., Ourique, G.M., Gressler, L.T., Silva, L.V., Mourao, R.H., Oliveira, R.B., Baldisserotto, B. and Pavanato, M.A., 2017b. Anaesthetic and antioxidant effects of *Myrcia sylvatica* (G. Mey.) DC. and *Curcuma longa* L. essential oils on tambaqui (*Colossoma macropomum*). *Aquaculture Research*, 48(5), pp.2012-2031. <https://doi.org/10.1111/are.13034>
- Sadoul, B. and Geffroy, B., 2019. Measuring cortisol, the major stress hormone in fishes. *Journal of Fish Biology*, 94(4), pp.540-555. <https://doi.org/10.1111/jfb.13904>
- Sakamoto, T., Kozaka, T., Takahashi, A., Kawauchi, H., and Ando, M., 2001. Medaka (*Oryzias latipes*) as a model for hypoosmoregulation of euryhaline fishes. *Aquaculture*, 193(3-4), pp. 347-354. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(00\)00471-3](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(00)00471-3)
- Salbego, J., Becker, A.G., Gonçalves, J.F., Menezes, C.C., Heldwein, C.G., Spanevello, R.M., Loro, V.L., Schetinger, M.R.C., Morsch, V.M., Heinzmann, B.M. and Baldisserotto, B., 2014. The essential oil from *Lippia alba* induces biochemical stress in the silver catfish (*Rhamdia quelen*) after transportation. *Neotropical Ichthyology*, 12(4), pp.811-818. <https://doi.org/10.1590/1982-0224-20130178>
- Salbego, J., Becker, A.G., Parodi, T.V., Zeppenfeld, C.C., Goncalves, J.F., Loro, V.L., Morsch, V.M., Schetinger, M.R.C., Maldaner, G., Morel, A.F. and Baldisserotto, B., 2015. Methanolic extract of *Condalia buxifolia* added to transport water alters biochemical parameters of the silver catfish *Rhamdia quelen*. *Aquaculture*, 437, pp.46-50. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.11.022>
- Saurabh, S., & Sahoo, P. K. (2008). Lysozyme: an important defence molecule of fish innate immune system. *Aquaculture research*, 39(3), 223-239. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2007.01883.x>

- <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2009.06.019>
- Zeppenfeld, C.C., Toni, C., Becker, A.G., dos Santos Miron, D., Parodi, T.V., Heinzmann, B.M., Barcellos, L.J.G., Koakoski, G., da Rosa, J.G.S., Loro, V.L. and da Cunha, M.A., 2014. Physiological and biochemical responses of silver catfish, *Rhamdia quelen*, after transport in water with essential oil of *Aloysia triphylla* (L'Herit) Britton. *Aquaculture*, 418, pp.101-107. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.10.013>
- Yousefi, M., Hoseini, S.M., Vatnikov, Y.A., Nikishov, A.A. and Kulikov, E.V., 2018. Thymol as a new anesthetic in common carp (*Cyprinus carpio*): Efficacy and physiological effects in comparison with eugenol. *Aquaculture*, 495, pp.376-383. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.06.022>
- Zahl, I.H., Kiessling, A., Samuelsen, O.B. and Hansen, M.K., 2009. Anaesthesia of Atlantic cod (*Gadus morhua*)—effect of pre-anaesthetic sedation, and importance of body weight, temperature and stress. *Aquaculture*, 295(1-2), pp.52-59.

نحوه استناد به مقاله:

پورعباسعلی م.، جعفریان ح.، آدینه ح.، پاتیمار ر.، فرهنگی م. بررسی فراوانی طولی، رابطه طول- وزن و طول بلوغ جنسی ماهی هوور مسقطی (*Katsuwonus pelamis* (Linnaeus, 1758) در تورهای گوشگیر دریای عمان (استان سیستان و بلوچستان). نشریه پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی دانشگاه گنبد کاووس. ۱۴۰۳. ۱۲(۴): ۱-۱۲.

Pourabbasali M., Jafaryan H., Adineh H., Patimar R., Farhangi M. Length frequency, length-weight relationship, and length of sexual maturity of skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis* (Linnaeus, 1758)) in artisanal gillnets in the Oman Sea (Sistan and Baluchistan Province). *Journal of Applied Ichthyological Research, University of Gonbad Kavous*. 2024, 12(4): 01-12.

**Comparison of the Effect of Thymol on Stress Reduction during Short-Term Transport of Caspian kutum (*Rutilus kutum* Nordmann, 1840) in the Shirud and Sardabrud Rivers of Mazandaran Province**

**Pourabbasali M<sup>1</sup>, Jafaryan H<sup>1\*</sup>, Adineh H<sup>1</sup>, Patimar R<sup>1</sup>, Farhangi M<sup>1</sup>.**

<sup>1</sup> Fisheries Department, Faculty of agricultural and naural resource, Gonbad Kavous University, Gonbad Kavous, Iran.

<b>Type:</b> Original Research Paper	<b>Abstract</b> The present study investigates the effect of different concentrations of thymol on stress reduction during the short-term transport of Caspian kutum ( <i>Rutilus kutum</i> ). In this research, 24 broodfish were caught from the Shirud and Sardabrud Rivers (Mazandaran) with an average weight of $321.51 \pm 25.910$ grams and $384.06 \pm 75.911$ grams during the spawning season. The fish were transported in 12 plastic bags with a capacity of 50 liters, containing 15 liters of water and 35 liters of pure oxygen, at a density of 2 fish per bag for three hours. Various concentrations of thymol (control, 0.25, 0.375, and 0.5 mg/L) were added to the water. Blood samples were taken from the caudal vein, and serum biochemical indices were measured. The results indicated that thymol significantly reduced glucose, cortisol, total immunoglobulin, and malondialdehyde levels while increasing lysozyme, complement, catalase, and superoxide dismutase levels ( $p < 0.05$ ). Additionally, glucose levels in the treatments with 0.375 and 0.5 mg/L thymol in broodfish from the Sardabrud River were significantly higher ( $p < 0.05$ ), while no significant differences were observed in other treatments ( $p > 0.05$ ). Cortisol concentration also increased under high thymol concentrations in broodfish from the Sardabrud River ( $p < 0.05$ ). However, in the control group and the treatment with 0.25 mg/L thymol from the Shirud River, cortisol levels were higher ( $p < 0.05$ ). Lysozyme levels were higher in the treatment with 0.5 mg/L thymol in broodfish from the Sardabrud River ( $p < 0.05$ ). The activities of complement, total immunoglobulin, catalase, superoxide dismutase, and malondialdehyde were significantly higher in all experimental treatments and the control group in broodfish from the Shirud River ( $p < 0.05$ ). Ultimately, it appears that using 0.5 mg/L thymol during short-term transport could help reduce stress in white fish broodstock. <b>Keywords:</b> Plastic bag, Serum biochemical indices, Enzyme activity, Total protein, Glucose
<b>Paper History:</b> Received: 01-12-2024 Accepted: 04-01-2025	
<b>Corresponding author:</b> Jafaryan H. Fisheries Department, Faculty of agricultural and naural resource, Gonbad Kavous University, Gonbad Kavous, Iran. <b>Email:</b> <a href="mailto:hojat.jafaryan@gmail.com">hojat.jafaryan@gmail.com</a>	