افزایش مقاومت بچه ماهیان کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) به استرس شوری با استفاده از افزودن عصاره گیاه گلرنگ (*Carthamus tinctorius*) در جیره

محمد مازندرانی*[۱]، میثم دهقانی قمشانی[۱]، محمد سوداگر[۱]، سید مرتضی حسینی[۲]

۱-گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان ایران صندوق پستی: ۳۸۶

۲- سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، مرکز تحقیقات ذخایر آبزیان آبهای داخلی گرگان، ایران صندوق پستی: ۶۳۱

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۱/۱۰ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۲/۲۸

چکیده

در این تحقیق، اثر عصاره گیاه گلرنگ به جیره ماهی کپور معمولی بر زنده مانی در برابر تنش شوری کشنده و پاسخ‌های فیزیولوژیکی این گونه بررسی گردید. به این منظور، ماهیان انگشت قد با میانگین وزنی ۰/۱۳±۹/۵۱ گرم به مدت ۷۰ روز با جیره‌های حاوی صفر، ۰/۵، ۱/۵ و ۳ درصد عصاره گیاه گلرنگ تغذیه شدند. پس از این دوره بخشی از ماهیان به طور تصادفی در معرض شوری ۲۰ گرم بر لیتر قرار گرفتند و تلفات آنها طی ۱۰ ساعت ثبت گردید. همچنین، تعدادی از ماهیان به طور تصادفی در معرض شوری ۱۴ گرم بر لیتر قرار گرفتند و شاخص‌های بیوشیمیایی سرم آنها طی ۷۲ ساعت بررسی شد. بر اساس نتایج عصاره گلرنگ اثر معنی‌داری بر رشد ماهی نداشت. تلفات گروه شاهد در مواجهه با شوری ۲۰ گرم بر لیتر به ۱۰۰ درصد ثبت شد ولی در تیمارهای ۳-۰/۵ درصد عصاره تلفات ۳۵ تا ۵۰ درصد بود. پس از تنش شوری ۱۴ گرم بر لیتر، سطوح کورتیزول و گلوکز سرم افزایش یافت و که این افزایش در تیمار شاهد بیشتر از سایر تیمارها بود. تنش شوری باعث افزایش سدیم سرم و کلر در تمام گروه‌های مورد بررسی شد ولی اختلاف معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نگردید. همچنین پس از تنش شوری، میزان کلر سرم در تیمار شاهد افزایش یافت ولی در تیمارهای تغذیه شده با عصاره چنین افزایشی مشاهده نشد. به‌طور کلی نتایج این تحقیق نشان داد که افزودن ۰/۵ تا ۳٪ عصاره گیاه گلرنگ به جیره ماهی کپور باعث افزایش مقاومت ماهیان در برابر تنش شوری و کاهش استرس می‌شود.

کلمات کلیدی: کپور معمولی، گیاه گلرنگ، استرس، شوری، تغذیه.

* عهده‌دار مکاتبات (✉). mazandarani57@gmail.com & mazandarani@gau.ac.ir

مقدمه

در سال‌های اخیر همگام با افزایش جمعیت ، صنعت آبزی پروری رشد فراوانی داشته است به گونه‌ای که این رشد نسبت به سایر صنایع تولید غذا برای جمعیت‌های انسانی به مراتب از توسعه بیشتری برخوردار بوده است (FAO, 2014). در عین حال به‌دلیل اثرات سوء داروهای شیمیایی بر سلامت جامعه انسانی و نیز احتمال مقاومت های دارویی، ممنوعیت و ملاحظات فراوانی برای استفاده از این داروها مطرح گردیده است. لذا استفاده از داروها و ترکیبات غیرشیمیایی و نیز عواملی که باعث افزایش سیستم ایمنی در آبزیان می‌گردد، بسیار مورد توجه قرار گرفته است. در این راستا اثرات ترکیبات گوناگون از جمله عصاره‌های گیاهی متعدد مورد مطالعه متعدد قرار گرفته است (Citarasu, 2010).

گیاه گلرنگ با نام علمی *Carthamus tinctorius* L. از خانواده Compositae از جمله گیاهان دارویی معروف در طب است (Li *et al.*, 2013). به همین دلیل بررسی‌های زیادی برای یافتن خواص آن در پایلوت‌های آزمایشی صورت گرفته است، که به‌طور عمده این آزمایشات در موش آزمایشگاهی صورت گرفته است. در این بررسی‌ها اثراتی از جمله کاهش قند خون، افزایش خاصیت آنتی اکسیدانی و افزایش فعالیت های ضد توموری برای این گیاه گزارش گردید (Jun *et al.*, 2011; Chang *et al.*, 2008). علی‌رغم بررسی‌های متعدد اثرات این گیاه در موش آزمایشگاهی سابقه تحقیق در رابطه با آبزیان بسیار ناچیز است و عمده بررسی‌های صورت گرفته در این زمینه اثرات روغن دانه گیه گلرنگ در جیره غذایی است به عنوان مثال در مطالعه Altundag و همکاران (۲۰۱۴) اثر جایگزینی روغن دانه گلرنگ بجای روغن ماهی در جیره غذایی بر شاخص‌های رشد ماهی آزاد توربوت (*Psetta maxima*) مورد بررسی قرار گرفت. بررسی های مشابه در رابطه با جایگزینی روغن دانه گلرنگ با روغن اهی در جیره غذایی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) و میگوی وانامی (*Penaeus vannamei*) نیز صورت گرفته است (Lim et al., 1997; Dernekbasi et al., 2015). Dadras و همکاران (۲۰۱۶) در یک بررسی اثرات پودر گیاه گلرنگ در جیره غذایی را در فیل‌ماهی (*Huso huso*) بر فاکتورهای رشد و مورد مطالعه قرار دادند. کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) از جمله ماهیان باارزش اقتصادی دریای خزر است که از اهمیت زیادی در سبد مصرف خانوارها برخوردار است. به‌دلیل صید بی‌رویه و در راستای بازسازی ذخایر این ماهیان با ارزش همه ساله سازمان شیلات ایران اقدام به تکثیر مصنوعی این ماهی می‌نماید بچه ماهیان تا مرحله انگشت‌قد در استخرهای خاکی پرورش داده شده و در نهایت به رودخانه‌های منتهی به دریا رهاسازی می‌گردند (سالنامه آماری شیلات ایران، ۱۳۹۴). این رهاسازی در استان گلستان در دو رودخانه گرگانرود و قره‌سو صورت می‌گیرد که متاسفانه در سالهای اخیر به دلایل گوناگون از جمله کاهش میزان بارندگی و نیز احداث آب‌بندان و سد در مسیر رودخانه‌ها و برداشت بی‌رویه جهت امور کشاورزی و غیره میزان دبی آب این رودخانه‌ها به شدت کاهش یافته است. بنابراین در هنگام رهاسازی احتمال مواجهه با استرس شوری در مصب رودخانه‌ها دور از ذهن به نظر نمی‌رسد. در بررسی حاضر اثرات تغذیه‌ای سطوح مختلف عصاره

گلرنگ در افزایش مقاومت و ایمنی در مواجهه با استرس شوری کشنده مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

تهیه بچه ماهی و طرح آزمایش

به منظور بررسی اثرات تغذیه‌ای عصاره گلرنگ در کپور ماهیان، تعداد ۲۴۰ قطعه بچه ماهی کپورمعمولی با میانگین وزنی ۰/۱۳±۹/۵۱ گرم از مرکز تکثیر و پرورش سیجوال تهیه شده و به مرکز تحقیقات آبزی-پروری شهید ناصر فضلی‌برآبادی و گروه شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انتقال داده شدند. پس از انتقال ماهیان در ۱۲ عدد مخزن فایبرگلاس با ابعاد ۶۰×۸۰ و با عمق ۶۰ سانتی‌متر تقسیم گردیدند (۲۰ عدد ماهی در هر تانک). به منظور سازگاری با شرایط ماهیان به مدت ۲ هفته مورد پرورش قرار گرفتند. سپس در راستای انجام آزمایش ۳ گروه تیمار و یک گروه شاهد (هرکدام شامل سه تکرار) در نظر گرفته شد. به جیره غذایی ماهیان گروه تیمار به ترتیب ۰/۵ درصد ، ۱/۵ درصد و ۳ درصد عصاره گل گیاه گلرنگ اضافه گردیده و ماهیان گروه شاهد تنها با جیره غذایی پایه تغذیه شدند. ماهیان به مدت ۷۰ روز مورد پروش قرار گرفتند. در طی دوره آزمایش دمای آب پرورش ۲ ± ۲۶ درجه سانتیگراد، اکسیژن محلول (mg/l) ۱± ۶/۲ و سختی کل (mg/l) ۳± ۲۷۱ ثبت گردید.

تهیه عصاره و آماده سازی جیره

گل‌های گیاه گلرنگ در تیرماه ۱۳۹۴ از منطقه شرق اصفهان از مزارع کشاورزی برداشت شده، پس از خشک کردن در سایه از آنها عصاره هیدروالکلی تهیه گردید پس از تبخیر آب و الکل، عصاره به‌دست آمده که تا زمان استفاده در یخچال و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (Erdemoglu *et al*., 2003). در بررسی حاضر از غذای اکسترود کپورمعمولی (SFC0، کرامبل، شرکت فرادانه) به عنوان جیره پایه برای ساخت جیره‌های غذایی استفاده‌شد. برای آماده-سازی جیره‌های آزمایشی، ابتدا به میزان صفر، ۰/۵، ۱/۵ و ۳ درصد عصاره، توزین و در آب ولرم (۳۰۰ سی‌سی آب به ازای یک کیلوگرم غذا) حل شده و سپس عصاره محلول در آب با ۲ درصد پودر ژلاتین مخلوط و روی جیره پایه اسپری شد. خمیر حاصله با استفاده از یک چرخ گوشت با قطر۳ میلی‌متر به پلیت تبدیل گردید. آنالیز جیره مورد استفاده در جدول زیر آورده شده است.

جدول۱ - ترکیب شیمیایی جیره غذایی پایه

ترکیب جیره	پروتئین خام (درصد)	چربی خام (درصد)	خاکستر خام (درصد)	رطوبت (درصد)
درصد	۴۱/۱	۶/۶۰	۱۲/۴	۱۰

آنالیز شاخص های رشد

زیست سنجی هر ۱۴ روز یک‌بار به منظور تعیین میزان غذادهی انجام پذیرفت و در نهایت پس از ۷۰ روز پرورش شاخص‌های رشد مورد محاسبه قرار گرفت. در این تحقیق شاخص‌های درصد بازماندگی (SR)، درصد افزایش وزن (BWI%)، افزایش وزن بدن(WG)، نرخ رشد ویژه (SGR)، نرخ رشد روزانه

(GR)، عامل وضعیت (CF) و ضریب تبدیل غذایی (FCR) بر اساس معادلات ریاضی زیر محاسبه شدند (Turchini *et al*., 2003).

$WG\ (weight\ gain, \%) = 100\times (BW_f - BW_i)/BW_i$

$SGR\ (specific\ growth\ rate, \%\ day\text{-}1) = 100 \times (\ln(BW_f) - \ln(BW_i))/T$

$GR\ (growth\ rate) = (BW_i - BW_f)/T$

$\%BWI\ (body\ weight\ index) = (BW_f - BW_i)/BW_i \times 100$

$CF\ (condition\ factor) = (BW/L^3) \times 100$

$FCR\ (feed\ conversion\ rate) = g\ feed\ intake/(BW_f - BW_i)$

$SR\ (survival\ rate) = N_2/N_1 \times 100$

در این روابط BW_i = وزن ابتدایی (گرم)، BW_f = وزن نهایی (گرم)، T = زمان پرورش (روز)، L = طول کل (سانتی متر)، N_2 = تعداد ماهیان زنده پایان دوره، N_1 = تعداد ماهیان زنده ابتدای دوره در نظر گرفته شد.

تنش شوری کشنده و بررسی‌های بیوشیمیایی سرم

به منظور بررسی وضعیت مقاومت و زنده‌مانی ماهیان در مواجهه با تنش شوری کشنده تعداد ۱۲ عدد ماهی از هر تیمار به مدت ۱۰ ساعت با شوری کشنده ۲۰ گرم در لیتر مواجهه داده شده و میزان تلفات ثبت گردید. برای تهیه شوری‌های مورد نظر پس محاسبه دقیق نمک دریایی به آب پرورش اضافه گردید. در عین حال تعداد ۲۸ ماهی در معرض شوری ۱۴ گرم درلیتر (شوری نزدیک به شوری دریای خزر) به مدت ۶ ساعت قرار گرفتند (در این راستا با توجه به شرایط آزمایش در یک پایلوت آزمایشی غلظت کشنده و غلظت قابل تحمل برای این ماهی تعیین گردید) و برخی شاخص‌های بیوشیمیایی از قبیل کورتیزول، گلوکز، پروتئین کل، آلبومین و برخی الکترولیت‌ها از قبیل کلر و سدیم در زمان‌های قبل از تنش شوری و ۶، ۲۴، ۷۲ و ۱۶۸ ساعت پس از تنش شوری اندازه‌گیری گردید. در این بررسی مقادیر گلوکز، پروتئین کل و آلبومین با استفاده از کیت‌های تجاری پارس آزمون و با دستگاه اسپکتروفتومتری (Biochrom, Libra S12) و براساس دستورالعمل کیت‌ها اندازه‌گیری شدند. کورتیزول نیز با استفاده از کیت تجاری IBL و با دستگاه الایزا (مدل UNISCO 2100) اندازه‌گیری گردید و مقادیر کلر با استفاده از کیت تجاری زیست-شیمی و براساس دستورالعمل کیت اندازه‌گیری شد. سدیم پلاسما نیز به روش فلیم فتومتری اندازه‌گیری شد (Hoseini *et al*., 2016).

آنالیز آماری

جهت بررسی آماری نتایج نهایی و رسم نمودار از نرم افزار های SPSS18 و Excel 2010 استفاده شد. در نهایت نتایج بررسی حاصل شاخص‌های مورد مطالعه به‌صورت میانگین ± انحراف استاندارد برای گروه‌های مختلف بیان گردید. در آنالیز داده ها جهت مقایسه‌ی میانگین‌ها نیز از آزمون One way ANOVA در سطح اطمینان ۹۵ درصد استفاده و $p\leq ۰/۰۵$ معنی‌دار تلقی گردید.

نتایج

اثرات سطوح مختلف عصاره گیاه گلرنگ بر شاخص‌های رشد و بقا

نتایج حاصل از بررسی شاخص‌های رشد در تیمارهای مختلف پس از ۷۰ روز تغذیه و پرورش در جدول ۲ آورده شده است. طی دوره آزمایش تلفاتی در گروه‌های آزمایشی ثبت نگردید. اختلاف معنی-

داری در میانگین طول ابتدا و انتهای دوره، افزایش وزن بدن، درصد افزایش وزن، نرخ رشد ویژه، شاخص وضعیت و ضریب تبدیل غذایی بین ماهیان گروه شاهد و ماهیان گروه‌های تغذیه شده با سطوح مختلف عصاره گلرنگ مشاهده نگردید (P >۰/۰۵) (جدول ۲).

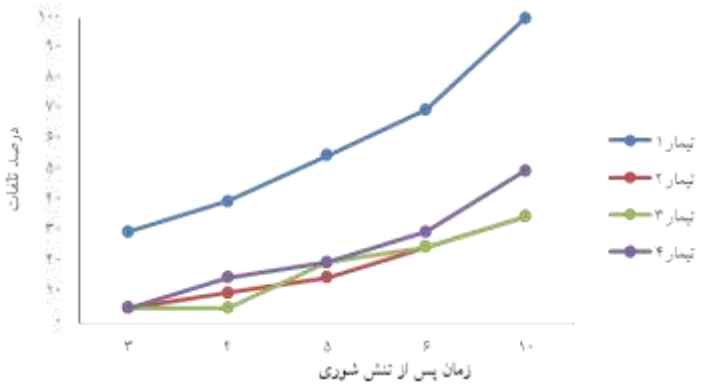
جدول۲: مقایسه برخی شاخص‌های رشد بچه ماهی کپور معمولی تغذیه شده با سطوح مختلف عصاره گیاه گلرنگ

شاخص‌های رشد	گروه شاهد	تیمار ۰/۵٪ عصاره	تیمار۱/۵ ٪ عصاره	تیمار ۳٪ عصاره
میانگین وزن ماهی در ابتدای دوره (گرم)	۹/۶±۰/۲۶ a	۹/۴۴±۰/۱ a	۹/۴۹±۰/۰۹ a	۹/۵±۰/ ۰۲ a
میانگین وزن ماهی در انتهای دوره (گرم)	۱۹/۷۳±۰/۰۲ a	۱۹/۷۷±۰/۳۴ a	۲۰/۱۳±۰/۰۵ a	۱۹/۶۹±۰/۱۳ a
میانگین طول ماهی در انتهای دوره (سانتی-متر)	۱۰/۶±۰/۰۳ a	۱۰/۵۹±۰/۲۱ a	۱۰/۶±۰/۲۴ a	۱۰/۴۵±۰/۰۸ a
افزایش وزن بدن (گرم)	۱۸۲/۴۳±۵/۲۱ a	۱۸۵/۸۵±۴/۲ a	۱۹۱/۴۳±۰/۶۶ a	۱۸۳/۳۳±۱/۹ a
درصد افزایش وزن بدن	۱۰۵/۶۵±۵/۹۷ a	۱۰۹/۳۱±۱/۲۴ a	۱۱۲/۰۱±۱/۴۵ a	۱۰۷/۱۵±۰/۸۷ a
نرخ رشد ویژه (درصد در روز)	۰/۹۸±۰/۰۴ a	۱/۰۱±۰/۰۰۸ a	۱/۰۳±۰/۰۰۹ a	۰/۹۹±۰/۰۰۶ a
شاخص وضعیت	۱/۶۵±۰/۰۱ a	۱/۶۶±۰/۰۷ a	۱/۶۸±۰/۱۱ a	۱/۷۲±۰/۰۳ a
ضریب تبدیل غذایی	۲/۰۷±۰/۱۱ a	۲±۰/۰۲ a	۱/۹۵±۰/۰۲ a	۲/۰۴±۰/۰۲ a
نرخ بقا (درصد)	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰

حروف انگلیسی در هر ردیف، نشانه تفاوت معنادار در سطح ۰/۰۵ است. داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار است

میزان بقا و مقاومت به تنش شوری ۲۰ گرم بر لیتر در ماهیان تیمارشده با عصاره گیاه گلرنگ

تلفات از زمان ۳ ساعت پس از تنش در گروه‌های مورد بررسی شروع شد و در طول مدت مواجهه، بچه ماهیانی که از عصاره گیاه گلرنگ در جیره غذایی آنها استفاده شده بود بیشترین بازماندگی را نشان دادند. به‌طوری که در مدت زمان ۱۰ ساعت پس از تنش ۱۰۰ درصد ماهیان گروه شاهد تلف شدند. این تلفات در ماهیان تغذیه شده با سطوح ۰/۵، ۱/۵ و ۳ درصد عصاره گلرنگ در جیره به ترتیب ۳۵، ۳۵ و ۵۰ درصد ثبت گردید (شکل ۱).



شکل ۱: درصد تلفات تیمارهای مختلف بعد از تنش شوری ۲۰ گرم برلیتر. تیمار۱: گروه شاهد، تیمار۲: ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی ۰/۵٪ عصاره گلرنگ، تیمار۳: ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی ۱٪ عصاره گلرنگ، تیمار۴: ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی ۱/۵٪ عصاره گلرنگ

بررسی شاخص‌های بیوشیمیایی سرم خون ماهیان تحت مطالعه

سطح کورتیزول در طی ۲۴ ساعت اول پس از مواجهه با شوری ۱۴ گرم در لیتر در ماهیان گروه شاهد در مقایسه با ماهیان تغذیه شده با عصاره گلرنگ به‌طور معنی‌داری بالاتر بود و حتی در ماهیانی که با عصاره ۳٪ گلرنگ تغذیه شده بودند تا ۷۲ ساعت پس از مواجهه شوری سطح کورتیزول سرم به‌طور معنی‌دار پایین‌تر از گروه شاهد ثبت گردید (جدول ۳). بالاترین میزان گلوکز برای گروه‌های مختلف در زمان ۶ ساعت پس از مواجهه شوری ثبت گردید و ۲۴ ساعت پس از مواجهه در تمامی گروه‌ها بجز گروه تغذیه شده با عصاره ۳٪ مقدار گلوکز به سطح پیش از مواجهه با شوری برگشت، در طی ۲۴ ساعت اول پس از مواجهه مقادیر گلوکز در گروه‌های تغذیه شده با عصاره گلرنگ مختلف به‌طور معنی‌داری پایین‌تر از ماهیان گروه شاهد ثبت شد (جدول ۳). مقادیر سدیم پیش از مواجهه با استرس شوری در ماهیان گروه شاهد به‌طور معنی‌داری پایین‌تر اندازه‌گیری گردید و پس از مواجهه اختلاف معنی‌داری در مقادیر سدیم در گروه‌های مختلف مورد بررسی مشاهده نگردید، برخلاف سدیم مقادیر کلر پیش از مواجهه با استرس شوری تمامی گروه‌های مورد بررسی در یک سطح اندازه‌گیری گردید. ولی ۶ ساعت پس از استرس شوری مقادیر کلر پلاسما در ماهیان گروه شاهد به‌طور معنی‌داری در مقایسه با گروه‌های تغذیه شده با عصاره بالاتر بود (جدول ۳).

جدول ۳ تغییرات کورتیزول خون بچه ماهیان کپورمعمولی تغذیه‌شده با سطوح مختلف عصاره گیاه‌گلرنگ تحت تنش شوری ppt ۱۴

	زمان خون‌گیری	گروه شاهد	تیمار ۰/۵٪ عصاره	تیمار۱/۵ ٪ عصاره	تیمار ۳٪ عصاره
	پیش از تنش	۴۳۳/۳۳±۲۲/۱۲$^{b\ A}$	۴۷۴/۶۶±۲۴/۴۴$^{b\ A}$	۴۵۹/۳±۳۲/۰۸$^{b\ A}$	۴۴۴±۳۰/۲۶$^{b\ A}$
	۶ ساعت پس از تنش	۷۳۶±۳۵/۰۴$^{a\ A}$	۶۴۴/۶۶±۳۲/۳۹$^{a\ B}$	۶۳۳/۳±۴۰/۸۵$^{a\ BC}$	۵۷۸±۲۶/۰۶$^{a\ C}$
کورتیزول	۲۴ ساعت پس از تنش	۴۰۴/۵±۲۲/۸۸$^{b\ A}$	۳۶۵±۳۸/۰۳$^{c\ AB}$	۳۶۸±۳۵/۵۹$^{c\ AB}$	۳۳۵±۲۹/۵$^{c\ B}$
	۴۸ ساعت پس از تنش	۴۳۱±۲۸/۹۶$^{b\ A}$	۴۳۵/۵±۳۳/۲۸$^{bc\ A}$	۴۳۹±۳۶/۸۹$^{bc\ A}$	۳۶۹/۵±۳۱/۱۷$^{c\ B}$
	۷۲ ساعت پس از تنش	۴۴۶±۳۳/۲۸$^{b\ A}$	۴۲۶±۳۸/۵۷$^{bc\ AB}$	۴۱۵/۳±۲۳/۱۸$^{bc\ AB}$	۳۷۴/۶۶±۳۰/۷۴$^{c\ B}$
	پیش از تنش	۱۳۲/۶۴±۱۷/۸۶$^{b\ A}$	۱۴۵/۰۷±۱۹/۱۷$^{b\ A}$	۱۴۲/۴۳±۱۶/۴۵$^{b\ A}$	۱۴۸/۳۵±۱۶/۱۵$^{b\ A}$
	۶ ساعت پس از تنش	۳۲۴/۹۳±۱۶/۹۸$^{a\ A}$	۳۰۰/۶۶±۱۷/۱۵$^{a\ B}$	۲۷۸/۷۲±۲۰/۴۷$^{a\ C}$	۲۳۹/۳۱±۱۶/۰۵$^{a\ D}$
گلوکز	۲۴ ساعت پس از تنش	۱۴۸/۰۹±۱۴/۵۴$^{b\ A}$	۱۴۵/۴۸±۱۴/۹۲$^{b\ A}$	۱۳۵/۴۷±۱۴/۲$^{b\ AB}$	۱۲۳/۹۵±۱۲/۶۴$^{c\ B}$
	۴۸ ساعت پس از تنش	۱۰۸/۴۴±۱۵/۰۶$^{c\ A}$	۱۲۳/۴±۱۱/۰۴$^{c\ A}$	۱۱۶/۱۸±۱۳/۷۷$^{c\ A}$	۱۱۵/۲۷±۹/۲۴$^{cd\ A}$
	۷۲ ساعت پس از تنش	۱۰۳/۶۳±۱۰/۹۶$^{c\ A}$	۱۰۰/۴۳±۱۴/۰۶$^{d\ A}$	۹۸/۶۱±۷/۹۳$^{d\ A}$	۱۰۱/۳۴±۱۷/۴۷$^{d\ A}$
	پیش از تنش	۱۲۷±۶$^{c\ B}$	۱۴۸±۶/۵۵$^{b\ A}$	۱۴۹±۶$^{b\ A}$	۱۵۹±۳/۶$^{b\ A}$
	۶ ساعت پس از تنش	۱۶۴±۷$^{a\ A}$	۱۶۷±۶/۲۴$^{a\ A}$	۱۶۶±۵/۵۶$^{a\ A}$	۱۷۳±۵$^{a\ A}$
سدیم	۲۴ ساعت پس از تنش	۱۶۲±۴/۵۸$^{ab\ A}$	۱۶۴±۴/۳۶$^{a\ A}$	۱۶۵±۴$^{a\ A}$	۱۷۰±۳$^{a\ A}$
	۴۸ ساعت پس از تنش	۱۵۸±۶/۵۵$^{ab\ A}$	۱۵۷±۸/۱۸$^{ab\ A}$	۱۶۰±۶/۲۴$^{ab\ A}$	۱۶۵±۴$^{ab\ A}$
	۷۲ ساعت پس از تنش	۱۵۲±۴/۵۸$^{b\ A}$	۱۵۳±۵/۲۹$^{b\ A}$	۱۵۵±۴/۵۸$^{b\ A}$	۱۶۱±۴/۵۸$^{b\ A}$
	پیش از تنش	۹۴/۶±۸/۵۶$^{b\ A}$	۱۰۱/۱۵±۱۳/۹۱$^{a\ A}$	۱۰۳/۸۶±۸/۱۳$^{a\ A}$	۱۱۱±۱/۴۴$^{a\ A}$
	۶ ساعت پس از تنش	۱۲۱/۴۵±۴/۷۱$^{a\ A}$	۱۰۱/۷۱±۱۱/۴$^{a\ B}$	۱۰۶/۶۱±۲/۹۲$^{a\ B}$	۱۱۳/۷۴±۴/۰۲$^{a\ B}$
کلر	۲۴ ساعت پس از تنش	۱۱۰/۷۲±۱۳/۱۹$^{ab\ A}$	۱۰۴/۰۷±۵/۷۷$^{a\ A}$	۱۱۱/۱±۱۲$^{a\ A}$	۱۱۰/۴۱±۴/۷۲$^{a\ A}$
	۴۸ ساعت پس از تنش	۱۱۶/۰۱±۱۲/۸۹$^{a\ A}$	۱۱۸/۱۴±۱۹/۷۱$^{a\ A}$	۱۲۰/۴۵±۱۲/۲۱$^{a\ A}$	۹۶/۰۶±۱۷/۲۹$^{a\ A}$
	۷۲ ساعت پس از تنش	۹۶/۷۸±۴/۷۱$^{b\ A}$	۱۱۳/۲۸±۲۲/۷۲$^{a\ A}$	۱۰۹/۷۶±۱۸$^{a\ A}$	۱۰۴/۲±۵/۷۲$^{a\ A}$

حروف انگلیسی بزرگ غیرمشابه در هر ردیف و حروف انگلیسی کوچک غیرمشابه در هر ستون، بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح اطمینان ۹۵٪ ($P< ۰/۰۵$) است. داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار است.

بحث

گیاه گلرنگ از جمله گیاهان قدیمی در طب سنتی محسوب می‌شود که خواص متعددی برای آن ذکر شده است. اما مطالعه این گیاه در ماهی بسیار اندک است. همان‌گونه که در مقدمه عنوان گردید یکی از مشکلاتی که در بازسازی ذخایر ماهیان استان گلستان وجود دارد، کم‌آبی و کاهش آب رودخانه‌های منتهی به دریای خزر است. به‌گونه‌ای که در ماه‌های گرم سال که مقارن با رهاسازی بچه‌ماهیان شده به دریا (به‌منظور بازسازی ذخایر) است. رودخانه‌های شمالی کشور به‌خصوص رودخانه‌های استان گلستان به‌شدت دچار کم آبی می‌شوند. لذا در مواردی در مصب این رودخانه‌ها احتمال مواجهه با استرس شوری نیز وجود دارد. در عین‌حال، به‌دلیل کم‌آبی رودخانه‌ها این احتمال وجود دارد که این ماهیان زودتر مصب رودخانه را ترک نموده و به دریا مهاجرت کنند. لذا افزایش مقاومت در مواجهه با استرس شوری در این ماهیان بسیار می‌تواند مفید باشد. در بررسی حاضر عصاره گیاه گلرنگ در سطوح ۰/۵ تا ۳ درصد جیره منجر به افزایش مقاومت و زنده‌مانی ماهیان در مواجهه با استرس شوری گردیده است. به‌گونه‌ای که در مواجهه با استرس شوری کشنده‌ای که منجر به تلفات ۱۰۰ درصدی ماهیان گروه شاهد گردید در ماهیان تغذیه شده با عصاره کمتر از ۵۰ درصد تلفات مشاهده شد و این نتیجه بخصوص در هنگام رهاسازی بچه ماهیان در رودخانه‌های مصب دریا می‌تواند بسیار مفید باشد. همچنین در بررسی حاضر در زمان ۶ ساعت پس از مواجهه میزان کورتیزول در تمامی گروه‌ها افزایش داشت. اما در ماهیان تغذیه شده با عصاره به‌طور معنی‌داری پایین‌تر از گروه شاهد بوده است و به‌همین ترتیب میزان گلوکز خون نیز در ماهیان گروه تیمار در مقایسه با گروه شاهد کمتر دستخوش تغییر پس از استرس شوری قرار گرفت. در این رابطه در ماهی تا کنون تحقیقی صورت نگرفته است اما در مطالعاتی که روی موش آزمایشگاهی انجام گرفت، اثرات افزایش انسولین و کاهش میزان قند خون گزارش شده است (عسگری و همکاران، ۱۳۹۱؛ رحیمی و همکاران، ۱۳۸۸). در بررسی حاضر نیز عصاره گل گیاه گلرنگ منجر به کاهش کورتیزول و کاهش قند خون در ماهی کپور معمولی شده است. در این بررسی همان‌گونه که در جدول ۳ مشاهده می‌گردد، ۷۲ ساعت پس از تنش شوری سطح گلوکز خون در تمامی گروه‌های مورد مطالعه پایین‌تر از زمان قبل از تنش بود. شاید این امر ناشی از سازگاری بدن ماهیان در حفظ ذخیره انرژی باشد. به‌عبارت دیگر ماهیان سعی می‌کنند تا ذخیره انرژی خود را برای زنده‌مانی و کنترل شرایط بدن حفظ نمایند، شاید این موضوع را بتوان به کاهش تلفات ماهیان تغذیه شده با عصاره گلرنگ در مقایسه با گروه شاهد ربط داد، به این صورت‌که ماهیان گروه تیمار دچار استرس کمتری شده و درنتیجه ذخیره گلیکوژنی آنها بیشتر از ماهیان گروه شاهد حفظ گردیده و در نتیجه توانایی بیشتری در حفظ هموستازی و شرایط فیزیولوژیکی بدن داشته‌اند. شاید به‌همین دلیل ماهیان گروه تیمار توانایی بالاتری در حفظ سطوح سدیم و کلر خون در مقایسه با گروه شاهد داشته‌اند، همان‌گونه که در جدول ۳ مشاهده می‌شود، مقادیر کلر در ماهیان گروه تیمار طی ۷۲ ساعت تنش تحت تأثیر شوری قرار نگرفت. اما در ماهیان گروه کنترل ۶ ساعت پس از تنش سطح کلر خون در مقایسه با زمان پیش از تنش شوری افزایش یافت. در این رابطه نیز در ماهیان

گزارشی به‌دست ما نرسیده است. اما در تحقیقات مشابه اثرات محافظتی عصاره این گیاه بر برخی بافت‌های موش آزمایشگاهی در مسمومیت‌ها به اثبات رسده است، به‌عنوان مثال علاوش شوشتری و همکاران (۱۳۹۵) نشان دادند که عصاره گل گیاه گلرنگ دارای اثرات محافظتی بر بافت و عملکرد کلیه در مسمومیت ناشی از استامینوفون در موش آزمایشگاهی است (علاوش شوشتری و همکاران، ۱۳۹۵)، عسگری و همکاران (۱۳۹۱) و نیز رحیمی و همکاران (۱۳۸۸) در دو مطالعه جداگانه اثرات حفاظتی عصاره این گیاه در مسمومیت با داروی آلوکسان را بر بافت کبد موش‌های صحرایی گزارش نمودند. در بررسی Chang و همکاران (۲۰۰۸) اثرات ضدتوموری نیز برای عصاره این گیاه در موش گزارش گردید. عبدالملکی و همکاران (۱۳۹۰) اثرات ضد قارچی قابل قبولی را برای عصاره این گیاه در محیط آزمایشگاهی اثبات نمودند. در عین‌حال اثرات منفی نیز بر سیستم ایمنی برخی حیوانات آزمایشگاهی برای عصاره این گیاه ذکر شده است، مثلاً در مطالعه Louei Monfared و Salati (۲۰۱۵) تزریق داخل صفاقی عصاره گلرنگ در زمان ۶ تا ۱۶ آبستنی موش منجر به عوارض آسیبی فراوانی به جنین گردید و در نهایت زنده‌مانی این بچه‌موش‌ها نیز کاهش یافت. در بسیاری از بررسی‌ها نیز اثرات منفی بر ایمنی غیراختصاصی و اختصاصی عصاره گلرنگ در موش آزمایشگاهی گزارش شده است (Al-Snafi, 2015 & 2016; Wu, 2011; Lu *et al*., 1991).

علی‌رغم مطالعات ارزشمندی که در رابطه با عصاره این گیاه در موش‌های آزمایشگاهی صورت گرفته است، مطالعه اثرات عصاره گیاه گلرنگ در آبزیان بسیار ناچیز است و عمده بررسی‌های صورت گرفته بر روی اثرات تغذیه‌ای ماهیان با روغن دانه گیاه گلرنگ بر پارامترهای رشد در آبزیان بوده است. به عنوان مثال در بررسی Altundag و همکاران (۲۰۱۴) جایگزینی روغن ماهی جیره در یک تیمار آزمایشی با روغن دانه گیاه گلرنگ منجر به افزایش شاخص‌های رشد در ماهی آزاد توربوت (*Psetta maxima*) گردید در عین حال در آنالیز اسیدهای زنجیره کوتاه ازجمله اسید لینولئیک اختلاف معنی‌داری در فیله ماهیان تغذیه شده با روغن ماهی و روغن دانه گیاه گلرنگ مشاهده نگردید (Altundag *et al*., 2015). در بررسی Dernekbasi و همکاران (۲۰۱۳) روغن ماهی جیره غذایی قزل‌الای رنگین کمان با درصدهای مختلف با روغن دانه گیاه گلرنگ جایگزین شد و بر اساس نتایج بررسی می‌توان روغن دانه گلرنگ را تا ۵۰٪ درصد جایگزینی روغن ماهی جیره غذایی قزل‌آلای رنگین کمان نمود بدون اینکه هیچ تاثیر منفی در پارامترهای رشد این ماهی داشته باشد.. در مطالعه مشابه دیگری ۱۰ هفته تغذیه با روغن دانه گلرنگ در جیره غذایی میگوی وانامی (*Penaeus vannamei*) نه تنها منجز به تاثیرات منفی در رشد نگردید بلکه بالاترین میزان بازماندگی میگوها نیز در تیمار تغذیه شده با روغن گلرنگ مشاهده شد (Lim *et al*., 1997). در تحقیق Dadras و همکاران (۲۰۱۶) افزودن ۱ و ۲٪ پودر گل گلرنگ جیره غذایی فیل ماهی (*Huso huso*) هیچ تاثیری بر پارامترهای رشد نداشت اما منجر به افزایش سطوح لیزوزیم و توتال ایمنوگلوبولین سرم نیز افزایش تعداد گلبول‌های سفید خون این ماهیان گردید همچنین در این بررسی آنزیم های کبدی (ALT، AST و ALP) بطور معنی‌داری در ماهیان گروه شاهد بالاتر از ماهیان تغذیه شده با عصاره گلرنگ گزارش گردید

(Dadras *et al*., 2016). در بررسی حاضر نیز ۷۰ روز تغذیه با سطح مختلف عصاره گیاه گلرنگ هیچ تاثیری بر پارامترهای رشد در ماهی کپور معمولی نداشت اما باعث کنترل قابل قبول زنده‌مانی و استرس در مواجهه با شوری گردید و همانطور که عنوان گردید بر اساس نتایج جدول ۳ احتمالاً این کار با کنترل کورتیزول و در نتیجه کنترل گلیکوایز و سطح گلوکز خون صورت می‌گیرد. این امر منجر به حفظ ذخیره گیکوژن کبدی شده و از صرف انرژی بیش از اندازه جلوگیری می‌کند در نتیجه ماهی مذکور قادر به تحمل طولانی‌تر شرایط استرسی خواهد بود.

در مجموع با توجه به نتایج به‌دست آمده می‌توان گفت عصاره گل گیاه گلرنگ در غلظت ۰/۵ تا ۳ ٪ در جیره غذایی منجر به افزایش مقاومت بچه ماهیان کپور معمولی را در مواجهه با استرس شوری افزایش می‌دهد و این امر می‌تواند در شرایط بحرانی بازدهی رهاسازی بچه ماهیان و بازسازی ذخایر را بهبود ببخشد.

سپاسگزاری

در اینجا بر خود لازم می‌دانیم که از زحمات تمام کسانی که ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند سپاسگزاری نماییم.

منابع

۱. علاوش شوشتری، آ.، سادات خرسندی، ل.، احمدی، خ.، ۱۳۹۵. اثر محافظتی عصاره آبی گیاه گلرنگ بر مسمومیت کلیوی ناشی از استامینوفن در موش سوری، مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی گرگان، (۳)۱۸، ۳۲-۲۸.

۲. عسگری، ص.، رحیمی، پ.، مدنی، ح.، پروین محزونی، پ.، کبیری، ن.، ۱۳۹۱. اثر عصاره هیدروالکلی گل گلرنگ (*Carthamus tinctorius*) در پیشگیری از دیابت قندی نوع اول در رت‌های نر بالغ. مجله زیست شناسی ایران، (۱)۲۶، ۱۵۳ -۱۴۵.

۳. رحیمی، پ.، عسگری، ص.، مدنی، ح.، محزونی، پ.، ۱۳۸۸. اثر عصاره هیدرو الکلی گل گلرنگ (*Carthamus tinctorius*) بر کاهش قندخون در موش های صحرایی دیابتی شده با آلوکسان . فصلنامه دانش و تندرستی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شاهرود، (۲)۴، ۵-۱.

۴. عبدالملکی، م، بهرا می‌نژاد،ص.، عباسی، س.، ۱۳۹۰. بررسی اثرات ضد قارچی عصارههای برخی گیاهان علیه چهار قارچ بیمار ی‌زای گیاهی. نشریه گیاهان دارویی، (۲)۳۸، ۱۵۴-۱۴۸

5. Al-Snafi, A. E., 2016. Immunological effects of medicinal plants: a review (Part 2). Immunology, Endocrine & Metabolic Agents in Medicinal Chemistry, 16, 1-22.
6. Al-Snafi, A. E., 2015. The chemical constituents and pharmacological importance of *Carthamus tinctorius* – An overview. Journal of Pharmaceutical Biology, 5(3), 143-166.
7. Altundag, M. S., Tiril, S. U. Ozdemir, A., 2014. Effects of safflower oil supplementation in diet on growth performance and body fatty acid composition of turbot (*Psetta maxima*). Aquaculture, 22(2), 597–605.
8. Chang, J. M., Hung, L. M., Chyan, Y. J., Cheng, C. M., Wu, R.Y., 2008. *Carthamus Tinctorius* Enhances the Antitumor Activity of Dendritic Cell Vaccines via Polarization toward Th1 Cytokines and Increase of Cytotoxic T Lymphocytes. Enhancement of DC vaccine by CT extract, doi:10.1093/ecam/nen068.

9. Citarasu, T., 2010. Herbal biomedicines: a new opportunity for aquaculture industry. Aquaculture International, 18(3), 403-414.
10. Dadras, H., Hayatbakhsh, M. R., Shelton, W. L., Golpour, A., 2016. Effects of dietary administration of Rose hip and Safflower on growth performance, haematological, biochemical parameters and innate immune response of Beluga, *Huso huso* (Linnaeus, 1758), Fish and Shellfish Immunology, 59, 109-114.
11. Dernekbaşı, S., Kerim, M., Alagil, F., 2015. Effect of dietary safflower and canola oil on growth performance, body, and fatty acid composition of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Journal of Aquatic Food Product Technology, 24 (2), 131-142.
12. 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.
13. FAO., 2014. Aquaculture Department, The state of world fisheries and aquaculture 2014. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, 243 p.
14. Hoseini, M., TaheriMirghaed, A., Mazandarani, M., 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.
15. Jun, M.S., Ha, Y.M., Kim, H.S., Jang, H.J., Kim, Y.M., Lee, Y.S., Kim, H.J., Seo, H.G., Lee, J.H., Lee, S.H., Chang, K. S., 2011. Anti-inflammatory action of methanol extract of *Carthamus tinctorius* involves in heme oxygenase-1 induction. Journal of Ethnopharmacology, 133, 524–530.
16. Li, L., Yang, Y., Hou, X., Gu, D., Ba, H., Abdulla, R., Aisa, H. A., 2013. Bioassay-guided separation and purification of water-soluble antioxidants from *Carthamus tinctorius L*. by combination of chromatographic techniques. Separation and Purification Technology, 104, 200-207.
17. Lim, C., Ako, H., Brown, C.L., Hahn, K., 1997. Growth response and fatty acid composition of juvenile *Penaeus vannamei* fed different sources of dietary lipid. Aquaculture, 151, 143-153.
18. Louei Monfared, A., Salat, A.P., 2012. The effects of *Carthamus tinctorius* L. on placental histomorphology and survival of the neonates in mice. Avicenna Journal of Phytomedicine, 2 (3), 146-152.
19. Lu, Z.W., Liu, F., Hu, J., Bian, D., Li, FG., 1991. Suppressive effects of safflower yellow on immune functions. Acta Pharmacologica Sinica, 12(6), 537-542.
20. Turchini, G.M., Mentasti, T., Froyland, L., Orban, E., Caprino, F., Moretti, V.M., Valfre, F., 2003. Effects of alternative dietary lipid sources on performance, tissue chemical composition, mitochondrial fatty acid oxidation capabilities and sensory characteristics in brown trout. Aquaculture, 225 (1-4), 251-267.
21. Wu, W., Jin, M., Tong, J., Wang, X.F., Zang, BX., 2011. Inhibitory effect of hydroxysafflor yellow A against PMN activation induced by LPS. Yao Xue Xue Bao, 46(2), 153-157. (Chinese language with English abstract)