

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

محمد مازندرانی\*<sup>۱</sup>، میثم دهقانی قمشانی<sup>۱</sup>، محمد سوداگر<sup>۱</sup>، سید مرتضی حسینی<sup>۲</sup>

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 پذیرش: ۱۳۹۸/۲/۲۸

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۱/۱۰

### چکیده

در این تحقیق، اثر عصاره گیاه گلرنگ به جیره ماهی کپور معمولی بر زنده ماندن در برابر تنش شوری کشنده و پاسخ‌های فیزیولوژیکی این گونه بررسی گردید. به این منظور، ماهیان انگشت قد با میانگین وزنی  $9/51 \pm 0/13$  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 ۳-۵/۰ 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.

## مقدمه

در سال‌های اخیر همگام با افزایش جمعیت، صنعت آبرزی 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 به دلیل اثرات سوء داروهای شیمیایی بر سلامت جامعه انسانی و نیز احتمال مقاومت‌های 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 آنتی‌اکسیدانی و افزایش فعالیت‌های 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 گیاه 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. بررسی‌های مشابه در رابطه با جایگزینی روغن دانه گلرنگ با روغن اهی در جیره غذایی قزل-آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) و میگوی وانامی (*Penaeus vannamei*) نیز صورت گرفته است (Lim et al., 1997; Dernekbası et al., 2015). Dadras و همکاران (۲۰۱۶) در یک بررسی اثرات پودر گیاه گلرنگ در جیره غذایی را در قزل-ماهی (*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. به دلیل 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 متأسفانه 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.

(mg/l)  $1 \pm 6/2$  و سختی کل (mg/l)  $3 \pm 271$  ثبت گردید.

## مواد و روش‌ها

### تهیه بچه ماهی و طرح آزمایش

به منظور بررسی اثرات تغذیه‌ای عصاره گلرنگ در کپور ماهیان، تعداد ۲۴۰ قطعه بچه ماهی کپور معمولی با میانگین وزنی  $9/51 \pm 0/13$  گرم از مرکز تکثیر و پرورش سیجوال تهیه شده و به مرکز تحقیقات آبزی-پروری شهید ناصر فضلی برآبادی و گروه شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انتقال داده شدند. پس از انتقال ماهیان در ۱۲ عدد مخزن فایبر گلاس با ابعاد  $80 \times 60$  و با عمق ۶۰ سانتی متر 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 پرورش قرار گرفتند. در طی دوره آزمایش دمای آب پرورش  $26 \pm 2$  درجه سانتیگراد، اکسیژن محلول

## 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 به دست آمده که تا زمان استفاده در یخچال و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (Erdemoglu et al., 2003). در بررسی حاضر از غذای اکستروود کپور معمولی (SFCO، کرامبل، شرکت فرادانه) به عنوان جیره پایه برای ساخت جیره‌های غذایی استفاده شد. برای آماده‌سازی 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 قطر ۳ میلی‌متر به پلیت تبدیل گردید. آنالیز جیره مورد استفاده در جدول زیر آورده شده است.

جدول ۱ - 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 شاخص‌های 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

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 افزارهای SPSS18 و Excel 2010 استفاده شد. در نهایت نتایج بررسی حاصل شاخص‌های مورد مطالعه به صورت میانگین  $\pm$  انحراف استاندارد برای گروه‌های مختلف بیان گردید. در آنالیز داده‌ها جهت مقایسه‌ی میانگین‌ها نیز از آزمون One way ANOVA در سطح اطمینان ۹۵ درصد استفاده و  $p \leq 0.05$  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-

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

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

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

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

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

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

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

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

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 در لیتر (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

و ماهیان گروه‌های تغذیه شده با سطوح مختلف عصاره گلرنگ مشاهده نگردید ( $P > 0.05$ ) (جدول ۲).

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

جدول ۲: مقایسه برخی شاخص‌های رشد بچه ماهی کپور معمولی تغذیه شده با سطوح مختلف عصاره گیاه گلرنگ

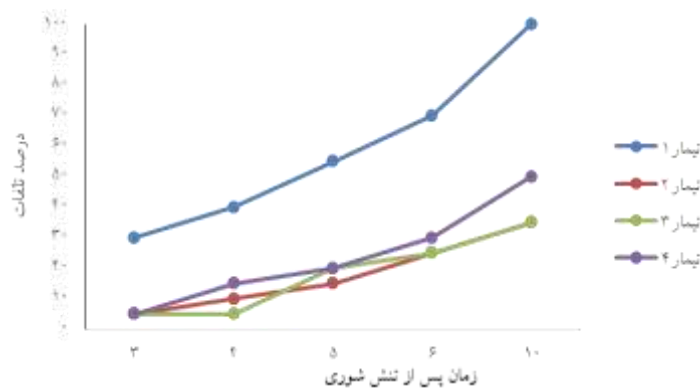
شاخص‌های رشد	گروه شاهد	تیمار ۰/۵٪ عصاره	تیمار ۱/۵٪ عصاره	تیمار ۳٪ عصاره
میانگین وزن ماهی در ابتدای دوره (گرم)	۹/۶±۰/۲۶ <sup>a</sup>	۹/۴۴±۰/۱ <sup>a</sup>	۹/۴۹±۰/۰۹ <sup>a</sup>	۹/۵±۰/۰۲ <sup>a</sup>
میانگین وزن ماهی در انتهای دوره (گرم)	۱۹/۷۳±۰/۰۲ <sup>a</sup>	۱۹/۷۷±۰/۳۴ <sup>a</sup>	۲۰/۱۳±۰/۰۵ <sup>a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

طوری 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).

### میزان بقا و مقاومت به تنش شوری ۲۰ گرم بر لیتر در ماهیان تیمار شده 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. به-



شکل ۱: درصد تلفات تیمارهای مختلف بعد از تنش شوری ۲۰ گرم بر لیتر. تیمار ۱: گروه شاهد، تیمار ۲: ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی ۰/۵٪ عصاره گلرنگ، تیمار ۳: ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی ۱/۵٪ عصاره گلرنگ، تیمار ۴: ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی ۳٪ 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 در 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 کپور معمولی تغذیه‌شده با سطوح مختلف عصاره گیاه گلرنگ تحت تنش شوری ۱۴ ppt

زمان خون‌گیری	گروه شاهد	تیمار ۰/۵٪ عصاره	تیمار ۱/۵٪ عصاره	تیمار ۳٪ عصاره
کورتیزول	پیش از تنش	۴۳۳/۳۳±۲۲/۱۲ <sup>bA</sup>	۴۷۴/۶۶±۲۴/۴۴ <sup>bA</sup>	۴۴۴/۳۰±۳۰/۲۶ <sup>bA</sup>
	۶ ساعت پس از تنش	۷۳۶±۳۵/۰۴ <sup>aA</sup>	۶۴۴/۶۶±۳۲/۳۹ <sup>aB</sup>	۵۷۸±۲۶/۰۶ <sup>aC</sup>
	۲۴ ساعت پس از تنش	۴۰۴/۵±۲۲/۸۸ <sup>bA</sup>	۳۶۵±۳۸/۰۳ <sup>cAB</sup>	۳۳۵±۲۹/۵ <sup>cB</sup>
	۴۸ ساعت پس از تنش	۴۳۱±۲۸/۹۶ <sup>bA</sup>	۴۳۵/۵±۳۳/۲۸ <sup>bcA</sup>	۳۶۹/۵±۳۱/۱۷ <sup>cB</sup>
گلوکز	۷۲ ساعت پس از تنش	۴۴۶±۳۳/۲۸ <sup>bA</sup>	۴۲۶±۳۸/۵۷ <sup>bcAB</sup>	۳۷۴/۶۶±۳۰/۷۴ <sup>cB</sup>
	پیش از تنش	۱۳۲/۶۴±۱۷/۸۶ <sup>bA</sup>	۱۴۵/۰۷±۱۹/۱۷ <sup>bA</sup>	۱۴۸/۳۵±۱۶/۱۵ <sup>bA</sup>
	۶ ساعت پس از تنش	۳۲۴/۹۳±۱۶/۹۸ <sup>aA</sup>	۳۰۰/۶۶±۱۷/۱۵ <sup>aB</sup>	۲۳۹/۳۱±۱۶/۰۵ <sup>aD</sup>
	۲۴ ساعت پس از تنش	۱۴۸/۰۹±۱۴/۵۴ <sup>bA</sup>	۱۴۵/۴۸±۱۴/۹۲ <sup>bA</sup>	۱۲۳/۹۵±۱۲/۶۴ <sup>cB</sup>
سدیم	۴۸ ساعت پس از تنش	۱۰۸/۴۴±۱۵/۰۶ <sup>cA</sup>	۱۲۳/۴±۱۱/۰۴ <sup>cA</sup>	۱۱۵/۲۷±۹/۲۴ <sup>cdA</sup>
	۷۲ ساعت پس از تنش	۱۰۳/۶۳±۱۰/۹۶ <sup>cA</sup>	۱۰۰/۴۳±۱۴/۰۶ <sup>dA</sup>	۱۰۱/۳۴±۱۷/۴۷ <sup>dA</sup>
	پیش از تنش	۱۲۷±۶ <sup>cB</sup>	۱۴۸±۶/۵۵ <sup>bA</sup>	۱۵۹±۳/۶ <sup>bA</sup>
	۶ ساعت پس از تنش	۱۶۴±۷ <sup>aA</sup>	۱۶۷±۶/۲۴ <sup>aA</sup>	۱۷۳±۵ <sup>aA</sup>
کلر	۲۴ ساعت پس از تنش	۱۶۲±۴/۵۸ <sup>abA</sup>	۱۶۴±۴/۳۶ <sup>aA</sup>	۱۷۰±۳ <sup>aA</sup>
	۴۸ ساعت پس از تنش	۱۵۸±۶/۵۵ <sup>abA</sup>	۱۵۷±۸/۱۸ <sup>abA</sup>	۱۶۵±۴ <sup>abA</sup>
	۷۲ ساعت پس از تنش	۱۵۲±۴/۵۸ <sup>bA</sup>	۱۵۳±۵/۲۹ <sup>bA</sup>	۱۶۱±۴/۵۸ <sup>bA</sup>
	پیش از تنش	۹۴/۶±۸/۵۶ <sup>bA</sup>	۱۰۱/۱۵±۱۳/۹۱ <sup>aA</sup>	۱۱۱±۱/۴۴ <sup>aA</sup>
کلر	۶ ساعت پس از تنش	۱۲۱/۴۵±۴/۷۱ <sup>aA</sup>	۱۰۱/۷۱±۱۱/۴ <sup>aB</sup>	۱۱۳/۷۴±۴/۰۷ <sup>aB</sup>
	۲۴ ساعت پس از تنش	۱۱۰/۷۲±۱۳/۱۹ <sup>abA</sup>	۱۰۴/۰۷±۵/۷۷ <sup>aA</sup>	۱۱۰/۴۱±۴/۷۲ <sup>aA</sup>
	۴۸ ساعت پس از تنش	۱۱۶/۰۱±۱۲/۸۹ <sup>aA</sup>	۱۱۸/۱۴±۱۹/۷۱ <sup>aA</sup>	۹۶/۰۶±۱۷/۲۹ <sup>aA</sup>
	۷۲ ساعت پس از تنش	۹۶/۷۸±۴/۷۱ <sup>bA</sup>	۱۱۳/۲۸±۲۲/۷۲ <sup>aA</sup>	۱۰۴/۲±۵/۷۷ <sup>aA</sup>

حروف انگلیسی بزرگ غیرمشابه در هر ردیف و حروف انگلیسی کوچک غیرمشابه در هر ستون، بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح اطمینان ۹۵٪ ( $P < 0.05$ ) 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 بچه ماهیان شده به دریا (به‌منظور بازسازی ذخایر) است. رودخانه‌های شمالی کشور به-خصوص رودخانه‌های استان گلستان به شدت دچار کم‌آبی می‌شوند. لذا در مواردی در مصب این رودخانه‌ها احتمال مواجهه با استرس شوری نیز وجود دارد. در عین حال، به دلیل 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 کشته‌ای 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. به عبارت 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 صورت که ماهیان گروه تیمار دچار استرس کمتری شده و در نتیجه 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 به دست ما نرسیده است. اما در تحقیقات مشابه اثرات محافظتی عصاره این گیاه بر برخی بافت‌های موش آزمایشگاهی در مسمومیت‌ها به اثبات رسیده است، به عنوان 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 عین حال 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 آبستی 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, 2016 & 2015; 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 از جمله 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 قزل‌آلای 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 منجر 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 گلرنگ جیره غذایی فیل ماهی (*Huso huso*) هیچ تاثیری بر پارامترهای رشد نداشت اما منجر به افزایش سطوح لیزوزیم و توتال ایمونوگلوبولین سرم نیز افزایش تعداد گلبول‌های سفید خون این ماهیان گردید همچنین در این بررسی آنزیم‌های کبدی (ALT، AST و ALP) بطور معنی‌داری در ماهیان گروه شاهد بالاتر از ماهیان تغذیه شده با عصاره گلرنگ گزارش گردید

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

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

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

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.

(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 گلیکولیز و سطح گلوکز خون صورت می‌گیرد. این امر منجر به حفظ ذخیره گلیکوژن 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 به دست 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، ۱۸(۳)، ۳۲-۲۸.

- 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)
  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. Aquaculture, 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.