مقاله پژوهشی، صفحات۱۶-۱
DOI: 10.22034/JAR.2023.2306

کارآیی عصاره هیدروالکلی زنیان(*Trachyspermum ammi*) بر میزان ایمنی و مقاومت ماهی کپورمعمولی (*Cyprinus carpio*) در مواجهه با سولفات مس

ابوالفضل پیکارپرسان [۱]، محمد فرهنگی[۱*]، حسین آدینه [۱]، محمد مازندرانی [۲] و مریم علیزاده [۳]

[۱] ایران، گرگان، دانشگاه گنبد کاووس، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، گروه شیلات

[۲] ایران، گرگان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی، دانشکده شیلات و محیط زیست، گروه شیلات

[۳] ایران، گرگان، دانشگاه منابع طبیعی و علوم کشاورزی، دانش آموخته دکتری بوم شناسی آبزیان

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۱/۱۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۶/۱۱

چکیده

زنیان گیاهی است که جهت تقویت رشد و سیستم ایمنی موجودات (منجلمه ماهی و انسان) کاربرد دارد. این مطالعه با هدف بررسی اثرات حفاظتی رژیم‌های غذایی حاوی سطوح مختلف زنیان بر رشد و پاسخ ایمنی بچه ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در مواجهه با سولفات مس ($CuSO_4, 5H_2O$) انجام شد. ماهی‌ها (۰/۴۶ ± ۹/۸۹ گرم) با جیره‌های حاوی ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد زنیان به ازای هر کیلوگرم غذای پایه به مدت ۶۰ روز تغذیه شدند. آزمایشات در بازه زمانی ۱۴۰۱ در دانشگاه گنبدکاووس صورت گرفت. پس از تغذیه، ماهیان تحت استرس سم سولفات مس به‌مدت ۹۶ ساعت قرارگرفتند (۰/۱ میلی گرم در لیتر). در طول آزمایش، علائم رفتاری و کلینیکی ماهیان ثبت گردید. به‌منظور بررسی‌های آسیب‌شناسی، از بافت‌های کلیه، کبد و آبشش ماهیان در حال مرگ و تازه تلف شده نمونه‌برداری صورت گرفت. بیشترین وزن نهایی و کمترین ضریب تبدیل غذایی در ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی زنیان بدست آمد ($P<0/50$). در پایان دوره تغذیه، سطح ایمونوگلوبولین کل سرم و فعالیت لیزوزیم و کمپلمان (ACH50) در تیمار حاوی یک درصد زنیان به طور قابل توجهی بیشتر از گروه شاهد بود ($P<0/50$). پس از استرس، تمام گروه‌های تغذیه شده با مکمل زنیان، بیشترین سطح شاخص‌های استرس (کورتیزول و گلوکز) در گروه شاهد مشاهده شد. بررسی مقاطع بافت آبشش نشان داد، بیشترین ضایعات شامل ادم، هایپرپلازی، چسبندگی لاملاهای ثانویه و نکروز سلولهای پوششی آبشش بود. در مجموع، نتایج ما نشان می‌دهد که افزودن مکمل زنیان در رژیم غذایی می‌تواند ضمن بهبود عملکرد رشد، به‌عنوان یک استراتژی دفاعی در کاهش اثرات سمیت مس در بچه ماهی کپور معمولی مورد استفاده قرار گیرد.

واژه های کلیدی: زنیان، ایمنی، سولفات مس، هیپرپلازی، کورتیزول، ماهی کپور معمولی

* نویسنده مسئول، پست الکترونیکی: s.farhangi@yahoo.com

مقدمه

ماهی کپورمعمولی (Common Carp) با نام علمی *Cyprinus Capio* متعلق به خانواده کپور ماهیان است. در ایران این ماهی با روش متراکم به صورت تک گونه در استخرهای بتنی و فایبرگلاس و چند گونه‌ایی در استخرهای خاکی همراه با کپور ماهیان چینی پرورش داده می شود. این گونه به مقاومت در برابر تنش‌های محیطی از سهولت زیادی جهت پرورش نسبت به سایر ماهیان برخوردار است. مقاوم-سازی و تقویت آبزیان در برابر استرس‌های محیطی یکی از اهداف مهم صنعت آبزیان است که با افزودن محرک‌های ایمنی در جیره غذایی تحقق می‌یابد. از این‌رو برای بهبود رشد و تقویت سلامت آبزیان و همچنین افزایش دوره بازماندگی آبزی در پرورش آبزیان و به لحاظ مدیریت بهینه

مقاله پژوهشی، صفحات۱۶-۱
DOI: 10.22034/JAR.2023.2306

می‌توان از محرک‌های ایمنی استفاده نمود (۸). استفاده از گیاهان دارویی در جیره غذایی آبزیان به‌منظور بهبود رشد، تقویت سیستم ایمنی و وضعیت آنتی‌اکسیدانی ماهی در برابر انواع استرس‌های محیطی مورد توجه بسیاری از محققین قرارگرفته است (۳۰، ۳۴و ۵۳). یکی از انواع موثر گیاهان دارویی گیاه زنیان است. گیاه زنیان با نام علمی (*Trachys permum*) از تیره چتریان (Apiaceae) است که در کشور-های هند، ایران و مصر به صورت طبیعی می‌روید. زنیان گیاهی است، یک ساله که قسمت مورد استفاده آن، به‌دلیل ماده موثره آن (تیمول) در طب سنتی و صنعت دام، طیور و آبزیان به‌عنوان ضدتهوع، ضدنفخ، مقوی معده، کاهش دهنده کلسترل خون و تسکین دهنده اسپاسم به کار می‌رود (۴و ۱۸). در خصوص استفاده از زنیان در تغذیه ماهی و سایر موجودات (۵، ۱۱، ۱۶، ۱۷، ۲۲، ۴۰و ۴۵). اثرات سمیت مس در ماهی (۹، ۱۳، ۱۵) و در معرض قرارگیری آبزیان با سموم کشاورزی و نقش تقویتی مکمل‌های غذایی در بهبود اثرات ناشی از سمیت (۱، ۱۴و ۴۶) مطالعاتی صورت گرفته است که هرکدام به موضوع مشخصی اشاره دارد، لکن اثرات مقاوم‌سازی و ایمنی زنیان در مواجهه با سموم به‌ویژه سولفات‌مس مطالعه‌ای یافت نشده است. از آنجا که مطالعات خون‌شناسی و بافت‌شناسی اطلاعات مفیدی را در رابطه با سلامت ماهی ارایه می‌دهد و با توجه به نتایج مثبت استفاده از مکمل‌های گیاهی در جیره غذایی آبزیان به‌خصوص گیاه زنیان، سبب شد تا در مطالعه فوق، به ارزیابی گیاه زنیان بر میزان افزایش مقاومت ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) درمواجهه با سولفات مس از طریق بررسی تغییرات شاخص‌های خونی و ضایعات ایجاد شده در اندام‌های هدف (آبشش، کبد و کلیه) پرداخته شود.

مواد و روشها

تهیه ماهی و شرایط آزمایشگاه: ۲۰۰ قطعه ماهی کپور-معمولی با میانگین وزنی ۹/۸۹ ۰±/۴۶ گرم از مرکز تولید و پرورش ماهیان گرمابی استان گلستان (سد وشمگیر) تهیه و به آزمایشگاه آبزی‌پروری دانشگاه گنبدکاووس منتقل شدند. ماهیان به‌مدت ۱۰ روز با شرایط محیط سازگار شدند. تعداد ۱۵ قطعه در مخازن ۳۵ لیتری با آب کلرزدایی شده و دمای بین ۲۲ تا ۲۴ درجه سانتیگراد و دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی جایابی شدند.

عملکرد رشد و تغذیه: پایان دوره آزمایش (۸ هفته) و به-منظور بررسی عملکرد جیره‌های آزمایشی حاوی مکمل زنیان بر رشد ماهی، پارامترهای افزایش وزن بدن(WG)، افزایش طول‌بدن (FL)، ضریب تبدیل‌غذایی (FCR) ، شاخص وضعیت (CF)، نرخ رشد ویژه (SGR)، کارآیی تبدیل‌غذایی (FCE)، نسبت کارآیی‌پروتین (PER)، و درصد بازماندگی (SR) براساس فرمول‌های ارایه شده توسط واحدی و همکاران (۱۹) اندازه‌گیری شدند:

$$SGR\% = [LnWt_2 - LnWt_1 / t_2 - t_1] \times 100$$

$$FCR = g\ dry\ feed\ eaten / g\ live\ weight\ gain$$

$$FCE\% = [g\ live\ weight\ gain / g\ Dry\ feed\ eaten] \times 100$$

$$PER = g\ live\ weight\ gain / g\ protein\ intake$$

$$WG\ (g) = Wf\text{-}Wi;\ Wf\ and\ Wi\ are\ final\ and\ initial\ body\ weights$$

$$Survival\ rate = (final\ number\ of\ fish / initial\ number\ of\ fish) \times 100$$

گیاه زنیان: گیاه زنیان از عطاری تهیه و عصاره هیدروالکی از آنها تهیه شد. بدین منظور زنیان در مخلوط آب مقطر و اتانول ۹۶ درصد به نسبت ۲۰ به ۸۰ مخلوط و به‌مدت ۷۲ ساعت بر روی دستگاه شیکر قرار داده شده و سپس محتویات با عبور از کاغذ صافی در دستگاه روتاری در دمای حدود ۴۰ درجه سانتیگراد تغلیظ شدند. عصاره تهیه شده در ظروف شیشه‌ای تیره رنگ تا زمان استفاده در یخچال با دمای ۴- درجه‌سانتیگراد نگهداری شدند. مهم‌ترین ترکیبات موجود در گیاه زنیان مورد مطالعه تیمول، سیمن، آلفا پینن، دی پینن، گاماترپنین، بتاپینن، میرسن و کارواکرول می‌باشد، که به دلیل ساختار فنولی می‌توانند جایگزین موثری برای آنتی اکسیدان‌های سنتزی باشند (۲۴).

DOI: 10.22034/JAR.2023.2306

تیمارهای آزمایشی: ماهیان در طول دوره آزمایش از غذای آغازین (SFC) شرکت فرادانه حاوی پروتئین خام ۴۱-۳۸ درصد، چربی خام ۸-۴ درصد، فیبرخام ۶-۳ درصد، خاکستر ۷-۱۱ درصد، رطوبت ۱۱-۵ درصد و فسفر ۱/۵-۱ درصد با قطر ۲ میلی‌متر به‌مدت ۶۰ روز به‌میزان ۳ درصد وزن بدن در در ۳ وعده (صبح، ظهر و عصر) تغذیه شدند. ابتدا غذای ماهی کپور با آسیاب پودر شده و سپس برای ۴ تیمار آزمایشی (هریک با ۳ تکرار) بطور مجزا مقادیر ۰، ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد عصاره زنیان بترتیب TA_0 (گروه شاهد بدون هیچگونه افزودن عصاره)، $TA_{0.5}$، TA_1 و $TA_{1.5}$ افزوده شد. برای تثبیت عصاره به غذا از محلول ژلاتین ۵ درصد استفاده شد (۳۸).

آزمون مواجهه با سولفات‌مس: پایان دوره آزمایش و به‌منظور بررسی میزان مقاومت ماهی کپورمعمولی در مواجهه با سولفات‌مس، ماهیان (۱۵ قطعه در هر تیمار) به مدت ۹۶ ساعت تحت غلظت ۰/۱ میلی‌گرم سولفات‌مس قرارگرفتند. غلظت موردنظر براساس حداقل غلظت موثر (LOEC, Lowest Observed Effect Concentration) که برابر LC10, 96hاز سولفات‌مس است به‌دست آمده است و آن غلظتی است که در آن هیچگونه تلفاتی مشاهده نمی‌شود (۱۳). آزمایش‌ها با استفاده از روش آب‌ساکن (Water Static Method) و براساس دستورالعمل استاندارد O.E.C.D.صورت گرفت (۵۲). برای تعیین غلظت‌های سولفات‌مس، پس از تعیین حجم آب به ازای واحد حجمی، سولفات‌مس توزین و به آب اضافه گردید. برای حل کردن سولفات‌مس در آب حوضچه، ابتدا آنرا در بشر حل و سپس محلول حاصله به آب اضافه گردید تا محلول یکنواختی بدست آید (۱۳). تظاهرات ماهی در معرض سولفات‌مس درطول آزمایشات ثبت گردید. درصد تلفات و علایم مسمومیت ثبت گردید. شرایط آزمایش از نظر دما و pH برای تمام نمونه‌ها در طول آزمایش ثابت درنظر گرفته شد. در این مرحله غذادهی قطع شده بود. پس از انجام آزمون سمیت و به‌منظور بررسی ضایعات ناشی از سمیت‌مس بر بافت‌های ماهی، از هر تیمار و به‌صورت تصادفی ۳ نمونه ماهی صید و در محلول فرمالین ۱۰ درصد قرار داده شدند تا به آزمایشگاه پاتوبیولوژی انتقال و مقاطع بافتی به روش مرسوم تهیه شود. در نهایت مطالعات بافتی به کمک کلیدهای شناسایی و میکروسکوپ نوری صورت گرفت (۴۸).

بررسی ایمنی موکوس: بعد از ۹۶ ساعت استرس با سولفات‌مس، به‌منظور بررسی شاخص‌های ایمنی ماهیان کپور تغذیه شده با زنیان، جمع‌آوری مستقیم موکوس بر اساس روش Guardiola و همکاران (۳۲) انجام شد. بدین منظور از هر تکرار حدود ۷ الی ۸ ماهی به‌طور تصادفی صید و در زمان کمتر از ۲ دقیقه با ماساژ سطح بدن ماهی، موکوس‌گیری انجام شد. دراین روش سرعت نمونه‌برداری و عدم آسیب به پوست و اندام‌های داخلی حائز اهمیت است. سپس نمونه‌ها در میکروتیوپ ۲ میلی‌لیتری ذخیره-سازی و برای سنجش ایمنی موکوس در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد تحت فریزر در آزمایشگاه مرکزی دانشگاه گنبد-کاووس نگهداری شدند. نهایتاً موکوس توسط دستگاه سانتریفیوژ به‌مدت ۱۰ دقیقه با دور ۳۰۰۰ در دمای ۴ درجه-سانتیگراد انجام شد. فعالیت پروتئازی موکوس براساس روش هیدرولیز آزوکازئین ارائه شده توسط Palaksha و همکاران (۴۳)، آنزیم لیزوزیم به روش کدورت‌سنجی با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر (۵۱)، ایمنوگلبولین‌کل (IgM) به روش ارائه شده توسط Siwicki وAnderson (۵۰)، فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی توسط کیت تجاری شرکت پارس‌آزمون و با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر اندازه‌گیری شد (۴۸).

آسیب‌شناسی بافتی: پایان دوره استرس با سم مس تعداد ۹ قطعه ماهی از هر تیمار (۳ ماهی از هر تکرار) به‌طور تصادفی صید و بعد از جداسازی آبشش در فرمالین ۱۰ درصد فیکس شد. نمونه‌ها بعد از سه بار شستشو در محلول سرم فیزیولوژی در فرمالین ۱۰ درصد قرار گرفته و جهت انجام

مقاله پژوهشی، صفحات۱۶-۱
DOI: 10.22034/JAR.2023.2306

مراحل معمول پایدارسازی و مقطع‌گیری به آزمایشگاه بافت-شناسی منتقل گردید. مقاطع تهیه شده در مرحله بعد جهت مطالعه بافت‌شناسی مورد رنگ‌آمیزی‌های معمول هماتوکسیلین و ائوزین گرفتند (۲۷). در روش رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین به ترتیب خارج کردن پارافین موجود در مقاطع و آبدهی آنها، قرار دادن اسلایدها در رنگ هماتوکسیلین به مدت ده دقیقه، گذراندن از آب مقطر و متعاقباً قرار دادن در محلول اسیدهیدروکلریک ۱ درصد و اتانول ۷۰ درصد به مدت ۵ تا ۱۰ دقیقه، شستشو با جریان ملایم آب به مدت ۵ تا ۱۰ دقیقه، قرار دادن در ظرف ائوزین به مدت یک دقیقه، عملیات آبگیری، شفاف‌سازی و چسباندن انجام گرفت (۲۷).

آنالیز آماری: ابتدا نرمال بودن داده‌ها توسط آزمونهای Shapiro-Wilk مورد بررسی قرارگرفت. از آزمون تجزیه واریانس یکطرفه (One-Way ANOVA) برای مقایسه آماری تیمارها و از روش دانکن برای بررسی وجود یا عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها تیمارهای مختلف آزمایشی استفاده شدند (۲۴). در آزمون های آماری سطح معنی دار ۰/۰۵ در نظر گرفته شد (P<۰/۰۵). برای آنالیز داده‌ها از نرم افزار Excel و محیط نرم افزار SPSS استفاده شد.

نتایج

نتایج حاصل از فاکتورهای رشد و تغذیه‌ای: نتایج عملکرد رشد و تغذیه ماهی کپورمعمولی تغذیه شده با سطوح مختلف عصاره زنیان در جدول ۱ ارائه شده است. ماهی کپور با وزن اولیه ۰/۴۶± ۹/۸۹ گرم در تیمارهای مختلف آزمایشی بطور تصادفی توزیع شدند. پایان دوره تغذیه، بیشترین وزن نهایی و ضریب چاقی در تیمار TA_1 بدست آمد که با با تیمار شاهد اختلاف آماری معنی‌داری داشت (P <۰/۰۵). درصد افزایش وزن و نرخ رشد ویژه بین تیمارهای مختلف تغذیه‌ای تفاوت آماری نداشت (P>۰/۰۵). ضریب تبدیل غذایی در تیمار شاهد در مقایسه با دیگر تیمارهای تغذیه‌ای افزایش معنی‌دار آماری داشت (P<۰/۰۵). کارایی تبدیل غذا و کارایی تبدیل پروتئین بطور معنی-داری در تیمارهای تغذیه‌ای با عصاره زنیان در مقایسه با شاهد افزایش آماری داشت (P <۰/۰۵).

جدول ۱- عملکرد رشد و تغذیه ماهی کپور معمولی تغذیه شده با سطوح مختلف عصاره زنیان

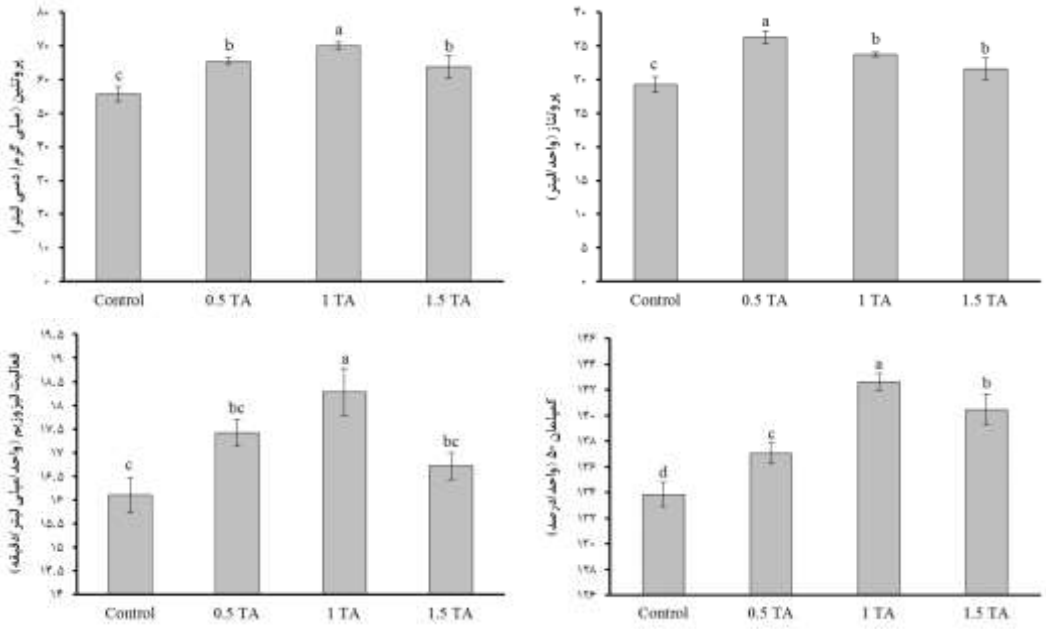
	تیمارهای آزمایشی (درصد به ازای کیلوگرم غذایی پایه)			
	شاهد	$TA_{0.5}$	TA_1	$TA_{1.5}$
وزن اولیه (گرم)	۹/۷۲ ۰±/۴۱	۹/۸۰ ۰±/۵۰	۱۰/۱۳ ۰±/۵۵	۹/۹۳ ۰±/۳۸
وزن نهایی (گرم)	۱۷/۳۳ ۰±/۷۶ b	۱۸/۴۹ ۱±/۰۹ ab	۱۸/۷۱ ۰±/۹۹ a	۱۸/۰۳ ۰±/۷۶ ab
افزایش وزن (گرم)	۷/۶۱ ۱±/۰۵	۸/۶۹ ۰±/۸۶	۸/۵۷ ۰±/۷۳	۸/۱۰ ۰±/۴۸
درصد افزایش وزن	۷۸/۶۶ ۱۳±/۶۲	۸۸/۷۳ ۹±/۰۶	۸۴/۷۱ ۸±/۱۰	۸۱/۵۵ ۴±/۱۸
نرخ رشد ویژه (درصد/روز)	۰/۹۶ ۰±/۱۲	۱/۰۵ ۰±/۰۷	۱/۰۲ ۰±/۰۷	۰/۹۹ ۰±/۰۳
ضریب چاقی (٪)	۱/۲۶ ۰±/۰۳ b	۱/۲۹ ۰±/۰۱ ab	۱/۳۱ ۰±/۰۵ a	۱/۲۵ ۰±/۰۲ ab
ضریب تبدیل غذایی	۲/۲۶ ۰±/۳۰ a	۱/۸۵ ۰±/۱۷ b	۱/۷۵ ۰±/۱۵ b	۱/۹۸ ۰±/۱۱ b
کارایی تبدیل غذا	۴۴/۷۷ ۶±/۱۸ b	۵۴/۳۱ ۵±/۳۸ a	۵۷/۱۶ ۴±/۸۷ a	۵۰/۶۳ ۳±/۰۲ ab
کارایی تبدیل پروتئین	۰/۲۵ ۰±/۰۳ b	۰/۲۸ ۰±/۰۲ a	۰/۲۸ ۰±/۰۲ a	۰/۲۷ ۰±/۰۱ a

حروف نامشابه در هر ردیف نشان از اختلاف آماری معنی‌دار است (P<۰/۰۵)

نتایج حاصل از شاخص ایمنی ماهی در مواجهه با سولفات‌مس: پاسخ ایمنی ماهی کپور معمولی مقاوم‌سازی شده با عصاره زنیان در برابر استرس سولفات‌مس ($CuSO_4$) در شکل ۱ آمده است. همانطوریکه در شکل دیده می‌شود،

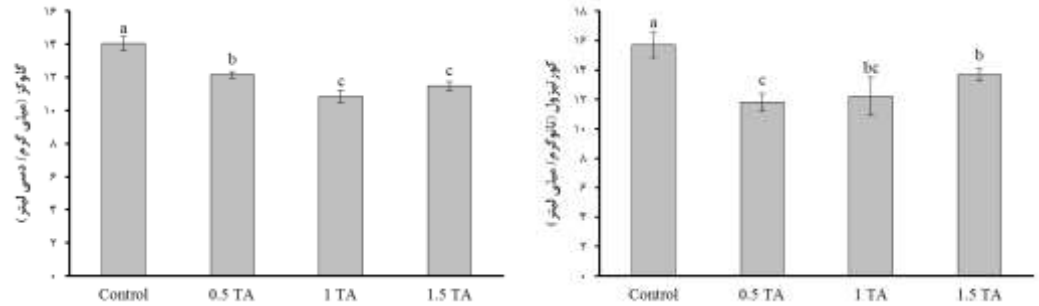
مقاله پژوهشی، صفحات۱۶-۱
DOI: 10.22034/JAR.2023.2306

فعالیت لیزوزیم و کمپلمان ۵۰ در تیمار TA_1 افزایش معنی-دار آماری در مقایسه با دیگر تیمارهای آزمایشی داشت ($P < ۰/۰۵$). مقدار پروتئین و پروتئاز در تیمارهای آزمایشی در مقایسه با تیمار شاهد افزایش معنی‌دار آماری داشت ($P < ۰/۰۵$). براساس نتایج بدست آمده بیشترین میزان پروتئاز در تیمار حاوی ۰/۵ درصد زنیان بدست آمد که با سایر تیمارها اختلاف معنی داری را نشان داد ($P<۰/۰۵$). تیمارهای حاوی ۱ و ۱/۵ درصد زنیان اختلاف معنی‌داری را در مقدار پروتئاز نشان ندادند ($P > ۰/۰۵$).



شکل ۱- پاسخ ایمنی ماهی کپور معمولی تغذیه شده با سطوح مختلف عصاره زنیان درمواجه با سولفات‌مس ($CuSO_4$). حروف نامشابه در هر ستون نشان از اختلاف آماری معنی‌دار است ($P<۰/۰۵$)

نتایج حاصل از شاخص‌های استرسی ماهی در مواجهه با سولفات‌مس: شاخص‌های استرس (گلوکز و کورتیزول) در شکل ۲ آورده شده است. بیشترین مقدار غلظت گلوکز و کورتیزول در تیمار شاهد بدست آمد درحالیکه مقادیر این فاکتورها در تیمارهای آزمایشی کاهش معنی‌دار آماری داشت ($P< ۰/۰۵$). غلظت گلوکز و کورتیزول در تیمارهای شاهد بیشترین میزان را داشتند که از نظر آماری معنی دار بود ($P< ۰/۰۵$). کمترین میزان گلوکز و کورتیزول به ترتیب مربوط به تیمارهای حاوی ۱و ۰/۵ درصد زنیان بودند. غلظت گلوکز و کورتیزول در تیمارهای TA_1 و $TA_{1.5}$ از نظر آماری اختلاف معنی‌داری را نشان ندادند ($P > ۰/۰۵$)، هرچند که با شاهد اختلاف معنی‌داری داشتند ($P<۰/۰۵$).



شکل ۲- شاخص‌های استرس ماهی کپورمعمولی تغذیه شده با سطوح مختلف عصاره زنیان درمواجه با سولفات‌مس ($CuSO_4$). حروف نامشابه در هر ستون نشان از اختلاف آماری معنی‌دار است ($P<۰/۰۵$)

مقاله پژوهشی، صفحات۱۶-۱
DOI: 10.22034/JAR.2023.2306

نتایج حاصل از مطالعات بافت شناسی: پس از در معرض قرارگیری ماهیان تغذیه شده با مکمل زنیان با سولفات‌مس به مدت ۹۶ ساعت، در تمامی تیمارهای آزمایشی علائم مسمومیت ناشی از سم مس به صورت خونریزی، پرخونی (آبشش و کلیه)، چماغی شدن راس رشته‌های آبششی، ادم (آبشش) ظاهر شدند (شکل‌های۳ الی ۵). گرچه مطالعه حاضر نشان داد که تمامی ظایعات ناشی از مسمومیت در تمامی تیمارها مشاهده شده است، با این حال در تیمارهای آزمایشی تغذیه شده با زنیان ضایعات رخ داده شده به نسبت گروه شاهد از شدت کمتری برخوردار بوده است (جدول ۲). عمده ضایعات دیده شده در اندام کلیه ماهی نیز به شکل تخریب مجاری کلیوی، اتساع کپسول بومن و به میزان زیاد سلولهای آماسی مشاهده شد. در کبدماهیان، تجمع و نفوذ سلولهای آماسی دیده شد.

جدول ۲- عمده ضایعات ایجاد شده در ماهیان تغذیه شده با زنیان در مواجهه با سولفات‌مس بعد از ۹۶ ساعت

الف- آبشش

تیمارهای آزمایشی (برحسب درصد به ازای کیلوگرم وزن غذا)	ادم	خونریزی	پرخونی	اتساع لاملاهای ثانویه	نکروز سلولهای پوششی آبشش	هیپرپلازی
TA_0	++	++	++	+++	++	+++
$TA_{0.5}$	++	++	++	+++	++	+++
TA_1	++	++	++	++	++	++
$TA_{1.5}$	++	++	++	++	++	++

ب- کلیه

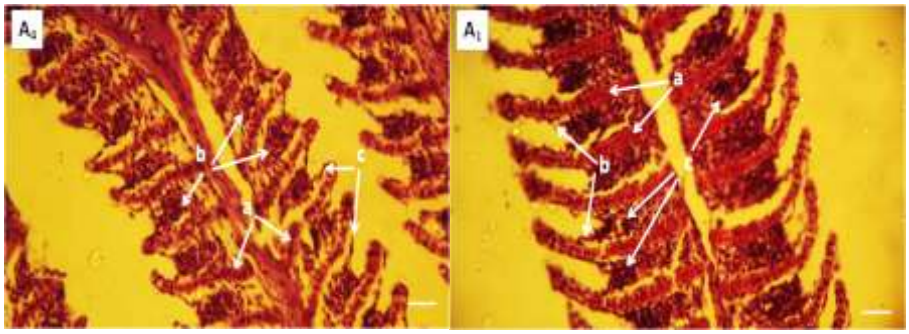
تیمارهای آزمایشی (برحسب درصد به ازای کیلوگرم وزن غذا)	نکروز لوله های کلیوی	خونریزی	پرخونی	نفوذ سلولهای آماسی
TA_0	+	+	+	++
$TA_{0.5}$	+	+	+	++
TA_1	-	-	-	+
$TA_{1.5}$	-	-	-	+

ج- کبد

تیمارهای آزمایشی (برحسب درصد به ازای کیلوگرم وزن غذا)	نکروز سلولهای کبدی	خونریزی	پرخونی	نفوذ سلولهای آماسی
TA_0	-	-	+	++
$TA_{0.5}$	-	-		+
TA_1	-	-	-	+
$TA_{1.5}$	-	-	-	+

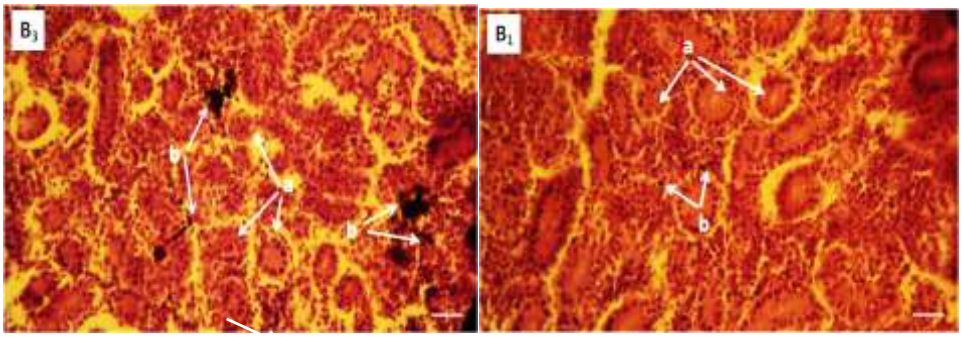
بدون علائم مسمومیت(-)، بالای ۲۰ درصد ضایعه (+)، ۶۰-۲۰ درصد ضایعه (++)، بالای ۶۰ درصد ضایعه (+++)

مقاله پژوهشی، صفحات۱۶-۱ DOI: 10.22034/JAR.2023.2306



شکل۳- مقطع بافتی تهیه شده از آبشش درمعرض سولفات‌مس (رنگ‌آمیزی، هماتوکسیلین – ائوزین، بزرگنمایی ۴۰۰)

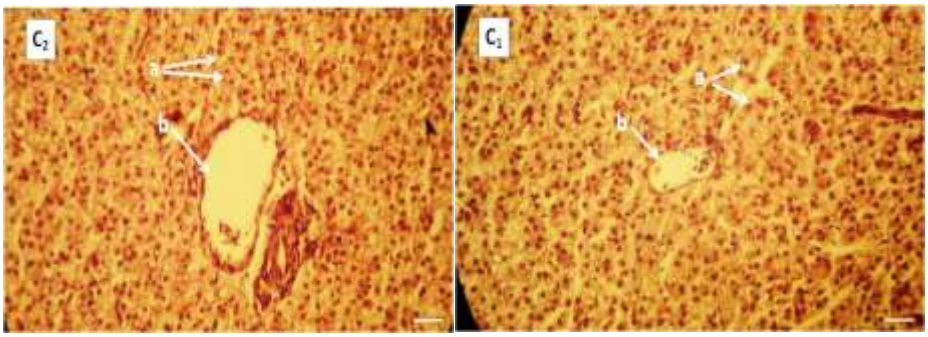
A1: آبشش گروه شاهد تغذیه شده با جیره پایه، نوک پیکان‌ها پرخونی لاملاهای ثانویه (a) ، ادم و جداشدگی اپیتلیوم پوششی لاملاهای ثانویه (b) ، هایپرپلازی قاعده لاملاهای ثانویه (c)، A4: آبشش تیمار $TA_{1.5}$ تغذیه شده با زنیان، نوک پیکان‌ها پرخونی لاملاهای ثانویه (a)، ادم و جداشدگی اپیتلیوم پوششی لاملاهای ثانویه (b)، هایپرپلازی قاعده لاملاهای ثانویه (c)



شکل ۴- مقطع بافتی تهیه شده از کلیه ماهی درمعرض سولفات‌مس، (رنگ‌آمیزی، هماتوکسیلین – ائوزین، بزرگنمایی ۴۰۰)

B1: کلیه شاهد (تغذیه شده با جیره پایه)، نوک پیکان‌ها مجاری کلیوی نرمال (a) تجمع ملانوماکروفاژها (b)، را نشان می‌دهد

B3: کلیه تیمار TA_1 تغذیه شده با زنیان، نوک پیکان‌ها توبول‌های کلیوی نرمال (a) تجمع ملانوماکروفاژها (b) ،



شکل ۵- مقطع بافتی تهیه شده از کبد ماهی درمعرض سولفات‌مس، (رنگ‌آمیزی، هماتوکسیلین – ائوزین، بزرگنمایی ۴۰۰)

C_1: کبد ماهیان شاهد تغذیه شده با جیره پایه، نوک پیکان‌ها هپاتوسیت‌های نرمال (a) سیاهرگ مرکزی (b)، را نشان می‌دهد

C_2: کبد ماهیان تیمار P2 تغذیه شده با زنیان، نوک پیکان‌ها هپاتوسیت‌های نرمال (a) سیاهرگ مرکزی (b)، را نشان می‌دهد.

DOI: 10.22034/JAR.2023.2306 مقاله پژوهشی، صفحات۱۶-۱

بحث و نتیجه گیری

امروزه کم وبیش ثابت شده است که استفاده از مکمل‌های غذایی نقش موثری در بهبود عملکرد رشد و کاهش تلفات در دوره پرورش دارد (۸، ۱۹و ۲۸). مطالعات Gibson و Roberfroid (۲۹) ثابت کرده است که استفاده از باکتری‌های لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکترها، از طریق تخمیر و استفاده از ترکیبات سلولزی، سبب بهبود تعادل میکروبی دستگاه گوارش و متعاقب آن عملکرد بهتر رشد می‌شود. آنچه مشخص است، تحریک سیستم ایمنی توسط برخی گیاهان و ترکیبات آنها موجب گردیده است تا جهت بهره گیری از این ویژگی‌ها در آبزی‌پروری مورد استفاده قرار گیرند. سهولت دسترسی، قیمت مناسب، قابلیت سازگاری با ساز و کار فیزیولوژیک بدن جانوران و فعالیت در برابر طیف وسیعی از عوامل بیماری زا بر مزیت استفاده از گیاهان و ترکیبات محرک ایمنی آنها می افزاید (۱۱). زنیان از جمله این گیاهان دارویی است. براساس نتایج حاضر، زنیان قادر بود، افزایش معنی‌داری را در فاکتورهای رشد و تغذیه‌ای ایجاد کند (جدول ۱) (P<۰/۰۵). مطالعه فوق نشان داد که افزایش وزن در گروه‌های تغذیه شده با جیره حاوی زنیان نسبت به گروه شاهد بیشتر بود (P < ۰/۰۵)، هرچند در تیمارهای حاوی مقادیر مختلف زنیان اختلاف معنی‌داری دیده نشد(P>۰/۰۵). در واقع بدان معنی است، با وجود عملکرد مثبت زنیان بر رشد و تغذیه، میزان استفاده از آن چندان تفاوتی نداشته است و شاید لازم باشد تا از مقادیر بیشتر زنیان استفاده گردد. بهرحال، گزارش عملکرد مثبت مکمل‌های گیاهی توسط محققان مختلف، با مطالعه حاضر همخوانی دارد. نادری‌فارسانی و همکاران (۱۷) به مطالعه تأثیر عصاره الکلی گیاه زنیان (*Trachyspermum ammi L*) بر عملکرد رشد، فراسنجه‌های خونی و ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) پرداختند. آنها بیان کردند، در گروه ماهیانی که ۲/۵ درصد عصاره زنیان دریافت کرده بودند، شاخص‌های رشد مانند افزایش وزن، نرخ رشد-ویژه، وزن نهایی و شاخص وضعیت نسبت به گروه شاهد به طور معنی‌داری بالاتر بود (P<۰/۰۵). بنظر می‌رسد، افزودنی‌های مجاز(مکمل‌های غذایی) با بهبود فلور میکروبی روده و کاهش رقابت برای موادغذایی بین میزبان و میکروارگانیسم‌های روده، سبب افزایش وزن بدن و بهبود ضریب تبدیل‌غذایی می‌شود (۴۹). شاید دلیل عملکرد مثبت زنیان در بهبود فاکتورهای رشد و تغذیه نیز همان باشد، ضمن آنکه مطالعات عملکرد مثبت زنیان را بر رشد نتیجه‌ای از ماده موثره آن (تیمول) می‌داند. تیمول ضدتهوع، ضذباکتری، ضدنفخ، مقوی معده، کاهش دهنده کلسترل خون و تسکین دهنده اسپاسم می باشد به همین خاطر می-تواند سبب بهبود رشد وتغذیه گردد (۴و ۱۸). عزیزخانی و توریان (۱۰) اثرات اسانس زنیان (*Carum copticum*) را بر رشد و بیان ژنی آنتروتوکسین‌های A و C باکتری *Staphylococcus aureus* در سوریمی ماهی کیلکا (*Clupeonella cultriventris caspia*) بررسی کردند و بیان کردند، حداقل غلظت بازدارنده رشد و حداکثر غلظت قابل تحمل برای باکتری در محیط کشت مایع به‌ترتیب معادل ۰/۶ و ۰/۱۵ درصد بود. آنها همچنین بیان کردند، بیشترین تأثیر بازدارندگی در برابر بیان ژن انتروتوکسین‌ها در غلظت ۱ درصد اسانس بود. همچنین تأثیر بازدارندگی غلظت‌های مختلف اسانس بر بیان ژنی آنتروتوکسین C بیشتر از آنتروتوکسین A بود. به‌طور کلی نتایج آنها نشان دهنده علمکرد مثبت اسانس زنیان در کاهش سرعت رشد باکتری *Staphylococcus aureus* و کاهش تولید آنتروتوکسین‌های ناشی از آن در سوریمی ماهی کیلکا بوده است (۴۹). در سیستم‌های پرورشی، یکی از راهکارهای افزایش رشد و بازده محصول، کاهش استرس می‌باشد. این امر، میزان مقاومت ماهی را در برابر انواع بیماریها نیز افزایش می‌دهد. با وجود اثربخشی مکمل‌های گیاهی در افزایش رشد و تغذیه ماهی، و همچنین بهبود سیستم ایمنی، عملکرد واقعی آنها در مواجهه با تنش‌های محیطی به‌ویژه سموم فلزی کمتر

مقاله پژوهشی، صفحات۱۶-۱
DOI: 10.22034/JAR.2023.2306

مورد توجه بوده است. پایان دوره تغذیه ماهی و مواجهه شدن ماهی با سولفات‌مس افزایش در سطح کورتیزول و گلوکز موکوس در تیمار شاهد دیده شد، این درحالی است که ماهیان تغذیه شده با زنیان با کاهش سطح کورتیزول همراه بودند که با گروه شاهد تفاوت معنی‌داری داشتند. کمترین سطح گلوکز و کورتیزول مترشحه به‌ترتیب مربوط به تیمار ۱ و ۰/۵ درصد از زنیان بود که اختلاف معنی‌داری با شاهد و دیگر تیمارها داشتند (P< ۰/۰۵). طبیعتاً در معرض قرارگیری ماهیان بعد از یک دوره تغذیه با زنیان، سبب استرس در ماهیان شده است که افزایش میزان گلوکز و کورتیزول موید این امراست، بااین وجود کاهش سطوح گلوکز و کورتیزول نسبت به گروه شاهد، عملکرد مثبت زنیان را در مواجهه با استرس سولفات‌مس بخوبی نشان می-دهد. در مطالعه‌ای که توسط بیرامی و همکاران (۲) پس از یک دوره تغذیه ماهی کلمه‌خزری (*Rutilus caspius*) با پودر زنجبیل(*Zingiber officinale*) صورت گرفت، غلظت آلکالین فسفاتاز بطور معنی‌داری در تیمار شاهد افزایش داشت. در عین حال، پس از در معرض قرارگیری با استرس شوری، غلظت این آنزیم در تیمار شاهد به بیشترین حد و در تیمار Z20 (۲۰گرم زنجبیل در کیلوگرم غذا) به کمترین حد خود رسید. این امر اثربخشی مکمل‌های غذایی مورد استفاده را بر کاهش سطح استرس ماهیان بیان می‌کند (۱۰). بطورکلی استرس‌های محیطی موجب مجموعه‌ای از پاسخ های فیزیولوژیکی می شود که باتوجه به میزان آن فعالیت-های حیاتی موجود (از جمله رشد، تولیدمثل، ایمنی و بازماندگی) را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۷). بررسی فاکتورهای ایمنی می‌تواند میزان استرس وارده را نشان دهد. یکی از مهمترین فاکتورهای سرمی خون مرتبط با ایمنی غیراختصاصی ماهی بررسی فعالیت لیزوزیم است که در درک بهتر وضعیت ایمنی می‌تواند به ما کمک شایانی نماید، چرا که افزایش لیزوزیم در بدن نشان از عملکرد مناسب سیستم ایمنی ماهی است (۲۴). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که استفاده از زنیان باعث افزایش میزان فعالیت آنزیم لیزوزیم در بچه ماهیان کپور شد، با این حال بیشترین میزان بدست آمده در تیمار ۱درصد زنیان به ازای هر کیلوگرم غذا و کمترین میزان در گروه شاهد بود. براساس داده‌های محققین، افزایش میزان فعالیت آنزیم لیزوزیم و پروتئین کمپلمان سرم نشان دهنده، تقویت سیستم ایمنی ماهی می‌باشد و این افزایش را می‌توان احتمالاً نتیجه قدرت تحریک‌پذیری مواد مؤثره موجود در مکمل های گیاهی دانست (۶). جعفریان و همکاران (۳) با بررسی کارایی استفاده از پری‌بیوتیک سانیار در محیط بایوفالک بر عملکـرد تولید، ترکیبات نیتروژنی آب، فراسنجه‌های خون‌شناسی و سوخت و ساز ماهی کپورمعمولی نشان دادند، استفاده از مکمل غذایی سانیار ضمن بهبود فاکتورهای رشد و تغذیه‌ای ماهی، توانسته است اثر معنی‌داری بر شاخص‌های خونی ماهی داشته باشد (۶). Rezaei و همکاران (۴۴) عملکرد پودرسیر را بر فاکتورهای ایمنی و آنزیم‌های گوارشی لابستر (*Postantacus leptodactylus*) مورد بررسی قرار دادند. آنها بیان کردند، افزودن ۲ درصد پودر سیر به جیره لابستر سبب افزایش معنی‌داری فاکتورهای رشد و ایمنی آن می‌شود. آنها همچنین عملکرد مثبت سیر را در بهبود سیستم ایمنی و آنتی اکسیدانی ثابت کرده و نشان دادند، با افزایش غلظت مکمل گیاهی سیر به جیره میزان لیزوزیم نیز به همان نسبت افزایش می‌یابد (۳). نادری‌فارسانی و همکاران (۱۷) در تحقیقات خود نشان دادند، عصاره زنیان فعالیت لیزوزیم و کمپلمان را به‌طور معنی‌داری بهبود می‌بخشد و از این طریق باعث تقویت سیستم ایمنی ماهی شده است (۱۷). در مطالعه حاضر، پس از در معرض قرارگیری ماهیان تغذیه شده با زنیان با سولفات‌مس، کاهش سطح ایمنی (لیزوزیم، کمپلمان ۵۰ و پروتیئن‌کل) و افزایش فاکتورهای استرس (گلوکز و کوزتیزول) دیده شد. این امر موید عملکرد یک فاکتور استرس‌زا همچون مس است. نتایج فوق با مطالعه Kreutz و همکاران (۳۸) همخوانی دارد. آنها اثرات علف‌کش گلایفوزیت را بر روی گربه ماهی نقره‌ای (*Rhamdia quelen*) بررسی کرده و نشان دادند، حضور ۱۰ درصد دوز

مقاله پژوهشی، صفحات۱۶-۱
DOI: 10.22034/JAR.2023.2306

کشنده (۹۶ ساعته) سم گلایفوزیت در محیط آزمایش سبب کاهش معنی‌دار مقدار فعالیت لیزوزیم شده است (۴۶). با وجود تغییرات صورت گرفته در تیمارهای مورد آزمایش، شدت تغییرات در تیمارهای مختلف زنیان از شرایط بهتری برخوردار بودند، بطوریکه کاهش سطوح لیزوزیم و کمپلمان ۵۰ در تیمارهای حاوی زنیان به‌مراتب کمتر از شاهد بود. این امر بیانگر مثبت مکمل گیاهی زنیان در افزایش سطح ایمنی ماهی در مواجهه با شرایط استرس‌زا است. نتایج حاضر با مطالعات بدست آمده در خصوص استفاده از انواع مکمل‌های گیاهی و عملکردشان در بهبود سیستم ایمنی همخوانی دارد. ایری و همکاران (۱) تأثیر سطوح مختلف پری‌بیوتیک همزاد قارچ صدفی بر شاخص‌های ایمنی موکوس ماهی تیلاپیا نیل(*Oreochromis niloticus*) در مواجهه با سم کلرپیریفوس در شرایط آزمایشگاهی را بررسی کردند. آنها بیان کردند، میزان فسفاتاز قلیایی، آنزیم لیزوزیم و پروتئین محلول موکوس در اثر تیمارهای تغذیه شده با پری‌بیوتیک و با افزایش غلظت پری‌بیوتیک، به طور معنی-داری ($P<۰/۰۵$) افزایش داشت (۱). Komar (۳۷) اثرات حفاظتی پری‌بیوتیک بر حشره‌کش فیپرونیل را در ماهی کپورمعمولی (*Cyprinus carpio*) بررسی کرد. براساس نتیجه فوق، افزودن پری‌بیوتیک علاوه بر تغییرات معنی‌داری در شاخص‌های تغذیه‌ای، استرس ناشی از مواجهه با حشره-کش کاهش معنی‌داری داشت (۳۷). Farhangi و همکاران (۲۸) به بررسی اثرات تغذیه‌ای عصاره سیر در مقاومت ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در مواجهه با استرس سولفات‌مس پرداختند. آنها بیان کردند، جیره حاوی عصاره سیر توانست سبب بهبود سطوح لیزوزیم و کمپلمان ۵۰ در مواجهه با استرس سولفات‌مس شود (۲۸). Raissy و همکاران (۴۵) به بررسی اثرات سینرژتیک سه گیاه دارویی *Mentha longifolia*، *Trachyspermum copticum* و *Thymus carmanicus* بر رشد، بهره‌گیری تغذیه و ژن کاربردی ایمنی در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بیان کردند که ترکیب مخلوط یک درصد مکمل‌های گیاهی مورد استفاده بهترین عملکرد را در رشد و پاسخ ایمنی ماهی دارد (۴۵). Ali و همکاران (۲۲) اثرات ویتامین E ، سلنیوم و گیاهان دارویی ماشروم و زنیان را بر رشد و فعالیت لیزوزوم در ماهی قزل‌آلای رنگین-کمان مورد ارزیابی قرار دادند. آنها بیان کردند سطوح یک درصد مکمل‌های ویتامینه و گیاهان دارویی ماشروم و زنیان بهترین عملکرد را در رشد و فعالیت لیزوزیم داشتند. به-عبارت دیگر زنیان توانست ایمنی غیراختصاصی ماهی را بهبود ببخشد (۲۲). بطورکلی مکمل‌های گیاهی دارای اثرات تحریک ایمنی می‌باشند. در واقع باعث تقویت تولید آنتی-بادی در ماهی شده و از این طریق مقاومت و ایمنی ماهیان در مواجهه با استرس‌های محیطی افزایش می‌یابد (۲۲).

آزمون‌های سمیت روشی است که حساسیت ارگانیزم‌ها را به یک سم خاص نشان می‌دهد و از این طریق به ما کمک می‌کند تا حدقابل قبول ماده سمی در محیط تعیین شود. در واقع به‌عنوان یک شاخص مناسب جهت بررسی اثرات کوتاه مدت آلاینده‌ها و همچنین یک مقایسه ساده بین مقدار اثرات مختلف آلاینده‌ها بر ماهی و میزان حساسیت ماهی استفاده می‌شود (۴۱). در مطالعه حاضر علائم مسمومیت با مس در ماهیان گروه شاهد (بدون افزودن زنیان) به شکل خونریزی، پرخونی (آبشش و کلیه)، چماغی شدن راس رشته‌های آبششی، ادم (آبشش) ظاهر شدند، که با یافته های بدست آمده توسط سایر محقیقن در مواجهه با سولفات مس مطابقت دارد (۲۵و ۲۸). آبشش اندام اصلی تنفس ماهیان می‌باشد. بنابراین وقتی به مدت طولانی در معرض آلاینده-های محیطی قرار می‌گیرند، دچار تخریب و آشکاری عوارض مختلف می‌شوند. آسیب‌های آبششی می‌توانند به علت پاسخ عمومی به تحریکات یا برای سازش باشد که بر تبادلات گازی تأثیر می‌گذارد و در حالت‌های شدیدتر منجر به چسبیدگی دوتیغه مجاور و مرگ ماهیان می‌شود. مسمومیت ناشی از فلزات سنگین مانند سولفات‌مس ممکن است به علت ایجاد نقص در اعمال سلولی یا تداخل متقابل با ساختمان‌های سلولی باشد (۹). معمولاً سولفات‌مس در مزارع برای کنترل بیماریها و کنترل حلزون‌ها و جلبک‌ها

مقاله پژوهشی، صفحات۱۶-۱
DOI: 10.22034/JAR.2023.2306

بکار می‌رود، هرچند غلظت استفاده شده در این خصوص برای ماهیان کشنده نیست، اما به این معنی نیست که در ماهیان ایجاد عارضه مسمومیت نکند. لذا استفاده از روش-هایی که بتواند کمترین عارضه را ایجاد کند، می‌تواند بهترین شیوه مدیریت مزارع بحساب آید. دراین خصوص تغذیه با مکمل‌های گیاهی بهویژه زنیان می‌تواند موثر باشد. همانطوریکه مطالعه حاضر ثابت کرد، در تمامی گروه‌های مورد آزمایش علائم به میزان کم و بیش مشاهده گردید، بااین حال در تیمارهای تغذیه شده با مکمل زنیان، ضایعات از شدت کمتری (به‌خصوص در کبد و کلیه) برخوردار بود. این امر موید عملکرد خوب زنیان در کاهش عوارض ناشی از مسمومیت با مس است. نتایج حاضر با مطالعات سایر محققین همخوانی دارد، به عنوان مثال قاسمی و همکاران (۱۴) به بررسی اثرات تغذیه‌ای زردچوبه بر کاهش آسیب-های کبدی و کلیوی ناشی از مواجهه با سولفات‌مس در ماهی کپور پرداختند. آنها بیان کردند، استفاده از مقادیر ۰/۵ تا ۲ درصد زردچوبه خوراکی در تغذیه ماهی، می‌تواند سبب کاهش محسوسی در بافت کبد در مواجهه با سولفات‌مس شود (۱۴). Mokhbatly و همکاران (۴۲) اثرات حفاظتی مکمل *Spirulina platensis* و β-glucan (BG) را در مواجهه با سم کلرپیروفوس در گربه‌ماهی آفریقایی (*Clarias gariepinus*) بررسی کرده و بیان کردند ماهیانی که در مواجهه با سم قرار داشتند از فاکتورهای رشد و تغذیه ای کمتری نسبت به گروه شاهد برخوردار بودند، ضمن آنکه گرچه فاکتورهای خونی ماهیان تغذیه شده با مکمل‌های مورد استفاده از وضعیت بهتری برخوردار بودند، لکن آن مکمل‌ها نتوانست ضایعات ناشی از مسمومیت با حشره‌کش را از بین ببرد و ضایعات ایجاد شده در تمامی گروه‌های مورد آزمایش دیده شد (۲۵). Abdo و همکاران (۲۱) اثرات حفاظتی ویتامین C را در مواجهه با سم کلروپیروفوس در ماهی تیلاپیا بررسی کردند. آنها بیان کردند، اثرات وارده بر ساختار آبشش، روده و کبد در ماهیان تغذیه شده با ویتامین C از شرایط بهتری برخوردار بودند (۵۲). Abdelkhalek و همکاران (۲۰) با مطالعه سمیت دیازینون در ماهیان تیلاپیا تغذیه شده با مکمل غذایی *Spiurolina platensis* نشان دادند، اولا دیازینون سبب بروز ضایعات در آبشش و کبد ماهی و همچنین سبب تغییرات در سرم خونی ماهیان شده و ثانیا مکمل غذایی مورد استفاده توانست اثر محافظتی مناسبی در مواجهه با سم دیازینون در کاهش آنزیم‌های استرسی و آنتی اکسیدانی داشته باشد (۲۰). Ghafari Farsani و همکاران (۳۰) نتایج مشابه‌ای را با ویتامین E در مواجهه نانوذره روی بدست آورند (۳۰). Ibrahim (۳۴) با مطالعه سمیت نانوذره نقره در ماهیان تیلاپیا تغذیه شده با سلنیوم بیان کرد، گرچه نانوذره نقره اثرات منفی بر فاکتورهای بیوشیمیایی خون دارد، لکن ماهیان تغذیه شده با نانوذره سلنیوم اثرات معنی‌دار کمتری در مواجهه بر نانوذره نقره بر فاکتورهای بیوشیمیایی خون داشتند (۳۰). درمطالعه-ای دیگر Hajirezaee و همکاران (۳۳) اثرات حفاظتی ویتامین C در ماهی کپور معمولی*Cyprinus carpio* در مواجهه با نانوذره تیتانیوم بررسی شد و مشخص شد، ویتامین C ضمن کاهش آنزیم‌های استرسی، بر میزان ضایعات وارد شده بر بافت کبد در مواجهه با سمیت نانوذره تیتانیوم نیز اثرات کاهشی مثبتی داشته است (۳۳). در مجموع، نتایج ما نشان می‌دهد که افزودن مکمل زنیان در رژیم غذایی می‌تواند به‌عنوان یک استراتژی دفاعی مورد استفاده قرار گیرد وضمن بهبود رشد وتغذیه ماهی، بسیاری از اثرات منفی قرارگرفتن در معرض انواع استرس‌های محیطی بویژه سولفات‌مس در بچه ماهی کپورمعمولی را کاهش دهد.

سپاسگزاری

این مقاله ماحصل پایان نامه دانشجویی کارشناسی ارشد دانشگاه گنبدکاوس می باشد. بدینوسیله نویسندگان مقاله از زحمات سرکار خانم دکتر قلیپور کنعانی، دکتر سید علی اکبر هدایتی که صمیمانه ما را در اجرای دقیق آزمایشات همراهی کردند نهایت سپاس و قدردانی را دارند.

DOI: 10.22034/JAR.2023.2306 مقاله پژوهشی، صفحات۱۶-۱

منابع

۱- ایری، ع.، هدایتی، ع.ا.، پاکنژاد، ح.، باقری، ط.، و خالقی، س.ر.، ۱۳۹۸. تأثیر سطوح مختلف پری‌بیوتیک همزاد قارچ صدفی بر شاخص‌های ایمنی موکوس ماهی تیلاپیای‌نیل (*Oreochromis niloticus*) در مواجهه با سم کلرپیریفوس در شرایط آزمایشگاهی، تغذیه آبزیان، دوره ۵ ، شماره ۲، صفحات ۷۰-۶۱.

۲- بیرامی، ع.، فرهنگی، م.، آدینه، ح.، جعفریان، ح.، کردجزی، ض.، و حسینی فر، ح.، ۱۴۰۰. مطالعه سلامت ماهی کلمه خزر (*Rutilus caspius*) تغذیه شده با پودر زنجبیل (*Zingiber officinale*) در مواجهه با تنش شوری با تاکید بر آسیب شناسی بافت آبشش، پایان نامه کارشناسی ارشد شیلات، دانشگاه گنبدکاووس، ۸۹ صفحه.

۳- جعفریان، س.، آدینه، ح.، فرهنگی، م.، هرسیج، م.، و کردجزی، ض.، ۱۴۰۰. کارایی استفاده از پری‌بیوتیک سانیار در محیط بایوفالک بر عملکـرد تولید، ترکیبات نیتروژنی آب، فراسنجه‌های خون‌شناسی و سوخت و ساز ماهی کپورمعمولی، تغذیه آبزیان، دوره۷ ، شماره ۲، صفحات ۵۵-۳۹.

۴- جوکار، ز.، قلیپورکنعانی، ح.، جعفریان، ح.، و طاهری‌میرقاید، ع.، ۱۳۹۷. بررسی مقایسه‌ای خواص ضدباکتریایی و ضد قارچی اسانس‌های زنیان، اسطوخودوس و میخک در شرایط آزمایشگاهی علیه برخی پاتوژن‌های ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792). پژوهش-های ماهی‌شناسی کاربردی، دوره ۶، شماره ۴، صفحات ۱۲۶-۱۰۹.

۵- ربیعی، ث.، حسینی، ه.، رضایی، م.، و موسوی، ط.، ۱۳۹۲. بررسی اثر بازدارندگی اسانس زنیان بر رشد باکتری لیستریا مونوسیتوژنز (*Listeria monocytogenes*) در محیط عصاره و گوشت ماهی‌سفید دریای‌خزر (*Rutilus frisii kutum*). علوم‌تغذیه و صنایع‌غذایی ایران، دوره ۸، شماره ۲، صفحات ۸۰-۷۱.

۶- رضوی، س.ر.، قلیپورکنعانی، ح.، فرهنگی، م.، و آدینه، ح.، ۱۳۹۹. تأثیر مکمل خوراکی آویشن‌شیرازی (*Zataria multiflora*) و زنجبیل (*Zingiber afficinale*) بر عملکرد رشد، ایمنی و فراسنجه‌های خونی ماهی کپورمعمولی (*Cyprinus carpio*)، فیزیولوژی و بیوتکنولوژی آبزیان، دوره ۹، شماره ۳، صفحات ۸۸-۶۷.

۷- روحی، ز.، ایمان‌پور، م.ر.، جعفری، و.، و تقی‌زاده، و.،۱۳۹۵. اثر تنش شوری روی بقاء، پارامترهای بیوشیمیایی و خونی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) تغذیه شده با مکمل غذایی دانه شنبلیله، مجله پژوهشهای جانوری (مجله زیست شناسی ایران)، دوره ۲۹، شماره ۱، صفحات ۵۵-۴۶.

۸- سرحدی، ا.، علیزاده دوغیکلایی، ا.، احمدی‌فر، ا.، و آدینه، ح.، ۱۳۸۹. تأثیر مکمل‌غذایی عصاره درمنه (*Artemisia annua*) بر برخی شاخص‌های هماتولوژی و بیوشیمیایی سرم خون ماهی کپورمعمولی (*Cyprinus carpio*)، شیلات ایران، دوره ۲۷، شماره ۲، صفحات ۱۲-۱.

۹- عبدالله‌زاده، ف.، خیاط‌زاده، و قاسم‌زاده، ف.، ۱۳۹۷. بررسی اثر مقایسه‌ای نانو ذرات اکسیدمس و سولفات‌مس بر شاخص‌های رشد و آسیب‌شناسی بافت آبشش بچه ماهیان آمور. شیلات ایران، دوره ۲۷، شماره ۲، صفحات ۹۱-۸۱.

۱۰- عزیزخانی، م.، و توریان، ف.، ۱۳۹۵. تأثیر اسانس زنیان (*Carum copticum*) بر رشد و بیان ژنی آنتروتوکسین‌های A و C *Staphylococcus aureus* در سوریمی ماهی کیلکا (*Clupeonella cultriventris caspia*). علوم و فنون شیلات، دوره ۵، شماره ۱، صفحات ۱۵۲-۱۴۱.

۱۱- عطایی‌مهر، ب.، باقری، پ.، امتیازجو، م.، و یوسفی سیاهکلرودی، س.، ۱۳۹۳. بررسی اثر گیاه آلوئه ورا (*Aloe vera*) بر تغییرات میزان ایمونوگلوبولین‌های IgM ، IgA و Ig پروتئین‌کل و شمارش تفریقی گلبول‌های سفید ماهی قزل‌آلای رنگین-کمان (*Oncorhynchus mykiss*). مجله پژوهشهای جانوری (مجله زیست شناسی ایران)، دوره ۲۷، شماره ۱، صفحات ۹۹-۸۸.

۱۲- علی‌تنه، س.، افضلی، ن.، سریر، ه.، و نعیمی‌پور، ح.، ۱۳۹۵. بررسی اثرات استفاده از سطوح مختلف دانه‌های زنیان (*Copticum carum*) و گشنیز (*Coriandrum sativum*) بر عملکرد و خصوصیات لاشه جوجه‌های گوشتی راس. پژوهش‌های تولیدات دامی، دوره ۷، شماره ۱۴، صفحات ۳۲-۲۱.

۱۳- فرهنگی، م.، و جعفریان، ح.، ۱۳۹۹. ارزیابی تغییرات بافتی ماهی کپور *Cyprinus carpio* و کلمه *Rutilus caspicus* تحت سمیت‌حاد با سولفات‌مس. توسعه آبزی‌پروری، دوره ۱۴، شماره ۴، صفحات ۸۱-۶۹.

۱۴- قاسمی، ا.، مازندرانی، م.، سوداگر، م.، و حسینی، س.م.، ۱۳۹۶. اثرات تغذیه‌ای زرچوبه (*Curcuma longa*) بر کاهش آسیب های کبدی و کلیوی ناشی از مواجهه با س در ماهی کپورمعمولی

DOI: 10.22034/JAR.2023.2306 مقاله پژوهشی، صفحات۱۶-۱

(*Cyprinus carpio*). شیلات، منابع‌طبیعی ایران، دوره ۷۰، شماره ۲، صفحات ۱۴۷-۱۳۸.

۱۵- مشتاقی، ب.، نظامی، ش.، خارا، ح.، پژند، ذ.، شناورماسوله، ع.، حلاجیان، ع.، فتح الهی، ر.، و منافی‌حریق، ز.، ۱۳۹۱. تأثیر سمیت-حاد سولفات‌مس و پرمنگنات‌پتاسیم بر آبشش و کبد بچه تاس ماهیان ایرانی (*Acipenser persicus*). زیست‌شناسی دریا، دوره ۱۵، شماره ۴، صفحات ۱۲-۱.

۱۶- مریخی‌اردبیلی، ا.، و محسن‌زاده، م.، ۱۳۹۷. ارزیابی تأثیر پوشش خوراکی متیل‌سلولز حاوی اسانس زنیان(*Carum copticum*) و عصاره زردچوبه (*Curcuma longa* L.) بر کنترل رشد لیستریا مونوسیتوژنز (*Listeria monocytogenes*) در گوشت مرغ نگهداری شده در یخچال. علوم صنایع‌غذایی، دوره ۸۳، شماره ۱۵، صفحات ۳۲۸-۳۱۵.

۱۷- نادری‌فارسانی، م.، جنابی حق‌پرست، ر.، و افضلی کردمحله، ع.، ۱۳۹۹. تأثیر عصاره الکلی گیاه زنیان (*Trachyspermum ammi* L) بر عملکرد رشد، فراسنجه‌های خونی و ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). محیط-زیست جانوری، دوره ۱۲، شماره ۳

۱۸- هوشنگی، س.، فیروزبخش، ف.، و بدلی، ح.، ۱۳۹۵. اثرات ضدقارچی نعنا فلفلی (*Mentha piperita*) و زنیان (*Carum capticum*) بر قارچ آبزی ساپرولگنیا (*Saprolegnia parasitica*) در شرایط آزمایشگاهی. میکروبیولوژی دامپزشکی، دوره ۱۲، شماره ۲، صفحات ۵۵-۴۷.

۱۹- واحدی، ع.، پاکنژاد، ح.، سوادگر، م.، شعبانی، ع.، و جافر، ع.، ۱۳۹۹. اثر سطوح مختلف عصاره بارهنگ کبیر (*Plantago major*) بر عملکرد رشد در جیره غذایی کپور معمولی(*Cyprinus carpio*). فیزیولوژی و تکوین جانوری، دوره ۵۲، شماره ۱۴، صفحات ۱۲-۱.

20- Abdelkhalek, N.K.M., Eissa, I.A.M., Ahmed, E., Kilany, O.E., El-Adl, M., Dawood, M.A.O., Hassan, A.M., and Abdel-Daim, M.M., 2017. Protective role of dietary *Spirulina platensis* against diazinon-induced Oxidative damage in Nile tilapia; *Oreochromis niloticus*. Environ Toxicol Pharmacol. 54, PP: 99-104. https://doi.org/10.1016/j.etap.2017.07.002.

21- Abdo, S.E., Gewaily, M.S., and Abo-Al-Ela, H.G., 2021. Vitamin C rescues inflammation, immunosuppression, and histopathological alterations induced by chlorpyrifos in Nile tilapia. Environ Sci Pollut Res. 28, PP: 28750–28763. https://doi.org/10.1007/s11356-021-12711-5.

22- Ali, M., Soltanian, S., Akbary, P., and Gholamhosseini, A., 2018. Growth performance and lysozyme activity of rainbow trout fingerlings fed with vitamin E and selenium, marjoram (*Origanum spp*.), and ajwain (*Trachyspermum ammi*) extracts, Journal of Applied Animal Research, 46:1, 650-660, https://doi.org/10.1080/09712119.2017.1380029 .

23- Alishahi, M., Ranjbar, M.M., Ghorbanpoor, M., Peyghan, R., Mesbah, M., and Razi, J.M., 2012. Effects of dietary *Aloe vera* on some specific and nonspecific immunity in the common carp (*Cyprinus carpio*). Int. J. Vet. Res, 4, PP: 189-195.

24- Bhadra, P., 2020. An Overview of Ajwain (*Trachyspermum ammi*). Indian Journal of Natural Sciences, 10 (59), PP: 18466-182474.

25- Calfee, R.D., Little, E.L., Puglis, H.J., Scott, E., Brumbaugh, W.G., and Mebane CH.A., 2014. Acute sensitivity of white sturgeon (*Acipenser transmontanus*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) to copper, cadmium, or zinc water-only laboratory exposures. Environmental Toxicology and Chemistry, 33(10), PP: 2259-2272.

26- Duncan, B.D., 1957. Duncan's multiple range tests for correlated and heteroscedastic mean. Biometrics, 13, PP: 359-64.

27- Ettah, I., Ibor, O., Bassey, A., Akaninyene, J., and Christopher, N., 2017. Toxicity and histological effects of two liquid soaps on African Mud Catfish (*Clarias gariepinus*, Buchell, 1822) fingerlings. Asian Journal of Environment and Ecology, 3(4), PP: 1-9.

28- Farhangi, M., Adineh, H., and Harsij, M., 2022. Protective, immunity and histopathological effect of garlic extract (*Allium sativum*) on exposed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) to acute toxicity of copper (Cu2+). Iranian journal of Veterinary Science and Technology, https://doi.org/10.22067/IJVST.2022.74373.1105.

29- Gibson, G.R., and Roberfroid, M.B., 1995. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics.

DOI: 10.22034/JAR.2023.2306

Journal Nutrition, 125(6), PP: 1401-12. https://doi.org/10.1093/jn/125.6.1401.

30- Ghafari Farsani, H., Doria, H., Jamali, H., Hasanpour, S., Mehdipour, N., and Rashidiyan, G., 2017. The protective role of vitamin E on Oreochromis niloticus exposed to ZnONP. Ecotoxicology and Environmental Safety. 145, PP: 1-7 https://doi.org//10.1016/j.ecoenv.2017.07.005.

31- Gouda, S., Kerry. R.G., Das, G., Paramithiotis, S., Shin, H.S., and Patra, J.K., 2018. Revitalization of plant growth promoting rhizobacteria for sustainable development in agriculture. Microbiol Res. https://doi.org//10.1016/j.micres.2017.08.016.

32- Guardiola, F. A., Cuesta, A., Abellán, E., Meseguer, J., and Esteban, M. A., 2014. Comparative analysis of the humoral immunity of skin mucus from several marine teleost fish. Fish and shellfish immunology, 40 (1), PP: 24-31.

33- Hajirezaee, S., Mohammadi, G.H., and Shahbazi Naserabad, S., 2019. The protective effects of vitamin C on common carp (*Cyprinus carpio*) exposed to titanium oxide nanoparticles (TiO2-NPs). Aquaculture, 518, https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734734.

34- Ibrahim, A.T.H., 2020. Toxicological impact of green synthesized silver nanoparticles and protective role of different selenium type on *Oreochromis niloticus*: hematological and biochemical response, Journal of Trace Elements in Medicine and Biology, 61, 126507, https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2020.126507.

35- Kaleo, I.V., Gao, Q., Bo., L., xin Sun, C., Qunlan, Zh., Huimin, Zh., Fan Shan, Zh., and Xiong Changyou, S., 2019. Effects of *Moringa oleifera* leaf extract on growth performance, physiological and immune response, and related immune gene expression of *Macrobrachium rosenbergii* with *Vibrio anguillarum* and ammonia stress. Fish and Shellfish Immunology 89, https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.03.039.

36- Khodaparast, Z., Yousofi, A.R., and Khoshvaghti, A., 2014. Investigation of Curcumin Effects on Liver Tissue in Adult Male Rats Treated with Cyclophosphamide. Journal of Fasa University of Medical Sciences, 4 (3), PP: 344-352.

37- Komar, S., 2012. Ameliorative and protective effects of prebiotic, microbial levan in common carp, (*Cyprinus carpio*) fry under experimental exposure to fipronil. International Journal Aquatic Biology, 9 (3), PP: 134-147.

38- Kreutz, L.C., Barcellos, L.J.G., De Faria Valle, S., De Oliveira Silva, T., Anziliero, D., Dos Santos, E.D., Pivato, M., and Zanatta, R., 2011. Altered hematological and immunological parameters in silver catfish (*Rhamdia quelen*) following short term exposure to sub-lethal concentration of glyphosate. Fish Shellfish Immunol, 30, PP: 51-57, https://doi.org/10.1016/j.fsi.2010.09.012.

39- Lee, D.H., Ra, C.S., Song, Y.H., Sung, K.I., and Kim, J.D., 2012. Effects of Dietary Garlic Extract on Growth, Feed Utilization and Whole Body Composition of Juvenile Sterlet Sturgeon (*Acipenser ruthenus*). Journal of Animal Science, 25, PP: 577-583.

40- Mishra, P.K., Kakatkara, A.S., Gautama, R.K., Kumar, V., Debbarm, A., and Chatterjee, S., 2023. Effect of ajwain (*Trachyspermum ammi*) extract and gamma irradiation on the shelf-life extension of rohu (*Labeo rohita*) and seer (*Scomberomorus guttatus*) fish steaks during chilled storage. Food Research International, 163, PP: 112-149, https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.112149.

41- Moeinnejad, S., Naeemi, A.S., Nazarhaghighi, F., and Nasr, E., 2019. Sub-acute effects of copper oxide nanoparticles on enzymes and hematological parameters of the juvenile beluga (*Huso huso*). Veterinary Reaserches and Bilogical Products, 1 (1), PP: 84-96.

42- Mokhbatly, A.A., Assar, D.H., and Ghazy, E.W., 2020. The protective role of Spiurolina and β-glucan in African catfish (*Clarias gariepinus*) against chronic toxicity of chlorpyrifos: haemato-biochemistry, histopathology, and oxidative stress traits. Environ Sci Pollut Res, 2020, 27, PP: 31636–31651, https://doi.org/10.1007/s11356-020-09333-8.

43- Palaksha, K.J., Shin, G.W., Kim, Y.R., and Jung, T.S., 2008. Evaluation of non-specific immune components from the skin mucus of olive Flounder (*Paralichthys olivaceus*). Fish and Shellfish Immunology, 24, PP: 479-488.

44- Raeisi, S., Sharifi-Rad, M., Quek, S.Y., Shabanpour, B., and Sharifi-Rad, J., 2016. Evaluation of antioxidant and antimicrobial effects of shallot (*Allium ascalonicum* L.) fruit and ajwain (*Trachyspermum ammi* (L.) Sprague seed extracts in semi-fried coated rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets for shelf-life extension. Food Science and Technology, 65, PP:

DOI: 10.22034/JAR.2023.2306

112-121, https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.07.064.

45- Raissy, M., Ahmadi Kabootarkhani, M., Sanisales, K., Mohammad Mohammadi, M., and Rashidian, GH., 2021. The Synergistic Effects of Combined Use of *Mentha longifolia*, *Thymus carmanicus*, and *Trachyspermum copticum* on Growth Performance, Feed Utilization, and Expression of Key Immune Genes in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). Front. Vet. Sci., 14, PP: 1-9, https://doi.org/10.3389/fvets.2021.81026.

46- Rezaei, O., Shamsaie Mehrgan, M., and Paknejad, H., 2022. Dietary garlic (*Allium sativum*) powder improved zootechnical performance, digestive enzymes activity, and innate immunity in narrow-clawed crayfish (*Postantacus leptodactylus*). Aquaculture Reports, 24, 101129, https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2022.101129

47- Roberts, R.J., 2012. Fish pathology. 4th edition. Wiley-Blackwell, UK. 590 p.

48- Roosta, Z., and Hoseinifar, S.H., 2016. The effects of crowding stress on some epidermal mucus immune parameters, growth performance and survival rate of Tiger barb (*Pentius tetrazona*). Aquaculture Research, 47, PP: 1682–1686.

49- Sarvi Moghanlou, K., Isfahani, E.N., Dorafshan, S., Tukmechi, A., and Aramli, M.S., 2018. Effects of dietary supplementation with *Stachys lavandulifolia* Vahl extract on growth performance, hemato-biochemical and innate immunity parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Animal Feed Science and Technology, 237, PP: 98-105, https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2018.01.016.

50- Siwicki, A.K., and Anderson, D.P., 1993. Nonspecific defense mechanisms assay in fish: II. Potential killing activity of neutrophils and macrophages, lysozyme activity in serum and organs and total immunoglobulin level in serum. Fish Disease Diagnosis and Prevention Methods Olsztyn, Poland, 13, PP: 105-12.

51- Subramanian, S., MacKinnon, Sh.L., and Ross N.W., 2007. A comparative study on innate immune parameters in the epidermal mucus of various fish species. Comparatives Biochemistry and Physiology, 148, PP: 256-263.

52- TRC., 1984. OECD Guideline for testing of chemical, Section 2, Effects on biotic systems. OECD. 39P.

53- Zeng, X., Du, Z., Ding, X., Jiang, W., 2021. Protective effects of dietary flavonoids against pesticide-induced toxicity: A review. Trends in Food Science and Technology, 109, PP: 271-27, https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.01.046.

54- Yousefi, M., Adineh, H., Reverter, M., Hamidi, M. K., Vatnikov, Y. A., Kulikov, E. V., and Van Doan, H., 2020. Protective effects of black seed (*Nigella sativa*) diet supplementation in common carp (*Cyprinus carpio*) against immune depression, oxidative stress and metabolism dysfunction induced by glyphosate. Fish and Shellfish Immunology, 109, PP: 12-19. https://doi.org/10.1016/j.fsi.2020.11.032.

مقاله پژوهشی، صفحات۱۶-۱ DOI: 10.22034/JAR.2023.2306

Efficiency of Zenyang hydroalcoholic extract (*Trachyspermum ammi*) on immunity annd resistance rate of common carp (*Cyprinus carpio*) exposed to CuSO4

Pikar Porsan A.[1], Farhangi M. [1], Adineh H.[1], Mazandarani M.[2] and Alizadeh M. [3]

[1] Dept. of Fisheries, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Gonbad Kavous University, Gonbad Kavous, Golestan, I.R. of Iran

[2] Dept. of Fisheries, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, I.R. of Iran

[3] Graduated with a PhD in Fisheries, Aquatic Ecology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, I.R. of Iran.

Abstract

The Zenyang is known as an effective agent on the digestive and immune systems in animals (including human and fish). This study aimed to investigate the protective effects of diets supplemented with different levels of Zenyang (*Trachyspermum ammi* L.) on growth and immune response, Common carp (*Cyprinus carpio*) fry and resistance to copper exposure. The fish (9.98 ± 0.46 g) were fed diets containing 0.5, 1 and 1.5 % of Zenyang per 1 kg of basic food for 60 days. Expriments were done in Gonbad Kavous University druring 2023 years. Afetr feeding, Fish were exposed to sulphate copper ($CuSO_4$, $5H_2O$) stress (0.1 mg/l) for 96h. Behaviours and clinical signs of fish were recorded during the experiment. Samples were cut from kidney, liver and gill of moribund and fresh dead fish for histopathological signs. The highest final weight (FW) and the lowest Food conversion ratio (FCR) were obtained in fish fed with diets containing Zenyang. At the end of the feeding period, Serum total immunoglobulin levels and lysozyme and complement (ACH50) activities were significantly higher in the 1% group than in the control group. After stress, all fed groups with Zenyang supplements had higher lysozyme and complement (ACH50) activities, compared to the control group. After stress, the highest levels of stress indicators (cortisol and golocus) were observed in the control group. Histopathologic results showed hyperplasia, edema, expansion of secondary lamella, epithelial cells necrosis of gill were most lesions. Altogether, our results show that dietary inclusion of Zenyang can be used for growth, as is a sustainable strategy in redused of effects of copper exposure in common carp fish.

Key words: Zenyang, Immunity, Sulphate copper, Hayperplasia, Corisol, Common Carp