

اثر تنش شوری روی بقاء، پارامترهای بیوشیمیایی و خونی کپور معمولی (*Cyprinus carpio* L., 1758) تغذیه شده با مکمل غذایی دانه شنبلیله

زهرا روحی*، محمدرضا ایمان‌پور، ولی‌اله جعفری، وحید تقی‌زاده

گرگان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، دانشکده شیلات و محیط‌زیست، گروه شیلات

تاریخ پذیرش: ۹۳/۳/۲۱

تاریخ دریافت: ۹۲/۱۲/۱۲

چکیده

مطالعه پارامترهای خونی به‌طور گسترده جهت ارزیابی وضعیت سلامت و نیز به‌عنوان شاخص‌های استرس در ماهیان استفاده می‌شود. مطالعه حاضر به‌منظور اندازه‌گیری گلوکز، کلسترول و هماتوکریت به‌عنوان شاخص‌های ارزیابی اثر دانه شنبلیله بر سلامت و مقاومت کپور معمولی ($2/457 \pm 0/057$ گرم) نسبت به استرس شوری انجام شد. ماهیان در چهار گروه در سطوح مختلف ۰، ۰/۵، ۱ و ۱/۵٪ شنبلیله تغذیه شدند. بعد از ۵۶ روز تغذیه، به‌منظور سنجش گلوکز و هماتوکریت، خون‌گیری طی پنج مرحله انجام شد (یکبار قبل از استرس و چهار مرحله بعد از استرس). شوری به‌طور معنی‌داری بر میزان گلوکز، کلسترول و هماتوکریت تأثیر داشت ($P < 0/05$). در روز اول پس از استرس، میزان گلوکز و هماتوکریت در همه تیمارها در مقایسه با میزان آن‌ها قبل از استرس به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ($P < 0/05$). بعد از استرس، میزان کلسترول در همه تیمارها در مقایسه با قبل از استرس به‌طور معنی‌داری کاهش یافت ($P < 0/05$). میزان هماتوکریت در بین تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌دار نداشت ($P > 0/05$). در روز اول پس از استرس، میزان گلوکز در گروه‌های تغذیه شده با شنبلیله در مقایسه با گروه شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ($P < 0/05$). سطوح گلوکز و هماتوکریت در همه تیمارها به تدریج از روز سوم کاهش یافت. بعد از استرس، تفاوت معنی‌داری در میزان بازماندگی در بین تیمارها مشاهده نشد ($P > 0/05$). با این‌حال، بیشترین بازماندگی مربوط به تیمار شنبلیله ۱٪ بود. نتایج نشان می‌دهد که مکمل غذایی شنبلیله ۱٪ اثر مثبتی بر گلوکز، کلسترول، هماتوکریت و مقاومت کپور معمولی نسبت به تنش شوری دارد.

واژه‌های کلیدی: کپور معمولی، دانه شنبلیله، پارامترهای خون، تنش شوری

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۰۶۰۷۱۰۷۹، پست الکترونیکی: roohi26_iut@yahoo.com

مقدمه

شده است. یکی از مشکلات عمده، تلفات بچه‌ماهیانی است که از مراکز تکثیر رهاسازی می‌شوند (۴۸). همچنین، در طول دوره‌ی پرورش و حمل و نقل در معرض عوامل استرس‌زا مانند دستکاری، کیفیت آب و تغییر در میزان دما و شوری آب قرار می‌گیرند (۱۹، ۲۲، ۵۲، ۶۱).

درک ماهیت پاسخ فیزیولوژیک ماهی پرورشی به تنش‌های مربوط به آبی‌پروری از مهم‌ترین مسائل روز در خصوص بهبود شرایط نگهداری ماهیان و نیز افزایش محصول

کپور معمولی (*Cyprinus carpio* L., 1758) جزء ماهیان اقتصادی دریای خزر است (۲) و به‌علت ویژگی‌های منحصر به‌فرد پرورشی در اکثر کشورهای دنیا تکثیر و پرورش داده می‌شود و در ایران نیز به‌عنوان یکی از گونه‌های با اهمیت اقتصادی بالا و پرتعداد در اکثر مناطق کشور کشت می‌شود (۳). در سال‌های اخیر به‌دلیل صید بی‌رویه مولدین، تغییر در شرایط رودخانه‌ها و افزایش آلودگی، جمعیت مولدین طبیعی کاهش یافته (۴) که به منظور بازسازی ذخایر، اقدام به تکثیر نیمه طبیعی این ماهی

برگ‌های آن سرشار از ویتامین‌ها و مواد معدنی است (۸). شنبلیله غنی از فلاونوئیدها و ساپونین‌ها است که نشان‌دهنده عملکردهای حفاظتی برای آسیب اکسیداتیو (۳۱) و خواص ایمنی می‌باشد (۱۶). همچنین دارای لکتین و کولین است که به حل‌شدن کلسترول و ترکیبات چربی، مواد معدنی، آهن، فسفات و ویتامین A و D کمک می‌کند (۵۸). اثرات مثبت این گیاه بر رشد و پاسخ ایمنی تیلاپیا تأیید شده است (۸).

یکی از راه‌هایی که می‌توان برای موفقیت عملیات بازسازی ذخایر بکار برد، افزایش تحمل استرس از طریق دستکاری جیره غذایی ماهیان است. لذا هدف از این مطالعه بررسی اثر شوری بر پاسخ‌های فیزیولوژیک استرس در ماهیان کپور معمولی تغذیه شده با مکمل غذایی دانه شنبلیله، بهبود روش‌های پرورش تجاری و حفظ ذخایر کپور معمولی در محیط‌های طبیعی است.

مواد و روش‌ها

تهیه ماهی: این پژوهش در تابستان ۱۳۹۲ در مرکز تحقیقات آبی‌پروری شهید فضلی برآبادی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شد. در این مطالعه، تعداد ۱۸۰ قطعه ماهی کپور معمولی ($2/457 \pm 0/057$ گرم) از کارگاه تکثیر و پرورش ماهی کلمه سیجوال در استان گلستان تهیه و به مدت دو هفته در شرایط آزمایشگاه نگهداری شدند. آزمایش به صورت کاملاً تصادفی با چهار تیمار و سه تکرار در هر سطح، به مدت ۸ هفته انجام شد. هر تیمار به میزان ۳٪ وزن بدن، ۴ بار در روز تغذیه می‌شدند. هر دو هفته، ماهیان هر تیمار وزن و مقدار غذایی براساس آن تنظیم می‌شد. مدفوع و دیگر مواد باقیمانده هر روز صبح از مخازن خارج می‌شد. در طول دوره‌ی پرورش دمای آب 25 ± 1 درجه سانتی‌گراد، اکسیژن محلول در آب $5/9 \pm 0/65$ میلی‌گرم در لیتر و اسیدیته آب $7/8 \pm 0/07$ بود. در هر آکواریوم ۱۵ قطعه ماهی قرار گرفت.

پرورشی است (۶). به‌طورکلی، ماهیان سازگاری‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی تکامل یافته‌ای تحت عنوان پاسخ استرس برای مقابله با این چنین محدودیت‌ها دارند، که مانع اثرات زیان‌آور می‌شود و یا آنها را به حداقل می‌رساند (۳۲). پاسخ استرس شامل پاسخ اولیه، ثانویه و پاسخ سوم می‌باشد (۱۸، ۲۳، ۲۶). پاسخ اولیه شامل دریافت یک تغییر حالت توسط سیستم عصبی مرکزی و آزادسازی هورمون‌های استرس، کورتیزول و کاتکولامین‌ها توسط سیستم آندوکرین به جریان خون می‌باشد (۴۵). پاسخ‌های ثانویه به‌عنوان نتیجه‌ای از استرس رخ می‌دهد که منجر به تغییر در خون، شیمی بافت (۳۹) و تغییرات هماتولوژی مانند قند خون (۵۶) می‌شود. پاسخ سوم در وضعیت رشد فیزیکی، مقاومت به بیماری و ظرفیت تولید-مثلی جاندار آشکار می‌شود (۱۲، ۱۳، ۳۲). بسیاری از این پاسخ‌ها به‌عنوان شاخص‌های کمی استرس در ماهیان استفاده می‌شود (۱۷).

یکی از شاخص‌های مهم و قابل اطمینان در بررسی وضعیت سلامتی و فیزیولوژیکی ماهیان سنجش پارامترهای خون آنهاست که از تغذیه، عوامل محیطی و سن اثر می‌پذیرد (۲۰). کورتیزول و گلوکز شاخص‌های مناسب فیزیولوژیک جهت بررسی رخدادهای استرس در ماهیان می‌باشند (۳۴) که به هنگام وقوع استرس مقادیر آنها افزایش می‌یابد (۱۵، ۴۴، ۵۰). علاوه‌براین، پارامترهای هماتولوژیکی می‌تواند به‌عنوان شاخص‌های شرایط فیزیولوژیک، حضور بیماری و استرس استفاده شود (۴۶). بنابراین، مطالعه‌ی پارامترهای خونی در ماهیان به‌طور گسترده می‌تواند برای تعیین تغییرات فیزیوپاتولوژیک در شرایط مختلف استرس استفاده شود (۴۷).

در حال حاضر چالش عمده در آبی‌پروری، بهبود جیره‌های فرموله شده برای بهینه‌سازی و ارتقاء سلامت ماهیان می‌باشد (۷). شنبلیله (*Trigonella foenum graecum*) گیاهی یکساله است که دارای دانه‌های غنی از پروتئین و

گلوکز، نمونه‌های خون فوراً در دمای اتاق سانتریفیوژ (با دور ۵۰۰۰ در دقیقه و به مدت ۷ دقیقه) و پلاسما جدا شده و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان آنالیز نگهداری شد. میزان گلوکز و کلسترول با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر و کیت‌های تجاری (پارس آزمون، ایران) اندازه‌گیری شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها به روش آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون دانکن جهت مقایسه میانگین‌ها انجام شد. اختلاف بین میانگین‌ها در تیمارهای مختلف با سطح اطمینان $P < 0.05$ تعیین گردید. برای عملیات آماری از نرم‌افزار SPSS استفاده شد.

نتایج

نتایج مربوط به بازماندگی تیمارهای مختلف بعد از تنش شوری (جدول یک) نشان داد که ماهیان تغذیه شده با شنبلیله ۱٪، بیشترین بازماندگی و ماهیان تغذیه شده با شنبلیله ۱/۵٪ کمترین بازماندگی را داشتند. با این حال، بین هیچ‌یک از تیمارهای آزمایش تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($P > 0.05$).

تهیه جیره غذایی: دانه شنبلیله از بازار محلی تهیه و به صورت پودر شده از الک عبور داده شد. چهار تیمار با سطوح مختلف ۰، ۵، ۱۰ و ۱۵ گرم شنبلیله در یک کیلوگرم غذا تهیه شد. مواد تشکیل‌دهنده هر تیمار با اضافه کردن مقداری آب گرم ترکیب شده، خمیرهای تهیه شده از چرخ گوشت عبور داده شدند و غذاهای مورد آزمایش ساخته شد. غذاهای مرطوب در دمای اتاق به مدت ۲ روز خشک شدند (۸).

پس از ۵۶ روز تغذیه، جهت بررسی اثر پودر دانه شنبلیله اضافه شده به جیره، تیمارها به مدت هفت روز تحت تنش شوری ۱۳ گرم در لیتر قرار گرفت و میزان گلوکز، کلسترول، هماتوکریت و درصد بازماندگی آن‌ها اندازه‌گیری شد.

سنجش گلوکز، کلسترول و هماتوکریت: میزان هماتوکریت، کلسترول و گلوکز قبل از تنش شوری و بعد از انتقال ماهیان به شوری مورد نظر طی چهار مرحله (روزهای اول، سوم، پنجم و هفتم پس از تنش) اندازه‌گیری شد. به منظور آنالیز هماتوکریت، نمونه‌های خون با قطع ساقه دمی با استفاده از لوله‌های مویینه‌ی هپارینه و دستگاه هماتوکریت‌خوان انجام شد. برای آنالیز کلسترول و

جدول ۱- بازماندگی (میانگین ± انحراف معیار) کپور معمولی تغذیه شده با شنبلیله تحت تنش شوری

شاخص	شاهد	شنبلیله ۰/۵٪	شنبلیله ۱٪	شنبلیله ۱/۵٪
شوری (ppt)	۱۳	۱۳	۱۳	۱۳
درصد بازماندگی	۹۶/۶۷ ± ۴/۷۱ ^a	۹۶/۶۷ ± ۴/۷۱ ^a	۱۰۰ ^a	۹۳/۳۳ ± ۹/۴۳ ^a

تذکر: حروف انگلیسی مشابه در هر ردیف نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $P < 0.05$

جدول ۲- تغییرات غلظت شاخص هماتوکریت (میانگین ± انحراف معیار) در ماهیان تغذیه شده با شنبلیله تحت تنش شوری

شاخص هماتوکریت (%)	شاهد	شنبلیله ۰/۵٪	شنبلیله ۱٪	شنبلیله ۱/۵٪
قبل از تنش	۳۱/۹ ± ۱/۴۱۴ ^{aD}	۲۸/۸۵ ± ۲/۸۹۹ ^{aB}	۳۰/۹۵ ± ۰/۲۱۲ ^{aC}	۳۱/۵۵ ± ۰/۳۵۴ ^{aC}
روز اول پس از تنش	۵۹/۵ ± ۰/۷۰۷ ^{aA}	۴۹/۵ ± ۲/۱۲۱ ^{aA}	۵۹/۵ ± ۴/۹۵ ^{aA}	۵۱/۵ ± ۷/۷۸ ^{aA}
روز سوم پس از تنش	۵۰ ± ۱/۴۱۴ ^{aB}	۴۷/۵ ± ۳/۵۳۶ ^{aA}	۴۹/۵ ± ۲/۱۲۱ ^{aB}	۴۹/۵ ± ۰/۷۰۷ ^{aA}
روز پنجم پس از تنش	۴۴/۵ ± ۵/۶۶ ^{aB}	۴۶/۷۵ ± ۱/۰۶ ^{aA}	۴۸ ± ۲/۸۳ ^{aB}	۴۸/۷۵ ± ۱/۷۶ ^{aA}
روز هفتم پس از تنش	۴۴ ± ۱/۴۱۴ ^{aB}	۴۶/۲۵ ± ۱/۷۷ ^{aA}	۴۶/۷۵ ± ۲/۴۷ ^{aB}	۴۳/۵ ± ۲/۱۲۱ ^{aA}

تذکر: حروف انگلیسی کوچک غیرمشابه در هر ردیف و حروف انگلیسی بزرگ غیرمشابه در هر ستون بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح $P < 0.05$

جدول ۳- تغییرات گلوکز (میانگین \pm انحراف معیار) بر حسب میلی‌گرم در دسی‌لیتر در ماهیان تغذیه شده با شنبلیله تحت تنش شوری

شاخص گلوکز	شاهد	شنبلیله ۰/۵٪	شنبلیله ۱٪	شنبلیله ۱/۵٪
قبل از تنش	۱۱۷/۴۷ \pm ۴/۹۴ ^{aC}	۱۱۴/۸۴ \pm ۲۴/۷۱۶ ^{aC}	۱۱۶/۱ \pm ۰/۷۰۳ ^{aC}	۱۱۶/۸۱ \pm ۱۶/۳۶۵ ^{aC}
روز اول پس از تنش	۲۴۳/۹۲ \pm ۱۴/۷ ^{aA}	۲۶۲/۳۹ \pm ۱۵/۱۵ ^{bcA}	۲۹۹/۲۲ \pm ۱۲/۹۸ ^{abA}	۳۰۹/۷۱ \pm ۲۰/۱۳ ^{aA}
روز سوم پس از تنش	۱۸۰/۵۱ \pm ۱۲/۶۹ ^{aB}	۱۹۶/۴۱ \pm ۵/۰۷۴ ^{aB}	۱۶۶/۳۴ \pm ۱۳/۳ ^{aB}	۱۹۰/۲۲ \pm ۸/۵۸ ^{aB}
روز پنجم پس از تنش	۱۴۵/۵۷ \pm ۱۲/۳۷ ^{aC}	۱۳۰/۴۵ \pm ۱۲/۲۱ ^{aC}	۱۱۶/۳۷ \pm ۱۷/۹۹ ^{aC}	۱۳۵/۸۵ \pm ۱۵/۹۹ ^{aC}
روز هفتم پس از تنش	۱۲۸/۳۷ \pm ۶/۴۵ ^{aC}	۱۲۲/۶۲ \pm ۰/۵۶ ^{aC}	۱۱۰/۵۱ \pm ۶/۴۶ ^{aC}	۱۳۴/۵۲ \pm ۸/۴۲ ^{aC}

تذکر: حروف انگلیسی کوچک غیرمشابه در هر ردیف و حروف انگلیسی بزرگ غیرمشابه در هر ستون بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح $P < 0/05$

پنجم و هفتم پس از تنش، میزان گلوکز بین تیمارها تفاوت معناداری نداشت ($P > 0/05$) و کمترین سطح گلوکز مربوط به ماهیان تغذیه شده با شنبلیله ۱٪ بود (جدول ۳).

قبل از تنش شوری، میزان کلسترول در بین تیمارها تفاوت معنی‌داری نداشت ($P < 0/05$)، به طوری که بیشترین میزان کلسترول $210/42 \pm 15/91$ در گروه شاهد و بیشترین مقدار آن $161/25 \pm 7/66$ در ماهیان تغذیه شده با شنبلیله ۱٪ مشاهده شد (جدول ۴). با افزایش شوری میزان کلسترول در همه تیمارها در مقایسه با قبل از تنش کاهش معناداری نشان داد ($P < 0/05$)، با این حال در بین تیمارها تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($P > 0/05$). میزان کلسترول بعد از تنش شوری، روند کاهشی را نشان داد، با این حال این روند کاهشی بین تیمارها معنی‌دار نبود ($P > 0/05$). در روز هفتم پس از تنش، کمترین میزان کلسترول $102/17 \pm 6/96$ در ماهیان تغذیه شده با شنبلیله ۱٪ و بیشترین مقدار آن $132/19 \pm 4/59$ در گروه شاهد ثبت شد.

بحث و نتیجه‌گیری

شوری یکی از مهم‌ترین فاکتورهای محیطی است که تغییرات آن بقاء، سوخت و ساز و پراکنش ماهیان را طی تکامل تحت تأثیر قرار می‌دهد (۵۹)، به طوری که استرس شوری می‌تواند مانع بزرگی در جهت تولید ماهیان باشد (۱). استرس به شرایطی گفته می‌شود که تعادل دینامیک (هموستازی) جانور در نتیجه عمل محرک‌های خارجی که عوامل استرس‌زا نامیده می‌شوند برهم زده شود (۶۱). پاسخ

با بررسی هماتوکریت قبل از تنش مشخص گردید که بین تیمارها اختلاف معنی‌داری وجود ندارد ($P > 0/05$). با افزایش شوری میزان هماتوکریت در همه تیمارها در مقایسه با قبل از تنش افزایش معناداری نشان داد ($P < 0/05$). با این حال در بین تیمارها تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($P > 0/05$) و بیشترین مقدار آن $59/5 \pm 4/95$ در تیمار ۱٪ شنبلیله و کمترین مقدار $49/5 \pm 2/121$ در تیمار ۰/۵٪ شنبلیله مشاهده شد. میزان هماتوکریت از روز سوم پس از تنش، روند کاهشی را نشان داد (جدول ۲). بیشترین تغییرات پارامترهای ثانویه استرس در روز اول مشاهده شد (جدول ۲ و ۳).

قبل از تنش شوری، میزان گلوکز در تیمارهای مختلف اختلاف معناداری نداشت ($P > 0/05$). با این حال، بیشترین مقدار $117/47 \pm 4/94$ در تیمار شاهد و کمترین آن $114/84 \pm 24/716$ در تیمار شنبلیله ۰/۵٪ ثبت گردید. اثر استرس بر تغییرات گلوکز معنی‌دار بود. به طوری که، در روز اول پس از تنش در مقایسه با میزان آن قبل از تنش افزایش معناداری نشان داد ($P < 0/05$). در روز اول پس از تنش، سطوح گلوکز تیمارهای تغذیه شده با شنبلیله در مقایسه با گروه شاهد افزایش معنی‌داری نداشت ($P < 0/05$) و بیشترین مقدار $309/71 \pm 20/13$ در تیمارهای تغذیه شده با شنبلیله ۱/۵٪ و کمترین مقدار $243/92 \pm 14/7$ مربوط به تیمار شاهد بود. میزان گلوکز در تیمارهای مختلف از روز سوم پس از تنش در مقایسه با روز اول به طور معنی‌دار روند کاهشی را نشان داد ($P < 0/05$). در روزهای سوم،

به‌طورکلی، استرس موجب مجموعه‌ای از پاسخ‌های فیزیولوژیکی می‌شود (۱۲، ۶۰)، که با توجه به شدت آن می‌تواند رشد، تولید مثل، عملکردهای ایمنی و میزان بازماندگی را تحت تأثیر قرار دهد (۶۱).

به استرس وابسته به کیفیت، شدت و مدت زمان اثر عامل استرس‌زا و موقعیت جاندار است (۷). استرس تغییرات زیادی در سطوح هورمون‌ها، پروتئین‌ها، قند، کلسترول و دیگر ترکیبات پایه‌ای خون ماهیان ایجاد می‌کند (۱۰، ۵۳).

جدول ۴- تغییرات کلسترول (میانگین \pm انحراف معیار) بر حسب میلی‌گرم در دسی‌لیتر در ماهیان تغذیه شده با شنبلیله تحت تنش شوری

شاخص کلسترول	شاهد	شنبه ۰/۵٪	شنبه ۱٪	شنبه ۱/۵٪
قبل از تنش	۲۱۰/۴۲ \pm ۱۵/۹۱ ^{aA}	۱۸۸/۷۵ \pm ۸/۸۴ ^{abA}	۱۶۱/۲۵ \pm ۷/۶۶ ^{bA}	۱۹۲/۰۸ \pm ۱۰/۰۲ ^{abA}
روز اول پس از تنش	۱۶۵/۱۰ \pm ۰/۷۴ ^{aB}	۱۶۵/۷۱ \pm ۷/۴۸ ^{aB}	۱۴۹/۴۴ \pm ۵/۰۴ ^{aAB}	۱۵۸/۲۲ \pm ۵/۹۷ ^{aB}
روز سوم پس از تنش	۱۶۱/۸ \pm ۶/۸۸ ^{aB}	۱۶۰ \pm ۴/۲۴ ^{aB}	۱۴۸/۶۱ \pm ۹/۸۲ ^{aAB}	۱۵۸/۳۳ \pm ۷/۸۵ ^{aB}
روز پنجم پس از تنش	۱۵۸/۹۱ \pm ۵/۴۸ ^{aB}	۱۵۸/۹۱ \pm ۴/۳۸ ^{aB}	۱۳۹/۳۴ \pm ۹/۰۴ ^{aB}	۱۴۴/۱۹ \pm ۷/۶۷ ^{aB}
روز هفتم پس از تنش	۱۳۲/۱۹ \pm ۴/۵۹ ^{aC}	۱۳۱/۶۹ \pm ۵/۲۹ ^{aC}	۱۰۲/۱۷ \pm ۶/۹۶ ^{bC}	۱۲۱/۵۶ \pm ۴/۰۴ ^{aC}

تذکر: حروف انگلیسی کوچک غیرمشابه در هر ردیف و حروف انگلیسی بزرگ غیرمشابه در هر ستون بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح $P < ۰/۰۵$

تیمارها در روز سوم پس از تنش روند کاهشی را نشان داد که تصور می‌شود این تغییرات به دلیل سازگار شدن ماهی به محیط جدید حاصل شده است، به طوری که این روند در تیمارهای تغذیه شده با شنبلیله ۱٪ واضح‌تر و کمترین مقدار گلوکز در روز هفتم مربوط به این تیمار بود. نتایج بدست آمده با مطالعات کنانی و همکاران (۲۰۰۴) و حسینی و ترخانی (۲۰۱۳) مطابقت دارد.

در این مطالعه، میزان کلسترول بعد از تنش شوری روند کاهشی داشت. ماهیان تغذیه شده با شنبلیله ۱٪ نسبت سایر تیمارها روند کاهشی آرام‌تری نشان داد. کاهش سطوح کلسترول ناشی از مصرف کلسترول ذخیره شده، در جریان خون و سایر بخش‌های لیپیدی برای مقابله استرس و جلوگیری از آسیب‌های ناشی از آنهاست (۵۱). این نتایج با مطالعه سینق و همکاران (۲۰۱۰) بر ماهی *Channa punctatus* مطابقت دارد. مایتا و همکاران (۱۹۹۸)، ارتباط بین سطوح چربی‌های پلاسما و مقاومت به پاتوژن در تن-زرد باله و قزل‌آلای رنگین‌کمان را نشان دادند. سطوح چربی‌های پلاسما در ماهیان تحت تأثیر رژیم غذایی (۳۶) و استرس پس از قرار گرفتن در معرض محیط‌های کم اکسیژن قرار می‌گیرد (۳۷). این یافته‌ها نشان می‌دهد که

پارامترهای بیوشیمیایی و هماتولوژیکی اغلب به‌منظور ارزیابی وضعیت سلامتی ماهیان و نیز شاخص‌های استرس در ماهیان استفاده می‌شوند (۹، ۲۱، ۵۴). بنابراین، تغییر در پارامترهای خونی می‌تواند پاسخ فیزیولوژیکی ماهی را نسبت به شرایط مخالف نشان دهد (۴۲). علاوه بر این، میزان تغییر در سطوح کورتیزول، گلوکز و دیگر پارامترهای فیزیولوژیکی، مدت زمان باقیماندن تغییرات ایجاد شده و چگونگی سرعت برگشت آن‌ها به سطوح قبل از استرس، به‌معنای ارزیابی درجه استرس می‌باشد (۲۸).

یکی از پاسخ‌های ثانویه استرس که اندازه‌گیری آن بسیار متداول است، اندازه‌گیری گلوکز خون به‌عنوان معیار اندازه‌گیری غیرمستقیم هورمون استرس است (۵، ۱۱). در این مطالعه، سطوح گلوکز ماهیان تحت تنش شوری در مقایسه با قبل از تنش، افزایش یافت، به طوری که بیشترین مقدار آن در ماهیان تیمار شده با مکمل غذایی دانه شنبلیله مشاهده شد که نشان دهنده‌ی واکنش فیزیولوژیک ثانویه ماهیان نسبت به شرایط استرس‌زا می‌باشد (۴۴). افزایش میزان گلوکز را نیز جهت تأمین انرژی برای مقابله با استرس ایجاد شده می‌توان توجیه نمود. نکته مهم دیگری که می‌توان به آن اشاره نمود، آن است که میزان گلوکز تمام

بیشترین بازماندگی را داشت که نشان‌دهنده توانایی ماهیان برای مقابله با شوری اعمال شده است. طبق یافته‌های کوراتا (۱۹۵۹) و هولیدی و جونس (۱۹۶۷)، بقاء ماهیان به توانایی عملکرد مایعات بدن، حداقل برای مدت کوتاهی نسبت به شرایط غیرطبیعی اسمز درونی و غلظت یونی بستگی دارد. ماهیان به‌منظور برگرداندن سطح استرس اسمزی نزدیک به حالت طبیعی، می‌توانند مایعات بدن را تنظیم کنند. مهاجرت یا انتقال ناگهانی ماهی از آب شیرین به دریا، به‌طور طبیعی منجر به افزایش غلظت اسمزی سرم خون و تغییر در محتوای یونی ماهیان می‌شود (۲۴، ۴۰).

به‌طور کلی، با افزایش شوری، ماهی نیاز بیشتری به اکسیژن پیدا می‌کند و تغییراتی در فیزیولوژی ماهی رخ می‌دهد تا انرژی لازم برای تنظیم فشار اسمزی فراهم شود (۶۲). علاوه‌براین، ماهیان در پاسخ به استرس حاد، منابع متابولیک و ایمنی (گلوکز) را بکار می‌گیرند، اما میزان آن‌ها فقط برای مدت کوتاهی بالا باقی می‌ماند. به‌خوبی شناخته شده است که در سیستم‌های پرورش ماهی، اولین یا دومین روز بعد از دستکاری (استرس)، ماهیان از لحاظ بیماری عفونی و شیوع بیماری‌های گوناگون و عوامل بیماری‌زا بسیار حساس هستند (۱۷).

با توجه به نتایج کسب شده از این تحقیق، مشخص می‌گردد که مکمل غذایی شنبلیله اثر مثبت و مطلوبی در بروز پاسخ به استرس در کپور معمولی دارد، به‌طوری‌که توانایی این ماهی را جهت مقابله با استرس شوری افزایش داد. بنابراین استفاده از آن در سطح ۱٪ برای ایجاد شرایط مطلوب‌تر پیشنهاد می‌گردد.

کلسترول پلاسما می‌تواند شاخصی برای سلامتی و ایمنی ماهیان باشد.

فاکتورهای متعددی مانند سن، جنسیت، اندازه، محیط و شرایط فیزیولوژیکی بر پاسخ‌های هماتولوژیکی در ماهیان اثر می‌گذارند (۲۵، ۵۵، ۵۷). بخشی از حجم کل خون که توسط گلبول‌های قرمز اشغال می‌شود هماتوکریت نام دارد. این مقدار یک کمیّت نسبی بوده و بر حسب درصد بیان می‌شود. هماتوکریت خون به‌عنوان یک شاخص مهم و رایج در تعیین سلامت و بیماری ماهیان مورد استفاده قرار می‌گیرد (۳۰). بر اساس برخی مطالعات تحت تأثیر استرس‌های فیزیکی میزان هماتوکریت در ماهی افزایش می‌یابد (۱۴، ۶۱) که این افزایش ممکن است به‌علت جذب آب در گلبول‌های قرمز باشد (۴۱). مطالعه حاضر همانند نتایج حاصله از آزمایش ملک‌پورکلبادینه‌زهاد و همکاران (۲۰۱۲) بر ماهی کلمه نشان می‌دهد که میزان هماتوکریت در روز اول پس از تنش در مقایسه با قبل از تنش افزایش می‌یابد. همچنین با مطالعه یلدز و یوزبلیک (۲۰۰۱) که نشان دادند افزایش شوری سبب افزایش میزان هماتوکریت در ماهی کپور علفخوار گردید، مطابقت دارد. افزایش میزان هماتوکریت را نیز جهت افزایش منابع اکسیژن برای اندام‌های اصلی در پاسخ به درخواست متابولیک بیشتر در طی استرس ایجاد شده می‌توان توجیه نمود (۴۹). به‌طور کلی، تغییرات هماتولوژی را می‌توان با تغییر در تنظیم یون‌ها توضیح داد (۴۳).

در این مطالعه، نرخ بازماندگی در بین تیمارها تفاوت معنی‌دار نداشت، با این حال ماهیان تیمار شده با شنبلیله ۱٪

منابع

- حافظ امینی، پ.، عریان، ش. و پرپور، ک. ۱۳۸۲. بررسی اثرات ناشی از استرس کلرور سدیم روی قند خون و هورمون کورتیزول در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). مجله علمی شیلات ایران. سال دوازدهم، شماره ۳. صفحات ۳۵-۴۲.
- عبدلی، ا. و نادری، م. ۱۳۸۷. تنوع زیستی ماهیان حوضه‌ی جنوبی دریای خزر. تهران. انتشارات علمی آریان. ۲۴۴ صفحه.
- علی‌شاهی، م.، سلطانی، م.، مصباح، م. و اسمعیلی‌راد، ا. ۱۳۹۰. تأثیر تجویز خوراکی عصاره خار مریم (*Silybum*

- ۶- نعمت‌الهی، م.ع. ۱۳۸۹. پاسخ به استرس اسارت در تور در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). نشریه شیلات، مجله منابع طبیعی ایران. دوره ۶۳، شماره ۱، صفحات ۴۷-۳۹.
- ۷- یوسفی، م.، ابطی، ب. و عابدیان کناری، م.ع. ۱۳۸۹. تغییرات کورتیزول و گلوکز ناشی از استرس اسارت و دستکاری حاد در فیل ماهیان جوان تغذیه شده با سطوح مختلف نوکلئوتید جیره. نشریه شیلات، مجله منابع طبیعی ایران. دوره ۶۳، شماره ۲، صفحات ۱۵۹-۱۴۷.
- ۸- Abdel-Zaher, A., Mostafa, M., Ahmad, M. H., Mousallamy, A., and Samir, A., 2009. Effect of using dried fenugreek seeds as natural feed additives on growth performance, feed utilization, whole-body composition and entropathogenic *Aeromonas hydrophila*-challenge of monsex Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings. Australian Journal of Basic and Applied Sciences. 3, PP: 1234-1245.
- 9- Akinrotimi, O. A., Omg, A., Ansa, E. J., Edun, O. M., and George, O. S., 2009. Hematological responses of *Tilapia guineensis* to acute stress. International Journal of Natural and Applied Sciences. 5(4), PP: 338-343.
- 10- Bahmani, M., Kazemi, R., and Donskaya, P., 2001. A comparative study of some hematological features in young reared sturgeons (*Acipenser persicus* and *Huso huso*). Fish Physiology and Biochemistry. 24, PP: 135-140.
- 11- Barton, B. A., 2000. Salmonid fishes differ in their cortisol and glucose responses to handling and transport stress. North American Journal of Aquaculture. 62, PP: 12-18.
- 12- Barton, A. B., 2002. Stress in fishes: A diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids. Integrative and Comparative Biology. 42, PP: 517-525.
- 13- Barton, B. A., and Iwama, G. K., 1991. Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. Annual Review in Fish Disease. 1, PP: 3-26.
- 14- Barton, B. A., Weiner, G. S., and Schreck, C. B., 1985. Effect of prior acid exposure on physiological responses of juvenile rainbow trout (*Salmo gairdner*) to acute handling stress. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. 42, PP: 710-717.
- 15- Bayunova, L., Barannikova, I., and Semenkova, T., 2002. Sturgeon stress reactions in aquaculture. Journal of Applied Ichthyology. 18, PP: 397-404.
- 16- Bin-Hafeez, B., Haque, R., Parvez, S., Pandey, S., Sayeed, I., and Raisuddin, S., 2003. Immunomodulatory effect of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) extract in mice. International Immunopharmacology. 3(2), PP: 257-265.
- 17- Cnaani, A., Tinman, S., Avidar, Y., Ron, M., and Hulata, G. 2004. Comparative study of biochemical parameters in response to stress in *Oreochromis aureus*, *Oreochromis mossambicus* and two strains of *Oreochromis niloticus*. Aquaculture Research. 35, PP: 1434-1440.
- 18- Davis, K. B., 2004. Temperature effects physiological stress responses to acute confinement in sunshine bass (*Morone chrysops* × *Morone saxatilis*). Comparative Biochemistry and Physiology, Part A. 139, PP: 433-440.
- 19- Donaldson, E. M., 1981. The pituitary-interrenal axis as an indicator of stress in fish. In: Pickring AD (ed) Stress in fish. Academic, London. pp: 11-47.
- 20- Fanouraki, E., Divanach, P., and Pavlidis, M., 2007. Baseline values for acute and chronic stress indicators in sexually immature red porgy (*Pagrus pagrus*). Aquaculture. 265, PP: 294-304.
- 21- Francesco, F., Satheeshkumar, P., Senthil Kumar, D., Caterina, F., and Giuseppe, P., 2012. A comparative study of hematological and blood chemistry of Indian and Italian grey mullet (*Mugil cephalus*). Herbert Open Access Journals. doi: 10.7243/2050-0874, PP: 1-5.
- 22- Fryer, J. N., 1975. Stress and adrenocorticosteroid dynamics in the goldfish (*Carassius auratus*). Canadian Journal of Zoology. 53, PP: 1011-1020.
- 23- Goos, H. J. T., and Consten, D., 2002. Stress adaptation, cortisol and pubertal development in the male common carp (*Cyprinus carpio*).

- Molecular and Cellular Endocrinology. 197, PP: 105-116.
- 24- Gordon, M. S., 1959. Ionic regulation in the brown trout (*Salmon trutta*). Journal of Experimental Biology. 36, PP: 227-252.
 - 25- Haider, G., 1973. Comparative studies of blood morphology and haemopoiesis of some teleost. Observations on Cells of the Red Series. Journal of Zoology. 179, PP: 355-383.
 - 26- Ham, E. H. V., Anholt, R. D. V., Kruitwagen, G., Imsland, A. K., Foss, A., Sveinsbo, B. O., FitzGerald, R., Parpoura, A. C., Stefansson, S. O., and Bonga, S. E. W., 2003. Environment affects stress in exercised turbot. Comparative Biochemistry and Physiology, Part A. 136, PP: 525-538.
 - 27- Holliday, F. G. T., and Jones, M. P., 1967. Some effects of salinity on development of eggs and larvae of the plaice (*Pleuronectes platessa*). Marine Biology Association UK. 47, PP: 39-48.
 - 28- Hoseini, S. M., 2011. Efficacy of clove powder solution on stress mitigation in juvenile common carp (*Cyprinus carpio*). Comparative Clinical Pathology. 20, PP: 359-362.
 - 29- Hoseini, S. M., and Tarkhani, R. 2013. Serum biochemical characteristics of *Carassius auratus* following short-term formalin or NaCl treatment. International Journal of Aquatic Biology. 1, PP: 14-21.
 - 30- Houston, A. H., and Rupert, R., 1997. Immediate response of hemoglobin system of gold fish (*Cyprinus auratus*) to tempera change. Canadian Journal of Zoology. 54, PP: 1731-1741.
 - 31- Kaviarasan, S., Vijayalakshmi, K., and Anuradha, C. V., 2004. Polyphenol-rich extract of fenugreek seeds protect erythrocytes from oxidative damage. Plant Foods for Human Nutrition. 59(4), PP: 143-147.
 - 32- Koeypudsa, W., and Jongjareanjai, M., 2011. Impact of water temperature and sodium chloride (NaCl) on stress indicators of hybrid catfish (*Clarias gariepinus* × *Clarias Macrocephalus*). Songklanakarin Journal of Science and Technology. 33(4), PP: 369-378.
 - 33- Kurata, H., 1959. Preliminary report on the rearing of herring larvae. Bull. Hokkaido Resource Fish Laboratory. 20, PP: 117-138.
 - 34- Lermen, C. L., Lappe, R., Crestani, M., Vieira, V. P., Gioda, C. R., Schetinger, M. R. C., Baldisserotto, B., Moraes, G., and Morsch, V. M., 2004. Effect of different temperature regimes on metabolic and blood parameters of silver catfish (*Rhamdia quelen*). Aquaculture. 239, PP: 497-507.
 - 35- Maita, M., Satoh, K. I., Fukuda, Y., Lee, H. K., Winton, J. R., and Okamoto, N., 1998. Correlation between plasma component levels of cultured fish and resistance to bacterial infection. Fish Pathology. 33(3), PP: 129-133.
 - 36- Maita, M., Aoki, H., Yamagata, Y., Satoh, K. I., Okamoto, N., and Watanabe, T., 1998. Plasma biochemistry and disease resistance in yellowtail fed a non fish meal diet. Fish Pathology. 33, PP: 59-63.
 - 37- Maita, M., Satoh, K. I., Fukuda, N., Okamoto, N., and Ikeda, Y., 1998. The influence of the dissolved oxygen on levels of plasma components in yellowtail. Nippon Suisan Gukkaishi. 64, PP: 288-289.
 - 38- Malakpour Kolbadezhad, S., Hajimoradloo, A., Ghorbani, R., Joshaghani, H., and Wilson, J. M., 2012. Effects of gradual salinity increase on osmoregulation in Caspian roach (*Rutilus caspicus*). Journal of Fish Biology. 81(1), PP: 125-134.
 - 39- Martinez-Porchas, M., Martinez-Cordova, L., and Ramos-Enriquez, R., 2009. Cortisol and glucose: reliable indicators of fish stress?. Pan-American Journal of Aquatic Sciences. 4(2), PP: 158-178.
 - 40- Miles, H. M., and Smith, L. S., 1968. Ionic regulation in migration juvenile coho salmon (*Oncorhynchus kistuch*). Comparative Biochemistry and Physiology. 26, PP: 381-398.
 - 41- Milligan, C. L., and Wood, C. M., 1982. Disturbances in haematology, fluid volume distribution and circulatory function associated with low environmental pH in the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Journal of Experimental Biology. 99, PP: 397-415.
 - 42- Mohammadi Zarejadad, A., Jalili, M. A., Sudagar, M., and Darvish Bastami, K., 2009. Haematology of great sturgeon (*Huso huso*) juvenile exposed to brakish water environment. Comparative Clinical Pathology. 36(3), PP: 655-659.
 - 43- Mojazi Amiri, B., Baker, D. W., Morgan, J. D., and Brauner, C. J., 2009. Size dependent early salinity tolerance in two size of juvenile white sturgeon (*Acipenser transmontanus*). Aquaculture. 286, PP: 121-126.
 - 44- Mommsen, T. P., Vijayan, M. M., and Moon, T. W., 1999. Cortisol in teleosts: dynamics, mechanisms of action and metabolic regulation. Reviews in Fish Biology and Fisheries. 9, PP: 211-268.
 - 45- Najafpour, B., Imanpoor, M. R., and Shabani, A. 2012. Effects of *Rheum palmatum* root extract on the blood parameters in responses to two high heat stress and lipid oxidation of *Rutilus frisii kutum*. Global Veterinaria. 8(2), PP: 197-204.
 - 46- Najafpour, B., Imanpoor, M. R., and Shabani, A. 2012. Effects of *Rheum palmatum* root extract on the blood parameters and responses of

- Rutilus frisii kutum* under heat stress. *Global Veterinaria*. 8(3), PP: 222-228.
- 47- Nussey, G., Van Vuren, J. H. J., and Preez, H. H., 1995. Effect of copper on the haematology and osmoregulation of the mozambique tilapia (*Oreochromis mossambicus*). *Comparative Biochemistry and Physiology*. 111C, PP: 369-380.
- 48- Olla, B. L., Davis, M. W., and Ryer, C. H., 1998. Understanding how the hatchery environment represses or promotes the development of behavioral survival skills. *Bulletin of Marine Science*. 62, PP: 531-550.
- 49- Ruane, N. M., Wendelaar Bonga, S. E., and Balm, P. H. M., 1999. Differences between rainbow trout and brown trout in the regulation of the pituitary-interrenal axis and physiological performance during confinement. *General and Comparative Endocrinology*. 115, PP: 210-219.
- 50- Scherek, C. B., Contreas-Sanches, W., and Fitzpatrick, M. I., 2001. Effects of stress on fish reproduction, gamete quality and progeny. *Aquaculture*. 197, PP: 3-24.
- 51- Singh, A. P., Singh, S., Bhartiya, P., and Yadav, K., 2010. Toxic effect of phorate on the serum biochemical parameters of snake headed fish *Channa punctatus*. *Advances in Bioresearch*. 1(1), PP: 177-181.
- 52- Singley, J. A., and Chavin, W., 1971. Cortisol levels of normal goldfish (*Carassius auratus*) and response to osmotic change. *American Zoologist*. 11(4), PP: 653-658.
- 53- Skjervold, O. P., Fjaera, S. O., Ostby, P. B., and Einen, O., 2001. live-chilling and crowding stress before slaughter of atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture*. 192, PP: 265-280.
- 54- Solomon, S. G., and Okomoda, V. T., 2012. Effects of photoperiod on the haematological parameters of *Clarias gariepinus* fingerlings reared in water recirculatory system. *Journal of Stress Physiology and Biochemistry*. 8(3), PP: 247-253.
- 55- Sowunmi, A. A., 2003. Haematology of the African catfish (*Clarias gariepinus*) from Eleiyele Reservoir, Ibadan South-West, Nigeria. *The Zoologist*. 2(1), PP: 85-91.
- 56- Specker, J. L., and Schreck, C. B., 1980. Stress responses to transportation and fitness for marine survival in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) smolts. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 37, PP: 765-769.
- 57- Tanck, M. W. T., Booms, G. H. R., Eding, E. H., Bonga, S. E., and Komen, J., 2000. Cold shocks: a stressor for common carp. *Journal of Fish Biology*. 57, PP: 881-894.
- 58- Ullah Khan, F., Durrani, F. R., Sultan, A., Ullah Khan, R., and Naz, S., 2009. Effect of fenugreek seed extract on visceral organs of broiler chikens. *ARPN Journal of Agriculture and Biological Science*. 4(1), PP: 58-60.
- 59- Varsamos, S., Nebel, C., and Charmantier, G., 2005. Ontogeny of osmoregulation in postembryonic fish: a review. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A*. 141, PP: 401-429.
- 60- Wedwmeyer, G. A., 1996. *Physiology of fish in intensive culture systems*. Chapman and Hall, New York, pp: 232.
- 61- Wendelaar Bonga, S. E., 1997. The stress response in fish. *Physiological Reviews*. 77, PP: 591-625.
- 62- Yagi, H., and Ceccald, H. J., 1990. Combined influence of temperature and salinity oxygen consumption of the larval of the pink shrimp (*Palaemon sersatus*). *Aquaculture*. 86, PP: 77-92.
- 63- Yildiz, H. Y., and Uzbilek, M. K., 2001. The evaluation of secondary stress response of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) after exposing to the saline water. *Fish Physiology and Biochemistry*. 25, PP: 287-292.

Effect of salinity stress on survival, biochemical and blood parameters of *Cyprinus carpio* fed with fenugreek seed (*Trigonella foenum-graecum*) supplement

Roohi Z., Imanpoor M.R., Jafari V. and Taghizadeh V.

Fisheries and Environment Dept., Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, I.R. of Iran

Abstract

The study of blood parameters has been widely used to assess the health status and as stress indicators in fishes. This study was conducted in order to measure of glucose, cholesterol and hematocrit as indicators to evaluate the effect of fenugreek seeds meal (FKSM) on health and resistance of common carp (2.457 ± 0.057 g) to salinity stress. Fish were divided into four groups fed on diets containing FKSM in different levels; 0 (control), 0.5, 1 and 1.5%. After 56 days feeding, blood samples were obtained in five stages (once before and four times after stress) for evaluate glucose and hematocrit levels. Salinity significantly affected glucose, cholesterol and hematocrit ($P < 0.05$). On the first day of after stress, the hematocrit and glucose levels significantly were increased in all groups to compared with their levels of before stress ($P < 0.05$). After stress, cholesterol level significantly decreased in all groups compared to before stress ($P < 0.05$). Before and after stress, the level of hematocrit had no significant differences between all groups ($P > 0.05$). On the first day of after stress, the glucose levels significantly increased in treatment groups with FKSM compared to control group ($P < 0.05$). The glucose and hematocrit levels were decreased gradually in all groups since third day. After stress, no differences were observed for survival rate among the experimental diets ($P > 0.05$). However, the highest survival rate belong to 1% FKSM. These results indicate that the supplement of 1% FKSM have a positive influence on the glucose, cholesterol, hematocrit and resistance of common carp to salinity stress.

Key words: *Cyprinus carpio*, Fenugreek seed, Blood parameters, Salinity stress