



اثرات عصاره آویشن در کاهش مسمومیت ناشی از ذرات نانونقره بر فاکتورهای رشد و خصوصیات بیوشیمیایی سرم خون ماهی قرمز (*Carassius auratus gibelio*)

وحید زادمجید^۱، اردشیر شیخ احمدی^{۲*}، برزان بهرامی کمانگر^۱، تیمور جوادی^۳

^۱ گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه کردستان

^۲ گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه کردستان

^۳ گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه کردستان

نوع مقاله:

چکیده

پژوهشی

تاریخچه مقاله:

دریافت: ۹۳/۱۰/۱۲

اصلاح: ۹۴/۰۸/۲۵

پذیرش: ۹۴/۰۹/۱۰

کلمات کلیدی:

ماهی قرمز

رشد

عصاره آویشن

نانونقره

در تحقیق حاضر تعداد ۳۰۰ قطعه ماهی قرمز (میانگین وزن $12/30 \pm 2/11$ گرم) در ۴ گروه آزمایشی به مدت ۲ هفته با جیره‌های حاوی ۴ سطح ۰ (گروه شاهد)، ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم عصاره روغنی آویشن تغذیه شدند. سپس هر کدام از تیمارهای ذکر شده به ۲ گروه شاهد و در معرض نانونقره (آکواریوم حاوی ۰/۰۴ میلی‌گرم در لیتر نانونقره) تقسیم و ۴ هفته دیگر تغذیه شدند. نتایج نشان داد که تیمار حاوی ۸۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم عصاره آویشن در جیره و بدون تنش نانونقره، بالاترین درصد افزایش وزن و نرخ رشد ویژه را داشت ($P < 0/05$). فاکتور وضعیت نیز در تیمارهای حاوی عصاره آویشن در جیره نسبت به گروه شاهد افزایش یافت ($P < 0/05$). پایین‌ترین ضریب تبدیل غذایی در تیمار حاوی ۴۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم عصاره آویشن در جیره و بدون تنش نانونقره مشاهده شد. کاهش میزان عصاره آویشن در جیره موجب افزایش گلوکز و اسید اوریک سرم در ماهی‌ها تحت تنش نانونقره گردید ($P < 0/05$). همچنین در تمامی تیمارهای تحت تنش نانونقره تری‌گلیسرید سرم نسبت به تیمارهای بدون تنش کاهش نسبی داشت. به‌طور کلی عصاره آویشن در غلظت‌های بالا بر فاکتورهای رشد و کاهش تنش در ماهی قرمز تحت تنش نانونقره تاثیر مثبت داشت.

مقدمه

ماهی قرمز (*Carassius auratus gibelio*) از خانواده کپور ماهیان می‌باشد و به لحاظ شرایط زیستی و تغذیه‌ای شبیه کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) است. ماهی قرمز گونه بسیار مناسبی جهت مطالعات تولیدمثلی، مطالعه فیزیولوژی غدد داخلی، سلولی، ایمنی‌شناسی، سم‌شناسی و مولکولی می‌باشد، زیرا از اندازه مناسبی جهت تحقیقات آزمایشگاهی برخوردار بوده و همچنین در محیط‌های آزمایشگاهی به راحتی قادر به بلوغ و تولید مثل می‌باشد. در واقع از این گونه به عنوان مدل جهت بررسی

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: A.sheikhahmadi@uok.ac.ir

کپور ماهی‌ها استفاده می‌شود (Munakata and Kobayashi, 2010). نقره یکی از عناصر کمیاب می‌باشد که غلظت آن در پوسته زمین در حدود ۰/۰۵ تا ۰/۱ قسمت در میلیون می‌باشد. همچنین، خاصیت ضد باکتریایی نقره (به صورت یونی یا نانو ذرات) موجب افزایش دامنه استفاده از آن در مصارف انسانی همانند صنایع بسته‌بندی، صنایع نساجی و تهیه مواد شوینده شده است (Cho et al., 2005; Zheng et al., 2008).

امروزه استفاده از نانوذرات در صنایع مختلف به طور گسترده‌ای توسعه و گسترش پیدا کرده است. نانوذرات به موادی اطلاق می‌گردد که اندازه آنها بین ۱ تا ۱۰۰ نانومتر است. شکستن مواد مختلف از جمله عناصر معدنی به اندازه نانومتر (نانو ذرات) به عنوان روشی مؤثر در جهت افزایش میزان واکنش‌پذیری عناصر مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرد به عنوان مثال کاهش دادن اندازه مواد مختلف تا سطح نانو موجب افزایش زیست‌فراهمی و همچنین واکنش‌پذیری آنها در بدن حیوانات می‌گردد (Jaeger et al., 2012). علاوه بر مزیت‌های ناشی از افزایش واکنش‌پذیری مواد در سطح نانو و افزایش زیست‌فراهمی آنها، بروز مسمومیت در حیواناتی که در معرض ذرات نانو قرار گرفته‌اند در مطالعات پیشین گزارش شده است. به عنوان مثال، در مطالعات انجام گرفته بر روی ماهی‌ها نشان داده شده است که ایجاد تنش اکسیداتیو (افزایش سطح بالای رادیکال‌های آزاد در بدن) و آسیب به DNA از اثرات معمول ذرات نانوقره بر موجودات زنده می‌باشند (Bilberg et al., 2012). تنش اکسیداتیو را می‌توان عدم تعادل سیستم اکسیدانی و آنتی اکسیدانی و در نهایت پیشرفت سیستم اکسیدانی تعریف کرد (Jani et al., 2011). در حیوانات زنده تنش اکسیداتیو از عوامل اصلی مکانیسم‌هایی می‌باشد که به مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی و در نتیجه اختلال در عملکرد آنها منجر می‌شود (Farmen et al., 2012).

در چند دهه اخیر استفاده از گیاهان دارویی با توجه به مزیت‌های متعدد، از جمله خطرات زیست محیطی حداقل، عدم ایجاد مقاومت دارویی، ارزان، پایدار و در دسترس بودن، توجهات زیادی را در سطح جهان به خود جلب نموده است (Chen et al., 2003). امروزه استفاده از عصاره‌های گیاهی با اهداف مختلفی همانند بهبود ضریب تبدیل غذایی، افزایش هضم، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، کاهش دفع نیترोजن، بهبود فلور میکروبی دستگاه گوارش و سلامت حیوانات آبی به کار برده می‌شوند (Krosmayr, 2007; Cardozo et al., 2008). تأثیر عصاره‌های گیاهی بر جانداران بر اساس بافت مورد استفاده (دانه، برگ، ریشه و پوست)، گونه گیاهی، فصل جمع آوری و منطقه جغرافیایی متفاوت می‌باشد (Steiner, 2006). یکی از گیاهانی که به طور گسترده به عنوان محرک رشد و کاهش دهنده اثرات تنش در حیوانات مختلف مورد آزمایش قرار گرفته است، گیاه آویشن است.

امروزه در ایران نیز فرم نانوی نقره (نانو سید) به طور وسیعی به عنوان ترکیب ضد عفونی کننده در واحدهای دامپروری مورد استفاده قرار می‌گیرد که می‌تواند از راه فاضلاب به درون آب‌های زیرزمینی و جاری نشت کرده و موجب بروز مسمومیت ناشی از ذرات نانو بر موجودات آبی از جمله ماهی‌ها گردد (Shaluei et al., 2012). ذرات نانوسیلور (فرم تجاری نانوسید) در ماهی کلمه دریای خزر موجب بروز مسمومیت خواهد شد و بنابراین پیشنهاد شده است که مصارف صنعتی و تجاری ذرات نانوسیلور بایستی با حساسیت بسیار بالایی مورد کنترل قرار گیرد، چراکه دارای اثرات سمی بر محیط آبی دریای خزر و جمعیت ماهی کلمه (*Rutilus rutilus*) می‌باشد (Shaluei et al., 2012). هرچند که تا کنون مطالعات مختلفی اثرات سمی نانو ذرات نقره را بر موجودات آبی گزارش داده‌اند، اما تاکنون چه در ایران و چه در سطح جهانی، مطالعه‌ای که در آن تأثیر افزودن عصاره آویشن به جیره ماهی‌های قرمز را بر تنش ناشی از وجود ذرات نانوقره در محیط نگهداری آنها مورد مطالعه قرار داده باشد، گزارش نشده است. بنابراین در این تحقیق تأثیر عصاره آویشن بر تنش ناشی از ذرات نانوقره در محیط نگهداری ماهی‌های قرمز در طی دوره رشد آنها مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق تعداد ۳۰۰ قطعه ماهی قرمز هم اندازه (میانگین وزن $11/2 \pm 12/30$ گرم) جهت انجام مراحل آزمایش از مرکز تکثیر ماهی‌های زینتی در استان کردستان تهیه و به مرکز تحقیقات آبی‌پروری دانشگاه کردستان، دانشکده شیلات منتقل گردید. در ادامه، ماهی‌ها در حوضچه‌های ونیرو (۴۰۰ لیتری، استوانه‌ای شکل و مجهز به سیستم هوادهی) تا پایان دوره سازگاری با شرایط محیطی نگهداری شدند. آب مورد استفاده جهت نگهداری ماهی‌ها با استفاده از تیوسولفات سدیم و همچنین هوادهی، کلرزدایی گردید و شرایط فیزیکیوشیمیایی آب در حد مطلوب گونه، کنترل گردید. پس از ۲ هفته سازگاری با شرایط محیطی جدید، ماهی‌ها به ۴ تیمار آزمایشی تقسیم شدند و سپس با جیره‌های آزمایشی که حاوی عصاره روغنی آویشن (Thyame, LN23IN, France) در ۴ سطح (۰، ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره) بودند برای ۲ هفته تغذیه شدند. پس از اتمام ۲ هفته تغذیه با جیره‌های آزمایشی، هر کدام از تیمارهای ذکر شده به ۲ گروه شاهد و در معرض نانوقره تقسیم شدند. تیمارهای آزمایشی در این مرحله شامل شاهد A، شاهد B، ۲۰۰ A، ۲۰۰ B، ۴۰۰ A، ۴۰۰ B، ۸۰۰ A و ۸۰۰ B بودند که در تمامی تیمارها گروه A بدون تنش نانوقره و گروه B تحت تنش نانوقره قرار گرفتند. آب موجود در آکواریوم گروه در معرض نانوقره حاوی $0/04$ میلی‌گرم در لیتر نانوقره بود (Shaluei *et al.*, 2012). ماهی‌های هر دو گروه به مدت ۴ هفته دیگر نیز با جیره‌های آزمایشی تغذیه شدند.

در طول مدت اجرای تنش نانوقره جیره غذایی ماهی‌ها طبق توصیه NRC (۱۹۹۳) تهیه و به میزان ۳ درصد وزن بدن و در طی ۲ وعده در روز در اختیار ماهی‌ها قرار گرفت. زیست‌سنجی ماهی‌ها هر هفته یکبار به منظور بررسی میزان رشد انجام گرفت و به این ترتیب شاخص‌های رشد شامل افزایش وزن (Body Weight, BW)، فاکتور وضعیت (Condition Factor, CF) نرخ رشد ویژه (Specific Growth Rate, SGR) ضریب تبدیل غذایی (Feed Conversion Ratio, FCR) و درصد بازماندگی به دست آمد. جهت اندازه‌گیری افزایش وزن بدن و فاکتور وضعیت از فرمول‌های زیر استفاده شد:

$$CF = (W / L^3) \times 100$$

$$BW = W_{t_1} - W_{t_2}$$

در این فرمول‌ها: W وزن ماهی (گرم)، W_{t_1} وزن اولیه ماهی (گرم)، W_{t_2} وزن نهایی ماهی (گرم) و L طول کل ماهی (سانتی متر) می‌باشند (Costa-Bomfim *et al.*, 2013).

جهت اندازه‌گیری نرخ رشد ویژه از فرمول زیر استفاده گردید:

$$100 / (t) / [\ln(\text{وزن اولیه}) \times \ln(\text{وزن نهایی})] = (\text{درصد در روز}) \text{ نرخ ویژه رشد}$$

در این فرمول $\ln W_{t_1}$ لگاریتم طبیعی وزن اولیه ماهی، $\ln W_{t_2}$ لگاریتم طبیعی وزن نهایی ماهی و t طول دوره آزمایش می‌باشد (Costa-Bomfim *et al.*, 2013).

برای اندازه‌گیری ضریب تبدیل غذایی از فرمول زیر استفاده شد:

$$\text{افزایش وزن به دست آمده (گرم)} / \text{غذای خورده شده (گرم)} = \text{ضریب تبدیل غذایی}$$

برای اندازه‌گیری درصد زنده‌مانی از فرمول زیر استفاده شد (Costa-Bomfim *et al.*, 2013):

$$100 \times (\text{تعداد اولیه} / (\text{تعداد تلفات} - \text{تعداد اولیه})) = \text{نرخ بازماندگی}$$

علاوه بر این در پایان آزمایش نیز نمونه‌های خون از تعداد ۳ قطعه ماهی در هر تکرار به دست آمد. قبل از شروع خون‌گیری، ماهی‌ها با گل میخک به میزان ۱۵۰ ppm بیهوش شدند. سپس سطح بدن آنها با استفاده از یک پارچه تمیز به طور کامل خشک گردید. طول کل با استفاده از تخته بیومتری و وزن ماهیان و گنادها توسط ترازوی دیجیتال (با دقت ۰/۰۰۱ گرم) اندازه‌گیری شد. پس از وزن کردن ماهی‌های نر و ماده، خون‌گیری از آنها توسط قطع کردن ساقه دمی صورت گرفت. نمونه‌های خون، یک ساعت پس از لخته شدن با استفاده از سانتریفیوژ (۱۰ دقیقه در ۴۵۰۰ دور در دقیقه) مورد سانتریفیوژ قرار گرفتند و به این ترتیب سرم از خون تفکیک شد. سپس سرم به ویال‌هایی که مشخصات مربوط به ماهی و مرحله آزمایش توسط برچسب روی آن نصب شده بود انتقال داده شد و ویال یاد شده توسط پارافیلیم و درب پلاستیکی بسته و در دمای زیر انجماد (۲۱- درجه سانتی‌گراد) تا زمان اندازه‌گیری گلوکز، تری‌گلیسرید و اسید اوریک نگهداری شدند (Spano et al., 2004). اندازه‌گیری گلوکز، تری‌گلیسرید و اسید اوریک سرم به ترتیب با استفاده از کیت‌های تجاری GOD، GPO-PAP و TOOS که از شرکت پارس‌آزمون (تهران، ایران) خریداری گردیدند، انجام گرفت. همچنین روش اندازه‌گیری مورد استفاده بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده و با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر (S2000-UV/IS) ساخت انگلستان اجرا گردید.

تجزیه و تحلیل آماری

شیوه نمونه‌برداری به صورت تصادفی و در قالب طرح کاملاً تصادفی صورت گرفت. داده‌های به دست آمده در ارتباط با افزایش وزن، فاکتور وضعیت، نرخ رشد ویژه، ضریب تبدیل غذایی، درصد بازماندگی، غلظت گلوکز، تری‌گلیسرید و اسید اوریک سرم خون توسط آنالیز واریانس یک طرفه^۱ به کمک آزمون دانت در سطح اطمینان ۹۵ درصد ($\alpha = 0/05$) و با استفاده از نرم افزار SPSS (نسخه ۱۶) با یکدیگر مقایسه شدند.

نتایج

تغییر شاخص‌های رشد و بازماندگی ماهی قرمز بین تیمارهای مختلف

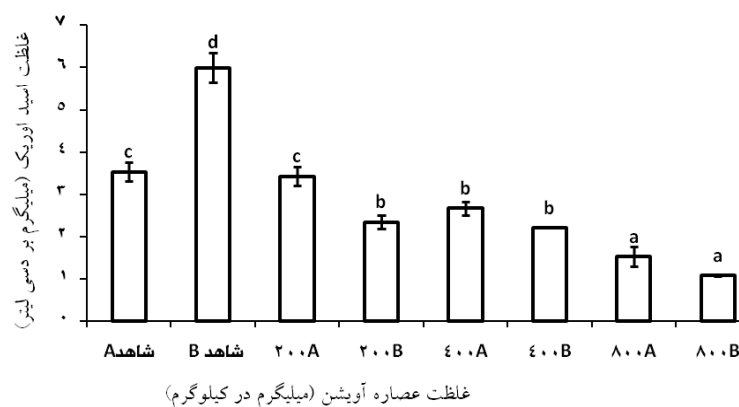
بر اساس نتایج تحقیق حاضر، در تیمار A ۸۰۰ که حاوی ۸۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم عصاره آویشن در جیره غذایی و بدون تنش نانونقره بود، بالاترین درصد افزایش وزن و نرخ رشد ویژه (SGR) مشاهده شد ($P < 0/05$; جدول ۱). همچنین در تیمار حاوی ۴۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم عصاره آویشن در جیره غذایی و تحت تنش نانونقره بالاترین فاکتور وضعیت مشاهده شد. درصد زنده‌مانی در تمامی تیمارهای تحت تنش نانونقره نسبت به تیمارهای بدون تنش پایین‌تر بود (جدول ۱). همچنین در تمام تیمارها با افزایش غلظت عصاره آویشن در جیره غذایی، فاکتور وضعیت نسبت به گروه شاهد افزایش یافت ($P < 0/05$; جدول ۱). علاوه بر این نتایج این تحقیق نشان داد که با افزودن ۴۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم عصاره آویشن به جیره غذایی و بدون تنش نانونقره، ضریب تبدیل غذایی نسبت به سایر تیمارهای دیگر به طور معنی‌داری کاهش یافت ($P < 0/05$).

تغییرات پارامترهای بیوشیمیایی سرم خون ماهی قرمز بین تیمارهای مختلف

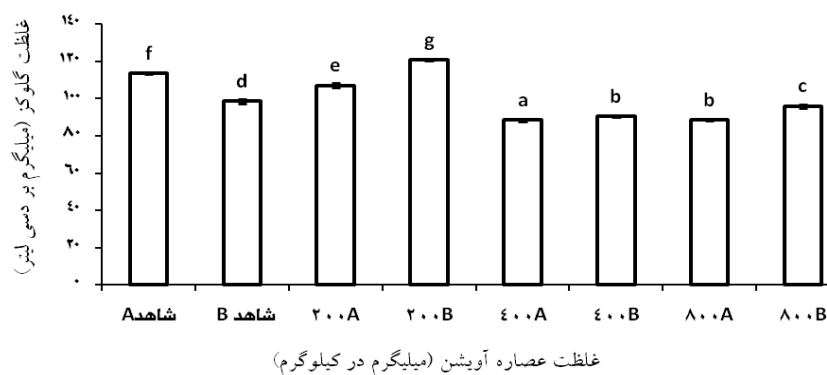
نتایج نشان داد که بین غلظت اسید اوریک سرم خون در تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($P < 0/05$)، به گونه‌ای که در تیمار شاهد B که بدون استفاده از عصاره آویشن در جیره غذایی و تحت تنش نانونقره بود، بالاترین غلظت اسید اوریک سرم

¹ One-Way ANOVA

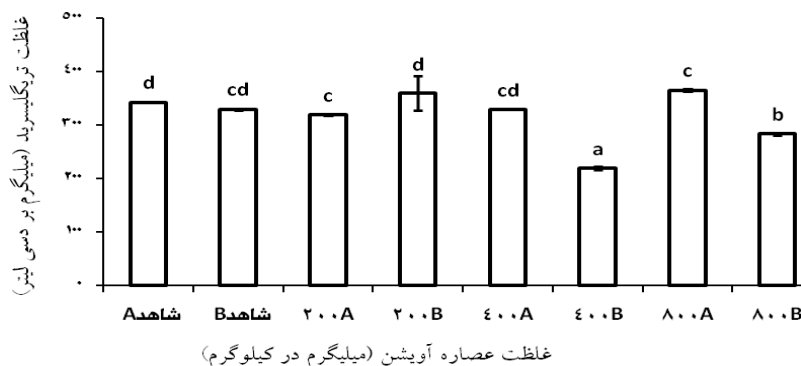
خون مشاهده شد و با افزایش غلظت عصاره آویشن در جیره غذایی، سطح اسید اوریک سرم خون کاهش معنی‌داری را نشان داد ($P < 0.05$ ؛ شکل ۱). همچنین با افزایش غلظت عصاره آویشن در جیره غذایی، غلظت گلوکز سرم خون کاهش یافت ($P < 0.05$ ؛ شکل ۲). همچنین، بین غلظت تری‌گلیسرید سرم خون در تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($P < 0.05$)، به گونه‌ای که در تمام تیمارهای تحت تنش نانوقره غلظت تری‌گلیسرید سرم خون نسبت به تیمارهای بدون تنش کاهشی نسبی نشان داد (شکل ۳).



شکل ۱. مقایسه داده‌های (میانگین \pm انحراف معیار) غلظت اسید اوریک سرم خون (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) بین تیمارهای مختلف (حروف انگلیسی متفاوت بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در سطح 0.05 می‌باشد)



شکل ۲. مقایسه داده‌های (میانگین \pm انحراف معیار) غلظت گلوکز سرم خون (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) بین تیمارهای مختلف (حروف انگلیسی متفاوت بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در سطح 0.05 می‌باشد)



شکل ۳. مقایسه داده‌های (میانگین \pm انحراف معیار) غلظت تری‌گلیسرید سرم خون (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) بین تیمارهای مختلف (حروف انگلیسی متفاوت بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در سطح 0.05 می‌باشد)

جدول ۱. میانگین شاخص‌های رشد و بازماندگی ماهی قرمز بین تیمارهای مختلف

B ۸۰۰	A ۸۰۰	B ۴۰۰	A ۴۰۰	B ۲۰۰	A ۲۰۰	B شاهد	A شاهد	
۱۶/۶۱ ± ۰/۱۶ ^b	۲۱/۴۷ ± ۰/۱۵ ^f	۱۹/۷۳ ± ۰/۰۲ ^e	۱۸/۵۰ ± ۰/۰۹ ^d	۱۹/۳۲ ± ۰/۰۵ ^e	۱۹/۳۴ ± ۰/۰۵ ^e	۱۵/۲۵ ± ۰/۱۸ ^a	۱۷/۵۹ ± ۰/۱۸ ^c	افزایش وزن بدن (درصد)
۹۵/۰۰ ± ۰/۵۸ ^b	۹۸/۶۷ ± ۰/۳۳ ^c	۹۷/۳۳ ± ۰/۲۱ ^a	۱۰۰/۰۰ ± ۰/۰ ^c	۹۶/۰۰ ± ۰/۵۸ ^b	۱۰۰/۰۰ ± ۰/۰ ^c	۹۸/۰۰ ± ۰/۰ ^c	۱۰۰/۰۰ ± ۰/۰ ^c	درصد زنده‌مانی
۱/۷۱ ± ۰/۰۱ ^c	۱/۶۷ ± ۰/۰۱ ^c	۱/۸۱ ± ۰/۰ ^e	۱/۷۶ ± ۰/۰۱ ^d	۱/۵۴ ± ۰/۰۱ ^b	۱/۴۶ ± ۰/۰۱ ^a	۱/۴۶ ± ۰/۰۱ ^a	۱/۴۳ ± ۰/۱۳ ^a	فاکتور وضعیت (CF)
۵/۲۰ ± ۰/۰۱ ^c	۴/۱۵ ± ۰/۱۵ ^b	۲/۸۴ ± ۰/۰۲ ^a	۵/۸۳ ± ۰/۳۶ ^d	۴/۳۲ ± ۰/۰۱ ^b	۴/۲۷ ± ۰/۰۶ ^b	۵/۲۴ ± ۰/۰۳ ^b	۴/۹۴ ± ۰/۰۲ ^c	ضریب تبدیل غذایی (FCR)
۰/۳۷ ± ۰/۰ ^c	۰/۴۶ ± ۰/۰ ^e	۰/۴۲ ± ۰/۰۱ ^d	۰/۳۶ ± ۰/۰۱ ^a	۰/۴۱ ± ۰/۰۱ ^d	۰/۴۲ ± ۰/۰۱ ^d	۰/۳۳ ± ۰/۰۱ ^a	۰/۳۷ ± ۰/۰۱ ^c	نرخ رشد ویژه (SGR)

میانگین و انحراف از معیار (Mean ± S.D) با حروف متفاوت در ردیف‌های یکسان نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در تیمارها می‌باشند ($P < 0.05$).

بحث

ورود نانونقره به زیستگاه‌های طبیعی، باعث تغییر در تراکم جمعیت زیستگاه و همچنین تغییر در ساختار فیزیولوژیک گونه‌ها شده است. در طی سال‌های اخیر در این زمینه مطالعات زیادی صورت گرفته و تاثیر ورود نانونقره بر برخی از موجودات آبی بررسی شده است. عمدتاً تاثیر منفی نانونقره بر روی موجودات شامل بروز تنش اکسیدانیو، مرگ سلولی، تغییر در بیان ژن و ناهنجاری کروموزومی می‌باشد (Asharani *et al.*, 2008; Wu *et al.*, 2010). بنابراین استفاده از محرک‌های ایمنی همانند عصاره‌های گیاهی می‌تواند به عنوان یک راه حل مناسب در مقابل داروهای شیمیایی مصنوعی و یا آلودگی‌های زیست محیطی که بسیاری از میکروارگانیسم‌های عفونت‌زا و خطرناک نسبت به آنها مقاومت پیدا کرده‌اند، مورد استفاده قرار گیرد (Lee *et al.*, 2005; Rota *et al.*, 2008). افزودنی‌های غذایی گیاهی با تاثیر بر شاخص‌هایی مانند قابلیت هضم، کارایی تغذیه و طعم غذا، میزان رشد در آبزیان را تحت تاثیر قرار می‌دهند. در واقع مصرف عصاره‌های گیاهی در جانوران باعث تحریک ترشح آنزیم‌های گوارشی، افزایش اشتها، جذب بالای غذا و کارایی غذایی و سرانجام تحریک رشد جانور از طریق افزایش ساخت پروتئین می‌شود (Shanthi *et al.*, 2012). بر اساس نتایج تحقیق حاضر، در تیمار A ۸۰۰ که حاوی ۸۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم عصاره آویشن در جیره غذایی و بدون تنش نانوسیلور بود، بالاترین درصد افزایش وزن و نرخ رشد ویژه مشاهده شد. از طرف دیگر نتایج این تحقیق نشان داد که افزودن ۴۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم عصاره آویشن در جیره غذایی و بدون تنش نانوسیلور، موجب کاهش معنی‌دار ضریب تبدیل غذایی نسبت به سایر تیمارهای آزمایشی گردید ($P < 0.05$). همچنین نتایج نشان دهنده تاثیر مثبت و معنی‌دار عصاره آویشن در غلظت‌های بالا بر فاکتورهای رشد در ماهی قرمز می‌باشد. اثرات بهبود دهندگی عصاره آویشن در صنعت آبی‌پروری به اثرات ضد عفونی‌کنندگی، آنتی‌اکسیدانی و بهبود دهندگی هضم مواد غذایی نسبت داده شده است (Coutteau *et al.*, 2011). به عنوان مثال Dorojan و همکاران (۲۰۱۴)، گزارش کردند که آویشن موجب افزایش اشتهای ماهی‌ها و در نتیجه افزایش مصرف خوراک در آنها می‌شود. علاوه بر این Yilmaz و همکاران (۲۰۱۲)، نیز با اندازه‌گیری میزان ابقای انرژی و پروتئین در باس دریایی (*Dicentrarchus labrax*) نشان دادند که افزودن ۱ درصد گیاه آویشن موجب افزایش ابقای انرژی و پروتئین گردید. بنابراین بهبود رشد و ضریب تبدیل در ماهی‌های قرمز تغذیه شده با عصاره آویشن نیز می‌تواند به دلیل افزایش قابلیت ابقای انرژی و پروتئین مصرف شده توسط آنها باشد. یکی از سازوکارهای پیشنهاد داده شده برای اثرات بهبود دهندگی گیاهان بر عملکرد حیوانات، کاهش التهاب در دستگاه گوارش می‌باشد که ناشی از وجود ترکیبات پلی‌فنل موجود در آنها می‌باشد (Niewold, 2007). عصاره آویشن حاوی مقادیر بالایی

از یکی از انواع پلی‌فنل‌ها به نام تیمول می‌باشد که به عنوان فاکتور کاهش دهنده التهاب در روده شناخته شده است (Grilli *et al.*, 2015). پیشنهاد شده است که تیمول می‌تواند موجب افزایش نفوذپذیری غشای سلولی باکتری‌ها و همچنین ایجاد سوراخ در آنها گردد که از این راه موجب نشت یون‌ها و از بین رفتن تعادل یونی در غشای آنها گردد که در نهایت موجب مرگ باکتری‌ها خواهد شد. تیمول با کاهش دادن باکتری‌ها می‌تواند میزان تحریک مخاط روده و در نتیجه التهاب و یکپارچگی مخاط روده را به ترتیب کاهش و افزایش داده و از این راه توانسته است میزان رشد خوک‌ها را در مطالعه انجام شده توسط Grilli و همکاران (۲۰۱۵) افزایش دهد. هرچند که میزان یکپارچگی روده در این مطالعه در ماهی‌های قرمز اندازه‌گیری نگردید، اما در این تحقیق نیز چنین سازوکاری در ماهی‌های مصرف‌کننده عصاره تیمول می‌تواند به عنوان دلیلی برای افزایش رشد و کاهش ضریب تبدیل مشاهده شده در آنها باشد.

مطابق با نتایج تحقیق حاضر، Ylmez و همکاران (۲۰۱۲)، گزارش کردند که استفاده از عصاره آویشن به میزان ۱ درصد در جیره غذایی باس دریایی با میانگین وزن ۲۰ گرم، تاثیر معنی‌داری بر رشد این گونه داشت. علاوه بر این میزان آمونیاک دفعی ماهی‌ها به محیط آبی نیز پایین آمده بود. هرچند که ما در این تحقیق میزان آمونیاک دفعی ماهی‌ها را اندازه‌گیری نکردیم، اما به احتمال زیاد عصاره آویشن می‌تواند از راه افزایش ابقای نیترژن مصرف شده توسط ماهی‌ها، میزان دفع نیترژن را کاهش دهد. در تأثیر محرک‌های ایمنی در بهبود فاکتورهای رشد ماهی به کرات گزارش شده است. مثلاً بتاگلوکان^۲ و LPS^۳ باکتری (Selvaraj *et al.*, 2006)، کیتوزان^۴ (Gopalakannan and Arul, 2006)، لوامیزول^۵ (Alvarez-pellitero *et al.*, 2006) و ارگوسان^۶ (Heidarieh *et al.*, 2010) علاوه بر تحریک ایمنی، بهبود فاکتورهای رشد ماهی را نیز باعث شده‌اند. نتایج تحقیق حاضر با نتایج سایر محققین در رابطه با تاثیر عصاره‌های گیاهی بر فاکتورهای رشد در آبزیان همخوانی داشت. به طوری که افزودن عصاره گیاهی ریحان (*Ocimum basilicum*) به جیره غذایی میگوی سفید هندی (*Fenneropenaeus indicus*) باعث افزایش وزن و نرخ رشد ویژه شد (Velmurugan and Citarasu, 2010). از طرف دیگر Cardozo و همکاران (۲۰۰۸)، گزارش کردند که استفاده از عصاره پونه کوهی (*Origanum vulgare*) باعث بهبود ضریب تبدیل غذایی و افزایش زنده‌مانی در میگوی سفید (*Litopenaeus vannamei*) در برابر تنش ناشی از تنش به ویروس (*Vibrio harveyi*) گردید. در تحقیقی دیگر که بر روی ماهی قرمز انجام شده است، گزارش شد که مصرف خوراکی عصاره گیاه دارویش (*Viscum album*) در ماهی قرمز اثرات تحریک ایمنی و رشد مشابه آنچه در حیوانات خونگرم مشاهده شده است را دارد. اما عصاره گیاه سیاه دانه (*Nigella sativa*) فاقد چنین اثراتی بوده است (Alishahi and Mesbah, 2012). سنجش میزان فعالیت آنزیم‌های مایعات زیستی، ما را با نحوه کارکرد بافت‌ها و اعضای مختلف آشنا می‌کند. امروزه با پیشرفت آنالیز فاکتورهای بیوشیمیایی سرم خون، درک بهتری از وضعیت فیزیولوژیک و سلامتی آبزیان به دست آمده است. ولی برخلاف حیوانات خشکی‌زی، به دلیل متغیر بودن این پارامترها و تنوع بالای گونه‌های آبزیان، اثرات فیزیولوژیک فاکتورهای بیوشیمیایی خون در آبزیان چندان شناخته شده نمی‌باشد (Campbell, 2004; Peres *et al.*, 2014). گلوکز و اسید اوریک به عنوان شاخص‌های تنش در بسیاری از مطالعات در ارتباط با تاثیر عوامل تنش‌زای محیطی بر روی آبزیان مطرح هستند. در تحقیق حاضر مشاهده شد که با کاهش میزان غلظت عصاره آویشن در جیره و قرار دادن ماهی‌ها تحت تنش نانوسیلور، غلظت گلوکز سرم خون و اسید اوریک افزایش معنی‌داری نشان داد. همچنین در تمام تیمارهای تحت تنش نانوسیلور، غلظت تری‌گلیسرید سرم خون نسبت به تیمارهای بدون تنش کاهش نسبی نشان داد. کاهش گلوکز خون در تحقیق حاضر در تیمارهای حاوی غلظت بالای

² β -glucan

³ Lipopolysaccharide

⁴ Chitosan

⁵ Levamisole

⁶ Ergosan

عصاره آویشن ممکن است در نتیجه بازگشت ماهی‌ها به حالت طبیعی قبل از تنش و همچنین تحریک ترشح انسولین در بدن توسط عصاره آویشن باشد. Hikno و همکاران (۱۹۸۹)، گزارش کردند که عصاره‌های گیاهی در تحریک ترشح انسولین در بدن و همچنین افزایش فعالیت آنزیم‌های دخیل در متابولیسم ساکاروز نقش بسزایی دارند، بنابراین به طور مؤثری در کاهش گلوکز خون نقش دارند. از طرف دیگر عصاره‌های گیاهی به دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی، در حفظ لیپیدهای بدن و جلوگیری از اکسیداسیون آنها مؤثر هستند (Hwang *et al.*, 2013).

مطابق با نتایج تحقیق حاضر، استفاده از عصاره‌های گیاهی در جیره غذایی تیلاپیا، به طور معنی‌داری باعث کاهش غلظت تری‌گلیسیرید سرم خون شد (Immanuel *et al.*, 2009). افزودن عصاره‌های گیاهی *Cyanodon dactylon*, *Tinospora cordifolia*, *Aegle marmelos*، *Picrorhiza kurooa* و *Eclipta alba* در جیره غذایی میگوی ببری سیاه (*Penaeus monodan*) باعث افزایش سطح برخی از فاکتورهای بیوشیمیایی و ایمنی سرم خون و کاهش ابتلا به بیماری ویروسی شد (Citarasu *et al.*, 2006). افزودن عصاره ریواس (*rhubarb*, *Rheum officinale*) به جیره غذایی ماهی کپور معمولی در شرایط تنش، باعث کاهش معنی‌دار در سطح گلوکز خون گردید (Xie *et al.*, 2008). البته تاثیر عصاره‌های گیاهی بر فاکتورهای بیوشیمیایی سرم خون در بین آبزبان براساس جنسیت، گونه و مراحل رشد متفاوت می‌باشد. به طوری که برخلاف تحقیق حاضر، Ylmaz و همکاران (۲۰۱۲)، گزارش کردند که استفاده از عصاره آویشن، رزماری و شنبليله به میزان ۱ درصد در جیره غذایی باس دریایی (*Dicentrarchus labrax*) با میانگین وزن ۲۰ گرم، تاثیر معنی‌داری بر سطح کراتینین، اوره و اسید اوریک سرم خون نداشت. بر اساس نتایج به دست آمده مشاهده می‌شود که میزان هر پارامتر خاص در سرم خون یک گونه ماهی با گونه دیگر متفاوت می‌باشد. بر اساس این نتایج تاثیر عصاره آویشن بر فاکتورهای بیوشیمیایی سرم خون ماهی قرمز بر اساس غلظت آویشن مورد استفاده متفاوت می‌باشد، اما به طور کلی عصاره آویشن در کاهش اثرات تنش بر فاکتورهای خونی ماهی‌های تحت تنش نانونقره مؤثر می‌باشد.

در پایان می‌توان ذکر نمود که با توجه به نتایج تحقیق حاضر، عصاره آویشن به طور معنی‌داری در کاهش تنش ناشی از ذرات نانونقره بر برخی از فاکتورهای رشد و بیوشیمیایی سرم خون ماهی قرمز تاثیرگذار می‌باشد. بنابراین علاوه بر خاصیت محرک رشدی عصاره آویشن در شرایط غیر تنش، در شرایط بروز تنش نیز می‌توان از عصاره آویشن برای کاهش اثرات منفی تنش ناشی از ورود ذرات نانونقره به محیط پرورش ماهی‌ها استفاده کرد.

تشکر و قدردانی

هزینه این پژوهش از محل اعتبارات مرکز پژوهشی اصلاح و توسعه گیاهان دارویی تامین شده است که بدینوسیله از زحمات آن مرکز تشکر و قدردانی به عمل می‌آید. به این وسیله از زحمات دانشجویان کارشناسی رشته شیلات خانم‌ها تارا زارعی و کوثر سوری که نهایت همکاری را در مراحل مختلف تحقیق داشتند تشکر می‌شود.

منابع

- Alishahi, M., Mesbah, M. 2012. Effects of *Viscum album* and *Nigella sativa* extracts on survival rate, growth factors and resistance to *Aeromonas hydrophila* infection in gold fish (*Carassius auratus*). Journal of Veterinary Research. 67:285-290. (in Persian)
- Alvarez-pellitero, P., Stija-Bobadilla, A., Bermuolez, R., Quiroga, M.I. 2006. Levamisole activates several innate immune factors in *Scophthalmus maximus*, Teleostei. International Journal of Immunopathology and Pharmacology. 19: 727-738.

- Asharani, P.V., Wu, Y.L., Gong, Z., Valliyaveetil, S. 2008. Toxicity of silver nanoparticles in zebrafish models. *Nanotechnology*. 19: 255102. doi:10.1088/0957-4484/19/25/255102.
- Bilberg, K., Hovgaard, M.B., Besenbacher, F., Baatrup, E. 2012. In vivo toxicity of silver nanoparticles and silver ions in zebrafish (*Danio rerio*). *Journal of Toxicology*. doi:10.1155/2012/293784.
- Campbell, T.W. 2004. Clinical chemistry of fish and amphibians. In: Thrall, M.A., Baker, D.C., Campbell T.W., DeNicola, D., Fettman, M.J., Lassen, E.D., Rebar, A., Weiser, G. (eds.). *Veterinary Hematology and Clinical Chemistry*. Lippincott Williams & Wilkins, Pennsylvania. pp. 499-517.
- Cardozo, P., Kamel, C., Greatehead, H.M.R., Jintataporn, O. 2008. Encapsulated plant extracts as dietary enhancers of growth, feeding efficiency and immunity in white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) under normal and stress conditions. *Aqua 2008. X Congresso Ecuatoriano de Acuicultura & Aquaexpo*. October 6-9. Guayaquil. Ecuador. Abstract.
- Chen, X., Wu, Z., Yin, J. 2003. Effects of four species of herbs on immune function of *Carassius auratus gibelio*. *Journal of Fishery Sciences of China*. 10: 36-40.
- Cho, K.H., Park, J.E., Osaka, T., Park, S.G. 2005. The study of antimicrobial activity and preservative effects of nanosilver ingredient. *Electrochimica Acta*. 51: 956-960.
- Citarasu, T., Sivaram, V., Immanuel, G., Rout, N., Murugan, V. 2006. Influence of selected Indian immunostimulant herbs against white spot syndrome virus (WSSV) infection in black tiger shrimp, *Penaeus monodon* with reference to haematological, biochemical and immunological changes. *Fish and Shellfish Immunology*. 21: 372-384.
- Costa-Bomfim, B.C.N., Pessoa, W.V.N. Oliveira, R.L.M., Farias, J.L., Domingues, E.C., Hamilton, S., Cavalli, R.O. 2013. The effect of feeding frequency on growth performance of juvenile cobia, *Rachycentron canadum* (Linnaeus, 1766). *Journal of Applied Ichthyology*. 30: 1-5.
- Coutteau, P., Ceulemans, S., Alexander, V.H. 2011. Botanical extracts improve productivity and economics in aquaculture, NUTRIAD International, Belgium.
- Dorojan, O.G., Cristea, V., Ion, S., Petrea, S.M. 2014. The influence of some phytochemicals (*Thyme, Seabuckthorn*) on growth performance of Stellate sturgeon (*Acipenser stellatus*, Pallas, 1771) in an industrial recirculating aquaculture system. *Animal Science and Biotechnologies*. 47(1): 205-210.
- Farmen, E., Mikkelsen, H.N., Evensen, O., Einset, J., Heier, L.S., Rosseland, B.O., Salbu, B., Tollefsen, K.E., Oughton, D.H. 2012. Acute and sub-lethal effects in juvenile Atlantic salmon exposed to low $\mu\text{g/L}$ concentrations of Ag nanoparticles. *Aquatic Toxicology*. 108: 78-84.
- Gopalakannan, A., Arul, V. 2006. Immunomodulatory effects of dietary intake of chitin, chitosan and levamisole on the immune system of *Cyprinus carpio* and control of *Aeromonas hydrophila* infection in ponds. *Aquaculture*. 55: 179-187.
- Grilli, E., Tugnoli, B., Passey, J.L., Stahl, C.H., Piva, A., Moeser, A.J. 2015. The effects of thyme oil extract to reduce toxic effects of Nanosilver on growth factors and serum biochemical in goldfish (*Carassius auratus gibelio*). *BMC Veterinary Research*. 11: 96-103.
- Heidarieh, M., Afsharnasab, M., Soltani, M., Dashtyannasab, A., Rajabifar, S., Sheikhzadeh, N. 2010. Effects of ergosan and vibromax to prevent vibriosis and WSSV in *Litopenaeus vannamei*. *Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 5: 120-125.
- Hikno, H., Ishiyama, M., Suzuki, Y. 1989. Mechanisms of hypoglycemic activity of ganoderma B: a glycan of *Ganoderma lucidum* fruit bodies. *Planta Medecine*. 55(2): 423-428.
- Hwang, J.H., Lee, S.W., Rha, S.J., Yoon, H.S., Park, E.S., Han, K.H., Kim, S.J. 2013. Dietary green tea extract improves growth performance, body composition, and stress recovery in the juvenile black rockfish, *Sebastes schlegeli*. *Aquaculture International*. 21: 525-538.
- Immanuel, G., Uma, R.P., Iyapparaj, P., Citarasu, T., Punitha, S.M., Babu, M., Palavesam, A. 2009. Dietary medicinal plant extracts improve growth, immune activity and survival of tilapia *Oreochromis mossambicus*. *Journal of Fish Biology*. 74: 1462-1475.
- Jaeger, A., Weiss, D.G., Jonas, L., Kriehuber, R. 2012. Oxidative stress-induced cytotoxic and genotoxic effects of nano-sized titanium dioxide particles in human HaCaT keratinocytes. *Toxicology*. 296: 27-36.

- Jani, N., Yadegarfar, G., Hajishafiyee, M., Azadbakht, L. 2011. Antioxidants and improvement of immune system function in HIV infected patients: a review article. *Journal of Isfahan Medical School*. 135: 445-456. (in Persian)
- Krosmayr, A. 2007. Experimental studies of the gastrointestinal effects of essential oils in comparison to avilamycin in weaned piglets. PhD dissertation. Universität für Bodenkultur Wien.
- Lee, K.J., Dabrowski, K., Sandoval, M., Miller, M.J.S. 2005. Activity-guided fractionation of phytochemicals of maca meal, their antioxidant activities and effects on growth, feed utilization and survival in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) juveniles. *Aquaculture*. 244: 293-301.
- Munakata, A., Kobayashi, M. 2010. Endocrine control of sexual behavior in teleost fish. *General and Comparative Endocrinology*. 165: 456-468.
- NRC (National Research Council). 1993. Nutrient requirements of fish. 9th revision.
- Niewold, T.A. 2007. The nonantibiotic anti-inflammatory effect of antimicrobial growth promoters, the real mode of action? A hypothesis. *Poultry Science*. 86(4): 605-609.
- Peres, H., Santos, S., Oliva-Teles, A. 2014. Blood chemistry profile as indicator of nutritional status in European seabass (*Dicentrarchus labrax*). *Fish Physiology and Biochemistry*. 40: 1339-1347.
- Rota, M.C., Herrera, A., Martinez, R.M., Sotomayor, J.A., Jordan, M.J. 2008. Antimicrobial activity and chemical composition of *Thymus vulgaris*, *Thymus zygis* and *Thymus hyemalis* essential oils. *Food Control*. 19(7): 681-687.
- Selvaraj, V., Sampath, K., Vaithilingam, S. 2006. Adjuvant and immunostimulatory effects of β -glucan administration in combination with lipopolysaccharide enhances survival and some immune parameters in carp challenged with *Aeromonas hydrophila*. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 114: 15-24.
- Shaluei, F., Hedayati, A., Jahanbakhshi, A., Baghfalaki, M. 2012. Effects of nanometer-sized silver materials on survival response of Caspian roach (*Rutilus rutilus caspicus*). *Toxicology and Industrial Health*. 28: 157-163.
- Shanthi, R., Bhavan, P.S., Radhakrishnan, S. 2012. Influence of medicinal herbs, (*Andrographis paniculata*, *Cissus quadrangularis* and *Eclipta alba*) on growth, digestive enzymes, biochemical constituents and protein profile of the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. *Elixir International Journal*. 42: 6478-6484.
- Spano, L., Tyler, C. R., Aerle, R.V., Devos, P., Mandiki, S.N.M., Silvestre, F., Thome, J.P., Kestemont, P. 2004. Effects of atrazine on sex steroid dynamics, plasma vitellogenin concentration and gonad development in adult goldfish (*Carassius auratus*). *Aquatic Toxicology*. 6: 369-379.
- Steiner, T. 2006. Managing gut health. *Natural Growth Promoters as a Key to Animal Performance*. Nottingham University Press. 98 p.
- Velmurugan, S., Citarasu, T. 2010. Effect of herbal antibacterial extracts on the gut floral changes in Indian white shrimp *Fenneropenaeus indicus*. *Romanian Biotechnological Letters*. 15: 5709-5717.
- Wu, Y., Zhou, Q., Li, H., Liu, W., Wang, T., Jiang, G. 2010. Effects of silver nanoparticles on the development and histopathology biomarkers of Japanese medaka (*Oryzias latipes*) using the partial-life test. *Aquatic Toxicology*. 100: 160-167.
- Xie, J., Liu, B., Zhou, Q.L., Su, Y.T., He, Y.J., Pan, L.K., Ge, X.P., Xu, P. 2008. Effects of anthraquinones extract from rhubarb *Rheum officinale* Bail on the crowding stress response and growth of common carp (*Cyprinus carpio*) var. Jian. *Aquaculture*. 281: 5-11.
- Yilmaz, S., Ergün, S., Çelik, E.Ş. 2012. Effects of herbal supplements on growth performance of sea bass (*Dicentrarchus labrax*): Change in body composition and some blood parameters. *Journal of Bioscience and Biotechnology*. 3: 217-222.
- Zheng, J., Wu, X., Wang, M., Ran, D., Xu, W., Yang, J. 2008. Study on the interaction between silver nanoparticles and nucleic acids in the presence of cetyltrimethylammonium bromide and its analytical application. *Talanta*. 74: 526-532.