

## تأثیر مکمل‌سازی پودر آویشن شیرازی (*Zataria multiflora*) بر شاخص رشد و فاکتورهای سر می ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

نسرین چوبکار<sup>۱\*</sup>، شاپور کاکولکی<sup>۲</sup>، محیا رضایی منش<sup>۳</sup>، فروغ محمدی<sup>۴</sup>، لیلا صفرخانلو<sup>۵</sup>

۱-استادیار گروه شیلات، واحد کرمانشاه، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمانشاه، ایران.

۲-دانشیار گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، تهران، ایران.

۳- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد اکولوژی آبزیان، گروه علوم محیط زیست، دانشکده محیط زیست، دانشگاه محیط زیست، کرج، ایران.

۴-استادیار گروه دامپزشکی، واحد کرمانشاه، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمانشاه، ایران.

۵- دانش‌آموخته دکتری گروه شیلات، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

\*نویسنده مسئول مکاتبات: nchoobkar20@iauksh.ac.ir

(دریافت مقاله: ۹۵/۱۰/۳۰ پذیرش نهایی: ۹۶/۵/۴)

### چکیده

استفاده از گیاهان دارویی می‌تواند در افزایش رشد آبزیان و ارتقاء سطح ایمنی غیراختصاصی به‌منظور افزایش مقاومت در برابر بیماری‌ها در بخش آبی‌پروری مؤثر باشد. گیاه آویشن شیرازی (*Zataria multiflora*) از خانواده نعناعیان یکی از این گیاهان است که بیشترین ترکیبات آن شامل تیمول و کارواکرول بوده و خواص ضد میکروبی و ضد قارچی آن به‌خوبی شناخته شده است. لذا هدف از انجام این مطالعه بررسی تأثیر دوزهای مختلف خوراکی پودر آویشن شیرازی بر شاخص‌های رشد و پارامترهای سر می کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) جوان بوده است. از این‌رو تعداد ۲۴۰ قطعه ماهی کپور با وزن اولیه  $27/13 \pm 20/5$  گرم در ۴ گروه برابر به‌طور تصادفی توزیع گردیدند و با مکمل‌سازی پودر آویشن شیرازی در قالب ۴ فرمول غذایی با میزان ۰ (کنترل یا گروه ۱)، ۵۰ (گروه دوم)، ۱۰۰ (گروه سوم) و نهایتاً ۱۵۰ (گروه چهارم) در میلیون غذا، با اندازه ۳-۴ میلی‌متر و در ۳ تا ۴ نوبت در روز و به میزان ۳-۴ درصد وزن بدن به مدت ۸ هفته غذایی شدند. نرخ رشد ویژه و پارامترهای سر می مشتمل بر پروتئین تام، آلبومین و گلوبولین مورد سنجش قرار گرفت و با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه اختلاف مقادیر متغیرهای مورد بررسی در تیمارهای مختلف مورد مقایسه واقع شد. میانگین وزنی در گروه ۳ ( $57/11 \pm 4/37$  گرم) به‌طور معنی‌داری ( $p < 0/05$ ) از گروه شاهد ( $38/49 \pm 2/61$  گرم) با کمینه میانگین وزنی و سایر گروه‌ها بیشتر بود. نرخ رشد ویژه نیز از این الگو تبعیت کرده و میانگین آن در گروه ۳ ( $1/83 \pm 0/17$  درصد) از سایر گروه‌ها از جمله گروه کنترل با کمینه مقدار میانگین نرخ رشد ویژه ( $1/08 \pm 0/14$  درصد) به‌طور معنی‌داری ( $p < 0/05$ ) بیشتر بود. وجود اختلاف معنی‌دار در میزان فاکتورهای سر می پروتئین تام ( $p = 0/005$ ) و گلوبولین ( $p = 0/017$ ) بین همه گروه‌ها محرز بود. بر اساس نتایج به‌دست آمده، پودر آویشن شیرازی نقش نسبتاً مؤثری در بهبود رشد و شاخص‌های سر می کپور ماهی معمولی دارد.

کلیدواژه‌ها: آویشن شیرازی، ماهی کپور معمولی، شاخص‌های رشد، فاکتورهای سر می.

## مقدمه

استفاده از گیاهان دارویی می‌تواند در افزایش رشد ماهی مؤثر باشد (Kakoolaki et al., 2016). قرن‌هاست که خواص گیاهان دارویی و تأثیر آن بر انسان و دام شناخته شده است (Sakai et al., 2001). هم‌چنین گیاهان دارویی مختلفی به‌منظور ارتقاء رشد ماهی (Bureau et al., 1998) و یا ارتقاء سطح ایمنی غیراختصاصی به‌منظور افزایش مقاومت در برابر بیماری‌ها (Sahu et al., 2007) در بخش آبی‌پروری استفاده شده است. گیاه آویشن شیرازی (*Zataria multiflora*) از خانواده نعناعیان است که خواص خوراکی و دارویی فراوان داشته و در آسیا به‌خصوص در ایران، پاکستان و افغانستان می‌روید (Mozaffarian, 1996; Hosseinzadeh et al., 2000) از جمله خواص آن، درمان نفخ، اسپاسم، اسهال و سرماخوردگی بوده که به همین دلایل سده‌های متمادی در ایران کاربرد فراوان داشته است (Iran Ministry of Health and Medicine, 2002). بررسی شیمیائی دال بر حضور مواد مختلف از جمله لوتنولین (Ali et al., 2000)، کوئرستین (Shafiee et al., 1999)، ترپنوئیدها از جمله پاراسیمن (Ali et al., 1999) و روغن‌های فرار مثل تیمول (Mohagheghzadeh et al., 2000) در آویشن شیرازی می‌باشد. بر اساس تحقیقات صورت‌گرفته، بیشترین ترکیبات آویشن شیرازی شامل تیمول و کارواکرول بوده که خواص ضد میکروبی و ضد قارچی آن (Can Baser, 2008) به‌خوبی شناخته شده است. بهبود فاکتورهای خونی و سرمی *Acipenser persicus* ماهی خاویاری قره‌برون (Sharif Rohani et al., 2013)، بهبود

شرایط ایمنی از طریق ارتقاء روند فاگوسیتوزیس، میزان لیزوزیم و انفجار تنفسی در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در شرایط تجربی (Akbari et al., 2015)، کاهش و یا پیشگیری از عفونت‌های قارچی در تخم‌های چشم‌زده ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (Sharif Rohani, 2006)، ارتقاء شرایط ایمنی و بهبود فاکتورها و شاخص‌های خونی و سرمی در کپورماهی معمولی (*Cyprinus carpio*) در شرایط تجربی (Sheikhzadeh et al., 2011)، افزایش ضریب هج و نرخ زنده‌مانی تخم‌های هچ‌شده قزل‌آلای رنگین‌کمان و ممانعت از رشد باکتری‌های موجود در فیله‌های ماهی شور و دودی مانند استافیلوکوکوس اورئوس و لیستریا مونوسیتوژنز (Choobkar et al., 2010)، متأثر از اضافه نمودن اسانس گیاه آویشن شیرازی به غذای آبی یا فیله ماهی، بررسی شده است.

هدف از انجام این مطالعه، بررسی تأثیر آویشن شیرازی (*Z. multiflora*) در غلظت‌های متفاوت بر شاخص‌های رشد و فاکتورهای خونی ماهی کپور معمولی (*C. carpio*) در شرایط تجربی می‌باشد

## مواد و روش‌ها

– ماهی: تعداد ۲۴۰ قطعه ماهی با وزن اولیه  $27 \pm 5/13$  گرم از شرکت ران گیلان تهیه گردید و به مزرعه تحقیقاتی مستقر در پژوهشکده بیوتکنولوژی ایران، در پاییز سال ۱۳۹۵ منتقل گردید. به‌دلیل استرس حمل و نقل، ماهی‌ها پس از ۲۴ ساعت، برای مدت ۴ روز با غذای جیره پایه بدون پودر آویشن که در ذیل توضیح

در جداول ۱ و ۲ و نمودار ۱ آمده است. در انتهای دوره نیز با توزین ماهی‌ها و با مقایسه آن‌ها و استفاده از فرمول‌های زیر وضعیت رشد ماهی‌ها متأثر از غلظت‌های متفاوت آویشن شیرازی در مقایسه با خود و گروه کنترل ارزیابی گردید (Harikrishnan et al., 2012).

$$\text{نرخ رشد ویژه (درصد)} = \frac{(LnWF - LnWI)}{WI} \times 100$$

$LnWF$  برابر است با لگاریتم نپین وزن نهایی ماهی،  $LnWI$  برابر است با لگاریتم نپین وزن اولیه ماهی.

$$\text{ضریب تبدیل غذایی} = \frac{CFC (g)}{WG (g)}$$

$CFC$  برابر است با میزان غذای مصرف‌شده و  $WG$  وزن به‌دست آمده را نشان می‌داد.

$$\text{وزن بدست آمده (درصد)} = \frac{(WF - WI)}{WI} \times 100$$

- **خون‌گیری و آزمایشات خون‌شناسی:** از هر مخزن ۳ ماهی (جمعاً ۹ ماهی در هر تیمار) به‌صورت تصادفی برای نمونه‌برداری خونی و سرمی استفاده شد. ماهی‌ها ابتدا با ۳۰ میلی‌گرم در لیتر روغن میخک بیهوش شدند. خون‌گیری از طریق ورید ساقه دمی انجام و نمونه‌ها در ویال‌های استریل هپارینه در دمای ۴ درجه سلسیوس نگه‌داری شدند. نمونه‌های خونی برای مدت ۱۵ دقیقه در ۶۰۰۰ g در دمای ۴ درجه سلسیوس سانتریفیوژ شدند. پلاسما حاصله تا انجام آزمایشات بیوشیمی در دمای ۲۱- درجه سلسیوس نگه‌داری شد (Grant, 2015).

- **پارامترهای خونی:** گسترش خونی با محلول رقیق‌کننده نات-هریک (Natt-Herrick) (۱:۲۰۰) برای اندازه‌گیری هر دو تیپ گلبول‌های خونی سفید ( $mm^{-3}$ ) و قرمز ( $10^6 mm^{-3}$ ) با کمک لام ثنوبار تهیه شد. از

داده شده است، تغذیه شدند. ماهی‌ها پس از عادت به شرایط جدید، به‌صورت تصادفی بین ۱۲ مخزن پلاستیکی یک تنی (۲۰ ماهی به ازاء هر مخزن شامل ۴ تیمار در ۳ تکرار) که با ۶۰۰ لیتر آب تمیز (تأمین‌شده از چاه منطقه) با میزان اکسیژن ۶ در میلیون، نیتريت کمتر از ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر، دمای ۲۰-۱۷ درجه سلسیوس، اسیدیته ۷/۳ پر شده بودند، توزیع گردیدند.

- **خوراک ماهیان و اضافه نمودن آویشن شیرازی:** غذای ماهی بر اساس روش کاکولکی و همکاران در سال ۲۰۱۶ با غذای پایه شرکت کیمیاگران تغذیه (پروتئین ۳۵-۳۰ درصد، کربوهیدرات ۴۰-۳۵ درصد، چربی ۷-۶ درصد، فیبر ۷-۸ درصد، خاکستر ۱۰ درصد، رطوبت ۱۰ درصد) و با اضافه نمودن پودر آویشن شیرازی تهیه‌شده از بخش خصوصی در قالب ۴ فرمول غذایی با میزان ۰ (کنترل یا گروه ۱)، ۵۰ (گروه دوم)، ۱۰۰ (گروه سوم) و نهایتاً ۱۵۰ در میلیون (گروه چهارم) غذایی با اندازه ۴-۳ میلی‌متر تهیه شد و گروه‌ها در ۳ تا ۴ نوبت در روز و به میزان ۴-۳ درصد وزن بدن آن‌ها به مدت ۸ هفته غذادهی شدند.

- **نمونه‌برداری:** ماهی‌ها در ابتدای دوره به‌صورت تصادفی بین ۴ گروه از مخازن توزیع گردیدند و میانگین وزنی گروه‌ها (جدول ۱) هیچ‌گونه اختلاف معنی‌داری را نشان ندادند. در پایان دوره، نمونه‌برداری به‌منظور بررسی فاکتورهای رشد و نیز شاخص‌های خونی سرمی انجام گردید و در طول دوره نیز میزان غذادهی روزانه ثبت شد.

- **فاکتورهای رشد:** در ابتدا، میانه (صرفاً جهت ارزیابی میانگین وزنی) و انتهای مطالعه از هر تیمار و ۳ تکرار، ۵ ماهی (۱۵ ماهی در کل) بیومتری انجام شد که نتایج آن

### یافته‌ها

میانگین وزن ماهی‌ها و مقایسه آن‌ها قبل از شروع مطالعه در جدول ۱ آمده است. در این مرحله تفاوت معنی‌داری بین میانگین وزنی گروه‌های مختلف وجود نداشت ( $p=0/987$ ). با توجه به نتایج درج شده در جدول ۲ و نمودار ۱، حداقل یک اختلاف بین یک گروه با گروهی دیگر در هر ۳ شاخص رشد (وزن نهایی، نرخ رشد ویژه و ضریب تبدیل غذا) وجود داشت ( $p=0/000$ ). به نظر می‌رسد تفاوت معنی‌داری ( $p<0/05$ ) بین میانگین وزنی گروه‌های مختلف در پایان دوره تحقیق وجود داشت. بیشینه میانگین وزنی در گروه ۳ ( $57/11 \pm 4/37$ ) گرم) به‌طور معنی‌داری ( $p<0/05$ ) از گروه شاهد ( $38/49 \pm 2/61$ ) گرم) با میزان کمینه میانگین وزنی و سایر گروه‌ها بیشتر بود. نرخ رشد ویژه نیز از این الگو تبعیت کرده و میانگین بیشینه آن در گروه ۳ ( $1/83 \pm 0/17$ ) گرم) با سایر گروه‌ها از جمله گروه کنترل به عنوان کمینه مقدار میانگین نرخ رشد ویژه ( $1/08 \pm 0/14$ ) درصد) به‌طور معنی‌داری ( $p<0/05$ ) بیشتر بود. مقدار میانگین ضریب تبدیل غذایی در گروه ۳ ( $2/0 \pm 36/04$ ) به عنوان کمینه و مقدار آن در گروه کنترل ( $3/35 \pm 0/05$ ) به عنوان مقدار بیشینه با هر سه گروه دیگر اختلاف معنی‌داری داشتند ( $p<0/05$ ) ولی گروه‌های ۲ ( $3/03 \pm 0/03$ ) و ۴ ( $2/88 \pm 0/04$ ) در این زمینه با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نداشتند.

رنگ‌آمیزی گیمسا برای تشخیص تفریقی گلبول‌های سفید (درصد) بهره گرفته شد، به‌طوری‌که ۲۰۰ گلبول سفید شامل لنفوسیت، مونوسیت و گرانولوسیت از هر گسترش آماده شده زیر میکروسکوپ نوری شمارش و ثبت گردید (Dacie and Lewis, 2001).

برای اندازه‌گیری هماتوکریت، نمونه‌های هیپارینه به‌مدت ۵ دقیقه در  $10000\text{ g}$  سانتریفیوژ شدند و پارامترها با مقیاس صفحه مخصوص هماتوکریت‌خوان محاسبه گردیدند. هموگلوبین نیز با روش فتومتریک سیانومت‌هموگلوبین اندازه‌گیری گردید (Kakoolaki *et al.*, 2016). روش محاسبه سایر شاخص‌های خونی در ذیل آمده است:

$$\begin{aligned} \text{MCV (fL)} &= [\text{Hct (\%)} \times 10] / (\text{RBC}) \\ \text{MCH (pg cell}^{-1}) &= [(\text{Hb, g/dL}) \times 10] / (\text{RBC}) \\ \text{MCHC (\%)} &= [(\text{Hb, g/Dl}) \times 100] / (\text{Hct, \%}) \end{aligned}$$

- اندازه‌گیری پروتئین تام، گلوبولین و آلبومین سرم: به‌منظور اندازه‌گیری میزان آلبومین و پروتئین از روش اسپکتروفتومتری با کیت‌های تجاری (پارس آزمون، تهران، ایران) استفاده گردید. مقدار گلوبولین نیز از تفریق مقدار آلبومین از پروتئین تام به‌دست آمد.

- تحلیل آماری داده‌ها: داده‌های به‌دست آمده کمی به‌صورت میانگین  $\pm$  خطای استاندارد ( $\text{mean} \pm \text{SEM}$ ) ارائه شده و با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۸ و روش آماری تحلیل واریانس یک‌طرفه (One-Way ANOVA) و آزمون تعقیبی چندگانه بن‌فرونی (Bonferroni) مورد تحلیل آماری قرار گرفت.

جدول ۱- مقایسه میانگین وزن ماهیان در گروه‌های مورد مطالعه قبل از شروع دوره

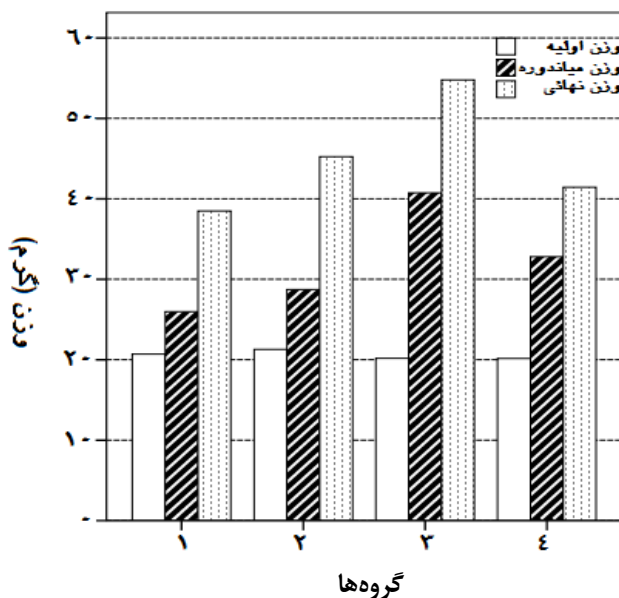
گروه	تعداد نمونه	میانگین	انحراف معیار	خطای استاندارد
۱	۱۵	۲۰/۷۰ <sup>a</sup>	۴/۹۲	۱/۲۷
۲	۱۵	۲۱/۲۸ <sup>a</sup>	۳/۷۵	۰/۹۷
۳	۱۵	۲۰/۱۷ <sup>a</sup>	۵/۲۰	۱/۳۴
۴	۱۵	۲۰/۱۵ <sup>a</sup>	۴/۲۷	۱/۱۰
کل	۶۰	۲۰/۲۷	۵/۱۳	۰/۶۶

حروف مشابه نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها است ( $p < 0/05$ ).

جدول ۲- مقایسه وزن نهایی، نرخ رشد ویژه و ضریب تبدیل غذایی در گروه‌های مورد مطالعه در پایان دوره

گروه‌ها	نمونه	میانگین	خطای استاندارد
۱	۱۵	۳۸/۴۹ <sup>a</sup>	۲/۶۱
۲	۱۵	۴۵/۲۳ <sup>a</sup>	۱/۰
۳	۱۵	۵۷/۱۱ <sup>b</sup>	۴/۳۷
۴	۱۵	۴۲/۹۸ <sup>a</sup>	۲/۷۹
۱	۱۵	۱/۰۸ <sup>a</sup>	۰/۱۴
۲	۱۵	۱/۳۶ <sup>a</sup>	۰/۰۸
۳	۱۵	۱/۸۳ <sup>b</sup>	۰/۱۷
۴	۱۵	۱/۳۳ <sup>a</sup>	۰/۱۴
۱	۳	۳/۳۵ <sup>a</sup>	۰/۰۵
۲	۳	۳/۰۳ <sup>b</sup>	۰/۰۳
۳	۳	۲/۳۶ <sup>c</sup>	۰/۰۴
۴	۳	۲/۸۸ <sup>b</sup>	۰/۰۴
۱	۱۵	۹۲/۴۹ <sup>a</sup>	۱۶/۲۱
۲	۱۵	۱۱۹/۲۶ <sup>a</sup>	۱۱/۸۴
۳	۱۵	۱۹۹/۱۹ <sup>a</sup>	۲۸/۴۴
۴	۱۵	۱۲۰/۶۳ <sup>a</sup>	۱۷/۶۲

حروف مشابه نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها است ( $p < 0/05$ ).



نمودار ۱- مقایسه میانگین وزن بر حسب گرم در گروه‌های مورد مطالعه و سه زمان نمونه‌برداری؛ آغاز دوره، میان‌دوره و پایان‌دوره

تغییرات فاکتورهای سرمی خون ماهیان کپور تغذیه‌شده با غلظت‌های مختلف آویشن شیرازی در جدول ۳ آورده شده است. بر اساس نتایج حاصله وجود اختلاف معنی‌دار در میزان فاکتورهای سرمی پروتئین تام ( $p=0/005$ ) و گلوبولین ( $p=0/017$ ) در هر ۴ گروه در مقایسه با یکدیگر محرز است. نتایج حاکی از مقدار بیشینه پروتئین تام ( $4/06 \pm 0/16$  گرم در دسی‌لیتر) و گلوبولین

تأثیر معنی‌داری نداشت. مقدار گلوبولین سرم در ماهیان کپور مورد آزمایش ( $2/62 \pm 0/06$  گرم در دسی‌لیتر) در گروه ۳ می‌باشد. کمینه مقدار گلوبولین سرم در ماهیان کپور مورد آزمایش ( $2/34 \pm 0/06$  گرم در دسی‌لیتر) مربوط به تأثیر دوز ۱۵۰ در میلیون آویشن (گروه ۴) و گروه کنترل می‌باشد که با یکدیگر اختلاف معنی‌داری ندارند. مصرف مقادیر مختلف پودر آویشن شیرازی بر مقدار آلبومین سرم کپور معمولی

تغییرات پارامترهای سرمی در گروه‌های مورد مطالعه در پایان دوره

پارامترهای سرمی	گروه‌ها	تعداد	میانگین	خطای معیار
پروتئین تام سرم (گرم در دسی‌لیتر)	۱	۹	$3/64^a$	۰/۰۷
	۲	۹	$3/62^a$	۰/۰۴
	۳	۹	$4/06^b$	۰/۱۶
	۴	۹	$3/58^a$	۰/۰۵
جمع		۳۶	$3/73$	۰/۰۵

جدول ۳- تغییرات پارامترهای سرمی در گروه‌های مورد مطالعه در پایان دوره

پارامترهای سرمی	گروه‌ها	تعداد	میانگین	خطای معیار
پروتئین تام سرم (گرم در دسی‌لیتر)	۱	۹	$3/64^a$	۰/۰۷
	۲	۹	$3/62^a$	۰/۰۴
	۳	۹	$4/06^b$	۰/۱۶
	۴	۹	$3/58^a$	۰/۰۵
جمع		۳۶	$3/73$	۰/۰۵

ادامه جدول ۳				
۰/۰۶	۲/۳۴ <sup>a</sup>	۹	۱	
۰/۰۷	۲/۳۷ <sup>ab</sup>	۹	۲	گلوبولین
۰/۰۶	۲/۶۲ <sup>b</sup>	۹	۳	(گرم در دسی‌لیتر)
۰/۰۶	۲/۳۴ <sup>a</sup>	۹	۴	
۰/۰۳	۲/۴۲	۳۶		جمع
۰/۰۶	۱/۳۰	۹	۱	
۰/۰۵	۱/۲۴	۹	۲	آلبومین
۰/۱۵	۱/۴۴	۹	۳	(گرم در دسی‌لیتر)
۰/۰۷	۱/۲۴	۹	۴	
۰/۰۴	۱/۳۰	۳۶		جمع

حروف غیرمشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها است ( $p < 0/05$ ).

افزایش تعداد گلبول‌های قرمز خون نیز همچون گلبول‌های سفید به‌طور معنی‌داری تأثیرپذیری بیشتری از مکمل‌سازی با دوز ۱۰۰ در میلیون آویشن (گروه ۳) داشت ( $p < 0/05$ )، به‌طوری‌که میزان آن در گروه فوق ( $10^6 \times 11/50 \pm 0/11$  در میلی‌متر مکعب) به‌طور قابل ملاحظه‌ای از گروه‌های دیگر از جمله گروه کنترل بیشتر بود. بر همین منوال میزان هماتوکریت خون کپورهای تیمار شده با پودر آویشن با دوز ۱۰۰ در میلیون ( $28/78 \pm 0/62$  درصد) افزایش معنی‌داری نسبت به سایر گروه‌ها نشان داد. به همین ترتیب مقدار هموگلوبین گروه ۳ ( $9/29 \pm 0/20$  گرم در دسی‌لیتر) افزایش معنی‌داری ( $p < 0/05$ ) نسبت به سایر گروه‌ها داشت. برخلاف فاکتورهای اشاره شده بالا، کمینه MCV و MCH به ترتیب  $116/35 \pm 4/19$  فمتولیترا و  $37/57 \pm 1/41$  پیکوگرم در هر سلول در گروه تیمار شده با پودر آویشن با دوز ۱۰۰ در میلیون (گروه ۳) و بیشینه این فاکتورها به ترتیب  $166/2 \pm 91/55$  فمتولیترا و  $53/01 \pm 1/07$  پیکوگرم در هر

نتایج آزمایشات خون‌شناسی در جدول ۴ آمده است. در مورد فاکتورهای سرمی WBC (گلبول سفید)، RBC (گلبول قرمز)، Hct (هماتوکریت)، MCV (حجم متوسط هموگلوبین)، Hb (هموگلوبین)، MCH (وزن متوسط هموگلوبین) و MCHC (غلظت متوسط هموگلوبین) اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های مورد مطالعه وجود داشت. بر اساس این نتایج، بیشترین تأثیر بر افزایش تعداد گلبول‌های سفید متأثر از مکمل‌سازی با دوز ۱۰۰ در میلیون آویشن (گروه ۳) می‌باشد ( $67/83 \pm 0/71 \times 10^4$  در میلی‌متر مکعب) که با مقادیر گروه‌های دیگر اختلاف معنی‌داری داشت ( $p < 0/05$ ). بر همین اساس تعداد گلبول‌های سفید متأثر از مکمل‌سازی با آویشن با دوزهای ۵۰ در میلیون (گروه ۲) و ۱۵۰ در میلیون (گروه ۴) نیز با گروه کنترل اختلاف معنی‌داری داشتند ( $p < 0/05$ )، ولی این دو گروه ضمن اختلاف با گروه ۳، با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نداشتند.

سلول در گروه کنترل قرار داشت که با سایر گروه‌ها اختلاف معنی‌داری نشان دادند ( $p < 0/05$ ). در گروه‌های مختلف از لحاظ میزان MCHC تفاوت معنی‌داری وجود نداشت.

جدول ۴- مقایسه میانگین مقادیر فاکتورهای خونی کپور ماهی بین گروه‌های مورد مطالعه

خطای معیار	میانگین	تعداد	گروه‌ها	
۰/۷۸	۵۰/۲۶ <sup>a</sup>	۹	۱	WBC ( $\times 10^9/ \text{mm}$ )
۰/۷۰	۵۵/۴۸ <sup>b</sup>	۹	۲	
۰/۷۱	۶۷/۸۳ <sup>c</sup>	۹	۳	
۱/۰۲	۵۶/۳۰ <sup>b</sup>	۹	۴	
۰/۰۳	۱/۵۳ <sup>a</sup>	۹	۱	RBC ( $\times 10^9/ \text{mm}$ )
۰/۰۷	۱/۸۰ <sup>ab</sup>	۹	۲	
۰/۱۱	۲/۵۰ <sup>c</sup>	۹	۳	
۰/۰۶	۲/۰۰ <sup>b</sup>	۹	۴	
۰/۲۲	۲۵/۲۲ <sup>ab</sup>	۹	۱	Hct (%)
۰/۴۳	۲۶/۷۸ <sup>b</sup>	۹	۲	
۰/۶۲	۲۸/۷۸ <sup>c</sup>	۹	۳	
۰/۵۳	۲۴/۵۶ <sup>a</sup>	۹	۴	
۲/۵۵	۱۶۴/۹۱ <sup>a</sup>	۹	۱	MCV (fL)
۳/۳۷	۱۴۹/۷۱ <sup>b</sup>	۹	۲	
۴/۱۹	۱۱۶/۳۵ <sup>c</sup>	۹	۳	
۳/۳۵	۱۲۳/۳۳ <sup>c</sup>	۹	۴	
۰/۰۳	۸/۱۰ <sup>a</sup>	۹	۱	Hb (g/dL)
۰/۱۴	۸/۶۶ <sup>a</sup>	۹	۲	
۰/۲۰	۹/۲۹ <sup>b</sup>	۹	۳	
۰/۲۰	۸/۲۰ <sup>a</sup>	۹	۴	
۱/۰۷	۵۳/۰۱ <sup>a</sup>	۹	۱	MCH (pg cell <sup>-1</sup> )
۱/۲۴	۴۸/۴۲ <sup>b</sup>	۹	۲	
۱/۴۱	۳۷/۵۷ <sup>c</sup>	۹	۳	
۰/۷۳	۴۱/۱۰ <sup>c</sup>	۹	۴	
۰/۲۲	۳۲/۱۳ <sup>a</sup>	۹	۱	MCHC (%)
۰/۲۵	۳۲/۳۳ <sup>b</sup>	۹	۲	
۰/۲۱	۳۲/۲۸ <sup>c</sup>	۹	۳	
۰/۵۴	۳۳/۴۱ <sup>d</sup>	۹	۴	

حروف غیر مشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها است ( $p < 0/05$ ).



## بحث و نتیجه‌گیری

استفاده از گیاهان دارویی به منظور کاهش استرس، ارتقا سطح ایمنی و نهایتاً کاهش تلفات در بین پرورش‌دهندگان ماهی بسیار رایج گردیده است (Xie *et al.*, 2008)، ولی منابعی که نشان‌دهنده تأثیر آویشن شیرازی بر ماهی، به خصوص رشد ماهی کپور باشد، بسیار کم است. آنتراکینون به عنوان یک ترکیب گیاهی باعث ارتقاء شاخص‌های رشد از جمله وزن نهائی (گرم)، درصد نرخ رشد ویژه و درصد وزن به‌دست آمده در کپور ماهی معمولی گردیده است (Xie *et al.*, 2008). در مطالعه حاضر، شاخص‌های رشد در اثر مکمل‌سازی تغذیه با آویشن شیرازی با دوز ۱۰۰ در میلیون نسبت به گروه کنترل و سایر گروه‌ها افزایش بیشتری را نشان داد. بر اساس نتایج نمودار ۱، مشخص شد که تا وسط دوره تحقیق، پس از گروه ۳ (مکمل‌سازی با دوز ۱۰۰ در میلیون پودر آویشن)، مؤثرترین غلظت پودر آویشن در افزایش میانگین وزنی ماهی کپور معمولی ۱۵۰ در میلیون آویشن می‌باشد. البته با افزایش دوره تحقیق، تأثیرگذاری غلظت ۱۵۰ در میلیون آویشن در افزایش میانگین وزنی کاهش داشته و بالعکس گروه ۲ (مکمل‌سازی با دوز ۵۰ در میلیون پودر آویشن) با افزایش رشد نسبی روبرو شده است. در مطالعه‌ای دیگر توسط پاکروان و همکاران در سال ۲۰۱۲ این شاخص‌ها هیچ تغییری را نسبت به گروه شاهد در ماهی کپور معمولی از خود نشان ندادند (Pakravan *et al.*, 2012).

در تحقیقی (Sharif Rohani *et al.*, 2013) میزان پروتئین تام سرم خون ماهی خاویاری قره‌برون تغذیه‌شده با جیره غذایی مکمل‌سازی‌شده با روغن آویشن با دوز ۱۰۰ گرم در کیلوگرم غذا،  $1/48 \pm 0/12$  گرم در دسی‌لیتر محاسبه گردیده است که در مقایسه با گروه شاهد ( $2/28 \pm 0/07$  گرم در دسی‌لیتر)، عملاً مقدار پروتئین تام کمتری از گروه کنترل داشته است. این مقادیر می‌تواند نشان از تأثیر منفی آویشن شیرازی بر پروتئین تام پلاسما در ماهی خاویاری ایرانی باشد. نتیجه تحقیق ما نشان داد که ۱۰۰ گرم پودر آویشن در کیلوگرم غذا باعث افزایش قابل توجه پروتئین تام سرم از  $3/64 \pm 0/07$  گرم در دسی‌لیتر در گروه کنترل به  $4/06 \pm 0/16$  گرم در دسی‌لیتر شده است که نشان از تأثیر مثبت آویشن شیرازی بر پروتئین تام پلاسما کپور معمولی حداقل در شکل پودر آن دارد. این احتمال وجود دارد که در آزمایشی که روی ماهی قره‌برون انجام شده، میزان مواد مؤثره آویشن شیرازی که به صورت عصاره، مکمل‌سازی گردیده بیش از حد تصور بوده است.

در مطالعه‌ای که توسط اکبری و همکاران در سال ۲۰۱۵ انجام شده، اثر آویشن شیرازی روی قزل‌آلای رنگین‌کمان بررسی گردیده و بیشترین میزان فعالیت فاگوسیتوزی و انفجار تنفسی در گروه تغذیه‌شده با غلظت ۵۰ میلی‌گرم عصاره آویشن شیرازی در کیلوگرم غذا مشاهده شده است. بیشترین تعداد گلبول سفید و میزان فعالیت لیزوزیم در گروه تغذیه‌شده با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم عصاره آویشن شیرازی در کیلوگرم غذا مشاهده شده ولی گلبول‌های قرمز در بین گروه شاهد و گروه‌های

سرمی است. به هر حال، در بررسی ما در پی استفاده از آویشن شیرازی که در قالب پودر به غذا اضافه شد، شاخص‌های فوق روند نسبتاً صعودی نشان دادند. در تحقیقی مشابه (Sharif Roohani, 2007) مشخص شده است که افزودن غلظت ۱۰۰-۵۰ در میلیون روغن آویشن شیرازی در آب محیط ماهی اثر بیهوش‌کنندگی بر قزل‌آلای رنگین‌کمان و آزادماهی دریای خزر طی ۲ تا ۳ دقیقه دارد.

بر اساس نتایج به‌دست آمده، پودر آویشن شیرازی نقش نسبتاً موثری در بهبود رشد و شاخص‌های خونی کپورماهی معمولی (*Cyprinus carpio*) دارد.

### سیاسگزاری

نویسندگان مقاله از دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرمانشاه به‌دلیل تأمین منابع مالی مورد نیاز برای اجرای طرح پژوهشی مصوب با کد ۱۹۲۹۵۰۸۲۴۰۰۹۳ قدردانی می‌نمایند.

### تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تضاد منافی ندارند.

تیمار تفاوت معنی‌داری را نداشته‌اند (Akbari *et al.*, 2015). در مطالعه حاضر نیز بیشترین میزان گلبول سفید مربوط به گروه تیمار با دوز ۱۵۰ در میلیون پودر آویشن بود که با گروه کنترل تفاوت معنی‌داری داشت. بر اساس نتایج مطالعه ما، آویشن شیرازی تأثیر مناسبی بر افزایش میزان گلبول‌های سفید و قرمز خون دارد و به‌نظر می‌رسد در ارتقاء سطح کیفی حیاتی ماهی کپور مؤثر باشد.

در هر حال بر خلاف این یافته‌های ما، در تحقیقی دیگر (Soltani *et al.*, 2010) تفاوت معنی‌داری بین گروه کنترل و تیمارهای غذایی مکمل‌سازی‌شده با روغن آویشن شیرازی، در خصوص فاکتورهای پلاسمایی از جمله پروتئین تام، آلبومین و گلوبولین و نیز فعالیت لیزوزیمی تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. طی مطالعه شیخ‌زاده و همکاران در سال ۲۰۱۱ شاخص‌های خونی ماهی کپور معمولی متأثر از روغن آویشن شیرازی نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری داشتند (Sheikhzadeh *et al.*, 2011). ایشان دریافتند میزان فعالیت انفجار تنفسی در گروه تیمار در روز بیست و دوم مطالعه کمتر از روز اول بوده است. یافته‌های این پژوهش در مشابَهت با نتایج تحقیقی که روی ماهی قره‌برون (Sharif Rohani, 2006) انجام شده، نشان می‌دهد که روغن آویشن به دلیل بالا بودن مواد مؤثره، دارای تأثیر کاهشی بر شاخص‌های

## منابع

- Akbary, P., Ghareghani poor, M. and Fereidouni, M.S. (2015). Effects of Zataria multiflora Boiss and Mentha pulegium L extracts on Phagocytosis, Lysozyme, Respiratory Burst and Blood Cells of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum). *Journal of Veterinary Research*, 70(4): 447-454. [In Persian]
- Ali, M.S., Saleem, M., Akhtar, F., Jahangir, M., Parvez, M. and Ahmad, V.U. (1999). Three p-cymene derivatives from Zataria multiflora. *Phytochemistry*, 52(4): 685-688.
- Ali, M.S., Saleem, M., Ali, Z. and Ahmad, V.U. (2000). Chemistry of Zataria multiflora (Lamiaceae). *Phytochemistry*, 55(8): 933-936.
- Bureau, D.P., Harris, A.M. and Cho, C.Y. (1998). The effects of purified alcohol extracts from soy products on feed intake and growth of chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 161(1): 27-43.
- Can Baser, K. (2008). Biological and pharmacological activities of carvacrol and carvacrol bearing essential oils. *Current Pharmaceutical Design*, 14 (29): 3106-3119.
- Choobkar, N., Soltani, M., Ebrahimzadeh Mousavi, H., Akhonzadeh Basti, A. and Matinfar, A. (2010). Effect of Zataria multiflora Boiss essential oil on the growth of *Staphylococcus aureus* in the light salted fillets of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*). *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 9 (3): 352-359.
- Dacie, J.V. and Lewis, S.M. (2001). *Miscellaneous tests, Dacie and Lewis Practical Haematology*. 10th ed., Churchill Livingstone, pp: 736.
- Grant, K.R. (2015). Fish hematology and associated disorders. *Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice*, 18(1): 83-103.
- Harikrishnan, R., Balasundaram, C. and Heo, M.S. (2012). Effect of *Inonotus obliquus* enriched diet on hematology, immune response, and disease protection in kelp grouper, *Epinephelus bruneus* against *Vibrio harveyi*. *Aquaculture*, 344: 48-53.
- Hosseinzadeh, H., Ramezani, M. and Salmani, G.A. (2000). Antinociceptive, anti-inflammatory and acute toxicity effects of Zataria multiflora Boiss extracts in mice and rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 73(3): 379-385.
- Iran Ministry of Health and Medicine (2002). *Iranian Herbal Pharmacopoeia*, Ministry of Health and Medical Publications, Tehran, pp: 51-56. [In Persian]
- Kakoolaki, S., Akbary, P., Zorriehzahra, M. J., Salehi, H., Sepahdari, A., Afsharnasab, M., *et al.* (2016). *Camellia sinensis* supplemented diet enhances the innate non-specific responses, haematological parameters and growth performance in *Mugil cephalus* against *Photobacterium damsela*. *Fish and Shellfish Immunology*, 57: 379-385.
- Mohagheghzadeh, A., Shams-Ardakani, M. and Ghannadi, A. (2000). Volatile constituents of callus and flower-bearing tops of Zataria multiflora Boiss. (Lamiaceae). *Flavour and Fragrance Journal*, 15(6): 373-376.
- Mozaffarian, V. (1996). *A dictionary of Iranian plant names*. Iran: Tehran, Farhang Mo'aser, pp: 756. [In Persian]
- Pakravan, S., Hajimoradloo, A. and Ghorbani, R. (2012). Effect of dietary willow herb, *Epilobium hirsutum* extract on growth performance, body composition, haematological parameters and *Aeromonas hydrophila* challenge on common carp, *Cyprinus carpio*. *Aquaculture Research*, 43(6): 861-86.

- Sahu, S., Das, B., Mishra, B., Pradhan, J. and Sarangi, N. (2007). Effect of *Allium sativum* on the immunity and survival of *Labeo rohita* infected with *Aeromonas hydrophila*. *Journal of Applied Ichthyology*, 23(1): 80-86.
- Sakai, M., Taniguchi, K., Mamoto, K., Ogawa, H. and Tabata, M. (2001). Immunostimulant effects of nucleotide isolated from yeast RNA on carp, *Cyprinus carpio* L. *Journal of Fish Diseases*, 24(8): 433-438.
- Shafiee, A., Javidnia, K. and Tabatabai, M. (1999). Volatile constituents and antimicrobial activity of *Zataria multiflora*, population Iran. *Iranian Journal of Chemistry and Chemical Engineering (IJCCE)*, 18(1): 1-5.
- Sharif Rohani, M., Ebrahimzadeh Mousavi, H., Khosravi, A., Mokhayer, B., Bahonar, A., Mirzargar, S., *et al.* (2006). Evaluation of *Geranium herbarum* essence application in control of fungal contamination in Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) eggs. *Journal of Faculty of Veterinary Medicine*, 61(3): 269-272.
- Sharif Rohani, M., Masoumzadeh, M., Haghighi, M., Jalilpoor, J., Pourdehghani, M., Shenavar Masouleh, A., *et al.* (2013). Effects of oral administration of *Zataria multiflora* essential oil on some blood and serum parameters in *Acipenser persicus*. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 12(4): 908-915.
- Sharif Roohani, M., Haghighi, M., Assaeian, H. and Lashtoo Aghae, G.R. (2007). A study of the anesthetic effect of *Zataria multiflora* Boiss. (Labiatae) essence on *Oncorhynchus mykiss* and cultured *Salmo trutta caspius*. *Iranian Scientific Fisheries Journal*, 16: 99-106. [In Persian]
- Sheikhzadeh, N., Soltani, M., Ebrahimzadeh-Mousavi, H.A., Shahbazian, N. and Norouzi, M. (2011). Effects of *Zataria multiflora* and *Eucalyptus globulus* essential oils on haematological parameters and respiratory burst activity in *Cyprinus carpio*. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 10(2): 316-323.
- Soltani, M., Sheikhzadeh, N., Ebrahimzadeh-Mousavi, H.A. and Zargar, A. (2010). Effects of *Zataria multiflora* essential oil on innate immune responses of common carp (*Cyprinus carpio*). *Journal of Fisheries and Aquatic science*, 5(3): 191-199.
- Xie, J., Liu, B., Zhou, Q., Su, Y., He, Y., Pan, L., *et al.* (2008). Effects of anthraquinone extract from rhubarb *Rheum officinale* Bail on the crowding stress response and growth of common carp *Cyprinus carpio* var. Jian. *Aquaculture*, 281(1): 5-11.

## Effects of supplementation of powdered *Zataria multiflora* on growth performance and serumic parameters in common carp (*Cyprinus Carpio*)

Choobkar, N.<sup>1\*</sup>, Kakoolaki, S.<sup>2</sup>, Rezaeimanesh, M.<sup>3</sup>, Mohammadi, F.<sup>4</sup>, Safar Khanloo, L.<sup>5</sup>

1- Assistant Professor, Department of Fisheries, Faculty of Agriculture, Kermanshah Branch, Islamic Azad University, Kermanshah, Iran.

2- Associate Professor, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Iranian Fisheries Science Research Institute (IFSRI), Tehran, Iran.

3- MSc Graduate of Aquatic Ecology, Department of Environment Science, Faculty of Environment, University of Environment, Karaj, Iran.

4- Assistant Professor, Department of Veterinary, Faculty of Agriculture, Kermanshah Branch, Islamic Azad University, Kermanshah, Iran.

5- Ph.D. Graduate, Department of Fisheries, Faculty of Agriculture, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

\*Corresponding author's email: nchoobkar20@iauksh.ac.ir.

(Received: 2017/1/19 Accepted: 2017/7/26)

### Abstract

The use of medicinal plants can be effective in increasing the growth of aquatic organisms and to promote a non-specific immune level to increase resistance to diseases in aquaculture. *Zataria multiflora*, a plant of the Lamiaceae family, is an example of such medicinal plants containing mainly thymol and carvacrol, with well-known antimicrobial and anti-fungal properties. Therefore, the aim of this study was to investigate the effect of different doses of thyme powder (*Zataria multiflora*) on growth performance and serumic parameters of young common carp (*Cyprinus carpio*). Therefore, two hundred and forty fish, with initial weight of  $20/27 \pm 5.13$  g, were distributed among the treatments. Food was made with adding the powdered thyme in 4 formulations with 0 (control or Group 1), 50 (Group II), 100 (Group III) and eventually 150 ppm (Group IV) with a size of 4.3 mm. It was fed to the fish 3 to 4 times a day at a rate of 3-4% of their body weight, for 8 weeks. Specific growth rate and serumic parameters including total protein, albumin and globulin were measured and one-way ANOVA was used to compare the differences in the values of the variables studied in different treatments. Results showed that the average weight in group 3 ( $57/11 \pm 4/37$ ) was significantly ( $p < 0/05$ ) increased compared to the control group ( $38/49 \pm 2/61$ ) and other treatments. Specific growth rate followed this pattern and the average of group 3 ( $1/87 \pm 0/17$ ) was significantly ( $p < 0/05$ ) greater than the control as the minimum value ( $1/08 \pm 0/14$ ) and the other groups. There was a significant difference in the amounts of total protein ( $p = 0/005$ ) and globulin ( $p = 0/017$ ) between the 4 groups. Based on the results, powdered thyme is effective in improving growth and serumic parameters of common carp (*C. carpio*).

**Conflict of interest:** None declared.

**Keywords:** *Zataria multiflora*, *Cyprinus carpio*, Growth indicators, Haematological parameters.