

تأثیر سطوح مختلف تیمول بر پاسخ ایمنی، تغییرات خونی و ظرفیت آنتی اکسیدانی ماهی کلمه خزری (*Rutilus lacustris*) تحت شرایط حمل و نقل

فرامرز نامور، حجت الله جعفریان*، حسین آدینه، محمد فرهنگی

گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران.

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۵/۰۵

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۳/۱۴

چکیده

فعالیت حمل و نقل ماهی در صنعت آبزی پروری یکی از عوامل استرس زا است که باعث تغییرات فیزیولوژیکی در سیستم ایمنی می شود. هدف از اجرای این پژوهش، بررسی اثرات بیهوشی با سطوح مختلف تیمول (افزودن تیمول به آب با غلظت های ۰، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم در لیتر) در زمان حمل و نقل ماهیان ماهی کلمه خزری (*Rutilus lacustris*) دریایی و استخری (گلبول قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت) در تیمار با غلظت بالای تیمول آنتی اکسیدانی بود. شاخص های خونی مولدین دریایی و استخری (گلبول قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت) در تیمار با غلظت بالای تیمول کاهش معنی دار داشت ($P < 0.05$) در حالی که دیگر فاکتورها (نوتروفیل ها، لنفوسیت ها و مونوسیت ها) تفاوت معنی دار نداشت ($P > 0.05$). نتایج نشان داد که با افزایش غلظت تیمول سطح کورتیزول کاهش معنی دار آماری ($P < 0.05$) و فعالیت لیزوزیم، کمپلمان و ایمونوگلوبین خون افزایش داشت. با افزودن تیمول فعالیت آنتی اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز افزایش و کاتالاز و مالون دی آلدئید کاهش معنی داری داشت ($P < 0.05$). به طور کلی نتایج استرس حمل و نقل نشان داد که افزودن ۱۰۰ میلی گرم در لیتر تیمول در آب باعث بهبود وضعیت ایمنی و آنتی اکسیدانی مولدین ماهی کلمه می گردد.

کلید واژگان: ماهی کلمه خزری، استرس، آبزی پروری، ظرفیت آنتی اکسیدانی

مقدمه

دریای خزر به‌عنوان بزرگترین حوزه آبی بسته در دنیا شناخته می‌شود (قربانی و همکاران، ۱۳۹۱). این زیستگاه دارای ۱۱۰ گونه و زیر گونه از ماهیان می‌باشد (Eagderi *et al.*, 2022) که بیش از ۴۰ گونه دارای ارزش اقتصادی می‌باشند (مهدی پور و همکاران، ۱۳۹۵). ماهی کلمه خزری یکی از گونه‌های ارزشمند دریای خزر است که منشاء غذایی مهمی برای ساکنین بومی مناطق جنوب دریای خزر به‌شمار می‌آید. از آنجا که این ماهی برای مصارف انسانی استفاده می‌شود بنابراین بررسی محیط زندگی آن و عاری بودن محیط‌زیست از انواع آلودگی‌های زیست‌محیطی نیاز به توجه ویژه دارد. متأسفانه طی سال‌های گذشته ذخایر این ماهی در اثر تخریب مناطق تخم‌ریزی و صید بیش از حد در معرض خطر قرار گرفته است (Kiabi and Abdoli, 1999). با توجه به خطر انقراض این گونه، سازمان شیلات ایران برای حفظ و بازسازی ذخایر ماهی کلمه نیز هر سال میلیون‌ها لارو و بچه ماهی که از طریق تکثیر نیمه‌مصنوعی تولید می‌شود را به رودخانه‌های اطراف دریای خزر رهاسازی می‌کند.

یکی از روش‌های بکارگیری در کاهش استرس و به‌خصوص در فرآیند حمل و نقل، آرام‌سازی ماهی با ترکیبات شیمیایی و استفاده از ترکیبات سنتتیک به‌دست آمده از گیاهان و آنالوگ‌های آنها می‌باشد که می‌تواند در کاهش استرس ماهیان در زمان حمل و نقل آنها مفید باشد. حمل و نقل ماهی در آبی‌پروری متداول بوده و به‌عنوان یکی از فعالیت‌های آبی‌پروری که باعث استرس و کاهش سلامت ماهی می‌شود، مطرح می‌باشد (Wang *et al.*, 2021). در طول حمل و نقل، ماهیان به‌دلیل تراکم بالا و کاهش کیفیت آب، شرایط نامناسبی را تجربه کرده که می‌تواند باعث آسیب‌های پاتولوژیک و کاهش ایمنی ماهی شود. به‌همین دلیل، مطالعات متعددی در خصوص کاهش اثرات منفی حمل و نقل در ماهی انجام شده است و در همین راستا، استفاده از افزودنی‌ها به آب حمل و نقل به‌عنوان یکی از روش‌های مؤثر بهبود شرایط ماهی در طی فرآیند حمل مطرح شده‌اند (Harmon, 2009). اصولاً در خصوص مولدینی که از محیط‌های طبیعی صید می‌گردند فرآیند حمل و نقل به‌عنوان یک عامل استرس‌زا برای ماهیان تلقی می‌گردد (Cooke *et al.*, 2013).

استفاده از مواد بیهوش‌کننده جهت حمل و نقل ماهی در پژوهش‌های متعددی مورد مطالعه قرار گرفته است (Purbosari *et al.*, 2019). این مواد در غلظت مشخص باعث آرام شدن ماهی می‌شوند و به‌همین دلیل، فعالیت فیزیکی ماهی در طی فرآیند حمل کم می‌شود. کاهش فعالیت فیزیکی ماهی، آسیب‌های مکانیکی را کاهش می‌دهد. همچنین، کاهش فعالیت فیزیکی باعث کاهش مصرف اکسیژن و آب و کاهش دفع آمونیاک و دی‌اکسید کربن شده و از افت کیفیت آب جلوگیری می‌کند. به این ترتیب، مواد بیهوش‌کننده می‌توانند اثرات مثبت (Santos *et al.*, 2020; Costa *et al.*, 2020) و منفی (Benovit *et al.*, 2012) در طی حمل و نقل ماهی داشته باشند. همچنین طیف وسیعی از افزودنی‌های به آب مخازن نگهداری ماهیان صید شده و حمل و نقل آنها توسط ماهیگیران استفاده می‌شود، که حاوی مواد شیمیایی متنوعی هستند که با هدف کاهش استرس فیزیولوژیکی و یا عفونت‌های مرتبط با آسیب و در نهایت بقا می‌شوند.

فرآیند حمل و نقل بلافاصله بعد از صید مولدین به منظور انتقال آنها به مراکز تکثیر و یا جایگاه‌های تکثیر نظیر استخرهای تکثیر صورت می‌گیرد. استرس ناشی از حمل و نقل می‌تواند بر فرآیند تکثیر مولدین ماهی تأثیر منفی ایجاد نماید (Dobsikova *et al.*, 2009). افزایش تراکم ماهی، کاهش اکسیژن و افزایش آمونیاک در مخازن ماهی و کیسه های پلاستیکی می‌تواند برای ماهیان ایجاد اختلال نماید به همین جهت استفاده از آرام‌کننده‌های نظیر تیمول در این خصوص توصیه شده است (Aydm *et al.*, 2020). تیمول یک ترکیب فنلی است که از گیاهانی نظیر آویشن به‌دست می‌آید. این ماده در دوزهای پایین آرام‌بخش بوده و در دوزهای بالاتر موجب بیهوشی ماهی می‌گردد از این‌رو رفتار ماهی در فازهای مختلف بیهوشی متفاوت خواهد بود (Yousefi *et al.*, 2018). هدف از اجرای این تحقیق، بررسی اثرات افزودن سطوح مختلف تیمول در آب بر پاسخ ایمنی، تغییرات خونی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی مولدین دریایی و استخری ماهی کلمه در شرایط استرس ناشی از فرآیند حمل و نقل است.

مواد و روش‌ها

طرح آزمایش: نمونه‌برداری از ماهی کلمه مولد وحشی دریایی و مولدین نگهداری شده در استخر در مرکز تکثیر ماهی کلمه سیجوال نیز با تور گوشگیر با سایز چشمه ۲۸ میلی‌متری انجام شد. ماهیان مولد کلمه برای حمل و نقل تحت تأثیر سطوح مختلف تیمول شرکت سیگما به مقدار ۰، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر قرار گرفت بنابراین مولد وحشی دریایی (S) در چهار سطح تیمول (TS0، TS1، TS2 و TS3) و مولدین نگهداری شده در استخر (P) در چهار سطح تیمول (TP0، TP1، TP2 و TP3) انجام شد. در تمام مراحل استفاده از تیمول، نسبت محلول‌سازی به‌صورت زیر استفاده گردید. محلول مورد استفاده شامل یک گرم از تیمول با ۹ میلی‌لیتر از اتانول ۹۶٪ به‌صورت کامل محلول گردیده و به هر لیتر آب اضافه گردید (میرزرگر و همکاران، ۱۴۰۰). برای حمل و نقل ماهیان از سطوح مختلف تیمول به‌مدت ۳ ساعت استفاده شد. در فرآیند حمل و نقل کوتاه‌مدت از کیسه‌های نایلونی ۵۰ لیتری استفاده گردید.

نمونه خون مولدین وحشی دریایی و مولدین نگهداری شده در استخر با استفاده از سرنگ ۲ میلی‌لیتری از ناحیه سیاهرگ دمی ماهیان گرفته شد. نمونه‌های خون جمع‌آوری شده به دو قسمت تقسیم شدند. یک قسمت جهت اندازه‌گیری پارامترهای خون‌شناسی درون میکروتیوب‌های حاوی ماده ضد انعقاد هپارین و قسمت دیگر به لوله‌های سرولوژی فاقد ماده ضد انعقاد برای جداسازی سرم و سنجش فاکتورهای بیوشیمیایی منتقل شد. نمونه‌های خون جهت اندازه‌گیری پارامترهای هماتولوژی روی پودر یخ به آزمایشگاه انتقال یافت. برای جداسازی سرم تیوب‌های حاوی خون بدون هپارین به‌مدت ۲۴ ساعت درون یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند و پس از ته‌نشین شدن لخته، نمونه‌های خون برای جداسازی سرم با سرعت ۵۰۰۰ دور به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد (Adineh et al., 2021). سرم از لخته جدا شد و توسط سمپلر درون ویال‌های مربوطه منتقل و تا زمان بررسی فاکتورهای خونی، ایمنی و آنتی‌اکسیدانی درون فریزر با دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

شاخص‌های خون‌شناسی مولدین ماهی کلمه: گلبول‌های سفید، قرمز و غلظت هموگلوبین با استفاده از لام هموسی‌تومتر نئوبار، درصد هماتوکریت مطابق روش انگلند و

به روش استاندارد میکروهماتوکریت و سیانمت هموگلوبین و اندازه‌گیری ضرایب گلبولی شامل حجم متوسط گلبول و غلظت (MCH)، هموگلوبین متوسط گلبول قرمز (MCV) و متوسط هموگلوبین گلبول‌های قرمز (MCHC)، از طریق فرمول‌های مربوطه اندازه‌گیری شد (Blaxhall and Daisley, 1973). به‌منظور شمارش تفریقی گلبول‌های سفید شامل نوتروفیل، لنفوسیت و مونوسیت‌ها نیز گسترش خونی روی لام‌های شیشه‌ای معمولی تهیه و به روش گیمسا تعیین گردید.

سنجش شاخص‌های استرس و ایمنی سرم خون: غلظت گلوکز سرم خون با استفاده از کیت تشخیصی شرکت پارس آزمون براساس دستورالعمل شرکت سازنده اندازه‌گیری شد. سطوح غلظت کورتیزول سرم با استفاده از کیت آزمایشگاهی به روش (ELISA) (IBL Co., Gesellschaft für Immunchemie und Immunbiologie) تعیین شد. میزان ایمونوگلوبولین کل توسط کیت مخصوص به‌روش کدورت‌سنجی و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر انجام شد. برای تعیین میزان فعالیت لیزوزیم سرم از روش ارائه‌شده توسط Ellis (۱۹۹۰) استفاده گردید. مقدار ۲۵ میکرولیتر به پلیت‌های ۹۶ خانه‌ای شکل الیزا افزوده شد. سپس مقدار ۱۷۵ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتریایی میکروکوکوس لیزودیکتیکوس (*Micrococcus Lysodeikticus*) در غلظت ۰/۰۲ میلی‌گرم در لیتر در ۰/۵ مولار بافر فسفات با پی‌اچ ۶/۲ اضافه شد. با استفاده از دستگاه الیزاریدر Bio-Tek آمریکا جذب نوری اولیه در طول موج ۵۳۰ نانومتر قرائت و پس از یک‌ساعت نگهداری در دمای اتاق، مجدداً جذب نوری اندازه‌گیری شد. هر واحد از فعالیت لیزوزیم براساس کاهش جذب (۰/۰۰۱ در دقیقه) تعیین شد. فعالیت مکمل (ACH50) براساس همولیز گلبول‌های قرمز خرگوش اندازه‌گیری گردید. گلبول‌های قرمز خرگوش سه مرتبه با بافر اتیلن‌گلیکول تترا استیک اسید-منیزیم-ژلاتین ورنال شسته شده و تعداد سلول‌های آن به کمک لام نئوبار در هر میلی‌لیتر بافر ۲×۱۰۸ سلول در میلی‌لیتر تنظیم شد. ابتدا جذب نوری لیز ۱۰۰ درصد گلبول‌های قرمز خرگوش با افزودن ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون فوق به ۳/۴ میلی‌لیتر آب مقطر تعیین و سپس نمونه‌های سرم ۱۰۰ برابر با بافر فوق، رقیق شده و حجم‌های متفاوتی از آن در لوله آزمایش استریل تهیه و حجم همه لوله‌ها به کمک بافر

نتایج

شاخص‌های خون‌شناسی ماهی کلمه خزری تحت بیهوشی با سطوح مختلف تیمول در شرایط حمل و نقل در جدول ۱ ارائه شده است. نتایج نشان داد که بیهوشی با تیمول تأثیر معنی‌داری بر میزان پارامترهای خونی مانند گلبول سفید، گلبول قرمز، هموگلوبین، هماتوکریت در مولدین ماهی کلمه دریایی داشته است ($P < 0/05$). تیمول تأثیر معنی‌داری بر میزان پارامترهای خونی مانند درصد نوتروفیل، درصد لنفوسیت و درصد منوسیت در مولدین ماهی کلمه دریایی نداشته است ($P > 0/05$)، اما بر این فاکتورها در مولدین کلمه پرورشی تأثیر معنی‌داری گذاشت ($P < 0/05$). علاوه بر این، اثر متقابل بین دو فاکتور محیط‌زیست و بیهوشی بر تعداد گلبول‌های سفید، نوتروفیل، لنفوسیت، منوسیت‌ها معنی‌دار نبوده که نشان‌دهنده اثر مستقل هر کدام از این فاکتورها بر پارامتر خونی ماهی کلمه می‌باشد.

داده‌های مربوط به پارامترهای ایمنی خون ماهی کلمه خزری در جدول ۲ ارائه شده است. نتایج نشان داد که بیهوشی با تیمول تأثیر معنی‌داری بر میزان پارامترهای ایمنی خونی مانند کورتیزول، گلوکز، فعالیت لیزوزیم و کمپلمان ۵۰ در مولدین ماهی کلمه دریایی و پرورشی داشته است ($P < 0/05$). علاوه بر این اثر متقابل بین دو فاکتور محیط‌زیست و بیهوشی بر پارامترهای ایمنی خون کورتیزول، گلوکز، فعالیت لیزوزیم و ایمونوگلوبین کل معنی‌دار بوده که نشان‌دهنده اثر متقابل این عوامل (محیط‌زیست و بیهوشی) بر پارامتر خونی ماهی کلمه دریایی و پرورشی می‌باشد ($P < 0/05$).

نتایج حاصل از بررسی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی خون ماهی کلمه خزری تحت بیهوشی با سطوح مختلف تیمول در شرایط حمل و نقل (جدول ۳) نشان داد که میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی خون مانند سوپر اکسید دیسمتاز، کاتالاز و مالون دی‌آلدهید در مولدین ماهی کلمه دریایی و پرورشی استخری تحت تأثیر معنی‌داری بیهوشی با تیمول قرار گرفت ($P < 0/05$). علاوه بر این، اثر متقابل بین دو فاکتور محیط‌زیست و بیهوشی بر فاکتورهای آنتی‌اکسیدانی معنی‌دار بوده که نشان‌دهنده اثر متقابل این شاخص‌ها بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی خون مولدین ماهی کلمه است ($P < 0/05$).

به ۲۵۰ میکرولیتر رسانده شد. سرانجام به همه لوله‌ها ۱۰۰ میکرولیتر گلبول قرمز خرگوش اضافه و مخلوط فوق در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۹۰ دقیقه قرار داده شده و در پایان به هر کدام از لوله‌ها ۳/۱۵ میلی‌لیتر محلول ۰/۸۵ درصد کلرید سدیم افزوده شد. سپس لوله‌ها در ۱۶۰۰ دور به مدت ۱۰ دقیقه و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شده و جذب نوری محلول رویی در طول موج ۴۱۴ نانومتر قرائت گردید (Sunyer and Tort, 1995).

سنجش فاکتورهای مرتبط با استرس اکسیداتیو سرم خون: برای آنزیم سوپر اکساید دیسمتاز (SOD)، ابتدا در حضور هیدروژن پراکساید (H_2O_2) فرآیند اتواکسیداسیون پیروگالول بررسی شد. در طی این فرآیند از سطح آنزیم سوپر اکساید دیسمتاز موجود در سرم کاسته شد، سپس سنجش با دستگاه اسپکتوفتومتر در طول موج ۴۲۰ نانومتر انجام شد (Marklund and Marklund, 1974). برای سنجش آنزیم کاتالاز (CAT)، سرم خون نمونه‌ها با محلول پراکسید هیدروژن (H_2O_2) به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق در مجاورت هم قرار گرفتند. سپس از محلول آمونیوم مولیبدات جهت توقف فرآیند اکسیداسیون جهت تعیین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز استفاده شد و سنجش با دستگاه اسپکتوفتومتر در طول موج ۴۱۰ نانومتر انجام شد (Goth, 1991). فعالیت مالانون دی‌آلدئید (MDA) براساس روش استاندارد در طول موج ۵۳۵ نانومتر سنجش شد (Baluchnejadmojarad et al., 2010).

تجزیه و تحلیل آماری: برای بررسی آماری داده‌های به‌دست آمده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۳ و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Microsoft Excel 2013 استفاده شد. داده‌ها ابتدا جهت اطمینان از نرمال بودن با آزمون شاپیرو-ولیک (Shapiro- Wilk Test) بررسی شد. سپس در صورت نرمال بودن توزیع داده‌های مورد بررسی، با استفاده از آزمون تجزیه واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) در سطح اطمینان ۹۵٪ ابتدا اختلاف کلی بین میانگین‌ها مشخص و سپس با پس آزمون دانکن (Duncan) گروه‌ها از یکدیگر تفکیک شد. برای بررسی اثر متقابل داده‌های به‌دست آمده از فاکتورهای بیوشیمیایی سرم خون ماهی کلمه مولد وحشی دریایی و مولدین نگهداری شده در استخر از آنالیز واریانس دوطرفه (Two way ANOVA) استفاده گردید.

جدول ۱- شاخص‌های خون‌شناسی ماهی کلمه خزری تحت بیهوشی با سطوح مختلف تیمول در شرایط حمل و نقل

دریایی / استخری	گلبول سفید (هزار/mm ³)	گلبول قرمز (میلیون/mm ³)	هموگلوبین (g/dL)	هماتوکریت (%)	نوتروفیل‌ها (%)	لنفوسیت‌ها (%)	مونوسیت‌ها (%)
TS0	420 ± 10 ^b	130 ± 0.35 ^a	776 ± 114 ^a	43.0 ± 0.4 ^a	1270 ± 0.3 ^a	810 ± 10 ^a	405 ± 95 ^a
TS1	499 ± 21 ^{ab}	125 ± 0.25 ^{ab}	765 ± 115 ^a	42.5 ± 1.43 ^a	1430 ± 0.7 ^a	811 ± 293 ^a	410 ± 89 ^a
TS2	465 ± 55 ^{ab}	122 ± 0.28 ^{bc}	732 ± 118 ^b	41.0 ± 1.0 ^{ab}	1350 ± 1.5 ^a	815 ± 45 ^a	568 ± 32 ^a
TS3	547 ± 103 ^a	119 ± 0.15 ^c	710 ± 20 ^b	39.5 ± 1.5 ^b	1468 ± 331 ^a	822 ± 0.79 ^a	411 ± 89 ^a
TP0	466 ± 33 ^a	122 ± 0.15 ^a	730 ± 10 ^a	40.5 ± 0.5 ^a	1295 ± 0.5 ^a	843 ± 0.65 ^a	351 ± 48 ^c
TP1	511 ± 11 ^a	119 ± 0.05 ^{ab}	715 ± 115 ^{ab}	39.3 ± 0.61 ^{ab}	1313 ± 0.94 ^a	814 ± 0.99 ^{bc}	502 ± 97 ^{ab}
TP2	487 ± 67 ^a	116 ± 0.45 ^b	695 ± 25 ^{bc}	38.5 ± 1.43 ^b	1402 ± 1.98 ^a	824 ± 1.55 ^{ab}	414 ± 14 ^{bc}
TP3	520 ± 60 ^a	115 ± 0.20 ^b	680 ± 10 ^c	37.8 ± 1.15 ^b	1550 ± 1.5 ^a	786 ± 239 ^c	543 ± 43 ^a
محیط‌زیست	NS	P < 0.01	P < 0.01	P < 0.01	NS	NS	NS
بیهوشی	NS	P = 0.01	P = 0.02	P = 0.05	NS	NS	NS
اثر متقابل	NS	P = 0.02	P = 0.02	P = 0.10	NS	NS	P = 0.33

* مولدین ماهی کلمه دریایی و استخری به ترتیب با حروف TS و TP نمایش داده شده است. در هر ستون عدم تشابه حروف لاتین نشان از اختلاف آماری معنی‌دار می‌باشد (P < 0.05). NS (non-significant) به معنی عدم وجود اثر معنی‌دار آماری در آزمایش است.

جدول ۲- پارامترهای ایمنی ماهی کلمه خزری تحت بیهوشی با سطوح مختلف تیمول در شرایط حمل و نقل

دریایی / استخری	کورتیزول (نانوگرم/میلی لیتر)	گلوکز (میلی گرم/دسی لیتر)	فعالیت لیزوزیم (واحد/میلی لیتر/دقیقه)	کمپلمان ۵۰ (واحد/میلی لیتر)	ایمنوگلوبین کل (میلی گرم/میلی لیتر)
TS0	314/90 ± 8/10 ^a	158/39 ± 2/61 ^a	23/10 ± 0/4 ^d	108/21 ± 1/19 ^c	21/30 ± 0/4 ^d
TS1	208/12 ± 2/93 ^c	122/50 ± 1/30 ^c	24/66 ± 1/14 ^c	106/37 ± 2/54 ^{bc}	24/31 ± 0/41 ^c
TS2	286/45 ± 8/15 ^b	140/14 ± 3/06 ^b	26/97 ± 0/43 ^b	110/52 ± 1/48 ^b	26/65 ± 0/15 ^b
TS3	182/00 ± 7/00 ^d	106/85 ± 0/85 ^a	30/39 ± 0/52 ^a	114/06 ± 1/06 ^a	29/00 ± 0/30 ^a
TP0	351/94 ± 2/76 ^a	162/75 ± 1/75 ^a	19/22 ± 0/28 ^d	103/46 ± 2/54 ^{bc}	26/01 ± 0/69 ^a
TP1	320/40 ± 4/70 ^b	158/10 ± 1/10 ^b	22/29 ± 0/42 ^c	102/90 ± 1/60 ^c	26/77 ± 0/53 ^a
TP2	286/05 ± 2/95 ^c	144/90 ± 2/30 ^c	24/92 ± 0/14 ^b	106/33 ± 1/33 ^b	26/15 ± 0/35 ^a
TP3	130/86 ± 1/46 ^d	93/97 ± 1/14 ^d	27/05 ± 0/55 ^a	111/47 ± 0/71 ^a	27/00 ± 0/80 ^a
محیط‌زیست	P < 0.01	P < 0.01	P < 0.01	P < 0.01	P < 0.01
بیهوشی	P < 0.01	P < 0.01	P < 0.01	P < 0.01	P < 0.01
اثر متقابل	P < 0.01	P < 0.01	P = 0.41	NS	P < 0.01

* مولدین ماهی کلمه دریایی و استخری به ترتیب با حروف TS و TP نمایش داده شده است. در هر ستون عدم تشابه حروف لاتین نشان از اختلاف آماری معنی‌دار می‌باشد (P < 0.05). NS (non-significant) به معنی عدم وجود اثر معنی‌دار آماری در آزمایش است.

جدول ۳- ظرفیت آنتی‌اکسیدانی ماهی کلمه خزری تحت بیهوشی با سطوح مختلف تیمول در شرایط حمل و نقل

دریایی / استخری	سوپراکسید دیسمتاز (SOD) (واحد/میلی لیتر)	کاتالاز (CATA) (واحد/میلی لیتر)	مالون دی‌آلدئید (MDA) (نانومول/میلی لیتر)
TS0	51/90 ± 0/70 ^c	31/91 ± 0/79 ^a	85/50 ± 1/00 ^a
TS1	51/55 ± 0/95 ^c	30/44 ± 1/06 ^a	78/75 ± 1/55 ^b
TS2	53/91 ± 0/81 ^b	27/00 ± 0/40 ^b	79/15 ± 1/05 ^b
TS3	60/15 ± 0/55 ^a	24/30 ± 1/40 ^c	71/62 ± 1/83 ^c
TP0	49/80 ± 0/90 ^c	36/05 ± 0/65 ^a	89/80 ± 0/90 ^a
TP1	53/96 ± 0/78 ^b	34/80 ± 1/10 ^{ab}	88/53 ± 1/03 ^a
TP2	52/87 ± 1/03 ^b	33/79 ± 0/91 ^b	74/85 ± 0/95 ^b
TP3	57/95 ± 0/25 ^a	32/16 ± 0/64 ^c	74/50 ± 0/20 ^b
محیط‌زیست	P = 0.35	P < 0.01	P < 0.01
بیهوشی	P < 0.01	P < 0.01	P < 0.01
اثر متقابل	P < 0.01	P = 0.06	P < 0.01

* مولدین ماهی کلمه دریایی و استخری به ترتیب با حروف TS و TP نمایش داده شده است. در هر ستون عدم تشابه حروف لاتین نشان از اختلاف آماری معنی‌دار می‌باشد (P < 0.05). NS (non-significant) به معنی عدم وجود اثر معنی‌دار آماری در آزمایش است.

بحث و نتیجه گیری

هدف از مطالعه حاضر بررسی تأثیر سطوح مختلف تیمول بر پاسخ ایمنی، تغییرات خونی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی ماهی کلمه خزری تحت شرایط حمل و نقل بود. گزینه‌های مواد بیهوشی جدید باید از نظر اثرات سلامتی آنها بر روی حیوانات ارزیابی شوند. در سال‌های اخیر به دلیل مزایای بالقوه آنها برای سلامتی، علاقه فزاینده‌ای به استفاده از مواد گیاهی برای بیهوشی ماهیان وجود داشته است. در مطالعه حاضر نشان داده شد که تیمول یک بیهوش کننده کارآمد در ماهی کلمه است، بر طبق نتایج یوسفی و همکاران (Yousefi et al., 2018; 2022)، عنوان کردند که تیمول به ماده بیهوش کننده کارآمد در کپور معمولی و تیلاپیا نیل است. مطالعات محدودی در مورد استفاده از ترکیبات گیاهی مصنوعی برای بیهوشی ماهی وجود دارد. با این وجود، مطالعاتی وجود دارد که از اوژنول به عنوان بیهوش کننده مرجع در کنار سایر بیهوش کننده‌های مصنوعی استفاده شده است. در تحقیقی گزارش شده است که، میرسن و لینالول قادر به بیهوشی بچه ماهیان کپور معمولی هستند (Taheri Mirghaed et al., 2016)، اما این بیهوش کننده‌ها به اندازه اوژنول مؤثر نیستند. به طور مشابه، با استفاده از اوژنول به عنوان بیهوش کننده مرجع، نشان دادند که منتول و سینئول بچه ماهیان کپور معمولی را در مدت زمان طولانی تری نسبت به اوژنول بیهوش کردند (Mazandarani and Hoseini, 2017). بنابراین، با توجه به نتایج حاضر، به نظر می‌رسد تیمول یک بیهوش کننده کارآمد در خانواده کپور ماهیان به ویژه ماهی کلمه (مطالعه حاضر) و ماهی کپور معمولی (Yousefi et al., 2018) و مؤثرتر از بیهوش کننده‌هایی است که قبلاً در گونه کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) گزارش شده است.

تیمول یک ترکیب فنولی در برخی از گونه‌ها از جمله آویشن (*Thymus vulgaris* L) و پونه کوهی (*Origanum heracleoticum* L.) و اسانس‌های حاصل از آنها است (Kowalczyk et al., 2020) این ماده کاربرد زیادی در پژوهش‌های آبزی پروری داشته است و مطالعات مختلف نشان داده‌اند که تیمول می‌تواند سیستم آنتی‌اکسیدانی و ایمنی ماهی را تقویت نموده و استرس را کاهش دهد (Bianchini et al., 2020; Abd El-Naby et al., 2020). از طرفی، تیمول دارای خاصیت

بیهوش کنندگی ماهیان است و در غلظت ۱۵۰-۲۵ میلی گرم در لیتر ماهی کپور را بیهوش می‌کند (Yousefi et al., 2022). بنابراین می‌توان از آن در طی فرآیند حمل و نقل ماهی استفاده نمود تا استرس کم شده و سلامت ماهی افزایش یابد.

در اغلب ماهیان اندازه گیری پارامترهای خون شناسی به عنوان شاخص‌های استرس استفاده می‌شود چراکه زمانی که ماهی در معرض استرس حاد یا مزمن قرار می‌گیرد تغییرات عمده‌ای در پروفیل خون شناسی به وجود می‌آید. در ماهی‌های تحت استرس، اغلب افزایش گلبول‌های قرمز، غلظت هموگلوبین و هماتوکریت مشاهده می‌شود (Dobšiková et al., 2009)، به طوری که در این پژوهش مقادیر غلظت این فاکتورها در گروه مولدین پرورش یافته در استخر مشاهده شد. در موقعیت استرس‌زا، افزایش درصد هماتوکریت و غلظت هموگلوبین در پاسخ به تقاضای متابولیکی بالاتر منجر به افزایش ظرفیت حمل اکسیژن توسط خون و در نتیجه تأمین نیاز اکسیژنی بافت‌های اصلی می‌شود (Witeska, 2005). در تضاد با تحقیق حاضر گزارش شده است مقادیر کلراید، هماتوکریت و هموگلوبین ماهی کپور معمولی در شرایط اسارت در تور و آزادی تغییر معنی‌دار آماری نداشت (نعمت‌الهی، ۱۳۸۹).

سنجش شاخص‌های استرس همچون گلوکز و کورتیزول می‌تواند در تشخیص وجود استرس در محیط کمک شایانی نماید (Kühlwein et al., 2014). عادت-پذیری یکی از واکنش‌های جبرانی است که با تغییر سطح گلوکز خون ارتباط مستقیم دارد از این رو در مطالعه‌ای گزارش شد که سطوح گلوکز خون در شروع آزمایش‌های مربوط به حمل و نقل ماهی کپور خیلی بالا رفته و سپس به آرامی در طی دوره آزمایش کاهش یافت که این می‌تواند ناشی از عادت‌پذیری ماهی به این نوع استرس باشد (Dobšiková et al., 2009). ارزیابی استرس فیزیولوژیکی پیش ارزشمندی را در مورد تأثیر نسبی انواع، شدت و تعاملات عوامل استرس‌زا فراهم می‌کند (Cooke et al., 2013).

مطالعات قبلی نشان داده‌اند که پارامترهای استرس نسبت به پروتکل‌های بیهوشی بسیار حساس هستند (Toni et al., 2015; Saccol et al., 2018). علاوه بر این، چندین مطالعه نشان داده‌اند که بیهوش کننده‌های مختلف

این‌رو با افزایش آسیب‌های اکسیداتیو به چرخه متابولیسم بدن، حیات آبزیان را به‌خطر بیندازند (Ciji and Akhtar, 2021).

سوپراکسید دیسماتاز (SOD)، کاتالاز (CATA) و مالون دی‌آلدهید (MDA) آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی هستند که در شرایط اکسیداتیو از ارگانیزم دفاع می‌کنند که همه این پارامترها نشانگر استرس اکسیداتیو در موجودات می‌باشند. در مطالعه حاضر، ماهیان بیهوش‌شده با تیمول، پس از قرار گرفتن در معرض تیمول، آنزیم سوپراکسید دیسماتاز در مولدین ماهی کلمه دریایی و استخری بالاتر از تیمار شاهد بود، اما دو آنزیم کاتالاز و مالون دی‌آلدهید نسبت به شاهد کاهش داشت. مطالعه روی ماهی قزل‌آلای رنگین-کمان و کپور معمولی نشان داد که علی‌رغم القای استرس اکسیداتیو در ماهیان بیهوش‌شده، داروهای بیهوشی مختلف مثل MS222، روغن میخک، ۲- فنوکسی اتانول و پروپیسین در ماهی قزل‌آلا و اوژنول در ماهی کپور معمولی هیچ اثر مشخصی بر روی بیشتر نشانگرهای استرس اکسیداتیو نداشتند (Velíšek et al., 2011; Yousefi et al., 2018). مطالعات متعددی وجود دارد که نشان می‌دهد داروهای بیهوش‌کننده گیاهی در هنگام استرس حمل و نقل اثرات آنتی‌اکسیدانی دارند که مشابه نتایج فعلی تیمول است (Gressler et al., 2014; Salbego et al., 2015; Saccol et al., 2017a; Saccol et al., 2017b). در نتیجه، مطالعه حاضر نشان داد که تیمول یک بیهوش‌کننده کارآمد با عوارض جانبی کمتر در مقایسه با سایر بیهوش‌کننده‌های رایج در آبزی‌پروری در ماهیان مختلف است. بیهوش‌کننده تیمول در مواجهه شرایط حمل و نقل ماهی باعث پاسخ‌های استرسی کمتر، به‌خصوص استرس اکسیداتیو می‌شود. به‌طور کلی نتایج استرس حمل و نقل نشان داد که افزودن ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر تیمول در آب باعث بهبود وضعیت ایمنی و آنتی‌اکسیدانی مولدین ماهی کلمه می‌گردد.

استرس را با شدت‌های متفاوت القا می‌کنند (Gressler et al., 2014). در مطالعه حاضر پس از بیهوشی با تیمول در پاسخ به استرس، سطح کورتیزول و گلوکز در مولدین ماهی کلمه دریایی و پرورشی استخری نسبت به تیمار شاهد کاهش داشت که نشان می‌دهد ماده بیهوش‌کننده تیمول اثرات مثبت دارد. در مطالعه Yousefi و همکاران (۲۰۱۸) پس از بیهوشی کوتاه‌مدت با اوژنول و تیمول، تفاوتی در پاسخ به استرس، سطوح کورتیزول، گلوکز و لاکتات در ماهی کپور معمولی مشاهده نشد، همچنین در مطالعه این محققین در طی قرار گرفتن ماهی کپور معمولی در معرض طولانی‌مدت، اوژنول باعث افزایش سطح کورتیزول، گلوکز و لاکتات پلاسما در مقایسه با تیمول شد که نشان‌دهنده استرس بالاتر ناشی از اوژنول است. با این حال محققین دریافتند که اسانس *Lippia alba* در طول ۴ ساعت حمل و نقل باعث ایجاد استرس (افزایش سطوح کورتیزول، گلوکز و لاکتات) در مقایسه با ۲- فنوکسی اتانول در ماهی سیبری (Sparus aurata) می‌شود (Toni et al., 2015). به‌طور مشابه، تفاوت معنی‌داری را در گلوکز خون ماهی کفشک برزیلی (*Paralichthys orbignyanus*) که به‌مدت ۷ ساعت با اسانس *Ocimum* و *Aloysia gratissima* و *gratissimum* حمل شده بود، گزارش شده است (Benovit et al., 2012).

وجود استرس در محیط‌زیست منجر به کاهش عملکرد سیستم ایمنی در آبزیان می‌شود (Aksakal et al., 2011)، به‌طوری‌که با نقص در واکنش فیزیولوژیکی باعث تضعیف سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی بدن و آسیب ناشی از رادیکال‌های آزاد می‌گردد. کاهش کارکرد سیستم آنتی‌اکسیدانی و عدم تعادل در میزان تولید رادیکال‌های آزاد و سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی بدن شرایط را برای بروز استرس اکسیداتیو فراهم می‌کنند (Maritim et al., 2003). استرس‌ها می‌توانند منجر به افزایش رادیکال‌های آزاد شده و سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی را تضعیف نماید از

منابع

قربانی ر.، باغفلکی م.، شالویی ف. ۱۳۹۱. محیط‌زیست دریای خزر. انتشارات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، چاپ اول، ۳۴۴ صفحه.

مهدی پور ن.، سعیدپور، ب.، بندانی، غ.ع. ۱۳۹۵. تعیین ساختار سنی، نسبت جنسی و الگوی رشد مولدین ماهی کلمه *Rutilus caspicus* (Yakovlev, 1870) در سواحل جنوب شرقی دریای خزر (استان گلستان). نشریه پژوهش‌های ماهی شناسی، ۴(۱): ۱۷-۲۷.

میرزرگر س.س.، طاهری میرقائد ع، حسینی س.م.، قلیچ‌پور م.، شهبازی م.، یوسفی ی. ۱۴۰۰. اثر افزودن تیمول بر شاخص‌های خون شناسی و ایمنی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در دوره حمل و نقل. نشریه علوم آبزی پروری، ۹(۱): ۳۴-۲۷.

نعمت‌الهی م.ع. ۱۳۸۹. پاسخ به استرس اسارت در تور در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio* L). نشریه شیلات، مجله منابع طبیعی ایران، ۶۳(۱): ۳۹-۴۷.

Abd El-Naby A.S., Al-Sagheer A.A., Negm S.S., Naiel M.A. 2020. Dietary combination of chitosan nanoparticle and thymol affects feed utilization, digestive enzymes, antioxidant status, and intestinal morphology of *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture* 515, 734577.

Adineh H., Naderi M., Yousefi M., Khademi Hamidi M., Ahmadifar E., Hoseini S.M. 2021. Dietary licorice (*Glycyrrhiza glabra*) improves growth, lipid metabolism, antioxidant and immune responses, and resistance to crowding stress in common carp, *Cyprinus carpio*. *Aquaculture Nutrition* 27(2), 417-426.

Aksakal E., Ekinci D., Erdoğan O., Beydemir Ş., Alım Z., Ceyhun S.B. 2011. Increasing stocking density causes inhibition of metabolic-antioxidant enzymes and elevates mRNA levels of heat shock protein 70 in rainbow trout. *Livestock Science* 141, 69-75.

Aydın B., Barbas L.A.L. 2020. Sedative and anesthetic properties of essential oils and their active compounds in fish: A review. *Aquaculture* 520, p.734999.

Baluchnejadmojarad T., Roghani M., Mafakheri M. 2010. Neuroprotective effect of silymarin in 6-hydroxydopamine hemi-parkinsonian rat: involvement of estrogen receptors and oxidative stress. *Neuroscience Letters* 480(3), 206-210.

Benovit S.C., Gressler L.T., de Lima Silva L., de Oliveira Garcia L., Okamoto M.H., dos Santos Pedron J., Baldisserotto B. 2012. Anesthesia and transport of Brazilian flounder, *Paralichthys orbignyanus*, with essential oils of *Aloysia gratissima* and *Ocimum gratissimum*. *Journal of the World Aquaculture Society* 43(6), 896-900.

Bianchini A.E., Rodrigues P., Barbosa L.B., Junior G.B., de Freitas Souza C., Heinzmann B.M., Baldisserotto B. 2020. Tissue distribution and elimination of S-(+)-linalool in silver catfish (*Rhamdia quelen*). *Aquaculture* 529, 735637.

Blaxhall P.C., Daisley K.W. 1973. Routine hematological methods for use with fish blood. *Journal of Fish Biology* 5(6), 771-81.

Ciji A., Akhtar M.S. 2021. Stress management in aquaculture: A review of dietary interventions. *Reviews in Aquaculture* 13(4), 2190-2247.

Cooke S.J., Donaldson M.R., O'connor C.M., Raby, G.D., Arlinghaus R., Danylchuk, A.J., Suski C.D. 2013. The physiological consequences of catch-and-release angling: perspectives on experimental design, interpretation, extrapolation and relevance to stakeholders. *Fisheries Management and Ecology* 20(2-3), 268-287.

Costa J.D.S., Silva H.N.P.D., Sousa E.M.D.O., Silva R.C.S., Valente A.S.O., Machado S.D.D.S., Silva L.V.F.D. 2020. The use of *Myrcia sylvatica* hydrolate (G. MEY.) DC. (Myrtaceae) as a sedative under simulated conditions of transport of juvenile tambaqui (*Colossoma macropomum*). *Journal of Applied Aquaculture* 33(4), 360-372.

Dobšíková R., Svobodová Z.V.A.F., Bláhová J.V.A.F., Modra H., Velišek J. 2009. The effect of transport on biochemical and haematological indices of common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Czech Journal of Animal Science* 54(11), 510-518.

Eagderi S., Mouludi-Saleh A., Esmaeli H.R., Sayyadzadeh G., Nasri. M. 2022. Freshwater lamprey and fishes of Iran; a revised and updated annotated checklist-2022. *Turkish Journal of Zoology* 46(6), 500-522.

Ellis A.E. 1990. Lysozyme assays. In: Stolen, J.S., Fletcher, T.C., Anderson, D.P., Robertson, B.S., and Van Muiswinkel, publication. pp. 101-103.

Goth L. 1991. A simple method for determination of serum catalase activity and revision of reference range. *Clinica Chimica Acta* 196(2-3), 143-151.

- Gressler L.T., Riffel A.P.K., Parodi T.V., Saccol E.M.H., Koakoski G., Costa S.T., Pavanato M.A., Heinzmann B.M., Caron B., Schmidt D., Llesuy S.F., Barcellos L.J.G., Baldisserotto B., 2014.** Silver catfish *Rhamdia quelen* immersion anaesthesia with essential oil of *Aloysia triphylla* (L'Hérit) Britton or tricaine methanesulfonate: effect on stress response and antioxidant status. *Aquaculture Research* 45(6), 1061-1072.
- Harmon, T.S. 2009.** Methods for reducing stressors and maintaining water quality associated with live fish transport in tanks: a review of the basics. *Reviews in Aquaculture* 1(1), 58-66.
- Kiabi B., Abdoli A., Naderi M. 1999.** Status of the fish fauna in the south Caspian Basin of Iran. *Zoology in the Middle East* 18(1), 57-65.
- Kowalczyk A., Przychodna M., Sopata S., Bodalska A., Fecka I. 2020.** Thymol and thyme essential oil-new insights into selected therapeutic applications. *Molecules* 25, 18. 4125.
- Kühlwein H., Merrifield D.L., Rawling M.D., Foey A.D., Davies S.J. 2014.** Effects of dietary β -(1, 3)(1, 6)-D-glucan supplementation on growth performance, intestinal morphology and haemato-immunological profile of mirror carp (*Cyprinus carpio* L.). *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 98(2), 279-289.
- Maritim A.C., Sanders R.A., Watkins J.B. 2003.** Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: a review. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology* 17(1), 24-38.
- Marklund S., Marklund G. 1974.** Involvement of the superoxyde anion radical in the auto oxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxyde dismutase. *European Journal of Biochemistry* 47: 469-474.
- Mazandarani M., Hoseini S.M., Dehghani Ghomshani M. 2017.** Effects of linalool on physiological responses of *Cyprinus carpio* (Linnaeus, 1758) and water physico-chemical parameters during transportation. *Aquaculture Research* 48, 5775-5781.
- Purbosari N., Warsiki E., Syamsu K., Santoso J. 2019.** Natural versus synthetic anesthetic for transport of live fish: A review. *Aquaculture and Fisheries* 4(4), 129-133.
- Saccol E.M., Jerez-Cepa I., Ourique G.M., Pês T.S., Gressler L.T., Mourão R.H., Martínez-Rodríguez G., Mancera J.M., Baldisserotto B., Pavanato M.A. 2018.** Myrcia sylvatica essential oil mitigates molecular, biochemical and physiological alterations in *Rhamdia quelen* under different stress events associated to transport. *Research in Veterinary Science* 117, 150-160.
- Saccol E.M., Londero É.P., Bressan C.A., Salbego J., Gressler L.T., Silva L.V., Mourão R.H., Oliveira R.B., Llesuy S.F., Baldisserotto B. 2017a.** Oxidative and biochemical responses in *Brycon amazonicus* anesthetized and sedated with *Myrcia sylvatica* (G. Mey.) DC. and *Curcuma longa* L. essential oils. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia* 44, 555-566.
- Saccol E.M., Toni C., Pês T.S., Ourique G.M., Gressler L.T., Silva L.V., Mourão R.H., Oliveira R.B., Baldisserotto B., Pavanato M.A. 2017b.** Anaesthetic and antioxidant effects of *Myrcia sylvatica* (G. Mey.) DC. and *Curcuma longa* L. essential oils on tambaqui (*Colossoma macropomum*). *Aquaculture Research* 48(5), 2012-2031.
- Salbego J., Becker A.G., Parodi T.V., Zeppenfeld C.C., Gonçalves J.F., Loro V.L., Morsch V.M., Schetinger M.R.C., Maldaner G., Morel A.F., Baldisserotto B. 2015.** Methanolic extract of *Condalia buxifolia* added to transport water alters biochemical parameters of the silver catfish *Rhamdia quelen*. *Aquaculture* 437, 46-50.
- Santos E.L.R., Rezende F.P., Moron S.E. 2020.** Stress-related physiological and histological responses of tambaqui (*Colossoma macropomum*) to transportation in water with tea tree and clove essential oil anesthetics. *Aquaculture* 523, 735164.
- Sunyer J.O., Tort L. 1995.** Natural hemolytic and bactericidal activities of sea bream *Sparus aurata* serum are affected by the alternative complement pathway. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 45, 333-345.
- Taheri Mirghaed A., Ghelichpour M., Hoseini S.M., 2016.** Myrcene and linalool as new anesthetic and sedative agents in common carp, *Cyprinus carpio* comparison with eugenol. *Aquaculture* 464, 165-170.
- Toni C., Martos-Sitcha J.A., Baldisserotto B., Heinzmann B.M., de Lima Silva L., Martínez-Rodríguez G., Mancera J.M., 2015.** Sedative effect of 2-phenoxyethanol and essential oil of *Lippia alba* on stress response in gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Research in Veterinary Science* 103, 20-27.

- Velišek J., Stara A., Li Z.-H., Silovska S., Turek J., 2011.** Comparison of the effects of four anaesthetics on blood biochemical profiles and oxidative stress biomarkers in rainbow trout. *Aquaculture* 310, 369-375.
- Wang J., Xiong G., Bai C., Liao T. 2021.** Anesthetic efficacy of two plant phenolics and the physiological response of juvenile *Ictalurus punctatus* to simulated transport. *Aquaculture* 538, 736566.
- Witeska M. 2005.** Stress in fish-hematological and immunological effects of heavy metals. *Electronic Journal of Ichthyology* 1(1), 35-41.
- Yousefi M., Hoseini S.M., Aydin B., Taheri Mirghaed A., Vladimirovich Kulikov E., Gennadievich Drukovsky S., Borisovich Seleznev S., Anatolyevich Rudenko P., Hoseinifar S.H., Van Doan H. 2022.** Anesthetic efficacy and hemato-biochemical effects of thymol on juvenile Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture* 547 (737540), 1-9.
- Yousefi M., Hoseini S.M., Vatnikov Y.A., Nikishov A.A., Kulikov E.V. 2018.** Thymol as a new anesthetic in common carp (*Cyprinus carpio*): Efficacy and physiological effects in comparison with eugenol. *Aquaculture* 495, 376-383.

The effect of different levels of thymol on the immune response, hematological changes and antioxidant capacity of Caspian roach (*Rutilus lacustris*) under transportation conditions

Faramarz Namvar, Hojatollah Jafaryan*, Hosein Adineh, Mohammad Farhangi

Department of Fisheries, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Gonbad Kavous University, Gonbad Kavous, Iran.

*Corresponding author: hojat.jafaryan@gmail.com

Received: 4.June.2025

Accepted: 27.July.2025

Abstract

Fish transportation activity in the aquaculture industry is one of the stress factors that causes physiological changes in the immune system. The aim of this study was to investigate the effects of anesthesia with different levels of thymol (adding thymol to water at concentrations of 0, 25, 50 and 100 mg/L) during transportation of marine and pond of Caspian roach (*Rutilus lacustris*) on hematological indices, immunity and antioxidant capacity. Blood indices of marine and pond broodstock (red blood cells, hemoglobin, and hematocrit) were significantly reduced ($P<0.05$) in the treatment with high thymol concentration, while there was no significant difference in other factors (neutrophils, lymphocytes, and monocytes) ($P>0.05$). The results showed that with increasing thymol concentration, cortisol levels decreased significantly ($P<0.05$) and lysozyme, complement and immunoglobulin activities increased. With the addition of thymol, antioxidant superoxide dismutase activity increased and catalase and malondialdehyde decreased significantly ($P<0.05$). Overall, the results of transportation stress showed that adding 100 mg/L of thymol to water improved the immune and antioxidant status of calamari broodstock.

Keywords: Caspian roach, Stress, Aquaculture, Antioxidant capacity