فیزیولوژی و بیوتکنولوژی آبزیان
سال نهم، شماره چهارم، زمستان ۱۴۰۰

مقاله پژوهشی

اثر افزودن پودر گیاهان رزماری (*Rosmarinus officinalis*) و آویشن (*Zataria multiflora*) به جیره غذایی بر بافت روده بچه‌ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) تغذیه شده با خوراک آلوده به علف‌کش رانداپ

مجید پرمحمدی[۱]، کوروش سروی مغانلو[۲]*، احمد ایمانی[۲]

تاریخ دریافت: بهمن ۱۳۹۹ تاریخ پذیرش: مرداد ۱۴۰۰

چکیده

مطالعه حاضر با هدف تعیین آسیب‌های علف‌کش رانداپ بر بافت روده بچه‌ماهی کپور معمولی و اثر افزودن پودر گیاهان دارویی آویشن (*Rosmarinus officinalis*) و رزماری (*Zataria multiflora*) به جیره غذایی برای کاهش آسیب‌ها انجام پذیرفت. به این منظور، ۳۰۰ قطعه بچه‌ماهی کپور معمولی با میانگین وزنی ۱/۵±۱۵ گرم در قالب ۵ تیمار تقسیم و در سه مرحله شامل مرحله اول: با جیره غذایی حاوی ۲۰ گرم در کیلوگرم از پودر گیاهان به تنهایی و یا ترکیبی (تیمارهای ۳-۵)، مرحله دوم، با جیره غذایی دارای ۲/۳ میلی‌گرم در کیلوگرم سم رانداپ (تیمارهای ۲-۵) و مرحله سوم با جیره غذایی بدون سم و پودر گیاهان دارویی تغذیه شدند. نتایج به دست آمده نشان داد که در انتهای مرحله اول روده ماهیان ساختار میکروسکوپی طبیعی داشتند. در پایان مرحله دوم، تغییرات بافتی از قبیل نکروز و ریزش پرزهای روده، حفره‌دار شدن سلول‌های اپیتلیالی روده، نفوذ سلول‌های التهابی، ادم و پرخونی در گروه دریافت کننده سم (تیمار ۲)، مشاهده شد، ولی ماهیانی که جیره‌های غذایی حاوی رزماری و آویشن دریافت کردند (تیمارهای ۳ و ۴)، آسیب‌های بافتی خفیفی نشان دادند. به علاوه، افزودن ترکیب دو گیاه به جیره (تیمار ۵) اثرات بهبودی بیشتری نسبت به تیمارهای ۳ و ۴ داشت. بر اساس نتایج مرحله سوم، بعد از گذشت دو هفته دوره بهبودی، ترمیم معنی‌دار ساختار بافت نسبت به مرحله قبل مشاهده شد ($P<۰/۰۵$). به طور کلی، افزودن گیاهان آویشن و رزماری به جیره غذایی بچه‌ماهی کپور معمولی توانست باعث کاهش آسیب‌های بافت روده ناشی از سم رانداپ شود.

واژگان کلیدی: *آسیب‌های بافتی، روده، علف‌کش، گیاهان دارویی، کپور معمولی.*

۱- کارشناس ارشد بوم‌شناسی آبزیان، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.
۲- دانشیار گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.
* نویسنده مسئول: k.sarvimoghanlou@urmia.ac.ir

مقدمه

اکوسیستم‌های آبی به عنوان بزرگ‌ترین بخش محیط طبیعی همواره با تهدیدهایی مانند آلودگی با سموم آفت‌کش مواجه است (Mansingh and Wilson, 1995). آفت‌کش‌ها با دو روش وارد منابع آبی می‌شوند؛ یکی با کاربرد مستقیم در اکوسیستم‌های آبی و دیگری در اثر استفاده غیرمستقیم مانند انتقال جوی و زهکش زمین‌های کشاورزی. هنگامی که محیط‌های آبی توسط آفت‌کش‌ها آلوده می‌شوند، اثرات زیانبار این آلودگی‌ها پایه‌های اصلی زنجیره غذایی یعنی فیتوپلانکتون‌ها و زئوپلانکتون‌ها را مورد تهدید جدی قرار می‌دهد (کردوانی، ۱۳۷۴). علف‌کش گلیفوسیت با نام تجاری رانداپ و فرمول شیمیایی $C_6H_{17}N_2O_5$ یکی از سموم پرمصرف ارگانوفسفره غیرانتخابی است که برای کنترل گیاهان در مزارع کشاورزی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Tu et al., 2001). با توجه به این که آب‌های سطحی و زیرزمینی یکی از مهم‌ترین منابع تامین کننده آب مورد استفاده در سیستم‌های پرورش ماهیان است، بنابراین آلودگی این منابع با علف‌کش رانداپ می‌تواند تهدیدی جدی برای آینده آبزی‌پروری باشد (بنایی و همکاران، ۱۳۹۱). میزان حساسیت گونه‌های مختلف ماهیان در مقابل علف‌کش رانداپ متفاوت است. بر اساس مطالعات انجام شده، LC_{50} سم رانداپ در بازه زمانی ۹۶ ساعته، برای گونه‌های مختلف ماهیان در محدوده ۵۵-۲ میلی‌گرم در لیتر گزارش شده است (Jiraungkoorskul et al., 2002). همچنین نقش‌بندی و عسکری حصنی (۱۳۹۶)، LC_{50} سم رانداپ برای زمان ۹۶ ساعت را در کپور معمولی ۲۰/۰۵ میلی‌گرم در لیتر و حداکثر غلظت مجاز را ۲/۳۱-۱/۷۱ میلی‌گرم در لیتر گزارش کردند.

آفت‌کش‌ها از جمله علف‌کش رانداپ اثر مخربی بر آبشش، کبد، کلیه و دستگاه گوارش ماهیان دارد. آبشش ماهیان با داشتن لایه اپیتلیومی نازک، محیط درون بدن ماهی را از محیط بیرونی جدا می‌کند و اولین سد دفاعی در برابر ورود عوامل خارجی به بدن است. هر گونه آسیب به این لایه آبششی منجر به اختلال در تنظیم اسمزی و در ادامه تلفات آبزیان می‌شود. در آبشش‌ها عوارضی مانند پرخونی (Hyperemia)، اتساع عروق، تورم، جدا شدن و افتادگی غشای پایه، هیپرپلازی و چسبندگی تیغه‌های آبششی و نکروز (Necrosis) تیغه آبششی رخ می‌دهد (پورغلام و همکاران، ۱۳۹۱). ضایعات مختلفی مثل تخریب

گلومرول‌ها، نکروز و پیکنوز در برخی از سلول‌های کلیه در غلظت‌های مختلف علف‌کش مشاهده شده است. همچنین علف‌کش رانداپ باعث بروز پیکنوز گسترده به همراه حفره‌دار شدن (Vacuolation) و نکروز سلول‌های کبدی در ماهی تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) و هایپرپلازی در روده ماهی آناباس (*Anabas testudineus*) شده است (Ayoola, 2008; Samanta et al., 2016). علاوه بر این، آسیب‌هایی مثل التهاب (Inflammation)، حفره‌دار شدن، افزایش سلول‌های موکوسی و نکروز در روده ماهی *Channa punctata* تحت تاثیر سم لیندان گزارش شده است (Bhattacharjee and Das, 2015).

عصاره‌های گیاهی و مشتقات آنها دارای طیف گسترده‌ای از عملکردهای ضداسترس، ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی هستند (Ghasemi Pirbaluti et al., 2011). همچنین این عصاره‌ها می‌توانند رشد و گسترش تعداد زیادی از عوامل بیماری‌زا را در روده کنترل و محدود کنند (Bello et al., 2012). پژوهش‌ها نشان داده‌اند که گیاهان معطر متعلق به تیره‌های نعناعیان، کاسنی و چتریان از ترکیبات ضدالتهابی، ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی برخوردار هستند (Carson et al., 2006) و اثرات درمانی و دارویی دارند. گیاه رزماری (*Rosmarinus officinalis*) متعلق به خانواده نعناعیان است که ترکیبات اصلی گیاه عمدتا شامل اسید رزمارنیک، اسید کارنوزیک، آلفا پینن، سینئول، کامفن و کامفور است (Benchaar et al., 2008) و به علت وجود دی‌ترپن‌های فنولی موجود در آن (Pintore et al., 2002)، دارای فعالیت ضدباکتریایی و آنتی‌اکسیدانی است (Bozin et al., 2007). همچنین خواص ضددرد، ضدالتهاب و بهبود زخم آن تایید شده است (Altinier et al., 2007). گیاه آویشن شیرازی نیز با نام علمی (*Zataria multiflora*) یکی دیگر از گیاهان تیره نعناعیان و بومی مناطق جنوبی ایران است (Nakhai et al., 2007). بررسی‌ها بر روی این گونه گیاهی حضور تانن، ساپونین، مواد تلخ (به واسطه داشتن ترکیبات فنولی)، ترکیبات فلاونوئیدی، ترپنوئیدها و روغن‌های فرار سرشار از ترکیبات اکسیژن‌دار مانند تیمول و کارواکرول را اثبات می‌کند (Malik et al., 2003). همچنین به دلیل وجود ترکیبات فنلی دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی و محافظت کنندگی است (Naghdi Badi et al., 2004). نقش برخی از گیاهان دارویی در حفاظت دستگاه

گوارش گونه‌هایی که به عنوان مدل آزمایشگاهی مطرح هستند، گزارش شده است. برای مثال، می‌توان به نقش مثبت آلوئه‌ورا (Borra et al., 2011)، پونه آسیایی (Gul et al., 2015)، زنجبیل (Nanjundaiah et al., 2011)، رزماری (Amaral et al., 2013) و آویشن شیرازی (Minaiyan et al., 2005) در بهبود زخم در دستگاه گوارش اشاره کرد.

با توجه به این که از آب‌های جاری برای پرورش ماهیان گرمابی استفاده می‌شود، نفوذ پساب‌های کشاورزی و علف‌کش‌های استفاده شده به سیستم‌های پرورش ماهی امری اجتناب ناپذیر است، همچنین به دلیل این که اطلاعاتی در مورد نقش گیاهان دارویی در بهبود آسیب‌های بافتی ماهیان وجود ندارد، مطالعه حاضر با هدف تعیین اثر علف‌کش رانداپ بر بافت روده بچه‌ماهی کپور معمولی و همچنین اثر حفاظتی پودر گیاهان آویشن و رزماری بر آسیب‌های احتمالی بافت روده انجام پذیرفت.

مواد و روش‌ها

تهیه و ذخیره‌سازی بچه‌ماهیان

تعداد ۳۰۰ قطعه بچه‌ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) انگشت‌قد با میانگین وزنی ۱/۵±۱۵ گرم از مرکز تکثیر و پرورش ماهیان استخوانی شهید کاظمی پلدشت تهیه و به سالن پرورش دانشکده منابع طبیعی دانشگاه ارومیه منتقل شدند. برای جلوگیری از تلفات احتمالی دو روز قبل از صید، غذادهی به ماهیان قطع شد (فراهانی و همکاران، ۱۳۹۴). ماهی‌ها پس از گذراندن یک هفته دوره سازگاری با محیط جدید، با تراکم ۲۰ قطعه در ۱۵ آکواریوم ۷۰ لیتری به صورت تصادفی ذخیره‌سازی شدند.

مراحل ساخت جیره

برای تهیه جیره‌های مورد نیاز از خوراک پایه تجاری (شرکت فرادانه، ایران) استفاده شد (جدول ۱) که پس از آسیاب کردن با توجه به تیمارهای هدف به آن علف‌کش رانداپ با غلظت ۲/۳ میلی‌گرم در کیلوگرم و پودر گیاهان دارویی رزماری و آویشن با غلظت ۲۰ گرم در کیلوگرم (۲ درصد) اضافه شد. در مرحله بعد با افزودن رطوبت، خمیر به دست آمده با استفاده از چرخ گوشت صنعتی به صورت رشته‌هایی به قطر ۲ میلی‌متر در آمد و در دمای محیط (حداکثر ۲۵ درجه‌سانتی‌گراد) خشک شد. در نهایت دان‌های تهیه شده در کیسه‌های فریزر به همراه مقداری ژل نم‌گیر با ثبت تاریخ تا زمان مصرف در یخچال قرار داده شدند (Ramsden et al., 2009).

جدول ۱: ترکیب تقریبی خوراک پایه مورد استفاده در مطالعه حاضر

اجزای خوراک	درصد
پودر سویا	۴۶
آرد گندم	۳۴
پودر ماهی	۶
روغن ماهی	۲/۵
روغن سویا	۳
دی فسفات کلسیم	۲/۵
مکمل ویتامینه	۱
مکمل معدنی	۱
ویتامین C	۰/۲
آنتی اکسیدان	۰/۱
کولین کلراید	۰/۲
متیونین	۰/۲
بنتونیت	۲
سلولز	۱/۳
آنالیز تقریبی خوراک	
پروتئین	۴۰
چربی خام	۱۳
فیبر خام	۳
خاکستر	۱۱
رطوبت	۸

تیمارهای آزمایشی

این پژوهش در قالب سه مرحله با ۵ تیمار و سه تکرار انجام شد. مشخصات تیمارهای آزمایشی در جدول ۲ آورده شده است. در مرحله اول آزمایش، ماهیان در تیمارهای ۳ تا ۵ به ترتیب با جیره‌های غذایی حاوی ۲۰ گرم در کیلوگرم رزماری، ۲۰ گرم در کیلوگرم آویشن و ۲۰ گرم در کیلوگرم ترکیب آویشن و رزماری با نسبت یکسان (حق‌جو جهرمی و همکاران، ۱۳۹۵) به مدت ۳ هفته تغذیه شدند. در مرحله دوم، در تمامی تیمارها به استثنای تیمار شاهد، ماهیان به مدت ۲ هفته با جیره غذایی حاوی ۲/۳ ppm علف‌کش رانداپ تغذیه شدند (نقش‌بندی و عسکری حصنی، ۱۳۹۶؛ Jiraungkoorskul et al., 2002). در مرحله سوم آزمایش ماهیان در همه تیمارها با جیره غذایی بدون علف‌کش و بدون پودر گیاهان دارویی به مدت ۲ هفته تغذیه شدند. در این مرحله بازسازی و یا کاهش ضایعات احتمالی توسط خود موجود بررسی شد. غذادهی ماهیان به صورت روزانه ۳ درصد وزن بدن و در سه نوبت انجام شد.

نمونه‌برداری و آماده‌سازی بافت

پس از پایان هر مرحله، ۲۴ ساعت قبل از انجام نمونه‌برداری، عمل غذادهی ماهیان قطع و از هر تیمار ۳ قطعه ماهی به طور تصادفی انتخاب شد. ماهیان در محلول پودر گل میخک

جدول ۲: مشخصات تیمارهای آزمایشی در سه مرحله مختلف

تیمارها	تیمار ۱ (شاهد)	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ۴	تیمار ۵
مرحله اول (۳ هفته)	-	-	**رزماری (۲۰g/kg)**	**آویشن (۲۰g/kg)**	**ترکیب رزماری و آویشن (۲۰g/kg)**
مرحله دوم (۵ هفته)	-	**سم رانداپ (۲/۳mg/kg)**	**سم رانداپ (۲/۳mg/kg)**	**سم رانداپ (۲/۳mg/kg)**	**سم رانداپ (۲/۳mg/kg)**
مرحله سوم (۷ هفته)	-	-	-	-	-

با غلظت ۲۰۰ppm بیهوش و بافت روده آنها جدا شد (Tasa et al., 2020). نمونه‌های بافت روده در محلول بوئن تثبیت شدند و پس از ۴۸ ساعت به اتانول ۷۰ درصد منتقل و تا زمان انجام مطالعات بافت‌شناسی در همین محلول نگهداری شدند. سرانجام پس از آماده‌سازی بافت‌ها، برش‌های ۵ میکرونی از آنها تهیه شد. اسلایدهای به دست آمده پس از رنگ‌آمیزی به روش هماتوکسیلین- ائوزین از حیث وجود آسیب‌های احتمالی مانند ساختار و بافت طبیعی روده و پرزها، نکروز، زخم شدن و چسبیدگی پرزهای روده (Erosion and Fusion)، پرخونی، التهاب، تورم و حفره‌دار شدن مورد بررسی قرار گرفتند (Gretchen, 1979). در اسلایدهای میکروسکوپی به دست آمده، ضایعات و تغییرات بافتی در بافت‌های روده به صورت مجزا بررسی و بر حسب شدت ضایعه و میزان تغییرات سلولی و بافتی در ناحیه در ۱۰ نقطه میکروسکوپی امتیازدهی شدند، به طوری که فقدان ضایعه یا فقدان تغییرات امتیاز «صفر»، میزان ملایم تغییرات امتیاز «۱»، میزان متوسط تغییرات امتیاز «۲» و میزان شدید تغییرات امتیاز «۳» را به خود اختصاص داد (Mirzakhani et al., 2018).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

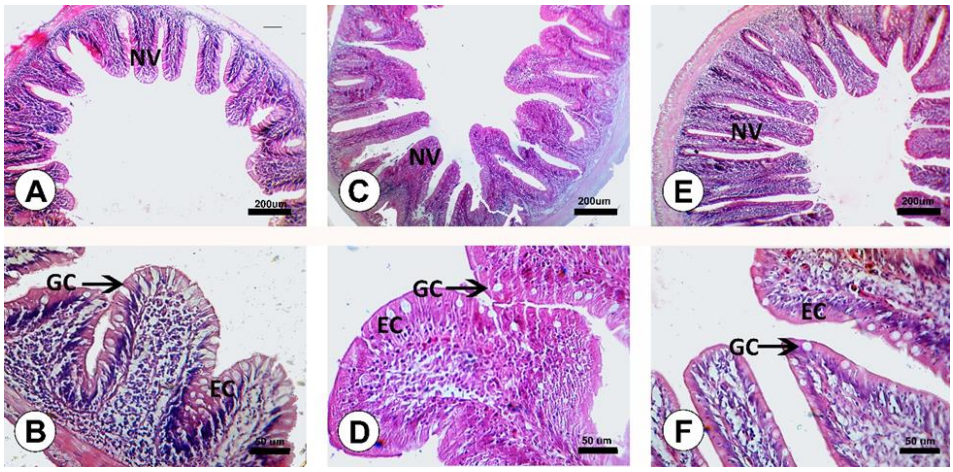
تجزیه و تحلیل‌های آماری این مطالعه توسط برنامه Graph pad Prism نسخه ۵/۰۳ انجام شد. نتایج میکروسکوپ نوری مربوط به شدت ضایعات به دلیل نیمه کمی بودن آن‌ها، با آزمون کروسکال- والیس (Kruskal-Wallis) و سپس آزمون دان (Dunn's Test) در سطح اطمینان ۹۵ درصد ($P<0/05$) بررسی شد. یافته‌ها به صورت میانگین ± خطای استاندارد (Mean ± SE) نشان داده شدند.

نتایج

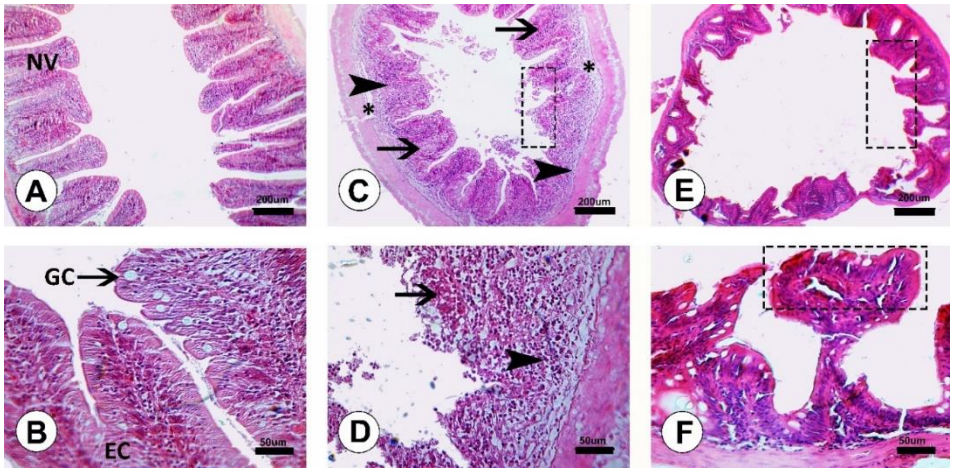
آسیب‌شناسی روده در مراحل مختلف آزمایش

تصاویر میکروسکوپی به دست آمده از مقاطع روده بچه‌ماهی کپور معمولی در مراحل مختلف مورد بررسی قرار گرفتند. در نمونه‌های مربوط به تیمار اول آزمایش که هیچ نوع پودر گیاه یا سمی را دریافت نکرده بودند، ساختار طبیعی روده با پرزهای سالم و اپیتلیوم به همراه سلول‌های جامی در لابه‌لای سلول‌های اپیتلیوم استوانه‌ای مشاهده شد (شکل ۱).

در نمونه‌های به دست آمده از تیمار دوم آزمایش در مرحله اول که هیچ نوع سم یا پودر گیاهی را دریافت نکرده بودند، ساختار کاملا طبیعی مشاهده شد (شکل ۲). اما در مرحله دوم که بچه‌ماهیان سم رانداپ دریافت کرده بودند، آسیب‌های بافتی در روده مانند نکروز و ریزش پرزهای روده، حفره‌دار شدن سلول‌های اپیتلیالی روده، زخم‌شدگی به همراه به هم چسبیدن پرزهای روده، نفوذ سلول‌های التهابی، ادم و پرخونی مشاهده و امتیازدهی شدند. همچنین در نمونه‌های مربوط به مرحله سوم بعد از گذشت دو هفته از تجویز سم، ضایعه‌های بافتی تا حد معنی‌داری ($P<0/05$) نسبت به مرحله دوم کاهش یافت.



شکل ۱: میکروگراف‌های مقاطع روده بچه‌ماهی کپور معمولی مربوط به تیمار ۱ (شاهد). A و B: مرحله یک. C و D: مرحله دو. E و F: مرحله سه. ساختار طبیعی میکروسکوپی روده در تمامی تصاویر مشاهده می‌شود. پرزهای سالم (NV: Normal Villus) پوشیده شده با سلول‌های اپیتلیالی استوانه‌ای (EC: Epithelial Cell) و سلول‌های جامی (GC: Goblet Cell) در لابه‌لای آنها.

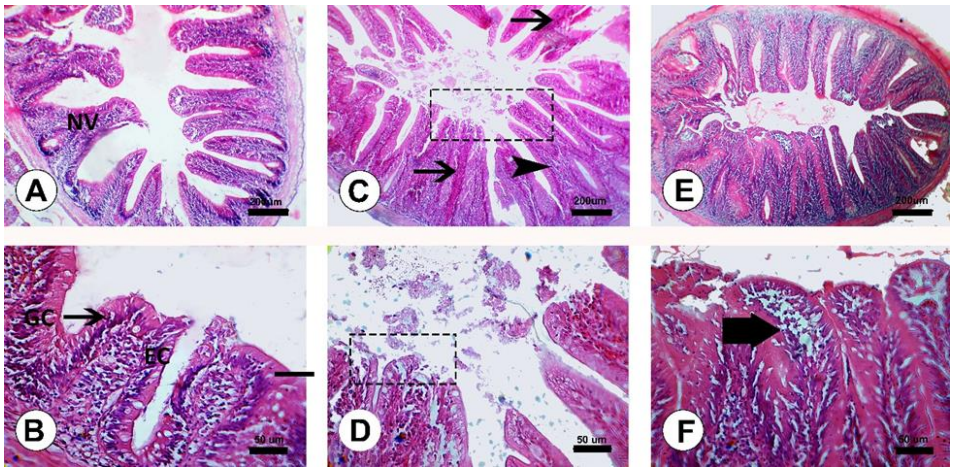


شکل ۲: میکروگراف‌های مقاطع روده بچه‌ماهی کپور معمولی مربوط به تیمار ۲ (تغذیه شده با جیره حاوی سم رانداپ در مرحله دوم آزمایش). A و B: مرحله یک (بدون دریافت سم). ساختار طبیعی روده در این تصاویر مشاهده می‌شود. پرزهای سالم (NV: Normal Villus) پوشیده شده با سلول‌های اپیتلیالی استوانه‌ای (EC: Epithelial Cell) و سلول‌های جامی (GC: Goblet Cell) در لابه‌لای آنها. C و D: مرحله دو (دریافت سم در جیره). در این تصاویر نکروز و ریزش پرزهای روده (داخل خط چین بسته)، ادم (ستاره)، پرخونی (فلش) و نفوذ سلول‌های التهابی (سر فلش) در پرزهای روده مشاهده می‌شود. E و F: مرحله سه (بدون دریافت سم). در این تصاویر ترمیم ناموفق سطح پوششی روده که با کنده‌شدگی، کوتاه شدگی و به هم چسبیدن پرزها همراه است، مشاهده می‌شود (داخل خط چین بسته).

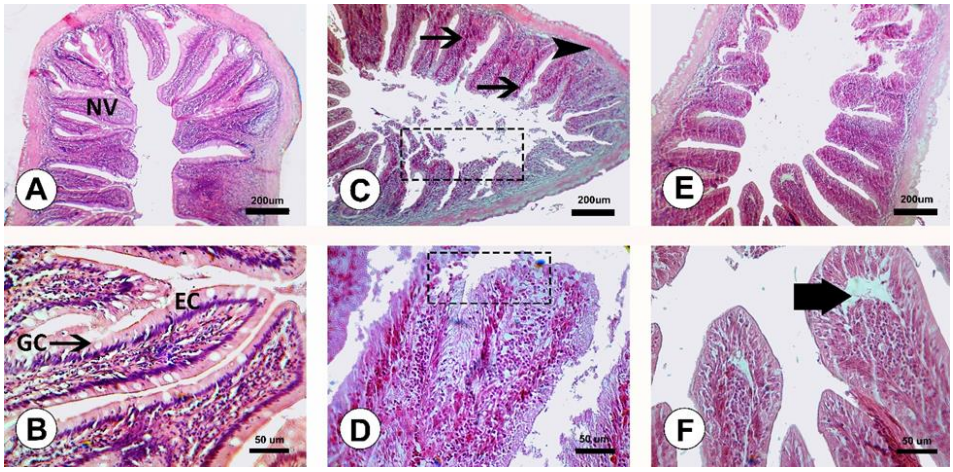
در نمونه‌های به دست آمده از تیمار سوم آزمایش در مرحله اول که تنها پودر رزماری را دریافت کرده بودند، ساختار کاملا طبیعی در بافت روده مشاهده شد (شکل ۳). در مرحله دوم پس از دریافت سم در این گروه نیز تمامی تغییرات بافتی مشاهده شده در تیمار ۲ که به جیره آن پودر گیاهی اضافه نشده بود مانند نکروز و ریزش پرزهای روده، حفره‌دار شدن سلول‌های اپیتلیالی روده، زخم‌شدگی به همراه به هم چسبیدن پرزهای روده، نفوذ سلول‌های التهابی، ادم و پرخونی مشاهده شد (شکل ۳). با این وجود، در مرحله سوم آسیب‌های بافتی تا حدی نسبت به مرحله دوم کاهش یافت (شکل ۳).

در نمونه‌های به دست آمده از تیمار چهارم که پودر آویشن را دریافت کرده بودند نیز نتایج مشابه تیمار سوم مشاهده شد. به این ترتیب که در مرحله اول که بچه‌ماهیان تنها پودر آویشن

را دریافت کرده بودند، ساختار کاملا طبیعی در بافت روده مشاهده شد (شکل ۴). در مرحله دوم پس از دریافت سم، تمامی آسیب‌های مشاهده شده در بافت روده بچه‌ماهیان تیمار ۲ که به جیره آن پودر گیاهی اضافه نشده بود مانند نکروز و ریزش پرزهای روده، حفره‌دار شدن سلول‌های اپیتلیالی روده، زخم‌شدگی به همراه به هم چسبیدن پرزهای روده، نفوذ سلول‌های التهابی، ادم و پرخونی مشاهده شد (شکل ۴). همچنین در نمونه‌های مربوط به مرحله سوم، آسیب‌ها تا حدودی نسبت به مرحله دوم کاهش یافت (شکل ۴).



شکل ۳: میکروگراف‌های مقاطع روده بچه‌ماهی کپور معمولی مربوط به تیمار ۳ (تغذیه شده با جیره حاوی پودر رزماری در مرحله اول و سم رانداپ در مرحله دوم آزمایش). A و B: مرحله یک (بدون دریافت سم). ساختار طبیعی روده در این تصاویر مشاهده می‌شود. پرزهای سالم (NV: Normal Villus) پوشیده شده با سلول‌های اپیتلیالی استوانه‌ای (EC: Epithelial Cell) و سلول‌های جامی (GC: Goblet Cell) در لابه‌لای آنها. C و D: مرحله دو (دریافت سم در جیره). در این تصاویر تغییر حالت و ریزش متوسط پرزهای روده (داخل خط چین بسته)، پرخونی (فلش) و نفوذ سلول‌های التهابی (سر فلش) در پرزهای روده مشاهده می‌شود. E و F: مرحله سه (بدون دریافت سم). در این تصاویر ترمیم تا حد متوسط موفق سطح پوششی روده که ساختار نزدیک به شرایط طبیعی را در روده ایجاد کرده است، به همراه میزان متوسطی از تخریب و حفره‌دار شدن در سلول‌های اپیتلیالی سطح پرزها مشاهده می‌شود (فلش بزرگ).

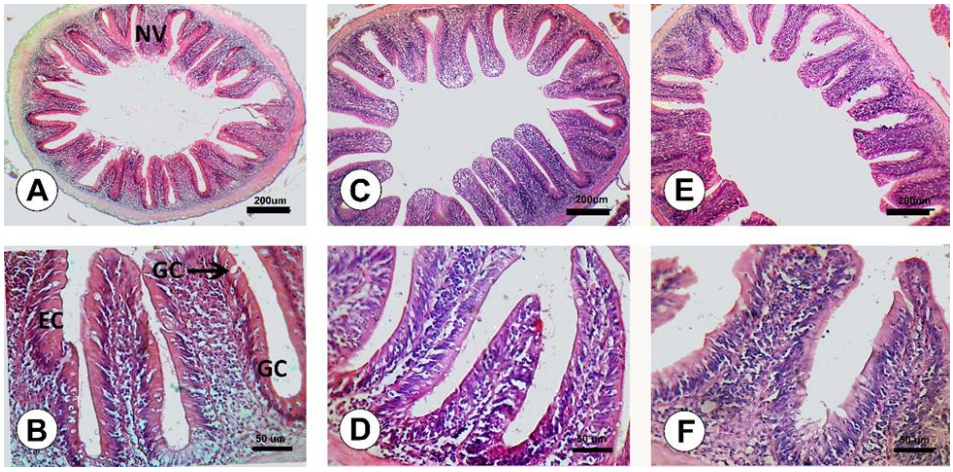


شکل ۴: میکروگراف‌های مقاطع روده بچه‌ماهی کپور معمولی مربوط به تیمار ۴ (تغذیه شده با جیره حاوی پودر آویشن در مرحله اول و سم رانداپ در مرحله دوم آزمایش). A و B: مرحله یک (بدون دریافت سم). ساختار طبیعی روده در این تصاویر مشاهده می‌شود. پرزهای سالم (NV: Normal Villus) پوشیده شده با سلول‌های اپیتلیالی استوانه‌ای (EC: Epithelial Cell) و سلول‌های جامی (GC: Goblet Cell) در لابه‌لای آنها. C و D: مرحله دو (دریافت سم در جیره). در این تصاویر تغییر شکل و ریزش متوسط پرزهای روده (داخل خط چین بسته)، پرخونی (فلش) و نفوذ سلول‌های التهابی (نوک فلش) در پرزهای روده مشاهده می‌شود. E و F: مرحله سه (بدون دریافت سم). در این تصاویر ترمیم تا حد متوسط موفق سطح پوششی روده که ساختار نزدیک به شرایط طبیعی را در روده ایجاد کرده است. همچنین میزان متوسطی از تغییر شکل و حفره‌دار شدن در سلول‌های اپیتلیالی سطح پرزها مشاهده می‌شود (فلش بزرگ).

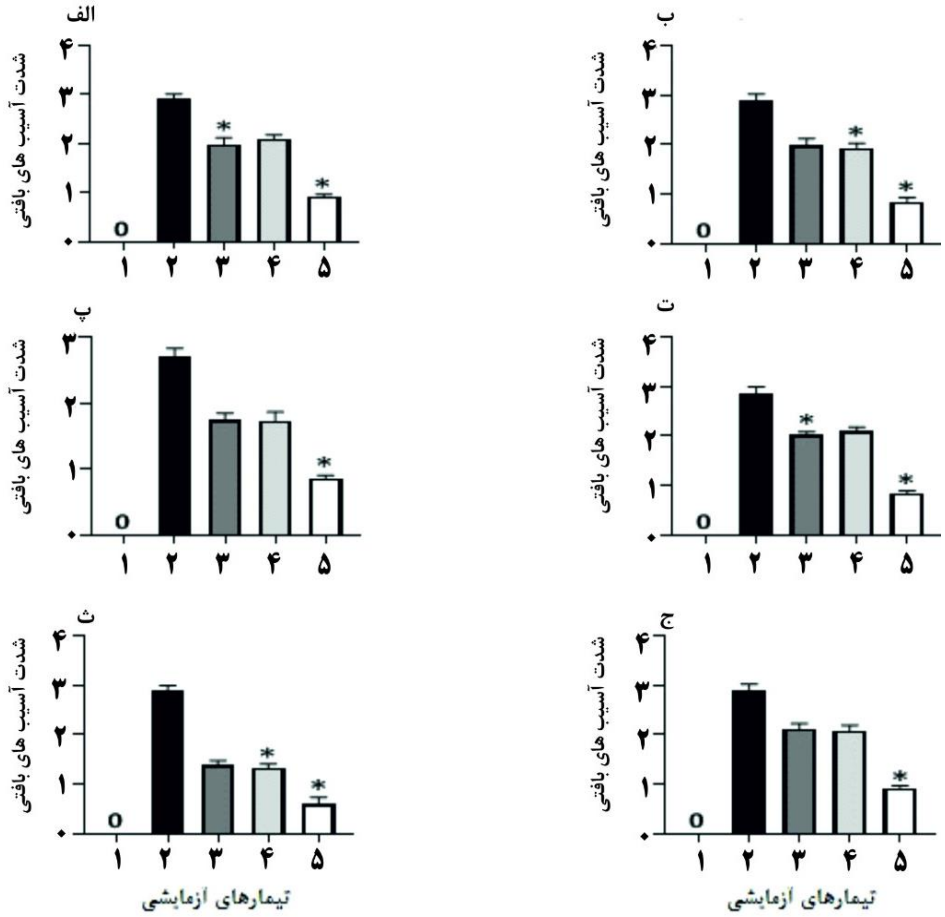
در نمونه‌های به دست آمده از تیمار پنجم آزمایش، در مرحله اول که بچه‌ماهیان هر دو پودر گیاهان رزماری و آویشن را به طور همزمان دریافت کرده بودند، ساختار کاملا طبیعی در بافت روده مشاهده شد (شکل ۵). در مرحله دوم پس از دریافت سم، در مقایسه با تیمار ۲ (بدون دریافت پودرهای گیاهی) تمامی آسیب‌های بافتی ناشی از سم به میزان قابل ملاحظه‌ای کاهش یافت (شکل ۵). همچنین در نمونه‌های مربوط به مرحله سوم بعد از گذشت دو هفته، این تغییرات نسبت به مرحله دوم کاهش بیشتری پیدا کرد به طوری که ساختار روده مشابه نمونه‌های گروه شاهد بود (شکل ۵).

نتایج نیمه کمی ضایعات و تغییرات بافتی روده در تیمارهای مختلف در مرحله دوم آزمایش

با توجه به عدم وجود تفاوت محسوس بین تیمارهای مختلف در مرحله اول، نتایج نیمه کمی این مرحله ارائه نشد. ولی نتایج نیمه کمی ضایعات و تغییرات بافتی روده در تیمارهای مختلف در مرحله دوم آزمایش، در شکل ۶ آورده شده است. در مرحله دوم تغییراتی مانند نکروز، حفره‌دار شدن سلول‌های اپیتلیالی روده، زخم‌شدگی به همراه به هم چسبیدن پرزهای روده، نفوذ سلول‌های التهابی، ادم و پرخونی در بافت روده مشاهده می‌شود. بیشترین و کمترین ضایعات به ترتیب در تیمارهای ۲ (حاوی سم) و ۵ (تیمار ترکیبی دو گیاه) وجود داشت ($P<۰/۰۵$).



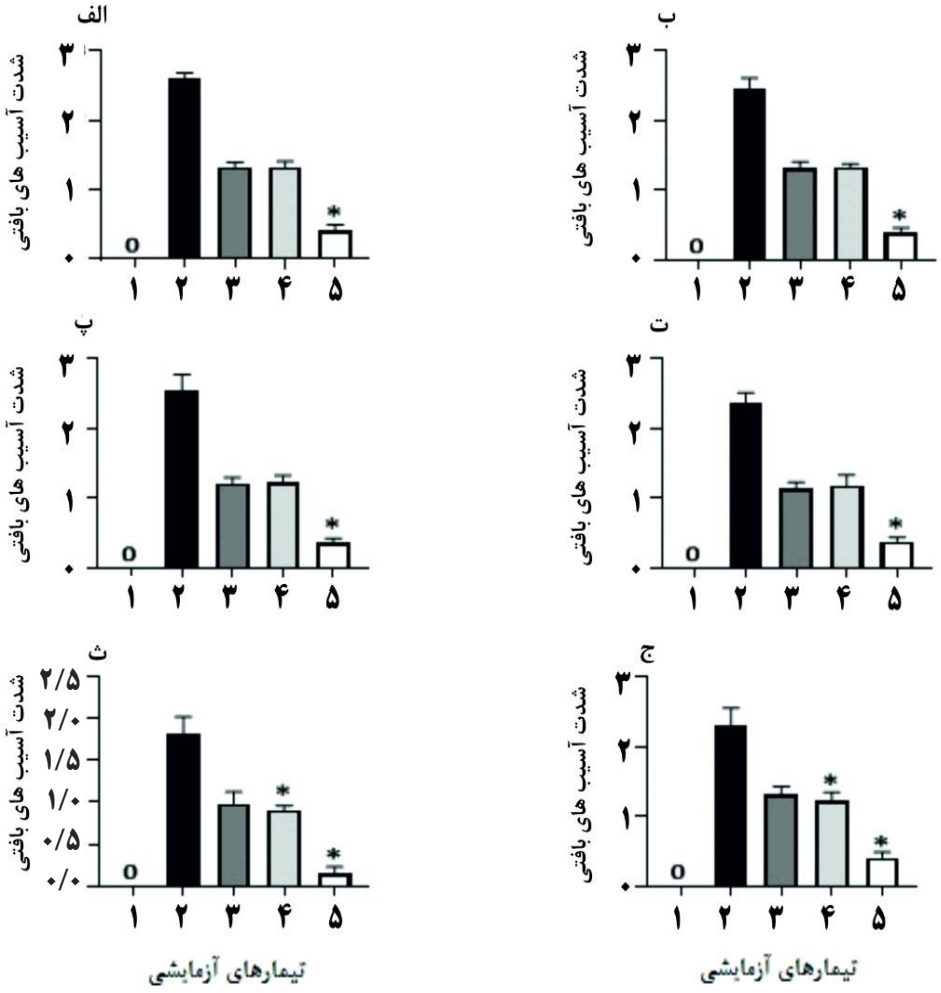
شکل ۵: میکروگراف‌های مقاطع روده بچه‌ماهی کپور معمولی مربوط به تیمار ۵ (تغذیه شده با جیره حاوی ترکیب پودرهای رزماری و آویشن در مرحله اول و سم رانداپ در مرحله دوم آزمایش). A و B: مرحله یک (بدون دریافت سم). ساختار طبیعی روده در این تصاویر مشاهده می‌شود. پرزهای سالم (NV: Normal Villus) پوشیده شده با سلول‌های اپیتلیالی استوانه‌ای (EC: Epithelial Cell) و سلول‌های جامی (GC: Goblet Cell) در لابه‌لای آنها. C و D: مرحله دو (دریافت سم در جیره). در این تصاویر تغییر شکل بسیار جزیی در نمای میکروسکوپ مقاطع روده مشاهده می‌شود. E و F: مرحله سه (بدون دریافت سم). در این تصاویر بافت روده کاملا طبیعی دیده می‌شود.



شکل ۶: مقایسه شدت ضایعات ناشی از سم رانداپ در بافت روده بچه‌ماهی کپور معمولی در تیمارهای مختلف در مرحله دوم (میانگین ± خطای استاندارد). الف) نکروز. ب) حفره‌دار شدن سلول‌های اپی‌تلیالی روده. پ) زخم‌شدگی به همراه به هم چسبیدن پرزهای روده. ت) نفوذ سلول‌های التهابی. ث) پرخونی. ج) ادم. علامت ستاره نشان‌دهنده اختلاف معنادار با تیمار ۲ است (P<۰/۰۵).

نتایج نیمه کمی ضایعات و تغییرات بافتی روده در تیمارهای مختلف در مرحله سوم آزمایش

همان طور که در نمودارها مشخص شده است (شکل ۷)، آسیب‌های مرحله دوم، در این مرحله هم مشاهده شد. ولی با گذشت دو هفته و حذف سم علف‌کش رانداپ از محیط و دوره استراحت، شدت آسیب‌ها کاهش یافت.



شکل ۷: مقایسه شدت ضایعات ناشی از سم رانداپ در بافت روده بچه‌ماهی کپور معمولی در تیمارهای مختلف در مرحله سوم (میانگین ± خطای استاندارد). الف) نکروز. ب) حفره‌دار شدن سلول‌های اپی‌تلیالی روده. پ) زخم‌شدگی به همراه به هم چسبیدن پرزهای روده. ت) نفوذ سلول‌های التهابی. ث) پرخونی. ج) ادم. علامت ستاره نشان‌دهنده اختلاف معنادار با تیمار ۲ است (P<۰/۰۵).

بحث

پرورش ماهی به صورت متراکم و با استفاده از آب رودخانه، چشمه و قنات از اولویت سیاست‌های شیلاتی هر کشوری است. در این میان استفاده از سموم کشاورزی برای کنترل آفات گیاهی و جانوری امری اجتناب‌ناپذیر و

نفوذ پساب این صنایع به واحدهای پرورش ماهی غیرقابل چشم‌پوشی است. در چنین شرایطی احتمال آلودگی جیره‌های غذایی به این سموم وجود دارد. بنابراین شیوه‌های مدیریت آنها می‌تواند در بهینه‌سازی و مدیریت آبزی‌پروری و در نتیجه افزایش سوددهی مزارع مفید باشد (Singh et al., 2005).

آفت‌کش‌ها جزء آلاینده‌های غیرنقطه‌ای هستند که از طریق نفوذ در لایه‌های آبی و زهکش مزارع می‌توانند وارد سیستم‌های آبزی‌پروری شوند و آسیب‌های بافتی شدیدی را در ماهیان پرورشی ایجاد کند. در پژوهش حاضر، مشخص شد استفاده از علف‌کش رانداپ منجر به بروز ضایعات بافتی مثل التهاب، حفره‌دار شدن، ادم، پرخونی و نکروز در بافت روده شده است. مشابه با نتایج مطالعه حاضر، Bhattacharjee و Das (۲۰۱۵) اثر آفت‌کش لیندان را بر بافت روده ماهی *Channa punctate* بررسی کردند و آسیب‌هایی مثل التهاب، حفره‌دار شدن، افزایش سلول‌های جامی و نکروز را گزارش کردند. در بررسی دیگر Samanta و همکاران (۲۰۱۶) اثر علف‌کش رانداپ را بر سیستم گوارشی (معده و روده) ماهی آناباس بررسی و بعد از مشاهدات میکروسکوپی، هایپرپلازی را در بافت‌ها گزارش کردند. همچنین Jiraungkoorskul و همکاران (۲۰۰۲) اثرات تخریبی علف‌کش رانداپ را بر اندام‌های کبد، کلیه و آبشش ماهیان بالغ و نابالغ تیلاپیای نیل مشاهده کردند. در پژوهش Szarek و همکاران (۲۰۰۰) با بررسی اثر علف‌کش رانداپ بر الگوی فراساختاری سلول‌های کبدی ماهی کپور معمولی، آسیب‌هایی مانند تورم میتوکندری و ناپدید شدن غشای داخلی میتوکندری در سلول‌های کبدی گزارش شد. در مطالعه Lushchak و همکاران (۲۰۰۹) نیز اثرات علف‌کش رانداپ بر بافت‌های کبد، کلیه و مغز ماهی طلایی بررسی و گزارش کردند که فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی سوپراکسیددیسموتاز (SOD) در تمام بافت‌ها مثل مغز ۹۲-۸۱ درصد و در کبد ۸۸ درصد کاهش یافت. به نظر می‌رسد سموم از جمله رانداپ از طریق ایجاد رادیکال‌های آزاد اکسیژن و تضعیف ظرفیت آنتی‌اکسیدانی منجر به آسیب‌های بافتی می‌شوند. رادیکال‌های آزاد اکسیژن از طریق اتصال به اجزای اصلی سلول مثل پروتئین و چربی سبب تشکیل ترکیبات سمی و در نهایت آسیب‌های بافتی می‌شوند (Kahraman et al., 2003). بنابراین، برای جلوگیری و یا ترمیم آسیب‌های بافتی، کنترل تشکیل رادیکال‌های آزاد اکسیژن الزامی است.

افزودن گیاهان دارویی به جیره غذایی، با توجه به مواد موثره آنها می‌توانند نقش مهمی در سم‌زدایی آلاینده‌ها در ماهیان داشته باشند (Bello et al., 2012). در مطالعه حاضر پودر گیاهان دارویی آویشن و رزماری به طور جداگانه و یا ترکیبی به جیره غذایی بچه‌ماهیان کپور معمولی اضافه و منجر به کاهش آسیب‌های ناشی از سم رانداپ شد. اگرچه اطلاعات کافی در مورد اثر گیاهان دارویی بر کاهش آسیب‌های بافتی وجود ندارد، ولی Gasnier و همکاران (۲۰۱۰) اثر رانداپ را بر تیره‌های مختلف سلولی کبد انسان به روش برون‌تنی (In virto) بررسی و سمیت آن را بر سلول‌ها تایید کردند. همچنین به نقش مثبت ماده Dig 1 که ترکیبی به دست آمده از عصاره سه نوع گیاه دارویی *Taraxacum officinalis*، *Arctium lappa* و *Berberis vulgaris* بود، در کاهش آثار منفی سم رانداپ تاکید کردند. این پژوهشگران بیان داشتند خواص آنتی‌اکسیدانی گیاهان یاد شده سبب کاهش رادیکال‌های اکسیژن و کاهش اکسیداسیون چربی می‌شود. همچنین وجود پلی‌فنول‌ها در این گیاهان به حفاظت سلول‌های کبد کمک می‌کند (Gasnier et al., 2010). گیاه رزماری دارای روغن‌های فرار، ترکیبات فنولی مثل اسید رزمارنیک و همچنین فلاوونوئیدها و دی‌ترپن‌ها که از اسید کارنوزیک مشتق می‌شوند، است که در فعالیت زیستی آن نقش مهمی دارد (Perez-Fons et al., 2006). مطالعات مختلفی نقش‌های آنتی‌اکسیدانی، ضد درد و التهاب همچنین درمان زخم‌های دستگاه گوارش توسط عصاره‌های آبی و الکلی رزماری را تایید کرده‌اند (Dias et al., 2000; Altinier et al., 2007) که به دلیل ترکیب موثره آن بویژه اسید کارنوزیک و اسید رزمارنیک است (Mulinaccia et al., 2011). اگرچه اطلاعاتی در مورد مکانیسم ترمیم ضایعات بافتی ماهیان توسط این گیاهان وجود ندارد، ولی بر اساس اطلاعات دیگر موجودات، عصاره رزماری از طریق کنترل مقادیر نیتریک اکسید به گشاد شدن رگ‌های خونی در دستگاه گوارش، افزایش جریان خون و تامین مواد مغذی برای سلول‌ها به ترمیم و حفاظت سلول‌ها کمک می‌کند (Li et al., 2000). همچنین به دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی در کاهش رادیکال‌های اکسیژنی و آسیب‌های بافتی نقش دارد. از طرفی دیگر غشای سلول‌ها را در مقابل پراکسیداسیون چربی محافظت می‌کند (Amaral et al., 2013). آویشن شیرازی هم به دلیل داشتن ترکیباتی مثل لینالوول، فلاوونوئیدها، مونو و دی‌ترپن‌ها دارای خواص ضددرد، ضدالتهاب و ضدقارچی

است (Minaiyan et al., 2005). لوتئولین یکی از مهم‌ترین ترکیبات فلاوونوئیدی است که در این گیاه یافت می‌شود و از طریق حذف رادیکال‌های اکسیژنی نقش حفاظتی در دستگاه گوارش دارد. همچنین ترپنوئیدها بویژه اولئانولیک از طریق تحریک ترشح موکوس نقش مهمی در بهبود التهاب و زخم دارد (Minaiyan et al., 2005). با توجه به این که اولئانولیک اصلی‌ترین ترپنوئید موجود در آویشن است، شاید از این طریق به کاهش آسیب‌های بافت روده ماهی کپور معمولی کمک کند. البته به دلیل کمبود اطلاعات در مورد نقش گیاهان دارویی در بهبود آسیب‌های بافتی ماهیان، انجام مطالعات تکمیلی در مورد مکانیسم‌های احتمالی ضروری است.

با توجه به نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر، افزودن گیاهان دارویی رزماری و آویشن به صورت جداگانه و یا به صورت ترکیبی به جیره غذایی بچه‌ماهیان کپور معمولی، در کاهش آسیب‌های ناشی از مواجهه با علف‌کش رانداپ تاثیر مثبتی داشت. از طرفی دیگر، در دوره بهبودی با حذف عامل آلاینده از محیط پرورشی، بچه‌ماهیان این توان را داشتند که تا حدودی بافت‌های آسیب دیده را بازسازی کنند.

منابع

بنایی م.، میرواقفی ع.، سورداگومیل ا.، رفیعی غ. و احمدی ک. ۱۳۹۱. مطالعه تغییرات فاکتورهای بیوشیمیایی خون و آسیب‌شناسی بافتی کبد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در تماس با غلظت‌های زیر کشنده دیازینون. نشریه محیط زیست طبیعی، ۶۵(۳): ۳۱۳-۲۹۷.

پورغلام ر.، قیاسی م.، رضایی م.، نصراله‌زاده ح.، سعیدی ع.ا.، بهروزی ش. و پورغلام م.ع. ۱۳۹۱. بررسی آسیب‌شناسی تاثیر غلظت‌های تحت کشنده سم دیازینون بر برخی اندام‌های کپور علف‌خوار (آمور). مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ۲۳(۹۸): ۳۲۶-۳۲۳.

حق‌جو جهرمی م.، ابراهیمی ع. و نعمت الهی ا. ۱۳۹۵. اثر مقادیر مختلف عصاره‌ی روغنی رزماری (*Rosmarinus officinalis*) بر شاخص‌های رشد و مورفولوژی روده بچه فیل‌ماهیان پرورشی (*Huso huso*). مجله تحقیقات دامپزشکی، ۷۱(۱): ۹۸-۹۱.

فراهانی ر.، خوشخو ژ. و سیفی ج. ۱۳۹۴. مدیریت تکثیر و پرورش ماهیان گرمابی. انتشارات نقش مهر. ۱۸۶ص.

کردوانی پ. ۱۳۷۴. زئوهیدروبیولوژی. انتشارات دانشگاه تهران. ۷۷ص.

نقش‌بندی ن. و عسکری حصنی م. ۱۳۹۶. مطالعه تاثیر سم کشاورزی گلایفوزیت بر برخی فاکتورهای خونی و تغییرات رفتاری ماهی کپور معمولی. مجله سلامت و محیط زیست، ۱۰(۲): ۱۸۶-۱۷۵.

Altinier G., Sosa S., Aquino R.P., Mencherini T., Loggia R.D. and Tubaro A. 2007. Characterization of topical antiinflammatory compounds in *Rosmarinus officinalis* L. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 55(5): 1718–1723.

Amaral G.P., De Carvalho N.R., Barcelos R.P., Dobrachinski F., De Lima Portella R., Da Silva M.H., Lugokenski T.H., Dias G.R.M., Da Luz S.C.A., Boligon A.A. and Athayde M.L. 2013. Protective action of ethanolic extract of *Rosmarinus officinalis* L. in gastric ulcer prevention induced by ethanol in rats. Food and Chemical Toxicology, 55: 48–55.

Ayoola S. 2008. Toxicity of glyphosate herbicide on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) juvenile. African Journal of Agricultural Research, 3: 825–834.

Bello O.S., Emikpe B.O. and Olaifa F.E. 2012. The body weight changes and gut morphometry of *Clarias gariepinus* juveniles on feeds supplemented with walnut (*Tetracarpidium conophorum*) leaf and onion (*Allium cepa*) bulb residues. International Journal of Morphology, 30: 253–257.

Benchaar C., Calsamiglia S., Chaves A.V., Fraser G.R., Colombatto D., McAllister T.A. and Beauchemin K.A. 2008. A review of plant-derived essential oils in ruminant nutrition and production. Animal Feed Science and Technology, 145(1-4): 209–228.

Bhattacharjee D. and Das S. 2015. Intestinal histopathology as a biomarker for lindane toxicity in teleost fish, *Channa punctate*. Global Journal of Biology, Agriculture and Health Sciences, 4(3): 16–18.

Borra S.K., Lagisetty R.K. and Mallela G.R. 2011. Anti-ulcer effect of *Aloe vera* in non-steroidal anti-inflammatory drug induced peptic ulcers in rats. African Journal of Pharmacy and Pharmacology, 5(16): 1867–1871.

Bozin B., Mimica-Dukic N., Samojlik I. and Jovin E. 2007. Antimicrobial and antioxidant properties of rosemary and sage *(Rosmarinus officinalis* and *Salvia officinalis*, Lamiaceae) essential oils. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 55: 7879–7885.

Carson C.F., Hammer K.A. and Riley T.V. 2006. *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil: Review antimicrobial and other medicinal properties. Journal of Microbiology, 19: 50–62.

Dias P.C., Foglio M.A., Possenti A. and De Carvalho J.E. 2000. Antiulcerogenic activity of crude hydroalcoholic extract of *Rosmarinus officinalis* L. Journal of Ethnopharmacology, 69(1): 57–62.

Gasnier C., Benachour N., Clair E., Travert C., Langlois F., Laurant C., Decroix-Laporte C. and Séralini G.E. 2010. Dig1 protects against cell death provoked by glyphosate-based herbicides in human liver cell lines. Journal of Occupational Medicine and Toxicology, 5(1): 1–13.

Ghasemi Pirbaluti A., Pirali A., Pishkar G.R., Jalali S.M.A., Raesi M., Jafarian Dehkordi M. and Hamedi B. 2011. The essential oils of some medicinal plants on the immune system and growth of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Journal of Herbal Drugs, 2: 149–155.

Gretchen l. 1979. Animal Tissue Techniques. W.H. Freeman and Company, USA. 661P.

Gul H., Abbas K. and Qadir M.I. 2015. Gastro-protective effect of ethanolic extract of *Mentha longifolia* in alcohol-and aspirin-induced gastric ulcer models. Bangladesh Journal of Pharmacology, 10(1): 241–245.

Jiraungkoorskul W., Upatham E.S., Kruatrachue M., Sahaphong S., Vichasri-Grams S. and Pokethitiyook P. 2002. Histopathological effects of

Roundup, a glyphosate herbicide, on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Science Asia, 28: 121–127.

Kahraman A., Erkasap N., Koken T., Serteser M., Aktepe F. and Erkasap S. 2003. The antioxidative and antihistaminic properties of quercetin in ethanol-induced gastric lesions. Toxicology, 183: 133–142.

Li Y., Wang W.P., Wang H.Y. and Cho C.H. 2000. Intragastric administration of heparin enhances gastric ulcer healing through a nitric oxide-dependent mechanism in rats. European Journal of Pharmacology, 399(2-3): 205–214.

Lushchak V., Kubrak O.I., Storey J.M., Storey K.B. and Lushchak V.I. 2009. Low toxic herbicide roundup induces mild oxidative stress in goldfish tissues. Chemosphere, 76: 932–937.

Malik M.S., Iqbal M.J. and Hamid S. 2003. Essential oils resources of Pakistan studies on the essential oils of the species of Labiatae: Part-1. Pakistan Journal of Science, 55 (1-2): 34–36.

Mansingh A. and Wilson A. 1995. Insecticide contamination of Jamaican environment III. Baseline studies on the status of insecticidal pollution of Kingston Harbour. Marine Pollution Bulletin, 30: 640–645.

Minaiyan M., Ghannadi A. and Salehi E. 2005. Antiulcerogenic effect of *Zataria multiflora* Boiss. on cysteamine induced duodenal ulcer in rats. Iranian Journal of Pharmaceutical Sciences, 1(4): 223–229.

Mirzakhani N., Farshid A.A., Tamaddonfard E., Imani M., Erfanparast A. and Noroozinia F. 2018. Carnosine improves functional recovery and structural regeneration after sciatic nerve crush injury in rats. Life Sciences, 215: 22–30.

Mulinaccia N., Innocenti M., Bellumori M., Giaccherini C., Martini V. and Michelozzi M. 2011. Storage method, drying processes and extraction procedures strongly affect the phenolic fraction of rosemary leaves: An HPLC/DAD/MS study. Talanta, 85(1): 167–176.

Naghdi Badi H. Darab H., Yazdani D., Sajedi M. and Nazari F. 2004. Effects of spacing and harvesting time on herbage yield and quality of oil in thyme. Industrial Crops and Products, 19(3): 231–238.

Nakhai L.A., Mohammadirad A., Yasa N., Minaie B., Nikfar S., Ghazanfari G., Zamani M.J., Dehghan G., Jamshidi H., Boushehri V.S. and Khorasani R. 2007. Benefits of *Zataria multiflora* Boiss in experimental model of mouse inflammatory bowel disease. Evidence-Based

Complementary and Alternative Medicine, 4(1): 43–50.

Nanjundaiah S.M., Annaiah H.N.M. and Dharmesh S.M. 2011. Gastroprotective effect of ginger rhizome (*Zingiber officinale*) extract: Role of gallic acid and cinnamic acid in H^+,K^+-ATPase/H. Pylori inhibition and anti-oxidative mechanism. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2011: 1–13 (249487).

Perez-Fons L., Aranda F.J., Guillen J., Villalain J. and Micol V. 2006. Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) diterpenes affect lipid polymorphism and fluidity in phospholipid membranes. Archives of Biochemistry and Biophysics, 453: 224–236.

Pintore G., Usai M., Bradesi P., Juliano C., Boatto G., Tomi F., Chessa M., Cerri R. and Casanova J. 2002. Chemical composition and antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis* L. oils from Sardinia and Corsica. Flavour and Fragrance Journal, 17(1): 15–19.

Ramsden C.S., Smith T.J., Shaw B.J. and Handy R.D. 2009. Dietary exposure to titanium dioxide nanoparticles in rainbow trout, (*Oncorhynchus mykiss*): No effect on growth, but subtle biochemical disturbances in the brain. Ecotoxicology, 18(7): 939–951.

Samanta P., Pal S., Mukherjee A.K., Senapati T. and Ghosh A.R. 2016. Histopathological and ultrastructural alterations in *Anabas testudineus* exposed to glyphosate-based herbicide, excel mera 71 under field and laboratory conditions. Journal of Aquaculture Research and Development, 7(7): 1–6 (436).

Singh P.K., Gaur S.R., Barik P., Sulochona S., Shukla S. and Singh S. 2005. Effect of protein levels on growth and digestibility in the Indian major carp, *Labeo rohita* (Hamilton) using slaughter house waste as the protein source. International Journal of Agriculture and Biology, 7(6): 939–941.

Szarek J., Siwicki A., Andrzejewska A., Terech-Majewska E. and Banaszkiewicz T. 2000. Effects of the herbicide roundup™ on the ultrastructural pattern of hepatocytes in carp (Cyprinus carpio). Marine Environmental Research, 50: 263–266.

Tasa H., Imani A., Moghanlou K.S., Nazdar N. and Moradi-Ozarlou M. 2020. Aflatoxicosis in fingerling common carp (*Cyprinus carpio*) and protective effect of rosemary and thyme powder: Growth performance and digestive status. Aquaculture, 527: 1–7 (735437).

Tu M., Hurd C. and Randall J.M. 2001. Weed Control Methods

Handbook: Tools and Techniques for Use in Natural Areas. The Nature Conservancy, USA. 219P.

Aquatic Physiology and Biotechnology

Vol. 9, No. 4, Winter 2022

Research Paper

Effect of dietary supplementation with rosemary (*Rosmarinus officinalis*) and thyme (*Zataria multiflora*) powders on intestinal histopathology of common carp (*Cyprinus carpio*) fingerlings fed Roundup® contaminated diet

Majid Parmohammadi[1], Kourosh Sarvi Moghanlou[2]*, Ahmad Imani[2]

Received: February 2021 Accepted: August 2021

Abstract

The present study was aimed to determine the intestinal histopathological changes of common carp fingerling following dietary exposure to Roundup® and the efficacy of dietary inclusion of medicinal plants thyme and rosemary powders to decrease such tissue changes. For this purpose, 300 fingerlings with an average body weight of 15±1.5g were randomly distributed to 5 treatments and fed at 3 different stages as follow: stage 1 with a diet containing 20g/kg of plant powder alone or in combination (treatments 3-5), stage 2 with a diet containing 2.3 mg/kg of Roundup® (treatments 2-5) and stage 3 feeding with diets with neither contaminant nor the medicinal plant powders. Results showed that at the end of the first stage, intestinal tissue had normal microscopic appearance. Pathological changes including necrosis, detachment of intestinal villus, vacuolation in intestinal epithelial cells, infiltration of inflammatory cells along with edema and hyperemia were observed at the end of the second stage in those groups exposed to dietary Roundup® (treatment 2), but those fish previously received diets supplemented with rosemary or thyme (treatments 3 and 4) showed mild tissue changes. Furthermore, simultaneous dietary administration of rosemary and thyme powders (treatment 5) resulted in better tissue protection. Based on the results of the stage 3, after two weeks long recovery period, tissue significant structure amendment was observed in comparison to the previous stage ($P<0.05$). In conclusion, dietary inclusion of medicinal plant *Rosmarinus officinalis* and *Zataria multiflora* powders could reduce the histopathological changes in intestine of common carp fingerling exposed to dietary Roundup®.

Key words: *Tissue Damage, Intestine, Herbicide, Medicinal Plant,* Cyprinus carpio.

1- M.Sc. in Aquatics Ecology, Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, Urmia University, Urmia, Iran.

2- Associate Professor in Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, Urmia University, Urmia, Iran.

*Corresponding Author: k.sarvimoghanlou@urmia.ac.ir