

(OPEN ACCESS)

Immune response, stress indicators and antioxidant capacity of common carp larvae fed with different levels of nanoemulsion of essential oils of medicinal plants (thyme, oregano and garlic)

Zahra Kohestani¹, Hojatollah Jafarian^{*2}, Hossein Adineh³, Zia Kordjezi⁴

1. M.Sc. Student of Fisheries, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Gonbad Kavous University, Gonbad Kavous, Iran. E-mail: zwrww80@gmail.com
2. Corresponding Author, Professor, Dept. of Fisheries, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Gonbad Kavous University, Gonbad Kavous, Iran. E-mail: hojat.jafaryan@gmail.com
3. Associate Prof., Dept. of Fisheries, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Gonbad Kavous University, Gonbad Kavous, Iran. E-mail: adineh.h@gmail.com
4. Assistant Prof., Dept. of Fisheries, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Gonbad Kavous University, Gonbad Kavous, Iran. E-mail: z.kordjazi@gmail.com

Article Info

Article type:

Full Length Research Paper

Article history:

Received: 05.25.2025

Revised: 06.07.2025

Accepted: 06.13.2025

Keywords:

Carp larvae,
Immunity and antioxidant
activity,
Medicinal plant
nanoemulsion

ABSTRACT

Background and Objectives: Nano-essential oils of medicinal plants have been successfully used as feed additives with growth-promoting, immune-stimulating, antimicrobial, and antioxidant properties for various species of aquatic animals. This study was designed to investigate the effect of applying different levels of nanoemulsion containing essential oils of medicinal plants (thyme, oregano, and garlic) on the immune response, stress indicators and antioxidant capacity of common carp larvae.

Materials and Methods: 360 common carp larvae were randomly distributed in 12 tanks (30 per tank). The experiment was conducted in 4 treatments (each with 3 replications) with concentrations of 0 (control), 3.5, 7, and 14 μ l/essential oil nanoemulsion mixture per gram of food (T0 control, T1, T2, and T3, respectively) for 8 weeks. At the end of the period, 3 fish were randomly caught from each replicate and heparinized blood samples were taken to measure immune factors, stress indices, and antioxidants.

Results: Immune parameters were statistically different among experimental treatments. The highest concentrations of total immunoglobulin, lysozyme and complement activity and the lowest cortisol concentrations were obtained in treatments T1 and T2, respectively. Total antioxidant capacity and peroxidase enzyme activity had a statistically significant increase in T1 treatment. Superoxide dismutase and glutathione peroxidase enzymes had a significant increase in T1 and T2 treatments compared to other experimental treatments. Catalase and malondialdehyde enzymes had a statistically significant decrease in T1 and T2 treatments, while their values increased in other experimental treatments.

Conclusion: Overall, common carp larvae fed with concentrations of 3.5 and 7µl of medicinal plant compound nanoemulsion (T1 and T2) had better immune, stress indicators and antioxidant responses compared to other experimental treatments.

Cite this article: Kohestani, Zahra, Jafarian, Hojatollah, Adineh, Hossein, Kordjezi, Zia. 2026. Immune response, stress indicators and antioxidant capacity of common carp larvae fed with different levels of nanoemulsion of essential oils of medicinal plants (thyme, oregano and garlic). *Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics*, 15 (2), 143-158.



© The Author(s).

Doi: 10.22069/japu.2025.23698.1956

Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

پاسخ ایمنی، شاخص‌های استرس و ظرفیت آنتی‌اکسیدان لارو ماهی کپور معمولی تغذیه شده با سطوح مختلف نانوامولسیون ترکیب اسانس گیاهان دارویی (آویشن، پونه و سیر)

زهره کوهستانی^۱، حجت‌ا... جعفریان^{۲*}، حسین آدینه^۳، ضیاء کردجزی^۴

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران.
رایانامه: zwrrw80@gmail.com
۲. نویسنده مسئول، استاد گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران.
رایانامه: hojat.jafaryan@gmail.com
۳. دانشیار گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران. رایانامه: adineh.h@gmail.com
۴. استادیار گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران. رایانامه: z.kordjazi@gmail.com

چکیده	اطلاعات مقاله
سابقه و هدف: نانواسانس‌های گیاهان دارویی به‌عنوان افزودنی‌های خوراکی باخواص تحریک رشد، محرک ایمنی، ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی برای گونه‌های مختلف حیوانات آبزیان با موفقیت مورد استفاده قرار گرفته است. این مطالعه با هدف بررسی تأثیر به‌کارگیری سطوح مختلف نانوامولسیون ترکیب اسانس گیاهان دارویی (آویشن، پونه و سیر) بر پاسخ ایمنی، شاخص‌های استرس و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی لارو ماهی کپور معمولی طراحی شد.	نوع مقاله: مقاله کامل علمی-پژوهشی
	تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۳/۰۴
	تاریخ ویرایش: ۱۴۰۴/۰۳/۱۷
	تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۳/۲۳
مواد و روش‌ها: تعداد ۳۶۰ قطعه لارو ماهی کپور معمولی در ۱۲ مخزن (۳۰ قطعه در هر مخزن) به‌صورت تصادفی توزیع شد. آزمایش در ۴ تیمار (هر کدام با ۳ تکرار) با غلظت‌های ۰ (شاهد)، ۳/۵، ۷ و ۱۴ میلی‌لیتر مخلوط نانوامولسیون اسانس در هر گرم غذا (به‌ترتیب شاهد T0، T1، T2 و T3) به‌مدت ۸ هفته انجام شد. انتهای دوره، از هر تکرار ۳ ماهی به‌طور تصادفی صید و نمونه خون هپارینه برای سنجش فاکتورهای ایمنی، شاخص‌های استرس و آنتی‌اکسیدان انجام شد.	واژه‌های کلیدی: فعالیت ایمنی و آنتی‌اکسیدانی، لارو ماهی کپور، نانوامولسیون گیاهان دارویی
یافته‌ها: پارامترهای ایمنی بین تیمارهای آزمایشی اختلاف آماری داشت. بیش‌ترین غلظت ایمنوگلوبین کل، لیزوزیم و مسیر فرعی کمپلمان و کم‌ترین غلظت کورتیزول در تیمارهای T1 و T2 به‌دست آمد. ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل و فعالیت آنزیم پروکسیداز در تیمار T1 افزایش	

معنی‌دار آماری داشت. آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و گلوکاتایون پروکسیداز در تیمارهای T1 و T2 در مقایسه با دیگر تیمارهای آزمایشی افزایش معنی‌دار داشت. آنزیم‌های کاتالاز و مالوندی آلدئید در تیمارهای T1 و T2 کاهش معنی‌دار آماری داشت در حالی‌که در دیگر تیمارهای آزمایشی مقادیر آنها افزایش یافت.

نتیجه‌گیری: در مجموع، لارو ماهی کپور معمولی تغذیه شده با غلظت‌های ۳/۵ و ۷ میکروگرم نانوامولسیون ترکیب گیاهان دارویی (T1 و T2) پاسخ ایمنی، شاخص‌های استرس و آنتی‌کسیدانی بهتری در مقایسه با دیگر تیمارهای آزمایشی داشتند.

استناد: کوهستانی، زهرا، جعفریان، حجت‌ا...، آدینه، حسین، کردجزی، ضیاء (۱۴۰۵). پاسخ ایمنی، شاخص‌های استرس و ظرفیت آنتی‌اکسیدان لارو ماهی کپور معمولی تغذیه شده با سطوح مختلف نانوامولسیون ترکیب اسانس گیاهان دارویی (آویشن، پونه و سیر). نشریه بهره‌برداری و پرورش آبزیان، ۱۵ (۲)، ۱۵۸-۱۴۳.

Doi: 10.22069/japu.2025.23698.1956



© نویسندگان.

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

مقدمه

ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) یکی از مهم‌ترین گونه‌های پرورشی در ایران است که به دلیل قابلیت خوب این ماهی در امر تکثیر و پرورش آن در منابع آبی از اهمیت به‌سزایی در صنعت آبی‌پروری برخوردار می‌باشد (۱). تولید این ماهی در مرحله لاروی و نوزادی و به‌عبارتی پرورش اولیه آن از اهمیت به‌سزایی برخوردار بوده و در این خصوص از مهارت‌های مختلفی برای افزایش تولید آن‌ها می‌توان نام برد که در همین راستا در سال‌های اخیر استفاده از عوامل رشددهنده نظیر هورمون‌های رشد، پروبیوتیک‌ها، پری‌بیوتیک‌ها، اشتهاآورها، مواد جاذب و هم‌چنین عصاره و اسانس‌های گیاهان دارویی را می‌توان نام برد.

استفاده از گیاهان دارویی به‌عنوان داروی طبیعی در کشورهای مختلف جهان رو به رونق و پیشرفت است که در این ارتباط منابع مفیدی از ترکیبات فعال زیستی برای درمان موثر بیماری‌ها در آبزیان فراهم شده است (۲)، که می‌تواند با تقویت سیستم ایمنی و آنتی‌اکسیدانی باعث افزایش سلامت آبی شود. بر خلاف ترکیبات شیمیایی که استفاده از آن‌ها می‌تواند باعث آلودگی زیست‌محیطی و در مواقعی آلودگی گوشت آبی گردد به‌کارگیری ترکیبات گیاهی با خاصیت دارویی به‌دلیل داشتن متابولیت‌های ثانویه و ترکیبات فعال زیستی موجود در گیاه هم‌چون آلکالوئیدها، فلاونوئیدها، رنگدانه‌ها، فنول‌ها، ترپن‌ها، استروئیدها، گلیکوزیدها، ساپونین‌ها، پلی‌پتیدها، تانن‌ها، پلی‌ساکاریدها و روغن‌های ضروری می‌تواند نقش مختلفی از جمله داشتن اثرات ضد میکروبی، خواص ضد استرس، تقویت سیستم ایمنی و آنتی‌اکسیدانی ماهیان داشته باشد (۳). از گیاهان دارویی پرکاربرد در صنعت آبی‌پروری می‌توان به گیاه آویشن، سیر و پونه اشاره کرد که با داشتن

ترکیبات آنتی‌اکسیدانی منجر به بهبود شرایط زیستی می‌گردد. آویشن با نام علمی (*Thymus vulgaris*)، یک گیاه معطر متعلق به خانواده نعنائیان و بومی مناطق مدیترانه است. این گیاه دارای حدود ۰/۸ تا ۲/۶ درصد اسانس است. مهم‌ترین ترکیبات آویشن تیمول و کارواکرول است که این ترکیبات دارای خواص آنتی‌اکسیدانی قوی می‌باشند. سیر با نام علمی (*Allium sativum*) گیاهی استاز راسته مارچوبه‌سانان (*Asparagales*) از خانواده نرگسیان می‌باشد. عصاره سیر یکی از محرک‌های ایمنی گیاهی و مکمل غذایی می‌باشد که در جیره آبزیان به‌کار برده می‌شود. عصاره سیر دارای ترکیبات متنوعی از انواع اسیدهای آمینه، مواد آلی، هیدرات‌های کربن، چربی، ترپنوئید، آنزیم، پروستاگلندین، آلیساتین، آلون و آلیسین، مواد معدنی، سدیم، پتاسیم می‌باشد (۴). اسانس پونه کوهی غنی از کارواکرول و تیمول است که در نقش ضدباکتری، ضد التهابی، آنتی‌اکسیدانی و تعدیل ایمنی در حیوانات آبی نقش دارد (۲). بر اساس گزارش‌های منتشرشده استفاده از اسانس گیاهان دارویی در جیره غذایی ماهی کپور معمولی می‌تواند باعث تقویت سیستم ایمنی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی آبزیان شود (۲، ۵، ۶، ۷). بیش‌تر تحقیقات متمرکز به استفاده مجزا از گیاهان دارویی بوده و در مطالعه حاضر از ترکیب گیاهان دارویی (آویشن، پونه و سیر) به‌صورت امولاسیون در جیره غذایی لارو ماهی کپور معمولی استفاده شد از این‌رو، هدف از اجرای این پژوهش بررسی نقش مؤثر ترکیبات نانو اسانس‌های گیاهی (آویشن، پونه و سیر) بر پاسخ سیستم ایمنی و آنتی‌اکسیدانی لارو ماهی کپور معمولی بود.

مواد و روش‌ها

طرح آزمایش: لارو ماهی کپور معمولی از مرکز پرورش ماهیان گرم آبی شهید چمران (شهرستان گنبد

کاووس- استان گلستان) تهیه و برای سازگاری با شرایط آزمایشگاهی به مدت ۱۰ روز در آزمایشگاه شیلات دانشگاه گنبد کاووس نگهداری شد. تعداد ۳۶۰ قطعه ماهی در ۱۲ مخزن با حجم آبگیری ۳۰ لیتر ذخیره‌سازی شد (۳۰ قطعه در هر تکرار). محلول امولسیون مخلوط سه گیاه آویشن، پونه و سیر از شرکت دانش بنیان طلای طبیعت کوه‌رنگ (پارک علم و فناوری خراسان رضوی - مشهد) و غذای ماهی کپور معمولی از شرکت فرادانه تهیه گردید. آزمایش در ۴ تیمار (هر کدام با ۳ تکرار) با غلظت‌های ۰ (شاهد)، ۳/۵، ۷ و ۱۴ میلی‌لیتر مخلوط نانوامولسیون اسانس سه گیاه آویشن، پونه و سیر (با نسبت مساوی حجمی در امولسیون نانو اسانس تهیه شده) در هر گرم غذا (به ترتیب شاهد T0، T1، T2 و T3) به مدت ۸ هفته انجام شد. گروه شاهد از جیره بدون مکمل‌سازی با نانو اسانس گیاهی تغذیه شدند.

نمونه‌برداری خون ماهی کپور: در انتهای دوره پرورش، بعد از ۲۴ ساعت گرسنگی ماهیان و بیهوش آن‌ها با عصا گل میخک به میزان ۲۵ میلی‌گرم در لیتر از طریق ساقه دمی خون‌گیری صورت گرفت. خون حاوی ماده ضدانعقاد هپارینه که نمونه‌های خون ماهیان هر تکرار به مدت ۳۰ دقیقه در یخچال نگهداری شده و سپس برای جداسازی پلاسما به مدت ۱۰ دقیقه در دور ۵۰۰۰ سانتریفیوژ گردید. نمونه پلاسما تا زمان سنجش فاکتورهای ایمنی و آنتی‌اکسیدانی در فریزر ۷۰- نگهداری شد.

سنجش ایمنی خون: سطوح کورتیزول پلاسما با استفاده از کیت آزمایشگاهی Ellis با طول موج ۴۵۰ نانومتر (۶). سطح گلوکز، پروتئین کل و آلبومین با استفاده از کیت تجاری بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده و به روش رنگ‌سنجی تعیین نگردید. فعالیت لیزوزیم پلاسما خون با استفاده از آزمایش کدورت سنجی از روش ارائه شده توسط الیس (۱۹۹۰) استفاده شد (۸). ۱ میلی‌لیتر از سوسپانسیون باکتریایی

(*Micrococcus lysodeikticus*) با ۲۵ میکرولیتر پلاسما خون مخلوط و میانگین کاهش در چگالی نوری در هر دقیقه طی پنج دقیقه در طول موج ۴۵۰ نانومتر ثبت شد. هر ۰/۰۱ کاهش در چگالی نوری به عنوان یک واحد فعالیت لیزوزیم در نظر گرفته شد. میزان ایمنوگلوبولین توسط کیت به روش کدورت‌سنجی انجام شد (۹). بدین‌منظور، ۰/۱ میلی‌لیتر از پلاسما نمونه با ۰/۱ میلی‌لیتر محلول پلی‌اتیلن گلیکول ۱۲ درصد مخلوط و در دمای اتاق به مدت ۲ ساعت انکوباته شد. نمونه‌ها در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با دور ۵۰۰۰ در دقیقه سانتریفیوژ شد. میزان ایمنوگلوبولین کل سوسپانسیون از تفریق غلظت پروتئین در نمونه اولیه و غلظت پروتئین پس از افزودن پلی‌اتیلن گلیکول محاسبه شد. مسیر فرعی کمپلمان alternative (ACH₅₀) به روش سانیر و تورت (۱۹۹۵) تعیین شد (۱۰)، بدین‌منظور فعالیت مکمل بر اساس همولیز گلبول‌های قرمز خرگوش اندازه‌گیری گردید. گلبول‌های قرمز خرگوش سه مرتبه با بافر اتیلن گلیکول تترا استیک اسید-منیزیم-ژلاتین ورنال شسته شده و تعداد سلول‌های آن به کمک لام نئوبار در هر میلی‌لیتر بافر $10^8 \times 2$ 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 پلاسما خون ۱۰۰ برابر با بافر فوق، رقیق شده و حجم‌های متفاوتی از آن در لوله آزمایش استریل تهیه و حجم همه لوله‌ها به کمک بافر 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

نرم‌افزار Spss-22 انجام شده و نمودارها نیز با به‌کارگیری نرم‌افزار Excel ترسیم شد. برای مقایسه میانگین‌های داده‌های از آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) با استفاده از آزمون چند دامنه دانکن در سطح احتمال ۹۵ درصد ($p < 0.05$) استفاده شد.

نتایج

نتایج آنالیز پارامترهای ایمنی لارو ماهی کپور معمولی تغذیه شده با سطوح مختلف ترکیب نانوامولسیون اسانس گیاهان دارویی (آویشن، پونه و سیر) در جدول ۱ آورده شده است. غلظت ایمونوگلوبولین کل، مسیر فرعی کمپلمان و لیزوزیم بین تیمارهای آزمایشی تفاوت آماری معنی‌داری داشت ($P < 0.05$)، به‌طوری‌که بیش‌ترین مقادیر آن‌ها در تیمارهای ۳/۵ و ۷ میکرولیتر نانوامولسیون T1 و T2 به‌دست آمد. بیش‌ترین مقدار پروتئین و کم‌ترین غلظت کراتینین در تیمارهای T1 و T2 به‌دست آمد. آلبومین بین تیمارهای شاهد و تغذیه با مخلوط اسانس گیاهان دارویی اختلاف آماری نداشت ($P > 0.05$).

سانتریفیوژ شده و جذب نوری محلول رویی در طول موج ۴۱۴ نانومتر قرائت گردید. کراتینین به روش جاف و پس از واکنش با اسید پیکریک در طول موج ۵۱۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (۱۱).

سنجش ظرفیت آنتی‌اکسیدان: آنزیم سوپر اکساید دیسموتاز (SOD)، در حضور هیدروژن پراکساید (H_2O_2) فرآیند اتواکسیداسیون پیروگالول بررسی و با دستگاه اسپکتوفتومتر در طول موج ۴۲۰ نانومتر سنجش شد (۱۲). گلووتاتیون احیا شده بر اساس روش المن (۱۹۵۹) در طول موج ۴۱۲ نانومتر اندازه‌گیری شد (۱۳) و فعالیت مالون دی‌آلدئید (MDA) براساس روش بلوچ‌نژاد مجرد و همکاران (۲۰۱۰) در طول موج ۵۳۵ نانومتر سنجش شد (۱۴). برای سنجش آنزیم کاتالاز (CAT) نمونه‌ها با محلول پراکسید هیدروژن (H_2O_2) به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق قرار گرفته و سپس از محلول آمونیوم مولیبدات جهت توقف فرآیند اکسیداسیون با دستگاه اسپکتوفتومتر در طول موج ۴۱۰ نانومتر انجام شد (۱۵).

آنالیز آماری: آنالیز آماری داده‌های به‌دست آمده از فاکتورهای ایمنی و آنتی‌اکسیدانی، با استفاده از

جدول ۱- پاسخ ایمنی لارو ماهی کپور معمولی تغذیه شده با نانوامولسیون اسانس گیاهان دارویی.

Table 1. Immune response of common carp larvae fed with nanoemulsion of medicinal plant essential oils.

معیارها	تیمارها	T0 (شاهد بدون مکمل)	T1 (۳/۵ میکرولیتر)	T2 (۷ میکرولیتر)	T3 (۱۴ میکرولیتر)
ایمونوگلوبولین کل Total Immunoglobulin (mg/ml)		20.65±0.15 ^b	23.15±0.25 ^a	22.65±0.15 ^a	19.75±0.45 ^c
مسیر فرعی کمپلمان ACH50 (U/ml)		131.50±1.50 ^b	135.00±2.00 ^a	135.50±0.50 ^a	131.50±0.50 ^b
لیزوزیم Lysozyme (U/ml/d)		30.85±0.65 ^b	42.55±0.28 ^a	42.95±0.55 ^a	30.25±0.55 ^b
پروتئین کل Total protein (g/dl)		3.62±0.03 ^b	4.25±0.06 ^a	4.16±0.05 ^a	3.21±0.04 ^c
آلبومین Albumin (g/dl)		1.24±0.07 ^a	1.50±0.03 ^a	1.38±0.01 ^a	1.66±0.07 ^a
کراتینین Creatinine (U/ml)		0.453±0.017 ^{ab}	0.312±0.005 ^c	0.422±0.005 ^b	0.482±0.043 ^a

وجود حروف غیرهمسان در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای آزمایشی است ($p < 0.05$)

The presence of different letters in each row indicates a significant difference between experimental treatments ($p < 0.05$)

نتایج به‌دست آمده از آنالیز آماری شاخص‌های استرس لارو ماهی کپور معمولی تغذیه شده با سطوح مختلف ترکیب نانوامولسیون اسانس گیاهان دارویی (آویشن، پونه و سیر) در جدول ۲ آورده شده است. غلظت کورتیزول کاهش معنی‌دار آماری در تیمارهای T1 و T2 داشت ($P < 0.05$)، درحالی‌که در تیمارهای T0 و T3 این فاکتور افزایش داشت. غلظت گلوکز در تیمارهای T0 افزایش معنی‌دار آماری داشت

($P < 0.05$)، در حالی‌که بیش‌ترین مقدار آن در تیمار T1 به‌دست آمد. مقادیر آنزیم‌های کبدی در تیمارهای مختلف تغذیه‌ای تفاوت معنی‌دار آماری داشت. آنزیم کبدی به‌طور معنی‌داری در تیمار شاهد در مقایسه با تیمارهای تغذیه شده با سطوح مختلف نانوامولسیون اسانس گیاهان دارویی (آویشن، پونه و سیر) افزایش داشت ($P < 0.05$).

جدول ۲- شاخص‌های استرس لارو ماهی کپور معمولی تغذیه شده با نانوامولسیون اسانس گیاهان دارویی.

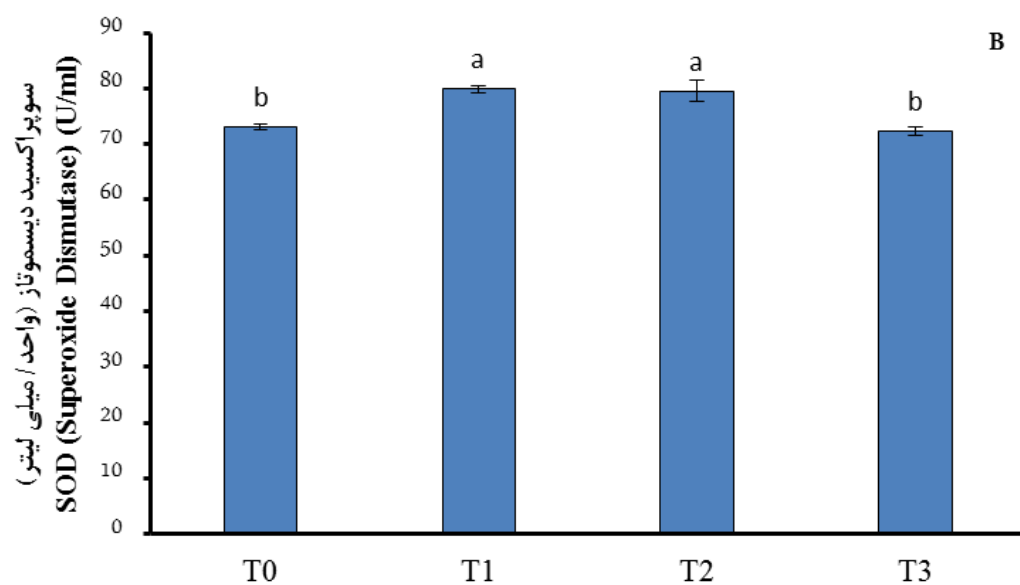
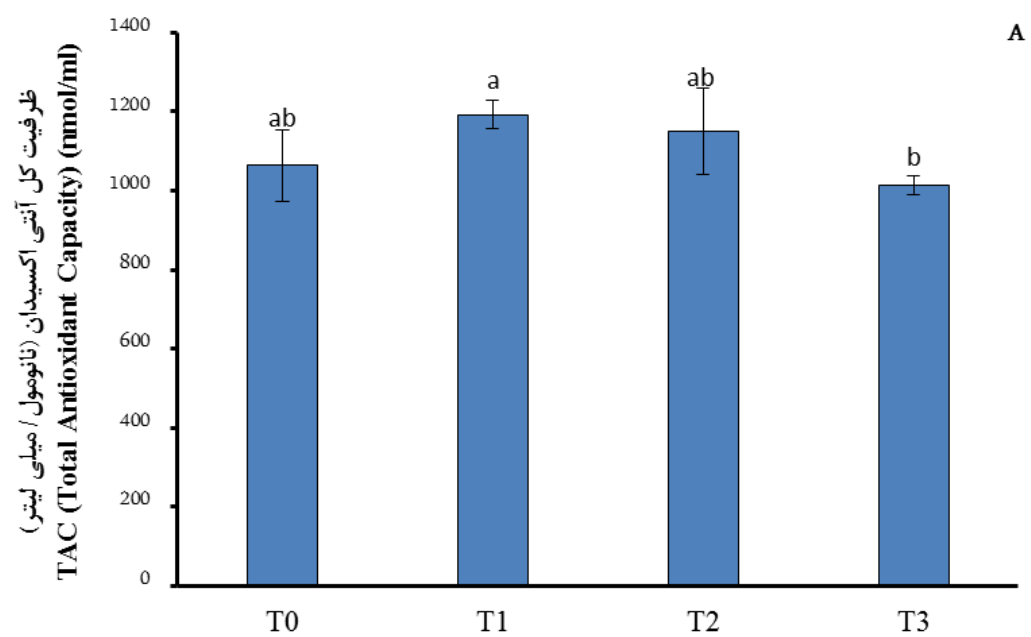
Table 2. Stress indices of common carp larvae fed with medicinal plant essential oil nanoemulsion.

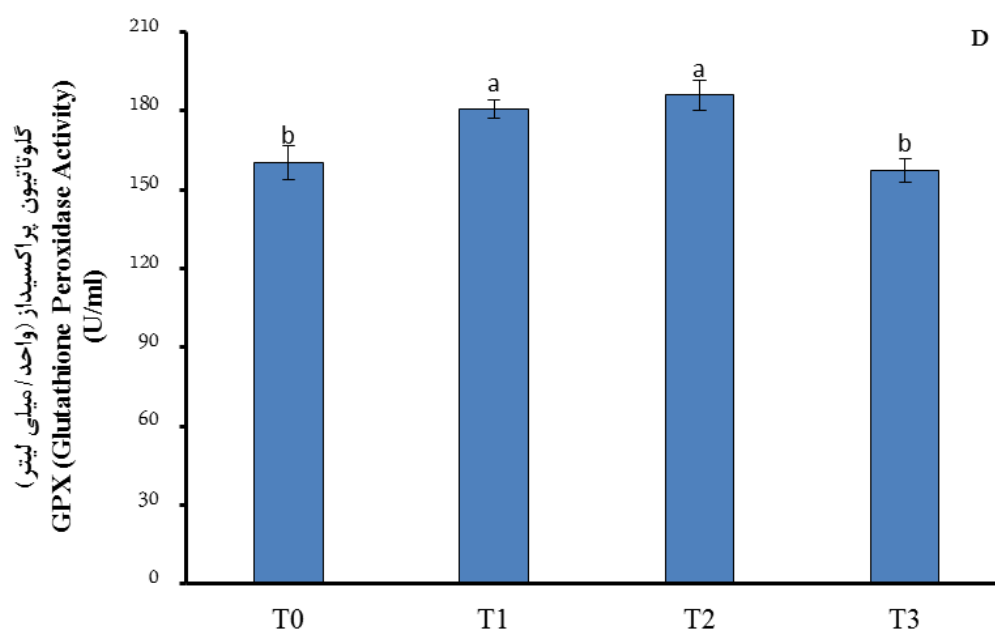
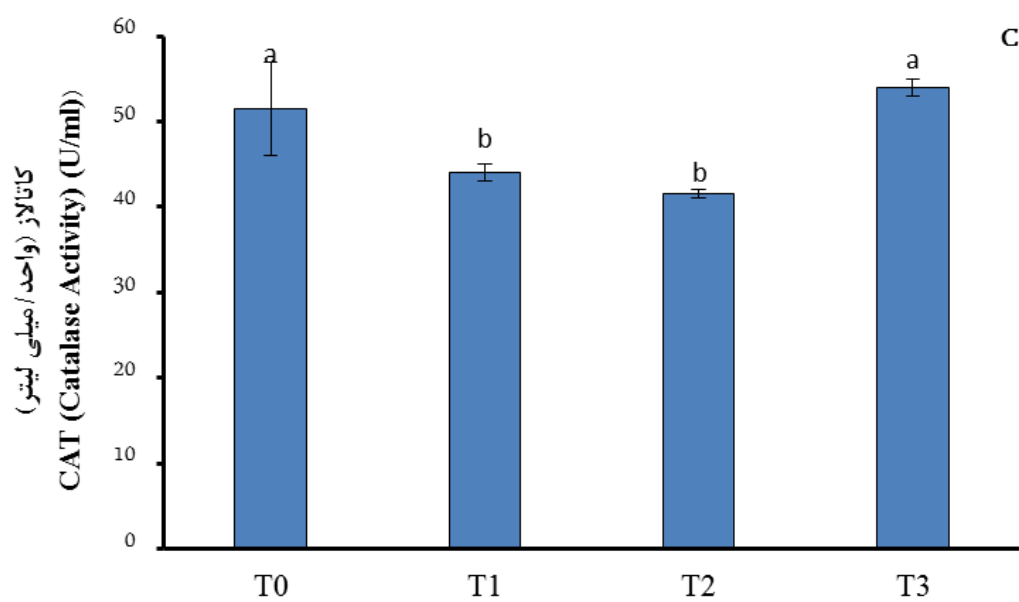
تیمارها	T0	T1	T2	T3
معیارها	(شاهد بدون مکمل)	(۳/۵ میکرولیتر)	(۷ میکرولیتر)	(۱۴ میکرولیتر)
کورتیزول Cortisol (ng/ml)	455.50±2.50 ^a	406.00±10.00 ^b	399.50±1.50 ^b	461.50±2.0 ^a
گلوکز Glucose (mg/dl)	129.50±0.50 ^a	112.00±2.00 ^c	122.50±2.50 ^b	126.00±2.00 ^{ab}
آلانین آمینوترانسفراز ALT (U/l)	40.65±0.55 ^a	31.95±1.75 ^b	31.10±2.40 ^b	39.05±0.75 ^a
آسپاراتات آمینوترانسفراز AST (U/l)	401.50±3.50 ^a	338.00±7.00 ^b	269.21±2.05 ^c	263.00±10.10 ^c
آلکالین فسفاتاز ALP (U/l)	105.60±0.90 ^a	88.90±3.70 ^c	91.50±3.75 ^{bc}	102.65±0.45 ^b

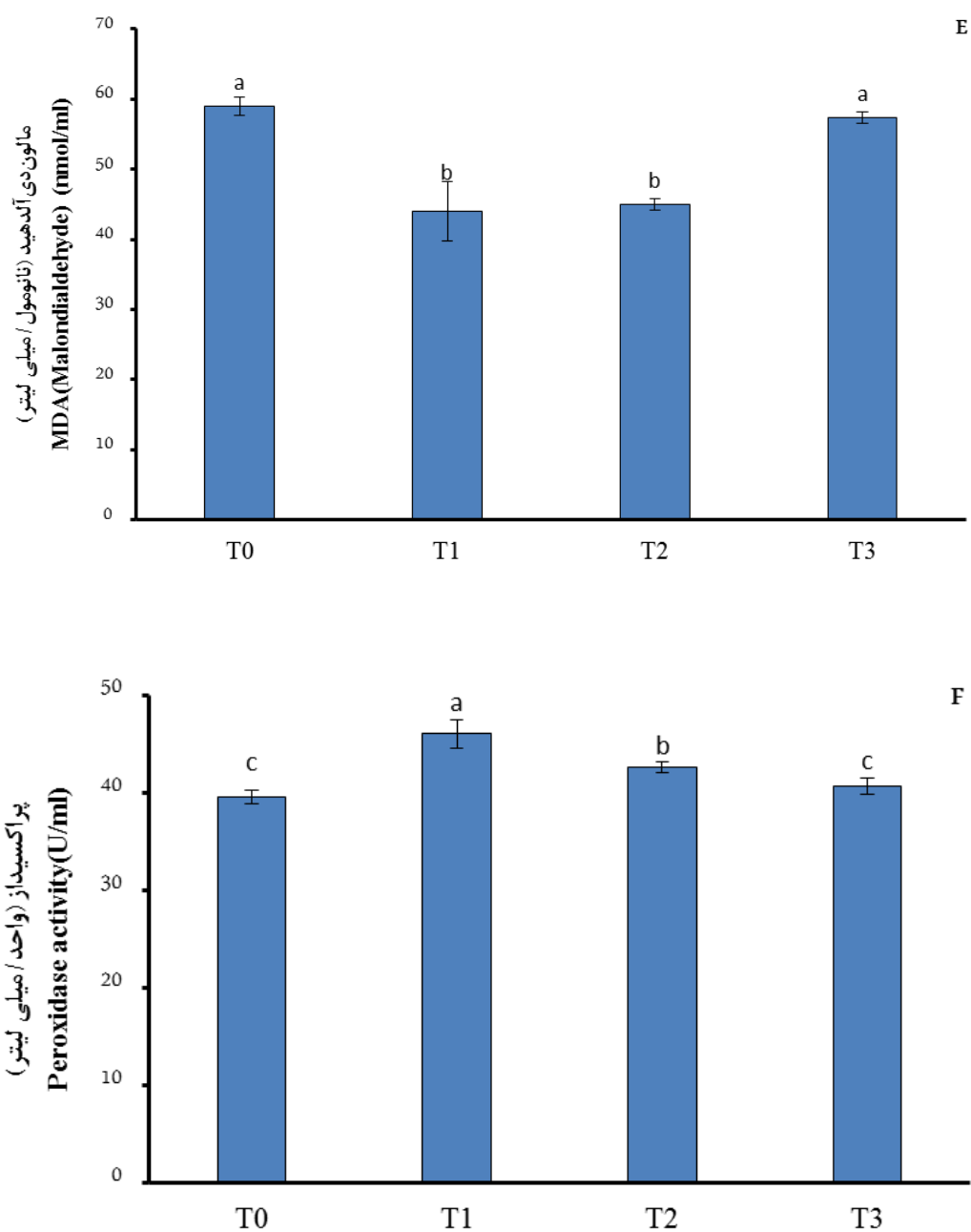
وجود حروف غیرهمسان در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای آزمایشی است ($p < 0.05$)

The presence of different letters in each row indicates a significant difference between experimental treatments ($p < 0.05$)

نتایج آنالیز فاکتورهای آنتی‌اکسیدانی لارو ماهی کپور معمولی تغذیه شده با سطوح مختلف ترکیب نانوامولسیون اسانس گیاهان دارویی (آویشن، پونه و سیر) در شکل ۱ آورده شده است. ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل بین تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی‌دار آماری داشت ($P < 0.05$)، به‌طوری‌که بیش‌ترین و کم‌ترین مقدار آن به‌ترتیب در تیمارهای T1 و T3 به‌دست آمد. غلظت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و گلوکاتایون پروکسیداز در تیمارهای T1 و T2 در مقایسه با دیگر تیمارهای آزمایشی افزایش معنی‌دار آماری داشت ($P < 0.05$). غلظت آنزیم‌های کاتالاز و مالون دی‌آلدئید در تیمارهای T1 و T2 کاهش معنی‌دار آماری داشت ($P < 0.05$)، درحالی‌که غلظت این آنزیم‌ها در تیمارهای T0 و T3 افزایشی بود. فعالیت آنزیم پروکسیداز در تیمار T1 افزایش معنی‌دار آماری داشت و کم‌ترین مقدار آن در تیمارهای T0 و T3 به‌دست آمد ($P < 0.05$).







شکل ۱- ظرفیت آنتی‌اکسیدانی لارو ماهی کپور معمولی تغذیه شده با سطوح ۰، ۳/۵، ۷ و ۱۴ میکرولیتر ترکیب نانوامولسیون اسانس گیاهان دارویی در هر گرم غذا (به ترتیب شاهد T0، T1، T2 و T3).

حروف غیرمشابه در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار آماری بین تیمارهای آزمایشی است ($p < 0.05$).

Figure 1. Antioxidant capacity of common carp larvae fed with levels of 0, 3.5, 7, and 14 μ of medicinal plant essential oil nanoemulsion per gram of food (control T0, T1, T2, and T3, respectively). Different letters in each column indicate statistically significant differences between experimental treatments ($p < 0.05$).

بحث و نتیجه‌گیری

امروزه استفاده از محرک‌های سیستم ایمنی و انتخاب مواد اولیه مناسب به‌منظور تأثیر مثبت آن‌ها بر سلامت آبزی و کیفیت محصول تولیدی در صنعت آبزی‌پروری ضروری می‌باشد. گیاهان دارویی غالباً به‌دلیل دارا بودن ترکیبات فیتوشیمیایی مختلف و مواد مؤثره با خاصیت آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌باکتریایی در پیشگیری و درمان بیماری‌های آبزیان و همچنین افزایش و تقویت سیستم ایمنی ماهی‌ها بسیار موردتوجه قرار گرفته است (۱۶، ۱۷، ۱۸). سیستم ایمنی غیراختصاصی یا ذاتی، یک مکانیسم دفاعی در برابر عوامل و محرک‌های خارجی بیماری‌زا است که تقویت آن منجر به افزایش مقاومت آبزی در برابر عوامل باکتریایی فرصت طلب می‌باشد (۱۹). از این‌رو یکی از راه‌های بهبود و تقویت سیستم ایمنی استفاده از محرک‌ها و مواد سودمند مانند گیاهان دارویی به‌صورت مجزا و یا ترکیبی به شکل پودری، عصاره، اسانس و غیره درجیره غذایی می‌باشد. فاکتورهای ایمنی و بیوشیمیایی خون تحت شرایط غذایی و محیطی تغییر پیدا می‌کند بنابراین برای بررسی وضعیت ایمنی و سلامت آبزی، سنجش پارامترهای خونی بسیار حائز اهمیت است (۲۰). بر اساس نتایج به‌ست آمده از آنالیز پارامترهای سیستم ایمنی لارو ماهی کپور معمولی تغذیه شده با سطوح مختلف نانوامولسیون ترکیب اسانس گیاهان دارویی (آویشن، پونه و سیر) مشخص گردید که، بیش‌ترین مقادیر ایمونوگلوبولین کل و مسیر فرعی کمپلمان در تیمارهای ۳/۵ و ۷ میکرولیتر نانوامولسیون به‌دست آمد. در همین راستا، ارزیابی اثرات به‌کارگیری مکمل غذایی اسانس ترنج بر پارامترهای خونی و پاسخ‌های آنتی‌اکسیدانی در بچه‌ماهیان کپور معمولی نشان داد که غلظت‌های ۰/۲ و ۰/۴ درصد اسانس ترنج می‌تواند سلامت و مکانیسم‌های دفاعی سلولی را در کپور

معمولی جوان را افزایش دهد (۷). لیزوزیم یک آنزیم ضد باکتریایی است که توسط لوکوسیت‌ها و به‌خصوص مونوسیت‌ها، ماکروفاژها و نوتروفیل‌ها تولید می‌شود (۲۱). این آنزیم پپتیدوگلیکان موجود در دیواره باکتری‌ها را می‌شکند و بدین ترتیب به‌طور غیراختصاصی از رشد میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا جلوگیری می‌کند. هم‌چنین به‌نظر می‌رسد این آنزیم دارای فعالیت ضد ویروسی است که به‌عنوان یک بخش مهم دفاع غیراختصاصی بدن محسوب می‌شود (۲۲). در این پژوهش، غلظت لیزوزیم خون در تیمارهای تغذیه‌ای T1 و T2 حاوی ۳/۵ و ۷ میکرولیتر نانوامولسیون در مقایسه با دیگر تیمارهای آزمایشی افزایش معنی‌دار آماری داشت که نشان از بهبود ایمنی غیراختصاصی لارو ماهی کپور معمولی بود. در همین ارتباط، تأثیر عصاره آویشن (*Thymus vulgaris*) بر پارامترهای ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان نشان از افزایش معنی‌داری در سطح لیزوزیم، مسیر فرعی کمپلمان و ایمونوگلوبولین کل بود (۱۶). کراتین به میزان زیادی در سلول‌های ماهیچه‌ای، بافت قلب، آبشش، کلیه و مغز جانوران یافت می‌شود که در اثر آسیب به سلول‌ها می‌تواند به درون خون آزاد شود (۲۳، ۲۴)، بنابراین افزایش غلظت کراتینین را می‌توان به آسیب وارده به عضلات و کلیه ماهی‌ها نسبت داد. در آزمایش حاضر، بیش‌ترین مقدار پروتئین و کم‌ترین مقدار کراتینین در تیمارهای T1 و T2 به‌دست آمد.

از شاخص‌های مهم فیزیولوژیکی در تشخیص وجود یا عدم وجود استرس در محیط پرورش، سنجش غلظت شاخص‌های گلوکز و کورتیزول خون است (۲۵). در این تحقیق، نتایج به‌دست آمده از غلظت کورتیزول نشان داد که استفاده از مقادیر ۳/۵ و ۷ میکرولیتر نانوامولسیون ترکیب گیاهان دارویی منجر به کاهش این شاخص می‌گردد. در این ارتباط

محققین گزارش دادند که به‌کارگیری داروهای گیاهی درجیره غذایی آبزیان باعث کاهش شاخص‌های استرس و تقویت ایمنی می‌گردد، هم‌چنین گزارش شده است که استفاده از ترکیبی سیر، پنیرک و مرزنجوش در جیره غذایی کپور معمولی باعث کاهش مقادیر گلوکز و کورتیزول خون شد (۲۶)، که با مطالعه حاضر مطابقت داشت. فعالیت آنزیم‌های کبدی هم‌چون آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) و آلکانین فسفاتاز (ALP) نیز به‌عنوان شاخص استاندارد جهت بررسی اختلالات کبدی و سلامت در موجودات استفاده می‌شود. در این تحقیق مقادیر آنزیم‌های کبدی در تیمارهای تغذیه‌ای با اسانس گیاهان دارویی در مقایسه با تیمار شاهد کاهش معنی‌دار آماری داشت که با مطالعه دیگر محققین همسو بود (۱۸، ۲۷).

آنتی‌اکسیدان‌ها ساختارهای آنزیمی و غیرآنزیمی هستند که از طریق روش‌های مختلف سبب کاهش استرس‌های اکسیداتیو شده و به‌نوعی نقش پاکسازی رادیکال‌های آزاد را در سلول ایفا می‌کنند (۲۸). ایجاد رادیکال‌های آزاد توسط واکنش‌های اکسیدانی می‌تواند به تمامی ماکرومولکول‌های سلولی از قبیل پروتئین‌ها، کربوهیدرات‌ها، لیپیدها و اسید نوکلئیک آسیب برساند بنابراین تقویت و افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بدن یکی از راهکارهای مقابله با ایجاد رادیکال‌های آزاد باشد. برای بهبود بازده سیستم آنتی‌اکسیدانی بدن می‌توان از گیاهان دارویی با خاصیت آنتی‌اکسیدانی در جیره غذایی آبزیان استفاده نمود (۲۹). نتایج به‌دست آمده از غلظت آنزیم آنتی‌اکسیدانی کل و فعالیت آنزیم پروکسیداز خون لارو ماهی کپور معمولی تغذیه شده با ۳/۵ میلی‌لیتر نانوامولسیون اسانس در تیمار T1 افزایش معنی‌دار آماری داشت. در بدن موجودات زنده آنزیم‌ها و مواد آنتی‌اکسیدانی مانند یک چرخه بسیار منظم عمل می‌کنند و این موجودات را در برابر

خطر ناشی از اکسیدان‌ها حفظ می‌کنند. از مهم‌ترین این آنزیم‌ها می‌توان به سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، گلوکاتایون پراکسیداز و غیره اشاره کرد. آنزیم سوپراکسید دیسموتاز اولین خط دفاعی علیه مولکول‌های واکنش‌پذیر (ROS) هستند که از مولکول اکسیژن مشتق شده است که با تبدیل O_2 به H_2O_2 می‌تواند سلول‌ها را از آسیب ناشی از ROS محافظت نماید (۳۰). در این پژوهش، آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و گلوکاتایون پراکسیداز در تیمارهای حاوی ۳/۵ و ۷ میلی‌لیتر مخلوط نانوامولسیون اسانس (تیمارهای T1 و T2) در مقایسه با دیگر تیمارهای آزمایشی افزایش معنی‌دار آماری داشت. افزایش آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در خون نشان از بهبود شرایط تغذیه‌ای می‌باشد. در ارتباط خاصیت آنتی‌اکسیدانی اسانس گیاهان دارویی گزارش شد که به‌کارگیری اسانس مرزه تابستانی (*Satureja Hortensis*) در جیره ماهی کپور معمولی باعث افزایش سطح فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و گلوکاتایون پراکسیداز (GPX) و کاهش مالوندی آلدئید (MDA) شد (۵).

آنزیم کاتالاز تقریباً در همه موجودات زنده یافت می‌شود که آب اکسیژنه یا هیدروژن پراکسید به‌عنوان یک ماده سمی را فوراً به اکسیژن و آب تجزیه می‌کند. در مطالعه حاضر کم‌ترین مقدار این آنزیم در تیمارهای شاهد T1 و T2 به‌دست آمد. هم‌چنین مقادیر آنزیم مالوندی آلدئید نیز در تیمارهای فوق‌الذکر نیز کاهش معنی‌دار آماری داشت. آنزیم مالون دی‌آلدئید محصول نهایی پراکسیداسیون چربی است که به‌عنوان شاخصی برای ارزیابی فرآیندهای سمی ناشی از رادیکال‌های آزاد به‌کار گرفته می‌شود. کاهش آنزیم مالون دی‌آلدئید در خون نشان‌دهنده فعال شدن سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی و غلبه بر پراکسیداسیون لیپید می‌باشد (۳۱). درواقع، ترکیبات فنلی موجود در مخلوط اسانس‌های سیر، آویشن و

سپاسگزاری

این مقاله استخراج از پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد می‌باشد که با حمایت اساتید راهنما و مشاور در آزمایشگاه شیلات دانشگاه گنبد کاووس اجرا شد.

تعارض منافع

نویسندگان بیان می‌کنند که هیچ‌گونه تعارض منافع در رابطه با انتشار این مقاله وجود ندارد و داده‌های این مقاله در هیچ مجله دیگری در دست داوری یا انتشار نمی‌باشد. همچنین نویسندگان هیچ‌گونه سرمایه‌گذاری، مشاوره یا سمت اجرایی در شرکت‌های مرتبط با موضوع این پژوهش ندارند. بنابراین تضاد منافی در این زمینه وجود ندارد و نتایج گزارش شده در این مقاله کاملاً بی‌طرفانه و مستقل می‌باشند.

پونه که در پژوهش حاضر به‌کار گرفته شده است به‌دلیل ترکیب طبیعی سولفور و تیمول، کارواکرول و پولگون آن می‌توانند رادیکال‌های آزاد را به دام انداخته و از ادامه واکنش‌های زنجیره‌ای و تولید سایر رادیکال‌های آزاد جلوگیری کنند (۳۲، ۳۳، ۳۴). به‌طور مشابه، چنین نتایجی برای MDA و سایر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در مطالعه تأثیر افسنتین (*Artemisia absinthium*) بر کپور معمولی (۳۵) و همچنین تأثیر پونه کوهی (*Origanum vulgare*) بر کپور معمولی (۲) گزارش شده است.

نتیجه‌گیری کلی

به‌طورکلی نتایج این تحقیق نشان داد که افزودن غلظت‌های ۳/۵ و ۷ میکروگرم نانوامولسیون ترکیب گیاهان دارویی (آویشن، پونه و سیر) در تیمارهای T1 و T2 باعث بهبود رشد، ایمنی، شاخص‌های استرس و آنتی‌اکسیدانی لارو ماهی کپور معمولی شد.

منابع

1. Ahmed, N., Thompson, S., & Turchini, G. M. (2020). Organic aquaculture productivity, environmental sustainability and food security: insights from organic agriculture. *Food Security*, 12(6), 1253-1267.
2. Abdel-Latif, H. M., Abdel-Tawwab, M., Khafaga, A. F., & Dawood, M. A. (2020). Dietary origanum essential oil improved antioxidative status, immune-related genes, and resistance of common carp (*Cyprinus carpio* L.) to *Aeromonas hydrophila* infection. *Fish & shellfish immunology*, 104, 1-7.
3. Nazeemashahul, S., Fawole, F. J., AM, B. R., Jayant, M., Qureshi, N., Nottanalan, H., & Sardar, P. (2024). Herbal Immunomodulators for Aquaculture. In *Immunomodulators in Aquaculture and Fish Health*. Pp: 119-135.
4. Sivam, G. P. (2013). Recent advances on the nutritional effects associated with the use of garlic as supplement. *American Social Nutrition Science*, 131, 1106-1108.
5. Jalil, A. T., Abdelbasset, W. K., Shichiyakh, R. A., Widjaja, G., Altamari, U. S., Aravindhan, S., & Naserabad, S. S. (2022). Protective effect of summer savory (*Saturejahortensis*) essential oil on some growth, biochemical, immune serum, mucosal immune system and antioxidant parameters of common carp (*Cyprinus carpio*) exposed to pretilachlor herbicide.
6. Yousefi, M., Adineh, H., Sedaghat, Z., Yilmaz, S., & Elgabry, S. E. (2023). Effects of dietary costmary (*Tanacetumbalsamita*) essential oil on growth performance, digestive enzymes' activity, immune responses and subjected to ambient ammonia of common carp *Cyprinus carpio*. *Aquaculture*, 569, 739347.

7. Taşcı, B., Maita, M., Futami, K., Haga, Y., Sakai, Y., & Katagiri, T. (2025). Evaluating the effects of dietary bergamot essential oil supplementation on growth performance, blood parameters, and antioxidant responses in common carp *Cyprinus carpio* juveniles. *Fisheries Science*, 1-10.
8. Ellis, A. E. (1990). Lysozyme assays. *Techniques in fish immunology*, 1, 101-103.
9. Siwicki, A. I. (1993). Nonspecific defense mechanisms assay in fish. II. Potential killing activity of neutrophils and monocytes, lysozyme activity in serum and organs and total immunoglobulin (Ig) level in serum. *Fish diseases diagnosis and prevention methods*. Siwicki, A., Anderson, D., Waluga, J., Eds.; Wydawnictwo Instytutu Rybactwa Środładowego: Olsztyn, Poland, pp. 105-112.
10. Sunyer, J. O., & Tort, L. (1995). Natural hemolytic and bactericidal activities of sea bream *Sparus aurata* serum are effected by the alternative complement pathway. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 45(3-4), 333-345.
11. Foster Swanson, A., Swartzentruber, M., Roberts, P., Feld, R., Johnson, M., Wong, S., & Toner, M. (1994). Reference interval studies on the rate-blanked creatinine/Jaffé method on BM/Hitachi systems in six US laboratories. *Clinical Chemistry*, 40(6), 1057.
12. Marklund, S., & Marklund, G. (1974). Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *European journal of biochemistry*, 47(3), 469-474.
13. Ellman, G. L. (1959). Tissue sulfhydryl groups. *Archives of biochemistry and biophysics*, 82(1), 70-77.
14. 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.
15. Goth, L. (1991). A simple method for determination of serum catalase activity and revision of reference range. *Clinicachimica acta*, 196(2-3), 143-151.
16. Hoseini, S. M., & Yousefi, M. (2019). Beneficial effects of thyme (*Thymus vulgaris*) extract on oxytetracycline-induced stress response, immunosuppression, oxidative stress and enzymatic changes in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture nutrition*, 25(2), 298-309.
17. Hoseinifar, S. H., Ghafarifarsani, H., Raeisi, M., Raissy, M., Safari, R., Khosraviani, K., & Van Doan, H. (2024). Effect of dietary Moldavian balm (*Dracocephalum moldavica* L.) on growth performance, antioxidant status, immune response, and gene expression of common carp (*Cyprinus carpio*). *Annals of Animal Science*, 24(4), 1277-1291.
18. Adineh, H., Zahedi, S., Yousefi, M., Sedaghat, Z., Yilmaz, S., Gholamalipour Alamdari, E., & Farhangi, M. (2024). The Use of Perovskiaabrotanoides Extract in Ameliorating Heat Stress-Induced Oxidative Damage and Improving Growth Efficiency in Carp Juveniles (*Cyprinus carpio*). *Aquaculture Nutrition*, 2024(1), 5526562.
19. Dixon, B., & Stet, R. J. M. (2001). The relationship between major histocompatibility receptors and innate immunity in teleost fish. *Developmental & Comparative Immunology*, 25(8-9), 683-699.
20. Řehulka, J., Minařík, B., Adamec, V., & Řehulková, E. (2005). Investigations of physiological and pathological levels of total plasma protein in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture Research*, 36(1), 22-32.
21. Sitjà-Bobadilla, A., Palenzuela, O., & Alvarez-Pellitero, P. (2008). Immune response of turbot, *Psetta maxima* (L.) (Pisces: Teleostei), to formalin-killed scuticociliates (Ciliophora) and adjuvanted formulations. *Fish & Shellfish Immunology*, 24(1), 1-10.
22. Choi, S. H., Park, K. H., Yoon, T. J., Kim, J. B., Jang, Y. S., & Choe, C. H. (2008). Dietary Korean mistletoe

- enhances cellular non-specific immune responses and survival of Japanese eel (*Anguilla japonica*). *Fish & shellfish immunology*, 24(1), 67-73.
23. Perrault, J. R., Stacy, N. I., Lehner, A. F., Poor, S. K., Buchweitz, J. P., & Walsh, C. J. (2017). Toxic elements and associations with hematology, plasma biochemistry, and protein electrophoresis in nesting loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*) from Casey Key, Florida. *Environmental Pollution*, 231, 1398-1411.
24. Pagano, M., Vazzana, I., Gentile, A., Caracappa, G., & Faggio, C. (2019). Hematological and biochemical parameters in Sea turtles (*Caretta caretta*) after stranding. *Regional Studies in Marine Science*, 32, 100832.
25. 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.
26. Ghafarifarani, H., Hoseinifar, S. H., Adorian, T. J., Ferrigolo, F. R. G., Raissy, M., & Van Doan, H. (2021). The effects of combined inclusion of *Malva sylvestris*, *Origanum vulgare*, and *Allium hirtifolium* boiss for common carp (*Cyprinus carpio*) diet: Growth performance, antioxidant defense, and immunological parameters. *Fish & Shellfish Immunology*, 119, 670-677.
27. Yousefi, M., Adineh, H., Hoseini, S. M., Hashemianfar, S. A. M., Kulikov, E. V., Petukhov, N. V., & Ryzhova, T. A. (2025). Effects of Laurus nobilis essential oil nano-particles on growth performance, antioxidant and immune responses to bacterial infection in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture*, 596, 741821.
28. Chowdhury, S., & Saikia, S. K. (2020). Oxidative stress in fish: a review. *Journal of Scientific Research*, 12(1), 145-160.
29. Tadese, D. A., Song, C., Sun, C., Liu, B., Liu, B., Zhou, Q., & Kevin, N. T. (2022). The role of currently used medicinal plants in aquaculture and their action mechanisms: A review. *Reviews in Aquaculture*, 14(2), 816-847.
30. Mishra, S., Srivastava, S., Tripathi, R. D., Kumar, R., Seth, C. S., & Gupta, D. K. (2006). Lead detoxification by coontail (*Ceratophyllum demersum* L.) involves induction of phytochelatins and antioxidant system in response to its accumulation. *Chemosphere*, 65(6), 1027-1039.
31. Rizzo, M. (2024). Measurement of malondialdehyde as a biomarker of lipid oxidation in fish. *American Journal of Analytical Chemistry*, 15(9), 303-332.
32. Shete, A. P., Verma, A. K., Chadha, N. K., Prakash, C., Chandrakant, M. H., & Nuwansi, K. K. T. (2017). Evaluation of different hydroponic media for mint (*Mentha arvensis*) with common carp (*Cyprinus carpio*) juveniles in an aquaponic system. *Aquaculture international*, 25, 1291-1301.
33. Adineh, H., Harsij, M., Jafaryan, H., & Asadi, M. (2020). The effects of microencapsulated garlic (*Allium sativum*) extract on growth performance, body composition, immune response and antioxidant status of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) juveniles. *Journal of Applied Animal Research*, 48(1), 372-378.
34. Ghafarifarani, H., Hoseinifar, S. H., Javahery, S., & Van Doan, H. (2022). Effects of dietary vitamin C, thyme essential oil, and quercetin on the immunological and antioxidant status of common carp (*Cyprinus carpio*). *Aquaculture*, 553, 738053.
35. Yousefi, M., Zahedi, S., Reverter, M., Adineh, H., Hoseini, S. M., Van Doan, H., ...& Hoseinifar, S. H. (2021). Enhanced growth performance, oxidative capacity and immune responses of common carp, *Cyprinus carpio* fed with *Artemisia absinthium* extract-supplemented diet. *Aquaculture*, 545, 737167.