Journal of Aquaculture Development
Vol. 19, No. 1, 2025, Pages: 31-46
DOI: 10.71901/jad-2025-1-855

RESEARCH PAPER **OPEN ACCESS**

Effects of hydroalcoholic extract of *Chenopodium album* on growth factors, antioxidant enzymes and expression of some immune-related genes in zebrafish (*Danio rerio*)

Shahriari, P.[1], Rahimi, R.[1*] Shafiei, Sh.[3], Nikookhah, F.[4], Rahimi Pordanjani, H.[5]

1- Department of Fisheries Sciences, Faculty of Natural Resources and Earth Sciences, Shahrekord University, Shahrekord, Iran.

2- Department of Health and Food Quality Control, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord University, Shahrekord, Iran.

Received: 8 July 2024 **Accepted: 1 September 2024**

Abstract:

Introduction: Farmed fish are exposed to several infectious diseases that can reduce the fish yield. Today, the use of medicinal plants as healthy way can decrease the mortality and improve the growth rates to achieve farmed fish sustainability. Chenopodium album contains many bioactive compounds that can be beneficial to the health of organisms. It is evident from the previous studies that this medicinal plant significantly has antimicrobial, antistress, immunostimulants, growth promotion and appetite stimulation properties. Considering the beneficial compounds and properties of the native plant, we aim to investigate the effects of variousthe dose of the hydroalcoholic extract of this plant on growth factors, antioxidant enzymes, and the expression of some immune genes in zebrafish as an important and widely used vertebrate model organism in scientific research.

Materials and Methods: *C. album* was added to a basal diet at the rate of 0, 0.25, 0.50, 1 and 1.5 g kg−1 and *Danio rerio* was fed this diet for 56 days. A total of 300 *D. rerio* with an average body weight of 181 ± 1.06 mg were randomly divided into five treatment groups with three replicates. The fish were fed twice a day (at 9:00 AM and 2:00 PM) at the rate of 3% of their biomass. Growth performance was calculated according to their equations and RNA purification and cDNA synthesis were done according to the manufacturer's instruction. Gene expression levels were also assessed applying a Real-Time PCR machine.

Results and Discussion: Final weight and weight gain were not significantly enhanced in treatment groups compared to those of the control (p<0.05). Furthermore, the expression levels of lysozyme, IL10,

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-06-14]

[DOI: 10.71901/jad-2025-1-855]

TNF and TGF genes and the activity levels of antioxidant enzymes CAT and SOD, in treatment groups were significantly higher than the control treatment (p<0.05). This may be due to the existence of polyphenols, phytochemicals, flavonoids, carotenoids and the antioxidant properties of the plant.

Conclusion: According to the results, we saw a better innate immune system in zebrafish following supplementation of a methanolic extract of *C. album.* Additionally, the zebrafish model seems applicable for elucidation of gene expression on the vertebrate organism and may contribute to our understanding of C. album products in human patients.

Keywords: Chenopodium album, growth, gene expression, antioxidant enzymes, zebrafish

* *Corresponding Author: rrahimi@sku.ac.ir*

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-06-14]

[DOI: 10.71901/jad-2025-1-855]

نشریه توسعه آبزی‌پروری، سال نوزدهم، شماره اول، بهار ۱۴۰۴ ، صفحه های ۴۶-۳۱
10.71901/jad-2025-1-855

"مقاله پژوهشی"

تاثیر عصاره هیدروالکلی گیاه سلمک (*Chenopodium album*) بر فاکتورهای رشد، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و بیان برخی از ژن‌های مرتبط با ایمنی در ماهی گورخری (*Danio rerio*)

پژمان شهریاری[۱]، روح‌اله رحیمی[۱*]، شفیق شفیعی[۲]، فرزانه نیکوخواه[۱]، حسین رحیمی پردنجانی[۱]

۱-گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی و علوم زمین، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران
۲-گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذائی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۴/۱۸ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۶/۱۱

چکیده

امروزه استفاده از گیاهان دارویی به عنوان مکمل در رژیم غذایی ماهیان توجه زیادی را به خود جلب کرده است. گیاه سلمک (*Chenopodium album*) به‌عنوان یک داروی گیاهی حاوی ترکیبات فعال زیستی فراوانی می‌باشد که می‌تواند در سلامت موجودات مفید باشد. هدف از این مطالعه بررسی شاخص‌های رشد، میزان بیان ژن‌های ایمنی (LYZ, IL1, IL10, TNF, TGF) و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (GPX, CAT, SOD) در ماهی گورخری (*Danio rerio*) پس از تغذیه با عصاره گیاه دارویی سلمک بود. تیمارهای آزمایشی شامل ماهیان تغذیه‌شده با غذاهای حاوی صفر، ۰/۲۵، ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد عصاره‌ی گیاه سلمک بود. ماهی‌ها به مدت ۸ هفته و طی دو نوبت در روز غذادهی شدند. طبق نتایج از نظر شاخص‌های رشد و تغذیه تفاوت معنی‌داری در بین تیمارهای آزمایشی دیده نشد ($p>۰/۰۵$). همچنین میزان بیان ژن IL1 در هیچ کدام از تیمارها معنی‌دار نبود ($p>۰/۰۵$). بیش‌ترین میزان بیان ژن‌های LYZ ، IL10 ، TNF و TGF در تیمارهای آزمایشی ۲، ۳ و ۴ مشاهده شد که با تیمار کنترل تفاوت معنی‌داری داشت ($p<۰/۰۵$). از نظر میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، در آنزیم GPX تغییر معنی‌داری ایجاد نشد ($p>۰/۰۵$) ولی فعالیت آنزیم‌های SOD و CAT در تیمارهای تغذیه‌شده با عصاره گیاهی سلمک به طور معناداری از گروه شاهد بیشتر بود ($p<۰/۰۵$). به طور کلی جیره غذایی حاوی عصاره گیاهی سلمک تا سطح ۱ درصد، بر بیان ژن‌های مرتبط با ایمنی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی ماهی گورخری تاثیرگذار بود. نتایج کلی این مطالعه حاکی از تاثیر مثبت عصاره گیاه سلمک به عنوان یک افزودنی طبیعی، در افزایش توان سیستم ایمنی ماهیان می‌باشد.

کلمات کلیدی: گیاه سلمک، رشد، بیان ژن، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، ماهی گورخری.

* عهده‌دار مکاتبات: rrahimi@sku.ac.ir

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-06-14]

[DOI: 10.71901/jad-2025-1-855]

مقدمه

شیوع بیماری‌های عفونی و غیرعفونی یکی از مشکلات اساسی پرورش آبزیان به ویژه در سیستم‌های پرورش متراکم است (Cho and Le, 2012). استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها به منظور مقابله با بیماری‌ها باعث افزایش مقاومت باکتری‌ها و اثرات مخرب زیست-محیطی می‌شود (Ghiasi *et al*., 2015). استفاده از واکسن‌های تجاری نیز به علت عدم تکامل ایمنی اختصاصی و پاسخ پادتنی ضعیف ماهیان، مرسوم نمی‌باشد (Ardo *et al*., 2008). لذا امروزه به‌منظور افزایش مقاومت ماهیان، استفاده از ترکیبات گیاهی محرک سیستم ایمنی جهت کنترل بیماری در صنعت آبزی‌پروری توصیه می‌شود که نسبت به مواد شیمیایی ایمن‌تر و مطمئن‌تر است (Ndeda, 2022). ترکیبات گیاهی همچنین به دلیل قیمت پایین‌تر، در دسترس بـودن و خطر کمتر برای جانور و محیط دارای ارجحیت هستند (Raa *et al*., 1996). عصاره‌ها و ترکیبات گیاهی به‌دلیل داشتن تنوع مولکولی و همچنین تجزیه‌پذیر بودن نسبت به داروهای سنتتیک، نه تنها باعث ایجاد مقاومت دارویی در میکروب‌ها نمی‌شوند (Logambal *et al*., 2000; Olusola *et al*., 2013) بلکه از طریق بهبود عمل‌کرد بیان ژن‌های ایمنی، باعث سلامت ماهی می‌شوند. سیستم ایمنی موجودات آبزی با دریافت محرک‌های ایمنی، انواع میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا به بدن میزبان را شناسایی کرده و یک پیام ثانویه ایجاد می‌کنند که به گیرنده‌های سطح غشاء ارسال می‌گردد. تحریک گیرنده‌های سطح غشای هسته باعث می‌شود که انتقال پروتئین‌های فعال‌کننده‌ی فرایند رونوشت برداری از رشته DNA در داخل هسته و به دنبال آن بیان ژن و سنتز و ترشح سیتوکین و لیزوزیم تسهیل شود (Berbel-Filho *et al*., 2019). هر سلول برای آن‌که بتواند ساختار و کاربرد خود را کنترل کند نیاز به تنظیم و بیان ژن دارد (Deelen *et al.,* 2014). سایتوکین‌ها، پروتئین‌ها یا گلیکوپروتئین‌هایی با وزن مولکولی کم و جزئی از تعدیل‌کننده‌های پاسخ ایمنی هستند (Zou and Secombes, 2016). ازجمله سیتوکین‌های مهم گزارش‌شده در ماهیان، می‌توان اینترلوکین‌های (IL-6, IL-8, IL-10, IL-12)، فاکتور عامل رشد تومور (TGF-β) و فاکتور نکروز تومور (TNF -α) را نام برد (Bobe *et al*., 2001; Laing *et al*., 2001; Altmann *et al*., 2003) که نقش مهمی در تولید آنتی‌بادی و دفاع میزبان و هم‌چنین تعداد زیادی از فرآیندهای زیستی مانند تنظیم سیستم ایمنی و جلوگیری از آسیب‌های بافتی دارند. بیان ژن‌های مرتبط با ایمنی ماهیان را می‌توان با استفاده از گیاهان دارویی در رژیم غذایی تعدیل نمود (Mokhtar *et al*., 2023). پراکسید هیدروژن، رادیکال‌های سوپراکسید و رادیکال های هیدروکسیل از فرم‌های فعال اکسیژن هستند که با اختلال در عملکرد مولکول‌ها مانند پروتئین‌ها، چربی و DNA موجودات، می‌توانند به طور مستقیم و غیرمستقیم به بافت‌ها آسیب برساند (Kim *et al*., 2021). جهت تنظیم میزان تولید آنها در بدن، سیستم‌های دفاعی آنزیمی از قبیل سوپراکسیداز دیسموتاز (SOD)، گلوتاتیون‌پراکسیداز (GPX) و کاتالاز (CAT) وارد عمل می‌شوند (Trenzado *et al*., 2006). از آنجا که این سیستم دفاعی به‌تنهایی قادر به از بین بردن رادیکال های آزاد ایجادشده در بدن نیست، به همین علت بدن نیاز به تأمین آنتی‌اکسیدان‌ها از منابع خارجی دارد که در این رابطه، گیاهان دارویی به دلیل داشتن آنتی اکسیدان‌های زیاد، توانایی خنثی‌سازی رادیکال‌های

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-06-14]
[DOI: 10.71901/jad-2025-1-855]

آزاد را دارند (Agarwal and Sekhon, 2010, Young and Woodside, 2001, Kutluyer *et al*., 2017). به عنوان مثال، عصاره گیاه شیرین‌بیان (*Glycyrrhiza glabra*) بر بیان ژن IGF، فاکتور نکروز کننده تومور و سطح لیزوزیم در ماهی کپور معمولی تاثیر مثبت دارد و از طریق افزایش بیان نسبی سیتوکین‌های التهابی باعث بهبود وضعیت ایمنی در ماهی می‌شود (Jafari *et al*., 2023). همچنین عصاره گیاه خارخاسک (*Tribulus terrestris*) باعث بالاترین مقادیر بیان ژن‌های لیزوزیم، IL و TNF (Gharaei *et al*., 2019) و عصاره هیدروالکلی آنغوزه (*Ferula assafoetida*) باعث افزایش بیان نسبی ژن GH و IGF در در ماهی زبرا دانیو (Vahedi *et al*., 2018) می‌گردد.

سلمک (*Chenopodium album*) گیاهی شورپسند و به‌صورت علفی، درختچه‌ای یا بوته‌ای با شاخ و برگ آبدار و ضخیم می‌باشد. سلمک می‌تواند به‌عنوان غذا به‌طور کامل با برگ‌ها پخته‌شده و مانند اسفناج توسط انسان مصرف شود. فعالیت‌های ضدمیکروبی، ضدچربی، ضدسرطان و ضدالتهاب، به اسیدهای فنولیک موجود در گیاه نسبت داده شده است. همچنین تنظیم متابولیسم بدن و حفاظت از کبد، اعصاب و قلب به دلیل فعالیت آنتی‌اکسیدانی ناشی از پلی فنولیک‌ها در این گیاه است (Singh *et al*., 2023).

ماهی گورخری با نام علمی *Danio rerio* متعلق به خانواده کپورماهیان و از نوع ماهیان تخم‌گذار آب‌های شیرین مناطق گرمسیری است. این‌گونه به دلیل رژیم غذایی همه‌چیزخواری و سهولت تکثیر و همچنین جهت نسخه‌برداری و ویرایش ژنوم آن که بسیار شبیه پستاندارانی هم‌چون موش است، در بسیاری از آزمایش‌ها به‌عنوان نمونه آزمایشگاهی استفاده می‌شود (Ghazala *et al*., 2011; Crawford *et al*., 2008;). لذا با توجه به همسانی پروتئوم آن که شامل هشتاد درصد همولوژی با ژنوم انسان است و با در نظر گرفتن ترکیبات و خواص مفید گیاه بومی سلمک، در این تحقیق، اثرات عصاره هیدروالکلی این گیاه بر فاکتورهای رشد آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و بیان برخی از ژن‌های ایمنی در ماهی گورخری بررسی شد.

مواد و روش‌ها

تهیه و ذخیره‌سازی ماهی

تعداد ۳۰۰ قطعه ماهی گورخری با میانگین وزنی ۱/۰۶ ± ۱۸۱ میلی‌گرم خریداری و پس از انتقال به آزمایشگاه آبزی‌پروری دانشگاه شهرکرد جهت سازگاری با شرایط محیطی و بررسی سلامت آنها به مدت یک هفته نگه‌داری شدند. پس از این مرحله، ماهیان در داخل ۱۵ عدد تانک فایبرگلاس ۲۰ لیتری با تراکم ۲۰ عدد در هر تانک به‌صورت کاملاً تصادفی توزیع شدند. تعداد تیمارها با احتساب گروه کنترل ۵ تیمار بود و برای هر تیمار سه تکرار در نظر گرفته شد. میانگین فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب در طی دوره پرورش عبارت بود از: دما به میزان۱± ۲۶ درجه سانتی‌گراد، اکسیژن محلول ۷ میلی‌گرم بر لیتر و pH به میزان ۷/۶. در طول دوره پرورش، آب به‌صورت دائم به وسیله سنگ هوا، اکسیژن‌دهی می‌شد. روزانه ۲۰ درصد حجم آب مخازن سیفون می‌شد که از این طریق غذای مصرف‌نشده و فضولات به بیرون از تانک تخلیه می‌شد.

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-06-14]

[DOI: 10.71901/jad-2025-1-855]

استخراج عصاره سلمک و نحوه استفاده

مقدار ۵۰۰ گرم از پودر برگ و بذر گیاه سلمک توزین و در ارلن ریخته شد و حدود ۱ لیتر اتانول ۹۶٪ به آن اضافه گردید. پس از مدت ۲۴ ساعت مخلوط به‌دست‌آمده توسط کاغذ صافی چندین بار فیلتر شد. عصاره صاف شده در دستگاه سانتریفیوژ قرار گرفت و سپس مخلوط حاصله توسط دستگاه روتاری تقطیر شد. این عصاره در دستگاه آون به مدت ۷۲ ساعت نگه‌داری گردید. مقدار ۰/۱ گرم عصاره در ۱۰۰ سی‌سی آب مقطر به‌خوبی مخلوط و از کاغذ صافی عبور داده شد. این عصاره به همراه ژلاتین ۱۵٪ به صورت روزانه به خوراک اضافه می‌شد و در اختیار ماهی قرار می‌گرفت. از ژلاتین به‌منظور فیکس کردن عصاره بر روی غذا استفاده می‌شد. برای ماهیان گروه کنترل آب ژلاتین ۱۵٪ بدون افزودن عصاره به آن، روی غذا اسپری شد (Mohamed *et al*., 2018).

غذادهی و سنجش شاخص‌های رشد

در طول آزمایش ماهیان با پنج سطح صفر (کنترل)، ۰/۲۵، ۰/۵، ۱ و ۱/۵ گرم عصاره در کیلوگرم جیره، به مدت ۸ هفته تغذیه شدند. جهت تعیین میزان غذادهی، وزن بیوماس اولیه ماهیان در هر تانک محاسبه شد و سپس غذادهی به مقدار ۳ درصد وزن بدن ماهیان و در دو نوبت (۹ صبح و ۲ بعد از ظهر) به‌صورت دستی انجام شد. در پایان آزمایش، ابتدا ماهیان به مدت یک روز قطع غذا شدند. این عمل جهت کاهش استرس وارده به ماهی در زمان نمونه‌برداری بود. سپس از هر تانک تعداد ۳ عدد ماهی به‌صورت تصادفی گرفته و با استفاده از اسانس گل میخک با دوز ppm ۱۰۰ در مجاورت هوا بی‌هوش شدند. طول کل بدن ماهی (ابتدای سر تا انتهای دم) با استفاده از کولیس و وزن نهایی با استفاده از ترازو دیجیتال اندازه‌گیری و ثبت شد. در نهایت هر ماهی درون یک کرایوتیوپ گذاشته شد و پس از شماره‌گذاری آن داخل تانک ازت قرار داده و به آزمایشگاه منتقل گردید.

جهت بررسی عملکرد رشد و تغذیه ماهیان، از رابطه‌های زیر استفاده گردید (Mohamed *et al*., 2018):

درصد بازماندگی (SUR) = (تعداد بچه ماهیان انتهای دوره/ تعداد بچه ماهیان ابتدای دوره) ×۱۰۰

نرخ رشد ویژه (SGR) = (ln وزن نهایی – ln وزن اولیه) ×۱۰۰/ کل روزهای پرورش

میانگین وزن حاصله (WG) = [وزن اولیه /(وزن اولیه – وزن نهایی)]

ضریب تبدیل غذایی (FCR) = غذای مصرف‌شده (گرم) / افزایش وزن (گرم)

کارایی غذایی (FER) = افزایش وزن (گرم) / ۱۰۰× غذای مصرف‌شده (گرم)

آنالیزهای مربوط به بیان ژن‌های ایمنی

استخراج RNA و سنتز cDNA

استخراج RNA از سلول‌های ماهیان مورد مطالعه با استفاده از ماده هضم‌کننده RNX محصول شرکت سیناژن و مطابق پروتکل مربوط به آن انجام شد. به طور خلاصه نمونه‌های هموژن شده ماهی (۵۰ میلی‌گرم) در داخل ویال‌ها قرار داده شد و ۱۰۰۰ میکرولیتر محلول RNX به آنها اضافه شد. پس از

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-06-14]

[DOI: 10.71901/jad-2025-1-855]

ورتکس نمودن ویال‌ها (۲ دقیقه)، نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق قرار داده شد. سپس به میزان ۲۰۰ میکرولیتر کلروفرم اضافه شد و به مدت ۱۵ ثانیه تکان داده شد. سپس، ۱۵ دقیقه در یخ انکوبه شد و با دور ۱۲۰۰۰ دور در ۴ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شدند. سپس، فاز بالایی به ویال‌های جدید انتقال داده شد و به مقدار حجم برابر ایزوپروپانول اضافه شد و به آرامی تکان داده و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۲۰- درجهٔ سانتی‌گراد قرار داده شد و بعد به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد با دور ۱۲۰۰۰ سانتریفوژ انجام گرفت. فاز بالایی خالی شد و برای شست‌وشو ویال‌ها با ۱ میلی‌لیتر اتانول ۷۵ درصد پر شدند. سپس، در ۵ دقیقه با دمای ۴ درجهٔ سانتیگراد با دور ۱۲۰۰۰ سانتریفوژ شد. فاز بالایی دور ریخته شد و ویال‌ها در زیر هود قرار گرفتند و بعد به میزان ۴۰ میکرولیتر آب عاری از RNase به آن اضافه شد (Jensen *et al*., 2018).

سنجش خلوص RNA استخراج‌شده با محاسبه نسبت جذب نوری۲۶۰/۲۸۰/ و۲۳۰/۲۶۰ صورت گرفت. جذب نوری نمونه‌های RNA خوانده‌شده به کمک دستگاه نانودراپ در طول‌موج‌های گفته‌شده بین ۱/۷ تا ۲ بود که نشان‌دهنده درجه خلوص بالای نمونه‌های RNA بود. برای حذف آلودگی DNA از یک میکرولیتر DNase طبق پروتکل شرکت سازنده کیت استفاده شد. همچنین غلظت RNA استخراج‌شده از هر نمونه نیز توسط همین دستگاه برحسب ng/µl سنجیده شد (Hoseinifar *et al*., 2023). برای سنتز cDNA از نمونه‌های RNA استخراج‌شده (۱ میکروگرم)، برای ارزیابی ژن‌های مربوطه از کیت ساخت cDNA شرکت یکتا تجهیز ساخت ایران و با استناد به روش کار ارائه‌شده توسط کیت استفاده شد. طراحی آغازگرها برای ژن‌های مربوطه (TGF-b، IL-1 ß, IL-10، LYZ، GPX، CAT، SOD and TNF-α) و ژن مرجع بتا-اکتین (ß - actin) به ترتیب با کد دسترسی موجود در بانک ژن (NCBI) با استفاده از نرم‌افزار پرایمر ۳ انجام شد (Jafari *et al*., 2023) (جدول ۱).

برای انجام واکنش Real time-PCR معرف‌های مورد نیاز برای تهیه محلول اصلی برای هر ژن شامل PCR Master Mix (۶ میکرولیتر)، پرایمر رفت (۰/۵میکرولیتر)، پرایمر برگشت (۰/۵میکرولیتر)، آب دو بار یونیزه (۴ میکرولیتر) بود که به ترتیب با هم مخلوط شدند. در نهایت ارزیابی شاخص‌های ایمنی با روش آستانه نسبی ΔΔCt انجام شد. سپس تمامی بیان‌های ژن‌های هدف با آن مقایسه شده و افزایش یا کاهش آن مشخص گردید. میزان تکثیر محصول در این روش بر حسب یک منحنی با ۳ فاز رسم می‌شود.

$$\Delta C = Ct \text{ ژن هدف} - Ct \text{ ژن مرجع}$$

تجزیه و تحلیل آماری

این پژوهش در قالب طرح کاملاً تصادفی (Completely Randomized Design) انجام گرفت. ثبت داده‌ها پس از هر مرحله نمونه‌برداری به‌وسیله نرم‌افزار Excel (Microsoft, 2016) انجام شد. تمام داده‌های درون‌متن به‌صورت Mean ± SE بیان‌شده است. تجزیه‌وتحلیل داده‌ها توسط نرم‌افزار SPSS (version 26) انجام گرفت. برای بررسی آماری داده‌ها ابتدا نرمال بودن داده‌ها توسط One Sample Kolmogorov-Smirnov Test ارزیابی گردید و در صورت نرمال بودن داده‌ها جهت تجزیه‌وتحلیل داده‌ها

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-06-14]
[DOI: 10.71901/jad-2025-1-855]

از آنالیز واریانس یک‌طرفه (One way ANOVA) استفاده شد. اختلاف بین میانگین‌ها به‌وسیله آزمون چند دامنه Tukey بررسی شد. میزان سطح معنی‌دار بودن در این بررسی $p<۰/۰۵$ بود.

جدول۱: توالی پرایمرهای مورد استفاده برای مطالعه بیان ژن‌های ایمنی و آنتی‌اکسیدانی در ماهی گورخری.

Table 1: Sequence of primers used to study the expression of immune and antioxidant genes in zebrafish (Danio rerio).

Gene name	Access Number	Sequences of primers (q-PCRF & q-PCRR)	Junction temperature (C°)	Application
IL-1ß	AY340959.1	CGTCTCCACATCTCGTACTCA GTGTCTTTCCTGTCCATCTCC	58	immune gene
IL-10	NM0010200785.2	TGGAGACCATTCTGCCAACA GCATTTCACCATATCCCGCT	58	immune gene
TNF- α	AY427649.1	CTGCTTCACGCTCCATAAGA CTGGTCCTGGTCATCTCTCC	58	immune gene
TGF- ß	NM_182873.1	TCTGGGAACTCGCTTTGTCTCCAA GCTGGTTTGCTTTACAGTCGCAGT	58	immune gene
LYZ	NM-139180.1	GGCAGTGGTGTTTTTGTGTC CGTAGTCCTTCCCCGTATCA	58	immune gene
CAT	AJ007505.1	GCATGTTGGAAAGACGACAC GTGGATGAAAGACGGAGACA	58	antioxidant gene
GPX	NC_011476	GTGTGCCCCTACGCAGGA CACACAGTTCTGCTGACACC	58	antioxidant gene
SOD	BC055516	CACACAGTTCTGCTGACACC GTCCGCACTTCAACCCTCA	58	antioxidant gene
ß – actin	NM_131031.1	AGCAGATGTGGATCAGCAAG TACCTCCCTTTGCCAGTTTC	58	Reference gene

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-06-14]

[DOI: 10.71901/jad-2025-1-855]

نتایج

نتایج حاصل از تأثیر عصاره گیاه سلمک بر شاخص‌های رشد و تغذیه در ماهی گورخری به‌صورت میانگین داده‌ها ± خطای استاندارد در جدول ۲ آمده است. بر اساس نتایج حاصله در پایان دوره‌ی آزمایشی، اختلاف معنی‌داری در شاخص‌های WG، SGR، SUR ، FCR و FER بین تیمارهای مورد آزمایش مشاهده نشد ($p>۰/۰۵$).

جدول ۲: عملکرد رشد و کارایی تغذیه پس از ۸ هفته آزمایش در ماهی گورخری تغذیه شده با دوزهای مختلف عصاره گیاه سلمک

Table 2: Growth performance and Feed efficiency after 8 weeks' trial in zebrafish fed with different doses of dietary *Chenopodium album*.

Body performance and Feed efficiency	Experimental treatments				
	C-0%	**T1-0/25%**	**T2-0/5%**	**T3-1%**	**T4-1/5%**
Initial weight (mg)	179.13 ± 0.87^a	182.58 ± 1.17^a	181.62 ± 1.05^a	181.03 ± 1.27^a	180.22 ± 0.98^a
Final weight (mg)	290.46 ± 1.87^a	294.52 ± 1.97^a	299.19 ± 2.90^a	293.24 ± 1.77^a	287.13 ± 0.52^a
WG (mg)	109.32 ± 1.15^a	111.93 ± 2.23^a	117.57 ± 3.94^a	113.30 ± 1.07^a	106.91 ± 0.27^a
SGR	1.32 ± 0.03^a	1.32 ± 0.04^a	1.34 ± 0.05^a	1.33 ± 0.04^a	1.31 ± 0.06^a
FCR	1.91 ± 0.37^a	1.92 ± 0.25^a	1.95 ± 0.19^a	1.94 ± 0.28^a	1.93 ± 0.11^a
FER (%)	51.90 ± 0.34^a	52.11 ± 0.12^a	51.31 ± 0.11^a	51.59 ± 0.14^a	51.86 ± 0.19^a
Survival rate (%)	92 ± 1^a	90 ± 3^a	92 ± 3^a	91 ± 2^a	90 ± 4^a

Data are expressed as the Mean ± SE
Different small letters indicate significant differences between treatments ($P< 0.05$).

تاثیر عصاره گیاه سلمک بر بیان ژن‌های مرتبط با ایمنی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

نتایج به‌دست آمده از اثرگذاری عصاره گیاه سلمک بر بیان ژن‌های مربوط به ایمنی در ماهی گورخری به صورت میانگین ± خطای استاندارد در جدول ۳ نشان داده شده است. طبق نتایج به‌دست آمده در انتهای دوره‌ی آزمایشی، تفاوت‌های قابل ملاحظه‌ای در بین تیمارهای آزمایشی دیده شد ($p<۰/۰۵$). به طوری که میزان بیان ژن‌های لیزوزیم، IL10، TNF و TGF در تیمارهای ۳،۲ و ۴ تغذیه شده با عصاره گیاه سلمک به طور معناداری نسبت به تیمار شاهد و تیمار ۱ بیشتر بود ($p<۰/۰۵$). از نظر میزان بیان ژن IL1 در بین هیچ‌کدام از تیمارها تفاوت معناداری وجود نداشت ($p>۰/۰۵$). همچنین از نظر میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی CAT و SOD در تیمارهای تغذیه شده با عصاره گیاه سلمک مقدار بیان ژن بیشتری نسبت به تیمار شاهد مشاهده شد ($p<۰/۰۵$). میزان فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی GPX در بین تیمارها اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند.

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-06-14]

[DOI: 10.71901/jad-2025-1-855]

جدول ۳: بیان ژن‌های مرتبط با ایمنی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در کل بدن ماهی گورخری پس از ۸ هفته تغذیه با دوزهای مختلف عصاره گیاه سلمک (p<۰/۰۵).

Table 3: Expression of immune-related genes and Antioxidant enzyme activities in the whole body extract after 8 weeks' trial in zebrafish fed with different doses of dietary *Chenopodium album*.

Factor	Experimental treatments				
	C-0%	**T1-0/25%**	**T2-0/5%**	**T3-1%**	**T4-1/5%**
IL1	1.00 ± 0.14^{a}	1.05 ± 0.11^{a}	1.12 ± 0.09^{a}	1.24 ± 0.17^{a}	1.21 ± 0.31^{a}
IL10	0.96 ± 0.05^{b}	1.06 ± 0.15^{b}	1.35 ± 0.21^{a}	1.44 ± 0.11^{a}	1.49 ± 0.26^{a}
TNF	1.11 ± 0.05^{b}	1.06 ± 0.08^{b}	1.48 ± 0.12^{a}	1.35 ± 0.18^{a}	1.49 ± 0.21^{a}
TGF	1.26 ± 0.24^{b}	1.14 ± 0.33^{b}	1.74 ± 0.11^{a}	1.95 ± 0.27^{a}	2.21 ± 0.38^{a}
LYZ (U mL^{-1})	6.45 ± 0.59^{b}	7.24 ± 0.76^{b}	8.21 ± 0.11^{a}	8.74 ± 0.33^{a}	8.66 ± 0.19^{a}
GPX (U mL^{-1})	1.15 ± 0.31^{a}	1.28 ± 0.19^{a}	1.18 ± 0.15^{a}	1.24 ± 0.39^{a}	1.47 ± 0.39^{a}
CAT (U mL^{-1})	1.24 ± 0.09^{b}	1.68 ± 0.13^{a}	1.57 ± 0.22^{a}	1.68 ± 0.31^{a}	1.85 ± 0.42^{a}
SOD (U mL^{-1})	1.06 ± 0.05^{b}	1.29 ± 0.14^{a}	1.55 ± 0.31^{a}	1.73 ± 0.29^{a}	1.81 ± 0.55^{a}

Data are expressed as the Mean ± SE
Different small letters indicate significant differences between treatments (p< 0.05).

بحث

بر اساس نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر، تغییر خاصی در ضریب فاکتورهای رشد در تیمارهای تغذیه شده با عصاره گیاه سلمک مشاهده نشد که احتمالا سطوح استفاده شده از این عصاره جهت تاثیر بر فاکتورهای رشد کافی نبوده است. از سوی دیگر، رشد بسیار پایین ماهی گورخری ازنظر فیزیولوژی باعث شده که تغییر شاخص‌های رشد چشم‌گیر نباشد. همچنین گونه‌های مختلف ماهیان بر حسب توانایی خود در متابولیسم و جذب مواد شیمیایی گیاهی، ممکن است واکنش‌های متفاوتی از نظر رشد نشان دهند. بسته به مقدار و نوع گونه گیاهی، افزودنی‌های گیاهی در رژیم غذایی می‌تواند رشد را تغییر دهد. در یک مطالعه افزودن روغن نرولی تولید شده از شکوفه نارنج در غذای کپورماهیان تا سطح نیم درصد رشد را افزایش داد در حالی که سطوح بالاتر (۱/۵–۱ درصد)، احتمالا به دلیل وجود عوامل ضد تغذیه‌ای باعث کاهش رشد آنها شد (Kuebutornye *et al*., 2024) که با نتایج این مطالعه همخوانی نداشت.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که به‌کارگیری عصاره سلمک میزان فعالیت لیزوزیم را به‌ویژه در ماهیان تیمار شماره ۴ افزایش می‌دهد. نتایج مشابهی در فعالیت آنزیم لیزوزیم با استفاده از انواع جیره‌های حاوی گیاه داروش روی ماهی تیلاپیای نیل (Park and Choi, 2012)، قارچ چاگا (*Inonotus obliquus*) روی ماهی هامور دندان نیش (*Epinephelus bruneus*) (Harikrishnan *et al*., 2012; Chang *et al*., 2013)، پودر زنجبیل روی ماهی سفید (*Rutilus kutum*) (Zoheiri *et al*., 2016)، پودر پیاز روی ماهی فلاندر (Cho and Lee, 2012) و پودر سیاه‌دانه (Yousefi *et*

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-06-14]
[DOI: 10.71901/jad-2025-1-855]

al., 2021)، گیاه آنغوزه (*Ferula assafoetida*) (Safari *et al*., 2016) روی ماهی کپور معمولی و عصاره انگور روی ماهی زبرا (Hoseinifar *et al*., 2023) گزارش شده است. در این مطالعه افزایش مقدار لیزوزیم احتمالا به دلیل تاثیر ترکیبات عصاره هیدروالکلی سلمک بوده که تعداد فاگوسیت‌های ترشح‌کننده لیزوزیم را تغییر داده و به‌این‌ترتیب مقدار لیزوزیم سنتز شده در سلول افزایش پیداکرده است. ترکیبات گیاهی می توانند سلول‌های کبدی و خونی را تحریک به آزادسازی بیشتر لیزوزیم نمایند (Taghiyan *et al*., 2023).

طبق نتایج این مطالعه، در تیمارهای تغذیه شده با عصاره گیاه سلمک نسبت به گروه شاهد، افزایش معنی‌داری در بیان ژن‌های TNF، IL10 و TGF مشاهده شد که نشان‌دهنده تأثیر مثبت عصاره گیاهی سلمک در بهبود سیستم ایمنی غیراختصاصی سلولی ماهی است. زیرا گیاه سلمک حاوی ترکیبات آمینواسید سینامیک، فلاونوئیدها و کارتونوییدها می‌باشد. فلاونوئیدها در از بین بردن رادیکال‌های آزاد و مهار ان- اف کاپا بی (NF-κB، یک کمپلکس پروتئینی کنترل‌کننده رونویسی دی ان ای) تاثیر قابل‌توجهی دارند. علاوه بر این، این گیاه دارای انرژی، کربوهیدرات‌ها، فیبر، چربی، پروتئین، ویتامین‌های تیامین، ریبوفلاوین، نیاسین، ویتامین B_5، ویتامین B_6، ویتامین B_9، ویتامین C، کلسیم، آهن، منیزیم، منگنز، فسفر، پتاسیم، سدیم و روی بوده که دارای خواص آنتی‌اکسیدانی قوی، ضدسرطان، ضدجهش، ضدمیکروبی، ضد التهابی و ضد تحلیل عصبی هستند (Hoseinifar *et al*., 2023). در نتیجه وجود انواع ترکیبات فعال زیستی در این گیاه، باعث تحریک سلول‌های بدن شده و ژن‌های سیتوکین مانند TNF و IL-10 شروع به تولید و افزایش می‌کند. با این حال، برخی از گونه‌های ماهی سطوح بالاتری از ژن‌های سیتوکین را بیان می‌کنند (Singh *et al*., 2023; Sattanathan *et al*., 2022). مشابه این نتایج روی ماهی گورخری عصاره هیدروالکلی گیاه آنغوزه (*Ferula assafoetida*) به میزان ۲٪ در جیره غذایی بر بیان ژن‌های مرتبط با ایمنی (TNF-alpha و IL1B) اثر مثبت نشان داد و علت آن کاهش رادیکال‌های آزاد و تقویت سیستم ایمنی ماهی به واسطه وجود متابولیت‌های ثانویه، مواد مؤثره در گیاه ذکر شد (Safari *et al*., 2018). در یک مطالعه دیگر افزودن پودر پوست لیمو (دوزهای ۱/۵ و ۳/۵ درصد) به جیره غذایی ماهی شانک موجب افزایش بیان ژن‌های ایمنی IL1β شد (Beltrán *et al*., 2017). نتایج مشابهی نیز توسط سایر محققین در رابطه با افزایش TNF-α و IL-1 با استفاده از ترکیبات گیاهی مختلف از جمله گیاه گون روی ماهی کپور معمولی (Yuan *et al*., 2007)، چای سبز روی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (Nootash *et al*., 2013)، عصاره گیاه بومادران در ماهی کاراس‌طلایی (Nezhadmoghadam *et al*., 2018) گزارش شده است. در مطالعه روی ماهی کپور معمولی نیز افزایش معنی‌دار ژن‌های رشد (GH، IGF-I) و ایمنی (Lyz، IL-1) به طور قابل توجهی تحت تأثیر مکمل‌های غذایی اسید سیتریک و آب لیموترش (*Citrus limon*) قرارگرفتند (Roohi *et al*., 2024). همچنین عصاره آنغوزه (Safari *et al*., 2016) و گیاه آقطی (Taghiyan *et al*., 2023) به جیره غذایی تاثیر مثبتی بر بیان ژن‌های مرتبط با رشد و ایمنی ماهیان داشت. علاوه بر این، برخی از گیاهان مانند سیر، زردچوبه و جلبک

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-06-14]

[DOI: 10.71901/jad-2025-1-855]

دریایی (*Asparagopsis taxiformis*) در رژیم غذایی خفاش‌ماهی گرد (*Platax orbicularis*) باعث افزایش بیان ژن‌های TGF-β1 مرتبط با سیستم ایمنی شد (Reverter *et al*., 2016) که مشابه با نتایج این مطالعه بود.

در مطالعه حاضر بیان ژن آنزیم‌های گلوتاتیون پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز در تیمارهای حاوی سطوح مختلف عصاره هیدروالکلی گیاه سلمک افزایش قابل ملاحظه‌ای را در مقایسه با تیمار شاهد نشان داد که احتمالا به دلیل وجود مواد زیست فعالی مانند پلی‌فنل‌ها و فنالوئیدها و ترکیب آنتی اکسیدانی بالا در عصاره گیاه سلمک است که از سلول ها در برابر رادیکال‌های آزاد اکسیژن محافظت می‌کند (Usman *et al*., 2010). سلمک به دلیل داشتن اسیدهای فنولیک و فلاونوئیدها خواص آنتی‌اکسیدانی قوی داشته که می‌تواند اکسیداسیون لیپید، استرس اکسیداتیو و رادیکال‌های آزاد را کاهش دهد. به طور کلی مکانیسم آنتی‌اکسیداسیون شامل از بین بردن رادیکال‌های آزاد و یا مهار تولید گونه‌های فعال اکسیژن است که با این کار از آسیب های سلولی و مولکولی جلوگیری می‌شود (Singh *et al*., 2023, Osawa and Kato, 2005). مشابه با نتایج این مطالعه سایر محققان نشان دادند که استفاده از ۱ درصد رزماری و زنجبیل بر کیلوگرم غذا منجر به کاهش مالون‌دی‌آلدئید و افزایش آنتی‌اکسیدان کل و گلوتاتیون پراکسیداز در ماهی تیلاپیای نیل می‌شود (Antache *et al*., 2013). در مطالعات دیگر نیز افزودن ۱ درصد عصاره متانولی برگ ازگیل به جیره غذایی قزل‌آلای رنگین‌کمان به علت اثرات آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی گیاه به عنوان یک عصاره گیاه دارویی باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های SOD, CAT, و GPx شد. همچنین، مهار H_2O_2 توسط ازگیل وابسته به غلظت بوده و منجر به کاهش استرس اکسیداتیو شد (Patra *et al*., 2023) که منطبق با نتایج این مطالعه بود. اثرات تقویت کننده انواع عصاره های گیاهی بر سیستم آنتی اکسیدانی ماهیان در بسیاری از ترکیبات گیاهی مانند عصاره زردچوبه روی ماهی زبرا (Kim *et al*., 2021)، عصاره دانه رازیانه روی کپور معمولی (Ahmadniaye Motlagh *et al*., 2023) گزارش شده است. همچنین با افزودن ۱ درصد پودر پیاز جیره غذایی فیل‌ماهی فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز افزایش معنی‌داری را نشان داد (Akrami *et al*., 2015). در یک مطالعه روی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه‌شده با ۵۰۰ میلی‌گرم اسانس آویشن معمولی، نعناع وحشی و مریم‌گلی حداقل تغییرات فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز، گلوتاتیون پراکسیداز، سوپر اکسید دیسموتاز، گلوتاتیون ردوکتاز و گلوتاتیون ترانسفراز در بافت کبد ماهی گزارش شد (Sönmez *et al*., 2015).

نتیجه‌گیری کلی

بر اساس نتایج به‌دست‌آمده از این بررسی، می‌توان گفت که عصاره گیاهی سلمک تا سطح ۱ درصد به‌عنوان یک محرک ایمنی، قابلیت استفاده در در جیره غذایی ماهی گورخری را دارد. به طور کلی این گیاه با افزایش بیان ژن‌های مرتبط با ایمنی ماهی، مقاومت ماهیان را در مقابل استرس‌ها و تنش‌های محیطی افزایش داده و موجب کاهش تلفات می‌شود. به هر حال، مطالعات بیشتری در رابطه با غلظت‌های مطلوب این گیاه روی گونه‌های مختلف ماهیان و همچنین مطالعات بیوشیمیایی و بافت‌شناسی ماهیان پس از تغذیه با این مکمل گیاهی مورد نیاز است.

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-06-14]

[DOI: 10.71901/jad-2025-1-855]

سپاسگزاری

در اینجا بر خود لازم می‌دانیم که از زحمات تمام کسانی که ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند سپاسگزاری نماییم.

منابع

1. Agarwal, A. and Sekhon, L.H., 2010. The role of antioxidant therapy in the treatment of male infertility. *Human fertility*, *13*(4), pp.17-225. DOI: 10.1038/aja.2010.183
2. Ahmadniaye Motlagh, H., Horie, Y., Rashid, H., Banaee, M., Multisanti, C.R. and Faggio, C., 2023. Unveiling the effects of fennel (*Foeniculum vulgare*) seed essential oil as a diet supplement on the biochemical parameters and reproductive function in female common carps (*Cyprinus carpio*). *Water, 15*(16), pp.2978. DOI: 10.3390/w15162978
3. Akrami, R., Rahnama, B., Chitsaz, H. and Razeghi Mansour, A., 2015. Effects of dietary inulin on growth performance, survival, body composition, stress resistance and some hematological parameters of Gibel carp juveniles (*Carassius auratus gibelio*). *Iranian Journal of Fisheries Sciences, 14*(4), pp.1072- 1082. DOI: 10.22092/IJFS.2018.114505
4. Altmann, S. M., Mellon, M. T., Distel, D. L. and Kim, C.H., 2003. Molecular and functional analysis of an interferon gene from the zebrafish, *Danio rerio*. Journal of *Virology, 77*(3), pp.1992-2002. DOI: 10.1128/jvi.77.3.1992-2002.2003
5. Antache, A., Crister, V., Iulia, R., Grecu, I.R., Ion, S.P. and Mocanu, M.C., 2013. The Influence of Rosemary Sea Buckthorn and Ginger on Oxidative Stress at *Oreochromis niloticus* Reared in a Recirculating Aquaculture System. *Bulletin UASVM Animal Science and Biotechnologies*, *70*, pp.110-116.
6. Ardó, L., Yin, G., Xu, P., Váradi, L., Szigeti, G., Jeney, Z. and Jeney, G., 2008. Chinese herbs (*Astragalus membranaceus* and *Lonicera japonica*) and boron enhance the non-specific immune response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and resistance against Aeromonas hydrophila. *Aquaculture*, *275*(1-4), pp.26-33. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2007.12.022
7. Beltrán, J.M.G., Espinosa, C., Guardiola, F.A. and Esteban, M.Á., 2017. Dietary dehydrated lemon peel improves the immune but not the antioxidant status of gilthead seabream (*Sparus aurata L.*). *Fish* and S*hellfish Immunology, 64*, pp.426-436. DOI: 10.1016/j.fsi.2017.03.042
8. Berbel-Filho, W.M., Rodríguez-Barreto, D., Berry, N., Garcia De Leaniz, C. and Consuegra, S., 2019. Contrasting DNA methylation responses of inbred fish lines to different rearing environments. *Epigenetics, 14*(10), pp.939-948. DOI: 10.1080/15592294.2019.1625674
9. Bobe, J. and Goetz, F.W., 2001. Molecular cloning and expression of a TNF receptor and two TNF ligands in the fish ovary. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology, 129*(2-3), pp.475-481. DOI: 10.1016/s1096-4959(01)00353-0
10. Chang, C.S., Huang, S.L., Chen, S. and Chen, S.N., 2013. Innate immune responses and efficacy of using mushroom beta-glucan mixture (MBG) on orange-spotted grouper, *Epinephelus coioides*, aquaculture, *Fish and Shellfish Immunology, 35*(1), pp.115-125. DOI: 10.1016/j.fsi.2013.04.004
11. Cho, H.C. and Lee, S.M., 2012. Onion powder in the diet of the Olive flounder (*Paralichthys olivaceus*): Effects on the growth, body composition and lysozyme activity. *World Aquaculture Society, 43* (1), pp.30- 38. DOI: 10.1111/j.1749-7345.2011.00489.x
12. Crawford, A.D., Esguerra, C.V. and de Witte, P.A., 2008. Fishing for drugs from nature: zebrafish as a technology platform for natural product discovery. *Planta Medica, 74*(06), pp.624-632. DOI: 10.1055/s-2008-1034374
13. Deelen, J., Beekman, M., Codd, V., Trompet, S., Broer, L., Hägg, S., Fischer, K., Thijssen, P.E., Suchiman, H.E.D. and

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-06-14]

[DOI: 10.71901/jad-2025-1-855]

Postmus, I., 2014. Leukocyte telomere length associates with prospective mortality independent of immune-related parameters and known genetic markers. *International journal of epidemiology, 43*, pp.878-886. DOI: 1093/ije/dyt267

14. Yousefi, M., Adineh, H., Reverter, M., Khademi Hamidi, M., Vatnikov, Y.A., Kulikov, E.V., Hoseinifar, S.H. and Doan, H.V., 2021. Protective effects of black seed (*Nigella sativa*) diet supplementation in common carp (*Cyprinus carpio*) against immune depression, oxidative stress and metabolism dysfunction induced by glyphosate, *Fish and Shellfish Immunology, 109*, pp. 12-19. DOI:10.1016/j.fsi.2020.11.032
15. Gharaei, A., Ebrahimi, Jorjani, H., Miradr Harijani, J. and Miyandare Kolangi, H., 2019. Effect of dietary Tribulus Terrestris extract on expression of lysozyme, IL1 and TNF genes in *Danio rerio*. *Journal of Ornamental Aquatics, 6*(1), pp.41-49. [In Persian]
16. Ghazala, R., Tabinda A.B. and Yasar. A., 2011. Growth response of Juvenile grasscarp (*Ctenopharyngodon idella*) fed isocaloric diets with variable protein levels. *The Journal of Animal and Plant Sciences, 21*(4), pp.850-856.
17. Ghiasi, M., Aqajani, S.A., Binaye, M., Poorgholami, R. and Babalyan Amiri, A., 2015. Effect of Aqueous Extract of Hypericum (*Hypericum perforatum*) index of blood, serum and survival of rainbow trout (heat stress). *Journal of Fishery Science and Technology, 5(2)*, pp.101-91. DOI: 10.5812/cardiovascmed.31326
18. Harikrishnan, R., Balasundaram, C. and Heo, M.S., 2012. Effect of Inonotus obliquus enriched diet on hematology, immune response and disease protection in kelp grouper (*Epinephelus bruneus*) against *Vibrio harveyi*. *Aquaculture, 344-349*. pp.48-53. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2012.03.010
19. Hoseinifar, S.H., Fazelan, Z., El-Haroun, E., Yousefi, M., Yazici, M., Van Doan, H. and Paolucci, M., 2023. The effects of grapevine (*Vitis vinifera L.*) leaf extract on growth performance, antioxidant status, and immunity of zebrafish (*Danio rerio*). *Fishes, 8*(6), pp.326. DOI: 10.3390/fishes8060326
20. Jafari, V., Paknejada, H. and Hosseinia, M., 2023. The effect of liquorice (*Glycyrrhiza glabra*) extract on IGF, TNF and lyzozyme genes expression in *Cyprinus carpio* fingerlings. *Journal of Aquatic Ecology, 13*(2), pp.97-107. [In Persian]
21. Jensen, H.M., Korbut, R., Kania, P.W. and Buchmann, K., 2018. Cannabidiol effects on behaviour and immune gene expression in zebrafish (*Danio rerio*). *PloS one. 13*(7), pp.e0200016. DOI: 10.1371/journal.pone.0200016
22. Kim, S., Kim, M., Kang, M.C., Lee, H.H.L., Cho, C.H., Choi, I., Park, Y. and Lee, S.H., 2021. Antioxidant effects of turmeric leaf extract against hydrogen peroxide-induced oxidative stress in vitro in vero cells and in vivo in zebrafish. *Antioxidants, 10*(1), pp.112. DOI: 10.3390/antiox10010112
23. Kuebutornye, F.K.A., Roy, K., Folorunso, E.A. and Mraz, J., 2024. Plant-based feed additives in *Cyprinus carpio* aquaculture. *Reviews in Aquaculture, 16*(1), pp.309-336. DOI: 10.1111/raq.12840
24. Kutluyer, F., Sirkecioğlu, A.N., Aksakal, E., Aksakal, F.İ., Tunç, A. and Günaydin, E., 2017. Effect of Dietary Fish Oil Replacement with Plant Oils on Growth Performance and Gene Expression in Juvenile Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Annals of Animal Science, 17*(4), pp.1135-1153. DOI: 10.1515/aoas-2017-0010
25. Laing, K.J., Wang, T., Zou, J., Holland, J., Hong, S., Bols, N., Hirono, I., Aoki, T. and Secombes, C.J., 2001. Cloning and expression analysis of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* tumour necrosis factor-α. *European Journal of Biochemistry, 268*(5), pp.1315-1322. DOI: 10.1046/j.1432-1327.2001.01996.x
26. Logambal, S.M, Venkatalakshmi, S, and Michael, R.D., 2000. Immunostimulatory effect of leaf extract of *Ocimum sanctum* Linn. in *Oreochromis mossambicus*

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-06-14]

[DOI: 10.71901/jad-2025-1-855]

(Peters). *Hydrobiologia, 430*, pp.113–120. DOI: 10.1023/A:1004029332114

27. Mohamed, G.A., Amhamed, I.D., Almabrok, A.A., Barka, A.B.A., Bilen, S. and Elbeshti, R.T., 2018. Effect of celery (*Apium graveolens*) extract on the growth, haematology, immune response and digestive enzyme activity of common carp (*Cyprinus carpio*). *Marine Science and Technology Bulletin, 7*(2), pp.51-59. DOI: 10.33714/masteb.457721
28. Mokhtar, D.M., Zaccone, G., Alesci, A., Kuciel, M., Hussein, M.T. and Sayed, R.K., 2023. Main components of fish immunity: An overview of the fish immune system. *Fishes, 8*(2), pp.93. DOI: 10.3390/fishes8020093
29. Ndeda, V., 2022. Exploring Genus Amaranthus as a promising fishmeal alternative in aquaculture: A mini review. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies, 10*(6), pp.146-151. DOI: 10.22271/fish.2022.v10.i6b.2839
30. Nezhadmoghadam, S., Imanpoor, M.R., Jafari, V. and Safari, R., 2018. Effect of Achillea millefolium on mucosal immune response and immune related (TNF-alfa) gene expression in Goldfish *Carassius auratus* (Linnaeus, 1758). *Journal of Aquaculture Development, 5*(4), pp.87-100. DOI: 10.22069/japu.2021.19358.1598 [In Persian]
31. Nootash S., Sheikhzadeh N., Baradaran B., Oushani A.K. and Moghadam M.R.M., 2013. Green tea (*Camellia sinensis*) administration induces expression of immune relevant genes and biochemical parameters in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish and Shellfish Immunology, 35*(6), pp.1916-1923. DOI: 10.1016/j.fsi.2013.09.030
32. Olusola, S.E, Emikpe, B.O. and Olaifa, F.E., 2013. The potentials of medicinal plants extracts as bioantimicrobial in aquaculture. *International Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 3*, pp.404-412.
33. Osawa, T. and Kato, Y., 2005. Protective role of antioxidative food factors in oxidative stress caused by hyperglycemia. *Annals of the New York Academy of Sciences, 1043*(1), pp.440-451. DOI: 10.1196/annals.1333.050
34. Park, K.H. and Choi, S.H., 2012. The effect of mistletoe, Viscum album coloratum, extract on innate immune response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Fish Shellfish Immunology, 32*, pp.1016–1021. DOI: 10.1016/j.fsi.2012.02.023
35. Patra, I., Prima Dewi, A., Fawzi, M., Hussam, F., Obayes, I.K. Jamal, M.A., Hammoodi, H.A., Abbass, Z.R., Dadras , M. and Narimanizad, F., 2023. Effects of Dietary Medlar (*Mespilus germanica L.*) Extract on Growth Performance, Innate Immune Characteristics, Antioxidant Status, and Responses to Crowding Stress in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture Nutrition,* 7613330, pp.1-13. DOI: 10.1155/2023/7613330
36. Raa, J., 1996. The use of immunostimulatory substances in fish and shellfish farming. *Reviews in Fisheries Science,4*(3), pp.229-288. DOI: 10.1080/10641269609388587
37. Reverter, M., Saulnier, D., David, R., Bardon-Albaret, A., Belliard, C., Tapissier-Bontemps, N., Lecchini, D. and Sasal, P., 2016. Effects of local Polynesian plants and algae on growth and expression of two immune-related genes in orbicular batfish (*Platax orbicularis*). *Fish and Shellfish Immunology, 58*, pp.82-88. DOI: 10.1016/j.fsi.2016.09.011
38. Roohi, Z., Imanpour, M. and Safari, R., 2024. Evaluating effect of dietary administration of citric acid and lemon juice (*Citrus limon*) on growth performance, serum and mucus immune responses, related-genes expression of growth (GH, IGF-I) and immune (Lyz, IL-1) in common carp (*Cyprinus carpio*). *Journal of Aquaculture Development, 18*(3), pp.78-95. DOI: 10.71901/jad-2024-1-748 [In Persian]
39. Safari, R., Hoseinifar, S.H., Nejadmoghadam, S. and Jafar, A., 2016. Transciptomic study of mucosal immune, antioxidant and growth related genes and non-specific immune response of common carp (*Cyprinus carpio*) fed dietary Ferula

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-06-14]

[DOI: 10.71901/jad-2025-1-855]

(*Ferula assafoetida). Fish and Shellfish Immunology, 55*, pp.242-248. DOI: 10.1016/j.fsi.2016.05.038

40. Safari, R., Vahedi Amiri, F., Shabany, A. and Hoseinifar, S.H., Kolangi Miandareh, H., 2018. Effect of Supplementation of Diet with *Ferula assafoetida* Hydoalkohalic Extract on Immune Related (IL-1β and TNF-alpha) Gene. *Journal of Aquatic Physiology and Biotechnology, 11*(3), pp.55-66. [In Persian]
41. Sattanathan, G., Liu, W.C., Padmapriya, S., Pushparaj, K., Sureshkumar, S. and Lee, J.W., Balasubramanian, B., Kim, I.H., 2022. Effects of Dietary Blend of Algae Extract Supplementation on Growth, Biochemical, Haemato-Immunological Response, and Immune Gene Expression in Labeo rohita with Aeromonas hydrophila Post-Challenges. *Fishes, 8*(1), pp.1-22. DOI: 10.3390/fishes8010007
42. Singh, S., Singh, A., Hallan, S.S., Brangule, A., Kumar, B. and Bhatia, R., 2023. A Compiled Update on Nutrition, Phytochemicals, Processing Effects, Analytical Testing and Health Effects of *Chenopodium album*: A Non-Conventional Edible Plant (NCEP). *Molecules, 28*(13), pp.4902. DOI: 10.3390/molecules28134902
43. Sönmez, A.Y., Bilen, S., Alak, G., Hisar, O., Yanık, T. and Biswas, G., 2015. Growth performance and antioxidant enzyme activities in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) juveniles fed diets supplemented with sage, mint and thyme oils. *Fish Physiology and Biochemistry, 41*, pp.165-175. DOI: 10.1007/s10695-014-0014-9
44. Taghiyan, H., Sudagar, M., Yousefi, S., Paknejad, H. and Hajibeglou, A., 2023. Effect of dietaryof Magnolia (*Sambucus ebulus* L) fruit extract on growth performance, serum antioxidant activities and evaluation of immunity-related genes (TNF-α and LYZ) in common carp (*Cyprinus carpio*). *Journal of Aquaculture Development, 17*(1), pp.1-14. DOI: 10.61186/aqudev.17.1.1 [In Persian]
45. Trenzado, C., Hidalgo, M. C., García-Gallego, M., Morales, A., E., Furné, M., Domezain, A., Domezain, J. and Sanz, A., 2006. Antioxidant enzymes and lipid peroxidationin sturgeon *Acipenser naccarii* and trout *Oncorhynchus mykiss*. A comparative study. *Aquaculture, 254*, pp.758–767. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2005.11.020
46. Usman, L.A., Hamid, A.A., Muhammad, N.O., Olawore, N.O., Edewor, T.I. and Saliu, B.K., 2010. Chemical constituents and anti-inflammatory activity of leaf essential oil of Nigerian grown *Chenopodium album* L. *Experimental and Clinical Transplantation, 9*, pp.181. DOI: 10.17877/DE290R-8905
47. Vahedi, F., Safari, R., Shabani, A., Hoseinifar, H. and Kolangi Miandareh, H., 2018. Effects of dietary administration of hydroalkohalic extract of ferula (*Ferula assafoetida*) on growth, antioxidant related genes expression in zebrafish (*Danio rerio*). Journal of *Aquaculture Development, 12*(1), pp.89-98. DOR: 20.1001.1.23223545.1397.12.1.9.3 [In Persian]
48. Young, I.S. and Woodside, J., 2001. Antioxidants in health and disease. *Journal of Clinical Pathology, 54*, pp.176-186. DOI: 10.1136/jcp.54.3.176
49. Yuan, C., Li, D., Chen, W., Sun, F., Wu, G., Gong, Y., Tang, J., Shen, M. and Han, X., 2007. Administration of a herbal immunoregulation mixture enhances some immune parameters in carp (*Cyprinus carpio*). *Fish Physiology and Biochemistry, 33*, pp.93-101. DOI: 10.1007/s10695-006-9120-7
50. Zoheiri F., Imanpour M.R., Hajimoradlo A. and Hoseinifar S.A., 2016. Effect of *Zingibar officinale* on growth, immunity mucosal and hematological factors in *Rutilus kutum. Journal of Applied Ichthyological research, 5*(1), pp.12-19. [In Persian]
51. Zou, J. and Secombes, C.J., 2016. The function of fish cytokines. *Biology, 5*(2), pp.23.86. DOI: 10.3390/biology5020023

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-06-14]

[DOI: 10.71901/jad-2025-1-855]