

## Effects of Parsley (*Petroselinum crispum*) on biochemical indices and transportation stress responses of zebrafish (*Danio rerio*)

Roghieh Safari<sup>1\*</sup>, Amir Mohammad Khajavi<sup>1</sup>, Hamed Azadi<sup>1</sup>, Mina Rahbar<sup>1</sup>, Faezeh Mortezaei<sup>2</sup>, Mohammad Hossein Hejrati<sup>1</sup>

1- Department of Fisheries, Faculty of Fisheries and Environment, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

2- Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Guilan, Sowmeh Sara, Iran

Received: 8 May 2025

Accepted: 10 Jun 2025

### Extended Abstract:

**Introduction:** The zebrafish (*Danio rerio*) is a widely used model in biological and genetic research, and it is also a popular species in the aquarium trade. Its rapid growth, low maintenance requirements, transparent larval stages, and genetic similarities to humans make it an ideal species for studying physiological and molecular responses to environmental stimuli (Lawrence, 2007; Ulloa *et al.*, 2014). However, like other aquatic organisms, zebrafish are exposed to various environmental stressors that can affect their health, growth, and performance. One common stressor in aquaculture is transportation, which involves sudden environmental changes, temperature fluctuations, and reduced oxygen availability, often leading to biochemical alterations and elevated cortisol levels (Carmichael, 1984; Barton, 2002; Brick and Cech, 2002; Hoseini *et al.*, 2022). Natural feed additives, such as medicinal plants, have gained attention as a strategy to mitigate stress effects in fish. Parsley (*Petroselinum crispum*) is rich in antioxidants, vitamin C, and anti-inflammatory compounds and has the potential to improve fish health and stress resilience (Citarasu, 2010; Harikrishnan *et al.*, 2011; Nouioura *et al.*, 2024). Although several studies have examined other medicinal plants, limited information exists on the effects of dietary parsley powder on stress indicators in zebrafish. Therefore, the present study aimed to evaluate the impact of different inclusion levels of parsley powder on the physiological responses of zebrafish during transportation stress. The results are expected to provide scientific evidence supporting the use of parsley as a natural additive to enhance fish welfare and stress management in aquaculture.

**Materials and Methods:** Dried parsley powder, sieved ( $\leq 30 \mu$ ), was incorporated into a commercial base diet at 0.5%, 1%, and 2% levels and coated with gelatin. A total of 300 zebrafish were distributed into 4 groups of Control, 0.5%, 1%, and 2% (C, T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub>, and T<sub>3</sub>, respectively) with 3 replicates and fed the experimental diets for 8 weeks. Fish were subjected to a 2-hour simulated transportation stress at the end

of the trial. Post-stress, whole-body homogenates were prepared. Serum biochemical parameters, including glucose, cholesterol, triglycerides, lactate dehydrogenase (LDH), liver enzymes (AST, ALT, ALP), and cortisol were assessed. Data were analyzed by one-way ANOVA and Tukey's test using GraphPad Prism version 8.

**Results and Discussion:** The present findings demonstrate that dietary parsley supplementation significantly modulated the serum biochemical profile of zebrafish in a dose-dependent manner. The most pronounced effects were observed in the groups receiving T<sub>2</sub> and T<sub>3</sub> parsley. A marked reduction of approximately 25-30% in serum glucose and cholesterol levels compared to the control group underscores parsley's potential in mitigating metabolic stress (Farzaei *et al.*, 2013) and regulating lipid synthesis, likely through the bioactive inhibition of key enzymatic pathways such as HMG-CoA reductase, as previously suggested (Schumacher and DeBose-Boyd, 2021). Furthermore, the significant 20% decrease in triglyceride levels in the T<sub>2</sub> and T<sub>3</sub> groups points towards enhanced lipid metabolism and  $\beta$ -oxidation of fatty acids (Punoševac *et al.*, 2021). The notable dose-dependent decline in the activities of the hepatic enzymes AST, ALT, and ALP, along with serum cortisol levels, strongly indicates parsley's hepatoprotective and anti-stress properties. This is consistent with studies on other medicinal herbs, which attribute such effects to antioxidant compounds that stabilize cell membranes and prevent enzyme leakage (Abdel-Tawwab *et al.*, 2024; Ghafarifarsani *et al.*, 2022). The lack of significant change in LDH activity suggests a specific, rather than generalized, effect on metabolic pathways.

**Conclusion:** In conclusion, this study demonstrates that dietary supplementation with parsley powder, particularly at a 1% inclusion level, effectively enhances the physiological resilience of zebrafish to transportation-induced stress. The significant reductions observed in key stress and metabolic biomarkers, including cortisol, glucose, triglycerides, cholesterol, and hepatic enzymes, are attributed to the potent bioactive compounds in parsley. These compounds appear to act through multiple synergistic mechanisms, primarily by modulating the hypothalamic-pituitary-Interrenal (HPI) axis to mitigate the stress response, bolstering the antioxidant defense system to reduce oxidative damage, and improving hepatic lipid metabolism. Therefore, parsley presents itself as a viable natural feed additive to alleviate the adverse effects of aquaculture-related stressors. For future research, it is recommended to extend these investigations to other economically important fish species, explore potential synergistic effects with other medicinal herbs, and elucidate the precise molecular pathways involved.

**Conflict of Interest:** There is no conflict of interest between the authors of the article

**Acknowledgment:** We would like to express our deepest gratitude to all those who helped us in compiling this research.

**Keywords:** Stress responses, Biochemical indicators, Parsley, Medicinal plants, Zebrafish

---

\* Corresponding Author: rsafari@gau.ac.ir

## "مقاله پژوهشی"

## اثرات گیاه جعفری (*Petroselinum crispum*) بر شاخص های بیوشیمیایی و پاسخ استرس حمل و نقل در ماهی گورخری (*Danio rerio*)

رقیه صفری\*<sup>۱</sup>، امیر محمد خواجوی<sup>۱</sup>، حامد آزادی<sup>۱</sup>، مینا رهبر<sup>۱</sup>، فائزه مرتضائی<sup>۲</sup>، محمد حسین هجرتی<sup>۱</sup>

۱- گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

۲- گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه سرا، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۳/۲۰

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۲/۱۸

### چکیده

این مطالعه با هدف ارزیابی اثر افزودن سطوح مختلف پودر جعفری (*Petroselinum crispum*) به جیره غذایی بر پاسخ های بیوشیمیایی ماهی گورخری (*Danio rerio*) در مواجهه با استرس حمل و نقل انجام شد. تعداد ۳۰۰ عدد ماهی گورخری به صورت تصادفی به چهار گروه شاهد و سه تیمار با سطوح ۰/۵، ۱ و ۲ درصد (به ترتیب C، T<sub>1</sub>، T<sub>2</sub> و T<sub>3</sub>) تقسیم شده و به مدت ۸ هفته تغذیه شدند. پس از آن، استرس حمل و نقل به مدت دو ساعت اعمال گردید. شاخص های بیوشیمیایی سرم شامل گلوکز، کلسترول، تری گلیسرید، لاکتات دهیدروژناز (LDH)، آنزیم های کبدی (AST، ALT و ALP) و هورمون کورتیزول ارزیابی شدند. نتایج نشان داد که سطوح گلوکز و کلسترول سرم در تیمارهای جعفری حدود ۲۵ تا ۳۰ درصد کاهش نسبت به گروه شاهد داشتند ( $p < 0/05$ ). سطح تری گلیسرید در تیمارهای دوز بالای جعفری (T<sub>2</sub> و T<sub>3</sub>) حدود ۲۰ درصد کمتر از گروه های T<sub>1</sub> و شاهد بود ( $p < 0/05$ ). با این حال، فعالیت آنزیم LDH تغییرات معنی داری در مقایسه با گروه شاهد نداشت ( $p > 0/05$ ). فعالیت آنزیم های کبدی AST و ALP در تیمارهای T<sub>2</sub> و T<sub>3</sub> کمتر از گروه شاهد بود ( $p < 0/05$ )، علاوه بر این فعالیت آنزیم ALT و سطح کورتیزول سرم با افزایش میزان جعفری در جیره روند کاهشی نشان داد ( $p < 0/05$ ). این یافته ها نشان داد که استفاده از دوز ۱ درصد جعفری در جیره، ضمن بهبود وضعیت بیوشیمیایی و کاهش شاخص های استرس، می تواند به عنوان گزینه ای مقرون به صرفه و مؤثر در ارتقاء سلامت ماهی گورخری در شرایط استرس زای حمل و نقل مورد استفاده قرار گیرد.

**کلمات کلیدی:** پاسخ های استرس، شاخص های بیوشیمیایی، جعفری، گیاهان دارویی، ماهی گورخری

## مقدمه

ماهی گورخری (*Danio rerio*) یکی از مدل‌های مهم تحقیقاتی در زمینه‌های زیست‌شناسی مولکولی، ژنتیک و آبی‌پروری به‌شمار می‌آید و در عین حال یکی از گونه‌های پرطرفدار در میان ماهیان آکواریومی می‌باشد. ویژگی‌هایی نظیر رشد سریع، نیازمندی‌های کم در شرایط پرورشی، شفافیت بدن در مراحل لاروی، و شباهت‌های ژنتیکی با انسان، این گونه را به گزینه‌ای ارزشمند در مطالعات علمی تبدیل کرده‌است (Lawrence, 2007; Ulloa et al., 2014). با این حال، مانند سایر گونه‌های آبی، ماهی گورخری نیز در معرض انواع مختلف استرس‌های محیطی قرار دارد که می‌تواند کارایی مطالعات و کیفیت پرورش آن را تحت تأثیر قرار دهد.

یکی از استرس‌های رایج در آبی‌پروری، حمل و نقل ماهیان است. فرآیند جابجایی، به دلیل عواملی مانند نوسان دما، کمبود اکسیژن، افزایش ضایعات متابولیکی و تغییرات محیطی ناگهانی، می‌تواند منجر به افزایش سطح کورتیزول، اختلال در تعادل اسمزی و تغییرات بیوشیمیایی شدید گردد (Carmichael, 1984; Barton, 2002; Brick and Cech, 2002; Hoseini et al., 2022). در نتیجه، استرس حمل و نقل می‌تواند منجر به تضعیف سیستم ایمنی، کاهش رشد، افزایش حساسیت به بیماری‌ها و حتی مرگ و میر شود (Urbinati et al., 2004).

در سال‌های اخیر، توجه زیادی به استفاده از افزودنی‌های طبیعی به منظور کاهش اثرات استرس در آبی‌زیان معطوف شده است. گیاهان دارویی، به دلیل داشتن ترکیبات زیست‌فعال از جمله فلاونوئیدها، فنولیک‌ها و کاروتنوئیدها، قادر به بهبود وضعیت

سلامت، افزایش مقاومت در برابر استرس و تقویت پاسخ‌های ایمنی در آبی‌زیان هستند (Citarasu, 2010; Harikrishnan et al., 2011). جعفری (*Petroselinum crispum*) یکی از گیاهان دارویی پرمصرف است که سرشار از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی، ویتامین C، و ترکیبات ضدالتهابی می‌باشد (Nouioura et al., 2024). این ویژگی‌های ارزشمند، جعفری را به یک کاندیدای مناسب برای استفاده در جیره غذایی آبی‌زیان به منظور کاهش اثرات استرس تبدیل کرده‌است.

مطالعات پیشین عمدتاً به بررسی تأثیر گیاهان دارویی نظیر گزنه (*Urtica dioica*)، موسیر (*Allium hirtifolium*)، گل ختمی (*Alcea rosea*)، سیر (*Allium sativum*)، آویشن (*Thymus vulgaris*) و زنجبیل (*Zingiber officinale*) بر شاخص‌های استرس در ماهی‌ها پرداخته‌اند (Harikrishnan et al., 2011; Farag et al., 2021; Ghafarifarsani et al., 2022; Safari et al., 2025). تاکنون و براساس دانش موجود، مطالعه‌ای درباره‌ی تأثیر پودر جعفری بر پاسخ‌های فیزیولوژیک ماهی گورخری در مواجهه با استرس حمل و نقل گزارش نشده است. با توجه به اهمیت کاهش تلفات و بهبود سلامت ماهیان در دوره‌های حساس جابجایی، ارزیابی کارایی گیاهان دارویی در این زمینه ضروری به نظر رسید.

براین اساس، هدف از مطالعه حاضر بررسی تأثیر سطوح مختلف پودر جعفری بر شاخص‌های بیوشیمیایی مرتبط با استرس حمل و نقل در ماهی گورخری بود. انتظار می‌رود نتایج این تحقیق بتواند شواهد علمی لازم جهت استفاده از پودر جعفری به عنوان افزودنی طبیعی

پس از دو هفته سازگاری در ۱۲ آکواریوم شیشه‌ای ۴۰ لیتری تقسیم شدند. ماهی‌ها در قالب یک طرح کاملاً تصادفی به ۴ گروه (شامل ۳ گروه تیمار و یک گروه شاهد) با ۳ تکرار برای هر گروه تقسیم شدند، به طوری که هر تکرار حاوی ۲۵ عدد ماهی بود. تیمارهای آزمایشی با جیره پایه همراه با سطوح ۰/۵، ۱ و ۲ درصد از پودر جعفری (به ترتیب T<sub>1</sub>، T<sub>2</sub> و T<sub>3</sub>) و جیره شاهد (C) تغذیه شدند. غذادهی با جیره‌های آزمایشی به میزان ۳ درصد وزن بدن و در دو نوبت روزانه (ساعت ۸ صبح و ۳ بعدازظهر) به مدت ۸ هفته انجام شد. شرایط محیطی شامل دمای آب (۲۶ ± ۲) درجه سانتی‌گراد، pH (۷/۸ ± ۰/۱)، آمونیاک (۰/۰۸۰ ± ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر) و دوره نوری (۱۲ ساعت روشنایی/۱۲ ساعت تاریکی) به صورت روزانه پایش و تنظیم شد. سیستم هوادهی مستمر برای حفظ کیفیت آب استفاده گردید. پیش از هر وعده غذادهی، باقی‌مانده غذا و فضولات جمع‌آوری گردید تا از تجمع آلاینده‌ها جلوگیری شود.

### اعمال استرس حمل و نقل

۲۴ ساعت قبل از حمل و نقل غذادهی ماهیان قطع شد. پس از پایان دوره ۸ هفته‌ای تغذیه آزمایشی، جهت ارزیابی مقاومت ماهی‌ها در برابر استرس حمل و نقل، از هر تکرار ۲۰ عدد ماهی به صورت تصادفی انتخاب و در ۱۲ کیسه پلاستیکی حاوی ۲/۵ لیتر آب تصفیه‌شده از همان محیط نگهداری و ۵ لیتر اکسیژن خالص قرار داده شدند (Iri et al., 2023). کیسه‌ها به دقت بسته‌بندی شده و در دمای محیط پرورش، نگهداری شدند. مدت زمان حمل و نقل ۲ ساعت در نظر گرفته شد (Sampaio and Freire, 2016).

در مدیریت استرس آبزیان را فراهم نماید و راهکارهای نوینی برای بهبود کیفیت حمل و نقل ماهیان ارائه دهد.

### مواد و روش‌ها

#### آماده سازی جیره

گیاه جعفری از عطاری شهر گرگان تهیه شد. سپس در آزمایشگاه، در آون با دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد خشک و با استفاده از آسیاب به صورت پودر درآمد. برای دستیابی به مقادیر مورد نظر، ابتدا پودر جعفری خشک‌شده از الک ۳۰ میکرون عبور داده شد. این فرآیند با هدف جداسازی و یکنواخت‌سازی ذرات پودر و حصول اطمینان از اندازه ذرات  $\geq 30$  میکرون انجام شد. سپس، سطوح مورد نظر (۰/۵، ۱ و ۲ درصد) که براساس مطالعات پیشین انتخاب شدند (Hajirezaee et al., 2024)، با جیره پایه (بیومار موجود در بازار؛ حاوی ۵۲/۴۵ درصد پروتئین، ۱۸/۴۴ درصد چربی و ۴۶۷۱/۳۲ کیلوکالری انرژی خام در هر کیلوگرم) با قطر ۰/۵ میلی‌لیتر به صورت همگن مخلوط شدند. جهت افزایش چسبندگی ذرات و جلوگیری از جداشدن پودر جعفری در آب، محلول ۳٪ ژلاتین غذایی به صورت یکنواخت روی مخلوط اسپری شد. مخلوط نهایی به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق خشک شد، سپس در بسته‌بندی‌های مقاوم به نور و رطوبت قرار داده شد و تا زمان استفاده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. گروه شاهد تنها شامل جیره تجاری بیومار همراه با اسپری ژلاتین (بدون پودر جعفری) بود.

#### طراحی آزمایش

تعداد ۳۰۰ عدد ماهی گورخری با میانگین وزن ۰/۰۳ ± ۰/۱۵ گرم خریداری و به سالن آبی‌پروری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان منتقل و

## شاخص‌های بیوشیمیایی و آنزیمی

### تهیه عصاره کل بدن

به منظور سنجش پارامترهای بیوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی سرم، با توجه به اندازه بسیار کوچک ماهیان و محدودیت در نمونه‌گیری مستقیم از خون، عصاره‌ای از کل بدن آن‌ها مطابق روش Safari و همکاران (۲۰۱۶) تهیه گردید. برای این منظور، پس از قرار گرفتن ماهیان در معرض استرس ناشی از حمل و نقل، از هر تکرار ۳ عدد ماهی انتخاب و با بالاترین دوز عصاره پودر گل میخک بی‌هوش و کشته شدند. سپس هر ماهی در حاوی نیتروژن مایع کاملاً پودر و همگن شد. در ادامه، به میزان دو برابر وزن بافت‌ها، بافر نمکی فسفات‌افزوده و نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۴۰۰۰ rpm سانتریفیوژ شدند. پس از سانتریفیوژ، سوپرناتانت جمع‌آوری شده برای انجام آزمایش‌ها در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

### اندازه‌گیری شاخص‌های بیوشیمیایی

مقادیر گلوکز، کلتترول، تری‌گلیسرید و لاکتات دهیدروژناز در سرم ماهی با استفاده از روش کالریمتریک و بر اساس دستورالعمل کیت تجاری پارس آزمون (کرج، ایران) اندازه‌گیری شد. خوانش جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۵۴۶ نانومتر و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد با اسپکتروفوتومتر مدل UV-2150 (Unico, New Jersey, USA) انجام گرفت (McGowan *et al.*, 1983).

### اندازه‌گیری آنزیم‌های کبدی

سنجش سطح آنزیم آسپارات آمینوترانسفراز (AST) با به‌کارگیری کیت تولیدی شرکت درمان

فراز کاو (تهران، ایران) و دستگاه اتوآنالایزر (Prestige 24i, Boeki, Japan) انجام شد. این اندازه‌گیری بر پایه روش آنزیمی IFCC و مطابق با دستورالعمل استاندارد صورت گرفت. نتایج بر حسب واحد بین‌المللی (IU) در طول موج ۳۴۰ نانومتر گزارش شد. در این روش، واکنش بین ال-آسپاراتات و ۲-اگزالوگلو تارات تحت کاتالیز آنزیم AST انجام می‌شود. محصول این واکنش، ال-مالات و اگزالوگلو تارات است. از آنجا که NADH در این فرآیند جذب نوری دارد و میزان آن با تولید اگزالوگلو تارات ارتباط مستقیم نشان می‌دهد، امکان سنجش کمی فعالیت آنزیم AST فراهم می‌شود (Reitman and Frankel, 1957).

بر اساس پروتکل IFCC، فعالیت آنزیم آلانین آمینوترانسفراز (ALT) با استفاده از کیت درمان فراز کاو (تهران، ایران) و دستگاه اتوآنالایزر (Prestige 24i, Boeki, Japan) اندازه‌گیری شد. مکانیسم آزمایش مبتنی بر کاتالیز واکنش ال-آلانین و ۲-اگزالوگلو تارات توسط ALT بود که محصولات آن (پیرووات و ال-لاکتات) موجب مصرف NADH می‌شد. با سنجش کاهش جذب نوری در ۳۴۰ نانومتر (ناشی از اکسیداسیون NADH) که مستقیماً با غلظت پیرووات مرتبط است، فعالیت آنزیم به صورت کمی در واحد IU محاسبه گردید (Reitman and Frankel, 1957).

اندازه‌گیری فعالیت آلکالین فسفاتاز (ALP) به روش فتومتریک (DGKC) با کیت دلتا درمان (تهران، ایران) انجام شد. پس از مخلوط کردن معرف‌های ۱ (دی‌اتانول آمین/کلریسد منیزیم) و ۲ (پی-نیتروفنیل فسفات) با نسبت ۴:۱، ۲۰ میکرولیتر نمونه با ۱۰۰۰ میکرولیتر مخلوط معرف انکوبه شد. جذب نوری

دستگاه الیزا ریدر (Sirio S, Seac RADIM, Italy) در طول موج ۴۵۰ نانومتر قرائت شد و به کمک منحنی استاندارد، مقدار هورمون در نمونه سرم تعیین گردید (Tintos *et al.*, 2006). واریانس اینتراسی و اینتراسی برای کورتیزول به ترتیب ۶/۱ و ۹/۷ درصد بود.

### تجزیه و تحلیل داده‌ها

در ابتدا نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون Shapiro-Wilk ارزیابی شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها از طریق آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA one way) در سطح اطمینان ۹۵ درصد بررسی و مقایسه بین میانگین‌ها با آزمون توکی انجام شد. نتایج به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار (Mean  $\pm$  SD) نمایش داده شد. آنالیز داده‌ها و رسم نمودار با استفاده از نرم افزار GraphPad Prism نسخه ۸ انجام شد.

### نتایج

#### شاخص‌های بیوشیمیایی

براساس نتایج، سطح گلوکز سرم در گروه شاهد به‌طور معنی‌داری بالاتر از تیمارهای تغذیه‌شده با جعفری بود ( $p < 0/05$ ). مشابه روند فوق در سطوح کلسترول به دست آمد ( $p < 0/05$ ). سطح تری‌گلیسرید در تیمارهای  $T_2$  و  $T_3$  کاهش معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد و  $T_1$  نشان داد ( $p < 0/05$ ). فعالیت آنزیم لاکتات دهیدروژناز (LDH) نیز در تیمارهای حاوی جعفری تفاوت معنی‌داری با گروه شاهد نداشت ( $p > 0/05$ ).

در ۴۰۵ نانومتر پس از ۱ دقیقه قرائت و تغییرات آن در فواصل ۱، ۲ و ۳ دقیقه ثبت گردید. میانگین تغییرات جذب در ۳ دقیقه محاسبه و با ضرب در ضریب ۲۷۵۷ به نتیجه نهایی تبدیل شد. کنترل‌های TruLab P و TruLab N (پارس آزمون) برای اعتبارسنجی استفاده شدند (Fischbach and Zawta, 1992).

#### اندازه‌گیری فعالیت هورمون کورتیزول

کورتیزول با واحد ng/mL و با استفاده از کیت تشخیص آزمایشگاهی Monobind (Lake Forest, USA) با روش ایمنی سنجی آنزیمی اندازه‌گیری شد. برای انجام آزمایش ابتدا به تعداد نمونه‌ها، چاهک‌هایی حاوی آنتی‌بادی انتخاب شدند. در هر چاهک ۲۵ میکرولیتر از محلول‌های استاندارد، سرم کنترل و نمونه اضافه گردید. سپس ۵۰ میکرولیتر از آنزیم کونژوگه به هر چاهک اضافه و برای ۲۰ ثانیه تکان داده شد تا محتویات چاهک‌ها خوب مخلوط شوند. سپس ۵۰ میکرولیتر بیوتین کورتیزول به چاهک‌ها اضافه و و برای ۲۰ ثانیه تکان داده شد. درب چاهک‌ها با برچسب مخصوص پوشانده و به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۲۶ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. محتویات چاهک تخلیه و ۳ نوبت با ۳۵۰ میکرولیتر محلول شستشو، شسته شدند. ۱۰۰ میکرولیتر محلول سوبسترا به هر چاهک اضافه گردید و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۲۶ درجه سانتی-گراد انکوبه شدند. در نهایت با اضافه کردن ۵۰ میکرولیتر محلول متوقف‌کننده به هر چاهک واکنش آنزیمی متوقف شد. برای سنجش جذب نوری از

جدول ۱: شاخص‌های بیوشیمیایی سرم بدن ماهی گورخری تغذیه شده با سطوح مختلف جعفری  
Table 1: Serum biochemical indices of zebrafish fed with different levels of parsley

Indices	C	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>
Glucose (mg/dl)	37.78 ± 0.18 <sup>a</sup>	29.83 ± 0.35 <sup>b</sup>	28.49 ± 0.52 <sup>b</sup>	29.46 ± 1.56 <sup>b</sup>
Cholesterol (mg/dl)	112.50 ± 5.89 <sup>a</sup>	80.00 ± 1.77 <sup>b</sup>	81.25 ± 2.95 <sup>b</sup>	76.46 ± 2.06 <sup>b</sup>
Triglyceride (mg/dl)	154.88 ± 1.72 <sup>a</sup>	148.78 ± 3.45 <sup>a</sup>	129.27 ± 3.45 <sup>b</sup>	123.17 ± 1.72 <sup>b</sup>
Lactate dehydrogenase (U/L)	328.57 ± 10.10	375.00 ± 25.25	344.64 ± 17.68	362.50 ± 2.53

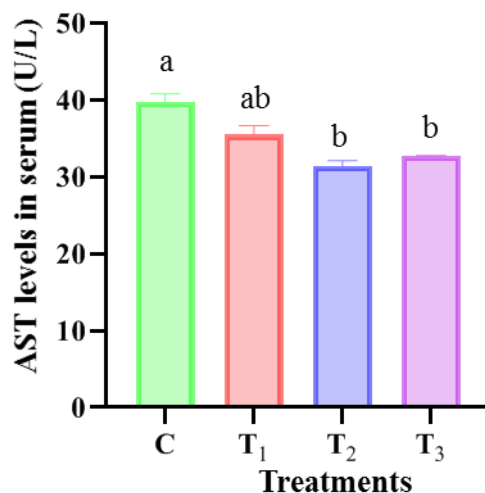
حروف لاتین کوچک غیر مشترک در هر سطر نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار است ( $p < 0.05$ ).

Different lowercase letters in each row indicate significant differences ( $p < 0.05$ ).

آمینوترانسفراز روند کاهشی با افزایش دوز نسبت به تیمار شاهد نشان داد (شکل ۲،  $p < 0.05$ ). مشابه روند فعالیت آنزیم AST در فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز به دست آمد (شکل ۳،  $p < 0.05$ ).

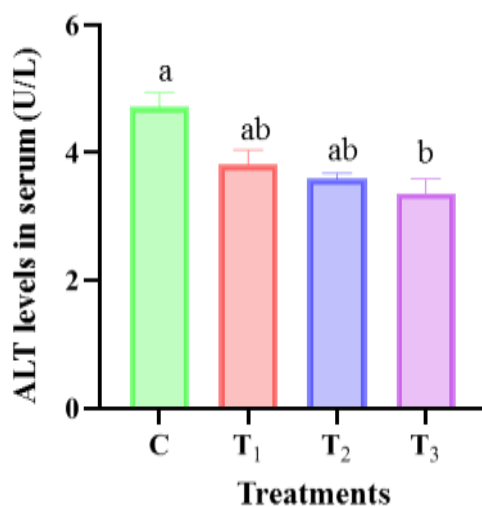
### فعالیت آنزیم‌های کبدی

براساس نتایج آمده فعالیت آنزیم آسپاراتات آمینوترانسفراز در سرم ماهیان تغذیه شده با ۱ و ۲ درصد جعفری به‌طور معنی‌داری پایین‌تر از گروه‌های دیگر بود (شکل ۱،  $p < 0.05$ ). مقادیر آنزیم آلانین

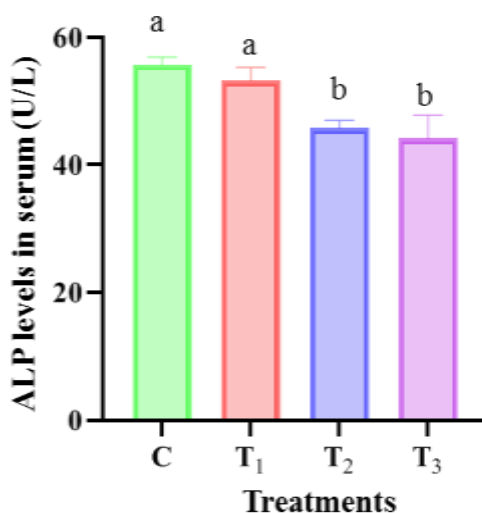


شکل ۱: سطوح آنزیم آسپاراتات آمینوترانسفراز در سرم ماهی گورخری تغذیه شده با سطوح مختلف جعفری

Figure 1: Aspartate aminotransferase (AST) enzyme levels in serum of zebrafish fed different levels of parsley



شکل ۲: سطوح آنزیم آلانین آمینوترانسفراز در سرم ماهی گورخری تغذیه شده با سطوح مختلف جعفری  
 Figure 2: Alanine aminotransferase (ALT) enzyme levels in serum of zebrafish fed different levels of parsley

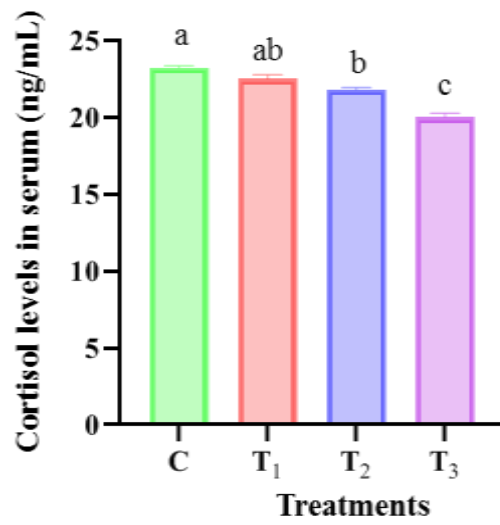


شکل ۳: سطوح آنزیم آلکالین فسفاتاز در سرم ماهی گورخری تغذیه شده با سطوح مختلف جعفری  
 Figure 3: Alkaline phosphatase (ALP) enzyme levels in serum of zebrafish fed different levels of parsley

پایین‌ترین میزان آن در گروه تغذیه شده با ۲ درصد جعفری مشاهده گردید (شکل ۴،  $p > 0.05$ ).

### غلظت هورمون کورتیزول در سرم

مقادیر هورمون کورتیزول در سرم با افزایش مقادیر جعفری در جیره رابطه معکوس نشان داد؛ به نحوی که بالاترین میزان آن در گروه شاهد و



شکل ۴: سطوح هورمون کورتیزول در سرم ماهی گورخری تغذیه شده با سطوح مختلف جعفری  
Figure 4: Serum cortisol levels of zebrafish fed different levels of parsley

## بحث

مه‌ار آن می‌تواند منجر به کاهش سطح کلسترول شود (Reihner et al., 1990; Schumacher and Binaii, 2021). (DeBose-Boyd, 2021) و همکاران (۲۰۱۴) تأثیر جیره غذایی حاوی پودر برگ و ساقه گزنه (U. dioica) را بر شاخص‌های بیوشیمیایی فیل ماهی (*Huso huso*) جوان پرورشی بررسی کردند. نتایج نشان دهنده کاهش کلسترول در ماهیان تغذیه شده با گزنه بود.

سطح تری‌گلیسرید سرم نیز در ماهیان تیمار شده با سطوح ۱ و ۲ درصد جعفری به‌طور معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد ۰/۵ درصد کاهش یافت. این یافته نشان می‌دهد که دوزهای بالاتر جعفری توانسته‌اند از طریق افزایش  $\beta$ -اکسیداسیون اسیدهای چرب، مه‌ار جذب چربی در روده و بهبود متابولیسم لیپیدها، سطح تری‌گلیسرید را کنترل کنند. علاوه بر این، جعفری سرشار از آنتی‌اکسیدان‌هایی است که می‌توانند از پراکسیداسیون لیپیدها جلوگیری کرده و عملکرد کبد را در تنظیم متابولیسم چربی بهبود دهند (Punoševac et al., 2021). مطالعه روی ماهی سیم دریایی قرمز (*Pagrus major*) نشان داد که افزودن گیاهان دارویی مانند *Artemisia capillaries* و *Cnidium officinale* متابولیسم لیپیدها را بهبود بخشید و منجر به کاهش تجمع تری‌گلیسریدها در ماهی سیم دریایی قرمز گردید (Ji et al., 2009). نتایج Binaii و همکاران (۲۰۱۴) نیز همسو با مطالعه حاضر بود.

فعالیت LDH در تیمارهای تغذیه شده با جعفری تفاوت معنی‌داری با گروه شاهد نداشت. این نتایج می‌تواند نشان دهنده این باشد که مصرف جیره جعفری تأثیر خاصی بر فعالیت این آنزیم نداشته و ممکن است

نتایج حاصل از بررسی شاخص‌های بیوشیمیایی سرم نشان داد که افزودن سطوح مختلف جعفری به جیره غذایی ماهی گورخری تأثیر قابل‌توجهی بر برخی از این پارامترها داشت. در این مطالعه، سطح گلوکز سرم در گروه شاهد به‌طور معنی‌داری بالاتر از تیمارهای تغذیه شده با جعفری بود، که نشان‌دهنده کاهش استرس متابولیکی در اثر استفاده از جعفری است. ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی موجود در جعفری خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضد استرسی دارند که می‌توانند با کاهش ترشح هورمون‌های استرس مانند اپی‌نفرین و کورتیزول، موجب کاهش گلوکز خون شوند (Farzaei et al., 2013). یافته‌های حاضر با نتایج تحقیقات Shohreh و همکاران (۲۰۲۵) و Yuan و همکاران (۲۰۲۱) همسویی قابل‌توجهی دارد که نشان داده‌اند استفاده از عصاره‌های گیاهی با خاصیت آنتی‌اکسیدانی در جیره غذایی ماهیان می‌تواند از طریق تعدیل فعالیت محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-بین‌کلیوی (HPI)، از افزایش سطح گلوکز خون ناشی از شرایط استرس‌زا جلوگیری کند.

یافته‌های این پژوهش نشان داد که استفاده از جعفری در جیره غذایی ماهی گورخری موجب کاهش معنی‌دار سطح کلسترول سرم نسبت به گروه شاهد شد. این اثر احتمالاً به دلیل وجود ترکیبات زیست‌فعالیت نظیر فیتواسترول‌ها، فلاونوئیدها (مانند آپیزترین و لوتنولین) و ویتامین‌های آنتی‌اکسیدان موجود در جعفری است که توان مه‌ار آنزیم هیدروکسی-۳-متیل گلو تاریل کوآنزیم آردوکتاز را دارند. این آنزیم نقش کلیدی در سنتز کلسترول در کبد ایفا می‌کند، بنابراین

این تأثیر احتمالاً ناشی از خواص آنتی‌اکسیدانی، مهار پراکسیداسیون لیپیدها و کاهش استرس اکسیداتیو است. یافته‌ها حاکی از پتانسیل درمانی ترکیبات گیاهی در بهبود عملکرد کبد آبزیان می‌باشد (Ghafariarsani *et al.*, 2022; Safari *et al.*, 2025).

کاهش معنی‌دار غلظت کورتیزول در تیمارهای حاوی پودر جعفری، به‌ویژه در سطح ۲ درصد، نشان‌دهنده نقش این گیاه در تعدیل پاسخ استرسی در ماهی گورخری پس از حمل و نقل است. کورتیزول، به‌عنوان هورمون اصلی استرس در ماهیان، در پاسخ به تنش‌های محیطی ترشح می‌شود و سطوح بالای آن می‌تواند منجر به بروز اختلالات متابولیکی و تضعیف سیستم ایمنی گردد (Mommsen *et al.*, 1999). نتایج این پژوهش با یافته‌های مطالعات پیشین در خصوص اثر ضد استرسی گیاهان دارویی همسو است (Meissner *et al.*, 2006; Hassaan *et al.*, 2019; Ghafariarsani *et al.*, 2022). جعفری حاوی ترکیبات فعالی همچون فلاونوئیدها، آپیول و میریستیسین است که به خواص آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی و تعدیل‌کننده‌ی محور HPI (هیپوتالاموس-هیپوفیز-اینترنال) شهرت دارند (Punoševac *et al.*, 2021). بنابراین، به‌نظر می‌رسد کاهش سطوح کورتیزول در تیمارهای دریافت‌کننده جعفری ناشی از توان این گیاه در کاهش تولید رادیکال‌های آزاد و مهار استرس اکسیداتیو باشد.

### نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که افزودن سطوح مختلف گیاه جعفری به جیره غذایی ماهی گورخری طی یک دوره ۸ هفته، توانست به‌طور مؤثری پاسخ فیزیولوژیک

عوامل دیگری در تنظیم سطح این آنزیم دخیل باشند. با این حال، فعالیت این آنزیم در دوزهای بالاتر جعفری و در طولانی‌مدت نیاز به بررسی بیشتر دارد.

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که استفاده از پودر جعفری در جیره غذایی ماهی گورخری منجر به کاهش معنی‌دار در فعالیت آنزیم‌های کبدی AST، ALT و ALP شد. کاهش این آنزیم‌ها به‌ویژه در تیمارهای حاوی ۱ و ۲ درصد جعفری بارزتر بود که می‌تواند بیانگر تأثیر مثبت این گیاه در کاهش آسیب‌های کبدی ناشی از استرس حمل و نقل باشد. این آنزیم‌ها به‌طور طبیعی در داخل سلول‌های کبدی یافت می‌شوند، اما هنگامی که سلول‌ها دچار آسیب یا مرگ می‌شوند، به جریان خون آزاد می‌گردند. بنابراین، بالا رفتن میزان این آنزیم‌ها در خون می‌تواند نشان‌دهنده استرس اکسیداتیو، التهاب یا آسیب به بافت کبد باشد (Abdel-Tawwab *et al.*, 2024). به‌نظر می‌رسد ترکیبات زیست‌فعال موجود در جعفری مانند فلاونوئیدها، آپیول و میریستیسین و ویتامین‌های آنتی‌اکسیدانی با خاصیت ضدالتهابی و خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد، در حفظ یکپارچگی غشای سلولی و جلوگیری از انتشار آنزیم‌های کبدی به جریان خون نقش داشته باشند (Punoševac *et al.*, 2021). این نتایج با مطالعات پیشین در سایر گونه‌های آبزی نیز هم‌راستا است که نشان‌دهنده اثر محافظتی گیاهان دارویی در برابر استرس‌های محیطی می‌باشند. تحقیقات نشان می‌دهند که عصاره‌های گیاهی مانند موسیر (*A. hirtifolium*) و گل‌ختمی (*A. rosea*) به ترتیب با کاهش سطح آنزیم‌های کبدی در ماهی‌های قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) و ماهی گورخری (*D. rerio*)، اثرات محافظتی بر کبد دارند.

- juvenile beluga (*Huso huso*) following the diet supplemented with nettle (*Urtica dioica*). *Fish and Shellfish Immunology*, 36(1), pp.46–51. DOI:10.1016/j.fsi.2013.10.001
4. Brick, M.E. and Cech Jr, J.J., 2002. Metabolic responses of juvenile striped bass to exercise and handling stress with various recovery environments. *Transactions of the American Fisheries Society*, 131(5), pp.855–864. DOI:10.1577/1548-8659(2002)131
  5. Carmichael, G.J., 1984. Long distance truck transport of intensively reared largemouth bass. *The Progressive Fish-Culturist*, 46(2), pp.111–115. DOI:10.1577/1548-8640(1984)46
  6. Citarasu, T., 2010. Herbal biomedicines: a new opportunity for aquaculture industry. *Aquaculture International*, 18(3), pp.403–414. DOI:10.1007/s10499-009-9253-7
  7. Farag, M.R., Alagawany, M., Taha, H.S., Ismail, T.A., Khalil, S.R. and Abou-Zeid, S.M., 2021. Immune response and susceptibility of Nile tilapia fish to *Aeromonas hydrophila* infection following the exposure to Bifenthrin and/or supplementation with *Petroselinum crispum* essential oil. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 216, 112205. DOI:10.1016/j.ecoenv.2021.112205
  8. Farzaei, M.H., Abbasabadi, Z., Ardekani, M.R.S., Rahimi, R. and Farzaei, F., 2013. Parsley: a review of ethnopharmacology, phytochemistry and biological activities. *Journal of Traditional Chinese Medicine*, 33(6), pp.815–826. DOI:10.1016/S0254-6272(14)60018-2
  9. Fischbach, F. and Zawta, B., 1992. Age-dependent reference limits of several enzymes in plasma at different measuring temperatures. *Klin Lab*, pp.555–561.
  10. Ghafarifarsani, H., Yousefi, M., Hoseinifar, S.H., Paolucci, M., Lumsangkul, C., Jaturasitha, S., Van Doan, H., 2022. Beneficial effects of Persian shallot (*Allium hirtifolium*)

ماهی‌ها به استرس حمل‌ونقل را بهبود بخشید. تجزیه و تحلیل پارامترهای بیوشیمیایی نشان دهنده کاهش معنی‌دار در سطوح گلوکز، تری‌گلیسرید، کلسترول، کورتیزول و آنزیم‌های کبدی در برخی تیمارهای تغذیه شده با جعفری در مقایسه با گروه کنترل بود. این بهبودها احتمالاً ناشی از ترکیبات زیست‌فعال جعفری است که از طریق مکانیسم‌های مختلفی از جمله تعدیل محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-آدرنال، افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی و بهبود متابولیسم لیپیدها در کبد عمل می‌کنند. این یافته‌ها نشان داد که دوز ۱ درصد جعفری می‌تواند به عنوان بهترین غلظت برای کاهش اثرات منفی استرس‌های حمل‌ونقل مورد استفاده قرار گیرد.

### سپاسگزاری

از تمامی افرادی که در تدوین این پژوهش، ما را یاری کردند، کمال تشکر و قدردانی می‌شود.

### منابع

1. Abdel-Tawwab, M., Hamed, H.S., Monier, M.N. and Amen, R.M., 2024. The ameliorative effects of dietary rosemary (*Rosmarinus officinalis*) against growth retardation, oxidative stress, and immunosuppression induced by waterborne lead toxicity in Nile tilapia fingerlings. *Annals of Animal Science*, 24(1), pp.139–149. DOI:10.2478/aoas-2023-0057
2. Barton, B.A., 2002. Stress in fishes: a diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids. *Integrative and Comparative Biology*, 42(3), pp.517–525. DOI:10.1093/icb/42.3.517
3. Binaii, M., Ghiasi, M., Farabi, S.M.V., Pourgholam, R., Fazli, H., Safari, R., Alavi, S.E., Taghavi, M.J. and Bankehsaz, Z., 2014. Biochemical and hemato-immunological parameters in

16. Ji, S.C., Takaoka, O., Lee, S.W., Hwang, J.H., Kim, Y.S., Ishimaru, K., Seoka, M., Jeong, G.S. and Takii, K., 2009. Effect of dietary medicinal herbs on lipid metabolism and stress recovery in red sea bream *Pagrus major*. *Fisheries Science*, 75, pp.665–672. DOI:10.1007/s12562-009-0080-5
17. Lawrence, C., 2007. The husbandry of zebrafish (*Danio rerio*): A review. *Aquaculture*, 269(1–4), pp.1–20. DOI:10.1016/j.aquaculture.2007.04.077
18. McGowan, M.W., Artiss, J.D., Strandbergh, D.R. and Zak, B., 1983. A peroxidase-coupled method for the colorimetric determination of serum triglycerides. *Clinical Chemistry*, 29, pp.538–542. DOI:10.1093/clinchem/29.3.538
19. Meissner, H.O., Reich-Bilinska, H., Mscisz, A. and Kedzia, B., 2006. Therapeutic effects of pre-gelatinized *Lepidium peruvianum* Chacon (Maca). *International Journal of Biomedical Science*, 2(3), pp.260–284.
20. Mommsen, T.P., Vijayan, M. M. and Moon, T.W., 1999. Cortisol in teleosts: dynamics, mechanisms of action, and metabolic regulation. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 9(3), pp.211–268.
21. Nouioura, G., El Hachlafi, N., Abuelizz, H.A., Elidrissi, A.E., Ferioun, M., Soulo, N., Er-rahmani, S., Lyoussi, B. and Derwich, E., 2024. *Petroselinum crispum* L., essential oil: bioactive compounds, antioxidant and antimicrobial activities. *Heliyon*, 10(8). DOI:10.1016/j.heliyon.2024.e29507
22. Punoševac, M., Radović, J., Leković, A. and Kundaković-Vasović, T., 2021. A review of botanical characteristics, chemical composition, pharmacological activity and use of parsley. *Archives of Pharmacy*, 71(3), pp.177–196. DOI:10.5937/arhfarm71-32222
23. Reihner, E., Rudling, M., Ståhlberg, D., Berglund, L., Ewerth, S., Björkhem, I., Einarsson, K. and Angelin, B.O., 1990. Influence of pravastatin on hepatic metabolism of cholesterol. *New extract on growth performance, biochemical, immunological and antioxidant responses of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* fingerlings. *Aquaculture*, 555, 738162. DOI:10.1016/j.aquaculture.2022.738162*
11. Hajirezaee, S., Sharifi, S., Momeninejad, A., Ahani, S., Anzabi, M.P. and Taheri, S., 2024. Ameliorating effects of dietary parsley (*Petroselinum crispum*) on ammonia toxicity in the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*: growth, digestive enzymes, immunity, and stress resistance. *Annals of Animal Science*, 24(2), 563–574. DOI:10.2478/aoas-2024-0007
12. Harikrishnan, R., Balasundaram, C., Heo, and M.S., 2011. Herbal supplementation diets on hematology and innate immunity in goldfish against *Aeromonas hydrophila*. *Fish and Shellfish Immunology*, 30(3), pp.720–726. DOI: 10.1016/j.fsi.2009.11.013
13. Hassaan, M.S., Nagar, A.G.E., Salim, H.S., Fitzsimmons, K. and El-Haroun, E.R., 2019. Nutritional mitigation of winter thermal stress in Nile tilapia by propolis-extract. *Aquaculture*, 511, 734256. DOI:10.1016/j.aquaculture.2019.734256
14. Hoseini, M., Majidiyan, N., Taheri Mirghaed, A., Hoseinifar, S.H. and Van Doan, H., 2022. Dietary glycine supplementation alleviates transportation-induced stress in common carp, *Cyprinus carpio*, *Aquaculture*, 551, 737959. DOI:10.1016/j.aquaculture.2022.737959
15. Iri, B., Imanpour, M.R., Hoseinifar, S.H., Safari, R. and Rohani, E., 2023. Reducing stress during transportation of sea carp fry (*Cyprinus carpio*) using different levels of sodium chloride salt. *Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics*, 13(2), pp.195–204. DOI: 10.22069/japu.2024.21383.1783 [In Persian]

- DOI:10.1111/j.1095-8649.2005.00902.x
31. Ulloa, P.E., Medrano, J.F., Feijoo, and C.G., 2014. Zebrafish as animal model for aquaculture nutrition research. *Frontiers in Genetics*, 5, 313. DOI:10.3389/fgene.2014.00313
32. Urbinati, E.C., Abreu, J.S.D., Camargo, A.C.B. and Landines, M.A., 2004. Loading and transport stress of juvenile matrinxã. *Aquaculture*, 229(1-4), pp.389-400. DOI: 10.1016/S0044-8486(03)00350-8
33. Yuan, X.C., Chen, F., Yue, D.D., Xie, S.Q., Huang, S.J., Jin, S.Z., Chen, H.T. and Yang, Y.O., 2021. Tea polyphenols as feed additive in grass carp. *Aquaculture Nutrition*, 27, pp.2712-2725. DOI:10.1111/anu.13382
- England Journal of Medicine*, 323(4), pp.224-228. DOI:10.1056/NEJM199007263230404
24. Reitman, S. and Frankel, A.S., 1957. A colorimetric method for the determination of serum glutamic-oxaloacetic and glutamic-pyruvic transaminases. *American Journal of Clinical Pathology*, 28, pp.56-63. DOI:10.1093/ajcp/28.1.56
25. Safari, R., Moghadamfar, S., Imanpour, M. R., Shabani, A. and Jafar Nodeh, A., 2016. Antioxidant and immune gene expression in zebra fish (*Danio rerio*). *Journal of Aquatic Ecology*, 6(1), 93-101. DOI: 20.1001.1.23222751.1395.6.1.10.8
26. Safari, R., Hoseinifar, S.H., Raeisi, M., Vakili, F., Paolucci, M., Yazici, M., Van Doan, H., Azadi, H., Hoseini, M., Abdolmanafi, M. and Ghafarifarsani, H., 2025. Unveiling the role of *Alcea rosea* in zebrafish. *Veterinary Research Communications*, 49, pp.105. DOI: 10.1007/s11259-024-10377-8
27. Sampaio, F.D., Freire, C.A. and 2016. An overview of stress physiology of fish transport: changes in water quality as a function of transport duration. *Fish and Fisheries*, 17(4), 1055-1072. DOI:10.1111/faf.12158
28. Schumacher, M.M. and DeBose-Boyd, R.A., 2021. Posttranslational regulation of HMG CoA reductase. *Annual Review of Biochemistry*, 90(1), pp.659-679. DOI:10.1146/annurev-biochem-081820-101010
29. Shohreh, P., Mohammadzadeh, S., Mahboub, H.H., Ebrahimi, P., Gavzan, H., Ahmadifar, M., Moghadam, M.S., El-Haroun, E., Hoseinifar, S.H., Guerreiro, I. and Paolucci, M., 2025. The role of artichoke extract in Nile tilapia. *Aquaculture International*, 33, pp.115. DOI:10.1007/s10499-024-01476-2
30. Tintos, A., Miguez, J., Mancera, J. and Soengas, J., 2006. Development of a microtiter plate indirect ELISA for measuring cortisol. *Journal of Fish Biology*, 68, pp.251-263.