

تأثیر استفاده از سطوح مختلف نانوامولسیون اسانس گیاهان دارویی (آویشن، پونه کوهی و سیر) بر عملکرد رشد، آنزیم‌های گوارشی و متابولیسم چربی در لارو ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)زهرا کوهستانی<sup>۱</sup>، حجت‌ا... جعفریان<sup>۲\*</sup>، حسین آدینه<sup>۳</sup> و ضیاء کردجزی<sup>۴</sup>

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس

۲- استاد گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس

۳- دانشیار گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس

۴- استادیار گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس

<b>چکیده</b>	<b>نوع مقاله:</b>
<p>گیاهان دارویی بدلیل داشتن خاصیت آنتی‌اکسیدانی به عنوان مکمل محرک رشد معرفی می‌شوند. هدف از اجرای این پژوهش بررسی اثرات استفاده از سطوح مختلف نانوامولسیون اسانس گیاهان دارویی (آویشن، پونه کوهی و سیر) بر عملکرد رشد، آنزیم‌های گوارشی و متابولیسم چربی در لارو ماهی کپور معمولی (<i>Cyprinus carpio</i>) بود. تعداد ۳۶۰ قطعه لارو ماهی کپور معمولی (میانگین وزن اولیه <math>2/43 \pm 0/37</math> گرم) با تراکم ۳۰ قطعه در ۱۲ مخزن ذخیره‌سازی شد. آزمایش در ۴ تیمار (هر کدام با ۳ تکرار) با مخلوط نانوامولسیون اسانس سه گیاه دارویی (آویشن، پونه و سیر) با غلظت‌های ۰ (شاهد)، ۳/۵، ۷ و ۱۴ میکرولیتر در هر گرم غذا (بترتیب شاهد T0، T1، T2 و T3) به مدت ۸ هفته انجام شد. نتایج بدست آمده از این آزمایش نشان داد که بیشترین عملکرد وزن در تیمار با ۳/۵ میکرولیتر ترکیب نانوامولسیون اسانس گیاهان دارویی (T1) در مقایسه با تیمار شاهد (T0) بدست آمد. ضریب تبدیل غذایی در تیمارهای T1 و T0 کاهش معنی‌دار آماری داشت (<math>P &lt; 0/05</math>). سنجش آنزیم‌های گوارشی نشان داد که غلظت آنزیم‌های پروتئاز در تیمارهای T1 و T2 افزایش معنی‌دار داشت درحالی‌که کمترین آن در تیمارهای T0 و T3 بود (<math>P &lt; 0/05</math>). آنزیم لیپاز بین تیمارهای تغذیه‌ای با ترکیب گیاهان دارویی نانوامولسیون اختلاف آماری داشت بطوریکه بیشترین و کمترین آن بترتیب در تیمارهای T0 و T1 مشاهده شد. آنزیم آمیلاز در تیمار T1 افزایش و در تیمار T3 کاهش معنی‌دار داشت (<math>P &lt; 0/05</math>). آنالیز متابولیسم چربی خون نشان داد که بیشترین سطح کلسترل و تری‌گلیسرید در تیمار T0 و کمترین آن در تیمار T1 مشاهده شد. سطح HDL در تیمار T1 در مقایسه با دیگر تیمارهای آزمایشی افزایش معنی‌دار داشت (<math>P &lt; 0/05</math>). سطح LDL در تیمارهای T1 و T2 کاهش معنی‌دار آماری در مقایسه با دیگر تیمارها داشتند (<math>P &lt; 0/05</math>). بطور کلی نتایج نشان داد که ترکیب نانوامولسیون گیاهان دارویی (آویشن، پونه و سیر) بویژه تیمار T1 در مقایسه با تیمار T0 شاهد باعث بهبود عملکرد رشد، آنزیم‌های گوارشی و متابولیسم چربی شد.</p>	پژوهشی اصیل
	<b>تاریخچه مقاله</b>
	دریافت: ۱۴۰۴/۰۳/۱۸
	پذیرش: ۱۴۰۴/۰۴/۰۶
	<b>نویسنده مسئول مکاتبه:</b>
	<b>حجت‌ا... جعفریان</b> ، استاد گروه
	شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع
	طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس.
	ایمیل:
	hojat.jafaryan@gmail.com
	<b>کلمات کلیدی:</b> لارو ماهی کپور، گیاهان دارویی، نانوامولسیون، فاکتورهای بیوشیمیایی

**مقدمه**

میان کپور ماهیان چینی و بخصوص ماهی کپور معمولی نقشی بارزی را در این تولید دارا می‌باشد. بر اساس گزارش سازمان خواروبار جهانی (فائو) تولید جهانی این گونه ماهی معادل ۴۰۱۳ تن و برابر ۷/۸ درصد کل صنعت آبزی‌پروری و ۶/۸ درصد تولید آبزیان در آب‌های داخلی را در سال ۲۰۲۲ به خود اختصاص داده است (FAO, 2025). در

ماهی کپور معمولی یکی از گونه‌های اصلی پرورش در مناطق خشک و نیمه خشک ایران می‌باشد. بر اساس گزارش سازمان شیلات ایران، میزان تولید ماهیان گرمآبی در سال ۱۴۰۲ معادل ۲۵۹۹۹۴ تن بوده (Statistical Yearbook of Iranian Fisheries, 1402) که در این

تحقیقی بکارگیری مخلوط زنجبیل و سیر در تغذیه فیل ماهی جوان (*Huso huso*) تاثیر مثبتی را بر رشد و ارتقای سیستم ایمنی داشت (Gholipour Kanani et al., 2014). در تحقیقی اثرات مثبت بکارگیری عصاره سیر میکروانکپسوبه شده بر عملکرد رشد و ترکیبات بدن در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان گزارش شده است (Adineh et al., 2020). همچنین بکارگیری مجزا و مخلوط عصاره سیر و سرخارگل در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان منجر به بهبود پاسخ های دفاعی گردید (Meshkini and Ghiyasi, 2016). در تحقیقی تاثیر مثبت استفاده از اسانس سیر در جیره غذایی فیل ماهی (*Huso huso*) گزارش دادند (Tangestani et al., 2011)، علاوه بر این گزارش شده است که افزودن سطح ۱/۵ درصد پوست سیر در جیره ماهیان جوان خاویاری پرورشی می‌تواند منجر به بهبود وضعیت زیستی گردد (Chitsaz et al., 2017). در حالیکه استفاده از پودر خوراکی سیر تاثیری بر پارامترهای رشد در ماهی کپور معمولی نداشت (Payghan et al., 2014).

مصرف اسانس‌ها بطور کلی بدلیل محلولیت پایین در آب، فشار بخار بالا و ناپایداری فیزیکی و شیمیایی با دشواری‌هایی در کاربرد همراه است. علاوه بر این، اسانس‌ها در محصولات ایجاد بو و مزه می‌کنند که این امر مورد خوشایند مصرف‌کنندگان نمی‌باشد بنابراین امروزه تلاش می‌شود تا اثرات نامطلوب اسانس‌ها کاسته شود. یکی از روش‌های به حداقل رساندن این اثرات نامطلوب، استفاده از نانوامولسیون آنها است که سبب افزایش پایداری ترکیبات فرار، محافظت آنها در برابر اثرات متقابل یا سایر ترکیبات افزایش خواص ضد میکروبی از طریق افزایش جذب سلولی می‌شود (Donsi et al., 2010). نانو امولسیون اسانس‌ها از نظر خصوصیات ساختاری و فیزیکی با امولسیون تفاوت دارند. استفاده از کمک حلال‌ها در تهیه نانوذرات اسانس‌ها، منجر به تولید فرمولاسیونی با ویسکوزیته و پایداری مناسب می‌شود. علاوه بر این، کوچک بودن اندازه‌ی ذرات نیز برای افزایش پایداری و نیمه عمر ماده موثره و سهولت رسیدن به موضع اثر بسیار مورد توجه می‌باشد (Mason et al., 2006). از آنجائیکه بکارگیری اسانس‌های گیاهان دارویی بصورت نانوامولسیون نسبت به اشکال معمولی استفاده از اسانس‌ها، کارایی بیشتری دارد بنابراین در این مطالعه، از نانوامولسیون ترکیب سه گیاه دارویی (آویشن، پونه و سیر)

سال‌های اخیر استفاده از گیاهان دارویی به‌عنوان ترکیبات طبیعی با خاصیت آنتی‌اکسیدانی به‌منظور بهبود عملکرد رشد و تغذیه در صنعت آبزی‌پروری مورد توجه قرار گرفته است. گیاه دارویی آویشن (*Thymus vulgaris*)، یک گیاه معطر متعلق به خانواده Lamiaceae، حاوی تیمول، کارواکرول، سیمن، اوژنول و ۴-آلیل فنل است و ثابت شده است که باعث تقویت رشد، ضد میکروبی، تحریک ایمنی و ویژگی های آنتی‌اکسیدانی می‌شود (Alagawany et al., 2021). گیاه دارویی پونه کوهی با نام علمی (*Origanum vulgare*) از تیره نعنائیان، بومی مناطق معتدله اروپا، آسیا و شمال آفریقا است که تاکنون بالغ بر ۲۵۰ گونه از این جنس در جهان و ۶۷ گونه از ایران گزارش شده است. ترکیبات موثر موجود در گیاه پونه کاروون، منتول، لیمونن، منتون، بتاپینن، آلفا پینن، تانن و ژرانیول می‌باشد که دارای خاصیت ضد عفونی نمودن دستگاه گوارش و کاهش جمعیت میکروبهای مضر دارد (Alagawany et al., 2020). از گیاه پونه کوهی عموماً اسانس استخراج می‌کنند که به دلیل عملکرد بالای آن به عنوان یک عصاره دارویی در آبزی‌پروری مورد استفاده قرار می‌گیرد. اسانس این گیاه غنی از کارواکرول و تیمول است که در نقش ضد باکتری، ضد التهابی، آنتی‌اکسیدانی و تعدیل ایمنی در حیوانات آبزی نقش دارد (Abdel-Latif et al., 2020). به‌طور قابل توجهی، اسانس پونه کوهی منجر به مقاومت بالایی در برابر عوامل استرس‌زای محیط پرورشی آبزیان، از جمله تراکم بالا، تجمع آمونیاک در غلظت زیاد و عفونی شدن با باکتری های بیماری زا می‌گردد (Khafaga and Naiel, 2020). بر اساس گزارشات منتشر شده در صنعت آبزی‌پروری، اسانس پونه کوهی منجر به بهبود عملکرد رشد و ایمنی در ماهی کپور کوی (*Cyprinus carpio*) (Zhang et al., 2020)، ماهی کپور معمولی (Abdel-Latif et al., 2020) و همچنین ماهی تیلاپپای نیل (*Oreochromis niloticus*) می‌گردد (Shourbela et al., 2021).

گیاهان دارویی همچون سیر و فراورده‌های فعال آن‌ها به‌طور گسترده در پرورش ماهی به‌عنوان مکمل‌های خوراکی مؤثر استفاده می‌شوند (Li et al., 2022). مطالعات نشان داده است که عصاره سیر می‌تواند باعث بهبود شرایط تغذیه‌ای از طریق کاهش بار میکروبی روده و تقویت سیستم ایمنی گردد (Delgado et al., 2023). در

در جیره غذایی لارو ماهی کپور معمولی به منظور بررسی عملکرد رشد، تغذیه، ترشحات آنزیم‌های گوارشی و متابولیسم چربی استفاده گردید.

### مواد و روش‌ها

تعداد ۳۶۰ قطعه لارو ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) از مرکز پرورش ماهیان گرم آبی شهید چمران (شهرستان گنبد کاووس - استان گلستان) تهیه گردید. پس از ۱۰ روز دوره سازگاری با شرایط آزمایشگاه با تراکم ۳۰ قطعه (میانگین وزن اولیه  $0.37 \pm 0.43$  گرم) در مخازن با حجم آبگیری ۳۰ لیتری ذخیره‌سازی شدند. 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 میکرولیتر مخلوط نانو امولسیون اسانس سه گیاه آویشن، پونه و سیر (با نسبت مساوی حجمی در امولسیون نانو اسانس تهیه شده) در هر گرم غذا (بترتیب شاهد T0، T1، T2 و T3) به مدت ۸ هفته انجام شد. گروه شاهد از جیره بدون مکمل سازی با نانو اسانس گیاهی تغذیه شدند. مقادیر اسانس بر روی غذا اسپری و از ژلاتین ۴ درصد برای تثبیت اسانس روز غذا استفاده شد (Mohammad Nejad and Faghani Langroodi, 2021). تیمار شاهد بدون مکمل و تنها از ژلاتین استفاده شد تا شرایط تغذیه‌ای یکسان باشد. غذادهی روزانه به میزان ۴ درصد وزن بدن و تعویض آب روزانه به میزان ۲۵ درصد بود.

پایان دوره آزمایش فاکتورهای رشد و تغذیه لارو ماهی کپور معمولی سنجش شد. وزن کل با ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۱ اندازه گیری شد. فرمول‌های بکار رفته در این تحقیق به شرح ذیل می‌باشد:

افزایش وزن (WG, g) = میانگین وزن نهایی (گرم) - میانگین وزن اولیه (گرم)

درصد افزایش وزن (WGR, %) = [(وزن نهایی (گرم) - وزن اولیه (گرم)) / (وزن اولیه)] × ۱۰۰

ضریب رشد ویژه ( $SGR, \% \text{day}^{-1}$ ) =  $\ln(\text{وزن نهایی (گرم)}) - \ln(\text{وزن اولیه (گرم)})$

$\ln(\text{وزن اولیه (گرم)})$  // مدت زمان پرورش (روز) × ۱۰۰

ضریب تبدیل غذایی (FCR) = [مقدار غذای مصرف شده (گرم) / (وزن نهایی (گرم) - وزن اولیه (گرم))]

کارایی تبدیل غذا (FCE, %) = (وزن بدست آمده / مقدار

غذای مصرف شده (گرم)) × ۱۰۰  
در انتهای دوره‌ی پرورش، بعد از ۲۴ ساعت گرسنگی ماهیان و بیهوش آنها با عصاره گل میخک به میزان ۲۵ میلی‌گرم در لیتر تعداد ۳ قطعه ماهی بطور تصادفی از هر تکرار صید شد. برای سنجش آنزیم‌های گوارشی از روده نمونه برداری و برای سنجش فاکتورهای متابولیسم چربی خون از خون با هیپارین نمونه برداری شد. برای سنجش آنزیم‌های گوارشی، ابتدا نمونه‌های روده با ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۱ گرم وزن شدند و سپس به نسبت وزنی - حجمی (۱ به ۹) با محلول بافر همگن شدند (Cahu et al., 1999). جهت تهیه عصاره آنزیمی ابتدا بافر ساخته شد که بدین منظور ۱۰۰ میلی‌مولار Tris-HCl، ۰/۱ میلی‌مولار EDTA و ۰/۱ درصد Triton در پی‌اچ ۷/۸ همگن شدند. نمونه‌ها در دستگاه سانتریفیوژ یخچال‌دار با دمای ۴ درجه - سانتی‌گراد قرار داده شد که در نهایت مایع رویی بدست آمده به‌عنوان عصاره آنزیمی برای سنجش جدا گردید (Rungruangsak-Torrissen et al., 2002). میزان فعالیت آنزیم‌های گوارشی بر مبنای واحد/میلی‌گرم پروتئین محاسبه شد. آمیلاز و پروتئاز بر اساس روش ورتینگتون انجام شد (Worthington, 1993). سنجش آنزیم لیپاز با استفاده از هیدرولیز p-Nitrophenyl myristate به-عنوان سوبسترا در متوکسی اتانول ۰/۲۵ میلی‌مولار، Sodium Cholate ۵ میلی‌مولار و Tris-HCL ۰/۲۵ میلی‌مولار در پی‌اچ ۹ انجام شد. فعالیت اختصاصی لیپاز برابر است با آزادسازی یک میکرومول پارا-نیتروفنل در یک دقیقه در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد که در ۴۰۵ نانومتر خوانده شد (Iijima et al., 1998). سطح کلسترول و تری‌گلیسرید با روش آنزیمی تعیین شد و جذب نوری در طول موج ۵۰۰ نانومتر سنجیده شد (Rifai et al., 1999). برای تفکیک لیپوپروتئین‌های سرم خون از روش الکتروفورز بر روی ژل استفاده شد. این لیپوپروتئین‌ها شامل لیپوپروتئین با دانسیته بالا (HDL) و لیپوپروتئین با دانسیته‌ی کم (LDL) هستند. در مرحله بعد رنگ آمیزی و تثبیت رنگ انجام شد (Adinh et al, 2021).  
آنالیز آماری داده‌های بدست آمده از فاکتورهای ایمنی و آنتی‌اکسیدانی، با استفاده از نرم‌افزار Spss-22 انجام شده و نمودارها نیز با بکارگیری 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 عملکرد رشد و تغذیه لارو ماهی کپور معمولی تغذیه شده با سطوح مختلف ترکیب نانوامولسیون اسانس گیاهان دارویی (آویشن، پونه و سیر) در جدول ۱ آورده شده است. لارو ماهیان بدون اختلاف آماری با میانگین وزن اولیه  $2/43 \pm 0/37$  گرم در تیمارهای آزمایشی توزیع و به مدت

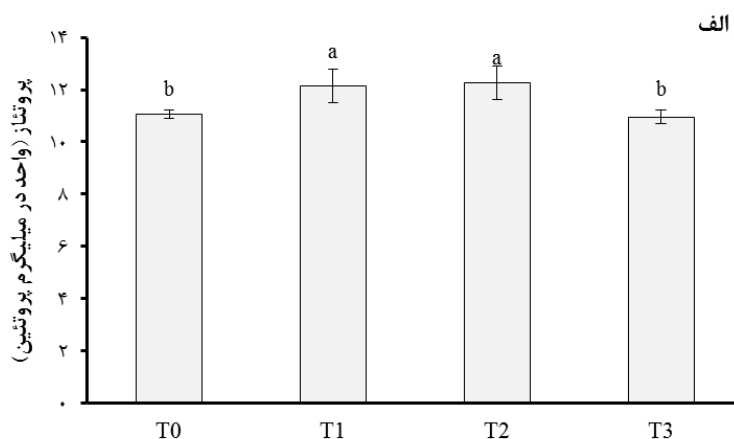
۵۶ روز با سطوح مختلف ترکیب نانوامولسیون اسانس گیاهان تغذیه شدند. وزن نهایی، افزایش وزن و نرخ رشد ویژه بین تیمارهای تغذیه‌ای تفاوت آماری معنی‌داری داشت بطوریکه بیشترین آن در تیمار T1 و کمترین این فاکتورها در تیمار T0 شاهد بدست آمد ( $P < 0/05$ ). ضریب تبدیل غذایی در تیمارهای T1 و T2 کاهش معنی‌دار آماری داشت ( $P < 0/05$ ).

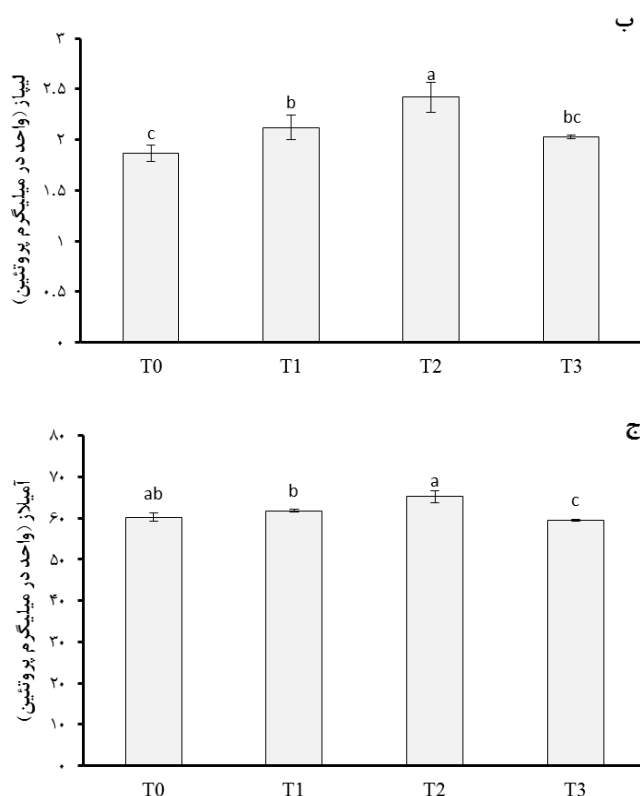
جدول ۱- پارامترهای رشد و تغذیه لارو ماهی کپور معمولی تغذیه شده با سطوح مختلف ترکیب نانوامولسیون اسانس گیاهان دارویی (آویشن، پونه و سیر) در هر گرم غذا به مدت ۸ هفته

تیمارها	T3 (۱۴ میکرولیتر)	T2 (۷ میکرولیتر)	T1 (۳/۵ میکرولیتر)	T0 (شاهد بدون مکمل)	معیارها
وزن اولیه (گرم)	$2/44 \pm 0/37$	$2/48 \pm 0/37$	$2/40 \pm 0/36$	$2/43 \pm 0/38$	
وزن نهایی (گرم)	$7/96 \pm 2/45ab$	$8/51 \pm 3/51ab$	$9/06 \pm 3/03a$	$7/08 \pm 2/16b$	
افزایش وزن (گرم)	$5/52 \pm 1/44ab$	$6/00 \pm 1/96ab$	$6/66 \pm 1/70a$	$4/65 \pm 1/32b$	
نرخ رشد ویژه (درصد در روز)	$3/07 \pm 0/85ab$	$3/48 \pm 0/92ab$	$3/59 \pm 0/87a$	$2/96 \pm 0/97b$	
ضریب تبدیل غذایی	$3/55 \pm 0/92a$	$2/71 \pm 0/50b$	$2/67 \pm 0/97b$	$3/37 \pm 1/02ab$	
کارایی تبدیل غذا	$39/80 \pm 13/872ab$	$42/59 \pm 13/26ab$	$45/32 \pm 12/87a$	$35/28 \pm 10/46b$	

حروف انگلیسی غیر مشابه در هر ردیف نشان از وجود اختلاف معنی‌دار آماری بین تیمارهای آزمایشی است ( $P < 0/05$ ).

فعالیت آنزیم‌های گوارشی (پروتئاز، لیپاز و آمیلاز) لارو ماهی کپور معمولی تغذیه شده با سطوح مختلف ترکیب نانوامولسیون اسانس گیاهان دارویی (آویشن، پونه و سیر) در شکل ۱ آورده شده است. سنجش آنزیم‌های گوارشی نشان داد که غلظت آنزیم‌های پروتئاز در تیمارهای T1 و T2 افزایش معنی‌دار داشت درحالی‌که کمترین آن در تیمارهای T0 و T3 بود ( $P < 0/05$ ). آنزیم لیپاز بین تیمارهای تغذیه‌ای با ترکیب گیاهان دارویی نانوامولسیون اختلاف آماری داشت بطوریکه بیشترین و کمترین آن بترتیب در تیمارهای T1 و T0 شاهد بدست آمد. آنزیم آمیلاز در تیمار T1 افزایش و در تیمار T3 کاهش معنی‌دار داشت ( $P < 0/05$ ).





شکل ۱- فعالیت آنزیم‌های گوارشی لارو ماهی کپور معمولی تغذیه شده با سطوح ۰، ۳/۵، ۷ و ۱۴ میکرولیتر ترکیب نانوامولسیون اسانس گیاهان دارویی در هر گرم غذا (بترتیب شاهد T0، T1، T2، T3). حروف غیر مشابه در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار آماری بین تیمارهای آزمایشی است ( $p < 0.05$ ).

مشاهده شد ( $p < 0.05$ ). سطح HDL در تیمار T1 در مقایسه با دیگر تیمارهای آزمایشی افزایش معنی‌دار داشت ( $p < 0.05$ ). سطح LDL در تیمارهای T1 و T2 کاهش معنی‌دار آماری در مقایسه با دیگر تیمارها داشتند ( $p < 0.05$ ).

نتایج آنالیز متابولیسم چربی خون لارو ماهی کپور معمولی تغذیه شده با سطوح مختلف ترکیب نانوامولسیون اسانس گیاهان دارویی (آویشن، پونه و سیر) در جدول ۲ آورده شده است. سطح کلسترول و تری گلیسرید بین تیمارهای تغذیه‌ای اختلاف آماری داشت بطوریکه بیشترین آن در تیمار T0 و کمترین آن در تیمارهای T1 و T3

جدول ۲- متابولیسم چربی لارو ماهی کپور معمولی تغذیه شده با سطوح مختلف ترکیب نانوامولسیون اسانس گیاهان دارویی (آویشن، پونه و سیر)

تیمارها	T3 (۱۴ میکرولیتر)	T2 (۷ میکرولیتر)	T1 (۳/۵ میکرولیتر)	T0 (شاهد بدون مکمل)	معیارها
کلسترول (میلی گرم/دسی لیتر)	۱۴۱/۵۰ ± ۱/۵۰c	۱۵۳/۵۰ ± ۵/۵۰b	۱۴۶/۰۰ ± ۵/۶۰c	۱۷۸/۰۰ ± ۴/۰۰a	
تری گلیسرید (میلی گرم/لیتر)	۳۳۵/۵۰ ± ۴/۵۰a	۲۶۵/۵۰ ± ۸/۵۰b	۲۲۷/۵۰ ± ۳/۵۰c	۳۴۳/۰۰ ± ۴/۰۰a	
HDL (میلی گرم/دسی لیتر)	۳۲/۴۰ ± ۰/۷۰b	۳۵/۰۰ ± ۰/۸۰b	۳۸/۰۵ ± ۲/۸۵a	۳۳/۱۰ ± ۰/۶۰b	
LDL (میلی گرم/دسی لیتر)	۸۹/۰۰ ± ۰/۲۰a	۸۰/۵۵ ± ۱/۵۰b	۸۶/۱۵ ± ۰/۵۵b	۹۰/۵۵ ± ۰/۶۵a	

حروف انگلیسی غیر مشابه در هر ردیف نشان از وجود اختلاف معنی‌دار آماری بین تیمارهای آزمایشی است ( $P < 0.05$ ).

## بحث و نتیجه‌گیری

استفاده از گیاهان دارویی به‌عنوان داوری طبیعی در کشورهای مختلف جهان رو به رونق و پیشرفت است که در این ارتباط منابع مفیدی از ترکیبات فعال زیستی برای بهبود عملکرد رشد و تغذیه و همچنین درمان موثر بیماری‌ها در آبزیان فراهم شده است که می‌تواند بر افزایش سلامت ماهیان موثر باشد (Adineh *et al.*, 2024). در پژوهش حاضر، استفاده از نانوامولاسیون ترکیب سه گیاه دارویی (آویشن، پونه و سیر) در جیره غذایی لارو ماهی کپور معمولی بر عملکرد رشد، تغذیه، ترشحات آنزیم‌های گوارشی و متابولیسم چربی مورد تحقیق و بررسی قرار گرفت. نتایج عملکرد رشد و تغذیه نشان داد که استفاده از ۳/۵ میکرولیتر ترکیب سه گیاه دارویی در تیمار T1 باعث افزایش پارامترهای رشد و کاهش ضریب تبدیل غذایی شد. در ارتباط با اثرات اسانس گیاهان دارویی بر عملکرد رشد و تغذیه ماهی کپور معمولی گزارش شده است، اسانس پونه کوهی (*Origanum vulgare*) توانست از طریق افزایش اندازه‌های پرزهای روده و تقویت عملکرد کبدی-کلیوی بچه ماهیان کپور معمولی باعث بهبود عملکرد رشد شود (Abdel-Latif *et al.*, 2020). مطابق با نتایج ما، در تحقیقی مشخص شد که اسانس گیاه پونه (خالواش) با غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم در جیره غذایی ماهی کپور معمولی باعث بهبود عملکرد رشد و ترشح آنزیم‌های گوارشی گردید (Yousefi *et al.*, 2023). ماده اصلی اسانس پونه، پولگون است که به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان، ضد میکروب و ضد اضطراب شناخته شده است (da Silveira *et al.*, 2014).

وجود ترکیبات موثره در هر یک از گیاهان دارویی می‌تواند در تحریک رشد از طریق بهبود شرایط ترشحات آنزیم‌های گوارشی اثر گذارد. مهمترین ترکیبات موجود در گیاه سیر ارگانوفسفرها مانند آلیسین، دی‌آلدیل‌دی-سولفید، S-آلیل‌سستین و دی‌آلل‌تری‌سولفید می‌باشد. آلیسین یکی از مهمترین ترکیبات بیوشیمیایی موجود در سیر است که از واکنش بین آمینو اسید غیر پروتئینی آلین با آلیناز تشکیل می‌شود (Mikaili *et al.*, 2013). در موافقت با مطالعه حاضر، افزودن سیر در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان باعث افزایش رشد، تبدیل غذا و بهره‌وری پروتئین شد (Nya and Austin, 2009) در حالیکه برخی از گزارشات مبنی بر اثرات منفی استفاده از سیر در

جیره غذایی بوده است (Inoue *et al.*, 2016). تناقض در گزارشات ارائه شده ممکن است، به دلیل نوع گونه ماهی، مقدار مصرف سیر و نوع ترکیب غذا باشد. فعالیت و ترشح آنزیم‌های گوارشی تحت تاثیر عوامل مختلف زیستی قابل تغییر است که از آنها می‌توان به‌عنوان بهترین نشانگر شاخص رشد جهت تنظیم جیره غذایی و پاسخ فیزیولوژیکی بدن به شرایط تغذیه‌ای بیان نمود. گیاهان دارویی می‌توانند متابولیسم کلی بدن، سرعت رشد و استفاده از خوراک را بهبود بخشند (Faheem *et al.*, 2022). در این پژوهش، فعالیت آنزیم‌های گوارشی پروتئاز، لیپاز و آمیلاز در تیمارهای حاوی ترکیب اسانس نانوامولاسیون گیاهان دارویی (بوژه تیمار T1 و T2) در مقایسه با تیمار شاهد بدون مکمل غذایی افزایش معنی‌دار آماری داشت. در ارتباط با استفاده از ترکیب گیاهان دارویی در جیره غذایی ماهی کپور معمولی گزارش شده است که افزودن ترکیبی ۲ و ۳ درصد عصاره‌های گیاهان دارویی (پنیرک، مرزنجوش و سیر) در جیره غذایی ماهی توانست ترشحات آنزیم‌های گوارشی (آمیلاز، لیپاز و پروتئاز) را افزایش دهد (Ghafarifarsani *et al.*, 2021). بطور مشابه، جیره حاوی اسانس آویشن و ویتامین باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی در ماهی کپور معمولی شد (Ghafarifarsani *et al.*, 2022). در تحقیقی مجزا، تاثیر سطوح ۵۰۰، ۱۵۰۰ و ۴۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم اسانس پونه کوهی بر فعالیت آنزیم‌های گوارشی و میکروبیوتای روده ماهی کپور کوی نشان داد که استفاده از این گیاه دارویی باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های پروتئاز، لیپاز و آمیلاز شد (Zhang *et al.*, 2020). افزودنی‌های خوراکی مانند ترکیبات گیاهان دارویی معمولاً به‌عنوان محرک رشد و تقویت‌کننده سلامت ماهی شناخته می‌شوند بنابراین ارزیابی فاکتورهای بیوشیمیایی خون از جمله متابولیسم چربی می‌تواند شاخصی برای مشخص شدن وضعیت فیزیولوژیکی و سلامت خارجی باشد (El Basuini *et al.*, 2020). در پژوهش حاضر، بیشترین سطح کلسترل، تری‌گلیسرید و LDL در تیمار شاهد بدون مکمل گیاهان دارویی بدست آمد درحالیکه متابولیسم چربی در ماهیان تغذیه شده با ۳/۵ میکرولیتر ترکیب نانوامولاسیون اسانس گیاهان دارویی (T1) بطور معنی‌دار کاهش داشت. در همین راستا، بکارگیری مکمل اسانس درخت چای در رژیم غذایی با پودر ماهی پابین توانست باعث بهبود عملکرد رشد

مثبت آن ممکن است به دلیل افزایش لیپولیز و در نتیجه کاهش رسوب لیپیدها باشد. بطور کلی نتایج این تحقیق نشان داد که ترکیب نانوامولسیون اسانس گیاهان دارویی (آویشن، پونه و سیر) در تیمارهای تغذیه‌ای می‌تواند باعث بهبود عملکرد رشد و ترشح آنزیم‌های گوارشی و کاهش متابولیسم چربی شود. در این ارتباط، افزودن ۳/۵ - میکرولیتر (T1) ترکیب نانوامولسیون اسانس در جیره غذایی لارو ماهی کپور معمولی توصیه می‌گردد.

و متابولیسم چربی از طریق کاهش تجمع چربی در کبد و سرم خون در ماهی باس دهان‌گشاد (*Micropterus salmoides*) گردید (Liu *et al.*, 2022). مطابق با نتایج ما، سطح کلسترول، تری‌گلیسیرید و LDL در سرم خون ماهی کپور معمولی تغذیه شده با گیاه دارویی شیرین بیان (*Glycyrrhiza glabra*) به‌طور معنی‌داری در مقایسه با تیمار شاهد کاهش یافت (Adineh *et al.*, 2021). این نتایج تأیید کرد که ترکیبات گیاهان دارویی می‌تواند متابولیسم چربی را در لارو کپور معمولی بهبود بخشد و اثر

- Abdel-Latif, H. M., Abdel-Tawwab, M., Khafaga, A. F., Dawood, M. A. 2020. Dietary oregano essential oil improved the growth performance via enhancing the intestinal morphometry and hepato-renal functions of common carp (*Cyprinus carpio* L.) fingerlings. *Aquaculture*, 526: 735432.
- 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.
- Adineh, H., Naderi, M., Yousefi, M., Khademi Hamidi, M., Ahmadifar, E., Hoseini, S.M. 2021. Dietary licorice (*Glycyrrhiza glabra*) improves growth, lipid metabolism, antioxidant and immune responses, and resistance to crowding stress in common carp, *Cyprinus carpio*. *Aquaculture Nutrition*, 27(2): 417-426.
- Adineh, H., Yousefi, M., Al Sulivany, B. S., Ahmadifar, E., Farhangi, M., Hoseini, S. M. 2024. Effects of dietary yeast, *Saccharomyces cerevisiae*, and Costmary, *Tanacetum balsamita*, essential oil on growth performance, digestive enzymes, biochemical parameters, and disease resistance in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture Nutrition*, (1): 1388002.
- Alagawany, M., Farag, M.R., Abdelnour, S.A., Elnesr, S.S. 2021. A review on the beneficial effect of thymol on health and production of fish. *Reviews in Aquaculture*, 13(1): 632-641.
- Alagawany, M., Farag, M.R., Salah, A.S., Mahmoud, M.A. 2020. The role of oregano herb and its derivatives as immunomodulators in fish. *Reviews in Aquaculture*, 12(4): 2481-2492.
- Cahu, C.L., Zambonino-Infante, J.L., Quazuguel, P., Le Gall, M.M. 1999. Protein hydrolysate vs. fish meal in compound diets for 10-day old sea bass *Dicentrarchus labrax* larvae. *Aquaculture*, 171:109- 119.
- Chitsaz, H., Orji H., Keramat Amirkalaei, A., Akrami, R. 2017. The effect of a diet containing garlic peel on growth performance and activity of some non-specific immune parameters of young farmed (*Huso huso*). *Journal of Applied Ichthyological Research*, 5(4): 101 - 114. ( In Persian).
- da Silveira, N.S., de Oliveira-Silva, G.L., de Freitas Lamanes, B., da Silva Prado, L.C., Bispo-da-Silva, L.B. 2014. The aversive, anxiolytic-like, and verapamil-sensitive psychostimulant effects of pulegone. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 37(5): 771-778.
- Delgado, D.L.C., Caceres, L.L.C., Gómez, S.A.C., Odio, A.D. 2023. Effect of dietary garlic (*Allium sativum*) on the zootechnical performance and health indicators of aquatic animals: A mini-review. *Veterinary World*, 16(5): 965.
- Donsi, F., Sessa, M., Ferrari, G. 2010. Nanoencapsulation of essential oils to enhance their antimicrobial activity in foods. *Journal of Biotechnology*, 150: S67-S67.

- El Basuini, M. F., Teiba, I. I., Zaki, M. A., Alabssawy, A. N., El-Hais, A. M., Gabr, A. A., Dossou, S. 2020. Assessing the effectiveness of CoQ10 dietary supplementation on growth performance, digestive enzymes, blood health, immune response, and oxidative-related genes expression of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Fish & Shellfish Immunology*, 98: 420-428.
- Faheem, M., Rao, Z. A., Liaqat, I., Hoseinifar, S. H., Maneepitaksanti, W., Van Doan, H. 2022. Bio-active components in medicinal plants: A mechanistic review of their effects on fish growth and physiological parameters—A review. *Annals of Animal Science*, 22(4): 1127-1149.
- FAO. The State of World Fisheries and Aquaculture 2025 . Rome: Sustainability in action; 2025.
- Ghafariarsani, H., Hoseinifar, S. H., Javahery, S., Yazici, M., Van Doan, H. 2022. Growth performance, biochemical parameters, and digestive enzymes in common carp (*Cyprinus carpio*) fed experimental diets supplemented with vitamin C, thyme essential oil, and quercetin. *Italian Journal of Animal Science*, 21(1): 291-302.
- Ghafariarsani, H., Hoseinifar, S.H., Adorian, T. J., Ferrigolo, F.R.G., Raissy, M., Van Doan, H. 2021. The effects of combined inclusion of *Malvae 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.
- Gholipour Kanani, H., Nobahar, Z., Kakoolaki, S., Jafarian, H. 2014. Effect of ginger-and garlic-supplemented diet on growth performance, some hematological parameters and immune responses in juvenile *Huso huso*. *Fish physiology and biochemistry*, 40: 481-490.
- Iijima N., Tanaka, S., Ota Y. 1998. Purification and characterization of bile salt activated Lipase from the hepatopancreas of red sea bream (*Pagrus major*). *Journal of Fish Physiology and Biochemistry* 18: 59-69.
- Inoue, L.A.K.A., Oliveira Maciel, P., Gusmao Affonso, E., de Lima Bojjink, C. and Tavares-Dias, M. 2016. Growth, parasitic infection and hematology in *Colossoma macropomum* Cuvier, 1818 fed diets containing *Allium sativum*. *Journal of Applied Ichthyology*, 32: 901–905.
- Khafaga, A.F., Naiel, M., A.E. 2020. Dietary *Origanum vulgare* essential oil attenuates cypermethrin-induced biochemical changes, oxidative stress, histopathological alterations, apoptosis, and reduces DNA damage in Common carp (*Cyprinus carpio*). *Aquatic Toxicology*, 228: 43442.
- Liu, X., Deng, H., Xu, Q., Luo, K., Zhou, J., Gao, W., Zhou, X. 2022. Effects of tea tree essential oil supplementation in low fish meal diet on growth, lipid metabolism, antioxidant capacity and immunity of largemouth bass (*Micropterus salmoides*). *Aquaculture Reports*, 27: 101380.
- Mason, T. G., Wilking, J. N., Meleson, K., Chang, C. B., & Graves, S. M. (2006). Nanoemulsions: formation, structure, and physical properties. *Journal of Physics: condensed matter*, 18(41): R635.
- Meshkini, S., Ghiyasi, Y. 2016. Evaluation of changes in some defense indices in rainbow trout fed with garlic (*Allium sativum*) and echinacea (*Echinacea purpurea*) extracts. *Journal of Animal Ecology*, 8(1): 207 - 214. (In Persian).
- Mikaili, P., Maadirad, S., Moloudizargari, M., Aghajanshakeri, S. Sarahroodi, S. 2013. Therapeutic Uses and Pharmacological Properties of Garlic, Shallot, and Their Biologically Active Compounds. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 16(10): 1031–1048.
- Mohammad Nejad M., Faghani Langroodi, H. 2021. Changes in Blood Parameters and Some Biochemical Factors of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Fed with Different Levels of Ginger Extract *Zingiber officinale*. *Journal of Plasma and Biomarkers*, 15(2): 35-46.
- Nya, E.J., Austin, B. 2009. Use of garlic (*Allium sativum*) to control *Aeromonas hydrophila* infection in rainbow trout

- Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Journal of Fish Diseases, 32: 963–970.
- Payghan, R., Rezaei, A., Zadarparvar, N. 2014. Study of the effect of garlic extract on the growth rate and histopathology of liver, kidney and intestinal vesicle in common carp (*Cyprinus carpio*). Journal of Veterinary Research and Construction, 105: 69-76. (In Persian).
- Rifai, N., Bachorik, P.S., Albers, J.J. 1999. Lipids, Lipoproteins and Apolipoproteins. Tietz textbook of clinical chemistry. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders Company, 809-861.
- Rungruangsak-Torrissen K., Rustad A., Sunde J., Eiane S.A., Jensen H.B., Opstvedt J., Nygard E., Samuelsen T.A., Mundheim H., Luzzana U. 2002. In vitro digestibility based on fish crude enzyme extract for prediction of feed quality in growth trials. Journal of the Science of Food and Agriculture, 82: 644-654.
- Shourbela, R. M., El-Hawarry, W. N., Elfadadny, M. R., Dawood, M. A. 2021. Oregano essential oil enhanced the growth performance, immunity, and antioxidative status of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) reared under intensive systems. Aquaculture, 542: 736868.
- Statistical Yearbook of Iranian Fisheries, 1402. Deputy of Planning and Management Development. Office of Planning and Budget of the Iranian Fisheries Organization, 64 p.(In Persian).
- Tangestani, R., Alizadeh Doghikali, A., Ebrahimi, A. and Zare, P. 2011. The effect of garlic essential oil on hematological indices of young farmed (*Huso huso*). Journal of Veterinary Research and Biological Products, 66 (3): 209-215. (In Persian).
- Worthington C.C. 1993. Worthington Enzyme Manual. Enzymes and related Biochemicals Worthington Chemical. New Jersey. USA. 730 P.
- Yousefi, M., Adineh, H., Ghadamkheir, M., Hashemianfar, S. A. M., Yilmaz, S. 2023. Effects of dietary Pennyroyal essential oil on growth performance, digestive enzymes' activity, and stress responses of common carp, *Cyprinus carpio*. Aquaculture Reports, 30: 101574.
- Zhang, R., Wang, X. W., Liu, L. L., Cao, Y. C., Zhu, H. 2020. Dietary oregano essential oil improved the immune response, activity of digestive enzymes, and intestinal microbiota of the koi carp, *Cyprinus carpio*. Aquaculture, 518: 734781.
- Zhang, R., Wang, X.W., Liu, L.L., Cao, Y.C., Zhu, H. 2020. Dietary oregano essential oil improved the immune response, activity of digestive enzymes, and intestinal microbiota of the koi carp, *Cyprinus carpio*. Aquaculture, 518: 235-244.

نحوه استناد به مقاله:

کوهستانی ز.، جعفریان ح.، آدینه ح.، کوردجی ض. تأثیر استفاده از سطوح مختلف نانو امولسیون اسانس گیاهان دارویی (آویشن، پونه کوهی و سیر) بر عملکرد رشد، آنزیم های گوارشی و متابولیسم چربی در لارو ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). نشریه پژوهش های ماهی شناسی کاربردی. دانشگاه گنبد کاووس. ۱۴۰۴. ۱۳ (۴): ۱-۱۰.

Kohistani Z., Jafarian H., Adineh H. Kordjezi Z. Effects of using different levels of medicinal plants essential oils nanoemulsion (thyme, oregano and garlic) on growth performance, digestive enzymes and lipid metabolism in common carp (*Cyprinus carpio*). Journal of Applied Ichthyological Research, University of Gonbad Kavous. 2025, 13(4): 01-10.



**Effects of using different levels of medicinal plants essential oils nanoemulsion (thyme, oregano and garlic) on growth performance, digestive enzymes and lipid metabolism in common carp (*Cyprinus carpio*)**

Zahra Kohestani<sup>1</sup>, Hojatollah Jafarian<sup>2</sup>, Hossein Adineh<sup>3</sup> and Zia Kordjezi<sup>4</sup>

- 1- MSc. Student, Department of Fisheries Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Gonbad Kavous University, Golestan, Iran.
- 2- Professor, Department of Fisheries Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Gonbad Kavous University, Golestan, Iran.
- 3- Associate Professor, Department of Fisheries Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Gonbad Kavous University, Golestan, Iran.
- 4- Assistant Professor, Department of Fisheries Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Gonbad Kavous University, Golestan, Iran.

<b>Type:</b> Original Research Paper	<b>Abstract</b> Medicinal plants are introduced as growth-promoting supplements due to their antioxidant properties. The aim of this study was to investigate the effects of using different levels of nanoemulsions of medicinal plant essential oils (thyme, oregano, and garlic) on growth performance, digestive enzymes, and lipid metabolism in common carp ( <i>Cyprinus carpio</i> ) larvae. 360 common carp larvae (mean initial weight $2.43 \pm 0.37$ g) were stocked in 12 tanks at a density of 30 fish. The experiment was conducted in 4 treatments (each with 3 replications) with a mixture of essential oils of three medicinal plants (thyme, oregano and garlic) at concentrations of 0 (control), 3.5, 7 and 14 $\mu\text{l/g}$ (control T0, T1, T2 and T3, respectively) for 8 weeks. The results of this experiment showed that the highest weight performance was obtained in the treatment with 3.5 $\mu\text{l/g}$ of the medicinal plant essential oil nanoemulsion (T1) compared to the control treatment (T0). Feed conversion ratio (FCR) had a statistically significant decrease in T1 and T0 treatments ( $p < 0.05$ ). Digestive enzyme assays showed that the concentration of protease enzymes increased significantly in the T1 and T2 treatments, while the lowest was in the T0 and T3 treatments ( $p < 0.05$ ). Lipase enzyme had a statistical difference between the nutritional treatments with the medicinal plant nanoemulsion combination, so that the highest and lowest were obtained in the T1 and T0 control treatments, respectively. Amylase enzyme increased in the T1 treatment and decreased significantly in the T3 treatment ( $p < 0.05$ ). Analysis of blood lipid metabolism showed that the highest cholesterol and triglyceride levels were observed in treatment T0 and the lowest in treatment T1. HDL levels in T1 increased significantly compared to other experimental treatments ( $p < 0.05$ ). LDL levels in T1 and T2 decreased significantly compared to other treatments ( $p < 0.05$ ). Overall, the results showed that the combination of medicinal plant nanoemulsion (thyme, oregano and garlic), especially the T1 treatment, improved growth performance, digestive enzymes, and fat metabolism compared to the control T0 treatment.
<b>Paper History:</b> Received: 08-06-2025 Accepted: 27-06-2025	
<b>Corresponding author:</b> <b>Jafarian H.</b> Professor, Department of Fisheries Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Gonbad Kavous University, Golestan, Iran. <b>Email:</b> <a href="mailto:hojat.jafaryan@gmail.com">hojat.jafaryan@gmail.com</a>	
<b>Keywords:</b> Carp larvae, medicinal plants, nanoemulsion, biochemical factors	