



University of Hormozgan



Effects of different levels of dietary commercial phytogenic supplement Copal® on growth performance, some non-specific immune indices and hematological parameters of Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*)

Vahid Dehdar¹, Mirmasoud Sajjadi¹ ✉, Bahram Falahatkar¹, Mahmoud Mohseni²

1. Fisheries Department, Faculty of Natural Resources, University of Guilan, Sowmeh Sara, Iran.
2. International Sturgeon Research Institute, Iranian Fisheries Science Research Institute (IFSRI), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Rasht, Iran.

Article Info

Article type:
Research Article

Article history:
Received: 17 March 2026
Accepted: 9 April 2026
Published: 22 June 2026

Corresponding Author:
mmsajjadi@guilan.ac.ir

Keywords:
Thyme,
Acipenseridae,
Garlic,
Plant-based
supplement,
Peppermint,
Acipenser baerii.

ABSTRACT

Phytogenics are plant-based feed additives, including essential oils, extracts, and other bioactive compounds, that have attracted increasing attention in aquaculture because of their antioxidant, anti-inflammatory, and immunomodulatory properties. This study evaluated the effects of the commercial phytogenic supplement Copal, containing garlic (*Allium sativum*), thyme (*Thymus vulgaris*), and cumin (*Cuminum cyminum*), on growth performance, innate immune responses, and hematological parameters in juvenile Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*). Fish with an initial body weight of 57.98 ± 1.46 g were randomly distributed among 12 tanks (500 L) and fed one of four experimental diets for eight weeks: a control diet without Copal (C0) or diets supplemented with 0.5% (C0.5), 1% (C1), or 2% (C2) Copal, with three replicate tanks per treatment. At the end of the feeding trial, growth performance, selected innate immune parameters (total protein, total immunoglobulin, lysozyme activity, and alkaline phosphatase activity), and hematological parameters were evaluated. No significant differences in growth performance were observed among treatments ($p > 0.05$), although some parameters showed a non-significant increasing trend in Copal-supplemented groups. Alkaline phosphatase activity was significantly higher in fish receiving 0.5% Copal than in the control group ($p < 0.05$), whereas no significant differences were detected for the other immune parameters ($p > 0.05$). Among hematological parameters, eosinophil percentages were significantly higher in the control and C0.5 groups than in the other treatments ($p < 0.05$), while no significant differences were observed for the remaining variables ($p > 0.05$). Overall, dietary supplementation with 0.5% Copal enhanced alkaline phosphatase activity but did not significantly affect growth performance or most measured immune and hematological parameters in juvenile Siberian sturgeon. These findings suggest that Copal may modulate selected aspects of innate immunity without improving growth under the conditions tested; further studies involving different supplementation levels, longer feeding periods, and environmental or pathogen-related challenges are warranted.



Publisher: University of Hormozgan

EXTENDED ABSTRACT

Introduction

Aquaculture has become an important contributor to global food security by providing a sustainable source of high-quality protein and has surpassed capture fisheries in global aquatic animal production. This expansion has also been accompanied by challenges associated with intensive production, including disease outbreaks, environmental stress, and concerns regarding the extensive use of antibiotics. These challenges have increased interest in safe and sustainable alternatives, including phytogenic feed additives derived from medicinal plants and herbs. Phytogenics contain a variety of bioactive compounds and have been reported to possess antioxidant, antimicrobial, anti-inflammatory, immunomodulatory, and digestive-enhancing properties, with potential benefits for fish growth, health, and stress resistance. Among commercially cultured species, Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*) is of particular importance because of its high growth potential, early maturation, and adaptability to aquaculture conditions. However, its sensitivity to environmental and husbandry-related stress highlights the importance of appropriate nutritional and health management. Garlic (*Allium sativum*), thyme (*Thymus vulgaris*), and cumin (*Cuminum cyminum*) are medicinal plants that have been investigated for their potential growth-promoting and immunomodulatory effects in aquaculture species. Their combination in a commercial phytogenic supplement may provide complementary or synergistic effects. Therefore, this study evaluated the effects of dietary supplementation with different levels of the commercial phytogenic additive Copal, containing garlic, thyme, and cumin, on growth performance, selected innate immune indices, and hematological parameters in juvenile Siberian sturgeon.

Materials and Methods

An eight-week feeding trial was conducted using a completely randomized design to evaluate the effects of dietary Copal supplementation in juvenile Siberian sturgeon. A total of 180 fish with an initial body weight of 57.98 ± 1.46 g (mean $\pm$ standard error) were randomly distributed among twelve 2,000-L circular tanks, with 15 fish per tank. Four experimental diets were tested: a control diet without Copal (C0) and diets supplemented with 0.5% (C0.5), 1% (C1), or 2% (C2) Copal, with three replicate tanks per treatment. Experimental diets were prepared using a commercial feed (FFS1) by incorporating the powdered phytogenic additive with gelatin as a binder, followed by drying and refrigerated storage until use. Fish were fed their respective diets three times daily to apparent satiation. A flow-through water system, controlled water-quality conditions, and a 12 h light:12 h dark photoperiod were maintained throughout the experiment. Growth performance and feed-efficiency indices were assessed at four-week intervals. At the end of the trial, blood samples were collected to determine hematological parameters and selected immune-related indices, including total protein, total immunoglobulin, lysozyme activity, and alkaline phosphatase activity, using standard analytical methods. Data were tested for normality and homogeneity of variance and analyzed using one-way analysis of variance (ANOVA), followed by Tukey's post hoc test. Statistical significance was accepted at $p < 0.05$.

Results

No significant differences were observed among dietary treatments for the measured growth performance and feed-efficiency indices ($p > 0.05$), although some parameters showed non-

significant increasing trends in Copal-supplemented groups. Dietary supplementation with 0.5% Copal resulted in a significant increase in alkaline phosphatase activity compared with the control group ($p < 0.05$). In contrast, no significant differences were detected among treatments for the other measured immune indices ($p > 0.05$). Regarding hematological parameters, eosinophil percentages were significantly higher in the control and C0.5 groups than in the other treatment groups ($p < 0.05$), whereas no significant differences were observed in the other leukocyte parameters ($p > 0.05$).

Conclusion

Under the conditions of the present study, dietary Copal supplementation did not significantly affect growth performance or most of the measured immune and hematological parameters in juvenile Siberian sturgeon. However, the significant increase in alkaline phosphatase activity at the 0.5% supplementation level suggests that Copal may influence selected components of innate immunity. The absence of significant effects on growth contrasts with some previous studies reporting growth-promoting effects of individual phytogenic ingredients, including garlic and cumin, highlighting the potential influence of plant composition, fish species, supplementation level, feeding duration, and rearing conditions on the efficacy of phytogenic additives. Further studies should investigate a broader range of Copal inclusion levels, longer feeding periods, and its effects under environmental or pathogen-related stress conditions to better characterize its potential role in modulating growth, immunity, and stress responses in Siberian sturgeon.

تأثیر استفاده جیره غذایی حاوی سطوح مختلف مکمل تجاری فایتوژنیک کوپال بر عملکرد رشد، برخی شاخص‌های ایمنی غیر اختصاصی و فراسنجه‌های خونی تاسماهی سبیری (*Acipenser baerii*)

وحید دهدار^۱، میرمسعود سجادی^{۱*}، بهرام فلاحتکار^۱، محمود محسنی^۲

۱. گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه سرا، گیلان، ایران.

۲. انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، ایران.

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: مقاله پژوهشی	فایتوژنیک‌ها گروهی از افزودنی‌های گیاهی شامل اسانس‌ها، عصاره‌ها و ترکیبات فعال ثانویه گیاهان هستند که به دلیل داشتن خواص آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی و محرک ایمنی، در سال‌های اخیر به‌عنوان جایگزین مناسبی برای آنتی‌بیوتیک‌ها در تغذیه آبریان مورد توجه قرار گرفته‌اند. این پژوهش با هدف بررسی اثرات استفاده از مکمل تجاری فایتوژنیک کوپال حاوی سیر (<i>Allium sativum</i>)، آویشن (<i>Thymus vulgaris</i>) و زیره سبز (<i>Cuminum cyminum</i>) بر شاخص‌های رشد، ایمنی ذاتی و فراسنجه‌های خونی در بچه تاسماهی سبیری (<i>Acipenser baerii</i>) با وزن ابتدایی $1/46 \pm 57/98$ گرم طی یک دوره هشت هفته‌ای در ۱۲ مخزن ۵۰۰ لیتری انجام شد. در این مطالعه، چهار تیمار غذایی شامل جیره شاهد (فاقد کوپال؛ C ₀)، جیره حاوی ۰/۵ درصد (C _{0.5})، ۱ درصد (C ₁) و ۲ درصد کوپال (C ₂) در سه تکرار مورد استفاده قرار گرفتند. پس از پایان دوره پرورش، شاخص‌های رشد، ایمنی غیر اختصاصی (شامل پروتئین کل، ایمونوگلوبولین کل، فعالیت لایزوزیم و آلکالین فسفاتاز) و فراسنجه‌های خونی مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج شاخص‌های رشد تفاوت معنی‌داری بین تیمارها نشان نداد ($p > 0/05$). استفاده از کوپال در سطح ۰/۵ درصد موجب افزایش معنی‌دار فعالیت آلکالین فسفاتاز شد ($p < 0/05$)، در حالی که سایر شاخص‌های ایمنی تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد نداشتند ($p > 0/05$). در فراسنجه‌های خونی، درصد اتوزینوفیل‌ها در تیمارهای شاهد و C _{0.5} بالاتر از سایر تیمارها بود ($p < 0/05$)، در حالی که در سایر فراسنجه‌ها تغییر معنی‌داری مشاهده نشد ($p > 0/05$). به‌طور کلی، نتایج این تحقیق نشان داد که مکمل کوپال در سطح پایین‌تر (C _{0.5}) می‌تواند اثرات مثبتی بر برخی شاخص‌های ایمنی داشته باشد، اما تأثیری بر عملکرد رشد بچه تاسماهی سبیری ندارد. بنابراین، استفاده از کوپال به‌عنوان یک افزودنی گیاهی ایمن در جیره تاسماهی سبیری قابل توصیه است، هرچند برای دستیابی به اثرات پایدارتر و گسترده‌تر، انجام مطالعات تکمیلی با سطوح مختلف و در شرایط استرس‌زا، ضروری به نظر می‌رسد.
تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۱۲/۲۶	
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۱/۲۰	
تاریخ انتشار: ۱۴۰۵/۰۴/۰۱	
نویسنده مسئول: mmsajjadi@guilan.ac.ir	
کلیدواژه‌ها: آویشن، تاسماهیان، سیر، نعناع فلفلی، مکمل گیاهی، <i>Acipenser baerii</i>	

مقدمه

آبزی‌پروری در چند دهه اخیر به یکی از مؤثرترین راهکارها برای تأمین پایدار پروتئین با کیفیت بالا تبدیل شده است. طبق گزارش FAO (۲۰۲۴)، در سال ۲۰۲۴ سهم آبزی‌پروری از کل تولیدات شیلاتی جهان به حدود ۵۱ درصد رسید و برای نخستین بار از صید طبیعی فراتر رفت. این نقطه عطف، جایگاه آبزی‌پروری را به عنوان منبع اصلی تأمین ماهیان مصرفی تثبیت کرده است. رشد سریع جمعیت، محدودیت ذخایر طبیعی و نیاز به منابع غذایی مطمئن و بهداشتی، تولید پایدار در بخش آبزی‌پروری را به یکی از اولویت‌های جهانی تبدیل کرده است (Bostock *et al.*, 2010). در ایران نیز تولید ۶۴۰ هزار تن آبزی‌پروری در سال ۱۴۰۲ و افزایش آن به ۷۰۱ هزار تن در سال ۱۴۰۳ (Statistical Yearbook of the Iranian Fisheries, 2024) نشان‌دهنده رشد ۷ درصدی و همسو بودن کشور با بهبود رکوردهای جهانی تولید آبزیان بوده است.

با این حال، توسعه متراکم این صنعت با چالش‌های متعددی همراه است. بیماری‌های ویروسی، باکتریایی و انگلی و استرس‌های محیطی، رشد و بقاء را به طور جدی تحت تأثیر قرار می‌دهند (Cabello *et al.*, 2013). در گذشته، کنترل بیماری‌ها بیشتر از طریق آنتی‌بیوتیک‌ها و مواد شیمیایی انجام می‌شد، اما پیامدهای نامطلوبی مانند گسترش مقاومت آنتی‌بیوتیکی، اثرات زیست‌محیطی و باقی‌مانده‌های خطرناک در بافت ماهی را به دنبال داشت (Done *et al.*, 2015). همین چالش‌ها موجب تغییر رویکردها و توجه به راهکارهای طبیعی، ایمن و پایدار گردیده است (Ringø *et al.*, 2018).

فایتوژنیک‌ها (Phytogenics) یا افزودنی‌های گیاهی خوراکی، گروهی از ترکیبات فعال زیستی هستند که از گیاهان دارویی، ادویه‌ها یا عصاره‌های گیاهی استخراج می‌شوند و برای بهبود رشد، سلامت و کیفیت محصول در تغذیه حیوانات به کار می‌روند (Windisch *et al.*, 2008). این ترکیبات می‌توانند به شکل اسانس، عصاره خشک، پودر گیاه کامل یا ترکیب چند گیاه ارائه شوند و اثرات خود را از طریق فعالیت آنتی‌اکسیدانی، ضد میکروبی، تعدیل سیستم ایمنی و بهبود فرآیندهای گوارشی اعمال کنند (Reverter *et al.*, 2014; Ahmadifar *et al.*, 2021). طی سال‌های اخیر، استفاده از فایتوژنیک‌ها در آبزی‌پروری با هدف کاهش مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها و حرکت به سمت تولید ایمن و پایدار، گسترش چشمگیری یافته است (Citarasu, 2010). این ترکیبات می‌توانند تعادل میکروفلور روده را بهبود بخشیده، جذب مواد مغذی را افزایش دهند و در نتیجه نرخ رشد، ضریب تبدیل غذایی و مقاومت در برابر استرس را ارتقاء دهند (Platel and Srinivasan, 2004; Reverter *et al.*, 2014).

در میان گونه‌های ارزشمند پرورشی، ماهیان خاویاری جایگاه ویژه‌ای دارند. تاسماهی سبیری (*Acipenser baerii*) به دلیل ویژگی‌هایی مانند رشد سریع، بلوغ زودهنگام و سازگاری بالا با شرایط پرورشی، به یکی از گونه‌های کلیدی آبزی‌پروری تبدیل شده است (Chebanov and Galich, 2013; Falahatkar, 2018).

از میان گیاهان دارویی، سیر (*Allium sativum*) با اثرات قوی محرک ایمنی، خواص ضد میکروبی و توانایی افزایش رشد و بهبود ضریب تبدیل غذایی شناخته شده است (Nya and Austin, 2009; Metwally, 2009). آویشن (*Thymus vulgaris*) به دلیل ترکیبات فعال تیمول و کارواکرول، خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی داشته که موجب بهبود عملکرد گوارشی و ایمنی می‌شود (Burt, 2004; Zeng *et al.*, 2015). همچنین زیره سبز (*Cuminum cyminum*) با ترکیباتی مانند کومین‌آلدئید و فلاونوئیدها، دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی، ضد التهابی و تقویت‌کننده گوارش است (Platel and Srinivasan, 2004; Srinivasan, 2007).

استفاده همزمان از ترکیبات گیاهی مختلف می‌تواند اثرات هم‌افزایی ایجاد کند. مطالعات نشان داده‌اند که ترکیب آن‌ها اثرات منفردشان را تقویت کرده و منجر به بهبود رشد و ارتقای وضعیت ایمنی می‌شود (Ahmadifar et al., 2021). از آنجا که ترکیب سبیر، زیره سبز و آویشن در قالب محصول تجاری کوپال عرضه و طبق ادعای شرکت سازنده، باعث بهبود ضریب تبدیل، افزایش سیستم ایمنی، کاهش تلفات، بهبود بازدهی خوراک و افزایش سرعت رشد در آبزیان می‌شود، بررسی کاربرد آن در گونه‌هایی نظیر تاسماهی سبیری اهمیت زیادی برای پرورش دهندگان می‌تواند داشته باشد. شواهد پژوهشی نشان داده‌اند که فایتوژنیک‌ها در افزایش رشد، ارتقای فعالیت آنزیم‌های ایمنی، تقویت ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و مقاومت در برابر عوامل بیماری‌زا و استرس مؤثرند (Harikrishnan et al., 2011; Reverter et al., 2014; Dawood, 2018). از این جهت، هدف این پژوهش، بررسی تأثیر تغذیه با جیره حاوی سطوح مختلف مکمل فایتوژنیک کوپال بر عملکرد رشد و شاخص‌های ایمنی و فراسنجه‌های خونی تاسماهی سبیری بوده است.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در بخش تکثیر و پرورش انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری واقع در جوار سد سنگر (سنگر، گیلان، ایران) اجرا شد. برای تغذیه تاسماهیان سبیری جوان از خوراک FFS1 (اندازه خوراک ۲ میلی‌متر) شرکت فرادانه (شهرکرد، ایران) که آنالیز مواد مغذی آن در جدول ۱ آمده است و مکمل گیاهی کوپال از شرکت مایان هرب (یزد، ایران) استفاده شد. برای آماده سازی غذا ابتدا مکمل گیاهی کوپال به شکل پودر درآمده سپس مقدار غذا برای کل دوره آزمایش (هشت هفته) برای هر تیمار محاسبه شد و در نهایت مکمل کوپال شامل سطوح ۰/۵ (C_{0.5})، ۱ (C₁) و ۲ (C₂) درصد پودر شده به جیره توسط پودر ژلاتین و آب مقطر اضافه شد. شایان ذکر است که تیمار شاهد (بدون اضافه کردن کوپال؛ C₀) فقط با پودر ژلاتین و آب مقطر مخلوط شد، به این صورت که بر اساس روش گزارش شده توسط Ramsden و همکاران (۲۰۰۹)، برای پوشش دهی خوراک، ابتدا سوسپانسیونی حاوی ۱۰ درصد ژلاتین گاوی در آب مقطر آماده گردید. این مخلوط حرارت داده شد و پس از شفاف شدن کامل و رسیدن دما به حدود ۵۰ درجه سانتی‌گراد، مقدار ۱۰۰ میلی‌لیتر از آن به شکل پاششی (اسپری) به ازای هر کیلوگرم خوراک اعمال گردید. در مرحله نهایی، خوراک پوشش داده شده به مدت ۳ ساعت در آون با دمای ثابت ۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته، و خشک شدند. پس از خروج از خشک کن، در بسته‌های پلاستیکی ذخیره و تا زمان مصرف در یخچال و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

جدول ۱- آنالیز مواد مغذی خوراک تاسماهی سبیری (فرادانه، شهرکرد، ایران)

مواد مغذی	مقدار (درصد)
پروتئین خام	۴۸-۵۰
چربی خام	۱۲-۱۶
فیبر خام	۱-۳/۵
خاکستر	۷-۱۰
رطوبت	۶-۱۱
فسفر	۱-۱/۵

در ابتدای کار، تعداد ۱۸۰ عدد تاسماهی سبیری جوان با وزن ابتدایی $57/98 \pm 0/1$ گرم، به ۱۲ حوضچه مدور ۵۰۰ لیتری (۱۵ عدد در هر حوضچه) منتقل شدند و برای سازگاری با شرایط جدید به مدت یک هفته با غذای کنسانتره (جیره پایه) مورد تغذیه قرار گرفتند. سپس عملیات تغذیه با جیره‌های آزمایشی ذکر شده C₀، C_{0.5}، C₁ و C₂ هر کدام در سه تکرار، روزانه سه مرتبه

(ساعات ۸، ۱۳، ۱۷)، در حد اشتها، به مدت هشت هفته انجام شد. برای این آزمایش از آب چاه استفاده شد که بعد از عبور از برج هوا ده وارد بخش تکثیر مؤسسه می‌شد. همچنین سیستم جریان مستقیم (Flow Through) برای تمامی مخازن در نظر گرفته شد. عوامل فیزیکی و شیمیایی آب شامل دما با دماسنج جیوه‌ای، اکسیژن محلول با اکسیژن‌متر (WTW-823، آلمان) و pH با دستگاه pH متر (Eutech، آلمان) سنجیده شد که به ترتیب $0/33 \pm 20/21$ درجه سانتی‌گراد، $0/07 \pm 8/88$ میلی‌گرم بر لیتر و $0/02 \pm 8/03$ بود و همچنین دوره نوری به صورت ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی تنظیم شد. شایان ذکر است که در این آزمایش از طراحی کاملاً تصادفی استفاده شد.

زیست‌سنجی بچه ماهیان پس از پایان هشت هفته دوره آزمایش انجام گرفت. به منظور اندازه‌گیری وزن و طول به ترتیب از ترازوی دیجیتالی (SB-5407، محک، تهران، ایران) با دقت ۱ گرم و تخته زیست‌سنجی با دقت ۱ میلی‌متر استفاده شد. ارزیابی روند رشد، عملکرد تغذیه‌ای و بقای ماهیان با استفاده از پارامترها و رابطه‌های ۸-۱ انجام گرفت (Falahatkar, 2014).

رابطه ۱) وزن کسب شده (Weight Gain):

$$WG (g) = \text{وزن ابتدایی} - \text{وزن نهایی}$$

رابطه ۲) طول کسب شده (Length Gain):

$$LG (mm) = \text{طول ابتدایی} - \text{طول نهایی}$$

رابطه ۳) افزایش وزن بدن (Body Weight Increase):

$$BWI (\%) = \left(\frac{\text{وزن کسب شده}}{\text{وزن ابتدایی}} \right) \times 100$$

رابطه ۴) نرخ رشد ویژه (Specific Growth Rate):

$$SGR (\%/day) = \left(\frac{Ln \text{ وزن نهایی} - Ln \text{ وزن ابتدایی}}{\text{کل روزهای آزمایش}} \right) \times 100$$

رابطه ۵) میانگین رشد روزانه (Average Daily Growth):

$$ADG (g \text{ fish/day}) = \frac{\text{میزان افزایش وزن}}{\text{کل روزهای آزمایش}}$$

رابطه ۶) ضریب تبدیل غذایی (Feed Conversion Ratio):

$$FCR = \frac{\text{میزان غذای داده شده}}{\text{میزان افزایش وزن}}$$

رابطه ۷) فاکتور وضعیت (Condition Factor):

$$CF = \left[\frac{\text{وزن مرطوب}}{(\text{طول کل})^3} \right] \times 100$$

رابطه ۸) نرخ بقاء (Survival Rate):

$$SR (\%) = \left[\frac{(\text{تعداد ماهی در انتهای دوره} - \text{تعداد ماهی در ابتدای دوره})}{\text{تعداد ماهی در ابتدای دوره}} \right] \times 100$$

به منظور اندازه‌گیری برخی از شاخص‌های ایمنی و فراسنجه‌های خونی، از تعداد دو قطعه ماهی از هر تکرار به‌طور تصادفی خونگیری توسط سرنگ ۲/۵ میلی لیتری هپارینه انجام و ظرف حداکثر دو ساعت به آزمایشگاه جهت اندازه‌گیری شاخص‌های یاد شده ارسال شد. شمارش گلبول‌های قرمز و سفید خون با استفاده از لام هماسیتومتر صورت گرفت. پس از تهیه گسترش خونی، شمارش افتراقی گلبول‌های سفید بر اساس درصد لنفوسیت، ائوزینوفیل، نوتروفیل و مونوسیت انجام شد. پارامترهای متوسط حجم گلبول قرمز (MCV)، متوسط هموگلوبین گلبول قرمز (MCH) و متوسط غلظت هموگلوبین سلولی (MCHC) طبق روابط ۹-۱۱ اندازه‌گیری شدند (Klontz, 1994). به منظور تهیه سرم خون، از تعداد دو قطعه ماهی از هر تکرار به‌طور تصادفی خونگیری توسط سرنگ ۲/۵ میلی لیتری بدون ماده ضد انعقاد انجام و خون جمع‌آوری شده به مدت ۱۰ دقیقه در دستگاه سانتریفیوژ (فراست، تهران، ایران) با دور ۴۲۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شده و پس از تفکیک سرم از سلول‌های خونی، سرم جداسازی شده و به میکروتیوب‌های دیگری منتقل و تا انجام آزمایش‌های بعدی نگهداری شدند. مقادیر هماتوکریت با روش میکروهماتوکریت و غلظت هموگلوبین با روش سیانمت هموگلوبین تعیین شدند (Banaee et al., 2011).

رابطه ۹)

$$MCV (fL) = \left(\frac{\text{Hematocrit}}{\text{RBC}} \right) \times 10$$

رابطه ۱۰)

$$MCH (pg/cell) = \left(\frac{\text{Hemoglobin}}{\text{RBC}} \right) \times 10$$

رابطه ۱۱)

$$MCHC (\%) = \left(\frac{\text{Hemoglobin}}{\text{Hematocrit}} \right) \times 100$$

اندازه‌گیری پروتئین محلول بر اساس روش بیوره (Gornall et al., 1949) و با بهره‌گیری از کیت بیوره شرکت بایرکس (شیراز، ایران) انجام گرفت. برای این منظور، ۲۰ میکرولیتر از نمونه سرم با ۱۰۰۰ میکرولیتر از محلول معرف کیت مخلوط شده و سپس جذب نوری در طول موج ۵۴۶ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (Scintek Instruments LLC, Virginia, United States) اندازه‌گیری گردید. مقدار پروتئین محلول با استفاده از فرمول محاسبه استاندارد و بر حسب گرم بر دسی‌لیتر تعیین شد.

برای سنجش میزان ایمونوگلوبولین کل از روش گزارش‌شده توسط Siwicki (۱۹۹۳) استفاده گردید. بدین منظور، به هر نمونه سرم، پلی‌اتیلن گلاایکول (۶۰۰۰) با غلظت ۱۲ درصد افزوده شد. پس از انکوباسیون به مدت دو ساعت در دمای محیط، نمونه‌ها به

مدت ۱۵ دقیقه و با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردیدند و سپس غلظت پروتئین محلول در بخش مایع رویی با بهره‌گیری از روش بیوره (Gornall *et al.*, 1949) تعیین شد. برای این کار، ۲۰ میکرولیتر از نمونه با ۱۰۰۰ میکرولیتر از معرف کیت بیوره مخلوط و جذب نوری در طول موج ۵۴۶ نانومتر قرائت شد. مقدار پروتئین کل از طریق قرار دادن داده‌ها در فرمول محاسبه مربوطه بر حسب میلی‌گرم بر دسی‌لیتر محاسبه گردید. در نهایت، میزان ایمونوگلوبولین کل با تفاضل مقدار پروتئین موجود در نمونه اولیه و مقدار پروتئین پس از افزودن پلی‌اتیلن گلایکول به‌دست آمد.

فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز با استفاده از روش طیف‌سنجی و به کمک کیت تشخیصی کمی آلکالین فسفاتاز شرکت بایرکس (شیراز، ایران) اندازه‌گیری شد. سنجش‌ها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۰۵ نانومتر انجام گرفت و تغییر جذب نوری در مدت سه دقیقه برای محاسبه فعالیت آنزیم مورد استفاده قرار گرفت (Hoseinifar *et al.*, 2015).

تعیین غلظت لایزوزیم سرم خون بر اساس روش کدورت‌سنجی و طبق دستورالعمل Ellis (۱۹۹۰) انجام شد. در این روش، از باکتری لیوفیلیزه‌شده *Micrococcus luteus* به‌عنوان سوپسترا استفاده گردید. برای هر آزمون، ۳۸۰ میکرولیتر از محلول باکتری *M. luteus* (حاوی ۰/۱ میلی‌گرم از باکتری در ۵۰۰ میکرولیتر بافر فسفات سدیم ۰/۱ مولار با pH = ۶/۲) با ۲۰ میکرولیتر از نمونه سرم ترکیب شد. سپس کاهش کدورت محلول طی ۱۸۰ ثانیه در طول موج ۴۵۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری گردید و از تغییر جذب نوری برای محاسبه فعالیت لایزوزیم استفاده شد.

داده‌های ثبت شده در هر آزمایش پس از بررسی توزیع نرمال توسط آزمون Kolmogorov-Smirnov و همگنی داده‌ها با آزمون Levene، توسط آنالیز واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) آنالیز و مقایسه میانگین داده‌ها از طریق تست Tukey با سطح معنی‌داری $p < 0/05$ ارزیابی شد. برای تجزیه و تحلیل کلیه داده‌ها از نرم‌افزار SPSS (IBM SPSS Statistics V.27) و برای رسم نمودارها از برنامه Excel استفاده شد.

نتایج

نتایج مربوط به شاخص‌های رشد تاسماهی سیبری بعد از هشت هفته دوره تغذیه با سطوح مختلف مکمل کوپال در جدول ۲ آمده است. در هیچ یک از شاخص‌ها تفاوت معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد ($p > 0/05$). در انتهای دوره پرورش، تیمار C₁ در شاخص‌های وزن نهایی، WG و FCR از لحاظ عددی وضعیت بهتری داشت اما با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد.

جدول ۲- عملکرد رشد و بقای تاسماهی سیبری (*Acipenser baerii*) تغذیه شده با سطوح مختلف مکمل کوپال پس از هشت هفته پرورش. داده‌ها بر حسب میانگین ($\pm$ SE) با سه تکرار می‌باشند.

تیمارها				شاخص (واحد)
C ₂	C ₁	C _{0.5}	C ₀	
۵۸/۰۰ $\pm$ ۰/۷۰	۵۸/۲۰ $\pm$ ۰/۴۲	۵۷/۷۷ $\pm$ ۱/۶۵	۵۷/۹۳ $\pm$ ۰/۷۱	وزن ابتدایی (g)
۲۷/۸۰ $\pm$ ۰/۳۸	۲۷/۹۷ $\pm$ ۰/۰۹	۲۷/۸۰ $\pm$ ۰/۳۸	۲۸/۱۳ $\pm$ ۰/۴۷	طول ابتدایی (cm)
۲۷۴/۹۸ $\pm$ ۱۵/۳۴	۳۰۱/۹۷ $\pm$ ۱۵/۴۲	۲۶۴/۹۳ $\pm$ ۱۳/۶۲	۲۸۸/۹۳ $\pm$ ۹/۵۴	وزن نهایی (g)
۴۲/۳۶ $\pm$ ۱/۱۵	۴۳/۱۴ $\pm$ ۰/۲۱	۴۱/۴۹ $\pm$ ۰/۷۹	۴۱/۷۷ $\pm$ ۱/۵۲	طول نهایی (cm)
۰/۳۶ $\pm$ ۰/۰۱	۰/۳۸ $\pm$ ۰/۰۲	۰/۳۷ $\pm$ ۰/۰۱	۰/۴۰ $\pm$ ۰/۰۴	CF
۲۱۶/۹۸ $\pm$ ۱۴/۹۰	۲۴۳/۷۷ $\pm$ ۱۵/۸۳	۲۰۷/۱۷ $\pm$ ۱۵/۲۴	۲۳۱/۰۰ $\pm$ ۹/۴۱	WG (g)
۱۴/۵۶ $\pm$ ۱/۲۰	۱۵/۱۸ $\pm$ ۰/۳۴	۱۳/۶۹ $\pm$ ۰/۴۳	۱۳/۶۳ $\pm$ ۱/۰۸	LG (cm)
۲/۵۹ $\pm$ ۰/۰۸	۲/۷۴ $\pm$ ۰/۱۰	۲/۵۴ $\pm$ ۰/۱۳	۲/۶۸ $\pm$ ۰/۰۵	SGR _w (%/day)

0.70 ± 0.05	0.72 ± 0.01	0.67 ± 0.01	0.66 ± 0.04	SGR _L (%/day)
3.62 ± 0.25	4.06 ± 0.26	3.45 ± 0.25	3.85 ± 0.16	ADG _W (g/fish/day)
0.24 ± 0.02	0.25 ± 0.00	0.23 ± 0.01	0.23 ± 0.02	ADG _L (cm/fish/day)
$373/83 \pm 23/24$	$419/27 \pm 30/22$	$360/71 \pm 36/88$	$398/79 \pm 16/11$	BWI (%)
0.84 ± 0.06	0.75 ± 0.05	0.88 ± 0.06	0.79 ± 0.03	FCR
۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	SR (%)

C₀: جیره بدون افزودن کوپال (شاهد); C₁, C_{0.5} و C₂: به ترتیب جیره های حاوی سطوح ۰/۵، ۱ و ۲ درصد مکمل فایتوژنیک کوپال؛ CF: شاخص وضعیت؛ WG: وزن کسب شده؛ LG: طول کسب شده؛ SGR_W: نرخ رشد ویژه وزنی؛ SGR_L: نرخ رشد ویژه طولی؛ ADG_W: میانگین رشد روزانه وزنی؛ ADG_L: میانگین رشد روزانه طولی؛ BWI: افزایش وزن بدن؛ FCR: ضریب تبدیل غذایی؛ SR: نرخ بقاء

نتایج مربوط به شاخص های ایمنی غیر اختصاصی تاسماهی سیبری بعد از هشت هفته تغذیه با سطوح مختلف مکمل کوپال در جدول ۳ آمده است. در شاخص فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز تیمار C_{0.5} به طور معنی داری بیشتر از تیمار شاهد بود ($p < 0.05$) اما با تیمارهای دیگر اختلاف معنی داری نداشت ($p > 0.05$). در سایر شاخص ها نیز تفاوت معنی داری بین تیمارها مشاهده نشد ($p > 0.05$).

جدول ۳- شاخص های ایمنی تاسماهی سیبری (*Acipenser baerii*) تغذیه شده با سطوح مختلف مکمل کوپال پس از هشت هفته آزمایش. داده ها بر حسب میانگین ($\pm$ SE) با سه تکرار می باشند.

تیمارها				شاخص (واحد)
C ₂	C ₁	C _{0.5}	C ₀	
$2/38 \pm 0.15$	$2/21 \pm 0.34$	$1/91 \pm 0.24$	$2/30 \pm 0.13$	پروتئین کل (g/dl)
$388/00 \pm 55/43^{ab}$	$384/67 \pm 41/10^{ab}$	$483/67 \pm 17/21^a$	$370/00 \pm 31/95^b$	آنزیم آلکالین فسفاتاز (u/l)
$13/42 \pm 0.84$	$13/13 \pm 0.77$	$12/87 \pm 1/54$	$14/77 \pm 0.76$	ایمونوگلوبولین کل (mg/ml)
$53/33 \pm 3/07$	$51/87 \pm 8/81$	$46/73 \pm 8/49$	$56/60 \pm 1/95$	فعالیت لایزوزیم (u/ml/min)

C₀: جیره بدون افزودن کوپال (شاهد); C₁, C_{0.5} و C₂: به ترتیب جیره های حاوی سطوح ۰/۵، ۱ و ۲ درصد مکمل فایتوژنیک کوپال. حروف انگلیسی غیر مشابه در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی دار بین تیمارهای مختلف است ($p < 0.05$).

نتایج مربوط به فراسنجه های خونی تاسماهی سیبری بعد از هشت هفته تغذیه با سطوح مختلف مکمل کوپال در جدول ۴ آمده است. در شاخص مقدار اتوزینوفیل تیمارهای شاهد و C_{0.5} به طور معنی داری بیشتر از تیمارهای دیگر بودند ($p < 0.05$) اما با یکدیگر اختلاف معنی داری نداشتند ($p > 0.05$). در سایر شاخص ها نیز تفاوت معنی داری بین تیمارها مشاهده نشد ($p > 0.05$).

جدول ۴- فراسنجه های خونی تاسماهی سیبری (*Acipenser baerii*) تغذیه شده با سطوح مختلف مکمل کوپال به مدت هشت هفته. داده ها بر حسب میانگین ($\pm$ SE) با سه تکرار می باشند.

تیمارها				شاخص (واحد)
C ₂	C ₁	C _{0.5}	C ₀	
$16/27 \pm 0.68$	$17/37 \pm 0.71$	$17/40 \pm 1/21$	$15/97 \pm 0.35$	WBC ($\times 10^3/\text{mm}^3$)
0.68 ± 0.03	0.76 ± 0.04	0.71 ± 0.04	0.77 ± 0.02	RBC ($\times 10^6/\text{mm}^3$)
$5/18 \pm 0.28$	$5/11 \pm 0.32$	$4/71 \pm 0.25$	$5/11 \pm 0.14$	HB (g/dl)
$28/00 \pm 1/53$	$28/00 \pm 1/53$	$25/67 \pm 1/20$	$28/00 \pm 0.58$	HCT (%)

۳۶۲/۳۳ ± ۴/۴۱	۳۶۷/۰۰ ± ۳/۲۱	۳۶۱/۶۷ ± ۲/۹۶	۳۵۹/۳۳ ± ۷/۸۰	(fl) MCV
۶۷/۰۳ ± ۰/۷۴	۶۶/۹۰ ± ۰/۵۸	۶۶/۴۷ ± ۲/۲۰	۶۶/۶۰ ± ۰/۲۶	(pg/cell) MCH
۱۸/۴۹ ± ۰/۰۲	۱۸/۲۳ ± ۰/۱۸	۱۸/۳۵ ± ۰/۱۱	۱۸/۳۱ ± ۰/۲۰	(g/dl) MCHC
۸۲/۶۷ ± ۱/۲۰	۸۰/۰۰ ± ۲/۰۰	۷۷/۳۳ ± ۲/۴۰	۸۲/۰۰ ± ۱/۷۳	لنفوسیت (%)
۱۰/۶۷ ± ۰/۶۷	۱۳/۶۷ ± ۱/۷۶	۱۷/۰۰ ± ۲/۵۲	۱۰/۳۳ ± ۰/۸۸	نوتروفیل (%)
۶/۶۷ ± ۱/۲۰	۶/۳۳ ± ۱/۳۳	۵/۰۰ ± ۱/۰۰	۷/۰۰ ± ۰/۵۸	مونوسیت (%)
۰/۰۰ ± ۰/۰۰ ^b	۰/۰۰ ± ۰/۰۰ ^b	۰/۶۷ ± ۰/۶۷ ^a	۰/۶۷ ± ۰/۳۳ ^{ab}	اُتوزینوفیل (%)

C₀: جیره بدون افزودن کوپال (شاهد); C₁, C_{0.5} و C₂: به ترتیب جیره‌های حاوی سطوح ۰/۵، ۱ و ۲ درصد مکمل فایتوژنیک کوپال؛ WBC: تعداد گلبول‌های سفید؛ RBC: تعداد گلبول‌های قرمز؛ HB: غلظت هموگلوبین؛ HCT: هماتوکریت؛ MCV: حجم متوسط گلبولی؛ MCH: مقدار متوسط هموگلوبین در هر گلبول؛ MCHC: غلظت متوسط هموگلوبین گلبولی. حروف انگلیسی غیر مشابه در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای مختلف است (p < ۰/۰۵).

بحث

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که افزودن مکمل فایتوژنیک کوپال در طول دوره آزمایش تأثیر معنی‌داری بر شاخص‌های رشد بچه تاسماهی سبیری نداشت. شاخص‌هایی نظیر وزن نهایی، وزن کسب‌شده، نرخ رشد ویژه، میانگین رشد روزانه، شاخص وضعیت و ضریب تبدیل غذایی تفاوت قابل توجهی میان تیمارها نشان ندادند. هرچند تیمار حاوی ۱ درصد کوپال از نظر عددی در برخی شاخص‌ها از جمله وزن نهایی و ضریب تبدیل غذایی عملکرد بهتری نسبت به سایر تیمارها داشت، اما این اختلاف معنی‌دار نبود. بنابراین، می‌توان نتیجه گرفت که استفاده از کوپال در شرایط حاضر اثر بارزی بر رشد این گونه خاویاری ایجاد نکرده است.

مکانیسم اثر فایتوژنیک‌ها شامل تحریک ترشح آنزیم‌های گوارشی، افزایش طول و تراکم پرزهای روده، تقویت تولید موکوس و کنترل پاسخ‌های التهابی از طریق مسیرهای سیگنال دهی سلولی مانند NF-κB است، اما به علت شرایط پرورشی پایدار، اثرات فایتوژنیک‌ها ممکن است کمتر آشکار شود و عمدتاً در شرایط تنش یا در گونه‌های سریع‌الرشد نمود بیشتری داشته باشد همچنین با توجه به تنوع گیاهان دارویی و ترکیبات فعال آن‌ها، امکان عدم تأثیر مثبت بر عملکرد رشد وجود دارد (Firmino et al., 2021). به‌عنوان نمونه، Ghobadi و همکاران (۲۰۱۴) در بررسی اثر مکمل فایتوژنیک Biomin P.E.P بر بچه ماهی امور (*Ctenopharyngodon idella*)، تأثیر معنی‌داری بر شاخص‌های رشد و بقاء مشاهده نکردند. همچنین Azizi و همکاران (۲۰۱۶) در قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) گزارش کردند که استفاده از اسانس آویشن تغییر معنی‌داری در رشد ایجاد نکرد، هرچند برخی شاخص‌های ایمنی بهبود یافت. نتایج مشابهی توسط Gholitabar و همکاران (۲۰۱۹) در کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) نیز ارائه شد که نشان دادند افزودن عصاره آویشن اثر قابل توجهی بر رشد نداشت، اما در شرایط تنش شوری موجب بهبود برخی شاخص‌های خونی گردید.

یافته‌های این تحقیق با نتایج برخی مطالعات پیشین که اثرات مثبت فایتوژنیک‌ها را بر رشد ماهیان گزارش کرده‌اند، همخوانی ندارد. به‌عنوان مثال، Golomazou و همکاران (۲۰۲۳) نشان دادند که مکمل‌های حاوی تیمول و کارواکرول در ماهی شانک سرطلایی (*Sparus aurata*) موجب افزایش وزن و کاهش FCR شدند. همچنین، Gruber و همکاران (۲۰۲۵) در ماهی تیلاپپای نیل (*Oreochromis niloticus*) گزارش کردند که مصرف دوز بالای فایتوژنیک‌ها رشد و کارایی غذایی را بهبود بخشید. Firmino و همکاران (۲۰۲۱) نیز در یک مقاله مروری تأکید کردند که فایتوژنیک‌ها از طریق بهبود سلامت روده، افزایش جذب مواد مغذی و کاهش بار میکروبی می‌توانند رشد ماهی را ارتقاء دهند.

در مورد اثرات مثبت گیاهان دارویی بر رشد ماهیان، Nobahar و همکاران (۲۰۱۳) در فیل‌ماهی (*Huso huso*) نشان دادند که افزودن ۱/۵ درصد پودر سیر به جیره سبب افزایش معنی‌دار شاخص‌های رشد و کاهش ضریب تبدیل غذایی گردید. Yegane

Rastekenari و همکاران (۲۰۱۷) نیز گزارش کردند که استفاده از سطوح ۱ و ۱/۵ درصد پودر سیر بهترین عملکرد رشد را در بچه تاسماهی سبیری به همراه داشت. همچنین Chitsaz و همکاران (۲۰۱۸) در فیل ماهی جوان بهبود معنی دار وزن بدن و برخی شاخص های ایمنی را در پی افزودن ۱/۵ درصد پوست سیر گزارش کردند. در پژوهشی دیگر، Razaghi و همکاران (۲۰۲۳) نشان دادند که استفاده از ۲ درصد پودر سیر در جیره های حاوی ضایعات طیور موجب افزایش رشد و کاهش ضریب تبدیل غذایی در فیل ماهی انگشت قد شد. این نتایج به روشنی بیانگر نقش مثبت سیر در بهبود رشد تاسماهیان است، هرچند میزان دوز مصرفی نقش تعیین کننده ای دارد. Razavi Amri و همکاران (۲۰۲۱) افزایش وزن نهایی و بهبود FCR را در کپور معمولی پس از مصرف آویشن گزارش کردند. Pourmozaaffar و همکاران (۲۰۲۱) نیز تأثیر مثبت آویشن بر رشد و تحریک اشتها در ماهی کلمه (*Rutilus rutilus*) را نشان دادند. Sharif Rohani و همکاران (۲۰۱۳) در تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) نشان دادند که اسانس آویشن اثر معنی داری بر رشد نداشت، اما برخی شاخص های خونی و سرمی تغییر یافتند. این یافته مشابه بسیاری از گزارش های داخلی است که تأکید می کنند اثرات آویشن بیشتر در شرایط استرس یا بر شاخص های ایمنی آشکار می شود. همچنین، Jahanbakhshi و همکاران (۲۰۲۱) و Jafari و Rezaei (۲۰۲۲) اثرات مثبت سیر را بر شاخص های رشد در ماهی کپور معمولی و تیلاپای نیل تأیید کردند. در خصوص زیره سبز نیز، Mousavi و همکاران (۲۰۱۹) و Nazdar و همکاران (۲۰۲۴) بهبود رشد در کپور معمولی و قزل آلائی رنگین کمان را گزارش نمودند.

علاوه بر این، مطالعاتی نیز به بررسی مکمل های گیاهی ترکیبی پرداخته اند. Poolsawat و همکاران (۲۰۲۲) نشان دادند که مکمل فایتوژنیک ترکیبی شامل *Eucommia ulmoides*, *Astragalus membranaceus*, *Lonicera japonica* و *Codonopsis pilosula* در تیلاپای هیبرید (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*) موجب بهبود وزن نهایی، ضریب تبدیل غذایی و تقویت ایمنی گردید. این نتایج با یافته های Taati و Pajand (۲۰۲۴) در تاسماهی سبیری همخوانی دارد که گزارش کردند مکمل بیوهربال در سطح سه گرم بر کیلوگرم بهترین اثر را بر رشد و ایمنی ایجاد نمود.

برآیند این شواهد بیانگر آن است که اثرگذاری فایتوژنیک ها به شدت وابسته به گونه، سطح مصرف و شرایط پرورشی است. دوز مصرفی عامل تعیین کننده ای به شمار می رود، به گونه ای که سیر در سطوح ۱ تا ۱/۵ درصد اثرات مثبت بر رشد نشان داده است (Shalaby et al., 2006; Yegane Rastekenari et al., 2017)، اما در سطوح بالاتر ممکن است اثرات خنثی یا حتی منفی داشته باشد (Ndong and Fall, 2011). علاوه بر این، شرایط پرورشی نیز عاملی کلیدی است، به گونه ای که در محیط های پایدار و بدون استرس، اثرات مثبت افزودنی های گیاهی کمتر آشکار می شود، در حالی که در شرایط استرس زا مانند تراکم بالا یا تغییرات کیفیت آب، این اثرات برجسته تر می گردند (Van Hai, 2015). همچنین مدت زمان آزمایش نیز تأثیر گذار است، چرا که برخی مطالعات نشان داده اند اثرات فایتوژنیک ها در دوره های طولانی تر آشکارتر می شوند (Abbas et al., 2023). از سوی دیگر، تفاوت های گونه ای نیز در پاسخ به مکمل های گیاهی نقش مهمی دارند. گونه های گرمابی مانند تیلاپا معمولاً پاسخ سریع تر و آشکارتری به فایتوژنیک ها نشان می دهند، در حالی که گونه هایی که در آب های با دمای پایین تر زندگی می کنند همچون تاسماهیان واکنش ضعیف تر و کندتری دارند (Yigit, 2024). Dorojan و همکاران (۲۰۱۵) نیز در قزل آلائی رنگین کمان نشان دادند که اثر مکمل های گیاهی در گونه های با متابولیسم بالا بیشتر بروز می کند. ترکیب خاص مکمل نیز عاملی تعیین کننده در اثربخشی آن است. در برخی موارد، ترکیب چندین گیاه می تواند اثرات هم افزایی (سینرژیک) داشته باشد، اما در مواردی نیز منجر به خنثی سازی

اثرات یکدیگر می‌شود (Muahiddah, 2021). Mitra (۲۰۲۲) نیز تأکید کرده است که طراحی علمی ترکیب گیاهان در مکمل‌های فایتوژنیک برای دستیابی به بیشترین کارایی ضروری است.

نتایج این پژوهش نشان داد که استفاده از مکمل فایتوژنیک کوپال در جیره بچه تاسماهی سبیری طی هشت هفته پرورش، تأثیر محدودی بر شاخص‌های ایمنی غیر اختصاصی داشت. بر اساس داده‌های کسب شده، تنها در شاخص فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز، تیمار C_{0.5} به‌طور معنی‌داری بالاتر از تیمار شاهد بود، در حالی که با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری نداشت. در سایر شاخص‌ها شامل پروتئین کل، ایمونوگلوبولین کل و فعالیت لایزوزیم، تفاوت معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد. این موضوع نشان می‌دهد که کوپال در شرایط حاضر تنها در سطح پایین (۵٪) توانسته است موجب تحریک بخشی از پاسخ‌های ایمنی غیر اختصاصی شود و اثر آن در سطوح بالاتر آشکار نشده است. علت افزایش معنی‌دار آلکالین فسفاتاز در تیمار C_{0.5} را می‌توان به مکانیسم‌های فیزیولوژیک مرتبط با این آنزیم نسبت داد. آلکالین فسفاتاز یکی از آنزیم‌های کلیدی در متابولیسم فسفات و تنظیم فرآیندهای ایمنی است که در سطح غشای سلول‌های ایمنی و بافت‌های مختلف از جمله کبد و روده بیان می‌شود. افزایش فعالیت این آنزیم معمولاً به‌عنوان شاخصی از تحریک سیستم ایمنی ذاتی و افزایش فعالیت فاگوسیتی در نظر گرفته می‌شود (Ndong and Fall, 2011).

ترکیبات فایتوژنیک موجود در کوپال، شامل فنول‌ها، فلاونوئیدها و اسانس‌های گیاهی، می‌توانند از طریق اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی موجب تحریک مسیرهای سیگنال‌دهی ایمنی شوند. در سطح پایین‌تر (۵٪)، این ترکیبات احتمالاً در حدی بوده‌اند که از طریق فعال‌سازی مسیرهای سیگنالینگ داخل سلولی مانند MAPK و PI3K/Akt، باعث افزایش تولید پروتئین‌های آنزیمی از جمله آلکالین فسفاتاز می‌شوند. علاوه بر این، این ترکیبات با دارا بودن خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی، از آسیب اکسیداتیو به سلول‌های کبدی جلوگیری کرده و محیط مناسب‌تری برای فعالیت آنزیمی فراهم می‌کنند. در حالی که در سطوح بالاتر ممکن است به دلیل اثرات بازدارنده یا ایجاد تعادل منفی در متابولیسم، پاسخ ایمنی به‌طور معنی‌دار افزایش نیافته است (Citarasu, 2010; Van Hai, 2015). Yegane Rastekenari و همکاران (۲۰۱۷) در بچه تاسماهی سبیری نشان دادند که سطوح ۱ و ۱/۵ درصد پودر سیر موجب افزایش معنی‌دار لایزوزیم و ایمونوگلوبولین کل شد، اما در سطوح بالاتر اثرات کمتری مشاهده شد. Nobahar و همکاران (۲۰۱۳) در فیل‌ماهی گزارش کردند که افزودن ۱/۵ تا ۲ درصد پودر سیر موجب افزایش معنی‌دار تعداد گلبول‌های سفید و هموگلوبین شد. در مطالعه‌ای دیگر، Hashoshi و همکاران (۲۰۱۷) در کپور معمولی نشان دادند که افزودن ۵ درصد پودر سیر موجب افزایش هماتوکریت و هموگلوبین شد، اما در برخی شاخص‌ها تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد نداشت. Chitsaz و همکاران (۲۰۱۸) نیز در فیل‌ماهی جوان گزارش کردند که افزودن ۱/۵ درصد پوست سیر موجب افزایش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز شد. Razaghi و همکاران (۲۰۲۳) در فیل‌ماهی انگشت‌قد نشان دادند که افزودن ۲ درصد پودر سیر به جیره‌های حاوی ضایعات طیور موجب بهبود شاخص‌های ایمنی و کاهش ضریب تبدیل غذایی شد. این نتایج نشان می‌دهد که سیر در گونه‌های مختلف می‌تواند موجب تحریک شاخص‌های ایمنی شود، هرچند دوز مصرفی نقش تعیین‌کننده دارد. Shalaby و همکاران (۲۰۰۶) در تیلاپای نیل نشان دادند که افزودن سیر موجب افزایش تعداد گلبول‌های قرمز و هموگلوبین و همچنین کاهش بار باکتریایی در آب و بافت‌ها شد. Diab و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند که افزودن ۱ تا ۳ درصد سیر موجب کاهش مرگ‌ومیر و افزایش فعالیت نیتروبلو تترازولیوم در تیلاپای نیل شد. Fall و Ndong (۲۰۱۱) نشان دادند که افزودن ۵٪ درصد سیر موجب افزایش تعداد لکوسیت‌ها، فعالیت فاگوسیتی و لایزوزیم در تیلاپای هیبرید شد، در حالی که در سطح ۱ درصد اثرات

کمتری مشاهده گردید. Talpur و Ikhwanuddin (۲۰۱۲) در باس آسیایی (*Lates calcarifer*) گزارش کردند که افزودن ۱۰ گرم سیر بر کیلوگرم جیره موجب افزایش گلبول‌های قرمز، لکوسیت‌ها، همتوکریت، هموگلوبین، فعالیت فاگوسیتی، لایزوزیم و پروتئین‌های سرمی شد. این یافته‌ها تأیید می‌کنند که گیاهان دارویی می‌توانند از طریق تحریک فعالیت آنزیم‌ها و سلول‌های ایمنی، مقاومت ماهی را در برابر عوامل بیماری‌زا افزایش دهند.

نتایج این پژوهش نشان داد که استفاده از مکمل فایتوژنیک کوپال در جیره بچه تاسماهی سبیری پس از هشت هفته پرورش، تأثیر معنی‌داری بر اغلب شاخص‌های هماتولوژیک نداشت. بر اساس داده‌های به‌دست آمده، تنها در شاخص میزان ائوزینوفیل اختلاف معنی‌داری بین تیمارها مشاهده شد، به‌طوری‌که تیمار شاهد و $C_{0.5}$ مقادیر بالاتری نسبت به تیمارهای C_1 و C_2 داشتند، اما بین این دو تیمار اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. در سایر شاخص‌ها شامل تعداد گلبول‌های سفید، تعداد گلبول‌های قرمز، غلظت هموگلوبین، همتوکریت، حجم متوسط گلبولی، مقدار متوسط هموگلوبین در هر گلبول، غلظت متوسط هموگلوبین گلبولی و درصد نوتروفیل‌ها و لنفوسیت‌ها، تفاوت معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد. این نتایج نشان می‌دهد که کوپال در شرایط حاضر اثر بارزی بر شاخص‌های هماتولوژیک نداشته و تنها در سطح پایین‌تر (۰/۵ درصد) موجب حفظ سطح ائوزینوفیل در حد مشابه تیمار شاهد شده است.

افزایش یا کاهش ائوزینوفیل‌ها معمولاً به‌عنوان شاخصی از واکنش‌های التهابی و پاسخ به عوامل انگلی یا آلرژیک در نظر گرفته می‌شود (Hrubec and Smith, 2010). در این پژوهش، کاهش معنی‌دار ائوزینوفیل‌ها در تیمارهای C_1 و C_2 نسبت به $C_{0.5}$ و عدم تفاوت معنی‌دار با تیمار شاهد می‌تواند بیانگر آن باشد که مصرف سطوح بالاتر کوپال احتمالاً موجب کاهش تحریک مسیرهای التهابی یا تعدیل پاسخ‌های ایمنی مرتبط با ائوزینوفیل‌ها شده است. اما از طرفی دیگر تفاوت معنی‌داری بین تیمار شاهد و $C_{0.5}$ مشاهده نشد. در این مورد، Hashoshi و همکاران (۲۰۱۷) در کپور معمولی نشان دادند که افزودن سطوح مختلف پودر سیر موجب تغییرات غیرمعنی‌دار در درصد ائوزینوفیل‌ها شد، در حالی که سایر فراسنجه‌های خونی مانند همتوکریت و هموگلوبین تحت تأثیر قرار گرفتند.

Fall و Ndong (۲۰۱۱) در تیلاپای هیبرید نشان دادند که افزودن نیم درصد سیر موجب افزایش تعداد لکوسیت‌ها و فعالیت فاگوسیتی شد، اما تغییر معنی‌داری در درصد ائوزینوفیل‌ها مشاهده نشد. Talpur و Ikhwanuddin (۲۰۱۲) در باس آسیایی گزارش کردند که افزودن سیر موجب افزایش گلبول‌های قرمز، لکوسیت‌ها و همتوکریت شد، اما تغییرات در ائوزینوفیل‌ها چندان بارز نبود. Shalaby و همکاران (۲۰۰۶) نیز در تیلاپای نیل نشان دادند که افزودن سیر موجب بهبود شاخص‌های خونی مانند هموگلوبین و گلبول‌های قرمز شد، اما اثر مشخصی بر ائوزینوفیل‌ها گزارش نکردند. این یافته‌ها نشان می‌دهد که ائوزینوفیل‌ها نسبت به سایر شاخص‌های خونی کمتر تحت تأثیر مستقیم افزودنی‌های گیاهی قرار می‌گیرند و تغییرات آن‌ها بیشتر به شرایط التهابی یا عفونت‌های انگلی وابسته است. از نظر فیزیولوژیک و مکانیسمی، ترکیبات فعال موجود در فایتوژنیک‌ها می‌توانند از طریق اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی موجب تعدیل پاسخ‌های ایمنی شوند. فلاونوئیدها و فنول‌های گیاهی با کاهش تولید رادیکال‌های آزاد و مهار مسیرهای التهابی مانند NF- κ B می‌توانند موجب کاهش فعالیت ائوزینوفیل‌ها شوند (Reverter et al., 2014). همچنین ترکیباتی مانند آلبسین موجود در سیر می‌توانند با اثر بر بیان ژن‌های مرتبط با سیتوکین‌ها، موجب تغییر در تعادل بین سلول‌های ایمنی مختلف شوند (Talpur and Ikhwanuddin, 2012). بنابراین کاهش ائوزینوفیل‌ها در تیمارهای C_1 و C_2 می‌تواند ناشی از اثرات ضدالتهابی ترکیبات کوپال باشد که در سطوح بالاتر بیشتر بروز کرده است. بررسی مجموعه این مطالعات نشان می‌دهد که اثرگذاری فایتوژنیک‌ها بر شاخص‌های هماتولوژیک به شدت وابسته به گونه، دوز و شرایط پرورشی است. همچنین دوز مصرفی نقش کلیدی

دارد، به گونه‌ای که در این پژوهش تنها در سطح ۰/۵ درصد کوپال سطح ائوزینوفیل مشابه شاهد حفظ شد، در حالی که در سطوح بالاتر کاهش معنی‌داری مشاهده گردید.

نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق نشان داد که افزودن فایتوژنیک کوپال به جیره غذایی بچه‌تاسماهی سیبری تأثیر معنی‌داری بر شاخص‌های رشد نداشت که می‌تواند به شرایط پایدار پرورشی و متابولیسم نسبتاً کند تاسماهیان سیبری نسبت داده شود. در بررسی شاخص‌های ایمنی، تیمار حاوی ۰/۵ درصد کوپال توانست فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز را به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه شاهد افزایش دهد، اما سایر شاخص‌های ایمنی شامل پروتئین کل، ایمونوگلوبولین کل و فعالیت لایزوزیم تفاوت معنی‌داری نشان ندادند. در فراسنجه‌های خونی نیز تنها درصد ائوزینوفیل‌ها در تیمارهای یک و دو درصد کاهش معنی‌داری نسبت به شاهد داشت که احتمالاً ناشی از اثرات ضدالتهابی ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی موجود در کوپال و مهار مسیر التهابی NF-κB است. مقایسه با مطالعات پیشین نشان می‌دهد اثربخشی فایتوژنیک‌ها به عوامل متعددی از جمله دوز مصرفی (با رابطه آستانه‌ای)، شرایط پرورشی، ویژگی‌های گونه‌ای و ترکیب شیمیایی مکمل وابسته است. در مجموع، مکمل کوپال اثرات محدودی بر شاخص‌های مورد بررسی داشته، اما افزایش آلکالین فسفاتاز در سطح ۰/۵ درصد و کاهش ائوزینوفیل‌ها در سطوح بالاتر، بیانگر پتانسیل آن برای تعدیل پاسخ‌های ایمنی و التهابی است. پیشنهاد می‌شود تحقیقات آتی در شرایط تنش‌زا و دوره‌های طولانی‌تر انجام شده و مکانیسم‌های مولکولی مؤثر بر ایمنی و ساختار بافت‌شناسی روده نیز بررسی گردد.

ملاحظات اخلاقی

این پژوهش کد اخلاق به شماره IR.GUILAN.REC.1404.042 را از کمیته اخلاق دانشگاه گیلان دریافت کرده است. نویسندگان اصول اخلاقی را در انجام و انتشار این پژوهش علمی رعایت نموده‌اند و این موضوع مورد تأیید همه آن‌هاست.

سپاسگزاری

بدینوسیله از آقای مهندس شهرام فدائیان ریاست محترم شرکت مایان هرب به علت کمک بی چشم‌داشت در امر پژوهش، همچنین جناب آقای مهندس هوشنگ یگانه و سایر کارکنان انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری به دلیل حمایت و مساعدت بی‌دریغشان، تشکر و قدردانی نموده و از آقای مهندس ملکی بابت کمک در انجام آزمایش‌ها کمال تشکر را داشته و از سایر عزیزانی که در این پژوهش ما را یاری نمودند، سپاسگزاریم.

References

- Abbas, S., Iqbal, A., Anwari, S., Ali, K., Riaz, A., Ayub, A., Nasir, M.F., Amjad, R. and Saleem, M. 2023. Immuno-stimulating actions of garlic (*Allium sativum*) on haemato-immunological parameters, intestinal micro-flora and growth performance in *Labeo rohita* (Rohu). Journal of Population Therapeutics and Clinical Pharmacology, 30(19), pp. 135-150. <http://dx.doi.org/10.53555/jptcp.v30i19.3612>
- Ahmadifar, E., Fallah, H.P., Yousefi, M., Dawood, M.A.O., Hoseinifar, S.H., Adineh, H., Yilmaz, S., Paolucci, M. and Van Doan, H. 2021. The gene regulatory roles of herbal extracts on the growth, immune system, and reproduction of fish. Animals: An Open Access Journal from MDPI, 11(8), p. 2167.
- Azizi, E., Yeganeh, S., Firouzbakhsh, F. and Janikhalili, K. 2016. Effects of dietary supplemental thyme essence (*Thymus vulgaris* L.) on growth, hematological and serum biochemical parameters of

- rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792). Journal of Applied Ichthyological Research, 4(2), pp. 45-61. <http://jair.gonbad.ac.ir/article-1-304-fa.html> (in Persian).
- Banaee, M., Sureda, A., Mirvaghefi, A.R. and Rafei, G.R. 2011. Effects of long-term silymarin oral supplementation on the blood biochemical profile of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Fish Physiology and Biochemistry, 37(4), pp. 885-896. <https://doi.org/10.1007/s10695-011-9486-z>
- Bostock, J., McAndrew, B., Richards, R., Jauncey, K., Telfer, T., Lorenzen, K., Little, D., Ross, L., Handisyde, N., Gatward, I. and Corner, R. 2010. Aquaculture: Global status and trends. Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences, 365(1554), pp. 2897-2912. <https://doi.org/10.1098/rstb.2010.0170>
- Burt, S. 2004. Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods - A review. International Journal of Food Microbiology, 94(3), pp. 223-253. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022>
- Cabello, F.C., Godfrey, H.P., Tomova, A., Ivanova, L., Dölz, H., Millanao, A. and Buschmann, A.H. 2013. Antimicrobial use in aquaculture re-examined: its relevance to antimicrobial resistance and to animal and human health. Environmental Microbiology, 15(7), pp. 1917-1942. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.12134>
- Chebanov, M. and Galich, A. 2013. Sturgeon hatchery manual. FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper 558, Food and Aquaculture Organization of the United Nations. Ankara. 325 p.
- Chitsaz, H., Ouraji, H., Keramat Amirkolaie, A. and Akrami, R. 2018. Effect of garlic peel on growth and non-specific immune response of juvenile great sturgeon *Huso huso* (Linnaeus, 1754). Journal of Applied Ichthyological Research, 5(4), pp. 101-114. <http://jair.gonbad.ac.ir/article-1-508-fa.html> (in Persian).
- Citarasu, T. 2010. Herbal biomedicines: A new opportunity for aquaculture industry. Aquaculture International, 18(3), pp. 403-414.
- Dawood, M.A.O. 2018. Nutritional immunity of fish intestines: Important insights for sustainable aquaculture. Reviews in Aquaculture, 13(1), pp. 642-663. <https://doi.org/10.1111/raq.12492>
- Diab, A.S., Aly, S.M., John, G., Abde-Hadi, Y. and Mohammed, M.F. 2008. Effect of garlic, black seed and Biogen as immunostimulants on the growth and survival of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (Teleostei: Cichlidae), and their response to artificial infection with *Pseudomonas fluorescens*. African Journal of Aquatic Science, 33(1), pp. 63-68. <http://dx.doi.org/10.2989/AJAS.2007.33.1.7.391>
- Done, H.Y., Venkatesan, A.K. and Halden, R.U. 2015. Does the recent growth of aquaculture create antibiotic resistance threats different from those associated with land animal production in agriculture? The AAPS Journal, 17(3), pp. 513-524. <https://doi.org/10.1208/s12248-015-9722-z>
- Dorojan, O.G., Cristea, V., Cretu, M., Coadă, M.T., Dediu, L., Grecu, I.R. and Plăcintă, S. 2015. Effect of thyme (*Thymus vulgaris*) and vitamin E on growth performance and body composition of *Acipenser stellatus* juveniles. Aquaculture, Aquarium, Conservation & Legislation, 8(2), pp. 194-201.
- Ellis, A.E. 1990. Lysozyme assays. In: Stolen, J.S., Fletcher, T.C., Anderson, D.P., Robertson, B.S. and Van Muiswinkel, W.B. (eds.). Techniques in fish immunology. Fair Haven, USA: SOS Publication, pp. 101-103.

- Falahatkar, B. 2018. Nutritional requirements of the Siberian sturgeon: an updated synthesis. In: Williot, P., Nonnotte, G., Vizziano-Cantonnet, D. and Chebanov, M. (eds.). The Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*, Brandt, 1869) Vol. 1 Biology. Springer International Publishing, Cham, pp. 207-228.
- Falahatkar, B. 2014. Feeding and feed formulation in aquatic organisms. Jihad Agriculture. Tehran. 334 p. (in Persian).
- FAO. 2025. *Acipenser baerii* Brandt, 1869. In: Fisheries and Aquaculture. [Cited Monday, January 20th 2025]. <https://www.fao.org/fishery/en/aqspecies/2879/en>
- Firmino, J.P., Galindo-Villegas, J., Reyes-López, F.E. and Gisbert, E. 2021. Phytogetic bioactive compounds shape fish mucosal immunity. *Frontiers in Immunology*, 12, p. 695973. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.695973>
- Ghobadi, S., Manuchehri, H. and Talebzade Hoseini, S.M. 2014. Effect of dietary phytogetic combination (Biomim P.E.P 1000) on growth performance, nutrition and survival rate of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) fry. *Journal of Natural Resources Research*, 5(3), pp. 1-12. (in Persian).
- Gholitabar, R., Jafari, V. and Mazandarani, M. 2019. Nutritional effects of hydroalcoholic extract of thyme (*Thymus vulgaris*) on growth performance and some blood parameters of juvenile common carp (*Cyprinus carpio*) exposed to salinity stress. *Journal of Applied Ichthyological Research*, 7(4), pp. 79-91. <http://jair.gonbad.ac.ir/article-1-440-fa.html> (in Persian).
- Golomazou, E., Antoniadou, E., Karapanagiotidis, I.T. and Panagiotaki, P. 2023. Phytogetic feed additive supplemented diets as welfare promoters under acute and chronic stress factors in gilthead seabream. *Journal of Aquaculture Research & Development*, 14(7), pp. 776-792. <https://dx.doi.org/10.35248/2155-9546.23.14.776>
- Gornall, A.G., Bardawill, C.J. and David, M. M. 1949. Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *Journal of Biological Chemistry*, 177(2), pp. 751-766.
- Gruber, C., Ocelova, V., Kesselring, J.C. and Wein, S. 2025. Phytogetic feed additives as a sustainable alternative to antibiotics: Enhancing growth and disease resistance in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Animals*, 15(3), 380. <https://doi.org/10.3390/ani15030380>
- Harikrishnan, R., Balasundaram, C. and Heo, M.S. 2011. Impact of plant products on innate and adaptive immune system of cultured finfish and shellfish. *Aquaculture*, 317(1-4), 1-15.
- Hashoshi, M., Mousavi, S.M., Yavari, V. and Hosseini, S.M. 2017. Hematological effects of using garlic as a supplementary food in common carp. *International Conference on Agricultural Sciences, Medicinal Plants and Traditional Medicine*, Mashhad, Iran. (in Persian).
- Hoseinifar, S.H., Roosta, Z., Hajimoradloo, A. and Vakili, F. 2015. The effects of *Lactobacillus acidophilus* as feed supplement on skin mucosal immune parameters, intestinal microbiota, stress resistance and growth performance of black swordtail (*Xiphophorus helleri*). *Fish and Shellfish Immunology*, 42(2), pp. 533-538. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fsi.2014.12.003>
- Hrubec, T.C. and Smith, S.A. 2010. Hematology of fish. In: Weiss, D.J. and Wardrop, K.J. (eds.). *Schalm's Veterinary Hematology* (6th ed.). Wiley-Blackwell. pp. 994-1002.
- Jafari, V. and Rezaei, M.M. 2022. An investigation on the relationship between food additives and fish stress. *Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics*, 11(2), pp. 11-35. (in Persian).
- Jahanbakhshi, A., Erfanifar, E., Pourmozaffar, S., Ajdari, A. and Tamadoni Jahromi, S. 2021. Effect of garlic (*Allium sativum*) essential oil in diet on growth performance, biochemical and hematological

- parameters of goldfish (*Carassius auratus*). Aquatic Physiology and Biotechnology, 9(2), pp. 87-106. <https://doi.org/10.22124/japb.2021.18296.1404> (in Persian).
- Klontz, G.W. 1994. Fish hematology. In: Stolen, J.S., Fletcher, T.C., Rowley, A.F., Kelikoff, T.C., Kaatari, S.L. and Smith, S.A. (eds.). Techniques in fish immunology. Vol. 3. SOS Publications, Fair Haven, New Jersey, USA. pp. 121-132.
- Metwally, M.A.A. 2009. Effects of garlic (*Allium sativum*) on some antioxidant activities in tilapia (*Oreochromis niloticus*). World Journal of Fish and Marine Sciences, 1(1), pp. 56-64.
- Mitra, A.K. 2022. Chemistry and biomedical applications of cumin and turmeric: A review, challenge and perspective. Chemistry Africa, 5(5), pp. 1191-1213. <https://doi.org/10.1007/s42250-022-00410-8>
- Mousavi, S.M., Ghaeidi, F., Zanguee, N. and Zakeri, M. 2019. Effects of different level of cumin (*Cuminum cyminum*) extract on growth performance and nutritional indexes of juveniles of *Cyprinus carpio*. Experimental Animal Biology, 8(2), pp. 23-34. <https://doi.org/10.30473/eab.2019.6202> (in Persian).
- Muahiddah, N. 2021. The use of garlic (*Allium sativum*) as an immunostimulant in aquaculture. Journal of Fisheries and Halalness, 3(1), pp. 1-10. <https://doi.org/10.29303/jfh.v3i1.2751>
- Nazdar, N., Imani, A., Abtahi Froushani, S.M., Farzaneh, M. and Sarvi Moghanlou, K. 2024. Effects of combination of turmeric and thyme hydro-alcoholic extracts on growth, nutritional indices, digestive and antioxidant enzymes activity of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Journal of Fisheries, 77(2), pp. 107-121. <https://doi.org/10.22059/jfisheries.2024.364142.1402> (in Persian).
- Ndong, D. and Fall, J. 2011. The effect of garlic (*Allium sativum*) on growth and immune responses of hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* × *Oreochromis aureus*). Journal of Clinical Immunology and Immunopathology Research, 3(1), pp. 1-9.
- Nobahar, Z., Gholipour Kanani, H. and Jafarian, H.O. 2013. Effect of garlic powder on hematological parameters and growth performance of *Huso huso*. Journal of Applied Ichthyological Research, 1(3), pp. 39-48. <http://jair.gonbad.ac.ir/article-1-156-fa.html> (in Persian).
- Nya, E.J. and Austin, B. 2009. Use of garlic (*Allium sativum*) to control *Aeromonas hydrophila* infection in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum). Journal of Fish Diseases, 32(11), pp. 963-970. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.2009.01100.x>
- Platel, K. and Srinivasan, K. 2004. Digestive stimulant action of spices: A myth or reality? Indian Journal of Medical Research, 119(5), pp. 167-179.
- Poolsawat, L., Yu, Y., Li, X., Zhen, X., Yao, W., Wang, P., Luo, C. and Leng, X. 2022. Efficacy of phytogenic extracts on growth performance and health of tilapia (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*). Aquaculture and Fisheries, 7(4), pp. 411-419. <https://doi.org/10.1016/j.aaf.2020.08.009>
- Pourmozaffar, S., Nahavandi, R., Sadeghi, A., Ahmadi, M., Jahanbakhshi, A., Tamadoni Jahromi, S., Behzadi, S. and Gozari, M. 2021. The effect of *Zataria multiflora* extract on growth performance and liver enzyme activities in Caspian roach (*Rutilus rutilus caspicus*). Journal of Marine Biology, 13(2), pp. 1-8. <http://jmb.ahvaz.iau.ir/article-1-905-fa.html> (in Persian).
- Ramsden, S.R., Smith, T.J., Shaw, B.J., Handy, R.D. 2009. Dietary exposure to titanium dioxide nanoparticles in rainbow trout, (*Oncorhynchus mykiss*): No effect on growth, but subtle biochemical disturbances in the brain. Ecotoxicology, 18(7), pp. 939-951. <https://doi.org/10.1007/s10646-009-0357-7>

- Razaghi, B., Keramat, A., Oraj, H. and Yegane, S. 2023. Evaluation of the effect of improving the efficiency of diet containing poultry waste powder using garlic powder on growth, survival, carcass composition and digestibility indices in *Huso huso*. Journal of Aquaculture Development, 17(2), pp. 71-85. <http://aquadev.liau.ac.ir/article-1-732-fa.html> (in Persian).
- Razavi Amri, S.R., Gholipour Kanani, H., Farhangi, M. and Adineh, H. 2021. The effect of oregano essential oil (*Zataria multiflora*) and ginger powder (*Zingiber officinale*) on growth, immunity and blood parameters of common carp (*Cyprinus carpio*). Aquatic Physiology and Biotechnology, 9(3), pp. 67-88. <https://doi.org/10.22124/japb.2021.18588.1407> (in Persian).
- Reverter, M., Bontemps, N., Lecchini, D., Banaigs, B. and Sasal, P. 2014. Use of plant extracts in fish aquaculture as an alternative to chemotherapy: Current status and future perspectives. Aquaculture, 433, pp. 50-61. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.05.048>
- Ringø, E., Hoseinifar, S.H., Ghosh, K., Van Doan, H., Beck, B.R. and Song, S.K. 2018. Lactic acid bacteria in finfish-An update. Frontiers in Microbiology, 9, pp. 1-37. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01818>
- Shalaby, A.M., Khattab, Y. and Abdel-Rahman, A.M. 2006. Effects of garlic, *Allium sativum* and chloramphenicol on growth performance, physiological parameters and survival of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. Journal of Venomous Animal Toxins Including Tropical Diseases, 12, pp. 172-201. <https://doi.org/10.1590/S1678-91992006000200003>
- Sharif Rohani, M., Masoumzadeh, M., Haghighi, M., Jalilpoor, J., Pourdehghani, M. and Shenavar Masouleh, A. 2013. Effects of oral administration of *Zataria multiflora* essential oil on some blood and serum parameters in *Acipenser persicus*. Iranian Journal of Fisheries Sciences, 12(4), pp. 908-915. <http://jifro.ir/article-1-1363-en.html>
- Siwicki, A.K.I. 1993. Nonspecific defense mechanisms assay in fish. II. Potential killing activity of neutrophils and monocytes, lysozyme activity in serum and organs and total immunoglobulin (Ig) level in serum. Fish Diseases Diagnosis and Prevention Methods. FAO-Project GCP/INT/526/JPN, pp. 105-111.
- Srinivasan, K. 2007. Biological activities of cumin (*Cuminum cyminum*) and related species. Nutrition Research Reviews, 20(1), pp. 9-20.
- Statistical Yearbook of the Iranian Fisheries Organization 2019-2023., 2024. Iranian Fisheries Organization, Tehran. 64 p. (in Persian).
- Taati, R. and Pajand, Z. 2024. Growth performance, blood parameters, and immune responses of Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*) fry fed with different levels of Bioherbal phytogetic additive. Iranian Scientific Fisheries Journal, 33(1), pp. 85-97. <http://isfj.ir/article-1-2802-en.html> (in Persian).
- Talpur, A.D. and Ikhwanuddin, M. 2012. Dietary effects of garlic (*Allium sativum*) on haemato-immunological parameters, survival, growth, and disease resistance against *Vibrio harveyi* infection in Asian sea bass, *Lates calcarifer* (Bloch). Aquaculture, 364-365, pp. 6-12. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.07.035>
- Van Hai, N. 2015. The use of medicinal plants as immunostimulants in aquaculture: A review. Aquaculture, 446, pp. 88-96. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.03.014>
- Windisch, W., Schedle, K., Plitzner, C. and Kroismayr, A. 2008. Use of phytogetic products as feed additives for swine and poultry. Journal of Animal Science, 86(14 Suppl), pp. E140-E148. <https://doi.org/10.2527/jas.2007-0459>

- Yegane Rastekenari, H., Vahabzade Roudsari, H. and Yazdani Sadati, M. 2017. Improving effect of garlic (*Allium sativum*) powder as a supplement on growth performance and immune system of Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*) juveniles. *Aquatic Physiology and Biotechnology*, 5(1), pp. 107-125. <https://doi.org/10.22124/japb.2017.2346> (in Persian).
- Yigit, N.O., Metin, S., Didinen, H., Cetinkaya, B. and Ozmen, O. 2024. Effect of *Cuminum cyminum* essential oil on growth, histology, intestinal histomorphology, blood parameters, gonadal development, antioxidant activity, and disease resistance against *Aeromonas hydrophila* in *Cyprinus carpio*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 55(6), p. e13099. <https://doi.org/10.1111/jwas.13099>
- Zeng, Z., Zhang, S., Wang, H. and Piao, X. 2015. Essential oil and aromatic plants as feed additives in non-ruminant nutrition: A review. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 6(1), pp. 7-17. <https://doi.org/10.1186/s40104-015-0004-5>