



University of Guilan with collaboration of Iranian
Aquaculture Society

Aquatic Animals Nutrition

Vol. 11, No. 2, 2025, pages: 53-67
DOI: 10.22124/janb.2025.29750.1275



RESEARCH PAPER

OPEN ACCESS

Effects of ivy, *Hedera helix* extract as a dietary supplement on growth performance and mucosal immune indices in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*

Raha Fadaei Rayeni¹, Ahmad Noori^{1*}, Arash Akbarzadeh¹, Seyed Hossein Hoseinifar²,
Marina Paolucci³

1- Department of Fisheries, Faculty of Marine Science and Technology, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Hormozgan, Iran

2- Department of Fisheries, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Golestan, Iran

3- Department of Science and Technologies, University of Sannio, 82100 Benevento, Italy

Received 16 March 2025

Revised 18 June 2025

Accepted 20 June 2025

Published online 04 November 2025

KEYWORDS ABSTRACT

Dietary
supplement
Rainbow trout
Immunity
Mucus

Introduction: Bioactive compounds in plants are essential for aquatic animal nutrition because of their antioxidant and anti-inflammatory effects. They combat oxidative stress by neutralizing free radicals, protecting cells from damage. This protection helps maintain normal physiological functions critical for fish health. Furthermore, these compounds enhance the immune system, increasing fish resistance to pathogens and environmental stressors. Improved immunity reduces disease risk and mortality rates. Bioactive substances also support digestion and nutrient absorption, promoting better growth performance. Collectively, they boost fish resilience and biological functioning, making them valuable for sustainable aquaculture.

Materials and Methods: To examine the effects of ivy leaf extract, three dietary treatments with 100, 150, and 200 mg/kg extract (T_{100} , T_{150} and T_{200} , respectively) were prepared along with a control basal diet without extract (T_0). Ingredients for the basal diet were precisely weighed and mixed, with the extract added accordingly. Pellets were made by mixing the ingredients, forming dough with water, grinding through a 2.4 mm pellet, air-drying, and storing at 4 °C. Two hundred and forty rainbow trout averaging 6.39 ± 0.35 g were acclimated for two weeks in 12 glass aquariums stocked with 20 fish each. After acclimation, tanks were randomly assigned to treatments with three replicates for an 8-week trial. Fish weights were measured biweekly to adjust feeding. Water quality was maintained with aeration, daily 70% water exchange, and stable temperature ($13 \pm 1^\circ\text{C}$), oxygen (8 ± 0.43 mg/L), and pH (7.5 ± 0.5). At the end, fish were anesthetized for biometric measurements, and growth indices including weight gain, specific growth rate, daily weight gain, and feed conversion ratio were calculated. Mucus was collected from six fish per treatment by gentle rubbing in saline solution,

centrifuged, and stored at -70°C . Immune assays measured lysozyme activity through bacterial lysis, total immunoglobulin by precipitation and protein quantification, and complement activity by rabbit red blood cell lysis. Data were statistically analyzed using tests for normality, variance, One-Way ANOVA, and Duncan's multiple comparison with significance at $P < 0.05$.

Results and Discussion: The study found that adding ivy leaf extract significantly improved growth performance in rainbow trout, with the highest final weight and weight gain in T_{200} . Immune responses in the mucus showed increased complement activity at T_{150} and higher total immunoglobulin and protein levels proportional to extract dose, peaking at T_{200} . Lysozyme activity was significantly elevated only in the highest dose group. Feed conversion ratio improved significantly at T_{200} , while lower doses had mixed effects. These findings demonstrate the dose-dependent benefits of ivy leaf extract on growth and mucosal immunity in rainbow trout. Herbal feed additives are an eco-friendly way to boost immunity and health in aquatic animals. Plants contain bioactive compounds like organic acids, flavonoids, and polyphenols that improve fish immune responses and overall wellbeing. In this study, ivy leaf extract enhanced growth and mucosal immunity in rainbow trout, likely by reducing oxidative stress and promoting energy use for growth. Ivy leaf extract increased lysozyme activity—a natural antibacterial enzyme—and raised total protein and immunoglobulin levels in skin mucus, strengthening the first line of defense. Polyphenols in plants support mucus production and quality, important for protecting against pathogens.

Conclusion: Plant extracts offer a sustainable alternative to antibiotics in aquaculture by improving innate and mucosal immunity. The study recommends 200 mg/kg ivy leaf extract supplementation for enhancing immune health in rainbow trout fingerlings.

*Corresponding author: nooryahmad@gmail.com





"مقاله پژوهشی"

**تأثیر استفاده از عصاره پیچک (*Hedera helix*) به عنوان مکمل غذایی بر عملکرد رشد و شاخص‌های ایمنی
موکوسی در ماهی قزل آلاي رنگين کمان (*Oncorhynchus mykiss*)**

رها فدائی راینی^۱، احمد نوری^{۱*}، آرش اکبرزاده^۱، سیدحسین حسینی فر^۲، مارینا پائولوچی^۳

۱- گروه شیلات، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، هرمزگان

۲- گروه شیلات، دانشکده علوم کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گرگان، گرگان، گلستان

۳- گروه علوم و فناوری، دانشگاه سانپو، ایتالیا

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۲/۲۶

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۴/۰۳/۲۸

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۳/۳۰

تاریخ انتشار: ۱۴۰۴/۰۴/۱۸

کلمات کلیدی

چکیده

عصاره پیچک

موکوس

لایوزیم

ترکیبات زیست‌فعال موجود در گیاهان، به واسطه دارا بودن خواص ضداکسایشی و ضدالتهابی، نقش مهمی در تغذیه آبزیان دارند. این ترکیبات با تأثیر بر ساز و کارهای فیزیولوژیک، مانند تقویت دستگاه ایمنی، می‌توانند عملکرد زیستی و مقاومت ماهی‌ها در برابر عوامل استرس‌زا را ارتقا دهند. مطالعه حاضر به منظور بررسی اثر عصاره گیاه پیچک بر عملکرد رشد و شاخص‌های ایمنی موکوس در ماهی قزل آلاي رنگين کمان طراحی شد. تعداد ۲۴۰ عدد ماهی قزل آلاي رنگين کمان با وزن اولیه 0.35 ± 0.06 گرم در ۱۲ عدد آکواریوم با تراکم ۲۰ ماهی در هر مخزن ذخیره‌سازی شدند و با چهار جیره آزمایشی شامل مقدار صفر (گروه شاهد)، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم عصاره پیچک به ازای هر کیلوگرم خوراک به مدت ۸ هفته تغذیه شدند. نتایج نشان داد که وزن نهایی، افزایش وزن، میانگین افزایش وزن روزانه و نرخ رشد ویژه به طور قابل توجهی تحت تأثیر جیره‌های آزمایشی قرار گرفتند و بیشترین رشد در تیمار تغذیه شده با تیمار ۲۰۰ مشاهده شد. بعد از هشت هفته، به مدت ۲۴ ساعت غذادهی قطع و از هر مخزن چهار ماهی به صورت تصادفی انتخاب، نمونه موکوس جمع‌آوری، و لایوزیم، پروتئین کل، ایمونوگلوبولین کل و کمپلمان بررسی شد. نتایج در پایان آزمایش نشان داد که سطوح ایمونوگلوبولین کل، لایوزیم و پروتئین کل در موکوس ماهی‌های تغذیه شده با سطوح مختلف عصاره پیچک افزایش یافت و بالاترین میزان در تیمار ۱۵۰ میلی‌گرم به دست آمد. سطوح مختلف عصاره پیچک اثر معناداری بر کمپلمان داشته و بیشترین میزان در ماهی‌های تغذیه شده با تیمار ۱۵۰ میلی‌گرم مشاهده شد. نتایج نشان داد که این مکمل غذایی در دوز بهینه (تیمار ۲۰۰ میلی‌گرم) پتانسیل بهبود ایمنی ذاتی را در ماهی قزل آلاي رنگين کمان دارند و توصیه می‌شود که از این ترکیبات برای آبی‌پروری پایدار استفاده شود.

مقدمه

صنعت آبزی پروری به واسطه دارا بودن پتانسیل های بسیار، در طی سالیان اخیر رشد و توسعه قابل توجهی داشته است. در کنار این رشد قابل توجه، آبزی پروری همواره با مشکلاتی از قبیل تغییر کیفیت آب، مشکلات تغذیه ای و بروز بیماری ها مواجه بوده است، به طوری که شیوع بیماری ها، گسترش اقتصادی این صنعت را در بسیاری از کشورهای جهان تحت تأثیر قرار داده است (Yilmaz et al. 2022). برای جلوگیری از شیوع بیماری ها در طی سالیان گذشته استفاده پیشگیرانه و درمانی از آنتی بیوتیک ها مرسوم بود که این استفاده بیش از حد پیامدهایی از قبیل بروز باکتری های مقاوم، باقی ماندن بقایای آنتی بیوتیک در گوشت ماهیان و خطر آن در تغذیه ی انسانی و نیز آلودگی های زیست محیطی را به دنبال داشته است (Dawood et al. 2015). لذا استفاده از آنتی بیوتیک ها در بسیاری از کشورها به واسطه وضع قوانین، محدود و یا ممنوع شده است، که این مورد سبب توسعه استفاده از محرک های ایمنی گیاهی به عنوان یک راهکار جایگزین در جهت تحریک ایمنی و کاهش خطر بروز بیماری شده است (Tadese et al. 2022).

گیاهان مختلف یا محصولات جانبی آن ها دارای ترکیبات مختلف زیست فعال بوده که از آن جمله می توان به ترکیبات فنول، پلی فنول، آلکالوئید، کینون، ترپنوئید، لکترین و پلی پتید اشاره کرد. بسیاری از این ترکیبات فعال جایگزین های مؤثری برای آنتی بیوتیک ها، مواد شیمیایی، واکسن ها و دیگر ترکیبات صناعی هستند. گیاهان دارویی با داشتن مزیت هایی از جمله عوارض جانبی کمتر، سهولت دسترسی، امکان تولید در سطح وسیع، قیمت مناسب و خطر کمتر برای محیط زیست و جانور، عدم ایجاد مقاومت نسبی عوامل بیماری زا به داروهای گیاهی، انحصاری بودن درمان برخی بیماری ها و وجود تجربیات مختلف بالینی، همواره به عنوان جایگزین مناسب برای داروهای شیمیایی مورد توجه هستند (Ahmadifar et al. 2021). ترکیبات پلی فنولی موجود در بسیاری از گیاهان به دلیل دارا بودن اثرات مثبت در کاهش رادیکال های آزاد اکسیژن، تقویت دستگاه ایمنی و همچنین، کمک به دستگاه ضد اکسایشی بدن، می توانند نقش مهمی را در تغذیه آبزیان ایفا کنند (Mamun et al. 2024).

گیاه پیچک با نام علمی *Hedera helix* یا پیچک انگلیسی، گیاهی همیشه سبز و رونده بومی اروپا و غرب آسیاست که در مناطق معتدل رشد می کند. برگ های آن متناوب، براق و در دو شکل جوان (لوب دار) و بالغ (قلبی) هستند. این گیاه با ریشه های هوایی به سطوح می چسبد و گل های کوچک زرد مایل به سبز و میوه های توت مانند تولید می کند. پیچک انگلیسی در خاک های مرطوب و نور غیرمستقیم رشد می کند و به طیف وسیعی از شرایط محیطی مقاوم است. این گیاه حاوی ترکیبات زیست فعال مهمی مانند ساپونین ها (رکوزید C، آلفا-هدرین)، پلی فنول ها، فلاونوئیدها و مونوترپن ها است که خواص دارویی و ضدالتهابی دارند (Shokry et al. 2022).

دستگاه ضد اکسایشی در ماهیان نقش مهمی در پایداری فیزیولوژیک داشته و عملکرد این دستگاه باعث بی اثر شدن رادیکال های آزاد تولید شده بر اثر عوامل مختلف استرسی از جمله استرس های محیطی می شود (Bakiu et al. 2024). دستگاه ضد اکسایشی مجموعه ای از آنزیم ها بوده که عملکرد توأم و هماهنگ آنها باعث تقلیل اثرات استرسی در ماهی می شود. از جمله این آنزیم ها می توان به آنزیم سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلووتاتیون پراکسیداز اشاره کرد (Cadenas, 1997). این دستگاه به همراه دستگاه ایمنی، خط دفاعی مهمی در برابر عوامل ایجاد اختلال از جمله عوامل بیماری زا و همچنین عوامل استرس زای محیطی تشکیل می دهند (Santana et al. 2022). فعالیت آنزیم لایزوزیم به عنوان مهمترین شاخص دستگاه ایمنی ذاتی در ماهیان به شمار می رود (Saurabh and Sahoo, 2008). نقش این آنزیم در فعال سازی دستگاه کمپلمان بسیار حیاتی است (Ogundele, 1998) و در بسیاری از بخش های بدن از جمله در موکوس ماهیان دیده می شود. سطح و فعالیت این آنزیم به همراه دیگر فراسنجه های دفاعی از جمله ایمونوگلوبولین ها (Salinas et al. 2011) و کمپلمان در موکوس متغیر بوده و به عوامل بسیار مختلفی از جمله نوع عامل استرس زا و میزان سطح این عوامل بستگی دارد (Scherer et al. 2023). بسیاری از مطالعات، تأثیرات القایی و مثبت استفاده از ترکیبات زیست فعال گیاهی به صورت مکمل غذایی بر بهبود و تقویت عملکرد دستگاه ضد اکسایشی و دستگاه ایمنی در ماهیان و سخت پوستان را بیان کرده اند.

در مطالعه‌ای که به بررسی تأثیرات پلی‌فنل حاصل از شاه بلوط بر عملکرد فیزیولوژیک فیل‌ماهی (*Huso huso*) پرداخته شد، نتایج نشان داد که جیره غذایی غنی شده با این پلی‌فنول سبب بهبود عملکرد رشد و ایمنی می‌شود (Safari et al. 2020). Priyadarshini و همکاران (۲۰۲۳) طی بررسی تأثیر تجویز خوراکی ترکیبات فنولی حاصل از جلبک قهوه ای *Padina gymnospora* بر ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) گزارش کردند که وجود این ترکیبات در جیره غذایی سبب تقویت پاسخ ایمنی غیراختصاصی و بیان ژن‌های ایمنی در این ماهی می‌شود. مطالعه Mansoori و همکاران (۲۰۲۴) نشان داد که جیره غنی شده با مخلوط پلی‌فنول شاه بلوط و زیتون باعث بهبود عملکرد رشد، ایمنی و دفاع ضد اکسایشی در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان شده است. همچنین Yu و همکاران (۲۰۲۴) گزارش کردند که جیره حاوی پلی‌فنول‌های گیاه چای اثر مثبت بر عملکرد رشد و سلامت ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان دارد.

به طور کلی، عصاره‌های گیاهی و ترکیبات زیست فعال موجود در گیاهان، به دلیل تأثیرات مستقیم و غیرمستقیم در مقابله با رادیکال‌های آزاد و کمک به عملکرد بهتر دستگاه ضد اکسایشی و ایمنی، و همچنین به دلیل عدم آلودگی زیست محیطی ناشی از مصرف آن‌ها می‌توانند گزینه مناسبی در صنعت آبزی پروری از جمله تولید ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان باشند. با توجه به فقدان اطلاعات در زمینه تأثیرات ترکیبات مستخرج از گیاه پیچک بر آبزیان و به‌ویژه نبود این نوع مطالعات در باره تأثیرات عصاره این گیاه بر دستگاه ایمنی موکوسی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، هدف از این تحقیق، ارزیابی اثر خوراکی عصاره استخراج شده از گیاه پیچک در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بر شاخص‌های ایمنی موکوسی بود.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثر سطوح مختلف عصاره گیاه پیچک، سه تیمار تغذیه‌ای شامل جیره‌های غذایی حاوی ۱۰۰ (تیمار ۱۰۰)، ۱۵۰ (تیمار ۱۵۰) و ۲۰۰ (تیمار ۲۰۰) میلی‌گرم

عصاره پیچک در هر کیلوگرم غذا در نظر گرفته شد. گروه شاهد نیز با جیره غذایی پایه و بدون افزودن عصاره پیچک تغذیه شد. برای تهیه جیره غذایی پایه، بر اساس جدول ۱، هر یک از اجزای غذایی وزن شده و به صورت دقیق باهم مخلوط شدند. سپس با توجه به تیمارهای غذایی مشخص شده، مقدار مناسب از عصاره پیچک به جیره پایه اضافه شد. برای تولید غذای پلت، تمام اجزای جیره به طور دقیق در یک مخلوط‌کن مخلوط شده و سپس اجزای جیره با آب مخلوط شدند تا خمیری شکل شوند. سپس خمیر حاصل، از یک چرخ گوشت با اندازه سوراخ ۲/۴ میلی‌متر عبور داده شد تا پلت‌های یکسان با همین قطر به دست آید. این پلت‌ها در معرض هوا خشک، و سپس در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد تا زمان مصرف نگهداری شدند. جیره‌های غذایی آزمایشی هر دو هفته یک بار تهیه شدند تا از تازگی آنها اطمینان حاصل شود.

ماهی و شرایط پرورش

تعداد ۲۴۰ قطعه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با میانگین وزن $0.35 \pm 6/39$ گرم از یک مزرعه محلی تهیه، و به آزمایشگاه مرکز فنی و حرفه‌ای گرگان منتقل شدند. ماهی-ها در ۱۲ عدد آکواریوم شیشه‌ای (۱۰۰ لیتر حجم آگیری با ابعاد ۲۵ در ۸۰ در ۶۰ سانتی‌متر) با تراکم ۲۰ ماهی در هر آکواریوم توزیع، و به مدت ۲ هفته با شرایط آزمایش سازگار شدند. در طی دوره سازگاری، ماهیان با جیره پایه دو بار در روز تغذیه شدند. بعد از طی دو هفته دوره سازگاری، آکواریوم‌ها به چهار تیمار آزمایشی با سه تکرار اختصاص داده شدند. در طی ۵۶ روز آزمایش، ماهی‌ها هر ۲ هفته یکبار وزن شدند تا میزان غذادهی در طی مطالعه تنظیم شود. دستگاه هوادهی توسط سنگ هوا و تعویض روزانه ۷۰٪ با آب تازه تا انتهای دوره پرورش در تمام مخازن پرورشی برقرار بود. در طی دوره آزمایشی، فراسنجه‌های فیزیکوشیمیایی آب از جمله دما، اکسیژن محلول و pH آب به ترتیب $1 \pm 13/2$ درجه سانتی‌گراد، $8 \pm 0/43$ میلی‌گرم در لیتر و $0/5 \pm 7/5$ بود.

جدول ۱ مواد تشکیل دهنده و ترکیب جیره پایه

Table 1 Ingredients and composition of basal diet.

Ingredients	(g/kg dry matter)
Soybean meal ¹	200
Fish meal ²	310
Wheat gluten ³	100
Wheat meal	166
Poultry by-product ⁴	130
Fish oil	40
Soybean oil	30
Methionine ⁵	4
Phytase ⁶	8
Lysine ⁵	7
Vitamins premix ⁷	2.5
Minerals premix ⁷	2.5
Chemical composition ⁸	
Crude protein	425
Crude fat	163
Crude ash	79.5
Crude fiber	30.8
Moisture	88.2
Gross energy (kJ g ⁻¹)	19.4

¹ Soybean Co., Gorgan, Iran (crude protein 45.2%)² Peygir Co., Gorgan, Iran (crude protein 58.8%)³ Shahdineh Aran Co., Isfahan, Iran (crude protein 78.3%)⁴ Peygir Co., Gorgan, Iran (crude protein 51.0%)⁵ Golbid Co., Tehran, Iran (10000 IU)⁶ CheilJedang Co., Seoul, Korea⁷ The premix provided following amounts per kg of feed: A: 1000 IU; D₃: 5000 IU; E: 20 mg; B₅: 100 mg; B₂: 20 mg; B₆: 20 mg; B₁: 20 mg; H: 1 mg; B₉: 6 mg; B₁₂: 1 mg; B₄: 600 mg; C: 50 mg; Mg: 350 mg; Fe: 13 mg; Co: 2.5 mg; Cu: 3 mg; Zn: 60 mg; Se: 0.3 mg; I: 1.5 mg; Mn: 10 mg⁸ Determined according to AOAC (2005)**عملکرد رشد**

زیست‌سنجی شدند. برای ارزیابی عملکرد رشد، شاخص های مختلفی شامل میزان افزایش وزن، نرخ رشد ویژه، متوسط رشد روزانه و ضریب تبدیل غذایی در انتهای دوره آزمایش اندازه‌گیری شدند. برای این منظور از فرمول‌های زیر استفاده شد:

در پایان دوره آزمایش، برای بررسی شاخص‌های رشد، ماهیان با فتوکسی اتانول با غلظت ۰/۲ میلی لیتر در لیتر (Giannenas et al. 2012) بیهوش، و سپس

افزایش وزن (گرم) = وزن نهایی (گرم) - وزن اولیه (گرم)

نرخ رشد ویژه (٪/روز) = (لگاریتم طبیعی وزن نهایی - لگاریتم طبیعی وزن اولیه / طول دوره) × ۱۰۰

متوسط افزایش وزن روزانه (٪/روز) = (وزن نهایی - وزن اولیه / طول دوره) × ۱۰۰

ضریب تبدیل غذایی = غذای دریافتی (گرم) / وزن بدست آمده (گرم)

نمونه برداری از موکوس

نمونه‌برداری شد. برای جمع‌آوری موکوس، ماهی‌ها به کیسه‌های پلی اتیلن به همراه ۳۵۰ میلی لیتر آب و ۵۰ میلی مولار NaCl منتقل، و به آرامی برای جمع‌آوری

در پایان دوره پرورش، از هر تیمار آزمایشی شش قطعه ماهی برای بررسی فراسنجه‌های ایمنی موکوس

سطح معنی‌داری $P < 0.05$ بررسی شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها توسط نرم افزار SPSS (version 20.0) انجام شد.

نتایج

نتایج حاصل از بررسی تأثیر عصاره پیچک بر عملکرد رشد در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در انتهای دوره آزمایش در جدول ۲ ارائه شده است. نتایج نشان داد که افزودن عصاره پیچک در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان تأثیر معنی‌داری بر عملکرد رشد داشت ($P < 0.05$). بالاترین وزن نهایی در ماهیان تغذیه شده با جیره غذایی حاوی ۲۰۰ میلی گرم عصاره پیچک مشاهده شد که با گروه شاهد و دیگر تیمارهای تغذیه ای (تیمارهای ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی گرم عصاره) اختلاف معنادار داشت ($P < 0.05$). افزایش وزن و متوسط افزایش وزن روزانه به طور معنی‌دار تحت تأثیر جیره‌های آزمایشی قرار گرفت و بالاترین میزان در تیمارهای ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم عصاره مشاهده شد که با تیمار ۱۰۰ میلی گرم عصاره و گروه شاهد اختلاف معنی‌دار داشت ($P < 0.05$). هرچند که میزان نرخ رشد ویژه در هیچ کدام از تیمارها با گروه شاهد تفاوت معنی‌دار نشان نداد ($P > 0.05$). میزان ضریب تبدیل غذایی در تیمارهای ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم عصاره به طور معنی‌دار کمتر از گروه شاهد بود ($P < 0.05$), در صورتی که بین گروه شاهد و تیمار ۱۵۰ میلی گرم عصاره تفاوت معنی‌دار دیده نشد ($P > 0.05$).

فراسنجه‌های ایمنی موکوس

میزان سطح فعالیت کمپلمان در تیمار تغذیه ای ۱۵۰ میلی گرم عصاره در هر کیلوگرم غذا به طور معنی‌دار بیش از گروه شاهد بود ($P < 0.05$); هرچند که این میزان در دو تیمار ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم، تفاوت معنی‌دار با گروه شاهد و همچنین تیمار ۱۵۰ میلی گرم نشان نداد ($P > 0.05$). میزان ایمنوگلوبولین کل و پروتئین کل در ماهی‌های تغذیه شده با عصاره پیچک روند افزایشی متناسب با میزان مصرف عصاره را نشان داد و بالاترین میزان در تیمار ۲۰۰ میلی گرم عصاره مشاهده شد ($P < 0.05$). میزان هر دو فراسنجه در تیمار ۱۵۰ میلی گرم به طور معنی‌دار بیش از گروه شاهد بود، هر چند که با تیمار ۱۰۰ میلی گرم تفاوت معنی‌دار نشان نداد. لازم به ذکر است که میزان ایمنوگلوبولین کل و پروتئین کل در تیمار ۱۰۰ میلی گرم تفاوتی را با گروه

مخاط پوست مالش داده شدند (Hoseinifar et al. 2018). نمونه‌های موکوس جمع آوری شده به مدت ۱۰ دقیقه با دور $g \ 1500$ سانتریفیوژ شدند و مایع رویی نهایی جمع آوری، و در دمای $-70^{\circ}C$ درجه سانتی‌گراد تا زمان سنجش نگهداری شد.

سنجش فراسنجه‌های ایمنی

مقدار لایوزیم موکوس با استفاده از روش مبتنی بر توانایی لایوزیم برای تخریب باکتری گرم مثبت *Micrococcus lysodeikticus* اندازه‌گیری شد. در این روش از آنزیم لایوزیم موجود در سفیده تخم مرغ به عنوان استاندارد استفاده شد. غلظت‌های مختلف استاندارد شامل صفر، ۵، ۱۰، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر محلول بافر فسفات (با pH برابر ۸/۵ و غلظت ۰/۱ M) در نظر گرفته شد. سپس، ۲۵ میکرولیتر از نمونه‌های استاندارد و موکوس نمونه‌برداری شده از تیمارهای مختلف در چاهک‌های میکروپلیت ۹۶ چاهکی به طور جداگانه و با سه تکرار ریخته شد. جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۴۵۰ نانومتر هر ۳۰ ثانیه یک بار برای مدت پنج دقیقه با استفاده از میکروپلیت ریدر (Awareness Technology Stat Fax 3200، آمریکا) اندازه‌گیری شد (Javahery et al. 2019). تعیین سطح ایمنوگلوبولین کل (Ig) بر اساس روش Siwicki et al. و همکاران انجام شد (Siwicki et al. 1994). به طور خلاصه، پروتئین کل از نمونه موکوس با استفاده از روش میکروپروتئین به دست آمد. سپس مولکول‌های ایمنوگلوبولین با محلول پلی اتیلن گلیکول ۱۲٪ رسوب داده شدند و سطح پروتئین مجدداً اندازه‌گیری شد. تفاوت در محتوای پروتئین به عنوان محتوای ایمنوگلوبولین کل در نظر گرفته شد. فعالیت کمپلمان نیز بر اساس شکست گلوبول‌های قرمز خرگوش (raRBC) اندازه‌گیری شد (Hajirezaee et al. 2019).

سنجش آماری

برای بررسی آماری داده‌ها، ابتدا نرمال بودن آنها توسط آزمون Shapiro-Wilk ارزیابی و همگنی واریانس‌ها با آزمون Levene بررسی شد. با تأیید دارا بودن شرایط آزمون پارامتریک، برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از آنالیز واریانس یکطرفه (One-Way ANOVA) استفاده شد و اختلاف میانگین‌ها توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن در

در تیمار ۲۰۰ میلی گرم عصاره به طور معنی دار بالاتر از دیگر تیمارها بود ($P < 0.05$).

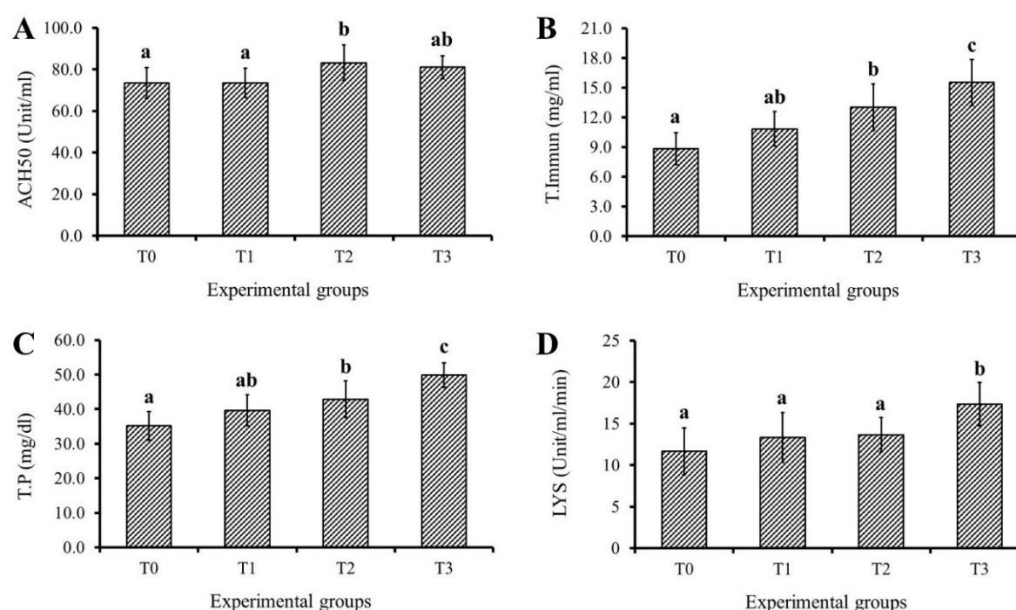
شاهد و همچنین با تیمار ۱۵۰ میلی گرم عصاره نشان نداد ($P > 0.05$). فعالیت لایزوزیم در تیمارهای شاهد، تیمار ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی گرم عصاره اختلاف معنی دار نداشت، اما

جدول ۲ عملکرد رشد ماهی قزل آلائی رنگین کمان تغذیه شده با صفر (T_0)، ۱۰۰ (T_1)، ۱۵۰ (T_2) و ۲۰۰ میلی گرم (T_3) پلی فنول های پیچک در هر کیلوگرم خوراک، برای یک دوره آزمایشی تغذیه ۵۶ روزه.

Table 2 Growth performance of rainbow trout fed with 0 (T_0), 100 (T_1), 150 (T_2), and 200 (T_3) mg of ivy polyphenols/kg of feed, for a 56 day-feeding trial.

Parameter	T_0	T_1	T_2	T_3
IW (g)	6.34 ± 0.37	6.56 ± 0.37	6.13 ± 0.15	6.51 ± 0.37
FW (g)	31.26 ± 0.16^a	31.57 ± 0.18^a	32.41 ± 0.23^b	33.06 ± 0.50^c
WG (g)	24.92 ± 0.43^a	25.00 ± 0.40^a	26.28 ± 0.28^b	26.55 ± 0.62^b
SGR (%/day)	2.85 ± 0.10^a	2.81 ± 0.10^a	2.97 ± 0.04^b	2.90 ± 0.11^{ab}
ADG (%/day)	44.49 ± 0.76^a	44.65 ± 0.72^a	46.92 ± 0.50^b	47.42 ± 1.12^b
FCR	1.20 ± 0.02^b	1.24 ± 0.02^c	1.22 ± 0.01^{bc}	1.13 ± 0.03^a
SR (%)	100	100	100	100

IW: initial weight; FW: final weight; WG: weight gain; SGR: specific growth rate; ADG: average daily gain; FCR: feed conversion rate; SR: survival rate. Different letters designate significant differences as determined by Duncan's post-hoc tests (Mean $\pm$ SD).



شکل ۱ فعالیت کمپلمان جایگزین (ACH_{50})، ایمونوگلوبولین کل ($T.Immun$)، پروتئین کل (TP) و فعالیت لایزوزیم (LYS) در مخاط ماهی قزل آلائی رنگین کمان تغذیه شده با صفر (T_0)، ۱۰۰ (T_1)، ۱۵۰ (T_2) و ۲۰۰ میلی گرم پلی فنول های پیچک در کیلوگرم خوراک، برای یک دوره آزمایشی ۵۶ روزه. حروف متفاوت نشان دهنده تفاوت های معنی دار هستند که توسط آزمون دانکن تعیین شده اند (میانگین $\pm$ انحراف معیار).

Figure 1 The alternative complement activity (ACH_{50}), total immunoglobulin ($T.Immun$), total protein ($T.P$) and Lysozyme activity (LYS) in the mucus of rainbow trout fed with 0 (T_0), 100 (T_1), 150 (T_2), and 200 (T_3) mg of ivy polyphenols/kg of feed, for a 56 day-feeding trial. Different letters designate significant differences as determined by Duncan's post-hoc tests (Mean $\pm$ SD).

بحث

استفاده از افزودنی‌های خوراکی و گیاهان دارویی به عنوان محرک ایمنی یک رویکرد سازگار با محیط زیست برای تقویت ایمنی و سلامتی در آبزیان است (Wang et al. 2017). گیاهان حاوی ترکیبات زیست فعال مانند اسیدهای آلی، فلاونوئیدها، پلی فنول‌ها، ویتامین‌ها و مواد معدنی هستند که اثرات مفیدی بر دستگاه ایمنی و سلامت ماهی و دیگر حیوانات دارند (El-Deep et al. 2019; Van Doan et al. 2019a). در مطالعه حاضر، استفاده از سطوح مختلف عصاره گیاه پیچک اثر معنی‌دار بر شاخص‌های رشد داشت. منطبق با نتایج حاصل، تأثیر مثبت استفاده از عصاره های گیاهی بر عملکرد رشد در ماهی زبرا (*Danio rerio*) نشان می‌دهد که احتمالاً وجود ترکیبات ضد اکسایشی در عصاره گیاهان از طریق کاهش استرس اکسایشی در بدن ماهی نه تنها منجر به تقویت دستگاه ایمنی شده، عملکرد رشد را نیز تقویت کرده و انرژی موجود را به سمت رشد و پایداری بدن هدایت می‌کند (Safari et al. 2017; Hoseinifar et al. 2023). Hassanpour و همکاران (۲۰۱۷) طی بررسی تأثیر عصاره چای سبز بر رشد و فعالیت ضد اکسایشی در تاسماهی هیبرید (*Huso huso* × *Acipenser ruthenus*) گزارش کردند که این عصاره شاخص‌های رشد را در تاسماهی هیبرید بهبود بخشید و همچنین کاهش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های ضد اکسایشی و کاهش مالون دی آلدئید سرم، نشان دهنده تأثیر این داروی گیاهی به عنوان یک ضد اکسایش قوی در جیره غذایی این ماهی بوده است. در مطالعات پیشین نیز تأثیر مثبت چای سبز بر تقویت دستگاه ایمنی در ماهی قزل آلاي رنگين کمان گزارش شده است (Nootash et al. 2013). Sheikhzadeh و Mousavi (۲۰۱۹) طی بررسی تأثیر عصاره اتانولی چای سبز بر ماهی قرمز، تأثیر مثبت این عصاره را بر فراسنجه‌های بیوشیمیایی و وضعیت ضد اکسایشی این ماهی گزارش کردند. افزایش فعالیت آنزیم های گوارشی ماهی قزل آلاي رنگين کمان به طور قابل توجهی با تغذیه با ترکیبات گیاهی (پودر و عصاره و یا ترکیبات خالص شده مانند پلی فنول) مشاهده شد (Bilen et al. 2020). افزودنی‌های گیاهی احتمالاً می‌توانند سلامت روده را از طریق ایجاد میکروب‌های مفیدتر که احتمالاً می‌توانند فعالیت آنزیم‌های گوارشی در ماهی را

تعدیل کنند، بهبود بخشند (Hashemi and Davoodi, 2011). علاوه بر این، ترکیبات زیست فعال فیتوافزونی احتمالاً می‌تواند پروتئین یاخته‌ای را که به عنوان گیرنده آنزیم نسخه برداری کانال یونی پروتئین اسکلت یاخته‌ای یا ناقل در ماهی عمل می‌کند، تغییر دهد (Chowdhury et al. 2021).

برخی از عناصر غذایی می‌توانند ایمنی یاخته‌ای و هومورال ذاتی را تقویت کنند که نقش مهمی در حفظ سلامت مطلوب و محافظت از بدن در برابر طیف گسترده‌ای از بیماری‌ها ایفا می‌کنند. در مطالعه حاضر، فعالیت آنزیم لایزوزیم در ماهی‌های تغذیه شده با عصاره گیاه پیچک بالاتر از گروه شاهد بود. لایزوزیم یک آنتی بیوتیک درون‌زای طبیعی با منشأ لکوسیتی است که می‌تواند به طور مستقیم لایه پپتیدوگلیکان باکتری‌های گرم مثبت را شکافته و به عنوان اپسونین تخریب باکتری‌های گرم منفی توسط فاگوسیت‌ها را تسهیل کند (Saurabh and Sahoo, 2008). مشابه با نتایج مطالعه حاضر، مطالعات مختلف نشان داد که عصاره های گیاهی مختلف از جمله عصاره ریحان در ماهی *Labeo rohita* (Das et al. 2015)، حنا (*Lawsonia inermis*) در کپور معمولی (Soltanian and Fereidouni, 2016) و عصاره پوست پرتقال در تیلاپای نیل (Van Doan et al. 2019b)، سبب افزایش فعالیت لایزوزیم سرم شده است. همچنین در مطالعه‌ای دیگر، افزایش فعالیت لایزوزیم موکوس بعد از تغذیه با عصاره چای در ماهی تیلاپای نیل گزارش شد (Van Doan et al. 2019b). چنین بهبودی در پاسخ‌های ایمنی قبلاً در ماهی‌های تحت تیمار با عصاره حاصل از پوسته شاه بلوط گزارش شده است. در واقع، تجویز عصاره پوسته شاه بلوط به طور قابل توجهی تولید آنیون سوپراکسید و بیگانه‌خواری را در گلبول‌های ماهی قزل آلاي رنگين کمان افزایش داد (Coccia et al. 2019). پلی فنول‌ها می‌توانند به بهبود فراسنجه های ایمنی موکوس از چندین طریق کمک کنند. آن‌ها به تحریک تولید موکوس کمک می‌کنند و این موکوس به عنوان یک سد طبیعی در برابر پاتوژن‌ها عمل می‌کند. همچنین، پلی فنول‌ها می‌توانند کیفیت موکوس را بهبود داده، ویژگی‌های حیطه‌ای آن را افزایش دهند و اثر حفاظتی بهتری ایجاد کنند. ویژگی‌های حیطه‌ای موکوس شامل توانایی آن در تنظیم محیط زیستی و فیزیولوژیک اطراف

پاسخ ایمنی موکوس (لایوزیم، ایمونوگلوبولین کل و پروتئاز) در ماهی قرمز گزارش کردند که عصاره گزنه سبب بهبود شاخص‌های ایمنی موکوسی و بیان ژن ایمنی و عملکرد بهتر دستگاه ایمنی غیر اختصاصی در ماهی قرمز شده است.

همچنین، پلی‌فنول‌ها به عنوان تحریک‌کننده‌های طبیعی عمل کرده و تولید سیتوکین‌ها را افزایش می‌دهند که این موضوع منجر به تقویت پاسخ‌های ایمنی یاخته‌ای و هومورال می‌شود، علاوه بر این، خاصیت ضد التهابی برخی پلی‌فنول‌ها به کاهش التهاب در بدن فیل ماهی کمک می‌کند و عملکرد دستگاه ایمنی را بهبود می‌بخشد (Ahmadifar et al. 2021). آن‌ها همچنین می‌توانند تعادل میکروبیوم روده را بهبود داده و از این طریق به تقویت پاسخ ایمنی کمک کنند. در نهایت، افزایش جذب مواد مغذی توسط این ترکیبات، به بهبود سلامت عمومی و دستگاه ایمنی ماهی‌ها کمک می‌کند. به طور کلی، استفاده از مکمل‌های پلی‌فنولی در تغذیه ماهی‌ها، به دلیل حضور ترکیبات ضد اکسایشی در عصاره گیاهان و کاهش استرس اکسیداتیو در بدن ماهی به ویژه در شرایط استرس‌زا، می‌تواند به پیشگیری از بیماری‌ها و بهبود سلامتی آن‌ها کمک کند (Ahmadifar et al. 2021).

لذا در پایان توصیه می‌شود برای بهبود عملکرد دستگاه ایمنی موکوس در بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان با وزن مورد استفاده در تحقیق حاضر ($6/38 \pm 0/3$ گرم)، در جیره‌های غذایی این ماهی مقدار ۲۰۰ میلی‌گرم عصاره پیچک در هر کیلوگرم غذا به عنوان مکمل غذایی استفاده شود. قابل توجه است که ماهیان دریافت‌کننده این ترکیبات از طریق جیره غذایی وضعیت ایمنی مناسبی داشتند. بر اساس این یافته‌ها، استفاده از عصاره پیچک به عنوان جایگزینی پایدار و سازگار با محیط زیست برای آنتی-بیوتیک‌ها در آبی‌پروری می‌تواند مورد نظر و بررسی‌های بیشتر قرار گیرد.

منابع

Ahmadifar, E., Dawood, M.A.O.,
Moghadam, M.S., Sheikhzadeh, N.,

خود برای حمایت از عملکردهای محافظتی، دفاعی و تنظیمی است. این ویژگی‌ها نقش کلیدی در حفظ سلامت عمومی بدن دارند (Hopo et al. 2024).

در مطالعه حاضر، پروتئین کل و ایمونوگلوبولین کل موکوس در تیمارهای تغذیه شده با عصاره پیچک بالاتر از گروه شاهد بدست آمد. موکوس پوست یک عنصر حیاتی در ایمنی ذاتی است و اولین موضع دفاعی در برابر ریزموجودات مهاجم را نشان می‌دهد، زیرا حاوی طیف متنوعی از فراسنجه‌های ایمنی غیر اختصاصی و اختصاصی است که یک سد فیزیکی و شیمیایی ایجاد می‌کند که از ماهی در برابر عوامل بیماری‌زای عفونی محافظت می‌کند (Guardiola et al. 2016; Guardiola et al. 2017; Dawood et al. 2014). به طور مشابه، افزایش فعالیت فراسنجه‌های ایمنی در موکوس ماهی قرمز، *Carassius auratus*، تغذیه شده با عصاره شاه توت، *Vitex agnus-castus* (Rashmehi et al. 2020)، کپور معمولی تغذیه شده با پلی‌فنول‌ها (Jahazi et al. 2020)، کپور معمولی تغذیه شده با ماده فعال زیستی زردچوبه (Giri et al. 2019)، تیلاپای نیل، تغذیه شده با عصاره چای آسام (Van Doan et al. 2019b) و زبرای تغذیه شده با عصاره انگور، *Vitis vinifera* (Hoseinifar et al. 2023) گزارش شد. مشخص است که ایمنی موکوس را می‌توان با تجویز جیره غذایی پری‌بیوتیک‌ها، پروبیوتیک‌ها و گیاهان دارویی تقویت کرد (Van Doan et al. 2019b). ثابت شده است که ترکیبات محرک ایمنی گیاهی سبب افزایش فعالیت لایوزیم و ایمونوگلوبولین کل در گونه‌هایی مثل کپور هندی (*Labeo rohita*) (Chowdhury et al. 2021)، هامور (*Epinephelus bruneus*) (Harikrishnan et al. 2011)، زبرا (Hoseinifar et al. 2018; Ahmadifar et al. 2019a,b) شده است. گیاهان و مشتقات آنها به دلیل مولکول‌های فعال زیستی خود مانند آلکالوئیدها، تریپنوئیدها، ساپونین‌ها و اجزای فلاونوئیدی، پتانسیل بهبود فراسنجه‌های ایمنی را دارند (Moura et al. 2012). Nezhad Moghadam و همکاران (۲۰۲۴) طی بررسی تأثیر عصاره گیاه گزنه (*Utrica dioica*) بر

Hoseinifar, S.H., Musthafa, M.S.
2019a. Modulation of immune

- parameters and antioxidant defense in zebrafish (*Danio rerio*) using dietary apple cider vinegar. *Aquaculture* 513: 734412. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2019.734412.
- Ahmadifar, E., Sheikhzadeh, N., Roshanaei, K., Dargahi, N., Faggio, C. 2019b. Can dietary ginger (*Zingiber officinale*) alter biochemical and immunological parameters and gene expression related to growth, immunity and antioxidant system in zebrafish (*Danio rerio*)? *Aquaculture* 507: 341-348. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2019.04.049.
- Ahmadifar, E., Yousefi, M., Karimi, M., Fadaei Raeni, R., Dadar, M., Yilmaz, S., Dawood, M.A.O., Abdel-Latif, H.M.R. 2021. Benefits of dietary polyphenols and polyphenol-rich additives to aquatic animal health: An overview. *Reviews in Fisheries Science and Aquaculture* 29: 478-511. DOI:10.1080/23308249.2020.181868.
- Bakiu, R., Piva, E., Pacchini, S., Santovito, G. 2024. Antioxidant Systems in Extremophile Marine Fish Species. *Journal of Marine Science and Engineering* 12: 1280. DOI: 10.3390/jmse12081280.
- Bilen, S., Altief, T.A.S., Özdemir, K.Y., Salem, M.O.A., Terzi, E., Güney, K. 2020. Effect of lemon balm (*Melissa officinalis*) extract on growth performance, digestive and antioxidant enzyme activities, and immune responses in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish Physiology and Biochemistry* 46: 471-481. DOI: 10.1007/s10695-019-00737-z.
- Cadenas, E. 1997. Basic mechanisms of antioxidant activity. *BioFactors* 6: 391-397. DOI: 10.1002/biof.5520060404.
- Chowdhury, D.K., Sahu, N.P., Sardar, P., Deo, A.D., Bedekar, M.K., Singha, K.P., Maiti, M.K. 2021. Feeding turmeric in combination with ginger or garlic enhances the digestive enzyme activities, growth and immunity in *Labeo rohita* fingerlings. *Animal Feed Science and Technology*. 277: 114964. DOI:10.1016/j.anifeedsci.2021.11496.
- Coccia, E., Siano, F., Volpe, M.G., Varricchio, E., Eroldogan, O.T., Paolucci, M. 2019. Chestnut Shell Extract Modulates Immune Parameters in the Rainbow Trout *Oncorhynchus mykiss*. *Fishes* 4: 18. DOI: 10.3390/fishes4010018.
- Das, R., Raman, R.P., Saha, H., Singh, R. 2015. Effect of *Ocimum sanctum* Linn. (Tulsi) extract on the immunity and survival of *Labeo rohita* (Hamilton) infected with *Aeromonas hydrophila*. *Aquaculture. Research* 46: 1111-1121. DOI: 10.1111/are.12264.
- Dawood, M.A.O., Koshio, S., El-Sabagh, M., Billah, M.M., Zaineldin, A.I., Zayed, M.M., Omar, A.A.E.-D. 2017. Changes in the growth, humoral and mucosal immune responses following β -glucan and vitamin C administration in red sea bream, *Pagrus major*. *Aquaculture* 470: 214-222. DOI: 10.3390/ani11010093.
- Dawood, M.A.O., Koshio, S., Ishikawa, M., Yokoyama, S. 2015. Effects of heat killed *Lactobacillus plantarum* (LP20) supplemental diets on growth performance, stress resistance and immune response of red sea bream, *Pagrus major*. *Aquaculture* 44: 29-36. DOI:10.1016/j.aquaculture.2015.02.005.
- El-Deep, M.H., Dawood, M.A.O., Assar, M.H., Ijiri, D., Ohtsuka, A. 2019. Dietary *Moringa oleifera* improves growth performance, oxidative status, and immune related gene expression in broilers under normal and high temperature conditions. *Journal of Thermal Biology* 82: 157-163. DOI: 10.1016/j.jtherbio.2019.04.016.
- Giannenas, I., Triantafillou, E., Stavrakakis, S., Margaroni, M., Mavridis, S., Steiner, T., Karagouni, E. 2012. Assessment of dietary supplementation with carvacrol or thymol containing feed additives on

- performance, intestinal microbiota and antioxidant status of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 350: 26-32. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2012.04.027.
- Giri, S.S., Sukumaran, V., Park, S.C. 2019. Effects of bioactive substance from turmeric on growth, skin mucosal immunity and antioxidant factors in common carp, *Cyprinus carpio*. *Fish & Shellfish Immunology* 92: 612-620. DOI: 10.1016/j.fsi.2019.06.053.
- Guardiola, F., Porcino, C., Cerezuela, R., Cuesta, A., Faggio, C., Esteban, M. 2016. Impact of date palm fruits extracts and probiotic enriched diet on antioxidant status, innate immune response and immune-related gene expression of European seabass (*Dicentrarchus labrax*). *Fish & Shellfish Immunology* 52: 298-308. DOI: 10.1016/j.fsi.2016.03.152.
- Guardiola, F.A., Cuesta, A., Arizcun, M., Meseguer, J., Esteban, M.A. 2014. Comparative skin mucus and serum humoral defence mechanisms in the teleost gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Fish & Shellfish Immunology* 36: 545-551. DOI: 10.1016/j.fsi.2014.01.001.
- Hajirezaee, S., Rafieepour, A., Shafiei, S. 2019. A NMR-based metabonomic study on the ameliorating effects of *Ginkgo biloba* extract in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* exposed to organophosphate pesticide, diazinon. *Aquaculture* 513: 734450. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2019.734450.
- Harikrishnan, R., Kim, J.S., Kim, M.C., Balasundaram, C., Heo, M.S. 2011. Molecular characterization, phylogeny, and expression pattern of c-type lysozyme in kelp grouper, *Epinephelus bruneus*. *Fish & Shellfish Immunology* 31: 588-594. DOI: 10.1016/j.fsi.2011.06.019.
- Hassanpour, S., Salati, A.P., Falahtkar, B., Mohammadi Azaram, H. 2017. Effects of feeding with different levels of green tea extract on growth, carcass composition and antioxidant defense in young Siberian sturgeon (*Huso huso* × *Acipenser ruthenus*). *Journal of Marine Biology* 9: 23-33. DOI: 10.4194/1303-2712-v17_4_10. (In Persian).
- Hashemi, S.R., Davoodi, H. 2011. Herbal plants and their derivatives as growth and health promoters in animal nutrition. *Veterinary Research Communications* 35: 169-180. DOI: 10.1007/s11259-010-9458-2.
- Hopo, M.G., Mabrok, M., Abu-Elala, N., Yu, Y. 2024. Navigating fish immunity: Focus on mucosal immunity and the evolving landscape of mucosal vaccines. *Biology* 13: 980. DOI: 10.3390/biology13120980.
- Hoseinifar, S.H., Fazelan, Z., El-Haroun, E., Yousefi, M., Yazici, M., Van Doan, H., Paolucci, M. 2023. The effects of grapevine (*Vitis vinifera* L.) leaf extract on growth performance, antioxidant status, and immunity of zebrafish (*Danio rerio*). *Fishes* 8: 326. DOI: 10.3390/fishes8060326.
- Hoseinifar, S.H., Yousefi, S., Capillo, G., Paknejad, H., Khalili, M., Tabarraei, A., Van Doan, H., Spanò, N., Faggio, C. 2018. Mucosal immune parameters, immune and antioxidant defence related genes expression and growth performance of zebrafish (*Danio rerio*) fed on *Gracilaria gracilis* powder. *Fish & Shellfish Immunology* 83: 232-237. DOI: 10.1016/j.fsi.2018.09.046.
- Jahazi, M.A., Hoseinifar, S.H., Jafari, V., Hajimoradloo, A., Van Doan, H., Paolucci, M. 2020. Dietary supplementation of polyphenols positively affects the innate immune response, oxidative status, and growth performance of common carp, *Cyprinus carpio* L. *Aquaculture* 517: 734709. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2019.734709.
- Javahery, S., Noori, A., Hoseinifar, S.H. 2019. Growth performance, immune response, and digestive enzyme activity in Pacific white shrimp, *Penaeus*

- vannamei* Boone, 1931, fed dietary microbial lysozyme. *Fish & Shellfish Immunology* 92: 528-535. DOI: 10.1016/j.fsi.2019.06.049.
- Mamun, M.A.A., Rakib, A., Mandal, M., Kumar, S., Singla, B., Singh, U.P. 2024. Polyphenols: Role in modulating immune function and obesity. *Biomolecules* 14: 221. DOI: 10.3390/biom14020221.
- Mansoori, A., Allaf Noveirian, H., Hoseinifar, S.H., Sajjadi, M., Ashouri, G., Imperatore, R., Paolucci, M. 2024. Polyphenol-rich extracts enhance growth, immune function, and antioxidant defense in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Frontiers in Nutrition* 11: 1487209. DOI: 10.3389/fnut.2024.1487209.
- Moura, P.M., Prado, G.H.C., Meireles, M.A.A., Pereira, C.G. 2012. Supercritical fluid extraction from guava (*Psidium guajava*) leaves: Global yield, composition and kinetic data. *The Journal of Supercritical Fluids* 62: 116-122. DOI: 10.1016/j.supflu.2011.11.014.
- Nezhad Moghadam, S., Imanpoor, M R., Jafari, V., Safari, R. 2024. Effect of Nettles (*Urtica dioica*) hydroalcoholic extract on mucosal immune response and immune related (TNF- α) gene expression in goldfish. *Journal of Aquaculture Development* 18: 92-104. DOI: 10.71901/jad-2024-1-480. (In persian).
- Nootash, S., Sheikhzadeh, N., Baradaran, B., Oushani, A.K., Maleki Moghadam, M.R., Nofouzi, K., Monfaredan, A., Aghebati, L., Zare, F., Shabanzadeh, S. 2013. Green tea (*Camellia sinensis*) administration induces expression of immune relevant genes and biochemical parameters in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish & Shellfish Immunology* 35: 1916-1923. DOI: 10.1016/j.fsi.2013.09.030.
- Ogundele, M.O. 1998. A novel anti-inflammatory activity of lysozyme: modulation of serum complement activation. *Mediators of Inflammation* 7: 592871. DOI: 10.1080/09629359890893.
- Priyadarshini, S.K., Murugesan, M., Michael, R.D., Aiya Subramani, P., Rajendran, P. 2023. Oral administration of terpenoids and phenol fraction of *Padina gymnospora* stimulates the nonspecific immune response and expression of immune genes, and protects the common carp (*Cyprinus carpio*) from experimental *Aeromonas hydrophila* infection. *Fish & Shellfish Immunology* 142: 109141. DOI: 10.1016/j.fsi.2023.109141.
- Rashmehi, M., Hosseini Shekarabi, S.P., Shamsaie Mehrgan, M., Paknejad, H. 2020. Stimulatory effect of dietary chasteberry (*Vitex agnus-castus*) extract on immunity, some immune-related gene expression, and resistance against *Aeromonas hydrophila* infection in goldfish (*Carassius auratus*). *Fish & Shellfish Immunology* 107: 129-136. DOI: 10.1016/j.fsi.2020.09.037.
- Safari, R., Hoseinifar, S.H., Imanpour, M.R., Mazandarani, M., Sanchouli, H., Paolucci, M. 2020. Effects of dietary polyphenols on mucosal and humoral immune responses, antioxidant defense and growth gene expression in beluga sturgeon (*Huso huso*). *Aquaculture* 528: 735494. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2020.735494.
- Safari, R., Hoseinifar, S.H., Van Doan, H., Dadar, M. 2017. The effects of dietary Myrtle (*Myrtus communis*) on skin mucus immune parameters and mRNA levels of growth, antioxidant and immune related genes in zebrafish (*Danio rerio*). *Fish & Shellfish Immunology* 66: 264-269. DOI: 10.1016/j.fsi.2017.05.007.
- Salinas, I., Zhang, Y.-A., Sunyer, J.O. 2011. Mucosal immunoglobulins and B cells of teleost fish. *Developmental & Comparative Immunology* 35: 1346-1365. DOI: 10.1016/j.dci.2011.11.009.

- Santana, M.S., Domingues de Melo, G., Sandrini-Neto, L., Di Domenico, M., Prodocimo, M.M. 2022. A meta-analytic review of fish antioxidant defense and biotransformation systems following pesticide exposure. *Chemosphere* 291: 132730. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2021.132730.
- Saurabh, S., Sahoo, P. 2008. Lysozyme: an important defence molecule of fish innate immune system. *Aquaculture Research* 39: 223-239. DOI: 10.1111/j.1365-2109.2007.01883.x.
- Sheikhzadeh, N., Mousavi, Sh., 2019. The effect of ethanolic extract of green tea (*Camellia sinensis*) on biochemical parameters and oxidative status in goldfish (*Carassius auratus*). *Journal of Veterinary Research and Biological Products* 124: 118-130. DOI: 10.22092/vj.2019.124409.1536.
- Scherer, G.P., Zavaglia, I.M.O., Sutili, F.J., Silva, H.N.P., Furquim, M.D., da Veiga, M.L., Baldisserotto, B., da Costa, S.T. 2023. The effects of stocking density and food deprivation on mucous cells and lysozyme activity in the skin and gills of silver catfish. *Animals* 13: 3438. DOI: 10.3390/ani13223438.
- Shokry, A., El-Shiekh, R., Kamel, G., Ramadan, A. 2022. Phytochemical contents, biological activities and therapeutic applications of *Hedera helix* (Ivy leaf) extracts: a review. *The Natural Products Journal* 12: 22-32. DOI:10.2174/2210315511666210917111801.
- Siwicki, A.K., Anderson, D.P., Rumsey, G.L. 1994. Dietary intake of immunostimulants by rainbow trout affects non-specific immunity and protection against furunculosis. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 41: 125-139. DOI: 10.1016/0165-2427(94)90062-0.
- Soltanian, S., Fereidouni, M.S., 2016. Effect of Henna (*Lawsonia inermis*) extract on the immunity and survival of common carp, *Cyprinus carpio* infected with *Aeromonas hydrophila*. *International Aquatic Research* 8: 247-261. DOI: 10.1007/s40071-016-0141-2.
- Tadese, D.A., Song, C., Sun, C., Liu, B., Liu, B., Zhou, Q., Xu, P., Ge, X., Liu, M., Xu, X., Tamiru, M., Zhou, Z., Lakew, A., Kevin, N.T. 2022. The role of currently used medicinal plants in aquaculture and their action mechanisms: A review. *Reviews in Aquaculture* 14: 816-847. DOI: 10.1111/raq.12626.
- Van Doan, H., Hoseinifar, S.H., Naraballoh, W., Jaturasitha, S., Tongsiri, S., Chitmanat, C., Ringø, E. 2019a. Dietary inclusion of Orange peels derived pectin and *Lactobacillus plantarum* for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) cultured under indoor biofloc systems. *Aquaculture* 508: 98-105. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2019.03.067.
- Van Doan, H., Hoseinifar, S.H., Sringarm, K., Jaturasitha, S., Yuangsoi, B., Dawood, M.A.O., Esteban, M.Á., Ringø, E., Faggio, C. 2019b. Effects of Assam tea extract on growth, skin mucus, serum immunity and disease resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) against *Streptococcus agalactiae*. *Fish & Shellfish Immunology* 93: 428-435. DOI: 10.1016/j.fsi.2019.07.077.
- Wang, W., Sun, J., Liu, C., Xue, Z. 2017. Application of immunostimulants in aquaculture: current knowledge and future perspectives. *Aquaculture Research* 48: 1-23. DOI: 10.1111/are.13161.
- Yılmaz, S., Ergün, S., Yiğit, M., Yılmaz, E. 2022. An Extensive review on the use of feed additives against fish diseases and improvement of health status of fish in turkish aquaculture sector. *Aquaculture Studies* 22: AQUAST710. DOI: 10.4194/AQUAST710.
- Yu, H., Sattanathan, G., Yu, L., Li, L., Xiao, Y. 2024. Impact of nutritional tea polyphenols on growth, feed efficiency,

biochemical traits, antioxidant capacity,
haematological parameters and
immunity in coho salmon

(*Oncorhynchus kisutch*). Animals 14:
2104. DOI: 10.3390/ani14142104.