CC BY

مقاله علمی – پژوهشی:

اثرات حفاظتی ریشه ماکا (*Lepidium meyenii*) بر شاخص‌های بیوشیمیایی استرس در ماهی زبرا (*Danio rario*) طی حمل‌ونقل

رقیه صفری[1*]، حامد آزادی[1]، امیرمحمد خواجوی[1]، مینا رهبر[1]، فائزه مرتضایی[1]، محمدحسین هجرتی[1]

*fisheriessafari@yahoo.com

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

تاریخ دریافت: مرداد ۱۴۰۳ تاریخ پذیرش: آبان ۱۴۰۳

چکیده

این مطالعه با هدف بررسی تأثیر سطوح مختلف پودر ریشه ماکا (*Lepidium meyenii*) در جیره غذایی بر شاخص‌های بیوشیمیایی ماهی زبرا (*Danio rerio*) در مواجهه با استرس حمل‌ونقل انجام شد. تعداد ۳۰۰ قطعه ماهی زبرا با میانگین وزنی ۰/۰۱ ± ۰/۲۹ گرم به صورت تصادفی به چهار گروه شاهد و سه تیمار با سطوح ۰/۵، ۱ و ۲ درصد پودر ریشه ماکا (به ترتیب C، T_1، T_2 و T_3) تقسیم شده و به مدت ۸ هفته تغذیه شدند. در انتهای آزمایش، ماهیان به مدت دو ساعت در معرض استرس حمل‌ونقل قرار گرفتند و شاخص‌های بیوشیمیایی، آنزیم‌های کبدی و هورمون کورتیزول ارزیابی شدند. نتایج نشان داد که پودر ریشه ماکا به‌ویژه در سطح ۲ درصد، به طور معنی‌داری سطوح گلوکز، کورتیزول، تری‌گلیسرید، کلسترول، لاکتات دهیدروژناز، آسپارتات آمینوترانسفراز، آلانین آمینوترانسفراز و آلکالین فسفاتاز را کاهش داد (P<۰/۰۵). بر اساس نتایج حاصله، استفاده از پودر ریشه ماکا به عنوان یک افزودنی گیاهی طبیعی در جیره غذایی ماهی زبرا به‌ویژه سطح ۲ درصد می‌تواند به کاهش اثرات منفی استرس حمل‌ونقل کمک کند.

کلمات کلیدی: ماکا، استرس حمل‌ونقل، شاخص‌های بیوشیمیایی، کورتیزول، ماهی زبرا

[Downloaded from ornamentalaquatics.ir on 2026-07-04]

[DOI: 10.22034/JOA.12.4.19]

مقدمه

ماهی زبرا (*Danio rerio*) یکی از مدل‌های رایج آزمایشگاهی در مطالعات زیست‌شناسی، ژنتیک، فیزیولوژی و آبزی‌پروری است که به دلیل رشد سریع، تولیدمثل بالا، اندازه کوچک و هزینه پایین نگهداری، کاربرد وسیعی یافته است (Lawrence, 2007; Ulloa *et al.*, 2014). در فرایند پرورش و بهره‌برداری از ماهیان زینتی و اقتصادی، حمل‌ونقل به عنوان یکی از مراحل حساس مطرح است که می‌تواند سبب بروز استرس‌های فیزیولوژیک قابل‌توجهی شود. استرس ناشی از حمل‌ونقل با تغییراتی در شاخص‌های بیوشیمیایی (افزایش سطح کورتیزول، گلوکز و فعالیت آنزیم‌های کبدی)، همراه است که در نهایت ممکن است رشد، ایمنی و بقاء ماهی را تحت تاثیر قرار دهد (Barton, 2002; Brick and Cech Jr, 2002; Urbinati *et al.*, 2004).

در سال‌های اخیر، به منظور کاهش اثرات منفی استرس در آبزیان، استفاده از ترکیبات طبیعی و گیاهان دارویی به عنوان جایگزین‌های ایمن و مؤثر برای ترکیبات شیمیایی مورد توجه قرار گرفته است (Citarasu, 2010). براساس مطالعات، این افزودنی‌ها غنی از ترکیبات زیست‌فعالی نظیر آنتی‌اکسیدان‌ها، فیتواستروژن‌ها و پلی‌ساکاریدها هستند که می‌توانند به طور چشمگیری سلامت و عملکرد ماهیان پرورشی را بهبود بخشند (Chakraborty *et al.*, 2014; Hu *et al.*, 2025).

یکی از گیاهان دارویی که پتانسیل بالایی در بهبود پاسخ‌های فیزیولوژیک دارد، گیاه ماکا (*Lepidium meyenii*) است. ماکا، گیاهی بومی ارتفاعات آند در آمریکای جنوبی، سرشار از ترکیبات فعال زیستی همچون پلی‌فنول‌ها، گلوکوزینولات‌ها، آلکالوئیدها و پلی‌ساکاریدهاست که دارای خواص آنتی‌اکسیدانی، تعدیل‌کنندگی استرس و تقویت‌کننده سیستم ایمنی است (Sandoval *et al.*, 2002; Zha *et al.*, 2014).

مطالعات متعدد بر آبزیان نشان داده‌اند که استفاده از عصاره‌های گیاهی مانند گزنه (*Urtica dioica*)، موسیر (*Allium hirtifolium*)، گل ختمی (*Alcea rosea*)، سیر (*Allium sativum*)، آویشن (*Thymus vulgaris*) و زنجبیل (*Zingiber officinale*) می‌تواند اثرات استرس‌های محیطی را کاهش دهد، پاسخ‌های آنتی‌اکسیدانی را بهبود بخشد و میزان بقاء ماهیان را افزایش دهد (Ghafarifarsani *et al.*, 2022؛ Safari *et al.*, 2025؛ Harikrishnan *et al.*, 2011؛ Farag *et al.*, 2021).

با وجود این، بر اساس دانش موجود، تاکنون مطالعه‌ای جامع درباره تأثیر مکمل‌های مشتق از ریشه گیاه ماکا بر پاسخ‌های فیزیولوژیک ماهی زبرا در مواجهه با استرس حمل‌ونقل گزارش نشده است. بر این اساس، مطالعه حاضر به بررسی ریشه گیاه ماکا به عنوان یک افزودنی غذایی در تاثیرگذاری بر شاخص‌های بیوشیمیایی، آنزیم‌های کبدی و هورمون کورتیزول ماهی زبرا نسبت به شرایط استرس‌زا می‌پردازد.

مواد و روش‌ها

تهیه جیره آزمایشی

پودر ریشه ماکا از عطاری شهر گرگان تهیه شد. برای آماده سازی جیره های غذایی حاوی سطوح مختلف ماکا، ابتدا پودر خشک شده ریشه ماکا از الک ۳۰ میکرون عبور داده شد. مقادیر تعیین شده (۰/۵، ۱ و ۲ درصد) از پودر ریشه ماکا با جیره تجاری بیومار به کمک محلول ژلاتین ۳ درصد مخلوط گردید. جیره های آماده شده به مدت ۲۴ ساعت در هوای محیط آزمایشگاه خشک شده و سپس در بسته بندی های نفوذناپذیر به نور و رطوبت قرار داده شدند. تمام نمونه ها تا زمان مصرف در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شدند. جیره گروه شاهد تنها حاوی جیره پایه بیومار همراه با ژلاتین اسپری شده (بدون افزودن پودر ریشه ماکا) بود.

شرح آزمایش

در این پژوهش، ۳۰۰ قطعه ماهی زبرا (میانگین وزنی ۰/۰۱±۰/۲۹ گرم) تهیه و پس از انتقال به سالن آبزی‌پروری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، به مدت ۲ هفته با شرایط جدید سازگار شدند. این ماهی ها در ۱۲ آکواریوم شیشه ای (حجم ۴۰ لیتر؛ تعداد ۲۵ قطعه در هر مخزن) توزیع گردیدند. طرح آزمایش به صورت کاملاً تصادفی با ۴ گروه مختلف (شامل سه تیمار و یک شاهد) و هر گروه در سه تکرار طراحی شد. جیره‌های غذایی مورد استفاده شامل خوراک تجاری بیومار به همراه مقادیر ۰/۵، ۱ و ۲ درصد پودر ریشه ماکا برای گروه های تیمار (به‌ترتیب T_1، T_2 و T_3) و جیره پایه برای گروه شاهد (C) بود.

غذادهی به میزان ۳ درصد زیست‌توده روزانه و در دو نوبت (ساعت ۰۸:۰۰ و ۱۵:۰۰) به مدت ۸ هفته انجام پذیرفت. شاخص‌های فیزیکوشیمیایی آب شامل دمای آب (۲±۲۶ درجه

[Downloaded from ornamentalaquatics.ir on 2026-07-04]

[DOI: 10.22034/JOA.12.4.19]

سانتی‌گراد)، pH (۷/۸±۰/۱)، اکسیژن محلول (۷/۷±۰/۰ میلی گرم در لیتر) و دوره نوری (۱۲ساعت روشنایی / ۱۲ ساعت تاریکی) به صورت روزانه کنترل و ثبت گردید. برای حفظ کیفیت آب، سیستم هوادهی پیوسته در تمام مدت آزمایش فعال بود. همچنین پیش از هر بار غذادهی، پسماندهای غذایی و مواد دفعی از محیط خارج می‌شد.

بررسی مقاومت به استرس حمل‌ونقل

پس از اتمام دوره ۸ هفته تغذیه، به منظور ارزیابی تحمل ماهی‌ها در شرایط استرس حمل‌ونقل، از هر تکرار آزمایشی ۱۸ قطعه ماهی به صورت تصادفی انتخاب گردید. ۲۴ ساعت پیش از آغاز تست، تغذیه قطع شد. ماهی‌های انتخابی در کیسه‌های پلاستیکی مخصوص حاوی ۵۰۰ میلی‌لیتر آب تصفیه‌شده (از محیط پرورش) و ۵۰۰ میلی‌لیتر اکسیژن خالص با نسبت ۱:۱ قرار داده شدند. کیسه‌ها به‌دقت بسته‌بندی شده و به مدت دو ساعت در معرض استرس حمل‌ونقل قرار گرفتند.

ارزیابی شاخص‌های بیوشیمیایی سرم

بلافاصله پس از اتمام تست استرس حمل‌ونقل، ۹ قطعه ماهی از هر تیمار (۳ قطعه از هر تکرار) با دوز بالای عصاره پودر گل میخک بی‌هوش و سپس کشته شدند. با توجه به محدودیت‌های نمونه‌گیری خونی ناشی از ابعاد کوچک ماهیان، از روش عصاره‌گیری کل بدن مطابق دستورالعمل Yousefi و همکاران (۲۰۱۸) استفاده شد. نمونه‌ها در محیط نیتروژن مایع همگن‌سازی شده و با افزودن بافر نمکی فسفاته (به نسبت ۱:۲ وزنی/حجمی) هموژنیزه گردیدند. سانتریفیوژ در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۴۰۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه انجام شد. سوپرناتانت جمع‌آوری‌شده در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان انجام آزمایش‌های بعدی نگهداری گردید (Yousefi *et al.*, 2018).

سنجش سطوح گلوکز، کلسترول، تری گلیسیرید و لاکتات دهیدروژناز (LDH) در نمونه‌های سرم ماهی با استفاده از روش های طیف‌سنجی و مطابق با دستورالعمل‌های ارائه شده به‌وسیله کیت‌های تجاری شرکت پارس آزمون (تهران، ایران) انجام پذیرفت. اندازه‌گیری جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۵۴۶ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر مدل UV-2150 (Unico, New Jersey, USA) و در شرایط استاندارد دمایی (۳۷ درجه سانتی‌گراد) صورت گرفت (McGowan *et al.*, 1983).

برای تعیین سطح آنزیم آسپارتات آمینوترانس‌فراز، از کیت شرکت پارس‌آزمون (کرج، ایران) و دستگاه اتوآنالایزر (perstige 24i, Boeki, Japan) با روش آنزیمی IFCC بر اساس دستورالعمل استاندارد سنجش شد. در این آزمایش، تغییرات جذب نوری در طول موج ۳۴۰ نانومتر به عنوان معیار سنجش در نظر گرفته شد و نتایج بر حسب واحد بین‌المللی (IU) گزارش گردید. واکنش شیمیایی بین ال-آسپارتات و ۲-اگزالوگلوتارات در حضور آنزیم AST انجام می‌گیرد. این فرایند منجر به تولید دو ماده: اگزالوگلوتارات و ال-مالات، می‌شود. نکته کلیدی اینجاست که در طول این واکنش، مقدار NADH مصرفی که خاصیت جذب نوری دارد، با میزان محصولات تشکیل شده رابطه مستقیم دارد. همین ویژگی، اساس سنجش دقیق فعالیت آنزیم AST را تشکیل می‌دهد. سنجش فعالیت آنزیم آلانین آمینوترانسفراز (ALT) با روش استاندارد IFCC انجام شد که در آن از دستگاه اتوآنالایزر (perstige 24i, Boeki, Japan) و کیت تشخیصی شرکت پارس آزمون (کرج، ایران) طبق دستورالعمل سازنده استفاده گردید. در این روش، واکنش بین ال-آلانین و ۲-اگزالوگلوتارات به‌وسیله آنزیم ALT کاتالیز شده و منجر به تولید پیروات می‌شود. پیروات حاصل در ادامه به ال-لاکتات تبدیل می‌گردد. از آن‌جایی‌که در این فرایند، NADH (که جذب نوری در ۳۴۰ نانومتر دارد) به میزان متناسب با تولید پیروات مصرف می‌شود، کاهش جذب نوری مبنای محاسبه کمی فعالیت آنزیم ALT قرار گرفت. نتایج نهایی بر حسب واحد بین‌المللی (IU) گزارش شد (Reitman and Frankel, 1957).

سنجش آنزیم آلکالین فسفاتاز (ALP) با استفاده از کیت تولیدی شرکت پارس آزمون (کرج، ایران) و بر اساس روش استاندارد DGKC انجمن بیوشیمی آلمان انجام شد. در این آزمایش، محلول‌های معرف ۱ (حاوی دی‌اتانول‌آمین و کلرید منیزیم) و معرف ۲ (حاوی پی-نیتروفنیل‌فسفات) با نسبت ۴ به ۱ ترکیب شدند. سپس ۲۰ میکرولیتر از نمونه مورد نظر با ۱۰۰۰ میکرولیتر از مخلوط معرف‌ها مخلوط گردید و جذب نوری آن پس از ۱ دقیقه در طول موج ۴۰۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. در ادامه، تغییرات جذب نوری در دقیقه‌های ۱، ۲ و ۳ ثبت و میانگین این مقادیر محاسبه شد. نهایتاً، میانگین حاصله در ضریب ۲۷۵۷ ضرب گردید تا فعالیت آنزیم تعیین شود. برای کنترل کیفی آزمایش، از کنترل‌های TruLab P و TruLab N

[Downloaded from ornamentalaquatics.ir on 2026-07-04]

[DOI: 10.22034/JOA.12.4.19]

شرکت پارس آزمون استفاده شد (Fischbach and Zawta, 1992).

سنجش کورتیزول سرمی با روش الایزا (واحد $ng\ mL^{-1}$) با استفاده از کیت Monobind (آمریکا) انجام شد. در این روش، ۲۵ میکرولیتر از نمونه‌ها، استانداردها و کنترل‌ها به چاهک‌های پوشیده با آنتی‌بادی افزوده شد. پس از افزودن ۵۰ میکرولیتر آنزیم کونژوگه و ۵۰ میکرولیتر بیوتین-کورتیزول و اختلاط (۲۰ ثانیه)، پلیت به مدت ۶۰ دقیقه در ۲۶ درجه سانتی گراد انکوبه شد. پس از شستشوی سه‌باره چاهک (با ۳۵۰ میکرولیتر محلول شستشو)، ۱۰۰ میکرولیتر سوبسترا اضافه و پس از ۱۵ دقیقه انکوباسیون، واکنش با ۵۰ میکرولیتر محلول توقف متوقف شد. جذب نوری در ۴۵۰ نانومتر با دستگاه الایزاریدر (Sirio S, Seac RADIM, Italy) اندازه‌گیری و غلظت‌ها بر اساس منحنی استاندارد محاسبه گردید. دقت روش با ضرایب تغییرات درون‌آزمون (۶/۱ درصد) و برون آزمون (۹/۷ درصد) تأیید شد (Tintos *et al.*, 2006).

روش تجزیه‌وتحلیل آماری داده‌ها

تمامی داده‌ها از نظر توزیع نرمال با آزمون Shapiro-Wilk مورد بررسی قرار گرفتند. تحلیل آماری با استفاده از روش آنالیز واریانس یکطرفه (ANOVA) در سطح معنی‌داری $P < ۰/۰۵$ انجام شد. در صورت مشاهده تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها، مقایسه میانگین‌ها با آزمون چنددامنه‌ای توکی (Tukey's HSD) انجام پذیرفت. نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار ارائه شدند. کلیه محاسبات آماری و ترسیم نمودارها با نرم‌افزار GraphPad Prism نسخه ۸ انجام شد.

نتایج

شاخص‌های بیوشیمیایی

با توجه به جدول ۱، سطح گلوکز و تری گلیسرید سرم در گروه شاهد و T_1 به طور معنی‌داری بالاتر از تیمارهای T_2 و T_3 بود ($P<۰/۰۵$). سطح کلسترول در گروه شاهد به طور معنی‌داری بالاتر از تیمارهای تغذیه‌شده با پودر ریشه ماکا بود ($P<۰/۰۵$). مقادیر این شاخص در تیماهای آزمایشی ماکا اختلاف معنی‌داری نشان نداد ($P>۰/۰۵$). فعالیت آنزیم لاکتات دهیدروژناز (LDH) نیز در تیمار شاهد به طور معنی‌داری بالاتر از تیمارهای تغذیه شده با ماکا بود و روند آن با افزایش سطوح ماکا، کاهش یافت ($P<۰/۰۵$).

جدول ۱: شاخص‌های بیوشیمیایی سرم بدن ماهی زبرا (*D. rerio*) تغذیه شده با سطوح مختلف پودر ریشه ماکا (*L. meyenii*) به‌مدت ۸ هفته، پس از قرارگیری در معرض استرس حمل و نقل (میانگین ± انحراف معیار، n = ۹).

شاخص‌ها	C	T_1	T_2	T_3
گلوکز (mg/dl)	۲۵/۴۸ ± ۰/۱۹^{a}	۲۳/۳۲ ± ۰/۵۷^{a}	۱۹/۹۵ ± ۰/۷۶^{b}	۱۷/۹۳ ± ۰/۵۷^{b}
کلسترول (mg/dl)	۱۱۲/۵ ± ۵/۹۰^{a}	۹۸/۹۶ ± ۱/۴۷^{b}	۹۱/۰۵ ± ۰/۸۸^{b}	۹۲/۷۱ ± ۱/۴۷^{b}
تری‌گلیسرید (mg/dl)	۱۷۰/۷۳± ۳/۴۵^{a}	۱۶۸/۲۹± ۳/۴۵^{a}	۱۴۳/۹۰ ± ۶/۹۰^{b}	۹۸/۷۸ ± ۱/۷۳^{c}
لاکتات دهیدروژناز (U/L)	۳۲۳/۸۱ ± ۱۳/۴۶^{a}	۲۷۸/۵۷ ± ۱۰/۱۰^{b}	۲۴۷/۶۲ ± ۱۳/۴۶^{bc}	۲۳۰/۹۵ ± ۳/۳۷^{c}

حروف لاتین کوچک غیر مشترک در هر سطر نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار است ($P<۰/۰۵$). C: گروه شاهد (فاقد ماکا)، T_1: تغذیه شده با جیره حاوی ۰/۵ درصد ماکا، T_2: تغذیه شده با جیره حاوی ۱ درصد ماکا، T_3: تغذیه شده با جیره حاوی ۲ درصد ماکا

فعالیت آنزیم‌های کبدی

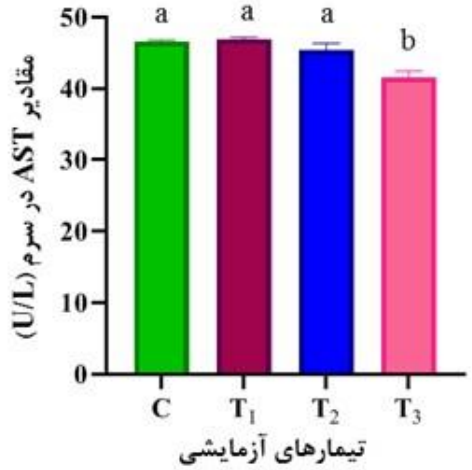
با توجه به شکل‌های ۱، ۲ و ۳، فعالیت آنزیم‌های AST، ALT و ALP در سرم ماهیان تغذیه شده با سطوح مختلف ریشه ماکا به طور معنی‌داری در تیمار T_3 کمتر از سایر گروه‌ها بود ($P<۰/۰۵$).

مقادیر هورمون کورتیزول در سرم

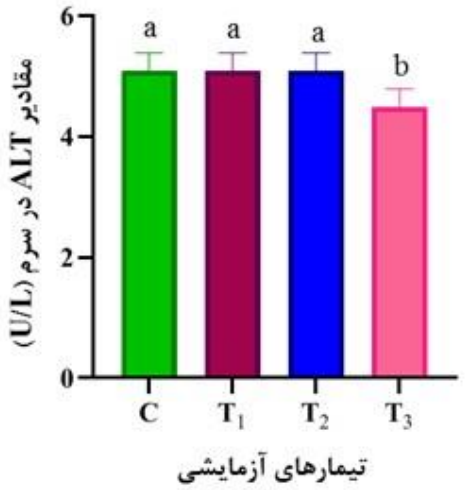
غلظت هورمون کورتیزول در سرم (شکل ۴) با افزایش مقادیر سطوح ماکا در جیره رابطه معکوس نشان داد به‌طوری‌که بالاترین میزان آن در گروه شاهد و پایین‌ترین میزان آن در گروه تغذیه شده با ۲ درصد پودر ریشه ماکا به‌دست آمد ($P<۰/۰۵$).

[Downloaded from ornamentalaquatics.ir on 2026-07-04]

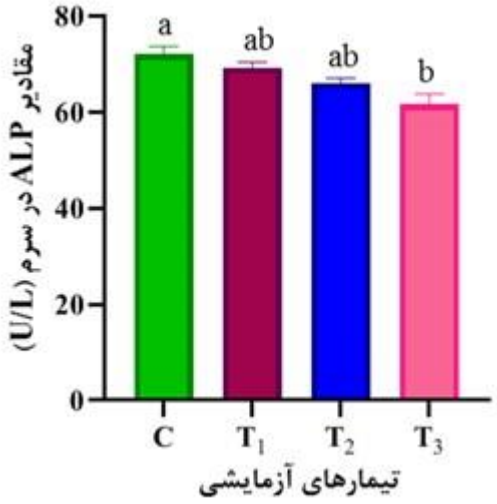
[DOI: 10.22034/JOA.12.4.19]



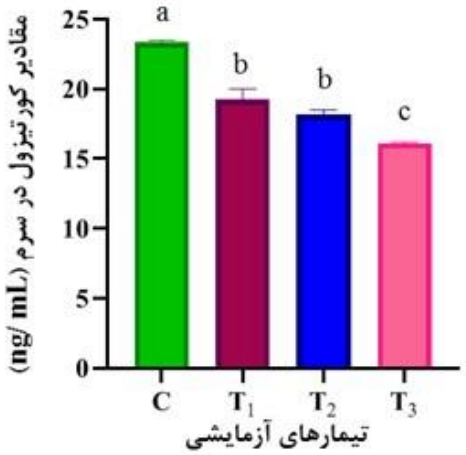
شکل ۱: سطوح آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) در سرم ماهی زبرا (*D. rerio*) تغذیه شده با سطوح مختلف پودر ریشه ماکا (*L. meyenii*) به مدت ۸ هفته، پس از قرارگیری در معرض استرس حمل‌ونقل (میانگین± انحراف معیار؛ n=۹). حروف لاتین کوچک غیر مشترک نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار است (P <۰/۰۵). C: گروه شاهد (فاقد ماکا)، T_1: تغذیه شده با جیره حاوی ۰/۵ درصد ریشه ماکا، T_2: تغذیه شده با جیره حاوی ۱ درصد ریشه ماکا، T_3: تغذیه شده با جیره حاوی ۲ درصد ریشه ماکا



شکل ۲: سطوح آنزیم آلانین آمینوترانسفراز (ALT) در سرم ماهی زبرا (*D. rerio*) تغذیه شده با سطوح مختلف پودر ریشه ماکا (*L. meyenii*) به مدت ۸ هفته، پس از قرارگیری در معرض استرس حمل‌ونقل (میانگین ± انحراف معیار؛ n=۹). حروف لاتین کوچک غیر مشترک نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار است (P <۰/۰۵). C: گروه شاهد (فاقد ماکا)، T_1: تغذیه شده با جیره حاوی ۰/۵ درصد ریشه ماکا، T_2: تغذیه شده با جیره حاوی ۱ درصد ریشه ماکا، T_3: تغذیه شده با جیره حاوی ۲ درصد ریشه ماکا



شکل ۳: سطوح آنزیم آلکالین فسفاتاز (ALP) در سرم ماهی زبرا (*D. rerio*) تغذیه شده با سطوح مختلف پودر ریشه ماکا (*L. meyenii*) به مدت ۸ هفته، پس از قرارگیری در معرض استرس حمل‌ونقل (میانگین ± انحراف معیار؛ n=۹). حروف لاتین کوچک غیر مشترک نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار است (P <۰/۰۵). C: گروه شاهد (فاقد ماکا)، T_1: تغذیه شده با جیره حاوی ۰/۵ درصد ریشه ماکا، T_2: تغذیه شده با جیره حاوی ۱ درصد ریشه ماکا، T_3: تغذیه شده با جیره حاوی ۲ درصد ریشه ماکا



شکل ۴: سطوح هورمون کورتیزول در سرم ماهی زبرا (*D. rerio*) تغذیه شده با سطوح مختلف پودر ریشه ماکا (*L. meyenii*) به مدت ۸ هفته، پس از قرارگیری در معرض استرس حمل‌ونقل (میانگین ± انحراف معیار؛ n=۹). حروف لاتین کوچک غیر مشترک نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار است (P <۰/۰۵). C: گروه شاهد (فاقد ماکا)، T_1: تغذیه شده با جیره حاوی ۰/۵ درصد ریشه ماکا، T_2: تغذیه شده با جیره حاوی ۱ درصد ریشه ماکا، T_3: تغذیه شده با جیره حاوی ۲ درصد ریشه ماکا

[Downloaded from ornamentalaquatics.ir on 2026-07-04]

[DOI: 10.22034/JOA.12.4.19]

بحث

یافته‌های این پژوهش نشان داد که استفاده از گیاه ماکا در جیره غذایی ماهی زبرا موجب تغییرات در شاخص‌های بیوشیمیایی خون پس از مواجهه با استرس حمل‌ونقل می‌شود. مصرف جیره‌های حاوی سطوح بالاتر ریشه گیاه ماکا (۱-۲ درصد) منجر به کاهش معنی‌دار ($P<0/05$) در غلظت گلوکز خون ماهی زبرا شد. گلوکز به عنوان یکی از شاخص‌های متابولیک کلیدی، در ارزیابی وضعیت استرس در ماهیان نقش مهمی ایفاء می‌کند. در شرایط تنش‌زا، افزایش سطح کورتیزول موجب فعال‌سازی مسیرهای گلیکوژنولیز شده که در نهایت به افزایش گلوکز خون منجر می‌گردد (Barton and Iwama, 1991; Mommsen *et al*., 1999). این پاسخ، یک مکانیسم تطابقی برای تأمین سریع انرژی مورد نیاز اندام‌های حیاتی مانند عضلات و مغز محسوب می‌شود (Barton, 2002). در این مطالعه، تفاوت معنی‌داری در سطح گلوکز بین گروه شاهد و تیمار T_1 مشاهده نشد که احتمالاً به دلیل دوز پایین ماکا و ناکافی بودن آن برای ایجاد تغییرات متابولیک قابل‌توجه بوده است. با این‌حال، در تیمارهای T_2 و T_3، سطح گلوکز به طور قابل‌توجهی کاهش یافت. این کاهش ممکن است نشان‌دهنده نقش محافظتی ماکا از طریق کاهش پاسخ هورمونی استرس یا افزایش بازجذب گلوکز باشد (Sandoval *et al*., 2002; Zha *et al*., 2014). این نتایج با مطالعاتی هم‌خوانی دارد که گزارش کرده‌اند، افزودن عصاره‌های گیاهی با خواص آنتی‌اکسیدانی به جیره ماهیان می‌تواند با تعدیل محور هیپوتالاموس–هیپوفیز–بین‌کلیوی (HPI)، از افزایش گلوکز ناشی از استرس جلوگیری کنند (Yuan *et al*., 2021; Shohreh *et al*., 2025).

در مطالعه حاضر، تیمارهای تغذیه‌شده با سطوح مختلف پودر ریشه ماکا، مقادیر پایین‌تری از کلسترول را نسبت به شاهد نشان دادند. کلسترول یکی از شاخص‌های لیپیدی مهم در خون است که تغییرات آن می‌تواند تحت تأثیر استرس، تغذیه، و وضعیت فیزیولوژیک ماهی قرار گیرد. در شرایط استرس‌زا (حمل‌ونقل)، افزایش هورمون‌های استرس‌زا به‌ویژه کورتیزول می‌تواند باعث تحریک تجزیه لیپیدها و افزایش سطح کلسترول خون شود (Montero *et al.*, 2001). مطالعات پیشین نیز تأثیر مثبت ترکیبات گیاهی در کنترل سطح کلسترول را نشان داده‌اند. مطالعه بر قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) نشان داد که افزودن عصاره ریحان (*Ocimum basilicum*) به جیره غذایی پس از ۳۰ روز موجب کاهش معنی‌دار کلسترول سرم شد (Pastorino *et al.*, 2022) که این موضوع نشان‌دهنده خاصیت محافظتی گیاهان دارویی در برابر اختلالات لیپیدی است.

تری‌گلیسرید نیز یکی دیگر از نشانگرهای لیپیدی است که در پاسخ به استرس تغییر می‌کند. افزایش کورتیزول در اثر استرس می‌تواند با افزایش تجزیه چربی‌ها (لیپولیز)، منجر به افزایش اسیدهای چرب آزاد و در ادامه، تری‌گلیسرید خون شود (Li *et al.*, 2024). در این مطالعه، تیمارهای دریافت‌کننده ماکا نسبت به گروه کنترل پس از استرس حمل‌ونقل، مقادیر کمتری از تری‌گلیسرید را نشان دادند که می‌تواند بیانگر تأثیر ضد استرسی ماکا و کاهش تحریک مسیرهای لیپولیتیک باشد. نتایج حاضر از جنبه کاهش تری گلیسرید با یافته‌های غفاری فارسانی و همکاران (۲۰۲۲) در مطالعه بر قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) که اثرات محافظتی عصاره موسیر (*Allium hirtifolium*) را بررسی کرده بودند، همخوانی قابل‌توجهی نشان می‌دهد (Ghafarifarsani *et al.*, 2022).

در مطالعه حاضر، تیمارهای تغذیه‌شده با سطوح مختلف پودر ریشه ماکا، به‌ویژه سطح ۲ گرم در کیلوگرم (T_3)، سطح پایین‌تری از LDH را نسبت به شاهد داشتند. آنزیم LDH شاخص مهمی برای سنجش میزان تنفس بی‌هوازی و استرس فیزیولوژیک در ماهیان است. در پاسخ به استرس، فعالیت این آنزیم افزایش می‌یابد که نشانگر تمایل بیشتر سلول‌ها به مصرف مسیرهای بی‌هوازی برای تأمین انرژی فوری است (Chang *et al.*, 2020). این یافته‌ها حاکی از آن است که ماکا توانسته از شدت پاسخ‌های استرسی بکاهد و متابولیسم انرژی را در مسیر طبیعی‌تری حفظ کند. این نتایج با یافته‌های مطالعه‌ای که اثر جیره‌های حاوی ترکیب گیاهی *Mucuna pruriens* و *Pedalium murex* (به نسبت ۱:۱) را بر شاخص‌های هماتولوژیک بچه‌ماهیان روهو (*Labeo rohita*) بررسی کرده بود، هم‌خوانی دارد (Ojha *et al.*, 2016).

نتایج مطالعه حاضر نشان‌دهنده تأثیر معنی‌دار افزودن پودر ریشه ماکا به جیره غذایی ماهی زبرا بر فعالیت آنزیم‌های کبدی پس از استرس حمل‌ونقل بود به‌طوری‌که فعالیت آنزیم‌های AST، ALT و ALP به طور معنی‌داری در تیمار T_3 کمتر از سایر گروه ها بود. این آنزیم ها در شرایط طبیعی درون سلول‌های کبدی حضور دارند، اما در صورت آسیب یا نکروز سلولی به جریان خون انتشار پیدا می‌کنند. از این‌رو، افزایش سطح این

[Downloaded from ornamentalaquatics.ir on 2026-07-04]

[DOI: 10.22034/JOA.12.4.19]

آنزیم‌ها در سرم به عنوان نشانه‌ای از استرس اکسیداتیو، التهاب یا آسیب بافت کبدی شناخته می‌شود (Abdel-Tawwab *et al.,* 2024). در این مطالعه، کاهش غلظت این آنزیم‌ها در گروه‌های تغذیه‌شده با پودر ریشه ماکا می‌تواند بیانگر نقش حفاظتی این گیاه دارویی در کاهش اثرات استرس‌زا و تثبیت عملکرد سلول‌های کبدی باشد. ترکیبات فعال موجود در ماکا مانند پلی‌فنول‌ها و فلاونوئیدها احتمالاً با خاصیت آنتی‌اکسیدانی خود از غشاء سلولی محافظت کرده و مانع از انتشار آنزیم‌ها به سرم شده‌اند. مطالعات متعدد نشان داده‌اند که عصاره‌های گیاهی می‌توانند اثرات محافظتی قابل‌توجهی بر عملکرد کبد در گونه‌های مختلف آبزی داشته باشند. در این زمینه، پژوهش‌ها حاکی از آن است که عصاره موسیر (*A. hirtifolium*) قادر به کاهش معنی‌دار سطوح آنزیم‌های کبدی (AST، ALT و ALP) در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) شده است. این اثرات احتمالاً از طریق مکانیسم‌های مختلفی از جمله خواص آنتی‌اکسیدانی قوی، مهار پراکسیداسیون لیپیدها و کاهش استرس اکسیداتیو اعمال می‌شوند (Ghafarifarsani *et al.,* 2022). به طور مشابه، مطالعات انجام شده بر ماهی زبرا (*D. rerio*) نیز نشان داده‌اند که عصاره گل ختمی (*Alcea rosea*) می‌تواند به طور مؤثری سطوح آنزیم‌های کبدی را تعدیل نماید (Safari *et al.,* 2025). این یافته‌ها به‌خوبی گویای این واقعیت هستند که ترکیبات گیاهی مختلف با مکانیسم‌های عمل مشابه می‌توانند گزینه‌های درمانی امیدوارکننده‌ای برای محافظت از کبد و بهبود عملکرد آن در گونه‌های آبزی باشند.

در مطالعه حاضر، افزایش قابل‌توجه سطح کورتیزول در گروه شاهد پس از حمل‌ونقل تأییدکننده وقوع پاسخ استرسی شدید است. اما در گروه‌هایی که با پودر ریشه ماکا تغذیه شده بودند، این افزایش به طور معنی‌داری مهار شده و در بالاترین سطح ماکا (۲ درصد پودر ریشه ماکا)، کمترین مقدار کورتیزول مشاهده شد. کورتیزول به عنوان هورمون اصلی استرس در ماهیان، نقش کلیدی در هماهنگ‌سازی پاسخ فیزیولوژیک به تنش‌های محیطی دارد. این هورمون از غدد بین‌کلیوی ترشح شده و از طریق محور HPI کنترل می‌شود. در مواجهه با استرس، این محور فعال شده و منجر به ترشح سریع کورتیزول می‌شود که به عنوان یک پاسخ اولیه جهت حفظ تعادل هموستاز در بدن عمل می‌کند (Barton *et al.,* 2002). این یافته نشان می‌دهد که ماکا با تعدیل فعالیت محور HPI می‌تواند از شدت پاسخ استرسی بکاهد. مطالعات قبلی از جمله پژوهش Meissner و همکاران (۲۰۰۶) نشان داده‌اند که مصرف ماکا به‌ویژه در دوزهای بالا و دوره‌های طولانی‌تر منجر به کاهش قابل‌توجه سطح کورتیزول خون در موش‌های نر و ماده گردید. این کاهش احتمالاً ناشی از ترکیبات فعال موجود در ماکا است که با تأثیر تعدیل‌کننده بر محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-آدرنال (HPA) می‌توانند ترشح کورتیزول را مهار کنند (Meissner *et al.,* 2006).

در مجموع، نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تغذیه ماهی زبرا با سطوح مختلف گیاه دارویی ریشه ماکا به‌ویژه سطح ۲ درصد به‌مدت دو ماه، می‌تواند با تعدیل شاخص‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی، اثرات استرس حمل‌ونقل را کاهش دهد. کاهش سطوح کورتیزول، گلوکز، تری‌گلیسرید، کلسترول، LDH و آنزیم‌های کبدی در برخی تیمارها، بیانگر بهبود وضعیت متابولیک، عملکرد کبدی و پاسخ بهتر به استرس بود. این نتایج نشان می‌دهد که پودر ریشه ماکا به عنوان یک افزودنی گیاهی طبیعی می‌تواند با تقویت مقاومت فیزیولوژیک ماهی، رویکردی مؤثر در مدیریت استرس در شرایط حمل‌ونقل و آبزی‌پروری باشد. با توجه به نتایج حاصله، استفاده هدفمند از این گیاه در تغذیه ماهیان می‌تواند به ارتقاء سلامت و بهبود عملکرد در صنعت پرورش ماهی کمک کند.

منابع

Abdel-Tawwab, M., Hamed, H.S., Monier, M.N. and Amen, R.M., 2024. The ameliorative effects of dietary rosemary (*Rosmarinus officinalis*) against growth retardation, oxidative stress and immunosuppression induced by waterborne lead toxicity in Nile tilapia fingerlings. *Annals of Animal Science,* 24(1), 139–149. DOI:10.2478/aoas-2023-0057

Barton, B.A. and Iwama, G.K., 1991. Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. *Annual Review of Fish Diseases*, 1, 3-26. https://doi.org/10.1016/0959-8030(91)90019-G.

[Downloaded from ornamentalaquatics.ir on 2026-07-04]

[DOI: 10.22034/JOA.12.4.19]

Barton, B.A., 2002. Stress in fishes: A diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids. *Integrative and Comparative Biology*, 42(3), 517–525. https://doi.org/10.1093/icb/42.3.517

Brick, M.E. and Cech Jr, J.J., 2002. Metabolic responses of juvenile striped bass to exercise and handling stress with various recovery environments. *Transactions of the American Fisheries Society*, 131(5), 855–864. https://doi.org/10.1577/1548-8659(2002)131<0855:MROJSB>2.0.CO;2

Chakraborty, S.B., Horn, P. and Hancz, C., 2014. Application of phytochemicals as growth-promoters and endocrine modulators in fish culture. *Reviews in Aquaculture*, 6, 1–19. https://doi.org/10.1111/raq.12021.

Chang, C. H., Zhou, X.W., Wang, Y.C. and Lee, T.H., 2020. Differential effects of hypothermal stress on lactate metabolism in fresh water- and seawater-acclimated milkfish, *Chanos chanos*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology,* 248, 110744. https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2020.110744

Citarasu, T., 2010. Herbal biomedicines: A new opportunity for aquaculture industry. *Aquaculture International,* 18(3), 403–414. https://doi.org/10.1007/s10499-009-9253-7

Farag, M. R., Alagawany, M., Taha, H.S., Ismail, T.A., Khalil, S.R. and Abou-Zeid, S.M., 2021. Immune response and susceptibility of Nile tilapia fish to Aeromonas hydrophila infection following the exposure to Bifenthrin and/or supplementation with *Petroselinum crispum* essential oil. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 216, 112205. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112205.

Fischbach, F. and Zawta, B. 1992. Age-dependent reference limits of several enzymes in plasma at different measuring temperatures. Klin Lab, 555–561.

Ghafarifarsani, H., Yousefi, M., Hoseinifar, S.H., Paolucci, M., Lumsangkul, C., Jaturasitha, S. and Van Doan, H., 2022. Beneficial effects of Persian shallot (*Allium hirtifolium*) extract on growth performance, biochemical, immunological and antioxidant responses of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* fingerlings. *Aquaculture*, 555, 738162. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.738162.

Harikrishnan, R., Balasundaram, C. and Heo, M.S., 2011. Herbal supplementation diets on hematology and innate immunity in goldfish against *Aeromonas hydrophila*. *Fish & Shellfish Immunology*, 30(3), 720–726. https://doi.org/10.1016/j.fsi.2009.11.013

Hu, X., Ma, W., Zhang, D., Tian, Z., Yang, Y., Huang, Y. and Hong, Y., 2025. Application of natural antioxidants as feed additives in aquaculture: A review. *Biology*, 14, 87. https://doi.org/10.3390/biology14010087.

Lawrence, C., 2007. The husbandry of zebrafish (*Danio rerio*): A review. *Aquaculture,* 269(1–4), 1–20. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.04.077

Li, Z., Gao, Q., Dong, S., Dong, K., Xu, Y., Mei, Y. and Hou, Z., 2024. Effects of chronic stress from high stocking density in mariculture: Evaluations of growth performance and lipid metabolism of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Biology*, 13, 263. https://doi.org/10.3390/biology13040263.

[Downloaded from ornamentalaquatics.ir on 2026-07-04]

[DOI: 10.22034/JOA.12.4.19]

McGowan, M.W., Artiss, J.D., Strandbergh, D.R. and Zak, B., 1983. A peroxidase-coupled method for the colorimetric determination of serum triglycerides. *Clinical Chemistry*, 29, 538-542. https://doi.org/10.1093/clinchem/29.3.538.

Meissner, H.O., Reich-Bilinska, H., Mscisz, A. and Kedzia, B., 2006. Therapeutic effects of pre-gelatinized *Lepidium peruvianum* Chacon (Maca): Clinical observations on its applications in the treatment of menopausal symptoms. *International Journal of Biomedical Science*, 2(3), 260–284.

Mommsen, T.P., Vijayan, M.M. and Moon, T.W., 1999. Cortisol in teleosts: dynamics, mechanisms of action and metabolic regulation. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 9(3), 211–268. https://doi.org/10.1023/A:1008924418720

Montero, D., Robaina, L.E., Socorro, J., Vergara, J.M., Tort, L. and Izquierdo, M.S., 2001. Alteration of liver and muscle fatty acid composition in gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles held at high stocking density and fed an essential fatty acid deficient diet. *Fish Physiology and Biochemistry*, 24, 63-72. https://doi.org/10.1023/A:1011164629660.

Ojha, M.L., Chadha, N.K., Saini, V.P., Damroy, S., Chandraprakash, P.B. and Sawant, P.B., 2016. Growth, metabolism and haematological parameters of *Labeo rohita* (Hamilton, 1822) fingerlings fed with herbal supplemented diet. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, 4(6), 357–363.

Pastorino, P., Bergagna, S., Vercelli, C., Pagliasso, G., Dellepiane, L., Renzi, M., Barbero, R., Re, G., Elia, A. C., Dondo, A. and Barceló, D., 2022. Changes in serum blood parameters in farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed with diets supplemented with waste derived from supercritical fluid extraction of sweet basil (*Ocimum basilicum*). *Fishes*, 7(2), 89. https://doi.org/10.3390/fishes7020089

Reitman, S. and Frankel, A.S., 1957. A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases. *American Journal of Clinical Pathology*, 28, 56–63. https://doi.org/10.1093/ajcp/28.1.56

Safari, R., Hoseinifar, S.H., Raeisi, M., Vakili, F., Paolucci, M., Yazici, M., Van Doan, H., Azadi, H., Hoseini, M., Abdolmanafi, M. and Ghafarifarsani, H., 2025. Unveiling the role of *Alcea rosea* in modulating growth, immunity, antioxidant defenses and gene expression in zebrafish (*Danio rerio*). *Veterinary Research Communications*, 49, 105. https://doi.org/10.1007/s11259-024-10376-7.

Sandoval, M., Okuhama, N.N., Angeles, F.M., Melchor, V.V., Condezo, L.A., Lao, J. and Miller, M.J., 2002. Antioxidant activity of the cruciferous vegetable Maca (*Lepidium meyenii*). *Food Chemistry*, 79(2), 207–213. https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00133-4

Shohreh, P., Mohammadzadeh, S., Mahboub, H.H., Ebrahimi, P., Gavzan, H., Ahmadifar, M., Moghadam, M.S., El-Haroun, E., Hoseinifar, S.H., Guerreiro, I. and Paolucci, M., 2025. The role of artichoke (*Cynara scolymus*) extract in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) growth and digestive enzymes, effect on oxidative and immune-and antioxidant-related gene expression before and after heat stress. *Aquaculture International*, 33, 115. https://doi.org/10.1007/s10499-024-01522-8.

[Downloaded from ornamentalaquatics.ir on 2026-07-04]

[DOI: 10.22034/JOA.12.4.19]

Tintos, A., Migues, J., Mancera, J. and Soengas, J., 2006. Development of a microtiter plate indirect ELISA for measuring cortisol in teleosts and evaluation of stress response in rainbow trout and gilthead sea bream. *Journal of Fish Biology*, 68, 251–263. https://doi.org/10.1111/j.0022-1112.2006.00898.x

Ulloa, P.E., Medrano, J.F. and Feijoo, C.G., 2014. Zebrafish as animal model for aquaculture nutrition research. *Frontiers in Genetics*, 5, 313. https://doi.org/10.3389/fgene.2014.00313.

Urbinati, E.C., Abreu, J.S.D., Camargo, A.C.B. and Landines, M.A., 2004. Loading and transport stress of juvenile matrinxã (*Brycon cephalus*, Characidae) at different densities. *Aquaculture*, 229(1–4), 389–400 https://doi.org/10.1016/S0044-8486(03)00350-8.

Yousefi, S., Hoseinifar, S.H., Paknejad, H. and Hajimoradloo, A., 2018. The effects of dietary supplement of galactooligosaccharide on innate immunity, immune related genes expression and growth performance in zebrafish (*Danio rerio*). *Fish and Shellfish Immunology*, 73, 192–196. https://doi.org/10.1016/j.fsi.2017.12.022

Yuan, X.C., Chen, F., Yue, D.D., Xie, S.Q., Huang, S.J., Jin, S.Z., Chen, H.T. and Yang, Y.O., 2021. Tea polyphenols act as a natural antihyperglycemic feed additive candidate in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Aquaculture Nutrition*, 27, 2712–2725. https://doi.org/10.1111/anu.13397

Zha, S., Zhao, Q., Chen, J., Wang, L., Zhang, G., Zhang, H. and Zhao, B., 2014. Extraction, purification and antioxidant activities of the polysaccharides from maca (*Lepidium meyenii*). *Carbohydrate Polymers*, 111, 584–587. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.05.017

[Downloaded from ornamentalaquatics.ir on 2026-07-04]

[DOI: 10.22034/JOA.12.4.19]

Protective effects of maca (*Lepidium meyenii*) on stress biochemical markers in zebrafish during transportation

Safari R.[1]; Azadi H.[1]; Khajavi A.M.[1]; Rahbar M.[1]; Mortezaei F.[1]; Hejrati M.H.[1]

*fisheriessafari@yahoo.com

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

Abstract

This study aimed to evaluate the effects of different dietary levels of maca (*Lepidium meyenii*) root powder on the biochemical indices of zebrafish (*Danio rerio*) exposed to transportation stress. A total of 300 zebrafish with an average weight of 0.29±0.01 g was randomly divided into four groups (control and three treatments) and fed diets containing 0.5%, 1% and 2% of maca root powder per kg of feed (designated as C [control], T1, T2 and T3, respectively) for eight weeks. At the end of the experiment, the fish were subjected to a 2-hour transportation stress, after which biochemical parameters, liver enzymes and cortisol levels were assessed. The results showed that maca root powder, particularly at the 2%level, significantly reduced glucose, cortisol, triglycerides, cholesterol, lactate dehydrogenase, aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase and alkaline phosphatase levels ($P < 0.05$). Based on the findings, dietary supplementation with maca root powder, especially at 2%, can help mitigate the adverse effects of transport stress in zebrafish.

Keywords: Maca, Transportation stress, Biochemical indicators, Cortisol, *Danio rerio*

[Downloaded from ornamentalaquatics.ir on 2026-07-04]

[DOI: 10.22034/JOA.12.4.19]