

## Influence of Lauric Acid Supplementation on Transportation-Induced Stress in Zebrafish (*Danio rerio*)

Khajavi A.M. <sup>\*1</sup>; Safari R. <sup>1</sup>; Hoseinifar S.H. <sup>1</sup>; Yazici M. <sup>2</sup>; Azadi H. <sup>1</sup>

\* amirkhajavi1998@yahoo.com

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

2- Department of Aquaculture and Fish Diseases, Faculty of Marine Sciences and Technology, Iskenderun Technical University, Turkey

### Abstract

The present study investigates the effects of supplementing different levels of lauric acid in the diet of zebrafish (*Danio rerio*) on biochemical indices and internal responses following exposure to transport stress. A total of 324 zebrafish with an average weight of  $0.22 \pm 0.01$  g was divided into four experimental groups: Group 1 (control, no lauric acid added to the diet), Group 2 (0.5 g lauric acid per kg of feed), Group 3 (1 g lauric acid per kg of feed), and Group 4 (2 g lauric acid per kg of feed). The fish were fed these diets for eight weeks. At the end of the experiment, the fish were subjected to three hours of transport stress, after which biochemical indices, liver enzymes, and stress responses were evaluated. Results indicated a significant reduction in blood glucose and cholesterol levels in the lauric acid-treated groups compared to the control ( $P < 0.05$ ). No significant difference in triglyceride levels was observed between the LA0.5 and LA1 treatments and the control group ( $P > 0.05$ ); however, the LA2 treatment showed a significant decrease relative to the control ( $P < 0.05$ ). Examination of liver enzyme activity revealed that although the LA0.5 treatment did not differ significantly from the control ( $P > 0.05$ ), it exhibited lower liver enzyme levels compared to other lauric acid treatments, while the LA2 treatment had higher enzyme levels than the other groups. Cortisol hormone levels showed that the LA0.5 treatment significantly reduced cortisol compared to the control ( $P < 0.05$ ), whereas no significant differences were found in the LA1 and LA2 treatments ( $P > 0.05$ ). Based on these findings, incorporating 0.5 g/kg lauric acid in the diet may serve as a nutritional strategy to reduce stress markers, and modulate biochemical metabolic parameters, thereby optimizing physiological performance and enhancing the quality of zebrafish culture.

**Keywords:** Lauric acid, Stress, Biochemical indices, Transport, Zebrafish.



## مقاله علمی-پژوهشی:

## اثرات به کارگیری اسید لوریک در جیره غذایی بر استرس حمل و نقل در ماهی زبرا (*Danio rerio*)

امیر محمد خواجهوی<sup>\*</sup>، رقیه صفری<sup>۱</sup>، حسین حسینی فر<sup>۱</sup>، متین یاشیزی<sup>۲</sup>، حامد آزادی<sup>۱</sup>

\* amirkhajavi1998@yahoo.com

- ۱- گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران  
 ۲- گروه شیلات دانشگاه اسکندریون ترکیه، ترکیه

تاریخ دریافت: آذر ۱۴۰۳

تاریخ پذیرش: فروردین ۱۴۰۴

### چکیده

پژوهش حاضر به بررسی تاثیر افزودن سطوح مختلف اسید لوریک<sup>۱</sup> در جیره غذایی ماهی زبرا (*Danio rerio*) بر شاخص‌های بیوشیمیایی و پاسخ‌های درونی پس از مواجهه با استرس حمل و نقل می‌پردازد. در این مطالعه ۳۲۴ عدد ماهی گورخری با میانگین وزنی  $0.1 \pm 0.22$  گرم در چهار تیمار آزمایشی که شامل: تیمار ۱ (شاهد، بدون افزودن اسید لوریک به جیره غذایی) و تیمار ۲ (۰/۵ گرم اسید لوریک در کیلوگرم غذا)، تیمار ۳ (۱ گرم اسید لوریک در کیلوگرم غذا) و تیمار ۴ (۲ گرم اسید لوریک در کیلوگرم غذا) به مدت هشت هفته مورد تغذیه قرار گرفتند. در انتهای آزمایش ماهیان به مدت سه ساعت در معرض استرس حمل و نقل قرار گرفتند و شاخص‌های بیوشیمیایی، آنزیم‌های کبدی و پاسخ استرسی بررسی شدند. نتایج نشان داد که سطوح گلوکز و کلسترول خون در تیمارهای حاوی اسید لوریک کاهش معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد داشته است ( $P < 0.05$ ). در تیمارهای LA0.5 و LA1 تفاوت معنی‌داری در سطح تری‌گلیسرید در مقایسه با تیمار شاهد مشاهده نشد ( $P > 0.05$ )، اما در تیمار LA2 کاهش معنی‌داری نسبت به شاهد وجود داشت ( $P < 0.05$ ). در بررسی فعالیت آنزیم‌های کبدی نشان داده شد که اگرچه تیمار LA0.5 با شاهد اختلاف معنی‌داری نداشته ( $P > 0.05$ ) اما نسبت به سایر تیمارهای اسید لوریک دارای سطوح کمتری از آنزیم‌های کبدی بوده و تیمار LA2 دارای سطوح بالاتر نسبت به سایر تیمارها بوده است. نتایج به دست آمده از سطوح هورمون کورتیزول نشان می‌دهد که تیمار LA0.5 توانسته است، سطوح کورتیزول را به طور معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد کاهش دهد ( $P < 0.05$ ) اما در تیمارهای LA1 و LA2 تفاوت معنی‌داری نسبت به شاهد مشاهده نشد ( $P > 0.05$ ). بر اساس یافته‌های پژوهش حاضر، به کارگیری جیره غذایی LA0.5 می‌تواند به عنوان یک راهکار تغذیه‌ای برای کاهش شاخص‌های استرس و تعدیل شاخص‌های متابولیک بیوشیمیایی، در بهینه‌سازی عملکرد فیزیولوژیک و ارتقاء کیفیت پرورش ماهی زبرا پیشنهاد شود.

**کلمات کلیدی:** اسید لوریک، استرس، شاخص بیوشیمیایی، حمل و نقل، ماهی زبرا

<sup>1</sup> Lauric acid

## مقدمه

صنعت آبی پروری به عنوان یکی از ارکان اساسی تأمین پروتئین حیوانی در سطح جهانی، با چالش‌های متعددی در حوزه مدیریت سلامت آبزیان مواجه است که از جمله این چالش‌ها می‌توان به استرس ناشی از فرآیند حمل‌ونقل اشاره نمود که نیازمند تدابیر مدیریتی مناسب است (Ruben *et al.*, 2025). این فرآیندها عموماً با مواجهه آبزیان با طیفی از عوامل استرس‌زای فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیک همراه هستند. استرس حمل‌ونقل می‌تواند تأثیرات قابل توجهی بر سلامت، عملکرد رشد و بازدهی اقتصادی آبزیان داشته باشد. بنابراین، درک جامع مکانیسم‌های استرس‌زایی و اتخاذ راهکارهای علمی برای کاهش اثرات نامطلوب آن، از اولویت‌های تحقیقاتی و اجرایی در این حوزه محسوب می‌شود (Shokrak *et al.*, 2024) که از جمله مهم‌ترین عوامل می‌توان به محدودیت فضایی، کاهش سطح اکسیژن محلول و تغییرات ناگهانی محیطی اشاره کرد. این عوامل به صورت همزمان پاسخ‌های استرسی فیزیولوژیک و رفتاری را در ماهی‌ها تحریک می‌کنند که پیامدهای قابل توجهی را به دنبال خواهد داشت (Su *et al.*, 2021). ماهیان طی فرآیند پاسخ به استرس، تطابق‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی را از خود نشان می‌دهند که این فرایند به کاهش یا حذف اثرات عوامل استرس‌زا منجر می‌شود. این واکنش‌ها شامل تغییرات در متابولیسم، ترشح هورمون‌ها و تنظیم فعالیت‌های بیوشیمیایی است که به ماهی‌ها کمک می‌کند تا با شرایط نامساعد محیطی سازگار شوند. در واقع، این پاسخ‌ها به عنوان یک مکانیزم دفاعی عمل کرده که به حفظ سلامت و بقاء ماهی‌ها در مواجهه با استرس‌های مختلف کمک می‌کنند (Koeyupdsa and Jongjareanjai, 2011). در نتیجه، استرس موجب افزایش نرخ متابولیسم، ایجاد فشار فیزیولوژیک و تسریع در تخریب کیفیت آب می‌شود که به طور مستقیم بر بقاء، عملکرد رشد و کیفیت محصول نهایی تأثیر منفی می‌گذارد (Spezzani *et al.*, 2018). ایجاد استرس، نه تنها سلامت ماهی را تهدید کرده بلکه از طریق افزایش حساسیت به بیماری‌های عفونی و کاهش مقاومت ایمنی، خطر شیوع بیماری‌ها در مقیاس جمعیتی را تشدید می‌کند. چنین عواملی علاوه بر تلفات مستقیم، به کاهش بهره‌وری اقتصادی و افزایش هزینه‌های تولید در صنعت آبی پروری منجر می‌شوند (Barton, 2002). استرس در ماهیان به عنوان یک پاسخ فیزیولوژیک به محرک‌های محیطی یا درونی، از طریق

فعال‌سازی محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-اینترنال (HPI) تنظیم می‌شود (Nipu *et al.*, 2022). این محور هورمونی با ترشح کورتیزول به عنوان اصلی‌ترین گلوکوکورتیکوئید، نقش کلیدی در تعدیل پاسخ‌های سازگاری ایفاء می‌کند که در نهایت کورتیزول پس از انجام عملکرد بیولوژیک خود، باید به طور مؤثر غیرفعال شده تا از تجمع بیش از حد آن جلوگیری شود. این فرآیند از طریق مسیرهای آنزیمی پیچیده‌ای انجام می‌شود که در گونه‌های مختلف متفاوت است (Lee *et al.*, 2019). همچنین مطالعات نشان می‌دهد که روش‌های حمل‌ونقل نامناسب باعث ایجاد یک واکنش استرس‌زا می‌شوند که با افزایش سطح کورتیزول، تغییرات در شاخص‌های بیوشیمی خون مشخص می‌شود. این تغییرات فیزیولوژیک می‌توانند بر سلامت ماهی پس از حمل‌ونقل تأثیر بگذارند (Refaey and Li, 2018) به طوری که استرس حمل‌ونقل منجر به افزایش سطح کورتیزول در گونه‌های مختلف ماهی می‌شود که این افزایش اغلب با افزایش سطح گلوکز و کلسترول همراه بوده که نشان‌دهنده افزایش وضعیت متابولیک برای مقابله با استرس است (Bortoletti *et al.*, 2021). در پژوهشی تأثیر حمل‌ونقل بر پاسخ استرسی و نشانگرهای اکسیداتیو در ماهی‌های جوان گونه میگر (*Argyrosomus regius*) بررسی شد. نتایج نشان داد که حمل‌ونقل باعث افزایش قابل توجهی در سطح کورتیزول و تغییرات در نشانگرهای اکسیداتیو در بافت‌های مختلف می‌شود (Bortoletti *et al.*, 2023). همچنین در گونه‌هایی مانند گربه‌ماهی زرد هیبریدی، مشخص شده است که پوست و آبشش‌ها به عنوان موانع ایمنی اولیه، از طریق فعال‌سازی مسیرهای سیگنالی، به استرس پاسخ داده و تعداد سلول‌های تولیدکننده مخاط را تغییر می‌دهند (Zheng *et al.*, 2021). طی تحقیق دیگری بر ماهی جنگجوی سیامی (*Betta splendens*) مشخص شد که حمل و نقل می‌تواند منجر به تغییرات قابل توجهی در کیفیت آب و افزایش سطح آمونیاک و نیتريت شود. این تغییرات به نوبه خود می‌توانند به استرس و آسیب به سیستم ایمنی ماهی‌ها منجر شوند (Sintuprom *et al.*, 2024). ارتقاء مقاومت آبزیان در مواجهه با عوامل استرس‌زای محیطی، از اهمیت راهبردی برخوردار است که عوامل موثری در این زمینه می‌تواند کاربرد داشته باشند. پروبیوتیک‌ها تیماری از میکروارگانیسم‌های مفید در صنعت آبی پروری شناخته می‌شوند که نقش مؤثری در ارتقاء عملکرد سیستم ایمنی، افزایش تحمل به شرایط استرس‌زا و مقاومت در

انجامید. برای انجام پژوهش تعداد ۳۲۴ عدد ماهی با وزن اولیه و تقریبی  $0.1 \pm 0.2$  گرم به سالن آبی‌پروری منتقل شد و به منظور سازش‌پذیری ماهیان، به مدت دو هفته با غذای تجاری بیومار تغذیه شده و طی این مدت از نظر وضعیت سلامت ماهیان و وضعیت فیزیکی‌شیمیایی آب بررسی شدند و پس از طی شدن مرحله سازگاری، فرآیند زیست‌سنجی اولیه صورت گرفت و ماهیان به طور کاملاً تصادفی در قالب چهار تیمار و در سه تکرار به شرح ذیل تقسیم بندی شدند:

تیمار اول (شاهد) تغذیه شده با غذای تجاری (بیومار) و بدون اسید لوریک، تیمار دوم (LA0.5) تغذیه شده با غذای تجاری همراه با  $0.5$  گرم اسید لوریک در کیلوگرم غذا، تیمار سوم (LA1) تغذیه شده با غذای تجاری همراه با  $1$  گرم اسید لوریک در کیلوگرم غذا، تیمار چهارم (LA2) تغذیه شده با غذای تجاری همراه با  $2$  گرم اسید لوریک در کیلوگرم غذا (Hoseinifar et al., 2024). با اسپری این مواد همراه با پوشش ژلاتین دو درصد بر جیره تجاری تهیه شدند و مورد تغذیه قرار گرفته بودند. فرآیند غذایی طی دوره پرورش در سه نوبت و به میزان  $3$  درصد وزن بدن (به منظور یکسان بودن میزان غذا در همه تیمارها و بررسی تأثیر اسید لوریک از حد سیری اجتناب شد) در روز صورت گرفت. برای توزین غذا، از ترازوی دیجیتال استفاده شد. ماهیان در ابتدا و انتهای دوره و همچنین هر دو هفته یکبار در طول دوره آزمایش زیست‌سنجی شدند.

#### اجرای آزمون استرس حمل‌ونقل

پس از پایان دوره  $8$  هفته‌ای تغذیه آزمایشی، به منظور سنجش مقاومت ماهی‌ها در برابر شرایط حمل‌ونقل، پروتکل شبیه‌سازی استرس حمل‌ونقل اجرا شد. بدین منظور، یک روز پیش از آغاز آزمون تغذیه ماهی‌ها قطع گردید. سپس از هر تکرار آزمایشی،  $30$  قطعه ماهی به صورت تصادفی انتخاب و در کیسه‌های پلاستیکی مخصوص حمل‌ونقل آبیان قرار داده شدند. حجم محتوای هر کیسه شامل نیم لیتر آب (با شرایط فیزیکی‌شیمیایی مشابه محیط پرورش) و نیم لیتر اکسیژن خالص بود. کیسه‌ها به‌دقت بسته‌بندی شدند و در تمام طول مدت آزمون استرس حمل‌ونقل که سه ساعت برنامه‌ریزی شده بود، کیسه‌ها در دمای کنترل‌شده‌ای معادل دمای محیط پرورش (دمای بهینه گونه مورد مطالعه) نگهداری گردیدند. این پروتکل به‌گونه‌ای طراحی شد که شرایط واقعی حمل‌ونقل تجاری را شبیه‌سازی نماید.

برابر بیماری‌ها ایفاء می‌کنند (Hoseini et al., 2018) که وجود اسیدهای آلی در جیره غذایی سبب کارایی بهتر آنها می‌شود. باکتری‌های مفید، مواد آنتی‌باکتریایی نظیر اسیدهای آلی که بر ساختار مورفولوژی روده مؤثر هستند، افزایش می‌دهند. اسیدهای آلی با کاهش pH محیط روده، شرایط نامناسبی را برای رشد باکتری‌های پاتوژن فراهم می‌کنند که این امر به‌نوبه خود موجب تسهیل رشد و فعالیت پروبیوتیک‌ها می‌شود (Michael et al., 2019). در این میان اسید لوریک (دودکانوئیک اسید)<sup>۲</sup>، یک اسید چرب اشباع با زنجیره متوسط است که به طور عمده در روغن نارگیل و روغن هسته خرما یافت می‌شود. این اسید چرب با فرمول شیمیایی  $C_{12}H_{24}O_2$  و جرم مولی  $200.32$  گرم بر مول، در دمای اتاق به صورت جامد سفید رنگ است و نقطه ذوب آن حدود  $44$  درجه سانتی‌گراد است. خواص شیمیایی و فیزیکی اسید لوریک شامل یک زنجیره  $12$  کربنی با یک تیمار کربوکسیل ( $-COOH$ ) در انتها هست که به آن خاصیت اسیدی ملایم می‌دهد. این اسید چرب در برابر اکسیداسیون و فساد پایدار است (Couto et al., 2021). اسید لوریک دارای خاصیت‌های ضد میکروبی، ضد التهابی و بهبوددهنده عملکرد سیستم ایمنی در حیوانات است. مطالعات در سایر گونه‌های حیوانی نشان داده‌اند که اسید لوریک می‌تواند پاسخ‌های استرسی ناشی از شرایط محیطی را کاهش دهد و عملکرد سیستم ایمنی را تقویت کند (Koutsos et al., 2022). مکمل غذایی اسید لوریک در ماهی سیاه دریایی (*Acanthopagrus schlegelii*) باعث بهبود ظرفیت آنتی‌اکسیدانی شد (Ullah et al., 2025). با توجه به خواص آنتی‌اکسیدانی و تقویت‌کننده سیستم ایمنی اسید لوریک و از آنجایی که تا کنون پژوهشی مبنی بر اثرات به‌کارگیری اسید لوریک بر شاخص‌های بیوشیمیایی و پاسخ به استرس ناشی از حمل‌ونقل صورت نگرفته است، طی این پژوهش اثرات به‌کارگیری اسید لوریک در جیره غذایی ماهی زبرا (*Danio rerio*) در شرایط مذکور مورد بررسی قرار گرفت.

## مواد و روش‌ها

### طراحی آزمایش

این پژوهش در سالن آبی‌پروری دانشکده شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان به مدت هشت هفته به طول

<sup>2</sup> Lauric acid

## تهیه عصاره کل بدن

پس از اعمال استرس حمل و نقل، از هر تکرار سه ماهی صید و با استفاده از بالاترین دوز عصاره پودر گل میخک (به عنوان بیهوش کننده) کشته شدند. سپس نمونه‌ها در هاون حاوی نیتروژن مایع به صورت کامل خرد و همگن شدند. به بافت‌های خرد شده، دو برابر حجم آنها بافر نمکی فسفات (PBS) اضافه گردید و به مدت ده دقیقه در دمای چهار درجه سانتی‌گراد و سرعت چهار هزار دور بر دقیقه (rpm) سانتریفیوژ شد. در نهایت، سوپرناتانت (لایه بالایی) جمع‌آوری و در فریزر منفی هشتاد درجه سانتی‌گراد تا زمان انجام آزمایش‌ها نگهداری شد (Safari et al., 2016).

## اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های کبدی

فعالیت آنزیم‌های کبدی شامل آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و آسپارات آمینوترانسفراز (AST) به وسیله کیت شرکت درمان فرازاکو (تهران، ایران) و آلکالین فسفاتاز (ALP) به وسیله کیت دلتادرم (تهران، ایران) مطابق دستورالعمل سازنده، تعیین شد. فعالیت ALP با روش فسفات پ-نیتروفنیل اندازه‌گیری شد. در این آزمایش، توانایی آنزیم در تبدیل ماده بی‌رنگ ۴-نیتروفنیل فسفات به ۴-نیتروفنول رنگی اندازه‌گیری می‌شود. به طور خلاصه، ۲۰ میکرولیتر محلول کلرید منیزیم و دی‌اتانول آمین با ۵ میکرولیتر فسفات نیتروفنیل مخلوط شده، به مدت ۱ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه و سپس جذب نوری در ۴۰۵ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. فعالیت ALT با اندازه‌گیری تغییر جذب نوری در طول موج ۳۴۰ نانومتر تعیین شد. این تغییر ناشی از واکنش دو مرحله‌ای بین ال-آلانین، اوکزوگلوکارات، پیرووات و NADH بود. فعالیت AST نیز با اندازه‌گیری تغییر جذب نوری در ۳۴۰ نانومتر بر اساس واکنش دو مرحله‌ای بین ال-آسپارات، ۲-اوکزوگلوکارات و NADH محاسبه شد (Guo et al., 2014).

## سنجش شاخص‌های بیوشیمیایی

برای اندازه‌گیری شاخص‌های بیوشیمیایی غلظت گلوکز، کلاسترول، تری‌گلیسرید و فعالیت آنزیم لاکتات دهیدروژناز با استفاده از روش کالریتریک و مطابق با پروتکل کیت‌های تجاری شرکت دلتادرم (تهران، ایران) مورد سنجش قرار گرفت. اندازه‌گیری‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (UV-

Unico (2150) در طول موج ۵۴۶ نانومتر و تحت شرایط دمایی ۳۷ درجه سانتی‌گراد انجام شد (McGowan et al., 1983).

## اندازه‌گیری سطح هورمون کورتیزول

سنجش میزان کورتیزول به روش الیزا و با استفاده از کیت تجاری مونوبایند (لیک فارست، آمریکا) صورت گرفت. در ابتدا پس از آماده‌سازی محلول‌های مورد نیاز و کیت آزمایش، نمونه‌های سرمی، استانداردها و کنترل‌های کیفی در چاهک‌های میکروپلیت اختصاصی قرار داده شدند. در ادامه، به ترتیب معرف‌های آنزیمی، بیوتین و سوبسترا به چاهک‌ها افزوده شد و پس از انجام انکوباسیون در شرایط مشخص، چاهک‌ها با استفاده از بافر مورد شستشو قرار گرفتند. در نهایت، واکنش با افزودن محلول توقف دهنده خاتمه یافت و میزان جذب نوری در طول موج ۴۵۰ نانومتر با دستگاه خوانش الیزا اندازه‌گیری شد. محاسبه غلظت کورتیزول بر اساس منحنی استاندارد و با واحد نانوگرم بر میلیلیتر انجام پذیرفت (Gholib et al., 2020).

## روش تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۷ انجام شد. ارزیابی نرمال بودن داده‌ها توسط آزمون کولموگروف-اسمیرنوف انجام شد. داده‌ها به کمک آنالیز واریانس یک طرفه تجزیه و تحلیل شدند. همچنین برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون ال اس دی با درصد خطای ۵ درصد استفاده شد. کلیه داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  خطای استاندارد گزارش شدند.

## نتایج

## شاخص‌های بیوشیمیایی

بر طبق نتایج حاصله از جدول ۱، سطوح گلوکز در تیمارهای LA0.5 و LA1 کاهش معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد نشان دادند ( $P < 0.05$ ). تیمار LA2 نیز کاهش معنی‌داری داشت اما کمتر از LA0.5 و LA1 بود. این نتایج بیانگر تأثیر کاهشی وابسته به دوز اسید لوریک بر گلوکز است و این نشان می‌دهد که LA به‌ویژه در دوزهای پایین‌تر، باعث کاهش معنی‌دار گلوکز می‌شود ( $P < 0.05$ ). نتایج شاخص کلاسترول حاکی از آن است که میزان آن به طور تدریجی و معنی‌داری در جیره‌های حاوی اسید لوریک در مقایسه با تیمار شاهد کاهش یافت ( $P < 0.05$ ) که این روند کاهشی نشان‌دهنده‌ی اثر واضح و وابسته به دوز

آمده نشان داد که در تیمار LA0.5 تفاوت معنی‌دار با تیمار شاهد مشاهده نشد ( $P > 0.05$ ) و در تیمار LA1 نیز وضعیت مشابه بود و تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد مشاهده نشد ( $P < 0.05$ ). در تیمار LA2 داده‌های به‌دست آمده بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار میان این تیمار با شاهد و سایر تیمارها بود ( $P < 0.05$ ).

اسید لوریک بر کاهش کلسترول است. نتایج بدست آمده از اندازه‌گیری تری‌گلیسرید حاکی از آن است که در تیمار LA0.5 دارای اختلاف معنی‌دار با تیمار شاهد نبود ( $P > 0.05$ ) و در تیمار LA1 وضعیت نیز مشابه بود و اختلاف معنی‌داری میان آن و تیمار شاهد وجود نداشت ( $P > 0.05$ ) در حالی که در تیمار LA2 کاهش معنی‌داری نسبت به شاهد نشان داد ( $P < 0.05$ ). در بررسی شاخص لاکتات دهیدروژناز نتایج به‌دست

جدول ۱: بررسی شاخص‌های بیوشیمیایی سرم در ماهی زبرا (*Danio rerio*) تحت تأثیر سطوح مختلف اسید لوریک پس از مواجهه با استرس حمل و نقل (میانگین  $\pm$  انحراف معیار)

شاخص	شاهد	LA0.5	LA1	LA2
گلوکز (U/L)	۴۰/۷۴۵۵ $\pm$ ۰/۵۱ <sup>a</sup>	۳۴/۹۶۱۴ $\pm$ ۰/۵۱ <sup>c</sup>	۳۲/۲۶۲۲ $\pm$ ۰/۱۲ <sup>c</sup>	۳۹/۹۷۴۳ $\pm$ ۰/۳۸ <sup>b</sup>
کلسترول (mg/dl)	۱/۱۱۹ $\pm$ ۰/۴۷۹ <sup>a</sup>	۱/۱۱۰ $\pm$ ۰/۶۶۸ <sup>b</sup>	۱/۱۰۳ $\pm$ ۰/۴۱۳ <sup>bc</sup>	۱/۹۷ $\pm$ ۰/۵۰ <sup>c</sup>
تری‌گلیسرید (mg/dl)	۳/۱۱۶ $\pm$ ۰/۶۵۱ <sup>a</sup>	۲/۱۱۲ $\pm$ ۰/۴۳۸ <sup>ab</sup>	۱/۱۰۹ $\pm$ ۰/۶۴۱ <sup>ab</sup>	۰/۹۴ $\pm$ ۰/۳۶۷ <sup>c</sup>
لاکتات دهیدروژناز (mg/dl)	۵/۲۸۰ $\pm$ ۰/۳۵۳ <sup>b</sup>	۱/۲۶۲ $\pm$ ۰/۷۸۵ <sup>b</sup>	۳/۲۷۸ $\pm$ ۰/۵۷۵ <sup>b</sup>	۳/۳۲۵ $\pm$ ۰/۵ <sup>a</sup>

حروف غیرمشابه در هر ردیف نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای آزمایشی است ( $P < 0.05$ ). تیمار شاهد: جیره تجاری و بدون اسید لوریک، LA0.5: تغذیه شده با جیره حاوی ۰/۵ گرم اسید لوریک در کیلوگرم غذا، LA1: تغذیه شده با جیره حاوی ۱ گرم اسید لوریک در کیلوگرم غذا، LA2: تغذیه شده با جیره حاوی ۲ گرم اسید لوریک در کیلوگرم غذا

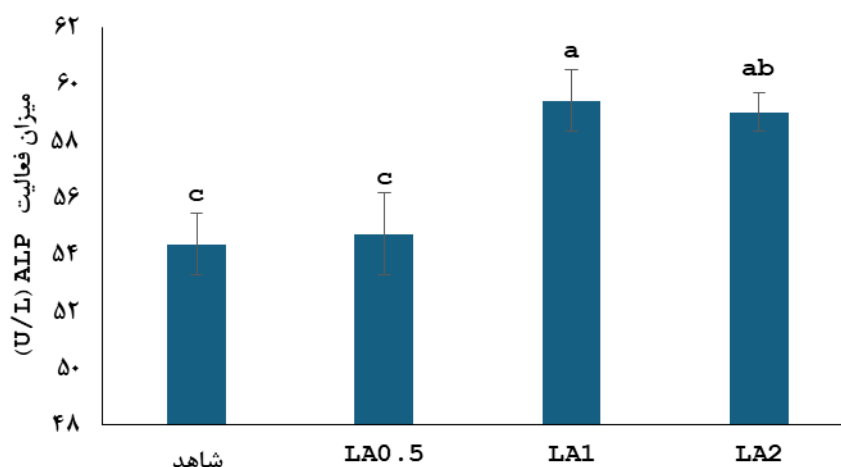
### عالیت آنزیم‌های کبدی

با توجه به شکل ۱، نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان‌دهنده افزایش معنادار ( $P < 0.05$ ) در فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز (ALP) در تیمارهای تغذیه‌شده با سطوح LA1 و LA2 در جیره غذایی بود. این افزایش از الگوی وابسته به دوز پیروی می‌نمود. در مقابل، در تیمار دریافت‌کننده سطح LA0.5، تفاوت آماری معناداری در فعالیت این آنزیم در مقایسه با تیمار شاهد مشاهده نگردید ( $P > 0.05$ ). نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که مواجهه با استرس حمل‌ونقل منجر به تغییرات در سطح سرمی آنزیم‌های آسپارات آمینوترانسفراز (AST) شده است. بررسی مقایسه‌ای بین تیمارهای مختلف حاکی از آن است که فعالیت این آنزیم در تیمارهای تیمار شده با اسید لوریک به صورت وابسته به دوز افزایش یافته است. در تیمارهای تیمار شده با LA0.5، LA1 و LA2 به ترتیب افزایشی تدریجی مشاهده شد و در تیمارهای LA1 و LA2 دارای اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد بودند ( $P < 0.05$ ). بیشترین میزان افزایش آنزیم AST در تیمار LA2 ثبت گردید. بر اساس نتایج به‌دست آمده از فعالیت آنزیم آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، دوزهای پایین (LA0.5) و متوسط (LA1) تأثیر معنی‌داری بر سطح ALT در مقایسه با تیمار شاهد نداشتند. تیمار LA2 منجر به افزایش معنی‌دار

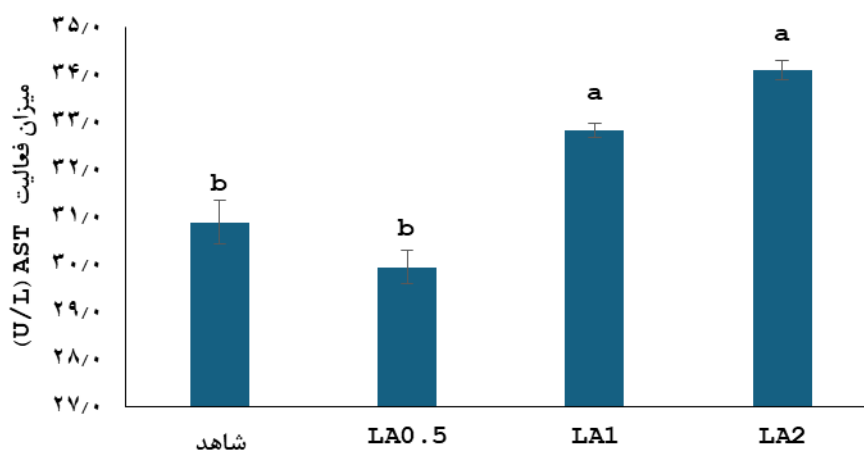
سطح ALT در مقایسه با تیمار شاهد شده است ( $P < 0.05$ ) (شکل‌های ۲ و ۳).

### نتایج سطوح کورتیزول سرمی

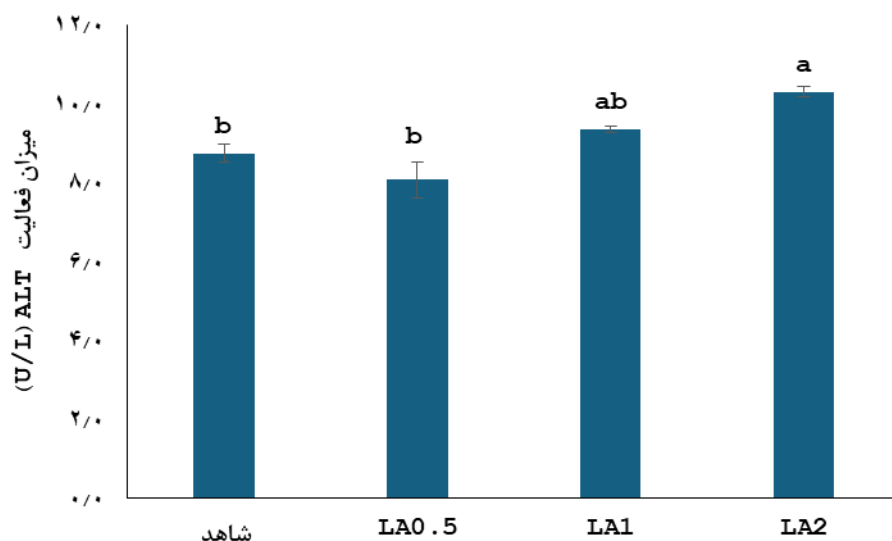
نتایج نشان می‌دهد که تفاوت معنی‌داری بین تیمار LA0.5 و شاهد وجود دارد ( $P < 0.05$ ) و سطح هورمون کورتیزول در تیمار LA0.5 به طور معنی‌داری کمتر از تیمار شاهد است که می‌تواند نشان‌دهنده اثر کاهنده استرس این دوز باشد. به رغم کاهش ظاهری سطح کورتیزول در LA1 نسبت به شاهد، تفاوت معنی‌داری در سطح کورتیزول وجود نداشت ( $P > 0.05$ ). داده‌های حاصل از LA2 نشان می‌دهد که سطح کورتیزول تقریباً برابر با تیمار شاهد است که تفاوت معنی‌داری بین این دو تیمار وجود نداشت ( $P > 0.05$ ). در نتیجه، تنها دوز LA0.5 توانسته است که سطوح کورتیزول را به طور معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد کاهش دهد. این یافته نشان‌دهنده اثر ضد استرس بالقوه این دوز خاص است. این نتایج اهمیت تعیین دوز بهینه در مطالعات مربوط به تنظیم استرس و کورتیزول را برجسته می‌کند (شکل ۴).



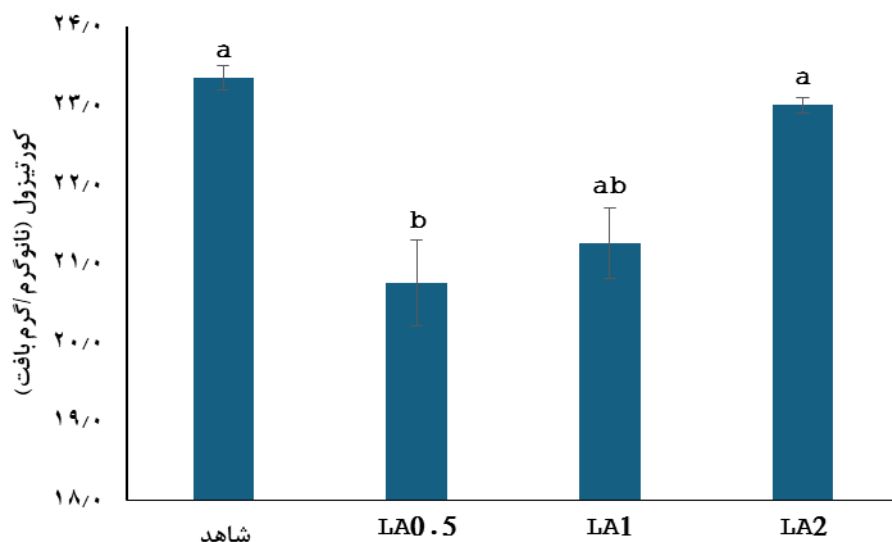
شکل ۱: سطوح آنزیم آلکالین فسفاتاز (ALP) در سرم ماهی زبرا (*Danio rerio*) تغذیه شده با سطوح مختلف اسید لوریک به مدت هشت هفته، پس از قرارگیری در معرض استرس حمل و نقل. داده‌ها بر اساس میانگین  $\pm$  انحراف معیار بیان شده‌اند. حروف غیرمشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای آزمایشی است ( $P < 0.05$ ). تیمار شاهد: جیره تجاری و بدون اسید لوریک، LA0.5: تغذیه شده با جیره حاوی ۰/۵ گرم اسید لوریک در کیلوگرم غذا، LA1: تغذیه شده با جیره حاوی ۱ گرم اسید لوریک در کیلوگرم غذا، LA2: تغذیه شده با جیره حاوی ۲ گرم اسید لوریک در کیلوگرم غذا



شکل ۲: سطوح آنزیم آسپارات آمینوترانسفراز (AST) در سرم ماهی زبرا (*Danio rerio*) تغذیه شده با سطوح مختلف اسید لوریک به مدت هشت هفته، پس از قرارگیری در معرض استرس حمل و نقل. داده‌ها بر اساس میانگین  $\pm$  انحراف معیار بیان شده‌اند. حروف غیرمشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای آزمایشی است ( $P < 0.05$ ). تیمار شاهد: جیره تجاری و بدون اسید لوریک، LA0.5: تغذیه شده با جیره حاوی ۰/۵ گرم اسید لوریک در کیلوگرم غذا، LA1: تغذیه شده با جیره حاوی ۱ گرم اسید لوریک در کیلوگرم غذا، LA2: تغذیه شده با جیره حاوی ۲ گرم اسید لوریک در کیلوگرم غذا



شکل ۳: سطوح آنزیم آلانین آمینوترانسفراز (ALT) در سرم ماهی زبرا (*Danio rerio*) تغذیه شده با سطوح مختلف اسید لوریک به مدت هشت هفته، پس از قرارگیری در معرض استرس حمل و نقل. داده‌ها بر اساس میانگین  $\pm$  انحراف معیار بیان شده‌اند. حروف غیرمشابه نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای آزمایشی است ( $P < 0.05$ ). تیمار شاهد: جیره تجاری و بدون اسید لوریک، LA0.5: تغذیه شده با جیره حاوی ۰/۵ گرم اسید لوریک در کیلوگرم غذا، LA1: تغذیه شده با جیره حاوی ۱ گرم اسید لوریک در کیلوگرم غذا، LA2: تغذیه شده با جیره حاوی ۲ گرم اسید لوریک در کیلوگرم غذا



شکل ۴: سطوح هورمون کورتیزول ماهی زبرا (*Danio rerio*) تغذیه شده با سطوح مختلف اسید لوریک به مدت هشت هفته، پس از قرارگیری در معرض استرس حمل و نقل. داده‌ها بر اساس میانگین  $\pm$  انحراف معیار بیان شده‌اند. حروف غیرمشابه نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای آزمایشی است ( $P < 0.05$ ). تیمار شاهد: جیره تجاری و بدون اسید لوریک، LA0.5: تغذیه شده با جیره حاوی ۰/۵ گرم اسید لوریک در کیلوگرم غذا، LA1: تغذیه شده با جیره حاوی ۱ گرم اسید لوریک در کیلوگرم غذا، LA2: تغذیه شده با جیره حاوی ۲ گرم اسید لوریک در کیلوگرم غذا

## بحث

استرس ناشی از حمل و نقل می‌تواند تأثیرات قابل توجهی بر شاخص‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی ماهیان داشته باشد که این تغییرات به نوبه خود می‌توانند بر میزان بقا و عملکرد زیستی آنها تأثیرگذار باشند. پژوهش‌های انجام شده بر گونه‌های مختلف آزیان از جمله قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)، تیلاپای نیل (*Oreochromis niloticus*)، ماهی سالمون کوهو (*Oncorhynchus kisutch*) و ماهی تامباکی (*Seriola dumerili*)، نشان‌دهنده افزایش معنادار در سطوح نشانگرهای استرس نظیر کورتیزول و گلوکز خون به دنبال فرآیند حمل و نقل است. این یافته‌ها حاکی از آن است که فرآیند حمل و نقل به عنوان یک عامل استرس‌زای قوی می‌تواند موجب بروز پاسخ‌های فیزیولوژیک و متابولیک در ماهیان گردد (Schreck et al., 1989; Gomes et al., 2003; Ren et al., 2022; Yousefi et al., 2022). همچنین مطالعات نشان داده‌اند، پروبیوتیک‌ها نیز به عنوان میکروارگانیسم‌های مفید سبب بهبود عملکرد سیستم ایمنی، افزایش مقاومت به عوامل استرس‌زا و کاهش حساسیت به بیماری‌ها می‌شوند که نقش کلیدی در سلامت آزیان ایفاء می‌کنند که کارایی این میکروارگانیسم‌ها در حضور اسیدهای آلی در جیره غذایی افزایش می‌یابد (Elsabagh et al., 2018). اسیدهای آلی با کاهش pH محیط روده و نامساعد کردن وضعیت رشد عوامل بیماری‌زا، شرایط را برای رشد و فعالیت پروبیوتیک‌ها فراهم می‌کنند (Michael et al., 2019) که از این جهت عملکرد مشابه با عصاره‌های گیاهی دارند. در نتیجه همکاری بین اسیدهای آلی و پروبیوتیک‌ها نه تنها سلامت و سیستم ایمنی را بهبود می‌بخشد بلکه در کاهش شاخص‌های استرس نقش موثری ایفاء می‌کند. گلوکز به عنوان یکی از مهم‌ترین شاخص‌های بیوشیمیایی استرس در ماهیان محسوب می‌شود. در شرایط استرس‌زا، فعال‌سازی محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-آدرنال و سیستم سمپاتیک منجر به ترشح هورمون‌های استرس، از جمله کورتیزول و کاتکول‌آمین‌ها می‌شود. این هورمون‌ها با تحریک فرآیند گلیکوژنولیز در کبد، سبب تجزیه گلیکوژن به گلوکز و در نتیجه افزایش قابل توجه سطح گلوکز خون می‌گردند. این پاسخ فیزیولوژیک، بخشی از سازوکار تطابقی برای تأمین انرژی سریع در مواجهه با عوامل استرس‌زای محیطی مانند حمل و نقل است (Barton, 2002). بنابراین، غلظت گلوکز خون می‌تواند به عنوان

یک نشانگر معتبر برای ارزیابی شدت استرس در ماهیان مورد استفاده قرار گیرد. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که مکمل‌سازی جیره غذایی ماهی زبرا (*Danio rerio*) با اسید لوریک (دودکانوئیک اسید) تأثیر معناداری بر شاخص‌های بیوشیمیایی خون پس از مواجهه با استرس حمل و نقل دارد ( $P < 0.05$ ) به ویژه کاهش قابل توجه سطح گلوکز خون در تیمارهای تغذیه شده با جیره‌های حاوی ۰.۵ و ۱ گرم اسید لوریک بر کیلوگرم غذا مشاهده شد که احتمالاً از طریق مکانیسم‌های مرتبط با کاهش تجزیه گلیکوژن کبدی یا مهار ترشح کاتکول‌آمین‌ها و کورتیزول عمل می‌کند. اگرچه تیمار LA2 که حاوی ۲ گرم اسید لوریک بر کیلوگرم جیره بوده نیز کاهش معنی‌داری در سطح گلوکز خون نسبت به تیمار شاهد ایجاد کرد ( $P < 0.05$ )، اما میزان این کاهش در مقایسه با تیمارهای LA0.5 و LA1 (به ترتیب ۰/۵ و ۱ گرم اسید لوریک بر کیلوگرم جیره) کمتر بود. این الگوی پاسخ می‌تواند نشان‌دهنده یک رابطه وابسته به دوز برای تأثیر اسید لوریک بر کاهش گلوکز خون باشد که به ویژه دوزهای پایین‌تر اسید لوریک (۰/۵ و ۱ گرم/کیلوگرم) اثر تعدیل‌کنندگی قوی‌تری بر پاسخ استرسی نشان دادند. مطالعات مشابه نشان داده‌اند که گنجاندن اسیدهای چرب آلی با خواص آنتی‌اکسیدانی در رژیم غذایی ماهی می‌تواند به طور مؤثر افزایش قند خون ناشی از استرس را کاهش دهد که این ترکیبات زیست فعال از طریق مکانیسم‌های متعددی در شرایط استرس به تنظیم گلوکز کمک می‌کنند (Nipu et al., 2022). تحقیقات بر کپور علفخوار نشان داده است که سطح گلوکز خون می‌تواند با تعدیل آزادسازی کورتیزول و هموستاز گلوکز از طریق متابولیسم گلیکوژن و گلوکونوژنز در کبد، به طور قابل توجهی بر پاسخ به استرس تأثیر بگذارد (Jiang et al., 2017). کاهش سطوح کلسترول و تری‌گلیسرید با افزایش مقدار اسید لوریک در جیره غذایی، نشان‌دهنده تغییر متابولیسم چربی در ماهیان است. در شرایط استرس، ممکن است میزان کلسترول افزایش یابد. استرس می‌تواند منجر به اختلال در تعادل متابولیک و افزایش سطوح چربی خون شود که این امر به نوبه خود می‌تواند بر سلامت عمومی ماهی‌ها تأثیر منفی بگذارد (Sinha et al., 2015). کاهش معنی‌دار تری‌گلیسرید در تیمار ۲ گرم اسید لوریک نسبت به تیمار شاهد ( $P < 0.05$ )، ممکن است به دلیل مصرف ذخایر انرژی در پاسخ به استرس حمل و نقل باشد. مدیریت شرایط استرس‌زا و اصلاح جیره‌های غذایی از طریق مکمل‌سازی با اسیدهای چرب مؤثر، می‌تواند منجر به ارتقاء سلامت متابولیک

بیانگر آن است که اثرات اسید لوریک وابسته به دوز و شرایط استرس محیطی است که در دوزهای پایین (LA0.5) می‌تواند سودمند باشد. کورتیزول به عنوان شاخصی اساسی در پاسخ به استرس ماهیان شناخته می‌شود. ترشح این هورمون گلوکوکورتیکوئیدی در پاسخ به محرک‌های استرس‌زای محیطی صورت می‌پذیرد. این مکانیسم نورواندوکرین به‌نوبه خود موجب تنظیم متابولیک پاسخ‌های فیزیولوژیک به استرس می‌شود (Zhou et al., 2022). یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد که مکمل‌سازی جیره غذایی با ۰/۵ گرم اسید لوریک به ازاء هر کیلوگرم خوراک، موجب کاهش معنی‌دار سطح کورتیزول سرم در ماهی زبرا در پی استرس حمل‌ونقل در مقایسه با تیمار شاهد گردید (P<۰/۰۵). روند کاهشی مشاهده‌شده در غلظت کورتیزول در این تیمار، مؤید نقش محافظتی آن در تعدیل پاسخ‌های استرسی است. این اثر احتمالاً از طریق مکانیسم‌های تنظیم‌کننده محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-آدرنال و کاهش فعالیت سیستم نورواندوکرین حاصل شده است (Pierre et al., 2017). بالاترین میزان کورتیزول در تیمار شاهد نشان‌دهنده پاسخ استرسی شدید بوده درحالی‌که کاهش آن در تیمار LA0.5 احتمالاً به دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی ترکیبات فعال زیستی اسید لوریک بوده است. نتایج پژوهش حاضر، نشان‌دهنده کاهش شاخص‌های استرسی و بهبود شاخص‌های سلامت کبدی در تیمار دریافت‌کننده دوز ۰/۵ گرم اسید لوریک به ازاء هر کیلوگرم جیره غذایی بود. این یافته‌ها حاکی از اثرات محافظتی بهینه این دوز خاص از اسید لوریک بر عملکرد فیزیولوژیک ماهی در مواجهه با عوامل استرس‌زاست. همچنین تحلیل داده‌ها حاکی از آن است که افزایش غلظت اسید لوریک در جیره غذایی نه‌تنها منجر به بهبود عملکرد ضد استرسی نگردید بلکه موجب افزایش آنزیم‌های کبدی، لاکتات دهیدروژناز و کاهش تری‌گلیسرید در دوز ۲ گرم اسیدلوریک شد که نیاز به بررسی بیشتری دارد. در نتیجه، کاربرد مقادیر بالاتر اسید لوریک در جیره غذایی لزوماً با کارایی بهتر همراه نبوده است. این مشاهدات بر ضرورت تعیین دقیق دوز بهینه در مطالعات تغذیه‌ای با هدف تعدیل پاسخ‌های استرسی تأکید دارد.

و کاهش پیامدهای منفی ناشی از استرس در آبزیان گردد. مطالعات نشان می‌دهند که این ترکیبات با تعدیل پاسخ‌های فیزیولوژیک و تقویت سیستم ایمنی، نقش به‌سزایی در افزایش مقاومت ارگانسیم‌های آبی در مواجهه با عوامل استرس‌زای محیطی ایفاء می‌کنند (Zhao et al., 2023). فعالیت لاکتات دهیدروژناز در تیمارهای تغذیه‌شده با دوز پایین اسید لوریک LA0.5 و LA1 نسبت به شاهد کاهش یافت اما این کاهش، تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد نداشت (P>۰/۰۵). در LA2 افزایش معنی‌دار نسبت به تیمار شاهد دیده شد (P<۰/۰۵). این نتایج می‌تواند نشان‌دهنده این باشد که مصرف جیره حاوی اسید لوریک در دوزهای LA0.5 و LA1 اگرچه موجب کاهش فعالیت لاکتات دهیدروژناز می‌شود، اما تأثیر معنی‌داری بر فعالیت این آنزیم ندارد (P>۰/۰۵) و ممکن است عوامل دیگری در تنظیم سطح این آنزیم دخیل باشند. اما فعالیت این آنزیم در دوزهای بالاتر اسید لوریک نیاز به بررسی بیشتر دارد. نتایج پژوهش حاضر حاکی از تأثیر معنادار مکمل‌سازی جیره غذایی با اسید لوریک بر تغییرات فعالیت آنزیم‌های کبدی ماهی زبرا در پی مواجهه با استرس حمل‌ونقل است (P<۰/۰۵). این یافته‌ها نشان می‌دهد که اسید لوریک احتمالاً از طریق تعدیل پاسخ‌های متابولیک کبدی، نقش محافظتی در برابر استرس ناشی از حمل‌ونقل ایفاء می‌دهد. آنزیم‌های کبدی به عنوان نشانگرهای مهم عملکرد کبد و آسیب سلولی شناخته می‌شوند. افزایش سطح سرمی این آنزیم‌ها معمولاً دال بر آسیب غشاهای و عملکرد کبدی است (Wang et al., 2024). افزایش معنی‌دار ALP در دوزهای بالاتر LA می‌تواند نشان‌دهنده اختلال در عملکرد غشاهای و سیستم صفراوی کبد باشد (P<۰/۰۵). در مطالعه حاضر، افزایش دوز وابسته AST نشان می‌دهد، اسید لوریک در دوزهای بالاتر ممکن است پاسخ‌های آنزیمی را تشدید کند. به‌علاوه، آلانین آمینوترانسفراز (ALT) آنزیمی است که عمدتاً در کبد یافت می‌شود و افزایش آن نشانه آسیب اختصاصی به سلول‌های کبدی است (Bojarski et al., 2025). بنابراین، مشاهده افزایش معنادار ALT تنها در دوز LA2 حاکی از آسیب کبدی به‌ویژه در مقایسه با تیمار شاهد، در غلظت بالای اسید لوریک است. در مطالعه بر ماهی سیاه‌دریایی، نشان داده شد که تغذیه با LA در محدوده تا ۲٪ منجر به تغییر معنی‌داری در AST یا ALT نشد (Ullah et al., 2022) که با مشاهده عدم افزایش ALT در دوزهای LA0.5 و LA1، مطالعه حاضر همخوانی دارد. نتایج

## منابع

- Assessing the impact of Bacillus strains mixture probiotic on water quality, growth performance, blood profile and intestinal morphology of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture Nutrition*, 24(6), 1613-1622. <https://doi.org/10.1111/anu.12797>
- Gholib, G., Wahyuni, S., Wahyudi, A., Silalahi, K.S., Akmal, M., Sabri, M. and Nugraha, T.P., 2020.** Validation of commercial ELISA kit for non-invasive measurement of cortisol concentrations and the evaluation of the sampling time of blood and fecal sample in Aceh cattle. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202015101007>
- Gomes, L.C., Roubach, R., Araujo-Lima, C.A., Chippari-Gomes, A.R., Lopes, N.P. and Urbinati, E.C., 2003.** Effect of fish density during transportation on stress and mortality of juvenile tambaqui *Colossoma macropomum*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 34(1), 76-84. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2003.tb00041.x>
- Guo, Q., Yang, W., Xiao, B., Zhang, H., Lei, X., Ou, H., Jin, R., 2014.** Study on early biomarkers of zebrafish liver injury induced by acetaminophen. *Toxin Reviews*, 34(1), 28-36. <https://doi.org/10.3109/15569543.2014.986282>
- Hoseini, S.S., Alishahi, M., Amini, K., Abbaspour, M., Ghorbanpour, M. and Mohammadian, T., 2018.** Comparison effect of *Lactobasillus bulgaricus* microencapsulated by nano alginate/ chitosan on growth performance and feed efficiency great sturgeon Juvenile. *Journal of Veterinary Research*, 73:181-190. <https://doi:10.22059/jvr.2018.209113.2485>
- 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>
- Bojarski, B., Witeska, M. and Kondera, E., 2025.** Blood Biochemical Biomarkers in Fish Toxicology—A Review. *Animals*, 15(7), 965. <https://doi.org/10.3390/ani15070965>
- Bortoletti, M., Maccatrozzo, L., Radaelli, G., Caberlotto, S. and Bertotto, D., 2021.** Muscle cortisol levels, expression of glucocorticoid receptor and oxidative stress markers in the teleost fish *Argyrosomus regius* exposed to transport stress. *Animals*, 11(4), 1160 <https://doi.org/10.3390/ani11041160>.
- Bortoletti, M., Fonsatti, E., Leva, F., Maccatrozzo, L., Ballarin, C., Radaelli, G., Caberlotto, S. and Bertotto, D., 2023.** Influence of transportation on stress response and cellular oxidative stress markers in juvenile meagre (*Argyrosomus regius*). <https://doi.org/10.3390/ani13203288>
- do Couto, M.V.S., da Costa Sousa, N., Paixão, P.E.G., dos Santos Medeiros, E., Abe, H.A., Meneses, J.O., Cunha, F. D., Fiho, R.N. F., Sousa, R.C., Maria, A.N., Carnerio, Paulo., Corderio, C. A. M. and Fujimoto, R.Y., 2021.** Is there antimicrobial property of coconut oil and lauric acid against fish pathogen? *Aquaculture*, 545, 737234. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737234>
- Elsabagh, M., Mohamed, R., Moustafa, E.M., Hamza, A., Farrag, F., Decamp, O., Mahmoud, A. O. D. and Eltholth, M., 2018.**

- Hoseinifar, S.H., Fazelan, Z., Leike, T., Nedai, S., Safari, R., Yazici, M. and Van Doan, H., 2024.** The effects of dietary humic acid on growth, immune response and antioxidant defence in zebrafish (*Danio rerio*). *Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics*. <https://doi.org/10.22069/japu.2024.22174.1852>
- Jiang, D., Wu, Y., Huang, D., Ren, X. and Wang, Y., 2017.** Effect of blood glucose level on acute stress response of grass carp *Ctenopharyngodon idella*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 43(5), 1433–1442. <https://doi.org/10.1007/s10695-017-0383-y>
- Koeypudsa, W. and Jongjareanjai, M., 2011.** Impact of water temperature and sodium chloride (NaCl) on stress indicators of hybrid catfish (*Clarias gariepinus* Burchell x *C. macrocephalus* Gunther). *Songklanakarin Journal of Science & Technology*, 33(4).
- Koutsos, E., Modica, B. and Freel, T., 2022.** Immunomodulatory potential of black soldier fly larvae: applications beyond nutrition in animal feeding programs. *Translational Animal Science*, 6(3), txac084. <https://doi.org/10.1093/tas/txac084>
- Lee, H.B., Schwab, T. L., Sigafos, A.N., Gauerke, J.L., Krug, R.G., 2nd, Serres, M.R., Jacobs, D.C., Cotter, R.P., Das, B., Petersen, M.O., Daby, C.L., Urban, R.M., Berry, B.C. and Clark, K.J., 2019.** Novel zebrafish behavioral assay to identify modifiers of the rapid, nongenomic stress response. *Genes, Brain, and Behavior*, 18(2), e12549. <https://doi.org/10.1111/gbb.12549>
- 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>
- Michael, S.E., Abarike, E.D. and Cai, J., 2019.** A review on the probiotic effects on haematological parameters in fish. *Journal of Fisheries Sciences*. com, 13(3), 25–31. <https://doi.org/10.36648/1307-234X.13.3.166>
- Nipu, N., Antomagesh, F., Faught, E. and Vijayan, M.M., 2022.** Glucocorticoid receptor activation reduces food intake independent of hyperglycemia in zebrafish. *Scientific Reports*, 12(1), 15677. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-19572-z>
- Pierre, K., Schlesinger, N. and Androulakis, I.P., 2017.** The Hepato-Hypothalamic-Pituitary-Adrenal-Renal Axis: Mathematical Modeling of Cortisol's Production, Metabolism, and Seasonal Variation. *Journal of Biological Rhythms*, 32(5), 469–484. <https://doi.org/10.1177/0748730417729929>
- Refaey, M.M. and Li, D., 2018.** Transport Stress Changes Blood Biochemistry, Antioxidant Defense System, and Hepatic HSPs mRNA Expressions of Channel Catfish *Ictalurus punctatus*. *Frontiers in Physiology*, 9, 1628. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.01628>
- Ren, Y., Men, X., Yu, Y., Li, B., Zhou, Y. and Zhao, C., 2022.** Effects of transportation stress on antioxidation, immunity capacity and hypoxia tolerance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture Reports*, 22, 100940. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2021.100940>
- Ruben, M.O., Akinsanola, A.B., Okon, M.E., Shitu, T. and Jagunna, I.I., 2025.** Emerging challenges in aquaculture: Current perspectives and human health implications. *Veterinary*

- World*, 18(1), 15–28.  
<https://doi.org/10.14202/vetworld.2025.15-28>
- Safari, R., Moghadamfar, S., Imanpour, M.R., Shabani, A. and Jafar Nodeh, A., 2016.** Antioxidant and immune gene expression in zebra fish (*Danio rerio*). *Journal of Aquatic Ecology*, 6(1), 93-101.  
<https://20.1001.1.23222751.1395.6.1.10.8>
- Schreck, C.B., Solazzi, M.F., Johnson, S.L. and Nickelson, T.E., 1989.** Transportation stress affects performance of coho salmon, (*Oncorhynchus kisutch*). *Aquaculture*, 82(1-4), 15-20. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(89\)90391-8](https://doi.org/10.1016/0044-8486(89)90391-8)
- Shokrak, N.M., Khairi, N., Hazrin-Chong, N.H., Mohamed, R.A. and Abdella, B., 2024.** Isolation, characterization, and assessment of *Bacillus rugosus* potential as a new probiotic for aquaculture applications. *Scientific Reports*, 14(1), 25019. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-74534-x>
- Sinha, A.K., AbdElgawad, H., Zinta, G., Dasan, A.F., Rasoloniriana, R., Asard, H., Blust, R. and De Boeck, G., 2015.** Nutritional status as the key modulator of antioxidant responses induced by high environmental ammonia and salinity stress in European Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*). *PloS one*, 10(8), e0135091.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0135091>
- Sintuprom, C., Nuchchanart, W., Dokkaew, S., Aranyakanont, C., Ploypan, R., Shinn, A.P., Wongwaradechkul, R., Dinh-Hung, N., Dong, H.T. and Chatchaiphan, S., 2024.** Effects of clove oil concentrations on blood chemistry and stress-related gene expression in Siamese fighting fish (*Betta splendens*) during transportation.  
<https://doi.org/10.3389/fvets.2024.1392413>
- Spezzani, C., Ruffo, G., Fabris, A., Mordenti, O., Manfrin, A., Salati, F., Giorietto, F. and Salogni, C., 2018.** Manuale per la gestione del controllo del benessere dei pesci durante il trasporto su strada; Italian Ministry of Health: Rome, Italy, pp. 1–59
- Su, H., Yakovlev, I.A., van Eerde, A., Su, J. and Clarke, J.L., 2021.** Plant-Produced Vaccines: Future Applications in Aquaculture. *Frontiers in Plant Science*, 12, 718775.  
<https://doi.org/10.3389/fpls.2021.718775>
- Ullah, S., Zhang, J., Xu, B., Tegomo, A. F., Sagada, G., Zheng, L., Wang, L. and Shao, Q., 2022.** Effect of dietary supplementation of lauric acid on growth performance, antioxidative capacity, intestinal development and gut microbiota on black sea bream (*Acanthopagrus schlegelii*). *PLoS One*, 17(1), e0262427.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0262427>
- Ullah, S., Feng, F., Zhao, M., Zhang, J. and Shao, Q., 2025.** Effect of dietary supplementation of lauric acid on growth performance, digestive enzymes, serum immune and antioxidant parameters, and intestinal morphology in black sea bream. *Fish Physiology and Biochemistry*, 51(1), 43.  
<https://doi.org/10.1007/s10695-025-01457-3>
- Wang, B., Wang, Y., Jia, T., Feng, J., Qu, C., Wu, X., Yang, X. and Zhang, Q., 2022.** Changes in physiological responses and immunity of blunt snout bream *Megalobrama amblycephala* from transport stress. *Fish Physiology and Biochemistry*, 48(5), 1183-1192.  
<https://doi.org/10.1007/s10695-022-01108-x>

- Wang, J., Xu, K., Chen, X., Wang, H. and Li, Z., 2024. Effects of Transport Stress (Duration and Density) on the Physiological Conditions of Marbled Rockfish (*Sebastes marmoratus*, Cuvier 1829) Juveniles and Water Quality. *Fishes*, 9(12), 474. <https://doi.org/10.3390/fishes9120474>
- Yousefi, M., Hoseini, S.M., Weber, R. A., Da Silva, E., Rajabiesterabadi, H., Arghideh, M. and Delavar, F.H., 2022. Alleviation of transportation-induced stress in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, using brackish water. *Aquaculture Reports*, 27, 101378. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2022.101378>
- Zhao, M., Zhang, Z., Liu, Y., Zhang, W., Gong, Y., Tang, Y., Chen, F., Zhang, J., Liu, G., Zhang, H., Li, Y., Mai, K. and Ai, Q., 2023. Effects of supplemental octanoate on hepatic lipid metabolism, serum biochemical indexes, antioxidant capacity and inflammation-related genes expression of large yellow croaker (*Larimichthys crocea*) fed with high soybean oil diet. *Frontiers in Immunology*, 14, 1162633. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1162633>
- Zheng, T., Song, Z., Qiang, J., Qiang, J., Tao, Y.F., Zhu, H.J., Ma, J.L., Xu, P. and Xu, P., 2021. Transport Stress Induces Skin Innate Immunity Response in Hybrid Yellow Catfish (*Tachysurus fulvidraco*♀ × *P. vachellii*♂) Through TLR/NLR Signaling Pathways and Regulation of Mucus Secretion. *Frontiers in Immunology*, 12, 740359. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.740359>
- Zhou, B., Xu, Q., Guo, J., Chen, Q., Lv, Q., Xiao, K., Zhu, H., Zhao, J. and Liu, Y., 2022. Necroptosis Contributes to LPS-Induced Activation of the Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis in a Piglet Model. *International*