

The effect of adding thymol to water on thyroid hormones, proteins and plasma enzymes in common carp (*Cyprinus carpio*)

Seyyed Morteza Hoseini*

Corresponding Author, Research Assistant Prof., Agricultural Research, Education and Extension Organization, Iranian Fisheries Sciences Research Institute, Inland Waters Aquatics Resources Research Center, Gorgan, Iran.
E-mail: seyyedmorteza.hoseini@gmail.com

Article Info

Article type:

Full Length Research Paper

Article history:

Received: 11.08.2021

Revised: 12.02.2021

Accepted: 12.05.2021

Keywords:

Anesthesia,
Blood,
Hepatic enzymes,
Stress,
Thyroid

ABSTRACT

Fish transportation in the aquaculture industry is one of the causes of stress and is inevitable. For this reason, providing methods to reduce transportation stress can improve fish health. The aim of this study was to investigate the effect of adding thymol to water on biochemical parameters of common carp during transportation. For this purpose, common carp were transported in plastic bags containing 0 (control), 5 and 10 mg/L thymol (three plastic bags per concentration) for 3 hours. Plastic bags were filled with 4 liters water and 8 liters pure oxygen. Blood samples were taken from all treatments immediately after transportation and 24 hours after recovery. The results showed that fish transportation and thymol concentration had no effect on the activity of alanine aminotransferase, alkaline phosphatase, total protein, globulin, albumin, and thyroxin in the fish blood plasma. On the other hand, after transportation, blood aspartate aminotransferase and lactate dehydrogenase activity increased and blood triiodothyronine levels decreased. Thymol, especially at a concentration of 5 mg/L, reduced the effect of transport on the activity of aspartate aminotransferase, lactate dehydrogenase and blood triiodothyronine. These results show that thymol reduces the stress and metabolism of carp during transportation. Therefore, a concentration of 5 mg/L thymol is recommended for short-term transportation of common carp.

Cite this article: Hoseini, Seyyed Morteza. 2022. The effect of adding thymol to water on thyroid hormones, proteins and plasma enzymes in common carp (*Cyprinus carpio*). *Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics*, 11 (1), 45-56.



© The Author(s).

DOI: 10.22069/japu.2022.19656.1616

Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

اثر افزودن تیمول به آب حمل و نقل بر هورمون‌های تیروئیدی، پروتئین و آنزیم‌های پلازما در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

سید مرتضی حسینی*

نویسنده مسئول، استادیار پژوهشی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، مرکز تحقیقات ذخایر آبزیان آب‌های داخلی، گرگان. رایانامه: seyyedmorteza.hoseini@gmail.com

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: مقاله کامل علمی- پژوهشی	حمل و نقل ماهی در صنعت آبی‌پروری یکی از عوامل بروز استرس بوده و اجتناب‌ناپذیر است. به‌همین دلیل، ارائه روش‌های کاهش استرس حمل و نقل می‌تواند به بهبود سلامت ماهی‌ها کمک نماید. هدف از این مطالعه بررسی اثر افزودن تیمول به آب بر شاخص‌های بیوشیمیایی خون ماهی کپور معمولی در خلال حمل و نقل بود. به این منظور، ۱۸۰ قطعه ماهی کپور در کیسه‌های پلاستیکی حاوی صفر (شاهد)، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر تیمول (سه کیسه پلاستیکی برای هر غلظت) به مدت ۳ ساعت حمل و نقل شدند. کیسه‌های پلاستیکی با ۴ لیتر آب و ۸ لیتر اکسیژن خالص پر شدند. نمونه خون بلافاصله بعد از حمل و ۲۴ ساعت بعد از بهوش آمدن از همه تیمارها گرفته شد. نتایج نشان داد که حمل و نقل و غلظت تیمول ماهی اثری بر فعالیت آلانین آمینوترانسفراز، آلکالین فسفاتاز، غلظت پروتئین کل، گلبولین، آلبومین، و تیروکسین پلاسمای خون ماهی ندارند ($P>0/05$). از طرفی، پس از حمل و نقل، فعالیت آسپاراتات آمینوترانسفراز و لاکتات دهیدروژناز خون افزایش و تری‌یدوتیرونین خون کاهش یافت ($P<0/05$). تیمول به‌خصوص در غلظت ۵ میلی‌گرم در لیتر، باعث کاهش اثر حمل و نقل بر فعالیت آسپاراتات آمینوترانسفراز، لاکتات دهیدروژناز و تری‌یدوتیرونین خون شد. این نتایج نشان می‌دهند که تیمول باعث کاهش استرس و متابولیسم ماهی کپور در خلال حمل و نقل می‌شود. بنابراین، غلظت ۵ میلی‌گرم در لیتر تیمول جهت حمل و نقل کوتاه‌مدت ماهی کپور توصیه می‌گردد.
تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۸/۱۷	
تاریخ ویرایش: ۱۴۰۰/۰۹/۱۱	
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۹/۱۴	
واژه‌های کلیدی: استرس، آنزیم‌های کبدی، بیهوشی، تیروئید، خون	

استناد: حسینی، سید مرتضی (۱۴۰۱). اثر افزودن تیمول به آب حمل و نقل بر هورمون‌های تیروئیدی، پروتئین و آنزیم‌های پلازما در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). نشریه بهره‌برداری و پرورش آبزیان، ۱۱ (۱)، ۴۵-۵۶.

DOI: 10.22069/japu.2022.19656.1616



© نویسندگان.

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

مقدمه

حمل و نقل ماهی در آبی‌پروری متداول بوده و به عنوان یکی از فعالیت‌های آبی‌پروری که باعث استرس و کاهش سلامت ماهی می‌شود، مطرح می‌باشد (وانگ و همکاران، ۲۰۲۱). در خلال حمل و نقل، ماهی‌ها به دلیل تراکم بالا و کاهش کیفیت آب، شرایط نامناسبی را تجربه کرده که می‌تواند باعث آسیب‌های پاتولوژیک و کاهش ایمنی ماهی شود (هارمون، ۲۰۰۹). به همین دلیل، مطالعات متعددی در خصوص کاهش اثرات منفی حمل و نقل در ماهی انجام شده است و در همین راستا، استفاده از افزودنی‌ها به آب حمل و نقل (هارمون، ۲۰۰۹) به عنوان یکی از روش‌های مؤثر بهبود شرایط ماهی در خلال حمل مطرح شده‌اند.

استفاده از مواد بیهوش‌کننده جهت حمل و نقل ماهی در پژوهش‌های متعددی مورد مطالعه قرار گرفته است (پوربوسری و همکاران، ۲۰۱۹). این مواد در غلظت مشخص باعث آرام شدن ماهی می‌شوند و به همین دلیل، فعالیت فیزیکی ماهی در خلال حمل کم می‌شود. کاهش فعالیت فیزیکی ماهی، آسیب‌های مکانیکی را کاهش می‌دهد. همچنین، کاهش فعالیت فیزیکی باعث کاهش مصرف اکسیژن و آب و کاهش دفع آمونیاک و دی‌اکسید کربن شده و از افت کیفیت آب جلوگیری می‌کند. به این ترتیب، مواد بیهوش‌کننده می‌توانند اثرات مثبتی در خلال حمل و نقل ماهی داشته باشند. در این راستا، مواد مختلفی در گونه‌های مختلف ماهی استفاده شده‌اند که برخی با نتایج مثبت (سانتوز و همکاران، ۲۰۲۰؛ داسیلوا و همکاران، ۲۰۲۰؛ کاستا و همکاران، ۲۰۲۰) و برخی با نتایج منفی (بنوویت و همکاران، ۲۰۱۲) همراه بوده‌اند که نشان می‌دهد پژوهش‌های بیشتری در این زمینه لازم است تا یک استاندارد جهت استفاده از آن‌ها تهیه گردد.

تیمول یک ترکیب فنولی در برخی از گونه‌ها از جمله آویشن (*Thymus vulgaris* L.) و ارگانو (*Origanum heracleoticum* L.) و اسانس‌های حاصل از آن‌ها است (کوالزیک و همکاران، ۲۰۲۰). این ماده کاربرد زیادی در پژوهش‌های آبی‌پروری داشته است و مطالعات مختلف نشان داده‌اند که تیمول می‌تواند سیستم آنتی‌اکسیدانی و ایمنی ماهی را تقویت نموده و استرس را کاهش دهد (جیاناس و همکاران، ۲۰۱۲؛ عبدالهاک و همکاران، ۲۰۱۶؛ بیانچینی و همکاران، ۲۰۱۷؛ عبدالنبی و همکاران، ۲۰۲۰؛ آلاگوانی و همکاران، ۲۰۲۱). از طرفی تیمول دارای خاصیت بیهوش‌کنندگی ماهی‌ها است و در غلظت ۲۵-۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر ماهی کپور را بیهوش می‌کند (یوسفی و همکاران، ۲۰۱۸). بنابراین می‌توان از آن در خلال حمل و نقل ماهی استفاده نمود تا استرس کم شده و سلامت ماهی افزایش یابد. با توجه به اهمیت کاهش استرس حمل و نقل و کاربرد مواد بیهوش‌کننده به این منظور، هدف از این مطالعه بررسی اثرات مثبت تیمول به عنوان یک افزودنی به آب در خلال حمل و نقل ماهی کپور بود.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در مرکز تحقیقات ذخایر آبیان آب‌های داخلی گرگان انجام شد. در این پژوهش از ۱۸۰ قطعه ماهی کپور 5 ± 5 گرمی استفاده شد. ماهیان با تراکم بیست قطعه در ۹ تانک ۳۰۰ لیتری حاوی ۱۵۰ لیتر آب قرار داده شدند. ماهی‌ها به مدت ۲۰ روز به منظور سازگاری در این تانک‌ها نگه‌داری و دو نوبت در هر روز با غذای تجاری کپور (شرکت فردانه؛ ۳۸-۳۶ درصد پروتئین، ۸-۴ درصد چربی) به میزان ۲ درصد تغذیه شدند.

فعالیت آنزیم‌های آلانین آمینوترانسفراز، آسپاراتات آمینوترانسفراز، لاکتات دهیدروژناز و آلکالین فسفاتاز به روش کینتیکی بر اساس تغییرات جذب نوری نمونه در هر دقیقه و فرمول‌های ارائه شده توسط شرکت پارس آزمون محاسبه شد. غلظت پروتئین کل و آلبومین به ترتیب به روش بیوره و بروکرزیل گرین و با استفاده از کیت‌های تشخیصی پارس آزمون و دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. غلظت هورمون‌های تیروئیدی توسط روش الایزا و با استفاده از کیت‌های تشخیصی پیشناز طب اندازه‌گیری شدند. این کیت مبتنی بر روش الایزای رقابتی و با استفاده از آنتی‌ژن متصل به دیواره چاهک عمل می‌نماید.

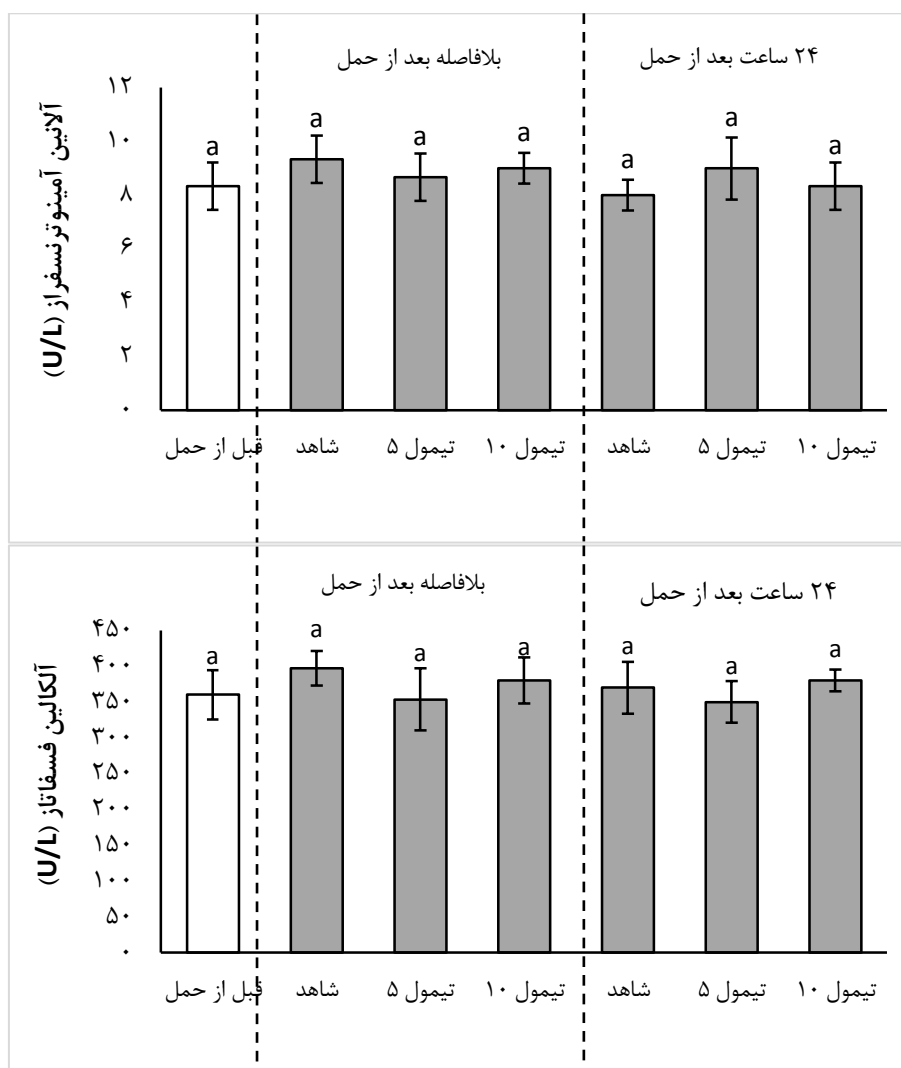
توزیع نرمال داده‌ها توسط آزمون شاپیرو-ویلک تأیید گردید. برای آنالیز آماری داده‌ها، از آزمون One way ANOVA و دانکن استفاده شد. معنی‌داری در سطح ۰/۰۵ درصد بررسی شد. داده‌ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار ارائه شدند. آنالیزها در نرم‌افزار SPSS v.22 انجام شده و نمودارها در نرم‌افزار اکسل رسم شدند.

نتایج

فعالیت آنزیم‌های آلانین آمینوترانسفراز و آلکالین فسفاتاز در شکل ۱ ارائه شده است. حمل و نقل ماهی اثر معنی‌داری بر فعالیت آلانین آمینوترانسفراز و آلکالین فسفاتاز پلاسما نداشت ($P > 0.05$).

بعد از گذشت بیست روز، از هر تانک یک ماهی انتخاب شده، توسط یوجینول به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر بیهوش شده (یوسفی و همکاران، ۲۰۲۱) و سپس خونگیری شدند. این نمونه‌ها برای تعیین شاخص‌های پلاسما قبل از حمل و نقل استفاده شدند. سپس بقیه ماهیان صید شده در پلاستیک حمل و نقل حاوی ۴ لیتر آب و ۸ لیتر اکسیژن خالص قرار داده شدند (در هر پلاستیک ۱۹ قطعه ماهی). سپس پلاستیک‌ها به سه گروه تقسیم و به ترتیب به آن‌ها صفر میلی‌گرم تیمول (گروه شاهد)، ۵ میلی‌گرم در لیتر تیمول و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر تیمول اضافه شد. این غلظت‌ها بر اساس مطالعه قبلی روی اثر بیهوش‌کنندگی تیمول در ماهی کپور انتخاب شدند (یوسفی و همکاران، ۲۰۲۱). سپس درب پلاستیک‌ها بسته شده و به مدت ۳ ساعت حمل شدند. پس از حمل و نقل مجدداً از ماهی‌ها خونگیری به عمل آمد. ماهی‌های باقی‌مانده (۱۷ قطعه در هر پلاستیک) به تانک‌های خود بازگردانده و ۲۴ ساعت پس از حمل مجدداً با استفاده از روش یادشده خونگیری شدند.

خون‌گیری از ورید دمی توسط سرنگ هپارینه انجام شد. حدود ۱/۵ میلی‌لیتر خون از هر ماهی گرفته شد. پلاسماي خون با استفاده از سانتریفیوژ (۷۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۷ دقیقه) جدا شد و تا زمان آنالیز در دمای منهای ۷۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید.

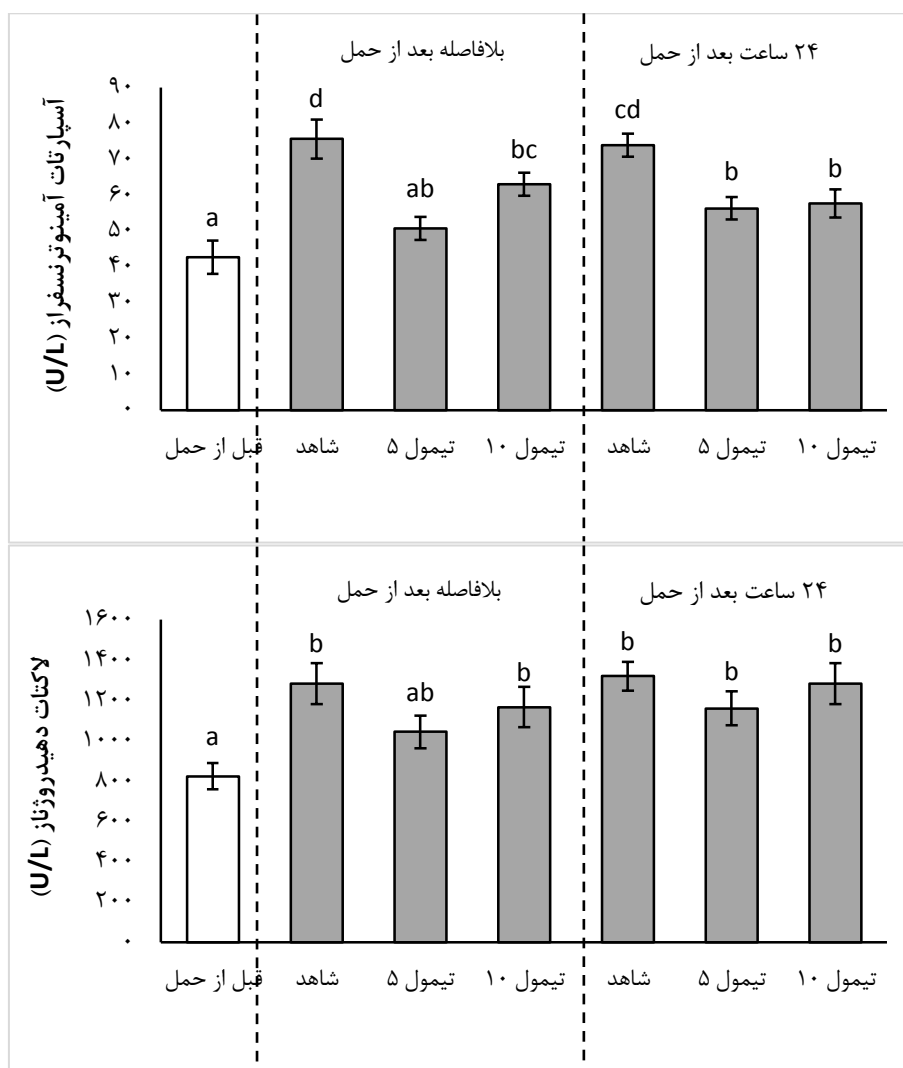


شکل ۱- فعالیت آلانین آمینوترانسفراز و آلکالین فسفاتاز پلاسما در تیمارهای مختلف.

حروف مشابه روی ستون‌ها نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است ($P > 0.05$).

آسپاراتات آمینوترانسفراز در تیمار شاهد به‌طور معنی‌داری ($P < 0.05$) بالاتر از دو تیمار دیگر بود. بلافاصله بعد از حمل، فعالیت لاکتات دهیدروژناز در تیمار شاهد و تیمول ۱۰ به‌طور معنی‌داری ($P < 0.05$) از مقادیر قبل از حمل بالاتر بود. ۲۴ ساعت پس از حمل، فعالیت لاکتات دهیدروژناز در همه تیمارها به‌طور معنی‌داری ($P < 0.05$) بالاتر از مقادیر قبل از حمل بود.

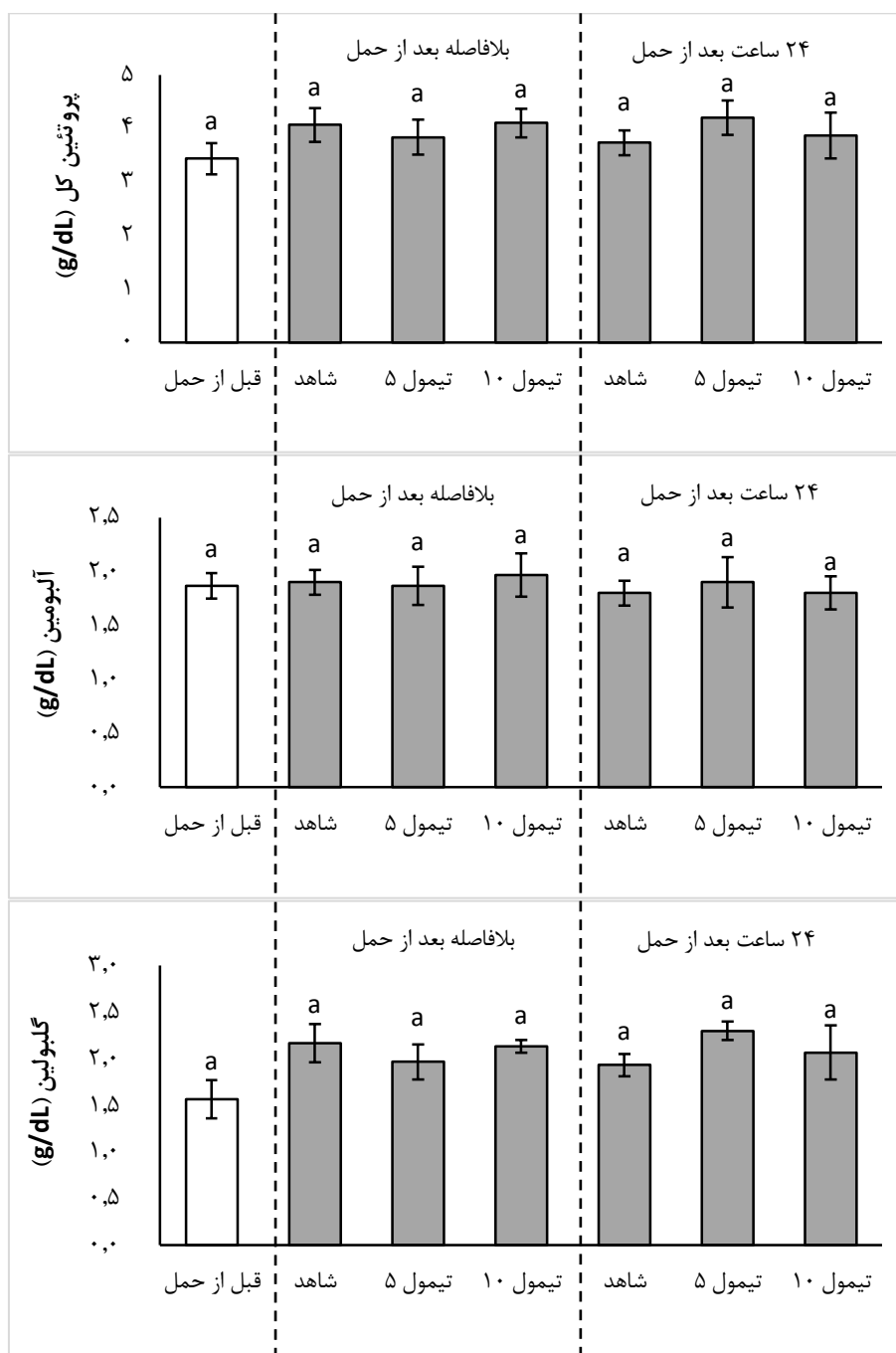
فعالیت آسپاراتات آمینوترانسفراز و لاکتات دهیدروژناز پلاسما در شکل ۲ ارائه شده‌اند. بلافاصله بعد از حمل، فعالیت آسپاراتات آمینوترانسفراز در تیمار شاهد و تیمول ۱۰ به‌طور معنی‌داری ($P < 0.05$) از مقادیر قبل از حمل بالاتر بود. همچنین فعالیت این آنزیم در این زمان در تیمار شاهد به‌طور معنی‌داری ($P < 0.05$) بالاتر از تیمول ۱۰ بود. ۲۴ ساعت بعد از حمل، فعالیت این آنزیم در همه تیمارها بالاتر از مقادیر قبل از حمل بود؛ در این زمان فعالیت



شکل ۲- فعالیت آسپارتات آمینوترانسفراز و لاکتات دهیدروژناز پلاسما در تیمارهای مختلف. حروف مختلف روی ستون‌ها نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است ($P < 0.05$).

تیمارها و زمان‌های نمونه‌گیری وجود نداشت
 در شکل ۳ ارائه شده است. اختلاف معنی‌داری در
 غلظت توتال پروتئین، آلبومین و گلوبولین پلاسما بین

تیمارها و زمان‌های نمونه‌گیری وجود نداشت
 در شکل ۳ ارائه شده است. اختلاف معنی‌داری در
 غلظت توتال پروتئین، آلبومین و گلوبولین پلاسما بین

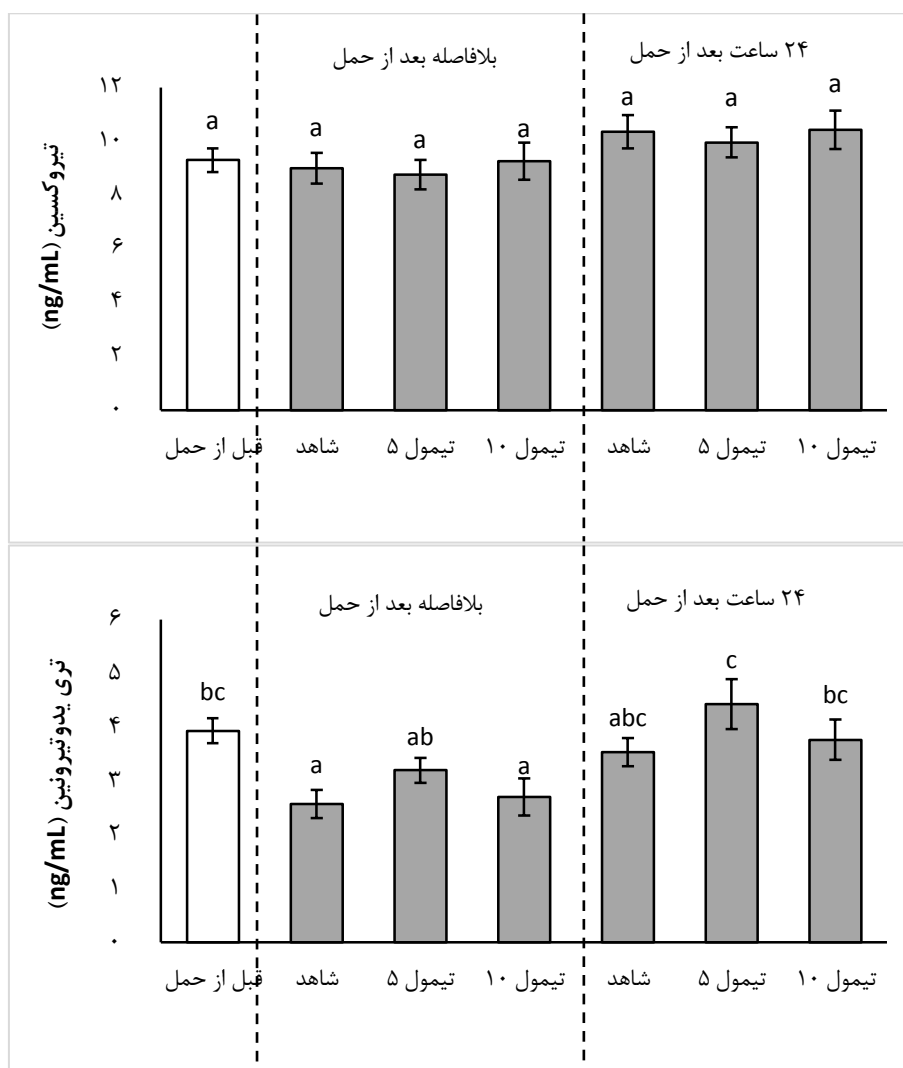


شکل ۳- غلظت توتال پروتئین، آلبومین و گلوبولین پلاسما در تیمارهای مختلف.

حروف یکسان روی ستون‌ها نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است ($P > 0.05$).

کاهش معنی‌داری نسبت به مقادیر قبل از حمل داشت ($P < 0.05$)، ولی ۲۴ ساعت بعد از حمل، غلظت تری‌یدوتیرونین در همه تیمارها مشابه مقادیر قبل از حمل بود.

غلظت هورمون‌های تیروئیدی پلاسما در شکل ۴ ارائه شده است. اختلاف معنی‌داری در غلظت تروکسین پلاسما بین تیمارها و زمان‌های نمونه‌برداری مشاهده نشد ($P > 0.05$). غلظت تری‌یدوتیرونین بلافاصله پس از حمل در تیمار شاهد و تیمول ۱۰



شکل ۴- غلظت تیروکسین و تری‌یدوتیرونین پلاسما در تیمارهای مختلف. حروف مختلف روی ستون‌ها نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است ($P < 0.05$).

به‌عنوان شاخص سلامت کبد شناخته شده است؛ زیرا این آنزیم‌ها در غلظت زیاد در هپاتوسیت‌ها و مجاری صفراوی وجود دارند و آسیب به این سلول‌ها باعث ورود آلانین آمینوترانسفراز و آلکالین فسفاتاز به خون می‌شود (هاشک و همکاران، ۲۰۰۹). بر اساس نتایج به‌دست آمده، حمل و نقل ماهی کپور در شرایط این پژوهش اثر منفی بر سلامت کبد نداشته است. این نتایج با نتایج مطالعات قبلی روی ماهی تترا (*Hyphessobrycon callistus*) و گربه‌ماهی

بحث

حمل و نقل ماهی باعث بروز استرس و بالا رفتن متابولیسم می‌شود که ضمن کاهش رشد، باعث افت سلامت ماهی می‌شود. مواد بیهوش‌کننده گیاهی با توجه به اثرات بیهوش‌کنندگی خود می‌توانند استرس و نرخ متابولیسم را کم کرده و به‌دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی و ایمنی که دارند، باعث بالا رفتن سلامت ماهی شوند (آیدین و بارباس، ۲۰۲۰). مقدار آلانین آمینوترانسفراز و آلکالین فسفاتاز در خون

به همراه داشته‌اند. در حالی که حمل و نقل قزل‌آلای رنگین‌کمان منجر به کاهش غلظت پروتئین خون شده است (جنی و همکاران، ۱۹۹۷)، حمل و نقل ماهی دم‌قرمز (*Brycon cephalus*) و گربه ماهی (*L. alexandri*) اثر معنی‌داری بر غلظت پروتئین خون نداشته است (اینوئه و همکاران، ۲۰۰۵؛ بوآونتورا و همکاران، ۲۰۲۱). نتایج این مطالعه نشان می‌دهند که حمل و نقل ماهی کپور اثری بر سلامت و ایمنی ماهی ندارد که با مطالعات قبلی همخوانی دارد.

هورمون‌های تیروئیدی نقش مهمی در تنظیم متابولیسم و تنظیم اسمزی در ماهی دارند (پرونت و همکاران، ۱۹۸۹؛ پتر، ۲۰۱۱). در شرایط استرس، غلظت این هورمون‌ها کم می‌شود که به دلیل اثر مستقیم کورتیزول بر غده تیروئید است (والپیتا و همکاران، ۲۰۰۷). بنابراین، این هورمون‌ها می‌تواند علاوه بر ارائه معیاری جهت ارزیابی متابولیسم، شاخصی برای استرس باشند. تری‌یدوتیرونین شکل فعال زیستی تیروکسین است که اثرات تیروئید در بدن را کنترل می‌کند. مطالعات نشان داده‌اند که افزایش غلظت این هورمون جهت افزایش رشد ماهی و تنظیم اسمزی ضروری است (گومز و همکاران، ۱۹۹۷؛ پتر، ۲۰۱۱). بنابراین کاهش مقدار تری‌یدوتیرونین پس از حمل و نقل ماهی کپور در این مطالعه می‌تواند نشانه‌ای از تغییر متابولیسم ماهی از آنابولیسم به کاتابولیسم (به دلیل استرس) و احتمالاً کاهش توانایی تنظیم اسمزی باشد و افزودن ۵ میلی‌گرم تیمول به آب حمل باعث کاهش اثرات منفی استرس بر هورمون‌های تیروئیدی می‌شود. احتمالاً این اثر تیمول به دلیل کاهش استرس در خلال حمل و نقل می‌باشد.

در همین راستا، مشخص شده است که افزودن تیمول به آب حمل و نقل باعث کاهش کورتیزول خون ماهی کپور در خلال حمل می‌شود میرزرگر و همکاران، ۲۰۲۱).

(*Lophiosilurus alexandri*) همخوانی دارد؛ به طوری که حمل و نقل این ماهی‌ها اثری بر آلانین آمینوترانسفراز خون نداشته است (پان و همکاران، ۲۰۱۰؛ بوآونتورا و همکاران، ۲۰۲۱). همچنین، حمل و نقل ماهی کپور اثری بر فعالیت آلکالین فسفاتاز پلاسما نداشته است (دویشیکوا و همکاران، ۲۰۰۹). در شرایط استرس، نیاز به انرژی در بدن ماهی افزایش پیدا می‌کند که با بالا رفتن گلوکز خون مشخص می‌شود. حفظ مقدار گلوکز خون نیازمند تولید مداوم آن در بدن است که طی فعالیت چرخه کربس و گلوکونئوزنر تامین می‌شود (بارتون، ۲۰۰۲). لاکتات دهیدروژناز و آسپارات آمینوترانسفراز به ترتیب در چرخه کربس و گلوکونئوزنر نقش دارند؛ بنابراین افزایش این دو آنزیم نشانه بروز استرس و افزایش متابولیسم در ماهی می‌باشد (تجپال و همکاران، ۲۰۰۹). بر این اساس، افزودن ۵ میلی‌گرم تیمول در لیتر به آب حمل و نقل ماهی کپور منجر به کاهش استرس و متابولیسم می‌شود. افزایش آسپارات آمینوترانسفراز و لاکتات دهیدروژناز خون پس از حمل و نقل در مطالعات پیش نیز گزارش شده است (چترجی و همکاران، ۲۰۰۶؛ رفتی و لی، ۲۰۱۸). در راستای نتایج به دست آمده در این پژوهش، بوآونتورا و همکاران (۲۰۲۱) مشاهده نمودند که حمل و نقل گربه ماهی (*L. alexandri*) باعث افزایش آسپارات آمینوترانسفراز خون شده و افزودن ۵ و ۱۰ میلی‌گرم عصاره گیاهی به آب حمل و نقل از افزایش این آنزیم جلوگیری می‌کند.

پروتئین‌های خون به عنوان شاخص‌های سلامت و ایمنی ماهی شناخته می‌شوند که غلظت آن‌ها در خلال استرس تغییر می‌کند (قلیچ‌پور و همکاران، ۲۰۱۷). مطالعات قبلی روی حمل و نقل ماهیان نتایج متفاوتی

استرس و افزایش متابولیسم است. استفاده از ۵ میلی‌گرم تیمول در هر لیتر آب حمل و نقل ماهی کپور جهت کاهش استرس ناشی از حمل و نقل توصیه می‌گردد.

در نهایت بر اساس نتایج این پژوهش مشخص شد که حمل و نقل ماهی کپور به مدت سه ساعت در کیسه‌های پلاستیکی منجر به افزایش فعالیت اسپاراتات آمینوترنسفراز و لاکتات دهیدروژناز پلاسما و کاهش مقدار تری‌یدوتیرونین می‌شود که نشان‌دهنده بروز

منابع

- Abd El-Hack, M., Alagawany, M., Ragab Farag, M., Tiwari, R., Karthik, K., Dhama, K., and Adel, M. 2016. Beneficial impacts of thymol essential oil on health and production of animals, fish and poultry: a review. *J. Ess. Oil Res.* 28: 5. 365-382.
- Abd El-Naby, A.S., Al-Sagheer, A.A., Negm, S.S., and Naiel, M.A. 2020. Dietary combination of chitosan nanoparticle and thymol affects feed utilization, digestive enzymes, antioxidant status, and intestinal morphology of *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture*. 515: 734577.
- Alagawany, M., Farag, M.R., Abdelnour, S.A., and Elnesr, S.S. 2021. A review on the beneficial effect of thymol on health and production of fish. *Rev. Aquacult.* 13: 1. 632-641.
- Aydın, B., and Barbas, L.A.L. 2020. Sedative and anesthetic properties of essential oils and their active compounds in fish: A review. *Aquaculture*. 520: 734999.
- Barton, B.A. 2002. Stress in fishes: a diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids. *Integ. Comp. Boil.* 42: 3. 517-525.
- Benovit, S.C., Gressler, L.T., de Lima Silva, L., de Oliveira Garcia, L., Okamoto, M.H., dos Santos Pedron, J., and Baldisserotto, B. 2012. Anesthesia and transport of Brazilian flounder, *Paralichthys orbignyanus*, with essential oils of *Aloysia gratissima* and *Ocimum gratissimum*. *J. World. Aquacult. Soc.* 43: 6. 896-900.
- Bianchini, A.E., Rodrigues, P., Barbosa, L.B., Junior, G.B., de Freitas Souza, C., Heinzmann, B.M., and Baldisserotto, B. 2020. Tissue distribution and elimination of S-(+)-linalool in silver catfish (*Rhamdia quelen*). *Aquaculture*. 529: 735637.
- Boaventura, T.P., Souza, C.F., Ferreira, A.L., Favero, G.C., Baldissera, M.D., Heinzmann, B.M., and Luz, R.K. 2021. The use of *Ocimum gratissimum* L. essential oil during the transport of *Lophiosilurus alexandri*: water quality, hematology, blood biochemistry and oxidative stress. *Aquaculture*. 531: 735964.
- Chatterjee, N., Pal, A.K., Das, T., Mohammed, M.S., Sarma, K., Venkateswarlu, G., and Mukherjee, S.C. 2006. Secondary stress responses in Indian major carps *Labeo rohita* (Hamilton), *Catla catla* (Hamilton) and *Cirrhinus mrigala* (Hamilton) fry to increasing packing densities. *Aquacult. Res.* 37: 5. 472-476.
- Costa, J.D.S., Silva, H.N.P.D., Sousa, E.M.D.O., Silva, R.C.S., Valente, A.S.O., Machado, S.D.D.S., and Silva, L.V.F.D. 2020. The use of *Myrcia sylvatica* hydrolate (G. MEY.) DC. (Myrtaceae) as a sedative under simulated conditions of transport of juvenile tambaqui (*Colossoma macropomum*). *J. Appl. Aquacult.* pp. 1-13.
- da Silva, H.N.P., dos Santos Machado, S.D., de Andrade Siqueira, A.M., da Silva, E.C.C., de Oliveira Canto, M.Â., Jensen, L., and Baldisserotto, B. 2020. Sedative and anesthetic potential of the essential oil and hydrolate from the fruit of *Protium heptaphyllum* and their isolated compounds in *Colossoma macropomum* juveniles. *Aquaculture*. 529: 735629.

- Dobšíková, R., Svobodova, Z., Blahova, J., Modra, H., and Velišek, J. 2009. The effect of transport on biochemical and haematological indices of common carp (*Cyprinus carpio* L.). Czech J. Anim. Sci. 54: 11. 510-518.
- Ghelichpour, M., Taheri Mirghaed, A., Mirzargar, S. S., Joshaghani, H., and Ebrahimzadeh Mousavi, H. 2017. Plasma proteins, hepatic enzymes, thyroid hormones and liver histopathology of *Cyprinus carpio* (Linnaeus, 1758) exposed to an oxadiazin pesticide, indoxacarb. Aquacult. Res. 48: 11. 5666-5676.
- Giannenas, I., Triantafyllou, E., Stavrakakis, S., Margaroni, M., Mavridis, S., Steiner, T., and 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.
- Gomez, J.M., Boujard, T., Boeuf, G., Solari, A., and Le Bail, P.Y. 1997. Individual diurnal plasma profiles of thyroid hormones in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in relation to cortisol, growth hormone, and growth rate. Gen. Comp. Endocrinol. 107: 1. 74-83.
- Harmon, T.S. 2009. Methods for reducing stressors and maintaining water quality associated with live fish transport in tanks: a review of the basics. Rev. Aquacult. 1: 1. 58-66.
- Haschek, W.M., Bolon, B., and Rousseaux, C.G. (Eds.). Wallig, M.A. 2017. Fundamentals of toxicologic pathology. Academic press.
- Inoue, L.A.K.A., Afonso, L.O.B., Iwama, G.K., and Moraes, G. 2005. Effects of clove oil on the stress response of matrinxã (*Brycon cephalus*) subjected to transport. Acta. Amazon. 35: 289-295.
- Jeney, G., Galeotti, M., Volpatti, D., Jeney, Z., and Anderson, D.P. 1997. Prevention of stress in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed diets containing different doses of glucan. Aquaculture. 154: 1. 1-15.
- Kowalczyk, A., Przychodna, M., Sopata, S., Bodalska, A., and Fecka, I. 2020. Thymol and thyme essential oil-new insights into selected therapeutic applications. Molecules. 25: 18. 4125.
- Mirzargar, S.S., Taheri Mirghaed, A., Hoseini, S.M., Ghelichpour, M., shahbazi, M., and Yousefi, M. 2021. Biochemical responses of common carp, *Cyprinus carpio*, to transportation in plastic bags using thymol as a sedative agent. Aquacult. Res. In press.
- Pan, C.H., Chien, Y.H., and Wang, Y.J. 2010. The antioxidant capacity response to hypoxia stress during transportation of characins (*Hyphessobrycon callistus* Boulenger) fed diets supplemented with carotenoids. Aquacult. Res. 41: 7. 973-981.
- Peter, M.S. 2011. The role of thyroid hormones in stress response of fish. Gen. Comp. Endocrinol. 172: 2. 198-210.
- Prunet, P., Boeuf, G., Bolton, J.P., and Young, G. 1989. Smoltification and seawater adaptation in Atlantic salmon (*Salmo salar*): plasma prolactin, growth hormone, and thyroid hormones. Gen. Comp. Endocrinol. 74: 3. 355-364.
- Purbosari, N., Warsiki, E., Syamsu, K., and Santoso, J. 2019. Natural versus synthetic anesthetic for transport of live fish: A review. Aquacult. Fish. 4: 4. 129-133.
- 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*. Front. Physiol. 9: 1628.
- Santos, E.L.R., Rezende, F.P., and Moron, S.E. 2020. Stress-related physiological and histological responses of tambaqui (*Colossoma macropomum*) to transportation in water with tea tree and clove essential oil anesthetics. Aquaculture. 523: 735164.
- Tejpal, C.S., Pal, A.K., Sahu, N.P., Kumar, J.A., Muthappa, N.A., Vidya, S., and Rajan, M.G. 2009. Dietary supplementation of L-tryptophan mitigates crowding stress and augments the growth in *Cirrhinus mrigala* fingerlings. Aquaculture. 293: 3-4. 272-277.

- Walpita, C.N., Grommen, S.V., Darras, V.M., and Van der Geyten, S. 2007. The influence of stress on thyroid hormone production and peripheral deiodination in the Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Gen. Comp. Endocrinol. 150: 1. 18-25.
- Wang, J., Xiong, G., Bai, C., and Liao, T. 2021. Anesthetic efficacy of two plant phenolics and the physiological response of juvenile *Ictalurus punctatus* to simulated transport. Aquaculture. 538: 736566.
- Yousefi, M., Hoseini, S.M., Aydın, B., Mirghaed, A.T., Kulikov, E.V., Drukovsky, S.G., and Van Doan, H. 2021. Anesthetic efficacy and hemato-biochemical effects of thymol on juvenile Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. Aquaculture. 737540.