

تأثیر عصاره زنجبیل بر خون شناسی و پارامترهای سرم شناسی و میزان رشد در ماهی بنی (*Barbus sharpeyi*)

طیبه اسدی*، نسیم زنگویی، سید محمد موسوی، وحید یاوری

گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دریا، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۲/۳۰

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۸/۲۹

چکیده

در دهه اخیر استفاده از گیاهان دارویی به عنوان محرک رشد و ایمنی در ماهیان پرورشی رو به افزایش است. در این مطالعه، اثرات عصاره گیاه زنجبیل (*Zingiber officinale*) بر رشد و پارامترهای خونی در ماهی انگشت قد بنی (*Barbus sharpeyi*) (Gunther., 1874) مورد مطالعه قرار گرفت. به این منظور عصاره زنجبیل با مقادیر صفر (گروه کنترل)، ۰/۱ درصد، ۰/۵ درصد و ۱ درصد به غذای پایه اضافه گردید. ماهی ها روزانه سه بار به میزان ۳ درصد وزن بدن به مدت ۸ هفته غذایی شدند. در پایان دوره آزمایش، زیست‌سنجی انجام گرفت و نمونه های خون از ساقه‌ی دمی ماهیان جمع آوری شدند. نتایج نشان داد که افزودن عصاره زنجبیل به جیره تأثیر معنی داری بر روی شاخص های رشد (WG و SGR) ندارد ($p \geq 0.05$). از طرفی، سطوح مختلف عصاره زنجبیل می تواند به طور معنی داری تعداد گلبولهای سفید خون و هماتوکریت را افزایش دهد. همچنین فعالیت لیزوزیم سرم خون، پروتئینکل سرم و آلومین بعد از استفاده از عصاره زنجبیل به طور معنی داری افزایش یافت ($p \geq 0.05$). بر پایه نتایج بدست آمده از این مطالعه، عصاره زنجبیل می تواند به عنوان محرک ایمنی در ماهی بنی مورد استفاده قرار گیرد.

واژگان کلیدی: *Barbus Sharpeyi*، عصاره زنجبیل، محرک ایمنی، رشد

*نویسنده مسوول، پست الکترونیک: tasadi92@gmail.com

۱. مقدمه

وقوع بیماری‌ها یک فاکتور محدود کننده در رشد و پایداری مزارع پرورش ماهی محسوب می‌شود. در میان عوامل بیماری‌زا، باکتری‌ها دارای اثرات زیان ده بسیار مهمی هستند (Muniruzzama and chowdhury, 2004). برای مقابله با باکتری‌ها و بیماری‌های ناشی از آن‌ها، آبی‌پروران ناگزیرند در تفریخگاه‌ها و مزارع پرورشی از آنتی‌بیوتیک‌ها و مواد شیمیایی برای تحریک سیستم ایمنی و افزایش مقاومت در برابر عوامل بیماری‌زا استفاده کنند (Düğenci et al., 2003). تمایل شدید به حذف آنتی‌بیوتیک‌ها در آبی‌پروری به علت هزینه بالا، تجمع دررسوبات کف استخرها و قفس‌ها، افزایش پتانسیل مقاومت باکتری‌ها در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها ایجاد بیماری در انسان با باکتری‌های مقاوم شده، مشکلات زیست‌محیطی، از بین بردن فلور میکروبی محیط زیست، تجمع زیستی درگوشت آبزیان و پایین آوردن کیفیت گوشت و مشکلات اجرایی تجویز دارو باعث شده است توجه به محرک‌های ایمنی، به عنوان جایگزینی برای درمان آنتی‌بیوتیکی بیشتر گردد (Thanikachalam et al., 2010; Lyuet, 2002; Gatlin et al., 2000). تعدادی محرک ایمنی شامل لوامیزول، گلوکان، گلوکان به اضافه‌ی ویتامین C، RNA مخمر، لیپوپلی‌ساکارید، هورمون رشد زرانول و کیتوزان برای تقویت سیستم ایمنی ذاتی در ماهی استفاده می‌شود. اما تعدادی از محرک‌های ایمنی به دلایل مختلف مانند هزینه بالا نمی‌توانند استفاده شوند. از این رو در بین محرک‌های ایمنی متعدد محرک‌های ایمنی با منشأ گیاهی ارجحیت دارند

(Iwama and Nakanishi, 1996). در دهه‌های اخیر استفاده از گیاهان دارویی با توجه به مزایای متعدد از جمله داشتن اثرات جانبی کمتر بر سلامت موجود زنده و محیط زیست، ارزان بودن، عدم ایجاد مقاومت دارویی در باکتری‌ها و پایدار و

در دسترس بودن، توجهات زیادی را در سطح جهان به‌ویژه کشورهای پیشرفته به خود جلب نموده است (Punitha et al., 2008). گیاهان مختلفی برای این منظور استفاده می‌شود که زنجبیل^۱ یکی از آنها می‌باشد. زنجبیل دارای تعدادی ترکیب شیمیایی شامل ۵۰ درصد نشاسته، ۹ درصد پروتئین، ۸-۶ درصد لیپید (گلیسریدها، فسفات‌ها، لیسیترین و اسیدهای چرب)، ۶-۲ درصد پروتئازها، ۳-۱ درصد روغن‌های فرار نظیر Shogoal, Gingerol, Zingiberol, Zingiberance, ویتامین A و B₃ یا نیاسین است (Murray, 1995). به نقل از Abo-Esa, 2008). زنجبیل هزاران سال است در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری جهان به عنوان داروی گیاهی کشت می‌شود (Jiang et al., 2006). محققان زیادی اثر محرک بودن زنجبیل را بر روی سیستم ایمنی ماهیان مختلف اثبات کرده‌اند. Vanitha و Tan (۲۰۰۴) اثرات ضد میکروبی و نیز تنظیم‌کنندگی سیستم ایمنی توسط زنجبیل را بررسی کرده و مشاهده نمودند که سلول‌های سیستم ایمنی را تنظیم می‌کند.

Dugenci و همکاران (۲۰۰۳) اثر گیاه دارویی زنجبیل را به عنوان تحریک‌کننده سیستم ایمنی در ماهی قزل‌آلا مورد بررسی قرار داد و به این نتیجه رسید که عصاره‌ی گیاه اضافه شده به غذای ماهی سطح پروتئین کل و ابمنی در پلاسما را افزایش می‌دهد اما این تحقیق اولین مطالعه اثر گیاه زنجبیل (Ginger) بر روی فاکتورهای خونی ماهی بنی *Barbus sharpeyi* در ایران می‌باشد.

۲. مواد و روش‌ها

۲-۱- محل و مدت انجام آزمایش

تمامی مراحل عملی این آزمایش در آزمایشگاه خیس واقع در دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر در بهار ۱۳۹۱ به مدت ۸ هفته انجام

^۱ *Zingiber officinale*

۲-۴- عصاره گیری و غذادهی به ماهیان ۵۰۰ گرم از گیاه زنجبیل که از همدان خریداری شده بود، پس از خرد کردن و خشک نمودن در آن ۵۰ درجه سانتی گراد، به مدت ۲۴ ساعت آسیاب شد و پودر حاصل از آن وزن گردید. از ۵۰۰ گرم از گیاه زنجبیل ۳۵ گرم پودر حاصل شد. سپس ۵ برابر وزن پودر حاصل به آن اتانول ۸۰ درجه شد. این مخلوط در ارلن که با فویل آلومینیوم پوشیده شده بود، به مدت ۳ روز در آزمایشگاه در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد نگهداری و کاملاً مخلوط گردید و در روز سوم ماده ی حاصل به وسیله ی مگنت مغناطیسی با دور ۱۲۰ دور در دقیقه، در دمای اتاق کاملاً مخلوط گردیده و به وسیله ی کاغذ صافی واتمن (شماره ۱، سایز چشمه ی ۴۲ میکرون) صاف گردید. ابتدا از یک کاغذ صافی و در مرحله ی بعد از ۲ کاغذ صافی استفاده شد. به منظور صاف کردن و تهیه عصاره ی الکلی خام از قیف بوختر استفاده شد و تمام ذرات ریز آن جدا گردید. سپس مایع بدست آمده در روتاری (۷۸۰°C) قرار داده شد تا تقطیر گردد و الکل موجود در آن جدا شود. پس از تقطیر، عصاره ی گیاه مورد نظر در شیشه های در بسته اتوکلاو شده ریخته و به غذاهای پایه که درصدهای مختلف عطاره آن ها تعیین شده بود اضافه گردید (زرگری، ۱۳۸۴). غذای پایه، پلیت تجاری ماهی بنی بود که از شرکت ۲۱ بیضا شیراز تهیه شده بود. بعد غذاها به شکل پلت درآمد، سرد و خشک شدند. غلظت عصاره های گیاهی صفر (کنترل)، ۰/۱، ۰/۵ و ۱ درصد بود. برای بررسی رشد ماهیان و مقایسه بین تیمارها از شاخص های رشد شامل افزایش وزن بدن^۱ (WG)، و ضریب رشد ویژه^۲ (SGR) استفاده شد که مطابق با (Ali and Al-Du et al., 2005)

گردید. آنالیزهای مربوط به سنجش لیزوزیم و فاکتورهای بیوشیمیایی سرم در آزمایشگاه شیلات انجام گردید.

۲-۲- طراحی سیستم پرورشی

برای انجام این مطالعه، از ۱۲ تانک فایبر گلاس ۳۰۰ لیتری (حجم آب موجود در تانک ها در طول مدت آزمایش ۲۵۰ لیتر بود) استفاده شد. داخل هر تانک یک سنگ هوا برای تأمین اکسیژن قرار داده شد. مقادیر درجه حرارت و اکسیژن محلول در آب در طی مدت آزمایش به ترتیب ۱±۲۶ و ۷-۸ mg/l بود و به صورت روزانه ثبت گردید. دوره ی نوری بر اساس شرایط طبیعی روز تنظیم شد.

۲-۳- تیمار بندی و ذخیره سازی

تعداد ۱۹۲ قطعه ماهی با متوسط وزن ۱۱/۶۵±۰/۰۴ گرم در بهار ۱۳۹۱، با استفاده از کپسول اکسیژن و مخازن مخصوص حمل و نقل آبزیان، همراه با هوادهی مداوم از کارگاه شهید ملکی اهواز به آزمایشگاه خیس، واقع در دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر انتقال داده شده و به طور کاملاً تصادفی بین ۱۲ تانک فایبر گلاس توزیع شد (۱۶ قطعه ماهی به ازای هر تانک). در این مطالعه چهار تیمار با سه تکرار در نظر گرفته شد. سه گروه تیمار و یک گروه شاهد بود. قبل از ذخیره سازی، تانک ها کاملاً با بتادین ضدعفونی و با آب شستشو داده شدند و سپس آبیگری آن ها با آب شهری کلرزدایی شده با هوادهی صورت گرفت. دوره ی سازگاری ماهیان جهت سازگار شدن با شرایط جدید، به مدت دو هفته قبل از شروع آزمایش به طول انجامید. در طول دوره ی آدپتاسیون روزانه ۳ بار غذا دهی به میزان ۳ درصد وزن بدن با غذای پلیت تجاری ماهی بنی انجام گرفت. بعد از دو هفته آدپتاسیون، ماهیان با جیره های آزمایشی حاوی گیاه زنجبیل به مدت هشت هفته غذادهی شدند و در پایان آزمایش پاسخ های ایمنی ماهیان مطالعه گردید.

^۱ Weight gain

^۲ Specific Growth Rate

تعداد کل گلبول های سفید در میلی متر مکعب خون با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد (Thrall, 2004).

تعداد کل گلبول های سفید در میلی متر مکعب خون = (تعداد کل گلبول های سفید شمارش شده در ۴ مربع بزرگ اطرافی) × ۲۰۰

برای تشخیص تفریقی، تعداد گلبول های سفید شمارش شده در هر مرحله ۱۰۰ عدد بود. سپس تعداد سلول های بدست آمده بر حسب درصد بیان شد (Houston, 1990). برای تعیین میزان هماتوکریت از روش میکروهماتوکریت استفاده گردید (Rehulka, 2000). مقدار پروتئین و آلبومین تام سرم با استفاده از کیت تشخیصی شرکت پارس آزمون به روش فتومتریک اندازه گیری شد. و داده ها در g/dl نشان داده شدند. میزان گلوبولین با کم کردن مقادیر آلبومین تام از پروتئین تام سرم محاسبه شد (Kumar et al., 2005). تعداد گلبول های قرمز با استفاده از لام نئوبار بعد از رقیق سازی خون هپارینه با محلول داسیس (رقت ۱/۲۰۰) شمارش شد. از مربع میانی (۵ مربع از ۲۵ مربع میانی) لام نئوبار برای شمارش گلبول قرمز استفاده و عدد بدست آمده در عدد ۱۰۰۰۰ ضرب شد (Houston, 1990).

۲-۸- اندازه گیری میزان فعالیت لیزوزیم^۳

سطوح لیزوزیم سرم، به روش کدورت سنجی و بر اساس روش Ellis (1990) با کمی تغییرات صورت پذیرفت. به این منظور ۱۰ میکرولیتر از سرم با ۲۰۰ میکرولیتر از سوسپانسون باکتری *Micrococcus lysodeikticus* (سیگما) (۰/۲mg/ml) در ۰/۰۵ مول بافر فسفات سدیم (پی اچ: ۶/۲) در پلیت های ۹۶ خانه ای الیزا مخلوط گردید و جذب نوری نمونه ها پس از ۱ و ۶ دقیقه با استفاده از دستگاه پلیت خوان الیزا در

(Asgah, 2001) و محاسبه شدند. افزایش وزن بدن: $WG=W2-W1$
وزن اولیه (گرم) = $W1$
وزن نهایی (گرم) = $W2$
ضریب رشد ویژه

$$SGR = \frac{LnW_2 - LnW_1}{\text{تعداد روزهای پرورش}} \times 100$$

۲-۵- پارامترهای ایمنی

خون گیری از ۱۲۰ ماهی بوسيله سرنگ ۲/۵ سی سی آغشته به ماده ضد انعقاد هپارین از ورید ساقه دمی انجام شد. تقریباً ۱ میلی لیتر خون از ماهیان گرفته و نمونه های خون در میکروتیوپ های ۱/۵ میلی لیتری ریخته شد. نمونه های خون قبل از سانتریفیوژ به دو قسمت تقسیم شد مقداری از خون برای شمارش گلبول های سفید و سایر شاخص های هماتولوژی در دمای ۴ درجه سانتی گراد استفاده شد و باقیمانده نمونه خون با سانتریفیوژدر ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه پلاسما آنها جداسازی گردید. پلاسما جداسازی شده در ۸۰- درجه سانتی گراد تا زمان آنالیزهای بعدی نگهداری شد (Stolen and Vanmuiswinkel, 2000).

۲-۶- اندازه گیری پارامترهای خون شناسی:

برای اندازه گیری پارامترهای خون شناسی آبزبان، از روش های معمول و متداول برای اندازه گیری پارامترهای خون شناسی پستانداران با کمی تغییرات، استفاده گردید (Feldman et al., 2000).

۲-۷- شمارش کلی و تفریقی گلبول سفید (TWBC)^۱ و شمارش کلی گلبول قرمز (RBC)^۲

^۱Total White Blood Cell

^۲Red Blood Cell

^۳Lysozyme activity

معنی داری را نسبت به گروه شاهد نشان داد (جدول ۲) ($P \leq 0/05$). بررسی نتایج نشان داد که بین تیمار ۱ درصد و سایر تیمارها از لحاظ میزان هماتوکریت اختلاف معنی داری وجود دارد و حداکثر میزان هماتوکریت در تیمار ۱ درصد مشاهده گردید ($P \leq 0/05$) (جدول ۲). با توجه به نتایج مذکور، میزان فعالیت لایوزیم سرم در تیمارهای ۱ درصد و ۰/۵ درصد به طور معنی داری بیشتر از گروه شاهد بود ($P \leq 0/05$). حداکثر میزان لایوزیم در تیمار ۱ درصد و حداقل، در گروه شاهد مشاهده گردید (جدول ۲). طبق نتایج حاصل، بین تیمارها و گروه شاهد از لحاظ میزان MCHC اختلاف معنی دار وجود دارد ($P \leq 0/05$). بیشترین میزان MCHC مربوط به تیمار ۰/۵ درصد بود و کمترین میزان آن در گروه شاهد مشاهده گردید (جدول ۲). با توجه به نتایج، در میزان پروتئین کل، در ماهیان تغذیه شده با جیره ۱ درصد در مقایسه با گروه شاهد افزایش معنی داری مشاهده شد ($P \leq 0/05$) و میزان آلبومین در تیمارهای ۰/۵ و ۱ درصد به طور معنی داری بیشتر از سایر تیمارها بود (جدول ۳).

۴. بحث و نتیجه گیری

در سال های اخیر، تحقیقات فراوانی در زمینه توسعه استفاده از عصاره های گیاهی که در بالا بردن ایمنی در آبزیان نقش دارند، صورت گرفته است. در بین عصاره های گیاهی اثرات مهاری عصاره ی زنجبیل بر روی میکروب ها، نرمتنان و حشرات، توسط محققان مختلفی بررسی شده است (Wang and Nq, 2005; Aqarwal, 2001; Singh, 1999). Singh, 1999 به نقل از محمدی و همکاران، (۱۳۸۶). گیاه دارویی زنجبیل، به عنوان ماده ی محرک سیستم ایمنی شناخته شده است (Zarkovic, 2001; Mentle et al., 2000; Dugenciet al., 1999 Verpoorte, 1999 به نقل از

طول موج ۵۳۰ نانومتر قرائت گردید. PBS به عنوان بلانک مورد استفاده قرار گرفت. هر واحد فعالیت آنزیم به صورت مقادیری از آنزیم که باعث کاهش جذب به میزان ۰/۰۰۱ به ازای هر دقیقه در میلی لیتر سرم شود، محاسبه می گردد. غلظت های مختلف لیزوزیم با استفاده از منحنی های استاندارد غلظت های لیزوزیم سفیده تخم مرغ (تهیه شده از شرکت سیگما) مقایسه گردید.

۲-۹- تجزیه و تحلیل آماری داده ها

داده ها به صورت میانگین \pm خطای استاندارد (Mean \pm SE) بیان شده است. نرمال بودن داده ها به وسیله آزمون Shapiro-Wilk مورد بررسی قرار گرفت. شاخص های رشد بر اساس آزمون آنالیز واریانس یک طرفه ANOVA ارزیابی شدند. در این آزمون، تیمارهای مختلف به عنوان عامل مستقل و شاخص های رشد، هماتولوژی و ایمنی، به عنوان عامل وابسته در نظر گرفته شدند. سایر داده ها پس از کنترل همگی آن ها به وسیله Kolmogronov-Smirnov، با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه (one-way ANOVA) و تست Duncan به عنوان POST HOK، جهت مقایسه میانگین ها مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. تجزیه و تحلیل کلیه داده ها و عملیات مربوطه به وسیله نرم افزار SPSS انجام پذیرفت (SPSS 16.0, Chicago, IL).

۳. نتایج

شاخص های خون و ایمنی

با توجه به نتایج، بیشترین میانگین افزایش وزن و نرخ رشد ویژه مربوط به تیمار ۱ درصد و کمترین مربوط به گروه شاهد بود، ولی اختلاف معنی داری از لحاظ آماری در میانگین افزایش وزن و نرخ رشد ویژه بین گروه شاهد و سایر تیمارهای آزمایشی مشاهده نشد (جدول ۱) ($P \geq 0/05$). نتایج شمارش تعداد کلی گلبول های سفید، تعداد گلبول های سفید خون تیمار ۱ درصد افزایش

Chang و همکاران (2012) و یک گیاه مفید برای افزایش وزن و تحریک سیستم ایمنی موجودات آبی می باشد (Chang et al., 2012).

تحقیقات مختلف نشان داده که عصاره زنجبیل باعث افزایش شاخص های رشد می شود. در این تحقیق، بیشترین میزان افزایش رشد بدنورخ رشد ویژه تیمار ۱ درصد مشاهده گردید. Immanuel و همکاران (2009)، Dugenci و همکاران (2003)، Desouky و همکاران (2012)،

جدول ۱. شاخص های افزایش وزن و نرخ رشد ویژه بچه ماهی بنی در تیمارهای مختلف (میانگین \pm خطای استاندارد)

شاخص	روز	تیمار			
		شاهد	۰/۱ درصد	۰/۵ درصد	۱ درصد
افزایش وزن (گرم)	۱۴	۴/۰۸±۰/۴۷	۵/۳۱±۰/۶۷	۵/۲۰±۰/۷۰	۵/۹۲±۰/۷۵
	۲۸	۴/۲۶±۰/۵۷	۴/۶۶±۰/۶۹	۵/۵۱±۰/۸۳	۶/۰۳±۰/۹۸
	۴۲	۴/۳۳±۰/۴۲	۵/۲۰±۰/۹۰	۵/۶۷±۰/۹۷	۶/۱۳±۱/۰۹
	۵۶	۴/۴۱±۰/۳۶	۵/۸۱±۱/۱۹	۵/۳۳±۱/۰۶	۶/۰۵±۱/۲۱
نرخ رشد ویژه (درصد)	۱۴	۰/۲۲±۰/۰۲	۰/۲۷±۰/۰۲	۰/۲۷±۰/۰۲	۰/۲۸±۰/۰۳
	۲۸	۰/۲۱±۰/۰۲	۰/۲۲±۰/۰۲	۰/۲۵±۰/۰۳	۰/۲۵±۰/۰۳
	۴۲	۰/۱۹±۰/۰۱	۰/۲۰±۰/۰۳	۰/۲۲±۰/۰۳	۰/۲۲±۰/۰۳
	۵۶	۰/۱۴±۰/۰۱	۰/۲۰±۰/۰۳	۰/۱۸±۰/۰۳	۰/۲۰±۰/۰۳

جدول ۲. تأثیر درصدهای مختلف عصاره ی زنجبیل بر پارامترهای ایمنی و خون شناسی بچه ماهی بنی (میانگین \pm خطای استاندارد)

پارامترهای ایمنی و خون شناسی	شاهد	۰/۱ درصد	۰/۵ درصد	۱ درصد
لازوزیم (میکرو گرم بر میلی لیتر)	۶/۷۵±۰/۳۳ ^c	۸/۴۸±۰/۱۴ ^b	۱۰/۹۰±۰/۲۸ ^a	۱۱/۱۶±۰/۳۰ ^a
WBC (×۱۰۴ سلول در هر میلی متر مکعب)	۱/۸۸±۰/۴۳ ^b	۷/۳۴±۰/۳۷ ^{ab}	۸/۲۱±۱/۴۹ ^{ab}	۱۲/۱۴±۲/۹۱ ^a
لنفوسیت (درصد)	۸۳/۸۰±۱/۱۸	۸۳/۹۳±۳/۰	۸۴/۴۰±۱/۸	۸۴/۹۰±۲/۱
نوتروفیل (درصد)	۱۱/۲۰±۱/۷۳	۱۱/۲۶±۱/۱۱	۱۲/۴۰±۱/۵	۱۲/۹۱±۲/۱۲
مونوسیت (درصد)	۱/۱۰±۰/۳۵	۱/۷۳±۰/۴۰	۲/۴۶±۰/۶۰	۲/۵۷±۰/۵۸
اوتوزینوفیل (درصد)	۱/۴±۰/۲	۱/۵±۰/۴	۱/۶±۰/۲	۱/۷±۰/۱
بازوفیل (درصد)	۱/۰±۰/۱	۱/۰±۰/۱	۱/۳±۰/۳	۱/۰±۰/۱
RBC (×۱۰۶ سلول در هر میلی متر مکعب)	۵/۵۸±۰/۰۷	۵/۶۱±۰/۰۵	۵/۴۴±۰/۰۲	۶/۹۲±۰/۰۷
هموگلوبین (گرم بر دسی لیتر)	۸/۴۰±۱/۴۱	۹/۸۳±۰/۶۵	۹/۹۹±۰/۷۷	۱۱/۲۰±۰/۹۸
هماتوکریت (درصد)	۳۲/۸۳±۱/۰۱ ^b	۳۲/۲۲±۱/۲۱ ^{ab}	۳۴/۴۱±۱/۲۵ ^{ab}	۳۷/۰۶±۱/۹۲ ^a
MCV (فمتولیتزر)	۵۳/۷۱±۴/۰۳	۶۵/۶۲±۵/۹۷	۷۲/۱۲±۶/۱۹	۹۴/۸۵±۶/۳۳
MCH (پیکوگرم)	۱۳/۷۸±۱/۰۳	۱۹/۷۵±۲/۷۳	۲۳/۰۷±۴/۳۷	۲۵/۸۶±۴/۹
MCHC (گرم بر دسی لیتر)	۲۵/۶۶±۱/۳۸ ^d	۳۰/۱۴±۱/۲۳ ^b	۳۱/۹۴±۱/۴۹ ^a	۳۷/۳۸±۱/۱۵ ^c

وجود حروف غیر همسان در هر ستون نشانه ی اختلاف معنی دار است ($P \leq 0/05$).

جدول ۳. تاثیر درصدهای مختلف عصاره‌ی زنجبیل بر پارامترهای بیوشیمیایی سرم بچه ماهی بنی (میانگین \pm خطای استاندارد) - واحد کلیه شاخص‌ها گرم بر دسی لیتر است.

شاخص	تیمار		
	شاهد	۰/۱ درصد	۰/۵ درصد
پروتئین	۴/۰۱ \pm ۰/۸۳ ^b	۴/۳۸ \pm ۰/۲۰ ^b	۵/۰۹ \pm ۰/۴۵ ^{ab}
آلبومین	۱/۹۶ \pm ۰/۵۶ ^{ab}	۱/۳۰ \pm ۰/۲۸ ^b	۳/۱۸ \pm ۰/۵۲ ^a
گلوبولین	۲/۰۲ \pm ۰/۴۷	۳/۰۸ \pm ۰/۰۹	۳/۷۰ \pm ۰/۱۸
نسبت آلبومین به گلوبولین	۱/۰۵ \pm ۰/۳۷	۰/۵۳ \pm ۰/۲۱	۲/۵۷ \pm ۱/۶۲

همکاران (۲۰۱۲)، Talpur و Ikhwanuddin (۲۰۱۲)، اثرات داروهای گیاهی مختلف را بر تولید و افزایش تعداد کل گلبول‌های سفید، لنفوسیت‌ها و نوتروفیل‌ها در آبزیان گزارش کرده‌اند. در این تحقیق، تعداد کل گلبول‌های قرمز خون در تیمار ۱ درصد افزایش معنی‌داری یافت ($P \leq 0/05$). همچنین میزان هماتوکریت و هموگلوبین خون افزایش چشمگیری در تیمار ۱ درصد نشان دادند ($P \leq 0/05$). میزان MCV و MCH در تیمار ۱ درصد و میزان MCHC در تیمار ۰/۵ درصد افزایش قابل ملاحظه‌ای داشت ($P \leq 0/05$). این مطالعه اولین گزارش علمی در خصوص اثرات زنجبیل بر افزایش میزان و سطح گلبول‌های قرمز، هماتوکریت، هموگلوبین، MCV، MCH و MCHC می‌باشد. گیاه سیر (Talpur, Ikhwanuddin and 2012) سبب افزایش میزان هموگلوبین به ترتیب در ماهی فلاندر زیتونی و سی‌باس آسیایی شده است. لایزوزیم یک آنزیم ضد باکتریایی است که توسط لوکوسیت‌ها و به خصوص مونوسیت‌ها، ماکروفاژها و نوتروفیل‌ها تولید می‌شود (Sitija-Bobadilla et al., 2008). لایزوزیم پروتئینی با ارزش در ماهی است که یکی از اجزای مهم ایمنی غیر اختصاصی بوده و باعث تخریب جدار باکتری‌ها، فعال‌سازی کمپلمان و افزایش فعالیت بیگانه‌خواری، به عنوان اپسونین، در ماهی می‌گردد (Sakai, 1999). در این تحقیق میزان لایزوزیم سرم خون در تیمار ۰/۵ و ۱ درصد

در تحقیق Dugenci و همکاران (۲۰۰۳) بیشترین میزان افزایش رشد بدن و ضریب رشد ویژه به ترتیب در سطوح ۱ و ۰/۱ درصد مشاهده شده بود که با نتایج این تحقیق همخوانی دارد. در این تحقیق مقادیر کلی گلبول‌های سفید خون در سطح ۱ درصد افزایش معنی‌داری را نشان داد ($P \leq 0/05$). در تحقیق Dugenci و همکاران (۲۰۰۳)، افزایش معنی‌داری در تعداد گلبول‌های سفید خون ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با زنجبیل دیده شد. در این تحقیق میزان لنفوسیت، نوتروفیل، مونوسیت و ائوزینوفیل در تیمار ۱ درصد افزایش معنی‌داری را نشان داد ($P \leq 0/05$) و میزان بازوفیل در تیمار ۰/۵ درصد قابل ملاحظه بود ($P \leq 0/05$). Dugenci و همکاران (۲۰۰۳) گزارش دادند که تعداد لنفوسیت‌ها و نوتروفیل‌های ماهی قزل‌آلای نیز افزایش معنی‌داری داشته است که نتایج آن با تحقیق حاضر همخوانی دارد. ماده‌ی زینجرون موجود در زنجبیل، باعث تحریک ترشح گلبول‌های سفید شده و با افزایش تعداد گلبول‌های سفید، فعالیت‌های ایمنی را افزایش می‌دهد، پس می‌توان نتیجه گرفت، که زنجبیل ماده محرک دستگاه ایمنی می‌باشد (Chang et al., 2012). Desouky و همکاران (۲۰۱۲)، اثر زنجبیل بر افزایش ایمنی سلولی را در میگوی دراز آب شیرین *Macrobrachium rosenbergii* تایید کردند. بسیاری از محققان مانند Harikrishnan

افزایش معنی داری نسبت به سایر تیمارها نشان داد ($P \leq 0.05$). همچنین با افزایش مقادیر لیزوزیم سرم خون، تعداد گلبول های سفید و درصد نوتروفیل توأماً افزایش یافت. محققان دیگری از گیاهان *Cynodondactylon*، *Solanum trilobatum* و *Eclipta alba* به ترتیب روی کپور هندی (*Catla catla*)، تیلاپیا (*Oreochromis mossambicus*)، تیلاپیا (*Oreochromis mossambicus*) استفاده کرده و گزارش دادند که میزان لیزوزیم سرم خون این آبزیان افزایش یافته است (Kaleeswaran et al., 2011; Divyagnaneswari et al., 2007; Christy et al., 2007). پروتئین تام یک شاخص مهم برای تعیین وضعیت تغذیه و سلامتی و ارزیابی شرایط کبد در ماهی است. پروتئین، آلبومین و گلوبولین ها پروتئین های عمده ای هستند که نقش مهمی در پاسخ های ایمنی ایفا می کنند و تعداد گلوبولین برای نشان دادن عملکرد سیستم ایمنی در خون ضروری می باشند (Hernandez et al., 2007). در این تحقیق میزان پروتئین تام در تیمار ۱ درصد و میزان آلبومین در تیمارهای ۰/۵ و ۱ درصد با افزایش معنی داری همراه بود ($P \leq 0.05$). در تحقیق Dugenci و همکاران (۲۰۰۳) سطح پروتئین تام پلاسما با تیمار ۱ درصد افزایش معنی داری یافت که مطابق با داده های این تحقیق است. محققان زیادی با استفاده از سایر گیاهان همچون گیاه *Silybum marianum* (بنایی و همکاران، ۱۳۸۹)،

افزایش معنی داری نسبت به سایر تیمارها نشان داد ($P \leq 0.05$). همچنین با افزایش مقادیر لیزوزیم سرم خون، تعداد گلبول های سفید و درصد نوتروفیل توأماً افزایش یافت. محققان دیگری از گیاهان *Cynodondactylon*، *Solanum trilobatum* و *Eclipta alba* به ترتیب روی کپور هندی (*Catla catla*)، تیلاپیا (*Oreochromis mossambicus*)، تیلاپیا (*Oreochromis mossambicus*) استفاده کرده و گزارش دادند که میزان لیزوزیم سرم خون این آبزیان افزایش یافته است (Kaleeswaran et al., 2011; Divyagnaneswari et al., 2007; Christy et al., 2007). پروتئین تام یک شاخص مهم برای تعیین وضعیت تغذیه و سلامتی و ارزیابی شرایط کبد در ماهی است. پروتئین، آلبومین و گلوبولین ها پروتئین های عمده ای هستند که نقش مهمی در پاسخ های ایمنی ایفا می کنند و تعداد گلوبولین برای نشان دادن عملکرد سیستم ایمنی در خون ضروری می باشند (Hernandez et al., 2007). در این تحقیق میزان پروتئین تام در تیمار ۱ درصد و میزان آلبومین در تیمارهای ۰/۵ و ۱ درصد با افزایش معنی داری همراه بود ($P \leq 0.05$). در تحقیق Dugenci و همکاران (۲۰۰۳) سطح پروتئین تام پلاسما با تیمار ۱ درصد افزایش معنی داری یافت که مطابق با داده های این تحقیق است. محققان زیادی با استفاده از سایر گیاهان همچون گیاه *Silybum marianum* (بنایی و همکاران، ۱۳۸۹)،

بنایی، م.، میرواقفی، ع.، رفیعی، غ. و گومیل، آ. س. ۱۳۸۹. تأثیر تجویز خوراکی سیلی مارین بر روی فاکتورهای بیوشیمیایی خون قزل آلاهی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*). نشریه شیلات، مجله منابع طبیعی ایران، دوره ۶۳، شماره ۴، صفحه ۲۸۶-۲۷۱.

زرگری، ع. ۱۳۸۴. گیاهان دارویی. جلد چهارم، انتشارات دانشگاه تهران، چاپ ششم، ۹۷ صفحه.

رجحان، م. ص. ۱۳۸۷. دارو و درمان گیاهی. انتشارات فرهیختگان علوی، چاپ پنجم، صفحه ۲۸۷.

محمدی، ر.، و معطر، ف. ۱۳۸۶. فعالیت ضد قارچی اسانس زنجبیل علیه ایزوله های بالینی واژینال کاندیدا آلبیکنس مقاوم به فلوکونازول. فصلنامه گیاهان دارویی، سال ششم، دوره چهارم، شماره مسلسل بیست و چهارم، صفحات ۲۵-۲۲.

منابع

- بنایی، م.، میرواقفی، ع.، رفیعی، غ. و گومیل، آ. س. ۱۳۸۹. تأثیر تجویز خوراکی سیلی مارین بر روی فاکتورهای بیوشیمیایی خون قزل آلاهی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*). نشریه شیلات، مجله منابع طبیعی ایران، دوره ۶۳، شماره ۴، صفحه ۲۸۶-۲۷۱.
- زرگری، ع. ۱۳۸۴. گیاهان دارویی. جلد چهارم، انتشارات دانشگاه تهران، چاپ ششم، ۹۷ صفحه.
- رجحان، م. ص. ۱۳۸۷. دارو و درمان گیاهی. انتشارات فرهیختگان علوی، چاپ پنجم، صفحه ۲۸۷.
- محمدی، ر.، و معطر، ف. ۱۳۸۶. فعالیت ضد قارچی اسانس زنجبیل علیه ایزوله های بالینی واژینال کاندیدا آلبیکنس مقاوم به فلوکونازول. فصلنامه گیاهان دارویی، سال ششم، دوره چهارم، شماره مسلسل بیست و چهارم، صفحات ۲۵-۲۲.
- Abo-Esa, J.F.K. Aqarwal, M., walia, S., Dhinqra, S. and Khambay, B.p. 2001. Insect growth inhibition, antifeedant and antifungal activity of compounds isolated from *Zingiber officinale* Roscoe rhizomes. Pest Manag. Sci., 57 (3): 289-300.
- Asadi, M.S., Mirvaghefi, A.R., Nematollahi, M.A., Banaee, M. and Ahmadi, K. 2012. Effects of Watercress (*Nasturtium nasturtium*) extract on selected immunological parameters of rainbow trout.

- Dietary administration of zingerone to enhance growth, non-specific immune response, and resistance (Eds), Fish Nutrition., Academic Press. San Diego California, USA, 671-702.
- Gunther, A. 1874. A Contribution to the fauna of the river Tigris. Annals and Magazine of Natural History (Series 4), 14(79):36-38.
- Harikrishnan, R., Kim, J.S., Kim, M.C., Dharaneedharan, S., Kim, D.H. and Hong, S.H. et al., 2012. Effect of dietary supplementation with *Suaeda maritima* on blood physiology, innate immune response, and disease resistance in *olive flounder* against *Miamiensis avidus*, Exp. Parasitol., 131; 195–203.
- Hernandez, L.H.H., Teshima, S.i., Koshio, S., Ishikawa, M. and Tanaka, Y.M.S. 2007. Effects of vitamin A on growth, serum anti-bacterial activity and transaminase activities in the juvenile Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus* Aquacult. , 262: 444–450.
- Houston, A.H. 1990. Blood and circulation. In: Schreck CB, Moyle PB (eds) Methods in fish biology. American Fisheries Society. Bethesda, Maryland, pp. 273-335.
- Immanuel, G., Uma, R.P., Lyapparaj, P., Citarasu, T., Peter, SM. and Babu, M.M. 2009. Dietary medicinal plant extracts improve growth, immune activity and survival of tilapia (*Oreochromis mossambicus*). J. Fish Biol., 74: 1462-75.
- Iwama, G. and Nakanishi, T. 1996. The fish immune system .Academic Press, London. Chapter 3: innate Immunity in fish, pp. 73-114.
- Jiang, H., Xie, Z., Koo, H.J., McLaughlin, S.P., Timmermann, B.N. and Gang, D.R. 2006. Metabolic profiling and phylogenetic analysis of medicinal Zingiber species: Tools for authentication of ginger (*Zingiber officinale*Rosc.). Phytochemistry. 67: 1673–1685.
- Kumar, S., Sahu, N.P., Pal, A.K., Choudhury, D.,Yengkokpam, S. and Mukherjee, S.C. 2005. Effect of dietary carbohydrate on haematology, respiratory burst activity and histological changes in *Labeo rohita* juveniles. Fish Shellfish Immunol. 19: 331-344.
- Lyu, S.Y., Park, S.M., Choung, B. and Park, W.B. 2000. comparative study of (*Oncorhynchus mykiss*). O.V Journal, 2: 32-39.
- Chang, Y.P., Liu, C.H, Wu, C.C., Chiang, C.M., Lian, J.L. and Hsieh, S.L. 2012. to *Vibrio alginolyticus* in pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) juveniles. Fish Shellfish Immunol. 32: 284-290.
- Choi, S.H., Park, K.H., Yoon, T.J., Kim, J.B., Jang, S.H. and Choe, C.H. 2008. Dietary Korean mistletoe enhances cellular non-specific immune responses and survival of Japanese eel (*Anguilla japonica*). Fish Shellfish Immunol. 24: 67-73.
- Christybapita, D., Divyagnaneswari, M. and Michael, R.D. 2007. Oral administration of *Eclipta alba* leaf aqueous extract enhances the non-specific immune responses and disease resistance of *Oreochromis mossambicus*. Fish Shellfish Immunol. 23: 840-852.
- Desouky, H.E., Asely, A.E., Shaheen, A.A. and Abbass, A. 2012. Effects of *Zingiberofficinalis* and *Cynodon dactylon* on the Growth Performance and Immune Parameters of *Macrobrachium rosenbergii*, World J. Fish & Marine Sci 4(3): 301-307.
- Divyagnaneswari, M., Christybapita, D. and Michael, R.D. 2007. Enhancement of nonspecific immunity and disease resistance in *Oreochromis mossambicus* by *Solanum trilobatum* leaf fractions. Fish Shellfish Immunol.23: 249-259.
- Du, Z.Y., Liu, Y.J., Tian, L.X., Wang, J.T., Wang, Y. and Liang, G.Y. 2005. Effect of dietary lipid level on growth, feed utilization and body composition by juvenile grass carp (*Ctenopharyngdon idella*). Aquacult. Nutrition, 11: 139-146.
- Dugenci, S.K., Arda, N. and Cand, A. 2003. Some medicinal plants as immune-stimulants for fish. J Ethnopharmacol, 88: 99–106.
- Ellis, A.E.1990. Lysozyme assay. In: Stolen, J.S., Fletcher, D.P., Anderson, B.S., Robertson, B.S. (Eds.), Techniques in Fish Immunology. SOS Publication, Fair Haven, New Jersey, pp.101-103.
- Feldman, B.F., Zinkl, J.G. and Jain, N.C. 2000. Schalm's Veterinary Hematology. 5th ed. Lippincott Williams and Wilkins, pp. 1120-1124.
- Gatlin, D.M. 2002. Nutrition and Fish health, In: Halver, J, E. and Hardy, R.W.

- Lymnaea acuminata*. *Phytother Res.* 13 (8): 649-654.
- Sitija-Bobadila, A., Palenzuela, O. and Alvarez-Plitero, P. 2008. Imune response of turbot, *Pstta maxima* (L.) (Pisces: Teleostei), to formalin-Killed scuticociliates (Cilifora) and adjuvanted formulations. *Fish Shellfish Immunol.* 24: 1-10.
- Stolen, J. and Vanmuiswinkel, W. 2000. *Techniques in fish Immunology*. Secretary of State Publication. 470 pp.
- Talpur, A.D. and Ikhwanuddin, M. 2012. Dietary effects of garlic (*Allium sativum*) on haemato-immunological parameters, survival, growth, and disease resistance against *Vibrio harveyi* infection in Asian sea bass, *lates calcarifer* (Bloch), *Aquacult.* 364-365: 6-12.
- Thanikachalam, k., Kasi, M. and Rathinam, X. 2010. Effect of garlic peel on growth, hematological parameters and disease resistance against *Aeromonas hydrophila* in African catfish *Clarias gariepinus* (Bloch) fingerlings. *APJTM.* 614-618.
- Thrall, M.A. 2004. *Veterinary Hematology and Clinical Chemistry*. Lippincott Williams & Wilkins USA, 556, pp.
- Toxicol. 46, 409-420. Thomas L., 1998, *Clinical Laboratory Diagnostics*. L^{sl} ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft, P: 652-6.
- Venkataramalingam, K., Godwin, C.J. and Citarasu, T. 2007. *Zingiber officinalis*, an herbal appetizer in the tiger shrimp *Penaeus monodon* (Fabricius) larviculture. *Aquacult. Nutrition.* 13: 439-43.
- Verpoorte, R., Heijden, V.D.R., Hoopen, H.J.G. and Memlink, J. 1999. Metabolite pathways for the production of fine chemhcals. *Biotechnol. Lett.*, 21: 467-479.
- Wang, H. and Nq, T. 2005. An antifungal protein from ginger rhizomes. *Biochemistry. Research. Community*, 336 (1): 100 – 104.
- Zarkovic, N., Vukovic, T., Loncaric, I., Miletic, M., Zarkovic, K. and Borovic, S. et al., 2001. An overview on anticancer activities of the *Viscum album* extract Isorel. *Cancer Biother. Radiopharm.* 16: 55-62.
- korean misteloe (*Viscom album*) var. coloratum and European mistletoe (*Viscom album*). *Archives of Pharmacol Res.* 23: 562-8.
- Mentle, D., Lennard, T.W. and Pickering, A.T. 2000. Therapeutic applications of medicinal plants in the treatment of breast cancer: a review of their pharmacology, efficacy and tolerability. *Adverse Drug React Toxicol Rev*, 19: 223-240.
- Muniruzzaman, M. and Chowdhury, M.B.R. 2004. Sensitivity of Pathogenic Bacteria to various medicinal Herbs, *Bangladesh J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med.* 2(1): 75-82.
- Murray, M. 1995. *The healing power of herbs*, 2nd Edn., Prima Publishing, Roseville, CALIFORNIA.
- Nanasombat, S. and Lohasupthawee, P. 2005. Antibacterial Activity of Crude Ethanolic Extracts and Essential oils of Spices Against Saimonellae And other Enterobacterial, *Kmitel Scienceand Technology. Journal.* Voloum. 5 No. 3 July. – December.
- Punitha, S.M.J., Babu, M.M., Sivaram, V., Shankar, V.S., Dhas, S.A., Mahesh, T.C. et al., 2008. Immunostimulating influence of herbal biomedicines on nonspecific immunity in Grouper *Epinephelus tauvina* juvenile against *Vibrio harveyi* infection. *Aquacult.* 16: 511-523.
- Rehulka, J. 2000. Influence of astaxanthin on growth rate, condition, and some blood indices of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquacult.* , 190: 27-47.
- Sahoo, P.K., Mohanty, J. and Mukherjee, S.C. 1999. The three imuunomodulators on haemotological parameters and immunity level in rohu (*Labeorohita*) fingerlings. *Journal of Aquacult. in the tropics*, 14: 127-135.
- Sakai, M. 1999. Current research status of fish immunostimulants. *Aquacult.* 172: 63-92.
- Singh, V.k. and Singh, S. 1999. Effect of active molluscicidal component of species on different enzyme activities and biogenic amine levels in the nervous tissue of

Effects of ginger extract on some hematological and serological parameters and growth performance in *Barbus sharpeyi*

Tayebeh Asadi*, Nasim Zanguee, Seyed Mohammad Mousavi, Vahid Yavari

Department of fisheries, Faculty of Marine Natural Resources, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Khorramshahr, Iran.

Abstract

In recent decades, using herbs and herbal extracts as growth promoters and immunostimulants in Aquaculture has been increased. In the current study, effects of Ginger (*Zingiber officinale*) extract on some hematological and serum parameters and growth performance of *Barbus sharpeyi* (Gunther, 1874) fingerlings were studied. Four levels of ginger extract including 0 (Control group), 0.1, 0.5 and 1 per cent were added to basic diet. Fish were fed twice a day as 3 per cent of body weight for 8 weeks. At the end of the experimental period, biometry was performed and blood samples were collected from caudal vein. The results showed administration of ginger extract as a supplement in diet did not significantly affect growth indexes (WG and SGR) ($p \geq 0.05$). On the other hand, different levels of ginger extract could significantly increase WBC count, hematocrit and some hematological parameters. Also, Serum lysozyme activity and serum total protein and albumin were significantly increased after using ginger extract ($p \leq 0.05$). based on our results, ginger extract can be used as a growth promoter and immunostimulant for *Barbus sharpeyi*.

Keywords: *Barbus sharpeyi*, Ginger extract, Immunostimulant, Growth

*Corresponding author, E-mail:tasadi92@gmail.com