

تأثیر عصاره زنجیل (*Zingiber officinale*) بر برخی شاخص‌های رشد، خون، بیوشیمی و ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

رضا اکرمی* زید احمدی حسین چیتساز مهندی شاملوفر فرزانه حبیبی‌نوده فاطمه صادقی‌اصل نازنین زرینی

گروه شیلات، واحد آزادشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، آزادشهر، ایران

(دریافت مقاله: ۱۲ شهریور ماه ۱۳۹۶، پذیرش نهایی: ۲۸ آذر ماه ۱۳۹۶)

چکیده

زمینه مطالعه: جایگزینی مواد طبیعی بجای داروهای شیمیایی به منظور افزایش تولید و ایمنی. هدف: هدف از این مطالعه بررسی تجویز خوارکی عصاره زنجیل بعنوان محرك ایمنی طبیعی برخی شاخص‌های رشد، خون، بیوشیمی و ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان بود. **روش کار:** بدین منظور ماهیان با میانگین وزنی 8 ± 0.2 kg به روش خوارکی و با سطح 0.5% و 1% عصاره هیدروالکلی زنجیل به مدت ۸ هفته تغذیه شدند. در پایان دوره تغذیه از ورید ساقه دمی ماهیان خونگیری شد. شاخص‌های رشد (وزن نهایی، نرخ رشد و بیژه، فاکتور وضعیت)، خون (گلوبول سفید، گلوبول قرمز، هماتوکریت، هموگلوبین، لنفوسیت، مونوست، نوتروفیل)، بیوشیمی (بروتین، آلبومین، کلسترول، تری‌گلیسرید، گلوبز، کورتیزول، آنزیم آلتین آمینوترانسفراز (ALT)، آسپارتات آمینوترانسفراز (AST)، لاکتات دهیدروژنаз (LDH)، آکالالین فسفاتاز (ALP) و ایمنی (لیزوژیم، ایمنوگلوبولین کل، سوپراکسیدسموتاز، فعالیت مسیر جانبی کمپلمان) مورد سنجش قرار گرفتند. گروه شاهد نیز بدون استفاده از عصاره گیاهی و با شرایط یکسان با سایر تیمارها مورد آزمایش قرار گرفت. **نتایج:** نتایج مطالعه حاضر تفاوت معنی داری در شاخص‌های رشد، خون، بیوشیمی و آنزیم‌های سرمی بین تیمارهای حاوی عصاره زنجیل در مقایسه با گروه شاهد نشان نداد ($P > 0.05$). کمترین میزان کورتیزول بطور معنی داری در تیمار 0.5% عصاره زنجیل بدست آمد ($P < 0.05$). افزایش معنی داری در فعالیت لیزوژیم سرم در تیمار 0.5% عصاره زنجیل مشاهده شد ($P < 0.05$). نتیجه گیری نهایی: تجویز خوارکی عصاره زنجیل در سطح 0.5% می‌تواند بعنوان محرك ایمنی طبیعی جهت بهبود پارامترهای رشد و ایمنی ماهی قزل‌آلای مورد استفاده قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: عصاره زنجیل، رشد، متغیرهای خونی، ایمنی، قزل‌آلای رنگین کمان

عوارض جانبی کم، سهولت دسترسی، امکان تولید در سطح وسیع، قیمت مناسب و خطر کمتر برای محیط زیست و جانور وجود تجربیات مختلف بالینی همواره بعنوان جایگزین مناسب برای داروهای شیمیایی و واکسن مورد توجه هستند (۲۰). علاوه بر این گیاهان دارویی با تغییر فلور باکتریایی روده منجریه افزایش رشد و بهبود کیفیت لاشه می‌شود. اقبال عمومی به کاهش مصرف داروهای شیمیایی، پژوهش گران را بر آن داشته تا در صدد دستیابی به ترکیبات طبیعی تر و سازگار با محیط زیست برآیند. متابولیت‌های گیاهی به عنوان یک ذخیره عظیم و ارزشمند می‌توانند در این زمینه راه گشا باشند و همواره به عنوان یک منبع مهم از ترکیبات فعال زیستی مورد توجه بوده‌اند. یکی از این گیاهان که می‌توان به آن اشاره کرد زنجیل می‌باشد.

زنجبیل به عنوان ادویه و به عنوان مواد افزودنی طبیعی برای بیش از ۲۰۰۰ سال استفاده می‌شود (۲۰). گزارش شده است ریزوم زنجیل (Zingiber officinale) پیشگیری و درمانی است (۲۶). زنجیل در کنترل طیف وسیعی از بیماری‌های باکتریایی، ویروسی، قارچی و انگلی نیز موثر است (۱). علاوه بر این، زنجیل بعنوان یک محرك ایمنی برای رشد و سیستم ایمنی در آبزیان مفید است و به کاهش خسارات ناشی از بیماری‌ها در آبزی پروری کمک می‌کند (۱۵، ۲۴، ۳۶). ریزوم زنجیل حاوی تعدادی از ترکیبات

مقدمه

قزل‌آلای رنگین کمان از گونه‌های بر جسته تجاری در آبزی پروری محسوب می‌شود و پرورش این ماهی در آب شیرین از فعالیت‌های متدالو آبزی پروری در ایران به شمار می‌رود. با این حال، افزایش تولید این گونه در واحد سطح موجب ایجاد مشکلاتی شده که از آن جمله می‌توان به بروز بیماری‌های عفونی و خسارات ناشی از آن‌ها، استفاده مکرر از برخی آنتی‌بیوتیک‌ها و مواد شیمیایی و در نتیجه به خطر افتادن سلامت مصرف کنندگان اشاره نمود (۱۱). این گونه مشکلات موجب شده تا طی سال‌های اخیر استفاده از برخی از مواد محرك ایمنی در غذای آبزیان پرورشی متدالو شود (۲). از عملکردهای مهم محرك‌های ایمنی می‌توان به افزایش قدرت بیگانه خواری، افزایش تولید آنتی‌بادی، افزایش تولید لیزوژیم، افزایش مهاجرت گلوبول‌های سفید و غیره اشاره نمود (۲۷). تحریک واکنش‌های ایمنی موجب کاهش استرس و افزایش مقاومت در برابر بیماری‌ها و شرایط ناساعد محیطی می‌شوند (۳۳).

علی‌رغم رشد قابل توجه صنعت پرورش قزل‌آلای در ایران، هنوز استفاده از روش‌های پیشگیری و کنترلی مانند استفاده از گیاهان دارویی عملیاتی نشده است. گیاهان دارویی حاوی پلی فنلی، آکالالین، کوئینون (quinone)، ترپنوتید (terpenoid)، لکتین (lectine) و ترکیبات پلی پپتیدی می‌باشند که بواسطه داشتن مزیت‌هایی از جمله



گرگان (استان گلستان، گرگان) تهیه شد. در این بررسی از طرح کاملاً تصادفی متعادل شامل دو سطح $0/5$ و 1% عصاره زنجیبل و در سه تکرار استفاده شد. جیره غذایی به صورت اکسترودر و از شرکت فرادانه شهر کرد خریداری و مورد استفاده قرار گرفت. متوسط تجزیه غذایی، پروتئین خام 40% ، چربی خام 16% ، فیبر خام $3/5\%$ ، رطوبت 11% بود. برای تهیه جیره ها ابتدا غذای کنسانتره توسط میکسر پودر و نرم شد. سپس عصاره زنجیبل به آن اضافه و فرآیند مخلوط کردن به مدت 10 دقیقه توسط میکسر ادامه یافت تا عصاره بطور یکنواخت در کل غذا پخش شود. سپس مقداری آب (50.00cc) به ازای هر کیلوگرم) به مخلوط حاصل اضافه شد تا به صورت خمیر نرم و شکل پذیر در آمد، سپس به وسیله چرخ گوشت با قطر چشممه $1-2\text{ mm}$ به رشتہ هایی تبدیل شد و در نهایت در سایه قرار گرفت تا با جریان هوا خشک شود^(۴). جیره ماهیان گروه شاهد نیز به همین شیوه بدون افزون عصاره آمده شد. غذای آماده شده به میزان $2\text{ تا }3\%$ وزن توده زنده در نوبت صحیح و بعداز ظهر به مدت 60 روز به ماهیان خورانده شد و در انتهای دوره آزمایش شاخص های رشد شامل وزن نهایی، نرخ رشد ویژه و فاکتور وضعیت بررسی شدند^(۴).

[زمان] /[لگاریتم طبیعی میانگین وزن اولیه به گرم] - [لگاریتم طبیعی میانگین وزن نهایی به گرم]] $= 100 \times \frac{\ln(\text{زمان})}{\text{زمان}}$
[[میانگین وزن نهایی دوره به سانتیمتر]] / [میانگین وزن انتهای دوره به گرم]] $= 100 \times \frac{\ln(\text{زمان})}{\text{زمان}}$

نمونه گیری: نمونه گیری چهت سنجش پارامترهای خونی و اینمنی در انتهای دوره پرورش 60 روزه از ماهیان قزل آلا صورت گرفت. 24 ساعت قبل از خونگیری تغذیه ماهیان قطع شد و سپس 36 عدد ماهی (4 ماهی به ازای هر تکرار) به ظاهر سالم به طور تصادفی انتخاب شدند و از ورید ساقه دمی آنها خونگیری بعمل آمد. از نمونه های خون جمع آوری شده مقدار 2 سی سی برای جداسازی سرم در لوله های سرولوژی فاقد ماده ضد انعقاد و 2 CC در ظروف حاوی ماده ضد انعقاد هپارین تقسیم گردید. سپس با استفاده از سانتی بیفور با دور 3000 دور در دقیقه به مدت 5 دقیقه سرم جدا و با سمپلر در لوله های کوچک تخلیه و در مجاورت یخ به آزمایشگاه انتقال و در شرایط فریزر (دمای -20°C) تا انجام آزمایش نگهداری شد.

روش های اندازه گیری: فاکتورهای خونی مورد مطالعه به روشن توصیه شده توسط Feldman و همکاران در سال 2000 شامل تعداد گلbulو های قرمز (RBC)، تعداد گلbulو های سفید (WBC)، هماتوکریت (PCV) و هموگلوبین (Hb) بود^(۱۸). همچنین شمارش افتراقی گلbulو های سفید شامل هتروفیل (نوتروفیل)، لنفوسيت و مونوسیت نیز انجام شد^(۱۰). برای اندازه گیری پارامترهای بیوشیمی، سرم خون جداسازی و با استفاده از دستگاه Semianalyser مدل SEAC طبق دستور العمل شرکت سازنده با استفاده از کیت های آزمایشگاهی انجام شد. پروتئین تام به روش بیوره (Biuret)، کلسترول به روش کلسترول اکسیداز (Choestrol)

فعال به عنوان روغن زنجیبل و جینجروله است که می تواند به شوگال ها (shogaol)، زینجرون (zingerone) و پارادول (paradol) تبدیل شود^(۱۲). در تحقیقات مختلف به اثرات تحریکی رشد و اینمنی این گیاه در آب زیان پرورشی گزارش شده است که می توان به تأثیرات تجویز خوارکی زنجیبل در فیل ماهی پرورشی توسط Gholipour kanani و همکاران Austin و Nya در سال 2009 در ماهی قزل آلای رنگین کمان، El-Desoulky و همکاران در سال 2012 در خرچنگ دراز آب شیرین، Dugensi Talpur و همکاران در سال 2013 در ماهی باس آسیایی، Sharif Rohani Haghghi و همکاران در سال 2003 در ماهی قزل آلا و Antache Awad و همکاران در سال 2013 در ماهی قزل آلا و همکاران در سال 2014 در ماهی تیلابیا اشاره کرد. به رغم مطالعات مختلف در زمینه کاربرد عصاره گیاهان دارویی ($2, 14, 20, 22, 23, 24$) بعنوان محرک های اینمنی در بهبود عملکرد رشد، پیشگیری از بیماری و تقویت سیستم اینمنی، تحقیق جامع و مدونی در خصوص استفاده از عصاره زنجیبل در تغذیه ماهی قزل آلای جوان پرورشی انجام نگرفته است. با توجه به اثرات نامطلوب داروهای شیمیایی مورد استعمال در آبزی پروری بر سلامت انسان، محیط زیست و عملکرد فیزیولوژیک آبزی، تحقیق حاضر با هدف تعیین عملکرد عصاره زنجیبل بر عملکرد رشد، مشخصه های خونی، بیوشیمی و اینمنی ماهی قزل آلای رنگین کمان جوان به انجام رسید.

مواد و روش کار

تحقیق حاضر در پاییز 1393 و به مدت 60 روز در مزرعه پرورش ماهی دنگ آسیاب واقع در روستای خولیندره از توابع شهرستان علی آباد (استان گلستان) انجام شد. در این مطالعه از بچه ماهیان قزل آلای رنگین کمان به ظاهر سالم با وزن تقریبی $8/14 \pm 0/2\text{ g}$ استفاده شد. ابتدا مخازن با پرمنگنات پتاسیم (150 mg/L) خدغوفنی شدند. جهت سازگاری ماهیان با شرایط مخازن آزمایشی ماهیان در 3 مخزن 300 لیتری و با تراکم 30 عدد ماهی در هر مخزن و به مدت 2 هفته نگهداری و با غذای تجاری تغذیه شدند. پس از سازگاری اولیه بچه ماهیان و زیست سنجی آنها با ترازوی دیجیتالی با دقت $0/1\text{ g}$ در $9\text{ مخزن} 70\text{ لیتری}$ و با تراکم 10 عدد و دبی ورودی 1 L بر ثانیه توزیع شدند. چیدمان مخازن به صورت تصادفی انتخاب شده بود تا تیمارها و تکرارهای مختلف در شرایط یکسان محیط آزمایشگاهی قرار گیرند.

عوامل فیزیکی و شیمیایی آب شامل درجه حرارت، اکسیژن محلول و pH همه روزه به وسیله دستگاه های دیجیتال (مدل TWT کشور آلمان) اندازه گیری شد. اکسیژن محلول بین $7-9\text{ mg/L}$ ، آب pH $7-15$ و دامنه تغییرات درجه حرارت آب نیز بین $13-17^{\circ}\text{C}$ ثبت گردید. عصاره زنجیبل مورد استفاده در این تحقیق به صورت هیدرولالکلی (hydroalcoholic extract) بود و از شرکت داروسازی گیاه انسان

جدول ۱. میانگین برخی شاخص های رشد (میانگین \pm انحراف معیار) ماهیان قزل آلای رنگین کمان جوان تغذیه شده با سطوح مختلف عصاره زنجیبل.

۱٪ عصاره	تیمار	شاهد	%/۵ عصاره
۹۷۴ \pm ۴/۳	وزن نهایی (g)	۹۳/۸ \pm ۳/۹	۹۶/۷ \pm ۵/۲
۳/۱۱ \pm ۰/۹	نرخ رشد ویژه (day/%)	۳/۱۷ \pm ۰/۷	۳/۲۱ \pm ۰/۹
۱/۲۸ \pm ۰/۴۲	فکتور وضعیت (%)	۱/۴۵ \pm ۰/۳۳	۱/۵۹ \pm ۰/۱۲

جدول ۲. میانگین برخی شاخص های خونی (میانگین \pm انحراف معیار) ماهیان قزل آلای رنگین کمان جوان تغذیه شده با سطوح مختلف عصاره زنجیبل.

۱٪ عصاره	تیمار	شاهد	%/۵ عصاره
۹۳/۷ \pm ۶/۳	تعداد گلوبول های سفید (ml/10 ⁹)	۹۰/۴ \pm ۷/۶	۹۵/۴ \pm ۴/۲
۱/۰۶ \pm ۰/۲۱	تعداد گلوبول های قرمز (ml/10 ⁹)	۰/۹۸ \pm ۰/۲۵	۱/۲۳ \pm ۰/۴۲
۱۸/۲۳ \pm ۲/۱۱	غلاظت هموگلوبین (g/dL)	۱۶/۷۵ \pm ۱/۵۳	۱۸/۷۴ \pm ۳/۸
۶۰/۳۸ \pm ۷/۶۲	هماتوکریت (%)	۵۶/۰ \pm ۵/۷۳	۶۰/۹۱ \pm ۴/۴۵
۹۱/۳ \pm ۲/۵	لنفوسمیت (%)	۸۸/۹ \pm ۴/۲	۹۷/۶ \pm ۱/۶۳
۲/۴ \pm ۰/۹	منوسیت (%)	۲/۳ \pm ۰/۵	۲/۸ \pm ۰/۶
۶/۷۴ \pm ۱/۹۶	نوتروفیل (%)	۶/۳۳ \pm ۷/۶۳	۷/۱۲ \pm ۲/۴۴

جدول ۳. میانگین برخی شاخص های بیوشیمی سرم (میانگین \pm انحراف معیار) ماهیان قزلآلای رنگین کمان جوان تغذیه شده با سطوح مختلف عصاره زنجیبل. میانگین های هر ردیف با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی دار می باشند. (p<0.05).

۱٪ عصاره	تیمار	شاهد	%/۵ عصاره
۶/۲۵ \pm ۰/۲۹	پروتئین (g/dl)	۶/۳۵ \pm ۰/۳۷	۶/۱۵ \pm ۰/۶۲
۲/۲۶ \pm ۰/۲۶	آلبومین (g/dl)	۳/۰/۶ \pm ۰/۳۲	۳/۳۱ \pm ۰/۱۹
۲۹۹/۶۶ \pm ۰/۵۹	کلسترول (mg/dl)	۲۸۷/۶۶ \pm ۰/۵۷	۲۹۷/۵ \pm ۰/۸۷
۲۰۷ \pm ۱/۸۸	تری گلیسرید (mg/dl)	۱۹۷ \pm ۳/۹۵	۱۸۳/۶۶ \pm ۱/۱۷
۷۵ \pm ۱۲/۳۹	گلوكز (mg/dl)	۶۳ \pm ۱۹/۴۰	۶۰ \pm ۸/۲۲
۳/۷ \pm ۷/۳ ^b	کورتیزول (ng/ml)	۳/۱۵ \pm ۱/۲۴ ^b	۶/۹ \pm ۲/۰۸ ^a

نتایج حاصل از تغییرات آنزیم های سرمی در گروه شاهد نشود (p>0.05). اگرچه بیشترین میزان پروتئین و آلبومین و همچنین کمترین مقدار کلسترول، تری گلیسرید و گلوكز در تیمار ۵/۰٪ عصاره زنجیبل بدست آمد. مقایسه نتایج آماری مربوط به شاخص کورتیزول حاکی از کاهش معنی دار این شاخص در تیمارهای عصاره زنجیبل نسبت به گروه شاهد بود (p<0.05).

نتایج حاصل از تغییرات آنزیم های سرمی در هر یک از تیمارها در جدول (۴) ارائه شده است. نتایج حاکی از آن بود مقدار آنزیم های سرمی بین تیمارهای عصاره زنجیبل با گروه شاهد تفاوت معنی داری را نشان نداد (p>0.05). اگرچه کمترین فعالیت آنزیم های متابولیک مربوط به ماهیان تغذیه شده با سطح ۵/۰٪ عصاره زنجیبل بود.

نتایج مربوط به شاخص های ایمنی در جدول (۵) نشان داده شده است. افزایش معنی دار فعالیت لیزوژیم سرم برای تیمار ۵/۰٪ عصاره زنجیبل به میزان ۴۴/۲ و کمترین آن برای گروه شاهد به میزان ۳۱/۸ واحد در میلی لیتر بدست آمد. با این حال مقایسه نتایج آماری مربوط به سایر پارامترهای ایمنی شامل فعالیت ایمنو گلوبولین کل، سوپراکسیدسموتاز و فعالیت مسیر

(Lipase/GPO-PAP)، تری گلیسرید به روش آنزیمی لیپاز (Lipase) آلبومین به روش بروموزول (Bromocresol Green) و گلوكز به روش گلوكز اکسیداز (Glucose oxidase) اندازه گیری شد (۱۰). اندازه گیری کورتیزول خون با روش رادیو ایمuno واسی (RIA) با استفاده از دستگاه تمام اتوماتیک گاما کانتر مدل LKB ساخت فنلاند و بکار گیری کیت هورمونی ایمیونوتک (Immunotech) انجام گرفت. برای تعیین میزان لیزوژیم از روش ارائه شده توسط Sahoo و همکاران در سال ۲۰۰۶ استفاده شد (۲۸). از نمونه سرم خون باقیمانده بمنظور تعیین غلاظت ایمنو گلوبولین کل (Total IgM) از کیت شرکت پارس آزمون و با دستگاه اتو آنالایزر مدل Eurolyser ساخت کشور اتریش استفاده گردید. فعالیت سوپراکسیدسموتاز (SOD) سرم از طریق اسپکترو فوتometر و به روش ferricytochrome C با استفاده از اکسیداز زانتین / گزانتین به عنوان منبع رادیکال های سوپرا اکسید اندازه گیری شد (۳). فعالیت مسیر عامل مکمل CH50٪ از روش ارائه شده توسط Yano در سال ۱۹۹۲ استفاده از سلول های قرمز خون خرگوش مورد سنجش قرار گرفت. حجمی از سرم رقیق شده که به ازای آن نیمی از گلوبول قرمز تحیل می روند بعنوان CH50 در نظر گرفته می شود (۳۶).

برای آنالیز داده های حاصل، ابتدا در محیط نرم افزاری SPSS (ویرایش شانزدهم) نرم ام بودن آن ها توسط آزمون کولموگروف اسمیرنوف انجام شد. برای مقایسه کلی بین تیمارها از آزمون تجزیه واریانس یک طرفه و در صورت معنی دار بودن برای مقایسه میانگین بین تیمارها بر اساس آزمون چند دامنه ای دانکن استفاده شد.

نتایج

نتایج حاصل از بررسی شاخص های رشد در انتهای دوره آزمایش حاکی از عدم وجود تفاوت معنی دار بین ماهیان تغذیه شده با سطوح مختلف عصاره زنجیبل و ماهیان گروه شاهد بود (p>0.05) با این وجود بهترین عملکرد رشد در تیمار ۵/۰٪ عصاره زنجیبل در جیره بدست آمد (جدول ۱). نتایج حاصل از تأثیر سطوح مختلف عصاره زنجیبل روی میانگین برخی مشخصه های خونی ماهیان قزلآلای پرورشی در جدول (۲) ارائه شده است. با توجه به نتایج تفاوت معنی داری در شاخص های خونی بین تیمارهای عصاره زنجیبل با گروه شاهد مشاهده نشد (p>0.05). با این وجود بهبود شاخص های خونی در تیمار ۵/۰٪ عصاره زنجیبل مشاهده شد، بطوریکه تعداد کل گلوبول های سفید، گلوبول های قرمز خون، همو گلوبولین، هماتوکریت و نوتروفیل در این تیمار افزایش یافت (جدول ۲).

نتایج بدست آمده از اندازه گیری شاخص های بیوشیمی سرم خون ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی عصاره زنجیبل در جدول (۳) نشان داده شده است. بر اساس مقادیر مندرج در جدول تفاوت معنی داری بین تیمارهای



و گروه شاهد مشاهده نکردن (۲۱)، Austin و Nya در ماهی قزل آلا رنگین کمان، El-Desouky و همکاران در سال ۲۰۱۲ در خرچنگ دراز آب شیرین (Macrobrachium rosenberg) و Talpur و همکاران در سال ۲۰۱۳ در ماهی باس آسیایی (*Lates calcarifer*) تأثیر مثبت پودر زنجیبل را بر عملکرد رشد گزارش کردند.

نتایج حاصل از تأثیر عصاره زنجیبل روی مشخصه‌های خونی ماهیان قزل آلا نشان داد تفاوت معنی‌داری در شاخص‌های خونی و پروفایل گلوبول‌های سفید بین تیمارهای عصاره زنجیبل با گروه شاهد مشاهده نمی‌شود ($p > 0.05$). با این وجود بهبود شاخص‌های خونی در تیمار 0.05% عصاره زنجیبل مشاهده شد. افزایش شاخص‌های خونی در این تیمار نشان‌گر تأثیر تحریک ایمنی و خواص ضدعفونی زنجیبل می‌باشد. ترکیبات زیست فعال موجود در زنجیبل شامل آکالاولوئیدها، فلاونوئیدها، پلی‌فنول‌ها، استروئیدها، تانن، فیبر، کربوهیدرات، ویتامین‌ها، کاروتونوئیدها و موادمعدنی بواسطه فعال سازی سیستم ایمنی به طور مستقیم بر سلامت ماهی تأثیر می‌گذارند (۲۵، ۳۰). Ghasemi Pirbalooti و همکاران در سال ۲۰۱۱ با افزودن اسانس چند گیاه دارویی در سطح 1% به غذای ماهی قزل آلا گزارش کردن میزان لیزوزیم و هتروفیل خون در جیره حاوی اسانس مرزه بختیاری (*Satureja bachtiarica*) در مقایسه با گروه شاهد به ترتیب افزایش و کاهشی نشان داد (۲۰). Sharif Rohani و Haghghi در سال ۲۰۱۳ با افزودن پودر زنجیبل در سطح 1% افزایش معنی‌داری را در تعداد گلوبول‌های سفید، قرمز و هماتوکریت در مقایسه با گروه شاهد گزارش کردن (۲۲). همچنین Talpur و همکاران در سال ۲۰۱۳ گزارش کردن در ماهی باس آسیایی تعذیه شده با پودر زنجیبل به ویژه در سطح 1% مقادیر پارامترهای خونی در قبل و بعد از مقابله با ویروس ویروسی هاروی (*Vibrio harveyi*) نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌داری داشت (۳۱). Gholipour kanani و همکاران در سال ۲۰۱۴ با افزودن 1 g پودر زنجیبل به ازای 100 g غذا به گیره فیل ماهی پروتئین و هموگلوبین را در شاخص‌های خونی بین تیمار زنجیبل و گروه شاهد مشاهده نکردن (۲۱) که با نتایج تحقیق حاضر شباهت دارد. گزارش شده است که مواد محرك ایمنی، لزوماً نمی‌توانند اثر معنی‌داری بر شاخص‌های هماتولوژیک از جمله تعداد گلوبول‌های قرمز، میزان هموگلوبین و هماتوکریت داشته باشند (۳۲) و بمنظور کارایی موثر آن‌ها بایستی زمان، غلظت، روش تجویز و وضعیت فیزیولوژیکی ماهی در نظر گرفته شود (۲۷). مطالعات نشان داد گرچه استفاده از افزودنی‌های گیاهی تأثیر مثبتی بر بسیاری از شاخص‌ها دارند ولی استفاده از آن‌ها در گیره و استهه به دوز می‌باشد بطوریکه مقادیر بیشتر یا کمتر از حد مجاز می‌توانند بدون اثر باشند یا اثر مهار کنندگی داشته باشند (۷). مطالعات متعدد نشان داده پارامترهای ایمونولوژیکی پس از تجویز عصاره گیاه به شکل تزریق داخل صفاقی با خوارکی در ماهی بهبود یافته و ماهی تحت درمان، افزایش فعالیت لیزوزیم، فعالیت فاگوسیتوزی، افزایش

جدول ۴. میانگین برخی آنژیمهای سرمی (میانگین \pm انحراف معیار) ماهیان قزل آلا رنگین کمان جوان تعذیه شده با سطوح مختلف عصاره زنجیبل.

تیمار	LDH (U/ml)	۳۷۵۴/۵۵ \pm ۳۹۶/۳۸	۳۳۵۷/۵۵ \pm ۹۹۰/۵۹	۶۳۳/۲ \pm ۵۴/۵	۵۸۳/۸ \pm ۸۰/۹	۳۰/۳۲ \pm ۳/۷۷	۵۵۲/۱۶ \pm ۱۵۲/۱۹	۶۳۰/۶۶ \pm ۹۸/۵۲	۱٪ % عصاره	Shahed
AST (U/ml)										
ALT (U/ml)										
ALP (U/ml)										

جدول ۵. میانگین برخی شاخص‌های ایمنی (میانگین \pm انحراف معیار) ماهیان قزل آلا رنگین کمان جوان تعذیه شده با سطوح مختلف عصاره زنجیبل. میانگین های هر ردیف با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی دار می باشند ($p < 0.05$).

تیمار	Shahed	۱٪ % عصاره	۰/۵	۰٪ % عصاره	Shahed
لیزوزیم (U/ml)					
ایمنوگلوبولین کل (mg/dl)					
سوپر اکسیدسموتواز (U/ml)					
سیستم عامل مکمل (%)					

جانبی کمپلمان سرم بین تیمارهای حاوی عصاره زنجیبل با گروه شاهد تفاوت معنی‌داری را نشان نداد ($p > 0.05$). اگرچه افزایش شاخص‌های ایمنی مذکور در تیمار 5% عصاره زنجیبل بدست آمد.

بحث

استفاده از مواد شیمیایی در آبزی پروری به طور گسترده‌ای جهت پیشگیری و درمان استفاده می‌شود، اگرچه استفاده از داروهای شیمیایی دارای اثرات منفی متعدد بر سلامت انسان و محیط زیست (ایجاد سویه‌های مقاوم باکتری‌ها و تجمع در بافت‌ها) می‌باشد. از این‌رو، مدیریت بهداشتی در آبزی پروری باید بر اساس روش‌های دوستدار محیط زیست و پایدار صورت گیرد (۱۷). گزارش شده محصولات گیاهی تحریک کننده اشتها و افزایش وزن هستند و به عنوان محرك ایمنی عمل می‌کنند و دارای اثرات ضد باکتریایی و ضد عامل بیماریزا در ماهی و نرمتنان هستند، که به علت فعالیت مولکول‌های مانند آکالاولوئیدها، ترپنوئیدها، سایونین‌ها و فلاونوئیدها می‌باشد (۲۶).

نتایج بررسی حاضر نشان داد تعذیه ماهیان قزل آلا با سطوح مختلف عصاره زنجیبل باعث بروز تفاوت معنی‌دار در شاخص‌های رشد نظری وزن نهایی، نرخ رشد ویژه و فاکتور وضعیت نگردید. اگرچه بیشترین عملکرد رشد در ماهیان تعذیه شده با سطح 5% عصاره زنجیبل مشاهده شد لذا احتمال می‌رود این سطح از زنجیبل در جیره بعنوان عامل اشتها آور و تحریک آنژیمهای گوارشی عمل کرده است. بنابراین قابلیت هضم جیره افزایش یافته و منجر به افزایش رشد ماهیان شده است (۳۱). در شباهت با نتایج تحقیق ما، Gholipour kanani و همکاران در سال ۲۰۱۴ با افزودن 1 g پودر زنجیبل به ازای 100 g غذا به گیره فیل ماهی پروتئینی (Huso huso) تفاوت معنی‌داری را در شاخص‌های رشد بین تیمار زنجیبل

قزل آلا به این نتیجه رسیدند که عصاره این گیاهان منجر به تحریک صفات ایمنی نظری فاگوستیتوز در لکوسیت‌های خون، فعالیت‌های تنفس بین سلولی و درون سلولی گردید بطوریکه در تیمار ۱٪ عصاره آبی زنجبیل افزایش معنی داری در شاخص‌های ایمنی در مقایسه با سایر تیمارها و گروه شاهد مشاهده گردید (۱۴). در مطالعه‌ای که توسط Awad و همکاران در سال ۲۰۱۳ انجام گرفت مشخص شد که عصاره گیاه گزنه (کوئرستین Quercetin) دارای اثرات تحریک ایمنی می‌باشد و فعالیت لیزوژیم و ایمنوگلبولین در ماهی قزل آلا را تحریک می‌کند (۷). Haghghi Sharif Rohani در سال ۲۰۱۳ اظهار کردند افزودن پودر زنجبیل در سطح ۱٪ باعث تحریک و افزایش معنی دار فعالیت لیزوژیم و انفجار تنسی در ماهی قزل آلا گردید (۲۲). همچنین Taipur و همکاران در سال ۲۰۱۳ گزارش کردند در ماهی باس آسیایی تغذیه شده با سطوح مختلف پودر زنجبیل مقادیر پارامترهای ایمنی شامل فعالیت فاگوستیتی، انفجار تنسی، لیزوژیم، فعالیت باکتری کشی و آنتی پروتئاز در قبل و بعد از مقابله با ویروس ویبریو هاروی به ویژه در سطح ۱٪ افزایش معنی داری داشت (۳۱). برخلاف نتایج تحقیق ما؛ Gholipour kanani و همکاران در سال ۲۰۱۴ با افزودن ۱ گپور زنجبیل به ازای ۱۰۰ g غذا به جیره فیل ماهی پرورشی گزارش کردند که لیزوژیم تحت تأثیر این افزودنی گیاهی قرار نگرفت (۲۱). Antache و همکاران در سال ۲۰۱۴ گزارش کردند افزودن ۱٪ زنجبیل به جیره ماهی تیلاپیا (*Oreochromis niloticus*) منجر به افزایش فعالیت لیزوژیم گردید ولی در مقایسه با گروه شاهد معنی دار نبود (۶). در بررسی حاضر نیز روند مشابهی در تیمار ۱٪ عصاره زنجبیل بدست آمد. Nafisi Bahabadi و همکاران در سال ۲۰۱۴ با غنی سازی جیره ماهی قزل آلا با عصاره علف مورچه (*Achillea millefolium*) تفاوت معنی داری در فعالیت لیزوژیم در روز ۱۵ و ۳۰ پرورش مشاهده نکردند ولی در روز ۳۰ پرورش افزایش معنی داری در فعالیت کمپلمان سرم در تیمار ۱٪ در مقایسه با سایر تیمارها و گروه شاهد بدست آمد (۲۳). در مطالعه حاضر، افزایش فعالیت مسیر جانبه کمپلمان در تیمارهای حاوی عصاره زنجبیل در مقایسه با گروه شاهد معنی دار نبود. دلیل احتمالی نتایج تحقیق حاضر این است هر مکمل گیاهی یک منطقه خاص از سیستم ایمنی میزان را تحریک می‌کند و یا این که مدت زمان برای القای پاسخ ایمنی بسته به نوع گیاه دارویی و با توجه به نوع پارامتر ایمنی متفاوت است. در تحقیق ما فعالیت سوپراکسید دیسموتاز تفاوت معنی دری را در بین ماهیان تعذیب شده با سطوح مختلف عصاره زنجبیل نشان نداد اگرچه سطح ۰/۵٪ عصاره زنجبیل نسبت به سایر تیمارها افزایش داشت. نتایج تحقیق حاضر با نتایج Yuan و همکاران در سال ۲۰۰۷ که گزارش کردند تفاوت معنی داری در فعالیت سوپراکسید دیسموتاز ماهی کپور که با سطوح ۰/۵٪ و ۱٪ مخلوط (HIRM) herbal immune regulation mixture تغذیه شدند وجود نداشت مشابهت داشت (۳۵). Baba و همکاران در

فعالیت انفجار تنسی و افزایش پروتئین‌های پلاسمای (گلوبولین و آلبومین) را نشان داده است اگرچه در بسیاری از موارد، مکانیسم‌های مسئول پاسخ فیزیولوژیکی در ماهی هنوز ناشناخته است (۲۶). لیزوژیم یک پارامتر مهم دفاعی هم در مهره داران و هم در بی مهرگان می‌باشد. لیزوژیم یک آنزیم ضد باکتریایی است که توسط لوکوسیتها و به خصوص مونوسیت‌ها، ماکروفاسیها و نوتروفیلها تولید می‌شود (۵)، این آنزیم پتیدوگلیکان را در دیواره باکتری‌ها می‌شکند و بدین ترتیب به طور غیراختصاصی از رشد میکروارگانیسم‌های بیماریزا جلوگیری می‌کند. لیزوژیم در تسهیل بیگانه خواری نیز مشارکت دارد که این فرایند پاسخ ایمنی می‌باشد که سبب تسهیل عمل فاگوستیتوز می‌گردد (۱۳).

نتایج حاصل از پارامترهای ایمنی در تحقیق حاضر بیانگر افزایش معنی دار فعالیت لیزوژیم سرم در تیمار ۰/۵٪ عصاره زنجبیل نسبت به تیمار ۱٪ عصاره و گروه شاهد بود. افزایش لیزوژیم سرم نقش عصاره زنجبیل در ارتقاء پاسخ ایمنی غیراختصاصی در ماهی قزل آلا را تأیید می‌نماید. دلیل احتمالی افزایش لیزوژیم در تیمار ۰/۵٪ عصاره زنجبیل در تحقیق حاضر این است که عمل تعديل کنندگی زنجبیل عنوان محرك ایمنی به ترکیب زیست فعال آن یعنی جینجرول gingerol (۶-interleukin) (۶) را القاء می‌کند. از طرفی زنجبیل بدیل خواص آنتی اکسیدانی بالقوه اش عنوان تضعیف کننده و نابود کننده رادیکال سوپراکسید و به عنوان یک مکانیسم حفاظتی احتمالی در مقابل مسمومیتی خودبخودی و کشنندگی در نظر گرفته شده است (۱۹). در مطالعه ما؛ Sajir پارامترهای ایمنی شامل فعالیت ایمنوگلبولین کل، سوپراکسید دیسموتاز و فعالیت مسیر جانبه سیستم کمپلمان بین تیمارهای حاوی عصاره زنجبیل با گروه شاهد تفاوت معنی داری را نشان ندادند ($p > 0/05$) ولی با اینحال افزایش این شاخص‌های ایمنی در تیمار ۰/۵٪ عصاره زنجبیل بدست آمد. احتمال می‌رود ترکیبات موجود در زنجبیل بر میزان پروتئین‌های سرم ماهی تأثیر چندانی نداشته که مقدار فعالیت مسیر جانبه عامل مکمل تغییر نکرده است. ولی در مجموع عصاره زنجبیل تأثیر مثبتی را نشان داده و سبب افزایش پارامترهای ایمنی شده است اما میزان غلظت عصاره زنجبیل در محدوده مطالعه تأثیری را بر نتایج فعالیت مسیر جانبه عامل مکمل و فعالیت سوپراکسید دیسموتاز نشان نداده است.

Ghasemi Pirbalooti و همکاران در سال ۲۰۱۱ گزارش کردند در اثر تغذیه ماهی قزل آلا با اسانس گیاه پونه کوهی (*Mentha*) (longifolia)، مرزه خوزستانی (*Satureja bachtiarica*) و زرین گیاه (*Deracocephalum multicaula*) شامل درصد فاگوستیتوز، تعداد جرم فاگوستیته شده و شاخص ایمنوگلبولین افزایش یافت (۲۰). Dugensi و همکاران در سال ۲۰۰۳ در بررسی اثر عصاره آبی چند گیاه دارویی شامل عصاره دارواش (*Viscum album*)، گزنه (*Urtica dioica*) و زنجبیل در سطح ۰/۱٪ و ۱٪ به جیره ماهی



کلسترونول در تیمارهای آزمایشی حاوی پودر زنجیبل به ویژه سطح ۱۰ گرم زنجیبل مشاهده کردند (۳۱). Gholipour kanani و همکاران در سال ۲۰۱۴ با افزودن ۱۸ پودر زنجیبل به ازای ۱۰۰ غذا به جیره فیلماهی پرورشی تفاوت معنی داری در مقادیر آلبومین و آنزیمهای سرمی ALT و AST بین تیمار زنجیبل و گروه شاهد مشاهده نکردند (۲۱) که با نتایج تحقیق حاضر مشابه بود. مکانیسم این فرآیند را می توان چنین تفسیر کرد که ترکیبات زیست فعال موجود در زنجیبل شامل فنل ها، فلاونوئیدها، تانن ها و ساپوینین ها بواسطه اینمی بافت هدف از عفونت آن جلوگیری کرده و ممکن است از پراکسیداسیون غشاهای سلولی بافت چربی پیشگیری نموده و مانع از آزادسازی آنزیمهای به پلاسمای گردد. Nafisi Bahabadi و همکاران در سال ۲۰۱۴ با افزودن سطوح مختلف ۰/۰۵ و ۱ درصد عصاره علف مورچه به جیره ماهی قزل آلا کاهش معنی داری تری گلیسرید در تیمار ۰/۰۵٪، کاهش معنی داری کلسترونول در تیمار ۱٪ و افزایش معنی داری پروتئین در تیمار ۱٪ و افزایش معنی دار آلبومین در تیمار شاهد و ۰/۵٪ در مقایسه با سایر تیمارها و همچنین کاهش معنی داری LDH در تیمار ۱٪ در انتهای آزمایش ولی افزایش معنی دار AST و ALP در تیمار حاوی ۱٪ در روز ۱۵ گزارش کردند (۲۲).

بنابرین استفاده از عصاره زنجیبل در سطح ۰/۵٪ جیره در مزارع پرورشی قزل آلا از جنبه های تولیدی و اقتصادی تأثیر مثبت در تحریک اینمی این ماهی داشته و با توجه به دلایل مختلف از جمله عدم مشاهده تأثیر سوء بر سلامتی ماهی ها در طول مصرف، سهولت مصرف، هزینه های پائین تهیه و امکان تولید داخلی کاملاً عملی و قابل توصیه می باشد. اگرچه ایجاد یک روش استاندارد شده از جمله روش های استخراج مبتنی بر مولکول های زیست فعال موجود، غلظت مناسب مصرف عصاره و راه تجویز مناسب در آینده مورد نیاز می باشد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله نگارندگان این مقاله از شرکت داروسازی گیاه اسانس گرگان به مدیریت آقای دکتر سلیمانی بخاطر در اختیار گذاشتن عصاره زنجیبل و آقای مهندس علمشاهی بواسطه تأمین ماهی و امکان استفاده از فضای کارگاه تشکر و قدردانی می نمایند.

References

1. Agrawal, M., Walia, S., Dhingra, S., Khambay, B.P.S. (2001) Insect growth inhibition antifeedant and antifungal activity of compounds isolated derived from *Zingiber officinale* Roscoe, ginger rhizome. Pest Manag Sci. 57(3):289-300.
2. Ahmadi, K., Mirvaghefei, A.R., Banaee, M., Vosoghi, A.R.(2014) Effects of long-term diazinon exposure on some immunological and

سال ۲۰۱۵ اثر عصاره قارچ خوارکی (*Lentinula edodes*) را بمدت ۶ هفته در سطوح ۱٪ و ۲٪ به جیره ماهی قزل آلا افزودند و گزارش کردند که پارامترهای اینمی در تیمارهای عصاره قارچ در مقایسه با گروه شاهد افزایش داشت و به لحاظ آماری افزایش معنی دار در اینموگلوبولین سرم فقط در تیمار ۲٪ عصاره قارچ مشاهده شد (۸). تفاوت در نتایج تحقیقات مختلف را می توان به تفاوت های گونه ای، شرایط محیطی پرورش، نوع مکمل گیاهی، آماده سازی و تأثیر گونه ماهی در پاسخ به مکمل گیاهی مورد استفاده ربط داد.

نتایج بررسی حاضر تفاوت معنی داری بین تیمارهای عصاره زنجیبل با گروه شاهد در شاخص های بیوشیمی سرم نشان نداد (۰/۰۵< p). بیشترین میزان پروتئین و آلبومین و همچنین کمترین مقدار کلسترونول، تری گلیسرید و گلوكز در تیمار ۰/۰٪ عصاره زنجیبل بدست آمد. همچنین میزان کورتیزول در تیمارهای عصاره زنجیبل بطور معنی داری کمتر از گروه شاهد بود (۰/۰۵< p). نتایج حاصل از مقادیر آنزیمهای سرمی نیز تفاوت معنی داری را بین تیمارهای حاوی عصاره زنجیبل با گروه شاهد نشان نداد (۰/۰۵< p). اگرچه کمترین میزان فعالیت آنزیمهای متابولیک مربوط به ماهیان تغذیه شده با ۰/۵٪ عصاره زنجیبل بود. احتمالاً علت عدم مشاهده تفاوت معنی دار در شاخص های بیوشیمی در ماهیان قزل آلا تغذیه شده با سطوح مختلف عصاره زنجیبل در مطالعه حاضر، مناسب بودن شرایط محیطی و احتمالاً کوتاه بودن دوره پرورش باشد و به نظر می رسد در صورت انجام تحقیق در دوره طولانی تر اثرات این محرک های اینمی ممکن است به صورت معنی دار در شاخص های سلامت بروز نماید. شاید احتمال بهبود شاخص های بیوشیمی در این مطالعه را بتوان اینگونه توجیه کرد که پلی فنول ها و فلاونوئیدها از مواد زیست فعل موجود در زنجیبل هستند که خاصیت آنتی اکسیدانی داشته و بعنوان مکانیسم حفاظتی در برابر استرس در پیشگیری از عفونت نقش دارند. همچنین مشخص شده که ساپوینین در کاهش کلسترونول، بهبود هایپرلیپیدمیا، کاهش قند خون و خواص ضد میکروبی برای جلوگیری از آسیب توسط پاتوژن های خارجی نقش دارد (۲۵). از طرفی کاهش در میزان گلوكز خون به بهبود سیستم آنتی اکسیدانی در سلول های پانکراس در تولید آنسولین نسبت داده شده است (۳۱). مشخص شده که افزایش سطح پروتئین پلاسمای در ماهیان تغذیه شده با عصاره های گیاهی یکی از ان迪کاتور های مکانیزم دفاعی هومورال است (۱۴).

Dugensi و همکاران در سال ۲۰۰۳ در بررسی اثر عصاره آبی گیاه داروаш، گزنه و زنجیبل در سطوح ۰/۱٪ و ۱٪ به جیره ماهی قزل آلا گزارش کردند بیشترین میزان پروتئین پلاسمای در گروه تغذیه شده با سطح ۱٪ عصاره آبی زنجیبل مشاهده شد (۱۴). همچنین Talpur و همکاران در سال ۲۰۱۳ با افزودن زنجیبل به جیره غذایی ماهی سی باس افزایش معنی دار پروتئین تام و آلبومین و کاهش معنی دار گلوكز، تری گلیسرید و

- haematological parameters in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Toxicol Environ Health Sci.* 6(1):1-7.
3. Ai, Q., Xu, H., Mai, K., Xu, W., Wang, J., Zhang, W. (2011) Effects of dietary supplementation of *Bacillus subtilis* and fructooligosaccharide on growth performance, survival, non-specific immune response and disease resistance of juvenile large yellow croaker (*Larimichthys crocea*). *Aquaculture*. 317(1-4):155-61.
 4. Akrami, R., Iri, Y., Khoshbavar Rostami, H., Razeghi Mansour, M. (2013) Effect of dietary supplementation of fructooligosaccharide (FOS) on growth performance, survival, lactobacillus bacterial population and hemato-immunological parameters of stellate sturgeon (*Acipenserstellatus*) juvenile. *Fish Shellfish Immunol.* 35(4):1235-39.
 5. Alishahi, M., Ranjbar, M.M., Ghorbanpour, M., Peyghan, R., Mesbah, M., Razi, J.M., (2010) Effects of dietary aloevera on some specific and nonspecific immunity in the common carp (*Cyprinus carpio*). *Int J Vet Res.* 4(3):189-195.
 6. Antache, A., Cristea, V., Grecu, I., Dediu, L., Crețu, M., Petrea, S.M. (2014) The influence of some phytobiotics on haematological and some biochemical indices at *Oreochromis niloticus*. *Anim Sci Biotech.* 47(1):192-199.
 7. Awad, E., Austin, D., Lyndon, A.R (2013) Effect of black cumin seed oil (*Nigella sativa*) and nettle extract (Quercetin) on enhancement of immunity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*. 388-391:193-197.
 8. Baba, B., Uluköy, G., Öntaş, C. (2015) Effects of feed supplemented with *Lentinula edodes* mushroom extract on the immune response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and disease resistance against *Lactococcus garvieae*. *Aquaculture*. 448:476-482.
 9. Bartley, J., Jacobs, A. (2000) Effects of drying on flavour compounds in Australian-grown ginger (*Zingiber officinale*). *J Sci Food Agric.* 80:209-215.
 10. Borges, A., Scotti, L.V., Siqueira D.R., Jurinitz D.F. Wassermann. G.F. (2004) Hematologic and serum biochemical values for jundia (*Rhamdia quelen*). *Fish Physiol Biochem.* 30: 21-25.
 11. Chang, C., Chen, H.Y., Su, M.S. (2000) Immuno-modulation by dietary in the brooders of the grass prawn (*Penaeus monodon*). *Fish Shellfish Immunol.* 10: 505-514.
 12. Chang, Y., Liu, C., Wu, C., Chiang, C., Lian, J., Hsieh, S. (2012) Dietary administration of zingerone to enhance growth, non-specific immune response and resistance to *Vibrio alginolyticus* in Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) juveniles. *Fish Shellfish Immunol.* 32: 284-290.
 13. Choi, S-H., Park, K-H., Yoon, T-J., Kim, J-B., Jang, Y-S., 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.
 14. Dugenci, S.K., Arda, N., Candan, A. (2003) Some medicinal plants as immunostimulant for fish. *J Ethnopharmacol.* 88(1): 99-106.
 15. El-Desouky, H., El-Asely, A., Shaheen, A.A., Abbass, A. (2012) Effects of *Zingiber officinale* and *Cyanodon dactylon* on the growth performance and immune parameters of *Macrobrachium rosenbergii*. *World J Fish Marin Sci.* 4(3):301-307.
 16. Ernst, E., Pittler, M. H. (2000) Efficacy of ginger for nausea and vomiting: A systematic review of randomized clinical trials. *Br J Anaesth.* 84(3):367-371.
 17. Ewuola, E.o., Folayan, o.A., Gbore, F.A., Ade-bunmi Akanji, R.A., Ogunlade, J.T. Adeneye, J.A. (2004) Physiological response of growing West African dwarf goats fed groundnut shell-based diets as the concentrate supplements. *Bowen J Agric.* 1(1):61-69.
 18. Feldman, B.F., Zinkl, J.G., Jian, N.C. (2000) Schalm's veterinary hematology. (6th ed.). Lippincott Williams and Wilkins publication, Wiley-Blackwell. Canada. p.1120-1125.
 19. Gabor, E.F., Ichim, O., Suteu, M. (2012). Phyto-additives in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) nutrition. *Biharean Biol.* 6:134-139.
 20. Ghasemi Pirbalooti, A., Pirali, A., Pishkar, Gh., Jalali, S.M.A., Raeisi, M., Jaafarian, D., Hamed



- B. (2011) The effect of some pharmaceutical plant essence on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) immunological system. *Pharmaceutical Plant J.* (In Persian). 2:149-155.
21. Gholipour Kanani, H., Nobahar, Z., Kakoolaki, Sh., Jafarian, H. (2014) Effect of ginger- and garlic-supplemented diet on growth performance, some hematological parameters and immune responses in juvenile *Huso huso*. *Fish Physiol Biochem.* 40:481–490.
22. Haghghi, M., Rohani, M.S. (2013) The effects of powdered ginger (*Zingiber officinale*) on the haematological and immunological parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *J Med Plant Herbal Ther Res.* 1:8-12.
23. Nafisi Bahabadi, M., Banaee, M., Taghiyan, M., Nematdoust Haghi, B. (2014) Effects of dietary administration of yarrow extract on growth performance and blood biochemical parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Int J Aquat Biol* 2:275-285.
24. Nya, E.J., Austin, B. (2009) Use of dietary ginger (*Zingiber officinale*) as an immunostimulant to control *Aeromonas hydrophila* infections in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *J Fish Dis.* 32(11):971-977.
25. Otunola, G.A., Oloyede, O.B., Oladiji, A.T., Afolayan, A.J. (2010) Comparative analysis of the chemical composition of three spices - *Allium sativum* L. *Zingiber officinale* Rosc. and *Capsicum frutescens* L. commonly consumed in Nigeria. *Afr J Biotech.* 9(41): 6927–6931.
26. Reverter, M., Bontemps, N., Lecchini, D., Banaigs, B. (2014) Use of plant extracts in fish aquaculture as an alternative to chemotherapy: Current status and future perspectives. *Aquaculture.* 433:50–61.
27. Sakai, M. (1999) Current research status of fish immunostimulants. *Aquaculture.* 172: 63-92.
28. Sahoo, P.K. (2006) immuno competent organs in teleosts. In: *Fish Shellfish Immunol.*, Swain, P., Sahoo, P.K., Ayyappan, S. (eds.). Navendra Publishing House. Dehli, India. p.1-12.
29. Scalbert, A., Johnson, I.T., Saltmarsh, M. (2005) Polyphenols: antioxidants and beyond. *Am J Clin Nut.* 81: 2155-2175.
30. Shirin, P.R., Prakash, J. (2010) Chemical composition and antioxidant properties of ginger root (*Zingiber officinale*). *Med Plants Res.* 4: 2674–2679.
31. Talpur, A.D., Ikhwanuddin, M., Ambok Bolong, A. (2013) Nutritional effects on ginger (*Zingiber officinal Roscoe*) on immune response of Asian sea bass (*Lates calcarifer*) and disease resistance against *Vibrio harveyi*. *Aquaculture.* 400–401:46–52.
32. Tangestani, R., Alizadeh Dooghikolaei, E., Ebrahimi, A., Zare, P. (2011) Effects of garlic essential oil as immunostimulation on hematological indices of juvenile Beluga (*Huso huso*). *J Vet Res.* (In Persian). 66:209-216.
33. Whittington, R., Lim, C., Klesius, P.H. (2005) Effect of dietary β -glucan levels on the growth response and efficacy of *Streptococcus iniae* vaccine in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquacul.* 248: 217-225.
34. Yano, T. (1992) Assay of hemolytic complement activity. In: *Techniques in fish immunology*. Stolen, J.S., Fletcher, T.C., Anderson, D.P., Hattari, S.C., Rowley, A.F. (eds.). SOS Publications, Fair Haven, New Jersey, USA. 2:131-141.
35. Yuan, C., Li, D., Chen, W., Sun, F., Wu, G., Gong, Y., Tang, J., Shen, M., Han, X. (2007) Administration of a herbal immunoregulation mixture enhances some immune parameters in carp (*Cyprinus carpio*). *Fish Physiol Biochem.* 33:93–101.
36. Zhou, H. L., Deng, Y. M. Xie, Q. M. (2006) The modulatory effects of the volatile oil of ginger on the cellular immune response in vitro and in vivo in mice. *J Ethnopharmacol.* 105(1-2):301-305.

Effect of Feed Supplemented With Ginger (*Zingiber Officinale*) Extract on the Growth, Biochemical and Hemato-Immunological Parameters of Rainbow Trout (*Oncorhynchus Mykiss*)

Akrami, R.* , Ahmadi, Z., Chitsaz, H., Shamloofar, M., Habibi Nodeh, F., Sadeghi-Asl, F., Zarrini, N.

Department of Fisheries, Azadshahr Branch, Islamic Azad University, Azadshahr, Iran

(Received 3 September 2017, Accepted 19 December 2017)

Abstract:

BACKGROUND: Replacement of natural materials with synthetic drugs in order to increase production and safety. **OBJECTIVE:** The purpose of this study was to investigate the effect of feed supplemented with ginger (*Zingiber officinale*) extract on the growth, biochemical and hemato-immunological parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*).

METHODS: Fish with an average body weight 14.1 ± 0.2 g were fed diet for 8 weeks with 0.5% and 1% ginger extract and with unsupplemented commercial diet as the control. Blood samples were collected from caudal vein from apparently healthy fish at the end of trial. Growth (weight gain, specific growth ratio and condition factor), hematological (RBC, WBC, Hb, Hct, monocyte, lymphocyte and neutrophil), Biochemical (glucose, total protein, triglycerides, cholesterol, albumin, AST, ALT, LDH and ALP) and immunological (lysozyme activity, ACH50, IgM, and SOD) parameters were determined. **RESULTS:** The results showed that there were no significant differences ($p > 0.05$) in growth, hematological, biochemical and metabolic enzymes between fish fed control and ginger extract supplementation. The lowest level of cortisol was observed in 0.5% ginger extract ($p < 0.05$). Lysozyme activity was significantly increased in 0.5% ginger extract fed fish ($p < 0.05$).

CONCLUSIONS: The results suggest that by using 0.5% ginger extract there will be an improvement in growth and immune function of rainbow trout.

Keyword: Ginger (*Zingiber officinale*) extract, Growth, Blood variable, Immune response, Rainbow trout

Figure Legends and Table Captions

Table 1. Average of growth performance ($M \pm SD$) of the rainbow trout after feeding with diets containing different concentrations of ginger extract.

Table 2. Average of hematological parameters ($M \pm SD$) of the rainbow trout after feeding with diets containing different concentrations of ginger extract.

Table 3. Average of serum biochemical parameters ($M \pm SD$) of the rainbow trout after feeding with diets containing different concentrations of ginger extract.

Table 4. Average of serum enzyme ($M \pm SD$) of the rainbow trout after feeding with diets containing different concentrations of ginger extract.

Table 5. Average of immunological parameters ($M \pm SD$) of the rainbow trout after feeding with diets containing different concentrations of ginger extract.



*Corresponding author's email: akrami.aqua@gmail.com, Tel: 017-35722223, Fax: 017-35724003, www.SID.ir

J. Vet. Res. 73, 2, 2018