تاثیر 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 دریافت: ۱۳۹۳/۸/۲۹ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۲/۳۰

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 عصاره‌ی 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 عصاره‌ی 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 غذادهی 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 تاثیر معنی داری بر روی شاخص های رشد (WG و SGR) ندارد ($p \geq ۰/۰۵$). از طرفی، سطوح مختلف عصاره‌ی زنجبیل می تواند به طور معنی داری تعداد گلبولهای سفید خون و هماتوکریت را افزایش دهد. همچنین فعالیت لیزوزیم سرم خون، پروتئینکل سرم و آلبومین بعد از استفاده از عصاره زنجبیل به طور معنی داری افزایش یافت ($p \geq ۰/۰۵$). بر پایه نتایج بدست آمده از این مطالعه، عصاره‌ی زنجبیل می‌تواند به عنوان محرک ایمنی در ماهی بنی مورد استفاده قرار گیرد.

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

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

۱. مقدمه

وقوع بیماری ها یک فاکتور محدود کننده در رشد و پایداری مزارع پرورش ماهی محسوب می شود. 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، آبزی‌پروران ناگزیرند در تفریخگاه‌ها و مزارع پرورشی از آنتی‌بیوتیک‌ها و مواد شیمیایی برای تحریک سیستم ایمنی و افزایش مقاومت در برابر عوامل بیماری‌زا استفاده کنند (Dügenci et al., 2003). تمایل شدید به حذف آنتی بیوتیک ها درآبزی پروری به علت هزینه بالا، تجمع دررسوبات کف استخرها و قفس ها، افزایش پتانسیل مقاومت باکتری ها در برابر آنتی بیوتیک ها ایجاد بیماری درانسان با باکتریهای مقاوم شده، مشکلات زیست محیطی، از بین بردن فلور میکروبی محیط زیست، تجمع زیستی درگوشت آبزیان و پایین آوردن کیفیت گوشت ومشکلات اجرایی تجویز دارو باعث شده است توجه به محرکهای ایمنی، به عنوان جایگزینی برای درمان آنتی بیوتیکی بیشترگردد (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 می شود. اما تعدادی از محرک های ایمنی به دلایل مختلف مانند هزینه بالا نمی توانند استفاده شوند. از این رو در بین محرکهای ایمنی متعدد محرکهای ایمنی با منشا' گیاهی ارجحیت دارند (Iwama and Nakanishi, 1996). در دهه های 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; رجحان،۱۳۸۷). گیاهان مختلفی برای این منظوراستفاده میشود که زنجبیل[1]یکی از آنها می‌باشد. زنجبیل دارای تعدادی ترکیب شیمیایی شامل ۵۰ درصد نشاسته، ۹درصد پروتئین، ۸-۶ درصد لیپید (گلیسریدها، فسفاتها، لیسیتین و اسیدهای چرب)، ۶-۲ درصد پروتئاز ها، ۳-۱ درصد روغن های فرار نظیر Shogoal, Gingerol Zingiberance, Zingiberol, ویتامین A و B_3 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 می شود (Jiang et al., 2006). محققان زیادی اثر محرک بودن زنجبیل را بر روی سیستم ایمنی ماهیان مختلف اثبات کرده اند. Tan و Vanitha (۲۰۰۴) اثرات ضد میکروبی و نیز تنظیم کنندگی سیستم ایمنی توسط زنجبیل را بررسی کرده و مشاهده نمودند که سلولهای سیستم ایمنی را تنظیم می کند.

Dugenci و همکاران (۲۰۰۳) اثر گیاه دارویی زنجبیل را به عنوان تحریک کننده سیستم ایمنی در ماهی قزل آلا 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 می باشد.

۲. مواد و روش ها

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

[1] *Zingiber officinale*

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 تاُمین اکسیژن قرار داده شد. مقادیر درجه حرارت و اکسیژن محلول در آب در طی مدت آزمایش به ترتیب ċ ۱±۲۶ و mg/l ۸-۷، 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 ۰/۰۴±۱۱/۶۵ گرم در بهار۱۳۹۱، 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 کاملا 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 کاملا با بتادین ضدعفونی و با آب شستشو داده شدند و سپس آبگیری 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 آداپتاسیون روزانه ۳ بار غذا دهی به میزان ۳ درصد وزن بدن با غذای پلیت تجاری ماهی بنی انجام گرفت. بعد از دو هفته آداپتاسیون، ماهیان با جیره های آزمایشی حاوی گیاه زنجبیل به مدت هشت هفته غذادهی شدند و در پایان آزمایش پاسخ های ایمنی ماهیان مطالعه گردید.

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 آون 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 کاملا مخلوط گردید و در روز سوم ماده ی حاصل به وسیله ی مگنت مغناطیسی با دور۱۲۰دور در دقیقه، در دمای اتاق کاملا 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 عصاره‌ی الکلی خام از قیف بوخنر استفاده شد و تمام ذرات ریز آن جدا گردید. سپس مایع بدست آمده در روتاری (۷۸۰c) قرار داده شد تا تقطیر گردد و الکل موجود در آن جدا شود. پس از تقطیر، عصاره‌ی گیاه مورد نظر در شیشه های در بسته اتوکلاو شده ریخته و به غذاهای پایه که درصدهای مختلف عطاره آن ها تعیین شده بوداضافه گردید (زرگری، ۱۳۸۴). غذای پایه، پلیت تجاری ماهی بنی بود که از شرکت ۲۱ بیضا شیراز تهیه شده بود. بعد غذاها به شکل پلت درآمده، 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 (Du et al., 2005) Ali and Al-

[۱] Weight gain

[۲] Specific Growth Rate

(Asgah, 2001) و محاسبه شدند. افزایش وزن بدن: WG=W2-W1

وزن اولیه (گرم)=W1

وزن نهایی (گرم)=W2

ضریب رشد ویژه

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

2-۵- پارامترهای ایمنی

خون گیری از ۱۲۰ماهی بوسیله سرنگ ۲/۵ سی سی آغشته به ماده ضد انعقاد هپارین از ورید ساقه دمی انجام شد. تقریبا ۱ میلی لیتر خون از ماهیان گرفته و نمونه های خون در میکروتیوپ های ۱/۵میلی 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 پلاسمای آنها جداسازی گردید.پلاسمای جداشده 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 آبزیان، 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]

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=(۰/۱ × 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 الایزا مخلوط گردید و جذب نوری نمونه ها پس از ۱ و ۶ دقیقه با استفاده از دستگاه پلیت خوان الایزا در

[۱] Total White Blood Cell
[۲] Red Blood Cell
[۳] Lysozyme activity

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 ± خطای استاندارد (Mean±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 Dunkan 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) ($P \geq ۰/۰۵$). نتایج شمارش تعداد کلی گلبول های سفید، تعداد گلبول های سفید خون تیمار ۱ درصد افزایش معنی داری را نسبت به گروه شاهد نشان داد (جدول۲) ($P \leq ۰/۰۵$). بررسی نتایج نشان داد که بین تیمار۱ درصد و سایر تیمارها از لحاظ میزان هماتوکریت اختلاف معنی داری وجود دارد و حداکثر میزان هماتوکریت در تیمار ۱ درصد مشاهده گردید ($P \leq ۰/۰۵$) (جدول ۲). با توجه به نتایج مذکور، میزان فعالیت لایزوزیم سرم در تیمارهای ۱ درصد و ۰/۵ درصد به طور معنی داری بیشتر از گروه شاهد بود ($P \leq ۰/۰۵$). حداکثر میزان لیزوزیم 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($P \leq ۰/۰۵$). 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($P \leq ۰/۰۵$) 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 عصاره‌ی زنجبیل بر روی میکروب ها، نرمتنان و حشرات، توسط محققان مختلفی بررسی شده است Wang and Nq, 2005; Aqarwal, 2001; 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; Verpoorte, 1999 به نقل از Dugenciet al.,

2003) و یک گیاه مفید برای افزایش وزن و تحریک سیستم ایمنی موجودات آبزی می‌باشد (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 بدنونرخ رشد ویژهدر تیمار ۱ درصد مشاهده گردید. Immanuel و همکاران (۲۰۰۹)، Dugenci و همکاران (۲۰۰۳)، Desouky و همکاران(۲۰۱۲)، Chang و همکاران (۲۰۱۲)، Venkataramalingam (۲۰۰۷) به ترتیب در تیلاپیا *Oreochromis mossambicus*، قزل آلای رنگین کمان *Onchorynchus mykiss*، میگوی دراز آب شیرین *Macrobrachium rosenbergii*، میگوی پاسفید غربی *Litopenaeus vannamei* و میگوی ببری سیاه*Penaeus monodon* گزارش دادند که میزان شاخص های رشد در آبزیان مورد بررسی با خوراندن زنجبیل افزایش یافته است.

جدول ۱. شاخص های افزایش وزن و نرخ رشد ویژه بچه ماهی بنی در تیمارهای مختلف (میانگین±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

جدول۲. تاثیر درصدهای مختلف عصاره‌ی زنجبیل بر پارامترهای ایمنی وخون شناسی بچه ماهی بنی (میانگین±خطای استاندارد)

پارامترهای ایمنی وخون شناسی	شاهد	۰/۱ درصد	۰/۵ درصد	۱ درصد
لایزوزیم (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 میلی‌متر 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±۱/۸	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
ائوزینوفیل (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 هرمیلی‌متر 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(فمتولیتر)	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±۱/۲۲^{b}	۳۱/۹۴±۱/۴۹^{a}	۲۷/۳۸±۱/۱۵^{c}

وجود حروف غیر همسان در هر ستون نشانه ی اختلاف معنی دار است($P \leq ۰/۰۵$).

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

شاخص	تیمار			
	شاهد	۰/۱ درصد	۰/۵ درصد	۱ درصد
پروتئین	۴/۰۱±۰/۸۳^{b}	۴/۳۸±۰/۲۰^{b}	۵/۰۹±۰/۴۵^{ab}	۶/۸۹± ۰/۵۰^{a}
آلبومین	۱/۹۶±۰/۵۶^{ab}	۱/۳۰±۰/۲۸^{b}	۲/۹۲±۰/۳۱^{a}	۳/۱۸±۰/۵۲^{a}
گلبولین	۲/۰۲±۰/۴۷	۳/۰۸±۰/۰۹	۲/۰۸±۰/۷۵	۳/۷۰±۰/۱۸
نسبت آلبومین به گلوبولین	۱/۰۵±۰/۳۷	۰/۵۳±۰/۲۱	۲/۵۷±۱/۶۲	۰/۸۶±۰/۱۵

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 گلبول های سفید خون در سطح ۱ درصد افزایش معنی داری را نشان داد ($P \leq$۰/۰۵). در تحقیق Dugenci و همکاران (۲۰۰۳)، افزایش معنی داری در تعداد گلبول های سفید خون ماهی قزل آلای رنگین کمان تغذیه شده با زنجبیل دیده شد. در این تحقیق میزان لنفوسیت، نوتروفیل، مونوسیت و ائوزینوفیل در تیمار ۱ درصد افزایش معنی داری را نشان داد ($P \leq$۰/۰۵) و میزان بازوفیل در تیمار ۰/۵ درصد قابل ملاحظه بود ($P \leq$۰/۰۵). Dugenci و همکاران (۲۰۰۳) گزارش دادند که تعداد لنفوسیت ها و نوتروفیل های ماهی قزل آلا نیز افزایش معنی داری داشته است که نتایج آن با تحقیق حاضر همخوانی دارد. ماده ی زینجرون موجود در زنجبیل، باعث تحریک ترشح گلبول های سفید شده و با افزایش تعداد گلبول های سفید، فعالیت های ایمنی را افزایش می دهد، پس می توان نتیجه گرفت، که زنجبیل ماده محرک دستگاه ایمنی می باشد (Chang et al., 2012). Desouky و همکاران (۲۰۱۲)، اثر زنجبیل بر افزایش ایمنی سلولی را در میگوی دراز آب شیرین *Macrobrachium rosenbergii* تایید کردند. بسیاری از محققان مانند Harikrishnan و همکاران (۲۰۱۲)، Talpur و Ikhwanuddin (۲۰۱۲)، اثرات داروهای گیاهی مختلف را بر تولید و افزایش تعداد کل گلبول های سفید، لنفوسیت ها و نوتروفیل ها در آبزیان گزارش کرده اند. در این تحقیق، تعداد کل گلبول های قرمز خون در تیمار ۱ درصد افزایش معنی‌داری یافت (۰/۰۵ ≥ P).همچنین میزان هماتوکریت و هموگلوبین خون افزایش چشمگیری در تیمار ۱ درصد نشان دادند ($P \leq$۰/۰۵). میزان MCV و MCH در تیمار۱ درصد و میزان MCHC در تیمار ۰/۵ درصد افزایش قابل ملاحظه ای داشت ($P \leq$۰/۰۵). این مطالعه اولین گزارش علمی در خصوص اثرات زنجبیل بر افزایش میزان و سطح گلبول های قرمز، هماتوکریت، هموگلوبین، MCV، MCH و MCHC می باشد. گیاه سیر (Talpur, 2012andIkhwanuddin) سبب افزایش میزان هموگلوبین به ترتیب در ماهی فلاندر زیتونی و سی باس آسیایی شده است. لایزوزیم یک آنزیم ضد باکتریایی است که توسط لوکوسیت ها و به خصوص مونوسیت ها، ماکروفاژها و نوتروفیل ها تولید می شود (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 باکتری ها، فعال سازی کمپلمان و افزایش فعالیت بیگانه خواری، به عنوان اپسونین، در ماهی می گردد (Sakai, 1999). در این تحقیق میزان لایزوزیم سرم خون در تیمار ۰/۵ و ۱ درصد

افزایش معنی داری نسبت به سایر تیمارها نشان داد ($P \leq ۰/۰۵$). همچنین با افزایش مقادیر لیزوزیم سرم خون، تعداد گلبول های سفید و درصد نوتروفیل توأما 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 (Kaleeswaranet al., 2011، Divyagnaneswari et al., 2007، Christybapita 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 ($P \leq ۰/۰۵$). 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)، *Nasturtium nasturtium* (Asadi et al., 2012)، *Allium sativum* (Talpur and Ikhwanuddin, 2010) بر روی آبزیان مختلف گزارش دادند که مصرف این گیاهان باعث افزایش سطح پروتئین تام پلاسما می شوند. نتایج این تحقیق نشان می دهد که تجویز خوراکی عصاره زنجبیل باعث افزایش نسبی دفاع ایمنی ماهی بنی شده که این اثر با بهبود فاکتورهای ایمنی غیر اختصاصی و پارامترهای خون شناسی نشان داده شده است.

منابع

بنایی، م.، میرواقفی، ع.، رفیعی، غ. و گومیل، آ. س. ۱۳۸۹. تاثیر تجویز خوراکی سیلی مارین بر روی فاکتورهای بیوشیمیایی خون قزل آلای 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، ۹۷صفحه.

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. 2008. Study on Some Ectoparasitic Diseases of Catfish, *Clarias gariepinus* with their Control by Ginger, *Zingiber official*. Mediterranean Aquacult. 1(1): 1-9.

Ali, A. and Al-Asgah, N.A. 2001. Effect of feeding diffeent carbohydrate to lipid ratios on the growth performance and body composition of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings. Anim.Res. 50: 91-100.

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., Mirvaghefei, 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. Alam 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 (*Oreoclromis 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-Pllitero, 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. Frankfort: TH-Books Verlagsgesellschaft, P: 652-6.

Venkataramalingam, K., Godwin, C.J. and Citarasu, T. 2007. *Zingiberofficinalis*, 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 *Science*and *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 molluscicdal 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 performancein *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) fingerlingswere 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