زیست‌شناسی جانوری، سال پانزدهم، شماره چهارم، تابستان ۱۴۰۲، صفحات ۱۶۶- ۱۵۵

مقاله پژوهشی

بررسی اثر عصاره‌ی جینسنگ (پاناکس جینسنگ) بر ساختار دیواره‌ی روده در قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*): مطالعه‌ی هیستومورفومتریک و بیوشیمیایی

علی پرچمی*، پویا پوروحید

گروه علوم پایه دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

* مسئول مکاتبات: parchami413@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۷/۲۸ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۹/۰۱

DOI: 10.22034/ascij.2023.1970952.1438

چکیده

هدف از پژوهش حاضر، ارزیابی اثر عصاره‌ی ریشه‌ی گیاه جینسنگ (پاناکس جینسنگ) بر ویژگی‌های هیستومورفومتریک و بیوشیمیایی دیواره‌ی روده در قزل‌آلای رنگین‌کمان بود. پژوهش در بازه‌ی زمانی ۶۰ روزه در ٤ تیمار آزمایشی با سه تکرار صورت گرفت. در هر تکرار، به‌صورت اتفاقی ۶۰ قطعه بچه‌ماهی با میانگین وزنی ۱۵ گرم توزیع شد. گروه‌های آزمایشی به‌ترتیب با ۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ گرم در کیلوگرم جیره، عصاره‌ی آبی جینسنگ تغذیه شدند. نمونه‌های بافتی از نواحی ابتدایی و انتهایی روده با هماتوکسیلین و ائوزین، اسید پریودیک شیف و آلسین بلو رنگ‌آمیزی شدند. نتایج نشان داد که با افزایش میزان جینسنگ تا ۱۵۰ گرم در هر ۱۰۰ کیلوگرم جیره در هر دو ناحیه‌ی ابتدایی و انتهایی روده، بلندای تاخوردگی‌های روده‌ای و سطح جذب به‌طور معنادار افزایش می‌یابد ($p < ۰/۰۵$). ضخامت لایه‌ی ماهیچه‌ای در گروه‌های دریافت‌کننده‌ی جینسنگ تفاوت آماری معناداری با گروه شاهد نشان نمی‌دهد ($p > ۰/۰۵$). شمار تام سلول‌های جامی و نیز شمار سلول‌های تولیدکننده‌ی موکوس اسیدی در بخش انتهایی روده در گروه‌های دریافت‌کننده‌ی جینسنگ در مقایسه با گروه شاهد به‌طور معنادار افزایش یافته ($p < ۰/۰۵$). اما میزان این سنجه‌ها در بخش ابتدایی روده تفاوت آماری معناداری در گروه‌های دریافت‌کننده‌ی جینسنگ با گروه شاهد نشان نمی‌دهد ($p > ۰/۰۵$). افزایش شمار تام سلول‌های جامی در گروه‌های دریافت‌کننده‌ی جینسنگ در بخش انتهایی روده به‌طور عمده به‌دلیل افزایش شمار سلول‌های جامی مولد موسین‌های اسیدی در این بخش از روده بوده و شمار سلول‌های تولیدکننده‌ی موسین‌های خنثی و مختلط تفاوت آماری معناداری در گروه‌های دریافت‌کننده‌ی جینسنگ با گروه شاهد نشان نمی‌دهند ($p > ۰/۰۵$).

کلمات کلیدی: عصاره‌ی جینسنگ، روده، قزل‌آلای رنگین‌کمان، هیستوشیمی، هیستومورفومتری.

مقدمه

تأمین نیازهای روزافزون جهان به منابع پروتئینی که صنعتی‌سازی تولید و پرورش آب‌زیان را در پی داشته، لزوم توجه بیش‌ازپیش به فرمولاسیون جیره و به‌کارگیری ترکیبات محرک رشد طبیعی با کم‌ترین میزان آثار جانبی را در راستای شتاب‌بخشیدن به رشد ایمن در این حیوانات، گریزناپذیر ساخته است. جینسنگ از گیاهان شناخته‌شده در حوزه‌های طبی گوناگون به‌شمار می‌رود. گونه‌های پرشمار این گیاه،

کارکردهای طبی و تغذیه‌ای گوناگونی در انسان و حیوانات نشان داده و در برخی حیوانات به‌عنوان محرک دستگاه ایمنی مورد استفاده قرار می‌گیرند (۱۴). بهبود کارکرد مغز، تسکین درد، پیش‌گیری از سرطان و فعال‌کردن ایمنی ضد توموری، آثار ضددیابتی، بهبود کارکرد کبد، تنظیم فشار خون، آثار ضدخستگی و ضد استرس، مهار رشد ویروس ایدز (HIV) و کارکرد ضد اکسیداسیون و ضد پیری از آثار فارماکولوژیک شناخته‌شده‌ی این گیاه به‌شمار می‌روند (۶) ریشه‌ی گیاه جینسنگ، سودمندی بسیاری در افزایش بازدهی تولید در ماهی‌ها نشان می‌دهد. افزودن این گیاه به رژیم غذایی به سازمان‌دهی فیزیولوژی بدن، سازگاری حیوان، افزایش قدرت انعطاف‌پذیری و رقابت بیولوژیکی کمک می‌کند (۱۱).

امروزه آبزی‌پروری یکی از بزرگ‌ترین و مهم‌ترین منابع تأمین پروتئین حیوانی در جهان به‌شمار رفته و صنعت آبزی‌پروری افزون بر فراهم‌آوردن اسیدهای آمینه‌ی ضروری مورد نیاز انسان، از اهمیت اقتصادی نیز برخوردار بوده و پرورش قزل‌آلای رنگین‌کمان به‌دلیل رشد سریع، سازگاری آسان با شرایط گوناگون محیطی و ارزش غذایی و اقتصادی بالا مورد استقبال جهانی قرار گرفته است. با وجود پژوهش‌های گسترده در مورد اثرات بیولوژیکی گوناگون جینسنگ بر حیوانات آزمایشگاهی، پژوهش جامعی در مورد کارکرد بیولوژیکی این گیاه در آب‌زیان از جمله قزل‌آلای رنگین‌کمان منتشر نشده است. از این‌رو در پژوهش حاضر آثار تجویز عصاره‌ی آبی ریشه‌ی گیاه جینسنگ بر ویژگی‌های هیستومورفومتریک و هیستوشیمیایی بافت روده در قزل‌آلای رنگین‌کمان مورد مطالعه قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش، ۱۸ استخر پرورش ماهی گرد بتونی به قطر ۲ متر و عمق ۱/۵ متر با جریان آب ثابت در سالن سرپوشیده، در شهر یاسوج، استان فارس، انتخاب شدند. استخرها به چهار گروه سه‌تایی (یک گروه شاهد و سه گروه تیمار) تقسیم و شماره‌گذاری شدند.

میزان اکسیژن محلول و pH آب با کیت‌های اکسیژن‌سنج و pHسنج شرکت کاریزاب (تهران، ایران) و دمای آب با استفاده از دماسنج جیوه‌ای اندازه‌گیری می‌شد. آب ورودی به استخرها به‌وسیله‌ی یک تشت بزرگ مدرج به‌مدت یک دقیقه جمع‌آوری می‌شد تا مقدار آن برای تعیین شمار مناسب ماهی‌ها در استخرها بر حسب لیتر در دقیقه محاسبه گردد. ماهی‌ها از همان مزرعه‌ی پرورش ماهی که آزمایش در آن انجام می‌گرفت (شهر یاسوج، استان فارس)، فراهم شدند.

گروه‌های آزمایش هر یک شامل ۱۵ قطعه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با وزن میانگین ۵ ± ۱۵ گرم و درمجموع ۱۸۰ قطعه در سه تکرار مورد آزمایش قرار گرفته و شامل تیمارهای زیر بودند:

تیمار اول: کنترل (جیره‌ی پایه‌ی تجاری بدون جینسنگ)

تیمار دوم: جیره‌ی پایه + ۰/۱ درصد جینسنگ (۱۰۰ گرم در هر ۱۰۰ کیلوگرم جیره)

تیمار سوم: جیره‌ی پایه + ۰/۱۵ درصد جینسنگ (۱۵۰ گرم در هر ۱۰۰ کیلوگرم جیره)

تیمار چهارم: جیره‌ی پایه + ۰/۲ درصد جینسنگ (۲۰۰ گرم در هر ۱۰۰ کیلوگرم جیره)

جیره‌ی پایه برای تمام گروه‌ها یکسان در نظر گرفته شده و ماهی‌ها تا پایان دوره با جیره‌ی تجاری GFT2 (پروتئین: ۳۶درصد، چربی خام: ۱۸درصد، خاکستر: ۱۰درصد، فیبر: ٤درصد، فسفر: ۱درصد و رطوبت:

۱۱درصد) بر اساس پیش‌نهاد شرکت سازنده، تغذیه می‌شدند. در این پژوهش، مقادیر مورد نظر از عصاره‌ی ریشه‌ی گیاه جینسنگ در روغن مایع آفتاب‌گردان (۳۰ میلی‌لیتر به‌ازای هر کیلوگرم غذا) مخلوط و به‌صورت یک‌نواخت روی پلت‌ها اسپری می‌شد. برای یک‌نواختی شرایط آزمایش، روغن آفتاب‌گردان به پلت‌های مورد تغذیه‌ی گروه کنترل (تیمار اول) نیز اضافه می‌شد تا تأثیر روغن در هر گروه، یک‌سان اعمال گردد. غذادهی در ۳ نوبت (۹ صبح و ۱۳ و ۱۷ عصر) به‌صورت دستی (برای پرهیز از دورریز غذا و انباشت مقادیر اضافی در ته استخر) انجام می‌گرفت. کپسول‌های جینسنگ هر یک حاوی ۱۰۰ میلی‌گرم عصاره‌ی ریشه‌ی جینسنگ حاوی جینسنوزیدها از شرکت داروسازی باریج اسانس کاشان تهیه شدند.

در پایان، ماهی‌ها با گل میخک (با غلظت ۲۵۰ ppm) (۱) بیهوش شده و در آزمایشگاه بافت‌شناسی، محوطه‌ی سینه‌ای‌شکمی ماهی‌ها باز شده و روده با تشریح دقیق بافتی از بدن خارج می‌شد. از نواحی مشابه از بخش‌های ابتدایی و انتهایی روده قطعات بافتی به ابعاد ۱×۱ سانتی‌متر جدا شده، با محلول سالین شسته شده و به مدت ۱۲ ساعت در محلول تثبیت‌کننده‌ی بوئن غوطه‌ور می‌شد. پس از اطمینان از تثبیت کامل، قالب‌های پارافینی از نمونه‌ها تهیه و از هر نمونه ۳۰ اسلاید بافتی (n=۱۰) با رنگ‌آمیزی‌های هماتوکسیلین و ائوزین (H&E) جهت ثبت ویژگی‌های عمومی بافتی و ثبت سنجه‌های مورفومتریک لایه‌های تشکیل‌دهنده‌ی دیواره‌ی روده، اسید پریودیک شیف (PAS) و آلسین بلو (AB, pH = ۲/۵) جهت مطالعه‌ی ویژگی‌های هیستوشیمیایی سلول‌های جامی رنگ‌آمیزی می‌شدند. .از هر اسلاید بافتی با استفاده از میکروسکوپ نوری Olympus BX53 مجهز به دوربین Olympus DP73 عکس گرفته شده و با استفاده از نرم افزار Image Pro-Plus® در ده ناحیه‌ی جداگانه از هر اسلاید بافتی سنجه‌های زیر مورد اندازه‌گیری قرار گرفته و میانگین یافته‌ها ثبت می‌شد: بلندای تاخوردگی‌های روده‌ای از قاعده تا رأس هر تاخوردگی، پهنای تاخوردگی‌ها در دو ناحیه‌ی نزدیک به قاعده و نزدیک به رأس تاخوردگی (و ثبت میانگین سنجه) و ضخامت لایه‌ی ماهیچه‌ای از لایه ماهیچه‌ای درونی تا لایه‌ی ماهیچه‌ای بیرونی. سطح جذب روده بر اساس فرمول زیر مورد محاسبه قرار می‌گرفت (۱۷):

سطح جذب = (پهنای تاخوردگی × بلندای تاخوردگی) / (پهنای تاخوردگی / ۲)^{۲}

میانگین شمار سلول‌های جامی تولیدکننده‌ی موسین خنثی، میانگین شمار سلول‌های تولیدکننده‌ی موسین اسیدی و میانگین شمار سلول‌های تولیدکننده‌ی هر دو نوع موسین (مختلط) در سرتاسر میدان میکروسکوپی مورد مطالعه در ۱۰ ناحیه‌ی مجزای بافتی شمارش شده و میانگین شمار کل سلول‌های جامی با محاسبه‌ی مجموع این سه نوع سلول محاسبه و ثبت می‌شد.

یافته‌ها در گروه‌های مختلف با استفاده از آزمون تحلیل واریانس دوطرفه با استفاده از نرم‌افزار SPSS تحلیل و با هم مقایسه شدند. مقادیر به‌صورت میانگین ± خطای انحراف معیار (SEM) ثبت شده و سطح معنادار آماری $p < ۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.

نتایج

نتایج حاصل از مطالعه‌ی مورفولوژیکی دیواره‌ی روده در پژوهش حاضر نشان داد که دیواره‌ی روده در قزل‌آلای رنگین‌کمان در هر دو ناحیه‌ی ابتدایی و انتهایی این اندام از چهار لایه‌ی بافتی تشکیل شده است که عبارت‌اند از: لایه‌ی مخاطی، لایه‌ی زیرمخاطی، لایه‌ی ماهیچه‌ای و لایه‌ی سروزی. لایه‌ی مخاطی از اپیتلیوم استوانه‌ای ساده با لبه‌ی مسواکی

برخوردار است که سلول‌های جامی به‌طور پراکنده در آن یافت می‌شوند. تاخوردگی‌های روده‌ای با بلندا و پهنای مختلف با به درون کشیده شدن لایه‌های مخاطی و زیرمخاطی شکل گرفته‌اند. سلول‌های جامی به‌طور پراکنده در اپیتلیوم لایه‌ی مخاطی یافت می‌شوند. لایه‌ی زیرمخاطی که از بافت پیوندی ساخته شده نازک بوده و در سرتاسر طول تاخوردگی‌های روده‌ای امتداد می‌یابد. لایه‌ی ماهیچه‌ای، خود از یک لایه‌ی حلقوی داخلی و یک لایه‌ی طولی خارجی تشکیل شده است. لایه‌ی سروزی از بافت پیوندی سست تشکیل شده و در برخی نواحی، سلول‌های چربی به‌طور پراکنده در این لایه یافت می‌شوند. در هیچ‌یک از گروه‌های مورد مطالعه هیچ ضایعه‌ی بیمارگونه‌ی ویژه‌ای هم‌چون کوتاه‌شدگی غیرطبیعی پرزهای روده‌ای، ارتشاح سلول‌های التهابی، نکروز و التهاب در هیچ‌یک از لایه‌های مورد مطالعه در نواحی مورد مطالعه در روده مشاهده نشد.

یافته‌های حاصل از بررسی اثر عصاره‌ی جینسنگ بر مورفومتری دیواره‌ی روده در جدول ۱ ارائه شده‌اند. نتایج پژوهش حاضر نشان می‌دهند که با افزایش میزان جینسنگ در جیره تا ۱۵۰ گرم در هر ۱۰۰ کیلوگرم جیره، میانگین بلندای تاخوردگی‌های روده‌ای و سطح جذب در هر دو بخش ابتدایی و انتهایی اندام به‌طور معناداری افزایش می‌یابد ($p < ۰/۰۵$). اما میزان این سنجه‌ها در تیمارهای سوم و چهارم اختلاف آماری معناداری نشان نمی‌دهد ($p > ۰/۰۵$). نتایج پژوهش حاضر هم‌چنین نشان می‌دهند که پهنای تاخوردگی‌های روده‌ای در هر دو ناحیه‌ی ابتدایی و انتهایی اندام در هیچ‌یک از گروه‌های دریافت‌کننده‌ی جینسنگ تفاوت آماری معناداری با گروه شاهد نشان نمی‌دهد ($p > ۰/۰۵$). به بیان دیگر جینسنگ تا میزان ۱۵۰ گرم در ۱۰۰ کیلوگرم جیره، نقش محرک رشد بر سطح جذب پرزهای روده‌ای نشان می‌دهد که این نقش محرک به‌طور عمده با اثرگذاری بر بلندای پرزها اعمال می‌شود. در پژوهش حاضر هم‌چنین آشکار شد که اثرپذیری سلول‌های جامی از افزودن جینسنگ به جیره‌ی غذایی در نواحی ابتدایی و انتهایی روده از الگوی مشابهی پیروی نکرده و میانگین شمار تام سلول‌های جامی در بخش انتهایی روده در گروه‌های دریافت‌کننده‌ی جینسنگ با افزودن این ترکیب به جیره‌ی غذایی در مقایسه با گروه کنترل به‌طور معنادار افزایش یافت ($p < ۰/۰۵$) اما میانگین میزان این سنجه در بخش ابتدایی روده تفاوت آماری معناداری در گروه‌های دریافت‌کننده‌ی جینسنگ با گروه کنترل نشان نمی‌دهد ($p > ۰/۰۵$).

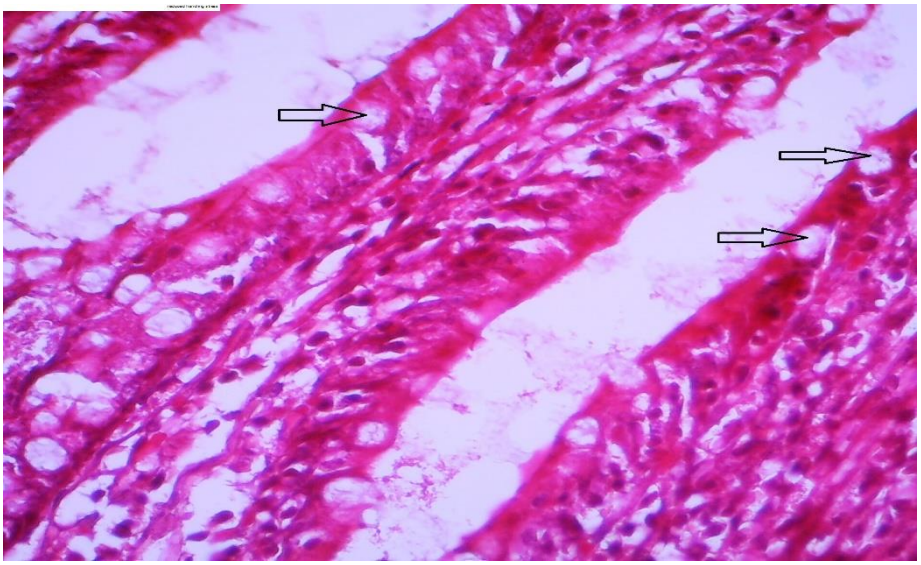
نتایج پژوهش حاضر هم‌چنین نشان می‌دهند که افزایش میانگین شمار تام سلول‌های جامی در گروه‌های دریافت‌کننده‌ی جینسنگ در بخش انتهایی روده به‌طور عمده به‌دلیل افزایش شمار سلول‌های جامی مولد موسین‌های اسیدی در این بخش از روده بوده و شمار سلول‌های تولیدکننده‌ی موسین‌های بازی و مختلط تفاوت آماری معناداری در گروه‌های دریافت‌کننده‌ی جینسنگ با گروه کنترل نشان نمی‌دهند ($p >۰/۰۵$).

جدول ۱- اثر عصاره‌ی جینسنگ بر مورفومتری روده در قزل‌آلای رنگین‌کمان

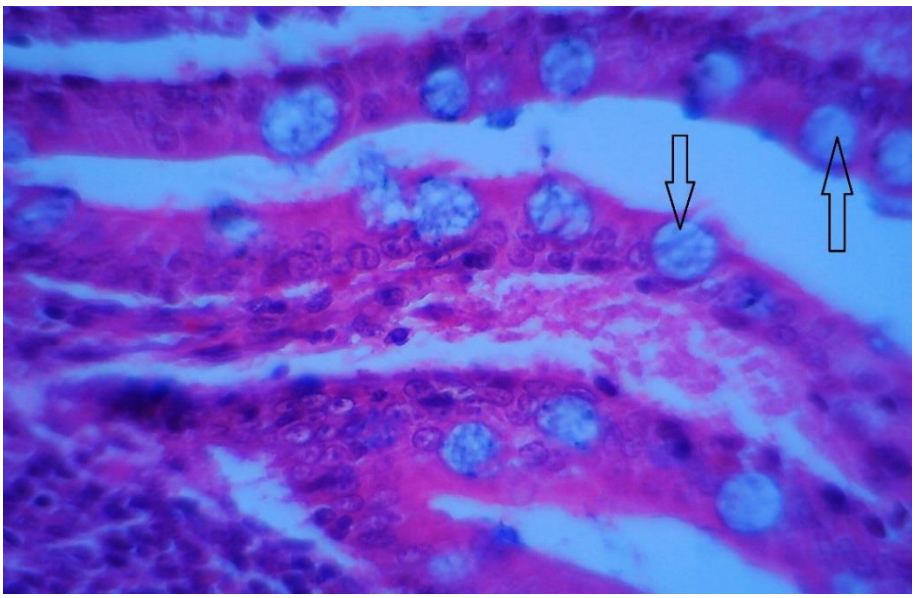
متغیرها/ گروه‌ها	نواحی	تیمار اول	تیمار دوم	تیمار سوم	تیمار چهارم
بلندای تاخوردگی‌ها	بخش ابتدایی	۱۱۱۰/۱۲±۲۲/۱۶^{a}	۱۳۴۰/۳۲±۳۸/۲۲^{a}	۱۴۱۷/۸۶±۲۴/۸۴^{a}	۱۴۲۲/۶۰±۴۲/۴۶
(میکرومتر)	بخش انتهایی	۱۰۳۰/۶۴±۳۶/۱۲^{b}	۱۲۷۸/۹۰±۲۳/۰۸^{b}	۱۳۶۰/۶۶±۲۰/۱۲^{b}	۱۳۹۰/۳۳±۲۸/۱۶
پهنای تاخوردگی‌ها	بخش ابتدایی	۴۸۸/۷۷±۱۸/۹۰	۵۱۰/۵۴±۲۶/۴۲	۵۰۲/۱۷±۳۰/۱۲	۵۱۶/۴۰±۲۸/۱۴
(میکرومتر)	بخش انتهایی	۴۵۰/۳۶±۳۶/۴۲	۴۹۰/۸۸±۲۸/۸۰	۴۹۸/۶۸±۳۶/۵۶	۵۳۲/۲۰±۳۰/۱۸
سطح جذب	بخش ابتدایی	۹/۰۸±۰/۱۱^{c}	۱۰/۵۰±۰/۱۸^{c}	۱۱/۲۹±۰/۰۸^{c}	۱۱/۰۱±۰/۱۳
(میکرومتر مربع)	بخش انتهایی	۹/۱۵±۰/۱۰^{d}	۱۰/۴۲±۰/۱۰^{d}	۱۰/۹۱±۰/۱۲^{d}	۱۰/۴۴±۰/۱۱
ضخامت لایه‌ی	بخش ابتدایی	۴۸/۱۲±۴/۸۸	۵۴/۴۶±۶/۱۴	۵۲/۸۸±۸/۲۴	۶۴/۶۶±۱۲/۴۸
ماهیچه‌ای (میکرومتر)	بخش انتهایی	۴۰/۹۸±۲/۴۶	۴۶/۲۸±۶/۱۶	۵۰/۶۴±۹/۴۸	۶۰/۵۵±۸/۲۶
شمار تام سلول‌های	بخش ابتدایی	۵۰/۴۲±۴/۱۲	۵۸/۲۸±۶/۴۶	۴۸/۳۶±۷/۲۲	۶۴/۴۶±۸/۹۰
جامی در میکرومتر	بخش انتهایی	۴۷/۸۸±۶/۴۶^{e}	۶۸/۴۰±۵/۱۸^{e}	۱۰۲/۴۰±۴/۴۸^{e}	۱۳۸/۱۶±۸/۴۸
شمار سلول‌های جامی	بخش ابتدایی	۴۳/۸۶±۳/۵۸	۴۸/۶۶±۴/۱۲	۴۰/۹۲±۵/۳۲	۵۵/۲۰±۷/۴۲
مختلط (در میکرومتر)	بخش انتهایی	۳۸/۷۸±۱۲/۱۸	۵۰/۶۲±۸/۳۶	۶۰/۶۶±۱۲/۸۸	۸۶/۶۰±۲۸/۰
شمار سلول‌های جامی	بخش ابتدایی	۴/۰۳±۰/۹۲	۴/۲۲±۱/۰۲	۳/۸۶±۰/۶۲	۵/۰۶±۰/۹۸
خنثی (در میکرومتر)	بخش انتهایی	۵/۲۶±۲/۸۹	۶/۶۶±۲/۲۴	۸/۴۴±۲/۴۴	۱۰/۱۲±۴/۴۶
شمار سلول‌های جامی	بخش ابتدایی	۲/۵۲±۱/۲۰	۵/۴۰±۲/۲۰	۳/۵۸±۱/۹۶	۴/۲۰±۲/۱۰
اسیدی در میکرومتر	بخش انتهایی	۳/۸۳±۱/۵۰^{f}	۱۱/۱۲±۴/۶۶^{f}	۳۳/۳۰±۶/۸۲^{f}	۴۱/۴۴±۱۴/۶۶

حروف مشابه در هر ردیف، نشان‌دهنده‌ی وجود اختلاف آماری معنادار در تیمارهای مورد مطالعه است ($p < ۰/۰۵$).

شکل ۱- ساختار دیواره‌ی روده در قزل‌آلای رنگین‌کمان. .I.f: تاخوردگی روده‌ای؛ .L.p: لایه‌ی پارین؛ .T.m: لایه‌ی ماهیچه‌ای؛ .T.s: لایه‌ی سروزی، رنگ‌آمیزی PAS. بزرگنمایی ۱۰×



شکل ۲- ساختار دیواره‌ی تاخوردگی‌های دیواره‌ی روده در قزل‌آلای رنگین‌کمان. پیکان‌ها سلول‌های جامی را نشان می‌دهند که به‌طور پراکنده در لایه‌ی اپیتلیومی مخاط یافت می‌شوند. رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین. بزرگنمایی ۴۰×



شکل ۲- ساختار دیواره‌ی تاخوردگی دیواره‌ی روده در قزل‌آلای رنگین‌کمان. پیکان‌ها سلول‌های جامی حاوی گرانول‌های موسین‌دار را نشان می‌دهند. رنگ‌آمیزی آلسین بلو. بزرگنمایی ۱۰۰×

بحث

انسان از دیرباز کوشیده است تا تولیدات حیوانی را هم‌راستا با افزایش روزافزون نیاز جمعیت فزاینده‌ی خود به منابع پروتئینی افزایش دهد. در این راستا گرایش به ترکیبات محرک رشد ایمن هم‌چون ویتامین‌ها، شتاب‌دهنده‌های رشد زیستی، پروبیوتیک‌ها، گیاهان معطر طبی، اسیدهای لیپویید و ... که رشد حیوان را با شتاب‌بخشیدن به رشد ماهیچه‌ای یا تحریک غدد تولیدکننده‌ی هورمون‌های محرک رشد، بهبود بخشیده و جای‌گزین آنتی‌بیوتیک‌ها، هورمون‌ها و دیگر ترکیبات تهدیدکننده‌ی سلامت عمومی باشند آشکارا فزونی یافته است (۱۲,۱۳,۱۷,۱۸).

جینسنگ از گیاهان شناخته‌شده‌ای است که با کارکردهای طبی و تغذیه‌ای گوناگون در حوزه‌های

گوناگون علوم زیستی در انسان و حیوانات به‌عنوان محرک رشد و محرک دستگاه ایمنی بدن به‌گستردگی مورد استفاده قرار گرفته (۱۴) و آثار زیستی گوناگونی هم‌چون افزایش اشتها، سوخت و ساز بدن و رشد ماهیچه‌ای، بهبود کارکرد دستگاه ایمنی، بهبود سازگاری حیوان با محیط و افزایش استقامت و رقابت‌پذیری زیستی را در حیوانات سبب می‌شود (۱۱).

سنجه‌هایی که در پژوهش‌های مورفومتریک بافت روده‌ای در ارتباط با تغییرات جیره‌ی غذایی در ارزیابی کارآیی و سلامت روده مورد استناد قرار می‌گیرند عبارت‌اند از: طول و عرض تاخوردگی‌های روده‌ای، سطح جذب، تغییرات موقعیت هسته‌ی سلول‌ها، ارتشاح درون‌اپیتلیومی لنفوسیت‌ها، تغییرات کیفی در ترشح موکوس و میزان واکوئله‌شدن انتروسیت‌ها (۱۹).

نتایج حاصل از مطالعه‌ی مورفولوژیکی دیواره‌ی روده در پژوهش حاضر نشان داد که دیواره‌ی روده در قزل‌آلای رنگین‌کمان در هر دو ناحیه‌ی ابتدایی و انتهایی این اندام از چهار لایه‌ی بافتی تشکیل شده است که عبارت‌اند از: لایه‌ی مخاطی، لایه‌ی زیرمخاطی، لایه‌ی ماهیچه‌ای و لایه‌ی سروزی. لایه‌ی مخاطی از اپیتلیوم استوانه‌ای ساده برخوردار است که سلول‌های جامی به‌طور پراکنده در آن یافت می‌شوند. تاخوردگی‌های روده‌ای با بلندا و پهنای مختلف با به‌درون‌کشیده‌شدن لایه‌های مخاطی و زیرمخاطی شکل گرفته‌اند. سلول‌های جامی با رنگ‌پذیری ناچیز به‌طور پراکنده در اپیتلیوم لایه‌ی مخاطی یافت می‌شوند. لایه‌ی زیرمخاطی که از بافت پیوندی ساخته شده نازک بوده و در سرتاسر طول تاخوردگی‌های روده‌ای امتداد می‌یابد. لایه‌ی ماهیچه‌ای، خود از یک لایه‌ی حلقوی داخلی و یک لایه‌ی طولی خارجی تشکیل شده است. لایه‌ی سروزی از بافت پیوندی سست تشکیل شده و در برخی نواحی، سلول‌های چربی به‌طور پراکنده در این لایه یافت می‌شوند. در هیچ‌یک از گروه‌های مورد مطالعه هیچ ضایعه‌ی بیمارگونه‌ی ویژه‌ای هم‌چون کوتاه‌شدگی غیرطبیعی پرزهای روده‌ای، ارتشاح سلول‌های التهابی، نکروز، التهاب و ... در هیچ‌یک از لایه‌های مورد مطالعه در نواحی مورد مطالعه در روده مشاهده نشد. این یافته‌ها نشان می‌دهد که افزودن عصاره‌ی گیاه جینسنگ به جیره‌ی غذایی در ماهی قزل‌آلا تا میزان ۲۰۰ گرم در هر ۱۰۰ کیلوگرم جیره فاقد آثار زیان‌بار بر ویژگی‌های بافتی بخش‌های ابتدایی و انتهایی روده است.

یافته‌های حاصل از بررسی اثر عصاره‌ی جینسنگ بر مورفومتری دیواره‌ی روده در جدول ۱ ارائه شده‌اند. نتایج پژوهش حاضر نشان می‌دهند که با افزایش میزان جینسنگ در جیره تا ۱۵۰ گرم در هر ۱۰۰ کیلوگرم جیره، میانگین بلندای تاخوردگی‌های روده‌ای و سطح جذب در هر دو بخش ابتدایی و انتهایی اندام به‌طور معناداری افزایش می‌یابد ($p < ۰/۰۵$) اما میزان این سنجه‌ها در تیمارهای سوم و چهارم اختلاف آماری معناداری نشان نمی‌دهد ($p < ۰/۰۵$). نتایج پژوهش حاضر هم‌چنین نشان می‌دهند که پهنای تاخوردگی‌های روده‌ای در هر دو ناحیه‌ی ابتدایی و انتهایی اندام در هیچ‌یک از گروه‌های دریافت‌کننده‌ی جینسنگ تفاوت آماری معناداری با گروه شاهد نشان نمی‌دهد ($p < ۰/۰۵$). به بیان دیگر جینسنگ تا میزان ۱۵۰ گرم در ۱۰۰ کیلوگرم جیره، نقش محرک رشد بر سطح جذب پرزهای روده‌ای نشان می‌دهد که این نقش محرک به‌طور عمده با اثرگذاری بر بلندای پرزها اعمال می‌شود. در پژوهش‌های گوناگون، اثربخشی مستقیم جینسنگ بر بافت روده‌ای مورد مطالعه قرار گرفته است. در پژوهشی که به‌منظور بررسی آثار جینسنگ بر بافت روده انجام شد آشکار شد که

جینسنگ برزیلی افزون بر آثار محرک ایمنی، نقش ضدالتهابی بر بافت روده‌ای داشته و سبب کاهش غلظت کولونی اینترلوکین بتا، اینترفرون گاما و استرس اکسیداتیو در التهاب روده‌ای می‌شود (۸). پژوهش‌ها هم‌چنین نشان داده‌اند که پلی‌ساکاریدهای جینسنگ در موش‌ها به ترمیم ضایعات مخاطی کمک می‌کنند (۱۹). پلی‌ساکاریدهای جینسنگ هم‌چنین سبب بهبود سوخت و ساز روده‌ای شده و در تنظیم فلور میکروبی روده و به‌ویژه رشد گونه‌های لاکتوباسیلوس و باکتروییدها (دو گونه‌ی عمده‌ی باکتری‌هایی که جینسنوزیدها را متابولیزه می‌کنند) نقش دارند (۲۳,۲۵). پاناکس جینسنگ هم‌چنین آثار درمانی بر شماری از بیماری‌های دستگاه گوارش نظیر التهاب تخریشی کولون و سرطان روده نشان می‌دهد (۲۰). در پژوهشی که به‌منظور بررسی آثار افزودن جینسنگ به جیره‌ی غذایی ماهی تیلاپیا انجام گرفت آشکار شد که جینسنگ سبب افزایش چشم‌گیر در وزن‌گیری و افزایش کارآیی دستگاه ایمنی می‌شود. سازوکار بهبوددهندگی رشد جینسنگ در ماهی تیلاپیا به نقش ترکیبات موجود در این گیاه در مهار شکل‌گیری کلونی به‌وسیله‌ی عوامل بیماری‌زای بالقوه در دستگاه گوارش، افزایش شمار ریزسازواره‌های مفید، افزایش تعادل میکروبی روده و درنتیجه‌ی آن افزایش میزان گوارش‌پذیری و جذب مواد غذایی در روده نسبت داده شده است (۲). نقش تحریکی جینسنگ بر بلندای تاخوردگی‌های روده‌ای و سطح جذب در پژوهش حاضر را هم‌راستا با این پژوهش‌ها می‌توان به‌دلیل نقش محرک این گیاه بر شاخصه‌های مرتبط با رشد عمومی بدن مرتبط دانست که نیاز به جذب ترکیبات مغذی بیش‌تر از طریق افزایش سطح جذب در تاخوردگی‌های روده‌ای را گریزناپذیر می‌کند.

نتایج پژوهش حاضر هم‌چنین نشان می‌دهند که درتیمار کنترل، میانگین شمار تام سلول‌های جامی و میانگین شمار انواع این سلول‌ها در نواحی ابتدایی و انتهایی روده تفاوت آماری معناداری نشان نمی‌دهد ($p < ۰/۰۵$). عدم وجود اختلاف آماری معنادار در میانگین شمار تام سلول‌های جامی در بخش ابتدایی روده نسبت به بخش انتهایی این اندام در پژوهش حاضر با یافته‌های دیگر پژوهش‌گران در ماهی‌ها هم‌خوانی دارد (۷,۱۵).

در پژوهش حاضر هم‌چنین آشکار شد که اثرپذیری سلول‌های جامی از افزودن جینسنگ به جیره‌ی غذایی در نواحی ابتدایی و انتهایی روده از الگوی مشابهی پیروی نکرده و میانگین شمار تام سلول‌های جامی در بخش انتهایی روده در گروه‌های دریافت‌کننده‌ی جینسنگ با افزودن این ترکیب به جیره‌ی غذایی در مقایسه با گروه کنترل به‌طور معنادار افزایش یافته ($p < ۰/۰۵$) اما میانگین میزان این سنجه در بخش ابتدایی روده تفاوت آماری معناداری در گروه‌های دریافت‌کننده‌ی جینسنگ با گروه کنترل نشان نمی‌دهد ($p < ۰/۰۵$). سلول‌های جامی که در روده‌ی کوچک و روده‌ی بزرگ به‌فراوانی یافت می‌شوند موسین ترشح می‌کنند که از یک هسته‌ی مرکزی پپتیدی با زنجیره‌های پلی‌ساکاریدی متصل به آن برخوردار است. گلیکوپروتئین‌های موسین و آب، لایه‌ای موکوسی تشکیل می‌دهند که به‌عنوان مانعی فیزیکی از سلول‌های اپیتلیومی در برابر عوامل بیماری‌زا و آسیب مکانیکی حفاظت می‌کند. سلول‌های جامی هم‌چنین می‌توانند پادگن‌های محلول را از حفره‌ی داخلی روده جذب کرده و به سلول‌های دندریتی زیراپیتلیومی انتقال دهند (۲۱). به‌این‌ترتیب سلول‌های جامی در به‌دام‌انداختن پادگن‌ها و ارائه‌ی آن‌ها به سلول‌های ایمنی زیرین نیز که پیش‌تر به کارکرد سلول‌های M منحصر دانسته می‌شد نقش دارند. نبود لایه‌ی موکوسی یا اختلال در تولید آن سبب می‌شود شمار زیاد باکتری‌های موجود در روده با سلول‌های

اپیتلیومی تماس یافته و واکنش‌های ایمنی شدیدی را در میزبان سبب شوند. ترشحات سلول‌های جامی یا همان موسین‌های روده‌ای نقشی حیاتی در کارکردهای حفاظتی سلولی در برابر جراحات مکانیکی، کلونیزه‌شدن باکتری‌های بیماری‌زا و سموم آن‌ها، پروتئازهای موجود در حفره‌ی داخلی روده و عوامل بالقوه‌ی سرطان‌زا ایفا می‌کنند (۲۶). پژوهش‌ها هم‌چنین نشان داده‌اند که تراکم سلول‌های جامی از سازه‌های گوناگونی هم‌چون تغذیه، فیزیولوژی و کارکرد دستگاه ایمنی حیوان اثر می‌پذیرد (۴,۱۶). با توجه به تعدد کارکردهای سلول جامی در روده‌ی کوچک، نقش محرک جینسنگ بر میانگین شمار تام سلول‌های جامی در بخش انتهایی روده در پژوهش حاضر را می‌توان به نقش محرک این ترکیب بر سنجه‌های مورفومتریک روده و نقش محرک این ترکیب بر رشد بافت‌های گوناگون دستگاه گوارش نسبت داد چرا که هم‌راستا با افزایش بلندا و سطح جذب پرزها، به سلول‌های موکوسی بیش‌تری جهت انجام کارکردهای فیزیولوژیکی مهم این سلول‌ها (هم‌چون روان‌سازی محتویات گوارشی، حفاظت از سلول‌های اپیتلیومی در برابر عوامل بیماری‌زا و آسیب مکانیکی، جذب پادگن‌های محلول و ارائه‌ی آن‌ها به سلول‌های مجری دستگاه ایمنی و ...) نیاز است. در بیش‌تر گونه‌های ماهی‌ها ازآن‌جمله در آزادماهیان بخش دیستال روده جایگاه اصلی در جذب ماکروملکول‌ها به‌شمار می‌رود و جذب این ترکیبات در بخش دیستال روده به‌مراتب بیش‌تر از بخش ابتدایی این اندام صورت می‌گیرد (۲۲). از سوی دیگر اگرچه سلول‌های جامی نقش ترشحی مشترکی دارند شواهد نشان می‌دهند که سلول‌های موجود در بخش‌های گوناگون روده از اثرپذیری متفاوتی نسبت به محرک‌های گوناگون برخوردار بوده و نقش‌های متفاوتی در ایجاد هومئوستاز روده‌ای ایفا می‌کنند (۳).

نتایج این پژوهش با یافته‌های پژوهش حاضر درخصوص اثرپذیری متفاوت سلول‌های جامی در بخش‌های ابتدایی و انتهایی روده از تجویز جینسنگ هم‌خوانی دارد. این تفاوت را می‌توان به تفاوت در ویژگی‌های فیزیولوژیکی و از آن‌جمله ویژگی‌های جذبی در نواحی گوناگون این اندام نسبت داد. افزایش تدریجی شمار سلول‌های جامی از بخش ابتدایی روده به‌سمت بخش انتهایی اندام در شماری از گونه‌های ماهی با عادات تغذیه‌ای گوناگون از جمله در سیچلایدها نیز گزارش شده است (۲۴، ۵).

نتایج پژوهش حاضر هم‌چنین نشان می‌دهند که افزایش میانگین شمار تام سلول‌های جامی در گروه‌های دریافت‌کننده‌ی جینسنگ در بخش انتهایی روده به‌طور عمده به‌دلیل افزایش شمار سلول‌های جامی مولد موسین‌های اسیدی در این بخش از روده بوده و شمار سلول‌های تولیدکننده‌ی موسین‌های بازی و مختلط تفاوت آماری معناداری در گروه‌های دریافت‌کننده‌ی جینسنگ با گروه کنترل نشان نمی‌دهند. از آن‌جایی که موسین‌های اسیدی نسبت به تجزیه‌شدن به‌وسیله‌ی گلیکوزیدازهای باکتریایی و پروتئازهای میزبان مقاوم‌تر بوده و چسبندگی و اسیدیته‌ی بیش‌تری درمقایسه با موسین‌های خنثی نشان می‌دهند به‌همین‌سبب وظیفه‌ی اصلی این نوع موسین مقاومت در برابر تهاجم ریزسازواره‌ها بوده و همین ویژگی، فراوانی بیش‌تر این نوع موسین را در روده‌ی بزرگ نیز توجیه می‌کند (۹) پژوهش‌ها هم‌چنین نشان داده‌اند که کلونیزاسیون باکتریایی سبب فزونی‌یافتن نسبت موسین‌های اسیدی به موسین‌های خنثی می‌شود که ناشی از تحریک ترشح این نوع موسین و نیز تجزیه‌ی انتخابی اجزای موسینی خنثی به‌وسیله‌ی باکتری‌هاست (۱۰) بنابراین اثرپذیری بیش‌تر سلول‌های تولیدکننده‌ی موکوس اسیدی از تجویز جینسنگ در پژوهش حاضر را نیز می‌توان به

نقش حفاظتی بیش‌تر این ترکیب در برابر عوامل مهاجم در مقایسه با موسین‌های مختلط و بازی نسبت داد.

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش در مجموع نشان می‌دهند که افزودن جینسنگ تا میزان ۱۵۰ گرم در ۱۰۰ کیلوگرم جیره به جیره‌ی غذایی در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بدون ایجاد آثار زیان‌بار بر ویژگی‌های هیستومورفومتریک و هیستوشیمیایی بافت روده سبب افزایش طول و سطح جذب پرزهای روده‌ای در نواحی ابتدایی و انتهایی اندام و افزایش شمار تام سلول‌های جامی در بخش دیستال اندام می‌شود که این افزایش به‌طور عمده ناشی از افزایش شمار سلول‌های جامی مولد موسین‌های اسیدی است.

منابع

1. Akhlaghi M., Brojerdi M. 1999. Anesthetic effect of Clove tree and LC_{50} determination in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Veterinary Research*, 54(2):49-52. [In Persian].

2. Ashraf M.A., Goda S. 2008. Effect of Dietary Ginseng Herb (Ginsana_G115) Supplementation on Growth, Feed Utilization, and Hematological Indices of Nile Tilapia, Oreochromisniloticus (L.), Fingerlings, *Journal of the World Aquaculture Society*, 39(2):134-137.

3. Birchenough G.M.H., Johansson M.E.V., Gustafsson J.K., Bergstro J.H., Hansson G.C. 2015. New developments in goblet cell mucus secretion and function, *Mucosal Immunology*, 8:712-719.

4. Bosi G., Arrighi S., di Giancamillo A., Domeneghini C. 2005. Histochemistry of glycoconjugates in mucous cellsof Salmo trutta uninfected and naturally parasitized with intestinal helminths. *Diseases of aquatic organisms*, 64:45-51.

5. Chirde S.G., Gadhikar Y. 2014. Histology A. histochemical and ultrastructural studies on intestine of Indian catfish, *Clarius batrachus* (Linn 1758). *Asian Journal of Biology and Bio-technology*, 3(1):1-9.

6. Choi K. 2008. Botanical characteristics, pharmacological effects and medicinal components of Korean Panax ginseng C A Meyer. *Acta Pharmacologica Sinica*, 29(9): 1109-1118.

7. Çinar K., Senol N. 2006. Histological and histochemical characterization of the mucosa of the digestive tract in flower fish (*Pseudophoxinus antalyae*). *Anatomia, Histologia, Embryologia*, 35:147-151.

8. Costa C.A., Tanimoto A., Quaglio A.E., Almeida L.D., Jr Severi J.A., Di Stasi L.C., 2015. Anti-inflammatory effects of Brazilian ginseng (Pfaffia paniculata) on TNBS induced intestinal inflammation: experimental evidence. *International Immunopharmacology*, 28:459-469.

9. Deplancke B., Gaskins H.R. 2001. Microbial modulation of innate defense: globet cells and the intestinal mucus layer. *American Journal of Clinical Nutrition*, 73: 1131–1141.

10. Enss M.L., Grosse-Siestrup H., Schmidt-Wittig U., Gärtner K. 1992. Changes in colonic mucins of germ free rats in response to the introduction of a "normal" rat microbial flora. Rat colonic mucin. Journal of *Experimental Animal Science*, 35:110-119.

11. Francis G., Kerem Z., Makkar H.P.S., Becker K. 2002. The biological action of saponins in animal systems: a review. *British Journal of Nutrition*, 88: 587–605.

12. Fuller R. 1992. History and development of probiotics. Pages 1-18. Chapman and Hall, London, UK.

13. Go´ngora C.M., 1998. Mecanismos de resisten ciabacteriana ante la medicina actual. The McGraw-Hill Companies Basauri, Madrid, Spain.

14. Jang D.J., Lee M.S., Shin B.C., Lee Y.C., Ernst E. 2008. Red ginseng for treating erectile dysfunction: a systematic review. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 66(4):444-450.

15. Khojasteh S.M.B., Sheikhzadeh F., Mohammadnejad D., Azami A., 2009. Histological, histochemical and ultrastructural study of the intestine of rainbowtrout (*Oncorhynchus mykiss*). *World Applied Sciences Journal*, 6:1525-1531.

16. Kim J.J., Khan W.I. 2013. Goblet cells and mucins: Role in innate defense in enteric infections. *Pathogens*, 2:55-70.

17. Kisielinski K., Willis S., Prescher A., Klosterhalfen B., Schumpelick V. 2002. A simple new method to calculate small intestine absorptive surface in the rat. *Clinical Exprimental Medicine*, 2: 131-135.

18. Krauthammer T.D., Kullen M.J. 1999. Selection and design of probiotics. *International Journal of Food Microbiology*, 50:45-57.

19. Li S.S., Qi Y.L., Chen L.X., Qu D., Li Z.M., Gao K., Chen J.B., Sun Y.S. 2019. Effects of Panax ginseng polysaccharides on the gut microbiota in mice with antibiotic-associated diarrhea. Intnational Journal of Biological *Macromolecules*, 124:931–937.

20. Luo, Z., Xu, W., Zhang, Y., Di, L., Shan, J., 2020. A Review of Saponin Intervention in Metabolic Syndrome Suggests Further Study on Intestinal Microbiota. *Pharmacological Research*, 160-165.

21. McDole J.R., Wheeler L.W., McDonald, K.G., Wang B., Konjufca V., Knoop K.A., Newberry R.D., Miller M.J. 2012. Goblet cells deliver luminal antigen to CD103+ dendritic cells in the small intestine. *Nature*, 483:345-349.

22. Ray A.K., Ringø E. 2014. The gastrointestinal tract of fish. In: Aquaculture Nutrition: Gut Health, Probiotics and Prebiotics (), Pages 1–13 in Merrifield: Wiley-Blackwell Publishing, Oxford, UK.

23. Sun Y. 2011. Structure and biological activities of the polysaccharides from the leaves, roots and fruits of Panax ginseng C.A. Meyer: an overview. *Carbohydrate Polymers*, 85:490-499.

24. Tibbetts I.R. 1997. The distribution and function of mucous cells and their secretions in the alimentary tract of *Arrhamphus sclerolepis krefftii*. *Journal of Fish Biology*, 50(4):809-820.

25. Yang, S.H., Seo, S.H., Kim, S.W., et al., 2006. Effect of ginseng polysaccharide on the stability of lactic acid bacteria during freeze-drying process and storage. *Archives of Pharmacological Research*, 29: 735 740.

26. Yang S., Yu M. 2021. Role of Goblet Cells in Intestinal Barrier and Mucosal Immunity. *Journal of Inflammation Research*., 14: 3171–3183.

Effect of Ginseng (*Panax ginseng*) Extract on Intestinal Wall Structure in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*): A Histomorphometric and Biochemical Study

Ali Parchami [*], Vahid Pouyapur

Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord University, Shahrekord, Iran

Abstract

The aim of the present study was to evaluate the effect of ginseng root extract (*Panax ginseng*) on the histomorphometric and biochemical characteristics of the intestinal wall in rainbow trout. Study carried out during 60 days within 4 experiments, each with 3 replicates. In each replication 60 pcs of fry with average weight of 15gr. were randomly distributed. The experimental groups were fed with aqueous extract of *P. Ginseng* at 100, 150 & 200 gr./kg. diet respectively. Tissue samples from the proximal and distal segments of the intestine were stained by hematoxylin and eosin, periodic acid Schiff and alcin blue stains. Results showed that by increasing the amount of ginseng up to 150 grams per 100 kg of diet, the length of the intestinal folds and the absorption area significantly increased in both the proximal and distal segments of the intestine ($p < 0.05$). The thickness of the muscular layer in the groups receiving ginseng did not show a statistically significant difference compared to the control group ($p > 0.05$). The total number of goblet cells as well as the number of acid mucus producing cells in the distal part of the intestine in the groups receiving ginseng increased significantly compared to the control ($p < 0.05$), but the amount of these parameters in the proximal part of the intestine did not show a statistically significant difference in the groups receiving ginseng compared to the control group ($p > 0.05$). The increase in the total number of goblet cells in the groups receiving ginseng in the distal part of the intestine is mainly due to the increase in the number of goblet cells producing acidic mucins in this part of the intestine, and the number of cells producing neutral and mixed mucins did not show a statistically significant difference in the groups receiving ginseng compare to the control group ($p > 0.05$).

Keywords: Ginseng Extract, Intestine, Rainbow Trout, Histochemistry, Histomorphometry.