تأثیر جیره غذایی حاوی روغن سیر (garlic oil) بر برخی شاخص های خونی، ایمنی و بیوشیمی سرم خون ماهی کپور پرورشی (*Cyprinus carpio*)

رضا اکرمی[1] ، حسین چیت ساز[1]، محمد بهمدی[1]، عرفان عبداله زاده[1]، مجید رازقی منصور[2]*

Razeghi2036@yahoo.com

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

۲- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد آزادشهر، عضو باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، آزادشهر، ایران

تاریخ دریافت: فروردین۱۳۹۴ تاریخ پذیرش: خرداد۱۳۹۴

چکیده

در این مطالعه اثر تجویز خوراکی روغن سیر بر برخی شاخص های خونی، ایمنی و بیوشیمی سرم ماهی کپور پرورشی (*Cyprinus carpio*) پس از ۴۵ روز تغذیه مورد بررسی قرار گرفت. روغن سیر در سطح ۲۵۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم به جیره پایه حاوی ۳۹٪ پروتئین خام و ۱۸٪ چربی خام افزوده شد. در انتهای دوره آزمایش خونگیری از ساقه دمی ۳۶ عدد ماهی به ظاهر سالم انجام گرفت. نتایج نشان داد افزودن روغن سیر به غذای ماهی کپور پرورشی باعث بهبود مشخصه های خونی گردید اگرچه تفاوت معنی داری بین ماهیان تغذیه شده با روغن سیر و گروه شاهد مشاهده نگردید ($P>۰/۰۵$). میزان پروتئین تام و آلبومین بدون هیچ گونه تفاوت معنی داری در تیمار حاوی روغن سیر از بیشترین میزان برخوردار بود ($P>۰/۰۵$). همچنین کمترین میزان گلوکز و کلسترول هم بدون هیچ گونه تفاوت معنی داری در تیمار حاوی روغن سیر مشاهده گردید ($P>۰/۰۵$). اما تری گلیسرید کاهش معنی داری را در تیمار حاوی روغن سیر نسبت به تیمار شاهد از خود نشان داد ($P<۰/۰۵$). افزایش معنی داری در میزان فعالیت لیزوزیم، ایمنوگلبولین (IgM) و کمپلمان سرم (ACH50) خون در ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی روغن سیر مشاهده شد ($P<۰/۰۵$). در مجموع نتیجه گیری می شود که افزودن روغن سیر در سطح ۲۵۰ میلی گرم در هر کیلوگرم جیره می تواند باعث بهبود پارامترهای خونی، ایمنی و بیوشیمی سرم در ماهی کپور پرورشی شود.

کلمات کلیدی: روغن سیر، متغیرهای خونی، ایمنی، کپور پرورشی (*Cyprinus carpio*).

***نویسنده مسئول**

۱.مقدمه

برای کامیابی در صنعت آبزی پروری در آینده یکی از پیش نیازها، به حداقل رساندن تلفات ناشی از بیماری ها و کاهش استفاده از آنتی بیوتیک ها است (۸). کنترل بیماری های ماهی با استفاده از مواد دارویی نظیر آنتی بیوتیک ها مشکلاتی از قبیل توسعه باکتری های مقاوم در آینده، نگرانی هایی برای مصرف کننده، به دلیل باقی مانده های دارویی و نیز تأثیرات محیطی دارد. علاوه بر این آنتی بیوتیک ها هیچ تأثیری روی بیماری ویروسی ندارند (۱۴). به علت مشکلات بیان شده امروزه برای پیشگیری از بیماری های عفونی وغیرعفونی درصنعت آبزی پروری به جای دارو درمانی، جلوگیری از اثرات سوء بهداشت انسانی از مصرف آنتی بیوتیک هاودیگر مواد شیمیایی با ماندگاری بالادر عضلات‌ودیگر بافت های ماهی و نیز هزینه اقتصادی یکی‌ازروش‌هااستفاده‌ازمحرک‌های‌ایمنی‌می‌باشد (۷).محرک‌های‌ایمنی‌باتقویت‌سیستم‌ایمنی‌غیراختصاصی‌مقاومت ماهی را در برابر بیماری های عفونی افزایش می دهند. این مواد به عنوان عوامل دارویی برای کنترل بیماری ها، از اهمیت زیادی برخوردار هستند چون فاقد هر گونه اثرات منفی موجوددر آنتی بیوتیک ها و واکسن های زنده برمحیط زیست هستند و چون جزء ترکیبات طبیعی محسوب می شوند، باقیمانده های داروئی نا مطلوب ایجاد نمی کنند (۲). از عملکردهای مهم محرک های ایمنی می توان به افزایش قدرت بیگانه خواری، افزایش تولید آنتی بادی، افزایش تولید لیزوزیم، افزایش مهاجرت گلبول های سفید و غیره اشاره نمود.گیاهان دارویی‌باداشتن‌مزیتهایی از جمله عوارض جانبی کم، سهولت دسترسی، امکان تولید در سطح وسیع، قیمت مناسب و خطر کمتر برای محیط زیست و جانور، عدم ایجاد مقاومت نسبی عوامل بیماری‌زا به داروهای گیاهی، انحصاری بودن درمان برخی بیماری‌ها با گیاهان دارویی و وجود تجربیات مختلف بالینی دررابطه با گیاهان دارویی همواره بعنوان جایگزین مناسب برای‌داروهای شیمیایی مورد توجه هستند (۳). از جمله این داروها و محرک های ایمنی می توان به گیاه سیر اشاره نمود. فعالیتهای بیولوژیکی سیر مربوط به شماری ازترکیبات ارگانو سولفات درآن می باشد. یکی از این ترکیبات، اسید آمینه منحصر به فردی به نام آلین می باشد که در قسمت پیاز برآمده این گیاه وجود دارد. وقتی که سیر، بریده بریده یا خرد و له شود سیستم آنزیمی که آلیناز نامیده می شود آلین را تبدیل به آلیسین (دی آلیل تیو سولفینات)می کندکه‌این‌ماده،خصوصیات ضد باکتریایی، ضد انگلی، ضد ویروسی ودرکل ضد بیماریزایی دارد (۱۳). از جمله تحقیقات صورت گرفته در مورد اثر سیر بر روی پارامترهای خونی و ایمنی ماهیان می‌توان به تحقیقات Shalaby وهمکاران (۲۰۰۶)، Fall و Ndong (۲۰۰۷)و Mohamed و Aly(۲۰۱۰) بر روی ماهی تیلاپیا (*Oreochromis niloticus*) (۴،۱۵،۲۰)، Fazlolahzadeh و همکاران (۲۰۱۱) بر روی ماهی قزل آلا (*Oncorhynchus mykiss*) (۵)، Nwabueze (۲۰۱۲) بر روی گربه ماهی روگاهی (*Clarias gariepinus*) (۱۶)، Ikhwanuddin و Talpur (۲۰۱۲) بر روی سی باس آسیایی (*Lates calcarifer*) (۲۳) و تنگستانی و همکاران (۱۳۹۰) بر روی فیل ماهیان (*Huso huso*) جوان پرورشی (۱) اشاره نمود. اما در بین مطالعات‌حاضر، تحقیقی در مورد اثر سیر بر روی پارامترهای خونی ماهی کپور معمولی انجام نشده است. از این رو با توجه به توضیحات فوق، هدف از بررسی حاضر اثر تجویز خوراکی روغن سیر بر برخی شاخص های خونی، ایمنی و بیوشیمی سرم خون ماهی کپور (*Cyprinus carpio*) پرورشی می باشد.

۲. مواد و روش ها

شرایط آزمایش:

این آزمایش‌دریک فضای مشخص ۴۰ متر مربعی به مدت ۴۵ روز انجام گرفت. روغن سیرازشرکت داروسازی گیاه اسانس در شهرستان گرگان تهیه شد و حاوی ۱۰۰٪ روغن سیر خالص و طبیعی بود. در این آزمایش از غذای کنسانتره پلت شرکت‌خوراک‌دام‌آبزیان‌مازندران (حاوی ۳۹٪ پروتئین خام، ۱۸٪ چربی خام و ۱۹/۰۳ مگاژول در کیلوگرم انرژی خام) استفاده شد. پس از مشخص شدن میزان و مقدار غذای مورد نیاز هر تکرار از هر تیمار جیره های غذایی به کمک ترازوی دیجیتال‌بادقت ۰/۰۱گرم توزین شده وداخل مخلوط کن با سطوح صفر (شاهد) و ۲۵۰ میلیگرم روغن سیر(۱۳)در هر کیلوگرم جیره مخلوط شد. پس از چند دقیقه هم زدن به طوری که مخلوط به صورت کاملاً همگن درآمدآن را توسط آب‌به شکل خمیردرآورده تا حدی‌که مخلوط حاصل ،شکل پذیری مناسبی پیدا کرده و به صورت خمیر نسبتاً منسجمی‌درآید وسپس‌آن رااز چرخ گوشت با چشمه ۲ عبور داده و به صورت پلت و بعد از خشک شدن آن در آون در دمای ۴۰درجه سانتیگراد به مدت ۳ ساعت قرار داده شد. در این آزمایش از ۶ عدد آکواریوم ۱۰۰ لیتری به عنوان مخازن آزمایش استفاده گردید. بچه ماهیان با وزن متوسط ۱۸گرم تهیه و با تراکم ۱۵ عدد و با ۳ تکرار توزیع گردیدند که شامل ۳ مخزن شاهد و۳ مخزن حاوی جیره روغن سیر بود.

خونگیری و سنجش شاخص های خونی، ایمنی و بیوشیمی:

در پایان دوره پرورش که به مدت ۴۵ روز بطول انجامید، پس از گذشت ۲۴ ساعت از زمان قطع تغذیه و اطمینان از دفع کامل محتویات لوله گوارش، نمونه برداری از ماهیان ۲۸ گرمی جهت خونگیری آغاز شد. برای این منظور ۶ عدد بچه ماهی بطور تصادفی از هر تکرار نمونه گیری شده و در محلول عصاره گل میخک به میزان pm ۲۰۰ بیهوش و پس از خشک کردن آب بدن از ماهیان خونگیری انجام شد و خون ماهیان جهت انجام آنالیزوآزمایشات فاکتورهای خونی، بیوشیمی و ایمنی به آزمایشگاه منتقل شد. خونگیری با استفاده ازسرنگ ۲ سی سی از سیاهرگ دمی واقع در پشت باله مخرجی صورت گرفت. آزمایشهای هماتولوژی روی‌خون‌حاوی‌ماده‌ضدانعقادهپارین‌انجام‌گرفت. فاکتورهای خونی مورد مطالعه به روش توصیه شده توسط Feldman و همکاران در سال ۲۰۰۰ شامل تعداد گلبولهای سفید (WBC)، تعداد گلبولهای قرمز(RBC)، هموگلوبین (Hb) و هماتوکریت (PCV) بود (۶). همچنین شمارش افتراقی گلبولهای سفید شامل لنفوسیت و نوتروفیل نیز انجام شد. اندازه گیری شاخصهای بیوشیمی روی خون فاقد ماده ضد انعقاد هپارین انجام گرفت. برای اندازه گیری سرم خون جداسازی و با استفاده از دستگاه Semianalyser مدل SEAC طبق دستورالعمل شرکت سازنده با استفاده از کیت های آزمایشگاهی انجام شد. گلوکز به روش گلوکز اکسیداز (Glucose oxidase)، کلسترول به روش کلسترول اکسیداز (Choestrol oxidase)، تری گلیسرید به روش آنزیمی لیپاز (Lipase/GPO-PAP)، پروتئین تام به روش بیوره (Biuret) و آلبومین به روش برومو‌کرزول (Bromocresol Green) اندازه گیری شد.

برای تعیین میزان لیزوزیم سرم از روش ارائه شده توسط Sahoo(۲۰۰۶)استفاده‌شد(۱۹). به این منظور ۱۵ میکرولیتر پلاسما به پلیت های ۹۶ خانه ای شکل الایزا، افزوده شد. سپس ۱۵۰ میکرولیتر سوسپانسیون باکتری

میکروکوکوس لیزودیکتیکوس *Micrococcus lysodeikticus*(سیگما) تهیه شده در بافر سیترات سدیم ۰/۰۲ مولار و pH برابر ۵/۵ به میزان ۰/۰۲ میلی گرم در لیتر اضافه گردید و جذب نوری اولیه در طول موج ۴۵۰ نانومتر توسط دستگاه الایزا ریدر مارک Bio-Tek ساخت کشور آمریکا اندازه گیری شد و پس از یک ساعت نگهداری در دمای اتاق، مجدداً جذب نوری اندازه گیری شد. لیزوزیم سفیده تخم مرغ لیوفلیزه شده (سیگما) نیز به منظور ترسیم منحنی استاندارد استفاده گردید (۱۹).

غلظت ایمنوگلوبولین کل پلاسمای خون ماهیان به منظور تعیین Total IgM با کیت شرکت پارس آزمون و با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر مدل Eurolyser ساخت کشور اتریش استفاده گردید. غلظت ایمنوگلوبولین کل براساس روش شرح داده شده توسط Siwicki و همکاران درسال ۱۹۹۴ اندازه‌گیری‌شد(۲۲).بطور خلاصه ابتدا پروتئین تام پلاسما اندازه گیری شد سپس ایمونوگلوبولین پلاسما به روش ترسیب نمکی رسوب داده شده و میزان پروتئین مایع رویی اندازه گیری گردید. نهایتاً میزان ایمونوگلوبولین تام پلاسما با تفریق پروتئین مایع رویی از پروتئین تام محاسبه شد (۲۲).

سنجش کمپلمان پلاسما(ACH50)توسط مسیر مکمل جایگزین(ACP)بابرخی تغییرات که توسط Tort و همکاران در سال ۱۹۹۶ ارائه گردیده است، انجام گردید (۲۵). بطور خلاصه سلولهای خونی قرمز با غلظت نهایی ۱۰۸× ۲/۵ سلول در هر میلی لیتر مورد استفاده قرار گرفتند. ۱۰۰ µL از پلاسمای آزمایشی در HBSS-EGTA، سه برابر رقیق شدند (نمک محلول Hank ŝ Balanced بعلاوه ۱۰میلی مول Mg^{2+} و ۱۰ میلی مول استات اتیل گلیکوبیستترا(EGTA)در pH=۷/۶)وبا ۲۵میکرولیتر SRBCدر ۹۶ عدد well plates تقسیم شدند. پلیتها برای مدت زمان ۱۰۰ دقیقه‌دردمای ثابت ۲۰°C با همزن ثابت به هم زده شدندوسپس باقیمانده SRBCبادور پایین سانتریفوژ شد و میزان جذب شناور در طول موج ۴۱۵ نانومتر خوانده شد (۲۵).

تجزیه و تحلیل داده ها:

در ابتدا آزمون نرمالیتی (normality) داده ها به وسیله ی آزمونShapiro-Wilk انجام‌شد.مقایسه میانگین پارامترهای خونی، بیوشیمی‌وایمنی‌سرم خون بچه ماهیان کپور از آزمون مقایسه میانگین T- test استفاده شد و داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS 19 آنالیز شد.

۳. نتایج

نتایج بدست آمده از این تحقیق نشان داد که افزودن روغن سیر به جیره ماهی کپور معمولی منجر به بهبود مشخصه های خونی ماهی کپور معمولی گردید (جدول ۱) اگرچه تفاوت معنی داری بین تیمار حاوی روغن و گروه شاهد مشاهده نگردید (P>۰/۰۵).درمقادیر پارامترهای بیوشیمی سرم خون بجز شاخص تری گلیسرید (P<۰/۰۵) تفاوت معنی داری در سایر پارامترهای سرم خون مشاهده نگردید (P>۰/۰۵). نتایج حاصل از افزودن روغن سیر به جیره بچه ماهی کپور پرورشی پس از مدت زمان مدت ۴۵ تغذیه روز حاکی از افزایش معنی داری فعالیت لیزوزیم سرم، ایمنوگلبولین (IgM) و کمپلمان سرم (ACH50) در مقایسه با ماهیان گروه شاهد بود (P<۰/۰۵).

جدول ۱- مقایسه برخی از شاخص های هماتولوژی و بیوشیمی سرم (میانگین و انحراف معیار) در بچه ماهیان کپور پرورشی تغذیه شده با روغن سیر طی مدت ۴۵ روز پرورش

تیمار شاخص	شاهد (فاقد روغن سیر)	۲۵۰ میلیگرم روغن سیر در کیلوگرم	احتمال (P)
گلبول سفید (10^3 mm^3)	۲۵۵/۶۳ ± ۲۱/۷۸	۲۷۸/۴۰ ± ۲/۶۸	۰/۱۴۷
گلبول قرمز (10^6 mm^3)	۰/۵۹ ± ۰/۱۹	۰/۹۲ ± ۰/۱۴	۰/۰۸۱
هموگلوبین ($g\ dl^{-1}$)	۹/۰۶ ± ۱/۲۰	۹/۹۶ ± ۰/۰۵	۰/۲۶۶
هماتوکریت (٪)	۱۰/۹۰ ± ۴/۵۲	۱۲/۸۶ ± ۴/۲۰	۰/۶۱۰
لنفوسیت (٪)	۹۴/۶۶ ± ۱/۵۲	۹۷ ± ۱/۷۳	۰/۱۵۵
نوتروفیل (٪)	۴ ± ۱/۷۳	۳/۳۳ ± ۲/۳۰	۰/۷۱۰
گلوکز ($mg\ dl^{-1}$)	۱۵۰ ± ۴۱/۷۶	۱۱۲/۳۳ ± ۲۷/۷۵	۰/۲۶۳
کلسترول ($mg\ dl^{-1}$)	۱۴۱ ± ۱۳/۰۷	۱۱۸ ± ۲۵/۷۰	۰/۲۳۹
تری گلیسرید ($mg\ dl^{-1}$)	۲۱۵/۳۳ ± ۲۰/۳۰	۱۶۸/۳۳ ± ۱۹/۸۵	۰/۰۴۶
پروتئین تام ($mg\ dl^{-1}$)	۳/۴۰ ± ۰/۱۰	۳/۵۳ ± ۰/۲۰	۰/۳۷۴
آلبومین ($g\ dl^{-1}$)	۱/۳۰ ± ۰/۱۰	۱/۴۸ ± ۰/۰۷	۰/۰۶۵

جدول ۲- مقایسه برخی از شاخصهای ایمنی سرم (میانگین و انحراف معیار) در بچه ماهیان کپور پرورشی تغذیه شده با روغن سیر طی مدت ۴۵ روز پرورش

تیمار شاخص	شاهد (فاقد روغن سیر)	۲۵۰ میلیگرم روغن سیر در کیلوگرم	احتمال (P)
لیزوزیم ($\mu g\ ml^{-1}$)	۱۹/۷۲ ± ۴/۵	۳۳/۴۶ ± ۹/۲۵	۰/۰۲۸
ایمونوگلبولین ($mg\ ml^{-1}$)	۷۳/۴ ± ۱۲/۷	۱۴۴/۸ ± ۱۹/۸	۰/۰۳۶
فعالیت کمپلمان ($U\ ml^{-1}$)	۲/۲ ± ۰/۱	۵/۷ ± ۰/۲۱	۰/۰۴۲

۴. بحث

در سال های اخیر استفاده از مواد محرک سیستم ایمنی در پرورش ماهی به منظورافزایش‌توان سیستم ایمنی وپاسخ های ایمنی‌غیراختصاصی و حفظ بدن در برابر بیماری ها، عمومیت یافته است. بنابراین به نظر می رسد به کارگیری مواد محرک سیستم ایمنی راه حل مناسبی برای کنترل بیماری های آبزیان باشد. استفاده از گیاهان دارویی از جمله سیر و فرآورده های آن، که اثری مشابه آنتی بیوتیک ها دارند، به عنوان جایگزین مناسبی برای انواع داروها و آنتی بیوتیک ها مورد توجه قرار گرفته اند (۱). نتایج بدست آمده از تحقیق حاضر نشان داد که افزودن روغن سیر به جیره ماهی کپور معمولی منجر به بهبود مشخصه های خونی و ایمنی گردید ($P>0/05$). در مقادیر پارامترهای بیوشیمی سرم خون بجز پارامتر تری گلیسرید ($P<0/05$) تفاوت معنی داری مشاهده نگردید ($P>0/05$) ولی میزان فعالیت لیزوزیم، ایمنوگلبولین (IgM) و کمپلمان سرم (ACH50) خون بطور معنی داری در ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی روغن سیر ارتقاء یافت ($P<0/05$). بهبود مشخصه های خونی و ایمنی ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی روغن سیر در مطالعه حاضر را نیز می توان به خاصیت ضد باکتریایی موجود در آن ربط داد که تأثیر مثبتی بر روی تعادل فلور میکروبی دستگاه گوارش داشته است (۱۱). همچنین بهبود فاکتورهای خونی متعاقب تجویز این مکمل گیاهی را علاوه بر اثر مستقیم ماده موثره این ماده می توان به اثر آنها بر تحریک ایمنی اختصاصی و غیر اختصاصی ماهی نسبت داد، چرا که بهبود فاکتورهای ایمنی ماهی به صورت غیر مستقیم، بهبود شاخص های خونی و سلامت ماهی را نیز باعث می گردد. در همین راستا، Shalaby و همکاران (2006) گزارش کردند پارامترهای خونی، گلبول های قرمز و هموگلوبین در ماهیان تیلاپیای (*Oreochromis niloticus*) تغذیه شده با سیر بطور معنی داری نسبت به تیمار شاهد بالاتر بودند (۲۰). تنگستانی و همکاران (۱۳۹۰) با افزودن اسانس سیر به جیره غذایی فیل ماهیان (*Huso huso*) جوان پرورشی افزایش معنی داری را در میزان هموگلوبین، هماتوکریت، گلبول سفید و لنفوسیت در ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی اسانس سیر مشاهده نمودند (۱). همچنین Fazlolahzadeh و همکاران (2011) سطوح مختلف ۰/۳، ۰/۴۵ و ۰/۶ گرم پودر سیر را در هر کیلوگرم جیره در ماهی قزل آلا (*Oncorhynchus mykiss*) در شرایط استرس حرارتی بررسی و گزارش کردند که گلبولهای قرمز، گلبولهای سفید و لنفوسیت بطور معنی داری در تیمارهای حاوی سیر افزایش یافت اما تفاوت معنی داری در میزان هموگلوبین و هماتوکریت در بین تیمار های حاوی سیر در مقایسه با تیمار شاهد مشاهده نشد (۵). در تحقیقی دیگر Nwabueze (2012) سیر را در سطوح ۰، ۰/۵، ۱ و ۳٪ به جیره بچه ماهیان انگشت قد گربه ماهی روگاهی (*Clarias gariepinus*) افزود و مشاهده نمود که میزان هماتوکریت، گلبول قرمز و هموگلوبین در تیمار ۰/۵٪ بطور معنی داری بیشتر بود (۱۶). همچنین Ikhwanuddin و Talpur (2012) سطوح متفاوت سیر را به جیره سی باس آسیایی (*Lates calcarifer*) افزودند و نتیجه گیری کردند که اریتروسیت، لکوسیت، هماتوکریت و هموگلوبین در ماهیان تغذیه شده با سیر افزایش یافت (۲۳). همچنین نتایج مطالعه حاضر نشان داد که میزان نوتروفیل در تیمار شاهد از بیشترین میزان برخوردار بود که با نتایج تنگستانی و همکاران (۱۳۹۰) و Fazlolahzadeh و همکاران (2012) مطابقت داشت (۱،۵). احتمالاً علت عدم مشاهده تفاوت معنی دار در شاخص های خونی و اغلب پارامترهای بیوشیمی در ماهیان کپور در تحقیق 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 (یک دوره پرورش)، اثرات این محرک ایمنی ممکن است به صورت معنی دار در شاخص های سلامت در طول دوره بروز نماید. همچنانکه Mohamed و Aly (2010) گزارش نمودند آلیسین که موثرترین جزء موجود در سیر است ناپایدار بوده و کاهش کارایی سیر ممکن است بسته به گونه و نحوه فرآوری متفاوت باشد (۴). در استنباط این مطلب مبنی بر اینکه سیر باعث بهبود رشد می شود دلایلی ذکر شده که مطابق با تحقیقات Khalil و همکاران (2001) می توان گفت که سیر دارای ۳-۱ درصد آلین (Alliin) است که این ماده در اثر عمل آنزیم آلیناز (Allinase) تبدیل به آلیسین (Allicin) می شود (۱۰). آلیسین باعث پیشرفت و بهبود عملکرد فلور روده ای می گردد و بر روی آن تأثیر مثبت می گذارد. در تحقیقات مختلف نتایج نشان می دهد که غلظت بسیار بالای عصاره سیر یا آلیسین منجر به بهبود رشد ماهی نمی شود و در عوض، برای سلامتی ماهی مضر هستند که این ممکن است به دلیل رسیدن بیش از حد سولفید آلکیل به روده باشد که با متابولیسم طبیعی تداخل یافته و در نتیجه کاهش رشد و حتی مرگ را باعث می شود. بنابراین، سیر به عنوان یک خوراک افزودنی برای تمام گونه های ماهی مناسب نیست و تغذیه بهینه از گونه ای به گونه دیگر متفاوت است. در خصوص بهبود مشخصه های خونی و پارامترهای بیوشیمی سرم در ماهیان تغذیه شده با روغن سیر فرض بر این است دخالت لکتین متصل شونده به مانوز حالت دیگر برای بهبود پاسخهای ایمنی باشد (۱۷). لکتین بعنوان فراوانترین پروتئین در سیر در نظر گرفته شده است که به سلولهای باکتریایی متصل شده و باعث تحریک کمپلمان و متعاقب آن فاگوسیتوزیس می شود (۱۲). بر اساس نتایج مطالعه حاضر، ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی روغن سیر از میزان گلوکز کمتری در مقایسه با گروه شاهد برخوردار بودند که با نتایج Shalaby و همکاران (2006)، Metwally (2006) و Ikhwanuddin و Talpur(2012) مشابهت داشت (۱۳،۲۰،۲۳). کاهش در میزان گلوکز خون به بهبود سیستم آنتی اکسیدانی در سلولهای پانکراس در تولید انسولین نسبت داده شده است (۲۴). کاهش چربی مربوط به ترکیبات حاوی سولفید در سیر است که باعث افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی در پلاسما و سلولهای چربی می شود (۲۱). یافته ها نشان دادند که تجویز آمینواسیدهای سولفوکسید موجود در سیر و پیاز (s- آلیل سیتئین سولفوکسید و s- متیل سیستئین سولفوکسید) باعث بهبود شرایط دیابت اعم از تحمل گلوکز، کاهش وزن و تخلیه گلیکوژن کبدی شده است. محرکهای ایمنی به گیرنده های ویژه ای روی سطح سلول فاگوسیتها و لنفوسیتها می چسبند و برخی آنزیمهایی تولید می کنند که عوامل بیماریزا را تخریب می کنند. علاوه بر اینها می توانند برخی پیامبران شیمیایی نظیر اینترفرون، اینترلوکین و پروتئین های کمپلمان را تولید کنند که باعث تحریک سیستم ایمنی و افزایش فعالیت لنفوسیت b و t می شود (۱۸). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که میزان پروتئین سرم و آلبومین از افزایش غیر معنی داری نسبت به تیمار شاهد برخوردار بود. در همین راستا Metwally (2006) با افزودن سیر به جیره غذایی ماهی تیلاپیا، Nwabueze (2012) بر روی گربه ماهی روگاهی و Ikhwanuddin و Talpur (2012) بر روی سی باس آسیایی افزایش معنی داری را در میزان پروتئین سرم و آلبومین مشاهده نمودند که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت داشت (۱۳،۱۶،۲۳). البته ذکر این نکته لازم است که مقادیر پارامترهای بیوشیمیایی معمولاً بعنوان ابزار تشخیصی در بیماریهای ماهی مورد استفاده قرار نمی گیرند چرا که دامنه مرجع برای گونه های

مختلف ماهی وجود ندارد و از طرفی تغییر در آنالیزهای خونی با بیماریهای مشخص و اختلالات متابولیک همراه هستند. بنابراین آنالیزهای بیوشیمیایی کلینیکی برای کشف اختلالات متابولیک و بیماریهای زیر کشندگی که روی کارایی تولید تأثیر می گذارند توسعه یافته اند (۲۰). سیر در تحریک سیستم ایمنی می تواند نقش داشته باشد و این عمل با فعالیت اندامهای مرتبط با سلولهای قرمز خون نظیر تیموس، طحال و مغز استخوان مرتیط است (۹). بر اساس نتایج مطالعه حاضر میزان فعالیت لیزوزیم سرم، ایمنوگلبولین (IgM) و کمپلمان سرم (ACH50) خون از افزایش معنی داری در ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی روغن سیر نسبت به تیمار شاهد برخوردار بود. در همین راستا Fallو Ndong (2007) گزارش کردند که سیر در غلظت ۰/۵٪ در مدت بیش از ۴-۲ هفته باعث بهبود فعالیت لیزوزیم در ماهی تیلاپیا شد (۱۵). در حالیکه تیلاپیای جوانی که با دوز ۱٪ سیر در جیره تغذیه شدند هیچ بهبودی در پارامترهای ایمنی مشاهده نگردید که نشان می دهد خواص ایمنی سیر در دوزهای بالا کمرنگ می شود که شاید بخاطر کوتاه بودن مدت آزمایش باشد. همچنین Mohamed و Aly (2010) گزارش کردند که سیر بواسطه تسریع در مونوسیت باعث افزایش پاسخ ایمنی در ماهی تیلاپیا گردید (۴). در تحقیقی دیگر Ikhwanuddin و Talpur (2012) سطوح مختلف ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ گرم سیر را به جیره سی باس آسیایی افزودند و نتیجه گیری کردند که فعالیت لیزوزیم در ماهیان تغذیه شده با سیر افزایش یافت و نتیجه گیری شد که سیر باعث تقویت سیستم ایمنی این گونه می گردد که نتایج تحقیق حاظر را کاملاً تأیید کردند (۲۳). با توجه به نتایج حاصل، استفاده از روغن سیر در سطح ۲۵۰ میلی گرم در هر کیلوگرم جیره، از جنبه های تولیدی و اقتصادی تأثیر مثبت در تغذیه ماهی کپور داشته و با توجه به دلایل مختلف از جمله عدم مشاهده تأثیر سوء بر سلامتی ماهیان در طول مصرف، سهولت مصرف، هزینه های پائین تهیه و امکان تولید داخلی کاملاً عملی و قابل توصیه می باشد و از طرفی باعث بهبود پارامترهای خونی و ایمنی در ماهی کپور معمولی می شود.

منابع

۱.تنگستانی، ر.ا.، علی زاده دوغیکلایی، ع، ابراهیمی ، پ. ۱۳۹۰. اثر اسانس سیر بر سیستم ایمنی و شاخص های هماتولوژی در فیل ماهیان جوان پرورشی. مجله تحقیقات دامپزشکی دانشگاه تهران. ۶۶ (۳): ص ۲۰۹ تا ۲۱۶.

۲. فاطمی، س.ا .، میر زرگر، س.س. ۱۳۸۶. فارماکولوژی کاربردی ماهیان. تألیف تروس براون، ک.م. انتشارات دانشگاه تهران. چاپ اول. ۶۵۶ صفحه.

۳. قاسمی پیربلوطی، ع. ا، پیرعلی، غ. ، پیشکار، س.م.ع. ، جلالی، م.،رئیسی، م.، جعفریان ده کردی ، ب. ۱۳۹۰. اثر اسانس چند گیاه دارویی بر سیستم ایمنی ماهی قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*). فصل نامه داروهای گیاهی. ۲ (۲): ص ۱۴۹ تا ۱۵۵.

4. A.O.A.C (Association of Official Analytical Chemists).2002.Official method of analysis. (17th edition).Washington, DC.

5.A.O.A.C (Association of Official Analytical Chemists).2005. Official methods of analysis, Arlington, Virginia, USA.

6. Asghari, M., Alizadeh doughikollaee, E. Safari, R., Arshadi, A. 2010. Effects of bacteriocine Z on the shelf-life of silver carp fillets during refrigerated storage. Journal of food Processing & Production of Iran. P: 31-38.

7. Chouliara, I., Savvaidisa, I. N., Panagiotakisb, N., Kontominasa, M.G. 2004. Preservation of salted,

vacuumpackaged, refrigerated sea bream (*Sparus aurata*) fillets by irradiation: microbiological, chemical and sensory attributes. Journal of Food Microbiology. 21: 351–359.

8. Calo-Mata, P., Arlindo, S., Boehme, K., Miguel, T., Pascoal, A., Barros-Velazquez, J. 2008.Current applications and future trends of lactic acid bacteria and their bacteriocins for the biopreservation of aquatic food products. Food Bio process Technology. 1(1):43-63.

9.Fan, W., Sun, J., Chen, Y., Qiu J., Zhang, Y., Chi, Y. 2009. Effect of chitosan coating on quality and shelf life of silver carp during frozen storage. Journal of Food Chemistry; 115: 66-70.

10. Goulas, A. E., Kontominas, M. G. 2005. Effect of salting and smoking method on the keeping quality of chub mackerel (*Scomber japonicos*): Biochemical and sensory attributes: Food Chemistry. 93: 511-520.

11. Guerra, N. P., Agrasar, A. T., Macias, C. L., Bernardez, P. F., Castro, L. P. 2007. Dynamic mathematical models to describe the growth and nisin production by *Lactococcus lactis* subsp. *Lactis* CECT 539 in both batch and re-alkalized fed-batch cultures. Journal of Food Engineering, 2: 103-113.

12. Hedayatifard, M. 2003. Fish and Shrimp Processing Technology, 1st Ed., Persia Fisheries Industries Company, Tehran, 120p.

13. Karacam, H., and Boran, M. 1996. Quality changes in frozen whole and gutted anchovies during storage at -18 ºC. International Journal of Food Science and Technology. 31: 527-531.

14. Kim, C. R., Hearnsberger, J. O., Vickery, A. P., White, C. H., Marshal, D. L. 1995. Extended shelf life of refrigerated catfish fillets using sodium acetate and monopotassium phosphate. Journal of Food Preservation. 58: 644-647.

15. Laridi, R., Kheadr, E. E., Benech, R. O., Vuillemard, J. C., Lacroix, C. Fliss, I. 2003. Liposome encapsulated nisin Z: optimization, stability, and release during milk fermetation. International Dairy Journal. 13:325-36.

16. Lasic, D. D. 1995. Applications of liposomes. In: Lipowsky R, Sackmann E, editors. Handbook of Biological Physics. Menlo Park, CA. Elsevier Science B.Vol. P: 491-519.

17. Martin, R. E., Carter, E. P., Flick, G. J., Davis, L. M. 2000. Marine and fresh water Products Handbook. Technomic Publishing Company. P: 964.

18. Mazzotta, A. S., Crandall, A. D., Montville, T. J. 1997. Nisin resistance in Clostridium botulinum spores and vegetative cells. Applied Environmental Microbiology. 63: 2654–2659.

19. McFaddin, J. F. 2000. Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria, 7nd Ed.

20. Mexis, S.F., Chouliara, E., Kontominas, M.G. 2009. Combined effect of an oxygen absorber and oregano essential oil on shelf-life extension of rainbow trout fillets stored at on shelf-life extension of rainbow trout fillets stored at 4°C.Journal of Food Microbiology; 26: 598-605.

21. Natseba, A., Lwalinda, I., Kakura, E., Muyanja, C. K., Muyonga, J. H. 2005. Effect of pre-freezing icing duration on quality changes in frozen Nile perch (*Lates niloticus*). Food Research International. 38: 469-474.

22. Nettles Cutter, C., Siragusa, G. R. 1994. Decontamination of beef carcass tissue with nisin using a pilot scale model carcass washer. Food Microbiology. 11: (6), 481-489.

23. Ojagh, S. M., Rezaei, M., Razavi, S. H. and Hosseini, S. M. H. 2010. Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. Food Chemistry. 120: 193–198.
24. Olafsdottir, G., Martinsdottir, E., Oehlenschlager, J., Dalgaard, P., jensen, B., and Undeland, I. 1997.Methods to evaluate fish freshness in research and industry. Trends Food Science and Technology. 8: 258-263.
25. Özogul, F., Polat, A., Özogul, Y. 2004. The effects of modified atmosphere packaging and vacuum packaging on chemical, sensory and microbiological changes of sardines (*Sardina pilchardus*). Food Chemistry. 85: 267-273.
26.Ozyurt, G., Kuley, E., Ozkutuk, S., Ozogul, F. 2009. Sensory, microbiological and chemical assessment of the freshness of red mullet *(Mullus barbatus*) and gold band goatfish (*Upeneus moluccensis*) during storage in ice. Journal of Food Chemistry; 114: 505–10.
27. Pearson, D. 1994. Laboratory technic in food analysis. Butter Worth. London, UK. Pp. 256-270.
28. Rezaei, M., Hosseini, S. F. 2008. Quality assessment of farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during chilled storage. Journal of Food science. 73: 93-96.
29. Roberts, R. F. 1991. Development of a nisin-producing starter culture for use in Cheddar cheese manufacture to inhibit spoilage in high-moisture pasteurized process cheese spreads. Ph.D. Thesis,University of Minnesota,Minneapolis.
30. Sallam, Kh. I. 2007.Antimicrobial and antioxidant effects of sodium acetate, sodium lactate and sodium citrate in refrigerated sliced salmon. Food Control. 18(5):566-575.
31. Sallam, Kh. I., Ahmed, A. M., Elgazzar, M. M., Eldaly, E. A. 2007. Chemical quality and sensory attributes of marinated Pacific saury (*Cololabis saira*) during vacuum-packaged storage at 4°C. Journal of Food Chemistry; 102: 1061-70.
32. Schmidt, SH. E. 2009. Antimicrobial efficacy of liposome encapsulated nisin and nisin inhibition against Listeria monocytogenes in fluid milk at different storage temperature .Thesis for degree of Master of Science. Texas A&M University.
33. Stiles, M. E. 1994. Potential for biological control of agents of foodborn disease. Food Research International. 27:245-250.
34. Teerakarn, A., Hirt, D. E., Acton, J. C., Rieck, J. R., Dawson, P. L. 2002. Nisin diffusion in protein films: Effects of film type and temperature. Journal of Food Science. 67, (8): 3019-3025.
35. Vidya, S.R. G., Srikar, L.N. 1996. Effect of preprocess ice storage on the lipid changes of Japanese threadfin bream (*Nemipterus japonicus*) mince during frozen.Journal of Asian Fishery Science, 9: 109-14.
36. Xiao, D. 2010. Novel Delivery Systems of Nisin to Enhance Longterm Efficacy against Foodborne Pathogen Listeria Monocytogenes. Doctoral Dissertations. University of Tennessee, Knoxville. PP: 1-3.
37. Yin, M. C. and Cheng, W. S. 2003. Antioxidant and antimicrobial effects of four garlic derived organosulfur compounds in ground beef. Meat Science; 63: 23-28.

Effects of Dietary Garlic Oil on Haematological, Immunity and Blood Serum Biochemichal Parameters of Common Carp (*Cyprinus carpio*)

Akrami R.[(1)], Chitsaz H.[(1)], Bahmadi M.[(1)], Abdollahzadeh E.[(1)] , Razeghi Mansour M.[(2)] *

Razeghi2036@yahoo.com

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

2- Young Researchers and Elite Club, Azadshahr Branch, Islamic Azad University, Azadshahr, Iran

Received: April 2015 Accepted: June2015

Abstract

Dietary garlic oil on haematological, immunity and blood serum biochemichal parameters of common carp (*Cyprinus carpio*) was evaluated after 45 days feeding. Garlic oil was added at a level of 250 mg kg^{-1} to the commercial pellet diet (39% protein & 18% lipid). Blood samples were collected from caudal vein of 36 apparently healthy fish at the end of trial. The results showed that adding garlic oil to the ration of carp caused improved blood indices although there were no significant differences between fish fed garlic oil & control group. An elevation of total protein and albumin ($P>0.05$) were found in the fish fed diet garlic oil. The lowest amount of glucose and cholesterol were observed in diet with garlic oil without significant difference ($P>0.05$). While triglyceride was decreased significantly in fish fed diet with garlic oil ($P<0.05$). Lyzosyme activity, alternative complement activity (ACH50) and serum total immunoglobulin (Ig) were significantly increased in garlic oil fed group compared with the control group ($P<0.05$). These results indicated that dietary supplementation of garlic oil improved haematological, biochemical and immunity parameters of common carp juveniles.

Keywords: garlic oil, blood indices, immunity, common carp (*Cyprinus carpio*)

*Corresponding author