Downloaded from jair.gonbad.ac.ir at 17:15 +0330 on Tuesday February 20th 2018

دانشگاه گنبد کاووس
نشریه "پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی"
دوره پنجم، شماره اول، بهار ۹۶
http://jair.gonbad.ac.ir

اثرات پودر زنجبیل (*Zingiber officinale*) بر رشد، برخی پارامترهای ایمنی موکوسی و پارامترهای خونی در بچه‌ماهی سفید دریای خزر *Rutilus kutum* (Kamensky, 1901)

فاضل ظهیری*[1]، محمدرضا ایمانپور[2]، عبدالمجید حاجی مرادلو[2]، سیدحسین حسینی‌فر[3]

[1]دانش‌آموخته کارشناسی ارشد دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
[2]استاد گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
[3]استادیار گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

تاریخ ارسال: ۹۴/۳/۲۱ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۴/۵/۳

چکیده

در مطالعه حاضر اثرات سطوح مختلف پودر زنجبیل بر برخی از فاکتورهای ایمنی موکوسی، پارامترهای خونی و رشد در بچه‌ماهی سفید (*R. kutum*) دریای خزر مورد بررسی قرار گرفت. بچه‌ماهیان با میانگین وزن (۱/۶۰±۳/۶۹گرم) به تعداد ۴۲۰ قطعه در ۱۲ مخزن به صورت تصادفی توزیع گردیده و به مدت ۸ هفته با سطوح مختلف [صفر (گروه شاهد)، ۱، ۵ و ۱۰ گرم زنجبیل در ۱ کیلوگرم جیره پایه] غذادهی شدند. نتایج نشان داد که تیمارهای تغذیه شده با بیشترین میزان زنجبیل دارای بیشترین میزان فعالیت آنزیم الکالین فسفاتاز قلیایی، پروتئین کل و فعالیت لیزوزمی‌در موکوس بود و اختلاف معنی‌داری بین تیمارها وجود داشت. شمارش گلبول‌های قرمز و سفید خون، هماتوکریت و هموگلوبین اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای تغذیه شده با زنجبیل و گروه شاهد نشان داد. بیشترین تعداد لنفوسیت در تیمارتغذیه شده با سطح بالای زنجبیل و کم‌ترین تعداد در گروه شاهد بود و اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای تغذیه شده با زنجبیل و گروه شاهد وجود داشت. اما در شمارش مونوسیت‌ها و ائوزینوفیل‌ها اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای مختلف مشاهده نشد. همچنین، ماهیان تغذیه شده با زنجبیل در مقایسه با گروه شاهد رشد بهتری داشتند و بیشترین مقدار مربوط به تیمار تغذیه شده با سطح ۱۰ گرم زنجبیل می‌باشد. نتایج این مطالعه نشان داد که استفاده از زنجبیل موجب افزایش میزان پارامترهای موکوسی، فاکتورهای خونی و رشد در بچه‌ماهی سفید (*R. kutum*) دریای خزر نسبت به تیمار شاهد شده است.

واژه‌های کلیدی: ***R. kutum*، زنجبیل، موکوس، پارامترهای خونی**

مقدمه

*نویسنده مسئول: fazel_zahiri1991@yahoo.com

Downloaded from jair.gonbad.ac.ir at 17:15 +0330 on Tuesday February 20th 2018

افزایش رشد، تولید لارو و بچه‌ماهی در سطح تجاری یکی از اهداف مهم در صنعت آبزی‌پروری می‌باشد، اما متأسفانه دستیابی به این هدف برای گونه‌های زیادی از ماهیان به‌عنوان یک مشکل بزرگ مطرح است. یکی از این گونه‌ها ماهی سفید دریای خزر (*R. kutum*) می‌باشد. در سال‌های اخیر به دلیل صید بی‌رویه، افزایش آلودگی‌ها و تخریب بستر رودخانه‌ها مهاجرت آن به‌طور چشم‌گیری کاهش یافته است که برای حفظ نسل این ماهی و بازسازی ذخایر، سازمان شیلات ایران سالانه بالغ بر ۲۰۰ میلیون بچه ماهی سفید به وزن (۲-۱ گرم) جهت بازسازی ذخایر جمعیت ماهیان در دریای خزر رهاسازی می‌کند (Paykan Heyrati *et al.*, 2007).

در سال‌های اخیر محرک‌های ایمنی در صنعت آبزی‌پروری به منظور تقویت و افزایش فعالیت مکانیسم‌های دفاعی اختصاصی و غیر اختصاصی به‌عنوان جایگزینی مناسب برای آنتی بیوتیک‌ها معرفی شده‌اند (Sakai,1999). آنتی‌بیوتیک‌ها به دلایل مختلف می‌توانند تهدیدی برای محیط زیست و سلامتی انسان باشند. به‌خصوص هنگامی‌که آنتی‌بیوتیک‌ها وارد آب‌های سطحی شوند، امکان افزایش باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها، تخریب و تهدید محیط‌زیست وجود دارد و نیز عوارض جانبی بر سیستم ایمنی ماهی، که از مهم‌ترین تهدیدهای آنتی‌بیوتیک‌ها محسوب می‌شوند را به دنبال دارد (Harikrishnan *et al.*, 2003; Iwama and Nakanishi, 1997). محرک‌های ایمنی علاوه بر افزایش مقاومت در برابر بیماری‌ها، موجب افزایش رشد و بقاء می‌گردند. بنابراین به نظر می‌رسد که محرک‌های ایمنی به‌عنوان جایگزینی مناسب برای آنتی‌بیوتیک‌ها و حتی واکسیناسیون برای کنترل بیماری‌ها و افزایش رشد باشند (Vasudeva Rao *et al.*, 2004; Swain *et al.*, 2006; Sakai, 1999; Jain and Wu, 2004). در بین محرک‌های ایمنی، محرک‌های ایمنی گیاهی دارای مزیت‌هایی از جمله دسترسی آسان، قیمت پایین و خطر کمتر برای محیط زیست می‌باشند (Raa, 1996). در چند سال گذشته استفاده از محرک‌های ایمنی با منشاء گیاهی در آبزیان گسترش یافته است. به‌طوری‌که گیاه دارویی گون در ماهی کپور معمولی (Jain and Wu, 2004)، عصاره‌های گیاهی گزنه، دارواش و زنجبیل در ماهی قزل‌آلا (Dugenci *et al.*, 2003) و عصاره نعناع در ماهی سفید دریای خزر (Adel *et al.*, 2015)، باعث افزایش مقاومت و تحریک سیستم ایمنی گردیده است.

یکی از این گیاهان دارویی که کاربرد آن در آبزی‌پروری در تعدادی از مطالعات مورد بررسی قرار گرفته است، زنجبیل می‌باشد. زنجبیل با نام علمی *Zingiber officinale* به خانواده Zingiberaceae تعلق دارد. جنس این گیاه (جنس *Zingiber*) گونه‌های مختلفی دارد که برخی از آن‌ها خوراکی هستند و اغلب به‌عنوان گیاهی دارویی و ادویه‌ای مورد استفاده قرار می‌گیرد (Kapoor, 2000). زنجبیل شامل ترکیبات: کلسیم، فسفر، سدیم، پتاسیم، آهن، کروم، منیزیوم، کبالت، روی، سلنیوم، جیوه، کلر، بروم، فلور، روبیدیوم، اسکاندیوم، سسیوم، تیامین، ریبوفلاوین، نیاسین، پیرودوکسین و

Downloaded from jair.gonbad.ac.ir at 17:15 +0330 on Tuesday February 20th 2018

ویتامین‌ها (C, A, E)، روغن چرب ثابت، ترکیبات تند، رزین‌ها، پروتئین‌ها، سلولز، پنتوزن و نشاسته می‌باشد (Afzal *et al*., 2001; Vasala, 2012). از ویژگی‌های بارز زنجبیل این است که برای طیف وسیع و گسترده‌ای از بیماری‌ها مورد استفاده قرار گرفته است (Ernst and Pittler, 2000) و این به‌دلیل داشتن خواص آنتی‌اکسیدانی (Grzanna *et al*., 2005)، فعالیت ضد سرطانی و تأثیر بر سلول‌های سرطانی، خاصیت ضدتهوع، کاهش فشار خون در انسان (Sang *et al*., 2009)، درمان بیماری‌های قلبی و عروقی (Nicoll and Henein, 2007)، کنترل کننده باکتری‌های بیماری‌زا (Jagetia *et al*., 2003)، فعالیت‌های ضد قارچی (Agarwa *et al*., 2001)، ضد ویروسی (Denyer *et al*., 1994) و تقویت‌کننده سیستم ایمنی بدن (Nya and Austin, 2009; Ai *et al*., 2007) می‌باشد. اما متأسفانه در صنعت آبزی‌پروری کارهای مطالعاتی کمتری در بررسی تأثیر پودر زنجبیل صورت گرفته است. بنابراین هدف از این مطالعه بررسی اثرات پودر زنجبیل بر فاکتورهای ایمنی و رشد در بچه‌ماهی سفید دریای خزر (*R. kutum*) به‌منظور امکان ایجاد مقاومت بیشتر در برابر استرس‌ها، مشکلات محیطی و افزایش بقاء می‌باشد.

مواد و روش‌ها

بچه‌ماهی سفید دریای خزر (*R. kutum*) با میانگین وزن (۱/۶۰±۳/۶۹ گرم) تهیه و به‌مدت ۲ هفته قبل از شروع کار برای آداپتاسیون با شرایط آزمایشگاه نگهداری شدند. در طول این مدت ماهی‌ها به میزان ۲ بار در روز با غذای تجاری (بیومار فرانسه) تغذیه شدند (جدول ۱). سپس ماهی‌ها به‌صورت تصادفی در ۱۲ مخزن پلاستیکی (۵۰۰ لیتری) با تراکم ۳۵ قطعه در هر مخزن نگهداری شدند. در طول این مدت (۸ هفته) ماهی‌ها به‌صورت دستی و روزی ۲ بار (ساعت ۹:۰۰ و ۱۵:۰۰) به میزان ۲ درصد وزن بدن غذادهی شدند. دمای آب، میزان اکسیژن محلول درآب و pH به‌صورت روزانه به‌ترتیب (۲±۱۹ درجه سانتی‌گراد، ۰/۵۵±۷/۶ میلی‌گرم در لیتر و ۰/۱±۷/۳۳) ثبت شد. به منظور حفظ کیفیت آب روزانه به میزان ۵۰ درصد آب مخازن تعویض شد.

زنجبیل خیس پس از تهیه از مراکز معتبر، چندین بار با آب مقطر شست و شو و برای خشک شدن در هوای آزاد نگهداری شد. سپس زنجبیل خشک شده پس از پودرکردن در ظروف شیشه‌ای نگهداری شد.

علاوه بر جیره پایه (جیره شاهد، صفر درصد زنجبیل)، سایر جیره‌های مورد استفاده با سطوح مختلف زنجبیل (۱، ۵ و ۱۰ گرم در ۱ کیلوگرم جیره پایه) آماده‌سازی شد. به‌این ترتیب پودر زنجبیل را به جیره افزوده و سپس با اسپری‌کردن محلول ژلاتین ۵ درصد به جیره، اقدام به تثبیت پودر

Downloaded from jair.gonbad.ac.ir at 17:15 +0330 on Tuesday February 20th 2018

زنجبیل به پلت‌های غذا شد. سپس غذای آماده‌شده برای خشک‌شدن در هوای آزاد نگهداری و پس از خشک‌شدن برای استفاده در پلاستیک و در یخچال نگهداری شد.

بعد از اتمام دوره غذادهی، موکوس سطح بدن ماهی براساس روش پیشنهاد شده توسط سوبرامانیان و همکاران (Subramanian *et al.*, 2007) جمع‌آوری شد. ۲۴ ساعت قبل از جمع‌آوری نمونه موکوس، ماهی‌ها در معرض گرسنگی قرار داده شدند. سپس به‌طور تصادفی از هر تکرار، ۱۰ قطعه ماهی در محلول عصاره گل میخک (۵ میلی‌گرم در لیتر) به‌مدت ۲ دقیقه بیهوش و سپس به کیسه پلاستیکی حاوی ۱۰ میلی‌لیتر Nacl ۵۰ میلی‌مولار، انتقال داده شد. برای جمع‌آوری موکوس، کیسه‌های پلاستیکی به‌مدت ۱ دقیقه به آرامی تکان داده شد. سپس، ماهی‌ها از کیسه‌های پلاستیکی خارج و به مخزن‌های مربوطه منتقل شدند. موکوس را بلافاصله به تیوب‌های ۱۵ میلی‌لیتری استریل منتقل و از دستگاه (5810R Eppendorf, Engelsdorf, Germany) (۱۵۰۰×g برای ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد) برای سانتریفیوژ استفاده شد. سپس موکوس سطح میانی که عاری از هر گونه آلودگی بود را برای انجام مطالعات درون میکروتیوپ ۲ میلی‌لیتری و در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

جدول ۱- فرمول غذایی و ترکیب تقریبی جیره غذایی پایه(*) مورد استفاده در بررسی اثرات پودر زنجبیل (*Z. officinale*) بر رشد، برخی از پارامترهای موکوسی و فاکتورهای خونی در بچه‌ماهی سفید دریای خزر (*R. kutum*).

ترکیبات	واحد
پروتئین خام (٪)	۵۸
چربی خام (٪)	۱۵
فیبر خام (٪)	۰/۵
رطوبت (٪)	۱۱/۵
خاکستر (٪)	۱/۶
انرژی قابل هضم	۱۹/۴(Mj/ Kg) ۴۶۵۰ (KCal/Kg)
انرژی خالص	۲۱/۸ (Mj /Kg) ۵۲۲۶(KCal/Kg)
انرژی متابولیک	۱۷/۳ (Mj/ Kg) ۴۱۴۳ (KCal/Kg)

(*) مقادیر فوق از طریق شرکت مربوطه دریافت شد.

Downloaded from jair.gonbad.ac.ir at 17:15 +0330 on Tuesday February 20th 2018

اندازه‌گیری پروتئین کل بر اساس روش پیشنهاد شده توسط لاوری و همکاران (Lowry *et al.*, 1951) و منحنی استاندارد آلبومین سرم گاوی استفاده گردید. اندازه‌گیری بعد از اضافه کردن معرف رنگی فولین فنول سیوکالتیو به ۱۰۰ میکرولیتر از نمونه‌های رقیق شده موکوس و استاندارد و قرائت نوری توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (Biochrom, Libra S12) انجام گرفت. با انتقال جذب نوری به منحنی استاندارد، میزان پروتئین محلول بر حسب میلی‌گرم بر میلی‌لیتر محاسبه شد.

میزان آلکالین فسفاتاز قلیایی موکوس با استفاده از کیت‌های تولید شده توسط شرکت پارس آزمون و دستگاه اسکتروفتومتر و در طول موج ۴۰۵ نانومتر و اختلاف جذب نوری در مدت ۳ دقیقه محاسبه شد. محاسبه فعالیت لیزوزیم بر اساس روش پیشنهاد شده توسط استبان و همکاران (Esteban *et al.*, 2001) انجام شد. در این روش محاسبه لیزوزیم به روش کدورت سنجی و به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر انجام گردید. برای این کار از باکتری لیوفلیزه Micrococcus lyzodeikticus حل شده در بافر فسفات پتاسیم به‌عنوان سوبسترا استفاده شد. جذب این محلول در مقابل شاهد (کووت حاوی بافر فسفات پتاسیم) در طول موج ۴۵۰ نانومتر و به مدت ۱۰دقیقه، اثر کاهشی سلول‌های میکروکوکوس لیزودیکتیکوس ثبت گردید.

در پایان دوره آزمایش، عمل خون‌گیری انجام گردید. بعد از بیهوش کردن ۱۰ قطعه ماهی از هر تکرار به‌طور تصادفی در محلول عصاره گل میخک (۵ میلی‌گرم در لیتر) عمل خون‌گیری با روش قطع ساقه دمی و با استفاده از لوله‌های موئینه هپارینه قرمز رنگ انجام گردید.

برای اندازه‌گیری هماتوکریت و جدا کردن سرم، لوله‌های موئینه به‌مدت ۶ دقیقه و با سرعت g ۳۰۰۰ دور به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ گردیدند. مقدار هماتوکریت و هموگلوبین به‌ترتیب به روش میکرو هماتوکریت و سیانومت هموگلوبین اندازه‌گیری شد. شمارش کلی گلبول‌های قرمز (RBC) و سفید (WBC) خون به روش هموسیتومتری انجام گرفت (Rabitto *et al.*, 2005). سنجش اندیس‌های مهم گلبول‌های قرمز نظیر حجم متوسط گلبولی (MCV)، غلظت متوسط هموگلوبین در گلبول قرمز (MCH) و تغییرات غلظت متوسط هموگلوبین در گلبول قرمز (MCHC) با استفاده از رابطه‌های ذیل انجام شد (Goldenfarb *et al.*, 1971; Campbell, 2004). شمارش افتراقی گلبول‌های سفید نیز پس از تهیه گسترش خونی و رنگ‌آمیزی با گیمسا تعیین گردید.

$$\text{MCV} = \frac{Hct}{RBC(10^6)} \times 10$$

$$\text{MCH} = \frac{Hb}{RBC(10^6)} \times 10$$

$$\text{MCHC} = \frac{Hb}{\text{Hct}} \times 100$$

اندازه‌گیری فاکتورهای رشد بعد از پایان ۸ هفته و با کمک فرمول‌های مربوطه انجام گردید.

Downloaded from jair.gonbad.ac.ir at 17:15 +0330 on Tuesday February 20th 2018

وزن اولیه – وزن ثانویه = وزن اکتسابی (WG)

$$\text{نرخ رشد روزانه (DGR)} = \frac{\text{(وزن اولیه –وزن ثانویه)}}{\text{طول دوره آزمایش}}$$

$$\text{درصد افزایش وزن (BWG٪)} = \frac{\text{(وزن اولیه–وزن ثانویه)}}{\text{وزن اولیه}} \times 100$$

$$SGR = \frac{(LnW_2 - LnW_1)}{T_2 - T_1} \times 100$$

$$\text{ضریب تبدیل غذایی (FCR)} = \frac{\text{غذای داده شده}}{\text{وزن اکتسابی}}$$

آزمایش در یک قالب طرح کاملاً تصادفی انجام گردید و برای هر تیمار سه تکرار در نظر گرفته شد. بعد از مرتب‌کردن داده‌ها، از روش آنالیز واریانس یک‌طرفه استفاده شد. داده‌ها توسط آزمون دانکن در سطح ۵ درصد با یکدیگر مقایسه شدند (Zar, 2009). تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از 16.0-SPSS انجام شد.

نتایج

نتایج بدست آمده از بررسی پروتئین کل موکوس، فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز قلیایی و فعالیت آنزیم لیزوزیم اختلاف معنی‌داری (p<۰/۰۵) را بین تیمارهای تغذیه شده با زنجبیل و گروه شاهد نشان داد (جدول ۲). ماهیان تغذیه شده با غذای دارای ۱۰ گرم زنجبیل دارای بیشترین میزان پروتئین کل و آنزیم الکالین فسفاتاز بود. همچنین اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای مختلف تغذیه شده با زنجبیل نیز وجود دارد.

جدول ۲- میانگین (±انحراف معیار) میزان پروتئین کل، فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز قلیایی و فعالیت لیزوزمی موکوس در بچه‌ماهی سفید دریای خزر (*R. kutum*) که با غذای پایه و سطوح مختلف (۰/۱، ۰/۵ و ۱ گرم در ۱۰۰ گرم جیره غذایی) زنجبیل به مدت ۸ هفته غذادهی شده است را نشان می‌دهد.

تیمار	۰/۰	۰/۱	۰/۵	۱
آلکالین فسفات (IU/l)	۳۰/۰۳±۰/۲۳^{c}	۲۹/۷۹±۲/۲۱^{c}	۴۳/۲۶±۱/۴^{b}	۵۳/۷۹±۲/۶۶^{a}
پروتیئن کل (mg/ml)	۰/۳۸±۰/۰۵^{c}	۰/۵۹±۰/۰۸^{c}	۰/۹۸±۰/۰۶^{b}	۱/۳۶±۰/۱۷^{a}
لیزوزیم (U/mg)	۴/۹±۲/۶۴^{b}	۳/۶۸±۱/۰۹^{b}	۵/۸±۰/۵۹^{ab}	۱۰/۵۸±۰/۹۳^{a}

*اعداد با حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.

نتایج بدست آمده از بررسی فاکتورهای خونی (جداول ۳ و ۴) هم نشان داد که بیشترین تعداد گلبول‌های سفید و قرمز خون و همچنین هماتوکریت و هموگلوبین مربوط به تیمار تغذیه شده با ۱۰

Downloaded from jair.gonbad.ac.ir at 17:15 +0330 on Tuesday February 20th 2018

گرم زنجبیل می‌باشد و بین تیمارهای مختلف با گروه شاهد اختلاف معنی‌داری وجود داشت (p<۰/۰۵). همچنین در بررسی شمارش افتراقی گلبول‌های سفید مشاهده شد که بیشترین تعداد لنفوسیت‌ها مربوط به تیمار۱۰ گرم زنجبیل می‌باشد و بین تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری وجود دارد (p<۰/۰۵). همچنین نتایج نشان داد که بیشترین تعداد نوتروفیل مربوط به گروه شاهد بوده و بین تیمارها اختلاف معنی‌داری وجود دارد (p<۰/۰۵).

جدول ۳- میانگین (±انحراف معیار) بررسی فاکتورهای خونی در بچه‌ماهی سفید دریای خزر (*R. kutum*) تغذیه شده با غذای پایه و سطوح مختلف (۱، ۵ و ۱۰ گرم در ۱ کیلو گرم جیره غذایی) زنجبیل به مدت ۸ هفته

فاکتور/تیمار	صفر	۱	۵	۱۰
RBC (۱۰^۶ mm)	۱/۲۹±۰/۰۰۱[d]	۱/۲۸±۰/۰۰۲[c]	۱/۳۴±۰/۰۰۷[b]	۱/۳۹±۰/۰۰۱[a]
HB (g/dl)	۷/۲±۰/۰۶[d]	۷/۶±۰/۰۶[c]	۸/۲±۰/۱۵[b]	۸/۸±۰/۰۹[a]
HCT (٪)	۲۲/۱۳±۰/۰۹[d]	۲۲/۹±۰/۱۶[c]	۲۳/۹±۰/۱۶[b]	۲۴/۷۵±۰/۱۸[a]
MCV (nm3)	۱۷۵/۸۵±۰/۵۱[b]	۱۷۹/۶۱±۰/۷[a]	۱۷۸/۴۹±۰/۴[a]	۱۷۸/۸۲±۱/۱۳[a]
MCH (µg/cell)	۵۷/۲±۰/۳۹[C]	۵۹/۶۱±۰/۳۹[b]	۶۱/۲۳±۰/۸۳[b]	۶۳/۳±۰/۵۹[a]
MCHC (g/dl)	۳۲/۵۲±۰/۱۳[c]	۳۳/۱۹±۰/۰۸[c]	۳۴/۳±۰/۴۹[b]	۳۵/۴±۰/۱۵[a]

*اعداد با حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.

جدول ۴- میانگین (±انحراف معیار) بررسی شمارش افتراقی گلبول‌های سفید در بچه‌ماهی سفید دریای خزر (*R. kutum*) تغذیه شده با غذای پایه و سطوح مختلف (۱، ۵ و ۱۰ گرم در ۱ کیلوگرم جیره غذایی) زنجبیل به مدت ۸ هفته

فاکتور / تیمار	صفر	۱	۵	۱۰
WBC (۱۰^۴ mm)	۱/۰۲±۱/۴۵[c]	۱/۱۳±۱/۴۵[b]	۱/۱۷±۳/۸۴[b]	۱/۲۷±۱/۱۵[a]
لنفوسیت (درصد)	۶۲/۶۷±۱/۲[c]	۶۵/۵۳±۰/۸۸[bc]	۶۷/۶۷±۰/۸۸[a]	۷۴/۳۳±۰/۸۸[a]
نوتروفیل (درصد)	۳۴/۶۷±۰/۸۸[a]	۳۰/۳۳±۱/۲[b]	۲۹±۰/۵۸[b]	۲۲±۱/۵۳[c]
مونوسیت (درصد)	۱/۶۷±۰/۳۳[a]	۲±۰/۰[a]	۱/۶۷±۰/۳۳[a]	۱/۶۷±۰/۳۳[a]
ائوزوفیل (درصد)	۲±۰/۳۲[a]	۲±۰/۳۲[a]	۱/۸±۰/۳۷[a]	۲±۰/۴۵[a]

*اعداد با حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد (p<0/05).

همچنین میزان ضریب تبدیل غذایی (FCR)، وزن اکتسابی (WG)، نرخ رشد روزانه (DGR)، درصد افزایش بدن (BWG) و نرخ رشد ویژه (SGR) اختلاف معنی‌داری (p<۰/۰۵) را بین تیمارهای مختلف داشت (جدول ۵). به این ترتیب که کم‌ترین میزان ضریب تبدیل غذایی در تیماری که با سطح

Downloaded from jair.gonbad.ac.ir at 17:15 +0330 on Tuesday February 20th 2018

۱۰ گرم زنجبیل تغذیه شده‌اند، مشاهده شد. همچنین بیشترین میزان وزن اکتسابی، نرخ رشد روزانه، درصد افزایش بدن و نرخ رشد ویژه در همین تیمار مشاهده شد.

جدول ۵- میانگین (±انحراف معیار) بررسی فاکتورهای رشد در بچه‌ماهی سفید دریای خزر (*R. kutum*) تغذیه شده با غذای پایه و سطوح مختلف (۱، ۵ و ۱۰ گرم در۱ کیلوگرم جیره غذایی) زنجبیل به‌مدت ۸ هفته.

تیمار	ضریب تبدیل غذایی (FCR)	وزن اکتسابی (WG)	نرخ رشد روزانه (DGR)	درصد افزایش بدن (BWG)	نرخ رشد ویژه (SGR)
صفر	۱/۶۷± ۰/ ۰۳^{a}	۹۴/۰۵ ± ۲/۳^{c}	۱/۵۷ ±۰/۰۴ ^{c}	۷۲/۱۹ ±۳/۱۳^{c}	۰/۹ ± ۰/۰۳^{c}
۱	۱/۵۵±۰/۰۳^{a}	۹۹/۸۳± ۲/۳۱^{c}	۱/۶۶ ±۰/۰۴ ^{c}	۷۷/۲۹±۱/۶۲^{c}	۰/۹۵ ±۰/۰۱^{c}
۵	۱/۳۶ ±۰/۰۷^{b}	۱۱۲/۵۴±۶/۷۷ ^{b}	۱/۸۷ ±۰/۱۱ ^{b}	۸۸/۷۷±۴/۶۷^{b}	۱/۰۶±۰/۰۴ ^{b}
۱۰	۱/۱۵ ± ۰/۰۱^{c}	۱۲۹/۵۳±۱/۵۵ ^{a}	۲/۱۶ ±۰/۰۲ ^{a}	۱۰۴/۳۶±۱/۰۵ ^{a}	۱/۱۹±۰/۰۵ ^{a}

*اعداد با حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد ($p<0/05$).

بحث و نتیجه‌گیری

با توجه به اینکه ممکن است مشکلات زیادی تحت شرایط پرورش مصنوعی و طبیعی (پس از رهاسازی) در مرکز تکثیر و تولید وجود داشته باشد، ضرورت دارد برای ارتقاء میزان مقاومت ماهیان و همچنین افزایش رشد و بازماندگی از ترکیبات مناسبی در تغذیه آن‌ها استفاده شود (Bricknell and Dalmo, 2005). یکی از این محرک‌های ایمنی زنجبیل می‌باشد. زنجبیل شامل ترکیبات: کلسیم، فسفر، سدیم، پتاسیم، آهن، کروم، منیزیوم، کبالت، روی، سلنیوم، جیوه، کلر، بروم، فلور، روبیدیوم، اسکاندیوم، سسیوم، تیامین، ریبوفلاوین، نیاسین، پیرودوکسین و ویتامین‌ها (C, A, E)، روغن چرب، ترکیبات تند، رزین‌ها، پروتئین‌ها، سلولز، پنتوزن و نشاسته می‌باشد (Afzal *et al*., 2001; Vasala, 2012). زنجبیل به فعال کردن سلول‌های فاگوسیتوزی معروف می‌باشد که این سلول‌ها یکی از اجزای مهم سیستم ایمنی غیر اختصاصی ماهی می‌باشند (MacArthur and Fletcher, 1985). این عملکرد زنجبیل در نتیجه فعالیت زیستی جزء اصلی آن یعنی gingerol می‌باشد که براساس گزارش ارائه شده توسط بنی و همکاران (Benny *et al*., 2004) موجب القاء فعالیت اینترلوکین -۶ (IL-6) می‌شود. همچنین زنجبیل به خواص آنتی اکسیدانی قوی و فعال کننده رادیکال‌های سوپراکسیدانی معروف می‌باشد که این رادیکال‌ها به‌عنوان یک مکانیسم محافظتی احتمالی در برابر مرگ می‌باشند (Kim *et al*., 2007; Hirahara, 1974; Krishnakantha and Lokesh, 1993).

در مطالعه حاضر پودر زنجبیل موجب افزایش نرخ رشد ویژه، وزن اکتسابی، نرخ رشد روزانه، کاهش ضریب تبدیل غذایی و افزایش وزن شده است که ارتباط معنی‌داری بین سطوح مختلف با گروه شاهد

Downloaded from jair.gonbad.ac.ir at 17:15 +0330 on Tuesday February 20th 2018

وجود دارد. نتایج این مطالعه با برخی از مطالعات همراستا و با برخی مغایر می‌باشد. از مطالعات همراستا می‌توان به مطالعه افزودن پودر زنجبیل به جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (Nya and Austin, 2009) اشاره کرد که بررسی نتایج نشان می‌دهد که سطح بالای زنجبیل استفاده شده در جیره‌های مربوطه دارای بیشترین میزان تأثیرگذاری می‌باشد. از مطالعاتی که دارای نتایج مغایر با این تحقیق هستند می‌توان تأثیر سیر بر رشد بچه‌ماهیان هیبرید تیلاپیا (Ndong and Fall, 2011)، کاهش وزن و کاهش نرخ رشد ویژه بر اثر افزودن عصاره میوه *Garcinia gummigutta* به جیره گربه ماهی پنگوسی *Pangasianodon hypophthalmus* با سطوح ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۲۰۰۰ و ۳۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم توسط پراساد و پریانکا (Prasad and Priyanka, 2011) اشاره کرد.

ماهی برای ادامه زندگی در محیط‌های آبی دارای عوامل مختلف سازگاری می‌باشد که از ماهی در برابر عوامل بیماری‌زا و باکتریایی محافظت می‌کنند. یکی از این عوامل که دارای فعالیت ضد باکتریایی و بسیاری از دیگر فعالیت‌های ایمنی می‌باشد، موکوس است (Ingram, 1994). موکوس به دلیل وجود همیشگی و دور انداختن بافت‌های مرده و تولید مداوم، از اتصال پاتوژن‌ها جلوگیری می‌کند. اجزاء موجود در موکوس از جمله لیزوزیم، ایمونوگلوبولین‌ها، پروتئین‌های کمپلمان (عامل مکمل)، لکتین‌ها، آنزیم‌های پروتئولیتیک، پروتئین واکنش دهنده C و دیگر پروتئین‌ها و لیپیدهای آنتی باکتریال (Subramanian *et al*., 2007) می‌باشد، که هر کدام به نحوی در جهت افزایش فعالیت سیستم ایمنی ماهی ایفای نقش می‌کنند. کمیت و کیفیت آن‌ها متأثر از عوامل مختلفی از جمله فاکتورهای ژنتیکی، سن ماهی، تغذیه، فاکتورهای محیطی و وجود یا عدم وجود استرس می‌باشند (Soltani, 1998).

آنزیم آلکالین فسفاتاز قلیایی، در موکوس سطح بدن ماهی آتلانتیک سالمون به‌عنوان شاخصی برای استرس می‌باشد و به دلیل فعالیت هیدرولیتیکی، به‌عنوان یک عامل ضد باکتریایی شناخته می‌شود و نیز در بهبود زخم و عفونت انگلی نقش محافظتی دارد (Ross *et al*., 2000; Fast *et al*., 2002; Subramanian *et al*., 2007). در رابطه با تأثیر محرک‌های ایمنی بر میزان فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز قلیایی در موکوس ماهیان، اطلاعات محدودی وجود دارد. بر اساس گزارش ارائه شده توسط شیخ زاده و همکاران (Sheikhzadeh *et al*., 2012 a)، محرک ایمنی ارگوسان موجب افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز در ماهی قزل‌آلا شده است. همچنین پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس موجب افزایش فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز در ماهی تایگر بارب شده است (Roosta *et al*., 2013). در این مطالعه نیز، فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز قلیایی در موکوس ماهی سفید دریای خزر (*R. kutum*) تغذیه شده با زنجبیل طی ۸ هفته، افزایش معنی‌داری را نسبت به گروه شاهد نشان می‌دهد.

Downloaded from jair.gonbad.ac.ir at 17:15 +0330 on Tuesday February 20th 2018

در اپیدرم ماهیان سلول‌های کیسه‌ای شکلی وجود دارند که با ترشح پروتئین‌هایی، از ماهی در برابر عفونت‌های انگلی و قارچی محافظت می‌کنند. لکتین‌ها وگلیکوپروتئین‌ها از جمله پروتئین‌های با باندهای کربوهیدراتی بوده که به همراه فاکتورهای دیگر موکوس، به پاتوژن مورد نظر هجوم برده و آن را آگلوتینه می‌کنند (Fast *et al*., 2002). نتایج این مطالعه افزایش میزان پروتئین کل را در ماهیان تغذیه شده با زنجبیل نسبت به گروه شاهد نشان می‌دهد که این نتایج هم راستا با نتایج بدست آمده از مطالعات انجام شده توسط شیخ زاده و همکاران (Sheikhzadeh *et al*., 2012 b) می‌باشد.

افزودن محرک ایمنی ساکارومایسس سروزیه به جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان نشان داد که پروتئین کل موجود در موکوس افزایش معنی‌داری را نسبت به گروه شاهد نشان می‌دهد. همچنین نتایج این مطالعه با نتایج استفاده از پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (Roosta *et al*., 2013)، ویتامین A (Sharifian, 2013)، محرک ایمنی ارگوسان (Sheikhzadeh *et al*., 2012 a) و پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازائی (Hernandez *et al*., 2010) به‌ترتیب درجیره غذایی ماهیان تایگر بارب، کلمه، قزل‌آلای رنگین کمان و *Poecilopsis gracilic* مطابقت دارد.

لیزوزیم یک آنزیم هضم کننده موکوس با منشاء لکوسیتی است که قوی‌ترین آنزیم ضد باکتریایی در سیستم ایمنی می‌باشد. که در ترشحات مختلف حیوانات مثل مخاط، بزاق و بسیاری از بافت‌ها مثل خون یافت می‌گردد. میزان لیزوزیم در گونه‌های مختلف می‌تواند بسته به فاکتورهای زیادی از جمله پاسخ به استرس، دستکاری بلوغ، جیره غذایی، جنسیت، تنوع گونه‌ای و تنوع ژنتیکی باشد (Subramanian *et al*., 2007). بررسی لیزوزیم در مطالعه حاضر اختلاف معنی‌داری را بین تیمارهای مختلف نشان می‌دهد که با نتایج حاصل از بررسی افزودن محرک ایمنی ساکرومایسس سروزیه و ارگوسان توسط شیخ زاده و همکاران (Sheikhzadeh *et al*., 2012 a and b) به جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان مطابقت دارد.

مطالعه در زمینه فاکتورهای خونی ماهیان به‌طور عملی و گسترده از دهه ۱۹۸۰ میلادی و به‌طور عمده روی کپورماهیان و قزل‌آلای‌رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) صورت گرفت (Bahmani *et al*., 2001; Bahmani *et al*., 2007;). یافته‌های بدست آمده از پژوهش‌های خون‌شناسی آبزیان در ارزیابی وضعیت سلامت آبزیان، ارزیابی مقاومت غیراختصاصی آبزیان مولد، جداسازی گله‌های مولد مناسب به‌منظور تولید لارو و بچه‌ماهیان سالم و مقاوم می‌تواند مؤثر واقع شود (Kazemi *et al*., 2010). بیان دقیق مقایسه داده‌های خونی بین افراد یک گونه و گونه‌های مختلف امری دشوار می‌باشد زیرا خصوصیات فیزیولوژیک خون و سرم خون ماهیان با تغییرات محیطی، اختلاف گونه‌ها، روش‌های نمونه‌برداری، مرحله رشد و نمو، اندازه نمونه‌ها (Bani and Haghi Vayghan, 2011)، استرس ناشی از صید و نمونه‌برداری، رژیم غذایی، سن، مرحله تولید مثلی، جنسیت، فعالیت‌های فردی، شرایط

Downloaded from jair.gonbad.ac.ir at 17:15 +0330 on Tuesday February 20th 2018

پرورش، تراکم، اکسیژن محلول و شوری (Hoseinifar *et al*., 2011)، به آسانی تغییر می‌کند و روی مقدار داده‌های هماتولوژی تأثیر می‌گذارد.

سرعت حرکت ماهیان، مرحله رسیدگی جنسی، فعالیت زیاد و شکل بدن آن‌ها با گلبول‌های قرمز خون ارتباط دارد (Satheeshkumar *et al*., 2011). از طرف دیگر مقادیر بالای گلبول قرمز و غلظت هموگلوبین خون پاسخی به افزایش تقاضای سوخت‌وساز در بدن است. افزایش تعداد گلبول‌های قرمز خون بیانگر تقاضای بالای نیاز اکسیژنی برای دستیابی به اکسیژن بیشتر جهت سوخت و ساز بالاتر می‌باشد (Zhou *et al*., 2009; Satheeshkumar *et al*., 2011). در نتیجه با افزایش طول، سن، مرحله جنسی و تغذیه ماهی تعداد گلبول‌های قرمز و هموگلوبین نیز افزایش می‌یابد.

نتایج این مطالعه نشان داد که بیشترین تعداد گلبول‌های قرمز و سفید و همچنین بیشترین مقدار هموگلوبین، هماتوکریت، MCH و MCHC در تیمارهای تغذیه شده با بیشترین درصد زنجبیل بود و اختلاف معنی‌داری بین سطوح مختلف زنجبیل با گروه شاهد نیز وجود داشت. همچنین میزان MCV در تیمارهای تغذیه شده با زنجبیل نسبت به گروه شاهد بیشتر بوده و اختلاف معنی‌داری وجود دارد اما بین سطوح مختلف زنجبیل اختلاف معنی‌داری وجود ندارد.

نتایج حاصل از افزودن پودر زنجبیل با سطوح ۱۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم، در جیره غذایی ماهی *Catla catla* نشان داد که سطح بالای پودر زنجبیل (۱۰۰۰میلی‌گرم در کیلوگرم) موجب بالا بردن میزان هموگلوبین، فعالیت فاگوسیتوزی و برخی از فاکتورهای ایمنی از جمله پروتئین کل سرم و فعالیت ضد باکتریایی سرم نسبت به سایر سطوح و گروه کنترل گردید (Arulvasu *et al*., 2013). در بررسی اثر زنجبیل در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در مدت زمان ۱۴ روز، اختلاف معنی‌داری در تعداد گلبول‌های قرمز، سفید و میزان هماتوکریت در تیمارهای سطوح مختلف زنجبیل با گروه شاهد مشاهده شد (Nya and Austin, 2009). در مطالعه دیگری که توسط ساهو و همکاران (Sahu *et al*., 2007) انجام گرفت، نشان داده شد که هسته *Magnifera indica* به‌عنوان یک مکمل غذایی و محرک ایمنی در بچه‌ماهی کپور هندی *Labeo rohita* موجب بالا رفتن تعداد گلبول‌های سفید، قرمز و میزان هموگلوبین گردید. از سایر مطالعه‌هایی که مطالعه حاضر با آن‌ها تطابق داشت می‌توان به بررسی اثر دانه‌های زیره سیاه *Nigella sativa* بر پاسخ سیستم ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان اشاره نمود که نتایج نشان داده است که جیره غذایی با ۲/۵ درصد زیره سیاه موجب بالا بردن میزان هماتوکریت و تعداد سلول‌های لکوسیت نسبت به گروه شاهد (Dorucu *et al*., 2009)، تأثیر جیره حاوی ۰/۵ درصد عصاره گیاه خار مریم (*Silybum marianum*) بر تعداد گلبول‌های سفید در ماهی کپور معمولی (Alishahi *et al*., 2011) و نیز بررسی تأثیر مخلوط عصاره‌های گیاهی تولسی، ادویه کاری و شاهدانه در مطالعه (Harikrishnan *et al*., 2009) بر ماهی

Downloaded from jair.gonbad.ac.ir at 17:15 +0330 on Tuesday February 20th 2018

کاراس طلایی (*Carassius auratus*) اشاره نمود. همچنین نتایج این مطالعه، با نتایج مطالعه مربوط به افزودن عصاره گیاه مورخوش *Zhumeria majdae* به میزان ۱۵۰،۳۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم به جیره غذایی گربه‌ماهی *Pangasianodon hypophthalmus* به مدت ۴۵ روز مغایرت داشت. به‌طوری‌که اختلاف معنی‌داری در تعداد گلبول‌های سفید و قرمز، میزان هماتوکریت و هموگلوبین مشاهده نشد (Rezaei *et al*., 2013). همچنین فضل اله زاده و همکاران (Fazlolahzadeh *et al*., 2011) با افزودن پودر سیر به میزان ۰/۳، ۰/۴۵ و ۰/۶ گرم در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، شاخص‌های خونی و فعالیت‌های پلاسما را مورد بررسی قرار دادند که اختلاف معنی‌داری بین سطوح مختلف پودر سیر و گروه شاهد مشاهده نکردند.

نتایج حاصل از بررسی شاخص‌های گلبولی این مطالعه نیز با نتایج حاصل از تأثیر روغن سیاه دانه بر فاکتورهای خونی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان همراستا می‌باشد (Ekanem and Yusuf, 2008). در بررسی اثر زنجبیل در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در مدت زمان ۱۴ روز، اختلاف معنی‌داری در شاخص‌های گلبولی تیمارهای سطوح مختلف زنجبیل با گروه شاهد مشاهده نشد (Nya and Austin, 2009). همچنین در بررسی اثر عصاره‌های گیاهی اکیناسه، آویشن، کندر و محرک‌های ایمنی لوامیزول وارگوسان بر ماهی کپور معمولی توسط علیشاهی و همکاران (Alishahi *et al*., 2011) اختلاف معنی‌داری در شاخص‌های گلبولی، بین محرک‌های ایمنی و عصاره گیاهی با گروه شاهد مشاهده نشد که با نتایج حاصل از این مطالعه مغایر می‌باشد.

فراوانی لنفوسیت‌ها به شدت تحت تأثیر فصل، دما، سن و مواد آلاینده محیطی می‌باشد. به‌طوری‌که با سرد شدن هوا و کاهش دمای آب (Collazos *et al*., 1998)، وجود مواد سمی و دارویی به شدت کاهش می‌یابد ولی در فصول گرم و بلوغ و افزایش سن (Bahmani *et al*., 2001) افزایش می‌یابد. در مطالعه حاضر بررسی لنفوسیت‌ها و نوتروفیل‌ها اختلاف معنی‌داری را بین سطوح مختلف زنجبیل و گروه شاهد نشان می‌دهد به‌طوری‌که بیشترین میزان درصد لنفوسیت در تیمار تغذیه شده با بیشترین میزان زنجبیل و کم‌ترین مقدار در گروه شاهد دیده می‌شود. ولی در مورد نوتروفیل کم‌ترین مقدار در تیمار تغذیه شده با بیشترین سطح زنجبیل دیده می‌شود و بین سایر تیمارها و گروه شاهد اختلاف معنی‌داری دیده نمی‌شود. در بررسی تعداد مونوسیت‌ها و ائوزینوفیل‌ها اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای مختلف تغذیه شده با زنجبیل و گروه شاهد دیده نمی‌شود.

افزودن پودر زنجبیل به جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، موجب افزایش درصد لنفوسیت شدکه نتایج مطالعه حاضر با آن همراستا می‌باشد ولی در این مطالعه افزایش درصد نوتروفیل هم دیده می‌شود که نتایج حاصل از مطالعه حاضر با آن مغایرت دارد (Nya and Austin, 2009). همچنین فضل‌اله‌زاده و همکاران (Fazlolahzadeh *et al*., 2011) افزایش درصد لنفوسیت و کاهش درصد

Downloaded from jair.gonbad.ac.ir at 17:15 +0330 on Tuesday February 20th 2018

نوتروفیل را در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با پودر سیر نشان دادند که نتایج مطالعه حاضر با آن همراستا می‌باشد.

نتایج حاصل از بررسی شاخص‌های رشد، فاکتورهای خونی و پارامترهای موکوسی در این مطالعه ممکن است تحت تأثیر ترکیبات معدنی موجود در زنجبیل قرار گرفته باشد. زیرا طی برخی از مطالعات صورت گرفته تأثیر این ترکیبات بر سیستم ایمنی ماهی گزارش شده است از جمله سلنیوم، که به‌عنوان یک ریز مغذی ضروری در جیره غذایی ماهی عمل می‌کند و می‌تواند باعث بهبود وظایف سیستم ایمنی گردد (Lorentzen *et al*., 1994; Beck *et al*., 1995 a, b; Lin and Shiau, 2005) به‌علاوه در تحقیقات دیگر در سایر حیوانات بیان شده است که سلنیوم باعث بهبود رشد، تکامل، مقاومت نسبت به عفونت‌ها و سیستم ایمنی می‌گردد (Hintze *et al*., 2001; Beck *et al*., 2004; Whanger, 2004; Popham *et al*., 2005; Zeng and Combs, 2008). همچنین تحقیقات دیگر نشان می‌دهد که بهبود شاخص‌های رشد و پاسخ‌های سیستم ایمنی در ماهی وابستگی مستقیمی به وجود مکمل‌هایی مانند ویتامین E (Hardie *et al*., 1990; Obach *et al*., 1993)، ویتامین C (Hardie *et al*., 1991)، فیبر (Graham *et al*., 1988)، کولین کلراید و کلسیم پانتوتنات (Yano *et al*., 1988)، روی و مس (Lee and Shiau, 2002; Shiau and Jiang, 2006) و نیز میزان سطوح استفاده شده از زنجبیل داشته باشد. با توجه به اینکه نتایج این مطالعه می‌تواند همراستا با برخی از نتایج و مغایر با برخی از نتایج مطالعات مختلف باشد می‌توان دلیل این پدیده را در ترکیبات موجود در زنجبیل و میزان استفاده شده از آن دانست. بنابراین انجام تحقیقات بیشتر و تخصصی‌تر بر روی پودر زنجبیل و استفاده از دوزهای مختلف پیشنهاد می‌شود.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از زحمات بی دریغ آقای دکتر علی جافر کارشناس آزمایشگاه تکثیر و پرورش دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان و آقای محسن خلیلی قدردانی می‌گردد.

منابع

Adel A., Abedian Amiri A., Zorriehzahra J., Nematolahi A., Angeles Esteban M. 2015. Effects of dietary peppermint (*Mentha piperita*) on growth performance, chemical body composition and hematological and immune parameters of fry Caspian white fish *(Rutilus frisii kutum)*. Fish and Shellfish Immunology, 45(2): 841-847.

Downloaded from jair.gonbad.ac.ir at 17:15 +0330 on Tuesday February 20th 2018

Afzal M., Al-Hadidi Menon M., Pesek J., Dhami M.S. 2001. Zinger: an ethno-medical, chemical and pharmacological review. Drug Metabolism. Drug Interact, 18: 159-190.

Agarwa M., Walia S., Dhingra S., Khambay B.P.S. 2001. Insect growth inhibition, antifeedant and antifungal activity of compounds isolated/derived from Zingiber of *Rcinale roscoe* (ginger) rhizomes. Pest Management Science, 57: 289-300.

Ai Q., Mai K., Zhang L., Tan B., Zhang W., Xu W., Li H. 2007. Effects of dietary b-1, 3 glucan on innate immune response of large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*). Fish and Shellfish Immunology, 22: 394-402.

Alishahi M., Soltani M., Mesbah M., Esmailirad A. 2011. The effect of oral administration of the extract (*Silybum marianum*) the immune response of common carp (*Cyprinus carpio*). Journal of Veterinary Research, 66(3): 255-263.

Arulvasu Ch., Mani K., Chandhirasekar D., Prabhup D., Sivagnanam Sh. 2013. Effect of dietary administration of Zingiber Officinale on growth, survival and immune response of Indion major carp, *Catla catla* (Ham). International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 5(2): 108–115.

Bahmani M., Kazemi R., Donskaya P. 2001. A comparative study of some hematological features in young reared sturgeon. Fish Physiology and Biochemistry, 24: 135-140.

Bahmani M., Kazemi R., Hallajian A., Mohseni M., Pourdehghani M., Jamily Sh., Jamalzadeh F. 2007. Study of the artificial propagation possibility in reared Stellate sturgeon (*Acipenser stallatus)*. Iranian Fisheries Research Organization Publication. 130P.

Bani A., Haghi Vayghan A. 2011. Temporal variations in haematological and biochemical indices of the Caspian kutum (*Rutilus frisii kutum*). Ichthyological Research, 58(2): 126-133.

Beck M., Handy J., Levander O.A. 2004. Host nutritional status: the neglected virulence factor. Trends Microbiology, 12: 417-423.

Beck M., Kolbeck P., Rohr L., Shi Q., Morris V., Levander O. 1995a. Benign human enterovirus becomes virulent in selenium-deficient mice. Journal of Medical Virology, 43: 166–170.

Beck M., Shi Q., Morris V., Levander O. 1995b. Rapid genomic evolution of a non-virulent coxsackievirus B3 in selenium deficient mice results in selection of identical virulent isolates. Nature Medicine, 1: 433–441.

Benny K.H., Tan B.K., Vanitha J. 2004. Immunomodulatory and antimicrobial effects of some traditional Chinese medicinal herbs: a review. Current Medicinal Chemistry, 11: 1423–1430.

Bricknell I., Dalmo R.A. 2005. The use of immunostimulants in fish larval aquaculture. Fish and Shellfish Immunology, 19(5): 457-72.

Campbell T.W. 2004. Hematology of lower vertebrates. 55th Annual Meeting of the American College of Veterinary Pathologists (ACVP) & 39th Annual

Downloaded from jair.gonbad.ac.ir at 17:15 +0330 on Tuesday February 20th 2018

Meeting of the American Society of Clinical Pathology (ASVCP), ACVP and ASVCP (Eds.), pp: 15-45.

Collazos M.E., Ortega E., Barriga C., Rodriguez B. 1998. Seasonal variation in haematologycal parameters in male and female (*Tinca tinca)*. Molecular and Cellular Biochemistry, 183: 165-168.

Denyer C.V., Jackson P., Loakes D.M., Ellis M.R., Young D.A.B .1994. Isolation of Antirhinoviral Sesquiterpenes from Ginger (*Zingiber officinale*). Jouml of Natural Product, 57(5): 658–662.

Dorucu M., Ozesen Colak S., Ispir U., Altinterim B., Celayir Y. 2009. The effect of Black Cumin Seeds, *Nigella sativa*, on the immune response of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Mediterranean Aquaculture Journal, 2(2): 1 -7.

Dugenci S.K., Arda N., Candan A. 2003. Some medicinal plants as immunostimulant for fish. Journal of Ethnopharmacology, 88: 99-106.

Ekanem J. T., Yusuf O.K. 2008. Some biochemical and haematological effects of black seed (*Nigella sativa*) oil on Trypanosoma brucei-infected rats. African Journal of Biotechnology, 4(3): 153-157.

Ernst E., Pittler M.H. 2000. Efficacy of ginger for nausea and vomiting :a systematic review of randomized clinical trials . British Journal of Anaesthesia, 84: 367-371.

Esteban M.A., Cruesta A., Ortuno J., Meseguer J. 2001. Immunomodulatory effects of dietary intake of chitin on gilthead (*Sparus aurata* L.) innate immune system. Fish and Shellfish Immunology, 11(4): 303-15.

Fast M.D., Sims D.E., Burka J.F., Mustafa A., Ross N.W. 2002. Skin morphology and humoral non-specific defense parameters of mucus and plasma in rainbow trout, coho and Atlantic salmon. Comparative Biochemistry and Physiology, 132A: 645-657.

Fazlolahzadeh F., Keramati K., Nazifi S., Shirian S., Seifi S. 2011. Effect of Garlic (*Allium sativum*) on Hematological Parameters and Plasma Activities of ALT and AST of Rainbow trout in Temperature Stress. Australian Journal of Basic and Applied Sciences, 5(9): 84-90.

Goldenfarb P.B., Bowyer F.P., Hall T., Brosious E. 1971. Reproducibility in the hematology laboratory: the microhematocrit determination. American Journal of Clinical Pathology, 56: 35–39.

Graham H., Lowgren W., Pettersson D., Aman P. 1988. Effect of enzyme supplementation on digestion of a barley/pollardbased pig diet. Nutrition reports international, 38: 1073-1079.

Grzanna R., Lindmark L., Frondoza C.G. 2005 . Ginger—anherbal Medicinal Product with Broad Anti-Inflammatory Actions . Journal Medicinal of Food, 8: 125-130.

Downloaded from jair.gonbad.ac.ir at 17:15 +0330 on Tuesday February 20th 2018

Hardie L.J., Fletcher T.C., Secombes C.J. 1990. the effect of vitamin E on the immune responses of the Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). Aquaculture, 87: 1–13.

Hardie L.J., Fletcher T.C., Secombes C.J. 1991. The effect od dietary vitamin C on the immune responses of the Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). Aquaculture, 95: 201–214.

Harikrishnan R., Nisha M.R., Balasundaram C. 2003. Hematological and biochemical parameters in common carp, *Cyprinus carpio*, following herbal treatment for Aeromonas hydrophilainfection. Aquaculture, 221: 41-50.

Harikrishnan R., Balasundaram C., Heo M.S. 2009. Herbal supplementation diets effects on hematology and innate immunity in goldfish. Fish and Shellfish Immunology, 28: 211-225.

Hernandez L.H.H., Barrera T.C., Mejia G.C., Del Carmen M., Dosta M., Del Lara Andrade R., Sotres J.A. 2010. Effect of the Carmmerical probiotic *Lactobacillus casei* on the growth, protein content of skin mucus and stress resistance of juveniles of the Porthole Livebearer *Poecilopsis gracilic* (Poecilidae). Aquaculture Nutrition, 16: 407-411.

Hintze K.J., Lardy G.P., Marchello M.J., Finley J.W. 2001. Areas with high concentrations of selenium in the soil and forage produce beef with enhanced concentrations of selenium. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 49(2): 1062-7.

Hirahara F. 1974. Anti-oxidative activity of various spices on oils and fats.1. Anti oxidative activity towards oxidation on storage and heating. The Japanese Journal of Nutrition and Dietetics, 32(1): 1-8.

Hoseinifar S.H., Mirvaghefi A., Merrifield D.L., Mojazi Amiri B., Yelghi S., Darvish Bastami K. 2011. The study of some haematological and serum biochemical parameters of juvenile beluga (*Huso huso*) fed oligofructose. Fish Physiology and Biochemistry, 37: 91-96.

Ingram G.I. 1980. Substances involved in the natural resistance of fish toinfection—a review. Journal of Fish Biology, 16(1): 23–60.

Iwama G., Nakanishi T. 1997. The Fish Immune System: Organism, Pathogen, and Environment (Fish Physiology). Academic Press, London, UK. 395 P.

Jagetia G.C., Baliga M.S., Venkatesh P., Ulloor J.N. 2003. Influence of ginger rhizome (*Zingiber officinale Rose*) on survival, gluthathione and lipid peroxidation in mice after whole body exposure to gamma radiation. Radiation Research, 160: 584-592.

Jain J., Wu Z. 2004. Influences of traditional Chinese medicine on non-specific immunity of Jian Carp (*Cyprinus carpiovar*. Jian). Fish and Shellfish Immunology, 16: 185-191.

Kapoor L.D. 2000. Handbook of Ayurvedic Medicinal Plants: Herbal Reference Library. CRC Press. 424 P.

Downloaded from jair.gonbad.ac.ir at 17:15 +0330 on Tuesday February 20th 2018

Kazemi R., Pourdehghani M., Yousefi Jourdehi A., Yarmohammadi M., Nasri Tajan M. 2010 .Cardiovascular system physiology of aquatic animals and applied techniqes of fish haematology. Bazorgan Publishcation, Rasht, Iran. 194P.

Kim J.K., Kim Y., Na K.M., Surh Y.J., Kim T.Y. 2007 . Gingerol prevents UVB-induced ROS production and COX-2 expression in vitroand in vivo. Free Radical Research, 41: 603–614.

Krishnakantha T., Lokesh B. 1993. Scavenging of superoxide anions by spice principles. Indian Journal of Biochemistry and Biophysics, 30: 133–134.

Lee M.H., Shiau S.Y. 2002. Dietary copper requirement of juvenile grass shrimp, *Penaeus monodon*, and effects on non-specific immune responses. Fish and Shellfish Immunology, 13: 259-270.

Lin Y.H., Shiau S.Y. 2005. Dietary selenium requirements of juvenile grouper *Epinephelus malabaricus*. Aquaculture, 250: 356-363.

Lorentzen M., Maage A., Julshamn K. 1994. Effects of dietary selenite or selenomethioneine on tissue selenium levels of Atlantic salmon (*Salmo salar*). Aquaculture, 121: 359-367.

Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. Journal of Biological Chemistry, 1951: 193:265-75.

MacArthur J.I., Fletcher T.C. 1985. Phagocytosis in fish. In: Manning M.J., Tatner M.F. (Eds.). Fish Immunology, Academic Press, London, pp: 29–46.

Ndong D., Fall J. 2011. The effect of garlic (*Allium sativum*) on growth and immune responses of hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* x *Oreochromis aureus*). National Taiwan Ocean University Keelung, Taiwan. 202 P.

Nicoll R., Henein M.Y. 2007. Ginger (*Zingiber officinale Roscoe*): A hot remedy for cardiovascular disease?. International Journal of Cardiology, 131: 408-409.

Nya E.J., Austin B. 2009. Use of dietary ginger, (*Zingiber officinale*) Roscoe, as an immunostimulant to control *Aeromonas hydrophilla* infections in rainbow trout, (*Oncorhynchus mykiss*) (Walbaum). Journal of Fish Diseases, 32: 971-977.

Obach A., Quentel C., Baudin Laurencin F. 1993. Effects of alpha-tocopherol and dietary oxidized fish oil on the immune response of sea bass *Dicentrarchus labrax*. Disease of Aquatic Organism, 13: 175–185.

Paykan Heyrati F., Mostafavi H., Toloee H., Dorafshan S. 2007. Induced spawning of kutum, *Rutilus frisii kutum* (Kamenskii, 1901), using (D-Ala^{6}- Pro^{9}- Net) GnRHa combined with domperidone. Aquaculture, 265: 288-293.

Popham H.J.R., Shelby K.S., Popham T.W. 2005. Effect of dietary Se supplementation on resistance to baculovirus infection. Biological Control, 32: 419-426.

Downloaded from jair.gonbad.ac.ir at 17:15 +0330 on Tuesday February 20th 2018

Prasad G., Priyanka G.L. 2011. Effect of fruit rind extract of garcinia gummi-gutta on haematology and plasma biochemistry of catfish *Pangasianodon hypophthalmus*. Asian Journal of Biochemistry, 6(3): 240-251.

Raa J. 1996. The use of immuno-stimulatory substances in fish and shellfish farming. Reviews in Fisheries Science, 4(3): 229-288.

Rabitto I.S., Costa J.R.M.A., Silva de Assis H.C., Randi M.A.F., Akaishi F.M., Pelletier E., Oliveira Ribeiro C.A. 2005. Dietary Pb(II) and TBT (tributyltin) exposures to neotropical fish *Hoplias malabaricus*: Histopathological and biochemical findings. Ecotoxicology Environmental Safty, 60: 147–156.

Rezaei M.H., Syrinezhad A., Soltanian S., Yousefzadi M. 2013. The effect of the extract (*Zhumeria majdae*) In the diet on growth, hematology and immunology catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*). Journal of Aquatic Ecology, 3(1): 8-19.

Roosta Z., Hajimoradlo A., Hoseinifar S.H., Vakili F. 2013. The effects of different levels of probiotics (*Lactobacillus acidophilus*) on antibacterial activity and safety indicators mucous Tiger Barb (*Puntius tetrazona*). Journal of Aquatic Ecology, 3(2): 13–20.

Ross N.W., Firth K.J., Wang A., Burka J.F., Johnson S.C. 2000. Changes in hydrolytic enzyme activities of naïve Atlantic salmon *Salmo salar* skin mucus due to infection with the salmon louse *Lepeophtheirus salmonis* and cortisol implantation. Diseases of Aquatic Organisms, 41: 43-51.

Sahu S., Das B.K., Pradhan J., Mohapatra B.C., Misra B.K., Sarangi N.N. 2007. Effect of *Mangifera indica* kernal as a feed additive in immunity and resistance to *Aeromonas hydrophila* in *Labeo rohita* fingerlings. Fish and Shellfish Immunology, 23: 109-118.

Sakai M. 1999. Current research status of fish immunostimulants. Aquaculture, 172: 63-92

Sang S., Hong J., Wu H., Liu J., Yang C.S., Pan M.H., Badmev V., HO C.H.T. 2009. Increased Growth Inhibitory Effects on Human Cancer Cells and Anti-inflammatory Potency of Shogaols from (*Zingiber officinale*) Relative to Gingerols . Journal of Aqricultural and Chemistry, 57: 10645 -10650.

Satheeshkumar P., Ananthan G., Senthil Kumar D., Jagadeesan L. 2011. Haematology and biochemical parameters of different feeding behaviour of teleost fishes from Vellar estuary, India. Comparative Clinical Pathology, 21: 1187-1191.

Sharifian M. 2013. The effect of different levels of vitamin A on the epidermis mucus antibacterial properties roach (*Rutilus rutilus caspicus*). Master thesis. Faculty of Fisheries and the Environment. Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources.

Sheikhzadeh N., Heidarieh M., Karimi Pashaki A., Nofouzi K., Ahrab Farshbafi M., Akbari M. 2012a. Effects of dietary Ergosan on cutaneous mucosal immuno

Downloaded from jair.gonbad.ac.ir at 17:15 +0330 on Tuesday February 20th 2018

responsein rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Fish and Shellfish Immunology, 32: 1083-1087.

Sheikhzadeh N., Heidarieh M., Karimi Pashaki A., Nofouzi K., Ahrab Farshbafi M., Akbari M. 2012b. Hilyses, Fermented *Saccharomyces cerevisiae*, enhances the growth performance and skin non-specific immune parameters in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Fish and Shellfish Immunology, 32: 407-410.

Shiau S.Y., Jiang L.C. 2006. Dietary zinc requirements of grass shrimp, *Penaeus monodon*, and effects on immune responses. Aquaculture, 254: 476-82.

Soltani M. 1998. Antibacterial properties of fish skin mucus. Journal of Veterinary Medicine, Tehran University, (1): 30-34.

Subramanian S., MacKinnon Sh.L., Ross N.W. 2007. A comparative study on innate immune parameters in the epidermal mucus of various fish species. Comparative Biochemistry and Physiology, 148: 256-263.

Swain P.S., Dash P.K., Sahoo P., Routray S.K., Sahoo S.D., Gupta P.K., Meher N. 2006. Nonspecific immune parameters of brood Indian major carp *Labeo rohita* and their seasonal variations. Fish and Shellfish Immunology, 22: 38-43.

Vasala P.A. 2012. Ginger. In: Peter K.V. (Eds.) Handbook of herbs and spices. Woodhead Publishing Limited, India, pp: 319-335.

Vasudeva Rao Y., Romesh M., Singh Chakrabarti R. 2004. Potentiation of antibody production in Indian major carp *Labeo rohita*, rohu, by Achyranthes asperaas a herbal feed ingredient. Aquaculture, 238: 67-73.

Whanger P.D. 2004. Selenium and its relationship to cancer: an update. Britian Journal of Nutrition, 91: 11-28.

Yano T., Nakao M., Furuichi M., Yone Y. 1988. Effects of dietary choline, pantothenic acid and vitamin C on the serum complement activity of red sea bream. Nippon Suisan Gakkaishi (the official journal of the Japanese Society of Fisheries Science), 54(1): 141–144.

Zar J.H. 2009. Biostatistical analysis. 5th Edition, Pearson Publishing Ltd, UK. 960P.

Zeng H., Combs Jr.G.F. 2008. Selenium as an anticancer nutrient: roles in cell proliferation and tumor cell invasion. The Journal of Nutritional Biochemistry, 19(1): 1-7.

Zhou X., Li M., Abbas Kh., Wang W. 2009. Comparison of haematology and serum biochemistry of cultured and wild Dojo loach (*Misgurnus anguillicaudatus*). Fish Physiology and Biochemistry, 35(3): 435-441.

Downloaded from jair.gonbad.ac.ir at 17:15 +0330 on Tuesday February 20th 2018