



دانشگاه گنبد کاووس

نشریه "پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی"

دوره پنجم، شماره چهارم، زمستان ۹۶

<http://jair.gonbad.ac.ir>

تأثیر جیره حاوی پوست سیر بر عملکرد رشد و فعالیت برخی فراسنجه‌های

ایمنی غیر اختصاصی فیل‌ماهی جوان پرورشی (*Huso huso* (Linnaeus, 1758)

حسین چیت‌ساز^۱، حسین اورجی^{۲*}، عبدالصمد کرامت امیرکلایی^۲ و رضا اکرمی^۳

^۱استادیار گروه شیلات، واحد آزادشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، آزادشهر، ایران

^۲دانشیار گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران

^۳دانشیار گروه شیلات، واحد آزادشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، آزادشهر، ایران

تاریخ ارسال: ۹۵/۰۴/۰۹؛ تاریخ پذیرش: ۹۵/۰۶/۱۶

چکیده

سطوح مختلف پوست سیر در جیره غذایی بر عملکرد رشد و برخی مشخصه‌های ایمنی غیر اختصاصی فیل‌ماهیان جوان پرورشی (*H. huso*) پس از ۹۰ روز تغذیه مورد بررسی قرار گرفت. پودر پوست سیر در سطوح مختلف صفر، ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ درصد به جیره تجاری و پایه ماهی‌خاویاری حاوی ۳۳/۶۴ درصد پروتئین خام و ۸/۳۹ درصد چربی خام افزوده شد. در انتهای دوره پرورش خونگیری از ساقه دمی ماهیان به ظاهر سالم انجام گرفت و عملکرد رشد و فعالیت ایمونوگلوبولین (IgM) سرم، فعالیت لیزوزیم سرم و فعالیت مسیر جانبی کمپلمان سرم (ACH50) مورد بررسی قرار گرفت. افزایش معنی‌داری در درصد افزایش وزن در ماهیان تغذیه شده با سطح ۱/۵ درصد پودر پوست سیر بدست آمد ولی در سایر شاخص‌های رشد و تغذیه تفاوتی بین تیمارها مشاهده نگردید. در ماهیان تغذیه شده با سطح ۱/۵ درصد پوست سیر افزایش معنی‌داری در فعالیت سوپراکسید دیسموتاز مشاهده شد، اما در فعالیت ایمونوگلوبولین سرم، فعالیت لیزوزیم و فعالیت مسیر جانبی کمپلمان تفاوت معنی‌داری بین برخی تیمارهای آزمایشی و گروه شاهد مشاهده نگردید. در مجموع نتایج بدست آمده از این تحقیق نشان داد افزودن پوست سیر به جیره ماهیان جوان خاویاری پرورشی به ویژه در سطح ۱/۵ درصد می‌تواند منجر به بهبود شاخص‌های ایمنی گردد.

واژه‌های کلیدی: *H. huso*، پوست سیر، رشد، ایمنی

*نویسنده مسئول: hoseinoraji@yahoo.com

مقدمه

فیل‌ماهی یکی از مهمترین گونه‌های ماهیان خاویاری است که به دلیل کیفیت ممتاز خاویار و ارزش بالای اقتصادی از اهمیت فوق‌العاده‌ای برخوردار است (Hasanpour, 2015). همچنین این گونه به لحاظ دارا بودن شرایط خاص، از جمله عادت‌پذیری به غذاهای مصنوعی و کنسانتره و نیز ظرفیت رشد بالا و سریع از یک طرف و داشتن مقاومت در برابر شرایط نامناسب محیطی و سازگاری به شرایط پرورشی از طرف دیگر، دارای اهمیت فراوان از نظر آبی‌پروری می‌باشد (Pouralifatshami *et al.*, 2006; Vahedi, 2015; Mohseni *et al.*, 2007). متأسفانه در سال‌های اخیر به دلایل مختلفی از جمله صید بی‌رویه و غیر مجاز، آلودگی‌های زیست‌محیطی، از بین رفتن مناطق مناسب تخم‌ریزی، سدسازی بر روی رودخانه‌ها و محدود شدن آب‌های جاری از طرف سازمان جهانی حفاظت از طبیعت (IUCN) ماهیان خاویاری به‌عنوان گونه‌های در معرض خطر انقراض قرار گرفته است. در چنین شرایطی به جهت حمایت از ذخایر ماهیان خاویاری حوضه دریای خزر، توجه به پرورش تجاری آن از اهمیت ویژه‌ای برخوردار شده است. آنتی‌بیوتیک‌ها از جمله راهکارهای سنتی برای درمان بیماری‌ها و همچنین ماده محرک رشد در پرورش ماهی می‌باشند که می‌توانند رشد و کارایی تغذیه را در میزبان افزایش دهند و سبب بهبود قابلیت هضم و جذب مواد مغذی گردند (Rawles *et al.*, 1997; NOAH, 2001). اما استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها به عنوان یک افزودنی به جیره غذایی ماهیان پس از سال‌ها مشکلات عدیده‌ای از جمله ایجاد سویه‌های مقاوم در باکتری‌های بیماری‌زا، آلودگی‌های زیست‌محیطی، باقی‌ماندن دارو در بافت ماهی را به وجود آورده است. از طرف دیگر این مواد شیمیایی موجب ممانعت از رشد فلور باکتریایی مفید دستگاه گوارش ماهی می‌گردند که این باکتری‌ها دارای اثرات سودمندی بر سلامتی موجود می‌باشند (Mesalhy *et al.*, 2008). به همین دلیل استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در آبزیان در اغلب کشورها ممنوع یا با محدودیت شدیدی مواجه شده است. بنابراین یافتن جایگزینی مناسب برای آنتی‌بیوتیک‌ها ضروری به نظر می‌رسد (Buentello and Gatlin, 2010).

امروزه علاقه به مصرف مواد غذایی آلی و سازگار با محیط زیست در حال افزایش است. در نتیجه، محدودیت استفاده از محصولات شیمیایی در آبی‌پروری و استفاده از درمان‌های طبیعی می‌تواند سبب افزایش مصرف محصولات آبی‌پروری شود. کنترل بیماری‌های ماهی با استفاده از مواد دارویی نظیر آنتی‌بیوتیک‌ها مشکلاتی از قبیل توسعه باکتری‌های مقاوم در آینده، نگرانی‌هایی برای مصرف‌کننده، به‌دلیل باقیمانده‌های دارویی و نیز تأثیرات محیطی دارد (Otatake *et al.*, 2002). یکی از روش‌های جایگزین استفاده از محرک‌های ایمنی می‌باشد (Gannam and Schrock, 2011). محرک‌های ایمنی با تقویت سیستم ایمنی غیر اختصاصی مقاومت ماهی را در برابر بیماری‌های عفونی افزایش می‌دهند. این مواد به عنوان عوامل دارویی برای کنترل بیماری‌ها، از اهمیت زیادی برخوردار هستند چون فاقد هر

گونه اثرات منفی موجود در آنتی‌بیوتیک‌ها و واکسن‌های زنده بر محیط زیست هستند و چون جزء ترکیبات طبیعی محسوب می‌شوند، باقیمانده‌های داروئی نامطلوب ایجاد نمی‌کنند (Treves-Brown, 2007). از عملکردهای مهم محرک‌های ایمنی می‌توان به افزایش قدرت بیگانه‌خواری، افزایش تولید آنتی‌بادی، افزایش تولید لیزوزیم، افزایش مهاجرت گلبول‌های سفید و غیره اشاره نمود (Sakai, 1999). گیاهان دارویی با داشتن مزیت‌هایی 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 در رابطه با گیاهان دارویی همواره بعنوان جایگزین مناسب برای داروهای شیمیایی مورد توجه هستند (Ghasemi Pirbalouti, 2011). فرآورده‌های فراوانی از سیر در بازارهای بین‌المللی یافت می‌شود که از آنجمله می‌توان به روغن سیر، اسانس سیر، پودر سیر و عصاره سیر اشاره نمود. اما گزارش‌های محدودی در خصوص پوست سیر در تغذیه آبزیان پرورشی از جمله گربه ماهی کانالی (Thanikachalam, 2016) و ماهی کپور معمولی گزارش شده است (Taaghali, 2014).

با توجه به اینکه از سیر در سرتاسر دنیا و از جمله کشور ما برای معطر کردن و خوشمزه کردن انواع مختلف غذاها مورد استفاده قرار می‌گیرد ولی لایه بیرونی (پوست) آنها مورد استفاده قرار نگرفته و به عنوان ضایعات دور ریخته می‌شود، مطالعه حاضر جهت تعیین تأثیر استفاده از پودر پوست سیر به عنوان یک نوع محرک رشد و ایمنی طبیعی بر پارامترهای ایمنی فیل‌ماهی جوان پرورشی انجام شده است.

مواد و روش‌ها

این پژوهش به مدت ۹۰ روز در کارگاه تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید مرجانی وابسته به اداره کل شیلات استان گلستان انجام شد. در این مطالعه از بچه فیل‌ماهیان (*H. huso*) با ظاهری سالم و وزن تقریبی $18/41 \pm 0/89$ گرم استفاده شد. ابتدا مخازن با پرمنگنات پتاسیم (۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر) ضدعفونی شدند. جهت سازگاری ماهیان با شرایط مخازن آزمایشی ماهیان در ۵ مخزن ۲۰۰۰ لیتری و با تراکم ۳۰ عدد ماهی در هر مخزن و به مدت ۲ هفته نگهداری و با غذای تجاری تغذیه شدند. پس از سازگاری اولیه بچه‌ماهیان و زیست‌سنجی آنها با ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۱ گرم در ۱۵ مخزن ۲۰۰۰ لیتری با تراکم ۱۰ عدد و دبی ورودی ۳ لیتر بر دقیقه توزیع شدند. چیدمان مخازن به صورت تصادفی انتخاب شده بود تا تیمارها و تکرارهای مختلف در شرایط یکسان محیط آزمایشگاهی قرار گیرند. عوامل فیزیکی و شیمیایی آب شامل درجه حرارت، اکسیژن محلول و pH همه روزه به وسیله دستگاه‌های دیجیتالی (مدل TWT کشور آلمان) اندازه‌گیری شد. اکسیژن محلول بین ۷-۹ میلی

گرم در لیتر، pH آب در محدوده ۸/۱۵ - ۷/۲۵ و دامنه تغییرات درجه حرارت آب نیز بین ۲۲-۱۸ درجه سانتی‌گراد ثبت گردید. جهت تهیه پودر پوست سیر ابتدا سیر تازه را از بازار تهیه کرده سپس لایه بیرونی (پوست) آن را جدا کرده، شستشو داده و در نهایت در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد خشک گردید و در ادامه توسط میکسر کاملاً پودر شد. سپس پودر پوست سیر در سطوح ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ درصد به غذا اضافه شد. در این بررسی از طرح کاملاً تصادفی شامل ۴ سطح ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ درصد پوست سیر و در سه تکرار استفاده شد. جیره غذایی به صورت اکستروود و از شرکت فرادانه شهرکرد خریداری و مورد استفاده قرار گرفت. متوسط تجزیه غذایی، پروتئین خام ۳۳/۶۴٪، چربی خام ۸/۳۹٪، فیبر خام ۱/۸۳٪، رطوبت ۱۱٪ بود. برای تهیه جیره‌ها ابتدا غذای کنسانتره توسط میکسر پودر و نرم شد. سپس پوست سیر به آن اضافه و فرآیند مخلوط کردن به مدت ۱۰ دقیقه توسط میکسر ادامه یافت تا عصاره بطور یکنواخت در کل غذا پخش شود. سپس مقداری آب (۵۰۰ سی‌سی به ازای هر کیلوگرم) به مخلوط حاصل اضافه شد تا به صورت خمیر نرم و شکل پذیر در آمد. سپس به وسیله چرخ گوشت با قطر چشمه ۲-۴ میلی‌متر به رشته‌هایی تبدیل شد و در نهایت در سایه قرار گرفت تا با جریان هوا خشک شود. جیره ماهیان گروه شاهد نیز به همین شیوه بدون افزودن پوست سیر آماده شد. تغذیه بچه‌ماهیان روزانه ۳ بار به صورت دستی در ساعات ۰۸:۰۰، ۱۴:۰۰ و ۲۰:۰۰ بر اساس ۵٪ بیومس صورت گرفت (Razeghi Mansour *et al.*, 2012). غذا حداکثر ظرف مدت ۵ دقیقه مورد مصرف ماهیان قرار می‌گرفت. در محاسبه غذای خورده شده روزانه اگر بچه‌ماهی تلف شده‌ای در هر روز مشاهده می‌شد فرض بر این بود که غذا توسط آن ماهی مصرف نشده است. بر اساس نتایج بدست آمده از زیست-سنجی برخی از مهمترین شاخص‌های متداول رشد و تغذیه شامل درصد افزایش وزن، نرخ رشد ویژه و ضریب تبدیل غذایی مورد بررسی قرار گرفت.

نمونه‌گیری: در پایان دوره پرورش که به مدت ۹۰ روز به‌طول انجامید، پس از گذشت ۲۴ ساعت از زمان قطع تغذیه و اطمینان از دفع کامل محتویات لوله گوارش، نمونه‌برداری از ماهیان جهت خونگیری آغاز شده و برای این منظور ۳ ماهی به ازای هر تکرار (۹ ماهی به ازای هر تیمار) بطور تصادفی از هر تکرار نمونه‌گیری شده و در محلول عصاره گل میخک با دوز ۲۰۰pm بیهوش و پس از خشک کردن آب بدن، خونگیری انجام خواهد شد (Ahmadifard *et al.*, 2012). عملیات خونگیری با استفاده از سرنگ ۲ سی‌سی از سیاهرگ دمی واقع در پشت باله مخرجی صورت گرفت. از نمونه‌های خون جمع آوری شده مقدار ۲ سی‌سی برای جداسازی سرم در نمونه‌های سرولوژی فاقد ماده ضد انعقاد تقسیم گردید. سپس با استفاده از سانتریفوژ با دور ۳۰۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۵ دقیقه سرم جدا و با سمپلر در نمونه‌های کوچک تخلیه و در مجاورت یخ به آزمایشگاه انتقال و در شرایط فریزر (دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد) تا انجام آزمایش نگهداری می‌شوند (Alishahi, *et al.*, 2010). برای تعیین میزان

لیزوزیم از روش ارائه شده توسط ساهو (Sahoo, 2000) استفاده شد. از نمونه سرم خون باقیمانده بمنظور تعیین غلظت ایمنوگلوبولین کل (Total IgM) از کیت شرکت پارس آزمون و با دستگاه اتوانالایزر مدل Eurolyser ساخت کشور اتریش استفاده گردید. فعالیت سوپراکسیددسموتاز (SOD) سرم از طریق اسپکتروفتومتر و به روش ferricytochrome C با استفاده از اکسیداز زانتین/گزانتین به عنوان منبع رادیکال‌های سوپراکسید اندازه‌گیری شد. فعالیت مسیر عامل مکمل (CH50%) از روش ارائه شده توسط یانو (Yano, 1992) با استفاده از سلول‌های قرمز خون خرگوش مورد سنجش قرار گرفت. حجمی از سرم رقیق شده که به ازای آن نیمی از گلوبول قرمز تحلیل می‌روند بعنوان CH50 در نظر گرفته می‌شود. برای مقایسه کلی بین تیمارها از آزمون تجزیه واریانس یک‌طرفه و در صورت معنی‌دار بودن برای مقایسه میانگین بین تیمارها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن استفاده شد. آنالیز داده‌ها در محیط نرم‌افزاری SPSS-16 و اکسل انجام گردید.

نتایج

نتایج حاصل از بررسی شاخص‌های رشد در انتهای دوره آزمایش بیانگر افزایش معنی‌دار درصد افزایش وزن در ماهیان تغذیه شده با سطح ۱/۵ درصد پوست سیر در جیره بود در حالی که در سایر شاخص‌های رشد و تغذیه حاکی از عدم وجود تفاوت معنی‌دار بین ماهیان تغذیه شده با سطوح مختلف پودر پوست سیر و ماهیان گروه شاهد بود ($p > 0.05$). با این وجود بهترین عملکرد رشد و تغذیه در تیمار ۱/۵٪ پوست سیر در جیره بدست آمد (جدول ۱).

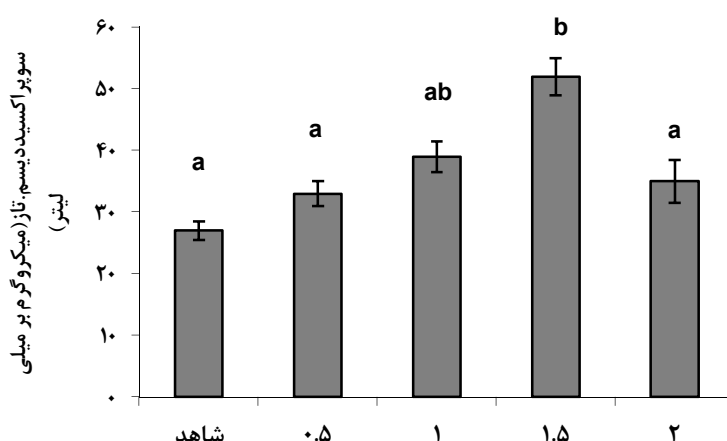
جدول ۱- میانگین برخی شاخص‌های رشد (میانگین $\pm$ انحراف معیار) فیل‌ماهی (*H. huso*) جوان پرورشی تغذیه‌شده با سطوح مختلف پودر پوست سیر

پارامتر	شاهد	۰/۵ درصد	۱ درصد	۱/۵ درصد	۲ درصد
درصد افزایش وزن	۵۱۷/۹ $\pm$ ۴۳/۵	۵۲۲/۵ $\pm$ ۳۵/۸۶	۵۲۴/۳ $\pm$ ۳۴/۵۲	۵۸۶/۵ $\pm$ ۳۱/۸	۵۱۸/۴ $\pm$ ۳۷/۹۱
نرخ رشد ویژه (درصد در روز)	۳/۰۳ $\pm$ ۰/۰۱	۳/۱۹ $\pm$ ۰/۰۱	۳/۱۳ $\pm$ ۰/۰۱	۳/۱۵ $\pm$ ۰/۰۱	۳/۱۰ $\pm$ ۰/۰۱
ضریب تبدیل غذا	۰/۹ $\pm$ ۰/۰۱	۰/۹۲ $\pm$ ۰/۰۱	۰/۸۹ $\pm$ ۰/۰۱	۰/۸۷ $\pm$ ۰/۰۱	۰/۹۱ $\pm$ ۰/۰۱
غذای خورده شده روزانه (درصد در روز)	۳/۱۹ $\pm$ ۰/۰۱	۳/۲۹ $\pm$ ۰/۰۱	۳/۰۲ $\pm$ ۰/۰۱	۳/۱۷ $\pm$ ۰/۰۱	۳/۲۱ $\pm$ ۰/۰۱
نسبت کلرایی پروتئین	۳/۰۹ $\pm$ ۰/۱۱	۳/۱۲ $\pm$ ۰/۰۱	۳/۱۳ $\pm$ ۰/۰۱	۳/۲ $\pm$ ۰/۱۵	۳/۱۹ $\pm$ ۰/۰۱

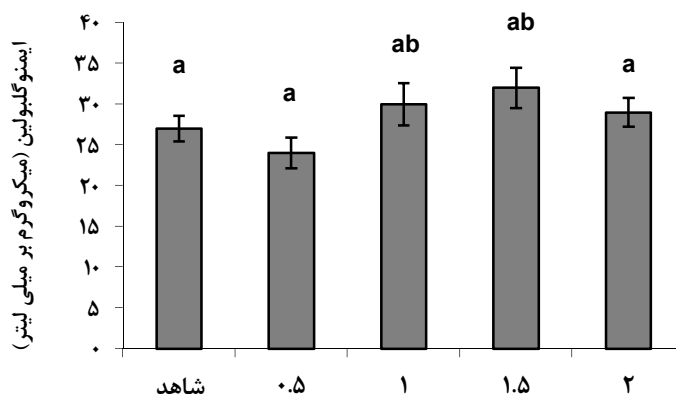
عدم وجود حروف لاتین در هر سطر نشانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین داده‌ها می‌باشد ($p < 0.05$).

نتایج مربوط به شاخص‌های ایمنی در شکل‌های ۱ تا ۴ نشان داده شده است. نتایج حاکی از افزایش شاخص‌های ایمنی در ماهیان تغذیه‌شده با سطوح متفاوت پودر پوست سیر در مقایسه با گروه

شاهد بود بطوریکه تیمار ۱/۵ بیشترین مقدار مشخصه‌های ایمنی را در بین تیمارهای تحت بررسی به خود اختصاص داد ($p < 0.05$). در شاخص سوپراکسید دیسموتاز تفاوت معنی‌داری بین ماهیان تغذیه شده با سطح ۱/۵ پوست سیر با گروه شاهد رویت شد ولی در سایر شاخص‌های ایمنی تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد.

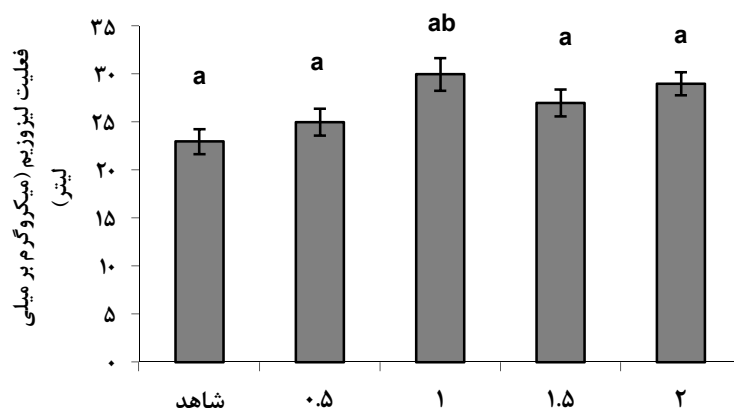


شکل ۱- فعالیت سوپراکسید دیسموتاز (SOD) فیل ماهی (*H. huso*) جوان پرورشی تغذیه شده با پودر پوست سیر در مقایسه با گروه شاهد. ستون‌هایی که دارای حروف غیرمشابه هستند اختلاف معنی‌داری دارند.

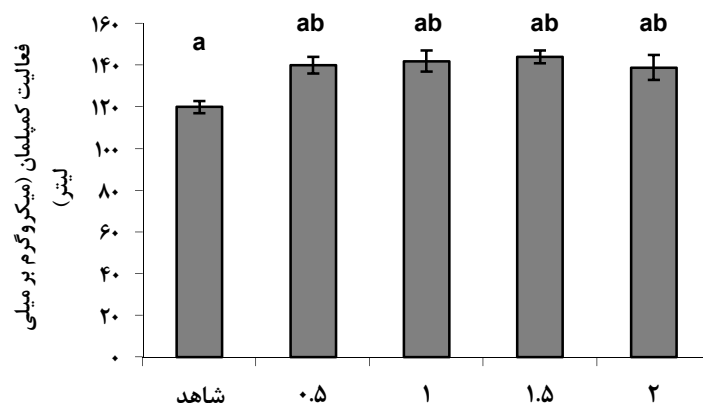


شکل ۲- غلظت ایمونوگلوبولین (Ig) سرم خون فیل ماهی (*H. huso*) جوان پرورشی تغذیه شده با جیره غذایی حاوی سطوح مختلف پودر پوست سیر در مقایسه با گروه شاهد. ستون‌هایی که دارای حروف غیرمشابه هستند اختلاف معنی‌داری دارند.

تأثیر جیره حاوی پوست سیر بر عملکرد رشد و فعالیت برخی فراسنجه‌های...



شکل ۳- فعالیت لیپوزیم سرم خون فیل ماهی (*H. huso*) جوان پرورشی تغذیه شده با پودر پوست سیر در مقایسه با گروه شاهد. ستون‌هایی که دارای حروف غیرمشابه هستند اختلاف معنی‌داری دارند.



شکل ۴- سنجش کمپلمان پلاسما (ACH50) خون فیل ماهی (*H. huso*) جوان پرورشی تغذیه شده با جیره غذایی حاوی سطوح 0/5، 1/5 و 2 درصد پودر پوست سیر در مقایسه با گروه شاهد. ستون‌هایی که دارای حروف غیرمشابه هستند اختلاف معنی‌داری دارند.

بحث و نتیجه‌گیری

استفاده از مواد شیمیایی در آبی‌پروری به طور گسترده‌ای جهت پیشگیری و درمان استفاده می‌شود، اگرچه استفاده از داروهای شیمیایی دارای اثرات منفی متعدد بر سلامت انسان و محیط زیست (ایجاد سویه‌های مقاوم باکتری‌ها و تجمع در بافت‌ها) می‌باشد. از این‌رو، مدیریت بهداشتی در آبی

پروری باید بر اساس روش‌های دوستدار محیط‌زیست و پایدار صورت گیرد (Vaseeharan and Thaya, 2013).

بنا بر گزارش‌ها، فرآورده‌های گیاهی تحریک‌کننده اشتها و عامل افزایش وزن هستند و به عنوان محرک ایمنی عمل می‌کنند و دارای اثرات ضدباکتریایی و ضد عامل بیماری‌زا در آبزیان هستند، که به علت فعالیت مولکول‌هایی مانند آلکالوئیدها، ترپنوئیدها، ساپونین‌ها و فلاونوئیدها می‌باشد. در پوست سیر نیز مانند خود سیر ترکیبات زیست‌فعالی وجود دارد که خاصیت ضد باکتریایی داشته (Ifesan et al., 2014) به گونه‌ای که این ترکیبات می‌تواند تاثیر مثبتی بر تعادل میکروبی دستگاه گوارش داشته باشد. نتایج بررسی حاضر نشان داد تغذیه فیل‌ماهیان جوان پرورشی با سطوح مختلف پودر پوست سیر باعث بروز تفاوت معنی‌دار در شاخص‌های رشد نظیر وزن نهایی، نرخ رشد ویژه و فاکتور وضعیت نگردید. اگرچه افزایش معنی‌داری در درصد افزایش وزن بدن در ماهیان تغذیه شده با سطح ۱/۵ درصد پودر پوست سیر مشاهده شد. لذا احتمال می‌رود این سطح از پودر پوست سیر در جیره به‌عنوان عامل اشتهاآور و تحریک آنزیم‌های گوارشی عمل کرده است. بنابراین قابلیت هضم جیره افزایش یافته و منجر به افزایش رشد ماهیان شده است. نژادحسینی (Nejadhoseini, 2014) افزایش معنی‌داری را در شاخص افزایش وزن و نسبت کارایی پروتئین در ماهی کپور معمولی تغذیه شده در سطح ۱ درصد پوست سیر در گزارش کرد. تانیک‌چالام و همکاران (Thanikachalam et al., 2010) با افزودن سطوح مختلف پوست سیر را به جیره گربه ماهی کانالی گزارش کردند تفاوت معنی‌داری در شاخص‌های رشد و تغذیه نظیر افزایش وزن، نرخ رشد ویژه و ضریب تبدیل غذا بین گروه‌های آزمایشی و شاهد بدست نیامد. ابراهیمی و همکاران (Ebrahimi et al., 2010) اثرات افزودن اسانس سیر (*Allium sativum*) را بر شاخص‌های رشد و تغذیه فیل‌ماهیان جوان پرورشی (یک جیره فاقد اسانس سیر و آنتی‌بیوتیک، یک جیره حاوی آنتی‌بیوتیک اکسی‌تتراسایکلین به میزان ۳۰ mg/kg و چهار جیره با مقادیر مختلف ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم اسانس سیر) بررسی کردند. آنها دریافتند که بالاترین میزان وزن نهایی، بیشترین درصد افزایش وزن، بهترین راندمان پروتئین، بالاترین نرخ تولید پروتئین، کمترین ضریب مصرف غذا در تیمار حاوی ۱۵۰ mg/kg اسانس سیر مشاهده شد که با سایر تیمارها دارای تفاوت معنی‌دار بود.

در مجموع بر اساس نتایج این تحقیق افزودن ۱۵۰ mg/kg اسانس سیر به جیره غذایی فیل‌ماهیان جوان پرورشی جهت بهبود شاخص‌های رشد، تغذیه پیشنهاد گردید. نوبهار و همکاران (Nobahar et al., 2014) با افزودن سطوح مختلفی از پودر سیر خام (۰، ۱/۵، ۲ و ۳ درصد) به غذای فرموله شده گزارش کردند که درصد افزایش وزن بدن، ضریب رشد ویژه و درصد رشد روزانه در ماهیان تغذیه‌شده با جیره حاوی ۱/۵ درصد سیر افزایش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل نشان داد. همچنین ضریب

چاقی در همه ماهیان تغذیه‌شده با جیره حاوی سیر افزایش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل نشان داد ($p < 0.05$). ضریب تبدیل غذایی در تیمار تغذیه‌شده با جیره حاوی ۱/۵ درصد سیر کاهش معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل نشان داد. نوبهار و همکاران (Nobahar et al., 2014) تأثیر خوراکی گیاهان دارویی زنجبیل (*Zingiber officinale*)، سیر و گزنه (*Urtica dioica*) را به میزان ۱ درصد وزن غذا بر شاخص‌های رشد فیل‌ماهی پرورشی بررسی و گزارش کردند تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای حاوی مکمل گیاهی و گروه شاهد مشاهده نشد و استفاده از زنجبیل در جیره غذایی فیل‌ماهیان جوان می‌تواند در زمان محدود و معین باعث افزایش رشد این گونه گردد. قلی‌پور کنعانی و همکاران (Gholipourkanani et al., 2014) با افزودن ۱ گرم پودر زنجبیل به ازای ۱۰۰ گرم غذای جیره فیل‌ماهی پرورشی گزارش کردند که اختلاف معنی‌داری بین نرخ رشد ویژه، شاخص وضعیت، ضریب تبدیل غذا و درصد رشد روزانه گروه تیمار شده با گروه شاهد ندارد. اکرمی و همکاران (Akrami et al., 2015) با افزودن سطوح مختلف ۰/۵ و ۱ درصد پودر پیاز (*Allium cepa*) در جیره فیل‌ماهی پرورشی گزارش کردند بالاترین درصد افزایش وزن و نرخ رشد ویژه در تیمار ۱ درصد پودر پیاز در جیره بدست آمد ولی اثر معنی‌داری بر ضریب تبدیل غذایی فیل‌ماهی جوان پرورشی نداشت. واحدی (Vahedi, 2015) سطوح مختلف ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد عصاره زنجبیل را به مدت ۶۰ روز به جیره فیل‌ماهی پرورشی افزود و اظهار کرد اختلاف معنی‌داری در ضریب تبدیل غذایی، درصد افزایش وزن بدن، نرخ رشد ویژه، ضریب چاقی و نسبت کارایی پروتئین بین ماهیان تغذیه‌شده با جیره حاوی عصاره زنجبیل و گروه شاهد بدست نیامد. ولی وزن نهایی، افزایش توده زنده و غذای خورده شده به ازاء هر ماهی (گرم) در ماهیان تغذیه‌شده با عصاره زنجبیل افزایش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد نشان دادند.

ناظریان و همکاران (Nazerian et al., 2014) با اضافه کردن ۱۰ گرم در کیلوگرم پودر سیر و آکیناسه‌آ به جیره فیل‌ماهی گزارش کردند که ماهیان تیمار شده دارای بالاترین وزن نهایی و طول نهایی بودند و اختلاف معنی‌داری بین این دو گروه با گروه کنترل وجود داشت. همچنین نتایج مربوط به ضریب رشد ویژه، ضریب تبدیل غذایی و درصد افزایش وزن بدن، میانگین رشد، فاکتور وضعیت و سرعت رشد وزنی اختلاف معنی‌داری را در گروه سیر و آکیناسه‌آ نسبت به گروه کنترل نشان داد. نتایج این تحقیق نشان داد افزودن سیر و آکیناسه‌آ به جیره غذایی فیل‌ماهی قابلیت تأثیرگذاری بالایی بر افزایش عملکرد رشد و کارایی تغذیه در فیل‌ماهی پرورشی دارد و می‌تواند مکمل مناسبی برای جیره غذایی فیل‌ماهی باشد. افزایش علاقه به استفاده از افزودنی‌های گیاهی به عنوان محرک ایمنی ماهی در یک دهه گذشته افزایش یافته است. مطالعات متعدد نشان داد پارامترهای ایمونولوژیکی پس از تجویز در ماهی بهبود یافته و ماهی تحت درمان، افزایش فعالیت لیزوزیم، افزایش فعالیت انفجار تنفسی و افزایش پروتئین‌های پلاسما (گلوبولین و آلبومین) را نشان داده است (Vaseeharan and

Thaya, 2013). همچنین بهبود فاکتورهای رشد و تغذیه متعاقب تجویز این مکمل‌های غذایی را علاوه بر اثر مستقیم ماده موثره این مواد می‌توان به اثر آنها بر تحریک ایمنی غیر اختصاصی ماهی نسبت داد، چرا که بهبود فاکتورهای ایمنی ماهی به صورت غیر مستقیم بهبود شاخص‌های خونی و سلامت ماهی را نیز باعث می‌گردد. نتایج حاصل از پارامترهای ایمنی در مطالعه حاضر حاکی از افزایش معنی‌دار فعالیت سوپراکسیددیسموتاز در فیل‌ماهیان تغذیه شده با سطح ۱/۵ درصد پوست سیر در جیره بود. اگرچه افزایشی در سایر شاخص‌های ایمنی نظیر فعالیت لیزوزیم، کمپلمان و ایمونوگلوبولین سرم در ماهیان تغذیه‌شده با پوست سیر بدست آمد ولی این افزایش، تفاوت معنی‌داری با گروه شاهد نداشت. بنابراین می‌توان اظهار کرد افزودن پوست سیر به جیره باعث تحریک ایمنی شده است اگرچه در بسیاری از موارد، مکانیسم‌های مسئول پاسخ فیزیولوژیکی در ماهی هنوز ناشناخته است (Reverter et al., 2014).

افزایش متغیرهای ایمنی در ماهیان تغذیه شده با پودر پوست سیر را می‌توان به اثرات آنتی‌اکسیدانی مربوط به فلاونوئید موجود در آن نسبت داد که موجب غیرفعال کردن رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌شود (Wilson and Demmig-Adams, 2007). از سویی دلیل احتمالی افزایش شاخص‌های ایمنی در تیمار ۱/۵ درصد پودر پوست سیر در تحقیق حاضر را می‌توان به فعالیت تعدیل‌کنندگی پودر پوست سیر به‌عنوان محرک ایمنی به ترکیبات زیست‌فعال آن مربوط دانست. از طرفی پودر پوست سیر به‌دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی بالقوه‌اش به‌عنوان تضعیف‌کننده و نابودکننده رادیکال سوپراکسید و به‌عنوان یک مکانیسم حفاظتی احتمالی در مقابل مسمومیتی خودبخودی و کشندگی در نظر گرفته شده است. لیزوزیم یک پارامتر مهم دفاعی هم در مهره‌داران و هم در بی‌مهرگان می‌باشد. لیزوزیم یک آنزیم ضد باکتریایی است که توسط لوکوسیت‌ها، به خصوص مونوسیت‌ها، ماکروفاژها و نوتروفیل‌ها تولید می‌شود. این آنزیم پپتیدوگلیکان را در دیواره باکتری‌ها می‌شکند و بدین ترتیب به طور غیر اختصاصی از رشد میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا جلوگیری می‌کند. لیزوزیم در تسهیل بیگانه‌خواری نیز مشارکت دارد که این فرآیند، پاسخ ایمنی می‌باشد که سبب تسهیل عمل فاگوسیتوز می‌گردد. بنا بر گزارش تعقلی (Taaghali, 2014) افزایش معنی‌داری در فعالیت ایمونوگلوبولین (IgM)، فعالیت لیزوزیم و فعالیت کمپلمان (ACH50) در ماهیان کیپور تغذیه‌شده با سطح ۱/۵ گرم پوست سیر در هر کیلوگرم غذا مشاهده گردید. در همین راستا تانیکاچالام و همکاران (Thanikachalam et al., 2010) با افزودن سطوح مختلف پوست سیر (۰/۵، ۱، ۱/۵) به جیره گربه‌ماهی کانالی گزارش کردند که افزودن پوست سیر باعث افزایش مقاومت و تحریک ایمنی حتی در کمترین سطح آن در مقایسه با شاهد گردید که نتایج تحقیق حاضر را تایید می‌کند.

نتایج حاصل از پارامترهای ایمنی در تحقیق حاضر بیانگر افزایش معنی‌دار فعالیت لیزوزیم سرم در تیمار ۱/۵ درصد پودر پوست سیر نسبت به سایر تیمارها و گروه شاهد بود. افزایش لیزوزیم سرم نقش پودر پوست سیر در ارتقاء پاسخ ایمنی غیر اختصاصی در فیل ماهیان جوان پرورشی را تایید می‌نماید. بینایی و همکاران (Binaii *et al.*, 2014) با افزودن سطوح مختلف ۰، ۳، ۶ و ۱۲ درصد گزنه به جیره فیل ماهی جوان پرورشی اظهار کردند که بعد از ۴ هفته، تفاوت معنی‌داری در پارامترهای ایمنی نظیر لیزوزیم، انفجار تنفسی و ایمنوگلوبولین مشاهده نشد ولی در هفته هشتم پرورش افزایش معنی‌داری در فعالیت انفجار تنفسی و ایمنوگلوبولین مشاهده گردید که خود بیانگر این مطلب است که در برخی مواقع مقادیر بالا و مدت زمان طولانی برای اثربخشی محرک‌های ایمنی لازم است. قلی‌پور کنعانی و همکاران (Gholipourkanani *et al.*, 2014) با افزودن ۱ گرم پودر زنجبیل به ازای ۱۰۰ گرم غذا به جیره فیل ماهی پرورشی گزارش کردند که لیزوزیم تحت تأثیر این افزودنی گیاهی قرار نگرفت. اکرمی و همکاران (Akrami *et al.*, 2015) با افزودن سطوح مختلف ۰/۵ و ۱ درصد پودر پیاز به جیره فیل ماهی پرورشی گزارش کردند افزایش معنی‌داری در فعالیت لیزوزیم سرم، انفجار تنفسی و سوپراکسیددیسموتاز در تیمار ۱ درصد پودر پیاز در مقایسه با تیمار ۰/۵ درصد پودر پیاز و گروه شاهد بدست آمد. در مجموع بیان کردند استفاده از پودر پیاز در سطح ۱ درصد در جیره فیل ماهی جوان پرورشی می‌تواند شاخص‌های خونی و ایمنی را بهبود بخشد.

حسن‌پور و همکاران (Hasanpour *et al.*, 2015) با افزودن سطوح مختلف ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد عصاره زنجبیل در رژیم غذایی فیل ماهی افزایش معنی‌داری در فعالیت لیزوزیم سرم، فعالیت کمپلمان سرم و فعالیت ایمنوگلوبولین گزارش کرد ولی در فعالیت سوپراکسیددیسموتاز تفاوت معنی‌داری حاصل نشد. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد اضافه کردن ۱/۵ درصد عصاره زنجبیل به جیره غذایی فیل ماهی جوان پرورشی باعث بهبود شاخص‌های رشد، برخی فاکتورهای ایمنی شود. دلیل احتمالی نتایج تحقیق حاضر این است هر مکمل گیاهی یک منطقه خاص از سیستم ایمنی میزبان را تحریک می‌کند و یا این که مدت زمان برای القای پاسخ ایمنی بسته به نوع گیاه دارویی و با توجه به نوع پارامتر ایمنی متفاوت است. همچنین تفاوت در نتایج تحقیقات مختلف را می‌توان به تفاوت‌های گونه‌ای، شرایط محیطی پرورش، نوع مکمل گیاهی، آماده سازی و تأثیر گونه ماهی در پاسخ به مکمل گیاهی مورد استفاده ربط داد.

بنابراین استفاده از پوست سیر در سطح ۱/۵ درصد جیره در مزارع فیل ماهیان جوان پرورشی از جنبه‌های تولیدی و اقتصادی تأثیر مثبت در تحریک ایمنی این ماهی داشته و با توجه به دلایل مختلف از جمله عدم مشاهده تأثیر سوء بر سلامتی ماهی‌ها در طول مصرف، سهولت مصرف، هزینه‌های پائین تهیه و امکان تولید داخلی کاملاً عملی و قابل توصیه می‌باشد. اگرچه ایجاد یک روش استاندارد

شده از جمله روش‌های استخراج میتنی بر مولکول‌های زیست‌فعال موجود، غلظت مناسب مصرف عصاره و راه تجویز مناسب در آینده مورد نیاز می‌باشد.

منابع

- Ahmadifard N., Abedian Kenari A., Motamedzadegan A. 2012. Study of Proteases (Gastric, Intestine and Pancreas) Enzyme Activities of Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss*, fed partial substitution of dietary fish meal with rice bran protein concentrate. Journal of Fisheries-Iranian Journal of Natural Resources, 65(4): 365-376.
- Akrami R., Gharaei A., Razeghi Mansour M., Galeshi A. 2015. Effects of dietary onion (*Allium cepa*) powder on growth, innate immune response and hemato-biochemical parameters of Beluga (*Huso huso* Linnaeus, 1754) juvenile. Fish and Shellfish Immunology, 45: 828-834.
- Alishahi M., Ranjbar M.M., Ghorbanpour M., Peyghan R., Mesbah M., Razi J.M. 2010. Effects of dietary *Aloe vera* on some specific and nonspecific immunity in the common carp (*Cyprinus carpio*). International Journal of Veterinary Research, 4: 189-195.
- Binaii M., Ghiasi M., Farabi S.M., Pourgholam R., Fazli H., Safari R., Alavi S.E., Taghavi M.J., Bankehsaz Z. 2014. Biochemical and hemato-immunological parameters in juvenile beluga (*Huso huso*) following the diet supplemented with nettle (*Urtica dioica*). Fish and Shellfish Immunology, 36(1): 46-51.
- Buentello J.A., Gatlin D.M. 2010. Phosphorus availability in low-phytate mutant varieties of barley: digestibility studies with channel catfish and red drum. North American Journal of Aquaculture, 72 (2): 188-194
- Ebrahimi E., Tangestani R., Alizadehdooghkolaei E., Zare P. 2013 Effect of different levels garlic essence on growth performances, nutrition and body composition rate in Beluga fish (*Huso huso*). Journal of Marine Science and Technology, 11(4): 1-12.
- Gannam A.L., Schrock R.M. 2001. Immunostimulants in fish diets. In: Lim C, Webster CD (Eds.). Nutrition and Fish Health. Food Products Press. New York, Pp: 235-266.
- Ghasemi Pirbalouti A., Jahanbazi P., Enteshari Sh., Malekpoor F., Hamed B. 2010. Antimicrobial activity of some Iranian medicinal plants. Archives of Biological Sciences, 62(3): 633-641.
- Gholipour Kanani H., Nobahar Z., Kakoolaki Sh., Jafarian H. 2014. Effect of ginger- and garlic-supplemented diet on growth performance, some hematological parameters and immune responses in juvenile *Huso huso*. Fish Physiology and Biochemistry, 40: 481-490.

- Hasanpour M. 2015, Effect of Dietary Ginger (*Zingiber officinale*) extract on growth, biochemical and immunological parameters in juvenile *Huso huso*. MSc. Thesis, Khazar Institute of Higher Education (Nonprofit-Nongovernment), Mahmoudabad, Iran.
- Ifesan B.O.T., Fadipe E.A., Ifesan B.T. 2014. Investigation of antioxidant and antimicrobial properties of garlic peel extract (*Allium sativum*) and its use as natural food additive in cooked beef. Journal of Scientific Research and Reports, 3(5): 711-721.
- Mesalhy S., Nashwa A., Abdel A., Fathi M. 2008. Effect of garlic on the survival, growth, resistanc and quality of *Oreocheromis niloticus*. The World Fish Center, Research & Training Center for Africa & West Asia, pp. 277-296.
- Mohseni M., Pourkazemi M., Bahmani M., Pourali H.R., Sajjadi M.M. 2007. Effect of different dietary protein to energy ratios (P/E) on growth performance and body composition of farmed Persian sturgeon (*Acipenser persicus*). Iranian Scientific Fisheries Journal, 7(2): 157-170.
- Nazerian S., Gholipourkanani H., Jafarian H., Soltani M., Esmaeilimola E. 2014. Effect of Garlic Powdered Nutrition on Hematologic Indices of Beluga Fish (*Huso huso*). Breeding and Aquaculture Sciences Quaterly, 1(3): 69-78.
- Nejadhoseini A. 2014. Effect of garlic peel on growth performance, survival, body composition and resistance rate in common carp (*Cyprinus carpio*). MSc. Thesis, Islamic Azad University, Azadshahr, (In Persian)
- NOAH (National Office of Animal Health). 2001. Antibiotics for animals. Updated 28 October 2001. Available from: www.noah.co.uk/issues/antibiotics.htm
- Nobahar Z., Gholipourkanani H., Jafarian H., Kakoolaki Sh., Maleknejad R. The effect of medicinal plants of ginger (*Zingiber officinale*), garlic (*Allium sativum*) and nettle (*Urtica dioica*) on growth indices of juvenile beluga fish (*Huso huso*). Breeding and Aquaculture Sciences Quaterly, 1(3): 79-88.
- Otatake M., Kiryu I., Nakanishi T. 2002. Development of vaccine delivery method for fish: Parcutaneous administration by immersion with application of multiple puncture instrument. Journal of Vaccine, 1: 3764-3769.
- Pouralifatshami H.R., Mohseni M., Alizadeh M. 2006. Comparison of Beluga (*Huso huso*) growth rate in brackish and fresh –water. Iranian Scientific Fisheries Journal, 15(1): 43-50.
- Rawles S.D., Kocabas A., Gatlin M. 1997. Dietary supplementation of Terramycin and Romet-30 does not enhance growth of channel catfish but does influence tissue residues. Journal of the World Aquaculture Society, 28(4): 392–401.
- Razeghi Mansour M., Akrami R., Ghobadi S.H., Amani Denji K., Ezatrahimi N., Gharaei A. 2012. Effect of dietary mannan oligosaccharide (MOS) on growth performance, survival, body composition and some hematological parameters in giant sturgeon juvenile (*Huso huso*). Fish Physiolyg Biochemistry, 38: 829-835.

- Reverter M., Bontemps N., Lecchini D., Banaigs B. 2014. Use of plant extracts in fish aquaculture as an alternative to chemotherapy: Current status and future perspectives. *Aquaculture*, 433: 50–61.
- Sahoo P.K. 2006. Immuno competent organs in teleosts. In: Swain P, Sahoo PK, Ayyappan S (Eds.). *Fish and shellfish immunology*, Navendra Publishing House, Delhi, pp: 1-12.
- Sakai M. 1999. Current research status of fish immunostimulants. *Aquaculture*, 172: 63–92.
- Taagholi Gh. 2014. Effect of discontinuous administration of mannan oligosaccharide and β -1,3-glucan (TechnoMos®) on cortisol concentration, non-specific immune response and metabolic enzymes of rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*). MSc. Thesis, Islamic Azad University, Azadshahr, (In Persian).
- Thanikachalam K., Kasi M., Rathinam X. 2010. Effect of garlic peel on growth, hematological parameters and disease resistance against *Aeromonas hydrophila* in African catfish *Clarias gariepinus* (Bloch) fingerlings. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 3(8): 614-618.
- Treves -Brown K.M. 2000. *Applied Fish Pharmacology*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. 310P.
- Vahedi R. 2015. Effect of dietary ginger (*Zingiber officinale*) extract on growth, hematological parameters and metabolic enzymes in juvenile *Huso huso*. MSc. Thesis, Islamic Azad University, Azadshahr, Iran.
- Vaseeharan B., Thaya R. 2013. Medicinal plant derivatives as immunostimulants an alternative to chemotherapeutics and antibiotics in aquaculture. *Aquaculture International*, 22(3): 1079-1091.
- Wilson A., Demmig-Adams B. 2007. Antioxidant, anti-inflammatory, and antimicrobial properties of garlic and onions. *Nutrition and Food Science*, 37(3): 178-183.
- Yano T. 1992. Assay of hemolytic complement activity. In: Stolen JS, Fletcher TC, Anderson DP, Hattari SC, Rowley AF (Eds.). *Techniques in fish immunology*. SOS Publications, Fair Haven, New Jersey, USA, pp: 131-141.