مجله تحقیقات دامپزشکی، ۱۳۹۰، دوره ۶۶، شماره ۳، ۲۱۶ - ۲۰۹

اثر اسانس گیاه سیر بر شاخصه‌های هماتولوژیک فیل‌ماهیان جوان پرورشی

راضیه تنگستانی[۱] ابراهیم علیزاده دوغیکلایی[۱*] عیسی ابراهیمی[۲] پرویز زارع[۱]

۱) گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دانشگاه زابل، زابل - ایران.

۲) گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان - ایران.

(دریافت مقاله: ۲۰ مهرماه ۱۳۸۹ ، پذیرش نهایی: ۱۷ اسفند ماه ۱۳۸۹)

چکیده

فیل ماهی یکی از با ارزش ترین گونه‌های ماهیان خاویاری است که تلاش‌های زیادی جهت تکثیر مصنوعی، پرورش و نیز بازسازی ذخایر این‌گونه صورت‌گرفته است. هدف این مطالعه بررسی اثر اسانس‌سیر به عنوان یک ماده محرک‌سیستم ایمنی، برشاخص‌های هماتولوژی و ایمنی‌سلولی در فیل ماهیان جوان پرورشی است. تیمارهای آزمایش بر اساس شش جیره غذایی شامل: یک جیره فاقد اسانس سیر وآنتی‌بیوتیک، یک جیره حاوی ۳۰mg/kg آنتی‌بیوتیک اکسی‌تتراسایکلین و چهار جیره با مقادیر مختلف ۰/۰۵g/kg، ۰/۱۰، ۰/۱۵، ۰/۲۰ اسانس سیر تهیه شد. بچه فیل ماهیان پرورشی با میانگین وزنی ۲±۲۴گرم، به مدت ۵۶ روز با جیره‌های غذایی تغذیه و در انتهای دوره‌آزمایش، شاخص‌های خونی اندازه‌گیری‌شد. شاخص‌های زمان انعقاد خون و میانگین هموگلوبین در هرگلبول قرمز (MCH) روندی افزایشی در تیمارهای حاوی اسانس‌سیر نشان داد. تعداد لنفوسیت‌ها در جیره‌های حاوی ۰/۰۵g/kg، ۰/۱۰g/kg و ۰/۱۵g/kg اسانس‌سیر، به طور معنی‌داری بیشتر از تیمارهای‌شاهد و حاوی‌آنتی‌بیوتیک و تعداد نوتروفیل خون در تیمارهای حاوی ۰/۱۵g/kg و ۰/۲۰g/kg اسانس‌سیر به طور معنی‌داری کمتر ازسایر تیمارها بود. در مجموع نتایج نشان داد که افزودن اسانس سیر با افزایش زمان انعقاد خون، میزان هموگلوبین گویچه‌های قرمز، افزایش تعداد لنفوسیت‌ها و نوتروفیل‌ها و کاهش تعداد ائوزینوفیل‌ها، تاثیر معنی‌داری بر ارتقاء سیستم ایمنی و وضعیت فیزیولوژیک بدن فیل ماهیان در مقایسه با جیره‌شاهد و جیره حاوی‌آنتی‌بیوتیک داشته و می‌تواند جایگزین مناسبی برای‌آنتی‌بیوتیک اکسی‌تتراسایکلین در جیره غذایی فیل ماهیان جوان پرورشی باشد.

واژه‌های‌کلیدی: اسانس‌سیر، فیل‌ماهی، سیستم ایمنی، ماده محرک‌سیستم ایمنی، شاخص‌های خونی.

مقدمه

پس از قرار گرفتن تاسماهیان در فهرست کنوانسیون بین‌المللی نظارت بر گونه‌های در معرض خطر انقراض و کاهش صید آنها، توجه برخی کشورها به پرورش ماهیان خاویاری معطوف گردید (۱۰). صنعت پرورش ماهی در مسیر توسعه سریع خود با شیوع بیماری‌های جدید و ناشناخته‌ای مواجه شده که توسعه اقتصادی آن را به شدت تحت تاثیر قرار داده است (۳۵). در سالهای اخیر استفاده از مواد محرک سیستم ایمنی در پرورش ماهی به منظور افزایش توان سیستم ایمنی و پاسخ‌های ایمنی غیر اختصاصی و حفظ بدن در برابر بیماری‌ها، عمومیت یافته است. بنابراین به نظر می‌رسد به کارگیری مواد محرک سیستم ایمنی راه حل مناسبی برای کنترل بیماری‌های آبزیان باشد (۲۷،۳۳). استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها و داروهای شیمیایی در آبزی‌پروری دارای تبعاتی از جمله، خطر مقاوم شدن پاتوژن‌ها به این داروها، باقی ماندن داروها در گوشت ماهیان مورد تغذیه انسان و نیز مسئله آلودگی‌های زیست محیطی بوده است (۱۴). استفاده از گیاهان دارویی از جمله سیر و فرآورده‌های آن، که اثری مشابه آنتی‌بیوتیک‌ها دارند، به‌عنوان جایگزین مناسبی برای انواع داروها و آنتی بیوتیک‌ها مورد توجه قرار گرفته اند (۱۴،۳۵). گیاه سیر با نام علمی *Allium sativum* بزرگترین و مهم ترین جنس خانواده Alliaceae با حدود ۴۵۰ گونه است (۲۳). سیر به عنوان یک ماده محرک رشد و بهبود دهنده تغذیه و کارایی غذا در تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) مورد استفاده قرار گرفته است (۱۴،۳۵). مطالعات آزمایشگاهی زیادی مبتنی بر خواص ضدمیکروبی سیر تازه یا عصاره فریز و خشک شده سیر (پودر) بر ضد باکتری‌های بیماریزای مختلف (۱۱،۱۳،۳۵) و نیز اثر آن بر بیماری‌های قارچی (۱) و ویروس‌های بیماریزا (۳۹) صورت گرفته است. Han و همکاران در سال ۱۹۹۵ اعلام کردند که خواص آنتی‌بیوتیکی یک میلی گرم آلیسین (ماده موثره سیر)، با نام شیمیایی s-methyl-L-cystein sulfoxide معادل ۱۵IU پنسیلین می‌باشد (۱۸). سیر خرد یا له شده به همراه سایر عصاره‌های گیاهی و یا جانوری می‌تواند آثار پیشگیری کننده مناسبی بر علیه عوامل‌بیماریزای ماهی داشته باشد و جهت کنترل عوامل‌بیماریزا به ویژه باکتری‌ها، قارچ‌ها و بهبود ایمنی ماهی کمک کند (۱،۱۲،۲۹). در مطالعات انسانی ثابت شده است که سیر می‌تواند میزان کلسترول کل و لیپوپروتئین کم چگال خون (LDL-C) و همچنین فشار خون را کاهش دهد (۲). در مدل‌های حیوانی نیز مطالعاتی در زمینه تاثیر مصرف پودر سیر بر کاهش تجمع چربی‌ها در کبد، افزایش میزان اسیدهای صفراوی دفعی و نیز افزایش میزان ظرفیت آنتی اکسیدانی، بهبود رشد، تغذیه، بقاء و افزایش پاسخ‌های ایمنی در همستر، ماهی و خوک صورت گرفته است (۱۴،۱۶،۴۰). سیر از گذشته‌های بسیار دور برای درمان بسیاری از بیماری‌ها مورد استفاده قرار گرفته است (۸). در مورد

*)نویسنده مسؤول: تلفن: ۰۵۴۲-۲۲۳۲۶۰۰ نمابر: ۰۵۴۲-۲۲۳۲۶۰۰ Email: ebi_alizadeh2003@yahoo.com

اثرات سیر بر شاخص‌های خونی، نشان داده شده است که سیر سبب کاهش کلسترول خون می‌گردد (۶،۹). در ارتباط با سیستم ایمنی محققین نشان دادند که ترکیب S-allyl cystein موجود در سیر خرد شده، از متابولیسم سلول‌های سرطانی جلوگیری کرده و باعث بهبود پاسخ‌های ایمنی می‌شود (۳۷). استفاده از سیر به عنوان یک ماده محرک رشد در ماهی تیلاپیای نیل، منجر به بهبود شاخص‌های رشد و تغذیه در این ماهی گردید (۱۴). برخی مطالعات نشان داده اند که استفاده از سیر در جیره غذایی تیلاپیای نیل می‌تواند میزان گلبول‌های قرمز، هموگلوبین، هماتوکریت و پروتئین خون را افزایش داده و در مقابل سبب کاهش میزان چربی و قند خون گردد (۳۵). افزایش میزان گلبول‌های سفید و بهبود رشد در اثر تغذیه با جیره غذایی حاوی سیر در خوک‌های جوان نیز گزارش شده است (۱۶). عصاره سیر، باعث افزایش تولید سایتوکین‌ها، افزایش فعالیت ماکروفاژها، لنفوسیتها و سایر سلول‌های سیستم ایمنی می‌شود (۳). گونه‌های جنس Allium با افزایش پاسخ‌های ایمنی از قبیل افزایش سنتز لنفوسیت‌ها، افزایش رهاسازی سیتوکین، افزایش فاگوسیتوزیس باعث بهبود سیستم ایمنی و تقویت آن در موش‌ها می‌شود (۳۸). در مطالعات سیتولوژیک خون ماهیان، با هدف تعیین عملکرد سیستم ایمنی، لکوسیت‌ها نقش مهمی ایفا می‌کنند. مطالعات انجام شده در خصوص تغییرات لکوسیت‌ها به عنوان یکی از شاخص‌های سیستم ایمنی یاخته‌ای، در ماهیان خاویاری بسیار اندک می‌باشد. در این تحقیق اثر اسانس سیر، به عنوان یک ماده محرک سیستم ایمنی بر شاخص‌های خونی به عنوان شاخصی از پاسخ‌های ایمنی غیر اختصاصی در فیل‌ماهیان جوان پرورشی، مورد مطالعه قرار گرفته و آثار آن با آنتی بیوتیک اکسی تتراسایکلین مقایسه شده است.

مواد و روش کار

ماهی: گونه مورد استفاده در این تحقیق فیل ماهی (*Huso huso*) بزرگترین گونه ماهی خاویاری در دریای کاسپین است. بچه فیل ماهیان مورد استفاده در این آزمایش حاصل از تلاقی تخمک‌های یک عدد فیل ماهی ماده و اسپرم‌های یک عدد فیل ماهی نر مولد با درصد لقاح ۸۷ درصد بودند که پس از تفریخ به حوضچه‌های فایبرگلاس بخش پرورش لارو کارگاه تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید بهشتی (سد سنگر) منتقل شده و پس از رسیدن به وزن مورد نظر در این تحقیق مورد استفاده قرار گرفتند.

تیمارهای آزمایشی و شرایط پرورشی: بچه فیل ماهیان مورد آزمایش پس از گذراندن یک دوره ۱۰ روزه جهت سازگاری با شرایط محیط پرورشی، با وزن متوسط ۲ ± ۲۴ گرم، رقم‌بندی شده و در ۱۸ حوضچه ونیرو با حجم آبی ۱/۴۷ متر مکعب ذخیره سازی گردیدند. حوضچه‌ها بصورت کاملاً تصادفی به تیمارهای آزمایشی اختصاص داده شد. بچه ماهیان در شش تیمار و سه تکرار برای هر تیمار، سازماندهی شدند. تیماربندی آزمایش بر اساس استفاده از جیره‌های غذایی متفاوت در تیمار بوده و شامل، جیره غذایی حاوی ۰/۲۰g/kg اسانس سیر، جیره غذایی حاوی ۰/۱۵g/kg اسانس سیر، جیره غذایی حاوی ۰/۱۰g/kg اسانس سیر، جیره غذایی حاوی ۰/۰۵g/kg اسانس سیر، جیره غذایی حاوی ۳۰mg/kg آنتی بیوتیک اکسی تتراسایکلین و تیمار شاهد که فاقد اسانس سیر و آنتی بیوتیک اکسی تتراسایکلین بود. سطوح آزمایشی اسانس سیر و آنتی بیوتیک اکسی تتراسایکلین بر اساس تحقیقات سایر محققین تعیین گردید (۱۵،۳۵). برای هر تیمار سه تکرار در نظر گرفته شد و در هر حوضچه ۲۰ عدد بچه ماهی رهاسازی گردید. بچه ماهیان روزانه به میزان ۵ درصد بیومس، و ۵ وعده در ساعات روشن روز غذا دهی شدند. طول دوره پرورش ۵۶ روز در نظر گرفته شد. دمای آب سه بار در روز، اکسیژن محلول و pH یکبار در روز، دبی آب به صورت روزانه و به شکل تصادفی در بین حوضچه‌ها اندازه گیری و ثبت گردید. به منظور حذف فضولات و مانده‌های غذایی حوضچه‌ها روزانه سیفون شده و هفته‌ای یکبار کاملا شستشو شدند.

جیره‌های غذایی: مواد تشکیل دهنده جیره از کارخانه تولید غذای دام، طیور و آبزیان "بهپرور" (ایران، کرج) تهیه شد (جدول ۱). اجزای جیره ابتدا توسط میکسر (مدل Hobart model D300T) به خوبی با یکدیگر مخلوط شدند. روغن سویا و اسانس سیر و همچنین، آنتی بیوتیک (در جیره حاوی آنتی بیوتیک) پس از رطوبت دهی مناسب در حین مخلوط شدن مواد خشک، به تدریج به آنها اضافه گردید. ترکیب حاصل با استفاده از یک چرخ گوشت صنعتی، با منافذی به قطر ۲ میلیمتر به صورت پلت در آورده شد. پلت‌های حاصل در خشک کن با دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۸ ساعت خشک گردید و در پوشش‌های مناسب پلاستیکی بسته بندی و تا زمان مصرف، در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد نگه داری شد. مقدار غذای مورد نیاز به صورت روزانه از فریزر خارج شده و مورد استفاده قرار می‌گرفت. ساخت جیره‌های غذایی در محل کارگاه شهید بهشتی و انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان انجام گرفت. شش جیره آزمایشی، چهار جیره حاوی مقادیر مختلف اسانس سیر (۰/۰۵، ۰/۱۰، ۰/۱۵، ۰/۲۰ گرم بر کیلوگرم)، یک جیره حاوی آنتی بیوتیک اکسی تتراسایکلین (۳۰ میلی گرم بر کیلوگرم) و یک جیره شاهد (فاقد اسانس سیر و آنتی بیوتیک اکسی تتراسایکلین) تهیه گردید. اسانس سیر مورد استفاده یک روغن اسانسی بوده و از شرکت داروسازی گیاه اسانس، واقع در شهرستان گرگان تهیه شد. اسانس سیر به روش تقطیر سیر تازه و جداسازی اسانس روغنی آن تهیه شد (۳۴). ترکیبات آنالیز شیمیایی و اجزای تشکیل دهنده جیره‌های غذایی در جداول ۱ ارائه گردیده است.

شاخص‌های خونی: در انتهای آزمایش از هر واحد آزمایشی ۲ ماهی به وسیله سرنگ‌های استریل حاوی هپارین خونگیری شد. نمونه‌های خونی از ورید ساقه دمی ماهیان گرفته شد و بلافاصله به آزمایشگاه فیزیولوژی و هماتولوژی انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان منتقل گردید. زمان انعقاد خون (blood clotting time

جدول ۱ـ اجزای تشکیل دهنده و آنالیز شیمیایی تقریبی جیره‌های غذایی (درصد در وزن خشک). *هر کیلوگرم مکمل (معدنی و ویتامینی) شامل: ۴/۸ واحد ویتامین A، ۰/۸ واحد ویتامین E، ۰/۰۰۴کیلوگرم ویتامین K، ۰/۰۰۰۸کیلوگرم ویتامین B_1، ۰/۰۰۰۴کیلوگرم B_2، ۰/۰۰۱۶ کیلوگرم B_6، ۰/۰۰۰۶ کیلوگرم B_{12}، ۰/۰۰۴ کیلوگرم پانتوتنیک اسید، ۰/۰۰۴ کیلوگرم نیکوتینیک اسید، ۰/۰۰۰۸ کیلوگرم فولیک اسید، ۰/۰۲ کیلوگرم بیوتین، ۰/۰۰۰۲ کیلوگرم کولین کلراید، ۰/۰۰۴کیلوگرم مس، ۰/۰۰۰۸کیلوگرم ید، ۰/۰۱۲کیلوگرم آهن، ۰/۰۲۲ کیلوگرم منگنز، و ۰/۰۰۰۰۴کیلوگرم سلنیوم می‌باشد.

اقلام غذایی (٪)	شاهد	آنتی بیوتیک mg/kg	اسانس سیر (g/kg diet)			
	۰	۳۰	۰/۰۵	۰/۱۰	۰/۱۵	۰/۲۰
آرد گندم	۱۷	۱۷	۱۷	۱۷	۱۷	۱۷
آرد ماهی ساردین	۳۶	۳۶	۳۶	۳۶	۳۶	۳۶
کنجاله سویا	۲۸	۲۸	۲۸	۲۸	۲۸	۲۸
نشاسته گندم	۴	۴	۴	۴	۴	۴
مکمل معدنی وویتامینی *	۱/۵	۱/۵	۱/۵	۱/۵	۱/۵	۱/۵
نمک	۱	۱	۱	۱	۱	۱
متیونین	۱	۱	۱	۱	۱	۱
روغن سویا	۵	۴/۹۹۷	۴/۹۹۵	۴/۹۹۰	۴/۹۸۵	۴/۹۸۰
هم‌بند (یابندر)	۱	۱	۱	۱	۱	۱
پرکننده	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵
اسانس سیر	۰	۰	۰/۰۰۵	۰/۰۱۰	۰/۰۱۵	۰/۰۲۰
آنتی بیوتیک	۰	۰/۰۰۳۰	۰	۰	۰	۰

ترکیب شیمیایی جیره پایه										
رطوبت	پروتئین	چربی	کلسیم	فسفر	کربوهیدرات	فیبر	خاکستر	انرژی قابل هضم (کالری بر گرم)	انرژی متابولیسمی (کالری بر گرم)
۱۴/۱۷	۳۲/۲۵	۲۵/۱۶	۱/۶	۱	۱۹/۱۵	۴/۱۳	۹/۲۶	۳۲۰۰	۲۸۰۰

Whole) به روش اسلاید (۴). شاخص‌های: RBCs بر اساس روش Houston در سال ۱۹۹۰ (۱۹)، WBCs بر اساس روش Daisley & Blaxhall در سال ۱۹۷۳ (۸)، میزان هموگلوبین خون بر اساس روش سیانومت هموگلوبین و میزان هماتوکریت نیز به وسیله دستگاه سانتریفیوژ (Labofuge 200, Hepareus Sepatech, Germany Model) بلافاصله پس از انتقال نمونه‌های خونی به آزمایشگاه تعیین شد. تهیه گسترش خونی بر اساس روش Stoskopf در سال ۱۹۹۳ انجام شد (۳۶). شاخص‌های میانگین حجم گلبول قرمز (MCV)، میانگین هموگلوبین در گلبول قرمز (MCH)، میانگین غلظت هموگلوبین در گلبول قرمز (MCHC) بر اساس روابط زیر محاسبه شد.

رابطه ۱- ۱۰ ×(تعداد گلبول‌های قرمز بر حسب میلیون در میکرولیتر)/ مقدار هماتوکریت = (fl)MCV

رابطه ۲- ۱۰ ×(تعداد گلبول‌های قرمز بر حسب میلیون در میکرولیتر)/ مقدار هموگلوبین = (pg)MCH

رابطه ۳- ۱۰۰×(مقدار هماتوکریت/ مقدار هموگلوبین) = (٪)MCHC

شمارش افتراقی گلبول‌های سفید نیز بر اساس روش (1993) Stoskopf انجام شد (۳۶).

تجزیه و تحلیل داده‌ها: تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از اندازه‌گیری شاخص‌های خونی، با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA)، و آزمون مقایسه میانگین چند دامنه‌ای دانکن، در سطح اطمینان ۹۵ درصد، بین تیمارهای مختلف صورت گرفت. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم افزار SPSS نگارش ۱۳ استفاده گردید.

نتایج

فاکتورهای فیزیکو شیمیایی آب: میانگین دمای آب در طول دوره آزمایش ۱/۳۴ ± ۲۴/۵ درجه سانتی‌گراد، میانگین اکسیژن محلول ۰/۶۳ ± ۵/۵ppm و میانگین pH آب ۰/۲۳ ± ۸/۰۱ اندازه‌گیری شد. جریان ورودی آب به حوضچه‌ها به صورت تدریجی و دایمی برقرار و دبی متوسط آن ۱/۱۵ ± ۱۱/۲۸ lit/min بود.

شاخص‌های هماتولوژی: دامنه تغییرات گلبول‌های قرمز (RBCs)، میزان هموگلوبین (Hb)، درصد هماتوکریت (HCT)، مقدار MCV، میزان MCH، درصد MCHC و زمان انعقاد خون (C.T.) برای تیمارهای مختلف در جدول ۲ نشان داده شده است.

تغییرات گلبول‌های قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت (Hb و HCT): بررسی تغییر در تعداد گلبول‌های قرمز خون بین تیمارهای مختلف آزمایش نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای مختلف است. روند این تغییرات در تیمارهای آزمایشی به ترتیب از کمترین به بیشترین عبارت از: تیمار حاوی ۰/۱۵g/kg اسانس سیر (۰/۰۳ ± ۰/۶۳ میلیون/ mm^3)، تیمار حاوی ۰/۲۰ g/kg اسانس سیر (۰/۰۱ ± ۰/۶۴ میلیون/ mm^3)، تیمار حاوی ۰/۰۵ g/kg اسانس سیر (۰/۰۲ ± ۰/۶۹ میلیون/ mm^3)، تیمار ۰/۱۰g/kg اسانس سیر (۰/۰۵ ± ۷۱/۰ میلیون/ mm^3)، تیمار حاوی آنتی‌بیوتیک (۰/۰۵ ± ۰/۷۶ میلیون/ mm^3) و تیمار شاهد (۰/۰۵ ± ۰/۷۶ میلیون/ mm^3) است (جدول ۲). همانگونه که اشاره شد، افزایش اسانس سیر از ۰/۰۵g/kg تا ۰/۲۰g/kg تغییر معنی‌داری را در تعداد گلبول‌های قرمز در بین تیمارهای مختلف نشان نداد. اما به طور کلی افزودن اسانس سیر به جیره‌های غذایی، سبب کاهش در تعداد اریتروسیت‌ها نسبت تیمارهای آنتی بیوتیک و شاهد گردید.

میزان هموگلوبین در تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری نشان نداد. محدوده مقدار هموگلوبین در خون ماهیان مورد بررسی در این تحقیق ۵۶/۵ - ۴/۲۸ گرم در دسی لیتر بود (جدول ۲). تغییرات مقدار هماتوکریت نیز در تیمارهای مختلف تفاوت قابل توجهی نشان نداد. کمترین میزان هماتوکریت در تیمار حاوی ۰/۲۰g/kg اسانس سیر (۱/۵۳ ± ۲۲/۸۲ درصد) و بالاترین میزان آن در تیمار حاوی ۰/۰۵ g/kg اسانس سیر (۰/۹۰ ± ۲۷/۱۶

جدول ۲- سطوح شاخص‌های تعداد کل گلبول‌های قرمز، هموگلوبین، هماتوکریت، زمان انعقاد خون و اندیس‌های خونی در تیمارهای مختلف آزمایشی. داده‌های جدول شامل میانگین داده‌ها ± میانگین خطای استاندارد می‌باشد. عدم وجود حروف در جدول نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح اطمینان ۹۵ درصد می‌باشد

تیمار	RBCs میلیون/mm^3	Hb (g/dl)	HCT (%)	C.T. (Second)	MCV (Fl)	MCH (pg)	MCHC (%)
شاهد	۰/۷۶±۰/۰۵	۵/۳۸±۰/۲۶	۲۵/۸۳±۱/۱۹	۲۶۶/۰۵±۲۷/۲۶	۳۴۷/۵۲±۳۱/۲۱	۷۲/۲۶±۶/۱۹	۲۰/۸۲±۰/۲۱
آنتی بیوتیک	۰/۷۶±۰/۰۵	۵/۵۶±۰/۴۱	۲۶/۳۳±۰/۹۸	۲۸۵/۸۳±۲۰/۷۶	۳۵۳/۸۲±۳۰/۳۷	۷۴/۹۲±۸/۰۲	۲۰/۹۹±۰/۸۱
اسانس سیر ۰/۰۵	۰/۶۹±۰/۰۲	۵/۴۶±۰/۴۳	۲۷/۱۶±۰/۹۰	۲۶۰/۰۰±۱۸/۱۲	۳۲۱/۶۰±۱۵/۰۸	۷۸/۸۵±۵/۸۶	۲۰/۲۷±۱/۷۲
اسانس سیر ۰/۱۰	۰/۷۱±۰/۰۵	۵/۰۸±۰/۳۷	۲۶/۳۳±۰/۷۶	۳۱۱/۶۷±۲۰/۱۹	۳۰۴/۵۰±۴۲/۰۰	۷۴/۱۳±۸/۸۸	۱۹/۱۹±۰/۸۸
اسانس سیر ۰/۱۵	۰/۶۳±۰/۰۳	۴/۹۵±۰/۴۸	۲۵/۰۰±۱/۱۲	۲۹۱/۶۷±۲۷/۰۰	۳۱۲/۶۲±۳۷/۹۴	۷۹/۴۰±۱۰/۳۸	۱۹/۶۹±۱/۵۱
اسانس سیر ۰/۲۰	۰/۶۴±۰/۰۱	۴/۲۸±۰/۴۴	۲۲/۸۲±۱/۵۳	۳۲۴/۸۳±۷/۷۲	۳۱۹/۰۹±۲۷/۸۴	۷۸/۶۲±۸/۱۵	۱۸/۶۳±۱/۲۰

جدول ۳- مقایسه میانگین گلبول‌های سفید و لکوسیت‌های شاخص در تیمارهای مختلف آزمایشی (n=۳). * داده‌های جدول شامل میانگین داده‌ها ± میانگین خطای استاندارد می‌باشد. اعداد دارای حروف غیر مشابه با هم اختلاف معنی‌داری در سطح اطمینان ۹۵ درصد دارند.

شاخص خونی	WBCs /mm^3	لنفوسیت‌ها (٪)	نوتروفیل (٪)	ائوزینوفیل (٪)	مونوسیت (٪)
شاهد	۸۴۶۶/۶۶±۹۴۷/۱۵	۶۶/۹۱±۱/۴۶ [b]	۲۰/۱۶±۱/۶۹ [a]	۱۶/۱۶±۱/۳۴ [a]	۰/۶۶±۰/۱۸
آنتی بیوتیک	۹۲۵۸/۳۳±۸۸۶/۹۸	۶۷/۰±۱/۹۵ [b]	۲۰/۲۵±۱/۵۵ [a]	۱۱/۶۶±۱/۰۰ [b]	۰/۷۴±۰/۲۱
اسانس سیر ۰/۰۵	۱۰۰۸۳/۱۳±۲۷۵/۵۸	۷۷/۹۱±۲/۱۴ [a]	۱۹/۵۸±۱/۶۴ [a]	۹/۸۳±۰/۹۶ [b]	۰/۹۳±۰/۲۰
اسانس سیر ۰/۱۰	۱۰۸۱۶/۶۷±۹۳۴/۰۴	۷۶/۸۳±۱/۱۹ [a]	۱۹/۶۶±۱/۴۹ [a]	۹/۵۰±۱/۲۹ [b]	۱/۱۶±۰/۲۴
اسانس سیر ۰/۱۵	۸۸۱۶/۶۶±۶۳۳/۵۹	۷۸/۶۶±۱/۵۸ [a]	۱۵/۷۵±۱/۴۶ [b]	۹/۲۵±۱/۳۸ [b]	۱/۱۶±۰/۲۴
اسانس سیر ۰/۲۰	۸۱۶۶/۶۶±۱۰۵۲/۵۸	۶۹/۶۶±۱/۴۸ [b]	۱۴/۵۸±۱/۶۵ [b]	۱۱/۲۵±۱/۳۱ [b]	۰/۷۲±۰/۱۹

درصد) اندازه گیری شد. همانگونه که مشاهده می‌شود، تغییرات میزان هماتوکریت در تیمارهای مختلف نیز روند خاصی را نشان نداد (جدول ۲).

تغییرات زمان انعقاد خون: زمان انعقاد خون (C.T.) نیز بین تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری نشان نداد (p<۰/۰۵). بالاترین میزان زمان انعقاد خون در تیمار حاوی سطح ۰/۲۰ g/kg اسانس سیر (۳۲۴/۸۳±۷/۷۲ ثانیه) و کمترین میزان آن در تیمار حاوی سطح ۰/۰۵ g/kg اسانس سیر (۲۶۰/۰۰±۱۸/۱۲ ثانیه) برآورد گردید. با این حال این شاخص در تیمارهای حاوی اسانس سیر متناسب با افزایش اسانس سیر، روند تقریبا منظم افزایشی نشان داد و در سطوح ۰/۱۰ g/kg تا ۰/۲۰ g/kg اسانس سیر بیشتر از تیمارهای حاوی آنتی بیوتیک و شاهد بود.

تغییرات شاخص‌های میانگین حجم، میانگین مقدار و میانگین غلظت هموگلوبین در هر گلبول قرمز: در مورد شاخص خونی میانگین حجم هر گلبول قرمز (MCV)، تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای مختلف مشاهده نشد (p<۰/۰۵). محدوده تغییرات این شاخص بین ۴۲/۰۰ ± ۳۰۴/۵۰ تا ۳۰/۳۷ ± ۳۵۳/۸۲ اندازه گیری شد. شاخص خونی میانگین هموگلوبین هر گلبول قرمز (MCH) نیز تفاوت معنی‌داری در تیمارهای مختلف نشان نداد (p<۰/۰۵). بالاترین (۱۰/۳۸±۷۹/۴۰) و پایین ترین (۶/۱۹ ± ۷۲/۲۶) میزان این شاخص به ترتیب در تیمارهای حاوی ۰/۱۵ g/kg اسانس سیر و تیمار شاهد مشاهده شد. شاخص میانگین غلظت هموگلوبین در هر گلبول قرمز (MCHC)، نیز اختلاف معنی‌داری در تیمارهای مختلف نشان نداد (p<۰/۰۵). اما بالاترین میزان آن در تیمار حاوی آنتی بیوتیک (درصد۰/۸۱ ± ۲۰/۹۹) و کمترین آن در تیمار حاوی ۰/۲۰g/kg اسانس سیر (درصد۱/۲۰ ± ۱۸/۶۳) ملاحظه شد (جدول ۲).

تغییرات گلبول‌های سفید و لکوسیت‌های شاخص: دامنه تغییرات گلبول‌های سفید (WBCs) در این آزمایش بین ۱۰۸۱۶/۶۷- ۸۱۶۶/۶۶ عدد در میلیمتر مکعب خون و دامنه تغییرات لنفوسیت‌ها، نوتروفیل، ائوزینوفیل و مونوسیت به ترتیب ۷۸/۶۶ - ۶۶/۹۱ درصد، ۲۰/۲۵ - ۱۴/۵۸ درصد، ۱۶/۱۶ - ۹/۲۵ درصد، ۱/۱۶- ۰/۶۶ درصد به دست آمد. نتایج حاصل از تغییر در تعداد و فراوانی گلبول‌های سفید و انواع آنها در جدول ۳ نشان داده شده است.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌های هماتولوژیک نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار در تعداد کل گلبول‌های سفید در تیمارهای مختلف است (p<۰/۰۵). همانگونه که داده‌های جدول ۳ نشان می‌دهد، تعداد کل لکوسیتها از تیمار شاهد تا تیمار حاوی ۰/۱۰ g/kg اسانس سیر به طور منظم و تدریجی افزایش یافته و پس از آن در سطوح بالاتر اسانس سیر کاهش یافته است. بررسی آماری داده‌ها نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار (p<۰/۰۵) در تعداد لنفوسیت‌ها در برخی از تیمارها است. روند تغییرات تعداد لنفوسیت‌ها به نحوی است که میزان آنها در تیمارهای شاهد و آنتی بیوتیک به طور معنی‌داری (p<۰/۰۵) کمتر از تیمارهای دارای اسانس سیر است. درصد لنفوسیت‌ها همزمان با افزایش اسانس سیر

افزایش مشخصی را نشان داد. تعداد نوتروفیل خون ماهیان مورد آزمایش در تیمارهای مختلف آزمایشی تغییرات معنی‌داری نشان داد (p<۰/۰۵). کمترین میزان نوتروفیل‌ها در تیمار دارای ۰/۲۰g/kg اسانس سیر با میانگین ۱/۶۵ ± ۱۴/۵۸ و تیمار حاوی ۰/۱۵g/kg اسانس سیر با میانگین ۱/۴۶ ± ۱۵/۷۵ مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها نشان داد. تعداد ائوزینوفیلهای تیمار شاهد با میانگین ۱/۳۴ ± ۱۶/۱۶ درصد به طور معنی‌داری از سایر تیمارها بیشتر است (p<۰/۰۵). اختلاف معنی‌داری در تعداد ائوزینوفیل‌ها در سایر گروه‌های آزمایشی مشاهده نمی‌شود. تعداد مونوسیت‌ها در بین تیمارهای مختلف آزمایشی اختلاف معنی‌داری نشان نداد (p<۰/۰۵).

بحث

میزان گلبول‌های قرمز در تیمارهای مختلف آزمایشی تغییر معنی‌داری نشان نداد. ثابت شده است که تعداد گلبول‌های قرمز در ارتباط با گونه ماهیان و استرس‌های محیطی از جمله دما تغییر می‌کند به طوریکه تعداد آنها در ماهیان گرمابی بیشتر از سردآبی و در درجه حرارت‌های بالا بیشتر از درجه حرارت‌های پایین است (۳۰). همچنین، مشخص شده است که تعداد گلبول‌های قرمز و هموگلوبین خون در ماهی با تغییرات فصلی، سیکل جنسی یا سایر موارد فیزیولوژیک، دچار تغییرات معنی‌داری می‌شود (۲۱). با توجه به ثابت بودن شرایط محیطی و ماهی مورد آزمایش، می‌توان از تاثیر این عوامل بر تغییرات این شاخص در تیمارهای مختلف چشم پوشی کرد. علاوه بر این میزان هموگلوبین و هماتوکریت نیز تابعی از تغییرات گلبول‌های قرمز بوده و رابطه مستقیم با آن دارد. محدوده تعداد گلبول‌های قرمز در این تحقیق از میزان گزارش شده توسط پورغلام در سال ۱۳۸۱ برای فیل ماهیان کمتر است (۲۶). بنابراین دلیل اختلاف تعداد گلبول‌های قرمز در این تحقیق با تحقیق پورغلام در سال ۱۳۸۱ کمتر بودن سن فیل ماهیان مورد بررسی در این تحقیق است.

با وجود اینکه افزودن اسانس سیر باعث کاهش در تعداد گلبول‌های قرمز در تیمارهای مختلف آزمایش گردیده است (البته این کاهش در حد معنی‌دار نیست) اما همانگونه که مشاهده می‌شود متناسب با این کاهش، میزان هموگلوبین هر گلبول قرمز (MCH) در تیمارهای حاوی اسانس سیر نسبت به تیمار شاهد و تیمار حاوی آنتی بیوتیک افزایش یافته که نشان دهنده اثر مثبت اسانس سیر بر میزان هموگلوبین و قابلیت انتقال گازهای تنفسی توسط هموگلوبین می‌باشد. در مقابل یافته‌های ما، Shalaby و همکاران در سال ۲۰۰۶ به بررسی اثر سیر به عنوان یک ماده محرک رشد و سیستم ایمنی برروی ماهی تیلاپیا پرداختند و گزارش کردند که افزایش میزان سیر در جیره غذایی، سبب افزایش سطح گلبول‌های قرمز در این ماهی گردید (۳۵). این اختلاف می‌تواند ناشی از عوامل مختلف از جمله شرایط آزمایش، گونه ماهی، سطوح مختلف اسانس سیر در این آزمایش با سیر استفاده شده در آزمایش ایشان باشد. Diab و همکاران در سال ۲۰۰۸ نیز در بررسی اثر سیر در جیره غذایی بر شاخص‌های ایمنی ماهی تیلاپیا نتایج مشابهی گزارش نمودند (۱۵). Nakagawa و همکاران در سال ۱۹۸۰ نیز در بررسی اثر سیر خام در جیره غذایی موش‌ها، این ماده را در کاهش معنی‌دار تعداد گلبول‌های قرمز موثر گزارش کردند در حالیکه عصاره سیر تغییر معنی‌داری در تعداد اریتروسیتها ایجاد نکرد (۲۵). Sahu و همکاران در سال ۲۰۰۶ با بررسی اثر بذر گیاه *Magnifera indica* به عنوان یک مکمل غذایی بهبود دهنده سیستم ایمنی در جیره غذایی نوزادان انگشت قد ماهی *Labeo rohita*، هیچ تغییر معنی‌داری در تعداد گلبول‌های قرمز و گلبول‌های سفید مشاهده ننمودند اما در سایر پارامترهای ایمنی از قبیل تولید آنیون سوپراکسید، لایزوزیم، پروتئین سرو آلبومین، افزایش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد مشاهده شد (۳۱). همچنین Kumar Jha و همکاران در سال ۲۰۰۷ در بررسی اثر مواد طبیعی محرک سیستم ایمنی شامل بتاکاروتن، اسیدهای چرب امگا ۳ و مخمر - RNA بر نوزادان انگشت قد *Catla catla*، این قبیل مواد محرک سیستم ایمنی را بر تغییرات شاخص‌های مقدار هموگلوبین، تعداد گلبول‌های قرمز و مقدار آلبومین سرم بی اثر اعلام نمودند. اما تعداد گلبول‌های سفید و لکوسیت‌های شاخص سیستم ایمنی یاخته‌ای افزایش معنی‌داری در تیمار درصد۰/۸ درصد مخمر - RNA نشان داد (۲۲) که با یافته‌های تحقیق حاضر مطابقت خوبی دارد. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که مواد محرک سیستم ایمنی، لزوما نمی‌توانند اثر معنی‌داری بر شاخص‌های هماتولوژیک از جمله تعداد گلبول‌های قرمز، میزان هموگلوبین و هماتوکریت داشته باشند. شاخص‌های MCV، MCH و MCHC نیز تغییرات معنی‌داری در تیمارهای مختلف نشان ندادند. بررسی روند تغییرات این شاخص‌ها، نشان داد که میانگین هموگلوبین در تیمارهای حاوی اسانس روندی افزایشی دارد. این امر نشان دهنده برتری وضعیت تنفسی در تیمارهای حاوی اسانس سیر در مقایسه با تیمارهای فاقد آن است. علاوه بر این، شاخص‌های میانگین غلظت هموگلوبین و میانگین حجم گلبول قرمز در تیمارهای حاوی اسانس سیر روندی کاهشی دارند. کاهش حجم گلبول‌های قرمز نشان دهنده عدم وجود التهاب و سبب تسهیل حرکت و تعلیق گلبول‌های قرمز شده و سرعت رسوب آنها و تشکیل لخته‌های درون رگی را کاهش می‌دهد که یک ویژگی مثبت در فیزیولوژی دستگاه گردش خون محسوب می‌شود.

بررسی شاخص زمان انعقاد خون علی رغم عدم معنی‌دار بودن در بین تیمارهای مختلف، روندی افزایشی را در تیمارهای حاوی اسانس سیر نشان داد (جدول ۲). محدوده اندازه گیری شده در این تحقیق (۴/۳۳ تا ۵/۴۱دقیقه) با نتایج تحقیق Pourgholam در سال ۱۳۸۱ (۲/۷ تا ۴/۱دقیقه) برای گونه *Huso huso* مطابقت دارد. محققان نشان داده اند که ترکیبات سیر زمان انعقاد خون را افزایش می‌دهند که این یکی از شاخص‌های بهبود توان ایمنی بدن است (۹). افزایش زمان انعقاد خون نشان دهنده کاهش

تعداد پلاکت‌ها و تاخیر در تشکیل ترومبوپلاستین است. مصرف یک جیره غذایی چرب و حاوی اسانس سیر منجر به افزایش کلسترول و فیبرینوژن پلاسما گردیده و زمان انعقاد خون و فعالیت فیبرینولیتیک را کاهش می‌دهد (۲۸). تحقیقات زیادی سیر را به عنوان یک عامل ضد انعقاد و ضد فعالیت ترومبوسیت‌ها معرفی کرده اند. سیر از طریق فعال کردن مسیر تولید NO از طریق cNOS بر سرعت تعلیق پذیری گلبول‌های قرمز خون موش اثر گذاشته و از این طریق میزان پیروکسین محرک همولایز را کاهش داده و سبب حفاظت از گلبول‌های قرمز در برابر آسیب‌های غشایی ناشی از پیروکسی نیتریت می‌شود و بدین طریق با ایجاد تاخیر در انعقاد خون و تشکیل لخته، در جلوگیری از بیماری تصلب شرایین و ترمبوامبولی در رگ‌ها موثر است (۳۲، ۲۴، ۵). بر این اساس طولانی شدن زمان انعقاد خون در تیمارهای حاوی اسانس سیر می‌تواند نشان دهنده اثر مثبت اسانس سیر بر این فرایند در ماهیان مورد آزمایش باشد.

اغلب تحقیقات انجام شده، بر اثرات سیر در کاهش چربی‌ها و تری گلیسریدهای پلاسما، کاهش فشار خون، افزایش فعالیت‌های فیبرینولتیک و افزایش زمان انعقاد خون متمرکز هستند. البته اخیرا برخی تحقیقات نیز اثرات سیر را بر شاخص‌های ذکر شده بی معنی گزارش نموده‌اند (۲۰). چنانچه در این تحقیق نیز اثر اسانس سیر بر افزایش زمان انعقاد معنی‌دار نشد ($p<0/05$).

بررسی تغییر تعداد گلبول‌های سفید و انواع آنها حاکی از عدم وجود اختلافات معنی‌دار بین تیمارهای مورد مطالعه در این تحقیق است. بالاترین میزان این شاخص در تیمار حاوی ۰/۱۰g/kg اسانس سیر مشاهده شد. همانگونه که مشاهده شد تعداد گلبول‌های سفید با افزایش اسانس سیر تا سطح ۰/۱۰g/kg افزایش و پس از آن در سطوح ۰/۱۵ g/kg و ۰/۲۰g/kg اندکی کاهش یافت. تعداد گلبول‌های سفید و نسبت انواع آنها یکی از شاخص‌های مهم سلامتی و وضعیت سیستم ایمنی در جانوران می‌باشد (۳۵). در ماهیان قسمت اعظم گلبول‌های سفید را لنفوسیت‌ها تشکیل می‌دهند. تغییرات سطح لنفوسیت‌ها بین تیمارهای مورد بررسی نیز روندی مشابه لکوسیت‌ها نشان داد به طوریکه در تیمارهای حاوی اسانس سیر میزان لنفوسیت‌ها به طور معنی‌داری بیش از تیمارهای شاهد و حاوی آنتی بیوتیک بود که نشان دهنده تقویت سیستم ایمنی در ماهیان تغذیه شده با اسانس سیر می‌باشد ($p<0/05$). میزان لنفوسیت‌ها در تیمار حاوی ۰/۲۰g/kg اسانس سیر مجددا روندی کاهشی یافته و به طور معنی‌داری کمتر از سایر تیمارهای حاوی اسانس سیر بود ($p<0/05$). تعداد نوتروفیل نیز در تیمارهای ۰/۱۵ g/kg و ۰/۲۰ g/kg طور معنی‌داری کمتر از سایر تیمارها بود. میزان ائوزینوفیل‌ها نیز در تیمارهای حاوی اسانس سیر و آنتی بیوتیک به طور معنی‌داری کمتر از تیمار شاهد بود. تعداد مونوسیت‌ها اختلاف معنی‌داری در تیمارهای مختلف نشان نداد. افزایش تعداد لنفوسیت‌ها نشان دهنده افزایش توان ایمنی بدن جانور در برابر عوامل بیماریزای مهاجم می‌باشد. در این تحقیق افزایش تعداد نوتروفیل‌ها در تیمار شاهد و آنتی بیوتیک همراه با کاهش تعداد لنفوسیت‌ها مشاهده گردید. افزایش لنفوسیت‌ها در تیمار حاوی ۰/۱۵g/kg اسانس سیر و کاهش نوتروفیل‌ها در تیمارهای حاوی ۰/۱۵g/kg و ۰/۲۰g/kg اسانس سیر نشان دهنده تاثیر این ماده بر کاهش اثر استرس‌های مزمن و ارتقاء مقاومت بدنی و سازگاری‌های فیزیولوژیک با محیط پرورشی می‌باشد. کاهش تعداد ائوزینوفیل‌ها و مونوسیت‌ها نشان دهنده عدم ابتلای بدن به پارازایت‌ها و عوامل مهاجم خارجی بوده و سلامت ماهیان تغذیه شده با اسانس سیر را نشان می‌دهد. همچنین حضور تعداد زیادی سلول‌های ماکروفاژ و مونوسیت در خون نشان دهنده بروز التهاب در یکی از ارگان‌های داخلی است (۱۷).

در مجموع نتایج نشان دادند که شاخص‌های هماتولوژی شامل تعداد گلبول‌های قرمز، میزان هماتوکریت، میزان هموگلوبین، میانگین حجم گلبول قرمز، میانگین هموگلوبین و میانگین غلظت هموگلوبین و نیز شاخص زمان انعقاد خون تغییر معنی‌داری در بین تیمارهای حاوی اسانس سیر، تیمار شاهد و تیمار حاوی آنتی بیوتیک نشان نداد. اگر چه بروز روند منظم افزایشی در شاخص‌های زمان انعقاد خون و میانگین هموگلوبین در هر گلبول قرمز در تیمارهای حاوی اسانس سیر، نشان دهنده اثرات مثبت اسانس سیر بر بهبود وضعیت ایمنی و فیزیولوژیک بدن فیل ماهیان است. بر اساس یافته‌های حاصل از این تحقیق و مقایسه آن با یافته‌های سایر محققین، می‌توان نتیجه گرفت که شاخص‌های هماتولوژی ذکر شده، می‌توانند در بررسی وضعیت فیزیولوژیک و کیفیت ایمنی بدن ماهی، دارای نقش مثبت باشند لیکن جهت ارزیابی دقیقتر باید به همراه سایر شاخص‌های ایمنی یاخته‌ای و ایمنی هورمونی مورد بررسی قرار گیرند.

افزودن اسانس سیر به جیره غذایی فیل ماهیان جوان پرورشی، تغییرات معنی‌داری در شاخص‌های ایمنی یاخته‌ای ایجاد نمود. تعداد کل لکوسیت‌ها علی رغم عدم نشان دادن اختلاف معنی‌دار در تیمارهای مختلف، در تیمارهای حاوی اسانس سیر روند منظم افزایشی نشان داد. تعداد لنفوسیت‌ها در تیمارهای حاوی اسانس سیر به طور معنی‌داری بیش از تیمارهای شاهد و آنتی بیوتیک بود و در مقابل میزان ائوزینوفیل روندی کاهشی داشت. افزایش تعداد لنفوسیت‌ها نشان دهنده افزایش توان ایمنی بدن در برابر عوامل بیماریزا و کاهش ائوزینوفیل نشان دهنده سلامت بدن و عدم درگیری بدن با عفونت‌ها و پارازایت‌ها می‌باشد. بنابراین افزودن اسانس سیر به جیره غذایی در فیل ماهیان جوان پرورشی، اثر مثبتی بر بهبود شاخص‌های ایمنی یاخته‌ای در این ماهیان داشته است. از آنجائیکه بالاترین میزان لنفوسیت‌ها و پایین ترین تعداد ائوزینوفیل‌ها در سطح ۰/۱۵g/kg اسانس سیر مشاهده شد، یافته‌های این تحقیق اضافه نمودن میزان ۰/۱۵g/kg اسانس سیر به جیره غذایی فیل ماهیان جوان پرورشی را به عنوان سطح مناسب این ماده جهت بهبود شاخص‌های ایمنی یاخته‌ای پیشنهاد می‌کند.

تشکر وقدردانی

بدین وسیله از همکاری مدیریت و پرسنل محترم کارگاه تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید بهشتی و انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان تشکر وقدردانی می گردد.

References

1. Adetumbi, M., Javor G.T., Lau, B.H.S. (1986). *Allium sativum* (garlic). inhibits lipid synthesis by *Candida albicans*. Antimicrob. Agents. Chemother. 30: 499-501.
2. Adler, A.J., Holub, B.J. (1997). Effect of garlic and fish-oil supplementation on serum lipid and lipoprotein concentrations in hypercholesterolemia men. Am. J. Clin. Nutr. 65: 445-450.
3. Agarwal, K.C. (1996). Therapeutic action of garlic constituents. Med. Res. Rev. 16: 111-124.
4. Ameri Mahabady, M. (1999). Laboratory Methods of Veterinarian Hematology. Tehran University Publication. Tehran, Iran.
5. Apitz Castro, R., Cabrera, S., Cruz, M.R. (1983). Effect of garlic extract and of three pure compounds isolated from it on human platelet aggregation, arachidonate metabolism, release reaction and platelet ultrastructure. Thromb. Res. 32:155-169.
6. Augusti, K. T. (1977). Hypocholesterolaemic effect of garlic, *Allium sativum*, Linn. Indian J. Exp. Biol. 15: 489-490.
7. Blaxhall, P. C., Daisley, K. W. (1973). Routine haematological methods for use with fish blood. J. Fish Biol. 5: 771-781.
8. Block, E. (1985). The chemistry of garlic and onion. Sci. Am. 252: 114-119.
9. Bordia, A., Bansal, H. C., Arora, S. K., Singh, S. V. (1975). Effect of the essential oil of garlic and onion on alimentary hyperlipemia. Atherosclerosis. 21: 15-19.
10. Bronzi, P., Rosenthal, H., Arlati, G., Williot, P. (1999). A brief overview on the status and prospects of sturgeon farming in Western and Central Europe. J. Appl. Ichthyol. 15: 224-227.
11. Cavallito, C.J., Bailey, J.H. (1944). Allicin, the antibacterial principle of (*Allium sativum*). Isolation, physical properties and antibacterial action. J. Am. Chem. Soc. 66: 195-200.
12. Corzo-Martinez, M., Corzo, N., Villamiel, M. (2007). Biological properties of onions and garlic. Trends. Food. Sci. Technol. 18: 609-625.
13. De Moura Oliveira, K.A., Santos-Mendonca, R.C., De Miranda Gomide, L.A., Dantas Vanetti, A.M.C. (2005). aqueous garlic extract and microbiological quality of refrigerated poultry meat. J. Food. Process. Prese. 29: 98-108.
14. Diab, A.S., El-Nagar, G.O., Abd-El-Hady, Y.M. (2002). Evaluation of *Nigella sativa* L (black seeds; baraka), *Allium sativum* (garlic). and Biogen as feed additives on growth performance and immunostimulants of *O. niloticus* fingerlings. Suez Canal Vet. Med. J. 13: 745-75.
15. Diab, A.S., Aly, S.M., John, G., Abde-Hadi, Y., Mohammed, M.F. (2008). Effect of garlic, black seed and Biogen as immunostimulants on the growth and survival of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (Teleostei: Cichlidae), and their response to artificial infection with *Pseudomonas fluorescens*. Afr. J. Aquatic. Sci. 33: 63-68.
16. Dudek, K., Sliwa, E., Tatara, M. (2006). Changes in blood Leucocyte pattern in piglets from sows treated with garlic preparations. Bull Vet Inst Pulway. 50: 236-267.
17. Guyton, A.C., Hall, J.E. (1989). Medical Physiology. Translated by Farrokh Shadan, Chehr Publication. Tehran, Iran.
18. Han, J., Lawson, L., Han, G., Han, P. (1995). A spectrophotometric method for quantitative determination of allicin and total garlic thiosulfinates. Anal. Biochem. 225: 157-160.
19. Houston, A.H. (1990). Blood and circulation. In: Methods for fish biology. Schreck, C.B., Moyle, P.B. (eds.). American Fisheries Society, Bethesda, Maryland. USA. p.273-334.
20. Issacsohn, J. L., Moser, M., Stein, E. A., Dudley, K., Davey, J. A., Liskov, E., Black H. R. (1998). Garlic

powder and plasma lipids and lipoproteins: a multicenter, randomised, placebo-controlled trial. Arch. Intern. Med. 158: 1189-1194.

21. Krajnovic-Ozretic, M. (1991). Hematological and biochemical characteristics of reared sea bass (Dicentrarchus Labrax L.). Acta Biol. Jogosl. Ichtyologia. 23: 25-34.
22. Kumar Jha, A., Pal, A.K., Sahu, N.P., Kumar, S., Mukherjee, S.C. (2007). Haemato-immunological responses to dietary yeast RNA, ω-3 fatty acid and β-carotene in *Catla catla* juveniles. Fish Shellfish Immunol. 23: 917-927.
23. Lanzotti, V. (2006). The analysis of onion and garlic. Review Article. J. Chromatogr. 1112: 3-22.
24. Makheja, A. N., Vanderhoek, J. Y., Bryant, R. W., Bailey, J. M. (1980). Altered arachidonic acid metabolism in platelets inhibited by onion or garlic extracts. Adv. Prostaglandin. Thromboxane. Res. 6: 309-312.
25. Nakagawa, S., Masamoto, K., Sumiyoshi, H., Kunihiro, K., Fuwa, T. (1980). Effect of raw and exteracted-aged garlic juice on growth of young rats and their organs after peroral administration (Author's transl). J. Toxicol. Sci. 5: 91-112.
26. Pourgholam, R. (2002). Effects of environmental conditions on hematological and biochemical factors in sturgeon fishes. Published by Organisation of Iran Fisheries. Tehran, Iran.
27. Raa, J. (1996). The use of immunostimulatory substances in fish and shellfish farming. Rev. Fish. Sci. 4: 229-88.
28. Rahman, k. (2001). Historical perspective on garlic and cardiovascular disease. J. Nutr.. 131: 977S-979S.
29. Ress, L. P., Minney, S. F., Plummer, N. J., Slatter, J. H., Skyrme, D. A. (1993). A quantitative assessment of the antimicrobial activity of garlic (*Allium sativum*). World. J. Microbiol. Biotechnol. 9: 303- 307.
30. Roberts, T.R., Hutson, D.H. (1998). Metabolic pathways of agrochemicals part2: Insecticides and fungicides. The royal society chemistry. Cambridge. UK.
31. Sahu, S., Das, B.K., Pradhan, J., Mohapatra, B.C., Mishra, B.K., Sarangi, N. (2006). Effect of *Magnifera indica* kernel as a feed additive on immunity and resistance to *Aeromonas hydrophila* in *Labeo rohita* fingerlings. Fish Shellfish Immunol. 23: 109-118.
32. Saxena, K.K., Gupta, B., Kulshrestha, V.K., Srivastava, R.K., Prasad, D.N. (1979). Garlic in stress induced myocardial damage. Indian Heart. J. 31:188-198.
33. Secombes, C.J. (1994). Enhancement of fish phagocyte activity. Fish Shellfish Immunol. 4: 421-436.
34. Shahrokhi, N. (1997). Control quality methods of natural druges. Jahade Daneshgahi Publishing, Shahid Beheshti University. Tehran, Iran.
35. Shalaby, A.M., Khattab, Y.A., Abdel Rahman, A.M. (2006). Effects of Garlic (*Allium sativum*). and chloramphenicol on growth performance, physiological parameters and survival of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). J. Venom. Anim. Toxins incl. Trop. Dis.12: 172-201.
36. Stoskopf, M.K. (1993). Fish Medicine. W.B. Saunders company, Philadelphia, USA.
37. Sumiyoshi, H. (1997). New pharmacological activities of garlic and its constituents. Folia Pharmacol. Japonica. 110: 93-97.
38. Ushijima M., Sumioka, I., Kakimoto, M., Yokoyama, K., Uda, N., Matsuura, H., Kyo, E., Suzuki ,A., Kasuga, S., Itakura, Y., Petesch, B.L. and Amagase, H. (1998). Effect of garlic and garlic preparations on physiological and psychological stress in mice. Phytother. Res. 11:226-230
39. Weber, N.D., Anderson, D.O., North, J.A., Murray, B.K., Lawson, L.D., Hughes, B.G. (1992). In vitro virucidal effects of *Allium sativum* (garlic) extract and compounds. Planta Med. 58:417-23.
40. Yaoling, L., Jiunrong, C., Mengsyh, S., Mingler, S., Li, Y.L., Chen, J.R., Shien M.S., Shien M.J. (1998). The effects of garlic powder on the hypolipidemic function and antioxidative status in hamsters. Nutr. Sci. J. 23: 171-87.

J.Vet.Res. 66,3:209-216, 2011

EFFECTS OF GARLIC ESSENTIAL OIL AS AN IMMUNOSTIMULANT ON HEMATOLOGICAL INDICES OF JUVENILE BELUGA (*HUSO HUSO*)

Tangestani, R.[1], Alizadeh Doughikollaee, E.[1*], Ebrahimi, E.[2], Zare, P.[1]

[1]*Depertment of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Zabol, Zabol-Iran.*

[2]*Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, Industrial University of Esfahan, Esfahan-Iran.*

(Received 12 october 2010 , Accepted 8 March 2011)

Abstract:

Beluga (*Huso huso*) is one of the most valuable species of sturgeons and many efforts have been made to artificially reproduce, culture and restore this precious species. The objective of this study was to find the effects of garlic essential oil as an immunostimulant on hematological indices and on the cellular immunity system of juvenile belugas. An experiment was organized in which six different diets were fed to belugas including: diet without garlic essential oil and antibiotic, diet with oxytetracycline antibiotic (30 mg/kg), and four diets with various amounts of garlic essential oil (0.05, 0.10, 0.15 and 0.20 g/kg). Beluga juveniles with an average weight of 24 ± 2 g were fed these diets for 56 days. At the end of the experiment, hematological indices were determined. The blood coagulation time and mean corpuscular hemoglobin (MCH) indices increased in the groups treated with garlic essential oil. Significant increases in lymphocyte counts were observed in groups fed 0.05, 0.10 and 0.15 g/kg garlic essential oil as compared with the antibiotic and control groups. A significant decrease in the blood neutrophil count was observed in the belugas fed 0.15 and 0.20 g/kg garlic essential oil compared with the other treatments. In conclusion, these results showed that adding garlic essential oil increases the blood coagulation time, the hemoglobin content of red blood cells, lymphocyte numbers, and decreases eosinophils. Significant improvements of the immune system and of the physiological condition were observed in juvenile belugas receiving garlic essential oil compared with the control and the antibiotic treatments. It can therefore be used as a suitable replacement for oxytetracycline in the diet of juvenile belugas.

Key words: garlic essential oil, *Huso huso*, immune system, immunostimulant, hematological indices.

***Corresponding author's email: ebi_alizadeh2003@yahoo.com, Tel: 0542-2232600, Fax: 0542-2232600**