مقاله تحقیقی
مجله تحقیقات دامپزشکی، ۱۳۹۷، دوره ۷۳، شماره ۲، ۱۶۳-۱۵۵
Original Article
DOI: 10.22059/jvr.2018.129805.2337

تأثیر عصاره زنجبیل (*Zingiber officinale*) بر برخی شاخص‌های رشد، خون، بیوشیمی و ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

رضا اکرمی* زید احمدی حسین چیت‌ساز مهشید شاملوفر فرزانه حبیبی‌نوده فاطمه صادقی‌اصل نازنین زرینی
گروه شیلات، واحد آزادشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، آزادشهر، ایران

(دریافت مقاله: ۱۲ شهریور ماه ۱۳۹۶، پذیرش نهایی: ۲۸ آذر ماه ۱۳۹۶)

چکیده

زمینه مطالعه: جایگزینی مواد طبیعی بجای داروهای شیمیایی به منظور افزایش تولید و ایمنی. **هدف:** هدف از این مطالعه بررسی تجویز خوراکی عصاره زنجبیل بعنوان محرک ایمنی طبیعی بر برخی شاخص‌های رشد، خون، بیوشیمی و ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان بود. **روش‌کار:** بدین منظور ماهیان با میانگین وزنی g ۰/۲±۱۴/۱ به روش خوراکی و با سطوح ۰/۵٪ و ۱٪ عصاره هیدروالکلی زنجبیل به مدت ۸ هفته تغذیه شدند. در پایان دوره تغذیه از ورید ساقه دمی ماهیان خونگیری شد. شاخص‌های رشد (وزن نهایی، نرخ رشد ویژه، فاکتور وضعیت)، خون (گلبول سفید، گلبول قرمز، هماتوکریت، هموگلوبین، لنفوسیت، مونوست، نوتروفیل)، بیوشیمی (پروتئین، آلبومین، کلسترول، تری گلیسرید، گلوکز، کورتیزول، آنزیم آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آسپارتات آمینوترانسفراز (AST)، لاکتات دهیدروژناز (LDH)، آلکالین فسفاتاز (ALP) و ایمنی (لیزوزیم، ایمنوگلبولین کل، سوپراکسیددسموتاز، فعالیت مسیر جانبی کمپلمان) مورد سنجش قرار گرفتند. گروه شاهد نیز بدون استفاده از عصاره گیاهی و با شرایط یکسان با سایر تیمارها مورد آزمایش قرار گرفت. **نتایج:** نتایج مطالعه حاضر تفاوت معنی‌داری در شاخص‌های رشد، خون، بیوشیمی و آنزیم‌های سرمی بین تیمارهای حاوی عصاره زنجبیل در مقایسه با گروه شاهد نشان نداد ($p>0/05$). کمترین میزان کورتیزول بطور معنی‌داری در تیمار ۰/۵٪ عصاره زنجبیل بدست آمد ($p<0/05$). افزایش معنی‌داری در فعالیت لیزوزیم سرم در تیمار ۰/۵٪ عصاره زنجبیل مشاهده شد ($p<0/05$). **نتیجه‌گیری نهایی:** تجویز خوراکی عصاره زنجبیل در سطح ۰/۵٪ می‌تواند بعنوان محرک ایمنی طبیعی جهت بهبود پارامترهای رشد و ایمنی ماهی قزل‌آلا مورد استفاده قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: عصاره زنجبیل، رشد، متغیرهای خونی، ایمنی، قزل‌آلای رنگین کمان

مقدمه

قزل‌آلای رنگین کمان از گونه‌های برجسته تجاری در آبزی پروری محسوب می‌شود و پرورش این ماهی در آب شیرین از فعالیت‌های متداول آبزی پروری در ایران به شمار می‌رود. با این حال، افزایش تولید این گونه در واحد سطح موجب ایجاد مشکلاتی شده که از آن جمله می‌توان به بروز بیماری‌های عفونی و خسارات ناشی از آن‌ها، استفاده مکرر از برخی آنتی بیوتیک‌ها و مواد شیمیایی و در نتیجه به خطر افتادن سلامت مصرف کنندگان اشاره نمود (۱۱). این گونه مشکلات موجب شده تا طی سال‌های اخیر استفاده از برخی از مواد محرک‌ایمنی در غذای آبزیان پرورشی متداول شود (۲). از عملکردهای مهم محرک‌های ایمنی می‌توان به افزایش قدرت بیگانه خواری، افزایش تولید آنتی بادی، افزایش تولید لیزوزیم، افزایش مهاجرت گلبول‌های سفید و غیره اشاره نمود(۲۷). تحریک واکنش‌های ایمنی موجب کاهش استرس و افزایش مقاومت در برابر بیماری‌ها و شرایط نامساعد محیطی می‌شوند (۳۳).

علی‌رغم رشد قابل توجه صنعت پرورش قزل‌آلا در ایران، هنوز استفاده از روش‌های پیشگیری و کنترلی مانند استفاده از گیاهان دارویی عملیاتی نشده است. گیاهان دارویی حاوی پلی فنلی، آلکالوئید، کوئینون(quinone)، ترپنوئید (terpenoid)، لکتین (lectine) و ترکیبات پلی پپتیدی می‌باشند که بواسطه داشتن مزیت هایی از جمله عوارض جانبی کم، سهولت دسترسی، امکان تولید در سطح وسیع، قیمت مناسب و خطر کمتر برای محیط زیست و جانور و وجود تجربیات مختلف بالینی همواره بعنوان جایگزین مناسب برای داروهای شیمیایی و واکسن مورد توجه هستند (۲۰). علاوه براین گیاهان دارویی با تغییر فلور باکتریایی روده منجربه افزایش رشد و بهبود کیفیت لاشه می‌شود. اقبال عمومی به کاهش مصرف داروهای شیمیایی، پژوهش گران را بر آن داشته تا درصدد دستیابی به ترکیبات طبیعی تر و سازگار با محیط زیست برآیند. متابولیت‌های گیاهی به عنوان یک ذخیره عظیم و ارزشمند می‌توانند در این زمینه راه گشا باشند و همواره به عنوان یک منبع مهم از ترکیبات فعال زیستی مورد توجه بود ه اند. یکی از این گیاهان که می‌توان به آن اشاره کرد زنجبیل می‌باشد.

زنجبیل به عنوان ادویه و به عنوان مواد افزودنی طبیعی برای بیش از ۲۰۰۰ سال استفاده می‌شود (۲۰). گزارش شده است ریزوم زنجبیل (*Zingiber officinale*) دارای طیف گسترده‌ای از فعالیت‌های پیشگیری و درمانی است (۱۶). زنجبیل در کنترل طیف وسیعی از بیماری‌های باکتریایی، ویروسی، قارچی و انگلی نیز موثر است (۱). علاوه بر این، زنجبیل بعنوان یک محرک ایمنی برای رشد و سیستم ایمنی در آبزیان مفید است و به کاهش خسارات ناشی از بیماری‌ها در آبزی پروری کمک می‌کند (۱۵،۲۴،۳۶). ریزوم زنجبیل حاوی تعدادی از ترکیبات

*) نویسنده مسئول: تلفن: ۰۱۷-۳۵۷۲۲۲۲۳ نمابر: ۰۱۷-۳۵۷۲۴۰۰۳ Email: akrami.aqua@gmail.com

فعال به عنوان روغن زنجبیل و جینجرولهاست که می‌تواند به شوگال‌ها (shogaol)، زینجرون (zingerone) و پارادول (paradol) تبدیل شود (۱۲). در تحقیقات مختلف به اثرات تحریکی رشد و ایمنی این گیاه در آبزیان پرورشی گزارش شده است که می‌توان به تأثیرات تجویز خوراکی زنجبیل در فیل ماهی پرورشی توسط Gholipour kanani و همکاران (۲۰۱۴) ، Nya و Austin در سال ۲۰۰۹ در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان، El-Desoulky و همکاران در سال ۲۰۱۲ در خرچنگ دراز آب شیرین، Talpur و همکاران در سال ۲۰۱۳ در ماهی باس آسیایی، Dugensi و همکاران در سال ۲۰۰۳، Haghighi و Sharif Rohani در سال ۲۰۱۳، Awad و همکاران در سال ۲۰۱۳ در ماهی قزل‌آلا و Antache و همکاران در سال ۲۰۱۴ در ماهی تیلاپیا اشاره کرد. به رغم مطالعات مختلف در زمینه کاربرد عصاره گیاهان دارویی (۷،۱۴،۲۰،۲۲،۲۳،۲۴) بعنوان محرک‌های ایمنی در بهبود عملکرد رشد، پیشگیری از بیماری و تقویت سیستم ایمنی ، تحقیق جامع و مدونی در خصوص استفاده از عصاره زنجبیل در تغذیه ماهی قزل‌آلای جوان پرورشی انجام نگرفته است. با توجه به اثرات نامطلوب داروهای شیمیایی مورد استعمال در آبزی پروری بر سلامت انسان، محیط زیست و عملکرد فیزیولوژیک آبزی، تحقیق حاضر با هدف تعیین عملکرد عصاره زنجبیل بر عملکرد رشد، مشخصه‌های خونی، بیوشیمی و ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان جوان به انجام رسید.

مواد و روش کار

تحقیق حاضر در پاییز ۱۳۹۳ و به مدت ۶۰ روز در مزرعه پرورش ماهی دنگ آسیاب واقع در روستای خولیندره از توابع شهرستان علی آباد (استان گلستان) انجام شد. در این مطالعه از بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان به ظاهر سالم با وزن تقریبی ۱۴/۱±۰/۲ g استفاده شد. ابتدا مخازن با پرمنگنات پتاسیم (۱۵۰mg/L) ضدعفونی شدند. جهت سازگاری ماهیان با شرایط مخازن آزمایشی ماهیان در ۳ مخزن ۳۰۰ 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 بچه ماهیان و زیست سنجی آن‌ها با ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۱ g در ۹ مخزن ۷۰ لیتری و با تراکم ۱۰ عدد و دبی ورودی ۱ L بر ثانیه 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 دیجیتال (مدل TWT کشور آلمان) اندازه گیری شد. اکسیژن محلول بین ۹-۷ mg/L، pH آب حدود ۸/۱۵-۷/۲۵ و دامنه تغییرات درجه حرارت آب نیز بین ۱۷-۱۳ °C ثبت گردید.

عصاره زنجبیل مورد استفاده در این تحقیق به صورت هیدروالکلی (hydroalcoholic extract) بود و از شرکت داروسازی گیاه اسانس گرگان (استان گلستان، گرگان) تهیه شد. در این بررسی از طرح کاملاً تصادفی متعادل شامل دو سطح ۰/۵ و ۱ ٪ عصاره زنجبیل و در سه تکرار استفاده شد. جیره غذایی به صورت اکسترودر و از شرکت فرادانه شهرکرد خریداری و مورد استفاده قرار گرفت. متوسط تجزیه غذایی، پروتئین خام ۴۰٪، چربی خام ۱۶٪، فیبر خام ۳/۵٪، رطوبت ۱۱٪ بود. برای تهیه جیره‌ها ابتدا غذای کنسانتره توسط میکسر پودر و نرم شد. سپس عصاره زنجبیل 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 (۵۰۰cc 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 ۲-۱ mm به رشته هایی تبدیل شد و در نهایت در سایه قرار گرفت تا با جریان هوا خشک شود (۴). جیره ماهیان گروه شاهد نیز به همین شیوه بدون افزودن عصاره آماده شد. غذای آماده شده به میزان ۲ تا ۳ ٪ وزن توده زنده در دو نوبت صبح و بعداز ظهر به مدت ۶۰ روز به ماهیان خورانده شد و در انتهای دوره آزمایش شاخص‌های رشد شامل وزن نهایی، نرخ رشد ویژه و فاکتور وضعیت بررسی شدند (۴).

[زمان/ (لگاریتم طبیعی میانگین وزن اولیه به گرم - لگاریتم طبیعی میانگین وزن نهایی به گرم)] ×۱۰۰= نرخ رشد ویژه

[(۳میانگین طول انتهای دوره به سانتیمتر)/ میانگین وزن انتهای دوره به گرم)] ×۱۰۰ = فاکتور وضعیت

نمونه گیری: نمونه گیری جهت سنجش پارامترهای خونی و ایمنی در انتهای دوره پرورش ۶۰ روزه از ماهیان قزل‌آلا صورت گرفت. ۲۴ ساعت قبل از خونگیری تغذیه ماهیان قطع شد و سپس ۳۶ عدد ماهی (۴ ماهی به ازای هر تکرار) به ظاهر سالم به طور تصادفی انتخاب شدند و از ورید ساقه دمی آن‌ها خونگیری بعمل آمد. از نمونه‌های خون جمع آوری شده مقدار ۲ سی سی برای جداسازی سرم در لوله‌های سرولوژی فاقد ماده ضد انعقاد و ۲ cc در ظروف حاوی ماده ضدانعقاد هپارین تقسیم گردید. سپس با استفاده از سانتریفوژ با دور ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه سرم جدا و با سمپلر در لوله‌های کوچک تخلیه و در مجاورت یخ به آزمایشگاه انتقال و در شرایط فریزر (دمای ۲۰ °C-) تا انجام آزمایش نگهداری شد.

روش‌های اندازه گیری: فاکتورهای خونی مورد مطالعه به روش توصیه شده توسط Feldman و همکاران در سال ۲۰۰۰ شامل تعداد گلبول‌های قرمز (RBC)، تعداد گلبول‌های سفید (WBC)، هماتوکریت (PCV) و هموگلوبین (Hb) بود (۱۸). همچنین شمارش افتراقی گلبول‌های سفید شامل هتروفیل (نوتروفیل)، لنفوسیت و مونوسیت نیز انجام شد (۱۰). برای اندازه گیری پارامترهای بیوشیمی، سرم خون جداسازی و با استفاده از دستگاه Semianalyser مدل SEAC طبق دستورالعمل شرکت سازنده با استفاده از کیت‌های آزمایشگاهی انجام شد. پروتئین تام به روش بیوره (Biuret)، کلسترول به روش کلسترول اکسیداز (Choestrol

oxidase)، تری گلیسرید به روش آنزیمی لیپاز (Lipase/GPO-PAP)، آلبومین به روش بروموکرزول (Bromocresol Green) و گلوکز به روش گلوکز اکسیداز (Glucose oxidase) اندازه‌گیری شد (۱۰). اندازه گیری کورتیزول خون با روش رادیوایمونواسی RIA (Radioimmunoassay) با استفاده از دستگاه تمام اتوماتیک گاماکانتر مدل L.K.B ساخت فنلاند و بکارگیری کیت هورمونی ایمیونوتک (Immunotech) انجام گرفت.

برای تعیین میزان لیزوزیم از روش ارائه شده توسط Sahoo و همکاران در سال ۲۰۰۶ استفاده شد (۲۸). از نمونه سرم خون باقیمانده بمنظور تعیین غلظت ایمنوگلوبولین کل (Total IgM) از کیت شرکت پارس آزمون و با دستگاه اتوآنالایزر 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 سوپر اکسید اندازه گیری شد (۳). فعالیت مسیر عامل مکمل (CH۵۰٪) از روش ارائه شده توسط Yano در سال ۱۹۹۲ استفاده از سلول‌های قرمز خون خرگوش مورد سنجش قرار گرفت. حجمی از سرم رقیق شده که به ازای آن نیمی از گلبول قرمز تحلیل می‌روند بعنوان CH۵۰ در نظر گرفته می‌شود (۳۴).

برای آنالیز داده‌های حاصل، ابتدا در محیط نرم افزاری SPSS (ویرایش شانزدهم) نرمال بودن آن‌ها توسط آزمون کولموگروف اسمیرنوف انجام شد. برای مقایسه کلی بین تیمارها از آزمون تجزیه واریانس یکطرفه و در صورت معنی‌دار بودن برای مقایسه میانگین بین تیمارها بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن استفاده شد.

نتایج

نتایج حاصل از بررسی شاخص‌های رشد در انتهای دوره آزمایش حاکی از عدم وجود تفاوت معنی‌دار بین ماهیان تغذیه شده با سطوح مختلف عصاره زنجبیل و ماهیان گروه شاهد بود ($p<۰/۰۵$) با این وجود بهترین عملکرد رشد در تیمار ۰/۵٪ عصاره زنجبیل در جیره بدست آمد (جدول ۱).

نتایج حاصل از تأثیر سطوح مختلف عصاره زنجبیل روی میانگین برخی مشخصه‌های خونی ماهیان قزل‌آلای پرورشی در جدول (۲) ارائه شده است. با توجه به نتایج تفاوت معنی‌داری در شاخص‌های خونی بین تیمارهای عصاره زنجبیل با گروه شاهد مشاهده نشد ($p>۰/۰۵$). با این وجود بهبود شاخص‌های خونی در تیمار ۰/۵٪ عصاره زنجبیل مشاهده شد بطوریکه تعداد کل گلبول‌های سفید، گلبول‌های قرمز خون، هموگلوبین، هماتوکریت و شمارش افتراقی گلبول‌های سفید خون نظیر درصد لنفوسیت، منوسیت و نوتروفیل در این تیمار افزایش یافت (جدول۲).

نتایج بدست آمده از اندازه گیری شاخص‌های بیوشیمی سرم خون ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی عصاره زنجبیل در جدول (۳) نشان داده شده است. بر اساس مقادیر مندرج در جدول تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای

جدول۱. میانگین برخی شاخص های رشد (میانگین ± انحراف معیار) ماهیان قزل آلای رنگین کمان جوان تغذیه شده با سطوح مختلف عصاره زنجبیل.

تیمار	شاهد	۰/۵٪ عصاره	۱٪ عصاره
وزن نهایی (g)	۹۳/۸ ±۳/۹	۹۶/۷ ±۵/۲	۹۷/۴ ±۴/۳
نرخ رشد ویژه (day/٪)	۳/۱۷ ±۰/۰۷	۳/۲۱ ±۰/۰۹	۳/۱۱ ±۰/۰۹
فاکتور وضعیت (٪)	۱/۴۵ ±۰/۳۳	۱/۵۹ ±۰/۱۲	۱/۲۸ ±۰/۴۲

جدول ۲. میانگین برخی شاخص های خونی (میانگین ± انحراف معیار) ماهیان قزل آلای رنگین کمان جوان تغذیه شده با سطوح مختلف عصاره زنجبیل.

تیمار	شاهد	۰/۵ ٪ عصاره	۱ ٪ عصاره
تعداد گلبول های سفید ($ml/10^3$)	۹۰/۱±۷/۶	۹۵/۴۶±۴/۷	۹۳/۷±۶/۳
تعداد گلبول های قرمز ($ml/10^6$)	۰/۹۸±۰/۲۵	۱/۲۳±۰/۴۲	۱/۰۶±۰/۲۱
غلظت هموگلوبین (g/dL)	۱۶/۷۵±۱/۵۳	۱۸/۷۱±۳/۸	۱۸/۲۳±۲/۱۱
هماتوکریت (٪)	۵۶/۰۴±۵/۷۳	۶۰/۹۱±۴/۴۵	۶۰/۳۸±۷/۶۲
لنفوسیت (٪)	۸۸/۹±۲/۲	۹۱/۶±۱/۶۳	۹۱/۳±۲/۵
منوسیت (٪)	۲/۳±۰/۵	۲/۸±۰/۶	۲/۴±۰/۹
نوتروفیل (٪)	۶/۳۳±۱/۶۳	۷/۱۲±۲/۴۴	۶/۷۴±۱/۹۶

جدول ۳. میانگین برخی شاخص‌های بیوشیمی سرم (میانگین ± انحراف معیار) ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان جوان تغذیه شده با سطوح مختلف عصاره زنجبیل. میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($p<۰/۰۵$).

تیمار	شاهد	۰/۵ ٪ عصاره	۱ ٪ عصاره
پروتئین (g/dl)	۶/۱۵±۰/۶۲	۶/۳۵±۰/۳۷	۶/۲۵±۰/۲۹
آلبومین (g/dl)	۳/۰۶±۰/۳۲	۳/۳۱±۰/۱۹	۳/۲۶±۰/۲۶
کلسترول (mg/dl)	۲۹۷/۵±۲۸/۵۷	۲۸۷/۶۶±۵۱/۶۷	۲۹۹/۶۶±۲۰/۵۹
تری گلیسیرید (mg/dl)	۱۹۷±۳۴/۹۵	۱۸۳/۶۶±۱۴/۱۷	۲۰۷±۱۱/۸۸
گلوکز (mg/dl)	۶۳±۱۹/۴۰	۶۰±۸/۲۲	۷۵±۱۲/۳۹
کورتیزول (ng/ml)	۶/۹±۲/۰۸ [a]	۳/۱±۱/۲۴ [b]	۳/۷±۱/۳ [b]

حاوی عصاره زنجبیل با گروه شاهد مشاهده نشد ($p>۰/۰۵$). اگرچه بیشترین میزان پروتئین و آلبومین و همچنین کمترین مقدار کلسترول، تری گلیسرید و گلوکز در تیمار ۰/۵٪ عصاره زنجبیل بدست آمد. مقایسه نتایج آماری مربوط به شاخص کورتیزول حاکی از کاهش معنی‌دار این شاخص در تیمارهای عصاره زنجبیل نسبت به گروه شاهد بود ($p<۰/۰۵$).

نتایج حاصل از تغییرات آنزیم‌های سرمی در هر یک از تیمارها در جدول (۴) ارائه شده است. نتایج حاکی از آن بود مقادیر آنزیم‌های سرمی بین تیمارهای عصاره زنجبیل با گروه شاهد تفاوت معنی‌داری را نشان نداد ($p>۰/۰۵$). اگرچه کمترین فعالیت آنزیم‌های متابولیک مربوط به ماهیان تغذیه شده با سطح ۰/۵٪ عصاره زنجبیل بود.

نتایج مربوط به شاخص‌های ایمنی در جدول (۵) نشان داده شده است. افزایش معنی‌دار فعالیت لیزوزیم سرم برای تیمار ۰/۵٪ عصاره زنجبیل به میزان ۴۴/۲ و کمترین آن برای گروه شاهد به میزان ۳۱/۸ واحد در میلی لیتر بدست آمد. با این حال مقایسه نتایج آماری مربوط به سایر پارامترهای ایمنی شامل فعالیت ایمنوگلبولین کل، سوپراکسیددسموتاز و فعالیت مسیر

جدول ۴. میانگین برخی آنزیم‌های سرمی (میانگین ± انحراف معیار) ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان جوان تغذیه شده با سطوح مختلف عصاره زنجبیل.

تیمار	شاهد	۰/۵ ٪ عصاره	۱ ٪ عصاره
AST (U/ml)	۵۹۱/۱۶±۳۴/۴۴	۵۵۲/۱۶±۱۵۲/۱۹	۶۳۰/۶۶±۹۸/۵۷
ALT (U/ml)	۳۳±۴/۲۸	۳۱/±۳/۰۷	۳۰/۳۳±۳/۷۷
ALP (U/ml)	۶۱۵/۳±۷۹/۴	۵۸۳/۸±۸۰/۹	۶۳۳/۲±۵۴/۵
LDH (U/ml)	۳۷۵۴/۵±۳۹۶/۳۸	۳۳۵۱/۵±۹۹۰/۵۹	۳۶۹۹/۸۳±۵۸۲/۱۹

جدول ۵. میانگین برخی شاخص های ایمنی (میانگین ± انحراف معیار) ماهیان قزل آلای رنگین کمان جوان تغذیه شده با سطوح مختلف عصاره زنجبیل. میانگین های هر ردیف با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی دار می باشند ($p<0/05$).

تیمار	شاهد	۰/۵ ٪ عصاره	۱ ٪ عصاره
لیزوزیم (U/ml)	۳۷۸±۶/۳ [a]	۴۴/۲±۳/۸ [b]	۳۴/۵±۸/۲ [a]
ایمنوگلوبولین کل (mg/dl)	۲۹±۹/۳	۳۵±۶/۸	۳۰/۲±۸/۱
سوپر اکسیددسموتاز (U/ml)	۳۵/۳±۷/۲	۳۷/۸±۲/۵	۳۷±۵/۴
سیستم عامل مکمل (٪)	۱۳۶/۳±۵/۴	۱۴۲/۷±۹/۷	۱۳۸/۴±۵/۵

جانبی کمپلمان سرم بین تیمارهای حاوی عصاره زنجبیل با گروه شاهد تفاوت معنی‌داری را نشان نداد ($p>0/05$). اگرچه افزایش شاخص‌های ایمنی مذکور در تیمار ۰/۵٪ عصاره زنجبیل بدست آمد.

بحث

استفاده از مواد شیمیایی در آبزی پروری به طور گسترده‌ای جهت پیشگیری و درمان استفاده می‌شود، اگر چه استفاده از داروهای شیمیایی دارای اثرات منفی متعدد بر سلامت انسان و محیط زیست (ایجاد سویه‌های مقاوم باکتری‌ها و تجمع در بافت‌ها) می‌باشد. از این رو، مدیریت بهداشتی در آبزی پروری باید بر اساس روش‌های دوستدار محیط زیست و پایدار صورت گیرد (۱۷). گزارش شده محصولات گیاهی تحریک کننده اشتها و افزایش وزن هستند و به عنوان محرک ایمنی عمل می‌کنند و دارای اثرات ضد باکتریایی و ضد عامل بیماریزا در ماهی و نرمتنان هستند، که به علت فعالیت مولکول هایی مانند آلکالوئیدها، ترپنوئیدها، ساپونین‌ها و فلاونوئیدها می‌باشد (۲۶).

نتایج بررسی حاضر نشان داد تغذیه ماهیان قزل‌آلا با سطوح مختلف عصاره زنجبیل باعث بروز تفاوت معنی‌دار در شاخص‌های رشد نظیر وزن نهایی، نرخ رشد ویژه و فاکتور وضعیت نگردید. اگرچه بیشترین عملکرد رشد در ماهیان تغذیه شده با سطح ۰/۵٪ عصاره زنجبیل مشاهده شد لذا احتمال می‌رود این سطح از زنجبیل در جیره بعنوان عامل اشتها آور و تحریک آنزیم‌های گوارشی عمل کرده است. بنابراین قابلیت هضم جیره افزایش یافته و منجر به افزایش رشد ماهیان شده است (۳۱). در شباهت با نتایج تحقیق ما، Gholipour kanani و همکاران در سال ۲۰۱۴ با افزودن ۱ g پودر زنجبیل به ازای ۱۰۰ g غذا به جیره فیل ماهی پرورشی (Huso huso) تفاوت معنی‌داری را در شاخص‌های رشد بین تیمار زنجبیل و گروه شاهد مشاهده نکردند (۲۱). Nya و Austin در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان، El-Desoulky و همکاران در سال ۲۰۱۲ در خرچنگ دراز آب شیرین (Macrobrachium rosenberg) و Talpur و همکاران در سال ۲۰۱۳ در ماهی باس آسیایی (Lates calcarifer) تأثیر مثبت پودر زنجبیل را بر عملکرد رشد گزارش کردند.

نتایج حاصل از تأثیر عصاره زنجبیل روی مشخصه‌های خونی ماهیان قزل‌آلا نشان داد تفاوت معنی‌داری در شاخص‌های خونی و پروفایل گلبول‌های سفید بین تیمارهای عصاره زنجبیل با گروه شاهد مشاهده نمی شود ($p>0/05$). با این وجود بهبود شاخص‌های خونی در تیمار ۰/۵٪ عصاره زنجبیل مشاهده شد. افزایش شاخص‌های خونی در این تیمار نشانگر تأثیر تحریک ایمنی و خواص ضدعفونی زنجبیل می‌باشد. ترکیبات زیست فعال موجود در زنجبیل شامل آلکالوئیدها، فلاونوئیدها، پلی فنول‌ها، استروئیدها، تانن، فیبر، کربوهیدرات، ویتامین‌ها، کاروتنوئیدها و مواد معدنی بواسطه فعال سازی سیستم ایمنی به طور مستقیم بر سلامت ماهی تأثیر می‌گذارند (۲۵،۳۰). Ghasemi Pirbalooti و همکاران در سال ۲۰۱۱ با افزودن اسانس چند گیاه دارویی در سطح ۱٪ به غذای ماهی قزل‌آلا گزارش کردند میزان لنفوسیت و هتروفیل خون در جیره حاوی اسانس مرزه بختیاری (*Satureja bachtiarica*) در مقایسه با گروه شاهد به ترتیب افزایش و کاهشی نشان داد (۲۰). Haghighi و Sharif Rohani در سال ۲۰۱۳ با افزودن پودر زنجبیل در سطح ۱٪ افزایش معنی‌داری را در تعداد گلبول‌های سفید، قرمز و هماتوکریت در مقایسه با گروه شاهد گزارش کردند (۲۲). همچنین Talpur و همکاران در سال ۲۰۱۳ گزارش کردند در ماهی باس آسیایی تغذیه شده با پودر زنجبیل به ویژه در سطح ۱٪ مقادیر پارامترهای خونی در قبل و بعد از مقابله با ویروس ویبریو هاروی (*Vibrio harveyi*) نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌داری داشت (۳۱). Gholipour kanani و همکاران در سال ۲۰۱۴ با افزودن ۱ g گرم پودر زنجبیل به ازای ۱۰۰ g غذا به جیره فیل ماهی پرورشی تفاوت معنی‌داری را در شاخص‌های خونی بین تیمار زنجبیل و گروه شاهد مشاهده نکردند (۲۱) که با نتایج تحقیق حاضر شباهت دارد. گزارش شده است که مواد محرک ایمنی، لزوما نمی توانند اثر معنی‌داری بر شاخص‌های هماتولوژیک از جمله تعداد گلبول‌های قرمز، میزان هموگلوبین و هماتوکریت داشته باشند (۳۲) و بمنظور کارایی موثر آن‌ها بایستی زمان، غلظت، روش تجویز و وضعیت فیزیولوژیکی ماهی در نظر گرفته شود (۲۷). مطلعات نشان داد گرچه استفاده از افزودنی‌های گیاهی تأثیر مثبتی بر بسیاری از شاخص‌ها دارند ولی استفاده از آن‌ها در جیره وابسته به دوز می‌باشد بطوریکه مقادیر بیشتر یا کمتر از حد مجاز می‌تواند بدون اثر باشد یا اثر مهارکنندگی داشته باشد (۷).

مطالعات متعدد نشان داده پارامترهای ایمونولوژیکی پس از تجویز عصاره گیاه به شکل تزریق داخل صفاقی یا خوراکی در ماهی بهبود یافته و ماهی تحت درمان، افزایش فعالیت لیزوزیم، فعالیت فاگوسیتوزی، افزایش

فعالیت انفجار تنفسی و افزایش پروتئین‌های پلاسما (گلوبولین و آلبومین) را نشان داده است اگرچه در بسیاری از موارد، مکانیسم‌های مسئول پاسخ فیزیولوژیکی در ماهی هنوز ناشناخته است (۲۶). لیزوزیم یک پارامتر مهم دفاعی هم در مهره داران و هم در بی مهرگان می‌باشد. لیزوزیم یک آنزیم ضد باکتریایی است که توسط لوکوسیتها و به خصوص مونوسیت‌ها، ماکروفاژها و نوتروفیلها تولید می‌شود (۵). این آنزیم پپتیدوگلیکان را در دیواره باکتری‌ها می‌شکند و بدین ترتیب به طور غیراختصاصی از رشد میکروارگانیسم‌های بیماریزا جلوگیری می‌کند. لیزوزیم در تسهیل بیگانه خواری نیز مشارکت دارد که این فرایند پاسخ ایمنی می‌باشد که سبب تسهیل عمل فاگوسیتوز می‌گردد (۱۳).

نتایج حاصل از پارامترهای ایمنی در تحقیق حاضر بیانگر افزایش معنی‌دار فعالیت لیزوزیم سرم در تیمار ۰/۵٪ عصاره زنجبیل نسبت به تیمار ۱٪ عصاره و گروه شاهد بود. افزایش لیزوزیم سرم نقش عصاره زنجبیل در ارتقاء پاسخ ایمنی غیراختصاصی در ماهی قزل‌آلا را تأیید می‌نماید. دلیل احتمالی افزایش لیزوزیم در تیمار ۰/۵٪ عصاره زنجبیل در تحقیق حاضر این است که عمل تعدیل کنندگی زنجبیل بعنوان محرک ایمنی به ترکیب زیست فعال آن یعنی جینجرول gingerol مربوط است که فعالیت اینترکولین-۶ (interleukin-۶) را القاء می‌کند. از طرفی زنجبیل بدلیل خواص آنتی اکسیدانی بالقوه اش بعنوان تضعیف کننده و نابودکننده رادیکال سوپراکسید و به عنوان یک مکانیسم حفاظتی احتمالی در مقابل مسمومیتی خودبخودی و کشندگی در نظر گرفته شده است (۱۹). در مطالعه ما؛ سایر پارامترهای ایمنی شامل فعالیت ایمنوگلبولین کل، سوپراکسیددسموتاز و فعالیت مسیر جانبی سیستم کمپلمان بین تیمارهای حاوی عصاره زنجبیل با گروه شاهد تفاوت معنی‌داری را نشان ندادند ($p>0/05$) ولی با اینحال افزایش این شاخص‌های ایمنی در تیمار ۰/۵٪ عصاره زنجبیل بدست آمد. احتمال می‌رود ترکیبات موجود در زنجبیل بر میزان پروتئین‌های سرم ماهی تأثیر چندانی نداشته که مقدار فعالیت مسیر جانبی عامل مکمل تغییر نکرده است. ولی در مجموع عصاره زنجبیل تأثیر مثبتی را نشان داده و سبب افزایش پارامترهای ایمنی شده است اما میزان غلظت عصاره زنجبیل در محدوده مطالعه تأثیری را بر نتایج فعالیت مسیر جانبی عامل مکمل و فعالیت سوپراکسیددسموتاز نشان نداده است.

Ghasemi Pirbalooti و همکاران در سال ۲۰۱۱ گزارش کردند در اثر تغذیه ماهی قزل‌آلا با اسانس گیاه پونه کوهی (*Mentha longifolia*)، مرزه خوزستانی (*Satureja bachtiarica*) و زرین گیاه (*Deracocephalum multicaula*) در سطح ۱٪ شاخص‌های ایمنی شامل درصد فاگوسیتوز، تعداد جرم فاگوسیته شده و شاخص ایمنوگلبولین افزایش یافت (۲۰). Dugensi و همکاران در سال ۲۰۰۳ در بررسی اثر عصاره آبی چند گیاه دارویی شامل عصاره داراواش (*Viscum album*)، گزنه (*Urtica dioica*) و زنجبیل در سطوح ۰/۱٪ و ۱٪ به جیره ماهی قزل‌آلا به این نتیجه رسیدند که عصاره این گیاهان منجر به تحریک صفات ایمنی نظیر فاگوسیتوز در لکوسیت‌های خون، فعالیت‌های تنفس بین سلولی و درون سلولی گردید بطوریکه در تیمار ۱٪ عصاره آبی زنجبیل افزایش معنی‌داری در شاخص‌های ایمنی در مقایسه با سایر تیمارها و گروه شاهد مشاهده گردید (۱۴). در مطالعه‌ای که توسط Awad و همکاران در سال ۲۰۱۳ انجام گرفت مشخص شد که عصاره گیاه گزنه (کوئرستین Quercetin) دارای اثرات تحریک ایمنی می‌باشد و فعالیت لیزوزیم و ایمنوگلبولین در ماهی قزل‌آلا را تحریک می‌کند (۷). Haghighi و Sharif Rohani در سال ۲۰۱۳ اظهار کردند افزودن پودر زنجبیل در سطح ۱٪ باعث تحریک و افزایش معنی‌دار فعالیت لیزوزیم و انفجار تنفسی در ماهی قزل‌آلا گردید (۲۲). همچنین Talpur و همکاران در سال ۲۰۱۳ گزارش کردند در ماهی باس آسیایی تغذیه شده با سطوح مختلف پودر زنجبیل مقادیر پارامترهای ایمنی شامل فعالیت فاگوسیتی، انفجار تنفسی، لیزوزیم، فعالیت باکتری کشی و آنتی پروتئاز در قبل و بعد از مقابله با ویروس ویبریو هاروی به ویژه در سطح ۱٪ افزایش معنی‌داری داشت (۳۱). برخلاف نتایج تحقیق ما؛ Gholipour kanani و همکاران در سال ۲۰۱۴ با افزودن ۱ g پودر زنجبیل به ازای ۱۰۰ g غذا به جیره فیل ماهی پرورشی گزارش کردند که لیزوزیم تحت تأثیر این افزودنی گیاهی قرار نگرفت (۲۱). Antache و همکاران در سال ۲۰۱۴ گزارش کردند افزودن ۱٪ زنجبیل به جیره ماهی تیلاپیا (*Oreochromis niloticus*) منجر به افزایش فعالیت لیزوزیم گردید ولی در مقایسه با گروه شاهد معنی‌دار نبود (۶). در بررسی حاضر نیز روند مشابهی در تیمار ۱٪ عصاره زنجبیل بدست آمد. Nafisi Bahabadi و همکاران در سال ۲۰۱۴ با غنی سازی جیره ماهی قزل‌آلا با عصاره علف مورچه (*Achillea millefolium*) تفاوت معنی‌داری در فعالیت لیزوزیم در روز ۱۵ و ۳۰ پرورش مشاهده نکردند ولی در روز ۳۰ پرورش افزایش معنی‌داری در فعالیت کمپلمان سرم در تیمار ۱٪ در مقایسه با سایر تیمارها و گروه شاهد بدست آمد (۲۳). در مطالعه حاضر، افزایش فعالیت مسیر جانبی کمپلمان در تیمارهای حاوی عصاره زنجبیل در مقایسه با گروه شاهد معنی‌دار نبود. 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. در تحقیق ما فعالیت سوپراکسید دسموتاز تفاوت معنی دری را در بین ماهیان تغذیه شده با سطوح مختلف عصاره زنجبیل نشان نداد اگرچه سطح ۰/۵٪ عصاره زنجبیل نسبت به سایر تیمارها افزایش داشت. نتایج تحقیق حاضر با نتایج Yuan و همکاران در سال ۲۰۰۷ که گزارش کردند تفاوت معنی‌داری در فعالیت سوپراکسید دیسموتاز ماهی کپور که با سطوح ۰/۵٪ و ۱٪ مخلوط عصاره گیاهی herbal immune regulation mixture (HIRM) تغذیه شدند وجود نداشت مشابهت داشت (۳۵). Baba و همکاران در

سال ۲۰۱۵ اثر عصاره قارچ خوراکی (*Lentinula edodes*) را بمدت ۶ هفته در سطوح ۱٪ و ۲٪ به جیره ماهی قزل‌آلا افزودند و گزارش کردند که پارامترهای ایمنی در تیمارهای عصاره قارچ در مقایسه با گروه شاهد افزایش داشت و به لحاظ آماری افزایش معنی‌دار در ایمنوگلبولین سرم فقط در تیمار ۲٪ عصاره قارچ مشاهده شد (۸). تفاوت در نتایج تحقیقات مختلف را می‌توان به تفاوت‌های گونه‌ای، شرایط محیطی پرورش، نوع مکمل گیاهی، آماده‌سازی و تأثیر گونه ماهی در پاسخ به مکمل گیاهی مورد استفاده ربط داد.

نتایج بررسی حاضر تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای عصاره زنجبیل با گروه شاهد در شاخص‌های بیوشیمی سرم نشان نداد ($p>0/05$). بیشترین میزان پروتئین و آلبومین و همچنین کمترین مقدار کلسترول، تری گلیسرید و گلوکز در تیمار ۰/۵٪ عصاره زنجبیل بدست آمد. همچنین میزان کورتیزول در تیمارهای عصاره زنجبیل بطور معنی‌داری کمتر از گروه شاهد بود ($p<0/05$). نتایج حاصل از مقادیر آنزیم‌های سرمی نیز تفاوت معنی‌داری را بین تیمارهای حاوی عصاره زنجبیل با گروه شاهد نشان نداد ($p>0/05$). اگرچه کمترین میزان فعالیت آنزیم‌های متابولیک مربوط به ماهیان تغذیه شده با ۰/۵٪ عصاره زنجبیل بود. احتمالاً علت عدم مشاهده تفاوت معنی‌دار درشاخص‌های بیوشیمی در ماهیان قزل‌آلای تغذیه شده با سطوح مختلف عصاره زنجبیل در مطالعه حاضر، مناسب بودن شرایط محیطی و احتمالاً کوتاه بودن دوره پرورش باشد و به نظر می‌رسد در صورت انجام تحقیق در دوره طولانی‌تر اثرات این محرک‌های ایمنی ممکن است به صورت معنی‌دار در شاخص‌های سلامت بروز نماید. شاید احتمال بهبود شاخص‌های بیوشیمی در این مطالعه را بتوان اینگونه توجیه کرد که پلی فنول‌ها و فلاونوئیدها از مواد زیست فعال موجود در زنجبیل هستند که خاصیت آنتی اکسیدانی داشته و بعنوان مکانیسم حفاظتی در برابر استرس در پیشگیری از عفونت نقش دارند. همچنین مشخص شده که ساپونین در کاهش کلسترول، بهبود هایپرلیپودمیا، کاهش قند خون و خواص ضد میکروبی برای جلوگیری از آسیب توسط پاتوژن‌های خارجی نقش دارد (۲۵). از طرفی کاهش در میزان گلوکز خون به بهبود سیستم آنتی اکسیدانی در سلول‌های پانکراس در تولید انسولین نسبت داده شده است (۳۱). مشخص شده که افزایش سطح پروتئین پلاسما در ماهیان تغذیه شده با عصاره‌های گیاهی یکی از اندیکاتورهای مکانیزیم دفاعی هومورال است (۱۴).

Dugensi و همکاران در سال ۲۰۰۳ در بررسی اثر عصاره آبی گیاه داروا‌ش، گزنه و زنجبیل در سطوح ۰/۱٪ و ۱٪ به جیره ماهی قزل‌آلا گزارش کردند بیشترین میزان پروتئین پلاسما در گروه تغذیه شده با سطح ۱٪ عصاره آبی زنجبیل مشاهده شد (۱۴). همچنین Talpur و همکاران در سال ۲۰۱۳ با افزودن زنجبیل به جیره غذایی ماهی سی باس افزایش معنی‌دار پروتئین تام و آلبومین و کاهش معنی‌دار گلوکز، تری گلیسرید و کلسترول در تیمارهای آزمایشی حاوی پودر زنجبیل به ویژه سطح ۱۰ گرم زنجبیل مشاهده کردند (۳۱). Gholipour kanani و همکاران در سال ۲۰۱۴ با افزودن ۱ g پودر زنجبیل به ازای ۱۰۰ g غذا به جیره فیلماهی پرورشی تفاوت معنی‌داری در مقادیر آلبومین و آنزیم‌های سرمی ALT و AST بین تیمار زنجبیل و گروه شاهد مشاهده نکردند (۲۱) که با نتایج تحقیق حاضر مشابه بود. مکانیسم این فرآیند را می‌توان چنین تفسیر کرد که ترکیبات زیست فعال موجود در زنجبیل شامل فنل‌ها، فلاونوئیدها، تانن‌ها و ساپونین‌ها بواسطه ایمنی بافت هدف از عفونت آن جلوگیری کرده و ممکن است از پراکسیداسیون غشاهای سلولی بافت چربی پیشگیری نموده و مانع از آزادسازی آنزیم‌ها به پلاسما گردد. Nafisi Bahabadi و همکاران در سال ۲۰۱۴ با افزودن سطوح مختلف ۰، ۰/۱، ۰/۵ و ۱ درصد عصاره علف مورچه به جیره ماهی قزل‌آلا کاهش معنی‌داری تری گلیسرید در تیمار ۰/۵٪، کاهش معنی‌داری کلسترول در تیمار ۱٪ و افزایش معنی‌داری پروتئین در تیمار ۱٪ و افزایش معنی‌دار آلبومین در تیمار شاهد و ۰/۵٪ در مقایسه با سایر تیمارها و همچنین کاهش معنی‌داری LDH در تیمار ۱٪ در انتهای آزمایش ولی افزایش معنی‌دار AST و ALP در تیمار حاوی ۱٪ در روز ۱۵ گزارش کردند (۲۳).

بنابرین استفاده از عصاره زنجبیل در سطح ۰/۵٪ جیره در مزارع پرورشی قزل‌آلا از جنبه‌های تولیدی واقتصادی 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 وقابل توصیه می‌باشد اگرچه ایجاد یک روش استاندارد شده از جمله روش‌های استخراج مبتنی بر مولکول‌های زیست فعال موجود، غلظت مناسب مصرف عصاره و راه تجویز مناسب در آینده مورد نیاز می‌باشد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله نگارندگان این مقاله از شرکت داروسازی گیاه اسانس گرگان به مدیریت آقای دکتر سلیمانی بخاطر در اختیار گذاشتن عصاره زنجبیل و آقای مهندس علمشاهی بواسطه تأمین ماهی و امکان استفاده از فضای کارگاه تشکر و قدردانی می‌نمایند.

References

1. Agrawal, M., Walia, S., Dhingra, S,. Khambay, B.P.S. (2001) Insect growth inhibition antifeedant and antifungal activity of compounds isolated derived from *Zingiber officinale* Roscoe, ginger rhizome. Pest Manag Sci. 57(3):289-300.
2. Ahmadi, K., Mirvaghefei, A.R., Banaee, M., Vosoghi, A.R.(2014) Effects of long-term diazinon exposure on some immunological and

haematological parameters in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Toxicol Environ Health Sci. 6(1):1-7.

3. Ai, Q., Xu, H., Mai, K., Xu, W., Wang, J., Zhang, W. (2011) Effects of dietary supplementation of *Bacillus subtilis* and fructooligosaccharide on growth performance, survival, non-specific immune response and disease resistance of juvenile large yellow croaker (*Larimichthys crocea*). Aquaculture. 317(1-4):155–61.
4. Akrami, R., Iri, Y., Khoshbavar Rostami, H., Razeghi Mansour, M. (2013) Effect of dietary supplementation of fructooligosaccharide (FOS) on growth performance, survival, lactobacillus bacterial population and hemato-immunological parameters of stellate sturgeon (*Acipenser stellatus*) juvenile. Fish Shellfish Immunol. 35(4):1235–39.
5. Alishahi, M., Ranjbar, M.M., Ghorbanpour, M., Peyghan, R., Mesbah, M., Razi, J.M., (2010) Effects of dietry aloevera on some specific and nonspecific immunityin in the common carp (*Cyprinus carpio*). Int J Vet Res. 4(3):189-195.
6. Antache, A., Cristea, V., Grecu, I., Dediu, L., Crețu, M., Petrea, Șt.M. (2014) The influence of some phytobiotics on haematological and some biochemical indices at *Oreochromis niloticus*. Anim Sci Biotech. 47(1):192-199.
7. Awad, E., Austin, D., Lyndon, A.R (2013) Effect of black cumin seed oil (Nigella sativa) and nettle extract (Quercetin) on enhancement of immunity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture. 388–391:193–197.
8. Baba, B., Uluköy, G., Öntaş, C. (2015) Effects of feed supplemented with *Lentinula edodes* mushroom extract on the immune response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and disease resistance against *Lactococcus garvieae*. Aquaculture. 448:476–482.
9. Bartley, J., Jacobs, A. (2000) Effects of drying on flavour compounds in Australian-grown ginger (*Zingiber officinale*). J Sci Food Agric. 80:209-215.
10. Borges, A., Scotti, L.V., Siqueira D.R., Jurinitz D.F. Wassermann. G.F. (2004) Hematologic and serum biochemical values for jundia (*Rhamdia quelen*). Fish Physiol Biochem. 30: 21-25.
11. Chang, C., Chen, H.Y., Su, M.S. (2000) Immunomodulation by dietary in the brooders of the grass prawn (*Penaeus monodon*). Fish Shellfish Immunol.10: 505-514.
12. Chang, Y., Liu, C., Wu, C., Chiang, C., Lian, J., Hsieh, S. (2012) Dietary administration of zingerone to enhance growth, non-specific immune response and resistance to *Vibrio alginolyticus* in Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) juveniles. Fish Shellfish Immunol . 32: 284-290.
13. Choi, S-H., Park, K-H., Yoon, T-J., Kim, J-B., Jang, Y-S., Choe, C.H. (2008) Dietary Korean mistletoe enhances cellular non-specific immune responses and survival of Japanese eel (*Anguilla japonica*). Fish Shellfish Immunol. 24:67-73.
14. Dugenci, S.K., Arda, N., Candan, A. (2003) Some medicinal plants as immunostimulant for fish. J Ethnopharmacol. 88(1): 99-106.
15. El-Desouky, H., El-Asely, A., Shaheen, A.A., Abbass, A. (2012) Effects of *Zingiber officinalis* and *Cyanodon dactylon* on the growth performance and immune parameters of *Macrobrachium rosenbergii*. World J Fish Marin Sci. 4(3):301-307.
16. 16. Ernst, E., Pittler, M. H. (2000) Efficacy of ginger for nausea and vomiting: A systematic review of randomized clinical trials. Br J Anaesth. 84(3):367-371.
17. Ewuola, E.o., Folayan, o.A., Gbore, F.A., Adebunmi Akanji, R.A., Ogunlade, J.T. Adeneye, J.A. (2004) Physiological response of growing West African dwarf goats fed groundnut shell-based diets as the concentrate supplements. Bowen J Agric. 1(1):61-69.
18. Feldman, B.F., Zinkl, J.G., Jian, N.C. (2000) Schalm's veterinary hematology. (6th ed.). Lippincott Williams and Wilkins publication, Wiley-Blackwell. Canada. p.1120-1125.
19. Gabor, E.F., Ichim, O., Suteu, M. (2012). Phyto-additives in rainbow trout (*oncorhynchus mykiss*) nutrition. Biharean Biol. 6:134-139.
20. Ghasemi Pirbalooti, A., Pirali, A., Pishkar, Gh., Jalali, S.M.A., Raeisi, M., Jaafarian, D., Hamedi

B. (2011) The effect of some pharmaceutical plant essence on rainbow trout (*Ocorhynchus mykiss*) immunological system. Pharmaceutical Plant J. (In Persian). 2:149-155.

21. 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 Physiol Biochem. 40:481–490.
22. Haghighi, M., Rohani, M.S. (2013) The effects of powdered ginger (*Zingiber officinale*) on the haematological and immunological parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). J Med Plant Herbal Ther Res.1:8-12.
23. Nafisi Bahabadi, M., Banaee, M., Taghiyan, M., Nematdoust Haghi, B. (2014) Effects of dietary administration of yarrow extract on growth performance and blood biochemical parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Int J Aquat Biol 2:275-285.
24. Nya, E.J., Austin, B. (2009) Use of dietary ginger (*Zingiber officinale*) as an immunostimulant to control *Aeromonas hydrophila* infections in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). J Fish Dis. 32(11):971-977.
25. Otunola, G.A., Oloyede, O.B., Oladiji, A.T., Afolayan, A.J. (2010) Comparative analysis of the chemical composition of three spices - *Allium sativum* L. *Zingiber officinale* Rosc. and *Capsicum frutescens* L. commonly consumed in Nigeria. Afr J Biotech. 9(41): 6927–6931.
26. 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.
27. Sakai, M. (1999) Current research status of fish immunostimulants. Aquaculture. 172: 63-92.
28. Sahoo, P.K. (2006) immuno competent organs in teleosts. In: Fish Shellfish Immunol, Swain, P., Sahoo, P.K., Ayyappan, S. (eds.). Navendra Publishing House. Dehli, India. p.1-12.
29. Scalbert, A., Johnson, I.T., Saltmarsh, M. (2005) Polyphenols: antioxidants and beyond. Am J Clin Nut. 81: 2155-2175.
30. Shirin, P.R., Prakash, J. (2010) Chemical composition and antioxidant properties of ginger root (*Zingiber officinale*). Med Plants Res. 4: 2674–2679.
31. Talpur, A.D., Ikhwanuddin, M., Ambok Bolong, A. (2013) Nutritional effects on ginger (*Zingiber officinal* Roscoe) on immune response of Asian sea bass (*Lates calcarifer*) and disease resistance against Vibrio harveyi. Aquaculture. 400–401:46–52.
32. Tangestani, R., Alizadeh Dooghikolaei, E., Ebrahimi, A., Zare, P. (2011) Effects of garlic essential oil as immunostimulation on hematological indices of juvenile Beluga (*Huso huso*). J Vet Res. (In Persian). 66:209-216.
33. Whittington, R., Lim, C., Klesius, P.H. (2005) Effect of dietary β-glucan levels on the growth response and efficacy of *Streptococcus iniae* vaccine in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Aquacul. 248: 217-225.
34. Yano, T. (1992) Assay of hemolytic complement activity. In: Techniques in fish immunology. Stolen, J.S., Fletcher, T.C., Anderson, D.P., Hattari, S.C., Rowley, A.F. (eds.). SOS Publications, Fair Haven, New Jersey, USA. 2:131-141.
35. Yuan, C., Li, D., Chen, W., Sun, F., Wu, G., Gong, Y., Tang, J., Shen, M., Han, X. (2007) Administration of a herbal immunoregulation mixture enhances some immune parameters in carp (*Cyprinus carpio*). Fish Physiol Biochem. 33:93–101.
36. Zhou, H. L., Deng, Y. M. Xie, Q. M. (2006) The modulatory effects of the volatile oil of ginger on the cellular immune response in vitro and in vivo in mice. J Ethnopharmacol. 105(1-2):301-305.

Effect of Feed Supplemented With Ginger (*Zingiber Officinale*) Extract on the Growth, Biochemical and Hemato-Immunological Parameters of Rainbow Trout (*Oncorhynchus Mykiss*)

Akrami, R.*, Ahmadi, Z., Chitsaz, H., Shamloofar, M., Habibi Nodeh, F., Sadeghi-Asl, F., Zarrini, N.

Department of Fisheries, Azadshahr Branch, Islamic Azad University, Azadshahr, Iran
(Received 3 September 2017, Accepted 19 December 2017)

Abstract:

BACKGROUND: Replacement of natural materials with synthetic drugs in order to increase production and safety. **OBJECTIVE:** The purpose of this study was to investigate the effect of feed supplemented with ginger (*Zingiber officinale*) extract on the growth, biochemical and hemato-immunological parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **METHODS:** Fish with an average body weight 14.1±0.2 g were fed diet for 8 weeks with 0.5% and 1% ginger extract and with unsupplemented commercial diet as the control. Blood samples were collected from caudal vein from apparently healthy fish at the end of trial. Growth (weight gain, specific growth ratio and condition factor), hematological (RBC,WBC, Hb, Hct, monocyte, lymphocyte and neutrophil), Biochemical (glucose, total protein, triglycerides, cholesterol, albumin, AST, ALT, LDH and ALP) and immunological (lysozym activity, ACH50,IgM, and SOD) parameters were determined. **RESULTS:** The results showed that there were no significant differences ($p>0.05$) in growth, hematological, biochemical and metabolic enzymes between fish fed control and ginger extract supplementation. The lowest level of cortisol was observed in 0.5% ginger extract ($p<0.05$). Lysozyme activity was significantly increased in 0.5% ginger extract fed fish ($p<0.05$). **CONCLUSIONS:** The results suggest that by using 0.5% ginger extract there will be an improvement in growth and immune function of rainbow trout.

Keyword: Ginger (*Zingiber officinale*) extract, Growth, Blood variable, Immune response, Rainbow trout

Figure Legends and Table Captions

Table 1. Average of growth performance (M±SD) of the rainbow trout after feeding with diets containing different concentrations of ginger extract.

Table 2. Average of hematological parameters (M±SD) of the rainbow trout after feeding with diets containing different concentrations of ginger extract.

Table 3. Average of serum biochemical parameters (M±SD) of the rainbow trout after feeding with diets containing different concentrations of ginger extract.

Table 4. Average of serum enzyme (M±SD) of the rainbow trout after feeding with diets containing different concentrations of ginger extract.

Table 5. Average of immunological parameters (M±SD) of the rainbow trout after feeding with diets containing different concentrations of ginger extract.

***Corresponding author's email: akrami.aqua@gmail.com, Tel: 017-35722223, Fax: 017-35724003**