

## اثرات عصاره سیر (*Allium sativum*) در جیره غذایی ماهی قزل آلی رنگین کمان (*Oncorhynchus*

### *mykiss*) پرورش یافته در سیستم بازگردشی آب: عملکرد رشد، پاسخ ایمنی و کیفیت آب

سید حامد معصومی، حسین آدینه\*، محمد هرسیج، حجت ا... جعفریان، حسنی قلی پور کنعانی

گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، ایران.

### چکیده

### نوع مقاله

#### مقاله پژوهشی اصیل

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۵/۱۰

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۹/۰۲

تاریخ چاپ الکترونیکی: ۱۴۰۲/۰۹/۱۵

\*نویسنده مسئول:

adineh.h@gmail.com

این تحقیق به منظور تعیین اثرات عصاره سیر به عنوان مکمل غذایی بر عملکرد رشد، شاخص‌های خونی و کیفیت آب محیط پرورش ماهی قزل آلی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) تحت تنش آمونیاک انجام شد. تعداد کل ۱۵۶ قطعه ماهی (میانگین وزن ۱/۶۵ ± ۱۸/۸۹ گرم و طول کل ۰/۵۲ ± ۱۲/۲۷ سانتی‌متر) در ۱۲ مخزن ۵۰ لیتری به مدت ۶۰ روز (دوره اول: ۵۰ روز تغذیه با سطوح مختلف عصاره سیر) و (دوره دوم: ۱۰ روز تحت تنش آمونیاک با غلظت ۰/۰۲۴ میلی‌گرم در لیتر) پرورش داده شدند. آزمایش شامل افزودن سطوح مختلف عصاره به غذای پایه به ترتیب ۰، ۱/۵ و ۱ درصد (به ترتیب شاهد، A1، A2 و A3) بود. عملکرد رشد در ماهیان تغذیه شده با مکمل عصاره سیر به‌طور معنی‌داری بیشتر از شاهد بود. ضریب تبدیل غذایی بین تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری داشت، به‌طوری‌که در تیمار A2 کمترین و در تیمار شاهد بیشترین مقدار به‌دست آمد. غلظت‌های پروتئین، ایمونوگلوبولین و کورتیزول به‌طور معنی‌داری تحت تاثیر سطوح مختلف سیر قرار گرفت. پایان دوره آزمایش، ماهی‌ها در یک سیستم بازچرخش بسته آب به مدت ۲۴ ساعت نگهداری شدند. نمونه‌برداری از آب محیط پرورش هر ۴ ساعت یکبار انجام شد. آمونیاک آب از ساعت ۱۶ تا ۲۴ آزمایش افزایش یافت. در پایان آزمایش (زمان ۲۴) بیشترین میزان آمونیاک در تیمار A3 (۰/۴۳) بدست آمد. افزودن ۱ تا ۱/۵ درصد عصاره سیر باعث بهبود عملکرد رشد و پاسخ ایمنی در ماهی قزل آلی رنگین کمان شد درحالی‌که در سیستم بازچرخشی کیفیت آب محیط پرورش در تیمار شاهد وضعیت بهتری داشت.

**کلید واژه‌ها:** ماهی قزل آلی رنگین کمان، عصاره سیر، استرس آمونیاک، سیستم بازگردشی آب

### مقدمه

با توجه به توسعه صنعت آبی‌پروری همراه مسائل مهمی همچون تغییرات کیفیت آب، عوامل نامساعد محیطی، شیوع بیماری‌ها و مشکلات تغذیه‌ای مورد توجه محققین و پرورش‌دهندگان قرار گرفته است. شیوع انواع بیماری‌ها به‌عنوان مشکل عمده آبی‌پروری بوده و در سال‌های اخیر محققین به‌منظور توسعه پایدار این صنعت جایگزین کردن داروهای گیاهی و مشتقات آنها بجای داروهای آنتی‌بیوتیکی را توصیه می‌کنند. تحقیقات نشان می‌دهد که استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها و داروهای شیمیایی در آبی‌پروری دارای تبعاتی، از جمله خطر مقاوم شدن عوامل بیماری‌زا به این داروها، باقی‌ماندن داروها در گوشت ماهیان مورد تغذیه انسان و نیز مسئله آلودگی‌های زیست محیطی می‌باشد<sup>[۱]</sup>. رشد آبی‌پروری تحت تاثیر عوامل مختلف محیطی و تغذیه‌ای قرار می‌گیرد، لذا افزودنی‌های غذایی گیاهی می‌توانند با تاثیر بر شاخص‌هایی نظیر قابلیت هضم، کارایی تغذیه و طعم غذا، میزان رشد در آبی‌پروری را تحت تاثیر قرار دهند. محرک‌های ایمنی با تقویت سیستم ایمنی غیراختصاصی، مقاومت ماهیان را در برابر بیماری‌های عفونی افزایش می‌دهند. این مواد به‌عنوان عوامل دارویی برای کنترل بیماری‌ها از اهمیت زیادی برخوردار هستند. گیاهان دارویی با داشتن مزیت‌هایی از جمله عوارض جانبی کم، قیمت مناسب، در دسترس بودن، آسیب کمتر برای محیط‌زیست و جانور، امکان تولید در سطح وسیع باقیمت

پایین، عدم ایجاد مقاومت نسبی عوامل بیماری‌زا به داروهای گیاهی، انحصاری بودن درمان برخی بیماری‌ها همواره به‌عنوان جایگزین مناسب برای داروهای شیمیایی مورد توجه هستند [۴، ۳، ۲].

گیاه سیر بزرگ‌ترین و مهم‌ترین جنس خانواده (*Alliaceae*) با حدود ۴۵۰ گونه است [۵]. اثرات درمانی و ضد میکروبی سیر به دلیل وجود ترکیبات ارگانوسولفور از جمله آلیسین است [۶]. آلیسین باعث افزایش تولید سایتوکینینها، فعالیت ماکروفاژها، لنفوسیتها و سایر سلول‌های سیستم ایمنی می‌گردد [۷]. اثرات سودمند سیر به ترکیبات فعال زیستی حاوی سولفوردار آلیسین، دی‌الیل سولفید و آلتین مربوط می‌شود [۸، ۹]. علاوه بر این عصاره سیر با از بین بردن باکتری‌های بیماری‌زا منجر به بهبود سیستم ایمنی و با تحریک ترشحات بزاقی پانکراس، صفرا و آنزیم‌های مخاط روده باعث افزایش قابلیت هضم و جذب و در نتیجه بهبود عملکرد رشد و کاهش ضریب تبدیل غذایی می‌گردد [۱۰ و ۱۱].

ماهی قزل آلی رنگین کمان با نام علمی *Oncorhynchus mykiss* به‌عنوان یکی از گونه‌های اصلی پرورشی در صنعت آبی‌پروری محسوب می‌شود که بدلیل داشتن سرعت رشد بالا، سازگاری با غذای کنسانتره، تراکم‌پذیری دارای اهمیت تجاری می‌باشد [۱۲]. با توجه به نیاز جمعیت کشور به دسترسی به منابع پروتئینی سالم و استفاده بهینه از منابع آبی، پرورش ماهی قزل آلی رنگین کمان در کشور در سال‌های اخیر توسعه زیادی یافته است.

یکی از راه‌کارهای بهبود رشد و تقویت سیستم ایمنی آبزیان، استفاده از گیاهان دارویی با خاصیت آنتی‌اکسیدانی مانند سیر (*Allium sativum*) است که در این خصوص می‌توان به تحقیقات انجام شده بر عملکرد فیزیولوژیکی ماهی قزل آلی رنگین کمان همچون تأثیر سیر بر فاکتورهای رشد، برخی پارامترهای خونی و ترکیبات بدن [۱۳]، تأثیر عصاره گیاه سیر بر برخی شاخص‌های خونی و ایمنی [۱۴]، تأثیر عصاره سیر و عصاره سرخارگل بر برخی از پاسخ‌های دفاعی غیراختصاصی [۱۵]، اثرات جایگزینی پودر ماهی با پودر گوشت با استفاده از پودر سیر بر رشد، تغذیه، آنزیم‌های گوارشی و اسیدهای چرب [۱۶]، اثرات عصاره سیر میکروانکپسوله بر عملکرد رشد، ترکیبات بدن و پاسخ ایمنی و آنتی‌اکسیدانی [۱۲]، اثرات سیر مکمل در جیره غذایی بر عملکرد رشد، ترکیبات بدن، پروفایل اسیدهای چرب [۱۷]، اثرات محافظتی، ایمونولوژیک و هیستوپاتولوژیک عصاره سیر بر توان فیزیولوژیکی ماهی قزل آلی رنگین کمان در معرض سمیت حاد مس [۱۸] می‌توان اشاره کرد. بنابراین هدف از اجرای این پژوهش بررسی تأثیر سطوح مختلف عصاره سیر به‌منظور بهبود عملکرد رشد، ایمنی و تغییرات کیفیت آب ماهی قزل آلی پرورش یافته در سیستم بازچرخشی بود.

بوم‌سازگان‌های مانگرو در نواحی بین جزر و مدی مناطق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری جهان پراکنش دارند و نقش‌های اکولوژیکی مهمی در این مناطق ساحلی ایفا می‌کنند [۲]. مانگروها مکان‌های مهمی برای تغذیه و تخم‌ریزی آبزیان فراهم می‌کنند، زیستگاه‌های ارزشمندی برای آبزیان در فصل مهاجرت هستند و محل‌های نوزادگاهی گونه‌هایی مانند میگوها و ماهیان مختلف می‌باشند [۳]. پیچیدگی ساختاری ناشی از ریشه‌های هوایی و تنه گیاهان مانگرو یکی از خصوصیات مهم این بوم‌سازگان‌ها است که می‌تواند کارکردهای مختلفی داشته باشد. برای نمونه این ساختارها مکانی برای پنهان شدن موجودات از دست شکارچیان می‌باشند و یا مکان‌های زندگی برای گروه‌های دیگری از آبزیان مانند شکم‌پایان هستند. بقایای گیاهی مانگرو (برگ و ریشه پوسیده) در کنار منابع دیگر تولیدکننده مانند جلبک‌ها در تقویت تولیدات ثانویه و نیز در چرخه غذایی بوم‌سازگان‌های مانگرو نقش مهمی ایفا می‌کنند [۴]. با این وجود موارد متعددی نیز وجود دارد که نشان داده است تولیدات گیاه مانگرو در تغذیه آبزیان این بوم‌سازگان نقش معنی‌داری بازی نمی‌کنند. به‌عنوان مثال نقش مواد آلی تولید شده توسط گیاهان مانگرو در رشد سخت‌پوستان و به ویژه میگوها در شمال استرالیا بسیار ناچیز گزارش شده است [۵]. هرچند نتایج تحقیقات مختلف در زمینه نقش مواد آلی تولید شده توسط گیاهان مانگرو در تغذیه آبزیان مختلف و گاهی متضاد است، ولی همه این تحقیقات بر تأثیر شرایط محیطی حاکم بر آن بوم‌سازگان مانند دما، شوری و وضعیت هیدرولوژیکی بر کم و یا زیاد بودن این نقش تأکید دارند.

اکثر عناصر بیش از یک نوع ایزوتوپ پایدار دارند. ایزوتوپ‌های پایدار دارای هسته‌ی پایداری هستند که متلاشی نمی‌شود و انرژی از خود آزاد نمی‌کنند. ایزوتوپ‌های پایدار، ردیاب‌هایی طبیعی می‌باشند که از آنها می‌توان در شناسایی منابع آلاینده‌های طبیعی و انسانی، تعیین مسیرهای مهاجرتی آبزیان، بازسازی شرایط آب و هوایی گذشته، تعیین منابع غذایی موجودات و سطوح تغذیه‌ای استفاده کرد [۶]. نسبت ایزوتوپ‌های پایدار نیتروژن  $\delta^{15}\text{N}$  به عنوان ابزاری برای شناسایی سطح‌های تغذیه‌ای و رابطه‌ی شکار و شکارچی کاربرد دارد [۷]. در تولیدکنندگان اولیه، مقادیر ایزوتوپ نیتروژن کم است و با افزایش سطح تغذیه‌ای افزایش پیدا می‌کند. میزان غنی‌شدگی  $\delta^{15}\text{N}$  از منابع اولیه به مصرف‌کننده‌ها به ازای هر سطح غذایی بین ۲/۵ واحد در هزار تا ۳/۵ واحد در هزار می‌باشد [۸]. بر عکس  $\delta^{15}\text{N}$  در مورد ایزوتوپ کربن شکنش‌های محدودی در طول زنجیره غذایی اتفاق می‌افتد و میزان غنی‌شدگی این ایزوتوپ از منابع اولیه به مصرف‌کننده کمتر از یک واحد در هزار است [۹]. از این رو، ایزوتوپ کربن برای شناسایی منابع اولیه غذایی موجودات کاربرد دارد [۱۰]. در کنار این ویژگی، مقادیر  $\delta^{13}\text{C}$  در تولیدکننده‌های (مانند فیتوپلانکتون، جلبک‌های ماکروسکوپی و مانگرو) مختلف یک اکوسیستم هم متفاوت است از این رو به عنوان ابزاری مناسب جهت، ردیابی منابع اولیه غذایی موجودات کاربرد دارد [۱۱]. برای نمونه میزان ایزوتوپ کربن در گیاهان مانگرو عموماً کمتر از (۳۰- بین و ۲۴- واحد در هزار) از علف‌های دریایی است (حدود ۱۵- واحد در هزار) [۱۲].

## مواد و روش‌ها

### آماده‌سازی شرایط نگهداری ماهی در سیستم بازگردشی آب

تعداد کل ۱۶۰ قطعه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان از مرکز پرورش ماهیان سردابی شهرستان ساری تهیه و برای ۱۴ روز سازگاری با شرایط آزمایشگاهی به آزمایشگاه مهندسی آبزیان دانشگاه گنبدکاووس انتقال یافت. برای شروع کار تعداد ۱۵۶ ماهی با میانگین وزنی  $1/65 \pm 18/89$  گرم با محلول ۲ درصد نمک ضدعفونی شد. ماهیان در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۱۲ مخزن (۴ تیمار آزمایشی هر یک با ۳ تکرار) با حجم آبیگری ۵۰ لیتر با تراکم ذخیره‌سازی ۴/۹۰ کیلوگرم در مترمکعب جایابی شدند. در این آزمایش از آب شهری کلر زدایی شده استفاده شد. برای برقرار سیستم بازگردشی آب، خروجی آب پرورش هر تیمار (با ۳ تکرار- مخزن) وارد مخزن مرکزی ۱۰ لیتری شده و در آنجا توسط پمپ دارای فیلتر از جنس ابر متخلخل عمل جذب مواد معلق، باقی‌مانده غذا و مدفوع انجام شد. در طول دوره آزمایش ۲۲ درصد تعویض آب انجام شد. آب فیلتر شده همراه با آب تازه توسط یک پمپ به ۳ مخزن پرورشی هر تیمار پمپاژ شد. به‌طور کلی برای ۴ تیمار آزمایشی نیز ۴ سیستم مجزا بازگردشی آب اجراء گردید.

### آماده‌سازی جیره غذایی حاوی عصاره هیدروالکلی گیاه سیر

گیاه سیر (*Allium sativum*) از فروشگاه تهیه و جهت گرفتن عصاره به آزمایشگاه مهندسی آبزیان انتقال داده شد. ابتدا پوسته سیر جدا و پس از شستشو در آن با دمای ۲۵ تا ۳۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سیر خشک شده توسط آسیاب کاملاً خرد گردید و به نسبت ۱ : ۱۰ با اتانول ۹۸ درصد درون ارلن ریخته و برای ترکیب و استخراج مواد موثره، به مدت ۷۲ ساعت بر روی دستگاه شیکر قرار داده شد. محتویات ارلن از کاغذ صافی واتمن شماره ۱ عبور تا عصاره سیر جدا شود سپس عصاره با کمک دستگاه روتاری مدل HS2005S ساخت کشور کره در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد تغلیظ شد. عصاره به دست آمده در ظرف شیشه‌ای تیره‌رنگ درون یخچال در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد برای افزودن به جیره غذایی تجاری نگهداری گردید [۱۹]. در هر یک از مراحل رشد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (FFT1 و FFT2) در محدوده وزنی ۱۵ تا ۵۰ گرم و GFT1 در محدوده وزنی ۵۰ تا ۱۰۰ گرم از غذای تجاری شرکت فردانه تهیه گردید. میانگین ترکیبات بیوشیمیایی (برحسب درصد) برای پروتئین خام ۴۱، چربی خام ۱۴/۵، فیبر خام ۳، رطوبت ۸، فسفر ۱/۲۵ و انرژی ۴۱۴۳/۸۴۵ کیلوکالری بر کیلوگرم بود. از عصاره سیر به میزان ۰، ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد به ترتیب (شاهد، A1، A2 و A3) به جیره غذایی اضافه شد. به‌منظور اتصال عصاره سیر از ژلاتین ۲ درصد استفاده شد [۲۰]. برای یکسان شدن شرایط

آماده‌سازی غذا به تیمار شاهد تنها ژلاتین اضافه شد. جیره‌های غذایی حاوی سبیر به‌طور مجزا در کیسه‌های زیبدار پلاستیکی بسته‌بندی و شماره‌گذاری شده و در دمای یخچال نگهداری شد. غذادهی در ۴ نوبت تا حد سیری (ساعات ۷، ۱۱، ۱۵ و ۲۰) به مدت ۶۰ روز انجام شد.

### استرس مزمن آمونیاک

بطور کلی ۶۰ روز کل دوره آزمایش بود که ماهیان ابتدا به‌مدت ۵۰ روز با سطوح مختلف عصاره سبیر تغذیه شدند و سپس همه‌ی آنها به‌مدت ۱۰ روز در برابر استرس مزمن آمونیاک قرار گرفتند. برای تعیین غلظت مزمن ابتدا پیش‌تست انجام شد و میزان حساسیت ماهیان به آمونیاک محاسبه گردید و ۱۰٪ غلظت میانه‌ی کشنده آمونیاک غیر یونیزه برای ماهی قزل‌آلی رنگین‌کمان در حدود ۰/۰۲۴ میلی‌گرم در لیتر تعیین شد.

### شاخص‌های رشد و تغذیه

بعد از ۶۰ روز دوره پرورش برای انجام زیست‌سنجی ماهیان به‌مدت ۲۴ ساعت گرسنه نگهداری شد. وزن توسط ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۱ گرم و طول به‌وسیله خط‌کش مدرج با دقت ۱ میلی‌متر اندازه‌گیری شد. شاخص‌های رشد و تغذیه بر اساس فرمول‌های ذیل محاسبه شد [۲۳].

افزایش وزن (WG, g) = میانگین وزن نهایی (گرم) - میانگین وزن اولیه (گرم)

میانگین رشد روزانه (ADG, %) = [(وزن نهایی - وزن اولیه) / مدت‌زمان پرورش] × ۱۰۰

ضریب رشد ویژه (SGR, %day<sup>-1</sup>) = ((ln وزن نهایی (گرم) - ln وزن اولیه (گرم)) / (تعداد روزهای دوره پرورش × ۱۰۰))

ضریب تبدیل غذایی (FCR) = [مقدار غذای مصرف‌شده (گرم) / (وزن نهایی (گرم) - وزن اولیه (گرم))]

کارایی تبدیل غذا (FCE, %) = (وزن بدست آمده / مقدار غذای مصرف‌شده (گرم)) × ۱۰۰

نسبت کارایی پروتئین (PER) = (وزن بدست آمده (گرم) / مقدار مصرف پروتئین (گرم))

نسبت کارایی چربی (LER) = (وزن بدست آمده (گرم) / مقدار مصرف چربی (گرم))

### سنجش فاکتورهای ایمنی غیراختصاصی

پایان دوره آزمایش هم‌زمان با زیست‌سنجی، از رگ ساقه دمی ۳ ماهی از هر تکرار توسط سرنگ (غیر هپارینه) خون‌گیری شد. برای جداسازی سرم، نمونه خون هر تکرار در سانتریفیوژ یخچال‌دار با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۰ دقیقه با دور ۳۰۰۰ × rpm قرار داده و تا زمان اندازه‌گیری در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

پروتئین کل سرم سنجیده و از پروتئین کل تیمار شده با PEG کسر می‌گردد. برای سنجش آنزیم‌های کبدی در سرم خون ماهی قزل‌آلا از کیت تشخیص کمی شرکت پارس آزمون با روش فتومتریک بر اساس روش پیشنهادی DGKC (استاندارد انجمن بیوشیمی آلمان) برای آنزیم آلکالین فسفاتاز (ALP)، روش پیشنهادی IFCC (فدراسیون بین‌المللی شیمی بالینی و طب آزمایشگاهی) برای آنزیم آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و آنزیم آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) انجام شد [۲۱]. مقدار ایمونوگلوبولین کل با روش ارائه‌شده توسط Siwicki (۱۹۹۳) [۲۲] سنجیده شد. بر این اساس ۰/۱ میلی‌لیتر از سرم با ۰/۱ میلی‌لیتر پلی‌اتیلن گلیکول ۱۲ درصد (PEG, 10000 MW, Sigma Chemical, St Louis, MO, USA) مخلوط و به‌مدت ۲ ساعت انکوباته شده تا مولکول‌های ایونوگلوبولین ته‌نشین شود. سپس در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و با دور ۵۰۰۰ سانتریفیوژ (مدل ۵۴۱۵ R ساخت کشور آلمان) شد. برای تعیین میزان فعالیت لیزوزیم سرم از روش ارائه‌شده توسط [۲۳] Ellis (۱۹۹۰) استفاده شد. بدین منظور از لیزوزیم سفیده تخم‌مرغ (1 mg/ Lysozyme.mL<sup>-1</sup>) منظور ترسیم منحنی به‌عنوان استاندارد استفاده شد. مقدار ۲۵ میکرولیتر از پلاسما به پلیت‌های ۹۶ خانه‌ای شکل الیزا افزوده شد. سپس مقدار ۱۷۵ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتریایی میکروکوکوس لیزودیکتیکوس

(*Micrococcus lysodeikticus*) در غلظت ۰/۰۲ میلی‌گرم در لیتر در ۰/۵ مولار بافر فسفات با پی‌اچ ۶/۲ اضافه شد. با استفاده از دستگاه الیزاریدر مارک Bio-Tek آمریکا جذب نوری اولیه در طول موج ۵۳۰ nm اندازه‌گیری و پس از یکساعت نگهداری در دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد اتاق، مجدداً جذب نوری اندازه‌گیری شد. هر واحد از فعالیت لیزوزیم بر اساس کاهش جذب (۰/۰۰۱ در دقیقه) تعیین شد.

### آنالیز کیفیت آب محیط پرورش

برخی از فاکتورهای فیزیکوشیمیایی آب شامل درجه حرارت، اکسیژن محلول، Ph، هدایت الکتریکی با دستگاه Hack (Model 2000) هر سه روز یکبار اندازه‌گیری شد. پایان ۱۰ روز دوره استرس مزمن با آمونیاک، ماهیان به مدت ۲۴ ساعت بدون تعویض آب بوده که در هر ۴ ساعت نمونه‌برداری از آب محیط پرورش (زمان‌های ۴، ۸، ۱۲، ۱۶، ۲۰ و ۲۴) انجام شد. آنالیز فاکتورهای آمونیاک و نیترات از طریق روش کار استاندارد آزمایشگاهی ارائه شده توسط انجمن بهداشت عمومی آمریکا صورت گرفت [۲۴].

### تجزیه و تحلیل آماری

قبل از اجرای تجزیه و تحلیل آماری نرمال بودن داده‌ها با تست Shapiro Wilk بررسی شد. آنالیز داده‌های با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-Way ANOVA) و آزمون مقایسه میانگین تیمارها به وسیله آزمون توکی (Tukey) صورت گرفت. کلیه آنالیزهای آماری در سطح معنی‌دار  $P < 0/05$  صورت گرفت و میانگین داده‌ها به همراه خطای معیار ( $Mean \pm SD$ ) ارائه شده است. کلیه آنالیزها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ و رسم نمودارها در نرم‌افزار Excel نسخه ۲۰۱۰ انجام شد.

### نتایج

نتایج عملکرد رشد و تغذیه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه‌شده با سطوح مختلف عصاره سیر در جدول ۱ آمده است. پایان دوره آزمایش در سیستم بازگردشی آب، وزن نهایی بین تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌دار آماری داشت به‌طوری‌که بیشترین وزن در تیمار A2 ( $129/73 \pm 17/26$  گرم) و کمترین وزن در تیمار شاهد ( $92/14 \pm 8/74$  گرم) بدست آمد ( $p < 0/05$ ). درصد رشد روزانه و ضریب رشد ویژه بین تیمارهای آزمایشی و تیمار شاهد تفاوت معنی‌داری داشت ( $p < 0/05$ ). در مطالعه حاضر، ضریب تبدیل غذایی بین تیمار شاهد و تیمارهای حاوی عصاره سیر تفاوت معنی‌دار آماری داشت به‌طوری‌که کمترین مقدار آن در تیمار A2 با یک درصد عصاره سیر برابر  $0/86 \pm 0/12$  و بیشترین آن در تیمار شاهد برابر  $1/30 \pm 0/16$  بدست آمد ( $p < 0/05$ ). نسبت کارایی پروتئین و چربی در تیمار A2 در مقایسه با تیمار شاهد افزایش معنی‌دار آماری داشت ( $p < 0/05$ ).

جدول ۱- شاخص‌های رشد و تغذیه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه‌شده با عصاره سیر در سیستم آب برگشتی

A3	A2	A1	شاهد	
$18/54 \pm 1/64^a$	$18/05 \pm 1/52^a$	$18/19 \pm 1/29^a$	$18/73 \pm 1/28^a$	وزن اولیه (g)
$118/49 \pm 11/49^a$	$129/73 \pm 17/26^a$	$121/40 \pm 16/65^a$	$92/14 \pm 8/74^b$	وزن نهایی (g)
$99/91 \pm 11/06^a$	$111/68 \pm 17/52^a$	$103/21 \pm 16/93^a$	$73/41 \pm 9/50^b$	وزن بدست آمده (g)
$9/03 \pm 1/18^{ab}$	$10/40 \pm 2/10^a$	$9/51 \pm 1/80^a$	$6/58 \pm 1/17^b$	میانگین رشد روزانه (%)
$3/09 \pm 0/18^a$	$3/28 \pm 0/27^a$	$3/15 \pm 0/26^a$	$2/65 \pm 0/23^b$	نرخ رشد ویژه ( $day^{-1}$ )
$0/95 \pm 0/10^b$	$0/86 \pm 0/12^b$	$0/93 \pm 0/13^b$	$1/30 \pm 0/16^a$	ضریب تبدیل غذایی ( $g g^{-1}$ )
$105/90 \pm 11/72^a$	$118/33 \pm 18/56^a$	$109/35 \pm 17/92^a$	$77/78 \pm 10/06^b$	کارایی تبدیل غذا (%)
$2/82 \pm 0/27^a$	$3/08 \pm 0/41^a$	$2/89 \pm 0/39^a$	$2/19 \pm 0/20^b$	نسبت کارایی پروتئین ( $g g^{-1}$ )
$7/89 \pm 0/76^a$	$8/64 \pm 1/15^a$	$8/09 \pm 1/11^a$	$6/14 \pm 0/58^b$	نسبت کارایی چربی ( $g g^{-1}$ )

وجود حروف غیرهمسان در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای آزمایشی است ( $p < 0/05$ ).

در جدول ۲ پارامترهای فاکتورهای بیوشیمیایی ماهی قزل آلی رنگین کمان تغذیه‌شده با سطوح مختلف عصاره سیر در سیستم بازگردشی مشخص شده است. نتایج نشان داد که مقدار ایمونوگلوبولین بین تیمار شاهد با تیمارهای آزمایشی (به جزء تیمار A1) تفاوت آماری معنی‌داری داشت. بیشترین مقدار این فاکتور در تیمار A3 تغذیه‌شده با ۱/۵ درصد عصاره سیر و کمترین آن در تیمار شاهد بدون استفاده از عصاره سیر بود. فعالیت لیزوزیم در تیمار A3 ( $42/37 \pm 6/03$  واحد/ میلی‌لیتر/ دقیقه) نسبت به دیگر تیمارها به‌طور معنی‌داری افزایش داشت. کورتیزول بین تیمار شاهد و تیمارهای مصرف‌کننده عصاره سیر اختلاف معناداری داشت ( $p < 0/05$ ). اما بین سطوح مختلف استفاده از عصاره سیر هیچ تفاوتی مشاهده نشد. بیشترین مقدار آن در تیمار شاهد ( $56/00 \pm 5/56$ ) نانوگرم بر میلی‌لیتر) و کمترین مقدار آن در تیمار A3 ( $32/99 \pm 4/58$ ) نانوگرم بر میلی‌لیتر) بدست آمد. آنزیم آلکانین فسفاتاز (ALP) بین تیمار شاهد و تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی‌دار نداشت درحالی‌که مقایسه آماری نشان داد که بین تیمار شاهد و تیمارهای A2 و A3 مقادیر آنزیم‌های آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و آسپارات آمینوترانسفراز (AST) تفاوت آماری دارد.

جدول ۲- فاکتورهای بیوشیمیایی ماهی قزل آلی رنگین کمان تغذیه‌شده با سطوح مختلف عصاره سیر

A3	A2	A1	شاهد	
$22/1 \pm 46/05^a$	$20/0 \pm 28/56^b$	$18/0 \pm 26/26^c$	$17/0 \pm 28/16^c$	ایمونوگلوبولین کل
$42/6 \pm 37/03^a$	$35/2 \pm 31/07^{ab}$	$28/2 \pm 68/52^b$	$29/3 \pm 22/24^b$	فعالیت لیزوزیم
$32/4 \pm 99/58^b$	$40/3 \pm 09/00^b$	$41/3 \pm 71/04^b$	$56/5 \pm 00/56^a$	کورتیزول
$4/0 \pm 07/13^a$	$3/0 \pm 85/10^a$	$3/0 \pm 49/07^b$	$3/0 \pm 30/08^b$	پروتئین کل
$514/69 \pm 57/06^a$	$514/30 \pm 57/54^a$	$478/39 \pm 95/57^a$	$442/18 \pm 74/41^a$	آلکانین فسفاتاز
$3/0 \pm 80/72^b$	$4/0 \pm 46/50^b$	$7/0 \pm 43/51^a$	$8/1 \pm 62/51^a$	آلانین آمینوترانسفراز
$360/20 \pm 00/07^b$	$352/35 \pm 37/01^b$	$469/53 \pm 07/66^a$	$526/28 \pm 00/05^a$	آسپارات آمینوترانسفراز (واحد بین -)

وجود حروف غیرهمسان در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای آزمایشی است ( $p < 0/05$ ).

فاکتورهای کمی و کیفی آب محیط پرورش ماهی قزل آلی رنگین کمان در شرایط استرس مزمن آمونیاک در سیستم بازگردشی آب در جدول ۳ آمده است. این فاکتورها بین تیمارهای مختلف آزمایشی تفاوت معنی‌دار آماری نداشت و در دامنه مناسب برای پرورش این گونه بوده است، بطوریکه میانگین درجه حرارت ( $17/82 \pm 1/02$ ) سانتی‌گراد، Ph ( $8/18 \pm 0/11$ )، هدایت الکتریکی (  $871/06 \pm 24/94$  میکروزیمنس بر سانتی‌متر)، کل مواد جامد محلول ( $427/88 \pm 8/95$  میلی‌گرم در لیتر) و اکسیژن محلول ( $8/34 \pm 0/85$  میلی‌گرم در لیتر) بود.

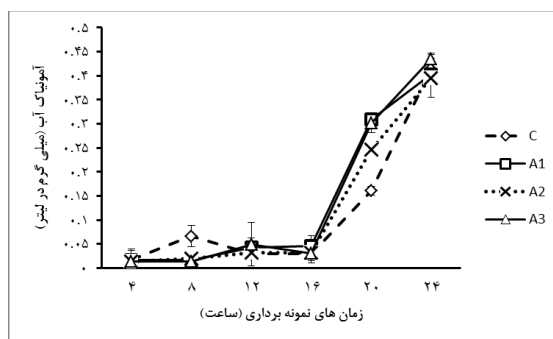
جدول ۳- خصوصیات فیزیکی‌بیوشیمیایی آب محیط پرورش ماهی قزل آلی رنگین کمان تحت استرس مزمن آمونیاک

A3	A2	A1	شاهد	
$17/45 \pm 0/92$	$18/50 \pm 00/33$	$18/17 \pm 0/49$	$17/17 \pm 1/58$	درجه حرارت
$8/13 \pm 00/03$	$8/16 \pm 00/04$	$8/26 \pm 00/16$	$8/18 \pm 00/15$	پی‌اچ
$881/25 \pm 24/14$	$866/50 \pm 11/00$	$864/75 \pm 40/81$	$817/75 \pm 22/80$	هدایت الکتریکی

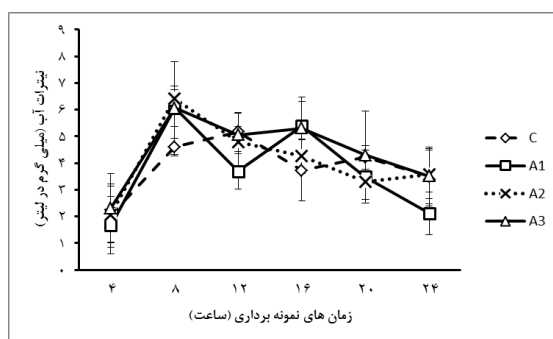
کل مواد جامد محلول	۴۲۷/۵۰ ± ۱۱/۵۶	۴۲۹/۵۰ ± ۸/۱۰	۴۲۲/۷۵ ± ۳/۵۹	۴۳۱/۷۵ ± ۱۱/۳۸
اکسیژن محلول	۸/۸۵ ± ۰/۵۶	۷/۸۱ ± ۱/۲۶	۸/۵۴ ± ۰/۲۴	۸/۱۵ ± ۰/۹۲

عدم وجود حروف در هر ردیف نشان‌دهنده نبود تفاوت معنی‌دار بین تیمارهای آزمایشی است ( $p > 0.05$ ).

غلظت آمونیاک و نیترات آب محیط پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در سیستم بازچرخشی آب در شکل ۱ و ۲ آمده است. پس از ۲۴ ساعت عدم تعویض آب و نمونه‌برداری در زمان‌های ۴، ۸، ۱۲، ۱۶، ۲۰ و ۲۴ مقادیر غلظت‌های آمونیاک و نیترات سنجش شد. از زمان ۱۶ تا ۲۴ نیز غلظت آمونیاک در همه تیمارها روندی افزایشی داشت. مقادیر بدست آمده از آمونیاک در زمان ۱۶، ۲۰ و ۲۴ نشان داد که تیمارهای مصرف‌کننده سطوح مختلف عصاره هیدروآلکلی سیر در مقایسه با تیمار شاهد روند افزایشی داشت. پایان آزمایش (زمان ۲۴) بیشترین میزان غلظت آمونیاک در تیمار A3 (۰/۴۳) بدست آمد. مقدار نیترات از زمان ۴ نمونه‌برداری تا زمان ۱۶ روند تناوبی دارد اما به‌طور کلی از زمان ۱۶ با افزایش غلظت آمونیاک مقدار نیترات کاهش داشت.



شکل ۱- روند تغییرات غلظت آمونیاک محیط پرورش ماهی تغذیه‌شده با سطوح مختلف عصاره سیر در سیستم بازگردشی آب



شکل ۲- روند تغییرات غلظت نیترات محیط پرورش ماهی تغذیه‌شده با سطوح مختلف عصاره سیر در سیستم بازگردشی آب

## بحث و نتیجه‌گیری

بکارگیری گیاهان دارویی با خاصیت آنتی‌اکسیدانی در خوراک آبزیان پرورشی یکی از روش‌های نوین در راستای بهبود عملکرد تولید و مقاوم‌سازی در برابر استرس‌های زیست محیطی می‌باشد. استفاده از سطوح مختلف عصاره سیر در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان باعث افزایش معنی‌داری در معیارهای رشد و تغذیه شد، بطوریکه بیشترین وزن بدست آمده پس از ۶۰ روز دوره پرورش

در تیمار A2 با ۱ درصد افزودن عصاره سیر در جیره غذایی و کمترین آن در تیمار شاهد بدست آمد. در موافقت با مطالعه حاضر، محققین متعددی اثربخش بودن استفاده از سیر در جیره غذایی آبزیان مانند ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان<sup>[۲۵]</sup>، ماهی تیلاپیای نیل (*Oerochromis niloticus*)<sup>[۲۶، ۲۷، ۲۸]</sup>، ماهی کپور (*Cyprinus carpio*)<sup>[۲۹]</sup> را گزارش دادند. افزایش پارامترهای رشد همچون وزن نهایی، نرخ رشد ویژه، ضریب چاقی می‌تواند به دلیل حضور آلیسین موجود در سیر باشد که دارای خواص ضد میکروبی، بهبود هضم مواد مغذی جیره، تحریک فلور روده، افزایش عملکرد روده و دارا بودن مواد ضد باکتریایی است. آلیسین منجر به تحریک اسید معده شده که سبب افزایش کارایی عمل هم و جذب مواد غذایی و در نتیجه افزایش اشتها و غذاگیری می‌گردد<sup>[۳۰، ۳۱]</sup>. در همین راستا، به کارگیری عصاره میکروانکپسوله سیر در جیره ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان باعث افزایش فاکتورهای رشد، کاهش ضریب تبدیل غذایی شد<sup>[۳۲]</sup>. گیاهان مانند سیر با اثر بر ترشحات معده، پانکراس، صفرا و آنزیم‌های مخاط روده عمل هضم را بهتر می‌کند و باعث کاهش ضریب تبدیل غذایی می‌شود<sup>[۱۱]</sup>.

بسیاری از فعالیت‌های آبی‌پروری که منجر به تغییر در کیفیت آب محیط پرورش می‌شوند سبب ایجاد پاسخ‌های فیزیولوژیک استرس در ماهی می‌گردند. در بین گیاهان دارویی به کارگیری گیاه سیر در صنعت آبی‌پروری برای بهبود و تحریک فعالیت سیستم ایمنی غیراختصاصی عمومیت یافته است<sup>[۳۳]</sup>. استفاده از سطوح مختلف عصاره سیر در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان موجب افزایش معنی‌داری در مقدار ایمونوگلوبین خون بین تیمار شاهد و تیمارهای آزمایشی به غیر از تیمار A2 شد. در همین ارتباط، بکارگیری ۰/۱۵ گرم بر کیلوگرم عصاره گیاه دارویی سیر بر شاخص‌های خونی و ایمنی غیراختصاصی ماهی قزل‌آلای انگشت قد منجر به بهبود شاخص‌های ایمنی شد<sup>[۳۴]</sup>. همچنین گزارش شده که استفاده از ۱۰ گرم بر کیلوگرم پودر سیر در جیره غذایی ماهی سوف بر عملکرد رشد تأثیری نداشته در حالیکه منجر به بهبود پارامترهای خونی و ایمنی گردید<sup>[۳۵]</sup>. فعالیت لیزوزیم از مهم‌ترین اجزای ایمنی غیراختصاصی ماهی محسوب می‌شود که موجب تخریب جداره باکتری‌ها، فعال‌سازی کمپلمان و افزایش فعالیت بیگانه‌خواری در ماهی می‌شود. بنابراین، بررسی فعالیت لیزوزیم به عنوان یک عامل مهم ضد میکروبی حائز اهمیت است<sup>[۳۶]</sup>. عصاره سیر اضافه شده به جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان موجب بهبود شاخص‌های ایمنی شد. به این ترتیب که فعالیت لیزوزیم در تیمار A3 نسبت به دیگر تیمارها به طور معنی‌داری افزایش یافت. در مورد عدم افزایش میزان فعالیت لیزوزیم در سایر تیمارها احتمالاً باید آن را به کاهش مصرف و جذب غذا و کاهش حضور ماده آلیسین در سیر نسبت داد. برخی از محققین با مطالعه اثر افزودن پودر سیر بر فعالیت لیزوزیم در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان<sup>[۳۷]</sup> و ماهی تیلاپیای نیل<sup>[۸]</sup> ماهی روهو (*Labeo rohita*)<sup>[۳۸]</sup> گزارش دادند که، غلظت لیزوزیم در ماهیان تغذیه شده با سیر افزایش یافته و موجب بهبود ضریب ایمنی شده است. بر اساس گزارش منتشر شده استفاده از ۰/۵ و ۱ درصد عصاره میکروانکپسوله سیر در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان منجر به افزایش معنی‌دار پروتئین، آلبومین و لیزوزیم سرم خون نسبت به تیمار شاهد شد<sup>[۳۲]</sup>. کورتیزول از مهم‌ترین عوامل هورمونی مؤثر در ارزیابی پاسخ فیزیولوژیکی استرس در ماهیان محسوب می‌شود و افزایش آن در راستای ایجاد سازگاری با شرایط تنش‌زا در ماهیان به اثبات رسیده است. نتایج این پژوهش نشان داد که غلظت کورتیزول خون در تیمارهای حاوی عصاره سیر در مقایسه با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری آماری داشت. آنزیم‌های کبدی به عنوان شاخص فعالیت کبدی محسوب می‌شوند و تغییر در میزان فعالیت و ترشح آن‌ها می‌تواند متأثر از فاکتورهای مختلف زیستی ماهی<sup>[۳۹]</sup> همچون خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آب، تراکم، شرایط پرورشی، نوع جیره مصرفی، سن، جنس و وضعیت سلامت باشد. در مطالعه حاضر غلظت آنزیم‌های ترانس آنزیم‌های آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) در تیمارهای آزمایشی (A2 و A3) نسبت به تیمار شاهد اختلاف معناداری داشت. همسو با نتایج ما مشخص



شد که افزودن عصاره سیر در جیره غذایی ماهی تیلاپیا باعث تفاوت معنی‌داری در شاخصه‌های سرمی ALT و AST شد [۲۷]. پروتئین کل بین تیمارهای آزمایشی و شاهد اختلاف معنی‌دار داشت. با افزایش سطح عصاره سیر مقدار این معیار افزایش داشته به طوری که بیشترین مقدار پروتئین در تیمار A3 و کمترین مقدار آن در تیمار شاهد مشاهده شد. افزایش پروتئین کل در جیره‌های حاوی سیر را می‌توان به افزایش سطح ایمونوگلوبولین و غلظت گلوبولین کل نسبت داد [۴۰]. همسو با نتیجه این آزمایش، نیا و آستین [۲۷] با مطالعه عصاره سیر بر ماهی قزل‌آلا رنگین کمان نشان دادند که سیر موجب افزایش فعالیت آنتی‌پروتئازها شده و در نتیجه میزان پروتئین را افزایش می‌دهد.

استفاده از سیستم بازگردشی در صنعت آبی‌پروری همواره با مشکلاتی روبرو بوده که از جمله می‌توان به تغییرات کیفیت آب اشاره کرد. آمونیاک به دو شکل آمونیاک غیر یونیزه ( $\text{NH}_3$ ) و آمونیاک یونیزه ( $\text{NH}_4^+$ ) در آب وجود دارد که از آن به‌عنوان نیتروژن آمونیاکی کل (TAN) نامبرده می‌شود [۴۱]. آمونیاک مولکولی برخلاف آمونیوم به دلیل قابلیت نفوذپذیری بسیار بالا از طریق اپیتلیوم آبشش ماهیان و اثرات سمی بر سیستم عصبی و دستگاه گردش خون به شدت مسمومیت‌زاست و در مقادیر حاد از کشندگی بالایی برخوردار است [۴۲]. حد مجاز آمونیاک کل ( $\text{NH}_3$  و  $\text{NH}_4^+$ ) بر اساس  $\text{LC}_{50}$  به مدت ۹۶ ساعت بین ۰/۱۶ تا ۱/۱ میلی‌گرم بر لیتر برای ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در آب‌های معمولی گزارش شده است و سطح قابل قبول آمونیاک غیر یونیزه در سیستم آبی‌پروری حدود ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر می‌باشد [۴۳]. نتایج این آزمایش نشان داد که از زمان ۱۶ به بعد به دلیل نبود تعویض آب آمونیاک در همه تیمارها افزایش یافت که این حالت در تیمارهای مصرف‌کننده سیر نسبت به تیمار شاهد بیشتر بود. به نظر می‌رسد سیر با خاصیت میکروبی‌کشی باعث کشته شدن باکتری‌های نیتروفاژ در محیط پرورش شده باشند. بر اساس گزارش منتشر شده افزایش میزان مصرف سیر از صفر (تیمار شاهد) تا ۴۰ گرم در کیلوگرم غذای ماهی تیلاپیا، میزان بار باکتریایی کل آب از  $10^4 \times 8/18$  واحد تشکیل کلنی در میلی‌لیتر به  $10^4 \times 2/2$  واحد تشکیل کلنی در میلی‌لیتر کاهش یافت که نشان از خاصیت باکتری‌کشی سیر می‌باشد [۲۸]. بطور کلی نتایج این تحقیق نشان داد که افزودن ۱ درصد عصاره سیر باعث بهبود عملکرد رشد و تغذیه شد. پاسخ ایمنی در تیمار ۱/۵ درصد (A3) افزایش معنی‌داری نسبت به شاهد داشت در حالی که کیفیت آب محیط پرورش در تیمار شاهد وضعیت بهتری داشت.

## منابع

1. Diab AS. 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 Veterinary Medical Journal. 2002; 1: 745-750.
2. Boscolo WR, Hayashi C, Meurer F. Cassava by-product meal (*Manihot esculenta*) on feeding Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) fingerlings. Rrevista Brasileira de Zootecnia. 2002; 31: 546- 551.
3. Deka A, Sahu NP, Jain KK. Utilization of fruit processing wastes in the diet of *Labeo rohita* fingerlings. Asian- Australasian Journal of Animal Sciences. 2003; 16:1661-1665.
4. Ghasemi Pirbaluti A, Piralı A, Pishkar GhR, Jalali SMA, Raesi M, Jafarian dehkordi M, Hamedı B. The essential oils of some medicinal plants on the immune system and growth of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Journal of Herbal Drugs. 2010; 2: 149- 155.
5. Lanzotti V. The analysis of onion and garlic. Review Article. Journal of Chromatography A. 2006; 1112: 3-22.
6. Zadeh Hashem E, Farkhondeh T, Sedigh Ara P, Sabah S. Inhibitory Effect of Garlic Extract on the Growth of *Salmonella Typhimurium* and *Shigella Dysenteric*. Journal of Knowledge and Health. 2009; 4(2): 6-9.
7. Agarwal KC. Therapeutic action of garlic constituents. Review Journal of Medical Research. 1996; 16: 111-124.

8. Salah Mesalhy A, Nashwa MAA, Mohamed Fathi M. Effect of garlic on the survival, growth, resistance and quality of *Oreochromis niloticus*. 8<sup>th</sup> International symposium on Tilapia in aquaculture. 2008; 277-296.
9. Ndong D, Fall J. The effect of garlic (*Allium sativum*) on growth and immune responses of hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* × *Oreochromis aureus*). Fisheries biology. 2007; 5: 3-11.
10. Dabbah RV, Edwards M, Moats WA. Antimicrobial action of some citrus fruit oils on selected food-borne bacteria. Journal of Applied Microbiology. 1970; 19: 27-31.
11. Platel K, Srinivasan K. Stimulant action of spices: A myth or reality. Indian of Medical Research. 2004; 119: 167-179.
12. Gause BR. Sparing fish oil with beef tallow in feeds for rainbow trout: effects of inclusion rates and finishing on production performance and tissue fatty acid composition North American Journal of Aquaculture. 2013; 75: 495-511.
13. Farahi A, Kasiri M, Sudagar M, Iraei MS, Shahkolaei MD. Effect of garlic (*Allium sativum*) on growth factors, some hematological parameters and body compositions in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture, Aquarium, Conservation & Legislation. 2010; 3(4): 317-323.
14. Dadoran SP, Qaeni M, Askari Sari A. The effect of garlic plant extract (*Allium sativum* L.) on some hematological and immune indices of fingerling rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Journal of Medicinal Plants. 2014; 4(4): 162-169.
15. Meshkini S, Ghiasi, Y. Evaluate the changes of some immune parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed with extract of garlic (*Allium sativum*) and coneflower (*Echinacea purpurea*). Journal of Animal Environment. 2016; 8(1): 207-214.
16. Esmaeili M, Abedian Kenari A, Rombenso, AN. Effects of fish meal replacement with meat and bone meal using garlic (*Allium sativum*) powder on growth, feeding, digestive enzymes and apparent digestibility of nutrients and fatty acids in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792). Aquaculture Nutrition. 2017; 23(6): 1225-1234.
17. Öz M, Dikel S. Effect of garlic (*Allium sativum*)-supplemented diet on growth performance, body composition and fatty acid profile of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Cellular and Molecular Biology. 2022; 68(2): 217-225.
18. Farhangi M, Adineh H, Harsij M. Protective, immunologic, and histopathologic effects of garlic extract (*Allium sativum*) on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to acute toxicity with copper (Cu<sup>2+</sup>). Iranian Journal of Veterinary Science and Technology. 2022; 14(4): 26-36.
19. Lee D.-H, Ra C.-S, Song Y.-H, Sung K.-I, Kim J.-D. Effects of Dietary Garlic Extract on Growth, Feed Utilization and Whole-Body Composition of Juvenile Sterlet Sturgeon (*Acipenser ruthenus*). Asian Australas. Journal of Animal Science. 2012; 25: 577-583.
20. Reza Gholitabar Z, Jafari V, Mazandarani M. Effects of dietary Thyme (*Thymus vulgaris*) extract on the Resistance and some biochemical parameters in Common carp (*Cyprinus carpio*) to salinity stress. Utilization and Cultivation of Aquatics. 2020; 9(4): 35-44.
21. Moss DM, Rudis M, Henderson SO. Cross-sensitivity and the anticonvulsant hypersensitivity syndrome. The Journal of emergency medicine. 1999; 17(3): 503-506.
22. Siwicki A. Nonspecific defense mechanisms assay in fish. II. Potential killing activity of neutrophils and macrophages, lysozyme activity in serum and organs and total immunoglobulin (Ig) level in serum. Fish diseases diagnosis and preventions methods. 1993.
23. Ellis AE. Lysozyme assays. In: Stolen JS, Fletcher TC, Anderson DP, Robertson BS, Van Muiswinkel. publication. pp. 1990; 101-103.
24. American Public Health Association (APHA). In: Clescert L, Greenberg A, Eaton A. (Eds.), Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 20<sup>th</sup> edition. Washington, USA. 1998.
25. Farahi A, Kasiri M, Sudagar M, Iraei MS, Shahkolaei MD. Effect of garlic (*Allium sativum*) on growth factors, some hematological parameters and body compositions in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). AACL Bioflux. 2010; 3(4): 317-323.
26. Khattab YA, Shalaby AME, Sharaf SM, EL-Marakby HI, Rizkalla EH. The physiological changes and growth performance of the Nile tilapia *Oerochromis niloticu* safter feeding with Biogenic as growth promoter. Egypt of Journal Aquaculture. Biology and Fisheries. 2004; 8: 145-58.

27. Shalaby AM, Khattab YA, Abdelrahman AM. Effects of garlic (*Allium sativum*) and chloramphenicol on growth performance, physiological parameters and survival of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases. 2006; 12(2): 172-201.
28. Diab AS, Aly SM, John G, Abde-Hadi Y, Mohammed MF. 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*. African Journal of Aquatic Science. 2008; 33(1): 63-68.
29. Manoppo H, Kolopita EF, Malatunduh R. Growth promoter effect of garlic (*Allium sativum*) on carp (*Cyprinus carpio* L). International journal of pharm technology research. 2016; 9 (4): 283-288.
30. Shakya SR, Labh SN. Medicinal uses of garlic (*Allium sativum*) improve fish health and acts as an immunostimulant in aquaculture. European Journal of Biotechnology and Bioscience. 2014; 2(4): 44-47.
31. Valenzuela-Gutiérrez R, Lago-Lestón A, Vargas-Albores F, Cicala F, Martínez-Porchas M. Exploring the garlic (*Allium sativum*) properties for fish aquaculture. Fish Physiology and Biochemistry. 2021; 47(4): 1179-1198.
32. Adineh H, Harsij M, Jafaryan H, Asadi M. The effects of microencapsulated garlic (*Allium sativum*) extract on growth performance, body composition, immune response and antioxidant status of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) juveniles. Journal of Applied Animal Research. 2020; 48(1): 372-378.
33. Puangkaew J, Kiron V, Somamoto T, Okamoto N, Satoh S, Takeuchi T, Watanabe T. 2004. Nonspecific immune response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) in relation to different status of vitamin E and highly unsaturated fatty acids. Fish and Shellfish Immunology, 16: 25-39.
34. Dadvaran SP, Ghaeni M, Askary Sary A. Effect of garlic (*Allium sativum* L.) extract on some hematological parameters and immune response of rainbow trout fingerlings. Journal of Medicinal Herbs. 2014; 4(4): 162-169.
35. Zare M, Tran HQ, Prokešová M, Stejskal V. Effects of garlic *Allium sativum* powder on nutrient digestibility, haematology, and immune and stress responses in Eurasian perch *Perca fluviatilis* juveniles. Animals. 2021; 11(9): 2735.
36. Thanikachalam K, Kasi M, Rathinam X. 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. 2010; 1: 614-618.
37. Nya EJ, Austin B. Use of garlic, *Allium sativum*, to control *Aeromonas hydrophila* infection in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Journal of Fish Diseases. 2009; 32: 963-970.
38. Sahu S, Das BK, Mishra BK, Pradhan J, Sarang N. Effect of *Allium sativum* on the immunity and survival of *Labeo rohita* infected with *Aeromonas hydrophila*. Journal Applied Ichthyol. 2007; 23: 80-86.
39. Shahjahan M, Islam MJ, Hossain MT, Mishu MA, Hasan J, Brown C. Blood biomarkers as diagnostic tools: An overview of climate-driven stress responses in fish. Science of the Total Environment. 2022; 843: 156910.
40. Hussein S. Electrophoretic pattern of serum protein and immunoglobulin level in chickens in relation of age. Benha Veterinary Medicinal Journal. 1996; 7: 95-107.
41. Mugnier C, Zipper E, Goarant C, Lemonnier H. Combined effect of exposure to ammonia and hypoxia on the blue shrimp *Litopenaeus stylirostris* survival and physiological response in relation to molt stage. Aquaculture. 2008; 274 (2-4): 398-407.
42. Shingles A, McKenzie DJ, Taylor EW, Moretti A, Butler PJ, Ceradini S. Effects of sublethal ammonia exposure on swimming performance in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Journal of Experimental Biology. 2001; 204(15): 2691-2698.
43. Chen S, Ling J, Blancheton JP. Nitrification kinetics of biofilm as affected by water quality factors. Aquaculture Engineering. 2006; 34 (3): 179-197.

## Effects of garlic extract (*Allium sativum*) in the diet of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) reared in the recirculating aquaculture system: growth performance, immune response and water quality

Seyed Hamed Masoumi, Hossein Adineh\*, Mohammad Harsij, Hojat Allah Jafaryan and Hosna Gholipour Kanani  
Department of Fisheries, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Gonbad Kavous University, Iran.

### ABSTRACT

This research was conducted to determine the effects of garlic extract as feed supplement on the growth performance, body content, blood indicators and culture water quality of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) under stress ammonia. A total number of 156 fish (Average weight  $18.37 \pm 1.43$ g and total length  $12.27 \pm 0.52$ cm) were reared in twelve 50-L tanks for 60 days (First period: 50 days of feeding with different levels of garlic extract) and (Second period: 10 days under ammonia stress of 0.024 mg /L). Experimental included adding different levels of extract to base food, 0, 0.5, 1 and 1.5% (control, A1, A2 and A3, respectively). The growth performance was significantly higher in fish fed garlic extract supplementation than control. There was a significant difference in feed conversion ratio between different treatments, so that was obtained the lowest in A2 and the highest in control. Protein, immunoglobulin and cortisol concentrations were significantly affected by different levels of garlic. The end of the experiment period, the fish were kept in a close recirculation system for 24 hours. Water sampling was carried out every 4 hours. Water ammonia increased from 16 to 24 hours of the test. At the end of the experiment (time 24), the highest ammonia was obtained in treatment A3 (0.43). In general, the results showed that the addition of 1 to 1.5% garlic extract improved the growth performance and immune response in rainbow trout, while in the recirculation system, the water quality of the rearing environment was better in the control treatment.

**KEYWORDS:** Rainbow trout, Garlic extract, Ammonia stress, Water recycling system

### ARTICLE TYPE

Original Research

### ARTICLE HISTORY

Received: 1 Aug 2023

Accepted: 23 Nov 2023

ePublished: 6 Dec 2023

\* Corresponding Author:

Email address: adineh.h@gmail.com

Tel: +(98) 9112790643

© Published by Tarbiat Modares University

ISSN: 2322-5513