

اثر عصاره سیر (*Allium sativum*) بر شاخص های بیوشیمیایی خون و ایمنی در ماهی اسکار، *Astronotus ocellatus*

نگار قطب‌الدین^{۱*}، علی سقایی^۲، میلاد منیعات^۳، زهره قطب‌الدین^۴

*ghotbeddiny2005@gmail.com

- ۱- گروه شیلات، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران
 ۲- گروه شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات خوزستان، اهواز، ایران
 ۳- گروه شیلات، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، ایران
 ۴- گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

تاریخ دریافت: خرداد ۱۳۹۶

تاریخ پذیرش: بهمن ۱۳۹۶

چکیده

در این مطالعه تغییرات در میزان شاخص های بیوشیمیایی و ایمنی ماهی اسکار، *Astronotus ocellatus* تحت تأثیر عصاره سیر مورد مطالعه قرار گرفته است. تعداد ۳۰۰ قطعه ماهی اسکار با وزن اولیه ی 0.36 ± 0.37 گرم در چهار تیمار توزیع شد. چهار جیره ی خوراکی با مقادیر متفاوت عصاره سیر (کنترل، ۰/۵٪، ۱/۵٪ و ۲/۵٪ عصاره سیر) آماده شد. ماهیان به مدت ۸ هفته تغذیه شدند، سپس نمونه برداری انجام شد و پارامترهای بیوشیمیایی مانند پروتئین کل، آلبومین، گلوبولین، تری گلیسرید، کلسترول، آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و آلکالین فسفاتاز (ALP) و پارامترهای ایمنی مانند C3، C4 و فعالیت لیزوزیم بر اساس روش های استاندارد اندازه گیری گردید. پروتئین کل و آلبومین در ماهیان تغذیه شده با ۱/۵٪ عصاره سیر افزایش پیدا کرد اما گلوبولین تفاوت معنی داری را در بین تیمارهای مختلف نشان نداد. تری گلیسرید، کلسترول، ALP و AST در همه تیمارهای تغذیه شده با عصاره سیر کاهش نشان داد. پارامترهای ایمنی شامل C3 و C4 در ماهیان تیمار ۱/۵٪ بهبود یافت و فعالیت لیزوزیم در همه تیمارهای تغذیه شده با عصاره سیر افزایش یافت. نتایج این مطالعه نشان داد که عصاره سیر اثرات مثبتی بر شاخص های بیوشیمیایی و ایمنی در ماهی اسکار دارد و بهترین میزان مشاهده شده در تیمار ۱/۵٪ عصاره سیر بود.

کلمات کلیدی: عصاره سیر، ماهی اسکار، شاخص های بیوشیمیایی، شاخص های ایمنی

*نویسنده مسئول

مقدمه

در سال‌های اخیر، پرورش ماهیان زینتی مانند ماهیان خوراکی به دلیل تقاضای بالا و اهمیت اقتصادی، افزایش یافته است و مطالعات کمی در زمینه ماهیان زینتی شده است. به همین دلیل تحقیقات بیشتری برای بررسی جنبه‌های مختلف پرورش این گونه‌ها مانند تغذیه، بیماری و ایمنی مورد نیاز است. ماهی اسکار، *Astronotus ocellatus* متعلق به خانواده‌ی سیچلیده است و در میان پرورش دهندگان ماهیان زینتی، به علت زیبایی و رنگ‌های متنوع، گونه‌ای محبوب می‌باشد. این گونه به بیماری‌های مختلف مانند باکتری آئروموناس مبتلا می‌شود و برای مقابله با این بیماری باید به مصرف زیاد آنتی‌بیوتیک‌ها پرداخت (Alishahi et al., 2015). مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها باعث تولید پاتوژن‌های مقاوم شده و بر محیط زیست نیز اثرات مضر دارد. محرک‌های ایمنی از بهترین جایگزین‌ها برای آنتی‌بیوتیک‌ها هستند که طیف وسیعی دارند و دوستدار محیط زیست هستند. عصاره‌های گیاهی از امیدبخش‌ترین محرک‌های ایمنی هستند که اثرات مضر بر ماهی، محیط زیست و مصرف‌کننده ندارند.

سیر به دلیل اثرات پیشگیری‌کننده و درمانی (Suetsuna, 1998) و همچنین خصوصیات ضد باکتریایی، ضد قارچی و ضد ویروسی (Block, 1985) یک گیاه شناخته شده در طب سنتی است. خصوصیات بازدارندگی در مقابل برخی باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی مانند *Enterobacter*، *Pseudomonas*، *Streptococcus* و *Salmonella* نیز در مورد سیر بیان شده است (Grosso et al., 2002; Fani et al., 2007). اثرات این گیاه بر گونه‌های پرورشی مانند *Oncorhynchus mykiss* (Mohebbi et al., 2012; Breyer et al., 2015) *Lates calcarifer*، *Poecilia* (Talpur and Ikhwanuddin, 2012) *sphenops* (Pour et al., 2014) *Mesopotamichthys sharpeyi* (Maniat et al., 2014) *Rutilus rutilus* (Ghehdarijani et al., 2014) و *Litopenaeus vannamei* (گل آقایی و

همکاران، ۱۳۹۵) نیز مورد بررسی قرار گرفته است و تقویت رشد، پارامترهای گوارشی و ایمنی گزارش شده است (Lee and Gao, 2012). ترکیبات ارگانوسولفور در این گیاه باعث همه‌ی این اثرات می‌شوند و آلیسین یکی از مهمترین ترکیبات فعال سیر می‌باشد (Tsao and Yin, 2001).

در مجموع، هدف از این مطالعه، بررسی اثرات عصاره سیر به عنوان یک محرک ایمنی گیاهی بر پارامترهای بیوشیمیایی و ایمنی در ماهی اسکار، *Astronotus ocellatus* می‌باشد.

مواد و روش‌ها

تهیه ماهی و طراحی آزمایش: در این مطالعه تعداد ۳۰۰ قطعه ماهی اسکار تایگر (*Astronotus ocellatus*) با وزن اولیه 0.36 ± 0.08 گرم از بازار خرمشهر خریداری شد. پس از انتقال ماهیان به آزمایشگاه گروه شیلات دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز، در محلول ۵ گرم نمک در یک لیتر آب ضدعفونی شدند. سپس به مدت دو هفته با شرایط آزمایش سازگاری صورت گرفت. آزمایش در سه تیمار (۰/۵٪، ۱/۵٪، و ۲/۵٪ عصاره سیر) و یک گروه شاهد (بدون عصاره سیر) انجام شد و برای هر کدام از گروه‌ها، سه تکرار در نظر گرفته شد. تعداد ۲۵ قطعه ماهی در ۱۲ آکواریوم ۲۵۰ لیتری توزیع شدند. در این آزمایش تغذیه ۴ بار در روز در ساعات ۸:۳۰، ۱۱:۳۰، ۱۴:۳۰ و ۱۷:۳۰ در حد سیری بود و هشت هفته در رژیم نوری طبیعی، به طول انجامید. دما 25 ± 0.96 / 24 ± 0.25 درجه سانتیگراد، اکسیژن محلول 7.26 ± 0.49 میلی گرم بر لیتر و pH نیز با میانگین 7.24 ± 0.29 به صورت روزانه با دستگاه مولتی متر دیجیتال (YSI Professional Plus, Ohio, USA) اندازه‌گیری شد.

آماده‌سازی جیره و عصاره سیر: سیر از بازار محلی تهیه شد و پس از شستشو با آب مقطر، پودر شدند. عصاره‌گیری به روش الکلی بر اساس روش (Harikrishnan et al., 2012) انجام گرفت و ۱۰۰ گرم سیر با ۱۰۰۰ میلی لیتر اتانول (۷۰ درصد) عصاره‌گیری شد.

ریخته شد. خون بدون ماده ی ضد انعقاد به مدت یک ساعت در دمای اتاق قرار داده شده و سپس سانتریفیوژ به مدت ۱۰ دقیقه در ۳۰۰۰g به منظور جداسازی سرم انجام گرفت (Atanasova et al., 2008).

شاخص های بیوشیمیایی خون و ایمنی: پروتئین کل بر اساس روش (Burtis and Ashwood, 1986) با کیت تشخیص (زیست شیمی، تهران) اندازه گیری شد. آلومین بر اساس روش (Doumas et al., 1997) برآورد شد. محتوای گلوبولین از تفریق آلومین از پروتئین کل محاسبه شد (Kumar et al., 2005). تری گلیسرید، کلسترول، آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و آلکالین فسفاتاز (ALP) با دستگاه اوتوآنالایزر (Eurolyser, Belgium) و کیت تشخیصی پارس آمون (تهران) مورد اندازه گیری قرار گرفت (Shahsavani et al., 2010).

فعالیت لیزوزیم سرم بر طبق روش (Doumas et al., 1997) با لیز باکتری *Micrococcus lysodeikticus* (Sigma, St. Louis, MO, USA) برآورد شد. لیزوزیم سفیده تخم مرغ (سیگما) از ۰ تا ۲۰ میلی لیتر (در بافر سیترات فسفات ۰/۱ مولار، pH ۵/۸) به عنوان استاندارد استفاده شد. داده ها در طول موج ۴۵۰ نانومتر خوانده شدند. میزان C3 و C4 بر اساس روش کدورت سنجی با استفاده از کیت تشخیصی پارس آمون (تهران) محاسبه شد.

آنالیز آماری: نرمالیتی داده ها بر اساس آزمون کولموگروف-اسمیرنوف مورد ارزیابی قرار گرفت. مقایسه ی میانگین تیمارها با آزمون آنوا یکطرفه (ANOVA) انجام شد و به منظور تعیین اختلاف ها از آزمون دانکن استفاده شد. همه آنالیزها با نرم افزار SPSS انجام پذیرفت. نتایج بر اساس $\text{mean} \pm \text{SD}$ ارائه شده اند.

نتایج

همانگونه که در جدول ۲ قابل مشاهده است، مقادیر پروتئین کل و آلومین تفاوت های معنی داری در تیمار ۱/۵ درصد در مقایسه با گروه های دیگر نشان دادند ($P < 0.05$). مقادیر آنها در بالاترین میزان بودند و به

۱۵۳

روند تهیه جیره بدین صورت بود که در ابتدا همه ی مواد اولیه (جدول ۱) با آب مقطر مخلوط شدند (۳۰۰ سی سی/کیلوگرم) و عصاره سیر نیز به آنها اضافه شد. توسط دستگاه پلت ساز (Aquatic Feed Pellet Mill, MPT)، پلت ها در سایزهای مورد نیاز تهیه شدند و سپس در دمای اتاق خشک شده و بعد از آن، بسته بندی صورت گرفت و در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد تا زمان استفاده ذخیره شدند. میزان مواد مغذی جیره های آزمایشی اعم از پروتئین، چربی و خاکستر در جدول ۱ ارائه شده است. پلت ها در چهار گروه تهیه شدند.

جدول ۱: مواد اولیه و تجزیه تقریبی جیره های آزمایشی (کیلوگرم در گرم)

Table 1. Raw materials and approximate analysis of experimental diets (kg / g)

ترکیب غذایی	
۴۷	پودر ماهی
۲۳	آرد گندم
۱۲	آرد سویا
۷	گلوتن ذرت
۲	روغن ماهی
۳	روغن سویا
۱/۵	^a پرمیکس ویتامینه
۱/۵	^b پرمیکس مواد معدنی
۳	ملاس

آنالیز تقریبی (DM، %): ماده خشک (۸۴/۳)، پروتئین خام (۴۴/۶)، چربی خام (۹/۷)، خاکستر (۸/۶).

^a پرمیکس ویتامینه (در یک کیلوگرم):

A = 1600000 IU, D3 = 400000 IU, E = 40000 mg, K3 = 2000 mg, B1 = 6000 mg, B2 = 8000 mg, B3 = 12000 mg, B5 = 40000 mg, B6 = 4000 mg, B9 = 2000 mg, B12 = 8 mg, H2 = 40 mg, C = 60000 mg, Inositol = 20000 mg

^b پرمیکس مواد معدنی (در یک کیلوگرم):

Iron: 6000 mg, Zinc: 10000 mg, Selenium: 20 mg, Cobalt: 100 mg, Copper: 6000 mg, Manganese: 5000 mg, Iodine: 600 mg, CoCl2: 6000 mg

خون گیری: به منظور نمونه برداری تعداد پنج قطعه از هر تکرار صید شد سپس در محلول پودر میخک (ppm ۱۵۰) بیهوش شدند. خون از سیاهرگ دمی گرفته و مقداری خون بدون ماده ضد انعقاد به منظور اندازه گیری پارامترهای بیوشیمیایی و ایمنی در تیوب های معمولی

پارامترهای ایمنی مانند لیزوزیم، C3 و C4 در جدول ۳ ارائه شده‌اند. لیزوزیم در ماهیان تغذیه شده با عصاره سیر در مقایسه با گروه کنترل مقادیر بالاتری نشان دادند ($P < 0/05$) و بالاترین مقدار در گروه ۱/۵ درصد مشاهده شد. C3 و C4 نیز در گروه ۱/۵ درصد در بالاترین مقدار بود و با گروه‌های دیگر تفاوت معنی‌دار داشت ($P < 0/05$) اما تفاوت معنی‌داری در بین گروه‌های دیگر مشاهده نشد ($P > 0/05$).

ترتیب $0/17 \pm 0/50$ و $0/10 \pm 0/75$ گرم در دسی لیتر اندازه‌گیری شدند. گلوبولین تفاوت معنی‌داری در گروه‌های مختلف نشان نداد ($P \geq 0/05$). در مورد پارامترهایی مانند تری‌گلیسرید، کلسترول، ALP و AST در ماهیان تغذیه شده با عصاره سیر کاهشی دیده شد. به نحوی که کمترین میزان کلسترول و تری‌گلیسرید در تیمار ۰/۵ درصد مشاهده گردید. همچنین بیشترین میزان کلسترول و تری‌گلیسرید نیز در گروه شاهد مشاهده شد. مقادیر ALT نیز در ماهیان تغذیه شده با عصاره سیر در مقایسه با گروه کنترل کاهش یافت اما تفاوت‌ها معنی‌دار نبود ($P \geq 0/05$).

جدول ۲: پارامترهای بیوشیمیایی خون ماهی *A. ocellatus* که با مقادیر مختلف عصاره سیر به مدت ۸ هفته تغذیه شده بودند (n = 9)
Table 2: Biochemical parameters of *A. ocellatus* fish fed with different amounts of garlic extract for 8 weeks (n = 9)

پارامترهای بیوشیمیایی	دوز عصاره سیر			
	۰٪	۰/۵٪	۱/۵٪	۲/۵٪
پروتئین (g dl ⁻¹)	005/04 ± 0/14 ^a	005/22 ± 0/16 ^a	005/50 ± 0/17 ^b	005/19 ± 0/12 ^a
آلبومین (g dl ⁻¹)	001/41 ± 0/08 ^a	001/52 ± 0/08 ^a	001/75 ± 0/10 ^b	001/49 ± 0/05 ^a
گلوبولین (g dl ⁻¹)	003/62 ± 0/05 ^a	003/69 ± 0/08 ^a	003/75 ± 0/07 ^a	003/70 ± 0/07 ^a
تری‌گلیسرید (mg dl ⁻¹)	333/30 ± 29/93 ^a	306/30 ± 24/50 ^a	294/10 ± 15/70 ^a	301/30 ± 9/01 ^a
کلسترول (mg dl ⁻¹)	267 ± 41/38 ^a	236 ± 43/44 ^a	223/60 ± 14/66 ^a	229/60 ± 12/67 ^a
ALP (U dL ⁻¹)	402 ± 11/35 ^b	383 ± 17 ^a	376/30 ± 18/33 ^a	385 ± 14/10 ^a
AST (U dL ⁻¹)	223 ± 0/60 ^b	217/60 ± 0/66 ^{ab}	203/60 ± 0/40 ^a	214/50 ± 0/72 ^{ab}
ALT (U dL ⁻¹)	042/50 ± 03/59 ^a	041/41 ± 03/09 ^a	39/13 ± 01/47 ^a	41/11 ± 03/54 ^a

جدول ۳: پارامترهای ایمنی ماهی *A. ocellatus* که با مقادیر مختلف عصاره سیر به مدت ۸ هفته تغذیه شده بودند (n = 9)
Table 3: Safety parameters of *A. ocellatus*, fed with different amounts of garlic extract for 8 weeks (n = 9)

پارامترهای ایمنی خون	دوز عصاره سیر			
	۰٪	۰/۵٪	۱/۵٪	۲/۵٪
Lysozyme	746/5 ± 46 ^a	828/5 ± 23/96 ^b	873/4 ± 39/71 ^b	831/3 ± 30/85 ^b
C3	9/09 ± 0/60 ^a	10/10 ± 0/66 ^a	12/52 ± 0/40 ^b	9/97 ± 0/72 ^a
C4	2/01 ± 0/10 ^a	2/12 ± 0/13 ^a	2/24 ± 0/15 ^b	2/11 ± 0/10 ^a

لیپید خون توسط کبد کنترل می‌شود و آلیسین از بیوسنتز لیپید در کبد با غیرفعال سازی گروه‌های SH که برای سنتز اسیدهای چرب مورد نیاز هستند، جلوگیری می‌کند (Augusti and Mathew, 1974). فعالیت ALP و AST در ماهیان تغذیه شده با عصاره سیر کاهش یافت اما میزان ALT تغییری نداشت. سیر همچنین

بحث
 در این تحقیق، میزان کلسترول و تری‌گلیسرید در ماهیان تغذیه شده با عصاره سیر کاهش یافت. Shalaby و همکاران (۲۰۰۶) نیز کاهش چربی کل در ماهیان تیلاپییای نیل تغذیه شده با سیر گزارش کردند. این کاهش احتمالاً به دلیل ماده‌ی مؤثره‌ی آلیسین می‌باشد. میزان

پروتئین تشکیل شده است و نقش مهمی در ایمنی اکتسابی دارند (Morgan et al., 2005). افزایش C3 و C4 در این مطالعه نشان می دهد که عصاره سیر بر کبد تأثیر می گذارد و باعث سنتز پروتئین های کمپلمان می شود (Morgan et al., 2005).

ترکیبات حاوی سولفید در سیر مانند آلین، دی آلیل سولفیدها و آلیسین به عنوان مسئول این عملکردها شناخته شده اند (Tsao and Yin, 2001) و قابل توجه است که آلیسین فراوان ترین ترکیب در عصاره سیر است که تقریباً ۷۰ درصد را در بر می گیرد (Block, 1992). در نتیجه، عصاره سیر (*Allium sativum*) اثرات مثبتی بر پارامترهای بیوشیمیایی و ایمنی در ماهی اسکار دارد. این عصاره به عنوان یک مکمل خوراکی در جیره ی ماهی اسکار می تواند مورد استفاده قرار گیرد و بهترین غلظت آن ۱/۵ درصد می باشد. بیشتر عملکردهای بیولوژیک عصاره سیر به ترکیبات ارگانوسولفور به ویژه آلیسین نسبت داده می شود.

تشکر و قدردانی

این مقاله مستخرج از پروژه ای با عنوان "بررسی پارامترهای رشد، هماتولوژی، بیوشیمیایی و آنزیم های کبدی ماهی اسکار (*Astronotus ocellatus*) در پاسخ به مصرف جیره ی حاوی عصاره سیر (*Allium sativum*)" می باشد. هزینه های آن توسط دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز تأمین شده است که بدینوسیله از آن ها قدردانی می گردد.

منابع

عادل، م.، صفری، ر.، ذریه زهرا، م. ج. و الهی، ر.، ۱۳۹۵. مطالعه اثرات ضد باکتریایی برخی از عصاره های گیاهی بر باکتری پرسیپا راکری در شرایط آزمایشگاهی. مجله علمی شیلات ایران، ۲۵ (۳): ۴۱-۵۰.

گل آقایی، م.، عادل، م. و حافظیه، م.، ۱۳۹۵. تأثیر مصرف پودر سیر خام (*Allium sativum*) بر شاخص های رشد، بازماندگی و ترکیب بدن میگوی پا سفید

میزان AST و ALP در ماهی کپور معمولی (Naeiji et al., 2013) و ALT در تیلاپپای نیل (Shalaby et al., 2006) را نیز کاهش داد. این ها شاخص آسیب حاد به سلول های کبدی هستند و از هیپاتوسیت های صدمه دیده رها می شوند. مقادیر پایین این آنزیم ها در جریان خون احتمالاً به دلیل این است که سلول های کبدی یکپارچگی خود را حفظ کرده اند و اجازه ی ترشح این آنزیم ها را به جریان خون نمی دهند.

در این مطالعه پروتئین، آلبومین و گلوبولین در ماهیان تغذیه شده با عصاره سیر افزایش یافت و محققان دیگر نیز در مورد سیر (Sahu et al., 2007; Nya and Austin, 2009; Talpur and Ikhwanuddin, 2012) *Silybum marianum* (Banaee et al., 2011) و *Echinacea purpurea* (Oscoii et al., 2012) نتایج مشابهی را گزارش کرده اند. میزان این پارامترها معمولاً در پاسخ به همه نوع محرک های ایمنی افزایش می یابند (Siwicki, 1989; Misra et al., 2006; Sahu et al., 2007) بدین دلیل که آن ها ترکیبات مهمی در ایمنی هستند و برای حفظ سلامتی سیستم ایمنی مورد نیازند (Wiegertjes et al., 1996; Choudhury et al., 2005; Kumar et al., 2005). پارامترهای ایمنی مانند لیزوزیم و مسیرهای کلاسیک کمپلمان (C3 و C4) نیز در ماهیان تغذیه شده با عصاره سیر افزایش می یابند و بالاترین میزان ایمنی در تیمار ۱/۵ درصد مشاهده شد. افزایش پارامترهای ایمنی ذاتی هومورال توسط عصاره های گیاهی در ماهیان شوریده ی زرد، کپور معمولی، تیلاپپا و قزل آلی رنگین کمان گزارش شده است (Jian and Wu, 2003; Jian and Wu, 2004; Yin et al., 2015; Bohlouli et al., 2006) و در مورد عصاره سیر نیز در ماهیان روهو، قزل آلی رنگین کمان و سی باس آسیایی مشاهده شده است (Sahu et al., 2007; Nya and Austin, 2009; Talpur and Ikhwanuddin, 2012). عصاره سیر فعالیت ماکروفاژ و لوکوسیت ها را افزایش می دهد (Talpur and Ikhwanuddin, 2012) و این فاکتورها باعث افزایش فعالیت لیزوزیم می شوند (Sahoo et al., 2005). سیستم کمپلمان از ۳۰ تا ۳۵

- Bohlouli, S., Ghaedi, G., Heydari, M., Rahmani, A., and Sadeghi, E., 2015.** Effects of dietary Persian oak (*Quercus brantii*) fruit extract on survival, growth performance, haematological and immunological parameters in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, fingerlings. *Aquaculture Nutrition*, 22 (4): 745-751. DOI: 10.1111/anu.12290
- Breyer, K. E., Getchell, R. G., Cornwell, E. R., Wooster, G. A., Ketola, H. G., and Bowser, P. R., 2015.** Efficacy of an Extract from Garlic, *Allium sativum*, Against Infection with the Furunculosis Bacterium, *Aeromonas salmonicida*, in Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 46(3): 273-282.
- Burtis, C.A. and Ashwood, E. R., 1986.** Tietz Textbook of clinical chemistry. 3rd ed. Philadelphia, PA: W.B. Saunders company. DOI: 10.1007/s12291-012-0287-7
- Choudhury, D., Pal, A. K., Sahu, N. P., Kumar, S., Das, S. S., and Mukherjee, S. C., 2005.** Dietary yeast RNA supplementation reduces mortality by *Aeromonas hydrophila* in rohu (*Labe rohita*) juveniles. *Fish and Shellfish Immunology*, 19(3): 281-291. DOI: 10.1016/j.fsi.2005.01.004
- Demers, N. E., and Bayne, C. J., 1997.** The immediate effects of stress on hormones and plasma lysozyme in rainbow trout. *Developmental and Comparative Immunology*, 21(4): 363-373.
- Doumas, B. T., Watson, W. A., and Biggs, H. G., 1997.** Albumin standards and the
- پرورش یافتن با آب دریای خزر. *مجله علمی شیلات*، ۲۵ (۲): ۱۴۳-۱۵۱.
- Alishahi, M., Karamifar, M., and Mesbah, M., 2015.** Effects of astaxanthin and Dunaliella salina on skin carotenoids, growth performance and immune response of *Astronotus ocellatus*. *Aquaculture International*, 23(5): 1239-1248.
- Atanasova, R., Hadjinikolova, L. and Nikolova, L., 2008.** investigations on the biochemical composition of crap fish (Cyprinidae) blood serum at conditions of organic aquaculture, *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 14(2): 117-120.
- Augusti, K. T., and Mathew, P. T., 1974.** Lipid lowering effect of allicin (diallyl disulphide-oxide) on long term feeding to normal rats. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 30(5): 468-470.
- Banaee, M., Sureda, A., Mirvaghefi, A. R., and Rafei, G. R., 2011.** Effects of long-term silymarin oral supplementation on the blood biochemical profile of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 37(4): 885-896. DOI: 10.1007/s10695-011-9486-z
- Block, E., 1985.** The chemistry of garlic and onions. *Scientific American*, 252(3): 114-119. DOI: 10.1038/scientificamerican0385-114
- Block, E., 1992.** The organosulfur chemistry of the genus *Allium*—implications for the organic chemistry of sulfur. *Angewandte Chemie International Edition in English*, 31(9): 1135-1178. DOI: 10.1002/anie.199211351

- measurement of serum albumin with bromocresol green. *Clinica Chimica Acta*, 258(1): 21–30.
- Fani, M. M., Kohanteb, J., and Dayaghi, M., 2007.** Inhibitory activity of garlic (*Allium sativum*) extract on multidrug-resistant *Streptococcus mutans*. *Journal of Indian Society of Pedodontics and Preventive Dentistry*, 25(4): 164.
- Ghehdarijani, M. S., Hajimoradloo, A., Ghorbani, R., and Roohi, Z., 2016.** The effects of garlic-supplemented diets on skin mucosal immune responses, stress resistance and growth performance of the Caspian roach (*Rutilus rutilus*) fry. *Fish & Shellfish Immunology*, 49: 79–83. DOI:10.1016/j.fsi.2015.12.021
- Groppo, F. C., Ramacciato, J. C., Simoes, R. P., Florio, F. M., and Sartoratto, A., 2002.** Antimicrobial activity of garlic, tea tree oil, and chlorhexidine against oral microorganisms. *International Dental Journal*, 52(6): 433–437. DOI: 10.1111/j.1875-595X.2002.tb00638.x
- Harikrishnan, R., Kim, D.-H., Hong, S.-H., Mariappan, P., Balasundaram, C., and Heo, M. S., 2012.** Non-specific immune response and disease resistance induced by *Siegesbeckia glabrescens* against *Vibrio parahaemolyticus* in *Epinephelus bruneus*. *Fish and Shellfish Immunology*, 33(2): 359–364. DOI:10.1016/j.fsi.2012.05.018
- Jian, J., and Wu, Z., 2003.** Effects of traditional Chinese medicine on nonspecific immunity and disease resistance of large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea* (Richardson). *Aquaculture*, 218(1): 1–9. DOI: 10.1016/S0044-8486(02)00192-8
- Jian, J., and Wu, Z., 2004.** Influences of traditional Chinese medicine on non-specific immunity of Jian carp (*Cyprinus carpio*). *Fish and Shellfish Immunology*, 16(2): 185–191. DOI:10.1016/S1050-4648(03)00062-7
- Kumar, S., Sahu, N. P., Pal, A. K., Choudhury, D., Yengkokpam, S., and Mukherjee, S. C., 2005.** Effect of dietary carbohydrate on haematology, respiratory burst activity and histological changes in *L. rohita* juveniles. *Fish and Shellfish Immunology*, 19(4): 331–344. DOI:10.1016/j.fsi.2005.03.001
- Lee, D. H., Ra, C. S., Song, Y. H., Sung, K. I., and Kim, J. D., 2012.** Effects of dietary garlic extract on growth, feed utilization and whole body composition of juvenile sterlet sturgeon (*Acipenser ruthenus*). *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 25(4): 577–583. DOI: 10.5713/ajas.2012.12184
- Maniat, M., Ghotbeddin, N., and Ghatrami, E. R., 2014.** Effect of Garlic on Growth Performance and Body Composition of Benni Fish (*Mesopotamichthys sharpeyi*). *International Journal of Biosciences (IJB)*, 5(4): 269–277. DOI: 10.12692/ijb/5.4.269-277
- Misra, C. K., Das, B. K., Mukherjee, S. C., and Pattnaik, P., 2006.** Effect of long term administration of dietary β -glucan on

- immunity, growth and survival of *Labeo rohita* fingerlings. *Aquaculture*, 255(1): 82–94. DOI: 10.22034/iji.v2i3.75
- Mohebbi, A., Nematollahi, A., Dorcheh, E. E., and Asad, F. G., 2012.** Influence of dietary garlic (*Allium sativum*) on the antioxidative status of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture Research*, 43(8): 1184–1193. DOI : 10.1111/j.1365-2109.2011.02922.x
- Morgan, B. P., Marchbank, K. J., Longhi, M. P., Harris, C. L., and Gallimore, A. M., 2005.** Complement: central to innate immunity and bridging to adaptive responses. *Immunology Letters*, 97(2): 171–179. DOI: 10.1016/j.imlet.2004.11.010
- Naeiji, N., Shahsavani, D., and Baghshani, H., 2013.** Effect of dietary garlic supplementation on lipid peroxidation and protein oxidation biomarkers of tissues as well as some serum biochemical parameters in common carp *Cyprinus carpio*. *Fisheries Science*, 79(4): 699–705. DOI: 10.22067/veterinary.v8i2.52876
- Nya, E. J., and Austin, B., 2009.** Use of garlic, *Allium sativum*, to control *Aeromonas hydrophila* infection in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Journal of Fish Diseases*, 32(11): 963–970. DOI: 10.1111/j.1365-2761.2009.01100.x
- Oskoi, S. B., Kohyani, A. T., Parseh, A., Salati, A. P., and Sadeghi, E., 2012.** Effects of dietary administration of *Echinacea purpurea* on growth indices and biochemical and hematological indices in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fingerlings. *Fish Physiology and Biochemistry*, 38(4): 1029–1034. DOI:10.1007/s10695-011-9587-8
- Pour, F., Maniat, M., Vahedasl, A., and Ghayem, S., 2014.** Enhancement of growth performance and body composition in molly fish (*Poecilia sphenops*) associated with dietary intake of garlic (*Allium sativum*), 5 (8): 115–121. DOI: 10.12692/ijb/5.8.115-121
- Sahoo, P. K., Kumari, J., and Mishra, B. K., 2005.** Non-specific immune responses in juveniles of Indian major carps. *Journal of Applied Ichthyology*, 21(2): 151–155. DOI: 10.1111/j.1439-0426.2004.00606.x
- Sahu, S., Das, B. K., Mishra, B. K., Pradhan, J., and Sarangi, N., 2007.** Effect of *Allium sativum* on the immunity and survival of *Labeo rohita* infected with *Aeromonas hydrophila*. *Journal of Applied Ichthyology*, 23(1): 80–86. DOI: 10.1111/j.1439-0426.2006.00785.x
- Shahsavani, D., Mohri, M., and Kanani, H. G., 2010.** Determination of normal values of some blood serum enzymes in *Acipenser stellatus Pallas*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 36(1): 39–43. DOI:10.1007/s10695-008-9277-3
- Shalaby, A. M., Khattab, Y. A., and Abdel Rahman, A. M., 2006.** 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*, 12(2): 172–201. DOI:

- 10.1590/S1678-91992006000200003
- Siwicki, A. K., 1989.** Immunostimulating influence of levamisole on nonspecific immunity in carp (*Cyprinus carpio*). *Developmental and Comparative Immunology*, 13(1): 87–91. DOI: 10.1016/0145-305X(89)90021-9
- Suetsuna, K., 1998.** Isolation and characterization of angiotensin I-converting enzyme inhibitor dipeptides derived from *Allium sativum* (garlic). *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 9(7): 415–419. DOI: 10.1016/S0955-2863(98)00036-9
- Talpur, A. D., and Ikhwanuddin, M., 2012.** Dietary effects of garlic (*Allium sativum*) on haemato-immunological parameters, survival, growth, and disease resistance against *Vibrio harveyi* infection in Asian sea bass, *Lates calcarifer* (Bloch). *Aquaculture*, 364: 6–12. DOI: 10.1080/23311932.2016.1210066
- Tsao, S. M., and Yin, M. C., 2001.** In-vitro antimicrobial activity of four diallyl sulphides occurring naturally in garlic and Chinese leek oils. *Journal of Medical Microbiology*, 50(7): 646–649. DOI: 10.1099/0022-1317-50-7-646
- Wiegertjes, G. F., Stet, R. M., Parmentier, H. K., and van Muiswinkel, W. B., 1996.** Immunogenetics of disease resistance in fish: a comparative approach. *Developmental and Comparative Immunology*, 20(6): 365–381. DOI: 10.1016/S0145-305X(96)00032-8
- Yin, G., Jeney, G., Racz, T., Xu, P., Jun, X., and Jeney, Z., 2006.** Effect of two Chinese herbs (*Astragalus radix* and *Scutellaria radix*) on non-specific immune response of tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture*, 253(1): 39–47. DOI:10.1016/j.aquaculture.2005.06.03

The effect of garlic extract (*Allium sativum*) on immune system and blood biochemical composition in the Oscar fish, *Astronotus ocellatus*

Ghotbeddin N.^{1*}; Saghaei A.²; Maniat M.³; Ghotbeddin Z.⁴

*ghotbeddiny2005@gmail.com

1-Department of Fisheries, Ahvaz, Islamic Azad University, Ahvaz, Iran

2-Fisheries Department, Islamic Azad University, Science and Research branch of Khuzestan, Ahvaz, Iran

3-Department of Fisheries, University of Marine Science and Technology Khorramshahr, Tehran, Iran

4-Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Shahid Chamran, Ahvaz, Iran

Abstract

In this study, changes on biochemical and immune parameters of Oscar fish, *Astronotus ocellatus* under the influence of garlic extract has been studied. A total of 300 Oscar (initial weight $8/37 \pm 0/36$ g) were distributed in four treatments and each treatment was diet with garlic extract supplement, (0.0%, 0.5%, 1.5% and 2.5%). Period test was 8 weeks. The samples were taken and biochemical parameters such as total protein, albumin, globulin, triglycerides, cholesterol, aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT) and alkaline phosphatase (ALP) and immune parameters such as C3, C4 and lysozyme activity were measured by standard methods. Total protein and albumin increased in fish fed with the extracts of garlic 1.5%, but no significant difference was observed in globulin in four treatments. Triglycerides, cholesterol, ALP and AST in all treatments fed garlic extract were decreased. Safety parameters include C3 and C4 treated in samples with the extracts of garlic 1.5% and lysozyme activity increased in all treatments. The results of this study showed that garlic extract has positive effects on biochemical and immune indicators in Oscar fish and the best observed was in the treatment with 1.5% garlic extract.

Keywords: Garlic extract, Oscar fish, biochemical composition, immune parameters

*Corresponding author