

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

نگار قطب الدین<sup>۱\*</sup>، علی سقایی<sup>۲</sup>، میلاد منیعات<sup>۳</sup>، زهره قطب الدین<sup>۴</sup>

\*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 پذیرش: بهمن ۱۳۹۶

تاریخ دریافت: خرداد 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  $0/36 \pm 8/37$  گرم در چهار تیمار توزیع شد. چهار جیره‌ی خوراکی با مقادیر متفاوت عصاره سیر (کنترل،  $0/5$ ٪،  $1/5$ ٪،  $2/5$ ٪ 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، آسپارتات آمینوتранسفراز (AST)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و آکالالین فسفاتاز (ALP) و پارامترهای ایمنی مانند C3، C4 و فعالیت لیزوژیم بر اساس روش های استاندارد اندازه گیری گردید. پروتئین کل و آلبومین در ماهیان تغذیه شده با  $1/5$ ٪ 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  $1/5$ ٪ بهبود یافت و فعالیت لیزوژیم در همه تیمارهای تغذیه شده با عصاره 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  $1/5$ ٪ عصاره سیر بود.

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

\*نویسنده مسئول

**مقدمه**

همکاران، ۱۳۹۵) نیز مورد بررسی قرار گرفته است و تقویت رشد، پارامترهای گوارشی و ایمنی گزارش شده است (Lee and Gao, 2012). ترکیبات ارگانوسولفوره 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 محرك ایمنی گیاهی بر پارامترهای *Astronotus ocellatus* بیوشیمیایی و ایمنی در ماهی اسکار، *Ocellatus* می‌باشد.

**مواد و روش‌ها**

تهیه ماهی و طراحی آزمایش: در این مطالعه تعداد ۳۰۰ قطعه ماهی اسکار تایگر (*Astronotus ocellatus*) با وزن اولیه  $0.36 \pm 0.37$  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 ضدغوفونی شدند. سپس به مدت دو هفته با شرایط آزمایش سازگاری صورت گرفت. آزمایش در سه تیمار ( $0.05\%$ ،  $0.15\%$  و  $0.25\%$  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  $250$  لیتری توزیع شدند. در این آزمایش تغذیه ۴ بار در روز در ساعات  $8:30$ ،  $11:30$ ،  $14:30$  و  $17:30$  در حد سیری بود و هشت هفته در رژیم نوری طبیعی، به طول انجامید. دما  $24 \pm 0.96$  درجه سانتیگراد، اکسیژن محلول  $7.26 \pm 0.49$  میلی گرم بر لیتر pH نیز با میانگین  $7.24 \pm 0.29$  به صورت روزانه با دستگاه مولتی متر دیجیتال (YSI Professional Plus, USA Ohio, USA) اندازه گیری شد.

**آماده سازی جیره و عصاره سیر:** سیر از بازار محلی تهیه شد و پس از شستشو با آب مقطر، پودر شدند. عصاره گیری به روش الکلی بر اساس روش Harikrishnan (*et al.*, 2012) انجام گرفت و ۱۰۰ گرم سیر با  $1000$  میلی لیتر اتانول ( $70$  درصد) عصاره گیری شد.

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 خانواده سیچلیده است و در میان پرورش دهنده‌گان 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 آنتی بیوتیک‌ها پرداخت (Alishahi *et al.*, 2015). مصرف آنتی بیوتیک‌ها باعث تولید پاتوژن‌های مقاوم شده و برمحيط زیست نیز اثرات مضری دارد. محرك‌های ایمنی از بهترین جایگزین‌ها برای آنتی بیوتیک‌ها هستند که طیف وسیعی دارند و دوستدار محیط زیست هستند. عصاره‌های گیاهی از امیدبخش ترین محرك‌های ایمنی هستند که اثرات مضری بر ماهی، محیط زیست و مصرف کننده ندارند.

سیر به دلیل اثرات پیشگیری کننده 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 *Pseudomonas*، *Enterobacter* منفی مانند *Streptococcus* و *Salmonella* نیز در مورد سیر بیان شده است (Groppo *et al.*, 2002; Fani *et al.*, 2007). اثرات این گیاه بر گونه‌های عادل و همکاران، ۱۳۹۵). اثرات این گیاه بر گونه‌های Mohebbi *et al.* (*Oncorhynchus mykiss* Lates calcarifer, *al.*, 2012; Breyer *et al.*, 2015 *Poecilia*, (Talpur and Ikhwanuddin, 2012), (Pour *et al.*, 2014) *sphenops* Maniat *et al.*, ) *Mesopotamichthys sharpeyi* Ghehdarijani *et al.*, ) *Rutilus rutilus*, (2014 *Litopenaeus vannamei* و (گل آقایی و

ریخته شد. خون بدون ماده‌ی ضد انعقاد به مدت یک ساعت در دمای اتاق قرار داده شده و سپس سانتریفیوژ به مدت ۱۰ دقیقه در  $3000\text{ g}$  به منظور جداسازی سرم انجام گرفت (Atanasova *et al.*, 2008).

**شاخص‌های بیوشیمیابی خون و ایمنی:** پروتئین کل بر اساس روش (Burtis and Ashwood, 1986) با کیت تشخیص (زیست شیمی، تهران) اندازه گیری شد. آلبومین بر اساس روش Doumas *et al.*, 1997 شد. محتوای گلوبولین از تفرقی آلبومین از پروتئین کل محاسبه شد (Kumar *et al.*, 2005). تری گلیسرید، کلسترول، آسپارتات آمینوترانسفار (AST)، آلانین آمینوترانسفار (ALT) و آلkalین فسفاتاز (ALP) با دستگاه اتوآنالایزر (Eurolyser, Belgium) و کیت تشخیصی پارس آزمون (تهران) مورد اندازه گیری قرار گرفت (Shahsavani *et al.*, 2010).

فعالیت لیزوژیم سرم بر طبق روش Doumas *et al.*, 1997 با لیز باکتری *Micrococcus lysodeikticus* (Sigma, St. Louis, MO, USA) سفیده تخم مرغ (سیگما) از ۰ تا ۲۰ میلی لیتر (در بافر سیترات فسفات ۱/۱ pH ۵/۸ مولار، ۰/۱ مولار) به عنوان استاندارد استفاده شد. داده‌ها در طول موج  $45^{\circ}\text{C}$  نانومتر خوانده شدن. میزان C3 و C4 بر اساس روش کدورت سنجی با استفاده از کیت تشخیصی پارس آزمون (تهران) محاسبه شد.

**آنالیز آماری:** نرمالیتی داده‌ها بر اساس آزمون کولموگوف- اسمیرنوف مورد ارزیابی قرار گرفت. مقایسه‌ی میانگین تیمارها با آزمون آنوا یکطرفه (ANOVA) انجام شد و به منظور تعیین اختلاف‌ها از آزمون دانکن استفاده شد. همه آنالیزها با نرم افزار SPSS انجام پذیرفت. نتایج بر اساس  $\text{mean} \pm \text{SD}$  ارائه شده‌اند.

## نتایج

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

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

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

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

نرکیب غذایی
۴۷
۲۳
۱۲
۷
۲
۳
۱/۵
۱/۵
۳

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

<sup>a</sup> پرمیکس ویتامینه (در یک کیلوگرم):

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

<sup>b</sup> 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, CoCl<sub>2</sub>: 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 بیوشیمیابی و ایمنی در تیوب‌های 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 معنی دار داشت ( $P < 0.05$ ) اما تفاوت معنی داری در بین گروه‌های دیگر مشاهده نشد ( $P > 0.05$ ).

ترتیب ۱۷/۰/۰/۱۰ و ۰/۰/۵/۵ ترکیب ۱/۷۵ گرم در دسی لیتر اندازه گیری شدند. گلوبولین تفاوت معنی داری در گروه‌های مختلف نشان نداد ( $P \geq 0.05$ ).

در مورد پارامترهایی مانند تری گلیسرید، کلسترول، ALP و AST در ماهیان تغذیه شده با عصاره سیر کاهشی دیده شد. به نحوی که کمترین میزان کلسترول و تری گلیسرید در تیمار ۰/۵ درصد مشاهده گردید. همچنین بیشترین میزان کلسترول و تری گلیسرید 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 معنی دار 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 خون	دوز عصاره سیر			
	%۰	%۰/۵	%۱/۵	%۲/۵
پروتئین (g dl <sup>-1</sup> )	۰.۵/۰.۴±۰.۱۴ <sup>a</sup>	۰.۵/۰.۲۲±۰.۱۶ <sup>a</sup>	۰.۵/۰.۵±۰.۱۷ <sup>b</sup>	۰.۵/۱.۹±۰.۱۲ <sup>a</sup>
آبومین (g dl <sup>-1</sup> )	۰.۱/۰.۴۱±۰.۰۸ <sup>a</sup>	۰.۱/۰.۵۲±۰.۰۸ <sup>a</sup>	۰.۱/۰.۷۵±۰.۱۰ <sup>b</sup>	۰.۱/۰.۴۹±۰.۰۵ <sup>a</sup>
گلوبولین (g dl <sup>-1</sup> )	۰.۳/۰.۶۳±۰.۰۵ <sup>a</sup>	۰.۳/۰.۶۹±۰.۰۸ <sup>a</sup>	۰.۳/۰.۷۵±۰.۰۷ <sup>a</sup>	۰.۳/۰.۷۰±۰.۰۷ <sup>a</sup>
تری گلیسرید (mg dl <sup>-1</sup> )	۳۳۳/۳.۰±۲۹/۹۳ <sup>a</sup>	۳۰.۶/۳۰±۲۴/۵۰ <sup>a</sup>	۲۹۴/۱.۰±۱۵/۷۰ <sup>a</sup>	۳۰۱/۳۰±۰.۹/۰۱ <sup>a</sup>
کلسترول (mg dl <sup>-1</sup> )	۲۶۷±۴۱/۳۸ <sup>a</sup>	۲۲۶±۴۳/۴۴ <sup>a</sup>	۲۲۳/۶۰±۱۴/۶۶ <sup>a</sup>	۲۲۹/۸۰±۱۲/۸۷ <sup>a</sup>
ALP (U dL <sup>-1</sup> )	۴۰.۲±۱۱/۳۵ <sup>b</sup>	۳۸۳±۱۷ <sup>a</sup>	۳۷۶/۳۰±۱۸/۳۳ <sup>a</sup>	۳۸۵±۱۴/۱۰ <sup>a</sup>
AST (U dL <sup>-1</sup> )	۲۲۳±۰/۶۰ <sup>b</sup>	۲۱۷/۶۰±۰/۶۶ <sup>ab</sup>	۲۰۳/۶۰±۰/۴۰ <sup>a</sup>	۲۱۴/۵۰±۰/۷۲ <sup>ab</sup>
ALT (U dL <sup>-1</sup> )	۰.۴۲/۰.۵۰±۰.۳/۰.۵۹ <sup>a</sup>	۰.۴۱/۰.۴۱±۰.۳/۰.۹ <sup>a</sup>	۰.۳۹/۰.۱۳±۰.۱/۰.۴۷ <sup>a</sup>	۰.۴۱/۰.۱۱±۰.۳/۰.۵۴ <sup>a</sup>

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	۷۴۶/۵±۴۶ <sup>a</sup>	۸۲۸/۵±۳۳/۹۶ <sup>b</sup>	۸۷۲/۴±۳۹/۷۱ <sup>b</sup>	۸۳۱/۳±۳۰/۸۵ <sup>b</sup>
C3	۹/۰.۹±۰.۶۰ <sup>a</sup>	۱۰/۱.۰±۰.۶۶ <sup>a</sup>	۱۲/۵۲±۰.۴۰ <sup>b</sup>	۹/۹۷±۰.۷۲ <sup>a</sup>
C4	۲/۰.۱±۰.۱۰ <sup>a</sup>	۲/۱۲±۰.۱۳ <sup>a</sup>	۲/۲۴±۰.۱۵ <sup>b</sup>	۲/۱۱±۰.۱۰ <sup>a</sup>

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

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

## بحث

پروتئین تشکیل شده است و نقش مهمی در اینمی 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 اینمی در ماهی اسکار دارد. این عصاره به عنوان یک مکمل خوراکی در جیره ماهی اسکار می تواند مورد استفاده قرار گیرد و بهترین غلظت آن ۱/۵ درصد می باشد. بیشتر عملکردهای بیولوژیک عصاره سیر به ترکیبات ارگانوسولفوره به ویژه آلیسین نسبت داده می شود.

## تشکر و قدردانی

این مقاله مستخرج از پژوهه ای با عنوان "بررسی پارامترهای رشد، هماتولوژی، بیوشیمیایی و آنژیم های کبدی ماهی اسکار (*Astronotus ocellatus*) در پاسخ به مصرف جیره می 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 الهمی، ر.، ۱۳۹۵. مطالعه اثرات ضد باکتریایی برخی از عصاره های گیاهی بر باکتری یرسینیا راکری در شرایط آزمایشگاهی. مجله علمی شیلات ایران، ۲۵ (۳): ۴۱-۵۰.

گل آقایی، م.، عادل، م. و حافظیه، م.، ۱۳۹۵. تاثیر 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) Shalaby (Shalaby *et al.*, 2013) و ALT در تیلاپیای نیل (Shalaby *et al.*, 2006) را نیز کاهش داد. این ها شاخص آسیب حاد به سلول های کبدی هستند و از هپاتوسیت های صدمه دیده رها می شوند. مقادیر پایین این آنژیم ها در جریان خون احتمالاً به دلیل این است که سلول های کبدی یکپارچگی خود را حفظ کرده اند و اجازه ی ترشح این آنژیم 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 Sahu *et al.*, 2007; Nya and Austin, 2009; Silybum, 2009; Talpur and Ikhwanuddin, 2012 *Echinacea* (Banaee *et al.*, 2011) *mariannum* (Oskoii *et al.*, 2012) *purpurea* گزارش کرده اند. میزان این پارامترها معمولاً در پاسخ به همه نوع محرك های اینمی افزایش می یابند (Siwicki, 1989; Misra *et al.*, 2006; Sahu *et al.*, 2007) بدین دلیل که آن ها ترکیبات مهمی در اینمی هستند و برای حفظ سلامتی سیستم اینمی مورد نیازند Wiegertjes *et al.*, 1996; Choudhury *et al.*, 2005; Kumar *et al.*, 2005). پارامترهای اینمی مانند لیزوژیم و مسیرهای کلاسیک کمپلمان (C4 و C3) نیز در ماهیان تغذیه شده با عصاره سیر افزایش می یابند و بالاترین میزان اینمی در تیمار ۱/۵ درصد مشاهده شد. افزایش پارامترهای اینمی ذاتی هومورال توسط عصاره های گیاهی در ماهیان شوریده می زرد، کپور معمولی، تیلاپیا و قزل آلای رنگین کمان گزارش شده است (Jian and Wu, 2003; Jian and Wu, 2004; Yin *et al.*, 2006; Bohlouli *et al.*, 2015) و در مورد عصاره سیر نیز در ماهیان روهو، قزل آلای رنگین کمان و سی باس آسیایی مشاهده شده است (Sahu *et al.*, 2007; Nya and Austin, 2009; Talpur and Ikhwanuddin, 2012). عصاره سیر فعالیت ماکروفاز و لوکوسیت ها را افزایش می دهد (Talpur and Ikhwanuddin, 2012) و این فاكتورها باعث افزایش فعالیت لیزوژیم 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.** TietzTextbook of clinical chemistry. 3<sup>rd</sup> 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 effects of dietary *Litopenaeus vanamei* puerush yafteh ba Ab. دریای خزر. مجله علمی شیلات, 25(2): 143-151.
- 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 bromcresol 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
- Groppi, 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., Yengokpam, 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  $\beta$ -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
- Oskooi, 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.<sup>1\*</sup>; Saghaei A.<sup>2</sup>; Maniat M.<sup>3</sup>; Ghotbeddin Z.<sup>4</sup>

<sup>\*</sup>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