

## اثر تجویز خوراکی عصاره زنجیل (Zingiber officinale) بر فعالیت آنزیم‌های گوارشی و برخی پارامترهای بیوشیمیایی میگوی پاسفید غربی (Litopenaeus vannamei)

ناصر شهرکی<sup>۱</sup>، محمد رضا ایمانپور<sup>۱</sup>، پریا اکبری<sup>۲\*</sup>، رقیه صفری<sup>۱</sup>، ولی الله جعفری<sup>۱</sup>

<sup>\*</sup>paria.akbary@gmail.com

۱- گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده علوم شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

۲- گروه شیلات، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، ایران

تاریخ پذیرش: بهمن ۱۳۹۸

تاریخ دریافت: آبان ۱۳۹۸

### چکیده

این مطالعه، به منظور ارزیابی اثر عصاره زنجیل (Zingiber officinale) بر فعالیت آنزیم‌های گوارشی (کیموتریپسین، تریپسین، پروتئاز، لیپاز و آمیلاز) و برخی پارامترهای بیوشیمیایی (آلکالین فسفاتاز، پروتئین تام، آلبومن، گلوبولین و لیزوژیم) میگوی پاسفید غربی (Litopenaeus vannamei) انجام شد. تعداد ۶۰۰ پست لارو میگو (با وزن اولیه  $10.6 \pm 0.7$  گرم) به طور تصادفی در ۱۲ مخزن فایبرگلاس در ۴ تیمار با تراکم ۵۰ میگو در هر تانک توزیع شدند. میگوهای گروه شاهد با غذای پایه بدون عصاره زنجیل تغذیه شدند. میگوهای سایر گروه‌ها با غذاهای پایه حاوی  $10/5$  و  $1/5$  گرم بر کیلوگرم غذا تغذیه شدند. رژیم‌های غذایی به میزان ۱۰ درصد وزن زنده بدن میگو به مدت ۸ هفته مورد استفاده قرار گرفت. نتایج نشان داد که فعالیت آنزیم‌های آمیلاز، لیپاز و پروتئاز و میزان پروتئین تام، آلبومن و گلوبولین در گروه  $0.5/10$  و  $1/10$  گرم عصاره زنجیل بر کیلوگرم غذا به طور معنی‌داری در مقایسه با گروه شاهد و  $1/5$  گرم عصاره زنجیل بر کیلوگرم غذا افزایش یافت ( $p < 0.05$ ). بیشترین میزان فعالیت آنزیم‌های آمیلاز ( $1/35 \pm 0.05$ ) واحد بر میلی گرم پروتئین) و لیپاز ( $0.09 \pm 0.01$ ) واحد بر میلی گرم پروتئین) در گروه ۱ گرم عصاره زنجیل بر کیلوگرم غذا مشاهده شد. در مجموع، نتایج این تحقیق نشان داد که استفاده از سطوح  $0/5$  و  $1/10$  گرم عصاره زنجیل بر کیلوگرم غذا جهت افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی و برخی پارامترهای بیوشیمیایی در جیره غذایی میگوی پاسفید غربی توصیه می‌گردد.

**کلمات کلیدی:** میگوی پاسفید غربی، زنجیل، سیستم ایمنی غیر اختصاصی، فعالیت آنزیم گوارشی

\*نویسنده مسئول

**۴۵**

موثر هستند و عملکرد جانوری را با تحریک ترشحات روده‌ای و تولیدات آنزیمی آمیلاز، لیپاز و پروتئاز بهبود می‌بخشند که منجر به افزایش قابلیت هضم و دسترسی منابع غذایی می‌شود (Citarasu, 2010؛ ضیایی نژاد و همکاران، ۱۳۹۷).

زنجبیل با نام علمی *Zingiber officinale* یکی از گیاهان دارویی است که در آسیای میانی، چین، هند و پاکستان رشد می‌کند و به عنوان ادویه و دارو برای برخی بیماری‌ها در طب سنتی استفاده می‌شود (Zhang *et al.*, 2009).

ریشه زنجبل حاوی ترکیبات متعددی مانند جینجرول (gingerol) شاگول‌ها (shogaols)، جینجردیون (gingerdiones) و جینجردیول (gingerdiols) است که دارای فعالیت بیولوژیک نظیر آنتی‌اکسیدانی، ضدمیکروبی و دارویی است (Zhang *et al.*, 2009). جینجرول‌ها از جمله ترکیبات زنجبل است که محرك اشتها و ضد تهوع می‌باشند (Talpur *et al.*, 2013). همچنین زنجبل در ماهی و میگو به عنوان عامل موثر تعديل کننده ایمنی شناخته شده است (Talpur, 2014). عصاره زنجبل علاوه بر خواص آنتی‌اکسیدانی، منجر به افزایش شیره گوارشی و تسهیل هضم سریع مواد غذایی بخصوص چربی‌ها می‌شود (Venkatramalingam *et al.*, 2007). تاکنون مطالعات متعددی در زمینه اثر گیاه زنجبل بر فعالیت آنزیم‌های گوارشی می‌گو از جمله زنجبل بر (*Penaeus monodon*) میگوی ببری سیاه (Venkatramalingam *et al.*, 2007)، بر رشد ماهی کفال خاکستری (*Mugil cephalus*) (اکبری و نگهداری جعفر بیگی، ۱۳۹۵) بر سیستم ایمنی میگویی دراز آب شیرین (*Macrobrachium rosenbergii*) بر (El-Chaar *et al.*, 2012) صورت گرفته است. برای مثال، Chang و همکاران (۲۰۱۲) با بررسی اثر ایمنی‌زاپی زینجرون (zingerone) ماده موثره (فعال) زنجبل با ویژگی آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی در میگوی پاسفید غربی نشان دادند که استفاده از زینجرون در جیره غذایی، منجر به افزایش رشد و بهبود سطح آنژیم لیزوژیم و

امروزه با توجه به افزایش سریع جمعیت، گوشت میگو به عنوان یکی از منابع مهم تامین پروتئین در برنامه غذایی انسان محسوب می‌شود. در صنعت پرورش میگو، میگوی پاسفید غربی (*Litopenaeus vannamei*) به دلیل رشد سریع، قابلیت تراکم‌پذیری بالا، قابلیت تحمل شوری بالا و دمای کم و مقاومت نسبتاً بالا به عوامل بیماری‌زا در مقایسه با میگوی ببری سیاه (*Penaeus monodon*) (Briggs *et al.*, 2004) مورد توجه قرار گرفته است (Esiobu *et al.*, 2002). این صنعت در کشور، به علت بروز بیماری‌های مختلف از جمله بیماری ویروسی لکه سفید و بیماری‌های باکتریایی مختلف دچار خسارات زیادی شده و استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها با ایجاد میکروارگانیسم‌های مقاوم و باقی ماندن در بافت موجود، مشکلات زیست محیطی متعددی را ایجاد نموده است (Kumar *et al.*, 2013).

یکی از روش‌های ایده‌آل برای کنترل بیماری‌ها در آبرزی‌پروری تقویت سیستم مکانیسم دفاعی با اجرای اقدامات پیشگیرانه و تحریک سیستم ایمنی است (Khalil *et al.*, 2010). محرك‌های ایمنی، مواد شیمیایی و دارویی فعال هستند که مکانیسم‌های دفاعی یا پاسخ ایمنی را افزایش داده و منجر به مقاومت میگو در برابر بیماری‌ها می‌شوند. از آنجایی که شیوع بیماری، به صورت دوره‌ای و قابل پیش‌بینی است. در نتیجه، می‌توان از محرك‌های ایمنی استفاده نمود و از این طریق با افزایش مکانیسم دفاع غیر اختصاصی، از تلفات بیماری جلوگیری کرد (Citarasu, 2010).

گیاهان دارویی با داشتن مزیت‌هایی از جمله عوارض جانبی کم، سهولت دسترسی، خطر کمتر برای محیط و جانور همواره به عنوان جایگزین مناسب برای داروهای شیمیایی مورد توجه قرار گرفته‌اند (نجفی و همکاران، ۱۳۹۷؛ شمسایی مهرجان و همکاران، ۱۳۹۹). لذا، از داروهای گیاهی و چاشنی‌ها به عنوان افزودنی غذایی در جیره آبزیان به جای محصولات شیمیایی استفاده می‌شود (Haghghi and Rohani, 2013). همچنین افزودنی‌های مختلف گیاهی بر ترشح آنژیم‌های گوارشی

و ۳۰ میلی لیتر آب مقطر به مخلوط غذایی حاصل اضافه شد. سپس ترکیب غذایی حاصل، با استفاده از دستگاه چرخ گوشت (National, Japan) با سایز مش ۱ میلیمتر به صورت پلت غذایی درآمد. سپس در مجاورت دمای اتاق خشک و تا زمان استفاده در دمای ۴ درجه سانتی گراد قرار گرفت.

جدول ۱: ترکیب (گرم بر کیلوگرم رژیم) آنالیز تقریبی (درصد غذا) از رژیم شاهد

**Table 1: Composition (g/kg diet) approximate analysis (% food) of the control diet**

عناصر غذایی	گرم بر کیلوگرم غذا
پودر ماهی	۳۰۰
پودر سویا	۸۰
پودر گندم	۷۰
پودر اسکوئید	۳۵۰
پودر میگو	۱۰۰
مخمر	۲۰
روغن ماهی	۳۰
لسین سویا	۴۰
ویتامین ها و مواد معدنی <sup>A</sup>	۲۰
ترکیب تقریبی	درصد
پروتئین	۲۶/۷
چربی	۹/۷
رطوبت	۸/۳
خاکستر	۱۰/۸
فibre	۰/۹
عصاره فاقد ازت	۴۳/۶

<sup>A</sup> ویتامین ها و مواد معدنی: ویتامین ها: ویتامین A ۳۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم، ویتامین D ۲۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم سولفات روی، ویتامین E ۵۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم مواد معدنی: ۲۰۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم سولفات مس، ۴۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم سولفات منیزیم، ۲۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم سولفات کبات، ۱ میلی گرم بر کیلوگرم آهن، ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم سلنیوم

### میگو و طراحی آزمایش

این تحقیق در اردیبهشت ۱۳۹۵ در مرکز تحقیقات آبهای دور چابهار به مدت ۸ هفته انجام گرفت. ۶۰۰ پست لارو

مقاومت میگو در برابر باکتری (*Vibrio alginolyticus*) شد. همچنین Rahimi Yadkoori و همکاران (۲۰۱۵) با بررسی سطوح مختلف عصاره زنجبیل (۰/۱، ۰/۵ و ۱ درصد) بر میزان فعالیت آکالین فسفاتاز ماهی بنی آنژیم آنالیز تقریبی (درصد عصاره زنجبیل منجر به افزایش فعالیت آنژیم آکالین فسفاتاز شد. از آنجایی که تاکنون مطالعه اندکی در زمینه اثر عصاره زنجبیل بر فعالیت آنژیم گوارشی و سیستم ایمنی غیر اختصاصی میگویی پاسفید غربی صورت نگرفته است.

لذا این تحقیق، به بررسی اثر عصاره زنجبیل بر فعالیت آنژیم گوارشی (کیموتراپیسین، تریپسین، آمیلاز، لیپاز و پروتئاز) و برخی پارامترهای بیوشیمیایی (پروتئین تام، آلبومین، آکالین فسفاتاز، گلوبولین و لیزوزیم) میگویی پاسفید غربی به مدت ۸ هفته پرداخته است.

### مواد و روش ها

#### تهیه عصاره آبی زنجبیل و رژیم های غذایی آزمایشی

گیاه زنجبیل از بازار سنتی شهر شیراز خریداری و به وسیله مرکز هرباریوم دانشگاه شیراز مورد تائید قرار گرفت. سپس با آب شسته شد و در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد خشک و بوسیله دستگاه آسیاب کاملاً به حالت پودر تبدیل شدند. بر طبق روش Choi و همکاران (۲۰۱۵) با اندکی تغییر عصاره زنجبیل تهیه شد. ابتدا ۳۰ گرم از پودر زنجبیل با ۷۵ میلی لیتر آب مقطر مخلوط و به مدت ۴ ساعت جوشانده شد. سپس با دور ۱۸۵۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۱۰ درجه سانتی گراد سانتریفیوژ گردید. سپس به منظور تقطیل، مایع رویی از تبخیر کننده چرخشی در خلاء با دمای ۴۰ درجه سانتی گراد با دور ۱۴۵ استفاده شد. سپس در دمای ۴ درجه سانتی گراد تا زمان استفاده به عنوان مکمل غذایی نگهداری شد. به منظور تهیه ۴ رژیم غذایی آزمایشی عصاره زنجبیل در ۴ سطح ۰، ۰/۵، ۱/۰ و ۱/۵ گرم بر کیلوگرم غذا با عناصر غذایی غذای شاهد (جدول ۱) مخلوط شد و سپس روغن

در بافر سرد تریس مانیتول ۵۰ میلی مولار، بافر تریس اسید کلریدریک در  $\text{pH}=7$  و با ۱۰۰ میکرولیتر کلرید کلسیم  $0.1\text{ M}$  مولار هموژنیزه و در دور ۹۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند و مایع رویی جهت سنجش آنزیم‌ها و پارامترهای بیوشیمیایی مورد استفاده قرار گرفت (Cahu *et al.*, 1999).

برای تعیین فعالیت آنزیم تریپسین از روش Worthington (۱۹۹۱) که بر مبنای سوبسترا- $\text{N}-\text{Benzoyl-L-Arginine Ethyl Ester}$  است، که این سوبسترا تحت تاثیر آنزیم تریپسین تجزیه و به  $\text{N-Benzoyl-L-Arginine}$  تبدیل می‌شود. این سنجش در طول موج ۲۵۳ نانومتر صورت گرفت. واحد فعالیت آنزیم تریپسین بر حسب تغییر میزان جذب، به دنبال شکستن سوبسترا در مدت ۱ دقیقه محاسبه شد.

برای سنجش فعالیت آنزیم کیموتریپسین از روش Erlanger و همکاران (۱۹۶۱) در طول موج ۲۵۶ نانومتر از سوبسترا- $\text{Benzoyl-L-Tyrosine Ethyl Ester}$  استفاده شد. برای تعیین فعالیت آنزیم آمیلاز از نشاسته به عنوان سوبسترا و طول موج ۵۴۰ نانومتر استفاده گردید (Worthington, 1991). در این واکنش نشاسته تحت تاثیر آنزیم تجزیه شده و تولید مالتوز می‌نماید که میزان مالتوز در واحد زمان در حضور معرف رنگی دی نیتروسالسیلیک اسید و با استفاده از منحنی استاندارد مالتوز سنجیده می‌شود. برای سنجش آنزیم لیپاز از روش Worthington (۱۹۹۱) استفاده گردید. در این روش از امولسیون روغن زیتون به عنوان سوبسترا استفاده گردید. سوبسترا تحت تاثیر آنزیم لیپاز تجزیه و به دی گلیسریرید و اسید چرب تبدیل می‌شود. یک واحد آنزیم مقداری از آنزیم است که یک میلی اکی والان اسید چرب را از یک مول تری گلیسریرید در مدت یک ساعت هیدرولیز می‌کند. فعالیت پروتئاز کل بر اساس روش Worthington (۱۹۹۱) با سوبسترا کازائین و در طول موج ۲۶۵ نانومتر صورت گرفت. جهت سنجش آنزیم آلکالین فسفاتاز از روش Walter و Schutt (۱۹۷۴) و از طول موج ۴۰۵ نانومتر استفاده شد. در این روش پارانیترو فنیل فسفات به

میگویی پاسفید غربی (با میانگین وزنی  $10.6 \pm 0.7$  گرم) از مرکز تکثیر خصوصی واقع در کنارک تهیه و در دو مخزن فایبرگلاس ۳۰۰ لیتری مرکز به مدت ۲ هفته به منظور سازگاری با شرایط آزمایشگاهی رهاسازی شدند. روزانه یک سوم آب در هر مخزن مورد تعویض قرار گرفت و مواد دفعی در هر مخزن بوسیله سیفون خارج شد. پس از دو هفته سازگاری، میگوها به صورت تصادفی در ۴ گروه (با سه تکرار برای هر گروه) با تراکم ۵۰ عدد در هر مخزن توزیع شدند. میگوهای گروه شاهد با غذای بدون عصاره زنجبیل تغذیه شدند و میگوهای سایر گروهها با سطوح  $1/5$ ،  $1/10$  و  $1/20$  گرم عصاره زنجبیل بر کیلوگرم غذا مورد تغذیه قرار گرفتند. در طول دوره ۸ هفتگی آزمایش، میگوها به میزان ۱۰ درصد وزن بدن از رژیم‌های غذایی تغذیه شدند. هر دو هفته یک بار وزن همه میگوهای هر مخزن مورد ارزیابی قرار گرفت تا میزان غذا مناسب با وزن واقعی بدن تنظیم گردد. رژیم غذایی روزانه طی سه وعده (۸ صبح، ۱۳ بعد از ظهر و ۱۷ بعد از ظهر) در دسترس میگوها قرار گرفت. در طول دوره آزمایش، میانگین شوری آب ( $37$  گرم در لیتر)، اکسیژن آب  $7/5 \pm 0/65$  میلی گرم بر لیتر،  $\text{pH} = 8 \pm 0/2$ ، دما  $28/4 \pm 0/7$  درجه سانتی گراد) و آمونیاک ( $0/1 \pm 0/03$  میلی گرم بر لیتر) برای پرورش میگ ثابت باقی ماند.

**نمونه‌برداری و سنجش فعالیت آنزیم‌های گوارشی و پارامترهای بیوشیمیایی**  
در پایان دوره آزمایش، میگوها ۴۸ ساعت قبل از نمونه‌برداری غذادهی نشدنده تا دستگاه گوارش آنها از مواد غذایی بخوبی تخلیه شود. پس از نمونه‌برداری (۶ عدد میگ از هر تیمار) بسرعت در مجاورت یخ قرار گرفتند تا به حداقل رساندن تغییر فعالیت آنزیمی کالبدگشایی آنها صورت گیرد. روده ۶ عدد میگ از هر تیمار برای سنجش آنزیم‌های گوارشی و پارامترهای بیوشیمیایی جمع‌آوری شد (Kuz'mina *et al.*, 2011). ابتدا نمونه‌ها با ترازوی آزمایشگاهی با دقت  $0.001$  گرم اندازه‌گیری شدند. سپس با نسبت  $1:30$  (وزنی به حجمی)

### تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل داده‌ها به روش آنالیز واریانس یک طرفه ANOVA انجام گرفت نرمال بودن داده‌ها بر اساس آزمون کالموگراف اسمیرنوف با استفاده از نرم افزار SPSS ویرایش ۱۹ و جهت مقایسه میانگین بین تیمارها بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح معنی‌دار ۵ درصد استفاده شد. و جهت محاسبات آماری از نرم افزار Excel ویرایش ۲۰۱۰ استفاده شد.

### نتایج

#### فعالیت آنزیم‌های گوارشی

فعالیت آنزیم‌های گوارشی میگویی پاسفید غربی تغذیه شده با رژیم‌های غذایی حاوی سطوح مختلف عصاره زنجیل بعد از ۸ هفته در جدول ۲ ارائه شده است. بیشترین میزان فعالیت آنزیم لیپاز و آمیلاز در میگوهای تغذیه شده با ۱ گرم عصاره زنجیل بر کیلوگرم غذا مشاهده شد که با سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری را نشان داد ( $p < 0.05$ ). از نظر میزان کیمومتریپسین و تریپسین بین گروه‌ها اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد ( $p > 0.05$ ). بیشترین میزان فعالیت آنزیم پروتئاز در میگوهای تغذیه شده با ۰/۵ و ۱ گرم عصاره زنجیل بر کیلوگرم غذا مشاهده شد که با یکدیگر اختلاف معنی‌داری را از این نظر نشان ندادند ( $p > 0.05$ ).

عنوان سوبسترا در حضور بافر دی اتانول آمین آماده شد. برای رقیق سازی نمونه از آب قطره سرد استفاده گردید. یک واحد فعالیت اختصاصی آنزیم فسفاتاز قلیایی برابر یک میکرومول پارائیتروفنیل که در مدت ۱ دقیقه و به ازای ۱ میلی‌گرم پروتئین محلول در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد آزاد می‌شود.

برای تعیین میزان فعالیت لیزوزیم از روش Ellis (۱۹۹۰) با کمی تغییر استفاده شد. ابتدا ۵ میکرولیتر نمونه با ۱۳۵ میکرولیتر از سوسپانسیون ۰/۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر باکتری *Micrococcus lysodeikticus* (سیگما) در بافر ۰/۰۲ مولار سدیم سیترات با اسیدیته ۵/۸ در میکروپلیت تخت ۹۶ خانه ای الایزا مخلوط گردید و جذب نوری آن در دمای اتاق در زمان‌های ۰ و ۶ دقیقه بعد از مخلوط‌سازی در طول موج ۴۵۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. میزان فعالیت سرم با توجه به منحنی استاندارد مربوط به لیزوزیم سفیده تخم مرغ سیگما تعیین گردید. پروتئین تام به روش بیوره (Wootton, 1964) در طول موج ۵۴۰ نانومتر، آلبومین به روش بروموزول سبز (Wootton, 1964) در طول موج ۶۳۰ نانومتر و از کسر پروتئین تام و آلبومین گلوبولین محاسبه شد (Kumar et al., 2005).

جدول ۲: فعالیت آنزیم گوارشی میگویی پاسفید غربی تغذیه شده با رژیم‌های غذایی آزمایشی بعد از ۸ هفته

Table 2: Digestive enzyme activity of *Litopenaeus vannamei* fed on experimental diets after 8 weeks

عصاره جلبک (میلی‌گرم بر کیلوگرم)				آنزیم گوارشی (واحد بر میلی‌گرم پروتئین)	
۱/۵	۱	۰/۵	*	کیمومتریپسین	تریپسین
۰/۱۲ ± ۰	۰/۱۲ ± ۰	۰/۱۲ ± ۰	۰/۱۲ ± ۰/۰۴	۰/۱۲ ± ۰/۰۴	۰/۱۵ ± ۰/۰۲
۰/۱۵ ± ۰/۰۲	۰/۱۵ ± ۰	۰/۱۵ ± ۰	۰/۱۵ ± ۰/۰۲	۰/۱۰۱ ± ۰/۰۳ <sup>b</sup>	۰/۱۰۳ ± ۰/۰۲ <sup>b</sup>
۱/۰۳ ± ۰/۰۲ <sup>b</sup>	۱/۲۳ ± ۰/۰۲ <sup>a</sup>	۱/۲۲ ± ۰/۰۴ <sup>a</sup>	۱/۰۱ ± ۰/۰۳ <sup>b</sup>	۰/۰۱ ± ۰ <sup>c</sup>	۰/۰۱ ± ۰ <sup>c</sup>
۰/۰۱ ± ۰ <sup>c</sup>	۰/۰۹ ± ۰ <sup>a</sup>	۰/۰۵ ± ۰ <sup>b</sup>	۰/۰۱ ± ۰ <sup>c</sup>	۰/۰۷۲ ± ۰/۰۳ <sup>c</sup>	۰/۰۷۲ ± ۰/۰۱ <sup>c</sup>
۰/۷۲ ± ۰/۰۱ <sup>c</sup>	۱/۳۹ ± ۰/۰۵ <sup>a</sup>	۱/۲۶ ± ۰/۰۲ <sup>b</sup>	۰/۰۷۲ ± ۰/۰۳ <sup>c</sup>	۰/۰۷۲ ± ۰/۰۳ <sup>c</sup>	۰/۰۷۲ ± ۰/۰۱ <sup>c</sup>

مقادیر (میانگین ± خطای معیار، شش تکرار) با حروف مختلف در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی‌دار است ( $p < 0.05$ )

زنجبیل بر کیلوگرم غذا مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد از این نظر نشان دادند ( $p < 0.05$ ). بیشترین میزان آلکالین فسفاتاز در میگوی تغذیه شده با ۱ گرم عصاره زنجبیل بر کیلوگرم غذا مشاهده شد که با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری را نشان داد ( $p < 0.05$ ).

**پارامترهای بیوشیمیایی**  
پارامترهای بیوشیمیایی میگوی پاسفید غربی تغذیه شده با رژیم‌های غذایی آزمایشی حاوی سطوح مختلف عصاره زنجبیل بعد از ۸ هفته در جدول ۳ ارائه شده است. بیشترین میزان پروتئین تام، آلبومین، لیزوژیم و گلوبولین در میگوهای تغذیه شده با سطوح ۰/۵ و ۱/۰ گرم عصاره

جدول ۳: پارامترهای بیوشیمیایی از میگوی پاسفید غربی تغذیه شده با رژیم‌های غذایی آزمایشی بعد از ۸ هفته

Table 3: Biochemical parameters of *Litopenaeus vannamei* fed with experimental diets after 8 weeks

رژیم‌های آزمایشی				پارامترهای بیوشیمیایی
عصاره جلبک (میلی‌گرم بر کیلوگرم)				
۱/۵	۱	۰/۵	*	
۵/۴۷ ± ۰/۳۴ <sup>c</sup>	۱۲/۰۳ ± ۱/۴۰ <sup>a</sup>	۱۰/۰۵ ± ۳/۳ <sup>b</sup>	۵/۵۰ ± ۰/۶۶ <sup>c</sup>	آلکالین فسفاتاز (واحد بر میلی‌گرم پروتئین)
۴/۱۹ ± ۰/۳۲ <sup>c</sup>	۵/۶۰ ± ۰/۲۵ <sup>a</sup>	۵/۵۸ ± ۰/۲۳ <sup>a</sup>	۴/۶۸ ± ۰/۰۳ <sup>b</sup>	پروتئین تام (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)
۲/۵۹ ± ۰/۱۴ <sup>b</sup>	۲/۹۱ ± ۰/۰۲ <sup>a</sup>	۲/۸۹ ± ۰/۰۵ <sup>a</sup>	۲/۵۶ ± ۰/۱۱ <sup>b</sup>	گلوبولین (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)
۱/۵۳ ± ۰/۰۱ <sup>c</sup>	۲/۶۷ ± ۰/۰۲ <sup>a</sup>	۲/۷۰ ± ۰/۰۱ <sup>a</sup>	۲/۱۱ ± ۰/۰۴ <sup>b</sup>	آلبومن (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)
۲۰/۱۳ ± ۰/۴۵ <sup>bc</sup>	۲۰/۳۲ ± ۱/۰۸ <sup>a</sup>	۲۰/۲۳ ± ۰/۳۲ <sup>ab</sup>	۲۰ ± ۱/۰۲ <sup>c</sup>	لیزوژیم (میکروگرم بر میلی‌لیتر)

مقادیر (میانگین ± خطای معیار، شش تکرار) با حروف مختلف در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی‌دار است ( $p < 0.05$ )

دستگاه گوارش و جذب سریع مواد غذایی می‌گردد (Khan *et al.*, 2012). همچنین مکمل‌های غذایی نقش مهمی در تولید آنزیم‌های گوارشی بروونزا دارند که مسئول جذب مواد مغذی هستند و موجب تحریک ترشح آنزیم‌های گوارشی درونزا دستگاه گوارش می‌شوند (Zhou *et al.*, 2009).

مواد تریپسین و کیموتربیپسین از مهم‌ترین آنزیم‌های پروتئولیتیک می‌باشند که مسئول هضم پروتئین در دستگاه گوارش میگوها و ماهیان شناخته شده‌اند (اکبری و نگهداری جعفری‌بیگی، ۱۳۹۵). (Sainz *et al.*, 2009; ۲۰۰۹). اگرچه زنجبیل حاوی مواد محرک هضم، نظیر پروتئاز تیول، کامفن (camphene)، جینجر (gingiber) و جینجرول (gingerol) می‌باشد که سبب افزایش فعالیت تریپسین می‌گردد ولی در مطالعه حاضر، فعالیت آنزیم‌های تریپسین و کیموتربیپسین در بین گروه‌های تغذیه شده با عصاره زنجبیل اختلاف معنی‌داری را با گروه شاهد نشان ندادند که با نتایج حاصل از تحقیق Rahimi Yadkoori (2015) و همکاران (۲۰۱۵) در این زمینه همخوانی داشت در

**بحث**  
حضور و میزان فعالیت آنزیم‌های گوارشی می‌تواند به عنوان شاخص مهمی در ارزیابی پذیرش غذا، ظرفیت گوارش و میزان نیازهای جانوران آبزی مورد استفاده قرار گیرد (ضیابی‌نژاد و همکاران، ۱۳۹۷).

در این تحقیق، بیشترین فعالیت آنزیم لیپاز و آمیلаз در میگوهای تغذیه شده با ۱ گرم عصاره زنجبیل بر کیلوگرم غذا مشاهده شد. افزایش قابل توجه فعالیت آنزیم آمیلاز و پروتئاز در اثر مصرف آرتمیای غنی شده با ۲۵ درصد زنجبیل در جیره غذایی میگوی ببری سیاه (*Penaeus monodon*) همسو با نتایج حاضر، گزارش شده است (Venkataramalingam *et al.*, 2007). مشابه با تحقیق حاضر، Rahimi Yadkoori (۲۰۱۵) نشان دادند که استفاده از سطوح مختلف عصاره زنجبیل (۰/۱، ۰/۵ و ۱ درصد) در جیره غذایی ماهی بنی (*M. sharpeyi*) منجر به افزایش فعالیت آمیلاز شد. می‌توان گفت که ترکیبات فعال زیستی در زنجبیل منجر به تحریک فعالیت دستگاه گوارش، کاهش زمان عبور غذا از

آلکالین فسفاتاز نیز به عنوان شاخص مهمی در جذب مواد غذایی شناخته شده است و نقش مهمی در تجزیه و معدنی نمودن (مینرالریزه) استخوان‌های آبزی، انتقال فسفات و هیدرولیز پروتئین فسفریله شده دارد (Silva *et al.*, 2010). در مطالعه حاضر استفاده از سطوح ۰/۵ و ۱ گرم عصاره زنجبل بر کیلوگرم غذا منجر به افزایش معنی‌دار میزان آلکالین فسفاتاز روده نسبت به گروه شاهد و ۱/۵ گرم عصاره زنجبل بر کیلوگرم غذا شد و بیشترین میزان آلکالین فسفاتاز در میگوی پاسفید غربی تغذیه شده با ۱ گرم عصاره زنجبل بر کیلوگرم غذا مشاهده شد. میزان فعالیت آلکالین فسفاتاز در *Mesopotamichthys sharpeyi* از سطح ۱ درصد عصاره زنجبل منجر به افزایش فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز شد که با نتایج این تحقیق در این زمینه همخوانی داشت. می‌توان گفت که عصاره رنجبل با با افزایش فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز روده، می‌تواند نقش مهمی در افزایش جذب مواد معدنی ضروری، توسعه و تکامل روده و در نهایت رشد بهتر ارگانیسم‌ها داشته باشد (Nya and Austin, 2011).

در کل می‌توان گفت که استفاده از سطوح ۱ گرم عصاره زنجبل بر کیلوگرم غذا منجر به بهبود فعالیت آنزیم‌های لیپاز، پروتئاز و آمیلاز و همچنین بهبود سیستم ایمنی غیر اختصاصی اعم از پروتئین تام، آلبومین، گلوبولین و لیزوژیم و بهبود جذب مواد معدنی ضروری با افزایش آلکالین فسفاتاز شد. لذا استفاده از سطوح ۱ گرم عصاره زنجبل بر کیلوگرم غذا در جیره غذایی میگوهای پاسفید غربی به منظور بهبود هضم و جذب مواد غذایی ضروری و افزایش سیستم ایمنی غیر اختصاصی توصیه می‌گردد.

#### تشکر و قدردانی

بدین وسیله از همکاری ریاست و پرسنل محترم مرکز تحقیقات شیلات چاپهار که امکانات این پژوهش را فراهم

حالی که نتیجه این مطالعه با تحقیق انجام شده Venkataramalingam و همکاران (۲۰۰۷) همخوانی نداشت که می‌توان دلیل عدم مغایرت نتایج را به نوع گونه میگو و روش عصاره‌گیری و میزان غلظت عصاره نسبت داد.

نتایج حاصل از اندازه‌گیری پروتئین تام، گلوبولین، آلبومین و لیزوژیم میگوی پاسفید غربی پس از ۸ هفته تغذیه با جیره‌های غذایی حاوی عصاره زنجبل در مطالعه حاضر نشان داد که بکارگیری ۰/۵ و ۱ گرم عصاره زنجبل بر کیلوگرم غذا سهم بسزایی در افزایش این پارامترها داشتند و با گروه شاهد اختلاف معنی‌داری نشان دادند. همسو با نتایج این تحقیق، Dugensi و همکاران (۲۰۰۳) نشان دادند که بیشترین میزان پروتئین پلاسمای پارامترها رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) تغذیه شده با سطح ۱ درصد عصاره آبی زنجبل مشاهده شد. همچنین Talpur و همکاران (۲۰۱۳) با افزودن زنجبل به جیره ماهی باس دریابی (*Lates calcarifer*) افزایش معنی‌دار پودر زنجبل بهویژه سطح ۱۰ گرم زنجبل مشاهده کردند که با نتایج این تحقیق همخوانی داشتند. می‌توان گفت افزایش سطح پروتئین، آلبومین، گلوبولین و آنزیم‌های لیزوژیم به عنوان عامل مهمی در سیستم ایمنی ذاتی و غیر اختصاصی ماهی و میگو شناخته شده‌اند (Magnadóttir, 2006; Awad and Awaad, 2017).

همچنین Chang و همکاران (۲۰۱۲) با بررسی اثر ایمنی‌زایی زینجرون (zingerone) ماده موثره (فعال) زنجبل با ویژگی آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی در میگوی سفید غربی نشان دادند که استفاده از زینجرون در جیره غذایی، منجر به افزایش رشد و بهبود سطح آنزیم لیزوژیم *Vibrio alginolyticus* و مقاومت میگو در برابر باکتری شد. می‌توان گفت که دلیل این موضوع، در ارتباط با ترکیبات فعال زیستی موجود در گیاهان دارویی مانند پلی فنل‌ها، فلانوئیدها، تانن‌ها و ساپونین است که نقش مهمی در مقاومت موجودات آبزی در برابر عفونت‌های باکتریایی و افزایش ایمنی بازی می‌کند (Xie *et al.*, 2008).

- Briggs, M., Smith, S.F., Subasinghe, R. and Phillips, M., 2004.** Introduction and movement of *Penaeus vannamei* and *Penaeus stylirostris* in Asia and Pacific. Food and agriculture organization of the United Nations regional office for Asia and Pacific, FAO, Bangkok, Thailand. 88 P.
- Cahu, C.L., Zambonino Infante, J.L., Quazuguel, P. and Le Gall, M.M., 1999.** Protein hydrolysate vs. fish meal in compound diets for 10-day old sea bass *Dicentrarchus labrax* larvae. *Aquaculture*, 171(1-2): 109–119. Doi: 10.1016/S0044-8486(98)00428-1.
- Chang, Y., Liu, C., Wu., Chiang, C., Lian, J. and 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 and Shellfish Immunology*, 32(2): 284-290. Doi: 10.1016/j.fsi.2011.11.017.
- Choi, Y.H., Lee, B.J. and Nam, T.J., 2015.** Effect of dietary inclusion of *Pyropia yezoensis* extract on biochemical and immune responses of olive flounder *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture*, 435: 347-353. Doi: 10.1016/j.aquaculture.2014.10.010.
- Citarasu, T., 2010.** Herbal biomedicines a new opportunity for aquaculture industry. *Aquaculture International*, 18: 403–414. D Doi: org/10.1007/s10499-009-9253-7
- آوردنده و کارشناسان محترم آزمایشگاه تخصصی پاتوبیولوژی صدف چابهار تشكر و قدردانی می‌گردد.
- ### منابع
- اکبری، پ. و نگهداری جعفر بیگی، ی. ۱۳۹۵. اثر سطوح مختلف مکمل گیاهی بیوهربال (حاوی پودر زنجبیل و رازیانه) بر رشد، تغذیه و ترکیب شیمیایی لشه کفال ماهی. نشریه دامپژوهشی در پژوهش سازندگی، ۱۲: ۱۰-۱۸. Doi: 10.22034/VJ.2016.106292
- شممسایی مهرجان، م.، حسینی شکرابی، س.پ.، محجوب زردست، م. و محمدی، ن. ۱۳۹۹. تأثیر مکمل غذایی پودر فلفل قرمز تند (*Capsicum annuum*) بر شاخص‌های رشد، میزان بقاء، فراسنجه‌های خونی و برخی از پاسخ‌های ایمنی بچه ماهی قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*). مجله علمی شیلات ایران، ۱(۲۹): ۱۳۱-۱۴۰. Doi:10.22092/ISFJ.2019.120988.
- ضیایی‌نژاد، س.، لافت، د. و آبرومند، ع. ۱۳۹۷. بررسی فعالیت آنزیم‌های گوارشی میگوی سفید غربی در مراحل زیستی مختلف. یافته‌های نوین در علوم زیستی، ۴(۴): ۳۷۳-۳۷۹.
- نجفی، ز.، اورجی، ح.، یگانه، س. و کرامت امیر کلابی، ع.ص. ۱۳۹۷. تأثیر عصاره‌ی الکلی یونجه (*Medicago sativa*) بر عملکرد رشد، مصرف غذا، ترکیب بدن و برخی از فراسنجه‌های سرمی بچه‌ماهی قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*). مجله علمی شیلات ایران، ۱۵(۲۷): ۹-۱. Doi:10.22092/ISFJ.2018.10220
- Awad, E. and Awaad, A., 2017.** Role of medicinal plants on growth performance and immune status in fish. *Fish and Shellfish Immunology*, 67: 40-54. Doi: 10.1016/j.fsi.2017.05.034

- Dugenci, S.K., Arda, N. and Candan, A., 2003.** Some medicinal plants as immunostimulant for fish. *Journal of Ethnopharmacology*, 88(1): 99-106. Doi: 10.1016/S0378-741(03)00182-X
- El-Desouky, H., El-Asely, A., Shaheen, A.A. and Abbass, A., 2012.** Effects of *Zingiber officinalis* and *Cyanodon dactylonon* the Growth Performance and Immune Parameters of *Macrobrachium rosenbergii*. *World Journal of Fish and Marine Sciences*, 4(3): 301-307. Doi:10.5829/idosi.wjfmms.2012.04.03.62120.
- Ellis, A.E., 1990.** Lysozyme Assays. In; Stolen, J.S., Fletcher, T.C., Anderson, D.P., Roberson, B.S. and Van Muiswinkel, W.B., (ed)Techniques in Fish Immunology, (Eds). SOS Publication, Fair Haven, USA, pp.101-103.
- Erlanger, B.F., Kokowsky, N. and Cohen, W., 1961.** The preparation and properties of two new chromogenic substrates of trypsin. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 95(2): 271-278. Doi: 10.1016/0003-9861 (61)90145-X.
- Esiobu, N., Armenta, L. and Ike, J., 2002.** Antibiotic resistance in soil and water environments. *International Journal of Environmental Health Research*, 12(2): 133–144. Doi: 10.1080/09603120220129292.
- Haghghi, M. and Sharif Rohani, M., 2013.** The effects of powdered ginger (*Zingiber officinale*) on the haematological and immunological parameters of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Journal of Medicinal plant and Herbal Therapy Research*, 1: 8-12.
- Khan, R.U., Naz, S., Nikousefat, Z., Tufarelli, V., Javdani, M., QureshiI, M.S. and Laudadio, V., 2012.** Potential applications of ginger (*Zingiber officinale*) in poultry diets. *World's Poultry Science Journal*, 68(2): 245-252. Doi: 10.1017/S004393391200030X.
- 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 *Labeo rohita* juveniles. *Fish and Shellfish Immunology*, 19(4): 331-344. Doi: 10.1016/j.fsi.2005.03.001.
- Kumar, P.N.J., Jyothsana, S., Reddy, M.H. and Sreevani, S., 2013.** Effect of *Bacillus subtilis* and *Lactobacillus rhamnosus* incorporated probiotic diet on growth pattern and enzymes in *Penaeus vannamei*. *International journal of Life Science and Pharma Research*, 3(4): 6-11.
- Kuz'mina, V.V., Skvortsova, E.G., Zolotareva, G.V. and Sheptitskiy, V.A., 2011.** Influence of pH upon the activity of glycosidases and proteinases of intestinal mucosa, chyme and microbiota in fish. *Fish Physiology Biochemistry*, 37(3): 345-353. Doi: 10.1007/s10695-010-9426-3
- Magnadóttir, B., 2006.** Innate immunity of fish (overview). *Fish and Shellfish*

- Nya, E.J. and Austin, B., 2011.** Development of immunity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) to *Aeromonas hydrophila* after the dietary application of garlic. *Fish and Shellfish Immunology*, 30(3): 845-850. Doi:10.1016/j.fsi.2011.01.008.
- Rahimi Yadkoori, N., Zanguee, N., Mousavi, S.M. and Zakeri, M., 2015.** Effects of Ginger (*Zingiber officinale*) extract on digestive enzymes and liver activity of *Mesopotamichthys sharpeyi* fingerlings. *Journal of the Persian Gulf*, 6(19): 1-10.
- Sainz Hernandez, J.C. and Cordova Murueta, J.H., 2009.** Activity of trypsin from *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*, 290(3-4): 190-195. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2009.02.034.
- Silva, F.C.P., Nicoli, J.R., Zambonino-Infante, J.L., Le Gall, M.M., Kaushik, S. and Gatesoupe, F.J., 2010.** Influence of partial substitution of dietary fish meal on the activity of digestive enzymes in the intestinal brush border membrane of gilthead sea bream, *Sparus aurata* and goldfish, *Carassius auratus*. *Aquaculture*, 306(1-4): 233-237. Doi: 10.1016/j.aquaculture.2010.05.018.
- Talpur, A.D., Ikhwanuddin, M. and Ambok Blong, A., 2013.** Nutritional effects og ginger (*Zingiber officinale* roscoe) on immune response of asian sea bass, *Lates calcarifer* (Bloch) and disease resistance against *vibrio harveyi*. *Aquaclture*, 400-401: 46-52. Doi:10.1016/j.aquaculture.2013.02.043.
- Talpur, A.D., 2014.** *Mentha piperita* (Peppermint) as feed additive enhanced growth performance, survival, immune response and disease resistance of Asian seabass, *Lates calcarifer* (Bloch) against *Vibrio harveyi* infection. *Aquaculture*, 420–421: 71–78. Doi: 10.1016/j.aquaculture.2013.10.039.
- Venkataramalingam, K., Godwin, C.J. and Citarasu, T., 2007.** *Zingiber officinalis*, an herbal appetizer in the tiger shrimp *Penaeus monodon* (Fabricius) larviculture. *Aquaculture Nutrition*, 13(6): 439-443. Doi: 10.1111/j.1365-2095.2007.00495.x.
- Walter, K. and Schutt, C., 1974.** Alkaline phosphatase in serum (continous assay). In. Bergmeyer, H.U., (Ed), *Methods of Enzymatic Analysis*, (2<sup>nd</sup> ed), Academic press, New York, NY, pp. 860-864
- Wootton, L.I., 1964.** Micro-analysis in medical biochemistry in micrometer, 4<sup>th</sup>.ed, Churchill press; London UK. pp.264-267.
- Worthington C.C., 1991.** Worthington manual related Biochemical. 3<sup>th</sup> ed, Freehold, New Jersey, 85 P.
- Xie, J., Liu, B., Zhou, Q., Su, Y., He, Y., Pan, L., Ge, X. and Xu, P., 2008.** Effects of anthraquinone extract from rhubarb *Rheum officinale* Bail on crowding stress response and growth of common carp *Cyprinus carpio* var. Jian. *Aquaculture*,

281(1-4): 5-11. Doi:  
10.1016/j.aquaculture.2008.03.038.

**Zhang, G.F., Yang, Z.B., Wang, Y., Yang, W.R., Jiang, S.Z. and Gai, G.S., 2009.**  
Effects of ginger root (*Zingiber officinale*) processed to different particle sizes on growth performance, antioxidant status, and serum metabolites of broiler chickens.

*Poultry Science*, 8(10): 2159–2166.  
Doi:10.3382/ps.2009-00165.

**Zhou, X.X., Wang, Y. and Li, W.F., 2009.**  
Effect of probiotic on larvae shrimp (*Penaeus vannamei*) based on water quality, survival rate and digestive enzyme activities. *Aquaculture*, 287(3-4): 349–353.  
Doi: 10.1016/j.aquaculture.2008.10.046.

**Effect of dietary administration of a *Zingiber officinale* extract on digestive enzyme activity and some biochemical parameters of western whiteleg shrimp, *Litopenaeus vannamei***

Shahaki N.<sup>1</sup>; Imanpour M.R.<sup>1</sup>; Akbary P.<sup>2</sup>; Safari R.<sup>1</sup>; Jafari V.<sup>1</sup>

paria.akbary@gmail.com

- 1- Gorgan University of Agricultural, Science and Natural Resources, Faculty of Fisheries and Environment Sciences, Fisheries and Aquaculture group, Gorgan, Iran  
2- Chabahar Maritime University, Department of Marine Sciences, Fisheries Division, Chabahar, Iran

**Abstract**

This study was conducted to evaluate the effect of *Zingiber officinale* extract (ZE) on digestive enzyme activity (chymotrypsin, trypsin, protease, amylase, and lipase) and some biochemical parameters (alkaline phosphatase (ALP), total protein (TP), albumin (ALB), globulin (GLU) and lysozyme) of *Litopenaeus vannamei* shrimp. A total of 600 post larvae shrimps (initial weight,  $1.06\pm0.7$  g) were randomly distributed into 12 fiberglass tanks representing four treatments at a rate of 50 shrimp in each tank. The control shrimp group (ZE0) was fed a ZE free basal diet. Other groups were fed the basal diet supplemented with 0.5 (ZE 0.5), 1.0 (ZE1) and 1.5 (ZE 1.5) g kg<sup>-1</sup> diet. Results revealed that activity of protease, amylase, and lipase and value of TP, ALB and GLU of the shrimp have significantly increased ( $p<0.05$ ) in the ZE0.5 and ZE1 groups compared with the ZE1.5 group and control group. The highest amylase ( $1.35\pm0.5$  U mg<sup>-1</sup> protein) and lipase ( $0.09\pm0$  U mg<sup>-1</sup> protein) activity was observed in the ZE1 group. It can be concluded that use of *Z. officinale* ZE0.5 and ZE1 kg<sup>-1</sup> diets could suggest for increasing digestive enzyme activity and some biochemical parameters of *L. vannamei*.

**Keywords:** *Litopenaeus vannamei*, *Zingiber officinale*, Non-specific immunity, Digestive enzyme activity

\*Corresponding author