

بررسی تاثیر پودر گیاه سیر (*Allium sativum*) بر شاخص‌های سلامت میگوی سفید غربی
(*Litopenaeus vannamei*: Boone, 1931)

محمد خلیل پذیر*، الهام اکبرپور

*استادیار پژوهشی پژوهشکده میگوی کشور- بوشهر، بوشهر، ایران

کارشناس سازمان نظام مهندسی کشاورزی و منابع طبیعی استان بوشهر، بوشهر، ایران

dr.pazir@gmail.com

چکیده

در مطالعه حاضر، تاثیر درصدهای مختلف پودر گیاه سیر افزوده شده به جیره غذایی بر روی شاخص‌های سلامت میگوی سفید غربی (*vannamei Litopenaeus*) به مدت ۶۰ روز مورد بررسی قرار گرفتند. در این تحقیق از میگوهای با میانگین وزنی ۸-۹ گرم متشکل از چهار تیمار هر کدام با سه تکرار شامل تیمار صفر درصد پودر گیاه سیر به عنوان تیمار شاهد، تیمار ۰/۵ درصد، تیمار ۱ درصد و تیمار ۲ درصد پودر گیاه سیر استفاده شد. نتایج بدست آمده حاکی از آن بود که تراکم سلول‌های هموسیت خون (THC) و پروتئین کل پلاسما (TPP) در میگوهای تیمار تغذیه شده با جیره غذایی حاوی ۲ درصد پودر گیاه سیر نسبت به میگوهای تیمار تغذیه شده با جیره غذایی حاوی ۱، ۰/۵ و صفر درصد پودر گیاه سیر به‌طور معنی‌داری افزایش یافته بود ($P < 0.05$). لیکن در میگوهای تیمار شاهد مقادیر اندازه‌گیری شده به‌طور معنی‌داری کمتر از میگوهای تیمارهای آزمایشی بود ($P < 0.05$). بنابراین می‌توان عنوان نمود که استفاده از پودر گیاه سیر به میزان ۲ درصد در جیره غذایی با افزایش سطح سلول‌های هموسیت خون و پروتئین کل پلاسما موجب فعال شدن سیستم ایمنی غیر اختصاصی در میگوهای سفید غربی می‌شود.

کلمات کلیدی: پودر گیاه سیر، میگوی سفید غربی، سلول‌های هموسیت خون، پروتئین کل پلاسما

مقدمه

موجودات بالغ بر ۴/۵ تن بوده است (۱۶). با این وجود، توسعه این صنعت با مخاطرات زیادی از جمله آسیب رساندن به محیط زیست و سلامت انسان‌ها و موجودات همراه بوده است (۲۵ و ۲۰). با توجه به وجود عوامل بیماری‌زای باکتریایی، ویروسی و قارچی و عدم وجود سیستم ایمنی پایدار در میگوها، همواره این صنعت با مشکلات عدیده‌ای روبرو بوده است

با توجه به کاهش ذخائر آبزیان، امروزه مشاهده می‌شود که گسترش آبی‌پروری به‌ویژه صنعت پرورش میگو در اکثر کشورها در حال توسعه است (۲۰ و ۱۹). بر اساس آخرین آمار سازمان خوار و بار جهانی (FAO) به دلیل افزایش بازارپسندی و تقاضای مصرف میگوهای خانواده پنائیده، میزان تولید این

(۱). لیکن با وجود این که استفاده از برخی از مواد همانند آنتی بیوتیک ها می تواند موجب پیشبرد صنعت آبی پروری شود، امروزه استفاده از آن ها به دلیل باقی ماندن این مواد در بافت آبزیان و ایجاد مقاومت دارویی توصیه نمی شود (۲۴). از این رو تعیین میزان، کیفیت و ترکیب اجزای تشکیل دهنده ماده غذایی از اهمیت ویژه ای برخوردار است (۲). با توجه به وجود سیستم ایمنی غیر اختصاصی در سخت پوستان بویژه میگو، استفاده از مواد محرک سیستم ایمنی علاوه بر تحریک و بهبود فعالیت سیستم ایمنی غیر اختصاصی میگوها، می تواند موجب افزایش مقاومت آن ها را در برابر عوامل بیماری زا شود (۱۴). بنابراین به دلیل وجود مواد محرک سیستم ایمنی در ترکیبات مشتق از گیاهان دارویی و جلبک های دریایی، استفاده از این ترکیبات توصیه می شود (۳۰ و ۲۴). این ترکیبات امروزه به صورت مکمل های تجاری در صنعت به منظور جلوگیری از گسترش بیماری و همچنین بهبود ضریب تبدیل غذایی و رشد به غذا افزوده می شود (۲۷ و ۱۸).

گیاه سیر (*sativum Allium*) یک گیاه پیازی شکل متعلق به جنس آلیوم، خانواده لیلیاسه (*Liliaceae*) بوده که سالیان سال به عنوان ادویه به غذا افزوده می شود (۲۹). آلیسین (*Allicin*) یا دیالی تیوسولفینات (*diallythiosulfinate*) از مهم ترین و فراوان ترین ترکیبات موجود در گیاه سیر تازه بوده که در حدود ۷۰ درصد تیوسولفینات موجود در سیر را تشکیل می دهد و مسئول بوی تند سیر می باشد (۳۱ و ۱۰). این ترکیب از واکنش میان اسیدهای آمینه غیر پروتئینی ($\text{S-allyl-l-cysteine sulfoxide}$) با آنزیم آلیناز (*alliinase*) است (۱۲). با توجه به مطالعات صورت

گرفته عنوان شده که این ترکیبات دارای خواص ضد باکتریایی، ضد ویروسی، ضد قارچی و ضد انگلی هستند (۷). *Dirsch* و همکاران (۱۹۹۸) عنوان نمودند که آلیسین دارای خواص مهارکنندگی رادیکال ها در گرانولوسیت های فعال و جلوگیری کننده از القاء سنتز اکسید نیتریک در ماکروفاژهای فعال است. با توجه به مطالعات صورت گرفته عنوان شده که فعالیت های فوق ناشی از وجود ترکیبات زیستی فعال در سیر از جمله ترکیبات گوگردی از قبیل آلین (*allin*)، دیالی سولفیدها (*diallylsulphides*) و آلیسین می باشد (۶). *Thanikachalam* و همکاران (۲۰۱۰) عنوان نمودند که گیاه سیر می تواند موجب افزایش فعالیت سیستم ایمنی در ماهیان شود (۳۴). همچنین استفاده از گیاه سیر به عنوان پیش برنده رشد، علاوه بر افزایش رشد، بر روی افزایش جذب و کارایی غذا نیز موثر است (۲۸).

در میان میگوهای خانواده پنائید، میگوی سفید غربی (*vannamei Litopenaeus*) از مهم ترین گونه های پرورشی جهان بوده که در اقلیم های آب و هوایی مختلفی پرورش داده می شود (۱۱). واردات این گونه به کشور، توسط موسسه تحقیقات شیلات ایران به منظور ایجاد تنوع گونه ای در سال ۱۳۸۴ صورت پذیرفت (۳). با توجه به حضور برخی از عوامل بیماری زای ویروسی و باکتریایی در محیط پرورش این موجودات و همچنین وجود خواص فوق در گیاه سیر، در این مطالعه سعی شد تا اثرات تحریک کنندگی از پودر گیاه سیر تازه به عنوان مکمل غذایی بر روی سیستم ایمنی غیر اختصاصی میگوی سفید غربی مورد بررسی قرار گیرد.

مواد و روش ها

مطالعه حاضر، در اواسط مرداد ماه ۱۳۹۴ در مرکز تکثیر میگوی پارس آبریزستان واقع در ۳۰ کیلومتری شهرستان بوشهر به منظور تعیین تاثیر پودر گیاه سیر بر روی فاکتورهای سلامت میگوهای جوان سفید غربی تغذیه شده با جیره های غذایی حاوی درصدهای مختلف پودر گیاه سیر به مدت ۶۰ روز انجام شد. از این رو مطالعه فوق از ۴ تیمار (صفر، ۰/۵، ۱ و ۲ درصد) هر کدام با ۳ تکرار تشکیل شده بود که در هر تیمار تعداد ۳۰ قطعه میگوی جوان سفید غربی با میانگین وزنی ۸/۶۴ گرم ذخیره سازی شد. لذا پس از جمع آوری ۳۰۰ قطعه میگوی جوان از مزرعه پرورش میگوی پارس دریا واقع در سایت پرورش میگوی دلوار استان بوشهر و انتقال آنها به سالن سر پوشیده مرکز تکثیر میگوی پارس آبریزستان، آدپتاسیون آنها پس از ذخیره سازی در حوضچه های بتنی ۲۰۰۰ لیتری حاوی آب ضد عفونی شده دریا با شوری ۴۰ قسمت در هزار به مدت یک هفته صورت پذیرفت (۲۷).

آماده سازی پودر گیاه سیر

به منظور تهیه پودر گیاه سیر، بعد از خریداری و جداسازی پیازچه های گیاه سیر از بازار، پوست گیری آنها توسط دست صورت گرفت. در ادامه ضد عفونی و شستشوی پیازچه ها، به ترتیب توسط ماده ضد عفونی کننده کلرید جیوه (۰/۲ درصد) و آب مقطر (۵ مرتبه) انجام شد (۲). پودر کردن پیازچه های سیر پس از خشک نمودن در دمای ۳۵ درجه سانتی گراد آون به مدت ۱۵-۱۲ ساعت و آسیاب نمودن آنها توسط دستگاه آسیاب برقی پارس خزر با دور ۲۰۰۰ دور در دقیقه صورت پذیرفت (۲۲). در ادامه در آزمایشگاه

تحقیقاتی کارخانه غذای میگوی هووراش، پس از الک نمودن پودر گیاه سیر تهیه شده با توری چشمه ۵۰۰ میکرون، با نسبت های ۰/۵، ۱ و ۲ درصد وزن بدن (به ترتیب ۵، ۱۰ و ۲۰ گرم به ازای هر کیلوگرم جیره غذایی)، به غذای کنسانتره میگو افزوده شد. شایان ذکر است که اقلام غذایی استفاده شده در غذای میگو شامل پودر ماهی کلیکا، پودر سویا، پودر سر میگو، آرد گندم، پودر اسکوئید، روغن ماهی، کنسانتره، لسیتین و گلوتن گندم بود که بر اساس جیره غذایی موجود در کارخانه پس از ترکیب نمودن آنها با هم پودر گیاه سیر با درصدهای مختلف مخلوط شد. در انتها مخلوط به دست آمده توسط چرخ گوشت با چشمه ۲ میلیمتری به شکل پلت در آورده شد. همچنین خشک کردن پلت ها با قرار دادن آنها در معرض جریان هوای گرم با درجه حرارت ۶۵-۶۰ °C به مدت ۱۶-۱۲ ساعت انجام گرفت. به منظور جلوگیری از جذب رطوبت، پلت های آماده شده تا زمان مصرف در جای خشک و خنک با درجه حرارت ۲۰- سانتی گراد نگهداری شدند (۲۶).

تغذیه میگوهای تیمار

غذادهی تیمارهای فوق بر اساس میانگین وزن بدن میگوها به میزان ۳-۳/۲۵ درصد تا ۲/۳-۲/۵ درصد وزن بدن در ساعات ۹، ۱۵ و ۲۲ صورت گرفت (۳۳). قبل از غذادهی، باقیمانده غذا و مواد زائد موجود در تانک ها پس از جمع آوری و توزین نمودن، حذف شدند. همچنین هر ۲ تا ۳ بار در هفته تعویض آب تانک های تیمارهای مطالعه به میزان ۵۰ درصد همراه با رعایت کلیه مسائل بهداشتی و امنیت زیستی انجام شد (۲۷).

سنجش فاکتورهای خونی میگوهای سفید غربی

به منظور تعیین فاکتورهای خونی میگوهای تیمار مختلف از قبیل هموسیت‌های کل خون و پروتئین کل پلاسما با فاصله زمانی هر ده روز یکبار پس از انتخاب تصادفی سه قطعه میگو از تکرارهای تیمارهای مختلف (۲۶ و ۱۳)، با استفاده از سرنگ ۱ میلی‌لیتر حاوی ۰/۶ میلی‌لیتر ماده ضد انعقاد آلزور (Alsever) مشتمل بر تری‌سدیم سیترات (۳۰ میلی‌مولار)، نمک طعام (۰/۳۴ مولار) آ.د.ت. آ (۱۰ میلی‌مولار) و گلوکز (۰/۱۱۵ مولار) در درجه حرارت

۴ درجه سانتیگراد و pH ۷/۲ خون‌گیری از سینوس شکمی واقع در انتهای پاهای شنا هر کدام از میگوها به صورت انفرادی صورت پذیرفت (۲۱). جهت تعیین هموسیت‌های کل موجود در گردش خون، پس از شمارش سلول‌های هیالین، نیمه دانه‌دار و دانه‌دار با استفاده از لام هموسیتومتر (نئوبار) و میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی ۴۰۰ برابر، از طریق معادله ۱ تعداد کل آن‌ها در هر یک از تیمارهای مختلف محاسبه شد (۱).

$$\text{سلول در هر میلی‌لیتر} = \frac{\text{مجموع تعداد سلول‌های هموسیت شمارش شده}}{5} \times \frac{1}{4/0} \times 10^4 = \text{تعداد هموسیت‌های کل خون}$$

معادله ۱- محاسبه تعداد سلول‌های هموسیت خون

در این مطالعه، تعیین پروتئین کل پلاسما، توسط روش بیورت در آزمایشگاه تشخیص طبی رازی صورت گرفت (۴). روش کار بدین صورت بود که با سانتریفوژ نمودن نمونه‌های همولنف اخذ شده از میگوهای تیمار توسط سانتریفوژ یخچال‌دار مدل اپندورف با دور ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه در درجه حرارت ۴ درجه سانتی‌گراد پس از ته‌نشین شدن سلول‌های خونی و جداسازی ۵۰۰ ماکرولیتر پلاسما از مایع رویی و انتقال آن به یک لوله اپندورف جلدی، تا زمان سنجش پروتئین در دمای ۲۰- سانتی‌گراد نگهداری شدند.

فاکتورهای فیزیوشیمیایی آب

در طول دوره مطالعه، سعی شد که کلیه فاکتورهای فیزیوشیمیایی آب شامل درجه حرارت، اکسیژن

محلول در آب، شوری و pH به ترتیب در دامنه ۲۲/۰±۴/۶ درجه سانتی‌گراد، ۴/۸۷±۰/۴۸ میلی‌گرم در لیتر، ۴۱-۴۲ قسمت در هزار و ۷/۸-۸/۱ ثابت نگه داشته شود.

تجزیه و تحلیل آماری

در پایان، داده‌های حاصل از تعیین هموسیت‌های کل خون و پروتئین کل پلاسما، توسط نرم‌افزار آماری SPSS, 18 از طریق آنالیز واریانس یک‌طرفه ANOVA با استفاده از آزمون Tukey با سطح اطمینان ۹۵ درصد مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

نتایج

مقادیر هموسیت‌های کل خون

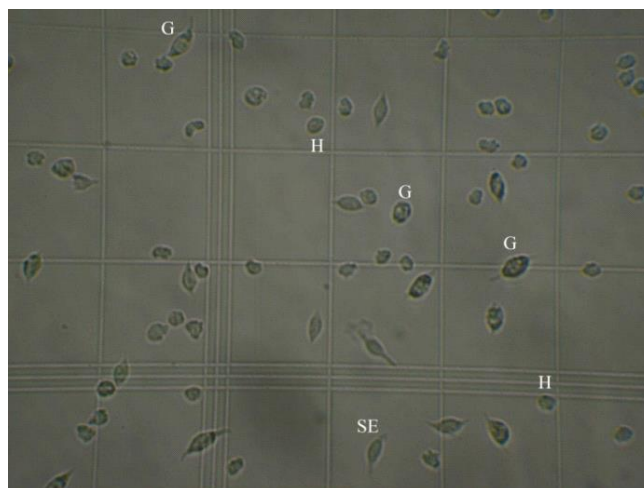
بررسی روند تغییرات هموسیت‌های کل خون در طول

"پذیر و اکبرپور، بررسی تاثیر پودر گیاه سیر (*Allium sativum*) بر شاخص‌های ..."

($P > 0.05$).

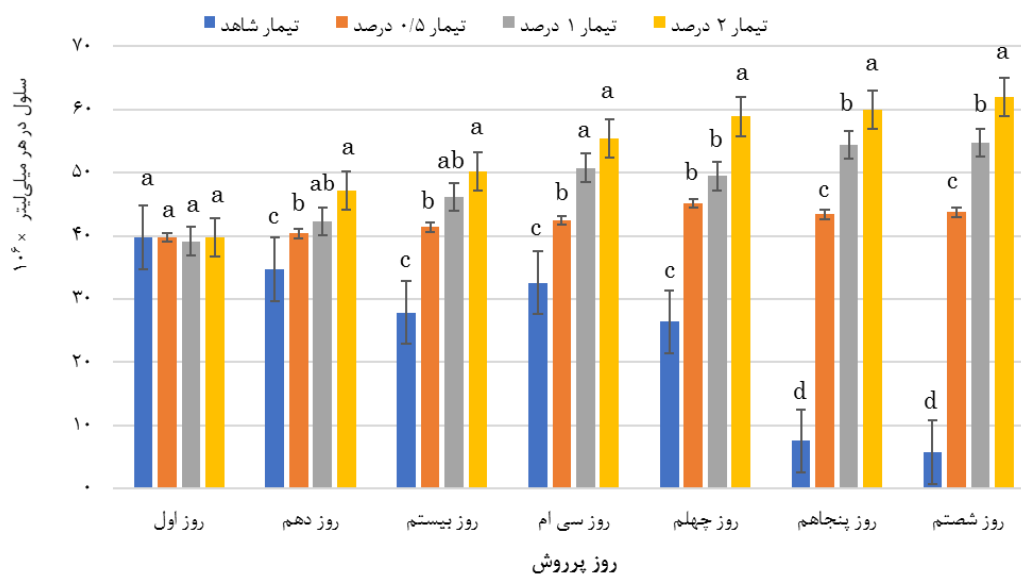
تراکم سلول‌های هموسیت خون در روز شصتم مطالعه، حاکی از افزایش معنی‌دار این سلول‌ها در میگوهای تیمار تغذیه شده با جیره غذایی حاوی ۲ درصد پودر گیاه سیر، نسبت به میگوهای تیمار تغذیه شده با جیره غذایی حاوی ۱، ۰/۵ و صفر درصد پودر گیاه سیر بود ($P < 0.05$). همچنین میزان فاکتور اندازه‌گیری شده در میگوهای تیمار تغذیه شده با جیره غذایی حاوی ۱ درصد پودر گیاه سیر نیز، به‌طور معنی‌داری بیشتر از میگوهای تیمار تغذیه شده با جیره غذایی ۰/۵ درصد پودر گیاه سیر بود ($P < 0.05$). ولی در میگوهای تیمار شاهد (جیره غذایی حاوی صفر درصد پودر گیاه سیر)، مقادیر هموسیت‌های کل خون به‌طور معنی‌داری کمتر از تیمارهای آزمایشی بود ($P < 0.05$) (شکل ۱) (نمودار ۱).

مطالعه، حاکی از آن بود که هیچ‌گونه تفاوت معنی‌داری میان میزان این فاکتور در روزهای دهم، بیستم و سیام مطالعه در میگوهای تیمار تغذیه شده با جیره غذایی حاوی ۲ درصد و میگوهای تیمار تغذیه شده با جیره‌های غذایی حاوی ۱ و ۰/۵ درصد پودر گیاه سیر مشاهده نشد ($P > 0.05$). لیکن در روز چهارم مطالعه مقادیر هموسیت‌های کل خون در میگوهای تیمار تغذیه شده با جیره حاوی ۲ درصد پودر گیاه سیر به‌طور معنی‌داری، نسبت به میگوهای تیمار تغذیه شده با جیره‌های غذایی حاوی ۱، ۰/۵ و صفر درصد پودر گیاه سیر افزایش یافته بود ($P < 0.05$). این درحالی بود که با وجود افزایش میزان این فاکتور در میگوهای تیمار تغذیه شده با جیره غذایی حاوی ۱ درصد پودر گیاه سیر در مقایسه با میگوهای تیمار تغذیه شده با جیره غذایی حاوی ۰/۵ درصد پودر گیاه سیر، هیچ‌گونه تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد.



شکل ۱- سلول‌های هموسیت کل خون میگوهای تیمار G (سلول‌های گرانولار)، SE (سلول‌های نیمه گرانولار) و H (سلول‌های هیالین)

"مجله ایمنی زیستی، دوره ۹، شماره ۱، بهار ۱۳۹۵"



نمودار ۱- میانگین هموسیت های کل خون (میانگین $\pm$ میانگین انحراف معیار) میگوهای تیمار تغذیه شده با جیره های مختلف پودر گیاه سیر (در هر روز حروف غیر مشابه نشان دهنده معنی دار بودن و حروف مشابه نشان دهنده معنی دار نبودن با سطح اطمینان ۹۵ درصد است)

مقادیر پروتئین کل پلاسما
 (P<۰,۰۵) لیکن علیرغم بیشتر بودن میزان فاکتور در میگوهای تیمار تغذیه شده با جیره غذایی حاوی ۰/۵ درصد پودر گیاه سیر نسبت به میگوهای تیمار شاهد هیچگونه تفاوت معنی داری مشاهده نشد (P>۰,۰۵) (جدول ۱).

نتایج حاصل از مطالعه، حاکی از آن بود که میزان کل پروتئین پلاسما در میگوهای تیمار تغذیه شده با جیره غذایی حاوی ۲ درصد پودر سیر به طور معنی داری بیشتر از میگوهای تیمار تغذیه شده با جیره های غذایی حاوی ۱، ۰/۵ و صفر درصد پودر گیاه سیر بود

جدول ۱- میانگین پروتئین پلاسمای خون (میانگین $\pm$ میانگین انحراف معیار) میگوهای تیمار تغذیه شده با جیره های مختلف پودر گیاه سیر (در هر ردیف حروف غیر مشابه نشان دهنده معنی دار بودن و حروف مشابه نشان دهنده معنی دار نبودن با سطح اطمینان ۹۵ درصد است)

میلی گرم بر (صفر درصد) شاهد	جیره غذایی ۰/۵ درصد	جیره غذایی ۱ درصد	جیره غذایی ۲ درصد
(میلی گرم بر میلی لیتر)	(میلی گرم بر میلی لیتر)	(میلی گرم بر میلی لیتر)	(میلی گرم بر میلی لیتر)
$cl-10 \times 38/0 \pm 10^1 \times 64/12$	$bc1-10 \times 31/0 \pm 10^1 \times 74/13$	$b1-10 \times 35/0 \pm 10^1 \times 36/14$	$a1-10 \times 41/0 \pm 10^1 \times 84/15$

بویژه میگو، به دلیل محدودیت های موجود در استفاده از داروهای شیمیایی و عدم وجود داروهای اختصاصی در سخت پوستان، امروزه می توان با افزودن برخی مکمل های محرک سیستم ایمنی در جیره های غذایی، همراه با بهبود شرایط پرورشی،

با توجه به وجود عوامل بیماری زای ویروسی، باکتریایی، قارچی و انگلی به عنوان عوامل تهدید کننده صنعت پرورش میگو و فقدان سیستم ایمنی اختصاصی و سلول های حافظه ای در سخت پوستان

"پذیر و اکبرپور، بررسی تاثیر پودر گیاه سیر (*Allium sativum*) بر شاخص‌های ..."

مقاومت آبیان را در برابر عوامل بیماری‌زا افزایش داد (۳۲). نتایج بدست آمده نشان داد که پس از گذشت ده روز از زمان شروع مطالعه، تراکم سلول‌های هموسیت خون در میگوهای تیمار تغذیه شده با جیره‌های غذایی حاوی پودر گیاه سیر به‌طور معنی‌داری، در مقایسه با میگوهای تیمار شاهد افزایش پیدا کرد. اختلاف ایجاد شده می‌تواند ناشی از تحریک سیستم ایمنی غیر اختصاصی میگوهای تیمار آزمایشی توسط ترکیبات موجود در پودر گیاه سیر باشد. در این رابطه Kasornchandra و همکاران (۲۰۰۵) عنوان نمودند که استفاده از پودر گیاه سیر در جیره غذای میگوها، با تحریک تولید سلول‌های هموسیت، موجب افزایش فعالیت فاگوسیتوزی، تولید آنیون‌های سوپراکسیداز و فعالیت فنوکسی اکسیداز در میگوهای خانواده پنائیده و پیشگیری از بروز بیماری می‌شود. شایان ذکر است که پیازچه‌های سیر تازه، حاوی یک اسید آمینه غیرپروتئینی بنام اس‌آلل‌ال سیستمین سولفوکساید و دو ماده شیمیایی شبیه هم بنام‌های متیل و یک پروپنیل آل سیستمین سولفوکساید بوده که در زمان خرد یا له نمودن پیازچه‌ها آنزیم آلیناز (alliinase) آزاد شده و اسید آمینه را به آلین و آلیسین (allicin) تبدیل می‌کند. این مواد علاوه بر داشتن فعالیت ضد باکتریایی، دارای خواص تحریک‌کنندگی سیستم ایمنی نیز هستند (۲۳).

همچنین مشاهده شد که تا روز بیستم مطالعه، هیچ‌گونه تفاوت معنی‌دار آماری، در میزان کل هموسیت‌های خون در میگوهای تیمار تغذیه شده با جیره‌های غذایی حاوی ۲ و ۱ درصد پودر گیاه سیر مشاهده نشد ($P > 0.05$). از این‌رو می‌توان عنوان نمود که تا روز بیستم مطالعه، جیره‌های غذایی حاوی

درصدهای مختلف پودر گیاه، اثرات یکسانی بر روی سیستم ایمنی میگوهای تیمار داشتند. لیکن در ادامه تغذیه میگوهای تیمار توسط جیره‌های غذایی مختلف، مشاهده شد که میزان هموسیت‌های کل خون در میگوهای تیمار تغذیه شده با جیره غذایی حاوی ۲ درصد پودر گیاه سیر، به‌طور معنی‌داری نسبت به دیگر میگوهای تیمار افزایش یافته بود ($P < 0.05$). بنابراین می‌توان عنوان نمود که افزایش پودر گیاه سیر به میزان ۲ درصد، اثرات تحریک‌کنندگی بیشتری بر سیستم ایمنی غیر اختصاصی میگوها دارد. در مطالعه دیگر عنوان شد که حداکثر تراکم هموسیت خون و فعالیت فاگوسیتوزی در میگوی ببری سیاه در تیمارهایی مشاهده می‌شود که از جیره غذایی حاوی ۷/۷ درصد عصاره سیر در غذا استفاده کرده بودند، در مقایسه با جیره‌های غذایی حاوی ۱/۶۴ درصد عصاره سیر و جیره غذایی تیمار شاهد افزایش معنی‌داری مشاهده شد (۲۲).

همچنین در مطالعه دیگر عنوان شد که اثرات بازدارندگی عصاره سیر تازه له شده بر فعالیت باکتری و بیریو هاروی جدا شده از آبشش میگوهای سفید هندی (*indicus Fenneropenaeus*)، در آزمایشگاه در مقایسه با اثرات بازدارندگی عصاره سیر فریز خشک شده و عصاره سیر استخراج شده توسط اسید متانولیک به‌طور معنی‌داری بیشتر بود (۳۴). Balasubramanian و همکاران (۲۰۰۸) نیز عنوان نمودند که عصاره سیر قادر است که با تحریک سیستم ایمنی و فعال‌سازی مراکز ساخت سلول‌های دفاعی میگوها (هموسیت‌ها)، علاوه بر افزایش سطح این سلول‌ها در خون، حذف عوامل بیماری‌زا را موجب شوند.

با توجه به مطالب عنوان شده و نتایج بدست آمده از مطالعه حاضر، می توان عنوان نمود که تجویز خوراکی پودر گیاه سیر می تواند موجب تحریک مراکز خون ساز و افزایش تولید سلول های هموسیت در گردش خون میگوهای سفید غربی شود. به گونه ای که این افزایش پس از گذشت ۱۰ روز و تغذیه میگوها با جیره غذایی حاوی ۲ درصد پودر گیاه سیر، به طور معنی داری بیشتر خواهد شد. از این رو استفاده از پودر گیاه سیر در آبزیان همراه با سایر عصاره های بیولوژیک می تواند از بروز بیماری های ایجاد شده توسط عوامل بیماری زا جلوگیری به عمل آورد (۵). امروزه عنوان شده که در بسیاری از مناطق پرورش میگو، پرورش دهندگان با مخلوط نمودن یک کیلوگرم پودر سیر با پنج کیلوگرم غذای کنسانتره، علاوه بر پیشگیری از بیماری های باکتریایی و قارچی در آبزیان، موجبات درمان آن ها را فراهم می آورند (۸). همچنین مشاهده شد که پودر گیاه سیر در جیره غذایی میگوهای سفید غربی، علاوه بر افزایش میزان هموسیت های کل خون، می تواند موجب افزایش پروتئین کل پلاسما نیز شود. به گونه ای که این میزان برای میگوهای که از جیره غذایی حاوی ۰/۵، ۱ و ۲ درصد پودر سیر استفاده کرده بودند، به ترتیب با میزان $13/74 \times 10^1$ ، $14/36 \times 10^1$ و $15/84 \times 10^1$ میلی لیتر به طور معنی داری بیشتر از مقادیر اندازه گیری شده در میگوهای تیمار شاهد با میزان $12/64 \times 10^1$

میلی گرم بر میلی لیتر بود. این افزایش می تواند ناشی از افزایش فعالیت مراکز خون ساز و ارگان های لنفاوی به موازات تولید سلول های هموسیت خون باشد. بنابراین استفاده از پودر سیر در جیره غذایی، همزمان با تحریک سیستم ایمنی، قادر است که مراکز سنتز پروتئین را فعال کند. در نتیجه با افزایش سطح پروتئین پلاسما، خون، انرژی مورد نیاز جهت فعالیت مراکز خون ساز تامین خواهد شد (۲۲ و ۱۷). از سوی دیگر نتایج بدست آمده حاکی از آن بود که میزان پروتئین کل پلاسما تا روز دهم مطالعه، در تیمارهایی که از جیره غذایی حاوی ۲ و ۱ درصد پودر سیر استفاده کرده بودند، به طور معنی داری افزایش یافته بود. لیکن از روز سی ام تا روز شصتم پرورش، این میزان به تدریج کاهش یافت. این درحالی بود که تا پایان مطالعه، مقادیر پروتئین کل پلاسما در میگوهای تیمار تغذیه شده با جیره غذایی حاوی پودر گیاه سیر، به طور معنی داری بیشتر از میگوهای تیمار شاهد بود. بنابراین می توان عنوان نمود که استفاده از پودر گیاه سیر به میزان ۲ درصد در جیره غذایی میگوهای سفید غربی، علاوه بر فعال نمودن سیستم ایمنی غیر اختصاصی در میگوها، قادر است تا با افزایش سطح سلول های هموسیت خون و پروتئین کل پلاسما، میگوها را در مواجهه با عوامل بیماری زا مقاوم سازد.

References

فهرست منابع

- ۱- پذیر، م. خ.، افشار نسب، م.، جلالی جعفری، ب.، مطلبی، ع.، شریف پور، ع. ۱۳۸۹. شناسایی بیماری های ویروسی میگوی سفید غربی (*vannamei Litopenaeus*) در ایران با تأکید بر پیشگیری از بیماری ویروسی لکه سفید (White spot disease) با استفاده از عصاره جلبک های دریایی. رساله دکتری تخصصی Ph.D. دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران. ۱۵۰ ص.
- ۲- جواد زاده، م.؛ سالارزاده، ع.؛ یحیوی، م.؛ حافظیه، م. و درویش پور، ح. ۱۳۹۱. تأثیر عصاره سیر بر فاکتورهای رشد و بازماندگی در پست لاروهای میگوی وانامی (*vannamei Litopenaeus*). مجله علمی شیلات ایران. سال بیست و یکم، شماره ۱؛ صفحات ۴۶-۳۹.
- ۳- فقیه، غ.؛ میتن فر، ع.؛ نیامیمندی، ن.؛ سامانی، ن.؛ دشتیان نسب، ع.؛ بنافی، م.؛ حق نجات، م.؛ دلیرپور، غ.؛ غریبی، ق.؛ کاکولکی، ش.؛ خورشیدیان، ک.؛ جهانگرد، ع. پذیر، م.خ. و قربانی، ر. ۱۳۸۸. بررسی و پرورش میگوی پاسبید (*vannamei Litopenaeus*) در استان بوشهر و مقایسه بازده اقتصادی آن با میگوی سفید هندی. مؤسسه تحقیقات شیلات ایران- پژوهشکده میگوی کشور. ۵۲ ص.
- 4- Acharya, U., Mowen, M. B., Nagashima, K. & Acharya, J. K. (2004). Ceramidase expression facilitates membrane turnover and endocytosis of rhodopsin in photoreceptors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101, ۱۹۲۲-۱۹۲۶, (۷)
- 5- Adler, A. J., & Holub, B. J. (1997). Effect of garlic and fish-oil supplementation on serum lipid and lipoprotein concentrations in hypercholesterolemic men. *The American journal of clinical nutrition*, 65(2), 445-450.
- 6- Amagase, H., Petesch, B. L., Matsuura, H., Kasuga, S., & Itakura, Y. (2001). Intake of garlic and its bioactive components. *The Journal of nutrition*, 131(3), 955S-962S.
- 7- Ankri, S., & Mirelman, D. (1999). Antimicrobial properties of allicin from garlic. *Microbes and Infection*, 1(2), 125-129. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S1286-4579\(99\)80003-3](http://dx.doi.org/10.1016/S1286-4579(99)80003-3)
- 8- Bai, L. (1994). Herbs used in Chinese fish farms. *The AAHRI Newsletter, Bangkok, Thailand*.
- 9- Balasubramanian, G., Sarathi, M., Venkatesan, C., Thomas, J., & Hameed, A. S. (2008). Studies on the immunomodulatory effect of extract of *Cyanodon dactylon* in shrimp, *Penaeus monodon*, and its efficacy to protect the shrimp from white spot syndrome virus (WSSV). *Fish & shellfish immunology*, 25(6), 820-828.
- 10- 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.
- 11- Briggs, M., Funge-Smith, S., Subasinghe, R., & Phillips, M. (2004). *Introductions and movement of Penaeus vannamei and Penaeus stylirostris in Asia and the Pacific* (Vol. 10).
- 12- Cavallito, C. J., & Bailey, J. H. (1944). Allicin, the antibacterial principle of *Allium sativum*. I. Isolation, physical properties and antibacterial action. *Journal of the American Chemical Society*, 66(11), 1950-1951.
- 13- Chang, C.-F., Chen, H.-Y., Su, M.-S., & Liao, I.-C. (2000). Immunomodulation by dietary β -1, 3-glucan in the brooders of the black tiger shrimp *Penaeus monodon*. *Fish & shellfish immunology*, 10(6), 505-514.

- 14- Diab, A., El-Nagar, G., & Abd-El-Hady, Y. (2002). 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 Vet. Med. J*, 2002, 745-775.
- 15- Dirsch, V. M., Kiemer, A. K., Wagner, H., & Vollmar, A. M. (1998). Effect of allicin and ajoene, two compounds of garlic, on inducible nitric oxide synthase. *Atherosclerosis*, 139(2), 333-339.
- 16- FAO. (2013). Aquaculture Department. *Global Aquaculture Production Statistics for the year*.
- 17- Fazlolahzadeh, F., Keramati, K., Nazifi, S., Shirian, S., & Seifi, S. (2011). Effect of garlic (*Allium sativum*) on hematological parameters and plasma activities of ALT and AST of rainbow trout in temperature stress. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 5(9), 84-90.
- 18- Ghaednia, B., Mehrabi, M. R., Mirbakhsh, M., Yeganeh, V., & Nasab, A. D. (2011). Administration of hot-water extract of *Padina boergesenii* via immersion route to enhance haemolymph-immune responses of *Fenneropenaeus indicus* (Edwards). *Aquaculture Research*, 42(9), 1350-1358.
- 19- Goldberg, R., Elliott, M. S., Naylor, R., & Commission, P. O. (2001). *Marine aquaculture in the United States: environmental impacts and policy options*: Pew Oceans Commission Arlington, Virginia.
- 20- Goldberg, R., & Naylor, R. (2005). Future seascapes, fishing, and fish farming. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 3(1), 21-28.
- 21- Jiang, G., Yu, R., & Zhou, M. (2004). Modulatory effects of ammonia-N on the immune system of *Penaeus japonicus* to virulence of white spot syndrome virus. *Aquaculture*, 241(1), 61-75.
- 22- Kasornchandra, J., Chutchawanchaipan, W., Thavornyutikarn, M., & Puangkaew, J. (2005). *Application of garlic (Allium sativum) as an alternate therapeutic for marine shrimp*. Paper presented at the Proceeding of the JSPS-NRCT international symposium: productivity techniques and effective utilization of aquatic animal resources into the new century, Kasetsart University, Thailand.
- 23- Koch, H. P., & Lawson, L. D. (1996). *Garlic: the science and therapeutic application of Allium sativum L. and related species* (Vol. 683181475): baltimore, Maryland: Williams & Wilkins xv, 329p. ISBN.
- 24- Lee, D.-H., Ra, C.-S., Song, Y.-H., Sung, K.-I., & 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.
- 25- Naylor, R., & Burke, M. (2005). Aquaculture and ocean resources: raising tigers of the sea.
- 26- Parmar, P. V., Murthy, H. S., Tejpal, C., & Kumar, B. N. (2012). Effect of brewer's yeast on immune response of giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*, and its resistance to white muscle disease. *Aquaculture International*, 20(5), 951-964.
- 27- Pazir, M., Afsharnasab, M., Jalali Jafari, B., Sharifpour, I., Motalebi, A., & Dashtiannasab, A. (2011). Detection and identification of white spot syndrome virus (WSSV) and infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus (IHHNV) of *Litopenaus vannamei* from Bushehr and Sistan and Baloochestan provinces (Iran), during 2009-2010. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 10(4), 708-726.
- 28- Rebecca, A. A., & Bhavan, P. S. (2014). Growth Promotion and Survival Enhancement of the Freshwater Prawn *Macrobrachium Rosenbergii* Post Larvae Fed with *Allium Sativum*, *Zingiber Officinale* and *Curcuma Longa*.
- 29- Rivlin, R. S. (2001). Historical perspective on the use of garlic. *The Journal of nutrition*, 131(3), 951S-954S.

- 30- Sivaram, V., Babu, M., Immanuel, G., Murugadass, S., Citarasu, T., & Marian, M. (2004). Growth and immune response of juvenile greasy groupers (*Epinephelus tauvina*) fed with herbal antibacterial active principle supplemented diets against *Vibrio harveyi* infections. *Aquaculture*, 237(1), 9-20.
- 31- Tanekhy, M., & Fall, J. (2015). Expression of innate immunity genes in kuruma shrimp *Marsupenaeus japonicus* after in vivo stimulation with garlic extract (allicin). *Veterinari Medicina*, 60(1), 39-47.
- 32- Thanikachalam, K., Kasi, M., & Rathinam, X. (2010). 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*, 3(8), 614-618.
- 33- Van Wyk, P., Davis-Hodgkins, M., Laramore, R., Main, K. L., Mountain, J., & Scarpa, J. (1999). Farming marine shrimp in recirculating freshwater systems.
- 34- Vaseeharan, B., Prasad, G. S., Ramasamy, P., & Brennan, G. (2011). Antibacterial activity of *Allium sativum* against multidrug-resistant *Vibrio harveyi* isolated from black gill-diseased *Fenneropenaeus indicus*. *Aquaculture International*, 19(3), 531-539.

Effect of garlic powder (*Allium sativum*) on immune responses of *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931)

Mohammad Khalil Pazir*, Elham Akbarpour

*Assistant professor of Iran Shrimp Research Center of Boushehr, Boushehr, Iran
Bachelor of Agricultural and Natural Resources Engineering Organization of Bushehr, Boushehr, Iran

dr.pazir@gmail.com

Abstract

In the present study, the effect of different percentages of garlic powder on the immune response of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) was evaluated for 60 days. In this study shrimp were used with an average weight of 8-9 g were comprised of four treatments each with three replications such as 0, 0.5, 1 and 2 % of garlic powder added to feed. The results showed that total haemocyte count (THC) and total plasma protein (TPP) in shrimp fed diets containing 2 % garlic powder significantly increased than to shrimp fed diets containing 1, 0.5 and 0 % of garlic powder ($P < 0.05$), whereas the shrimp of control, was significantly lower than experimental treatments ($P < 0.05$). So it can be concluded that immune system non-specific of *L. vannamei* was activated and immune factors (THC and TPP) were increased after using garlic powder at 2 % in the diet of shrimp.

Keywords: Garlic powder, *Litopenaeus vannamei*, total heamocyte count, total plasma protein