

## تأثیر اسانس گیاه سیر (*Allium sativum*) بر شاخص‌های رشد و بقاء، برخی شاخص‌های بیوشیمیایی خون و آنزیم‌های گوارشی ماهی زبرا دانیو (*Danio rerio*)

عباس متین‌فر<sup>۱</sup>، طیبه عنایت غلام‌پور<sup>۲</sup>، سمانا شعبانی کاکرودی<sup>۳</sup>، فدایی راینی، مهدیه<sup>۲</sup>

\*a\_matinfar@hotmail.com

- ۱- موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران
- ۲- دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
- ۳- دانشکده علوم زیستی و بیوتکنولوژی، دانشگاه یو پی ام، کوالامپور، مالزی

تاریخ پذیرش: مرداد ۱۳۹۷

تاریخ دریافت: آذر ۱۳۹۶

### چکیده

تحقیق حاضر با هدف بررسی تأثیر اسانس گیاه سیر (*Allium sativum*) در چهار سطح  $(T_0)$ ،  $(T_1)$ ،  $(T_2)$  و  $(T_3)$  گرم اسانس سیر بر کیلوگرم جیره غذایی بر شاخص‌های رشد و بقاء، شاخص‌های بیوشیمیایی خون و آنزیم‌های گوارشی ماهی زبرا دانیو (*Danio rerio*) انجام گرفت. لاروها از زمان شروع تغذیه فعال به مدت ۶۰ روز با جیره‌های غذایی آزمایشی تغذیه شدند. نتایج نشان داد که ماهیان تغذیه شده با جیره‌های غذایی آزمایشی بطور معنی‌داری در شاخص‌های رشد و بقاء نسبت به گروه شاهد در شرایط بهتری قرار داشتند ( $p < 0.05$ ). بر طبق نتایج، کمترین میزان گلوکز ( $mg/dl$ ) و کلسترول ( $18/35 \pm 0/08$ ) و کلسترول ( $3/55 \pm 0/06$   $mg/dl$ ) در تیمار  $T_3$  مشاهده شد و دارای اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد و سایر تیمارهای آزمایشی بود ( $p < 0.05$ ) در حالیکه بیشترین میزان پروتئین کل ( $2/51 \pm 0/09$   $g/dl$ ) در تیمارهای  $T_2$  و  $T_3$  اندازه‌گیری شد که دارای اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد و تیمار  $T_1$  می‌باشد ( $p < 0.05$ ). مقدار آنزیم پروتئاز در تمامی ماهیان تغذیه شده با تیمارهای آزمایشی افزایش یافت ( $p < 0.05$ )، اما در مورد آنزیم‌های لیپاز و آمیلاز، تنها در تیمارهای  $T_2$  و  $T_3$  به طور معنی‌داری تحت تأثیر اسانس گیاه سیر قرار گرفتند ( $p < 0.05$ ). بالاترین مقادیر آنزیم‌های آمیلاز ( $U/mg$  protein)  $9/11 \pm 0/13$ ، لیپاز ( $2/55 \pm 0/10$   $U/mg$  protein) و پروتئاز ( $4/03 \pm 0/10$   $U/mg$  protein) در  $T_3$  مشاهده گردید. بین تیمارهای  $T_2$  و  $T_3$  به لحاظ مقدار آنزیم پروتئاز اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ( $p > 0.05$ ). با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق، افزودن اسانس گیاه سیر در جیره غذایی می‌تواند تأثیر مثبتی در ارتقاء وضعیت عمومی، شاخص‌های رشد و فعالیت آنزیم‌های گوارشی ماهی زبرا دانیو داشته باشد.

**نکات کلیدی:** گیاه سیر، ماهی زبرا دانیو، شاخص‌های رشد، شاخص‌های بیوشیمیایی، آنزیم‌های گوارشی

\*نویسنده مسئول

## مقدمه

مکمل‌های غذایی یا افزودنی‌ها برای بهبود کارایی رشد، سلامت آبی، افزایش پایداری پلت و بهبود طعم غذا بکار می‌روند و شامل دو دسته مکمل‌های سنتزی (هورمون‌ها، آنتی بیوتیک‌ها و رنگدانه‌های صنعتی) و مکمل‌های طبیعی (انواع گیاهان و عصاره‌های آن‌ها، جلبک‌ها، باکتری‌ها و مخمرها) هستند. از جمله این مواد طبیعی، گیاهان هستند که منبعی طبیعی از مواد افزایش دهنده رشد، آنتی باکتری و تحریک کننده سیستم ایمنی می‌باشند (Sivaram et al., 2004). در بسیاری از موارد داروهای با منشأ گیاهی، ارزان‌تر و با عوارض جانبی کمتر نسبت به داروهای شیمیایی می‌باشند. یکی از مکمل‌های غذایی که می‌توان استفاده نمود، گیاه سیر (*Allium sativum*) می‌باشد. گزارش‌هایی مبنی بر افزایش رشد، بهبود شاخص‌های بیوشیمیایی و فعالیت آنزیم‌های گوارشی در نتیجه وجود گیاه سیر در جیره غذایی آبزیان وجود دارد. افزایش وزن بدن، ضریب رشد ویژه و درصد رشد روزانه در فیل ماهیان (*Huso huso*) تغذیه شده با پودر سیر را مشاهده نمودند. Shalaby و همکاران (۲۰۰۶)، بیان نمودند که افزایش میزان سیر در جیره غذایی ماهی تیلاپپای نیل، سبب بهبود شاخص‌های رشد و کاهش ضریب تبدیل غذایی می‌گردد. با افزایش غلظت سیر در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، افزایش رشد سریع‌تری مشاهده شد. از سوی دیگر، گیاه سیر بر شاخص‌های بیوشیمیایی و فعالیت آنزیم‌های گوارشی نیز تأثیر مثبت دارد، بطوریکه استفاده از گیاه سیر در جیره غذایی سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی و کاهش سطوح گلوکز و کلسترول خون در انواع جانوران می‌گردد. با مطالعه تأثیر گیاه سیر بر ماهی روهو (*Labeo rohita*) و Fereidouni و همکاران (۲۰۱۵) با مطالعه تأثیر گیاه سیر بر لارو ماهی کفال (*Mugil cephalus*)، این مطلب را تأیید نمودند. با توجه به اهمیت ماهی زبرا دانیو (*Danio rerio*) که در بسیاری از شاخه‌های علوم شامل بیماری‌های انسان (Lieschke and Currie, 2007)، زیست‌شناسی رشد و ژنتیک، سم‌شناسی محیطی، آزمایش دارو، تکامل (Barros et al., 2008) و به طور فزاینده‌ای به عنوان مدل (Lawrence, 2011) مورد

استفاده قرار می‌گیرد. تحقیق حاضر با هدف بررسی تأثیر سطوح مختلف اسانس گیاه سیر بر رشد و درصد بازماندگی، شاخص‌های بیوشیمیایی خون و آنزیم‌های گوارشی انجام گرفت.

## مواد و روش کار

برای انجام این تحقیق از لاروهای تازه به تغذیه افتاده ماهی زبرا دانیو استفاده گردید. ماهیان در قالب ۴ تیمار و هر تیمار با ۳ تکرار در نظر گرفته شدند (۱۲ عدد آکواریوم با ابعاد ۴۰×۲۰×۱۵ سانتی متر) و در هر آکواریوم ۴۰ عدد لارو به طور تصادفی قرار داده شدند. تغذیه لاروها با غذای بیومار به قطر ۰/۵ میلی‌متر (پروتئین ۵۲/۴۵٪، چربی ۱۸/۴۴٪، خاکستر ۱۱/۳۵٪، رطوبت ۱۵/۶۶٪، فیبر ۲/۱٪) که با اسانس گیاه سیر با دوزهای ۰ (گروه شاهد T<sub>0</sub>)، ۰/۱۰ (T<sub>1</sub>)، ۰/۱۵ (T<sub>2</sub>) و ۰/۲۰ (T<sub>3</sub>) گرم در هر کیلوگرم غذا غنی شده بودند، صورت گرفت. جهت ساخت جیره غذایی، مقدار اسانس مورد نظر گیاه در حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر آب و ۴ گرم ژلاتین که در آن حل شده بود بر جیره غذایی اسپری شد. جیره‌های غذایی مورد نظر پس از آماده‌سازی برای حصول اطمینان از کیفیت و ترکیب تقریبی به آزمایشگاه منتقل شدند. میزان پروتئین با استفاده از روش کج‌لدال و چربی خام مطابق با روش سوکسله اندازه‌گیری شدند. رطوبت، فیبر، خاکستر و کربوهیدرات نیز توسط روش‌های استاندارد اندازه‌گیری شدند (AOAC, 2005). جهت تعیین میزان رطوبت از آون (Gerhardt, Type: Vap 40, Germany) با دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت استفاده شد. خاکستر با استفاده از کوره (Nabertherm, Germany) در دمای ۵۰۰ درجه سانتی‌گراد اندازه‌گیری شد. پروتئین با استفاده از روش کج‌لدال (N×۶/۲۵) با استفاده از دستگاه (Gerhardt, Germany) و چربی با استفاده از دستگاه سوکسله (Behr, Serin-nr:8070109, Germany) اندازه‌گیری شدند (AOAC, 2005). غذا دارای پروتئین ۵۰/۸۶±۲/۸ درصد، چربی ۱۹/۷۱±۰/۲۳ درصد، خاکستر ۱۲/۸۵±۰/۶۷ درصد، رطوبت ۹/۰۹±۰/۴ درصد، فیبر ۴۶۷۱/۳۲±۳۱/۷ درصد و انرژی ۰/۶۲±۰/۲۱ درصد و اسانس سیر مورد استفاده، یک

پروتئاز) بر اساس روش ارائه شده توسط (Bernfeld, 1991; Worthington, 1951) اندازه‌گیری شدند. فعالیت واحد آمیلاز بر طبق وزن (میلی‌گرم) مالتوز آزاد شده به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد محاسبه شد. فعالیت واحد پروتئاز بر اساس مقدار تیروزین آزاد شده در مدت زمان ۱۵ دقیقه تحت شرایط آزمایشی بیان شد. فعالیت واحد لیپاز بر مبنای هیدروکسید سدیم (NaOH) ۰/۲۵ نرمال مورد نیاز برای خنثی‌سازی اسیدهای چرب آزاد شده در طول ۱۸ ساعت انکوباسیون در pH ۶/۹ و دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد بیان گردید. فعالیت آنزیم‌های گوارشی مذکور بر اساس واحد آنزیم به ازاء هر میلی‌گرم پروتئین (U/mg protein) محاسبه شدند.

### تجزیه و تحلیل داده‌ها

در ابتدا نرمالیتی (normality) داده‌ها بوسیله آزمون Shapiro-Wilk ارزیابی شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها از طریق آزمون تجزیه واریانس یکطرفه (ANOVA one way) و مقایسه میانگین بین تیمارها بر اساس آزمون دانکن (Duncan Multiple Rang Tests) مورد ارزیابی قرار گرفتند. وجود یا فقدان اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد با استفاده از نرم افزارهای SPSS19 و Excel 2010 در محیط ویندوز ارزیابی شد و مقادیر ( $p < 0.05$ ) معنی دار تلقی گردید.

### نتایج

نتایج حاصل از مقایسه میانگین شاخص‌های رشد ماهیان در دوره پرورش نشان داد که استفاده از سطوح مختلف اسانس گیاه سیر به طور معنی‌داری سبب افزایش نرخ بازماندگی و بقاء بچه ماهیان نسبت به گروه شاهد گردید ( $p < 0.05$ ). بهترین ضریب تبدیل غذایی در تیمار  $T_3$  مشاهده شد. نرخ رشد ویژه ماهیان با افزایش اسانس سیر در جیره به طور معنی‌داری افزایش یافت ( $p < 0.05$ ). بالاترین و پایین‌ترین مقادیر شاخص وضعیت بترتیب در تیمار  $T_0$  و  $T_3$  بدست آمد (جدول ۱). همانطوریکه در جدول (۲) مشاهده می‌شود، کمترین

اسانس روغنی از تولیدات شرکت باریج اسانس و به روش تقطیر سیر تازه و جدا سازی اسانس روغنی تهیه شده بود. غذادهی در فواصل زمانی منظم (ساعات ۸، ۱۴ و ۲۰) و به مقدار روزانه ۱۰ درصد وزن بدن انجام گرفت. در هر آکواریوم یک هیتر (۲۰۰ وات) جهت کنترل دمای آب نصب گردید و خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آب با دستگاه واترچکر بصورت روزانه ارزیابی شد. میزان اکسیژن محلول  $4/5 \pm 0/2$  میلی‌گرم در لیتر، پی‌اچ  $7/4 \pm 0/1$ ، سختی کل  $2/3 \pm 0/5$  میلی‌گرم در لیتر و دمای آب  $1 \pm 24$  درجه سانتی‌گراد بود.

شاخص‌های رشد از روابط ذیل محاسبه شدند (Pourmozaffar et al., 2017):

$100 \times$  (طول دوره پرورش/لگاریتم طبیعی وزن ابتدایی-لگاریتم طبیعی وزن نهایی) = نرخ رشد ویژه (%)

$100 \times$  (میانگین طول استاندارد/میانگین وزن) = ضریب چاقی میانگین وزن بدست آمده/ میانگین غذای خورده شده = ضریب تبدیل غذایی

$100 \times$  (تعداد لارو اولیه/تعداد لارو نهایی) = درصد بقاء در پایان دوره آزمایش، غذادهی ماهیان به مدت ۲۴ ساعت قطع گردید. جهت اندازه‌گیری شاخص‌های بیوشیمیایی، ماهیان دو مرتبه با بافر فسفات استریل (PBS, pH=7/2) شسته شدند و سپس با این بافر به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و  $5700$  rpm سانتریفیوژ شدند. سوپرناتانت بدست آمده جمع‌آوری شد و سپس به مدت ۵ دقیقه با  $5700$  rpm سانتریفیوژ شد و تا زمان انجام آزمایش‌ها در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. جهت اندازه‌گیری آنزیم‌های گوارشی، دستگاه گوارش لاروها جدا شد و با بافر فسفات (PBS) شسته شد و سپس با سرم فیزیولوژی هموزن گردید و سوپرناتانت آن از طریق سانتریفیوژ به مدت ۱۰ دقیقه با  $5700$  rpm در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، استخراج گردید (Varley, 2005; Henry, 1968; Fereidouni et al., 2015).

مقادیر گلوکز، کلسترول و پروتئین کل با استفاده از کیت‌های آزمایشگاهی (شرکت پارس آزمون، ایران) و دستگاه اسپکتروفتومتری با طول موج ۵۴۶ نانومتر اندازه‌گیری شدند. آنزیم‌های گوارشی (آمیلاز، لیپاز و

افزایش یافت ( $p < 0.05$ )، اما در مورد آنزیم های لیپاز و آمیلاز، تنها در تیمارهای  $T_2$  و  $T_3$  به طور معنی داری تحت تأثیر اسانس گیاه سیر قرار گرفتند ( $p < 0.05$ ). بالاترین مقادیر آنزیم های آمیلاز (U/mg protein)  $9/11 \pm 0/13$ ، لیپاز ( $2/55 \pm 0/10$  U/mg protein) و پروتئاز ( $4/03 \pm 0/13$  U/mg protein) در ماهیان تغذیه شده با جیره غذایی حاوی  $0/20$  گرم اسانس سیر در هر کیلوگرم جیره غذایی مشاهده گردید و اختلاف معنی داری در بین تیمارهای  $T_2$  و  $T_3$  به لحاظ مقدار آنزیم پروتئاز وجود نداشت (جدول ۳).

میزان گلوکز و کلسترول در تیمار حاوی بالاترین دوز اسانس سیر می باشد و دارای اختلاف معنی داری با گروه شاهد و سایر تیمارهای آزمایشی می باشد ( $p < 0.05$ ) و این در حالی است که بیشترین میزان پروتئین کل در تیمارهای  $T_2$  و  $T_3$  اندازه گیری شد که دارای اختلاف معنی داری با گروه شاهد و تیمار  $T_1$  می باشند ( $p < 0.05$ ). بر طبق اطلاعات ارائه شده در جدول (۳)، مقدار آنزیم پروتئاز در تمامی ماهیان تغذیه شده با تیمارهای آزمایشی

جدول ۱: میانگین شاخص های رشد در پایان دوره آزمایش ماهی زبرا تغذیه شده با اسانس گیاه سیر

**Table 1: The average amounts of growth indices of Zebrafish fed with garlic essential oil at the end of the experiment**

تیمارها	درصد بازماندگی (SR)	ضریب تبدیل غذایی (FCR)	نرخ رشد ویژه (SGR)	شاخص وضعیت (CF)
شاهد ( $T_0$ )	$87/35 \pm 1/1^a$	$2/90 \pm 0/1^c$	$1/07 \pm 0/03^a$	$2/07 \pm 0/04^a$
جیره حاوی $0/10$ گرم اسانس گیاه سیر ( $T_1$ )	$96/02 \pm 1/0^b$	$1/83 \pm 0/1^b$	$1/15 \pm 0/01^b$	$2/49 \pm 0/09^b$
جیره حاوی $0/15$ گرم اسانس گیاه سیر ( $T_2$ )	$97/04 \pm 1/2^b$	$1/20 \pm 0/2^a$	$1/19 \pm 0/01^b$	$3/30 \pm 0/03^c$
جیره حاوی $0/20$ گرم اسانس گیاه سیر ( $T_3$ )	$99/01 \pm 1/2^b$	$1/07 \pm 0/03^a$	$1/32 \pm 0/02^c$	$3/39 \pm 0/03^c$

SR: Survival Rate; FCR: Food Conversion Rate; SGR: Specific Growth Rate; CF: Condition Factor

اعداد به صورت میانگین  $\pm$  خطای استاندارد بیان شده اند. حروف متفاوت در هر ستون بیانگر وجود اختلاف معنی دار می باشند ( $p < 0.05$ ).

جدول ۲: میانگین شاخص های بیوشیمیایی خون ماهی زبرا دانیو (*D. rerio*) تغذیه شده با اسانس گیاه سیر

**Table 2: The average amounts of blood biochemical parameters of Zebrafish (*D. rerio*) fed with garlic essential oil**

پارامتر	شاهد ( $T_0$ )	جیره حاوی $0/10$ گرم اسانس سیر ( $T_1$ )	جیره حاوی $0/15$ گرم اسانس سیر ( $T_2$ )	جیره حاوی $0/20$ گرم اسانس سیر ( $T_3$ )
گلوکز (mg/dl)	$25/23 \pm 0/09^c$	$23/11 \pm 0/07^{bc}$	$21/52 \pm 0/06^b$	$18/35 \pm 0/08^a$
کلسترول (mg/dl)	$13/87 \pm 0/03^d$	$5/81 \pm 0/02^c$	$4/42 \pm 0/02^b$	$3/55 \pm 0/06^a$
پروتئین کل (g/dl)	$1/10 \pm 0/06^c$	$1/32 \pm 0/08^b$	$1/81 \pm 0/06^a$	$2/51 \pm 0/09^a$

اعداد به صورت میانگین  $\pm$  خطای استاندارد بیان شده اند. حروف متفاوت در هر ردیف بیانگر وجود اختلاف معنی دار می باشند ( $p < 0.05$ ).

جدول ۳: میانگین آنزیم های گوارشی در ماهی زبرا دانیو (*D. rerio*) تغذیه شده با اسانس گیاه سیر

**Table 3: The average amounts of digestive enzymes of Zebrafish (*D. rerio*) fed with garlic essential oil**

پارامتر	شاهد ( $T_0$ )	جیره حاوی $0/10$ گرم اسانس گیاه سیر ( $T_1$ )	جیره حاوی $0/15$ گرم اسانس گیاه سیر ( $T_2$ )	جیره حاوی $0/20$ گرم اسانس گیاه سیر ( $T_3$ )
آمیلاز (U/mg protein)	$5/95 \pm 0/17^a$	$6/13 \pm 0/14^a$	$8/09 \pm 0/11^b$	$9/11 \pm 0/13^c$
لیپاز (U/mg protein)	$1/22 \pm 0/11^a$	$1/50 \pm 0/10^{ab}$	$2/06 \pm 0/12^b$	$2/55 \pm 0/10^c$
پروتئاز (U/mg protein)	$3/01 \pm 0/10^a$	$3/52 \pm 0/14^b$	$3/81 \pm 0/11^{bc}$	$4/03 \pm 0/10^c$

اعداد به صورت میانگین  $\pm$  خطای استاندارد بیان شده اند. حروف متفاوت در هر ردیف بیانگر وجود اختلاف معنی دار می باشند ( $p < 0.05$ ).

## بحث

مورد استفاده و طول دوره آزمایش بیان نمود. محققین کاهش سطوح گلوکز و کلسترول خون را به وجود اس-آلیل سیستئین سولفوکسید<sup>۱</sup> موجود در گیاه سیر نسبت داده‌اند (Vazquez-Prieto *et al.*, 2011; Ademiluyi *et al.*, 2013). بر طبق نتایج حاصل از بررسی شاخص‌های بیوشیمیایی خون در تحقیق حاضر، میزان پروتئین کل خون در تیمارهای تغذیه شده با اسانس سیر به طور معنی‌داری افزایش و میزان گلوکز خون به صورت معنی‌داری نسبت به گروه شاهد کاهش یافت ( $p < 0.05$ ). پروتئین کل پلاسما در ماهی روهو (*Labeo ruhu*) پس از ۶۰ روز تغذیه با گیاه سیر در مقایسه با گروه شاهد افزایش یافت ( $p < 0.05$ ). همچنین Lee و همکاران (۲۰۱۲) کاهش گلوکز خون را در ماهی استرلیاد (*Acipenser ruthensis*) پس از تغذیه با جیره غذایی حاوی ۰/۵ درصد سیر در مقایسه با گروه شاهد گزارش نمودند. بعلاوه، Wu و همکاران (۲۰۰۷) نیز در تطابق با یافته‌های تحقیق حاضر، کاهش گلوکز و افزایش سطوح پروتئین کل و کلسترول را در ماهی کپور (*Cyprinus carpio*) مشاهده نمودند. نتایج بررسی فعالیت آنزیم‌های گوارشی در تحقیق حاضر حاکی از افزایش آنها در ماهیان تغذیه شده با جیره‌های غذایی آزمایشی بود ( $p < 0.05$ ). در تطابق با یافته‌های تحقیق حاضر، Fereidouni و همکاران (۲۰۱۵) با مطالعه بر ماهی کفال (*M. cephalus*) تأثیر مثبت گیاه سیر را بر آنزیم‌های گوارشی مشاهده کردند. با توجه به بررسی‌های انجام شده در تحقیق حاضر مشخص گردید که افزودن ۰/۲۰ گرم اسانس سیر در هر کیلوگرم جیره غذایی ماهی زبرا دانیو (*Danio rerio*) که یکی از مهمترین ماهیان جهت انجام کارهای تحقیقاتی محسوب می‌شود، می‌تواند از طریق افزایش رشد، بقاء و سلامتی سبب بهبود شاخص‌های رشد و پارامترهای خون شناسی گردد و از این طریق کمک شایانی به حفظ و بازسازی ذخایر کپور ماهیان گردد. هرچند به بررسی‌های دقیق‌تر در این زمینه از جمله بررسی دوزهای متفاوت و آزمایش‌های مربوط به بیان ژن‌های مؤثر بر رشد و ایمنی نیز نیاز است.

بر طبق نتایج تحقیق حاضر، بالاترین درصد بازماندگی، نرخ رشد ویژه و شاخص وضعیت (ضریب چاقی) و بهترین ضریب تبدیل غذایی ماهیان در جیره‌های حاوی اسانس مشاهده گردید (جدول ۱) که با نتایج حاصل از مطالعات Shalaby و همکاران (۲۰۰۶) مطابقت دارد. Shalaby و همکاران (۲۰۰۶) اعلام کردند که میزان وزن نهایی، وزن بدست آمده و نرخ رشد ویژه در ماهی تیلاپپای نیل (*Oreochromis niloticus*) در تیمارهای حاوی سیر به صورت معنی‌داری نسبت به گروه شاهد افزایش یافته است. همچنین در پژوهشی دیگر گزارش گردید که سیر می‌تواند اثر مثبت بر رشد و نرخ ضریب رشد ماهی تیلاپپای نیل (*O. niloticus*) داشته باشد (Abou-Zeid, 2002) که با نتایج تحقیق حاضر همخوانی دارد. علت این افزایش رشد را می‌توان به علت وجود ترکیبات مغذی در گیاه سیر عنوان نمود. سایر محققین بیان کردند که با افزایش دوز سیر (۲/۵ گرم سیر در هر کیلوگرم غذای ماهی) در جیره غذایی ماهی تیلاپپای نیل (*O. niloticus*) نرخ رشد افزایش یافت (Diab *et al.*, 2002). همچنین Dadgar و همکاران (۲۰۱۸) گزارش کردند که افزودن پودر سیر به جیره غذایی ماهی (*Carassius auratus*) می‌تواند ۰/۵ درصد نرخ رشد را افزایش دهد. افزودن ۱ درصد پودر سیر خام، شاخص‌های رشد و درصد بازماندگی را در میگوی پا سفید (*Litopenaeus vannamei*) را به طور معنی‌داری افزایش می‌دهد (گل آقایی و همکاران، ۱۳۹۵). در تحقیق حاضر، ضریب تبدیل غذایی با افزایش اسانس سیر در جیره غذایی کاهش یافت که این نتایج با نتایج بدست آمده توسط Shalaby و همکاران (۲۰۰۶) در ماهی تیلاپپای نیل که با افزایش میزان سیر در جیره غذایی، میزان ضریب تبدیل غذایی آن نیز کاهش یافت، همخوانی دارد. ولیکن Ndong و Fall (۲۰۱۱) اظهار داشتند که مقادیر مختلف گیاه سیر در جیره غذایی بچه ماهیان هیبرید تیلاپپا، تأثیری بر افزایش رشد آنها نداشت که با نتایج بدست آمده از تحقیق حاضر همخوانی ندارد که علت این امر را می‌توان متفاوت بودن گونه ماهی، غلظت‌های

<sup>۱</sup> S-allylcysteine sulfoxide

- auratus* fingerlings. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 18 (1): 71-82. DOI: 10.22092/IJFS.2018.117478
- Diab, M. S., El-Nagar, G.o. and Hady, Y. M., 2002.** Evaluation of *Nigella sativa*, *Allium sativum* (garlic) and Biogen as feed additives on growth performance and immunostimulants of *O. niloticus* fingerlings. *Suez Canal Veterinary Medicine Journal*, 2: 745-775.
- Fereidouni, M.S., Akbary, P. and Soltanian, S., 2015.** Survival Rate and Biochemical Parameters in *Mugil cephalus* (Linnaeus, 1758) Larvae Fed Garlic (*Allium sativum* L.) Extract. *American Journal of Molecular Biology*, 5(1): 7-15. DOI: 10.4236/ajmb.2015.51002
- Henry, R.J., 1968.** Clinical chemistry: principles and techniques. Harper and Row, New York, USA. 782p.
- Lawrence, C., 2011.** Advances in zebra fish husbandry and management. *Methods in Cell Biology*, 104: 429-451. DOI: 10.1016/B978-0-12-374814-0.00023-9
- Lee, D.H., Lim, S.R., Han, J.J., Lee, S.W., Ra, C.S. and Kim, J.D., 2012.** Effects of dietary garlic powder on growth, feed utilization and whole body composition changes in fingerling sterlet sturgeon, *Acipenser ruthenus*. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 25(4): 577-583. DOI: 10.5713/ajas.2014.14087
- Lieschke, G.J. and Currie, P.D., 2007.** Animal models of human disease: zebrafish swim into view. *Nature Reviews. Genetic*, 8(5): 353-367. DOI: 10.1038/nrg2091
- 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 (*Litopenaeus vannamei*) پرورش یافته با آب دریای خزر. *مجله علمی شیلات ایران*، ۲۵ (۲): ۱۵۰-۱۴۳.
- Abou-Zeid, S.M., 2002.** The effects of some medical plants in reproductive and productive performance of Nile tilapia fish. Dissertation, Cairo University.
- Ademiluyi, A.O., Obboh, G., Owoloye, T.R. and Agbebi, O.J., 2013.** Modulatory effects of dietary inclusion of garlic (*Allium sativum*) on gentamycin-induced hepatotoxicity and oxidative stress in rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 3(6): 470-475. DOI: 10.1016/S2221-1691(13)60098-2
- AOAC, 2005.** Official methods of analysis. Association of official analytical chemists, INC., Arlington, Virginia, USA. 245P.
- Barros, T.P., Alderton, W.K., Reynolds, H.M., Roach, A.G. and Berghmans, S., 2008.** Zebrafish: an emerging technology for in vivo pharmacological assessment to identify potential safety liabilities in early drug discovery. *British Journal of Pharmacology*, 154(7): 1400-1413. DOI: 10.1038/bjp.2008.249
- Bernfeld, P., 1951.** Amylase a and b in methods in enzymes. Academic Press, New York, 480p.
- Dadgar, S., Seidgar, M., Nekuiefard, A., Valipour, A.R., Sharifian, M. and Hafezieh, M., 2018.** Oral administration of garlic powder (*Allium sativum*) on growth performance and survival rate of *Carassius*

- Ndong, D. and Fall, J., 2011.** The effect of garlic (*Allium sativum*) on growth and immune responses of hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* x *Oreochromis aureus*). *Journal of Clinical Immunology and Immunopathology Research*, 3(1): 1-9.
- Pourmozaffar, S., Hajimoradloo, A. and Kolangi Miandare, H., 2017.** Dietary effect of apple cider vinegar and propionic acid on immune related transcriptional responses and growth performance in white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Fish and Shellfish Immunology*, 60: 65-71. DOI: 10.1016/j.fsi.2016.11.030
- Shalaby, A.M., Khattab, Y.A. and Abdel Rahman, A., 2006.** Effect of garlic (*Allium sativum*) and chloramphenicol on growth performance, physiological parameter and survival of Nile tilapia. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*, 12: 172-201. DOI: 10.1590/S1678-91992006000200003
- Sivaram, V., Babu, M.M., Citarasu, T., Immanuel, G., Murugadass, S. and Marian, M.P., 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(1-4): 9-20. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2004.03.014
- Varley, H., 2005.** Practical Clinical Biochemistry. 4th Edition. CBS Publishers and Distributors, Delhi, India. 802p.
- Vazquez-Prieto, M.A., Lanzi, C.R., Lembo, C., Galmarini, C.R. and Miatello, R.M., 2011.** Garlic and onion attenuates vascular inflammation and oxidative stress in fructose-fed rats. *Journal of Nutrition and Metabolism*. Available at DOI: 10.1155/2011/475216.
- Worthington, C.C., 1991.** Worthington enzyme manual, enzymes, enzyme reagents, related biochemicals. Worthington Biochemical Corporation, New Jersey, USA. 375P.
- Wu, G., Yuan, C., Shen, M., Tang, J., Gong, Y., Li, D., Sun, F., Huang, C. and Han, X., 2007.** Immunological and biochemical parameters in carp (*Cyprinus carpio*) after Qompsell feed ingredients for long-term administration. *Aquaculture Research*, 38(3): 246-255. DOI: 10.1111/j.1365-2109.2007.01660.x





## Effects of garlic (*Allium sativum*) on growth indices and survival rate, some blood biochemical parameters and digestive enzymes of zebrafish (*Danio rerio*)

Matinfar A.,<sup>1\*</sup> Enayat Gholampour T.,<sup>2</sup> Shabani Kakroodi S.,<sup>3</sup> Fadaee Raienee M.<sup>2</sup>

\*  
a\_matinfar@hotmail.com

1-Iranian Fisheries Science Research Institute (IFSRI), Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran.

2-Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, 49176-75469, Gorgan, Iran

3- Institute of Bioscience and Biotechnology, UPM, Kuala Lumpur, Malaysia

### Abstract

The aims of the present study were to investigate the effects of garlic at four levels including 0 (T<sub>0</sub>), 0.10 (T<sub>1</sub>), 0.15 (T<sub>2</sub>) and 0.20 (T<sub>3</sub>) gram of garlic essential oil per kilogram of diet on growth indices and survival rate, some blood biochemical parameters and digestive enzymes of zebrafish (*Danio rerio*). The larvae were fed from the time of their first active feeding with experimental diets for 60 days. Results showed that the growth indices and survival rates of all groups fed with experimental diets containing garlic were significantly increased as compared to the control group ( $p < 0.05$ ). According to the results, the lowest amounts of glucose ( $18.35 \pm 0.08$  mg/dl) and cholesterol ( $3.55 \pm 0.06$  mg/dl) were observed in the T<sub>3</sub> group as compared to the other experimental groups and the control group ( $p < 0.05$ ) whereas, the highest amounts of total protein ( $2.51 \pm 0.09$  g/dl) were measured in the T<sub>2</sub> and T<sub>3</sub> groups that were significantly different from the control and T<sub>1</sub> groups ( $p < 0.05$ ). Protease enzyme levels were increased in all groups fed with experimental diets containing garlic ( $p < 0.05$ ), but levels of lipase and amylase enzymes were significantly influenced by garlic only in the T<sub>2</sub> and T<sub>3</sub> groups ( $p < 0.05$ ). The highest levels of amylase ( $9.11 \pm 0.13$  U/mg protein), lipase ( $2.55 \pm 0.10$  U/mg protein) and protease enzymes ( $4.03 \pm 0.10$  U/mg protein) were observed in the T<sub>3</sub> group. There was no significant differences between the levels of protease enzyme in the T<sub>2</sub> and T<sub>3</sub> groups ( $p > 0.05$ ). According to the results of the present study, dietary supplementation of garlic had positive effects on improving the general condition, growth indices and activity of digestive enzymes of zebrafish.

**Keywords:** *Allium sativum*, *Danio rerio*, Growth indices, Biochemical parameters, Digestive enzymes

---

\*Corresponding author