

مطالعهٔ پروفایل هماتولوژی و بیوشیمی سرم قزل آلاهی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) تغذیه شده با ایمونوژن

- ❖ **پیمان یاراحمدی:** دانشجوی کارشناسی ارشد گروه شیلات و محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، ایران
- ❖ **حمید فرحمنده:** دانشیار گروه شیلات و محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، ایران
- ❖ **حامد کلنگی میاندره:** استادیار گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران
- ❖ **علیرضا میرواقفی:** دانشیار گروه شیلات و محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، ایران

چکیده

امروزه پرپروتیک‌ها در نقش مکمل‌های غذایی غیر قابل هضم که سلامت گونهٔ میزبان را بهبود می‌دهند، جایگزین داروها و مواد شیمیایی شده‌اند، بنابراین آزمایش اخیر با هدف بررسی اثر ۰/۲ درصد پرپروتیک ایمونوژن در جیره به مدت ۷ هفته در برخی پارامترهای هماتولوژی و پروفایل بیوشیمی سرم قزل آلاهی رنگین کمان با میانگین وزنی $81/65 \pm 1/45$ گرم انجام گرفت. ۱۲۰ ماهی پس از دورهٔ آدآپتاسیون به مدت ۱۰ روز در ۶ عدد تانک فایبرگلاس ۱۰۰۰ لیتری به طور تصادفی تقسیم شدند. ۲ جیرهٔ غذایی با سطوح انرژی و نیتروژن یکسان با ۲ سطح مختلف پرپروتیک ایمونوژن (۰/۰ و ۰/۲ درصد به پیشنهاد کمپانی ICC) آماده شد. غذادهی روزانه در ساعت ۹ و ۱۷ به میزان ۲ درصد وزن بدن انجام می‌شد. در پایان دورهٔ آزمایش از ۳ عدد ماهی به ظاهر سالم در هر تکرار خونگیری به عمل آمد. در خصوص فاکتورهای هماتولوژی مشاهده شد که بین گروه‌ها تعداد کل گلبول قرمز، هموگلوبین، MCV، MCH و MCHC هیچ اختلاف معناداری وجود نداشت ($P > 0/05$)، اما در گروه تغذیه شده با پرپروتیک ایمونوژن تعداد کل لکوسیت‌ها و درصد هماتوکریت به شکل معناداری در مقایسه با گروه شاهد افزایش یافته بود ($P < 0/05$). در خصوص پارامترهای بیوشیمی سرم مشخص شد که در گروه تغذیه شده با پرپروتیک ایمونوژن سطح گلوکز به شکل معناداری افزایش یافته بود ($P < 0/05$). سطح تری‌گلیسیرید و پروتئین کل تفاوت معناداری نداشت، اما سطح کلسترول به شکل معناداری کاهش یافته بود ($P < 0/05$). در خصوص آنزیم‌های آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آسپارات آمینوترانسفراز (AST)، لاکتات دهیدروژناز (LDH) و آلکالین فسفاتاز (ALP) سنجش شده در سرم بین ۲ گروه هیچ تفاوتی مشاهده نشد ($P > 0/05$).

واژگان کلیدی: ایمونوژن، پارامترهای بیوشیمی سرم، پرپروتیک، قزل آلاهی رنگین کمان، هماتولوژی.

۱. مقدمه

امروزه کمبود منابع آبی سبب شده است که روش‌های پرورش متراکم جایگزین غیرمتراکم و سنتی در آبی‌پروری شوند (Denev et al., 2009). پرورش آبیان به صورت متراکم، به دنبال افزایش استرس در گونه‌های آبی مشکلاتی از قبیل شیوع بیماری و اختلالات فیزیولوژیک را به وجود می‌آورد (North et al., 2006). اولین و رایج‌ترین راه برای مقابله با بیماری‌ها استفاده از داروها و مواد شیمیایی است که استفاده از داروها و آنتی‌بیوتیک‌ها مشکلاتی از قبیل ایجاد سویه‌های باکتریایی مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها، باقی ماندن این داروها و مواد شیمیایی در بافت ماهیان و انتقال به انسان و خطرهای زیست‌محیطی را به دنبال دارد (Austin and Austin, 2007). به همین دلیل در دهه‌های اخیر در صنعت آبی‌پروری به جای استفاده از داروها و آنتی‌بیوتیک‌ها از مکمل‌های غذایی استفاده می‌شود که از این دسته می‌توان پروبیوتیک‌ها و پریبیوتیک‌ها را نام برد که محرک رشد، ایمنی و سلامت به شمار می‌روند (Cerezuela et al., 2008; Merrifield et al., 2010).

پریبیوتیک‌ها ترکیبات کربوهیدراتی غیر قابل هضم و قابل تخمیری به شمار می‌روند که به صورت انتخابی رشد و متابولیسم یک گونه یا گونه‌های محدودی از باکتری‌های دستگاه گوارش میزبان را که این‌ها نیز به نوبه خود محرک سلامت میزبان‌اند تحریک می‌کنند (Gibson et al., 2004). پریبیوتیک تجاری ایمونوژن شامل مواد محرکی است که قسمت عمده آن را مانان الیگو ساکارید (۱۸ درصد) و بتا گلوکان (۳۰ درصد) تشکیل داده است که این‌ها خود

مواد به دست آمده از مخمر ساکارومایسیز سرویزیه (*Saccharomyces cerevisiae*) به شمار می‌روند (Ebrahimi et al., 2012).

Dimitroglou و همکاران (۲۰۰۹) نشان داده‌اند که پریبیوتیک مانان الیگو ساکارید سبب بهبود سطح جذب در روده قزل‌آلای رنگین‌کمان نابالغ شده است. در مطالعه‌ای دیگر به دنبال استفاده ۰/۲ درصد مانان الیگو ساکارید بهبود رشد و پارامترهای ایمنی از جمله فعالیت لایوزایم، مسیر فرعی کمپلمان و مسیر کلاسیک کمپلمان در قزل‌آلای رنگین‌کمان در محیط کانال‌های جریان‌دار و قفس مشاهده شد (Staykov et al., 2007). مطالعات انجام شده در خصوص پریبیوتیک تجاری ایمونوژن نشان داده‌اند که ایمونوژن موجب بهبود رشد و پارامترهای هماتولوژی کپور معمولی *Cyprinus carpio* (Ebrahimi et al., 2012) و بهبود رشد ماهی سفید *Rutilus frisii kutum* (Ebrahimi, 2010) شده است. همچنین، در مطالعه‌ای دیگر مشخص شد ایمونوژن در سطح ۰/۲ درصد سبب افزایش سطح ایمنی قزل‌آلای رنگین‌کمان شده است، به شکلی که سطح بیان ژن لایوزایم، TNF و فعالیت لایوزایم سرم، کمپلمان، عیار تیترا آنتی بادی و قدرت باکتری‌کشی سرم پس از ۴۵ روز غذادهی افزایش یافت (Yar Ahmadi et al., 2014). پارامترهای هماتولوژی و پروفایل بیوشیمی سرم قزل‌آلای رنگین‌کمان ایزاری ارزشمند برای بررسی وضعیت فیزیولوژیک، استرسی، متابولیسم، شیوع بیماری و سلامت گونه آبی به شمار می‌روند (Tukmechi et al., 2011; Stoskopf, 1993).

مطالعات نشان داده است آنزیم‌های آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آسپارات آمینوترانسفراز

۲. مواد و روش‌ها

۱.۲. ماهی و غذادهی

برای انجام این آزمایش ۱۲۰ عدد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان سالم با میانگین وزنی $81/65 \pm 1/45$ گرم از مزرعهٔ ماهی‌سرای کرج تهیه و به آزمایشگاه بهداشت و بیماری‌های آبزیان گروه شیلات دانشگاه تهران انتقال داده شدند. سپس، با گذشت دورهٔ آدپتاسیون به مدت ۱۰ روز در ۶ عدد تانک فایبرگلاس ۱۰۰۰ لیتری به طور تصادفی پخش شدند. دمای آب روزانه اندازه‌گیری و ثبت می‌شد ($17/1 \pm 0/9$). ۲ جیرهٔ غذایی با سطوح انرژی و نیتروژن یکسان با ۲ سطح مختلف پربیوتیک ایمونوژن ($0/2$ و $0/0$) درصد به پیشنهاد کمپانی (ICC) آماده شد. غذادهی به میزان ۲ درصد وزن بدن در ساعت ۹ و ۱۷ انجام شد.

(AST)، لاکتات دهیدروژناز (LDH) و آلکالین فسفاتاز (ALP) که وضعیت آن‌ها در سرم شاخصی برای پایش وضعیت سلامت و عملکرد بهینهٔ کبد در موجودات است (Martin and Okolie, 2012; Shahsavani et al., 2010)، می‌توانند به شکل مؤثری تحت تأثیر متابولیت‌های حاصل از تخمیر پربیوتیک‌ها از جمله اسیدهای چرب زنجیرهٔ کوتاه که از طریق خون از روده به کبد انتقال داده می‌شوند، قرار گیرند (Demigné and Rémésy 1985).

با وجود این، اطلاعاتی در خصوص اثر ایمونوژن در پروفایل هماتولوژی و بیوشیمی سرم قزل‌آلای رنگین‌کمان وجود ندارد. بنابراین، هدف از انجام این آزمایش بررسی اثر ایمونوژن در پروفایل هماتولوژی و بیوشیمی سرم قزل‌آلای رنگین‌کمان است که می‌تواند به‌منزلهٔ پایه و مبنایی برای مطالعات بعدی استفاده شود.

جدول ۱. اجزای غذایی و ترکیب تقریبی جیرهٔ استفاده‌شده در این آزمایش

| اجزای غذایی | نسبت اجزا (گرم در هر کیلوگرم) |
|--------------------------|-------------------------------|
| آرد ماهی | ۴۵۵ |
| آرد سویا | ۱۸۰ |
| نشاسته ذرت | ۲۱۳ |
| روغن سویا | ۴۸/۸ |
| روغن ماهی | ۲۳/۱ |
| مکمل معدنی | ۳۰ |
| مکمل ویتامینی | ۳۰ |
| CMC | ۲۰ |
| ترکیب تقریبی جیرهٔ غذایی | |
| پروتئین خام | ۴۵۳/۲ |
| چربی خام | ۹۱/۴ |
| خاکستر | ۱۱۰/۲ |
| فیبر | ۲/۲ |
| انرژی خام (Mj/kg) | ۲۰/۷۱ |

۳.۲. سنجش پارامترهای هماتولوژی

کل گلبول‌های سفید (WBC) و قرمز (RBC) از طریق لام نئوبار و میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی ۴۰۰ پس از رقیق‌سازی خون به وسیله بافر فسفات نمکی شمارش شدند. برای اندازه‌گیری هماتوکریت (Hct) از لوله‌های موین هماتوکریت و دستگاه سانتریفیوژ هماتوکریت استفاده شد. میزان حجم متوسط گلبولی (MCV)، هموگلوبین متوسط گلبولی (MCH) و غلظت متوسط هموگلوبین گلبول‌های قرمز (MCHC) از طریق فرمول محاسبه شدند (Asadi et al., 2012).

$$MCV = (Hct \times 1000) / RBC (10^6 \text{ mm}^{-3})$$

$$MCH = Hb(\text{gdl}^{-1}) / RBC (10^6 \text{ mm}^{-3})$$

$$MCHC = Hb / Hct$$

۴.۲. سنجش پارامترهای بیوشیمی سرم

پارامترهای بیوشیمی سرم از قبیل گلوکز به روش گلوکز اکسیداز و تری گلیسیرید، کلسترول به روش کلسترول اکسیداز و پروتئین کل بر اساس روش بیوره از طریق کیت‌های تجاری شرکت پارس آزمون و یک دستگاه اسپکتوفتومتر بر اساس پروتکل شرکت اندازه‌گیری شدند.

برای سنجش آنزیم‌های سرم شامل لاکتات دی هیدروژناز (LDH)، آلکالین فسفاتاز (ALP)، آلانین آمینو ترانسفراز (ALT) و آسپاراتات آمینو ترانسفراز (AST) از کیت‌های تجاری شرکت پارس آزمون استفاده و اندازه‌گیری نیز بر اساس پروتکل شرکت انجام شد (Shahsavani et al., 2010).

۵.۲. تجزیه و تحلیل داده‌ها

برای مقایسه و تأیید اختلاف معنی‌دار بین تیمارها از

برای تهیه جیره همه اجزای خشک غذا با میکسر مخلوط شدند سپس، روغن ماهی و در نهایت ۲۰ درصد آب مقطر به آن‌ها افزوده شد. پس از آن برای ایجاد پلیت از چرخ گوشت با قطر چشمه ۶ میلی‌متر استفاده شد. برای خشک‌کردن پلیت‌ها از آون با دمای ۷۰ درجه سلسیوس استفاده شد سپس، نمونه‌ها در یخچال ۲۰- درجه تا زمان استفاده نگه‌داری شدند. ترکیبات تقریبی جیره غذایی در جدول ۱ نشان داده شده است.

۲.۲. نمونه برداری

در پایان دوره آزمایش برای خونگیری به منظور سنجش پارامترهای هماتولوژی و پروفایل بیوشیمی سرم ۳ عدد ماهی از هر تکرار به شکل تصادفی انتخاب شد. ماهیان ۲۴ ساعت قبل از نمونه‌برداری برای جلوگیری از بروز استرس گرسنه نگه داشته شدند. سپس، در زمان خونگیری از طریق پودر گل میخک با دوز ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر بیهوش شدند. برای خونگیری ابتدا سطح بدن ماهی خشک و خونگیری با سرنگ‌های تزریقی از قسمت زیرین ساقه دمی انجام شد و به تیوپ‌های هپارینه برای سنجش فاکتورهای هماتولوژی و غیرهپارینه برای جداسازی سرم و سنجش فاکتورهای بیوشیمی سرم انتقال یافت. برای جداسازی سرم تیوپ‌های حاوی خون بدون هپارین به مدت ۲۴ ساعت در یخچال با دمای ۴ درجه سلسیوس نگه‌داری و پس از ته‌نشین شدن لخته با دور rpm ۵۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. در نهایت سرم از لخته جدا و به تیوپ‌های جدید منتقل و تا زمان استفاده در یخچال ۸۰- درجه نگه‌داری شد.

MCH و MCHC تأثیر معناداری نداشته است ($P > 0.05$).

نتایج تأثیر سطح ۰/۲ درصد ایمونوزن جیرهٔ غذایی در برخی از پارامترهای بیوشیمی سرم قزل‌آلای رنگین‌کمان در جدول ۳ نشان داده شده است. نتایج افزایش معنادار در سطح گلوکز خون در گروه تغذیه‌شده با ۰/۲ درصد ایمونوزن پس از ۷ هفته غذادهی را نشان می‌دهد ($P < 0.05$). در خصوص کلسترول سرم مشاهده شد که سطح کلسترول در گروه تیمار نسبت به گروه شاهد دارای کاهش معنادار بوده است ($P < 0.05$). نتایج نشان می‌دهد که سطح ۰/۲ درصد ایمونوزن در میزان تری‌گلیسیرید و پروتئین کل سرم تأثیر معناداری نداشته و بین گروه تغذیه‌شده با ایمونوزن و گروه کنترل تفاوت معنادار مشاهده نشده است ($P > 0.05$).

سطح احتمال ۰/۰۵ ($P < 0.05$) و آزمون T-test استفاده شد. تحلیل‌های آماری این آزمایش با استفاده از نرم‌افزار SPSS (نسخهٔ ۱۶) انجام شد.

۳. نتایج

نتایج بررسی اثر ایمونوزن در پارامترهای هماتولوژی قزل‌آلای رنگین‌کمان در جدول ۲ نشان داده شده است. نتایج نشان می‌دهد که پس از ۷ هفته غذادهی تعداد کل گلبول‌های سفید (WBC) و درصد هماتوکریت در گروه تغذیه‌شده با ۰/۲ درصد ایمونوزن به ترتیب $4/28 \pm 0/31 \times 10^4$ و $3/21 \pm 0/34 \times 10^4$ نسبت به گروه شاهد $44/16 \pm 1/25$ و $39/5 \pm 1/50$ به شکل معناداری در سطح بالاتری قرار داشت ($P < 0.05$). نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که سطح ۰/۲ درصد ایمونوزن در تعداد کل گلبول‌های قرمز (RBC) و میزان هموگلوبین، MCV،

جدول ۲. جدول آنالیز برخی از پارامترهای هماتولوژی قزل‌آلای رنگین‌کمان ($P < 0.05$) تحت تأثیر پریوتیک تجاری ایمونوزن در سطح ۲ گرم در کیلوگرم پس از مدت زمان ۷ هفته ($n=3$)

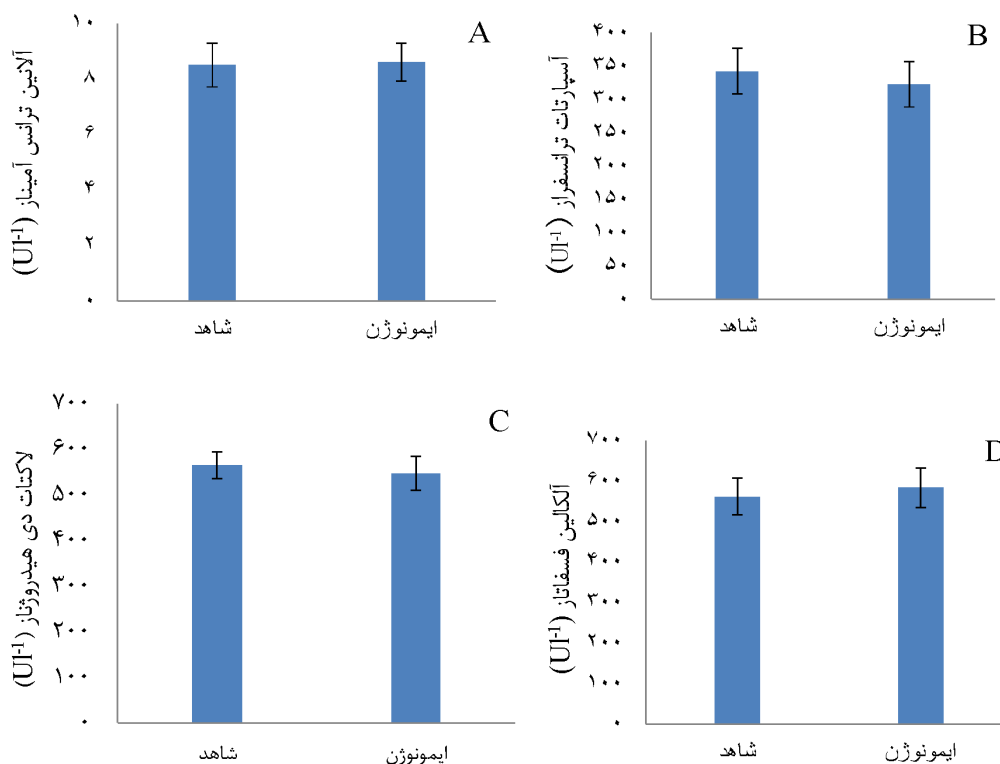
| احتمالات | | ایمونوزن | شاهد | پارامتر |
|----------|-------|--------------------|--------------------|---|
| F | P | | | |
| ۰/۸۷۱ | ۰/۱۸۱ | $1/69 \pm 0/20^a$ | $1/45 \pm 0/13^a$ | گلبول‌های قرمز (10^6 mm^{-3}) |
| ۰/۰۲۱ | ۰/۰۱۷ | $4/28 \pm 0/31^b$ | $3/21 \pm 0/34^a$ | گلبول سفید (10^4 mm^{-3}) |
| ۰/۰۲۰ | ۰/۲۰۶ | $11/16 \pm 0/64^a$ | $10/23 \pm 0/75^a$ | هموگلوبین (gdl^{-1}) |
| ۰/۰۳۲ | ۰/۰۱۵ | $44/16 \pm 1/25^b$ | $39/5 \pm 1/50^a$ | هماتوکریت (درصد) |
| ۱/۸۹۶ | ۰/۸۰۴ | $26/45 \pm 4/16^a$ | $27/19 \pm 2/37^a$ | MCV ($\text{mm}^3, 10^{-5}$) |
| ۰/۵۵۶ | ۰/۵۵۲ | $6/62 \pm 0/73^a$ | $7/08 \pm 0/96^a$ | MCH ($\text{pg}, 10^{-5}$) |
| ۰/۰۵۰ | ۰/۷۷۹ | $25/32 \pm 2/43^a$ | $25/97 \pm 2/88^a$ | MCHC (%) |

جدول ۳. بررسی اثر پریبیوتیک تجاری ایمونوژن در سطح ۲ گرم در کیلوگرم روی برخی از پارامترهای بیوشیمی سرم قزل‌آلای رنگین کمان (n=9)

| پارامتر | شاهد | ایمونوژن | احتمالات | |
|--------------|-------------------------|-------------------------|----------|--------|
| | | | F | P |
| گلوکز | ۹۴/۷±۱۸ ^a | ۱۱۷/۱±۱۶/۷ ^b | ۰/۱۴۰ | ۰/۰۱۵ |
| تری گلیسیرید | ۲۳۲/۲±۱۷/۵ ^a | ۲۹۲±۴۵ ^a | ۴/۴۸۱ | ۰/۰۰۲ |
| کلسترول | ۲۵۶/۵±۲۲/۶ ^a | ۲۴۹/۶±۲۱/۲ ^b | ۰/۰۰۲ | ۰/۰۵۱۱ |
| پروتئین کل | ۳/۶±۰/۳ ^a | ۳/۹±۰/۲ ^b | ۰/۱۴۴ | ۰/۰۹۳ |

شکل ۱ تأثیر جیره حاوی ۰/۲ درصد ایمونوژن در برخی از آنزیم‌های سرم در قزل‌آلای رنگین کمان را نشان می‌دهد. نتایج نشان می‌دهد که افزودن ۰/۲ درصد ایمونوژن به جیره در آنزیم‌های ALT (P=۰/۷۹)،

AST (F=۰/۰۶، P=۰/۳۱)، LDH (F=۰/۷۸، P=۰/۴۵) و ALP (F=۰/۱۳، P=۰/۳۳) تأثیر معناداری نداشته است.



شکل ۱. بررسی مقایسه‌ای برخی از آنزیم‌های سرم در گروه دریافت‌کننده ۲ گرم در کیلوگرم پریبیوتیک تجاری ایمونوژن در مقایسه با گروه شاهد (P<۰/۰۵).

۴. بحث

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد میزان ۰/۲ درصد ایمونوزن در جیره پس از ۷ هفته غذایی سبب تغییر در برخی فاکتورهای هماتولوژی و پروفایل بیوشیمی سرم قزل‌آلای رنگین‌کمان شده است، اما در خصوص آنزیم‌های کبدی تحت بررسی در این آزمایش مشاهده شد که در سطح آنزیم‌ها در سرم بین ۲ گروه اختلاف معناداری وجود نداشت.

یکی از شاخصه‌های مفید برای سنجش وضعیت سلامت و فیزیولوژیکی گونهٔ آبی بررسی پارامترهای هماتولوژی است که تحت تأثیر عوامل مختلف از جمله عوامل محیطی، تغذیه، استرس و بیماری سطح این پارامترها تغییر می‌کند (Kumar et al., 2005). بنابراین، پایش فاکتورهای هماتولوژی می‌تواند در خصوص وضعیت سلامت گونهٔ آبی دیدگاهی کلی در اختیار ما قرار دهد. بر اساس نتایج این آزمایش مشخص شد که تعداد کل گلبول سفید و درصد هماتوکریت در گروه تغذیه‌شده با ۰/۲ درصد ایمونوزن به شکل معناداری در سطح بالاتری قرار داشت. پیش‌تر نیز نتایج مشابهی در خصوص افزایش تعداد کل گلبول‌های سفید در کپور معمولی تغذیه‌شده با ایمونوزن به دست آمده است که نتایج مطالعهٔ اخیر را تأیید می‌کند (Ebrahimi et al., 2012). مطالعات کمی در خصوص اثر ایمونوزن در فاکتورهای هماتولوژی ماهیان صورت گرفته است، اما دربارهٔ سایر پریوتیک‌ها Andrews و همکاران (۲۰۰۹) نشان دادند که افزودن مانان الیگو ساکارید به جیرهٔ غذایی گونهٔ *Labeo rohita* در تعداد کل گلبول قرمز و سفید و میزان هموگلوبین افزایش معناداری

داشته است. همچنین، مشخص شده که پریوتیک مانان الیگو ساکارید در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان موجب افزایش ایمنی شده است (Staykov et al., 2007). یکی دیگر از اجزای ایمونوزن بتا گلوکان است که در مطالعهٔ انجام‌شده روی ماهی سفید مشخص شد گلوکان از طریق تأثیر در افزایش تعداد گلبول سفید و قرمز می‌تواند سطح ایمنی غیراختصاصی را افزایش دهد (Rofchaei et al., 2012).

در مطالعاتی که پیش‌تر به انجام رسیده مشخص شده است که فاکتورهای هماتولوژی مانند تعداد کل گلبول قرمز، هماتوکریت و به خصوص تعداد کل گلبول‌های سفید در ارتباط با ایمنی غیراختصاصی‌اند (Tukmechi et al., 2011). در واقع تعداد کل گلبول‌های سفید و نوع آن‌ها از طریق تأثیر در عمل فاگوسیتوز و کمک به تولید آنتی‌بادی‌ها می‌تواند نقش عمده‌ای در بهبود سطح دفاع غیراختصاصی داشته باشد (Sakai, 1999).

در خصوص فاکتورهای بیوشیمی سرم در این آزمایش مشخص شد که سطح گلوکز خون در گروه تغذیه‌شده با ۰/۲ درصد ایمونوزن در مقایسه با گروه شاهد افزایش یافته است. در مطالعهٔ Ahmdifar و همکاران (۲۰۱۱) نیز مشخص شده که سطح گلوکز خون در فیل‌ماهیان تغذیه‌شده با پریوتیک اینولین افزایش یافته است که می‌تواند به علت تغییر در متابولیسم کربوهیدرات‌ها و انجام واکنش گلوکونئوزنیزس باشد. سطح تری‌گلیسیرید سرم بین دو گروه به شکل معناداری اختلاف نداشته، اما سطح کلسترول خون در گروه تغذیه‌شده با ایمونوزن در مقایسه با گروه شاهد به شکل معناداری کاهش یافته

است. در مطالعه Hoseinifar و همکاران (۲۰۱۱) مشخص شده که پریبوتیک الیگو فروکتوز دارای پتانسیلی است که سطح کلسترول خون فیل ماهیان را کاهش می‌دهد. یکی از دلایل کاهش سطح کلسترول سرم در ماهیان تغذیه‌شده با ایمونوزن را می‌توان چنین بیان کرد که به دنبال فرایند تخمیر پریبوتیک‌ها متابولیت‌هایی مانند اسیدهای چرب زنجیره کوتاه در دستگاه گوارش جانوران تک‌معدده‌ای مانند ماهی‌ها تولید و از طریق خون به کبد منتقل می‌شوند و سنتز کلسترول را در کبد تا حدود زیادی کاهش می‌دهند (Sinha et al., 2011). پروتئین کل سرم نیز در این مطالعه در ماهیان تغذیه‌شده با ۰/۲ درصد ایمونوزن نسبت به گروه شاهد تفاوت معناداری نداشته است. بر خلاف نتایج این مطالعه Ebrahimi و همکاران نشان دادند که سطح پروتئین کل سرم در کپور معمولی تغذیه‌شده با سطوح مختلف ایمونوزن افزایش داشته است (Ebrahimi et al., 2012). همچنین، در مطالعه‌ای دیگر که روی فیل ماهیان جوان (*Huso huso*) صورت گرفت مشخص شد که سطح ۱ درصد پریبوتیک اینولین سبب افزایش سطح پروتئین کل سرم شد (Akrami et al., 2011). پروتئین سرم از مهم‌ترین ترکیباتی است که در سرم وجود دارد و تحت تأثیر رژیم‌ها و مکمل‌های غذایی سطح آن تغییر می‌کند و به‌منزله یکی از شاخص‌های ایمنی غیراختصاصی همورال و سلامت گونه آبری به شمار می‌آید. علت اختلاف بین نتایج مطالعات مختلف می‌تواند در ارتباط با اختلاف بیولوژی و وضعیت فیزیولوژیک گونه‌های متفاوت باشد (Kumar et al., 2005).

منشأ سنتز و فعالیت آنزیم‌های ALT، LDH،

AST و ALP کبد است و در مواقع بیماری یا تخریب بافتی مشخص شده که سطح این آنزیم‌ها در سرم افزایش می‌یابد. با این توصیف می‌توان گفت سطح آنزیم‌های ذکرشده در سرم در ارتباط با وضعیت سلامتی و فعالیت کبد است (Martin and Okolie, 2012). گزارش‌های مختلفی در خصوص افزایش سطح این آنزیم‌ها در سرم ماهیان مواجهه‌شده با آلودگی‌ها و بیماری‌های مختلف وجود دارد، برای مثال، قزل‌آلای رنگین‌کمان مواجهه‌شده با سموم و آلودگی باکتریایی افزایش سطح LDH را به دنبال داشته است (Racicot et al., 1975). همچنین، مشاهده شده است که سطح این آنزیم‌ها در خون قزل‌آلای رنگین‌کمان در مواجهه تجربی با باکتری آئروموناس هیدروفیلا و در بیماری سپتی سمی هموراژیک ویروسی افزایش یافته است (Rehulka, 2003; Rehulka, 2002). بر اساس نتایج این مطالعه مشخص شد که سطح ۰/۲ درصد ایمونوزن در جیره تأثیر معناداری در سطوح آنزیم‌های سرم مورد سنجش نداشته است. در مطالعه شکل‌گرفته در فیل ماهیان پرورشی (*Huso huso*) تغذیه‌شده با سطوح مختلف پریبوتیک اینولین مشخص شد که اینولین تأثیر معناداری در آنزیم‌های سرمی نداشته است، اما با افزایش سطح اینولین در جیره نسبت به گروه شاهد سطح آنزیم‌های LDH، ALT و AST تمایل به افزایش داشته است که این مسئله را در خصوص سوء مصرف اینولین در جیره و تأثیر منفی در بافت کبد ذکر کرده‌اند (Akrami et al., 2011). ALP نیز یکی از آنزیم‌های کبدی است که نقش چندگانه‌ای از جمله ایمنی دارد و مشاهده شده که به دنبال آلودگی با عوامل بیماری‌زا سطح آن کاهش

است. در مطالعه Hoseinifar و همکاران (۲۰۱۱) مشخص شده که پریبوتیک الیگو فروکتوز دارای پتانسیلی است که سطح کلسترول خون فیل ماهیان را کاهش می‌دهد. یکی از دلایل کاهش سطح کلسترول سرم در ماهیان تغذیه‌شده با ایمونوزن را می‌توان چنین بیان کرد که به دنبال فرایند تخمیر پریبوتیک‌ها متابولیت‌هایی مانند اسیدهای چرب زنجیره کوتاه در دستگاه گوارش جانوران تک‌معدده‌ای مانند ماهی‌ها تولید و از طریق خون به کبد منتقل می‌شوند و سنتز کلسترول را در کبد تا حدود زیادی کاهش می‌دهند (Sinha et al., 2011). پروتئین کل سرم نیز در این مطالعه در ماهیان تغذیه‌شده با ۰/۲ درصد ایمونوزن نسبت به گروه شاهد تفاوت معناداری نداشته است. بر خلاف نتایج این مطالعه Ebrahimi و همکاران نشان دادند که سطح پروتئین کل سرم در کپور معمولی تغذیه‌شده با سطوح مختلف ایمونوزن افزایش داشته است (Ebrahimi et al., 2012). همچنین، در مطالعه‌ای دیگر که روی فیل ماهیان جوان (*Huso huso*) صورت گرفت مشخص شد که سطح ۱ درصد پریبوتیک اینولین سبب افزایش سطح پروتئین کل سرم شد (Akrami et al., 2011). پروتئین سرم از مهم‌ترین ترکیباتی است که در سرم وجود دارد و تحت تأثیر رژیم‌ها و مکمل‌های غذایی سطح آن تغییر می‌کند و به‌منزله یکی از شاخص‌های ایمنی غیراختصاصی همورال و سلامت گونه آبری به شمار می‌آید. علت اختلاف بین نتایج مطالعات مختلف می‌تواند در ارتباط با اختلاف بیولوژی و وضعیت فیزیولوژیک گونه‌های متفاوت باشد (Kumar et al., 2005).

منشأ سنتز و فعالیت آنزیم‌های ALT، LDH،

هماتولوژی با ایمنی ارتباط دارند و نشانگر افزایش سطح ایمنی و سلامت‌اند. همچنین، نتایج بررسی پارامترهای بیوشیمی سرم می‌تواند نشان‌دهندهٔ اثر مثبت این پریوتیک در فرایند متابولیسم و بافت‌های درگیر در آن باشد که مطالعات بیشتر با سطوح مختلف پریوتیک و انجام کارهای هیستوپاتولوژی می‌توانند ما را به نتایج دقیق‌تری برسانند.

تشکر و قدردانی

از گروه شیلات دانشگاه تهران جهت در اختیار گذاشتن امکانات لازم برای اجرای این پروژه و جناب آقای عاشوری کارشناس محترم آزمایشگاه شیلات بسیاز سپاسگزاریم.

یافته و می‌تواند با سرکوب سیستم ایمنی در ارتباط باشد (Waagbø et al., 1988). در این آزمایش در گروه تغذیه‌شده با پریوتیک ایمونوژن سطح LDH و AST تمایل به کاهش و سطح ALP تمایل به افزایش داشته است که با توجه به مطالب ذکرشده می‌توان این را در ارتباط با عملکرد بهتر بافت کبد در نتیجهٔ متابولیت‌های حاصل از تخمیر پریوتیک ایمونوژن مانند اسیدهای چرب کوتاه زنجیر و انتقال آن‌ها به بافت کبد دانست (Demigné and Rémésy, 1985).

نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که پریوتیک تجاری ایمونوژن در سطح ۰/۲ درصد در غذا سبب بهبود برخی پارامترهای هماتولوژی و بیوشیمی سرم قزل‌آلای رنگین‌کمان شده است. پارامترهای

References

- [1]. Ahmdifar, E., Akrami, R., Ghelichi, A., Zarejabad, A.M., 2011. Effects of different dietary prebiotic inulin levels on blood serum enzymes, hematologic, and biochemical parameters of great sturgeon (*Huso huso*) juveniles. *Comparative Clinical Pathology* 20, 447-451.
- [2]. Akrami, R., Ghelichi, A., Ahmadifar, E., 2011. Effect of dietary prebiotic inulin on hematological and biochemical parameters of cultured juvenile beluga (*Huso huso*). *Journal of Veterinary Research* 66, 131-136.
- [3]. Andrews, S. R., N. P. Sahu, A. K. Pal & S. Kumar (2009) Haematological modulation and growth of *Labeo rohita* fingerlings: effect of dietary mannan oligosaccharide, yeast extract, protein hydrolysate and chlorella. *Aquaculture research*, 41, 61-69
- [4]. Asadi, M., Mirvaghefi, A., Nematollahi, M., Banaee, M., Ahmadi, K., 2012. Effects of Watercress (*Nasturtium nasturtium*) extract on selected immunological parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Open Veterinary Journal* 2, 32-39.
- [5]. Austin, B., Austin, D.D.A., 2007. Bacterial fish pathogens: diseases of farmed and wild fish. Springer, p.
- [6]. Cerezuela, R., Cuesta, A., Meseguer, J., Ángeles Esteban, M., 2008. Effects of inulin on gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) innate immune parameters. *Fish & Shellfish Immunology* 24, 663-668.
- [7]. Demigné, C., Rémésy, C. (1985). Stimulation of absorption of volatile fatty acids and minerals in the cecum of rats adapted to a very high fiber diet. *The Journal of nutrition*, 115: 53.
- [8]. Denev, S., Y. Staykov, R. Moutafchieva & G. Beev (2009). Microbial ecology of the gastrointestinal tract of fish and the potential application of probiotics and prebiotics in finfish aquaculture. *Int. Aquat. Res*, 1, 1-29.
- [9]. Dimitroglou, A., D. Merrifield, R. Moate, S. Davies, P. Spring, J. Sweetman & G. Bradley (2009) Dietary mannan oligosaccharide supplementation modulates intestinal microbial ecology and improves gut morphology of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Journal of animal science*, 87, 3226-3234.
- [10]. Ebrahimi, G., 2010. Effects of prebiotic supplementation on survival, growth performance and feed utilization of kutum, *rutilus frisii kutum* (Kamenskii 1901), fingerlings. *Research Journal of Animal Sciences* 4, 125-129.
- [11]. Ebrahimi, G., Ouraji, H., Khalesi, M., Sudagar, M., Barari, A., Zarei Dangesaraki, M., Jani Khalili, K., 2012. Effects of a prebiotic, Immunogen®, on feed utilization, body composition, immunity and resistance to *Aeromonas hydrophila* infection in the common carp *Cyprinus carpio* (Linnaeus) fingerlings. *Journal of animal physiology and animal nutrition* 96, 591-599.
- [12]. Gibson, G.R., Probert, H.M., Van Loo, J., Rastall, R.A., Roberfroid, M.B., 2004. Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. *Nutr Res Rev* 17, 259-275.
- [13]. Hoseinifar, S.H., Mirvaghefi, A., Merrifield, D.L., Amiri, B.M., Yelghi, S., Bastami, K.D., 2011. The study of some haematological and serum biochemical parameters of juvenile beluga (*Huso huso*) fed oligofructose. *Fish Physiology and Biochemistry* 37, 91-96.
- [14]. Kumar, S., Sahu, N., Pal, A., Choudhury, D., Yengkokpam, S., Mukherjee, S., 2005. Effect of dietary carbohydrate on haematology, respiratory burst activity and histological changes in *L. rohita* juveniles. *Fish & Shellfish Immunology* 19, 331-344.

- [15]. Martin, O., Okolie, P., 2012. N-nitrosodimethylamine (NDMA), Liver Function Enzymes, Renal Function Parameters and Oxidative Stress Parameters: A Review.
- [16]. Merrifield, D.L., Dimitroglou, A., Foey, A., Davies, S.J., Baker, R., Bøggwald, J., Castex, M., Ringø, E., 2010. The current status and future focus of probiotic and prebiotic applications for salmonids. *Aquaculture* 302, 1-18.
- [17]. Racicot, J., Gaudet, M., Leray, C., 1975. Blood and liver enzymes in rainbow trout (*Salmo gairdneri* Rich.) with emphasis on their diagnostic use: Study of CCl₄ toxicity and a case of *Aeromonas* infection. *Journal of fish Biology* 7, 825-835.
- [18]. Rehulka, J., 2003. Haematological analyses in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* affected by viral haemorrhagic septicaemia (VHS). *Diseases of aquatic organisms* 56, 185-193.
- [19]. Řehulka, J., 2002. *Aeromonas* Causes Severe Skin Lesions in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*): Clinical Pathology, Haematology, and Biochemistry. *Acta Veterinaria Brno* 71, 351-None.
- [20]. Rufchaie, R., Hoseinifar, S.H., Sayad Borani, M., Maghsodie Kohan, H., Zamini, A.A. and Faeed M., 2012. The effects of glucan on hematological parameters, immune response and intestinal microbiota of *Rutilus frisii kutum* fry . *Iranian Scientific Fisheries Journal* 21, 3, 73-84.(in persion)
- [21]. Sakai, M. (1999) Current research status of fish immunostimulants. *Aquaculture*, 172, 63-92.
- [22]. Shahsavani, D .,M. Mohri & H. G. Kanani (2010) Determination of normal values of some blood serum enzymes in *Acipenser stellatus Pallas*. *Fish physiology and biochemistry*, 36, 39-43
- [23]. Sinha, A.K., Kumar, V., Makkar, H.P., De Boeck, G., Becker, K., 2011. Non-starch polysaccharides and their role in fish nutrition–A review. *Food Chemistry* 127, 1409-1426.
- [24]. Staykov, Y., Spring, P., Denev, S., Sweetman, J., 2007. Effect of a mannan oligosaccharide on the growth performance and immune status of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture International* 15, 153-161.
- [25]. Stoskopf, M.K., 1993. *Fish medicine*. WB Saunders Company, p.
- [26]. Tangestani, R., Doughikollae, E., Ebrahimi, E., Zare, P., 2011. Effects of garlic essential oil as an immunostimulant on hematological indices of juvenile beluga (*Huso huso*). *Journal of Veterinary Research* 66, 209-216, 279.
- [27]. Tukmechi, A., Rahmati Andani, H.R., Manaffar, R., Sheikhzadeh, N., 2011. Dietary administration of beta-mercapto-ethanol treated *Saccharomyces cerevisiae* enhanced the growth, innate immune response and disease resistance of the rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Fish & Shellfish Immunology* 30, 923-928.
- [28]. Waagbø, R., Sandnes, K., Espelid, S., Lie, Ø., 1988. Haematological and biochemical analyses of Atlantic salmon, *Salmo solar* L., suffering from coldwater vibriosis ('Hitra disease'). *Journal of Fish Diseases* 11, 417-423.
- [29]. Yar Ahmadi, P., H. Farahmand, H. Kolangi Miandare, A. Mirvaghefi & S. H. Hoseinifar (2014) The effects of dietary Immunogen® on innate immune response, immune related genes expression and disease resistance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish & shellfish immunology*, 37, 209-214.
- [30]. Yousefian, M., Amiri, M.S., 2009. A review of the use of prebiotic in aquaculture for fish and shrimp. *African Journal of Biotechnology* 8.