شیلات، مجله منابع طبیعی ایران
دوره ۶۸، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۴
ص ۱۷۷-۱۸۶

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱۱/۱۸
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۱۲/۱۰

تأثیر سطوح مختلف پربیوتیک مانان الیگوساکارید جیرهٔ غذایی در برخی پیراسنجه‌های هماتولوژیک و بیوشیمی سرم خون بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

❖ **کیا امانی دنجی:** دانشجوی دکتری شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، تهران، ایران
❖ **مجید رازقی منصور*:** دانشگاه آزاد اسلامی، واحد آزادشهر، عضو باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، آزادشهر، ایران
❖ **شایان قبادی:** گروه شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بابل، بابل، ایران
❖ **رضا اکرمی:** گروه شیلات، واحد آزادشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، آزادشهر، ایران
❖ **میثم صالحی:** دانشجوی دکتری شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، تهران، ایران

چکیده

پژوهش حاضر به منظور ارزیابی تأثیر سطوح مختلف پربیوتیک مانان الیگوساکارید (MOS; activeMOS®) در سطوح صفر (شاهد)، ۱، ۲/۵ و ۴ گرم پربیوتیک مانان الیگوساکارید به ازای هر کیلوگرم جیره و در ۳ تکرار بر برخی پیراسنجه‌های هماتولوژیک و بیوشیمی سرم خون بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) پس از ۶۰ روز پرورش انجام گرفت. خون‌گیری با قطع ساقهٔ دمی از ۳۶ قطعه ماهی به ظاهر سالم در انتهای دورهٔ پرورش به عمل آمد و نتایج با استفاده از آنالیز رگرسیون و ضریب همبستگی تجزیه و تحلیل شد. بر اساس نتایج، تفاوت معنی‌داری در میزان فعالیت آنزیم‌های سرم خون در تیمارهای آزمایشی، که تحت تأثیر سطوح متفاوت پربیوتیک مانان الیگوساکارید بودند، در مقایسه با گروه شاهد مشاهده نشد. همچنین، اضافه‌کردن مانان الیگوساکارید به جیره منجر به تفاوت معنی‌داری در میزان گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسرید، اسید اوریک، پروتئین تام و بیلی‌روبین نشد، اما جمعیت گلبول سفید در جیرهٔ حاوی ۱ گرم بر کیلوگرم مانان الیگوساکارید از افزایش معنی‌داری نسبت به سایر تیمارها برخوردار بود. بیشترین میزان هماتوکریت، هموگلوبین و لنفوسیت بدون هیچ‌گونه تفاوت معنی‌داری در تیمار ۱ گرم بر کیلوگرم مانان الیگوساکارید تعیین شد. نتایج مطالعهٔ حاضر نشان می‌دهد که استفاده از این پربیوتیک در سطح ۱ گرم بر کیلوگرم جیره می‌تواند تأثیرات مثبتی در فاکتورهای خونی بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان داشته باشد.

واژگان کلیدی: پربیوتیک، مانان الیگوساکارید، هماتولوژی، بیوشیمی، قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*).

* نویسندهٔ مسئول: همراه: ۰۹۱۱۱۱۵۴۶۱۳
Email: Razeghi2036@yahoo.com

۱. مقدمه

اختلال در سیستم ایمنی ماهیان به واسطهٔ عوامل استرس‌زای محیطی به حساسیت بیشتر به انواع بیماری‌ها منجر می‌شود که توسعهٔ اقتصادی آبزی‌پروری را محدود می‌کند (Akrami *et al.*, 2010). به همین علت در سال‌های اخیر استفاده از مکمل‌های غذایی، که در افزایش رشد و بالابردن سیستم ایمنی نقش دارند، تحت مطالعات دقیق قرار گرفته‌اند تا بتوانند از نظر جنبه‌های اقتصادی و دامنهٔ سلامتی، طبقه‌بندی و در آبزی‌پروری استفاده شوند. از جملهٔ این مکمل‌های غذایی می‌توان به پربیوتیک‌ها (Prebiotics) اشاره کرد. پربیوتیک‌ها عناصر غذایی هضم‌ناپذیری‌اند که از طریق تحریک رشد یا فعال‌کردن یک یا تعداد محدودی از گونه‌های باکتریایی روده تأثیرات سودمندی در میزبان دارند و سلامتی آن را بهبود می‌بخشند (Gibson and Roberfroid, 1995). از جملهٔ این پربیوتیک‌ها می‌توان به مانان الیگوساکارید اشاره کرد. مانان الیگوساکارید کربوهیدراتی پیچیده است که از دیوارهٔ سلولی مخمر ساکارومایسیس سرویزیا (*Saccharomyces cerevisiae*) مشتق شده است؛ این ترکیبات مانع از اتصال باکتری‌های بیماری‌زا به دستگاه گوارش می‌شوند و تأثیرات معکوس متابولیت‌های میکروفلور را کاهش می‌دهند (Savage *et al.*, 1997). پربیوتیک‌ها سبب بهبود متابولیسم چربی‌ها از طریق کاهش کلسترول، تری‌گلیسریدها و فسفولیپیدها در سرم خون می‌شوند (Van Loo *et al.*, 1999). فاکتورهای خونی و سرمی ماهیان در گونه‌های مختلف با هم تفاوت دارند و متغیرهایی نظیر شرایط محیطی، تغذیه‌ای، سن (Shahsavani *et al.*, 2007)، گونه، جنسیت، دمای آب، ترکیبات شیمیایی، سختی و pH آب، روش‌های نمونه‌گیری، شمارش سلولی و رنگ‌آمیزی (Khadjeh *et al.*, 2008) و عوامل استرس‌زایی مانند صید و دست‌کاری می‌توانند سبب تغییر در سطح فاکتورهای خونی شوند. به طور کلی، دربارهٔ اثر پربیوتیک‌ها در پیراسنجه‌های خونی ماهیان، در مقایسه با پیراسنجه‌های رشد و تغذیه، تحقیقات گسترده‌ای انجام نشده است. در این خصوص، مطالعاتی دربارهٔ گونه‌های تیلاپیا (*Oreochromis niloticus*) (Hisano *et al.*, 2007; Sado *et al.*, 2008)، گربه‌ماهی روگاهی (*Ictalurus punctatus*) (Welker *et al.*, 2007)، راهو (*Labeo rohita*) (Andrews *et al.*, 2009)، بچه‌ماهی آمور (*Ctenopharyngodon idella*) (Shaker khoshroudi, 2011)، کفشک‌ماهی ژاپنی (*Paralichthys olivaceus*) (Ye *et al.*, 2011)، کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) (Akrami *et al.*, 2012)، سیم دریایی (*Sparus auratus*) (Gultepe *et al.*, 2012) و فیل ماهی (*Huso huso*) (Akrami *et al.*, 2013) انجام شده است. به طور کلی، یکی از تأثیرات احتمالی پربیوتیک‌ها افزایش عملکرد ایمنی است. باکتری‌های بومی روده قادرند به طور گزینشی پربیوتیک‌ها را تخمیر کنند. تخمیر سوبستراها در روده سبب افزایش انرژی و رشد این باکتری‌ها می‌شود که این مورد به خودی خود تأثیرات مفیدی از طریق تقویت میکروفلور روده‌ای و ممانعت از تشکیل کلونی باکتری‌های بیماری‌زا دارد. این باکتری‌ها موادی ترشح می‌کنند که سبب تحریک دستگاه ایمنی می‌شود از این رو، سبب افزایش

مقاومت میزبان در برابر عوامل بیماری‌زا می‌شوند (Oujifard *et al.*, 2010). بنابراین، با توجه به توضیحات فوق و اهمیت ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به‌منزلهٔ گونه‌ای پرورشی در کشور و به دلیل افزایش مقاومت این ماهیان در برابر شرایط نامساعد زیست‌محیطی و عوامل بیماری‌زای میکروبی و در نهایت افزایش تولید در واحد سطح در مزارع پرورشی، این تحقیق به منظور بررسی تأثیر سطوح مختلف پربیوتیک مانان الیگوساکارید در برخی پیراسنجه‌های هماتولوژی و بیوشیمیایی سرم خون بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) انجام گرفت.

۲. مواد و روش کار

۱.۲. انجام آزمایش

تحقیق حاضر به مدت ۶۰ روز در مرکز خصوصی پرورش ماهی قزل‌آلا (پارس قزل) واقع در روستای ارطه (۶ کیلومتری شمال قائم‌شهر) انجام گرفت. پس از سازگاری اولیه و عادت‌پذیری ماهیان با غذای کنسانترهٔ مورد استفاده در آزمایش، که حدود یک هفته به طول انجامید، ۳۰۰ قطعه بچه‌ماهی قزل‌آلا با وزن متوسط ۱/۶۷±۰/۰۰۶ گرم با تراکم ۲۵ عدد در ۱۲ مخزن توزیع شدند. ابعاد مخازن ۱/۲×۰/۵×۰/۵ متر با حجم ۳۰۰ لیتر بود که با حدود ۲۰۰ لیتر آب پر شده بود و منبع تأمین‌کنندهٔ آن آب چاه بود. اندازه‌گیری فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب از قبیل دمای آب به طور روزانه در ساعات مشخص (۷ ، ۱۳ و ۱۹) و اکسیژن و pH به صورت هفتگی انجام گرفت. به طوری که، در کل دورهٔ آزمایش میانگین دمای آب ۱۴/۸۰±۱/۶۸ درجهٔ سانتی‌گراد، اکسیژن ۶/۶۰±۰/۳۵ میلی‌گرم در لیتر و pH ۷/۸±۰/۱۸ بود. نوع پربیوتیک مورد استفاده در این آزمایش مانان الیگوساکارید با نام تجاری اکتیوموس (MOS;ActiveMOS®) ساخت شرکت Biorigin کشور برزیل است که از دیوارهٔ سلولی مخمر ساکارومایسیس سرویزیا (*Saccharomyces cerevisiae*) مشتق شده است. سطوح پربیوتیک مورد استفاده در آزمایش بر اساس یک طرح کاملاً تصادفی متعادل شامل سه سطح ۱، ۲/۵ و ۴ گرم مانان الیگوساکارید به ازای هر کیلوگرم غذا و یک گروه شاهد فاقد پربیوتیک با سه تکرار بود. هر کدام از مقادیر پربیوتیک به صورت همگن و یکنواخت با روغن مایع به غذای کنسانترهٔ شرکت فرادانه (پروتئین خام: ۴۶/۱، چربی خام: ۱۳/۵، رطوبت: ۱۱/۲۷، خاکستر: ۱۳/۱۱، عصارهٔ عاری از ازت[1]: ۱۶/۰۲ و انرژی ناخالص[2]: ۱۸/۹۳) اضافه شد. طی دورهٔ آزمایش، غذادهی به بچه‌ماهیان بر اساس مشاهدات و رفتار تغذیه‌ای آن‌ها در ۶ نوبت (ساعات ۷، ۹/۳۰، ۱۲، ۱۴/۳۰، ۱۷ و ۱۹/۳۰) انجام می‌گرفت که بین ۸-۶ درصد وزن تودهٔ زنده در کل دورهٔ آزمایش متغیر بود.

۲.۲. نمونه‌گیری و خون‌گیری

در پایان دورهٔ آزمایش، خون‌گیری از بچه‌ماهیان برای آزمایش‌های هماتولوژی و بیوشیمیایی انجام شد. بدین منظور، برای جلوگیری از استرس، ۲۴ ساعت قبل از خون‌گیری تغذیهٔ ماهیان قطع شد و از پودر

۱. (درصد خاکستر+ درصد رطوبت+ درصد چربی خام+درصد پروتئین خام)- ۱۰۰ = (NFE) عصارهٔ عاری از ازت

۲. (درصد عصارهٔ عاری از ازت × ۱۷) + (درصد چربی × ۳۹/۵) + (درصد پروتئین غذا × ۲۳/۶) = (MJ/kg) انرژی ناخالص

گل میخک با دوز ppm ۲۰۰ (Ghobadi *et al.*, 2009) به‌منزلهٔ مادهٔ بیهوشی استفاده شد. در ادامه ۳۶ قطعه ماهی (۳ ماهی به ازای هر تکرار) که از نظر ظاهری سالم و فاقد نشانه‌های بیماری بودند به طور تصادفی انتخاب شدند و برای جلوگیری از ورود موکوس و آب به نمونهٔ خون، ماهیان کاملاً خشک شدند و درنهایت از طریق قطع ساقهٔ دمی خون‌گیری انجام شد. از نمونه خون‌های به‌دست‌آمده مقدار ۱ سی‌سی در لوله‌های سرولوژی فاقد مادهٔ ضد انعقاد برای جداسازی سرم و ۱ سی‌سی در ظروف حاوی مادهٔ ضد انعقاد هپارین تقسیم شد. سپس، با استفاده از سانتریفیوژ با ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه سرم جدا شد و با سمپلر در لوله‌های کوچک تخلیه و در مجاورت یخ به آزمایشگاه انتقال و در شرایط فریزر (دمای ۲۰- درجهٔ سانتی‌گراد) تا زمان آزمایش نگهداری شد.

۳.۲. روش اندازه‌گیری پیراسنجه‌های هماتولوژی

آزمایش‌های هماتولوژی روی خون حاوی مادهٔ ضد انعقاد هپارین انجام گرفت. فاکتورهای خونی مورد مطالعه شامل تعداد گلبول‌های قرمز (RBC)، تعداد گلبول‌های سفید (WBC)، هماتوکریت (PCV)، هموگلوبین (Hb)، حجم متوسط گلبولی (MCV)، هموگلوبین متوسط گلبولی (MCH) و غلظت متوسط هموگلوبین گلبول‌های قرمز (MCHC) بود (Feldman *et al.*, 2000). همچنین، شمارش افتراقی گلبول‌های سفید شامل نوتروفیل (هتروفیل)، لنفوسیت، مونوسیت و ائوزینوفیل نیز انجام شد (Borges *et al.*, 2004). باید خاطرنشان کرد که نوع رنگ‌آمیزی در شمارش گلبول‌های سفید از نوع گیمسا بود و از محلول ریس برای رقیق‌کردن خون استفاده شد.

۴.۲. روش‌های اندازه‌گیری پیراسنجه‌های بیوشیمیایی

اندازه‌گیری پیراسنجه‌های بیوشیمیایی با استفاده از دستگاه Autoanalyser طبق دستورالعمل شرکت سازنده با استفاده از کیت‌های آزمایشگاهی از نوع Biochemical شرکت پارس آزمون انجام شد. گلوکز به روش گلوکز اکسیداز (Glucose oxidase)، کلسترول به روش کلسترول اکسیداز (Cholestrol oxidase)، تری‌گلیسرید به روش آنزیمی لیپاز (Lipase/GPO-PAP)، اسید اوریک به روش رنگ‌سنجی اوره‌آز، کراتینین به روش رنگ‌سنجی ژافه (Jaffe)، پروتئین تام به روش بیوره (Biuret)، بیلی‌روبین به روش دیازو (Diazo with sulphanilic acid) و آلبومین به روش بروموکرزول (Bromocresol Green) اندازه‌گیری شد. سنجش آنزیم آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) به روش رنگ‌سنجی کینتیک و آلکالین فسفاتاز (ALP) به روش آنزیماتیک کینتیک صورت گرفت (Borges *et al.*, 2004).

۵.۲. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

طرح کلی این تحقیق در قالب طرح کاملاً تصادفی برنامه‌ریزی و اجرا شد. تجزیه و تحلیل آماری شامل محاسبهٔ میانگین، انحراف معیار، آنالیز رگرسیون و ضرایب همبستگی با استفاده از نرم‌افزار SPSS (Ver. 18) انجام شد. به منظور تعیین همبستگی بین

شاخص‌های خونی اندازه‌گیری‌شده و سطوح متفاوت پربیوتیک مانان الیگوساکارید از آزمون رگرسیون خطی استفاده شد و مقادیر P<۰/۰۵ معنی‌دار تلقی شد.

۳. نتایج

۱.۳. تأثیر پربیوتیک مانان الیگوساکارید در پیراسنجه‌های هماتولوژی

جدول ۱ تأثیر جیرهٔ غذایی حاوی سطوح مختلف پربیوتیک مانان الیگوساکارید را در برخی پیراسنجه‌های هماتولوژی در بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان نشان می‌دهد. نتایج نشان داد که افزودن پربیوتیک مانان الیگوساکارید به جیرهٔ قزل‌آلای رنگین‌کمان منجر به تفاوت معنی‌داری در میزان گلبول قرمز، هماتوکریت، هموگلوبین، حجم متوسط گلبولی (MCV)، هموگلوبین متوسط گلبولی (MCH)، غلظت متوسط هموگلوبین گلبول‌های قرمز (MCHC)، نوتروفیل، مونوسیت، لنفوسیت و ائوزینوفیل در مقایسه با گروه شاهد نشد (P>۰/۰۵)، ولی جمعیت گلبول‌های سفید در تیمار ۱ گرم در کیلوگرم مانان الیگوساکارید از افزایش معنی‌داری در مقایسه با تیمار شاهد برخوردار بود (P<۰/۰۵). نتایج آنالیز رگرسیون نشان داد همبستگی مثبتی بین افزایش سطح پربیوتیک مانان الیگوساکارید در جیره و میزان گلبول قرمز (P=۰/۷۰، r=۰/۱۵)، هموگلوبین متوسط گلبولی (P=۰/۹۵۲، r=۰/۰۲۳)، منوسیت (P=۰/۳۲۸، r=۰/۳۶۹) و نوتروفیل (P=۰/۶۰۸ ، r=۰/۱۹۹) وجود داشت، اما در خصوص تعداد گلبول‌های سفید (P=۰/۵۱، r= −۰/۲۷۳)، هموگلوبین (P=۰/۳۸، r= −۰/۳۳۴)، هماتوکریت (P=۰/۴۳۳، r= −۰/۳۰۰)، لنفوسیت (P=۰/۳۹۴، r= −۰/۳۲۵)، حجم متوسط گلبولی (P=۰/۰۹۸، r= −۰/۵۸۵) و ائوزینوفیل (P=۰/۴۷۶، r= −۰/۲۷۴) همبستگی منفی به دست آمد.

۲.۳. تأثیر پربیوتیک مانان الیگوساکارید در آنزیم‌های سرمی

نتایج تأثیر جیرهٔ غذایی حاوی سطوح مختلف پربیوتیک مانان الیگوساکارید در میانگین برخی آنزیم‌های سرمی خون در بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان در جدول ۲ ارائه شده است. نتایج اختلاف معنی‌داری را در میزان فعالیت آنزیم‌های سرم خون در تیمارهای آزمایشی، که تحت تأثیر سطوح متفاوت پربیوتیک مانان الیگوساکارید بودند، در مقایسه با گروه شاهد نشان نداد (P>۰/۰۵). بر اساس نتایج آنالیز رگرسیون، همبستگی مثبتی بین افزایش سطح پربیوتیک مانان الیگوساکارید در جیره و مقادیر آنزیم ALT (P=۰/۹۵۹، r=۰/۰۲۰) وجود داشت، اما همبستگی منفی در AST (P=۰/۹۶۳، r= −۰/۰۱۸) و ALP (P=۰/۰۶۷، r= −۰/۶۳۳) مشاهده شد.

۳.۳. تأثیر پربیوتیک مانان الیگوساکارید در پیراسنجه‌های بیوشیمیایی

نتایج تأثیر جیرهٔ غذایی حاوی سطوح مختلف پربیوتیک مانان الیگوساکارید در برخی پیراسنجه‌های بیوشیمیایی خون در جدول ۳ ارائه شده است. نتایج تفاوت معنی‌داری را در میزان فاکتورهای گلوکز خون، کلسترول، تری‌گلیسرید، اسید اوریک، پروتئین تام و بیلی‌روبین تام در بین تیمارها نشان نداد (P>۰/۰۵)، ولی در فاکتورهای کراتینین و آلبومین

تفاوت معنی‌داری در بین تیمارها مشاهده شد (P<۰/۰۵). نتایج آنالیز رگرسیون حاکی از همبستگی مثبت بین افزایش سطح پربیوتیک مانان الیگوساکارید در جیره و مقادیر برخی پیراسنجه‌های بیوشیمیایی خون نظیر تری‌گلیسرید (P=۰/۷۸۱، r=۰/۱۰۹)، کراتینین (P=۰/۰۰۳، r=۰/۸۵۴) و بیلی‌روبین تام (P=۰/۷۴۴، r= ۰/۱۲۸) بود، ولی در اکثر فاکتورها از قبیل گلوکز (P=۰/۲۲۱، r= -۰/۴۵۳)، کلسترول (P=۰/۰۱۷، r= -۰/۷۶۳)، اسید اوریک (P=۰/۵۰۵، r= -۰/۲۵۷)، پروتئین تام (P=۰/۵۹۴، r= -۰/۲۰۶) و آلبومین (P=۰/۱۹۷، r= -۰/۴۷۴) همبستگی منفی مشاهده شد.

۴. بحث و نتیجه‌گیری

به طور کلی برای افزایش میزان مقاومت در برابر ابتلا به بیماری‌ها و کاهش میزان مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها، امروزه افزودن محرک‌های ایمنی به غذاها رایج شده است که این افزودنی‌ها موجب فعال‌شدن گلبول سفید و افزایش سلامت روده می‌شوند و به‌وفور در پرورش ماکیان و سایر دام‌های پرورشی استفاده می‌شوند (Sado *et al*., 2008). شاخص‌های مربوط به خون مانند گلبول‌های قرمز و لوکوسیت‌ها از جمله لنفوسیت‌ها، نوتروفیل‌ها و مونوسیت‌ها یکی از بخش‌های اصلی سیستم ایمنی غیر اختصاصی سلولی‌اند که نوسان در تعداد آن‌ها می‌تواند به‌منزلهٔ شاخصی مناسب در زمینهٔ پاسخ ماهیان به عوامل استرس‌زا مطرح باشد (Stoskopf, 1993). بنابراین، از جمله ارزیابی‌هایی که باید پس از کاربرد محرک‌های ایمنی انجام داد شمارش تعداد کل لوکوسیت‌ها و اریتروسیت‌ها و میزان تکثیر لنفوسیت‌ها در موجودات مورد آزمایش است (Ahmadifar *et al*., 2009). بر اساس نتایج مطالعهٔ حاضر، بیشترین میزان گلبول سفید در تیمار حاوی ۱ گرم بر کیلوگرم مانان الیگوساکارید مشاهده شد که از تفاوت معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد برخوردار بود (P<۰/۰۵). همچنین، بیشترین میزان هماتوکریت، لنفوسیت، هموگلوبین و ائوزینوفیل هم بدون هیچ‌گونه تفاوت معنی‌داری در ماهیان تغذیه‌شده با جیرهٔ حاوی ۱ گرم بر کیلوگرم مانان الیگوساکارید مشاهده شد (P>۰/۰۵). در همین زمینه، Shaker Khoshroudi (2011) با بررسی سطوح مختلف ۱ و ۳ گرم بر کیلوگرم مانان الیگوساکارید در جیرهٔ غذایی بچه‌ماهیان آمور (*Ctenopharyngodon idella*) بیشترین میزان هموگلوبین، هماتوکریت و لنفوسیت را بدون هیچ‌گونه تفاوت معنی‌داری در بچه‌ماهیان تغذیه‌شده با جیرهٔ حاوی ۱ گرم بر کیلوگرم پربیوتیک مشاهده کرد. در تحقیقی دیگر Andrews *et al*. (2009) با افزودن مانان الیگوساکارید با سطوح مختلف ۱، ۲ و ۴ درصد به جیرهٔ غذایی ماهیان انگشت‌قد گونهٔ راهو (*Labeo rohita*) افزایش معنی‌داری را در میزان گلبول سفید، گلبول قرمز و هموگلوبین در ماهیان تغذیه‌شده با جیرهٔ حاوی پربیوتیک مانان الیگوساکارید در مقایسه با تیمار شاهد گزارش کردند. همچنین، Akrami *et al*. (2012) افزایش معنی‌داری را در میزان هماتوکریت و لنفوسیت در کپور ماهیان (*Cyprinus carpio*) تغذیه‌شده با جیرهٔ حاوی پربیوتیک مانان الیگوساکارید در مقایسه با تیمار شاهد گزارش کردند، اگرچه در سایر فاکتورهای هماتولوژی تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. از آن‌جا که گلبول سفید،

هماتوکریت و لنفوسیت جزء فاکتورهای دفاعی بدن محسوب می‌شوند و از سوی دیگر، در تحقیق حاضر در تیمار ۱ گرم بر کیلوگرم مانان الیگوساکارید از بیشترین میزان برخوردار بودند، بنابراین، این نتیجه می‌تواند نشان‌دهندهٔ تأثیر مثبت پربیوتیک مانان الیگوساکارید، به‌ویژه در سطح ۱ گرم بر کیلوگرم پربیوتیک، در جیرهٔ غذایی بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان باشد، اما Hisano *et al.* (2007) با ارزیابی اثر مخمر دهیدراته (منبع اصلی مانان الیگوساکارید) در جیرهٔ غذایی ماهی تیلاپیا (*Oreochromis niloticus*)، Welker *et al.* (2007) در گربه‌ماهی روگاهی (*Ictalurus punctatus*)، Sado *et al.* (2008) در ماهیان جوان پرورشی تیلاپیا (*Oreochromis niloticus*) و Gultepe *et al.* (2012) در ماهی سیم دریایی (*Sparus auratus*) تفاوت معنی‌داری را در پیراسنجه‌های هماتولوژی مشاهده نکردند که با نتایج مطالعهٔ حاضر مطابقت داشت. همچنین، Akrami *et al.* (2013) با بررسی سطوح مختلف صفر، ۲ و ۴ گرم در کیلوگرم مانان الیگوساکارید به جیرهٔ غذایی فیل ماهیان (*Huso huso*) جوان پرورشی تفاوت معنی‌داری را در پیراسنجه‌های هماتولوژی مشاهده نکردند که منطبق با نتایج مطالعهٔ حاضر بود، ولی فاکتورهای لنفوسیت در تیمار شاهد و ائوزینوفیل در تیمار ۲ گرم مانان الیگوساکارید از تفاوت معنی‌داری در مقایسه با سایر تیمارها برخوردار بودند. میزان AST، ALP و ALT به‌منزلهٔ شاخص فعالیت کبد به کار می‌روند و جزء آنزیم‌های بااهمیت در بررسی وضعیت سلامتی ماهیان‌اند (Racicot *et al.*, 1975). آنزیم‌های سرمی تحت تأثیر فاکتورهای فیزیولوژیک و محیطی قرار می‌گیرند. برای مثال نوع جیرهٔ غذایی، دمای آب، سن ماهی و شوری آب در میزان آنزیم‌های سرمی و فعالیت آن‌ها مؤثرند (Ghiasi *et al.*, 2010). بر اساس نتایج مطالعهٔ حاضر، افزودن مانان الیگوساکارید در سطوح ۱، ۲/۵ و ۴ گرم پربیوتیک مانان الیگوساکارید به ازای هر کیلوگرم جیرهٔ بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان منجر به تفاوت معنی‌داری در میزان فعالیت آنزیم‌های AST، ALT و ALP در مقایسه با گروه شاهد نشد که با نتایج Shaker Khoshroudi (2011) و Akrami *et al.* (2013) مشابه بود. نتایج مطالعهٔ حاضر نشان داد که تفاوت معنی‌داری در فاکتورهای بیوشیمیایی در بین تیمارهای مختلف در مقایسه با تیمار شاهد وجود نداشت، اما کراتینین و آلبومین از اختلاف معنی‌داری برخوردار بودند. در همین زمینه، Akrami *et al.* (2013) هم با ارزیابی مانان الیگوساکارید در جیرهٔ غذایی فیل ماهی تفاوت معنی‌داری را در پیراسنجه‌های بیوشیمیایی مشاهده نکردند، ولی میزان کراتینین در تیمار حاوی مانان الیگوساکارید از بیشترین میزان برخوردار بود. همچنین، Shaker Khoshroudi (2011) تفاوت معنی‌داری را در پیراسنجه‌های بیوشیمیایی در بچه‌ماهیان آمور تغذیه‌شده با جیرهٔ حاوی مانان الیگوساکارید در مقایسه با تیمار شاهد مشاهده نکردند. نتایج مطالعهٔ حاضر نشان داد که اگرچه میزان کلسترول و تری‌گلیسرید در ماهیان تغذیه‌شده با جیرهٔ حاوی مانان الیگوساکارید در مقایسه با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری نداشتند، با افزایش سطح مانان الیگوساکارید در جیره میزان این دو فاکتور نیز کاهش یافت، که با نتایج Ye *et al.* (2011) دربارهٔ کفشک‌ماهی (*Paralichthys olivaceus*) ژاپنی

یکسان بود به طوری که، هیچ تفاوت معنی‌داری در بین تیمارها در مقایسه با تیمار شاهد گزارش نشد. میزان پروتئین تام و آلبومین می‌تواند وضعیت تغذیه‌ای و سلامتی ماهیان را به تصویر بکشد (Svetina *et al*., 2002). به طور کلی، افزایش در غلظت پروتئین تام و آلبومین می‌تواند به علت واکنش‌های غیر اختصاصی قوی‌تر در ماهی باشد (Ta'ati *et al*., 2011)، اما در تحقیق حاضر کاهش آلبومین و پروتئین تام در تیمارهای حاوی مانان الیگوساکارید به جز تیمار ۲/۵ گرم در کیلوگرم می‌تواند حاکی از عملکرد غیر عادی کبد و کلیه باشد. در همین زمینه، Andrews *et al*. (2009) با ارزیابی مانان الیگوساکارید به جیرهٔ غذایی ماهیان انگشت‌قد گونهٔ راهو (*Labeo rohita*) پیشرفت معنی‌داری را در میزان پروتئین سرم و آلبومین در ماهیان تغذیه‌شده با جیرهٔ حاوی پربیوتیک مانان الیگوساکارید در مقایسه با تیمار شاهد مشاهده کردند. بنابراین، محرک‌های ایمنی با تأثیر در سیستم ایمنی بدن باعث مقاومت بیشتر آبزیان می‌شوند و تحت شرایط نامناسب محیطی که ممکن است با استرس‌های خاصی همچون تنش‌های شیمیایی، فیزیکی و عفونی همراه باشد مؤثر واقع شوند و در نهایت افزایش بازده تولید را در پی داشته باشند (Ahmadifar *et al*., 2009). بر اساس یافته‌های این بررسی و یافته‌های دیگر پژوهش‌گران، مشاهده می‌شود که فاکتورهایی مانند عوامل محیطی (فصول سال، شوری، دورهٔ نوری، درجهٔ حرارت و تراکم)، عوامل فیزیولوژیکی (گونهٔ آبزی، سیکل تولیدمثلی و وضعیت بلوغ، سن، جنسیت و شرایط تغذیه‌ای)، زمان نمونه‌گیری، چگونگی تهیهٔ نمونه، دقت و حساسیت روش‌های اندازه‌گیری می‌توانند در فعالیت پیراسنجه‌های بیوشیمیایی خون تأثیر بگذارند و باعث اختلاف در تفسیر نتایج شوند (Williams and Warner, 1976). همچنین، فرمولاسیون جیره‌های غذایی، نوع پربیوتیک مصرفی، درجهٔ خلوص پربیوتیک مصرفی و میزان مورد استفادهٔ آن در جیره، روش‌های مختلف اضافه‌کردن پربیوتیک مانان الیگوساکارید به جیره و احتمالاً فلور میکروبی ویژه‌ای که قادر به استفاده از پربیوتیک مانان الیگوساکارید به‌منزلهٔ سوبسترا است، به طور چشمگیری در خصوصیات ریخت‌شناسی خون اثر می‌گذارند. بر اساس نتایج مطالعهٔ حاضر، می‌توان چنین استنباط کرد که جیره‌های حاوی پربیوتیک مانان الیگوساکارید به‌ویژه سطح ۱ گرم بر کیلوگرم می‌تواند تأثیرات مثبتی در پارامترهای خونی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به‌ویژه گلبول سفید، که جزء فاکتورهای دفاعی بدن است، داشته باشد.

تقدیر و تشکر

از مدیریت و کارکنان محترم مزرعهٔ پرورش ماهیان سردآبی پارس قزل، مدیریت و کارکنان محترم آزمایشگاه دانشگاه آزاد اسلامی واحد بابل، استاد محترم جناب آقای مهندس صادق کریم‌زاده همچنین، از سرکار خانم مهندس سیده کژال میره‌بیگی و دوستان بزرگوار آقایان حمید باقرپور، میثم رامشگر، امیر مزرعه‌نسب، علی ابویی، هاتف ولی‌زاده و اویس قاسمپور، که در این پروژه نهایت همکاری را داشتند، سپاسگزاریم.

References

[1]. Ahmadifar, E., Jalali, M.A., Sudagar, M., Azari takami, Gh., Mohammadi Zaraj Abad, A., 2009. Effects of AquaVac Ergosan on growth performance, survival And haematological factors in beluga (*Huso huso*) juvenile. Journal of Agriculture and Science Natural Resources 16, 72-80. (In Persian)

[2]. Akrami, R., Ghelichi, A, Gharaei, A., 2010. The use of prebiotics in aquaculture. Journal of Fisheries 4, 77-84. (In Persian)

[3]. Akrami, R., Razeghi Mansour, M., Chitsaz, H., Ziaee, R., Ahmadi, Z., 2012. Effect of Dietary Mannan Oligosaccharide on Growth Performance, Survival, Body Composition and Some Hematological Parameters of Carp Juvenile (*Cyprinus Carpio*). Journal of Animal Science Advances 2, 879-885.

[4]. Akrami, R., Razeghi Mansour, M., Ghobadi, Sh., Ahmadifar, E., Shaker Khoshroudi, M, Moghimi Haji, M.S., 2013. Effect of prebiotic mannan oligosaccharide on hematological and blood serum biochemical parameters of cultured juvenile great sturgeon (*Huso huso* Linnaeus, 1754). Journal of Applied Ichthyology 29, 1214-1218.

[5]. Andrews, S.R., Sahu, N.P., Pal, A.K., Kumar, S., 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.

[6]. Borges, A., Scotti, L.V., Siqueira, D.R., Jurinitz, D.F., Wassermann, G.F., 2004. Hematologic and serum biochemical values for jundia´ (*Rhamdia quelen*). Fish Physiology and Biochemical 30, 21-25.

[7]. Feldman, B.F., Zinkl, J.G., Jian, N.C., 2000. Schalm's veterinary hematology. Lippincott Williams and Wilkins publication, Canada: 1120-1125.

[8]. Ghiasi, F., Mirzargar, S.S., Salar Amoli, J., Bahonar, A., Ebrahimzadeh Mousavi, H.A., 2010. Study on Hematology and Serum Biochemistry of Common Carp (*Cyprinus carpio*) After Low Cadmium Concentration Exposure. Journal of Veterinary Research 65, 61-66. (In Persian)

[9]. Ghobadi, Sh., Matin Far, A., Nezami, Sh.A., Soltani, M., 2009. Influence of supplementary enzymes Avizyme on fish meal replacement by soy bean meal and its effects on growth performance and survival rate of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Journal of Fisheries 3, 11-22. (In Persian)

[10]. Gibson. G.R., Roberfroid. M.B., 1995. Dietary modulation of the colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. Journal of Nutrition 125, 1401-1412.

[11]. Gültepe, N., Hisar, O., Salnur, S., Hoşsu, B., Tanrikul, T.T., Seyit, A., 2012. Preliminary Assessment of Dietary Mannanoligosaccharides on Growth Performance and Health Status of Gilthead Seabream *Sparus auratus*. Journal of Aquatic Animal Health 24, 37-42.

[12]. Hisano, H., Barros, M.M., Pezzato, L.E., 2007. Levedura e zinco como pró-nutrientes em rações para tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*). Aspectos hematológicos. Boletim do Instituto de Pesca 33, 35-42.

[13]. Khadjeh, G.H., Pyghan, R., Mesbah, M., Rasekh, R., 2008. A comparative study on haematological parameters of culturing Benni (*Barbus sharpeyi*) and Grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). Iranian Veterinary Journal 4, 24-36. (In Persian)

[14]. Oujifard, A., Abedian, A., Hosseini, A., Yeganeh, V., 2010. Effect of dietary inulin on the growth performance, muscle chemical composition and some hemolymph parameters of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei* Boone, 1931). Journal of Fisheries 4, 23-34. (In Persian)

[15]. Racicot, J.G., Gaudet, M., leray, C., 1975. Blood and liver enzymes in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) with emphasis on their diagnostic use: study of CCl4 toxicity and a case of Aeromonas infection. Journal of Fish Biology 7, 825-835.

[16]. Sado, R.J., Bicudo, A.J.D.A., Cyrno, J.E.P., 2008. Feeding dietary mannan oligosaccharid to juvenile nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), has no effect on hematological parameters and showed decreased feed consumption. Journal of World Aquaculture Society 39, 821-826.

[17]. Savage, T.F., Zakrzewsla, E.I., Andreasen, J.R., 1997. The effect of feeding mannan oligosaccharide supplemented diets to poult on performance and morphology of the small intestine. Poultry Science 76, 139P.

[18]. Shahsavani, D., Mohri, M., Taghvaeimoghadam, E., 2007. Determination of Concentration of Some Blood Serum Enzymes of *Huso huso*. Journal of Veterinary Research 62, 127-129. (In Persian)

[19]. Shaker Khoshroudi, M., 2011. Effect of dietary mannan oligosaccharide on growth performance, survival, some haematological and serum biochemical parameters of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) juveniles. M.A. thesi, Islamic Azad University, Babol Branch, Iran, 57 p. (In Persian)

[20]. Stoskopf, M.A., 1993. Fish medicine. Sounders Company, U.S.A, 882p.

[21]. Svetina, A., Matasin, Z., Tofant, A., Vucemilo, M., Fijan, N., 2002. Haematology and some blood chemical parameters of young carp till the age of three years. Acta Veterinaria Hungarica 50, 459-467.

[22]. Ta'ati, R., Soltani, M., Bahmani, M., Zamini, A.A., 2011. Growth performance, carcass composition and immunophysiological indices in juvenile great sturgeon (*Huso huso*) fed on commercial prebiotic, Immunoster. Iranian Journal of Fisheries Sciences 10, 324-335.

[23]. Welker, T.L., Lim, C., Yildirim-Aksoy, M., Shelby, R., Klesius, P.H., 2007. Immune response and resistance to stress and *Edwardsiella ictaluri*, fed diets containing commercial whole-cell yeast or yeast subcomponents. Journal of World Aquaculture Society 38, 24-35.

[24]. Van Loo, J., Cummings, J., Delzenne, N., Franck, A., Hopkins, M., MacFarlane, G., Newton, D., Quigely, M., Roberfroid, M., Van Vliet, T., Van den Heuvel, E., 1999. Functional food properties of non-digestible oligosaccharide: a consensus report from the ENDO project (DGXII AIRII-CT94–1095). British Journal of Nutrition 81, 121-132.

[25]. Williams, R.W., Warner, M.C., 1976. Some observation on the stained blood cellular elements of *Ictalurus punctatus*. Journal of Fish Biology 9, 491-497.

[26]. Ye, J.D., Wang, K., Li, F.D., Sun, Y.Z., 2011. Single or combined effects of fructo- and mannan oligosaccharide supplements and *Bacillus clausii* on the growth, feed utilization, body composition, digestive enzyme activity, innate immune response and lipid metabolism of the Japanese flounder *Paralichthys olivaceus.* Aquaculture Nutrition 17, 902-911.