تأثیر سطوح مختلف پربیوتیک مانان الیگوساکارید بر برخی پارامترهای هماتولوژیک و بیوشیمیایی سرم خون فیل ماهیان (*Huso huso* Linnaeus, 1754) جوان پرورشی

مجید رازقی‌منصور[۱]، رضا اکرمی[۲]، شایان قبادی[۳]، کیا امانی‌دنجی[۴] و راوین شعاعی[۴]

تاریخ دریافت: ۸۹/۱۲/۱۰ تاریخ پذیرش: ۹۰/۹/۱۶

خلاصه

پژوهش حاضر به منظور ارزیابی تأثیر سطوح مختلف پربیوتیک مانان الیگوساکارید (MOS; activeMOS®) در سطوح صفر، ۲ و ۴ گرم در کیلوگرم بر برخی پارامترهای هماتولوژیک و بیوشیمیایی سرم خون فیل ماهیان (*Huso huso*) جوان پرورشی بعد از ۴۶ روز پرورش انجام گرفت. خونگیری از شریان دمی و در قسمت انتهای باله مخرجی ۱۸ عدد ماهی به ظاهر سالم (با میانگین وزنی ۲۹/۸± ۲۱۷/۷۷ گرم) در انتهای دوره پرورش به عمل آمد و نتایج با استفاده از آنالیز رگرسیون و ضریب همبستگی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. با توجه به نتایج به دست آمده اضافه کردن مانان الیگوساکارید به جیره منجر به تفاوت معنی‌داری در میزان لنفوسیت در تیمار شاهد و ائوزینوفیل در تیمار ۲ گرم در کیلوگرم مانان الیگوساکارید نسبت به سایر تیمارها گردید ($P<۰/۰۵$). همچنین در فاکتور کراتینین در تیمار ۲ گرم در کیلوگرم تفاوت معنی‌داری نسبت به سایر تیمارها مشاهده شد ($P<۰/۰۵$). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که سطوح مختلف پربیوتیک مانان الیگوساکارید مورد مطالعه تأثیری بر پارامترهای خونی در فیل ماهی جوان پرورشی ندارند و این پربیوتیک نمی‌تواند مکمل مناسبی برای جیره غذایی فیل ماهی باشد.

کلمات کلیدی: پربیوتیک مانان الیگوساکارید، پارامترهای خونی، فیل ماهی (*Huso huso*) پرورشی

مقدمه

استفاده از مکمل‌های غذایی که در افزایش رشد و بالا بردن سیستم ایمنی نقش دارند از جمله راهکارهایی می‌باشند که در افزایش سلامت، مقاومت نسبت به استرس و عوامل بیماری‌زا می‌توانند مفید واقع شوند (۲). از جمله این مکمل‌های غذایی می‌توان به پربیوتیک‌ها (Prebiotics) اشاره کرد. پربیوتیک‌ها عناصر غذایی غیر قابل هضمی هستند که از طریق تحریک رشد یا فعال کردن یک یا تعداد محدودی از گونه‌های باکتریایی که در روده وجود دارند، اثرات سودمندی بر میزبان داشته و سلامتی آن را بهبود می‌بخشند (۱۷). بیشترین موادی که به عنوان پربیوتیک در تغذیه انسان‌ها و حیوانات مورد بررسی قرار گرفته‌اند، کربوهیدرات‌ها هستند (۲). مانان-الیگوساکارید یک کربوهیدرات پیچیده می‌باشد که از دیواره سلولی مخمر *ساکارومایسیس سرویزیا* (*Saccharomyces cerevisiae*) مشتق شده و این ترکیب مانع از اتصال باکتری‌های بیماری‌زا به دستگاه گوارش گردیده و نیز اثرات معکوس متابولیت‌های میکروفلور را کاهش می‌دهد (۲۳). خون به عنوان یک بافت حیاتی

[۱] دانش‌آموخته کارشناسی ارشد تکثیر و پرورش آبزیان، گروه شیلات، دانشگاه آزاداسلامی واحد بابل و عضو باشگاه پژوهشگران جوان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قائم‌شهر E-mail: Razeghi2036@yahoo.com (نویسنده مسئول)

[۲] استادیار گروه شیلات، دانشکده علوم کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد آزاد شهر

[۳] استادیار گروه شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بابل

[۴] دانش‌آموخته کارشناسی ارشد تکثیر و پرورش آبزیان، گروه شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بابل

سیال و سهل الوصول، یکی از مهمترین مایعات بیولوژیک بدن بوده که تحت تأثیر حالات مختلف فیزیولوژیک و پاتولوژیک، ترکیبات آن دستخوش نوسان و تغییر می‌گردد (۶ و ۱۱). فاکتورهای خونی و سرمی ماهیان در گونه‌های مختلف با هم تفاوت داشته و متغیرهایی نظیر شرایط محیطی، تغذیه‌ای، سن (۵ و ۲۱)، گونه، جنس، درجه حرارت آب، ترکیبات شیمیایی، سختی و pH آب، تکنیک‌های نمونه‌گیری، شمارش سلولی و رنگ‌آمیزی (۴) و عوامل استرس‌زایی مانند صید و دستکاری می‌توانند سبب تغییر در سطح فاکتورهای خونی شوند. ماهیان خاویاری یکی از با ارزش‌ترین ماهیان شیلاتی به شمار می‌آیند که متأسفانه در سال‌های اخیر به دلایل مختلفی از جمله صید بی رویه و غیر مجاز، آلودگی‌های زیست محیطی، از بین رفتن مناطق مناسب تخم‌ریزی (۸)، سدسازی روی رودخانه‌ها و محدود شدن آب‌های جاری از طرف سازمان جهانی حفاظت از طبیعت (ICUN) به عنوان گونه در معرض خطر انقراض معرفی شده‌اند (۳). در نتیجه برای حفظ و نگهداری این گونه کمیاب و در حال انقراض، ضرورتاً باید اطلاعات جامع و کاملی از آنها در اختیار باشد (۵). در مورد تأثیر پربیوتیک مانان الیگوساکارید روی پارامترهای خونی ماهیان تعداد محدودی تحقیق صورت گرفته است که از آن جمله می‌توان به تحقیق Hisano و همکاران (۲۰۰۷) روی ماهی تیلاپیا[1]، Welker و همکاران (۲۰۰۷) روی گربه ماهی روگاهی[2]، Sado و همکاران (۲۰۰۸) روی تیلاپیای نیل جوان، Andrews و همکاران (۲۰۰۹) روی گونه راهو[3] و Ye و همکاران (۲۰۱۱) روی کفشک ماهی ژاپنی[4] اشاره کرد (۱۲، ۱۸، ۲۲، ۳۲ و ۳۴). از آنجایی که تاکنون تحقیقی در مورد تأثیر جیره غذایی حاوی پربیوتیک مانان الیگوساکارید روی پارامترهای خونی و بیوشیمیایی فیل ماهی در شرایط پرورشی انجام نشده است، لذا هدف از این پژوهش، بررسی تأثیر سطوح مختلف پربیوتیک مانان الیگوساکارید روی پارامترهای هماتولوژی و بیوشیمیایی سرم خون فیل ماهیان جوان پرورشی در حوضچه‌های فایبرگلاس می‌باشد.

مواد و روش کار

انجام آزمایش

پژوهش حاضر در تابستان ۱۳۸۹ در مرکز تکثیر و بازسازی ذخایر آبزیان شهید رجایی واقع در منطقه دشت ناز ساری (۱۸ کیلومتری شمال شرق ساری) انجام پذیرفت. بدین منظور ۱۳۵ قطعه فیل ماهی جوان پرورشی با میانگین وزنی ۴۶/۸۹±۰/۵۷ گرم در ۹ حوضچه فایبرگلاس با ابعاد ۲×۲×۰/۵ متر و با حجم کل ۲۰۰۰ لیتر که با ۹۰۰ لیتر آب پر شده بود، با تراکم ۱۵ قطعه در هر حوضچه (۱) به مدت ۴۶ روز به میزان ۵-۲ درصد وزن توده زنده که در طول دوره آزمایش متغیر بود، مورد تغذیه قرار گرفتند. در کل دوره آزمایش تمام فاکتورهای کمی و کیفی آب و همچنین ترکیبات غذایی قابل هضم (شامل پروتئین خام: ۳۱/۲۳ درصد، چربی خام: ۱۴/۸ درصد، رطوبت: ۹/۹۵ درصد، خاکستر: ۹/۱۵ درصد، عصاره عاری از ازت: ۳۱/۸۷ درصد و انرژی ناخالص: ۲۱۸۶ کیلو ژول بر گرم) برای تمام حوضچه‌ها یکسان بود، به طوری که در دوره آزمایش دمای آب ۲۲/۷±۰/۷ درجه سانتی‌گراد، اکسیژن ۷/۵±۰/۵ میلی‌گرم در لیتر و pH ۷/۸±۰/۴ در نوسان بود. پربیوتیک مورد استفاده در این آزمایش، مانان الیگوساکارید با نام تجاری اکتیوموس (MOS; ActiveMOS®) ساخت شرکت Biorigin کشور برزیل می‌باشد که از دیواره سلولی مخمر *ساکارومایسیس سرویزیا* مشتق شده است. به منظور بررسی اثر این پربیوتیک بر شاخص‌های هماتولوژی و بیوشیمیایی فیل ماهیان جوان پرورشی، طرح کاملاً تصادفی متعادل شامل دو سطح ۲ و ۴ گرم مانان الیگوساکارید (۳۰)

1- *Oreochromis niloticus*
2- *Ictalurus punctatus*
3- *Labeo rohita*
4- *Paralichthys olivaceus*

به ازای هر کیلوگرم غذا و یک گروه شاهد بدون پربیوتیک با سه تکرار طراحی شد.

نمونه‌گیری و خون‌گیری

در پایان دوره آزمایش، خون‌گیری از فیل ماهیان جوان پرورشی با میانگین وزنی ۲۹/۸±۲۱۷/۷۷ گرم جهت انجام آزمایش‌های هماتولوژی و بیوشیمیایی صورت گرفت. بدین منظور جهت جلوگیری از استرس، ۲۴ ساعت قبل از خون‌گیری، تغذیه ماهیان قطع گردید و از پودر گل میخک به میزان ۰/۲ گرم در لیتر آب (۹) به عنوان ماده بیهوشی استفاده شد. در ادامه، ۱۸ قطعه ماهی (۶ ماهی به ازای هر تیمار) (۱) که از نظر ظاهر سالم و فاقد نشانه‌های بیماری بودند به طور تصادفی انتخاب و برای جلوگیری از ورود موکوس و آب به نمونه خون، ماهیان کاملاً خشک گردیده و از شریان دمی قسمت انتهای باله مخرجی خون‌گیری انجام گردید. از نمونه‌های خون به دست آمده مقدار ۱ سی‌سی در لوله‌های سرولوژی فاقد ماده ضد انعقاد برای جداسازی سرم و ۱ سی‌سی در ظروف حاوی ماده ضد انعقاد هپارین تقسیم گردید. سپس با استفاده از سانتریفوژ با ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه سرم جدا و با سمپلر در لوله‌های کوچک تخلیه و در مجاورت یخ به آزمایشگاه انتقال و در شرایط فریزر (دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد) تا زمان انجام آزمایش نگهداری شدند.

روش اندازه‌گیری پارامترهای هماتولوژی

آزمایش‌های هماتولوژی روی خون حاوی ماده ضد انعقاد هپارین انجام گرفت. در این مطالعه 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) به صورت دستی و با روش‌های متداول آزمایشگاهی مورد سنجش قرار گرفت (۱۶). همچنین شمارش افتراقی گلبول‌های سفید با تهیه گسترش خون و رنگ‌آمیزی آن با رنگ گیمسا انجام شد و برای شمارش گلبول‌های قرمز از محلول رقیق کننده هایم برای رقیق کردن خون استفاده گردید.

روش‌های اندازه‌گیری پارامترهای بیوشیمیایی

اندازه‌گیری پارامترهای بیوشیمیایی با استفاده از دستگاه اتوآنالیزر طبق دستورالعمل شرکت سازنده با استفاده از کیت‌های آزمایشگاهی از نوع Biochemical شرکت پارس آزمون انجام شد. گلوکز به روش گلوکز اکسیداز، کلسترول به روش کلسترول اکسیداز، تری‌گلیسرید به روش آنزیمی لیپاز[1]، اسید اوریک به روش رنگ سنجی اوره‌آز، کراتینین به روش رنگ سنجی ژافه[2]، پروتئین تام به روش بیوره[3]، بیلی‌روبین به روش دیازو[4] و آلبومین به روش بروموکرزول سبز[5] اندازه‌گیری گردید. سنجش آنزیم آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) و لاکتات دهیدروژناز (LDH) به روش رنگ سنجی کینتیک و آلکالین فسفاتاز (ALP) به روش آنزیماتیک کینتیک صورت گرفت (۱۳).

تجزیه و تحلیل آماری

طرح کلی این تحقیق در قالب طرح کاملاً تصادفی برنامه‌ریزی و اجرا گردید. تجزیه و تحلیل آماری شامل محاسبه میانگین، انحراف معیار، آنالیز رگرسیون و ضرایب همبستگی با استفاده از نرم افزار SPSS (Ver. 18) صورت پذیرفت. جهت تعیین همبستگی بین شاخص‌های خونی اندازه‌گیری شده و سطوح متفاوت پربیوتیک مانان الیگوساکارید از آزمون رگرسیون خطی استفاده شد و مقادیر P<۰/۰۵ معنی‌دار تلقی گردید.

1- Lipase/GPO-PAP
2- Jaffe
3- Biuret
4- Diazo with sulphanilic acid
5- Bromocresol green

نتایج

تأثیر پربیوتیک مانان الیگوساکارید بر آنزیم‌های سرمی

نتایج حاصل از تأثیر جیره غذایی حاوی سطوح مختلف پربیوتیک مانان الیگوساکارید روی میانگین برخی آنزیم‌های سرمی خون در فیل ماهیان جوان پرورشی در جدول ۱ ارائه گردیده است. نتایج حاصله، 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 آنزیم‌های ALT(P=۰/۸۸۲، r=۰/۰۵۸)، AST (P=۰/۸۸۹، r=۰/۰۵۵) و ALP (P=۰/۲۰۰ ، r=۰/۴۷۱) وجود داشت، ولی در خصوص LDH همبستگی منفی (P=۰/۷۰۳ ، r= −۰/۱۴۹) مشاهده شد.

جدول ۱: میانگین مقادیر برخی آنزیم‌های سرمی (میانگین±انحراف معیار) خون فیل ماهیان جوان پرورشی تغذیه شده با سطوح متفاوت پربیوتیک مانان الیگوساکارید

تیمار / آنزیم (U/L)	شاهد (n=۶)	۲g/kg MOS (n=۶)	۴g/kg MOS (n=۶)
ALT	۶۸۰ ± ۱۱۸/۴۹ (۵۹۹–۸۱۶)	۶۷۳/۳۳ ± ۲۶۹/۷۲ (۴۸۳–۹۸۲)	۶۵۹ ± ۱۰۴/۶۱ (۵۳۹–۷۳۱)
AST	۲۷/۳۳ ± ۹/۲۹ (۱۷–۳۵)	۲۳ ± ۵/۱۹ (۲۰–۲۹)	۲۸/۳۳ ± ۱۰/۵۹ (۱۷–۳۸)
ALP	۶۸۸ ± ۷۲/۵۰ (۶۰۵–۷۳۹)	۷۰۳/۳۳ ± ۹۹/۷۱ (۵۹۳–۷۸۷)	۸۱۰/۳۳ ±۱۴۸/۴۰ (۶۵۶–۹۵۲)
LDH	۲۱۱۵/۶۶ ±۱۱۴۵/۶۲ (۱۰۹۰–۳۳۵۲)	۲۲۲۳/۳۳ ± ۷۷۰/۸۴ (۱۶۹۶–۳۱۰۸)	۱۸۴۹/۶۶ ± ۶۲۰/۲۲ (۱۱۷۰–۲۳۸۵)

تأثیر پربیوتیک مانان الیگوساکارید بر متغیرهای هماتولوژی

جدول ۲ تأثیر جیره غذایی حاوی سطوح مختلف پربیوتیک مانان الیگوساکارید را روی برخی متغیرهای هماتولوژی در فیل ماهیان جوان پرورشی نشان می‌دهد. نتایج حاصله نشان داد که افزودن پربیوتیک مانان الیگوساکارید در سطوح ۲ و ۴ گرم در کیلوگرم غذا منجر به تفاوت معنی‌داری در میزان گلبول قرمز، گلبول سفید، هماتوکریت، هموگلوبین، حجم متوسط گلبولی (MCV)، هموگلوبین متوسط گلبولی (MCH)، غلظت متوسط هموگلوبین گلبول‌های قرمز (MCHC)، نوتروفیل و مونوسیت در مقایسه با گروه شاهد نگردید (P>۰/۰۵) ولی در میزان لنفوسیت و ائوزینوفیل تفاوت معنی‌داری مشاهده گردید بدین ترتیب که بیشترین و کمترین میزان این دو پارامتر در تیمار شاهد مشاهده گردید. نتایج آنالیز رگرسیون نشان داد همبستگی مثبتی بین افزایش سطح پربیوتیک مانان الیگوساکارید در جیره و تعداد گلبول‌های سفید (P=۰/۹۳۶ ، r=۰/۰۳۲)، حجم متوسط گلبولی (P=۰/۶۹ ، r=۰/۶۳)، هموگلوبین متوسط گلبولی (P=۰/۲۴۹ ، r=۰/۴۲۹)، ائوزینوفیل (P=۰/۰۰۱ ، r=۰/۴۴۱) و منوسیت (P=۰/۶۳۴ ، r=۰/۱۸۵) وجود داشت. اما در خصوص تعداد گلبول‌های قرمز (P=۰/۰۶۳، r=۰/۶۴۱)، هماتوکریت (P=۰/۱۸۱ ، r= −۰/۴۹۰)، و لنفوسیت (P=۰/۴۸۷ ، r= −۰/۲۶۷) همبستگی منفی به دست آمد.

جدول ۲: متغیرهای خون شناختی (میانگین±انحراف معیار) فیل ماهیان جوان تغذیه شده با سطوح متفاوت پربیوتیک مانان الیگوساکارید

تیمار / شاخص	شاهد (n=۶)	۲g/kg MOS (n=۶)	۴g/kg MOS (n=۶)
RBC ($۱۰^{۶}$ mm)	۴/۰۵ ±۱/۲۷[a]	۳/۵۶ ±۰/۴۳ [a]	۲/۶۷ ±۰/۴۱ [a]
WBC ($۱۰^{۳}$ mm)	۱/۹۵ ±۰/۶۲[a]	۲/۱۶ ±۰/۷۳ [a]	۲ ±۰/۹۵ [a]
PCV (٪)	۳۲/۶۶ ±۶/۶۵[a]	۳۰/۶۶ ±۰/۵۷ [a]	۲۸ ±۲/۶۴ [a]
Hb (g/dl)	۱۰/۷۳ ±۲/۲۴[a]	۹/۷۶ ±۰/۳۲ [a]	۸/۵۰ ±۱/۲۵ [a]
MCV (fl)	۸۳۱ ±۱۳۰/۷۷[a]	۸۶۹/۳۳ ±۱۲۱/۷۷ [a]	۱۰۵۷/۶۶ ±۱۴۵/۱۳ [a]
MCH (pg)	۲۷۲/۶۶ ±۴۰/۹۹[a]	۲۷۷ ±۴۰/۵۸ [a]	۳۲۲ ±۶۵/۸۷ [a]
MCHC (٪)	۳۳ ±۰/۰[a]	۳۱/۶۶ ±۰/۵۷ [a]	۳۰/۳۳ ±۲/۳۰ [a]
نوتروفیل(٪)	۱۲/۳۳ ±۱/۵۲[a]	۱۵/۳۳ ±۴/۷۲ [a]	۱۲/۳۳ ±۲/۰۸ [a]
لنفوسیت (٪)	۷۶/۳۳ ±۱/۱۵[a]	۶۴/۳۳ ±۶/۶۵ [b]	۷۲/۳۳ ±۳/۲۱ [ab]
منوسیت (٪)	۲ ±۱[a]	۱/۳۳ ±۰/۵۷ [a]	۲/۳۳ ±۰/۵۷ [a]
ائوزینوفیل (٪)	۹/۳۳ ±۲/۰۸[a]	۱۶ ±۳/۶۰ [b]	۱۳ ±۱ [ab]

حروف غیرمتشابه در هر ردیف، نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در بین تیمارها می‌باشد. اعداد داخل پرانتز نشان دهنده دامنه شاخص‌ها هستند.

تأثیر پربیوتیک مانان الیگوساکارید بر پارامترهای بیوشیمیایی

نتایج حاصل از تأثیر جیره غذایی حاوی سطوح مختلف پربیوتیک مانان الیگوساکارید روی برخی پارامترهای بیوشیمیایی خون در جدول ۳ ارائه شده است. نتایج حاصله تفاوت معنی‌داری را در میزان فاکتورهای گلوکز خون، کلسترول، تری‌گلیسرید، اسید اوریک، پروتئین تام، بیلی‌روبین تام، بیلی‌روبین مستقیم، لیپاز و آلبومین در بین تیمارها نشان نداد (P>۰/۰۵) ولی فاکتور کراتینین در تیمار ۲ گرم در کیلوگرم از افزایش معنی‌داری نسبت به سایر تیمارها برخوردار بود (P<۰/۰۵). نتایج آنالیز رگرسیون حاکی از همبستگی مثبت بین افزایش سطح پربیوتیک مانان الیگوساکارید در جیره و مقادیر برخی پارامترهای بیوشیمیایی خون نظیر تری‌گلیسرید (P=۰/۵۲۷ ، r=۰/۲۴۴)، کراتینین (P=۰/۵۰۶ ، r=۰/۲۷۷)، لیپاز (P=۰/۹۵۴ ، r=۰/۰۲۳) و آلبومین (P=۰/۴۴۲ ، r=۰/۲۹۴) بود ولی در اکثر فاکتورها از قبیل گلوکز (P=۰/۶۹۴ ، r= −۰/۱۵۳)، کلسترول (P=۰/۷۶۲ ، r= −۰/۱۱۸)، اسید اوریک (P=۰/۲۱۴ ، r= −۰/۴۵۹)، پروتئین تام (P=۰/۷۴۹ ، r= −۰/۱۲۵)، بیلی‌روبین تام (P=۰/۵۷۳ ، r= −۰/۲۱۸) و بیلی‌روبین مستقیم (P=۰/۱۴۹ ، r= −۰/۵۲۲) همبستگی منفی مشاهده گردید.

جدول ۳: مقادیر برخی پارامترهای بیوشیمیایی سرم خون (میانگین ± انحراف معیار) فیل ماهیان تغذیه شده با سطوح متفاوت پربیوتیک مانان الیگوساکارید

تیمار / شاخص	شاهد (n=۶)	۲g/kg MOS (n=۶)	۴g/kg MOS (n=۶)
گلوکز(mg/dl)	۷۲/۶۶ ±۷/۲۳[a]	۷۳/۳۳ ±۴/۰۴ [a]	۷۱ ±۴ [a]
کلسترول (mg/dl)	۱۹۰ ±۵۱/۴۱[a]	۱۷۲/۳۳ ±۵۱/۲۴ [a]	۱۷۹/۳۳ ±۲۴/۹۸ [a]
تری گلیسرید (mg/dl)	۵۴۰/۶۶ ±۲۲۴/۰۳[a]	۶۶۲ ±۱۸۱/۵۲ [a]	۴۳۴ ±۱۴۶/۱۶ [a]
اسید اوریک (mg/dl)	۰/۶۶ ±۰/۰۶[a]	۰/۲۹ ±۰/۱۰ [a]	۰/۴۰ ±۰/۳۴ [a]
کراتینین(mg/dl)	۰/۱۶ ±۰/۰۱[a]	۰/۱۹ ±۰/۰۷ [b]	۰/۱۷ ±۰/۰۱ [a]
پروتئین تام (g/dl)	۲/۲۵ ±۰/۲۴[a]	۲/۰۹ ±۰/۲۴ [a]	۲/۱۸ ±۰/۳۱ [a]
بیلی روبین تام (mg/dl)	۰/۰۶ ±۰/۰۳[a]	۰/۰۵ ±۰/۰۳ [a]	۰/۰۴ ±۰/۰۲ [a]
بیلی روبین مستقیم (mg/dl)	۰/۰۴ ±۰/۰۱[a]	۰/۰۲ ±۰/۰۱ [a]	۰/۰۲ ±۰/۰۱ [a]
لیپاز (U/L)	۲۵ ±۲[a]	۲۰/۳۳ ±۶/۳۵ [a]	۲۵/۳۳ ±۹/۶۰ [a]
آلبومین (g/dl)	۰/۷۹ ±۰/۰۷[a]	۰/۶۹ ±۰/۰۵ [a]	۰/۷۴ ±۰/۰۶ [a]

حروف غیرمتشابه در هر ردیف، نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در بین تیمارها می‌باشد. اعداد داخل پرانتز نشان دهنده دامنه شاخص‌ها هستند.

بحث

بر اساس نتایج مطالعه حاضر مشخص شد که افزودن پربیوتیک مانان الیگوساکارید در سطوح ۲ و ۴ گرم در کیلوگرم به جیره فیل ماهیان جوان پرورشی منجر به تفاوت معنی‌داری در میزان فعالیت آنزیم‌های ALT ، AST ، ALP و LDH در مقایسه با گروه شاهد نگردید اما نتایج نشان داد که با افزایش سطح مانان الیگوساکارید در جیره، میزان ALT نیز کاهش پیدا کرد که این امر می‌تواند ناشی از تأثیر مطلوب و مفید سطوح بالاتر پربیوتیک مانان الیگوساکارید در جیره به ویژه در سطح ۴ گرم بر کیلوگرم بر فعالیت آنزیم‌های کبدی باشد. اما در مورد آنزیم ALP عکس این قضیه مشاهده شد. میزان AST، ALP و ALT به عنوان شاخص فعالیت کبد بکار می‌روند و جزء آنزیم‌های با اهمیت در بررسی وضعیت سلامتی ماهیان هستند (۲۰). LDH اغلب برای ارزیابی وجود آسیب‌های بافتی کبد اندازه‌گیری می‌شود (۳۵). آنزیم‌های سرمی تحت تأثیر فاکتورهای فیزیولوژیک و محیطی قرار می‌گیرند. برای مثال نوع جیره غذایی، دمای آب، سن ماهی و شوری آب در میزان آنزیم‌های سرمی و فعالیت آنها مؤثر است (۷). 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 فعال شدن گلبول سفید و افزایش سلامت روده می‌شود و به وفور در پرورش ماکیان و سایر دام‌های پرورشی مورد استفاده قرار می‌گیرد (۲۲). این پیشرفت‌ها روی فاکتورهای خونی، خود می‌تواند از دلایل استفاده از محرک‌های ایمنی در جیره‌های غذایی باشد. شاخص‌های مربوط به خون مانند گلبول‌های قرمز و لوکوسیت‌ها از جمله لنفوسیت‌ها، نوتروفیل‌ها و مونوسیت‌ها یکی از بخش‌های اصلی سیستم ایمنی غیراختصاصی سلولی هستند که نوسان در تعداد آنها می‌تواند به عنوان یک شاخص مناسب در ارتباط با پاسخ ماهیان به عوامل استرس‌زا مطرح باشد (۲۷). در پاسخ به استرس‌های موجود در محیط آبی، کاهش تعداد گلبول‌های سفید می‌تواند بیانگر سرکوب

ایمنی موجود و افزایش میزان آنها نشان دهنده پاسخ به استرس یا عفونت باشد (۱۰). بنابراین، از جمله ارزیابی‌هایی که باید پس از کاربرد محرک‌های ایمنی انجام داد بررسی لیزوزیم در سرم خون، شمارش تعداد کل لوکوسیت‌ها و اریتروسیت‌ها و میزان تکثیر لنفوسیت‌ها در موجودات مورد آزمایش می‌باشد (۱). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که میزان گلبول قرمز، هماتوکریت و نیز لنفوسیت که جزء فاکتورهای دفاعی بدن محسوب می‌شود و در تیمار شاهد از میزان بالاتری برخوردار بودند به طوری که با افزایش سطح مانان الیگوساکارید در جیره میزان این فاکتورها کاهش پیدا کرد که این نتایج می‌تواند نشان دهنده تأثیر سوء کاربرد پربیوتیک مانان الیگوساکارید در جیره غذایی فیل ماهیان جوان پرورشی باشد. از جمله وظایف نوتروفیل‌ها این است که در پاسخ به استرس، عفونت‌های باکتریایی، پروتوزوآیی و التهاب، میزان آن نیز افزایش می‌یابد (۳۱). اگرچه در مطالعه حاضر بیشترین میزان گلبول سفید و نوتروفیل در تیمار ۲ گرم در کیلوگرم مانان الیگوساکارید مشاهده شدند اما تفاوت معنی‌داری در مقایسه با سایر تیمارهای آزمایشی بروز ندادند. گلوکز خون متغیرترین پارامتری است که به میزان بسیار زیادی تحت تأثیر استرس دستکاری و حمل، استرس محیطی، تغییرات فصلی، وضعیت تغذیه‌ای و بلوغ جنسی قرار دارد (۱۹). میزان گلوکز خون ماهیان در شرایط طبیعی بسته به گونه در دامنه ۳۵۰-۲۵ میلی‌گرم در دسی‌لیتر می‌باشد (۲۴). اما در مطالعه حاضر مقدار گلوکز بین ۸۱-۶۷ میلی‌گرم در دسی‌لیتر بود. پروتئین تام پلاسما یک پارامتر وابسته برای ارزیابی وضعیت فیزیولوژیک ماهی است، بنابراین یک ابزار کمکی تشخیصی محسوب می‌شود. از سوئی میزان پروتئین تام و آلبومین می‌تواند وضعیت تغذیه‌ای و سلامتی ماهیان را به تصویر کشاند (۲۸). به طور کلی افزایش در غلظت پروتئین تام و آلبومین می‌تواند به علت واکنش‌های غیر اختصاصی قویتر در ماهی باشد (۲۹) اما در تحقیق جاری کاهش آلبومین و پروتئین تام در تیمارهای حاوی مانان الیگوساکارید می‌تواند حاکی از عملکرد غیرعادی کبد و کلیه باشد. بنابراین محرک‌های ایمنی با تأثیری که می‌توانند روی سیستم ایمنی بدن ایجاد کنند باعث مقاومت بیشتر آبزیان شده و تحت شرایط نامناسب محیطی که ممکن است با استرس‌های خاصی همچون تنش‌های شیمیایی، فیزیکی و عفونی همراه باشد مؤثر واقع شده و در نهایت افزایش بازده تولید را در پی داشته باشند (۱). Hisano و همکاران (۲۰۰۷) گزارش نمودند که مصرف حداقل ۲ درصد مخمر دهیدراته (منبع اصلی مانان الیگوساکارید) در جیره غذایی ماهی تیلاپیا تأثیری بر پارامترهای هماتولوژی نداشت که منطبق با نتایج مطالعه حاضر بود (۱۸). Welker و همکاران (۲۰۰۷) تأثیر پربیوتیک مانان الیگوساکارید را روی گربه ماهی روگاهی با وزن متوسط ۱۰/۶ گرم مورد بررسی قرار دادند و عنوان کردند که در ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی پربیوتیک مانان الیگوساکارید، تفاوتی در پارامترهای هماتولوژی از قبیل گلبول سفید، گلبول قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت نسبت به تیمار شاهد مشاهده نشد که با نتایج پژوهش حاضر مشابهت دارد (۳۲). در آزمایشی که توسط Sado و همکاران (۲۰۰۸) روی ماهیان جوان پرورشی تیلاپیا با سطوح مختلف ۰/۲، ۰/۴، ۰/۶، ۰/۸ و ۱ درصد مانان‌الیگوساکارید به مدت ۴۵ روز انجام شد مشخص گردید که استفاده از این پربیوتیک در سطوح مورد مطالعه منجر به افزایش سطح لکوسیت و همچنین تفاوت معنی‌داری در پارامترهای هماتولوژیک در مقایسه با گروه شاهد نگردید که با نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر مطابقت دارد (۲۲). Andrews و همکاران (۲۰۰۹) با افزودن مانان الیگوساکارید به جیره غذایی ماهیان انگشت قد گونه راهو، پیشرفت معنی‌داری را در میزان گلبول سفید، گلبول قرمز، هموگلوبین، پروتئین سرم، آلبومین و گلوبولین در ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی پربیوتیک مانان الیگوساکارید در مقایسه با تیمار شاهد مشاهده نمودند که با نتایج مطالعه حاضر مغایرت دارد (۱۲). در پژوهشی دیگر، Ye و همکاران (۲۰۱۱) اثرات سطوح

مختلف پربیوتیک‌های فروکتو الیگوساکارید، مانان الیگوساکارید و *Bacillus clausii* را روی فاکتورهای کلسترول و تری‌گلیسرید کفشک ماهی ژاپنی با میانگین وزنی ۲۱ گرم به مدت ۵۶ روز مورد بررسی قرار دادند و عنوان نمودند که تفاوت معنی‌داری در بین تیمارها در مقایسه با تیمار شاهد مشاهده نگردید که با نتایج مطالعه حاضر نیز مطابقت دارد (۳۴). همچنین باید خاطر نشان کرد که اگرچه در مطالعه حاضر پارامترهای ایمونولوژیکی از قبیل فعالیت لیزوزیم، فعالیت آنتی‌باکتریایی و تیتر آنتی‌بادی مورد ارزیابی قرار نگرفت اما پژوهشگران متعددی اثرات مثبت پربیوتیک مانان الیگوساکارید را بر پارامترهای فوق‌الذکر در ماهیان (۲۵، ۲۶ و ۳۰) و نرم تنان (۱۴ و ۱۵) گزارش کردنده‌اند. بر اساس یافته‌های موجود در این بررسی و یافته‌های دیگر پژوهشگران مشاهده می‌شود که فاکتورهایی مانند عوامل محیطی (فصول سال، شوری، دوره نوری، درجه حرارت و تراکم)، عوامل فیزیولوژیکی (گونه آبزی، سیکل تولید مثلی و وضعیت بلوغ، سن، جنس و شرایط تغذیه‌ای)، زمان نمونه‌گیری، چگونگی تهیه نمونه، دقت و حساسیت روش‌های اندازه‌گیری می‌توانند بر فعالیت پارامترهای بیوشیمیایی خون تأثیر گذاشته و باعث اختلاف در نتایج شوند (۳۳). همچنین فرمولاسیون جیره‌های غذایی، نوع پربیوتیک مصرفی، درجه خلوص پربیوتیک مصرفی و میزان مورد استفاده آن در جیره، روش‌های مختلف اضافه کردن پربیوتیک مانان الیگوساکارید به جیره و احتمالاً فلور میکروبی ویژه‌ای که قادر به استفاده از پربیوتیک مانان الیگوساکارید به عنوان سوبسترا هستند به طور قابل ملاحظه‌ای بر خصوصیات ریخت‌شناسی خون اثر می‌گذارند. با توجه به نتایج مطالعه حاضر می‌توان چنین استنباط کرد که سطوح مختلف پربیوتیک مانان الیگوساکارید مورد مطالعه تأثیری بر پارامترهای خونی در فیل ماهی جوان پرورشی ندارند و این پربیوتیک نمی‌تواند مکمل مناسبی برای جیره غذایی فیل ماهی باشد.

تشکر و قدردانی

از ریاست محترم مرکز تکثیر و بازسازی ذخایر آبزیان شهید رجایی ساری جناب آقای دکتر عباس اسماعیلی ملاء، مدیریت محترم بخش ماهیان خاویاری جناب آقای مهندس علیرضا نقوی و پرسنل محترم و زحمتکش این بخش، همچنین از دوستان عزیز و گرامی جناب آقای حمید باقرپور و سرکار خانم ندا کبگانی و همه عزیزانی که به هر عنوان در طول پروژه از مساعدت آنها بهره‌مند بودیم سپاسگزاری می‌گردد.

منابع

۱- احمدی‌فر احسان، جلالی محمدعلی، سوداگر محمد، آذری‌تاکامی قباد و محمدی‌زرج‌آباد اسدالله (۱۳۸۸). اثرات آکواک آرگوسان (AquaVac Ergosan) بر میزان رشد، بازماندگی و شاخص‌های مربوط به خون در فیل ماهیان جوان (*Huso huso*). مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی، جلد شانزدهم، ویژه‌نامه، صفحات ۸۰-۷۲ .

۲- اکرمی رضا، قلیچی افشین و قرایی احمد (۱۳۸۹). کاربرد پربیوتیک‌ها در آبزی‌پروری. مجله شیلات، سال چهارم، صفحات ۸۴-۷۷ .

۳- باغفلکی مریم، شالویی فردین و ایمانپور محمدرضا (۱۳۸۸). رابطه بین برخی از پارامترهای بیوشیمیایی و اسپرم شناختی منی فیل ماهی (*Huso huso*) در حوضه جنوب شرقی دریای خزر. مجله زیست شناسی ایران، جلد ۲۲، شماره ۲، صفحات ۳۲۰-۳۱۲ .

۴- خواجه غلامحسین، پیغان رحیم، مصباح مهرزاد و راسخ رحمان (۱۳۸۷). مطالعه مقایسه‌ای پارامترهای خون‌شناسی ماهی بنی (*Barbus sharpeyi*) و ماهی کپور علفخوار (*Ctenopharyngodon idella*) پرورشی. مجله دامپزشکی ایران، دوره چهارم، شماره ۱، صفحات ۳۶-۲۴.

۵- شاهسونی داور، مهری مهرداد و تقوایی‌مقدم ابراهیم (۱۳۸۶). تعیین مقادیر برخی از سرم خون فیل ماهی خاویاری. مجله تحقیقات دامپزشکی، دوره ۶۲، شماره ۳، صفحات ۱۲۹-۱۲۷.

۶- علی‌محمدی سیدمحمدرضا (۱۳۸۹). بررسی اثر دماهای مختلف بر روی فاکتورهای متابولیکی و خونی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قائمشهر، صفحه ۵۳.

۷- غیاثی فرزاد، میرزرگر سیدسعید، سالارآملی جمیله، باهنر علیرضا و ابراهیم‌زاده‌موسوی حسینعلی (۱۳۸۹). مطالعه پارامترهای خونی و بیوشیمی سرمی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) متعاقب مواجهه با غلظت کم کادمیوم. مجله تحقیقات دامپزشکی دانشگاه تهران، دوره ۶۵، شماره ۱، صفحات ۶۶-۶۱.

۸- فلاحت‌کار بهرام، سلطانی مهدی، علیشاهی مجتبی و زرگر اشکان (۱۳۸۷). تاثیر سطوح مختلف اسید اسکوربیک بر برخی از شاخص‌های ایمنی فیل ماهیان (*Huso huso*) جوان. مجله تحقیقات دامپزشکی دانشگاه تهران، دوره ۶۳، شماره ۵، صفحات ۳۴۳-۳۳۷.

۹- محمدی محمد، عابدیان‌کناری عبدالمحمد، شریعتمداری فرید و محسنی محمود (۱۳۸۱). بررسی اثرات سطوح پروتئین جیره بر شاخص‌های رشد و ترکیبات بدن بچه فیل ماهی (*Huso huso*). مجله علوم و فنون دریایی ایران، سال اول، شماره ۴، صفحات ۱۰۹-۹۹.

10- Adams S.M. (2002). Biological Indicators of Aquatic Ecosystem Stress. American Fisheries Society, Bethesda, MD. 644 pp.

11- Affonso E.G., Polez V.L.P., Correa C.F., Mazoa A.F., Araujo M.R.R. and Moraes G. (2002). Blood parameters and metabolites in teleost fish *Colossoma macropomum* exposed to sulfide or hypoxia. Comparative Biochemistry and Physiology, 33: 375-382.

12- Andrews S.R., Sahu N.P., Pal A.K. and 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.

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

14- Daniels C., Boothroyd D., Davies S., Pryor R., Taylor D. and Wells C. (2006). Bio-Mos® improves growth and survival of cultured lobsters. Shellfish News, 21: 23-25.

15- Daniels C., Boothroyd D., Davies S., Pryor R. and Wells C. (2007). Developing & understanding the use of prebiotics in homarid lobster culture. Aquaculture Health International, 8: 32-35.

16- Feldman B.F., Zinkl J.G. and Jian N.C. (2000). Schalm's veterinary hematology. Lippincott Williams and Wilkins publication, Canada: pp: 1120-25.

17- Gibson G.R. and Roberfroid M.B. (1995). Dietary modulation of the colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. Journal of Nutrition, 125: 1401-12.

18- Hisano H., Barros M.M. and 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(1): 35-42.

19- Khanna S.S. and Singh T. (1971). Studies on the blood glucose level in *Channa punctatus* (Bloch). Acta Zoology, 52: 97-101.

20- Racicot J.G., Gaudet M. and 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.

21- Ross L.G. and Ross B. (1999). Anasthetic and sedative techniques for aquatic animals. 2nd edn. Blackwell Science, Oxford, UK: pp: 22-57.

22- Sado R.J., Bicudo A.J.D.A. and 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.

23- Savage T.F., Zakrzewsla E.I. and 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, p: 139.

24- Shakoori A.R., Iqbal M.J. and Mughal A.L. (1996). Effect of sublethal doses of fenvalerate (a synthetic pyrethroid) administred continuousely for four weeks on the blood, liver and muscles of a freshwater fish (*Ctenophayngodon idella*). Bulletin Environmental Contamination and Toxicology, 57: 487-494.

25- Staykov Y., Denev S. and Spring P. (2005). Influence of dietary mannan oligosaccharides (Bio-Mos®) on growth rate and immune function of common carp (*Cyprinus carpio* L.). Lessons from the past to optimize the future. 35. European Aquaculture Society, Special Publication 35. EAS, Oostende, Belgium. PP: 431-432 in B.Howal and R.Flos, editors.

26- Staykov Y., Spring P., Denev S. and Sweetman J. (2007). effect of mannan oligosaccharide on the growth performance and immune status of raibow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture International, 15: 153-161.

27- Stoskopf M.A. (1993). Fish medicine. Sounders Company, U.S.A, p: 882.

28- Svetina A., Matasin Z., Tofant A., Vucemilo M. and Fijan N. (2002). Haematology and some blood chemical parameters of young carp till the age of three years. ActaVeterinaria Hungarica, 50: 459-467.

29- Ta'ati R., Soltani M., Bahmani M. and 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(2): 324-335.

30- Torrecillas S., Makol A., Caballero M.J., Montero D., Robaina L., Real F. and et al. (2007). Immune stimulation and improved infection resistance in european sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed mannan oligosaccharides. Fish and Shellfish Immunology, 23: 969-981.

31- Verdegem M.C.J., Hilbrands A.D. and Boon J.H. (1997). Influence of salinity and dietary composition on blood parameter values of hybrid red tilapia (*Oreochromis niloticus* & *O.mossambicus*). Aquaculture Research, 28: 453-459.

32- Welker T.L., Lim C., Yildirim-Aksoy M., Shelby R. and 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(1): 24-35.

33- Williams R.W. and Warner M.C. (1976). Some observation on the stained blood cellular elements of *Ictalurus punctatus*. Journal of Fish Biology, 9: 491-497.

34- Ye J.D., Wang K., Li F.D. and 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(4): 902-911.

35- Yilmaz E., Akyurt I. and Mutlu E. (2006). Effects of energetic diets on growth, blood chemistry and liver pathology of African catfish (*Clarias gariepinus*). The Israeli Journal of Aquaculture, 58: 191-197.