

تأثیر پریبیوتیک سلماناکس بر رشد، فاکتورهای هماتولوژیکی و بیوشیمیایی بچه ماهیان قزل آلابی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

المیرا نعیمی^۱، ابراهیم علیزاده دوغیکالایی^۱، حجت الله جعفریان^۲، احسان احمدی فر^۱

^۱گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه زابل، زابل، ایران

^۲گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه کاووس، گنبد کاووس، ایران

(دریافت مقاله: ۲۶ آذر ماه ۱۳۹۷، پذیرش نهایی: ۱۳ اسفند ماه ۱۳۹۷)

چکیده

زمینه مطالعه: افزایش جمعیت و تأمین غذا یکی از مهم‌ترین مشکلات جهان بوده و در این راستا پرورش آبزیان نقش مهمی را در تولید و تأمین غذای مورد نیاز انسان ایفا می‌کند.

هدف: این مطالعه به منظور بررسی اثر پریبیوتیک سلماناکس بر عملکرد رشد، فاکتورهای هماتولوژیکی و بیوشیمیایی بچه ماهیان ماهی قزل آلابی رنگین کمان انجام شد.

روش کار: برای این منظور ۷۸۰ قطعه بچه ماهی قزل آلابی رنگین کمان با میانگین وزنی 18 ± 2 g در چهار گروه هر کدام با سه تکرار به صورت تصادفی تقسیم شدند. سلماناکس به میزان ۰، ۲، ۴ و ۶ درصد به جیره‌های غذایی افزوده شد و ماهیان به مدت ۸ هفته به میزان ۵ درصد وزن بدن در ۳ وعده مورد تغذیه قرار گرفتند. در پایان دوره آزمایش بررسی شاخص‌های رشد، خون‌گیری و تهیه سرم برای آزمایش‌های هماتولوژیکی و بیوشیمیایی انجام شد.

نتایج: نتایج نشان داد که ماهیان تغذیه‌شده با جیره حاوی ۴ درصد پریبیوتیک سلماناکس دارای شاخص‌های رشد (طول نهایی، وزن نهایی، افزایش وزن، درصد افزایش وزن و نرخ رشد ویژه) بهتری در مقایسه با ماهیان شاهد داشتند ($P \leq 0/05$). مقایسه تیمارهای آزمایش نشان داد که شاخص‌های ایمنی با افزایش سطح پریبیوتیک سلماناکس در جیره افزایش معنی‌داری ($P \leq 0/05$) داشتند. به طوری که بیشترین میزان هموگلوبین، گلبول قرمز، گلبول سفید و نوتروفیل مربوط به ماهیان تغذیه‌شده با جیره حاوی ۶ درصد پریبیوتیک سلماناکس بود. همچنین بیشترین میزان ایمنوگلوبین، آلبومین، گلوکز و لیزوزیم و کمترین میزان کلسترول و تری‌گلیسیرید در ماهیان تغذیه‌شده با جیره حاوی ۶ درصد پریبیوتیک سلماناکس مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری ($P \leq 0/05$) با تیمار شاهد داشتند.

نتیجه‌گیری نهایی: افزایش سطوح پریبیوتیک سلماناکس در جیره غذایی باعث بهبود رشد و سیستم ایمنی بچه ماهی قزل آلابی رنگین کمان گردید.

واژه‌های کلیدی: پریبیوتیک سلماناکس، قزل آلابی رنگین کمان، مکمل غذایی، رشد، محرک ایمنی

کپی‌رایت ©: حق چاپ، نشر و استفاده علمی از این مقاله برای مجله تحقیقات دامپزشکی محفوظ است.

(* نویسنده مسئول: تلفن: ۰۵۴-۲۲۳۲۶۰۰، نمابر: ۰۵۴-۲۲۳۲۶۰۰، Email: Ehsan.Ahmadifar@uoz.ac.ir

How to Cite This Article

Naeemi, E., Alizadeh Doughikolaei, E., Jafariyan, H., Ahmadifar, E. (2019). The Effect of Celmanax Prebiotic on Growth, Hematological and Biochemical Parameters of Juvenile *Oncorhynchus mykiss*. J Vet Res, 74(2), 175-185. doi: 10.22059/jvr.2017.243481.2711



مقدمه

جلبکی حاصل از جلبک (*Laminaria digitata*) می‌باشد که سبب کاهش مرگ‌ومیر مربوط به شیوع بیماری‌های قابل پیش‌بینی همراه با تغییرات فصلی در کیفیت و دمای آب، تراکم و دستکاری آبی (صید، رقم‌بندی و حمل‌ونقل آبی) می‌گردد (۱). Mohamadian و همکاران در سال ۲۰۱۷ گزارش کردند که بهبود شاخص‌های رشد در ماهیان تغذیه‌شده با پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کاژئی احتمالاً به بهبود فعالیت‌های گوارشی به‌وسیله‌ی سنتز ویتامین‌ها و افزایش فعالیت آنزیم‌ها مرتبط بوده که منجر به بهبود هضم پذیری و افزایش وزن شده است (۲۶). Mona و همکاران در سال ۲۰۱۵ تأثیر سدیم آلزینات به‌عنوان پروبیوتیک و پروبیوتیک Biogen را بر شاخص‌های رشد و بازماندگی گونه خرچنگ آب شیرین باتلاقی قرمز (*Procambaru clarkii*) در سطوح ۱، ۲، و ۳ درصد بررسی کردند. نتایج به‌دست‌آمده نشان‌دهنده بهبود عملکرد فاکتورهای رشد، بازماندگی و تولید نهایی در تیمارهای آزمایش بوده است (۲۸). Sang و همکاران در سال ۲۰۱۰ دریافتند که استفاده از پروبیوتیک مانان الیگوساکارید به میزان ۴ گرم در هر کیلو گرم جیره خرچنگ دراز آب شیرین (*Cherax destructor*) منجر به بروز اختلاف معنی‌داری در پارامترهای رشد و تغذیه از قبیل وزن نهایی و سرعت رشد ویژه گردید (۳۴). با توجه به پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در سیستم‌های نیمه متراکم، اهمیت تغذیه و سیستم ایمنی در رشد و بقاء آن استفاده از پروبیوتیک سلماناکس در جیره غذایی جهت بررسی چگونگی افزایش ایمنی و تأثیر بر شاخص‌های رشد و فاکتورهای هماتولوژیکی حائز اهمیت است.

مواد و روش کار

محل اجرا و روش آزمایش: این پژوهش در کارگاه ماهیان سردآبی هامون واقع در شهرستان آزادشهر در فضایی به مساحت ۶۵۸ متر مربع به مدت ۸ هفته انجام گردید. در هفته اول برای سازگاری، ابتدا ماهیان با استفاده از جیره شاهد و پس از آن با جیره‌های آزمایش تغذیه شدند. پس از رقم‌بندی تعداد ۷۸۰ بچه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با میانگین وزنی 2 ± 1.8 gr در قالب ۴ تیمار و ۳ تکرار (هر تکرار ۶۵ ماهی) به مدت ۵۶ روز نگهداری شدند. غذادهی بر اساس مشاهدات و مدت زمان مصرف غذا توسط ماهیان به میزان ۵ درصد توده زنده صورت گرفت. ماهیان روزانه در سه وعده صبح، ظهر و شب غذادهی شدند.

طرح آزمایش: در این آزمایش از استخر به عنوان واحدهای آزمایش استفاده گردید. حجم آب داخل هر استخر ۱۰۵ لیتر بود که به‌طور مداوم تعویض می‌گردید. اکسیژن مورد نیاز از طریق اسپلش تأمین گردید. آب ورودی از چشمه و با دبی ۱ تا ۱/۵ لیتر در ثانیه همراه با هوادهی وارد هر کانال می‌گردید. به‌منظور تغذیه بچه ماهیان از پلت خشک محصول شرکت فرادانه استفاده گردید. ترکیب بیوشیمیایی جیره غذایی مورد استفاده در

افزایش رشد جمعیت و بالا رفتن تقاضای مصرف‌کنندگان محصولات شیلاتی، باعث افزایش تقاضای روزافزون و مداوم برای عرضه ماهی و آبی‌پروری گردیده است (۲۸). از این رو تولید ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به‌عنوان یکی از ارزش‌ترین ماهیان اقتصادی و مهم‌ترین گونه سردآبی در صنعت آبی‌پروری کشور ضروری بنظر می‌رسد. لذا تلاش در جهت بهبود شاخص‌های رشد و افزایش قدرت ایمنی این ماهی در برابر بیماری‌های متعدد باکتریایی افزایش فزاینده‌ای یافته است (۳). محرک‌های ایمنی ترکیبات زیستی و یا مواد شیمیایی سنتتیک هستند که واکنش‌های ایمنی را به‌وسیله‌ی ازدیاد عملکرد سلول‌های بیگانه‌خوار، افزایش تولید آنتی‌بادی و افزایش مقاومت در برابر آلودگی‌های پاتوزنی تحریک می‌کنند (۲، ۲۸). امروزه پروبیوتیک‌ها به‌عنوان مکمل‌های غذایی میکروبی جایگزینی مناسب برای آنتی‌بیوتیک‌ها تعریف می‌شوند که می‌توانند شاخص‌های سلامتی میزبان را تحت تأثیر قرار دهند (۱). استفاده از پروبیوتیک‌ها روشی است که از طریق آن می‌توان جمعیت میکروبی دستگاه گوارش را به‌صورت دلخواه تعیین کرد (۹، ۱۱). پروبیوتیک‌ها کربوهیدرات غیرقابل‌هضمی (Non-Digestible Carbohydrate) هستند که می‌توان آن‌ها را طبق اندازه مولکولی‌شان یا میزان پلیمریزاسیون به منوساکاریدها، اولیگوساکاریدها، پلی‌ساکاریدها طبقه‌بندی کرد و 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 بخصوص به‌عنوان یک تحریک‌کننده سیستم ایمنی، موجب افزایش پاسخ ایمنی و مقاومت در برابر بیماری‌ها و عوامل استرس‌زا می‌گردند (۱۰). ماده‌ای که به‌عنوان پروبیوتیک انتخاب می‌شود بایستی دارای معیارهایی مانند هیدرولیز یا جذب نشدن در بخش‌های بالای دستگاه گوارش، تخمیر‌گرزینی به‌وسیله باکتری‌های بالقوه مفید روده و تغییر ترکیب میکروفلور روده‌ای به سمت ترکیبی سالم‌تر باشد. پروبیوتیک سلماناکس مکمل غذایی شامل محیط کشت مخمر، عصاره مخمر و دیواره سلولی مخمر بوده که هم حاوی متابولیت‌هایی است که به‌طور طبیعی در کشت‌های مخمر وجود دارند و هم حاوی مانان‌های مخمیری و قندهایی نظیر بتا گلوکان‌ها، گالاکتوزامین‌ها، مانور و اولیگوساکارید مانان (*Mannooligosaccharide*) می‌باشد. بتاگلوکان به‌عنوان یکی از ترکیبات سلماناکس با اتصال مستقیم به گیرنده‌های پروتئینی موجود بر سطح ماکروفاژها و سایر سلول‌های خونی از جمله نوتروفیل‌ها و فعال کردن آن‌ها سبب حفظ و تقویت سیستم ایمنی می‌گردد (۳۵). بتا گلوکان سبب افزایش درصد بقاء و مقاومت در برابر بیماری گربه‌ماهی روگای (*Ictalurus punctatus*) و ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌گردد (۳۵، ۴۶). همچنین پروبیوتیک سلماناکس می‌تواند موجب افزایش میزان مقاومت و پاسخ‌های ایمنی ماهی و سایر آبزیان در مقابل استرس‌ها گردد (۱۰) و Adel و همکاران ۲۰۱۵. یکی دیگر از محرک‌های سیستم ایمنی ارگوسان (یک محصول

عصاره گل میخک به میزان 25 mg/l بی هوش (۱۶) و در حالت بی هوشی با استفاده از سرنگ با زاویه 45° از ساقه دمی خون گیری صورت گرفت. بخشی از نمونه های خون برای سنجش فاکتورهای خونی شامل شمارش تفریقی گلبول سفید، تعیین میزان نوتروفیل، لنفوسیت و منوسیت، گلبول قرمز، تعیین هماتوکریت و هموگلوبین در لوله های حاوی ماده ضد انعقاد خون قرار گرفت. شمارش گلبول قرمز و سفید خون با استفاده از لام هماسیتومتر انجام شد. اندازه گیری میزان هماتوکریت خون توسط میکروهماتوکریت صورت گرفت. سنجش هموگلوبین به روش سیان مت هموگلوبین با استفاده از کیت تجاری شرکت زیست شیمی صورت گرفت و جذب نوری قسمت فوقانی محلول به وسیله اسپکتروفتومتر در طول موج 540 nm قرائت گردید (۲۹). میزان نوتروفیل، لنفوسیت و منوسیت با تهیه گسترش خونی و رنگ آمیزی با رنگ گیمسا تعیین گردید (۲۴). مقادیر حجم متوسط گلبول قرمز (MCV)، هموگلوبین متوسط سلولی (MCH) و غلظت متوسط هموگلوبین گلبول قرمز (MCHC) بر اساس فرمول های زیر مشخص گردید (۴۳، ۱۴).

$$1) \text{Hb (g/l)} = \text{MCH} \times \text{RBC}^{-1} (\text{millions}/\mu\text{l})$$

$$2) \text{Hb (g/dl)}, \text{HCT}^{-1} (\%) = \text{MCHC}$$

$$3) \text{HCT} (\%), \text{RBC}^{-1} (\text{g/l}) = \text{MCV}$$

بخش دیگری از نمونه های خون در لوله های فاقد ماده ضد انعقاد خون قرار گرفته و پس از تشکیل لخته، سرم خون با استفاده از سانتریفیوژ به مدت ۱۵ دقیقه و دور 6000 rpm توسط سمپلر از لخته جداسازی شد و در میکروتیوپ های جداگانه قرار گرفت. از سرم به دست آمده برای سنجش فاکتورهای پروتئین کل، آلبومین، ایمونوگلوبین، اسیداوریک، تری گلیسرید، گلوکز، آلانین آمینوترانسفراز، آسپارات آمینو ترانسفراز، کلسترول، بیلی روبین و لیزوزیم استفاده گردید. تعیین میزان آلانین آمینوترانسفراز و آسپارات آمینو ترانسفراز به روش آنزیماتیک کینتیک صورت گرفت (۳۶). میزان آلبومین، پروتئین کل، اسیداوریک، بیلی روبین و ایمونوگلوبین با استفاده از کیت های آزمایشگاهی (شرکت پارس آزمون، تهران) و به وسیله دستگاه اتوآنالایزر (مدل Eurolyser, Belgium) اندازه گیری گردید (۸). اندازه گیری گلوکز و کلسترول سرم خون به روش آنزیماتیک گلوکز اکسیداز و کلسترول پراکسیداز انجام گرفت. بدین منظور از دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل RA، ۱۰۰۰، شرکت Technicon، ساخت کشور آمریکا) و به کارگیری کیت های Man ایران) میزان گلوکز و کلسترول برحسب mg/dl محاسبه گردید (۴۳). تعیین میزان تری گلیسرید به روش آنزیمی گلیسروفسفات دهیدروژناز (GOT، PAP) انجام شد. برای سنجش میزان لیزوزیم سرمی از روش توصیه شده توسط Ellis در سال ۱۹۹۰ استفاده شد. فعالیت مکمل فرعی Alternative complement activity (ACH₅₀) بر اساس روش نورسنجی سنجیده شد (۱۲).

تجزیه و تحلیل آماری داده ها: ابتدا نرمال بودن داده ها با آزمون

تحقیق شامل (پروتئین خام ۵۵ درصد، خاکستر ۱۰ درصد، چربی خام ۱۴ درصد، فیبر خام ۱/۵ درصد، رطوبت ۱۰ درصد، کربوهیدرات ۱۰ درصد) بود. به منظور بررسی تأثیر پریبیوتیک سلماناکس (ساخت شرکت ArmAnimal Nutrition and Hammer کشور آمریکا) بر رشد، پارامترهای خونی و سرمی ماهیان، چهار تیمار غذایی تهیه گردید. ابتدا غذای کنسانتره، پریبیوتیک سلماناکس و ژلاتین (به منظور کاهش میزان حل شدن پلت های غذایی در آب) توسط ترازوی دیجیتال با دقت 0.01 gr به صورت جداگانه وزن، سپس پریبیوتیک سلماناکس (چهار سطح صفر، ۲، ۴ و ۶ درصد جیره) با آب (به میزانی که مخلوط به صورت خمیر سفت در آید) و ژلاتین (به میزان ۳ درصد غذای کنسانتره) مخلوط و به غذای کنسانتره پودری شکل اضافه گردید (۱۵). خمیر به دست آمده پس از عبور از چرخ گوشت با قطر 2 mm به مدت ۲۴ ساعت در آون در دمای 75°C کاملاً خشک گردید. پس از خشک شدن غذا، پلت ها شکسته و در کیسه های نایلونی مناسب بسته بندی و در یخچال (4°C) تا زمان مصرف نگهداری گردید. اندازه گیری عوامل فیزیکی و شیمیایی آب همچون اکسیژن محلول، دمای آب و pH به صورت روزانه به وسیله دستگاه های دیجیتال قابل حمل مارک (WTW) با دقت 0.01 صورت گرفت. اکسیژن محلول بین $7-9 \text{ mg/l}$ ثبت گردید. pH آب حدود $7.35-8.14$ بود. دامنه تغییرات درجه حرارت آب نیز بین $14-16.3^\circ \text{C}$ ثبت گردید. جهت بررسی تأثیر پریبیوتیک سلماناکس بر چگونگی رشد بچه ماهیان قزل آلا رنگین کمان هر ده روز یک بار اقدام به انجام زیست سنجی گردید. میانگین طول کل ماهی های هر تکرار مورد اندازه گیری قرار گرفت. میانگین وزن کل هر تکرار نیز مبنای محاسبه ی غذایی مصرفی در هفته محاسبه شد.

سنجش فاکتورهای رشد: در پایان هفته هشتم و پس از گذشت ۲۴

ساعت از زمان قطع تغذیه و اطمینان از دفع کامل محتویات لوله گوارش، شاخص های رشد شامل افزایش رشد بدن، درصد افزایش وزن، نرخ رشد ویژه، ضریب تبدیل غذایی، کارایی غذا، فاکتور وضعیت و میزان غذایی خورده با استفاده از فرمول های زیر محاسبه گردیدند (۴).

افزایش وزن بدن (GR) = میانگین وزن انتهای دوره به GR (- میانگین

وزن ابتدای دوره GR)

درصد افزایش وزن = وزن انتهای دوره به GR (- وزن ابتدای دوره به

GR) $\times 100$

نرخ رشد ویژه = (لگاریتم طبیعی وزن انتهای دوره به GR) - لگاریتم

طبیعی وزن ابتدای دوره به GR) \times (زمان - ۱) $\times 100$

فاکتور وضعیت = وزن GR / (طول cm) $\times 100$

غذای خورده شده روزانه = [زمان / ۵] \times (وزن اولیه GR) \times وزن نهایی

GR / (کل غذای خورده شده $\times 100$)

فاکتورهای خون شناسی و سرمی: پس از اتمام دوره پرورش، ۲۴

ساعت قبل از خون گیری غذادهی ماهیان قطع شده و سپس ماهیان با



جدول ۱. تأثیر جیره حاوی سطوح مختلف سلماناکس (درصد) بر شاخص‌های رشد بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان. حروف کوچک متفاوت (a, b, c) در هر ردیف نشان دهنده تفاوت معنی‌دار بین تیمارهای مختلف می‌باشد ($P \leq 0.05$). طول اولیه (Li)، وزن اولیه (Wi)، طول نهایی (FL)، وزن نهایی (FW)، افزایش وزن (WG)، درصد افزایش وزن (BWI)، نرخ رشد ویژه (SGR)، فاکتور وضعیت (CF).

شاخص	شاهد	۲	۴	۶
Li (cm)	۱۰/۴۱±۰/۱۷	۱۰/۶۷±۰/۰۵	۱۰/۴۷±۰/۳۳	۱۰/۶۰±۰/۱۰
Wi (gr)	۱۹/۱۱±۰/۰۳	۱۹/۰۸±۰/۰۷	۱۹/۰۶±۰/۰۴	۱۹/۰۸±۰/۰۴
FL (cm)	۱۷/۳۳±۰/۵۸ ^{ab}	۱۷/۵±۰/۸۷ ^{ab}	۱۸/۳۳±۰/۲۶ ^a	۱۶/۳۳±۰/۲۶ ^b
BW (gr)	۲۸/۶۷±۰/۱۵ ^b	۸۲/۶۷±۰/۵۳ ^b	۹۳/۰۰±۰/۷۰ ^a	۶۷/۰۰±۰/۲۹ ^c
WG (gr)	۵۹/۴۲±۰/۰۴ ^b	۶۳/۵۸±۰/۵۳ ^b	۷۴/۰۹±۰/۰۸ ^a	۴۲/۰۲±۰/۲۷ ^c
BWI (gr)	۷۵/۵۴±۰/۲۲ ^b	۷۶/۹۱±۰/۴۴ ^b	۷۹/۶۶±۰/۳۱ ^a	۶۸/۷۲±۰/۲۹ ^c
SGR (درصد)	۲/۳۴±۰/۰۲ ^b	۲/۴۴±۰/۰۳ ^b	۲/۶۵±۰/۰۳ ^a	۱/۹۴±۰/۱۵ ^c
CF	۱/۴±۰/۱۷	۱/۵۴±۰/۳۳	۱/۵۶±۰/۲۲	۱/۵۲±۰/۱۳

جدول ۲. تأثیر جیره حاوی سطوح مختلف مکمل غذایی سلماناکس (درصد) بر پارامترهای خونی بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان. حروف کوچک متفاوت (a, b, c) در هر ردیف نشان دهنده تفاوت معنی‌دار بین تیمارهای مختلف می‌باشد ($P \leq 0.05$). هماتوکریت (HTC)، هموگلوبین (Hb)، گلبول قرمز (RBC)، گلبول سفید (WBC)، لنفوسیت (Lym)، نوتروفیل (Neu)، منوسیت (Mon)، حجم متوسط گلبول قرمز (MCV)، میزان متوسط هموگلوبین (MCH)، غلظت متوسط هموگلوبین (MCHC).

پارامتر	شاهد	۲	۴	۶
HTC (درصد)	۴۲/۰۰±۰/۳۶۱	۴۲/۰۰±۰/۷۲۳	۴۴/۰۰±۰/۲/۰۰	۴۷/۰۰±۰/۲/۶۵
Hb (درصد)	۶/۰۰±۰/۴۰ ^b	۶/۲۳±۰/۲۱ ^b	۶/۶۰±۰/۳۶ ^{ab}	۶/۹۷±۰/۲۱ ^a
RBC (TC/mm ³)	۷/۰۴±۰/۰۶ ^b	۰/۹۹±۰/۰۶ ^b	۱/۰±۰/۱۱ ^b	۱/۲۸±۰/۱۱ ^a
WBC (TC/mm ³)	۸۲۶/۰۰±۰/۳۴۲/۲۰ ^c	۹۹۳/۶۷±۰/۶۳/۳۲ ^{bc}	۱۱۶۰۳/۳۳±۰/۱۵۵۳/۰۷ ^{ba}	۱۲۵۰۰/۰۰±۰/۱۲۰۰/۰۰ ^a
(μ/ml) Lym	۹۶/۱۷±۰/۷۰۵ ^a	۹۲/۴۰±۰/۲/۶۹ ^{ab}	۸۹/۱۰±۰/۳/۰۵ ^b	۸۶/۹۷±۰/۶/۹۹ ^b
Neu (درصد)	۲/۳۹±۰/۱۸ ^b	۶/۲۸±۰/۷/۳۱ ^{ab}	۹/۵۶±۰/۷/۴۲ ^{ab}	۱۷/۱۳±۰/۷/۵۲ ^{abc}
Mon (درصد)	۷/۴۴±۰/۱۱	۷/۳۲±۰/۱۰/۰۶	۷/۳۱±۰/۵/۴	۷/۰۲±۰/۵/۳
(f) MCV	۴۰۵/۸۰±۰/۵۰/۳۳	۴۲۵/۹۰±۰/۴۲/۵۵	۴۰۰/۵۰±۰/۲۷/۸۵	۳۷۰/۰۰±۰/۳۷/۰۴
(pg) MCH	۵۷/۹۰±۰/۵/۶۸	۶۳/۱۳±۰/۴/۹۲	۶۰/۱۰±۰/۴/۶۵	۵۴/۸۳±۰/۴/۷۹
MCHC (درصد)	۱۴/۳۰±۰/۳/۶	۱۴/۸۳±۰/۴/۹	۱۵/۰۰±۰/۲/۰	۱۴/۸۳±۰/۳/۸

شاخص‌های رشد (طول نهایی، وزن نهایی، افزایش وزن، درصد افزایش وزن و نرخ رشد ویژه) بهتری در مقایسه با ماهیان شاهد بودند ($P \leq 0.05$). بالاترین و پایین‌ترین وزن نهایی به ترتیب در تیمار ۴ درصد و ۶ درصد سلماناکس مشاهده گردید که در مقایسه با تیمار شاهد تفاوت معنی‌داری ($P \leq 0.05$) را نشان می‌دهد. بیشترین درصد افزایش وزن بدن و نرخ رشد ویژه در تیمار ۴ درصد سلماناکس مشاهده گردید که با تیمار شاهد تفاوت معنی‌داری ($P \leq 0.05$) را نشان داد.

فاکتورهای خون شناسی: بیشترین تعداد گلبول قرمز خون ($11/1 \pm$) در تیمار ۶ درصد سلماناکس مشاهده گردید (جدول ۲) که در مقایسه با تیمار شاهد تفاوت معنی‌داری ($P \leq 0.05$) داشت. بیشترین تعداد گلبول سفید ($12500/00 \pm 1200/00$) در تیمار ۶ درصد سلماناکس و کمترین میزان گلبول سفید خون در تیمار شاهد ($342/20 \pm 826/0$) مشاهده گردید. نتایج حاصل از شمارش افتراقی گلبول‌های سفید، تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای ۴ درصد و ۶ درصد سلماناکس با گروه شاهد از حیث درصد

کولموگراف-اسمیرنوف بررسی شد. سپس به منظور تجزیه و تحلیل داده‌ها از تجزیه واریانس یکطرفه (One-way ANOVA) و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن (Duncan test) در سطح معنی‌دار ۵ درصد استفاده گردید. از نرم افزار Spss نسخه ۱۷ برای آنالیزهای آماری استفاده گردید.

نتایج

شاخص‌های رشد: جدول ۱ نتایج شاخص‌های رشد بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان طی ۸ هفته تغذیه با جیره‌های مختلف را نشان می‌دهد. هیچگونه علائم بیماری در بین ماهیان تیمارهای مختلف در انتهای آزمایش مشاهده نگردید. افزودن پروبیوتیک در جیره بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان سبب بهبود شاخص‌های رشد شامل افزایش وزن بدن، درصد افزایش وزن بدن، ضریب رشد ویژه غذایی گردید. نتایج نشان داد که ماهیان تغذیه‌شده با جیره حاوی ۴ درصد پروبیوتیک سلماناکس دارای

جدول ۳. تأثیر سطوح مختلف مکمل غذایی سلماناکس (درصد) بر پارامترهای بیوشیمیایی خون بچه ماهیان قزل آلا رنگین کمان. حروف کوچک متفاوت (a, b, c) در هر ردیف نشان دهنده تفاوت معنی دار بین تیمارهای مختلف می باشد ($P \leq 0.05$). اسپاراتات آمینو ترانسفراز (AST)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آلبومین (Alb)، پروتئین کل (TP)، گلوکز (Glu)، کلسترول (Chol)، تری گلیسرید (TG)، ایمونوگلوبولین (Igm)، اسیداوریک (U asid)، بیلی روبین (Bill Dir)، لیزوزیم (Lyso).

پارامتر	شاهد	۲	۴	۶
(U/l) AST	218/77 ± 2/00	213/20 ± 43/17	216/07 ± 4/76	209/90 ± 5/15
(U/l) ALT	15/43 ± 7/18	14/73 ± 7/16	15/00 ± 3/46	14/43 ± 7/86
(g/dl) Alb	7/67 ± 0/21 ^c	7/90 ± 0/20 ^{bc}	7/30 ± 0/36 ^b	7/83 ± 0/25 ^a
(g/dl) TP	2/77 ± 0/55	2/93 ± 0/42	3/17 ± 0/31	3/60 ± 0/44
(mg/dl) Glu	4773 ± 3/70 ^b	43/20 ± 3/22 ^b	52/27 ± 7/83 ^a	54/53 ± 3/16 ^a
(mg/dl) Chol	23777 ± 6/17 ^a	220/20 ± 4/84 ^{bc}	229/23 ± 7/40 ^{ab}	216/17 ± 2/03 ^c
(mg/dl) TG	429/93 ± 7/90 ^a	410/73 ± 4/76 ^{bc}	419/57 ± 9/51 ^{ab}	404/73 ± 6/40 ^c
(mg/dl) Igm	68/67 ± 16/44 ^b	71/20 ± 3/68 ^b	80/23 ± 4/85 ^{ab}	95/27 ± 4/20 ^a
(mg/dl) U asid	0/32 ± 0/06	0/29 ± 0/07	0/22 ± 0/06	0/20 ± 0/10
(ml/dl) Bill Dir	0/05 ± 0/01 ^{ab}	0/05 ± 0/01 ^a	0/03 ± 0/02 ^b	0/05 ± 0/01 ^{ab}
(μ/ml) Lyso	4/79 ± 0/12 ^b	5/31 ± 0/60 ^{ab}	4/86 ± 0/25 ^b	5/80 ± 0/39 ^a

در تیمار ۶ درصد سلماناکس و کمترین آن در تیمار شاهد مشاهده گردید که در مقایسه با تیمار شاهد تفاوت معنی داری ($P \leq 0.05$) داشت. تفاوت معنی داری در اسید اوریک و بیلی روبین کل سرم خون بین تیمارها مشاهده نشد ($P \geq 0.05$). بالاترین میزان بیلی روبین مستقیم (Bill Dir) در تیمار ۲ درصد سلماناکس (0.01 ± 0.05) مشاهده گردید. ولی اختلاف معنی داری بین تیمار شاهد با تیمارهای مختلف مشاهده نشد ($P \geq 0.05$). مقادیر فعالیت لیزوزیمی در تیمارهای ۲ درصد و ۴ درصد سلماناکس در مقایسه با تیمار شاهد تفاوت معنی داری نداشت ولی بین تیمار ۶ درصد سلماناکس (0.39 ± 0.80) و تیمار شاهد (0.12 ± 0.79) تفاوت معنی داری ($P \leq 0.05$) مشاهده گردید.

بحث

استفاده از مکمل های غذایی که در بالا بردن سیستم ایمنی نقش دارند از جمله راهکارهایی بوده که علاوه بر تامین مواد لازم جهت رشد و نمو موجودات، می توانند در بهبود کیفیت، سلامت و افزایش مقاومت در برابر پاتوژن های بیماریزا و استرس نیز مفید واقع گردند (۳۸). در این میان پریوتیک ها از اهمیت ویژه ای برخوردارند و نتایج مبنی بر تغییر و افزایش فاکتورهای ایمنی و افزایش رشد فیل ماهی (*Huso huso*) گزارش شده است (۱۹، ۴۱).

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که افزودن پریوتیک سلماناکس به جیره غذایی بچه ماهیان قزل آلا رنگین کمان سبب بهبود شاخص های رشد شامل افزایش وزن بدن، درصد افزایش وزن بدن، ضریب رشد ویژه غذایی گردیده است. بالاترین وزن نهایی و بیشترین درصد میزان افزایش وزن بدن، طول نهایی، فاکتور وضعیت و نرخ رشد ویژه در تیمار ۴ درصد سلماناکس مشاهده گردید که با تیمار شاهد تفاوت معنی داری ($P \leq 0.05$) را

لنفوسیت مشاهده شد، بطوریکه بیشترین درصد لنفوسیت مربوط به گروه شاهد ($1/05 \pm 96/17$) بود. بالاترین میزان نوتروفیل در تیمار ۶ درصد سلماناکس بود که در مقایسه با تیمار شاهد تفاوت معنی داری ($P \leq 0.05$) داشت. تفاوت معنی داری در مقدار مونوسیت خون بین تیمارهای مختلف مشاهده نشد. بیشترین مقدار هموگلوبین ($2/65 \pm 47/00$) مربوط به تیمار ۶ درصد سلماناکس بود. اما بین سایر تیمارها تفاوت معنی داری ($P \geq 0.05$) مشاهده نگردید. نتایج نشان داد که بین تیمارهای آزمایش و گروه شاهد از لحاظ میزان هماتوکریت تفاوت معنی داری وجود نداشت. بالاترین میزان هماتوکریت در تیمار ۶ درصد سلماناکس ($2/65 \pm 47/00$) مشاهده گردید. همچنین تفاوت معنی داری در حجم متوسط گلبول قرمز (MCV)، میزان متوسط هموگلوبین (MCH) و غلظت متوسط هموگلوبین (MCHC) در بین تیمارهای آزمایش مشاهده نگردید ($P \geq 0.05$).

شاخص های بیوشیمیایی سرم: نتایج شاخص های بیوشیمیایی پلاسماي خون بچه ماهیان قزل آلاي رنگین کمان در جدول ۳ نشان داده شده است. بر اساس نتایج به دست آمده تفاوت معنی داری در میزان اسپاراتات آمینو ترانسفراز و آلانین آمینو ترانسفراز پلاسما تیمارهای مختلف وجود نداشت ($P \geq 0.05$). بیشترین و کمترین میزان آلبومین به ترتیب در تیمارهای ۶ درصد سلماناکس ($0.25 \pm 7/83$) و شاهد ($0.21 \pm 1/67$) مشاهده گردید. تیمار ۲ درصد سلماناکس در مقایسه با تیمار شاهد تفاوت معنی داری نداشت ($P \geq 0.05$). تفاوت معنی داری در پروتئین کل سرم خون تیمارهای مختلف مشاهده نگردید ($P \geq 0.05$). کمترین میزان گلوکز متعلق به تیمار شاهد و بیشترین آن مربوط به تیمار ۶ درصد سلماناکس بوده است. کمترین و بیشترین میزان کلسترول و تری گلیسرید به ترتیب در تیمارهای ۶ درصد سلماناکس و شاهد مشاهده گردید. در حالیکه تیمارهای ۴ درصد سلماناکس و شاهد تفاوت معنی داری نداشتند (جدول ۳). بالاترین میزان ایمونوگلوبولین



میزان هموگلوبین، تعداد گلبول قرمز و گلبول سفید با افزایش سطح مصرف سلماناکس در جیره افزایش یافت به طوری که بالاترین میزان در ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی ۶ درصد سلماناکس مشاهده گردید و تفاوت معنی داری با سایر تیمارها و تیمار شاهد داشت. نتایج این تحقیق با نتایج Hoseinifar و همکاران در سال ۲۰۱۱ که حاکی از تأثیری الیگوفروکتوز بر فاکتورهای خونی فیل ماهی (*Huso huso*) بود که سبب افزایش مقدار گلبولهای سفید خون و درصد لنفوسیتها گردید، همخوانی دارد (۱۹). Yarahmadi و همکاران در سال ۲۰۱۱ گزارش کردند که استفاده از ویتاسل در جیره غذایی ماهی قزل آلائی رنگین کمان تأثیری روی گلبول قرمز و هموگلوبین نداشت اما هماتوکریت و گلبول سفید را افزایش داد (۴۹). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که با افزایش سطح سلماناکس در جیره میزان لنفوسیت و مونوسیت کاهش پیدا کرد که این نتایج می تواند نشان دهنده تأثیر سوء کاربرد پریبوتیک سلماناکس روی این پارامترها باشد. اگرچه در مطالعه حاضر بیشترین میزان نوتروفیل در تیمار ۶ درصد سلماناکس مشاهده شد که تفاوت معنی داری ($P \leq 0.05$) با تیمار ۲ و ۴ درصد داشت. آنزیمهای سرم در بسیاری از اندامهای حیاتی ماهی به ویژه کبد، قلب و عضلات یافت می شوند. آسیبهای بافتی و بیماریهای این اندامها می تواند باعث آسیب غشای سلولی این اندامها و تخلیه این آنزیمها در افزایش سطح سرمی آنها گردد (۴۵). گلوکز خون پارامتر بسیار تغییرپذیری است که شدیداً تحت تأثیر استرسهای دستکاری و محیطی مانند وضعیت تغذیه ای، تغییرات فصلی و بلوغ جنسی قرار دارد (۳۰). میزان گلوکز خون ماهیان در شرایط طبیعی بسته به گونه ماهی ۲۵ تا ۳۵ mg/dl می باشد (۳۷). اما در مطالعه حاضر میزان گلوکز بین ۴۱ تا ۵۴ mg/dl بود. میزان پروتئین تام پلاسما یک پارامتر وابسته برای ارزیابی وضعیت فیزیولوژیک ماهی است. به طور کلی افزایش درغلظت پروتئین تام و آلبومین می تواند به علت واکنشهای غیر اختصاصی قوی تر در ماهی باشد. در تحقیق حاضر افزایش پروتئین تام و آلبومین نشان دهنده عملکرد مناسب کلیه و کبد تحت تأثیر پریبوتیک سلماناکس می باشد (۴۱). Andrews و همکاران در سال ۲۰۰۷ با افزودن مانان الیگوساکارید به جیره غذایی ماهیان انگشت قد کپور هندی (*Labeo rohita*) افزایش معنی داری را در میزان گلبول سفید، گلبول قرمز، هموگلوبین، پروتئین سرم، آلبومین و گلوبولین ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی پریبوتیک مانان الیگوساکارید در مقایسه با تیمار شاهد مشاهده نمودند (۵) که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد. Hoseinifar و همکاران در سال ۲۰۱۴ گزارش کردند که استفاده از پریبوتیک فروکتوالیگوساکارید دارای اثرات مثبتی بر پارامترهای خونی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) دارد (۲۱). افزایش سطح آنزیمهای سرمی نشان دهنده آشفتهگی سلولی و ورود آنزیمها از سیتوپلاسم سلولها به سرم می باشد. به طوری که در انسان و برخی حیوانات خونگرم از این آنزیمها به عنوان معرفهای آسیبهای بافتی خاص استفاده می شود. در ماهی قزل آلا

نشان داد. Qin و همکاران در سال ۲۰۱۴ گزارش کردند که نرخ رشد ویژه در ماهیان زبرا دانیو (*Danio rerio*) تغذیه شده با پریبوتیک کیتوزان درمقایسه با گروه شاهد تفاوتی نداشت (۳۱). Merrifield و همکاران در سال ۲۰۱۰ تأثیر پدیوکوکوس اسیدی لاکتیسی را بر رشد، شاخص تغذیه ای، کلنی روده و پارامترهای سلامتی ماهی قزل آلائی رنگین کمان بررسی کردند و برخلاف تحقیق حاضر هیچ اثر معنی داری بر فاکتورهای رشد و تغذیه ماهی قزل آلائی رنگین کمان نیافتند (۲۴). اغلب پریبوتیکها در دسته الیگوساکاریدهای غیر قابل هضم قرار می گیرند که به دلیل فقدان آنزیمهای هیدرولیزکننده اتصال نوع β بین واحدهای منوساکاریدی، توسط بسیاری از موجودات از جمله ماهیها قابل جذب نمی باشند. لذا در برابر فرایند گوارش مقاومت کرده و تنها توسط برخی باکتریهای بی هوازی موجود در دستگاه گوارش قابلیت تجزیه شدن می باشند. این باکتریها بیشتر شامل بافییدوباکترها، لاکتوباسیلوسها و بسیاری از باکتریهای اسید لاکتیک بوده که قادرند به طریق تخمیر از الیگوساکاریدها تغذیه نموده و در نهایت اثرات مفیدی برای میزبان به همراه داشته باشند. بنابراین تغذیه ماهی با این نوع کربوهیدراتها می تواند سبب افزایش جمعیت باکتریهای مفید روده به ویژه بافییدوباکترها و باکتریهای اسید لاکتیک شود (۱۸). Hoseinifar و همکاران در سال ۲۰۱۳ بیان کردند که استفاده از پریبوتیک گالاتکوالیگوساکارید در جیره غذایی ماهی کلمه (*Rutilus rutilus*) باعث افزایش رشد این ماهی می شود به طوری که جیره حاوی ۲ درصد پریبوتیک تفاوت معنی داری ($P \leq 0.05$) با سایر تیمارها و گروه شاهد داشت (۲۰). Li و همکاران در سال ۲۰۰۵ بهبود رشد و پارامترهای ایمنی و درصد زنده ماندن ماهیان هیبرید باس راه راه (*Morone chrysops* × *Morone saxatilis*) را تحت تأثیر پریبوتیک تجاری گروبیوتیک و مخمر آجیو گزارش کردند (۲۳). در بررسی انجام شده توسط Akrami و همکاران در سال ۲۰۱۲ مشخص شد که پریبوتیک مانان الیگوساکارید بر فاکتورهای رشد گونه ماهی حوض (*Carassius auratus gibelio*) مؤثر است (۲). Hajibeglou و Sudagar در سال ۲۰۱۱ تأثیری پریبوتیک ایمونووال را روی برخی فاکتورهای رشد (وزن نهایی، طول نهایی و نرخ رشد ویژه) در ماهی پلاتی (*Xiphophorus maculatus*) مورد بررسی قرار دادند و مشاهده کردند این پریبوتیک روی فاکتورهای رشد تأثیری ندارد (۱۷). یکی از شاخصهای مهم و قابل اطمینان جهت تعیین وضعیت سلامت و فیزیولوژی انواع آبزیان، سنجش فاکتورهای خونی بوده که تحت تأثیر تغذیه، عوامل محیطی، سن، سیکل جنسی و سایر موارد فیزیولوژیک می باشد (۶، ۱۳). به طور کلی محققین بر این باورند که فاکتورهای خونی در ماهیان مختلف با هم تفاوت دارد و ارتباط زیادی با شرایط محیط پرورش، اندازه و سن ماهی، نوع گونه، کمیت و کیفیت غذا دارد. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تفاوت معنی داری در میزان هماتوکریت، MCV، MCH و MCHC تیمار شاهد و تیمارهای پریبوتیک سلماناکس وجود نداشت اما

فاکتورهای خونی این ماهی مؤثر نبوده (۴۶) و نتایج Yuji sado and De Almeida در سال ۲۰۰۸ که نشان دادند افزودن ۶ سطح مانان الیگوساکارید به جیره تیلایسای رود نیل هیچ تأثیری بر فاکتورهای خونی این ماهی نداشته و سبب افزایش تعداد گلبول‌های سفید نگردید (۴۹، ۳۳) و همینطور با نتایج Akrami در سال ۲۰۱۲ که نشان داد پریبیوتیک اینولین تأثیری بر فاکتورهای خونی فیل ماهیان جوان (*Huso huso*) ندارد، همخوانی ندارد (۲).

Ranjdoost و همکاران در سال ۲۰۱۸، طی بررسی تأثیر پری بیوتیک سلماناکس و پروبیوتیک باسیلی بر ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) گزارش نمودند استفاده از این پری بیوتیک سبب کاهش استرس در ماهی کپور گردید (۳۲). از سوی دیگر، Jafarian و Bivareh در سال ۲۰۱۹، تأثیر دو پری بیوتیک تجاری ایمکس، سلماناکس مایع و مخلوط آن‌ها باهم در جیره غذایی بچه ماهیان نارس کپور معمولی بر عملکرد رشد، کارایی تغذیه و میزان مقاومت در برابر استرس‌های محیطی بررسی نمودند. نتایج این محققین حاکی از این بود که مدت زمان زنده ماندن ماهیان در برابر استرس‌های محیطی در تمام تیمارهای تحت تأثیر پریبیوتیک به شکل معنی‌داری بالاتر از گروه شاهد بود که همراستا با نتایج تحقیق حاضر می‌باشد بطوریکه در تحقیق حاضر نیز افزایش رشد و بقا ماهیان در نتیجه استفاده از پری بیوتیک مشاهده گردید (۷).

بطور کلی نتایج تحقیق حاضر نشان داد که استفاده از پریبیوتیک سلماناکس در جیره غذایی بچه ماهیان قزل آلا رنگین کمان باعث افزایش میزان گلبول سفید و قرمز، هموگلوبین، هماتوکریت، ایمونوگلوبین و آلبومین گردید. لذا استفاده از پریبیوتیک سلماناکس در جیره غذایی بچه ماهیان قزل آلا رنگین کمان با توجه به بهبود شاخص‌های رشد، تغذیه و بهبود شاخص‌های هماتولوژیکی و بیوشیمیایی بوسیله پرورش دهندگان توصیه می‌گردد.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله نگارندگان مقاله کمال تشکر و قدردانی را از کارشناسان محترم دانشگاه زابل و دانشگاه گنبد کاووس و همچنین کلیه عزیزانی که در انجام این تحقیق ما را یاری فرمودند دارند.

تعارض در منافع

بین نویسندگان هیچ گونه تعارض در منافع گزارش نشده است.

References

- Adel, M., Safari R., Yeganeh, S., Ahmadvand, S., Ahmadvand S. (2015). Effect of a dietary pre-biotic (GroBiotic®-A) on growth performance, hematological, biochemical and immunological

افزایش آنزیم آلکالین فسفاتاز به دنبال برخی استرس‌ها مثل استرس شوری و سموم محیطی و بیماری‌های عفونی گزارش شده است (۴۲). در این مطالعه نیز با افزایش سطح استفاده از پریبیوتیک سلماناکس در جیره ماهی قزل آلا میزان این آنزیم‌ها کاهش پیدا کرد. ALT یا گلوتامیک پیروویک ترانس آمیناز (SGPT) و آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) یا گلوتامیک اکسالوستات ترانس آمیناز (SGOT) آنزیم انتقال دهنده گروه آمین هستند که در برخی از بافت‌های بدن تولید می‌شوند، ولی امروزه به عنوان دو آنزیم برای تشخیص تخریب سلول‌های کبدی و عضلانی کاربرد دارند (۶). کاهش این آنزیم‌ها تحت اثر سلماناکس نشان دهنده تأثیر مثبت این پریبیوتیک بر ماهی قزل آلا رنگین کمان می‌باشد. لیزوزیم یک آنزیم ضد باکتری است که به علت دسترسی به لایه‌ی داخلی پپتیدوگلیکان به طور مؤثری فعالیت نموده و باکتری را تخریب می‌کند. بدین ترتیب به طور غیر اختصاصی از رشد میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا جلوگیری می‌کند (۳۴). همچنین به نظر می‌رسد این آنزیم فعالیت ضد ویروسی داشته و در نتیجه به عنوان یک بخش مهم از مکانیسم دفاع غیر اختصاصی به شمار می‌رود (۹). در این مطالعه نیز بالاترین میزان فعالیت آنزیم لیزوزیم در تیمار ۶ درصد سلماناکس مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری ($P \leq 0.05$) با شاهد و تیمار ۴ درصد داشت. کلسترول ترکیبی ضروری برای ساختار غشای سلولی است. افزایش غلظت کلسترول در سرم خون می‌تواند در نتیجه آسیب به کبد یا سندرم کلیه و همچنین نشان دهنده عدم تعادل لیپیدهای جیره باشد (۲۲). در این مطالعه، کلسترول خون در ماهیان تیمار شده با سلماناکس در مقایسه با تیمار شاهد کاهش یافت. میزان تری‌گلیسرید در تیمار ۴ درصد سلماناکس بالاتر از بقیه تیمارها بود که تفاوت معنی‌داری ($P \leq 0.05$) با تیمار شاهد و تیمار ۶ درصد سلماناکس داشت. Yarahmadi و همکاران در سال ۲۰۱۱ اثرات سطوح مختلف پریبیوتیک‌های فروکتوالیگوساکارید، مانان الیگوساکارید و *Bacillus clausii* را روی فاکتورهای کلسترول و تری گلیسرید کفشک ماهی ژاپنی (*Cleisthenesher zensteini*) مورد بررسی قرار دادند و گزارش کردند که تفاوت معنی‌داری بین تیمارها در مقایسه با تیمار شاهد وجود ندارد (۴۹) که با نتایج مطالعه حاضر مغایرت دارد. میزان اسید اوریک و بیلی‌روبین تیمارها با شاهد تفاوت معنی‌داری نداشت. بر اساس یافته‌های موجود در این تحقیق 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 تولیدمثلی و وضعیت بلوغ، سن، جنس و شرایط تغذیه‌ای)، زمان نمونه گیری، چگونگی تهیه نمونه، دقت و حساسیت روش‌های اندازه گیری می‌توانند بر فعالیت پارامترهای بیوشیمیایی خون تأثیر گذاشته و باعث اختلاف در نتایج شوند (۴۷). نتایج حاصل از این تحقیق با نتایج Welker و همکاران در سال ۲۰۰۷ که نشان دادند اضافه کردن پریبیوتیک مانان-الیگوساکارید در جیره گربه ماهی روگامی (*Ictalurus punctatus*) بر



- parameters of juvenile beluga (*Huso huso*). Res J, 4(3), 89-100.
2. Akrami, R., Chitsaz, H., Hezarjaribi, A., Ziaei, R. (2012). Effect of dietary mannan oligosaccharide on growth performance and immune response of Gibel carp juveniles (*Carassius auratus gibelio*). J Veter Adv, 2(10), 507-513.
 3. Akrami, R., Haji Moradlou, M., Matinfar, A., Abedi, K., Ali Mohammadi, A. (2009). Effects of different levels of prebiotic inulin diet on growth indices, nutrition, survival rate and body composition of young freshwater fish. J Res Gor Uni Agric Sci Nat Res, 13-15.
 4. Alishahi, M., Ranjbar, M., Ghorbanpour, M., Peyghan, R., Mesbah, M., Razijalali, M. (2010). Effects of dietary *Aloe vera* on specific and nonspecific immunity of Common carp (*Cyprinus carpio*). J Vet Res, 43, 85-91. <https://doi.org/10.3923/javaa.2011.1209.1213>
 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. Aquat Res, 41, 61-69. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2009.02304.x>
 6. Ayoola, S.O., Uzoamaka, O.O. (2013). Effect of *Allium sativum* on growth, feed utilization and haematological parameters of *Clarias gariepinus* juvenile. Afr J Livestock Exten, 12, 1-7.
 7. Bivareh, M.R., Jafarian, H. (2018). The effect of A-Max, Celmanax liquid and mixed in diet of Common carp (*Cyprinus carpio*) fingerling, on growth indices, and feeding and resistance on environmental stress. J Aquat Dev, 12(4), 1-16.
 8. 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 Physiol Biochem, 30, 21-25.
 9. Choi, S.H., Park, K.H., Yoon, T.H., Kim, J.B., Jang, Y.S., Choe, C.H. (2008). Dietary Korean mistletoe enhances cellular non-specific immune responses and survival of Japanese eel (*Anguilla japonica*). Fish Shell Immun, 24, 67-77. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2007.08.007>
 10. Daniels, C. L., Merrifield, D. L., Boothroyd, D. P., Davies, S. J., Factor, J. R., Arnold, K. E. (2010). Effect of dietary *Bacillus* spp. and mannan oligosaccharides (MOS) on European lobster (*Homarus gammarus* L.) larvae growth performance, gut morphology and gut microbiota. Aquaculture, 304, 49-57.
 11. Djauhari, R., Widanarni, S., Muhammad Agus Suprayudi, Muhammad Zairin, Jr. (2017). Growth performance and health status of Common Carp (*Cyprinus carpio*) Supplemented with Prebiotic from Sweet Potato (*Ipomoea batatas* L.) Extract. Pakis J of Nutri, 16(3), 155-163.
 12. Ellis, A.E. (1990). Lysozyme assays. In: Techniques in Fish Immunology. J.S. Stolen; D.P. Fletcher; B.S. Anderson and W.B. Van Muiswinkel (eds.) SOS Publication, USA. p. 101-103.
 13. Erfan S., Dae-jung K., Mohseni M., Yun H., Bai S. (2015). Effects of salinity changes on hematological responses in juvenile ship sturgeon *Acipenser nudiiventris*. Fish Aquat Sci, 18(1), 45-50. <http://dx.doi.org/10.5657/FAS.2015.0045>
 14. George, I. and N. Teroki. (1999). Fish Immune System Organism, Pathology and Environment. Academ Press. USA. 68p.
 15. Gharaei, A., Esmaili-sari, A., Jafari-Shemoshaki, V., Ghaffari, M. (2008). Belugo (*Huso huso*, Brandet 1896) bioenergetics under dietary methyl mercury. Fish Physiol Biochem, 34, 473-482.
 16. Gholipour Kanani, H., Mirzargar, S.S., Soltani, M., Ahmadi, M., Arabshahifar, A., Bahona, A., Yousefi, P. (2011). Anesthetic effect of tricaine methanesulfonate, clove oil and electro anesthesia on lysozyme activity of *Oncorhynchus mykiss*. Iran J Fish Sci, 10, 393-402.
 17. Hajibeglou, A., Sudagar, M. (2011). Effect of Dietary Probiotic Level on the Reproductive Performance of Female Platy (*Xiphophorus maculatus*). J Agric, 6(3), 119-123. <https://doi.org/10.3923/javaa.2011.1209.1213>
 18. Hasanpour Fattahi, A., Jafaryan, H., Khosravi, A.R. (2015). The combined effects of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* and *Aspergillus niger* on the haematological and biochemical parameters of cultured juvenile beluga (*Huso huso*). J

- Vet Res, 70(4), 463-473.
19. 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 physiol biochem*, 37, 91-96. <https://doi.org/10.1007/s10695-010-9420-9>
 20. Hoseinifar, SH., Khalili, M., Rostami, HK., Esteban, MA. (2013). Dietary galactooligosaccharide affects intestinal microbiota, stress resistance, and performance of Caspian roach (*Rutilus rutilus*) fry. *Fish Shellfish Immunol*, 35, 1416-1420
 21. Hoseinifar, SH., Soleimani, N., Ringø, E. (2014). Haemato-immunological parameters, performance, gut microbiota and stress resistance of carp fry (*Cyprinus carpio*). *Fed dietary fructooligosaccharide*. *Br J Nutr*, 13, 25-37.
 22. Imanpour, M. R., Ahmadi, A. R., Kabir, M. (2011). Effects of sub lethal concentration of Chloramin T on growth, survival, hematocrit and (*Rhamdia quelem*). *Fish Physiol Biochem*, 30, 21-25.
 23. Li, P., Delbert, M., Gatlin, D. M. (2005). Evaluation of the prebiotic GroBiotic TM AE and brewer's yeast as dietary supplements for Sub-adult hybrid Striped bass (*Morone chrysops* × *M.saxatilis*) challenged in situ with *Mycobacterium marinum*. *J Aquac*, 248, 197-205. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.03.005>
 - Merrifield, D.L., Dimitroglou, A., Foey, A., Davies, S.J., Baker, R.T.M., Bogwald, J., Castex, M., Ringo, E. (2010). The current status and future focus of probiotic and prebiotic applications for salmonids. *J Aqua*, 302 (1-2), 1-18. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.02.007>
 25. Mohamadian, T., Zafari, S., Mohiseni, M., Nematdoost, B. (2017). Comparison of different concentration of *Lactobacillus casei* bacteria on some non-specific immune response rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in challenge with lead heavy metal toxicity in the diet. *Aquac Int*, 24, 225-242. <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.71206>
 26. Mohammadian, T., Alishahi, M., Tabande, M.R., Doos Ali, Z., Jangaran Nejad, A. (2017). Effect of different levels of *Lactobacillus casei* on growth performance and digestive enzymes activity of Shirbot (*Barbus gryprus*). *J Vet Res*, 72(1), 43-52.
 27. Mona, M.H., Rizk, E.T., Salama, W.M., Younis, M.L. (2015). Efficacy of probiotics, prebiotics, and immunostimulant on growth performance and immunological parameters of *Procambarus clarkii* juveniles. *J Basic Appl Zool*, 69, 17-25. <https://doi.org/10.1016/j.jobaz.2015.07.002>
 28. Nasopoulou, C., Zabetakis, I. (2012). Benefits of fish oil replacement by plant originated oils in compounded fish feeds. A review. *LWT-Food Sci Tech*, 47(2), 217-224. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2012.01.018>
 29. Noga, E. J. (2010). *Fish disease: Diagnosis sound treatment*. A Black well Publishing Company. p. 374.
 30. Prasad, G., Charles, S. (2010). Haematology and leucocyte enzyme cytochemistry of a threatened yellow catfish (*Horabagrus brachysoma*). *Fish Phys Biochem*, 36, 435-443. <https://doi.org/10.1007/s10695-009-9313-y>
 31. Qin, C., Xu, L., Yang, Y., He, S., Dai, Y., Zhao, H., Zhou, Z. (2014). Comparison of fecundity and offspring immunity in zebrafish fed *Lactobacillus rhamnosus* CICC 6141 and *Lactobacillus casei* BL23. *J Rep*, 147, 53-64. <https://doi.org/10.1530/REP-13-0141>
 32. Ranjdost, M., Jafaryan, H., Harsig, M., Gholi-pour Kananni, H. (2018). The effect of Celmanax prebiotic and five probiotic Bacilli species on the decreasing of stress of common carp (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758) during transportation with different salinity. *J Aquat Sci*, 6(9), 39-50.
 33. Sang, H.M., Fotetar, R., Filer, T. (2010). Effects of dietary mannan Oligosaccharide on the survival, growth, immunity and digestive enzyme activity of fresh water C.rayfish, *Cherax destructor*. *Aquat Natr*, 17(2), 629-635. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2010.00812.x>
 34. Saurabh, S., Shao, P. K. (2008). Lysozyme: an important defence molecule of fish innate immune system. *Aquat Res*, 39, 223-239. <https://doi.org/10.1016/j.aqures.2008.05.002>



doi.org/10.1111/j.1365-2109.2007.01883.x

35. Sealey, W.M., Barrows, Johansen, K.A., Over-
turf, K., Lapatra S.E., Hardy R.W. (2007). Evalu-
ation of the ability of partially autolyzed yeast
and probiotic to improve disease resistance in
rainbow trout. *N Am J Aquac*, 69 (4), 400-406.
36. Shahsavani, D., Mohri, M., Gholipour Kanani,
H. (2010). Determination of normal values of
some blood serum enzymes in *Acipenser stella-
tus* Pallas. *Fish Phys Biochem*, 36, 39-43.
37. Shakoori, A.R., Iqbal, M.J., Mughal, A.L. (1996).
Effect of sublethal doses of fenvalerate (*Asyn-
thetic pyrethroid*) administred continuously for-
four weeks on the blood, liver and muscles of
afreshwater fish (*Ctenophayngodon idella*). *Bul
Environ Contam and Toxicol*, 57, 487-494.
38. Sheikholeslami Amiri, M., Yousefian, M., Ya-
vari, V., Safari, R., Ghiyasi, M. (2012). Evalua-
tion of inulin as prebiotic on Rainbow trout (*On-
corhynchus mykiss*) (Walbaum, 1972) immunity
Characteristics and resistance to *streptococcus*
sp infection. *Iran J Biol*, 24(2), 303-312.
39. Soltani, M., Abdy, E.; Alishahi, M., Taheri Mir-
ghaed, A. (2017). Growth performance, immune-
physiological variables and disease resistance of
common carp (*Cyprinus carpio*) orally subjected
to different concentrations of *Lactobacillus plan-
tarum*. *Aquac Int*, 4, 1-21.
40. Soltani, M., Sheikhzadeh, N., Ebrahimzadeh,
Mousavi, H.A., Zargar, A. (2010). Effects of Za-
taria multiflora essential oil on innate immune
responses of common carp (*Cyprinus carpio*). *J
Fish Aquat Sci*, 5 (3), 191-199.
41. Ta'ati, R., Soltani, M., Bahmani, M., Zamini,
A.A. (2011). Growth performance, carcass com-
position and immunophysiological indices inju-
venile great sturgeon (*Huso huso*) fed on com-
mercial prebiotic, *Immunoster*. *Iran J Fish Scie*,
10 (2), 324-335.
42. Thomas, P.G., Nurthy, T.L. (1976). Studies on
the impact of a few organic pesticides on certain
fish enzymes. *Orissa Uni Agri Tech India*, 46,
619-624.
43. Trinder, P. (1969). Determination of glucose in
blood using glucose oxidase with an alternative
oxygen receptor. *Ann Clin Biochem*, 6, 24-27.
44. Vajpayee, N., Graham, SS., Bem, S., Basic, S.
(2011). Basicexamination of Blood and Bone
Marrow. In: Henrys clinical Diagnosis and Man-
agement by Laboratory Methods. Mcpherson,
R.A., Pincus, MR. (eds.) (22nd ed.). Philadelphia,
Elsevier, USA. 30, 509-535.
45. Velisek, J., Svobodová, Z. (2004). Anaesthesia
of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) with 2-
phenoxy ethanol: Acute toxicity and biochemi-
cal blood profile. *ActaVet Brno*, 73(3), 379-384.
<https://doi.org/10.2754/avb200473030379>
46. Welker, T.L., Lim, C., Yildirim Aksoy, M., Shel-
by, R., Klesius, P.H. (2007). Immune response
and resistance to stress and *Edwardsiella ictal-
uri*, fed diets containing commercial whole cell
yeast or yeast subcomponents. *J World Aquac
Soc*, 38(1), 24-35.
47. Williams, R.W., Warner, M.C. (1976). Some ob-
servation on the stained blood cellular elements
of *Ictalurus punctatus*. *J Fish Biol*, 9, 491-497.
48. Xu, B., Wang, Y., Li, J., Lin, Q. (2009). Effects
of prebiotic xylooligosaccharides on growth
performance and digestive activities of allogy-
nogenetic carp (*Carassius auratus gibelio*). *Fish
Physiol Biochem*, 35, 351-357.
49. Yarahmadi, P., Kolangi Miandare, H., Farah-
mand, H., Mirvaghefi, A., Hoseinifar, SH.,
Dietary, Ye J.D., Wang, K., Li, F.D., Sun, Y.Z.
(2011). Single or combined effects of fructo-
and mannan oligosaccharide supplements and *Bacil-
lus clausii* on the growth, feed utilization, body
composition, digestive enzyme activity, innate
immune response and lipid metabolism of the
Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. *Aquac
Nutr*, 17(4), 902-911. [https://doi.org/10.1111/
j.1365-2095.2011.00863.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2011.00863.x)
50. Yujisado, R., De Almeida, A.J. (2008). Feed-
ing dietary mannan oligosaccharides to juvenile
Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, has no effect
on hematological parameters and showed de-
creased feed consumption. *J World Aquac Soc*,
39(6), 821-826. [https://doi.org/10.1111/j.1749-
7345.2008.00219.x](https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2008.00219.x)

The Effect of Celmanax Prebiotic on Growth, Hematological and Biochemical Parameters of Juvenile *Oncorhynchus mykiss*

Elmira Naeemi¹, Ebrahim Alizadeh Doghikollae¹, Hojatollah Jafariyan², Ehsan Ahmadifar¹

¹Departement of Fisheries, Faculty of Natural Resource, University of Zabol, Zabol, Iran

²Departement of Fisheries, Faculty of Natural Resource, University of Gonbad Kavous, Gonbad Kavous, Iran

(Received 17 December 2018, Accepted 4 March 2019)

Abstract:

BACKGROUND: Increasing population and food provision is one of the most important problems in the world, thus aquaculture plays an important role in the production of food and human needs.

OBJECTIVES: This study was to investigate the effect of Celmanax prebiotic on growth performance, hematological and biochemical factors of juvenile *Oncorhynchus mykiss*.

METHODS: For this study, 780 juvenile rainbow trout with an average weight of 18 ± 2 g were randomly divided into four groups with three replications. 0, 2, 4 and 6 percent of Celmanax were added into diets and the fishes were fed with 5% of body weight for 8 weeks 3 times. At the end of experiment, investigation of the growth indices, blood sampling and serum preparation for hematological and biochemical tests were performed.

RESULTS: The results showed that fishes fed with diets containing 4% Celmanax prebiotic had better growth indices (final length, final weight, weight gain, percentage of weight gain and specific growth rate) compared to control ($P \leq 0.05$). Comparison between experimental treatments demonstrated that immune indices significantly increased with increase of prebiotic levels in the diet ($P \leq 0.05$). So that, the highest level of hemoglobin, red blood cell, white blood cell and neutrophil were related to fishes fed with 6% of Celmanax prebiotic diet. Also, the highest levels of immunoglobulin, albumin, glucose and Isozyme and the lowest levels of cholesterol and triglyceride and cholesterol were observed in fishes fed with 6% of Celmanax prebiotic diet, which showed a significant difference with control ($P \leq 0.05$).

CONCLUSIONS: Increasing levels of Celmanax prebiotic in the diet caused an improvement in the growth and immunity system of rainbow trout.

Keyword:

Celmanax prebiotic, *Oncorhynchus mykiss*, Food supplement, Growth, Immune stimulant

Figure Legends and Table Captions

Table 1. Effect of different levels of Celmanax prebiotic (%) on growth indices of juvenile *Oncorhynchus mykiss*. Small letters (a, b, c) in the same line indicate significant differences ($P < 0.05$) of treatment. Initial length (Li), Initial weight (Wi), Final length (FL), Final weight (FW), Weight gain (WG), Weight gain percentage (BWI), Specific growth rate (SGR), Condition factor (CF).

Table 2. Effect of different levels of Celmanax prebiotic (%) on hematological parameters of juvenile *Oncorhynchus mykiss*. Small letters (a, b, c) in the same line indicate significant differences ($P < 0.05$) of treatment. Hematocrit (HTC), Hemoglobin (Hb), Red blood cell (RBC), White blood cell (WBC), Lymphocyte (Lym), Neutrophil (Neu), Monocyte (Mon), Mean volume red blood cell (MCV), Mean hemoglobin (MCH), Mean hemoglobin concentration (MCHC).

Table 3. Effect of different levels of Celmanax prebiotic (%) on biochemical parameters of juvenile *Oncorhynchus mykiss*. Small letters (a, b, c) in the same line indicate significant differences ($P < 0.05$) of treatment. Aspartate aminotransferase (AST), Alanine aminotransferase (ALT), Albumin (Alb), Total protein (TP), Glucose (Glu), Cholesterol (Chol), Triglyceride (TG), Immunoglobulin (Igm), Uric acid (U acid), Billy Rubin (Bill Dir), Lysos (Lyso).

