Archive of SID

شیلات، مجله منابع طبیعی ایران
دوره ۶۷، شماره ۲، پاییز ۱۳۹۲

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۱/۱۳
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۲/۱۷

ص ۴۵۵-۴۶۵

مطالعهٔ پروفایل هماتولوژی و بیوشیمی سرم قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) تغذیه‌شده با ایمونوژن

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

چکیده

امروزه پربیوتیک‌ها در نقش مکمل‌های غذایی غیر قابل هضم که سلامت گونهٔ میزبان را بهبود می‌دهند، جایگزین داروها و مواد شیمیایی شده‌اند، بنابراین آزمایش اخیر با هدف بررسی اثر ۰/۲ درصد پربیوتیک ایمونوژن در جیره به مدت ۷ هفته در برخی پارامترهای هماتولوژی و پروفایل بیوشیمی سرم قزل‌آلای رنگین‌کمان با میانگین وزنی ۱/۴۵±۸۱/۶۵ گرم انجام گرفت. ۱۲۰ ماهی پس از دورهٔ آداپتاسیون به مدت ۱۰ روز در ۶ عدد تانک فایبرگلاس ۱۰۰۰ لیتری به طور تصادفی تقسیم شدند. ۲ جیرهٔ غذایی با سطوح انرژی و نیتروژن یکسان با ۲ سطح مختلف پربیوتیک ایمونوژن (۰/۰ و ۰/۲ درصد به پیشنهاد کمپانی ICC) آماده شد. غذادهی روزانه در ساعت ۹ و ۱۷ به میزان ۲ درصد وزن بدن انجام می‌شد. در پایان دورهٔ آزمایش از ۳ عدد ماهی به ظاهر سالم در هر تکرار خونگیری به عمل آمد. در خصوص فاکتورهای هماتولوژی مشاهده شد که بین گروه‌ها تعداد کل گلبول قرمز، هموگلوبین، MCV، MCH و MCHC هیچ اختلاف معناداری وجود نداشت (P>۰/۰۵)، اما در گروه تغذیه‌شده با پربیوتیک ایمونوژن تعداد کل لکوسیت‌ها و درصد هماتوکریت به شکل معناداری در مقایسه با گروه شاهد افزایش یافته بود (P<۰/۰۵). در خصوص پارامترهای بیوشیمی سرم مشخص شد که در گروه تغذیه‌شده با پربیوتیک ایمونوژن سطح گلوکز به شکل معناداری افزایش یافته بود (P<۰/۰۵). سطح تری‌گلیسرید و پروتئین کل تفاوت معناداری نداشت، اما سطح کلسترول به شکل معناداری کاهش یافته بود (P<۰/۰۵). در خصوص آنزیم‌های آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آسپارتات آمینوترانسفراز (AST)، لاکتات دهیدروژناز (LDH) و آلکالین فسفاتاز (ALP) سنجش‌شده در سرم بین ۲ گروه هیچ تفاوتی مشاهده نشد (P>۰/۰۵).

واژگان کلیدی: ایمونوژن، پارامترهای بیوشیمی سرم، پربیوتیک، قزل‌آلای رنگین‌کمان، هماتولوژی.

* نویسندهٔ مسئول تلفن: ۰۲۶۳۲۲۴۵۹۰۹
Email: hfarahmand@ut.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

۱.مقدمه

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

پربیوتیک‌ها ترکیبات کربوهیدراتی غیر قابل هضم و قابل تخمیری به شمار می‌روند که به صورت انتخابی رشد و متابولیسم یک گونه یا گونه‌های محدودی از باکتری‌های دستگاه گوارش میزبان را که این‌ها نیز به نوبهٔ خود محرک سلامت میزبان‌اند تحریک می‌کنند (Gibson et al., 2004). پربیوتیک تجاری ایمونوژن شامل مواد محرکی است که قسمت عمدهٔ آن را مانان الیگو ساکارید (۱۸ درصد) و بتا گلوکان (۳۰ درصد) تشکیل داده است که این‌ها خود مواد به‌دست‌آمده از مخمر ساکارومایسیز سرویزیه (*Saccharomyces cerevisiae*) به شمار می‌روند (Ebrahimi et al., 2012).

Dimitroglou و همکاران (۲۰۰۹) نشان داده‌اند که پربیوتیک مانان الیگوساکارید سبب بهبود سطح جذب در رودهٔ قزل‌آلای رنگین‌کمان نابالغ شده است. در مطالعه‌ای دیگر به دنبال استفادهٔ ۰/۲ درصد مانان الیگوساکارید بهبود رشد و پارامترهای ایمنی از جمله فعالیت لایزوزایم، مسیر فرعی کمپلمان و مسیر کلاسیک کمپلمان در قزل‌آلای رنگین‌کمان در محیط کانال‌های جریان‌دار و قفس مشاهده شد (Staykov et al. 2007).

مطالعات انجام‌شده در خصوص پربیوتیک تجاری ایمونوژن نشان داده‌اند که ایمونوژن موجب بهبود رشد و پارامترهای هماتولوژی کپور معمولی *Cyprinus carpio* (Ebrahimi et al., 2012) و بهبود رشد ماهی سفید *Rutilus frisii kutum* (Ebrahimi, 2010) شده است. همچنین، در مطالعه‌ای دیگر مشخص شد ایمونوژن در سطح ۰/۲ درصد سبب افزایش سطح ایمنی قزل‌آلای رنگین‌کمان شده است، به شکلی که سطح بیان ژن لایزوزایم، TNF و فعالیت لایزوزایم سرم، کمپلمان، عیار تیتر آنتی بادی و قدرت باکتری‌کشی سرم پس از ۴۵ روز غذادهی افزایش یافت (Yar Ahmadi et al., 2014). پارامترهای هماتولوژی و پروفایل بیوشیمی سرم قزل‌آلای رنگین‌کمان ابزاری ارزشمند برای بررسی وضعیت فیزیولوژیک، استرسی، متابولیسم، شیوع بیماری و سلامت گونهٔ آبزی به شمار می‌روند (Tukmechi et al., 2011; Stoskopf, 1993).

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

www.SID.ir

Archive of SID

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

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

۲. مواد و روش‌ها

۱.۲. ماهی و غذادهی

برای انجام این آزمایش ۱۲۰ عدد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان سالم با میانگین وزنی ۱/۴۵±۸۱/۶۵ گرم از مزرعهٔ ماهی‌سرای کرج تهیه و به آزمایشگاه بهداشت و بیماری‌های آبزیان گروه شیلات دانشگاه تهران انتقال داده شدند. سپس، با گذشت دورهٔ آداپتاسیون به مدت ۱۰ روز در ۶ عدد تانک فایبرگلاس ۱۰۰۰ لیتری به طور تصادفی پخش شدند. دمای آب روزانه اندازه‌گیری و ثبت می‌شد (۰/۹±۱۷/۱). ۲ جیرهٔ غذایی با سطوح انرژی و نیتروژن یکسان با ۲ سطح مختلف پربیوتیک ایمونوژن (۰/۰ و ۰/۲ درصد به پیشنهاد کمپانی ICC) آماده شد. غذادهی به میزان ۲ درصد وزن بدن در ساعت ۹ و ۱۷ انجام شد.

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

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

www.SID.ir

Archive of SID

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

۲.۲. نمونه‌برداری

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

۳.۲. سنجش پارامترهای هماتولوژی

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

$$MCV = (Hct \times ۱۰۰۰) / RBC(۱۰^{۶} mm^{-۳})$$
$$MCH = Hb(gdl^{-۱}) / RBC(۱۰^{۶} mm^{-۳})$$
$$MCHC = Hb / Hct$$

۴.۲. سنجش پارامترهای بیوشیمی سرم

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

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

۵.۲. تجزیه و تحلیل داده‌ها

برای مقایسه و تأیید اختلاف معنی‌دار بین تیمارها از

www.SID.ir

Archive of SID

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

۳. نتایج

نتایج بررسی اثر ایمونوژن در پارامترهای هماتولوژی قزل‌آلای رنگین‌کمان در جدول ۲ نشان داده شده است. نتایج نشان می‌دهد که پس از ۷ هفته غذادهی تعداد کل گلبول‌های سفید (WBC) و درصد هماتوکریت در گروه تغذیه‌شده با ۰/۲ درصد ایمونوژن به ترتیب $۴/۲۸\pm۰/۳۱\times۱۰^{۴}$ و $۴۴/۱۶\pm۱/۲۵$ نسبت به گروه شاهد $۳/۲۱\pm۰/۳۴\times۱۰^{۴}$ و $۳۹/۵\pm۱/۵۰$ به شکل معناداری در سطح بالاتری قرار داشت (P<۰/۰۵). نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که سطح ۰/۲ درصد ایمونوژن در تعداد کل گلبول‌های قرمز (RBC) و میزان هموگلوبین، MCV، MCH و MCHC تأثیر معناداری نداشته است (P>۰/۰۵).

نتایج تأثیر سطح ۰/۲ درصد ایمونوژن جیرهٔ غذایی در برخی از پارامترهای بیوشیمی سرم قزل‌آلای رنگین‌کمان در جدول ۳ نشان داده شده است. نتایج افزایش معنادار در سطح گلوکز خون در گروه تغذیه‌شده با ۰/۲ درصد ایمونوژن پس از ۷ هفته غذادهی را نشان می‌دهد (P<۰/۰۵). در خصوص کلسترول سرم مشاهده شد که سطح کلسترول در گروه تیمار نسبت به گروه شاهد دارای کاهش معنادار بوده است (P<۰/۰۵). نتایج نشان می‌دهد که سطح ۰/۲ درصد ایمونوژن در میزان تری گلیسیرید و پروتئین کل سرم تأثیر معناداری نداشته و بین گروه تغذیه‌شده با ایمونوژن و گروه کنترل تفاوت معنادار مشاهده نشده است (P>۰/۰۵).

جدول ۲. جدول آنالیز برخی از پارامترهای هماتولوژی قزل‌آلای رنگین‌کمان (P<۰,۰۵) تحت تأثیر پربیوتیک تجاری ایمونوژن در سطح ۲ گرم در کیلوگرم پس از مدت زمان ۷ هفته (n=3)

پارامتر	شاهد	ایمونوژن	احتمالات	
			P	*F*
گلبول‌های قرمز ($۱۰^{۶}mm^{-3}$)	۱/۴۵±۰/۱۳[a]	۱/۶۹±۰/۲۰[a]	۰/۱۸۱	۰/۸۷۱
گلبول سفید ($۱۰^{۴}mm^{-3}$)	۳/۲۱±۰/۳۴[a]	۴/۲۸±۰/۳۱[b]	۰/۰۱۷	۰/۰۲۱
هموگلوبین (gdl^{-1})	۱۰/۲۳±۰/۷۵[a]	۱۱/۱۶±۰/۶۴[a]	۰/۲۰۶	۰/۰۲۰
هماتوکریت (درصد)	۳۹/۵±۱/۵۰[a]	۴۴/۱۶±۱/۲۵[b]	۰/۰۱۵	۰/۰۳۲
MCV ($mm^{3},10^{-5}$)	۲۷/۱۹±۲/۳۷[a]	۲۶/۴۵±۴/۱۶[a]	۰/۸۰۴	۱/۸۹۶
MCH ($pg,10^{-5}$)	۷/۰۸±۰/۹۶[a]	۶/۶۲±۰/۷۳[a]	۰/۵۵۲	۰/۵۵۶
MCHC (%)	۲۵/۹۷±۲/۸۸[a]	۲۵/۳۲±۲/۴۳[a]	۰/۷۷۹	۰/۰۵۰

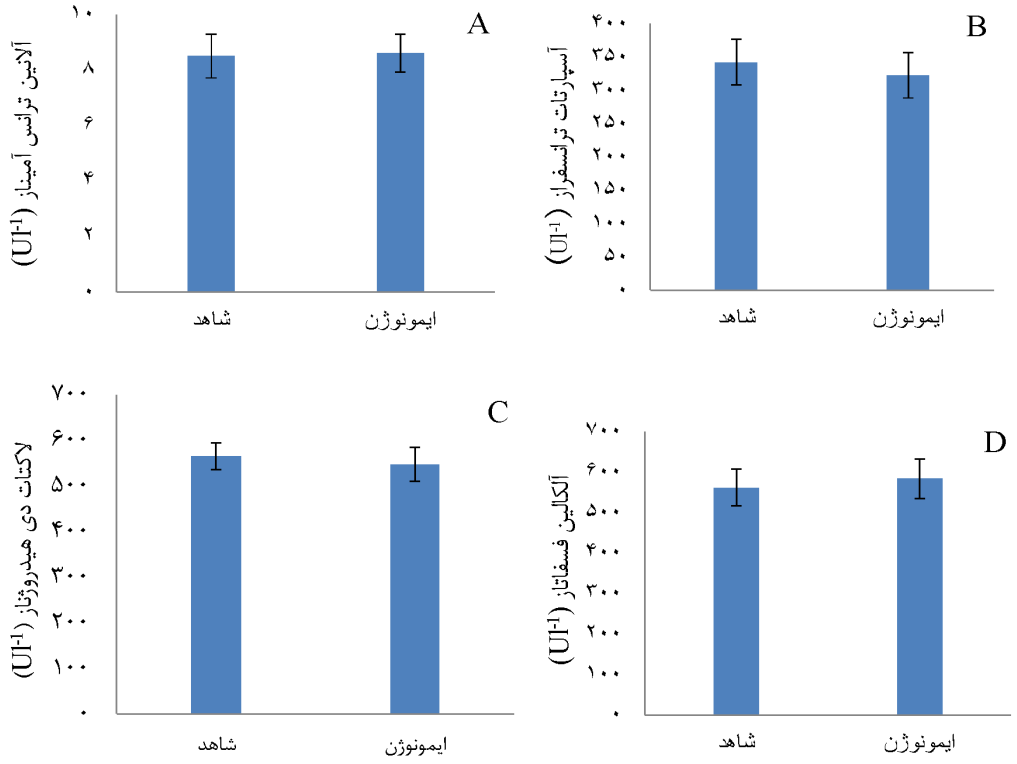
www.SID.ir

Archive of SID

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

پارامتر	شاهد	ایمونوژن	احتمالات	
			P	*F*
گلوکز	۹۴/۷±۱۸ [a]	۱۱۷/۱±۱۶/۷ [b]	۰/۰۱۵	۰/۱۴۰
تری گلیسیرید	۲۳۲/۲±۱۷/۵[a]	۲۹۲±۴۵[a]	۰/۰۰۲	۴/۴۸۱
کلسترول	۲۵۶/۵±۲۲/۶[a]	۲۴۹/۶±۲۱/۲[b]	۰/۵۱۱	۰/۰۰۲
پروتئین کل	۳/۶±۰/۳[a]	۳/۹±۰/۲[b]	۰/۰۹۳	۰/۱۴۴

شکل ۱ تأثیر جیرهٔ حاوی ۰/۲ درصد ایمونوژن در برخی از آنزیم‌های سرم در قزل‌آلای رنگین‌کمان را نشان می‌دهد. نتایج نشان می‌دهد که افزودن ۰/۲ درصد ایمونوژن به جیره در آنزیم‌های ALT (P=۰/۷۹، F=۰/۰۶)، AST (P=۰/۳۱، F=۰/۱۰)، LDH (P=۰/۷۸، F=۰/۴۵) و ALP (P=۰/۳۳، F=۰/۱۳) تأثیر معناداری نداشته است.



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

www.SID.ir

Archive of SID

۴. بحث

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

یکی از شاخصه‌های مفید برای سنجش وضعیت سلامت و فیزیولوژیکی گونهٔ آبزی بررسی پارامترهای هماتولوژی است که تحت تأثیر عوامل مختلف از جمله عوامل محیطی، تغذیه، استرس و بیماری سطح این پارامترها تغییر می‌کند (Kumar et al., 2005). بنابراین، پایش فاکتورهای هماتولوژی می‌تواند در خصوص وضعیت سلامت گونهٔ آبزی دیدگاهی کلی در اختیار ما قرار دهد. بر اساس نتایج این آزمایش مشخص شد که تعداد کل گلبول سفید و درصد هماتوکریت در گروه تغذیه‌شده با ۰/۲ درصد ایمونوژن به شکل معناداری در سطح بالاتری قرار داشت. پیش‌تر نیز نتایج مشابهی در خصوص افزایش تعداد کل گلبول‌های سفید در کپور معمولی تغذیه‌شده با ایمونوژن به دست آمده است که نتایج مطالعهٔ اخیر را تأیید می‌کند (Ebrahimi et al., 2012). مطالعات کمی در خصوص اثر ایمونوژن در فاکتورهای هماتولوژی ماهیان صورت گرفته است، اما دربارهٔ سایر پربیوتیک‌ها Andrews و همکاران (۲۰۰۹) نشان دادند که افزودن مانان الیگو ساکارید به جیرهٔ غذایی گونهٔ *Labeo rohita* در تعداد کل گلبول قرمز و سفید و میزان هموگلوبین افزایش معناداری داشته است. همچنین، مشخص شده که پربیوتیک مانان الیگو ساکارید در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان موجب افزایش ایمنی شده است (Staykov et al., 2007). یکی دیگر از اجزای ایمونوژن بتا گلوکان است که در مطالعهٔ انجام‌شده روی ماهی سفید مشخص شد گلوکان از طریق تأثیر در افزایش تعداد گلبول سفید و قرمز می‌تواند سطح ایمنی غیراختصاصی را افزایش دهد (Rofchaei et al., 2012).

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

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

www.SID.ir

Archive of SID

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

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

www.SID.ir

Archive of SID

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

نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که پربیوتیک تجاری ایمونوژن در سطح ۰/۲ درصد در غذا سبب بهبود برخی پارامترهای هماتولوژی و بیوشیمی سرم قزل‌آلای رنگین‌کمان شده است. پارامترهای هماتولوژی با ایمنی ارتباط دارند و نشانگر افزایش سطح ایمنی و سلامت‌اند. همچنین، نتایج بررسی پارامترهای بیوشیمی سرم می‌تواند نشان‌دهندهٔ اثر مثبت این پربیوتیک در فرایند متابولیسم و بافت‌های درگیر در آن باشد که مطالعات بیشتر با سطوح مختلف پربیوتیک و انجام کارهای هیستوپاتولوژی می‌توانند ما را به نتایج دقیق‌تری برسانند.

تشکر و قدردانی

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

www.SID.ir

Archive of SID

References

[1]. Ahmdifar, E., Akrami, R., Ghelichi, A., Zarejabad, A.M., 2011. Effects of different dietary prebiotic inulin levels on blood serum enzymes, hematologic, and biochemical parameters of great sturgeon (*Huso huso*) juveniles. Comparative Clinical Pathology 20, 447-451.

[2]. Akrami, R., Ghelichi, A., Ahmadifar, E., 2011. Effect of dietary prebiotic inulin on hematological and biochemical parameters of cultured juvenile beluga (*Huso huso*). Journal of Veterinary Research 66, 131-136.

[3]. Andrews, S. R., N. P. Sahu, A. K. Pal & S. Kumar (2009) Haematological modulation and growth of *Labeo rohita* fingerlings: effect of dietary mannan oligosaccharide, yeast extract, protein hydrolysate and chlorella. *Aquaculture research,* 41**,** 61-69

[4]. Asadi, M., Mirvaghefei, A., Nematollahi, M., Banaee, M., Ahmadi, K., 2012. Effects of Watercress (*Nasturtium nasturtium*) extract on selected immunological parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Open Veterinary Journal 2, 32-39.

[5]. Austin, B., Austin, D.D.A., 2007. Bacterial fish pathogens: diseases of farmed and wild fish. Springer, p.

[6]. Cerezuela, R., Cuesta, A., Meseguer, J., Ángeles Esteban, M., 2008. Effects of inulin on gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) innate immune parameters. Fish & Shellfish Immunology 24, 663-668.

[7]. Demigné, C..Rémésy, C. (1985). Stimulation of absorption of volatile fatty acids and minerals in the cecum of rats adapted to a very high fiber diet. *The Journal of nutrition*, 115: 53.

[8]. Denev, S., Y. Staykov, R. Moutafchieva & G. Beev (2009). Microbial ecology of the gastrointestinal tract of fish and the potential application of probiotics and prebiotics in finfish aquaculture. *Int. Aquat. Res,* 1**,** 1-29.

[9]. Dimitroglou, A., D. Merrifield, R. Moate, S. Davies, P. Spring, J. Sweetman & G. Bradley (2009) Dietary mannan oligosaccharide supplementation modulates intestinal microbial ecology and improves gut morphology of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Journal of animal science, 87, 3226-3234.

[10]. Ebrahimi, G., 2010. Effects of prebiotic supplementation on survival, growth performance and feed utilization of kutum, *rutilus frisii kutum* (Kamenskii 1901), fingerlings. Research Journal of Animal Sciences 4, 125-129.

[11]. Ebrahimi, G., Ouraji, H., Khalesi, M., Sudagar, M., Barari, A., Zarei Dangesaraki, M., Jani Khalili, K., 2012. Effects of a prebiotic, Immunogen®, on feed utilization, body composition, immunity and resistance to Aeromonas hydrophila infection in the common carp *Cyprinus carpio* (Linnaeus) fingerlings. Journal of animal physiology and animal nutrition 96, 591-599.

[12]. Gibson, G.R., Probert, H.M., Van Loo, J., Rastall, R.A., Roberfroid, M.B., 2004. Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. Nutr Res Rev 17, 259-275.

[13]. Hoseinifar, S.H., Mirvaghefi, A., Merrifield, D.L., Amiri, B.M., Yelghi, S., Bastami, K.D., 2011. The study of some haematological and serum biochemical parameters of juvenile beluga (*Huso huso*) fed oligofructose. Fish Physiology and Biochemistry 37, 91-96.

[14]. Kumar, S., Sahu, N., Pal, A., Choudhury, D., Yengkokpam, S., Mukherjee, S., 2005. Effect of dietary carbohydrate on haematology, respiratory burst activity and histological changes in *L. rohita* juveniles. Fish & Shellfish Immunology 19, 331-344.

www.SID.ir

Archive of SID

[15]. Martin, O., Okolie, P., 2012. N-nitrosodimethylamine (NDMA), Liver Function Enzymes, Renal Function Parameters and Oxidative Stress Parameters: A Review.

[16]. Merrifield, D.L., Dimitroglou, A., Foey, A., Davies, S.J., Baker, R., Bøgwald, J., Castex, M., Ringø, E., 2010. The current status and future focus of probiotic and prebiotic applications for salmonids. Aquaculture 302, 1-18.

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

[18]. Rehulka, J., 2003. Haematological analyses in rainbow trout Oncorhynchus mykiss affected by viral haemorrhagic septicaemia (VHS). Diseases of aquatic organisms 56, 185-193.

[19]. Řehulka, J., 2002. Aeromonas Causes Severe Skin Lesions in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*): Clinical Pathology, Haematology, and Biochemistry. Acta Veterinaria Brno 71, 351-None.

[20]. Rufchaie, R., Hoseinifar, S.H., Sayad Borani, M., Maghsodie Kohan, H., Zamini, A.A. and Faeed M., 2012. The effects of glucan on hematological parameters, immune response and intestinal microbiota of *Rutilus frisii kutum* fry . Iranian Scientific Fisheries Journal 21, 3, 73-84.(in persion)

[21]. Sakai, M. (1999) Current research status of fish immunostimulants. Aquaculture, 172, 63-92.

[22]. Shahsavani, D ,.M. Mohri & H. G. Kanani (2010) Determination of normal values of some blood serum enzymes in *Acipenser stellatus Pallas*. *Fish physiology and biochemistry,* 36**,** 39-43

[23]. Sinha, A.K., Kumar, V., Makkar, H.P., De Boeck, G., Becker, K., 2011. Non-starch polysaccharides and their role in fish nutrition–A review. Food Chemistry 127, 1409-1426.

[24]. Staykov, Y., Spring, P., Denev, S., Sweetman, J., 2007. Effect of a mannan oligosaccharide on the growth performance and immune status of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture International 15, 153-161.

[25]. Stoskopf, M.K., 1993. Fish medicine. WB Saunders Company, p.

[26]. Tangestani, R., Doughikollaee, E., Ebrahimi, E., Zare, P., 2011. Effects of garlic essential oil as an immunostimulant on hematological indices of juvenile beluga (*Huso huso*). Journal of Veterinary Research 66, 209-216, 279.

[27]. Tukmechi, A., Rahmati Andani, H.R., Manaffar, R., Sheikhzadeh, N., 2011. Dietary administration of beta-mercapto-ethanol treated *Saccharomyces cerevisiae* enhanced the growth, innate immune response and disease resistance of the rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. Fish & Shellfish Immunology 30, 923-928.

[28]. Waagbø, R., Sandnes, K., Espelid, S., Lie, Ø., 1988. Haematological and biochemical analyses of Atlantic salmon, *Salmo solar* L., suffering from coldwater vibriosis ('Hitra disease'). Journal of Fish Diseases 11, 417-423.

[29]. Yar Ahmadi, P., H. Farahmand, H. Kolangi Miandare, A. Mirvaghefi & S. H. Hoseinifar (2014) The effects of dietary Immunogen ® on innate immune response, immune related genes expression and disease resistance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Fish & shellfish immunology, 37, 209-214.

[30]. Yousefian, M., Amiri, M.S., 2009. A review of the use of prebiotic in aquaculture for fish and shrimp. African Journal of Biotechnology 8.

www.SID.ir