Archive of SID

فصلنامه علمی ـ پژوهشی دورهٔ ٤، شمارهٔ ٣، پاییز ١٣٩٤، صفحه ٨٩-١٠٠

تاثیر پریبیوتیک گروبیوتیک بر برخی شاخص های رشد، هماتولوژیک، بیوشیمیایی و ایمنی فیل‌ماهی (*Huso huso*) جوان

میلاد عادل[1*]، رضا صفری[2]، سکینه یگانه[3]، شراره احمدوند[4]، شیدا احمدوند[4]

١- دانشجوی دکتری، گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان، پژوهشکده اکولوژی دریای خزر ساری، ساری
٢- دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه میکروبیولوژی، پژوهشکده اکولوژی دریای خزر ساری، ساری
٣- استادیار، گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری
٤- دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری

تاریخ دریافت: ٩٣/٠٤/١٤ تاریخ پذیرش: ٩٤/٠٨/١٠

*نویسنده مسئول مقاله: miladadel85@yahoo.com

چکیده:

تاثیر پریبیوتیک گروبیوتیک در چهار سطح (٠، ٠/٥، ١، ٢ درصد جیره) روی برخی شاخص های رشد، هماتولوژیک، بیوشیمیایی و ایمنی فیل‌ماهی (*Huso huso*) جوان با میانگین وزنی ٥/٨±٤٠/٨٢گرم و در حوضچه های فایبرگلاس با تراکم ٢٠ عدد ماهی در هر حوضچه در ٣ تکرار بررسی شد. ماهی به‌مدت ٥٦ روز با سطوح مورد نظر غذادهی شدند. در انتهای دوره، برخی شاخص های رشد محاسبه و خونگیری از ٣٦ عدد ماهی جهت سنجش شاخص های هماتولوژیک، بیوشیمیایی و ایمنی تیمارهای مختلف صورت گرفت. نتایج بیانگر تفاوت معنادار ($p<0/05$) بین سطوح ٢٪ گروبیوتیک و تیمار شاهد در میزان شاخص های رشد، درصد نوتروفیل، میزان هماتوکریت، هموگلوبین و پروتئین تام سرم بود، ولی در سایر شاخص های هماتولوژیک و بیوشیمیایی اختلاف معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد ($p<0/05$). بنابراین استفاده از این مکمل خوراکی، جهت بهبود رشد و تحریک سیستم ایمنی فیل‌ماهی توصیه می شود.

کلیدواژگان: فیل ماهی پرورشی، گروبیوتیک، شاخص‌های ایمنی، بیوشیمیایی

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

فیل ماهی یکی از شاخص‌ترین اعضای خانواده تاس ماهیان است که گوشت و خاویار آن ارزش اقتصادی زیادی برای کشور دارد. در طی دو دهه اخیر، ذخایر طبیعی این ماهیان به دلایل متعددی از قبیل صید بی‌رویه، از دست رفتن زیستگاه‌های تکثیر طبیعی، آلودگی‌های صنعتی و خانگی، افزایش عفونت‌ها و بیماری‌ها به‌شدت کاهش یافته و این ماهیان از سال ۱۹۹۰ در فهرست گونه‌های در خطر انقراض قرار گرفته‌اند، بنابراین در دو دهه اخیر، این ماهیان به صنعت آبزی‌پروری کشور معرفی و تکثیر مصنوعی آنها شروع شده است (Ahmadifar et al., 2011). توسعه روزافزون آبزی‌پروری در بسیاری از مناطق دنیا منجر به افزایش درخواست و استفاده از مواد شیمیایی جدید شده است، به‌طوری‌که در سال‌های اخیر بسیاری از مکمل‌ها و محرک‌های ایمنی در صنعت آبزی‌پروری استفاده شده‌اند. چالش عمده در آبزی‌پروری تجاری، بهبود جیره‌های غذایی فرموله شده برای بهبود رشد و ارتقای سلامت ماهیان است (Gibson et al., 1995). ایده‌ای که در این باره مطرح شده استفاده از پربیوتیک‌ها، پروبیوتیک‌ها و سین‌بیوتیک‌ها در جیره غذایی ماهی و میگو است (Ahmadifar et al., 2011).

پربیوتیک‌ها عناصر غذایی غیرقابل هضمی هستند که از طریق تحریک رشد یا فعال‌کردن یک یا تعداد محدودی از گونه‌های باکتریایی مفید روده‌ای، اثرهای سودمندی بر ایمنی میزبان داشته و سلامتی آن را بهبود می‌بخشند (Ahmadifar et al., 2011). از جمله این پربیوتیک‌ها می‌توان به اینولین، الیگو فروکتوز، لاکتوسوکروز و گروبیوتیک اشاره کرد که باعث بهبود و تعادل میکروفلورهای روده و افزایش مکانیزم دفاعی میزبان می‌شوند (Gibson et al., 2004).

گروبیوتیک به‌عنوان یک پربیوتیک دارای ساختار الیگو پلی ساکاریدی مطرح است (Li Gatlin, 2005 and). تاکنون مطالعات اندکی دربارهٔ تأثیر این پربیوتیک بر روی ماهیان انجام شده که از جمله آن می‌توان به استفاده از آن در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان[1] (Azari et al., 2011)، ماهی حوض[2] (and Savolainen Gatlin, 2009)، هیبرید باس مخطط[3] (Li and Gatlin, 2005; Li et al., 2004) و ماهی سفید[4] (Yousefian et al., 2012) اشاره کرد، ولی با این وجود مطالعه‌ای دربارهٔ تأثیر این پربیوتیک در فیل ماهیان جوان پرورشی انجام نشده است. بنابراین این مطالعه برای ارزیابی تأثیر سطوح مختلف گروبیوتیک بر برخی شاخص‌های رشد، هماتولوژیک، بیوشیمیایی و ایمنی فیل ماهیان جوان پرورشی صورت پذیرفت.

مواد و روش کار

این تحقیق در یک دوره ۸ هفته‌ای (٥٦ روزه) در پاییز سال ۱۳۹۲ در کارگاه پرورش ماهیان خاویاری قره‌برون در روستای سمندک واقع در حومه شهرستان ساری انجام شد. در ابتدای آزمایش و به‌منظور سازگاری ماهیان با شرایط جدید پرورشی تعداد ۲٤۰ قطعه فیل ماهی جوان با میانگین وزنی ٥/۸±٤۰/۸۲ گرم در ۱۲ حوضچه فایبرگلاس به ابعاد ۰/٥×۲×۲ متر (هر وان ۲۰

1. *Oncorhynchus* mykiss
2. *Carassius auratus*
3. *Morone chrysops*×*M. saxatilis*
4. *Rutilus frisii kutum kamensky*

www.SID.ir

Archive of SID

عدد ماهی) با شرایط یکسان از نظر حجم آب (۲۰۰۰ لیتر) و عوامل کمی و کیفی آب مشابه توزیع شدند. میانگین شاخص‌های فیزیکوشیمیایی آب در طول دوره پرورش شامل اکسیژن محلول (۰/٤±۵/۷ میلی‌گرم در لیتر)، دما (۱/۵±۲۰/٤ درجه سانتی‌گراد)، شوری (۰/۱۱±۲/٤ گرم در لیتر)، pH (۰/٤±۷/۷٦ میلی‌گرم در لیتر) و هدایت الکتریکی (۱۵۹/۲±۵۸۲٦/٤ میلی‌موس در سانتی‌متر) بود.

آماده‌سازی جیره

تغذیه یک هفته پس از سازگاری فیل ماهیان با شرایط جدید پرورشی شروع و ماهیان به مدت ۸ هفته با غذای دستی تهیه شده تغذیه شدند. مواد اولیه مورد استفاده در جیره شامل پودر ماهی کیلکا، آرد گندم، روغن ماهی، روغن سویا، مکمل‌های ویتامینی و معدنی، سلولز، بایندر، نمک، ترکیبات ضدقارچ و آنتی‌اکسیدان بود (جدول ۱). پربیوتیک مورد استفاده در این مطالعه گروبیوتیک با نام تجاری GroBiotic®-A بود که دارای ساختار الیگو پلی ساکاریدی است. برای تهیه جیره‌های آزمایش سطوح صفر (شاهد)، نیم، یک و دو درصد از گروبیوتیک به جیره پایه فرموله شده افزوده و به‌صورت یکنواخت و همگن با غذا مخلوط گردید. در این آزمایش فیل ماهیان جوان پرورشی به میزان ۳ درصد بیوماس بدن و ٤ بار در روز تا حد سیری با جیره‌های تهیه شده تغذیه شدند. این بررسی در قالب یک طرح کاملاً تصادفی انجام و برای هر تیمار ۳ تکرار در نظر گرفته شد. در طی دوره هر روز، مدفوع و سایر مواد باقیمانده از کف حوضچه‌ها سیفون و حدود یک سوم آب هر حوضچه تعویض گردید.

جدول ۱ ترکیب و تجزیه بیوشیمیایی جیره پایه ساخته‌شده برای فیل ماهیان جوان پرورشی مورد مطالعه در این آزمایش

نوع ماده	میزان (٪)
پودر ماهی کیلکا	۵۸
آرد گندم	۱۹
روغن ماهی	۵/۲
روغن سویا	۵/۸
مکمل ویتامیتی	۳
مکمل معدنی	۲/۵
سلولز	۲/۵
بایندر	۲
نمک	۱
ضد قارچ	/٤
آنتی‌اکسیدان	/۲۵
ترکیب بیوشیمیایی جیره	
پایه	میزان (٪)
پروتئین خام	٤۰/۳۲
کربوهیدرات	۱٤/۹
چربی	۱۸/۸٦
خاکستر	۹/٦
رطوبت	۸/۱
عصاره عاری از ازت	۱۸/۸
انرژی خام (مگاژول بر کیلوگرم)	۲۱/۸٤

اندازه‌گیری شاخص‌های رشد

برای ارزیابی تأثیر سطوح مختلف گروبیوتیک بر برخی شاخص‌های رشد فیل ماهیان و مقایسه بین تیمارهای مختلف، به فاصله زمانی ۱۵ روز یکبار وزن ماهیان هر حوضچه با ترازو دیجیتال با دقت ۰۱/ گرم و طول کل با خط‌کش با دقت ۱ میلی‌متر اندازه‌گیری شد (بدین

www.SID.ir

Archive of SID

منظور ٢٤ ساعت پیش از زیست‌سنجی تغذیه ماهیان قطع شد). همچنین، شاخص‌های رشد ماهیان شامل ضریب رشد ویژه (SGR)، ضریب تبدیل غذایی (FCR) و ضریب سودمندی پروتئین مصرفی (PER) محاسبه گردید (Tacon, 1990).

نمونه‌برداری و خون‌گیری

در انتهای دوره آزمایش، برای ارزیابی تأثیر سطوح مختلف گروبیوتیک بر برخی شاخص‌های هماتولوژیک، بیوشیمیایی و عوامل ایمنی فیل ماهیان جوان پرورشی و مقایسه بین تیمارهای مختلف، ماهیان ابتدا با اسانس گل میخک به میزان نیم سی‌سی در لیتر بیهوش شدند. در ادامه از هر تیمار ۹ نمونه (هر تکرار ۳ نمونه) خون محیطی از ورید ساقه دمی به‌صورت تصادفی گرفته شد. مقدار ۱ سی‌سی خون برای اندازه‌گیری شاخص‌های هماتولوژیک به ظروف حاوی ماده ضد انعقاد هپارین و ۱ سی‌سی خون دیگر به ظروف فاقد ماده ضد انعقاد هپارین برای اندازه‌گیری شاخص‌های بیوشیمیایی سرم منتقل شد. سپس با استفاده از دستگاه سانتریفوژ با ۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه نمونه‌های سرم جدا و تا زمان انجام آزمایش‌های بعدی در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

اندازه‌گیری شاخص‌های هماتولوژیک

برای اندازه‌گیری شاخص‌های هماتولوژیک از خون حاوی ماده ضد انعقاد هپارین استفاده شد. در این مطالعه تعداد گلبول‌های قرمز خون (RBC)، تعداد گلبول‌های سفید خون (WBC)، میزان هماتوکریت (PCV)، هموگلوبین (Hb)، حجم متوسط گلبولی (MCV)، هموگلوبین متوسط گلبولی (MCH) و غلظت متوسط هموگلوبین گلبول‌های قرمز (MCHC) با استفاده از روش‌های آزمایشگاهی متداول اندازه‌گیری شد (Feldman et al., 2000). همچنین، شمارش افتراقی گلبول‌های سفید خون (نوتروفیل، لنفوسیت، ائوزینوفیل و مونوسیت) نیز با تهیه گسترش خون و طبق روش توصیه شده انجام گردید(Borges et al., 2004).

اندازه‌گیری شاخص‌های بیوشیمیایی

برای اندازه‌گیری شاخص‌های بیوشیمیایی از خون فاقد ماده ضد انعقاد استفاده شد. اندازه‌گیری این شاخص‌ها با استفاده از کیت‌های آزمایشگاهی (شرکت پارس آزمون، تهران) و با دستگاه اتوآنالایزر (Eurolyser, Belgium) انجام شد. اندازه‌گیری گلوکز به روش گلوکز اکسیداز، کلسترول به روش کلسترول اکسیداز، پروتئین تام به روش بیوره[1]، آلبومین به روش برومو‌کرزول[2] و تری گلیسرید به روش آنزیمی لیپاز[3] صورت گرفت. 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 انجام شد (Shahsavani et al., 2010).

بررسی فعالیت لیزوزیم سرم

برای تعیین میزان لیزوزیم سرم از روش ارائه شده از سوی Ellis (۱۹۹۰) استفاده شد. به‌طور خلاصه، ۱۰ میکرولیتر از نمونه‌های سرم با ۲۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری میکروکوکوس لیزیدیکتیکوس (سیگما، آمریکا) تهیه شده در بافر سیترات سدیم ۰/۰۵

1. Biuret
2. Bromocresol green
3. Lipase/GPO-PAP

www.SID.ir

Archive of SID

مولار و pH برابر ۶/۲ بـه میـزان ۲/ میلـی‌گـرم در لیتـر اضافه گردید و جذب نوری اولیـه در طـول مـوج ۶۷۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. در ادامه، جذب نوری ۱ سـاعت پس از نگهداری نمونه‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، مجدد اندازه‌گیری شد. در این مطالعه از لیزوزیم سـفیده تخم‌مرغ لیوفیلیزه شده (سـیگما) بـرای ترسـیم منحنـی استاندارد استفاده شد.

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل داده‌هـا بـا اسـتفاده از نـرم‌افـزار SPSS 18و با استفاده از تجزیه واریانس یک طرفـه انجـام شد. مقایسه میانگین بین تیمارهـای مختلـف براسـاس آزمون چند دامنه‌ای دانکن[1] در سطح احتمال ۵ درصـد تعیین گردید ($p<۰/۰۵$).

نتایج

نتایج حاصل از جدول (۲) نشـان‌دهنـدۀ آن اسـت کـه بیشترین ضریب سـودمندی پـروتئین مصـرفی، ضـریب تبدیل غذایی و ضریب رشد ویژه در فیل ماهیان تغذیـه شده با سطح ۲ درصد گروبیوتیک مشاهده شد که از نظر آماری اختلاف معناداری با سایر تیمارها نشان مـی‌دهـد ($p<۰/۰۵$).

اثرهای سطوح مختلف گروبیوتیک بر شاخص‌های خونی فیل ماهیان جوان پرورشی در جدول ۳ آمده است. نتایج نشان داد که افزودن گروبیوتیک به جیـره غـذایی تـأثیر معناداری بر تعداد گلبول‌های سفید خون (WBC)، حجم متوسط گلبولی (MCV)، هموگلـوبین متوسـط گلبـولی (MCH) و غلظت متوسط هموگلوبین گلبول‌هـای قرمـز (MCHC) نداشته است و تفاوت معناداری بین تیمارهای مختلف با تیمار شاهد مشاهده نشـده اسـت ($p>۰/۰۵$). این در حالی است که در تعداد گلبول‌های قرمـز خـون (RBC)، درصـد هماتوکریـت (PCV) و غلظـت هموگلوبین (Hb) تفاوت معناداری بین تیمـار ۲ درصـد گروبیوتیک بـا تیمـار شـاهد مشـاهده شـد ($p<۰/۰۵$). مقایسه نتایج حاصل از آنالیز لکوسیت‌هـای خـون فیـل ماهیان جوان در انتهـای آزمـایش (جـدول ۳) بیشـترین درصد نوتروفیل را در فیل ماهیان جوان تغذیه شده با ۲ درصد گروبیوتیک نشان داد که از نظـر آمـاری تفـاوت معناداری را بـا تیمـار شـاهد و نـیم درصـد نشـان داد ($p<۰/۰۵$)، هر چند که بین تیمار ۱ و ۲ درصـد تفـاوت معناداری در درصد نوتروفیل مشاهده نشد ($p>۰/۰۵$).

درصـد لنفوسـیت، مونوسـیت و ائوزینوفیـل در بـین تیمارهای آزمایشی تفاوت معنـاداری نـدارد ($p>۰/۰۵$). هر چند ماهیانی که جیـره بـدون گروبیوتیـک دریافـت کرده‌اند (تیمار شاهد)، از درصد لنفوسیت و ائوزینوفیـل بیشتری برخوردار بودند با وجود اینکه تفـاوت معنـادار نبـوده اسـت ($p>۰/۰۵$).

1. Duncans Multiple- range test

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ٢ میانگین برخی از شاخص‌های رشد فیل ماهیان جوان پرورشی در تیمارهای مختلف گروبیوتیک در انتهای دوره

شاخص	شاهد	گروبیوتیک ٠/٥ ٪	گروبیوتیک ١ ٪	گروبیوتیک ٢ ٪
ضریب سودمندی پروتئین مصرفی	٠/٨٢±٠/٠٥ a	٠/٨٣±٠/٠٦ a	٠/٨٨±٠/٠٨ b	٠/٩٦±٠/٠١ c
ضریب تبدیل غذایی	٢/١٦±٠/٠٦ a	٢/٠٨±٠/٤ a	١/٨٦±٠/٣ b	١/٧٦±٠/٦ c
نرخ رشد ویژه (واحد؟؟)	٢/٢٩±٠/٥٩ a	٢/٤١±٠/٦٣ b	٢/٥٩±٠/٧١ c	٢/٨٣±٠/٨٤ d

اعدادی که در هر ردیف با حروف متفاوت مشخص شده‌اند، نشان‌دهندهٔ اختلاف معناداری در سطح ٠/٠٥ ٪ می‌باشند ($p<٠/٠٥$).

جدول ٣ مقایسه میانگین شاخص‌های خونی فیل ماهیان جوان تغذیه شده با سطوح مختلف گروبیوتیک

شاخص	شاهد	گروبیوتیک ٠/٥ ٪	گروبیوتیک ١٪	گروبیوتیک ٢٪
گلبول قرمز (میلیون/ میلی‌لیتر)	٠/٦٧±٠/٣ a	٠/٦٥±٠/٣ a	٠/٧١±٠/٣ ab	٠/٧٨±٠/٣ b
گلبول سفید (هزار/ میلی‌لیتر)	١٣/٨٢±١/٢ a	١٣/٤٢±١/٧ a	١٤/٢٦±١/٢ a	١٤/٣٩±١/٩ a
هموگلوبین (گرم/ دسی‌لیتر)	٩/٥±١/٦ a	٩/٦٥±٠/٧٢ ab	٩/٧٥±٢/٣٢ ab	١٠/٧٢±١/٦٢ b
هماتوکریت (درصد)	٢٨/٧٨±١/١٨ a	٢٩/١٣±١/٢٣ ab	٢٩/٤٢±١/٤٢ ab	٣٠/٨±١/٥ b
حجم متوسط گلبولی (فمتولیتر)	٤٣١/٦٤±٦٣/٨٥ a	٤٤٥/٠٧± ٥٢/٣٦ a	٤١٢/٢٢±٧٤/٦٨ a	٣٩٨/٩٧±٨٢/٢٩ a
غلظت متوسط هموگلوبین گلبول قرمز (گرم/دسی‌لیتر)	٣٣/٨٧±٢/٦٨ a	٣٢/٦٣±٢/٦ a	٣٣/٢٣±٣/٦٢ a	٣٧/٨٤±١/٣ a
هموگلوبین متوسط گلبولی (پیکوگرم)	١٤٥/١٨±١٦/٤ a	١٤٨/٧٨± ١٣/٢ a	١٣٧/٥٦±١٩/٧ a	١٣٩/٨٩±٢٣/٣ a
لنفوسیت (٪)	٧٠/١±١/٦٢ a	٦٥/٢٥±٠/٨٦ a	٦٦/٧٣±٢/٠٨ a	٦٥/٧٥±١/٣٨ a
نوتروفیل (٪)	١٧/٠٠±١/٨٦ a	١٨/٥±٢/٣٩ a	١٩/٢٥±٢/١٦ ab	٢١/٠٠±٢/٥٦ b
مونوسیت (٪)	٤/٤±١/٣ a	٤/٨±١/٦٨ a	٤/٦٢±١/٩ a	٥/٧±٢/١ a
ائوزینوفیل (٪)	٨/٢٦±١/٦ a	٧/٣٥±٢/٢ a	٨/٢٥±١/٧٤ a	٦/٢٦±١/٥٨ a

اعدادی که در هر ردیف با حروف متفاوت مشخص شده‌اند، نشان‌دهندهٔ اختلاف معناداری هستند ($p<٠/٠٥$)

www.SID.ir

Archive of SID

مقادیر برخی از آنزیم‌های سرمی خون فیل ماهیان جوان پرورشی تغذیه شده با سطوح متفاوت گروبیوتیک در جدول ٤ آمده است. بررسی آماری نشان می‌دهد اختلاف معناداری در مقادیر آنزیم‌های سرمی بین تیمارهای مختلف در مقایسه با گروه شاهد وجود ندارد (p>۰/۰۵)، هر چند مقادیر آنزیم‌های ALT، LDH و ALP در تیمار ۲ درصد بیشتر از سایر تیمارها بوده است (جدول ٤).

جدول ٤ میانگین مقادیر برخی آنزیم‌های سرمی خون فیل ماهیان جوان تغذیه شده با سطوح مختلف گروبیوتیک

تیمار آنزیم سرمی	شاهد	گروبیوتیک ۰/۵ ٪	گروبیوتیک ۱٪	گروبیوتیک ۲ ٪
AST (U/l)	۲۵/٤±۷/۲[a]	۲٦/۸±٦/۰۸[a]	۲۹/۵±۷/٤[a]	۲۷/۹±۱۱/۵[a]
ALP (U/L)	۷٤۲/۱±۱۸/۳[a]	٦۹۷/۲۵±۸/۸[a]	۷۳۹/۷۵±۲٤/۵[a]	۷۸٦/۷۵±۱۹/۳[a]
ALT (U/L)	۵۹۷/۲±٦۸/۸[a]	۵٦۳/٦۲±۸۵/۱[a]	۵۸۲/۱۸±۱۱۲/۳[a]	۵۸۷/۸٤±۹۸/۷[a]
LDH (U/L)	۱٤۷۸/٤۵±۱۱۲/۲[a]	۱٦۱۸/۸۳±۹۸/۸[a]	۱۵۸۳/۵۸±۸۳/٤[a]	۱۷۱۲/۹۲±۱۲٦/۸[a]

نبود حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهندهٔ معنادار نبودن اختلافات در بین تیمارها است (p>۰/۰۵)

مقادیر برخی از شاخص‌های بیوشیمیایی سرمی خون فیل ماهیان جوان تغذیه شده با سطوح مختلف گروبیوتیک در پایان ۸ هفته پرورش، به‌صورت خلاصه در جدول ۵ آمده است. بررسی آماری نشان می‌دهد اختلاف معناداری در مقادیر شاخص‌های بیوشیمیایی کلسترول، گلوکز، آلبومین و تری‌گلیسرید بین تیمارهای مختلف وجود ندارد (p>۰/۰۵)، هر چند مقادیر کلسترول و تری‌گلیسرید در تیمار فاقد گروبیوتیک بیشتر از سایر تیمارها بوده است، ولی میزان پروتئین تام در تیمار ۲ درصد تفاوت معناداری را با تیمار شاهد و نیم درصد نشان داد (p>۰/۰۵)، هر چند این تفاوت در بین تیمار ۱ و ۲ درصد گروبیوتیک معنادار نبود (p>۰/۰۵) (جدول ۵).

جدول ۵ تأثیر سطوح مختلف گروبیوتیک بر برخی از شاخص‌های بیوشیمیایی سرمی فیل ماهیان جوان در پایان روز٥٦

تیمار آنزیم سرمی	شاهد	گروبیوتیک ۰/۵ ٪	گروبیوتیک ۱٪	گروبیوتیک ۲ ٪
گلوکز (میلی‌گرم/ دسی‌لیتر)	۷۳/۲۸±٤/۲[a]	۷۱/٦۳±۳/٦[a]	۷۳/۱۳±٤/٦[a]	۷۵/۵٤±٤/۱[a]
کلسترول (میلی‌گرم/ دسی‌لیتر)	٦۳/٤±٤/۸[a]	۵۸/۳±٦/٤[a]	۵۹/۷±۸/۱[a]	٦۱/۵±۳/۸[a]
تری‌گلیسرید (میلی‌گرم/دسی‌لیتر)	۵۹۷/۲±۷۳/۲[a]	۵٦۳/٦۲±۹٦/٦[a]	۵۸۲/۱۸±۱۱۷/۵[a]	۵۸۷/۸٤±۸۲/۱۷[a]
آلبومین (گرم/ دسی‌لیتر)	۰/۷۸±۰/۱[a]	۰/۷۹±۰/۲[a]	۰/۸۲±۰/۲[a]	۰/۸۱±۰/۳[a]
پروتئین تام (میلی‌گرم/ دسی‌لیتر)	۲/۰۲±۰/۱۸[a]	۲/۰٦±۰/۲۲[a]	۲/۲۳±۰/۱٤[ab]	۲/۳۸±۰/۲٦[b]

اعدادی که در هر ردیف با حروف متفاوت مشخص شده‌اند، اختلاف معناداری را نشان می‌دهند (p<۰/۰۵)

www.SID.ir

Archive of SID

میزان فعالیت لیزوزیم سرم

جدول ٦ میزان فعالیت لیزوزیم سرم خون فیل ماهیان جوان تغذیه‌شده با سطوح مختلف گروبیوتیک در پایان دوره پرورش را نشان می‌دهد. بررسی آماری نشان می‌دهد اختلاف معناداری بین تیمارهای مختلف وجود ندارد (p>٠/٠٥) و پربیوتیک تجویز شده تأثیر چندانی بر فعالیت لایزوزیم سرم فیل ماهیان نداشته است، هر چند میزان فعالیت آن در تیمار ٢ درصد بیشتر از سایر تیمارها بوده است.

جدول ٦ تأثیر سطوح مختلف گروبیوتیک بر میزان فعالیت لایزوزیم سرم فیل ماهیان جوان پرورشی در پایان روز ٥٦

تیمار	شاهد	گروبیوتیک ٠/٥ ٪	گروبیوتیک ١٪	گروبیوتیک ٢ ٪
لایزوزیم سرم (میلی‌گرم/ میلی‌لیتر)	٣/٥٨±٠/٨٦[a]	٣/٤٢±/٩٢[a]	٣/٨٤±١/٠٥[a]	٤/٠٨±١/١٢[a]

اعدادی که در هر ردیف با حروف متفاوت مشخص شده‌اند، اختلاف معناداری را نشان می‌دهند (p<٠/٠٥)

بحث

از جمله مشکلات پیش‌رو برای تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری مسئله تغذیه و تکنولوژی غذایی است، زیرا اطلاعات تغذیه‌ای در زمینه این ماهیان محدود و اندک است. از جمله مهم‌ترین اهداف مطالعات تغذیه‌ای بهبود شاخص‌های ایمنی برای کاهش میزان تلفات به منظور سودمندتر و اقتصادی کردن این صنعت است (Gibson et al., 1995). در سال‌های اخیر استفاده از محرک‌های سیستم ایمنی در جیره‌های غذایی ماهیان برای افزایش فعالیت مکانیسم‌های دفاع غیراختصاصی و ایجاد مقاومت در برابر عوامل بیماری‌زا مورد توجه قرار گرفته است (Alishahi et al., 2010). پربیوتیک‌ها از جمله محرک‌های سیستم ایمنی هستند که بر سیستم ایمنی ماهیان اثر گذاشته و موجب فعال شدن سلول‌های مؤثر در ایمنی می‌شوند که از آن جمله اثرهای احتمالی آن افزایش فعالیت سلول‌های ماکروفاژی، افزایش سلول‌های فاگوسیتوز کننده (نوتروفیل‌ها و مونوسیت‌ها)، افزایش تعداد لنفوسیت‌ها و ایمونوگلبولین‌های سرم و افزایش فعالیت لیزوزیم است. استفاده از این مواد ابزار مؤثری برای افزایش شاخص‌های رشد، ظرفیت سیستم ایمنی و مقاومت ماهی در برابر بیماری‌های شایع بوده و تحقیق دربارهٔ استفاده از مکمل‌ها روندی رو به رشدی است (Hosseinifar et al., 2010).

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که افزودن سطوح مختلف گروبیوتیک به جیره فیل ماهیان جوان اثرهای معناداری بر شاخص‌های رشد SGR، FCR و PER دارد. نتایج مشابهی نیز هنگام استفاده از سطوح مختلف این پربیوتیک در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (Azari et al., 2011)، ماهی حوض (Savolainen and Gatlin, 2009)، هیبرید باس مخطط (Gatlin, 2005; Li et Li and al., 2004) و ماهی سفید (Yousefian et al., 2012) گزارش شده است.

آزمایش‌های هماتولوژی و آنالیز اجزای سرم خون به‌عنوان ابزاری مناسب برای تشخیص اختلالات متابولیکی، ارزیابی وضعیت سلامتی ماهیان در شرایط پرورشی متراکم، مقاومت غیراختصاصی گونه‌های مختلف ماهی و مولدین، ارزیابی وضعیت تغذیه و ارزیابی تأثیر مواد افزودنی به غذای ماهی استفاده

www.SID.ir

Archive of SID

می‌شود. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که افزودن سطوح مختلف گربیوتیک به جیره فیل ماهیان جوان پرورشی اثرهای معناداری بر تعداد گلبول‌های قرمز خون، درصد هماتوکریت، غلظت هموگلوبین و میزان نوتروفیل در تیمار ۲ درصد در مقایسه با تیمار شاهد داشته است. افزایش میزان نوتروفیل در سطح ۲ درصد را می‌توان به واکنش دفاعی میزبان در برابر سطوح بالای این پربیوتیک نسبت داد، چنین حالتی نیز به‌دنبال تجویز سطح ۳ درصد اینولین در جیره فیل ماهیان جوان پرورشی گزارش شده است (Ahmadifar et al., 2011). افزایش یافتن تعداد نوتروفیل‌ها متعاقب مصرف این پربیوتیک، وابسته به بتاگلوکان‌هایی است که قادر به تشخیص گیرنده‌های ویژه‌ای بر روی گلبول‌های سفید خون هستند (Andrews et al., 2009). زمانی‌که این گیرنده‌ها توسط گلوکان‌ها اشغال شوند، فعالیت گلبول‌های سفید در احاطه کردن، کشتن و هضم کردن باکتری‌های بیماری‌زا بیشتر می‌شود که همه این عوامل موجب بهبود سیستم دفاعی میزبان می‌گردد Andrews et (al., 2009). علاوه بر این، افزایش میزان نوتروفیل در مواردی از قبیل شرایط استرس‌زا، عفونت‌های باکتریایی و واکنش‌های التهابی نیز مشاهده می‌شود Ahmadifar et (al., 2011). در این مطالعه، اندیس‌های گلبولی MCV، MCH، MCHC هیچ‌کدام تحت تأثیر تجویز خوراکی گروبیوتیک قرار نگرفت ($p>0/05$)، که عدم تأثیر این پربیوتیک در اندازه و نسبت هموگلوبولین گلبول‌های قرمز خون را نشان می‌دهد.

لیزوزیم از مهم‌ترین اجزای ایمنی غیراختصاصی ماهی محسوب می‌شود که موجب تخریب جداره باکتری‌ها، فعال‌سازی کمپلمان و افزایش فعالیت بیگانه‌خواری در ماهی می‌شود. افزایش میزان فعالیت لیزوزیم سرم گویای بهبود وضعیت ایمنی ماهی است و افزایش آن به مقابله بهتر سیستم ایمنی ماهی در برابر عوامل عفونی و استرس‌زا کمک می‌کند. افزایش فعالیت لیزوزیم متعاقب تجویز برخی محرک‌های ایمنی، واکسن‌ها و برخی پربیوتیک‌ها در ماهی مشاهده شده است (Alishahi et al., 2010). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که افزودن سطوح مختلف گروبیوتیک تأثیر معناداری در میزان فعالیت لایزوزیم سرم فیل ماهیان جوان پرورشی نداشته است، هر چند افزایش نسبی در میزان فعالیت لایزوزیم متعاقب تجویز سطح ۲ درصد گروبیوتیک مشاهده شد. نتایج بررسی‌ها نشان داد که استفاده از سطوح ۱ و ۲ درصد این پربیوتیک به جیره هیبرید باس مخطط تأثیر معناداری در میزان فعالیت لایزوزیم سرم و قدرت باکتری‌کشی آن ندارد که با نتایج مطالعه حاضر همخوانی دارد، هر چند افزایش بازماندگی و مقاومت هیبریدها در برابر باکتری‌های استرپتوکوکوس اینیایی و مایکوباکتریوم مارینوم مشاهده شد (Li and Gatlin, 2005; Li et al., 2004).

در مطالعه حاضر مقادیر آنزیم‌های سرمی ALT، AST ، LDH و ALP تحت تأثیر سطوح مختلف گروبیوتیک اضافه شده به جیره فیل ماهیان جوان قرار نگرفت، هر چند مقادیر آنزیم‌های ALT، LDH و ALP در تیمار ۲ درصد بیشتر از سایر تیمارها بوده است. مشابه با مطالعه حاضر، متعاقب تجویز سطوح ۱ تا ۳ درصد گروبیوتیک در جیره ماهی سفید، تأثیر معناداری در شاخص‌های سرمی ALT، AST و ALP مشاهده نشد (et al., 2012

www.SID.ir

Archive of SID

Yousefian). آنزیم‌های کبدی مذکور به‌عنوان شاخص فعالیت کبدی محسوب می‌شوند و تغییر در میزان فعالیت و ترشح آنها می‌تواند متأثر از عوامل فیزیکی وشیمیایی آب، تراکم، شرایط پرورشی، نوع جیره مصرفی، سن، جنس و وضعیت سلامت ماهیان باشد (Racicot et al., 1975). در مطالعه صورت گرفته بر روی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان جوان، متعاقب افزایش سطوح ۱ و ۲ درصدگروبیوتیک در جیره، افزایش معناداری در میزان فعالیت آنزیم‌های گوارشی (لیپاز، پروتئاز و آمیلاز) مشاهده شد (Azari et al., 2011)، هر چند در مطالعه حاضر تأثیر این پربیوتیک بر روی شاخص‌های بیوشیمیایی مذکور در فیل ماهی ارزیابی نشد.

نتایج حاصل از مطالعه حاضر تفاوت معناداری را در میزان گلوکز خون، کلسترول، تری‌گلیسرید و آلبومین سرم متعاقب تجویز سطوح مختلف گروبیوتیک در بین تیمارهای مختلف فیل ماهی نشان نداد. در نقطه مقابل، متعاقب مصرف سطح ۳ درصد این پربیوتیک در جیره ماهی سفید تفاوت معناداری در شاخص‌های سرمی آلبومین، کراتینین، کمپلمان C_3، C_4 و ایمونوگلوبولین M مشاهده شد (Yousefian et al., 2012)، هر چند که مشابه با مطالعه حاضر تأثیر معناداری بر گلوکز خون در این ماهی گزارش نشد. اختلافات به‌دست آمده در این نتایج را می‌توان به تفاوت‌های گونه‌ای، سن ماهیان، فرمولاسیون جیره غذایی، درجه خلوص و دُز مورد استفاده از این پربیوتیک نسبت داد.

افزایش سطح پروتین‌های سرم به‌عنوان شاخص مناسبی برای بررسی وضعیت دفاع ایمنی ماهی مطرح است. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که متعاقب مصرف سطح ۲ درصد گربیوتیک افزایش معناداری در سطح پروتئین تام سرم نسبت به تیمار شاهد دیده می‌شود که نشان‌دهندهٔ افزایش قدرت پاسخ دفاعی میزبان است. چنین وضعیتی نیز متعاقب مصرف این پربیوتیک در ماهی سفید مشاهده شده است (Yousefian et al., 2012). پروتئین تام پلاسما شامل پروتئین‌های آلبومین و گلوبولین است. تصور می‌شود که افزایش میزان آلبومین، گلوبولین و پروتئین سرم بیشتر در ارتباط با تحریک سیستم ایمنی غیراختصاصی میزبان باشد (Wiegertjes et al., 1996).

در مجموع نتایج حاصل از این مطالعه حاکی از آن است که استفاده از این پربیوتیک به‌ویژه در سطح ۲ درصد گروبیوتیک در جیره فیل ماهیان جوان پرورشی بر روی برخی از شاخص‌های رشد، خونی و ایمنی فیل ماهیان جوان پرورشی تأثیرگذار است. بنابراین استفاده از این مکمل خوراکی به‌عنوان محرک رشد و سیستم ایمنی در جیره غذایی فیل ماهیان پرورشی توصیه می‌شود. هر چند انجام مطالعات بیشتر برای تعیین سطح بهینه استفاده از این پربیوتیک در جیره غذایی، اثرگذاری آن بر فعالیت آنزیم‌های گوارشی، تراکم باکتریایی روده، ترکیبات بدن و میزان مقاومت ماهی در برابر باکتری‌های بیماری‌زای شایع ضروری به نظر می‌رسد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله از تلاش‌ها و زحمات مسئولان محترم کارگاه پرورشی ماهیان خاویاری قره‌برون به‌ویژه جناب آقای مهندس اسلامی و سرکار خانم مهندس خطی تشکر می‌نمایند.

www.SID.ir

Archive of SID

منابع

Ahmadifar, E., Akrami, R., Ghelichi, A. and Mohammadi Zarejabad, A. 2011. Effects of different dietary prebiotic inulin levels on blood serum enzyme, hematologic and biochemical parameters of great sturgeon (*Huso huso*) juvenile. *Comparative Clinical Pathology,* 20: 447-451.

Alishahi, M., Ranjbar, M.M., Ghorbanpour, M., Peyghan, R., Mesbah, M. and Razi jalali, M. 2010. Effects of dietary Aloe vera on specific and nonspecific immunity of Common carp (*Cyprinus carpio*). *International Journal of Veterinary Research,* 4: 189-195.

Andrews, S.R., Sahu, N.P., Pal, A.K. and Kumar, S. 2009. Hematological modulation and growth of *Labeo rohita* fingerlings: effect of dietary mannanoligosaccharide, yeast extract, protein hydrolysate and chlorella. *Aquaculture Research,* 41: 61-69.

Azari, A.H., Hashim, R., Azari Takami, G., Farabi, S.M.V., Darvish, M. and Safari, R. 2011. Effect of prebiotic (GroBiotic®-A) on the growth performance and intestinal microflora on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum). *Journal of Research in Biology,* 1(5): 325-334.

Azari, A.H., Hashim, R., Habibi Rezaei, M., Najafpour, Sh., Azari Takami, Gh. and Roohi, A.Gh. 2011. The Effects of Commercial Probiotic and Prebiotic Usage on Growth Performance, Body Composition and Digestive Enzyme Activities in Juvenile Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *World Applied Sciences Journal,* 14: 26-35.

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 Biochemistry,* 30: 21-25.

Ellis, A.E. 1990. Lysozyme assay, Techniques in Fish Immunology. Fair Haven, USA. 103p.

Feldman, B.F., Zinkl, J.G. and Jian, N.C. 2000. Schalm's veterinary hematology. Lippincott Williams and Wilkins publication, Philadelphia, USA. 32p

Gibson, G.R. and Roberfroid, M.B. 1995. Dietary modulation of the human colonic microbiota: Introducing the concept of prebiotics. *British Journal of Nutrition,* 125: 1401-1412.

Gibson, G.R. 2004. Fiber and effects on probiotics (the prebiotic concept). *Clinical Nutrition,* 1: 25–31.

Hosseinifar, S.H., Zare, P. and Merrifield, D.L. 2010. The effects of inulin on growth factors and survival of the Indian white shrimp larvae and post-larvae (*Fenneropenaeus indicus*). *Aquaculture Research,* 41(9): 348-352.

Li, P. and Gatlin III D.M. 2004. Dietary brewer's yeast and the Prebiotic Grobiotic AE influence growth performance, immune responses and resistance of hybrid striped bass (*Moronechrysops* × *M. saxatilis*) to *Streptococcus iniae* infection. *Aquaculture,* 231: 445-456.

Li, P. and Gatlin III, D.M. 2005. Evaluation of the prebiotic GroBiotic®-A and brewer's yeast as dietary supplements for sub-adult hybrid striped bass (*Moronechrysops M.saxatilis*) challenged in situ with *Mycobacterium marinum. Aquaculture,* 248: 197-205.

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.

Savolainen, L.C. and Gatlin III, D.M. 2009. Evaluation of dairy–yeast prebiotic supplementation in the diet of juvenile goldfish in the presence or absence of phytoplankton and zooplankton. *Journal of Aquatic Animal Health,* 21:156–163.

Shahsavani, D., Mohri, M. and Gholipour Kanani, H. 2010. Determination of normal values of some blood serum enzymes in Acipenser stellatus Pallas. *Fish Physiology and Biochemistry,* 36: 39-43.

Wiegertjes, G.F., Stet, R.J.M., Parmentier, H.K. and Van Muiswinkel, W.B. 1996. Immunogenetics of disease resistance in fish; a comparable approach. *Development Comparative Immunology,* 20: 365-371.

Yousefian, M., Hedayatifard, M., Fahimi, Sh., Shikholeslami, M., Irani, M., Amirinia, C. and Mousavi, S.E. 2012. Effect of prebiotic supplementation on growth performance and serum biochemical parameters of Kutum (*Rutilus frisii kutum*) fries. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances,* 7: 684-692.

www.SID.ir

Archive of SID

Fisheries Science & Technology
TMU
Scientific - Research Journal Vol. 4, No. 3, Autumn 2015

Effect of a dietary prebiotic (GroBiotic®-A) on growth performance, hematological, biochemical and immunological parameters of juvenile beluga (*Huso huso*)

Milad Adel[1*], Reza Safari[2], Sakineh Yeganeh[3], Sharareh Ahmadvand[4], Sheida Ahmadvand[4]

1- Ph.D. Student, Department of Aquatic Animal Health and Diseases, Caspian Sea Ecology Research Center, Sari
2- Lecturer, Department of Microbiology, Caspian Sea Ecology Research Center, Sari
3- Assistant Professor, Department of Fisheries, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari
4- M.Sc., Graduate, Department of Fisheries, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari

Received: 05.07.2015 Accepted: 01.11.2015

*Corresponding author: miladadel85@yahoo.com

Abstract:

This study was conducted to evaluate the effects of different levels of prebiotic GroBiotic®-A on some growth, hematological, biochemical and immunity parameters of cultured juvenile beluga (*Hous huso*). Four groups of beluga sturgeon with mean weight of 40.82± 5.8 g were raised for 56 days in fiberglass tanks (20 fish to each tank) and fed with different levels of GroBiotic®-A with concentrations of 0, 0.5, 1.0 and 2.0% (three replicates were used for each concentration). At the end of trial, some of the growth parameters were calculated and blood samples collected from 36 fish. Then some hematological, biochemical and immunity parameters in different groups were determined and compared with control group. Results showed that significant difference in some growth parameters, neutrophil percentage, haemoglobin (Hb), haematocrit (Hct) value and total protein (TP) in fish fed with 2.0% GroBiotic®-A were observed compared with control group ($p<0.05$), but no significant difference were observed in other hematological and biochemical parameters ($p>0.05$). The results suggest that administration of GroBiotic®-A at the level of 2.0% will be improvement some of the growth and hematological parameters and immune function of juvenile beluga. So, using of this supplement as growth promotor and immunostimulants was recommended in farmed beluga.

Keywords: *Hous huso*, GroBiotic®-A, Biochemical parameters, Immunity parameters

www.SID.ir