

تأثیر پری بیوتیک ایمونوژن بر پارامترهای بیوشیمیایی سرم خون ماهی شیربت (*Tor gryp*)

## چکیده

با توجه به وجود گزارشات متعدد از اثرات تحریک ایمنی و رشد پری بیوتیک ایمونوژن در ماهیان و فقدان اطلاعات در مورد تأثیرات آن در ماهی شیربت، در این تحقیق افزودن سطوح مختلف این ماده به خوراک ماهی شیربت و تأثیر آن بر فاکتورهای بیوشیمیایی هدف این بررسی قرار گرفت. به این منظور ۳۶۰ قطعه بچه ماهی شیربت با وزن متوسط ۳۵ گرم به صورت تصادفی به چهار تیمار، هر تیمار در سه تکرار، تقسیم گردیدند. تیمارها به ترتیب با غلظت‌های مختلف خوراک حاوی پری بیوتیک ایمونوژن ۰، ۰/۵، ۱ و ۱/۵ گرم ایمونوژن در کیلوگرم جیره، به مدت ۸۴ روز تغذیه شدند. در ابتدا، وسط و انتهای دوره از ماهی‌های هر تیمار پس از بیهوش نمودن توسط ماده بیهوشی MS222، از طریق ورید ساقه دمی خون‌گیری به عمل آمد و بعد از سانتریفیوژ کردن سرم خون آن‌ها جدا گردید. فاکتورهای بیوشیمیایی گلوکز، تری گلیسرید، کلسترول، اوره، اسید اوریک، کراتینین، پروتئین کل و آلبومین بین تیمارها موردسنجش و بررسی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که فاکتورهای بیوشیمیایی گلوکز، کلسترول، اسیداوریک، اوره، آلبومین و پروتئین کل بین تیمارها نسبت به گروه کنترل اختلاف معنی‌داری دارد ( $P < 0.05$ ) ولی در مورد فاکتورهای بیوشیمیایی کراتینین و تری گلیسرید، بین تیمارها نسبت به گروه کنترل اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد ( $P > 0.05$ ). نتایج حاصل از مقایسه فاکتورهای بیوشیمیایی بین تیمارهای آزمایشی و گروه کنترل در روز ۶۰ آزمایش نشان داد که تنها بین تیمارهای مختلف کراتینین با گروه کنترل اختلاف معنی‌داری مشاهده نمی‌شود ( $P > 0.05$ ). نتایج حاصل از مقایسه فاکتورهای بیوشیمیایی بین تیمارهای آزمایشی و گروه کنترل در روز ۹۰ آزمایش نشان داد که تنها بین تیمارهای مختلف گلوکز، اوره خون و کراتینین با گروه کنترل اختلاف معنی‌داری مشاهده نمی‌شود ( $P > 0.05$ ). نتایج مطالعه حاضر حاکی از آن است که افزایش سطح پری بیوتیک ایمونوژن در جیره باعث افزایش برخی پارامترهای بیوشیمیایی سرم خون در ماهی شیربت پرورشی در مقایسه با گروه شاهد می‌گردد و در نتیجه می‌تواند مکمل مناسبی برای جیره غذایی این نوع ماهی باشد.

**واژگان کلیدی:** ماهی شیربت (*Tor gryp*)، پری‌بیوتیک، ایمونوژن، فاکتورهای

بیوشیمیایی.

تکاور محمدیان<sup>۱</sup>

مهرزاد مصباح<sup>۲\*</sup>

حسین خاج<sup>۳</sup>

خدیجه صادقی<sup>۴</sup>

۱. گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی

دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

۳. استادیار بهداشت و بیماری‌های آبزیان، تحقیقات

کشاورزی استان بوشهر، بوشهر، ایران

۴. کارشناس ارشد شیلات، مشاور اداره کل شیلات

خوزستان، اهواز، ایران

\*مسئول مکاتبات:

m.mesbah@scu.ac.ir

کد مقاله: ۱۳۹۶۰۲۲۶۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۴/۲۱

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۳/۳۰

این مقاله برگرفته از طرح پژوهشی است.

## مقدمه

ماهی شیربت بانام علمی *Tor gryp* یکی از ماهیان بومی و با ارزش حوزه‌ی آبریز غربی و جنوب غربی کشور بالاحص استان خوزستان است که در نزد اهالی بومی به لحاظ کیفیت گوشت از بازاری‌پسندی بالایی برخوردار است و به‌عنوان یکی از باربوس ماهیان جنوب غربی و غرب ایران بخصوص رودخانه‌های کارون و کرخه است که در سنین بالا به وزنی معادل ۳۵ تا ۸۰ کیلوگرم می‌رسند، اما غالب گونه‌ها فاقد چنین وضعیت رشد قابل‌توجهی هستند (Raissy et al., 2012). با توسعه روزافزون آبی‌پروری در بسیاری از مناطق دنیا و نیاز به گسترش منابع غذایی، استفاده از مواد محرک رشد در صنعت آبی‌پروری موردتوجه قرار گرفته است. در این راستا استفاده از پریبیوتیک در جیره غذایی ماهی و میگو دارای اهمیت خاصی است. پریبیوتیک‌ها مواد غذایی غیرقابل هضمی هستند که از طریق تحریک رشد یا فعال کردن برخی از گونه‌های باکتریایی موجود



در روده اثرات سودمندی بر میزبان داشته و باعث بهبود و تعادل میکروفلور روده و افزایش مکانیسم دفاعی میزبان و بهبود سلامتی می‌شوند. پری بیوتیک تجاری ایمونوژن یک ترکیب طبیعی شامل چندین ماده‌ی محرک مانند بتاگلوکان و مانان الیگوساکارید که به‌عنوان مکمل غذایی در آبی‌پروری مورد استفاده قرار می‌گیرد، می‌باشد. مکمل مانان الیگوساکارید در جیره‌ی غذایی ماهیان به‌عنوان یک بهبوددهنده‌ی سلامتی و عملکرد رشد به اثبات رسیده است (Dimitroglou et al., 2010; Staykov et al., 2007; Torrecillas et al., 2007). پری بیوتیک تجاری ایمونوژن شامل  $30 \pm 3$  درصد (۱ و ۳-۶) بتاگلوکان،  $18 \pm 3$  درصد مانان الیگوساکارید، ۳۲ درصد پروتئین، ۸ درصد خاکستر، ۸ درصد رطوبت و ۱/۴ درصد فیبر می‌باشد (Estarabadi et al., 2010). مصرف این محصول به‌طور کلی باعث پیشگیری از اسهال، ایمنی‌زا، جایگزین آنتی بیوتیک، محرک رشد و جاذب مایکوتوکسین می‌شود. در مطالعه‌ای که توسط خوش‌قلب و همکاران (۱۳۹۲) به‌منظور بررسی تأثیر سطوح مختلف *Pediococcus acidilactici* در جیره غذایی بر فاکتورهای ایمنی خون بچه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) صورت گرفت نتایج حاصل حاکی از افزایش فاکتورهای بیوشیمیایی شامل: لیروزیم، IgM، کمپلمان CH50، آلبومین، پروتئین تام، SGPT، SGOT و گلوکز خون ماهیان مورد آزمایش بود.

از آنجاکه شرکت سهامی شیلات در نظر دارد به‌منظور افزایش تولید در واحد سطح نسبت به ترویج و پرورش ماهیان بومی در سطح مزارع استان خوزستان اقدام نماید و در حال حاضر چالش عمده در آبی‌پروری تجاری، بهبود جیره‌های غذایی فرموله شده برای بهینه‌سازی رشد و ارتقاء سلامت ماهیان می‌باشد، از طرفی ارزیابی پارامترهای بیوشیمیایی خون در حیوانات یک ابزار متداول در کلینیکال پاتولوژی دامپزشکی به‌حساب می‌آید و می‌تواند اطلاعات ضروری و مهمی را از وضعیت فیزیولوژیک حیوان در اختیار قرار دهد، اما در ماهی ارزش به‌کارگیری آزمایش‌های بیوشیمیایی خون به دلیل فقدان اطلاعات پایه‌ای موثق و معتبر چندان آشکار نشده است (Gibson et al., 1998). هدف همیشگی تولید آبزیان، به حداکثر رساندن کارایی و بازده تولید برای حداکثر سوددهی است. جیره غذایی حاوی پری بیوتیک‌ها نه تنها مواد مغذی ضروری را تأمین می‌کند، بلکه می‌تواند یکی از بهترین راهکارها برای حفظ سلامت آبزیان پرورشی و افزایش مقاومت آن‌ها به استرس و عوامل بیماری‌زا باشد. از این رو این مطالعه به‌منظور بررسی تأثیر پری بیوتیک تجاری ایمونوژن بر ویژگی‌های بیوشیمیایی سرم خون ماهی شیربت در جهت بهبود رشد و استفاده از این ماده در پرورش ماهی شیربت صورت گرفته است.

## مواد و روش‌ها

تعداد ۳۶۰ قطعه بچه ماهی با وزن ابتدایی  $35 \pm 2$  گرم از مرکز تکثیر ماهیان گرمابی شهید ملکی اهواز برای این آزمایش تهیه شد و با ماشین مخصوص حمل ماهی زنده به سالن آکواریوم دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز منتقل گردید و دو هفته قبل از آغاز مطالعه با شرایط استاندارد فراهم شده در بخش بیماری‌های آبزیان سازگار شدند.

بچه ماهی‌ها به‌صورت کاملاً تصادفی به ۴ تیمار در سه تکرار تقسیم شده به‌طوری که هر تکرار شامل ۳۰ قطعه بچه ماهی بود. تیمارها شامل: تیمار اول: تغذیه شده با خوراک حاوی ۰/۵ گرم ایمونوژن در کیلوگرم خوراک؛ تیمار دوم تغذیه شده با خوراک حاوی ۱ گرم ایمونوژن در کیلوگرم خوراک؛ تیمار سوم تغذیه شده با خوراک حاوی ۱/۵ گرم ایمونوژن در کیلوگرم خوراک؛ تیمار چهارم تغذیه شده با خوراک فاقد ایمونوژن، می‌باشد. طول دوره آزمایش دوازده هفته بود و در روزهای ۳۰، ۶۰ و انتهای دوره از ماهی‌ها نمونه‌گیری شد و فاکتورهای آزمایشی به شرحی که در ادامه ذکر شده است بین تیمارها مقایسه گردید.

ابتدا مواد خشک غذا و پری بیوتیک ایمونوژن بر اساس روش توصیه شده‌ی شرکت سازنده با نسبت‌های از پیش تعیین شده جهت گروه‌های آزمایشی به‌وسیله ترازوی دیجیتال توزین و به مدت ۳۰ دقیقه به‌وسیله همزن برقی مخلوط شدند. سپس مقداری آب به مواد اضافه شده و ترکیبات دوباره به مدت ۱۵ دقیقه دیگر مخلوط شدند. سپس با استفاده از چرخ‌گوشت صنعتی به قطر ۳ میلی‌متر به رشته‌های بلند تبدیل گردید و در ادامه

جهت خشک شدن، در دستگاه خشک‌کن به مدت ۷ ساعت در دمای ۵۰-۶۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. پس‌از آن در اندازه‌ی مناسب (۸ میلی‌متر و قطر ۳ میلی‌متر) به‌صورت پلت تهیه گردید (Sudagar et al., 2004).

بچه ماهی‌ها در طول دوره تحقیق با خوراک ماهی (ساخت شرکت ماهی کارون) با ترکیب غذایی ۲۱/۵ درصد پروتئین، ۴/۲ درصد چربی، ۵ درصد خاکستر و ۱۰/۶۲ درصد رطوبت تغذیه شدند. غذادهی بچه ماهی‌ها به‌طور روزانه و در سه نوبت در ساعت‌های ۸ صبح، ۱۲ ظهر و ۱۶ عصر انجام گرفت. میزان غذادهی حداکثر ۳ درصد وزن بیوماس به‌صورت روزانه تعیین گردید (Zaccorrate et al., 1996) و جهت به حداقل رساندن اتلاف غذا قطر پلت‌ها برای تمام جیره‌ها ۳ میلی‌متر در نظر گرفته‌شده بود (Kim and Kaushik., 1992). غذادهی به‌جز در روزهای زیست‌سنجی در تمام طول دوره پرورش بدون وقفه ادامه داشت.

کیفیت آب در طول دوره پرورش در حدی قابل قبول و تقریباً ثابت بود. شستشوی مخازن نیز به‌طور روزانه صورت گرفت. پارامترهای فیزیکی و شیمیایی آب از قبیل اکسیژن، دما، pH، شوری و هدایت الکتریکی به‌صورت روزانه اندازه‌گیری و ثبت شد. پارامترهای کیفی آب از قبیل آمونیاک، نیترات نیز به‌صورت هفتگی مورد ارزیابی قرار گرفت. میانگین دمای آب حوضچه‌ها در طول دوره پرورش  $28 \pm 1$  درجه سانتی‌گراد و pH معادل ۸/۳-۷/۵ بود.

تعداد ۶ قطعه ماهی به‌طور تصادفی از هر تیمار آزمایشی در روزهای ۳۰، ۶۰ و ۹۰ انتخاب‌شده، توسط ماده بی‌هوشی MS222 (۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر) بی‌هوش و سپس با سرنگ ۲ سی‌سی از ورید ساقه دمی خون‌گیری انجام گردید و در میکروتیوپ‌های حاوی ماده ضد انعقاد هپارین منتقل نموده و پس‌از آن نمونه‌های خون جهت جداسازی پلاسما درون دستگاه سانتریفوژ مدل eppendorf 5415D با سرعت ۳۶۰۰ دور در ثانیه به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شدند. پس از جداسازی، پلاسما فوراً به فریزر در دمای ۲۰- منتقل و تا زمان انجام آزمایشات نگهداری گردیدند (Alishahi et al., 2010).

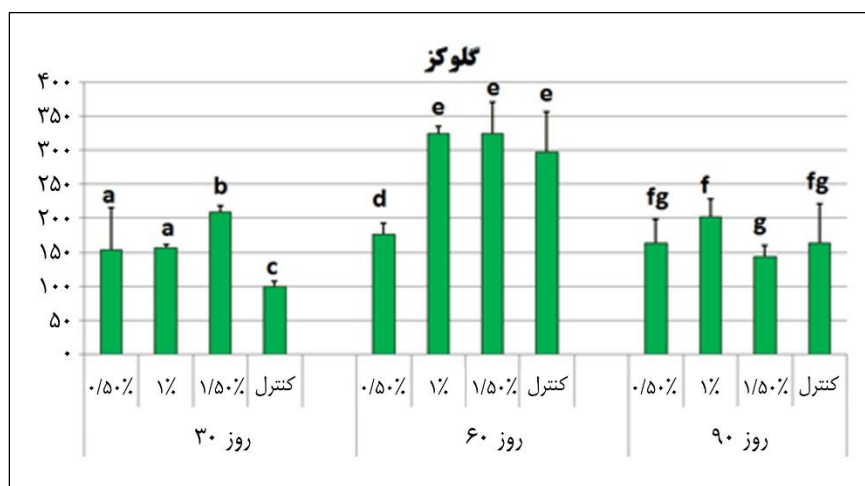
در روزهای صفر، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ از ماهی‌ها خون‌گیری انجام‌شده و برای اندازه‌گیری پارامترهای بیوشیمیایی سرم خون ماهیان، از همان روش‌های مورد استفاده در پستانداران استفاده گردید (Borges et al., 2004; Fallah and Rezaei, 2013; Kreutz et al., 2003). در این مطالعه اندازه‌گیری گلوکز، اوره، اسیداوریک، کراتینین، پروتئین تام، آلبومین، کلسترول و تری گلیسرید با استفاده از کیت‌های آزمایشگاهی شرکت پارس بیوشیمی و به‌وسیله دستگاه اتوماتیک بیوشیمی آنا لیزر الان ساخت شرکت اپندروف آلمان به شرح روش‌های زیر صورت گرفت. گلوکز به روش آنزیمی گلوکز اکسیداز در طول موج ۵۴۶ نانومتر اندازه‌گیری گردید. کلسترول به روش آنزیمی کلسترول اکسیداز در طول موج ۵۴۶ نانومتر توسط دستگاه قرائت گردید. تری گلیسرید به روش آنزیمی گلیسروفوسفات‌دهیدروژناز در طول موج ۵۴۶ نانومتر توسط دستگاه بیوشیمی آنالیزر موردسجش قرار گرفت. پروتئین تام به روش بیوره که طی آن پروتئین‌ها در محلول قلیایی با سولفات مس تولید رنگ بنفش می‌کنند به‌وسیله دستگاه بیوشیمی آنالیزر موردسجش قرار گرفت. آلبومین به روش اتصال به رنگ با استفاده از رنگ‌برم کرزول گرین، کراتینین با پیکرات قلیایی به روش ژافه، اوره به روش آنزیمی اوره‌آز در طول موج ۳۴۰ نانومتر، اسیداوریک به روش آنزیمی گوچمن و اشمیت در طول موج ۵۴۶ نانومتر اندازه‌گیری شدند.

تأثیر پری‌بیوتیک بر فاکتورهای رشد با استفاده از تفاوت میانگین فاکتورهای رشد مورد بررسی بین ۴ تیمار توسط آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه موردبررسی قرار گرفت و معنی‌دار بودن تفاوت میانگین‌ها با ضریب اطمینان ۹۵ درصد با استفاده از آزمون تک‌میلی Duncan انجام شد. از نرم‌افزار آماری SPSS ویرایش شانزدهم برای آنالیز اطلاعات و نرم‌افزار EXCEL برای رسم نمودارها استفاده شد.

## نتایج

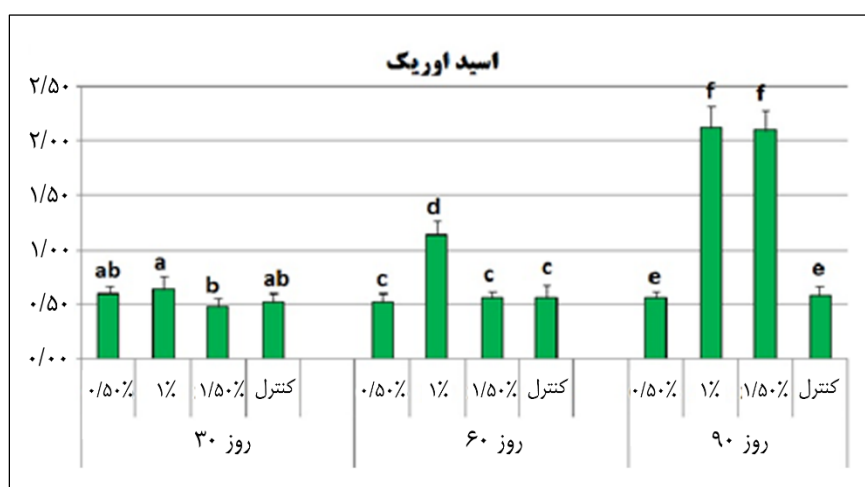
در این تحقیق برخی پارامترهای بیوشیمیایی از جمله گلوکز، کلسترول، تری گلیسرید، پروتئین کل، آلبومین، کراتینین، اوره و اسید اوریک به روش‌های متداول آزمایشگاهی، در ماهی شیربت *Tor grypus* مورد بررسی و مطالعه قرار گرفت. نتایج حاصل از تأثیر پری بیوتیک ایمونوژن بر فاکتورهای بیوشیمیایی خون ماهی شیربت در تیمارهای مختلف در روزهای ۳۰، ۶۰ و ۹۰ مورد مطالعه قرار گرفت و در شکل ۱ مشخص شده است. نتایج حاصل از تأثیر پریبیوتیک ایمونوژن بر گلوکز خون ماهی شیربت نشان می‌دهد که در روز ۳۰ سه تیمار ۱، ۵/۵ و ۱/۵ درصد اختلاف معنی‌داری با تیمار کنترل دارند ( $P < 0.05$ ) و در روز ۶۰ تیمار ۵/۵ درصد با تیمار کنترل اختلاف معنی‌داری دارد ( $P < 0.05$ ) ولی دو تیمار ۱ و ۱/۵ درصد با تیمار کنترل اختلاف معنی‌داری ندارند ( $P > 0.05$ ). همچنین در آخر دوره (روز ۹۰) هیچ اختلاف معنی‌داری بین تیمارها با تیمار کنترل مشاهده نشد ( $P > 0.05$ ). نتایج حاصل از تأثیر پریبیوتیک ایمونوژن بر اسید اوریک خون در شکل ۱ آورده شده است و همان‌طور که مشاهده می‌شود در روز ۳۰ تیمارهای آزمایشی نسبت به تیمار کنترل فاقد تفاوت معنی‌داری بودند ( $P > 0.05$ ) و در روز ۶۰ بین تیمار ۱ درصد نسبت به تیمار کنترل تفاوت معنی‌داری مشاهده شد ( $P < 0.05$ ) ولی بین بقیه تیمارها در روز ۶۰ تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ( $P > 0.05$ ). در روز ۹۰ تیمارهای ۱ و ۱/۵ درصد نسبت به تیمار کنترل دارای تفاوت معنی‌داری بودند ( $P < 0.05$ ). نتایج حاصل از تأثیر پریبیوتیک ایمونوژن بر اوره خون در شکل ۳ نشان می‌دهد که در روز ۳۰ تیمارهای ۱، ۵/۵ و ۱/۵٪ نسبت به تیمار کنترل تفاوت معنی‌داری دارند ( $P < 0.05$ ). و در روز ۶۰ تیمار ۱/۵ درصد نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی‌داری را نشان داد ( $P < 0.05$ ). در روز ۹۰ هیچ‌گونه تفاوت معنی‌داری بین تیمارها نسبت به گروه کنترل دیده نشد ( $P > 0.05$ ). نتایج حاصل از تأثیر پریبیوتیک ایمونوژن بر آلبومین خون نشان می‌دهد که در روز ۳۰ تیمارهای ۵/۵ و ۱/۵ درصد نسبت به تیمار کنترل تفاوت معنی‌داری را دارند ( $P < 0.05$ ). در روز ۶۰ تیمار ۱، ۵/۵ و ۱/۵ درصد نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی‌داری را نشان دادند ( $P < 0.05$ ). در روز ۹۰ تیمار ۵/۵ و ۱/۵ درصد نسبت به تیمار کنترل تفاوت معنی‌داری را نشان دادند ( $P < 0.05$ ). ولی تیمار ۱ درصد نسبت به تیمار کنترل فاقد تفاوت معنی‌داری بود ( $P > 0.05$ ) (شکل ۴).

نتایج حاصل از تأثیر پریبیوتیک ایمونوژن بر پروتئین کل خون ماهی شیربت نشان می‌دهد که در روز ۳۰ تیمار ۱، ۵/۵ و ۱/۵ درصد نسبت به تیمار کنترل دارای تفاوت معنی‌داری بودند ( $P < 0.05$ ). در روز ۶۰ تیمار ۱ و ۱/۵ درصد نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی‌داری را نشان دادند ( $P < 0.05$ ). همچنین در روز ۹۰ بین تیمارهای ۱، ۵/۵ و ۱/۵ درصد نسبت به تیمار کنترل تفاوت معنی‌داری مشاهده گردید ( $P < 0.05$ ) (شکل ۵). نتایج حاصل از تأثیر پریبیوتیک ایمونوژن بر کراتینین خون ماهی شیربت در شکل ۶ نشان می‌دهد که در روز ۳۰ بین تیمارها نسبت به تیمار کنترل تفاوت معنی‌داری مشاهده نگردیده است ( $P > 0.05$ ). در روز ۶۰ تیمار ۵/۵ درصد کمترین میزان را داشته است و بین تیمارها نسبت به تیمار کنترل تفاوت معنی‌داری مشاهده نگردید ( $P > 0.05$ ). در روز ۹۰ بین تیمارها نسبت به تیمار کنترل تفاوت معنی‌داری مشاهده نگردید ( $P > 0.05$ ). در روز ۶۰ تیمار ۵/۵ و ۱/۵ درصد نسبت به تیمار کنترل تفاوت معنی‌داری مشاهده گردید ( $P < 0.05$ ). ولی بین تیمار ۱ و ۱/۵ درصد نسبت به تیمار کنترل هیچ‌گونه تفاوت معنی‌داری مشاهده نگردید ( $P > 0.05$ ). نتایج حاصل از تأثیر پریبیوتیک ایمونوژن بر تری گلیسرید خون نشان می‌دهد که در روز ۳۰ تیمار ۱ درصد نسبت به تیمار کنترل دارای تفاوت معنی‌داری بوده است ( $P < 0.05$ ). در روز ۶۰ تیمار ۱ درصد نسبت به تیمار کنترل تفاوت معنی‌داری را نشان داد ( $P < 0.05$ ). ولی تیمار ۵/۵ و ۱/۵ درصد نسبت به تیمار کنترل هیچ‌گونه تفاوت معنی‌داری را نشان ندادند ( $P > 0.05$ ). در روز ۹۰ تیمار ۱ درصد بیشترین میزان و تیمار ۵/۵ درصد کمترین میزان را داشته که این تفاوت‌ها نسبت به تیمار کنترل از نظر آماری معنی‌دار بوده‌اند ( $P < 0.05$ ) (شکل ۸).



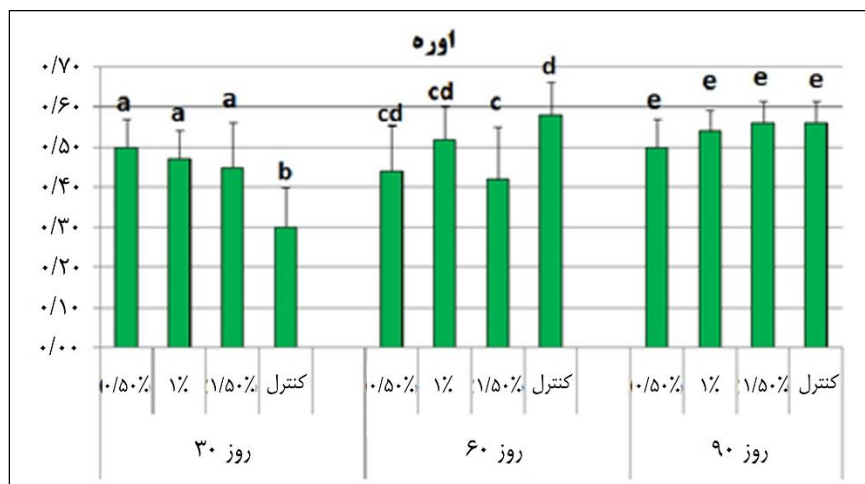
شکل ۱: میزان گلوکز تیمارهای مختلف در روزهای ۳۰، ۶۰ و ۹۰ آزمایش.

حروف غیر همنام روی میله انحراف معیار نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است.



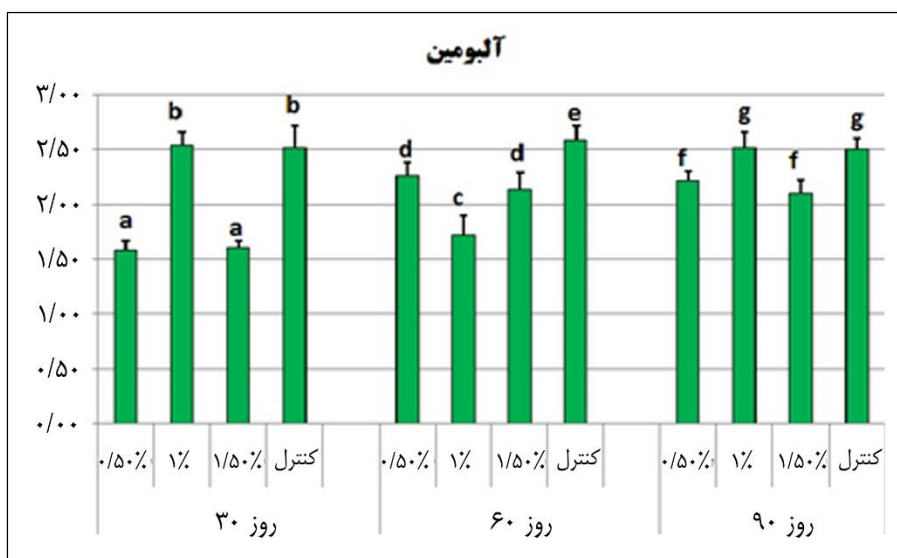
شکل ۲: میزان اسید اوریک تیمارهای مختلف در روزهای ۳۰، ۶۰ و ۹۰ آزمایش.

حروف غیر همنام روی میله انحراف معیار نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است.



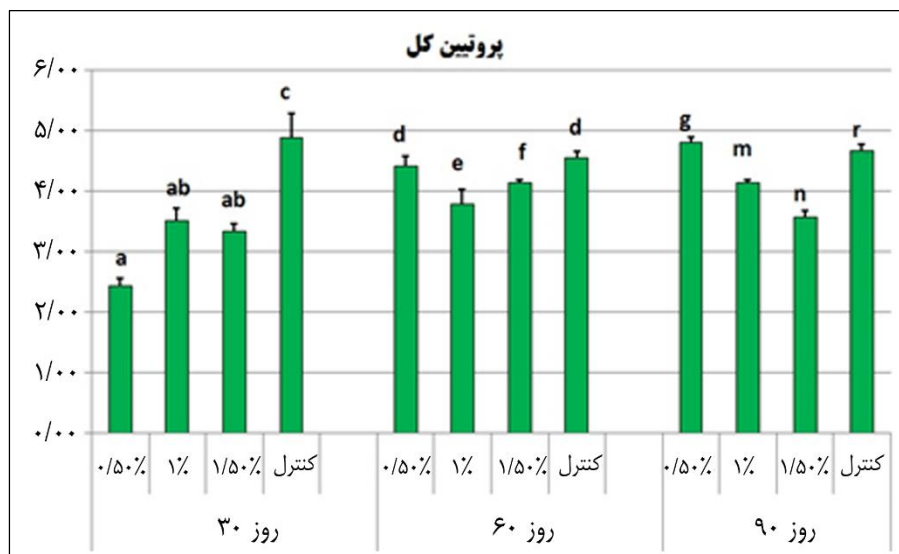
شکل ۳: میزان اوره تیمارهای مختلف در روزهای ۳۰، ۶۰ و ۹۰ آزمایش.

حروف غیر همنام روی میله انحراف معیار نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است.



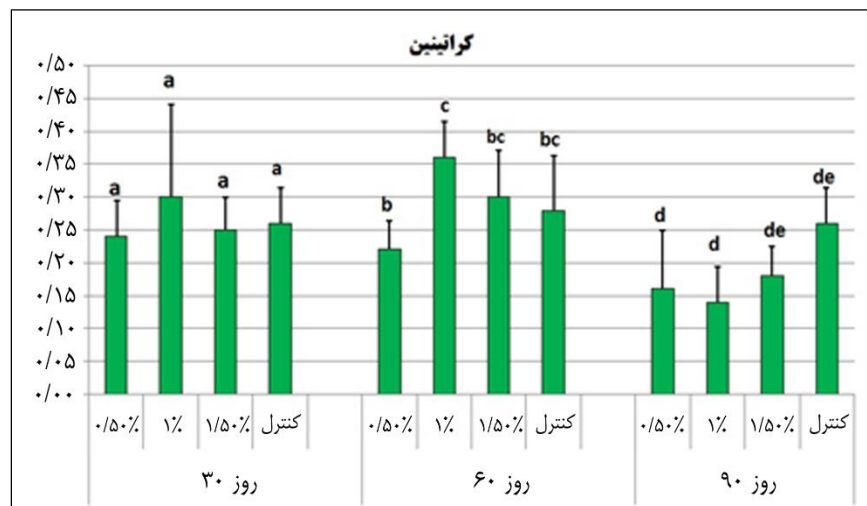
شکل ۴: میزان آلبومین تیمارهای مختلف در روزهای ۳۰، ۶۰ و ۹۰ آزمایش.

حروف غیر همنام روی میله انحراف معیار نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است.



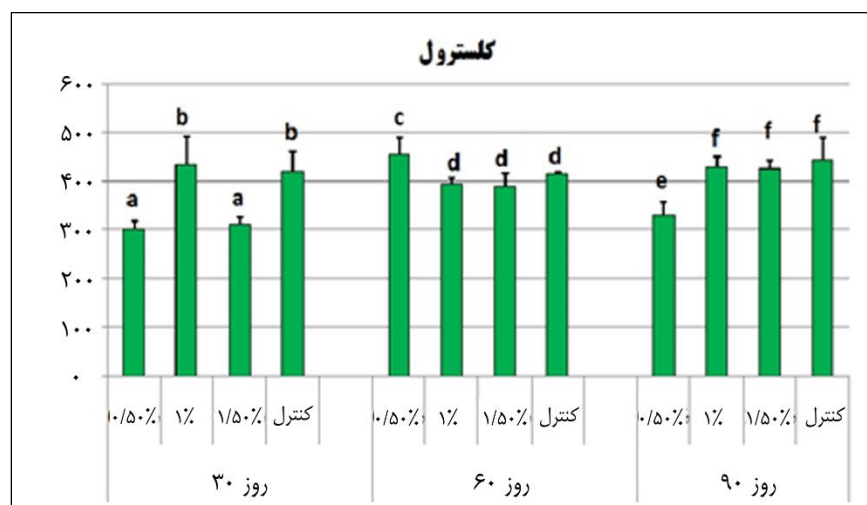
شکل ۵: میزان پروتئین کل تیمارهای مختلف در روزهای ۳۰، ۶۰ و ۹۰ آزمایش.

حروف غیر همنام روی میله انحراف معیار نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح ۰/۰۵ است.



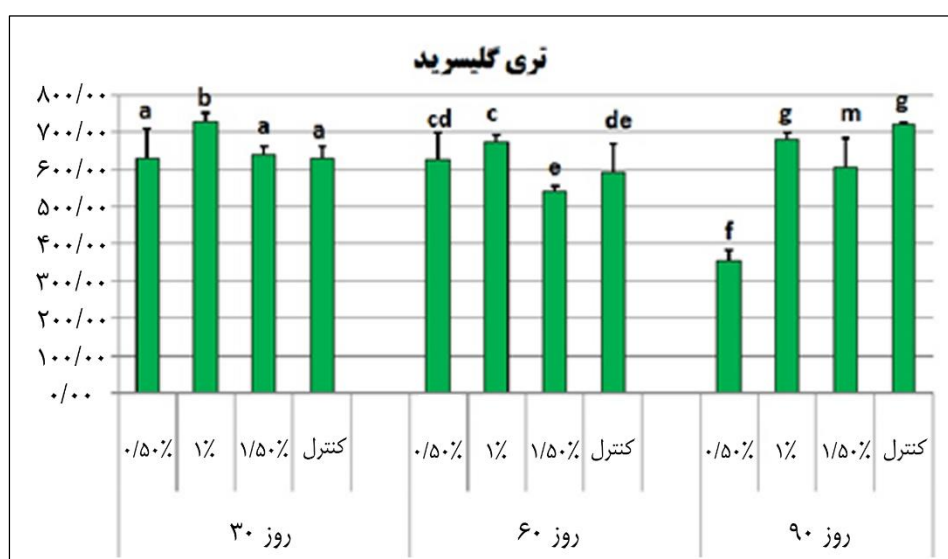
شکل ۶: میزان کراتینین تیمارهای مختلف در روزهای ۳۰، ۶۰ و ۹۰ آزمایش.

حروف غیر همنام روی میله انحراف معیار نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح ۰/۰۵ است.



شکل ۷: میزان کلیسترول تیمارهای مختلف در روزهای ۳۰، ۶۰ و ۹۰ آزمایش.

حروف غیر همنام روی میله انحراف معیار نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است.



شکل ۸: میزان تری گلیسرید تیمارهای مختلف در روزهای ۳۰، ۶۰ و ۹۰ آزمایش.

حروف غیر همنام روی میله انحراف معیار نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است.

## بحث و نتیجه‌گیری

افزایش سطح تولید و متراکم شدن تولیدات در صنعت آبزی‌پروری باعث کاهش کیفیت آب، افزایش استرس، کاهش کیفیت تولیدات و افزایش عفونت‌های باکتریایی، قارچی و ویروسی شده است که این عوامل افزایش رشد این صنعت را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Yousefian et al., 2012). در بین پری بیوتیک‌های مورد استفاده در تغذیه انسان و سایر جانوران، کربوهیدرات‌ها بیشتر مورد مطالعه قرار گرفته‌اند. مشخص شده است که در میان کربوهیدرات‌ها، اینولین، الیگوفروکتوز، ترانس گالاکتو الیگوساکارید و لاکتوز را می‌توان به عنوان پری بیوتیک استفاده کرد. در بین انواع

مختلف پری بیوتیک، اثرات فروکتو الیگوساکارید، گالاکتو الیگوساکارید، گلیکو الیگوساکارید و مانان الیگوساکاریدها روی سلامتی انسان و سایر جانوران اهلی مطالعه شده است. در حال حاضر پری بیوتیک ها بیشتر بر اساس توانایی شان در افزایش رشد میکروارگانیسم های تولید کننده اسیدلاکتیک انتخاب می شوند. جیره های غذایی حاوی پری بیوتیک، نه تنها مواد مغذی ضروری برای جانور تغذیه کننده را فراهم می کنند، بلکه می توانند به عنوان یکی از بهترین راهکارها برای حفظ سلامت آبزیان پرورشی و افزایش مقاومت آنها در برابر استرس و عوامل بیماری زا قلمداد شوند (Rad et al., 2013; Ringø et al., 2010). مهم ترین محصول حاصل از متابولیسم پری بیوتیک ها، اسیدهای چرب زنجیره کوتاه هستند که از طریق اپی تلوم روده جذب می شوند و به عنوان یک منبع انرژی مهم برای میزبان تلقی شده و سبب بهبود جذب مواد غذایی می شوند (Jenkins et al., 1999; Niness, 1999). از آنجایی که با توجه به ترکیبات بیوشیمیایی پلاسما خون می توان کیفیت داخلی بدن را ارزیابی کرد و اخیراً توجه زیادی به فاکتورهای بیوشیمیایی خون ماهی به عنوان شاخصی برای ارزیابی کیفیت محیط داخلی صورت گرفته است (Luskova et al., 2002; Svoboda et al., 2001). این مطالعه باهدف ارزیابی تأثیر پری بیوتیک ایمونوژن بر برخی فاکتورهای بیوشیمیایی خون (گلوکز، اوره، تری گلیسرید، کلسترول، کراتینین، اسیداوریک، آلومین و پروتئین کل) در ماهی شیربت (*Tor grypus*) صورت گرفته است. بررسی نتایج حاصل از اندازه گیری فاکتورهای بیوشیمیایی خون ماهی شیربت در روز ۳۰ آزمایش نشان داد که بین شاخص های بیوشیمیایی گلوکز، اسید اوریک و اوره تغذیه شده با میزان ۰/۵ درصد پری بیوتیک تجاری ایمونوژن، افزایش معنی داری نسبت به گروه کنترل مشاهده می شود ( $P < 0/05$ ). در مورد فاکتورهای تری گلیسرید و کراتینین نسبت به گروه کنترل اختلاف معنی داری مشاهده نشد ( $P > 0/05$ ) و فاکتورهای آلومین، پروتئین کل و کلسترول کاهش معنی داری را نسبت به گروه شاهد نشان دادند ( $P < 0/05$ ). همچنین در این تحقیق شاخص های بیوشیمیایی گلوکز، اوره و تری گلیسرید تغذیه شده با میزان ۱ درصد پری بیوتیک تجاری ایمونوژن، افزایش معنی داری را نسبت به گروه کنترل نشان داد ( $P < 0/05$ ). ولی پروتئین کل کاهش معنی داری نسبت به گروه کنترل نشان داد ( $P < 0/05$ ). سنجش سطح پروتئین های سرم خون شاخص مناسبی برای بررسی وضعیت ایمنی شناسی ماهی می باشد. هنگامی که کمبود انرژی داشته باشیم، این کمبود با کمبود پروتئین توأم می شود زیرا زمانی که بدن با کمبود انرژی مواجه می شود به ناچار پروتئین ها می سوزند و ایجاد انرژی می کنند و به همین دلیل سوء تغذیه پروتئین (PEM) همیشه با کمبود انرژی (malnutrition) همراه است و همین موضوع ممکن است علت کاهش پروتئین در گروه آزمایشی نسبت به گروه کنترل باشد. در تحقیقی که توسط رضایی و همکاران (۱۳۹۲) جهت بررسی تأثیر عصاره گیاه مور خوش *Zhumeria majdae* در جیره غذایی بر شاخص های خون شناسی گربه ماهی *Pangasianodon hypophthalmus* انجام شد و میزان پروتئین کل سرم خون تفاوت معنی داری را بین تیمارهای مختلف، نشان نداد. نتایج تحقیق حاضر با نتایج تحقیق رضایی و همکاران (۱۳۹۲)، Alishahi و همکاران (۲۰۱۱) در مورد تأثیر تجویز خوراکی عصاره گیاه خار مریم (*Silybum marianum*) بر پاسخ های ایمنی ماهی کپور معمولی، Dugenci و همکاران (۲۰۰۳) در مورد تأثیرات ایمنی شناختی عصاره سه گیاه دارویش *Viscum album*، گزنه *Urtica dioica* و زنجبیل *Zingiber officinale* بر ماهیان قزل آلائی رنگین کمان، Dorucu و همکاران (۲۰۰۹) در بررسی اثر دانه های زیره سیاه *Nigella sativa* بر پاسخ ایمنی ماهی قزل آلائی رنگین کمان و Pratheepa و همکاران (۲۰۱۰) در مطالعه تأثیر عصاره برگ گیاه *Aegle marmelos* بر روی ماهی کپور معمولی مطابقت دارد. در تقابل با نتایج تحقیق حاضر در تحقیقات مشابه دیگری که توسط Misra و همکاران (۲۰۰۶) در قزل آلائی رنگین کمان و Ispir و Mustafa (۲۰۰۵) در کپور هندی *labeo rohita* انجام شد، علیرغم گزارش برخی شاخص های تحریک ایمنی در تعدادی از فرآورده های گیاهی، عدم تأثیر این عصاره ها بر میزان پروتئین کل و گلوبولین سرم در گونه های مورد بررسی گزارش گردید.

نتایج به دست آمده از فاکتورهای آلومین، اسید اوریک و کراتینین باوجود روند افزایشی نسبت به گروه شاهد اختلاف معنی داری را نشان ندادند ( $P > 0/05$ ). نتایج نشان می دهد که فاکتورهای تغذیه شده با میزان ۱/۵ درصد پری بیوتیک در روز ۳۰ در مورد فاکتورهای گلوکز و اوره افزایش معنی داری نسبت به شاهد مشاهده شد ( $P < 0/05$ ). ولی فاکتورهای اسید اوریک، آلومین، پروتئین کل و کلسترول کاهش معنی داری نسبت به گروه شاهد نشان دادند ( $P < 0/05$ ). نتایج حاصل از اندازه گیری فاکتورهای بیوشیمیایی خون ماهی شیربت در روز ۶۰ آزمایش نشان داد که

شاخص‌های گلوکز و آلبومین تغذیه‌شده با میزان ۰/۵ درصد پریبیوتیک تجاری ایمونوژن، کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل نشان دادند ( $P < 0/05$ ). و در مورد فاکتورهای اوره و کراتینین نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری مشاهده نشد ( $P > 0/05$ ). و فاکتور کلسترول کاهش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد نشان داد ( $P < 0/05$ ). تری‌گلیسرید نیز با توجه به روند افزایشی نسبت به گروه شاهد اختلاف معنی‌داری را نشان نداد ( $P > 0/05$ ). شاخص‌های بیوشیمیایی اسید اوریک و تری‌گلیسرید تغذیه‌شده با میزان ۱ درصد پریبیوتیک تجاری ایمونوژن، افزایش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل نشان داد ( $P < 0/05$ ) و در مورد فاکتورهای کلسترول و کراتینین با توجه به روند افزایشی نسبت به گروه کنترل اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ( $P > 0/05$ ). فاکتورهای پروتئین کل و اوره کاهش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد نشان ندادند ( $P > 0/05$ ). ولی گلوکز با توجه به افزایش، اختلاف معنی‌داری با گروه کنترل نداشت ( $P > 0/05$ ). در تحقیق انجام‌شده شاخص‌های بیوشیمیایی اوره، آلبومین و پروتئین کل تغذیه‌شده با میزان ۱/۵ درصد پریبیوتیک تجاری ایمونوژن، کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل نشان دادند ( $P < 0/05$ ). فاکتورهای تری‌گلیسرید و کلسترول نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری را نشان ندادند ( $P > 0/05$ ). اکرمی و همکاران (۱۳۸۷) نیز بی‌اثر بودن پریبیوتیک الیگوفروکتوز را بر سطوح کلسترول سرم گزارش نمودند. گلوکز و کراتینین با توجه به روند افزایشی نسبت به گروه شاهد اختلاف معنی‌داری را نشان ندادند ( $P > 0/05$ ). همچنین فاکتور اوره کاهش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد را نشان داد ( $P < 0/05$ ).

نتایج حاصل از اندازه‌گیری فاکتورهای بیوشیمیایی خون ماهی شیربت در روز ۹۰ آزمایش نشان داد که شاخص‌های بیوشیمیایی کلسترول، آلبومین و تری‌گلیسرید تغذیه‌شده با میزان ۰/۵ درصد پریبیوتیک تجاری ایمونوژن، کاهش معنی‌داری را نسبت به گروه کنترل دارند ( $P < 0/05$ ). و در مورد فاکتورهای اوره و کراتینین نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری مشاهده نشد ( $P > 0/05$ ). فاکتور گلوکز افزایش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد نشان نداد ( $P > 0/05$ ). در مورد پروتئین کل نیز با توجه به روند افزایشی نسبت به گروه شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده شد ( $P < 0/05$ ). فاکتور بیوشیمیایی اسید اوریک تغذیه‌شده با میزان ۱ درصد پریبیوتیک تجاری ایمونوژن، افزایش معنی‌داری را نسبت به گروه کنترل نشان داد ( $P < 0/05$ ). و در مورد فاکتور گلوکز با توجه به روند افزایشی نسبت به گروه کنترل اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ( $P > 0/05$ ) و فاکتورهای اوره، کراتینین، کلسترول و تری‌گلیسرید در ضمن کاهش، اختلاف معنی‌داری نسبت به گروه شاهد نشان ندادند ( $P > 0/05$ ). و پروتئین کل با توجه به کاهش، اختلاف معنی‌داری با شاهد نشان داد ( $P < 0/05$ ). اسید اوریک تغذیه‌شده با میزان ۱/۵ درصد پریبیوتیک تجاری ایمونوژن، افزایش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل نشان داد ( $P < 0/05$ ). در فاکتورهای پروتئین کل، آلبومین و تری‌گلیسرید با توجه به روند کاهشی نسبت به گروه کنترل اختلاف معنی‌داری مشاهده شد ( $P < 0/05$ ). روند کاهشی گلوکز و کراتینین نسبت به گروه کنترل اختلاف معنی‌داری را نشان نداد ( $P > 0/05$ ). تفاوت شرایط محیطی نظیر درجه حرارت آب، میزان اکسیژن، کیفیت آب، فصل، جنس، استرس، گونه و سن از جمله عوامل مؤثر بر نتایج مطالعات می‌باشد (Rad et al., 2013). میزان گلوکز خون ماهیان در شرایط طبیعی بسته به گونه در دامنه ۳۰-۲۵ میلی‌گرم در دسی‌لیتر می‌باشد (Svoboda et al., 2001). در مطالعه‌ی حاضر بیش‌ترین میزان این پارامتر بدون هیچ تفاوت معنی‌داری در سطوح ۱ و ۱/۵ درصد ایمونوژن در جیره مشاهده شد ( $P < 0/05$ ) که نشانگر توانایی ماهی شیربت در متابولیسم ایمونوژن در سطوح ۱ و ۱/۵ درصد می‌باشد و مکانیسم آن به این صورت است که ماهی با انجام واکنش‌های بیوشیمیایی گلیکونوژنز، گلیکوژن بافت را به گلوکز تبدیل کرده و وارد جریان خون می‌کند. از آنجاکه ایمونوژن در بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیک به‌عنوان فیبر محلول شرکت می‌کند می‌تواند سطح کلسترول سرم را کاهش و قند خون را نیز کنترل نماید. تأثیر ایمونوژن در کاهش کلسترول به کاهش سنتز اسید چرب در کبد به‌واسطه جلوگیری از فعالیت آنزیم‌های لیپوژنیک مربوط می‌شود (Mussatto and Mancilha, 2007). بر اساس یافته‌های موجود در این بررسی و یافته‌های دیگر پژوهشگران مشاهده می‌شود که فاکتورهایی مانند عوامل محیطی (فصول سال، شوری، دوره نوری، درجه حرارت و تراکم)، عوامل فیزیولوژیکی (گونه آبی، سیکل تولیدمثلی و وضعیت بلوغ، سن، جنس و شرایط تغذیه‌ای)، زمان نمونه‌گیری، چگونگی تهیه نمونه، دقت و حساسیت روش‌های اندازه‌گیری می‌توانند بر فعالیت‌های پارامترهای بیوشیمیایی خون تأثیر بگذارند و باعث اختلاف در تفسیر شوند (Borges et al., 2004; Hoseinifar et al., 2011). نتایج مطالعه حاضر حاکی از آن است که افزایش سطح پریبیوتیک ایمونوژن در جیره منجر به افزایش میزان برخی پارامترهای بیوشیمیایی سرم

خون مانند گلوکز، کلسترول، اسیداوریک، اوره، آلبومین و پروتئین کل در ماهی شیربت پرورشی در مقایسه با گروه شاهد می گردد. بنابراین پریوتیک ایمونوژن می تواند مکمل مناسبی برای جیره غذایی ماهی شیربت پرورشی باشد و چنین نتیجه گیری می شود که سطح ۱ درصد ایمونوژن در جیره می تواند دارای اثرات بهتری روی فاکتورهای بیوشیمیایی خون ماهی شیربت پرورشی باشد. با توجه به گسترش روزافزون صنعت پرورش ماهی و بازارپسندی ماهیان بومی در منطقه به نظر می رسد باید مطالعات بیش تری در ارتباط با پارامترهای خونی و چگونگی آن ها در شرایط مختلف فیزیولوژیک و پاتولوژیک صورت گیرد تا به موازات گسترش این صنعت بتوان پاسخگوی نیازهای علمی در زمینه پیشگیری، تشخیص و درمان بیماری های آن بود.

## منابع

- بهرروزخوش قلب، م.، آذری تاکامی، ق.، خارا، ح.، کاظمی، ر.، ۱۳۹۲. بررسی تاثیر سطوح مختلف *Pediococcus acidilactici* در جیره غذایی بر فاکتورهای ایمنی خون بچه ماهی قزل آلاي رنگين کمان (*Oncorhynchus mykiss*). مجله فیزیولوژی و تکوین جانوری (علوم زیستی)، دوره ۶، شماره ۳ (۲۲)، صفحات ۵۳ - ۶۶.
- رضایی، م. ه.، سوری نژاد، ا.، سلطانیان، س.، یوسف زادی، م.، ۱۳۹۲. تأثیر عصاره گیاه مورخوش *Zhumeria majdae* در جیره غذایی بر شاخص های خون شناسی گربه ماهی *Pangasianodon hypophthalmus*. مجله بوم شناسی آبریان، شماره ۳ (۱)، صفحات ۸-۱۱.
- Alishahi, M., Soltani, M., Mesbah, M. and Esmaeili Rad, A. 2011. Effects of dietary Silybum marianum extract on immune parameters of the common carp (*Cyprinus carpio*). Veterinary Research. 66(3): 255-263.
- Borges, A., Scotti, L. V., Siqueira, D. R., Jurinitz, D. F. and Wassermann, G. F., 2004. Hematologic and serum biochemical values for jundiá (*Rhamdia quelen*). Fish Physiology and Biochemistry 30: 21-25.
- Dimitroglou, A., Merrifield, D., Moate, R., Davies, S., Spring, P., Sweetman, J. and Bradley, G., 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.
- Dimitroglou, A., Merrifield, D. L., Spring, P., Sweetman, J., Moate, R. and Davies, S. J., 2010. Effects of mannan oligosaccharide (MOS) supplementation on growth performance, feed utilisation, intestinal histology and gut microbiota of gilthead sea bream (*Sparus aurata*). Aquaculture. 300: 182-188.
- Dorucu, M., Ozesen Colak, S., Ispir, U., Altinterim, B. and Celayir, Y., 2009. The effect of Black Cumin Seeds, *Nigella sativa*, on the immune response of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Mediterranean Aquaculture Journal. 2(2): 1-7.
- Dugenci, S. K., Arda, N. and Candan, A. 2003. Some medicinal plants as immunostimulant for fish. Ethnopharmacology. 88: 99-106.
- Fallah, R. and Rezaei, H., 2013. Effect of dietary prebiotic and acidifier supplementation on the growth performance, carcass characteristics and serum biochemical parameters of broilers. Journal of Cell and Animal Biology. 7: 21-24.
- Gibson, L., Woodworth, J. and George, A., 1998. Probiotic activity of *Aeromonas media* on the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*, when challenged with *Vibrio tubiashii*. Aquaculture. 169: 111-120.
- Hoseinifar, S. H., Mirvaghefi, A., Merrifield, D. L., Amiri, B. M., Yelghi, S. and 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.
- Ispir, U. and Mustafa, D. M., 2005. A Study on the Effects of Levamisole on the Immune System of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum). Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences. 29: 1169-1176.
- Jenkins, D. J., Kendall, C. W. and Vuksan, V., 1999. Inulin, oligofructose and intestinal function. The Journal of nutrition. 129: 1431 s -1433s.

- Kim, J.D., Breque, J. and Kaushik, S. J., 1998.** Apparent digestibilities of feed components from fish meal or plant protein based diets in common carp as affected by water temperature. *Aquatic Living Resources*. 11: 269-272.
- Kreutz, L. C., Rodrigues, L. B., Fioreze, I., Quevedo, R. M., Cericato, L., Conrad, J., Soso, A. B., Fagundes, M. and Terra, S., 2003.** Haematological and biochemical characteristics of male jundiá (*Rhamdia quelen* Quoy & Gaimard Pimelodidae): changes after acute stress. *Aquaculture Research*. 34: 1465-1469.
- Luskova, V., Svoboda, M. and Kolářová, J., 2002.** Effect of Diazinon on Blood Plasma Biochemistry in Carp (< i> (*Cyprinus carpio* L.). *Acta Veterinaria Brno*. 71: 117-None.
- Misra, C.K., Kumar Das, B., Mukherjee, S. C. and Pattnaik, P. 2006.** Effect of long term administration of dietary  $\beta$ -glucan on immunity, growth and survival of *Labeo rohita* fingerlings. *Aquaculture*. 255: 82-94.
- Mussatto, S. I. and Mancilha, I. M., 2007.** Non-digestible oligosaccharides: A review. *Carbohydrate polymers*. 68: 587-597.
- Niness, K. R., 1999.** Inulin and oligofructose: what are they? *The Journal of nutrition*. 129: 1402S-1406s.
- Pratheepa, V., Ramesh, S. and Sukumaran, N. 2010.** Immunomodulatory effect of *Aegle marmelos* leaf extract on freshwater fish *Cyprinus carpio* infected by bacterial pathogen *Aeromonas hydrophila*. *Pharmaceutical Biology*. 48(11): 1224-1239.
- Rad, M.A., Zakeri, M., Yavari, V. and Mosavi, S. M., 2013.** Effect of Different Levels of Dietary Supplementation of *Saccharomyces cerevisiae* on Growth Performance, Feed Utilization and Body Biochemical Composition of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Fingerlings. *World*. 5: 88-95.
- Raissy, M., Azadian, A., Fadaeifard, F. and Ansari, M., 2012.** Study of some haematological parameters in *Barbus grypus*, 1843 (*Osteichthyes: Cyprinidae*). *Comparative Clinical Pathology*. 21: 1601-1603.
- Ringø, E., Olsen, R., Gifstad, T., Dalmo, R., Amlund, H., HEMRE, G. I. and Bakke, A., 2010.** Prebiotics in aquaculture: a review. *Aquaculture Nutrition*. 16: 117-136.
- Staykov, Y., Spring, P., Denev, S. and 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.
- Svoboda, M., Kouřil, J., Hamáčková, J., Kalab, P., Savina, L., Svobodova, Z. and Vykusova, B., 2001.** Biochemical profile of blood plasma of tench (*Tinca tinca* L.) during pre-and postspawning period. *Acta Veterinaria Brno*. 70: 259-None.
- Torrecillas, S., Makol, A., Caballero, M., Montero, D., Robaina, L., Real, F., Sweetman, J., Tort, L. and Izquierdo, M., 2007.** Immune stimulation and improved infection resistance in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed mannan oligosaccharides. *Fish & Shellfish Immunology*. 23: 969-981.
- Yousefian, M., Hedyatifard, M., Fahimi, S., Shikholeslami, M., Irani, M., Amirinia, C., Mousavi, S. E. and 2012.** Effect of prebiotic supplementation on growth performance and serum biochemical parameters of kutum (*Rutilus frisii kutum*) fries. *Asian J. Anim. Vet. Adv*. 7: 684-692.
- Zaccorrate, I. Gasco, L. Sicuro, B. Palmegiano, G. B. and Luz-zana, U., 1996.** Use of by-product frpm poultry slaughtering in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Rivista Italiana diaquacol-tura*. 31:145-156.