Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics

Print ISSN: 2345-427X
Online ISSN: 2345-4288

The effect of fructoligosaccharide probiotic pretreatment on blood serum and mucus factors of rainbow trout

Ali Azimian[1], Farhanaz Kakavand[*2], Yunus Abdullahzadeh[3], Tahereh Bagheri[4]

1. Ph.D. Student, Dept. of Fisheries and Aquatic Ecology, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Isfahan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Isfahan, Iran. E-mail: aliazimian1361@gmail.com
2. Corresponding Author, Ph.D. Student, Dept. of Fisheries and Aquatic Ecology, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: kakavand1393@gmail.com
3. M.Sc. Student, Dept. of Fisheries and Aquatic Ecology, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: abdollahzadeh1@ut.ac.ir
4. Assistant Prof., Research Institute of Fisheries Sciences of Iran. E-mail: bagheri1360@gmail.com

Article Info

Article type:
Full Length Research Paper

Article history:
Received: 03.29.2023
Revised: 04.20.2023
Accepted: 05.10.2023

Keywords:
Blood serum,
Fructooligosaccharide,
Mucus,
Rainbow trout

ABSTRACT

The use of immune stimulants such as probiotics improves the physiological condition of fish. The purpose of this study was to investigate the effect of different levels of prebiotic fructooligosaccharides on the immune parameters of rainbow trout serum and mucus. For this purpose, a number of 120 tilapia fry for 42 days in 4 experimental groups (each group contains 10 fish) fries with 3 repetitions including: treatment (1) control, without fructolycosaccharide prebiotic, treatment (2) food containing 0.05 treatment (3) food containing 0.1% and treatment (4) food containing 0.2% prebiotic were divided. After the end of the feeding period, biochemical indices of fish serum and mucus were evaluated at different levels. Serum immune indices in the treatments fed with probiotics on day 42 were significantly different from the control group ($P<0.05$). The results of statistical analysis showed that the use of fructolycosaccharide probably had a positive effect on the serum immune indices, and among the serum immunity indices, AST enzyme level, albumin, glucose and total protein showed better effects. The experimental treatments had a significant effect on alkaline phosphatase, lysozyme enzyme, soluble protein and mucus immunoglobulin ($P<0.05$), so that the amount of alkaline phosphatase, lysozyme enzyme and soluble mucus protein due to treatments fed with prebiotics and with increasing concentration Prebiotic increased significantly, but the amount of mucus immunoglobulin decreased due to treatments fed with prebiotic and with increasing its concentration. The level of 0.2% fructolycosaccharide prebiotic was able to strengthen the skin mucus indices and the serum indices of rainbow trout and it was found that adding prebiotic to the diet has a significant effect and strengthens the immune system.

Cite this article: Azimian, Ali, Kakavand, Farhanaz, Abdullahzadeh, Yunus, Bagheri, Tahereh. 2024. The effect of fructoligosaccharide probiotic pretreatment on blood serum and mucus factors of rainbow trout. *Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics*, 13 (2), 53-71.

© The Author(s).
DOI: 10.22069/japu.2024.22222.1858
Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

نشریه بهره‌برداری و پرورش آبزیان

شاپا چاپی: ۲۳٤٥-٤۲۷X
شاپا آنلاین: ۲۳٤٥-٤۲۸۸

تأثیر پیش‌تیمار پریبیوتیک فروکتوالیگوساکارید بر فاکتورهای سرم خون و موکوس ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

علی عظیمیان[۱]، فرحناز کاکاوند*[۲]، یونس عبدالله‌زاده[۳]، طاهره باقری[٤]

۱. دانشجوی دکتری گروه شیلات و بوم‌شناسی آبزیان، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی اصفهان، اصفهان، ایران. رایانامه: aliazimian1361@gmail.com

۲. نویسنده مسئول، دانشجوی دکتری گروه شیلات و بوم‌شناسی آبزیان، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: kakavand1393@gmail.com

۳. دانشجوی کارشناسی‌ارشد گروه شیلات و بوم‌شناسی آبزیان، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: abdollahzadeh1@ut.ac.ir

٤. استادیار مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور. رایانامه: bagheri1360@gmail.com

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:
مقاله کامل علمی- پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱٤۰۲/۰۱/۰۹
تاریخ ویرایش: ۱٤۰۲/۰۱/۳۱
تاریخ پذیرش: ۱٤۰۲/۰۲/۲۰

واژه‌های کلیدی:
سرم خون،
فروکتوالیگوساکارید،
قزل‌آلای رنگین‌کمان،
موکوس

چکیده

هدف از انجام این مطالعه بررسی تأثیر سطوح مختلف پریبیوتیک فروکتوالیکوساکارید بر شاخص‌های ایمنی سرم و موکوس ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بود. تعداد ۱۲۰ بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به‌مدت ٤۲ روز در ٤ گروه آزمایشی (هر گروه حاوی ۱۰عدد ماهی) با ۳ تکرار شامل: تیمار (۱) شاهد، فاقد پریبیوتیک فروکتوالیکوساکارید، تیمار (۲) غذای حاوی ۰/۰۵ تیمار (۳) غذای حاوی ۰/۱ و تیمار (٤) غذای حاوی ۰/۲ درصد پریبیوتیک تقسیم شدند. پس از پایان دوره تغذیه شاخص‌های بیوشیمیایی سرم و موکوس ماهیان در سطوح مختلف ارزیابی شد. شاخص‌های ایمنی سرم در تیمارهای تغذیه شده با پریبیوتیک در روز ٤۰، با گروه شاهد اختلاف معنی‌داری داشتند ($P<۰/۰۵$). نتایج آنالیزهای آماری نشان داد که استفاده از فروکتوالیکوساکارید توانسته اثر مثبتی بر شاخص‌های ایمنی سرم داشته باشد و در میان شاخص‌های ایمنی سرم، سطح آنزیم AST وآلبومین و گلوکز و پروتئین کل، اثرات بهتری را نشان دادند. تیمارهای آزمایشی بر فسفاتاز قلیایی، آنزیم لیزوزیم، پروتئین محلول و ایمونوگلوبولین موکوس تأثیر معنی‌داری داشت ($P<۰/۰۵$). به‌طوری‌که میزان فسفاتاز قلیایی، لیزوزیم و پروتئین محلول موکوس در اثر تیمارهای تغذیه شده با پریبیوتیک و با افزایش غلظت پریبیوتیک، به‌طور معنی‌داری افزایش یافت، ولی میزان ایمونوگلوبولین موکوس در اثر تیمارهای تغذیه شده با پریبیوتیک و با افزایش غلظت آن روند کاهشی داشت. نتایج این مطالعه نشان داد که سطح ۰/۲ درصد پریبیوتیک فروکتوالیکوساکارید در روز ٤۲، می‌تواند تا

حدی سبب تقویت شاخص‌های موکوس پوست و شاخص‌های سرم ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان شد و مشخص شد که افزودن پریبیوتیک به جیره غذایی تأثیر معنی‌داری دارد و سبب تقویت دستگاه ایمنی می‌شود.

استناد: عظیمیان، علی، کاکاوند، فرحناز، عبدالله‌زاده، یونس، باقری، طاهره (۱۴۰۳). تأثیر پیش‌تیمار پربیوتیک فروکتوالیگوساکارید بر فاکتورهای سرم خون و موکوس ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). *نشریه بهره‌برداری و پرورش آبزیان*، ۱۳ (۲)، ۷۱-۵۳.

DOI: 10.22069/japu.2024.22222.1858

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

© نویسندگان.

مقدمه

یکی از مهم‌ترین گونه‌های آزاد ماهیان، ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با ارزش اقتصادی بالا برای پرورش جهانی می‌باشد قسمت اعظمی از تولید آبزیان را به خود اختصاص داده است (۱). در سال‌های اخیر، استفاده از پربیوتیک‌ها در پرورش ماهی مورد توجه خاصی قرار گرفته است. برای تشریح عملکرد اختصاصی آن‌ها مکانیسم‌های متعددی مانند القاء انتخابی یا تحریک انتخابی فلور میکروبی مفید، بهبود عملکردهای ایمنی، مقاومت نسبت به بیماری، بازماندگی، شاخص رشد و بازدهی تغذیه مطرح شده است. نتایج بسیاری از پژوهش‌ها نشان دادند که پربیوتیک‌ها به‌عنوان موادی برای بهبود و یا حفظ فلور میکروبی متعادل روده و افزایش سلامت و تندرستی می‌باشند (۲). هر چند اثر یک پربیوتیک با بسیاری از اجزای غذایی دارای ارتباط خاصی می‌باشد اما اغلب توجه خاصی به معیارهای مورد نیاز در این مورد صورت نمی‌گیرد. به‌طور عمده، بسیاری از الیگوساکاریدها و پلی‌ساکاریدهای غذایی به‌عنوان موادی با فعالیت پربیوتیکی مدنظر قرار می‌گیرند، اما به این موضوع باید توجه شود که تمامی کربوهیدارت‌های غذایی، پربیوتیک نمی‌باشند. در این خصوص مطالعات بسیاری از تأثیر این مکمل غذایی بر ماهیان مختلف انجام شده است از جمله: مطالعه اثرات مانان-الیگوساکاریدهای رژیمی (MOS) بر تغییرات هماتو-بیوشیمیایی، فعالیت آنزیم گوارشی-آنتی‌اکسیدانی شیرماهی (*Chanos chanos*) تغذیه شده با جیره‌های حاوی MOS یعنی ۱ گرم طراحی شده است. سطح پروتئین کل (TP)، و گلوکز (GLU)، آمیلاز، پروتئاز، آنزیم‌های کبدی در ماهی‌هایی که با جیره‌های ۲ گرم یا ۳ گرمی MOS تغذیه می‌شوند، به‌طور قابل‌توجهی بالاتر بود، اما آنزیم آلکالین فسفاتاز (ALP) به‌طور قابل‌توجهی در رژیم غذایی ۳ گرم MOS افزایش یافته است. همه سطوح MOS به‌طور قابل‌توجهی جمعیت میکرو فلور روده‌ای و لاکتوباسیلوس را افزایش دادند. فعالیت لیزوزیم (LYZ) به‌تدریج در ماهی‌های تغذیه شده با افزایش سطح جیره‌های MOS افزایش یافت (۳).

آزمایشی توسط Wang و همکاران (٤) تغذیه برای تعیین اثرات فروکتوالیگوساکارید (FOS) بر عملکرد فعالیت آنزیم گوارشی و پاسخ ایمنی ماهی نوجوان باس ژاپنی (*Lateolabrax japonicus*) با وزن اولیه ۰/۵ ± ۳۸/۳ گرم انجام شد. فعالیت لیزوزیم در سرم ماهی‌های تغذیه‌شده با ۲ گرم بر کیلوگرم FOS به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از گروه شاهد بود. (P<۰/۰۵)، علاوه بر این، فعالیت آلکالین فسفاتاز در سرم ماهی تغذیه شده با ۰/۵، ۱، ۲ گرم بر کیلوگرم FOS به‌طور قابل‌توجهی بالاتر از شاهد بود (P<۰/۰۵)، بررسی اثرات مصرف یک‌باره و ترکیبی لاکتوباسیلوس پلانتاروم (LP) و زایلولیگوساکارید (XOS) بر عملکرد ایمنی بدن (*Sparidentex hasta*) انجام شد. از نظر فعالیت ایمونوگلوبولین تام و لیزوزیم، هیچ بهبود قابل‌توجهی در ماهی‌های تغذیه شده با جیره‌های مختلف مشاهده نشد (P<۰/۰۵)، یافته‌های فوق نشان داد که مکمل‌های تک یا ترکیبی LP و XOS پاسخ‌های مثبت در سطح مولکولی ایجاد می‌کنند (۵). اثرات مکمل رافینوز غذایی (RF) بر پارامترهای ایمنی مخاط پوست و پروفایل پروتئین، عوامل ایمنی غیراختصاصی سرم و ژن‌های ایمنی روده در کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) مورد آزمایش قرار گرفت. سطح کل ایمونوگلوبولین در مخاط در رژیم غذایی ماهی تغذیه‌شده با RF در سطح ٤ (٤ یا ۰/٤) gkg^{-1} بیش‌ترین بود. مقادیر لیزوزیم موکوس پوست در ماهیان تغذیه شده با جیره RF در مقایسه با گروه شاهد بالاتر بود. بالاترین فعالیت

لیزوزیم سرم در گروه‌های ۲ و ٤ گرم RF کیلوگرم-۱ مشاهده شد، در حالی‌که گروه شاهد کم‌ترین مقدار را داشت. علاوه بر این، تغییرات شدیدی در پروفایل پروتئین موکوس پوست در گروه‌های مکمل RF در مقایسه با گروه شاهد مشاهده شد. ماهی‌هایی که با جیره‌های ۱ و ۲ g/kg^{-1} RF تغذیه می‌شوند، بیان ژن لیزوزیم روده‌ای بالاتر از سایر تیمارها داشتند (٦). بررسی اثرات فروکتوالیگوساکارید جیره (FOS)، باسیلوس لیکنیفورمیس (*B. licheniformis*) و سین‌بیوتیک در کپور معمولی توسط Yuan و همکاران (۲۰۲۲) انجام شد (۷). ۳٦۰ ماهی با میانگین ۰/۵ ± ۱۲/۵ گرم (میانگین SD) به‌طور تصادفی به چهار گروه در سه تکرار تقسیم شدند. D1 گروه کنترل بود که از جیره پایه تغذیه می‌کرد. جیره ۲، ۳، ٤ (D2، D3، D4) گروه‌های آزمایشی بودند که ۰/۳ درصد FOS، 10^{7} *B. liceniformis* cfu/ g^{-1} و ۰/۱ درصد FOS، 10^{7} *B. liceniformis* cfu/ g^{-1} و ۰/۳ درصد FOS با 10^{7} *B. liceniformis* cfu/ g^{-1} به جیره‌های پایه اضافه کردند (۳۳/۱٦). فعالیت آسپارتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز، میزان تری‌گلیسیرید و کلسترول در گروه D4 نسبت به گروه D1 کاهش معنی‌داری داشت. علاوه بر این، سطوح لیزوزیم، فعالیت اسید فسفاتاز و مکمل‌های پلاسما (C3 و C4) در ماهی‌های تغذیه شده با جیره‌های D3 و D4 به‌طور قابل‌توجهی بالاتر از گروه کنترل بود. مطالعه‌ای با هدف روشن کردن اثرات مکمل دیواره سلولی مخمر (®ImmunoWall) بر شاخص‌های بیوشیمیایی، وضعیت اکسیداتیو، پاسخ‌های ایمنی سرم و مخاطی و هم‌چنین مقاومت به بیماری ماهیان خاویاری جوان ایرانی (*Acipenser persicus*) انجام شد. همان‌طور که نتایج به‌دست آمده در پایان کارآزمایی تغذیه ٥٦ روزه نشان داد، YCW هیچ اثر قابل‌توجهی بر گلوکز، لیزوزیم و IgM در سرم نداشت (P<۰/۰۵)، اگرچه ALP و SOD را افزایش داد. هم‌چنین محتوای پروتئین تام، فعالیت لیزوزیم و پروتئاز در مخاط پوست تحت‌تأثیر جیره‌های مکمل قرار نگرفت (P<۰/۰۵) و تنها فعالیت آنزیم ایمونوگلوبولین تام و ALP در گروه‌های T1 و T2 به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (P<۰/۰۵). مطالعه حاضر نشان می‌دهد که افزایش پارامترهای ایمنی در سرم و مخاط ماهیان خاویاری نوجوان ایرانی با مکمل غذایی YCW باعث بهبود مقاومت در برابر آئروموناس هیدروفیلا نشد (۸).

در بررسی توسط Ali و همکاران (۹) اثر فروکتولیگوساکارید (FOS) بر فعالیت آنزیم گوارشی، پارامترهای بیوشیمیایی و ایمنی بچه‌ماهی باس آسیایی صورت گرفت، تجزیه و تحلیل پارامترهای بیوشیمیایی در سرم حیوانات پس از تغذیه نشان داد که گلوکز، آلبومین، نسبت گلوبولین آلبومین (نسبت A/G)، آسپارتات آمینوترانسفراز (AST)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT) تفاوت معنی‌داری در بین تیمارها نشان دادند (P<۰/۰۵). در کبد در رژیم‌های غذایی مکمل FOS. فعالیت آنزیم‌های گوارشی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (P<۰/۰۵). سطوح FOS رژیمی نتایج نشان داد که مکمل FOS به میزان ۱ درصد فعالیت آنزیم‌های گوارشی کبد، پارامترهای بیوشیمیایی و ایمنی در باس دریایی آسیایی را تعدیل می‌کند. با توجه به اهمیت پربیوتیک فروکتوالیگوساکارید این پژوهش با هدف بررسی پیش‌تیمار فروکتوالیگوساکارید بر فاکتورهای سرم خون و موکوس ماهی قزل‌آلا صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

این آزمایش درقالب طرح تصادفی به‌عنوان مدل جانوری در نظر گرفته شد. به این منظور، تعداد ٦۰۰

قطعه ماهی قزل‌آلا خریداری و به‌مدت ۲ هفته برای سازگاری با شرایط نگهداری شدند. سپس به ۱۲ تانک با حجم ۳۰۰ لیتری که ۱۵۰ لیتر آبگیری شده بود با تراکم ۵۰ عدد ذخیره‌سازی شدند. جهت تأمین اکسیژن مورد نیاز ماهی‌ها هوادهی تانک‌ها به‌طور مداوم با استفاده از سنگ‌های هوای متصل به پمپ هواده مرکزی متصل انجام شد. هر روز قبل از اولین غذادهی از طریق سیفون ۷۵ درصد از آب تمیز تانک‌ها آبگیری می‌شدند، تا مواد دفعی از این طریق خارج شوند در طول ٦ هفته دوره پرورش که با غذای تجاری حاوی پریبیوتیک به میزان ۳ درصد وزن بدن ماهی تغذیه شدند. عوامل محیطی شامل دمای ۱/٤±۱٦/۳، میانگین اکسیژن محلول ۰/٤±۸/۷ و میانگین pH ۰/۰۷ ± ۷/۲ ثابت نگهداری شد (۱۰).

تهیه جیره غذایی این آزمایش به‌صورت ٤ تیمار با ۳ تکرار با استفاده از جیره غذایی تجاری شرکت فرادانه انجام شد. به این منظور به تیمار ۱ (شاهد) غذای بدون پریبیوتیک، به تیمار ۲ غذای حاوی ۰/۰۵ درصد تیمار ۳ غذای حاوی ۰/۱ درصد و تیمار ٤ غذای حاوی ۰/۲ درصد پریبیوتیک به جیره غذایی اضافه شد. برای تهیه این جیره از پریبیوتیک فروکتوالیگوساکارید به‌عنوان مکمل غذایی استفاده شد و به صورتی که پریبیوتیک موردنظر را ابتدا با محلول ژلاتین ٤ درصد حل کرده و باغذای تجاری که پودر شده، با دستگاه همزن به شکل خمیر و بعد توسط چرخ گوشت به‌صورت رشته‌ای در می‌آورند. بعد از خشک شدن، به پلت‌های کوچک تبدیل گردید (۱۱).

تغذیه ماهیان ۲٤ ساعت قبل از خون‌گیری قطع شد، نمونه‌گیری از ماهیان جهت در انتهای دوره پرورش صورت گرفت، به‌ازای هر تکرار ۳ عدد ماهی به ظاهر سالم به‌طور تصادفی انتخاب شد و خون‌گیری از ورید ساقه دمی آن‌ها با سرنگ ۲/۵ سی‌سی حاوی هپارین انجام شد. نمونه‌های خون به داخل تیوپ‌های استریل ریخته شده تا به‌مدت ۵ دقیقه توسط سانتریفیوژ، Tuttlingen HettichT با دور ۳۰۰۰ سرم نمونه‌ها جدا شود و در یخچال منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شود (۱۲).

آنزیم‌های کبدی و شاخص‌های بیوشیمیایی سرم خون شامل آسپارتات آمینوترانسفراز (AST)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آنزیم آلکالین فسفاتاز (ALP) با استفاده از کیت‌های تجاری پارس آزمون (پارس آزمون، ایران، تهران) توسط دستگاه‌های اتوآنالیزور مخصوص اندازه‌گیری شدند به‌منظور سنجش شاخص ایمونوگلوبولین از روش الایزا (ELISA) با دستگاه USA Awareness استفاده می‌شود آلبومین به روش بروموکرزول (Bromocreso) و گلوکز به روش آنزیماتیک (Enzymatic)، توتال پروتئین به روش بیوره (Biuret) اندازه‌گیری گردید (۱۲).

جهت سنجش شاخص‌های ایمنی موکوس، از جمله آنزیم آلکالین فسفاتاز قلیایی، لیزوزیم و پروتئین کل، از موکوس پوست ماهی نمونه‌گیری انجام می‌شود. در قدم اول سه قطعه ماهی از هر تیمار به‌طور تصادفی انتخاب و با استفاده از پودر گل میخک آن‌ها را بیهوش کردیم و درون کیسه‌های پلاستیکی که حاوی ۱۰ میلی‌لیتر نمک بودند، قرار گرفت. نمونه‌ها را به آرامی به‌مدت ۲ دقیقه تکان داده تا موکوس در پوست ماهی ترشح شود. موکوس‌ها را جمع‌آوری کرده و به لوله‌های سانتریفیوژ استریل انتقال دادیم و به‌مدت ۱۰ دقیقه در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد با دور ۱۵۰۰ سانتریفیوژ و سپس سوپرناتانت به میکروتیوب‌ها منتقل شدند. تا زمان انجام آزمایش نمونه‌ها درون فریزر منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (۱٤).

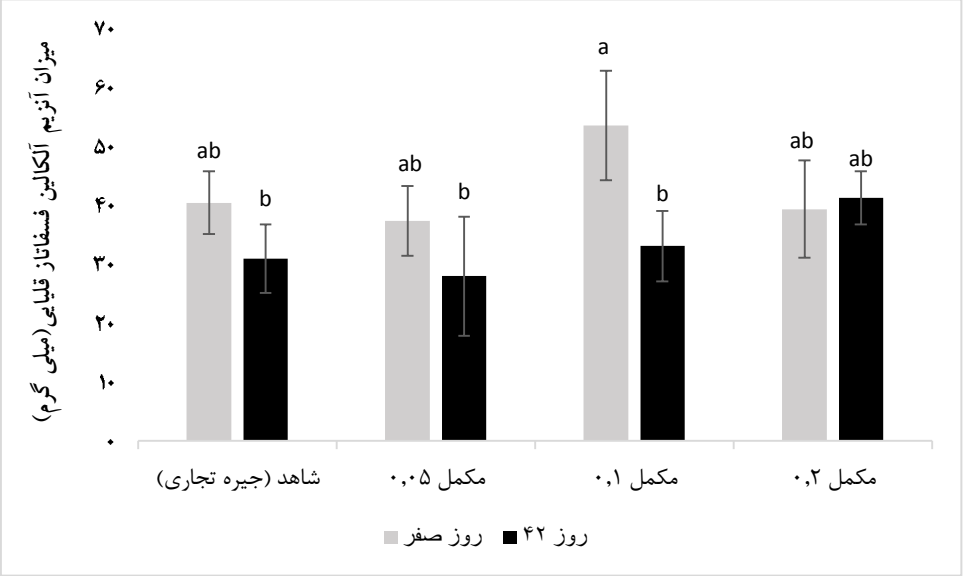
لیزوزیم موکوس براساس روش کدورت‌سنجی با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (S12 Libra Biochrom) و بر مبنای تجزیه باکتری گرم مثبت *Micrococcus Lysodeikticus* حساس به آنزیم لیزوزیم سنجش شد. از باکتری *Micrococcus luteus* برای سنجش این آنزیم به‌عنوان سوبسترا استفاده شد. برای تهیه این سوسپانسیون، باکتری لیوفیلیزه‌شده میکروکوکوس لوتئوس را در بافر فسفات پتاسیم ۰/۰٤ موالر حل کرده و جذب این محلول در مقابل شاهد کووت حاوی فسفات سدیم، (در طول موج ٤٥٠ نانومتر، برابر ۰/۷-۰/٦) تنظیم شد. سپس، کاهش در جذب سلول‌های *Micrococcus luteus* در مدت ۱۰ دقیقه ثبت شد که در واقع، یک واحد فعالیت آنزیم، به‌صورت مقدار آنزیمی که در طول موج ٤٥۰ نانومتر و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد کاهشی معادل ۰/۰۰۱ در دقیقه در جذب سلول‌های میکروکوکوس لوتئوس ایجاد می‌کند، بیان می‌شود (۱۵). سنجش شاخص آنزیم فسفاتاز با استفاده از کیت تجاری شرکت پارس آزمون براساس پروتکل ارائه شده سنجش شد. با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر و با طول موج ٤۰۵ نانومتر میزان جذب نمونه‌ها خوانده و با استفاده از ضریب مشخص، عدد نهایی محاسبه گردید (۱٦).

سنجش شاخص پروتئین کل از منحنی استاندارد آلبومین سرم گاوی استفاده شد. و پس از تعیین میزان پروتئین موکوس به نمونه موکوس، پلی‌اتیلن گلیکول ۱۲ درصد اضافه شد. پس از ۲ ساعت گرمخانه‌گذاری در دمای اتاق و تاریکی، نمونه‌ها سانتریفیوژشده (5000 rpm به‌مدت ۵ دقیقه) و غلظت پروتئین در قسمت بالایی محلول بار دیگر اندازه‌گیری شد. در واقع، پلی‌اتیلن گلیکول باعث رسوب ایمونوگلوبولین موجود در پروتئین شد و میزان ایمونوگلوبولین کل از محاسبه اختلاف غلظت پروتئین در نمونه اولیه پروتئین محلول و غلظت پروتئین پس از افزودن پلی‌اتیلن گلیکول محاسبه شد (۱۷).

روش آماری و تجزیه و تحلیل داده‌ها: تجزیه و تحلیل داده‌ها به روش آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و پس آزمون دانکن (Dancan) جهت مقایسه میانگین‌ها انجام شد. اختلاف بین میانگین‌ها در تیمارهای مختلف با سطح اطمینان (P<۰/۰۵) تعیین گردید. برای عملیات آماری از نرم‌افزار SPSS ۱٦ استفاده شد. تمام داده‌ها براساس میانگین ± انحراف معیار، ارائه شد.

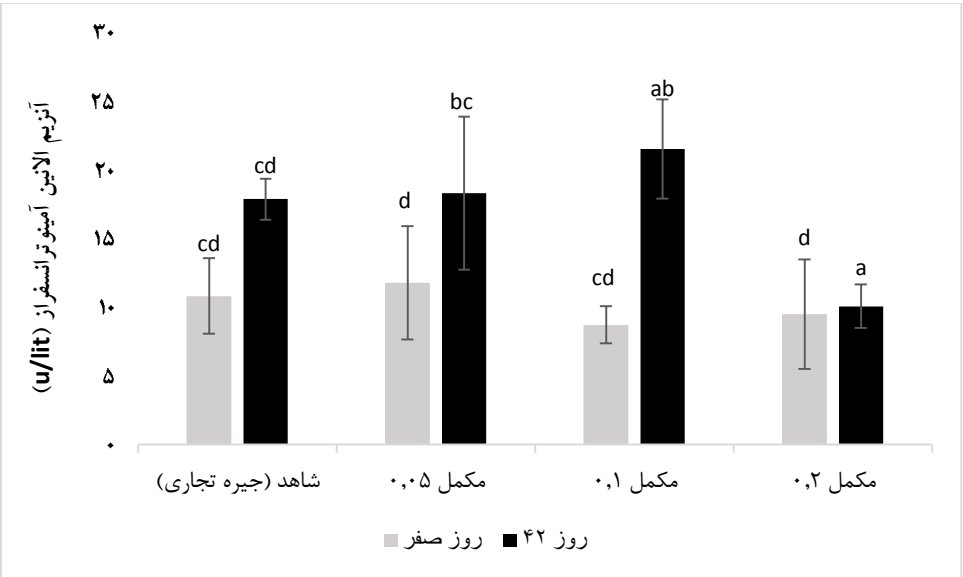
نتایج

بررسی تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها نشان داد که در مجموع تیمارهای آزمایشی بر ALP سرم تأثیر داشت (P<۰/۰۵). به‌طوری‌که میزان ALP سرم در تیمارهای تغذیه‌شده با فروکتوالیکوساکارید در مقایسه با گروه شاهد افزایش یافتند که معنی‌دار نبود. هم‌چنین در تیمارهای روز ٤۲ در مقایسه با گروه شاهد افزایش یافتند اگرچه افزایش آن‌ها معنی‌دار نبود (شکل ۳).



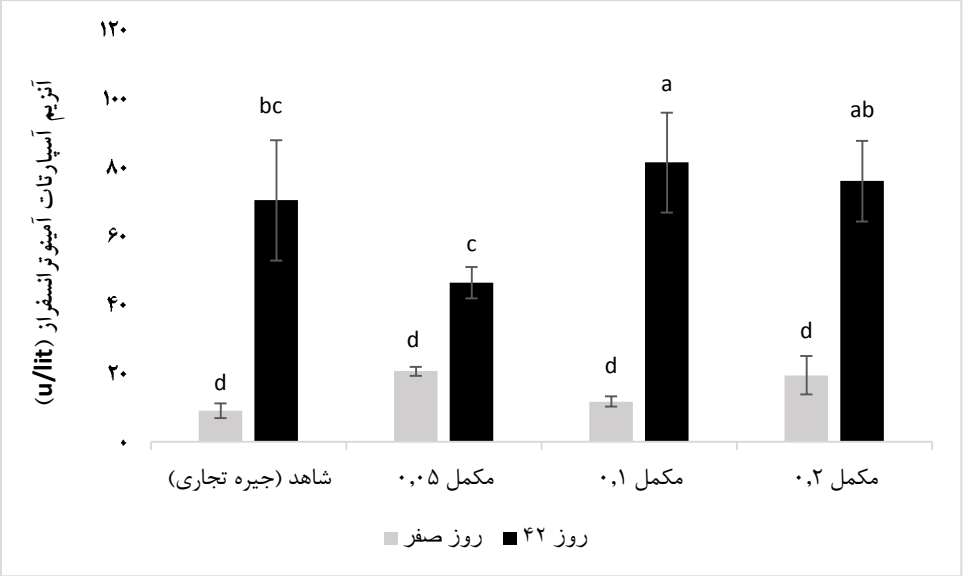
شکل ۱- میزان آلکالین فسفاتاز قلیایی (ALP) سرم خون ماهی قزل‌آلا در تیمارهای مختلف آزمایشی.
حروف لاتین متفاوت، نشانگر اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد بین تیمارهای آزمایشی است (P<۰/۰۵).

بررسی تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها نشان داد که در مجموع تیمارهای آزمایشی بر شاخص آلانین آمینوترانسفراز ALT سرم تأثیر داشت (P<۰/۰۵)، به‌طوری‌که میزان ALT سرم در اثر تیمارهای تغذیه شده با فروکتوالیکوساکارید در تیمار ۰/۰۵ درصد روز صفر در مقایسه با گروه کنترل افزایش و در تیمارهای ۰/۱ درصد و ۰/۲ درصد در مقایسه با گروه کنترل کاهش یافت که معنی‌دار نبود. هم‌چنین سطح این شاخص در تیمار در روز ٤٢ ام در مقایسه با گروه شاهد افزایش یافتند که معنی‌دار نبودند (شکل ۲).



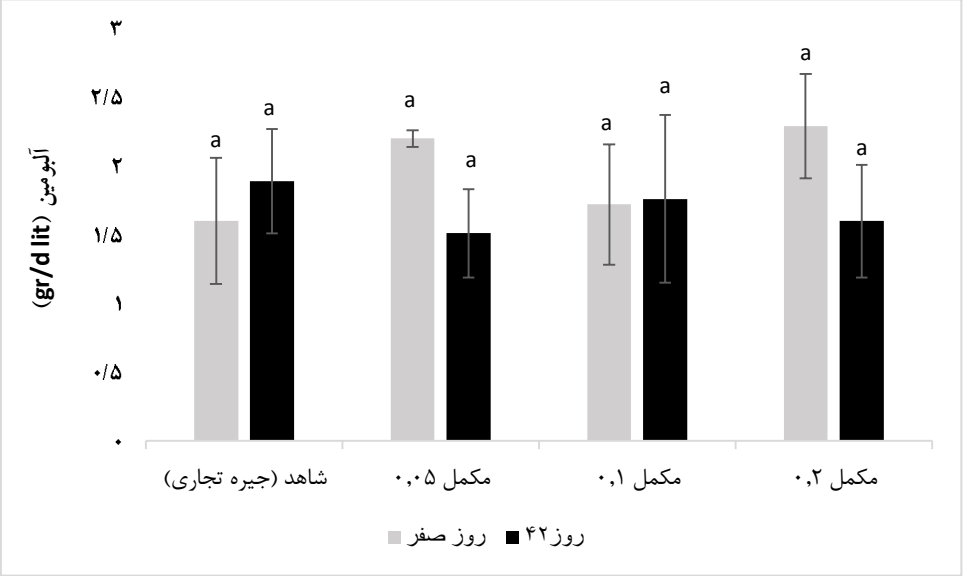
شکل ۲- میزان آسپارتات آمینو ترانسفراز (ALT) سرم خون ماهی قزل‌آلا در تیمارهای مختلف آزمایشی.
حروف لاتین متفاوت، نشانگر اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد بین تیمارهای آزمایشی است (P<۰/۰۵).

در تیمارهای آزمایشی AST سرم تأثیر داشت (P<۰/۰۵). به‌طوری‌که میزان AST سرم در اثر تیمارهای تغذیه‌شده با پربیوتیک فروکتوالیکوساکارید در مقایسه با گروه شاهد افزایش یافتند که معنی‌دار نبود. سطح این شاخص در روز ٤٢ ام در مقایسه با گروه شاهد افزایش یافت که معنی‌دار بود. هم‌چنین در تیمار ترکیبی ۰/۱ درصد روز ٤٢ ام در مقایسه با گروه شاهد به‌صورت معنی‌دار افزایش یافت (شکل ۳).



شکل ۳- میزان آلانین آمینوترانسفراز (AST) سرم خون ماهی قزل‌آلا در تیمارهای مختلف آزمایشی.
حروف لاتین متفاوت، نشانگر اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد بین تیمارهای آزمایشی است (P<۰/۰۵).

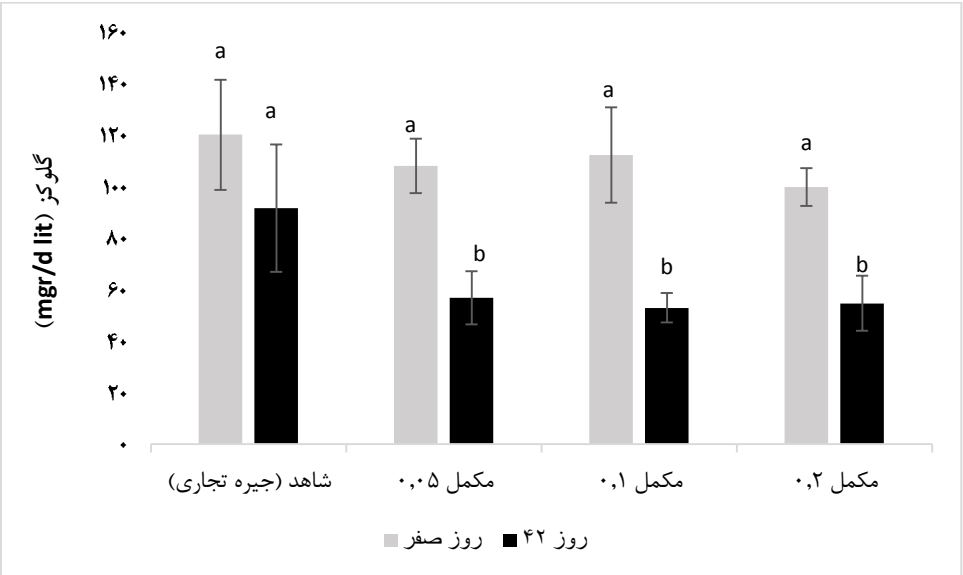
بررسی تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها نشان داد که در مجموع تیمارهای آزمایشی بر شاخص آلبومین خون تأثیر داشت (P<۰/۰۵). به‌طوری‌که سطح آلبومین خون در تیمارهای تغذیه‌شده با فروکتوالیکوساکارید با افزایش غلظت پربیوتیک در مقایسه با گروه شاهد افزایش یافت که معنی‌دار نبود. هم‌چنین در روز ٤٢ ام تغذیه در مقایسه با گروه شاهد کاهش یافتند، اگرچه کاهش آن‌ها معنی‌دار نبود (شکل ٤).



شکل ٤- میزان آلبومین سرم خون ماهی قزل‌آلا در تیمارهای مختلف آزمایشی.

حروف لاتین متفاوت، نشانگر اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد بین تیمارهای آزمایشی است (P<۰/۰۵).

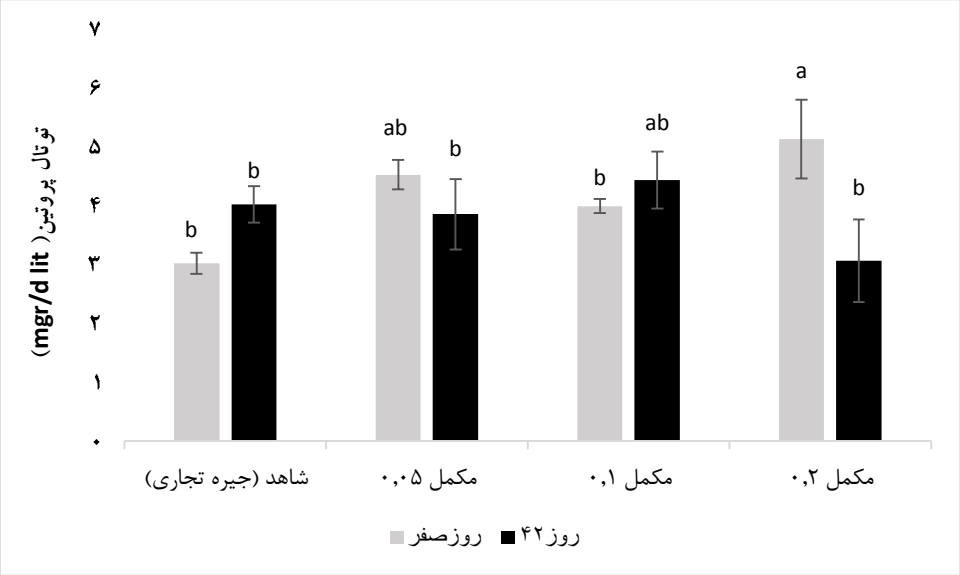
بررسی تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها نشان داد که در مجموع تیمارهای آزمایشی بر شاخص گلوکز سرم تأثیر معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵). به‌طوری‌که میزان گلوکز سرم خون در اثر تیمارهای تغذیه‌شده با پربیوتیک فروکتوالیکوساکارید با افزایش غلظت پربیوتیک کاهش یافت که معنی‌دار نبود. پس از روز ٤٢ ام، میزان این شاخص نسبت به تیمار شاهد کاهش یافت که معنی‌دار بود (شکل ۵).



شکل ۵- میزان گلوکز سرم خون ماهی قزل‌آلا در تیمارهای مختلف آزمایشی.

حروف لاتین متفاوت، نشانگر اختلاف معنی‌دار سطح ۵ درصد بین تیمارهای آزمایشی است (P<۰/۰۵).

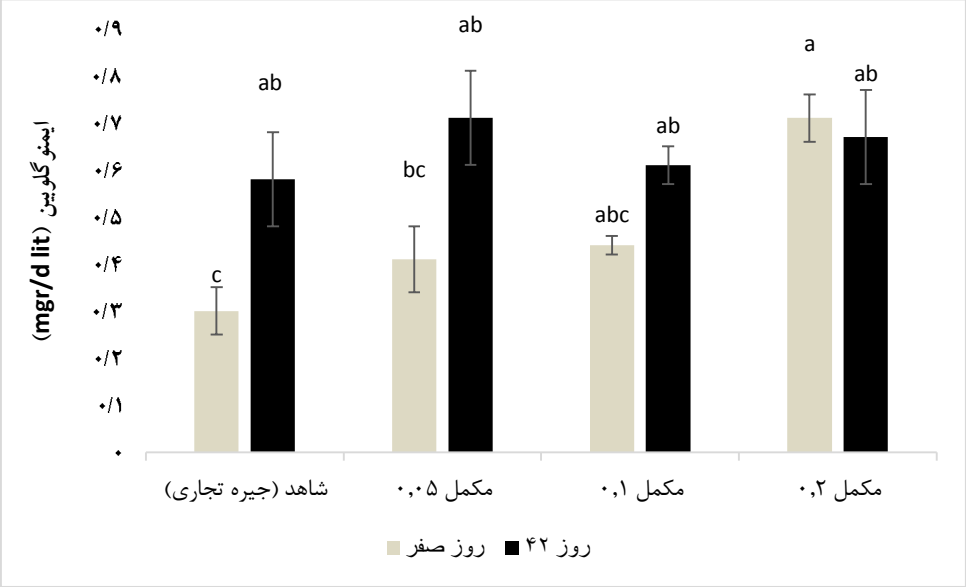
بررسی تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها نشان داد که در مجموع تیمارهای آزمایشی بر شاخص پروتئین کلخون تأثیر داشت (P<۰/۰۵). به‌طوری‌که میزان پروتئین کل خون در اثر تیمارهای تغذیه‌شده با پربیوتیک فروکتوالیکوساکارید با افزایش غلظت پربیوتیک به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. میزان این شاخص پس از روز ٤٢ ام، سطح این شاخص افزایش یافت ولی معنی‌دار نبود (شکل ٦).



شکل ٦- میزان پروتئین کل سرم خون ماهی قزل‌آلا در تیمارهای مختلف آزمایشی.

حروف لاتین متفاوت، نشانگر اختلاف معنی‌دار سطح ۵ درصد بین تیمارهای آزمایشی است (P<۰/۰۵).

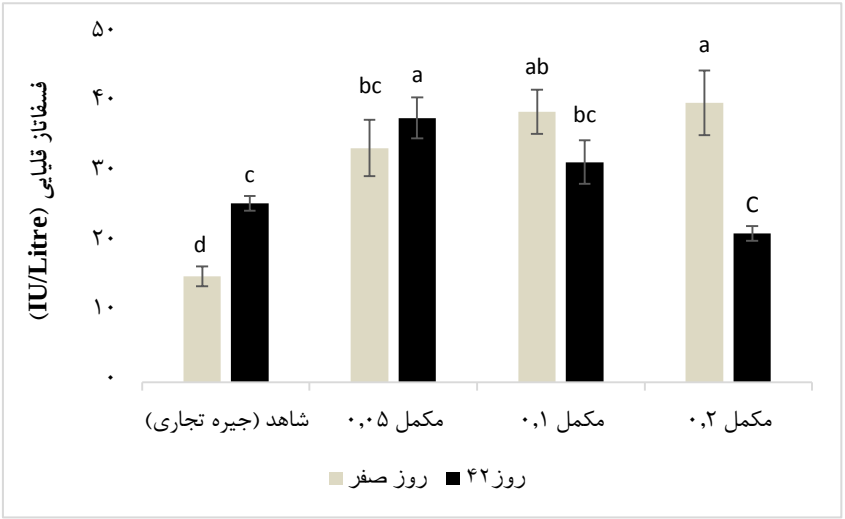
بررسی تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها نشان داد که در مجموع تیمارهای آزمایشی بر شاخص ایمونوگلوبولین سرم تأثیر معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵). به‌طوری‌که میزان ایمونوگلوبولین سرم در اثر تیمارهای تغذیه‌شده با فروکتوالیکوساکارید در سطح ۰/۲ درصد پربیوتیک به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. میزان این شاخص در روز صفر نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌داری داشت. و در پس از روز ٤٢ ام افزایش غلظت میزان این شاخص نسبت به تیمار شاهد افزایش یافتند که معنی‌دار نبود (شکل ۷).



شکل ۷- میزان ایمنوگلوبولین سرم خون ماهی قزل‌آلا در تیمارهای مختلف آزمایشی.

حروف لاتین متفاوت، نشانگر اختلاف معنی‌دار سطح ۵ درصد بین تیمارهای آزمایشی است (P<۰/۰۵).

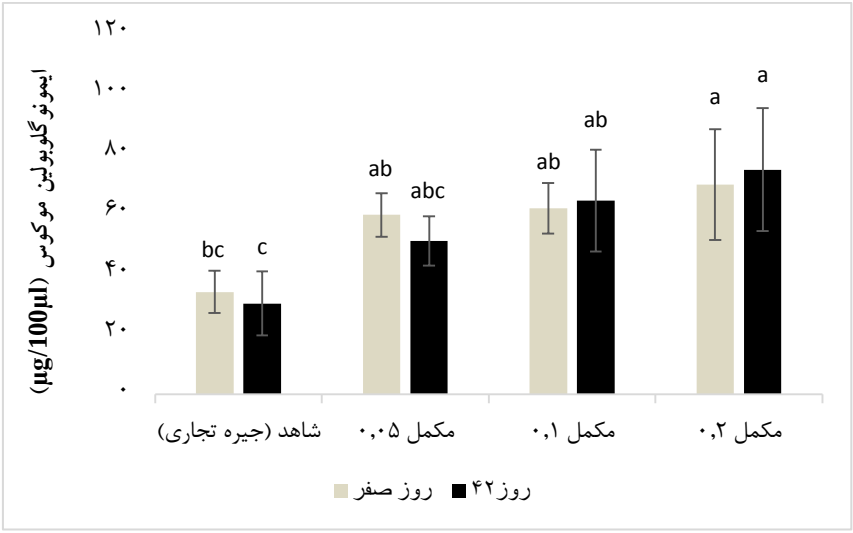
نتایج پارامترهای موکوس: بررسی تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها نشان داد که در مجموع تیمارهای آزمایشی بر فسفاتاز قلیایی موکوس تأثیر معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵). به این صورت که میزان فسفاتاز قلیایی موکوس در اثر تیمارهای تغذیه‌شده با پریبیوتیک و با افزایش غلظت پریبیوتیک به‌طور معنی‌داری افزایش یافت، پس از پایان ۴۲ روز دوره تغذیه کاهش معنی‌داری مشاهده شد، ولی در تیمارهای شاهد و ۰/۰۵ افزایش معنی‌داری وجود داشت (P<۰/۰۵).



شکل ۸- میزان فسفاتاز قلیایی موکوس ماهی قزل‌آلا در تیمارهای تغذیه‌شده با سطوح مختلف پریبیوتیک.

حروف متفاوت نشانگر اختلاف معنی‌دار در سطوح بین تیمارهای آزمایشی می‌باشد (P<۰/۰۵).

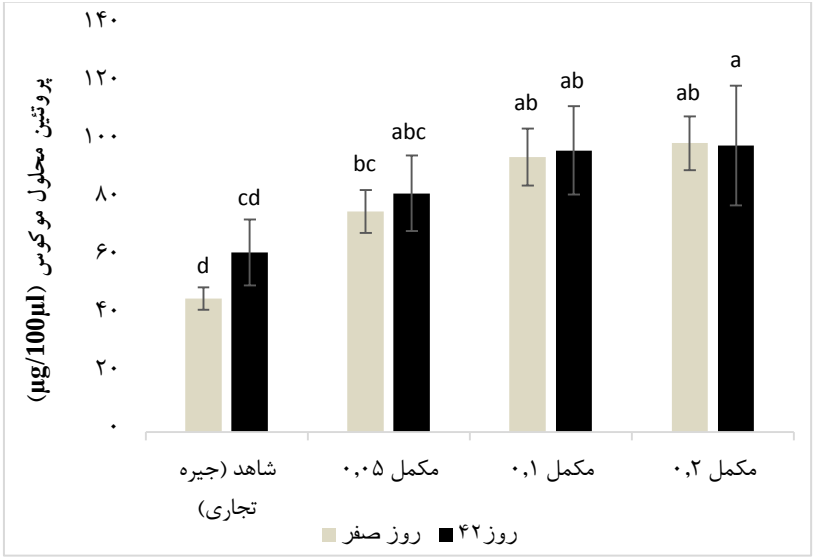
تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها نشان داد که در مجموع، تیمارهای آزمایشی بر ایمونوگلوبولین موکوس تأثیر معنی‌دار داشت (P<۰/۰۵). به این صورت که میزان آن در تیمارهای تغذیه‌شده با پریبیوتیک و با افزایش غلظت آن، به‌طورکلی روند افزایشی نداشت، ولی نسبت به گروه شاهد اختلاف معنی‌داری داشت. هم‌چنین، پس از پایان ۴۲ روز دوره تغذیه افزایش معنی‌داری نشان داد (P<۰/۰۵).



شکل ۹- میزان ایمونوگلوبولین موکوس ماهی قزل‌آلا در تیمارهای تغذیه‌شده با سطوح مختلف پریبیوتیک.

حروف متفاوت نشانگر اختلاف معنی‌دار در سطوح بین تیمارهای آزمایشی است (P<۰/۰۵).

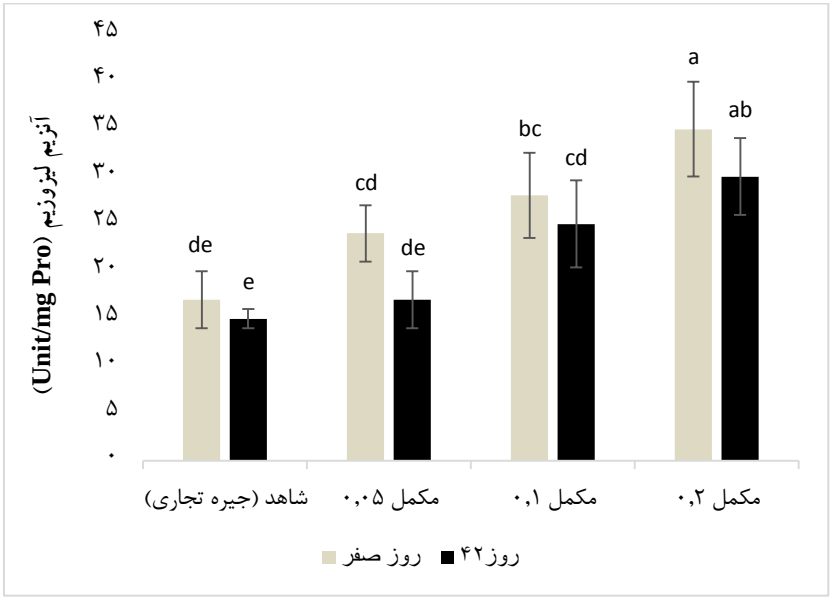
تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها نشان داد که در مجموع، تیمارهای آزمایشی بر پروتئین محلول موکوس تأثیر معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵). به این صورت که میزان آن در تیمارهای تغذیه‌شده با پریبیوتیک و با افزایش غلظت آن، به‌طور معنی‌دار افزایش یافت. هم‌چنین، پس از پایان دوره تغذیه افزایش معنی‌داری نشان داد (P<۰/۰۵).



شکل ۱۰- میزان پروتئین محلول ماهی قزل‌آلا در تیمارهای تغذیه‌شده با سطوح مختلف پریبیوتیک.

حروف متفاوت نشانگر اختلاف معنی‌دار در سطوح بین تیمارهای آزمایشی است (P<۰/۰۵).

بررسی تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها نشان داد که در مجموع تیمارهای آزمایشی بر آنزیم لیزوزیم موکوس تأثیر معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵). به این صورت که میزان این آنزیم در تیمارهای تغذیه‌شده با پری‌بیوتیک و با افزایش غلظت آن، به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. اما پس از پایان دوره تغذیه میزان لیزوزیم نسبت به روز صفر کاهش یافته اما روند افزایشی داشته و معنی‌دار بوده است (P<۰/۰۵).



شکل ۱۱- میزان آنزیم لیزوزیم موکوس ماهی قزل‌آلا در تیمارهای تغذیه شده با سطوح مختلف.
حروف متفاوت نشانگر اختلاف معنی‌دار در سطوح بین تیمارهای آزمایشی است (P<۰/۰۵).

بحث و نتیجه‌گیری

پروتئین شاخص مهمی از وضعیت سلامت ماهیان استخوانی و نیز به‌عنوان شاخصی از وضعیت تغذیه‌ای در نظر گرفته می‌شود (۱۸). میزان پروتئین کل سرم خون در تیمارهای تغذیه‌شده با فروکتوالیکوساکارید در روز ٤٢ افزایش یافت ولی معنی‌دار نبود. پروتئین کل 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 (۱۹). مطابق نتایج پژوهش حاضر، در مطالعه توسط Harikrishnan و همکاران (۳) اثرات مانان-الیگوساکاریدهای رژیمی (MOS) بر شیرماهی (*Chanos chanos*) سطح پروتئین کل (TP) در ماهی‌هایی که با جیره‌های ۲ گرم یا ۳ گرمی MOS تغذیه می‌شوند، به‌طور قابل‌توجهی بالا بود که با نتایج فوق مطابقت داشت. در پژوهش حاضر میزان ایمنوگلوبین سرم خون در تیمارهای تغذیه‌شده با فروکتوالیکوساکارید در روز ٤٢ ام، میزان این شاخص نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت. ایمنوگلوبین‌ها جز آنتی‌بادی‌های طبیعی بوده و به‌صورت کاملاً تنظیم شده در غیاب محرک آنتی‌ژنیک خارجی تولید و در برابر عوامل بیماری‌زا ایجاد می‌کنند (۲۰). طی پژوهشی اثر فروکتولیگوساکارید (FOS) بر ایمنی بچه‌ماهی بأس آسیایی، تجزیه و تحلیل پارامترهای بیوشیمیایی در سرم حیوانات پس از تغذیه نشان داد که نسبت گلوبولین آلبومین (نسبت A/G) تفاوت معنی‌داری در بین تیمارها نشان دادند (P>۰/۰۵) (۹). که با نتایج پژوهش حاضر همخوانی داشت. میزان آلبومین سرم خون در پژوهش حاضر در تیمارهای تغذیه‌شده با فروکتوالیکوساکارید در روز

صفر با افزایش غلظت پربیوتیک در مقایسه با گروه شاهد افزایش یافت و در تیمارهای تغذیه‌شده با فروکتوالیکوساکارید در روز ٤٢، کاهش یافت ولی معنی‌دار نبود. آلبومین نقش مهمی در ثبات فشار اسمزی به‌منظور توزیع مناسب مایعات بدن داشته و به‌عنوان حامل پلاسما و لیگاندهای غیراختصاصی عمل می‌نماید (٢١). کاهش آلبومین ممکن است در اثر نارسایی کبدی، سندرم نفروتیک و اختلال در بیوسنتز آلبومین، سو تغذیه، پاسخ‌های التهابی حاد و مزمن ایجاد شود (٢٢). اثر فروکتولیگوساکارید (FOS) بر ایمنی بچه‌ماهی بأس آسیایی، تجزیه و تحلیل پارامترهای بیوشیمیایی در سرم حیوانات پس از تغذیه نشان داد که گلوکز، آلبومین تفاوت معنی‌داری در بین تیمارها نشان دادند (P>٠/٠٥) که با نتایج پژوهش حاضر همخوانی نداشت (٩). میزان گلوکز سرم خون در تیمارهای تغذیه شده با پربیوتیک فروکتوالیگوساکارید در روز صفر و ٤٢ با افزایش غلظت پربیوتیک کاهش یافت که معنی‌دار نبود. گلوکز یکی از نشانگرهای زیستی حساس در شرایط استرس است. به‌عبارت دیگر، در پاسخ به شرایط استرس‌زا، گلوکز خون افزایش می‌یابد. علاوه بر این، آسیب به کبد، اختلال عملکرد شدید کلیه و تجزیه ذخایر گلیکوژن در کبد و عضلات اسکلتی سطح گلوکز خون را افزایش می‌دهد (٢٣ و ٢٤). تأثیرات خوراکی گرده زنبورعسل (BPO) و سوسپانسیون مانان-الیگوساکارید (MOS) را بر روی خرگوش‌های در حال رشد نشان داد، خرگوش‌های تیمار شده با MOS به‌طور معنی‌داری سطح گلوکز را افزایش دادند (٢٥) که با پژوهش فوق مطابقت داشته ولی در مطالعه‌ای اثرات مکمل دیواره سلولی مخمر (ImmunoWall®) بر مقاومت به بیماری ماهیان خاویاری جوان ایرانی (*Acipenser persicus*) انجام شد که نتایج به‌دست آمده YCW هیچ اثر قابل‌توجهی بر گلوکز، لیزوزیم و IgM در سرم نداشت (P<٠/٠٥) که با مطالعه فوق مطابقت نداشته است (٨).

آنزیم‌های کبدی به‌عنوان شاخص فعالیت کبدی محسوب می‌شوند و تغییر در میزان فعالیت و ترشح آن‌ها می‌تواند متأثر از فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب، تراکم، شرایط پرورشی، نوع جیره مصرفی، سن، جنس و وضعیت سلامت ماهیان باشد (٢٦). نتایج این پژوهش نشان داد که در مجموع تیمارهای آزمایشی بر میزان آسپارتات آمینوترانسفراز (AST)، آلکالین فسفاتاز (ALP)، آلانین ترانس آمیناز (ALT) سرم خون ماهی تأثیر معنی‌داری داشت (P<٠/٠٥). از آن‌جایی‌که کبد اندامی است که متابولیسم اولیه مواد غیرزیستی را انجام می‌دهد و با تغییر در ساختار مورفولوژیک این مواد، در برخی موارد، سم‌زدایی می‌نماید، تأثیر آلایندگی فلزات به‌صورت افزایش یا کاهش فعالیت آنزیم‌های کبدی و ایجاد تغییرات هیستوپاتولوژیک کبدی بروز می‌کند (١٢). ALT به‌طور عمده در کبد وجود دارد و برای کبد اختصاصی‌تر از AST است. در جریان آسیب حاد، آنزیم‌های ALT و AST حساس‌ترین نشانگرهای سرمی هستند. هر گاه غشای سلول صدمه ببیند هر دو آنزیم به مقادیر فزاینده‌ای در خون آزاد می‌شوند (٢٧). افزایش سطح AST در سرم می‌تواند به علت آسیب کبد مانند هپاتیت‌های ویروسی، انفارکتوس قلبی و صدمات عضلانی باشد. ALT که تبدیل آلانین به پیرووات و گلوتامات را کاتالیز می‌کند، برای کبد اختصاصی‌تر بوده و پارامتر مناسب‌تری برای تشخیص آسیب کبد می‌باشد. سطوح افزایش یافته آنزیم‌های سرمی بیانگر نشت سلولی بوده و نشانگر آسیب ساختار و اختلال عملکرد غشاهای سلولی در کبد می‌باشد (٢٨). در مطالعه اثرات مانان-الیگوساکاریدهای رژیمی (MOS) بر شیرماهی (*Chanos chanos*) آنزیم آلکالین فسفاتاز (ALP) به‌طور قابل‌توجهی در رژیم غذایی ٣ گرم MOS افزایش یافته است. فعالیت لیزوزیم (LYZ) به‌تدریج در ماهی‌های تغذیه شده با افزایش سطح جیره‌های MOS افزایش می‌یابد (٣).

در آزمایشی توسط Wang و Li (۲۹) اثرات فروکتولیگوساکارید (FOS) بر ماهی نوجوان باس ژاپنی (*Lateolabrax japonicus*) انجام شده نشان داد، فعالیت آلکالین فسفاتاز در سرم ماهی تغذیه شده با ۰/۵، ۱، ۲ گرم بر کیلوگرم FOS به‌طور قابل‌توجهی بالاتر از شاهد بود (P<۰/۰۵). تأثیرات خوراکی گرده زنبورعسل (BPO) و سوسپانسیون مانان-الیگوساکارید (MOS) را بر روی خرگوش‌های در حال رشد نشان داد، خرگوش‌های تیمارشده با BPO و MOS به‌طور قابل‌توجهی آنزیم‌های کبدی را کم‌تر از گروه کنترل کاهش دادند (۲۵). بررسی اثرات فروکتولیگوساکارید جیره (FOS)، باسیلوس لیکنیفورمیس (*B. licheniformis*) و سین‌بیوتیک در کپور معمولی انجام شد. ۳۶۰ ماهی با میانگین ۰/۵ ± ۱۲/۵ گرم (میانگین SD) به‌طور تصادفی به چهار گروه در سه تکرار تقسیم شدند. D1 گروه کنترل بود که از جیره پایه تغذیه می‌کرد. جیره ۲، ۳، ٤ (D2، D3، D4) گروه‌های آزمایشی بودند که ۰/۳ درصد FOS، $۱۰^{۷}$ cfu/g^{-1} *B. liceniformis* و ۰/۳ درصد FOS با $۱۰^{۷}$ cfu/g^{-1} *B. liceniformis* به جیره‌های پایه اضافه کردند. فعالیت آسپارتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز در گروه D4 نسبت به گروه D1 کاهش معنی‌داری داشت. علاوه‌بر این، سطوح لیزوزیم، فعالیت اسید فسفاتاز و مکمل‌های پلاسما (C3 و C4) در ماهی‌های تغذیه‌شده با جیره‌های D3 و D4 به‌طور قابل‌توجهی بالاتر از گروه کنترل بود که با نتایج پژوهش حاضر همخوانی داشت (۷). اختلاف نتایج تغییرات آنزیمی در مطالعات مختلف احتمالاً ناشی از اختلاف نژاد و گونه ماهی، وزن ماهی، شرایط فیزیکی و شیمیایی آب می‌باشد (۱۳).

آنزیم فسفاتاز قلیایی یکی از اجزای مهم موکوس پوست ماهی است که به‌دلیل فعالیت تجزیه‌کنندگی (هیدرولیتیک)، عاملی ضد باکتریایی به‌شمار می‌آید. این آنزیم نقش حفاظتی در برابر عفونت‌های انگلی و بهبود زخم دارد و هم‌چنین، باعث مقاومت ماهی در برابر عوامل بیماری‌زا مختلف می‌شود (۳۰). میزان آنزیم فسفاتاز قلیایی موکوس در تیمارهای تغذیه‌شده با پریبیوتیک افزایش یافته و با افزایش غلظت پریبیوتیک، نسبت به گروه شاهد میزان این آنزیم به‌طور معنی‌دار افزایش داشت، ولی در تیمارهای تغذیه‌شده با پربیوتیک پس از ٤۲ روز قرار داشتند، میزان آنزیم این آنزیم روند کاهشی داشته است. لیزوزیم آنزیمی ضد باکتریایی در دستگاه ایمنی غیراختصاصی است که به‌صورت مستقیم دیواره باکتری‌ها را تخریب می‌کند. این آنزیم اهمیت زیادی در ایمنی ذاتی موکوس پوست دارد و میزان آن در شرایط مختلف محیطی مثل دما، شوری، غذا، استرس و غیره تفاوت می‌کند (١٤). اندازه‌گیری آنزیم لیزوزیم در تیمارهای تغذیه‌شده با پریبیوتیک نشان می‌دهد که این آنزیم روند افزایشی داشته و سبب افزایش ایمنی ماهی می‌شود. افزایش لیزوزیم در پژوهش‌های دیگر از جمله استفاده از پروتئین محلول کل یکی از شاخص‌های ایمنی با باندهای کربوهیدراتی است که به همراه فاکتورهای مختلف موکوس، در هنگام حمله عوامل آسیب‌زا نقش آگلوتینه کردن آن‌ها را بر عهده دارند و باعث محافظت در برابر عفونت‌های ناشی از انگل‌ها می‌شوند (۳۱). در مطالعه اثرات مانان-الیگوساکاریدهای رژیمی (MOS) بر شیرماهی (*Chanos chanos*). فعالیت لیزوزیم (LYZ) به‌تدریج در ماهی‌های تغذیه‌شده با افزایش سطح جیره‌های MOS افزایش می‌یابد (۳). سطوح پروتئین محلول موکوس در تیمارهای تغذیه شده با پربیوتیک در روز صفر و روز ٤۲ ام روند افزایشی داشت. بر اساس گزارش ارائه شده توسط در آزمایشی توسط Wang و Li (۲۹) اثرات فروکتولیگوساکارید (FOS) بر ماهی نوجوان باس ژاپنی (*Lateolabrax japonicus*) انجام شده نشان داد فعالیت لیزوزیم در سرم ماهی‌های

تغذیه‌شده با ۲ گرم بر کیلوگرم FOS به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از گروه شاهد بود (P>۰/۰۵). در بررسی دیگر توسط Agh و همکاران (۵) اثرات مصرف یک‌باره و ترکیبی لاکتوباسیلوس پلانتاروم (LP) و زایلولیگوساکارید (XOS) بر عملکرد ایمنی بدن (*Sparidentex hasta*) انجام شد. فعالیت لیزوزیم، هیچ بهبود قابل‌توجهی در ماهی‌های تغذیه‌شده با جیره‌های مختلف مشاهده نشد (P<۰/۰۵). ایمونوگلوبولین پروتئینی است که در ایمنی اختصاصی نقش دارد. این پروتئین توسط لنفوسیت‌های B که بیش‌ترین توانایی تولید ایمونوگلوبولین را دارند ترشح، و سبب افزایش ظرفیت دستگاه ایمنی می‌شوند. میزان این آنزیم در تیمارهای تغذیه‌شده با پربیوتیک (فروکتوالیگوساکارید) در روز صفر و روز ٤٢ ام نشان داد که این پروتئین روند افزایشی داشت. در گزارش مشابه، اثرات مکمل رافینوز غذایی (RF) بر ماهی کپور معمولی نشان داد سطح کل ایمونوگلوبولین در مخاط در رژیم غذایی ماهی تغذیه شده با RF در سطح ٤/۰ gkg^{-1} بیش‌ترین بود. مقادیر لیزوزیم موکوس پوست در ماهیان تغذیه‌شده با جیره RF در مقایسه با گروه شاهد بالاتر بود. بالاترین فعالیت لیزوزیم سرم در گروه‌های ۲ و ٤ گرم بر کیلوگرم RF مشاهده شد، در حالی‌که گروه شاهد کم‌ترین را داشت. علاوه‌بر این، تغییرات شدیدی در پروفایل پروتئین موکوس پوست در گروه‌های مکمل RF در مقایسه با گروه شاهد مشاهده شد. ماهی‌هایی که با جیره‌های ۱ و ۲ گرم RF کیلوگرم-۱ تغذیه می‌شوند، بیان ژن لیزوزیم روده‌ای بالاتر از سایر تیمارها داشتند (٦). در مطالعه‌ای اثرات مکمل دیواره سلولی مخمر (®ImmunoWall) بر مقاومت به بیماری ماهیان جوان خاویاری ایرانی (*Acipenser persicus*) توسط Yousefi و همکاران (۸) انجام شد. همان‌طور که نتایج به‌دست آمده YCW محتوای پروتئین تام، فعالیت لیزوزیم در مخاط پوست تحت‌تأثیر جیره‌های مکمل قرار نگرفت (P<۰/۰۵) و تنها فعالیت آنزیم ایمونوگلوبولین تام و ALP در گروه‌های T1 و T2 به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (P<۰/۰۵). در بررسی دیگر توسط Agh و همکاران (۵) اثرات مصرف یک‌باره و ترکیبی لاکتوباسیلوس پلانتاروم (LP) و زایلولیگوساکارید (XOS) بر عملکرد ایمنی بدن (*Sparidentex hasta*) انجام شد. فعالیت ایمونوگلوبولین تام، هیچ بهبود قابل‌توجهی در ماهی‌های تغذیه‌شده با جیره‌های مختلف مشاهده نشد (P<۰/۰۵). در واقع یافته‌های مطالعه حاضر، تأییدی بود بر اثر مثبت پره‌بیوتیک فروکتوالیگوساکارید بر شاخص‌های بیوشیمیایی سرم خون و موکوس پوست ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بود. ولی به‌نظر می‌رسد، ضروری است که به‌منظور حصول اطمینان از اثرات مثبت این پره‌بیوتیک مطالعه‌ای در خصوص تأثیر آن بر سطوح ایمنی در شرایط آزمایشگاهی و پرورشی در مواجهه با آلاینده‌ها انجام پذیرد. تا بتوان با قطعیت بیش‌تری در مورد پتانسیل این پره‌بیوتیک در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان و سایر آبزیان اظهار نظر کرد.

نتیجه‌گیری

نتیجه نهایی این مطالعه نشان می‌دهد که افزودن پری‌بیوتیک (فروکتوالیگوساکارید) به جیره غذایی سبب تقویت شاخص‌های ایمنی (آنزیم فسفاتاز قلیایی، لیزوزیم، ایمونوگلوبولین و پروتئین محلول) موکوس پوست و سرم خون ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به‌خصوص در دوز ۰/۲ می‌شود. پژوهش حاضر نشان می‌دهد که افزودن پریبیوتیک به جیره غذایی تأثیر معنی‌داری دارد و سبب تقویت دستگاه ایمنی می‌شود.

منابع

1. Azevedo, P. A., Cho, C. Y., Leeson, S., & Bureau, D. P. (1998). Effects of feeding level and water temperature on growth, nutrient and energy utilization and waste outputs of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquatic Living Resources*, 11 (4), 227-238.
2. Denev, S., Beev, G., Staykov, Y., & Moutafchieva, R. (2009). Microbial ecology of the gastrointestinal tract of fish and the potential application of probiotics and prebiotics in finfish aquaculture. *International aquatic research*, 1 (1), 1.
3. Harikrishnan, R., Balasundaram, C., & Heo, M. S. (2011). Diet enriched with mushroom Phellinus linteus extract enhances the growth, innate immune response, and disease resistance of kelp grouper, Epinephelus bruneus against vibriosis. *Fish & Shellfish Immunology*, 30 (1), 128-134.
4. Wang, C. Y., & Li, Z. B. (2020). Growth performance, digestive enzyme activity and immune response of Japanese sea bass, Lateolabrax japonicus fed with fructooligosaccharide. *Aquaculture Nutrition*, 26 (2), 296-305.
5. Agh, N., Morshedi, V., Noori, F., Ghasemi, A., Pagheh, E., & Rashidian, G. (2022). The effects of single and combined use of Lactobacillus plantarum and xylooligosacharide on growth, feed utilization, immune responses, and immune and growth related genes of sobaity (*Sparidentex hasta*) fingerlings. *Aquaculture Reports*, 25, 101271.
6. Karimi, M., Paknejad, H., Hoseinifar, S. H., Shabani, A., & Mozanzadeh, M. T. (2020). The effects of dietary raffinose on skin mucus immune parameters and protein profile, serum non-specific immune parameters and immune related genes expression in common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Aquaculture*, 520, 734525.
7. Yuan, X., Xu, R., Qi, Q., Xu, M., Li, B., Wang, B., & Zhang, C. (2022). Dietary fructooligosaccharide and Bacillus licheniformis on growth performance, digestive enzyme, immune indices, and antioxidant capacity of common carp (*Cyprinus carpio*). *Regional Studies in Marine Science*, 56, 102670.
8. Yousefi, S., Shokri, M. M., Noveirian, H. A., & Hoseinifar, S. H. (2020). Effects of dietary yeast cell wall on biochemical indices, serum and skin mucus immune responses, oxidative status and resistance against Aeromonas hydrophila in juvenile Persian sturgeon (*Acipenser persicus*). *Fish & Shellfish Immunology*, 106, 464-472.
9. Ali, S. S. R., Ambasankar, K., Praveena, P. E., Nandakumar, S., Balachandran, S., & Ramachandran, K. (2020). Effect of dietary prebiotic fructooligosaccharide on histology, digestive enzyme activity, biochemical and immunological parameters of Asian seabass (*Lates calcarifer*) fingerlings. *Indian J. Fish*, 67 (4), 80-88.
10. Changizi, R., Manouchehri, H., Hosseinifard, M., & Ghiasvand, Z. (2019). Effect of Different Levels of Biomin Imbo Synbiotic on Growth Indices, Feeding Factors and Survival Rate of Green Terror (*Andinoacara rivulatus*). *Journal of Animal Environment*, 11 (3), 135-140.
11. Akrami, R., Qelichi, A., & Ahmadi, A. (2011). Prebiotic Effect of Dietary Inulin on Hematological Parameters and Biochemistry of Fish Serum Hus (*Huso huso*) Young. *Journal of Veterinary Research, University of Tehran*, 66 (2), 131-136.
12. Kakavand, F., Rezaieshadegan, M., Iri, A., & Hedayati, S. A. (2021). Prebiotic Effects of Pleurotus Ostreaus on Biochemical Parameters of Serum of Tilapia (*Oreochromis Niloticus*) Exposed to Silver nitrate ($AgNO_3$). *Journal of Marine Medicine*, 3 (3), 169-179.
13. Banaee, M., Sureda, A., Zohiery, F., Hagi, B. N., & Garanzini, D. S. (2014). Alterations in biochemical parameters of the freshwater fish, Alburnus mossulensis, exposed to sub-lethal concentrations of Fenpropathrin. *International Journal of Aquatic Biology*, 2 (2), 58-68.
14. Iri, A., Hedayati, S. A., Paknejad, H., Bagheri, T., & Khaleghi, S. R. (2020). Effects of different mushroom levels on immunity indices of tilapia (*Oreochromis niloticus*) exposed to chlorpyrifos in experimental condition. *Aquatic Animals Nutrition*, 5 (2), 61-70.

15. Subramanian, S., MacKinnon, S. L., & Ross, N. W. (2007). A comparative study on innate immune parameters in the epidermal mucus of various fish species. Comparative Biochemistry and Physiology Part B: *Biochemistry and Molecular Biology*, 148 (3), 256-263.
16. Smith, D. R., Padilla, W. J., Vier, D., Nemat Nasser, S. C., & Schultz, S. (2000). Composite medium with simultaneously negative permeability and permittivity. *Physical Review Letters*, 84, 41-84.
17. Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., & Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 193, 265-275.
18. Yousefian, M., Sheikholeslami, M., Amiri, M., Hedayadifard, A. A., Dehpour, H., Fazli, M., ... & Najafpour, S. H. (2010). Serum biochemical parameters of male and female rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) cultured in Haraz River, Iran. *World Journal of Fish and Marine Sciences*, 2 (6), 513-518.
19. Riche, M. (2007). Analysis of refractometry for determining total plasma protein in hybrid striped bass (*Morone chrysops* × *M. saxatilis*) at various salinities. *Aquaculture*, 264 (1-4), 279-284.
20. Hoseinifar, S. H., Sharifian, M., Vesaghi, M. J., Khalili, M., & Esteban, M. Á. (2014). The effects of dietary xylooligosaccharide on mucosal parameters, intestinal microbiota and morphology and growth performance of Caspian white fish (*Rutilus frisii* kutum) fry. *Fish & Shellfish Immunology*, 39 (2), 231-236.
21. Shadegan, M. R., & Banaee, M. (2018). Effects of dimethoate alone and in combination with Bacilar fertilizer on oxidative stress in common carp, *Cyprinus carpio*. *Chemosphere*, 208, 101-107.
22. Murray, R. K., Granner, D. K., Mayes, P. A., & Rodwell, V. W. (2003). Illustrated Biochemistry.
23. Banaee, M., Sureda, A., Mirvaghefi, A. R., & Ahmadi, K. (2011). Effects of diazinon on biochemical parameters of blood in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Pesticide biochemistry and physiology*, 99 (1), 1-6.
24. Hatami, M., Banaee, M., & Haghi, B. N. (2019). Sub-lethal toxicity of chlorpyrifos alone and in combination with polyethylene glycol to common carp (*Cyprinus carpio*). *Chemosphere*, 219, 981-988.
25. Hassan, S., Habiba, H. I., & Alsenosy, A. A. (2022). Immune Indicators, Growth, Hematological Parameters, Liver Enzymes and Kidney Function of Growing Rabbits as Affected by Bee Pollen and/or Mannan-Oligosaccharides. *Journal of Animal and Poultry Production*, 13 (9), 131-136.
26. Park, E. J., Bae, E., Yi, J., Kim, Y., Choi, K., Lee, S. H., ... & Park, K. (2010). Repeated-dose toxicity and inflammatory responses in mice by oral administration of silver nanoparticles. *Environmental toxicology and pharmacology*, 30 (2), 162-168.
27. Drotman, R. B., & Lawhorn, G. T. (1978). Serum enzymes as indicators of chemically induced liver damage. *Drug and chemical toxicology*, 1 (2), 163-171.
28. Christ-Crain, M., Meier, Cpuder J., Staub, J., Huber, P., & Keller, U. (2004). Changes in Liver Function Correlate with the Improvement of Lipid Profile after Restoration of Euthyroidism Inpatients with Subclinical Hypothyroidism. Experimental and Clinical Sciences. *International Online Journal for Advances in Science*, 3 (5), 1-9.
29. Wang, C. Y., & Li, Z. B. (2020). Growth performance, digestive enzyme activity and immune response of Japanese sea bass, Lateolabrax japonicus fed with fructooligosaccharide. *Aquaculture Nutrition*, 26 (2), 296-305.
30. Iger, Y., & Abraham, M. (1990). The process of skin healing in experimentally wounded carp. *Journal of Fish Biology*, 36 (3), 421-437.
31. Suzuki, Y., Tasumi, S., Tsutsui, S., Okamoto, M., & Suetake, H. (2003). Molecular diversity of skin mucus lectins in fish. Comparative Biochemistry and Physiology Part B: *Biochemistry and Molecular Biology*, 136 (4), 723-730.