

بررسی تأثیر پریوتیک الیگوفروکتوز بر پاره‌های از شاخص‌های خونی، بیوشیمیایی

سر می و آنزیم‌های کبدی بچه فیل ماهی (*Huso huso* Linnaeus, 1758)

سید حسین حسینی فر^{(۱)*}؛ علیرضا میرواقفی^(۲)؛ باقر مجازی امیری^(۳)؛

حسینعلی خوشباور رستمی^(۴) و کاظم درویش بسطامی^(۵)

Hoseinifar@ut.ac.ir

۱، ۲ و ۳- گروه شیلات و محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج صندوق پستی: ۴۱۱۱

۴- مرکز تحقیقات ذخایر آبهای داخلی، گرگان صندوق پستی: ۱۳۹

۵- موسسه ملی اقیانوس شناسی، تهران صندوق پستی: ۱۳۳۸۹-۱۴۱۱۸

تاریخ پذیرش: آذر ۱۳۸۹

تاریخ دریافت: تیر ۱۳۸۹

چکیده

هدف از این مطالعه بررسی اثرات پریوتیک الیگوفروکتوز بر برخی شاخص‌های خونی، بیوشیمیایی سرم و آنزیم‌های کبدی بچه فیل ماهی (*Huso huso*) بود. بدین منظور بچه فیل ماهی‌ها (میانگین وزنی $18/77 \pm 0/76$ گرم) تهیه و با تراکم ۵۰ عدد در حوضچه‌های فایبرگلاس ذخیره‌سازی شدند. تغذیه بچه فیل ماهی‌ها به مدت ۷ هفته با جیره‌های آزمایشی حاوی سطوح مختلف صفر (شاهد)، ۱، ۲ و ۳ درصد الیگوفروکتوز انجام شد. در انتها از بچه فیل ماهی‌ها خونگیری بعمل آمد و شاخص‌های خونی شامل: تعداد گلبولهای قرمز، تعداد گلبولهای سفید و شمارش تفریقی انواع آن، هماتوکریت و هموگلوبین، شاخص‌های بیوشیمیایی (کلسترول، گلوکوز و پروتئین کل) و آنزیم‌های کبدی (لاکتات دهیدروژناز، آلکالین فسفاتاز، آلانین آمینوترانسفراز و آسپاراتات آمینوترانسفراز) بررسی شد. نتایج این بررسی نشان داد الیگوفروکتوز اثری بر تعداد گلبولهای قرمز، حجم متوسط گلبولی (MCV)، هموگلوبین متوسط سلولی (MCH)، غلظت متوسط هموگلوبین گلبول قرمز (MCHC) ندارد. با این وجود مقادیر هماتوکریت، هموگلوبین و تعداد گلبولهای سفید در تیمار ۲ درصد بطور معنی‌داری بیشتر بود ($P < 0.05$). اگرچه پریوتیک الیگوفروکتوز اثری بر گلوکوز و پروتئین کل سرم نداشت، کلسترول سرم خون در تیمار ۲ درصد بطور معنی‌داری کاهش یافت ($P < 0.05$). بررسی آنزیم‌های کبدی تفاوت معنی‌داری بین تیمارها نشان نداد ($P > 0.05$). براساس این نتایج می‌توان گفت الیگوفروکتوز می‌تواند سبب تحریک ایمنی و بهبود متابولیسم چربی شود.

نکات کلیدی: پریوتیک، الیگوفروکتوز، شاخص‌های خونی، آنزیم‌های سرم، فیل ماهی

*نویسنده مسئول

مقدمه

استفاده از پروبیوتیک‌ها، پریبوتیک در جیره به منظور بهبود وضعیت سلامت ماهیان پیشنهاد شده است (پورامینی و حسینی‌فر، ۱۳۸۶). پریبوتیک‌ها اجزاء غذایی غیر قابل هضمی هستند که از طریق تغییر توازن باکتریایی میکروبیوتای روده‌ای به سمت باکتری‌های بالقوه مفید سبب بهبود وضعیت سلامت و ایمنی میزبان می‌شوند (Gibson et al., 2004). مطالعات انجام شده در زمینه بکارگیری اینولین و لیگوفروکتوز در جیره حاکی از بهبود تولید، بقاء و وضعیت سلامت آزیان پرورشی از جمله تاسماهی سبیری (*Acipenser baeri*) (Mahious & Ollevier, 2005)، گربه ماهی آفریقایی (*Clarias gariepinus*) (Mahious & Ollevier, 2005)، لارو توربوت (*Psetta maxima*) (Mahious et al., 2006) و میگوی سفید هندی (*Fenneropenaeus indicus*) (al., 2006) می‌باشد. با این حال تاکنون تنها یک گزارش در زمینه اثرات لیگوفروکتوز بعنوان پریبوتیک بر فیل ماهی وجود دارد (Hoseinifar et al., 2010b). شاخص‌های خونی (مانند تعداد گلبولهای قرمز و هموگلوبین) موارد مناسبی جهت ارزیابی وضعیت سلامت ماهیان می‌باشند (Asadi et al., 1997; Houston, 2006) و براساس یافته‌های مطالعات انجام شده متاثر از مکمل‌های غذایی چون پروبیوتیک‌ها هستند (Irianto & Austin, 2002; Brunt & Austin, 2005). افزون بر این شناخت شاخص‌های خونی از نظر اقتصادی نیز می‌تواند در شناسایی بیماری‌ها و تعیین وضعیت بهداشتی و سلامت ماهیان مفید باشد (جمیلی و همکاران، ۱۳۸۷). Cerezuela و همکاران (۲۰۰۷) تاثیر پریبوتیک اینولین را بر برخی شاخص‌های خونی شانک سرطلایی (*Spaus aurata*) مورد مطالعه قرار دادند. با این وجود هنوز اثرات پریبوتیک‌ها بر بسیاری از جنبه‌های فیزیولوژیکی و شاخص‌های خونی ماهی مشخص نشده است و مستلزم انجام مطالعات بیشتری است.

بنابراین هدف از این مطالعه تعیین اثرات پریبوتیک لیگوفروکتوز بر برخی شاخص‌های خونی، بیوشیمیایی سرم و آنزیمهای کبدی بچه فیل ماهی (*Huso huso*) بود.

مواد و روش کار

این مطالعه به مدت ۷ هفته در ایستگاه تحقیقات شیلاتی قره‌سو وابسته به موسسه تحقیقات شیلات ایران انجام شد. بچه فیل ماهی‌ها از کارگاه شهید مرجانی تهیه شد و پس از انتقال به مدت یک هفته سازگاری اولیه صورت پذیرفت. پس از عادت‌دهی بچه ماهی‌ها با تراکم ۵۰ عدد در حوضچه‌های فایبرگلاس ۲۰۰۰ لیتری (که ۸۰۰ لیتر آن پر شده بود) ذخیره‌سازی شدند. این

بررسی در قالب یک طرح کاملاً تصادفی انجام شد و برای هر تیمار ۳ تکرار در نظر گرفته شده بود. پریبوتیک مورد استفاده در این مطالعه لیگوفروکتوز (Raftilose P95) بود که جزء فروکتان‌ها بوده و از هیدرولیز آنزیمی اینولین بدست می‌آید (Ninees, 1999). این پریبوتیک دارای درجه پلیمریزاسیون ۲ تا ۸ بود (Mahious & Ollevier, 2005) و از شرکت Orafit (Raffinerie Tirllemontoise, Tienen, Belgium) تأمین شد. به منظور تهیه جیره‌های آزمایشی سطوح صفر (شاهد)، ۱، ۲ و ۳ درصد پریبوتیک لیگوفروکتوز به جیره پایه فرموله شده افزوده شد. تهیه جیره پایه فرموله شده با استفاده از آرد ماهی، آرد گندم، آرد سویا، روغن ماهی، روغن سویا، مکمل‌های معدنی، ویتامینی و سایر افزودنی‌ها انجام شد (جدول ۱). بدین منظور ابتدا مواد اولیه خشک به همراه ۳ سطح پریبوتیک توزین شده و به مدت ۳۰ دقیقه مخلوط گردیدند. پس از مخلوط شدن مواد اولیه مایع اضافه شده و مخلوط کردن به مدت ۱۵ دقیقه انجام شد. سپس خمیر حاصله با استفاده از یک چرخ گوشت با قطر ۳ میلی‌متر به رشته‌های بلند تبدیل شده و پس از خشک شدن در اندازه مناسب (طول ۸ میلی‌متر و قطر ۳ میلی‌متر) بصورت پلیت تهیه گردید. پس از آن جیره‌ها در بسته‌بندی‌های مناسب تا زمان مصرف در یخچال (۴ درجه سانتیگراد) نگهداری شد. تغذیه بچه فیل ماهی در طول دوره آزمایش روزانه ۴ بار و تا حد سیری صورت پذیرفت (سوداگر و همکاران، ۱۳۸۶). در انتهای دوره تعداد ۳ عدد ماهی از هر تانک بطور تصادفی جهت بررسی شاخص‌های خونی انتخاب شدند و خونگیری از ساقه دمی آنها صورت پذیرفت. از نمونه‌های خونی گرفته شده از هر نمونه مقدار ۱ سی‌سی در لوله‌های حاوی هپارین و مقدار مشابه در لوله‌های فاقد هپارین ریخته شد. به منظور جداسازی سرم پس از لخته شدن خون، لوله‌های فاقد هپارین به مدت ۵ دقیقه با ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. سرم جدا شده در لوله‌های کوچک تخلیه و تا زمان بررسی آنزیمهای کبدی و شاخص‌های بیوشیمیایی سرم در فریزر (۲۰- درجه سانتیگراد) نگهداری شدند. شمارش تعداد گلبولهای قرمز و سفید پس از رقیق‌سازی با استفاده از هموسیتمتر انجام شد. همچنین شمارش تفریق انواع گلبولهای سفید (نوتروفیل، ائوزینوفیل، لنفوسیت و مونوسیت) پس از تهیه گسترش و رنگ‌آمیزی صورت پذیرفت. هماتوکریت براساس روش میکروهماتوکریت و هموگلوبین براساس روش Sahli تعیین شد (Brown, 1988). مقادیر حجم متوسط گلبولی (MCV)، هموگلوبین متوسط سلولی (MCH)، غلظت متوسط هموگلوبین

دستگاه WTW ساخت کشور آلمان، اکسیژن محلول (با استفاده از Oximeter, oxi320/set wtw)، pH آب (با استفاده از PH 323- B/setl-wtw.Best-Nr100745)، هدایت الکتریکی و شوری (با استفاده از دستگاه Cond 330i/set wtw) بصورت روزانه اندازه‌گیری و ثبت شدند. این آزمایش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی انجام شد. پس از ثبت داده‌ها، همگنی آنها با استفاده از Kolmogornove-Smirnove بررسی شد. برای مقایسه بین تیمارها و نیز وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در سطح احتمال ($P < 0.05$) از آنالیز واریانس یک طرفه ANOVA و آزمون چند دامنه‌ای دانکن (Duncan's multiple-range test) استفاده گردید (Zar, 1994). کلیه آنالیزهای آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS (ویرایش ۱۳) و ترسیم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel, 2007 انجام شد.

گلبول قرمز (MCHC) براساس فرمول‌های استاندارد مشخص گردید.

شاخص‌های بیوشیمیایی سرم شامل: پروتئین کل به روش Biuret، کلسترول به روش cholesterol oxidase و گلوکز به روش glucose oxidase اندازه‌گیری شد (مجابی، ۱۳۷۰). سطوح آنزیم‌های کبدی (شامل لاکتات دهیدروژناز، آلکالین فسفاتاز، آلانین آمینوترانسفراز و آسپارات آمینوترانسفراز) در سرم خون با استفاده از دستگاه Auto analyser (Eppendorf, Pars Azmoon, Tehran, Germany) و کیت تجاری (EPOS, Germany) (Iran) بررسی شدند (Shahsavani et al., 2008). با توجه به اهمیت حفظ شرایط کیفی آب محیط پرورش، نظافت محل نگهداری بچه ماهیان و تعویض آب روزانه بطور منظم انجام شد. همچنین شاخص‌های کیفی آب شامل دمای آب (با استفاده از

جدول ۱: نسبت اجزا و ترکیب شیمیایی تقریبی جیره‌های آزمایش

اجزای جیره	شاهد	پربیوتیک ۱ درصد	پربیوتیک ۲ درصد	پربیوتیک ۵ درصد
پودر ماهی	۵۹/۲۵	۵۹/۲۵	۵۹/۲۵	۵۹/۲۵
آرد گندم	۲۱	۲۱	۲۱	۲۱
روغن ماهی	۶	۶	۶	۶
روغن سویا	۶	۶	۶	۶
مکمل معدنی	۳	۳	۳	۳
مکمل ویتامینی	۲	۲	۲	۲
همبند	۲	۲	۲	۲
پربیوتیک	۰	۱	۲	۳
آنتی‌اکسیدانت	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵
ضد قارچ	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
تجزیه تقریبی جیره‌ها (درصد ماده خشک)				
پروتئین خام	۴۳/۷۱	۴۳/۸۴	۴۴/۰۲	۴۴/۷۳
ماده خشک	۹۷/۴۱	۹۷/۰۳	۹۷/۸۵	۹۷/۴۱
پروتئین خام	۴۴/۴۹	۴۴/۱۲	۴۳/۹۲	۴۴/۳۵
چربی خام	۱۷/۰۳	۱۷/۹۱	۱۸/۲۷	۱۷/۵۶
خاکستر	۹/۲۲	۹/۴۸	۹/۳۴	۹/۸۵

نتایج

اثرات پربیوتیک الیگوفروکتوز بر شاخص‌های خونی در جدول ۲ نشان داده شده است. نتایج بدست آمده نشان داد که پربیوتیک الیگوفروکتوز اثری بر تعداد گلبولهای قرمز (RBC)، مقادیر حجم متوسط گلبولی (MCV)، هموگلوبین متوسط سلولی (MCH)، غلظت متوسط هموگلوبین گلبول قرمز (MCHC) ندارد ($P > 0.05$). با این حال مقادیر هماتوکریت و هموگلوبین به طور معنی‌داری در تیمار ۲ درصد الیگوفروکتوز بیشتر از تیمار شاهد بود ($P < 0.05$). تعداد کل گلبولهای سفید بچه فیل ماهی‌های تیمارهای مختلف در جدول ۳ نشان داده شده است. بیشترین میزان گلبولهای سفید در بچه ماهی‌های

۲۹

تغذیه شده با ۲ درصد لیگوفروکتوز و کمترین میزان در تیمار ۳ درصد مشاهده شد ($P < 0.05$). بعلاوه شمارش تفریقی گلبولهای سفید افزایش معنی داری در نسبت لنفوسیتها در تیمار ۱ و ۲ درصد بطور معنی داری نشان داد ($P < 0.05$). بررسی سطوح آنزیمهای کبدی شامل: لاکتات دهیدروژناز، آلکالین فسفاتاز، آلانین آمینوترانسفراز و آسپارات آمینوترانسفراز در بچه ماهیهای تغذیه شده با سطوح مختلف پریبیوتیک

لیگوفروکتوز در جیره تفاوت معنی داری بین تیمارها نشان نداد ($P > 0.05$). (جدول ۴).

بچه ماهیهای تیمار ۲ درصد بطور معنی داری سطوح کلسترول کمتری در سرم در مقایسه با سایر تیمارها داشتند ($P < 0.05$). سطوح گلوکز و پروتئین کل سرم تفاوت معنی داری بین بچه ماهیهای تغذیه شده با پریبیوتیک و تیمار شاهد نشان نداد ($P > 0.05$).

جدول ۲: اثر تیمارهای مختلف لیگو فروکتوز روی شاخصهای خونی فیل ماهی

تیمارها	گلبول قرمز ($\times 10^4$ میکرولیتر)	هموگلوبین (گرم در دسی لیتر)	هماتوکریت (درصد)	MCH (پیکو گرم)	MCHC (گرم در دسی لیتر)	MCV (فمتو لیتر)
شاهد	۷۴/۱۶±۱۶/۹۲	۶/۵۶±۰/۷۵ ^{ab}	۱۹/۷۱±۱/۹۳ ^b	۹۶/۷۰±۱۶/۷۸	۳۳/۵۷±۵/۲۰	۲۷۸/۶۰±۷۳/۱۲
لیگو فروکتوز ۱ درصد	۷۷/۶۶±۱۳/۹۵	۷/۳۳±۰/۴۲ ^a	۶/۵۶±۱/۳۹ ^{ab}	۱۰۱/۳۵±۲۶/۱۹	۳۳/۹۷±۴/۰۲	۲۸۸/۹۱±۶۴/۸۰
لیگو فروکتوز ۲ درصد	۷۲/۵۰±۱۱/۸۶	۷/۳۸±۰/۶۵ ^{ab}	۲۲/۲۶±۱/۲۵ ^a	۱۰۶/۲۹±۳۵/۵	۱۰۶/۲۹±۳/۹۵	۳۱۴/۰۴±۵۴/۲۹
لیگو فروکتوز ۳ درصد	۶۵/۳۳±۱۷/۵۸	۶/۴۷±۰/۶۰ ^b	۲۰/۳۱±۱/۸۸ ^{ab}	۹۱/۵۳±۱۸/۵۳	۳۲/۰۰±۳/۴۸	۳۲۸/۴۴±۸۴/۲۳

حروف متفاوت در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی دار می باشد ($P < 0.05$).

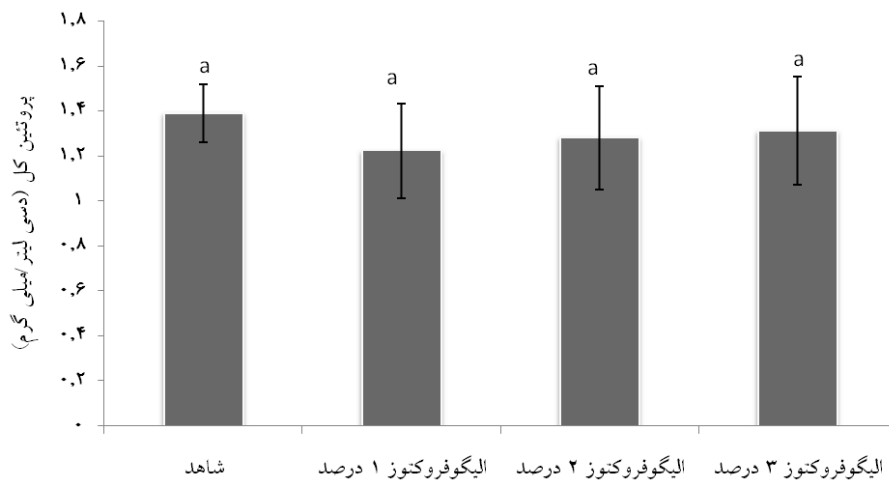
جدول ۳: اثر تیمارهای مختلف لیگو فروکتوز روی شمارش افتراقی گلبولهای سفید فیل ماهی

تیمارها	گلبول سفید ($\times 10^4$ میکرولیتر)	لنفوسیت (درصد)	نوتروفیل (درصد)	مونوسیت (درصد)	ائوزینوفیل (درصد)
شاهد	۲۰/۱۸±۰/۹۹ ^{ab}	۶۸/۵۱±۲/۱۷ ^b	۲۱/۹۶±۲/۴۹	۴/۶۶±۱/۰۲	۴/۴۱±۱/۷۳
لیگو فروکتوز ۱ درصد	۲۰/۳۱±۰/۷۶ ^{ab}	۷۱/۶۳±۰/۸۵ ^a	۲۰/۷۶±۲/۰۶	۳/۶۱±۱/۹۹	۳/۹۵±۲/۶۲
لیگو فروکتوز ۲ درصد	۲۱/۰۶±۰/۷۳ ^a	۷۲/۲۵±۰/۵۵ ^a	۲۰/۳۰±۲/۲۱	۴/۳۶±۲/۲۲	۳/۷۶±۱/۱۷
لیگو فروکتوز ۳ درصد	۱۹/۸۸±۰/۶۴ ^b	۶۷/۰۰±۲/۶۴ ^b	۲۲/۴۳±۱/۶۳	۵/۴۳±۱/۱۳	۴/۵۵±۲/۲۸

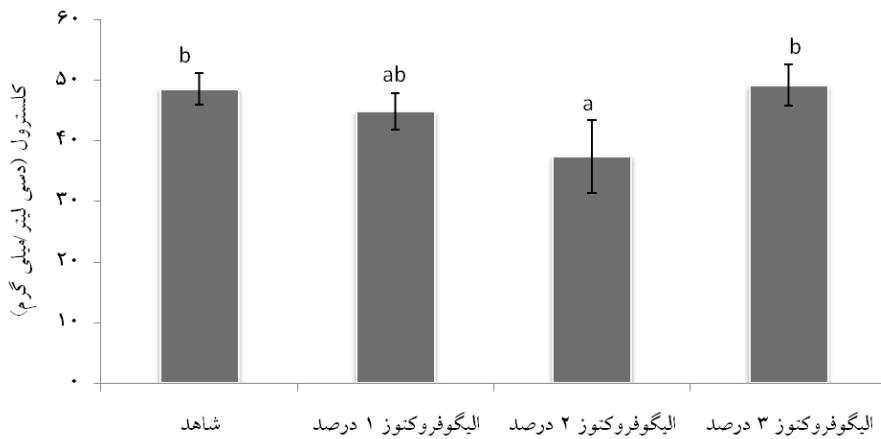
حروف متفاوت در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی دار می باشد ($P < 0.05$).

جدول ۴: اثر تیمارهای مختلف الیگو فروکتوز روی آنزیمهای کبدی فیل ماهی

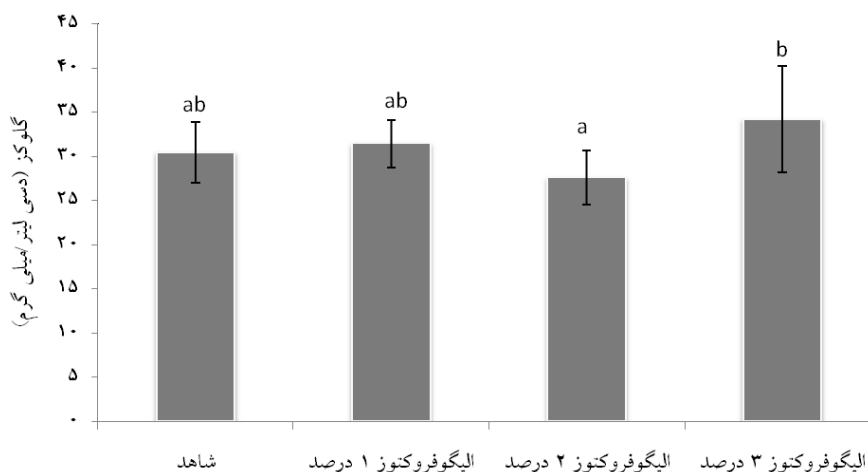
ALT (UI ⁻¹)	AST (UI ⁻¹)	ALP (UI ⁻¹)	LDH (UI ⁻¹)	تیمارها
۲۳۳/۵۰±۶۹/۰۴	۳۶۱/۰۰±۱۷۳/۶۱	۶۴/۹۱±۱۶/۸۹	۱۳۲۷/۸۳±۴۲۸/۳۶	شاهد
۲۳۳/۰۰±۱۱۴/۴۱	۴۴۳/۸۳±۱۵۵/۰۷	۵۴/۵۱±۸/۳۳	۱۵۴۹/۳۳±۴۷۱/۳۶	الیگو فروکتوز ۱ درصد
۱۹۹/۵۰±۶۲/۱۶	۴۲۱/۸۳±۱۸۶/۶۱	۵۶/۰۵±۸/۶۹	۱۴۸۵/۸۳±۳۶۶/۳۹	الیگو فروکتوز ۲ درصد
۲۴۳/۳۳±۹۹/۸۳	۳۳۸/۳۳±۱۱۲/۶۷	۶۹/۳۳±۱۰/۴۶	۱۵۸۵/۵±۵۳۰/۰۴	الیگو فروکتوز ۳ درصد



نمودار ۱: مقادیر پروتئین کل پلاسما خون بچه فیل ماهیهای تیمارهای مختلف در انتهای دوره



نمودار ۲: مقادیر کلسترول پلاسما خون بچه فیل ماهیهای تیمارهای مختلف در انتهای دوره



نمودار ۳: مقادیر گلوکز پلاسما خون بچه فیل ماهی‌های تیمارهای مختلف در انتهای دوره

بحث

هموگلوبین، مقادیر حجم متوسط گلبولی (MCV)، هموگلوبین متوسط سلولی (MCH)، غلظت متوسط هموگلوبین گلبول قرمز (MCHC) نشان نداد. افزایش تعداد گلبولهای سفید در این مطالعه در نتیجه استفاده از پریبیوتیک در جیره احتمالاً بدلیل تحریک دستگاه ایمنی می‌باشد. اگر چه مطالعات بیشتری جهت تعیین دقیق اثرات پریبیوتیک بر سیستم ایمنی بچه فیل ماهی می‌باید صورت پذیرد. نتایج این مطالعه حاکی از افزایش معنی‌داری هماتوکریت و هموگلوبین در تیمار ۲ درصد الیگوفروکتوز بود. Aly و همکاران (۲۰۰۸) افزایش میزان هماتوکریت را در تیلاپای تغذیه شده با پریبیوتیک گزارش نمودند. علاوه نتایج مشابهی در تغذیه تیلاپیا با باکتری‌های فتوسنتزی بیان شده است (Merrifield *et al.*, 2010b). نتایج این تحقیق نشان داد که تغذیه فیل ماهی با ۳ درصد الیگوفروکتوز جیره اثرات سوء بر شاخص‌های خونی دارد. دلیل این نتایج هر چند بطور دقیق مشخص نیست اما مطالعات پیشین انجام شده در این زمینه ناتوانی میکروبیوتای روده‌ای در تخمیر مقادیر اضافی پریبیوتیک و تجمع آنها در روده را بعنوان دلیل اثرات سوء سطوح بالای پریبیوتیک جیره بیان نموده‌اند (Olsen *et al.*, 2001). اگرچه سطوح گلوکز جیره در تیمارهای تغذیه شده با پریبیوتیک تفاوت چندانی با تیمار شاهد نشان نداد، سطوح کلسترول سرم بطور معنی‌داری در تیمار ۲ درصد الیگوفروکتوز کاهش یافت. مشخص شده است که الیگوفروکتوز تا

شاخص‌های خونی در ماهیان می‌تواند متأثر از مواردی چون نوع گونه پرورشی، اندازه، سن، وضعیت فیزیولوژیکی، شرایط محیطی و رژیم غذایی باشد (Brunt & Austin 2005; Osuigwe *et al.*, 2005). با این حال اطلاعات بسیار کمی در زمینه اثرات مکمل‌های غذایی چون پریبیوتیک‌ها بر فاکتورهای خونی ماهیان از جمله ماهیان خاویاری وجود دارد (Merrifield *et al.*, 2009; Ringo *et al.*, 2010a). نتایج این مطالعه نشان داد که افزودن سطوح مختلف پریبیوتیک الیگوفروکتوز به جیره غذایی بچه فیل ماهی اثری بر تعداد گلبولهای قرمز و گلبولهای سفید ندارد. هر چند شمارش تفریقی گلبولهای سفید افزایش معنی‌داری در تعداد لنفوسیت‌ها بچه ماهی‌های تغذیه شده با سطوح ۱ و ۲ درصد پریبیوتیک نشان داد. نتایج مشابهی در مطالعه اثرات پریبیوتیک اینولین بر قزل‌آلای رنگین کمان (*Onchorhynchus Mykiss*) گزارش شده است (اکرمی و همکاران، ۱۳۸۷). Welker و همکاران (۲۰۰۷) نشان دادند که افزودن ۰/۲ درصد پریبیوتیک مانان الیگوساکارید (MOS) به جیره غذایی گربه ماهی رو گاهی (*Ictalurus punctatus*) هیچ اثری بر شاخص‌های خونی از جمله تعداد گلبولهای قرمز و سفید، هماتوکریت، هموگلوبین و سطوح پروتئین پلاسما ندارد. همچنین Sado و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند که افزودن سطوح ۰/۲ تا ۱ درصد پریبیوتیک مانان اثری بر فاکتورهای خونی از جمله تعداد گلبولهای سفید، گلبولهای قرمز، هماتوکریت و

پورامینی، م. و حسینی فر، س.ح.، ۱۳۸۶. کاربرد پروبیوتیک‌ها و پریبیوتیک‌ها در آبزی‌پروری، انتشارات موج سبز تهران، ۱۲۰ صفحه.

جمیلی، ش.؛ ماشینیچیان مرادی، ع.؛ بهمنی، م. و کیائی ضیابری، ک.، ۱۳۸۷. بررسی و شناخت فاکتورهای خونی اردک ماهی تالاب انزلی، اولین همایش ملی علوم شیلات و آبزیان ایران، لاهیجان، صفحات ۳۷ تا ۳۹.

سوداگر، م.؛ آذری تاکامی، ق.؛ پانوماریف، س.؛ عابدیان کناری، ع. و حسینی، س.ع.، ۱۳۸۶. بررسی اثرات سطوح مختلف بتائین و متیونین به عنوان جاذب بر شاخص‌های رشد و بقاء فیل ماهی جوان (*Huso huso*). مجله علمی شیلات ایران، شماره ۳، تابستان ۱۳۸۶، صفحات ۳۳ تا ۳۸.

مجبای، ع.، ۱۳۷۰. بیوشیمی درمانگاهی. انتشارات جهاد دانشگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، ۳۷۲ صفحه.

محسنی، م.؛ پور کاظمی، م.؛ بهمنی، م.؛ پور علی فشتمی، ح. ر.؛ کاظمی، ر. و صالح پور، م.، ۱۳۸۳. اثر تعداد دفعات تغذیه روی میزان رشد، ضریب تبدیل غذایی و بازماندگی بچه فیل ماهیان (*Huso huso*) زیر یکسال. مجله علمی شیلات ایران. سال سیزدهم، شماره ۳، پاییز ۱۳۸۳.

Aly S.M., Abdel-Galil A.Y., Ghareeb A. and Mohamed M.F., 2008. Studies on *Bacillus subtilis* and *Lactobacillus acidophilus*, as potential probiotics, on the immune response and resistance of *Tilapia nilotica* (*Oreochromis niloticus*) to challenge infections. *Fish Shellfish Immunology*, 25:128-136.

Asadi F., Rostami A., Pourkabir M. and Shahriari A., 2006. Serum lipid and lipoprotein profile of Asian tortoise (*Agrionemys horsfieldi*) in prehibernation state. *Comparative Clinical Pathology*, 16(3):193-195.

Brown B.A., 1988. Routine Hematology Procedures. Leo and Febiger, Philadelphia, PA, USA.

حدی دارای خصوصیتی مشابه فیبرهای محلول بوده (Van Loo et al., 1999) و می‌تواند پروفیل چربی سرم را تحت تاثیر قرار دهد (Delzenne & Kok, 2001 et al., 2002). در حقیقت مشخص شده است که الیگوفروکتوز قادر است مانع افزایش کلسترول آزاد در سرم موش‌های تغذیه شده با جیره چرب شود (Kok et al., 1998). اگرچه برخلاف این شواهد، اکرمی و همکاران (۱۳۸۷) بی اثر بودن پریبیوتیک الیگوفروکتوز را بر سطوح کلسترول سرم گزارش نمودند. در این تحقیق نیز تفاوت معنی‌داری در سطوح آنزیم‌های کبدی شامل ALT, AST, LDH و ALP بین تیمارهای مختلف مشاهده نشد. اگرچه در مطالعات پریبیوتیکی چندان به بررسی این آنزیمها پرداخته نشده است اما بررسی این آنزیمها می‌تواند بعنوان مکملی در کنار بررسی‌های میکروبیولوژیکی و هیستوپاتولوژیکی مطرح باشند (Racicot et al., 1975). نتایج بررسی‌های آنزیمی نشان داد سطوح پایین پریبیوتیک الیگوفروکتوز اثرات سویی بر این آنزیمها ندارد. براساس این یافته می‌توان نتیجه گرفت، پریبیوتیک الیگوفروکتوز اثرات مثبتی بر شاخص‌های خونی و احتمالاً سیستم ایمنی فیل ماهی دارد. همچنین مطالعات بیشتری می‌بایست به منظور تعیین اثرات پریبیوتیک الیگوفروکتوز بر فیزیولوژی دستگاه گوارش و سیستم ایمنی فیل ماهی صورت پذیرد.

تشکر و قدردانی

از جناب آقای دکتر جعفری شמושکی مدیرکل وقت شیلات استان گلستان، دکتر یلقی معاونت محترم مرکز تحقیقات ذخایر آبهای داخلی گرگان، جناب آقای سید نصرالله حسینی فر، کارشناسان محترم کارگاه تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید مرجانی و پرسنل محترم ایستگاه تحقیقات شیلاتی قره‌سو و آقای مهندس مرتضی یوسفی به خاطر مساعدت‌ها و همکاری‌هایشان در طول انجام این مطالعه تشکر و قدردانی بعمل می‌آید.

منابع

اکرمی، ر.؛ قلیچی، ا.؛ و ابراهیمی، ا.، ۱۳۸۷. تأثیر سطوح مختلف پریبیوتیک اینولین بر رشد و زنده ماندن ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*). خلاصه مقالات اولین کنفرانس ملی علوم شیلات و آبزیان ایران، صفحات ۱۰ تا ۱۲.

- Brunt J. and Austin B., 2005.** Use of a probiotic to control lactococcosis and streptococcosis in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Journal of Fish Disease, 28:693-701.
- Cerezuela R., Cuesta A., Meseguer J. and Esteban M.A., 2007.** Effects of inulin on gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) innate immune parameters. Fish and Shellfish Immunology, 24(5):663-668.
- Delzenne N. and Kok N., 2001.** Effects of fructans-type prebiotics on lipid metabolism. American Journal Clinical Nutrition, 73:456S-458S.
- Delzenne N.M., Daubioul C., Neyrinck A., Lasa M. and Taper H.S., 2002.** Inulin and oligofructose modulate lipid metabolism in animals: Review of biochemical events and future prospects. British Journal of Nutrition, 87:S255-S259.
- Gibson G.R., 2004.** Fiber and effects on probiotics (the prebiotic concept). Clinical Nutrition Supplements, 1: 25-31.
- Houston H., 1997.** Are the classical hematological variables acceptable indicators of fish health? American Fish Society, 126:879-894.
- Hoseinifar S.H., Zare P. and Merrifield D.L., 2010a.** The effects of inulin on growth factors and survival of the Indian white shrimp larvae and post-larvae (*Fenneropenaeus indicus*). Aquaculture Research, 49(9): 348-352.
- Hoseinifar S.H., Mirvaghefi A., Mojazi Amiri B., Khoshbavar Rostami H. and Merrifield D., 2010b.** The effects of oligofructose on growth performance, survival, intestinal microbiota and liver histology of endangered great sturgeon (*Huso huso*) juvenile. Aquaculture Nutrition, (In press).
- Irianto A. and Austin B., 2002.** Use of probiotics to control furunculosis in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Journal of Fish Disease, 25:333-342.
- Kok N., Taper H. and Delzenne N.M., 1998.** Oligofructose modulates lipid metabolism alterations induced by a fat-rich diet in rats. Journal of Applied Toxicology, 18:47-53.
- Mahious A.S., Gatesoupe F.J., Hervi M., Metailler R. and Ollevier F., 2006.** Effect of dietary inulin and oligosaccharides as prebiotics for weaning turbot, *Psetta maxima* (Linnaeus, C. 1758). Aquaculture International, 14:219-229.
- Mahious A.S. and Ollevier F., 2005.** Probiotics and prebiotics in aquaculture: A review. 1st Regional Workshop on Techniques for Enrichment of Live Food for Use in Larviculture, 7-11 March, Urima, Iran, pp.17-26.
- Merrifield D.L., Dimitroglou A., Foey A., Davies S.J., Baker R.T.M., Bogwald J., Castex M. and Ringo E., 2010a.** The current status and future focus of probiotic and prebiotic applications for salmonids. Early view doi:10.1016/j.aquaculture.2010.02.007
- Merrifield D.L., Davies S.J., Guroy D., Guroy B., Emery M., Llewellyn C. and Skill S., 2010b.** Preliminary assessment of *Chlorogloeopsis* as a dietary supplement for red tilapia (*Oreochromis niloticus*). Aquaculture, 299:128-133.
- Natt M.P. and Herrick, C.A., 1952.** A new blood diluent for counting the erythrocytes and leucocytes of the chicken. Poultry Science, 31:735-738.

- Niness K.R., 1999.** Inulin and oligofructose: what are they? *Journal of Nutrition*, 129:1402S–6S.
- Olsen, R.E., Myklebust, R., Kryvi, H., Mayhew, T.M. and Ringo, E., 2001.** Damaging effect of dietary inulin on intestinal enterocytes in Arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.). *Aquaculture Research*, 32:931–934.
- Osuigwe D.I., Obiekezie A.I. and Onuoha G.C., 2005.** Some haematological changes in hybrid catfish (*Heterobranchus longifilis* x *Clarias gariepinus*) fed different dietary levels of raw and boiled jackbean (*Canavalia ensiformis*) seed meal. *African Journal of Biotechnology*, 4:1017-1021.
- 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.
- Ringo E., Olsen R.E., Gifstad T., Dalmo R.A., Amlund H., Hemre G. and Bakke A.M., 2009.** Prebiotics in aquaculture. *Aquatic Nutrition*, 16:117-136.
- Sado R., Bicudo A. and Cyrino J., 2008.** Feeding dietary mannan oligosaccharides to juvenile Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, has no effect on hematological parameters and showed decreased feed consumption. *Journal of the World Aquaculture Society*, 39:821-827.
- Shahsavani D., Mohri M. and Gholipour Kanani H., 2008.** Determination of normal values of some blood serum enzymes in *Acipenser stellatus* Pallas. *Fish Physiology and Biochemistry*. early view: DOI 10.1007/s10695-008-9277-3.
- Van Loo J., Cummings J., Delzenne N., Franck A., Hopkins M., MacFarlane G., Newton D., Quigely M., Roberfroid M., Van Vliet T. and Van den Heuvel E., 1999.** Functional food properties of non-digestible oligosaccharide: A consensus report from the ENDO project (DGXII AIRII-CT94–1095). *British Journal of Nutrition*. 81:121–132.
- Welker T.L., Lim C., Yildirim-Aksoy M., Shelby R. and Klesius P.H., 2007.** Immune response and resistance to stress and *Edwardsiella ictaluri*, fed diets containing commercial whole cell yeast or yeast subcomponents. *Journal of World Aquaculture Society*, 38:24–35.
- Zar J.H., 1994.** *Biostatistical Analysis*. Prentice-Hall, New Jersey, 662P.

The effects of prebiotic oligofructose on hematological, serum biochemical parameters and liver enzymes of juvenile beluga

(*Huso huso*)

Hoseinifar S.H.^{(1)*}; Mirvaghefi A.R.⁽²⁾; Mojazi Amiri B.⁽³⁾;

Khoshbavar Rostami H.A.⁽⁴⁾ and Darvish Bastami K.⁽⁵⁾

Hoseinifar@ut.ac.ir

1,2,3-Faculty of Natural Resources, University of Tehran, P.O.Box: 4111 Karaj, Iran

4-Inland Waters Aquatics Stocks Research Center, P.O.Box: 139 Gorgan, Iran

5-Iranian National Institute for Oceanography (INCO), P.O.Box: 14118-13389 Tehran, Iran

Received: July 2010

Accepted: December 2010

Keywords: Prebiotic, Oligofructose, Hematology parameters, Serum enzymes, Beluga

Abstract

The aim of the present study was to investigate the effects of dietary oligofructose (1, 2 and 3%) on blood profiles of beluga *Huso huso* juveniles (18.77 ± 0.76 g). After 7 weeks feeding on experimental diets hematological parameters, metabolic products (cholesterol, glucose and total protein) and serum enzymes (lactate dehydrogenase, alkaline phosphatase, alanine aminotransferase and aspartate aminotransferase) were measured. Compared to the control group (0% oligofructose), oligofructose had no effects on red blood cell counts (RBC), mean corpuscular volume (MCV), mean cellular hemoglobin concentration (MCH) or mean cell hemoglobin concentration (MCHC) ($P > 0.05$). However, hematocrit (Hct), hemoglobin concentration (Hb) and leucocyte counts (WBC) were significantly higher in fish fed 2% oligofructose ($P < 0.05$). Although serum glucose and total protein remained unaffected, cholesterol was significantly lower in the 2% oligofructose group ($P < 0.05$). Our results showed oligofructose had no significant effects on serum lactate dehydrogenase, alkaline phosphatase, alanine aminotransferase and aspartate aminotransferase ($P > 0.05$). These results indicate an immunomodulatory effect and the potential to reduce serum cholesterol levels in beluga sturgeon.

*Corresponding author