

## تأثیر پریوتیک اینولین جیره غذایی بر پارامترهای هماتولوژی و بیوشیمی سرم خون فیل ماهیان (*Huso huso*) جوان پرورشی

رضا اکرمی<sup>۱\*</sup> افشین قلیچی<sup>۲</sup> احسان احمدی<sup>۲</sup>

(۱) گروه شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد آزاد شهر، آزاد شهر - ایران.

(۲) کارشناس ارشد شیلات، دانشکده شیلات، دانشگاه زابل، زابل - ایران.

(دریافت مقاله: ۱۸ تیر ۱۳۸۹، پذیرش نهایی: ۸ آذر ماه ۱۳۸۹)

### چکیده

استفاده از پریوتیک‌ها به عنوان مواد غذایی غیر قابل هضم به واسطه تأثیر مفیدشان بر سلامتی میزبان، ایده جدیدی در آبرزی پروری می‌باشد. هدف از انجام این مطالعه، بررسی تأثیر سطوح مختلف پریوتیک بر پارامترهای هماتولوژی و بیوشیمی سرم خون فیل ماهیان می‌باشد به همین منظور تأثیر سطوح مختلف پریوتیک اینولین شامل مقادیر ۱، ۲ و ۳ درصد جیره غذایی روی برخی پارامترهای هماتولوژی یک و غیرالکترولیت‌های سرم خون فیل ماهیان جوان پرورشی، پس از ۸ هفته پرورش مورد بررسی قرار گرفت. خون‌گیری از ساقه دمی ۳۶ عدد ماهی به ظاهر سالم (با میانگین وزنی ۶۵ گرم) در انتهای دوره پرورش به عمل آمد و نتایج با استفاده از آنالیز رگرسیون و ضریب همبستگی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. اختلاف معنی‌داری در میزان فعالیت آنزیم‌های سرم خون در تیمارهای آزمایشی حاوی سطوح مختلف اینولین در مقایسه با گروه شاهد مشاهده نشد ( $p > 0.05$ ). مکمل کردن جیره با اینولین تغییری در برخی فاکتورهای هماتولوژی یک و بیوشیمیایی نظیر تعداد کل گلبول‌های قرمز، MCH، گلوکز، آلبومین، کلسترول، تری‌گلیسرید و اسید اوریک خون ایجاد نکرد ( $p > 0.05$ ). بیشترین میزان هماتوکریت، تعداد کل گلبول سفید و درصد لنفوسیت در ماهیان تغذیه‌شده با سطح اینولین ۱ درصد مشاهده شد ( $p < 0.01$ ). این مطالعه نشان می‌دهد که استفاده از این نوع پریوتیک در سطوح پایین‌تر می‌تواند دارای اثرات مثبتی روی فاکتورهای خونی فیل ماهی جوان پرورشی باشد.

واژه‌های کلیدی: پریوتیک اینولین، سرم، بیوشیمی، هماتولوژی، فیل ماهی.

می‌تواند در شناسایی بیماری‌ها، تعیین شرایط بهداشتی و سلامت آبریزان مفید باشد (۱، ۲). سطوح مختلف اجزاء پلاسما به عنوان شاخصی در ارزیابی سلامت و وضعیت فیزیولوژیکی ماهی مورد استفاده قرار می‌گیرند، در حالی که سنجش پارامترهای خونی برای تعیین احتیاجات غذایی، اجزاء غذایی جدید و سایر افزودنی‌ها می‌توانند مفید واقع شوند (۹). بنابراین باید برای هر گونه ماهی در شرایط اقلیمی هر منطقه مقادیر طبیعی این فاکتورها وجود داشته باشد. با توجه به دوره پرورش طولانی ماهیان خاوباری، آگاهی از تصویر و تابلوی خونی و پارامترهای بیوشیمیایی این ماهیان ضروری است تا با داشتن اطلاعات خون شناسی در حالت طبیعی و مقایسه آن با اطلاعاتی که در حالات و شرایط بیماری بدست می‌آید به تشخیص بیماری، درمان و در نهایت پیشگیری و کنترل آن جهت هدایت مدیریت بهداشت و افزایش تولید پرداخت. اخیراً مطالعاتی در زمینه تأثیر پریوتیک اینولین روی برخی پارامترهای خونی در ماهی سیم‌دریایی (*Spaus aurata*) در شرایط آزمایشگاهی و طبیعی مورد مطالعه قرار گرفته است (۴). از آنجایی که تاکنون تحقیقی در زمینه تأثیر جیره غذایی حاوی پریوتیک اینولین روی پارامترهای هماتولوژی یک فیل ماهی در شرایط پرورشی به عمل نیامده است لذا هدف مطالعه حاضر تعیین مقادیر برخی پارامترهای هماتولوژی یک و غیرالکترولیت‌های سرم خون فیل ماهیان جوان پرورشی تغذیه‌شده با سطوح متفاوت پریوتیک اینولین در حوضچه‌های فایبرگلاس می‌باشد.

### مقدمه

توسعه روزافزون آبرزی پروری در بسیاری از مناطق دنیا منجر به افزایش تقاضا در به کارگیری از مواد شیمیایی جدید شده است به طوری که در سال‌های اخیر استفاده از مواد شیمیایی و ترکیبات صنعتی تحت مطالعات دقیق قرار گرفته تا از نظر جنبه‌های اقتصادی و دامنه سلامتی طبقه‌بندی و در آبرزی پروری مورد استفاده قرار گیرند. از جمله این ترکیبات شیمیایی پریوتیک‌ها هستند. پریوتیک ماده غذایی غیر قابل هضمی است که از طریق تحریک رشد و فعالیت یک یا تعداد محدودی از باکتری‌های موجود در روده اثرات سودمندی برای میزبان داشته و سلامتی میزبان را بهبود می‌بخشد (۸). از بین کل پریوتیک‌های آزمایش شده، فروکتون‌های نوع اینولین بیشتر مورد بررسی قرار گرفته‌اند. اینولین یک کربوهیدرات گیاهی غیر قندی پلی ساکاریدی است که دارای فیبر محلول بوده و از گیاهان مختلف (ریشه کاسنی) با درجه پلیمریزاسیون متفاوت بدست می‌آید. فاکتورهای خونی و سرمی ماهیان در گونه‌های مختلف با هم تفاوت داشته و وابستگی زیادی با شرایط محیطی، تغذیه‌ای، سن و... دارد (۱۳). خون به عنوان یک بافت سیال، یکی از مهم‌ترین مایعات بیولوژی یک بدن بوده که تحت تأثیر حالات مختلف فیزیولوژی یک و پاتولوژی یک ترکیبات آن دستخوش نوسان و تغییر می‌گردد. لذا در اختیار داشتن مقادیر طبیعی پارامترهای خونی و بررسی چگونگی تغییرات آن‌ها



## مواد و روش کار

پرورش: تعداد ۶۰۰ قطعه بچه فیل ماهی با میانگین وزنی ۱۶ گرم از مرکز تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید مرجانی آق قلا تحویل و با تراکم ۵۰ قطعه در ۱۲ حوضچه فایبرگلاس مشابه و با شرایط یکسان از نظر حجم (۲۰۰۰ لیتر) و سطح، فاکتورهای کمی و کیفی آب و همچنین اجزاء غذایی و ترکیبات شیمیایی نسبتاً مشابه (شامل پروتئین: ۳۹ درصد، چربی: ۱۷ درصد، خاکستر: ۹ درصد و انرژی خام: ۱۹ مگاژول در کیلوگرم جیره) به مدت ۸ هفته تغذیه شدند. ترکیبات غیرقابل هضم در جیره‌های آزمایشی شامل سطوح متفاوت ۰،۱ و ۲ و ۳ درصد (۲۰، ۳۰ و ۴۰ گرم در کیلوگرم) پریبیوتیک اینولین بود که به ترتیب جایگزین سلولز جیره شاهد گردیدند.

**نمونه‌گیری و خون‌گیری:** نمونه‌گیری از فیل ماهیان پرورشی با میانگین وزنی ۶۵ گرم جهت آزمایش‌های خونی در انتهای دوره پرورش صورت گرفت. ۲۴ ساعت قبل از خون‌گیری تغذیه ماهیان قطع شد و سپس ۳۶ عدد ماهی (۳ ماهی به ازای هر تکرار) به ظاهر سالم به طور تصادفی انتخاب شدند و از ورید ساقه دمی آن‌ها خون‌گیری به عمل آمد. از نمونه‌های خون جمع‌آوری شده مقدار ۱ سی‌سی برای جداسازی سرم در لوله‌های سرولوژی فاقد ماده ضد انعقاد و ۱ سی‌سی در ظروف حاوی ماده ضد انعقاد هپارین تقسیم گردید. سپس با استفاده از سانتریفیوژ با دور ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه سرم جدا و با سمپلر در لوله‌های کوچک تخلیه و در مجاورت یخ به آزمایشگاه انتقال و در شرایط فریزر (دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد) تا انجام آزمایش نگهداری شدند.

**روش‌های اندازه‌گیری:** آزمایش‌های هماتولوژی روی خون حاوی ماده ضد انعقاد هپارین انجام گرفت. فاکتورهای خونی مورد مطالعه به روش توصیه شده توسط Feldman و همکاران در سال ۲۰۰۰ شامل تعداد گلبول‌های قرمز (RBC)، تعداد گلبولهای سفید (WBC)، هماتوکریت (PCV)، هموگلوبین (Hb)، حجم متوسط گلبولی (MCV)، هموگلوبین متوسط گلبولی (MCH) و غلظت متوسط هموگلوبین گلبول‌های قرمز (MCHC) بود (۷). همچنین شمارش افتراقی گلبول‌های سفید شامل هتروفیل (نوتروفیل)، لنفوسیت، ائوزینوفیل، مونوسیت و بازوفیل نیز انجام شد (۳). اندازه‌گیری غیرالکترولیت‌ها روی خون فاقد ماده ضد انعقاد هپارین انجام گرفت. برای اندازه‌گیری غیرالکترولیت‌ها، سرم خون جداسازی و با استفاده از دستگاه Semianalyser مدل SEAC طبق دستورالعمل شرکت سازنده با استفاده از کیت‌های آزمایشگاهی انجام شد. پروتئین تام به روش بیوره (Biuret)، کلسترول به روش کلسترول اکسیداز (Cholesterol oxidase)، تری‌گلیسرید به روش آنزیمی لیپاز (Lipase/GPO-PAP)، بیلی روبین به روش دیازو (sulphanilic acid) (Dialzo with)، آلبومین به روش بروموکرزول (Bromocresol Green)، اسید اوریک به روش رنگ سنجی اوره آز، کراتینین به روش رنگ سنجی

ژافه (Jaffe) و گلوکز به روش گلوکز اکسیداز (Glucose oxidase) اندازه‌گیری شد. سنجش آنزیم آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آسپارات آمینوترانسفراز (AST)، و لاکتات دهیدروژناز (LDH) به روش رنگ سنجی کینتیک و آلکالین فسفاتاز (ALP) به روش آنزیماتیک کینتیک صورت گرفت (۳).

**تجزیه و تحلیل آماری:** طرح کلی این تحقیق در قالب طرح کاملاً تصادفی برنامه‌ریزی و اجرا گردید. تجزیه و تحلیل آماری شامل محاسبه میانگین، انحراف معیار، آنالیز رگرسیون و ضرایب همبستگی با استفاده از نرم افزار SPSS صورت پذیرفت. جهت تعیین همبستگی بین پارامترهای اندازه‌گیری شده از آزمون همبستگی پیرسون و همچنین جهت تعیین همبستگی بین شاخص‌های خونی اندازه‌گیری شده و سطوح متفاوت پریبیوتیک اینولین از آزمون رگرسیون خطی استفاده شد و مقادیر  $(p < 0/05)$  معنی دار تلقی گردید.

## نتیجه

نتایج حاصل از تأثیر سطوح مختلف پریبیوتیک اینولین جیره غذایی روی میانگین برخی آنزیم‌های سرمی خون در فیل ماهیان جوان پرورشی در جدول ۱ آمده است. اختلاف معنی داری در میزان فعالیت آنزیم‌های سرم خون در تیمارهای آزمایشی که تحت تأثیر سطوح متفاوت اینولین جیره قرار گرفته بودند در مقایسه با گروه شاهد مشاهده نشد  $(p < 0/05)$ . نتایج آزمون همبستگی پیرسون نشان داد بین فعالیت آنزیم LDH و ALT همبستگی مثبت بسیار معنی داری  $(r = 0/647, p < 0/01)$  وجود دارد. نتایج آنالیز رگرسیون نشان داد همبستگی مثبتی بین افزایش سطح اینولین در جیره و مقادیر آنزیم‌های LDH  $(r = 0/992, P = 0/008)$ ، ALT  $(r = 0/871, P = 0/013)$  و AST  $(r = 0/949, P = 0/051)$  وجود دارد، ولی در خصوص ALP همبستگی منفی  $(r = -0/879, P = 0/012)$  به دست آمد (جدول ۲). تأثیر سطوح متفاوت پریبیوتیک اینولین جیره غذایی روی برخی متغیرهای خون شناختی در جدول ۳ نشان داده شده است. در میزان حجم متوسط گلبولی (MCV)، غلظت متوسط هموگلوبین گلبول‌های قرمز (MCHC)، هماتوکریت و هموگلوبین بین گروه شاهد و گروه‌های آزمایشی حاوی اینولین تفاوت معنی داری مشاهده شد  $(p < 0/05)$ . بیشترین درصد هماتوکریت در سطح ۱ درصد اینولین جیره مشاهده شد. نتایج آنالیز رگرسیون نشان داد همبستگی منفی بین افزایش سطح اینولین در جیره و تعداد گلبول‌های قرمز  $(r = -0/24, p = 0/076)$ ، هماتوکریت  $(r = -0/82, p = 0/018)$ ، هموگلوبین  $(r = -0/96, p = 0/045)$ ، حجم متوسط گلبولی  $(r = -0/96, p = 0/045)$  و تعداد گلبول‌های سفید  $(r = -0/73, p = 0/28)$  وجود دارد. در نتایج شمارش افتراقی گلبول‌های سفید خون مشاهده گردید مقادیر گلبول سفید خون و لنفوسیت در گروه آزمایشی اینولین ۱ درصد نسبت به سایر تیمارها از افزایش معنی داری برخوردار بود  $(p < 0/05)$ . نتایج به دست آمده از اندازه‌گیری



جدول ۱- میانگین مقادیر برخی آنزیم‌های سرمی خون فیل ماهیان جوان پرورشی تغذیه شده با پریبوتیک اینولین. میانگین‌های در یک ردیف که حروف کناری آن‌ها شبیه هم یا حداقل دارای یک حرف مشترک هستند فاقد اختلاف معنی دارند. اعداد داخل پرانتز نشان دهنده دامنه شاخص‌ها هستند.

آنزیم (U/L)	شاهد	٪۱ اینولین	٪۲ اینولین	٪۳ اینولین	احتمالات
LDH	۸۶۷/۸±۵۵/۹۶ <sup>a</sup> (۷۸۲-۹۲۳)	۹۲۰/۴±۱۲۹/۳۱ <sup>a</sup> (۷۷۸-۱۱۲۰)	۱۰۱۲/۸±۳۲۱/۱۸ <sup>a</sup> (۶۲۸-۱۵۱۹)	۱۴۸۵/۲±۹۶۹/۶ <sup>a</sup> (۸۸۴-۳۱۹۰)	۰/۵۴۰
ALP	۴۰۰/۶±۱۷۰/۹ <sup>a</sup> (۲۷۰-۶۷۲)	۴۳۰±۲۷۷/۸۱ <sup>a</sup> (۲۷۶-۹۲۶)	۳۲۹/۶±۹۹/۲ <sup>a</sup> (۱۸۴-۴۲۶)	۲۷۶/۶±۶۶/۲ <sup>a</sup> (۲۱۸-۳۸۹)	۰/۳۹۷
ALT	۸۰/۵±۰/۷ <sup>a</sup> (۸۰-۸۱)	۵۵±۵/۷ <sup>a</sup> (۵۱-۶۰)	۸۶/۵±۴/۹ <sup>a</sup> (۸۳-۹۰)	۸۷±۱۵/۶ <sup>a</sup> (۷۶-۹۸)	۰/۹۰۲
AST	۳۵۰±۶۹ <sup>a</sup> (۲۷۵-۴۳۷)	۳۸۷/۲±۱۳۱/۰۷ <sup>a</sup> (۲۱۰-۵۱۸)	۴۰۶/۲±۱۱۷/۴۶ <sup>a</sup> (۲۶۲-۵۴۹)	۴۱۲/۸±۱۰۳/۲۶ <sup>a</sup> (۳۰۰-۵۱۱)	۰/۷۹۵

جدول ۲- مقادیر همبستگی و آزمون آماری میان برخی آنزیم‌های سرم خون فیل ماهیان پرورشی. \*\*مقادیر (p<۰/۰۱) معنی دار تلقی گردید.

آنزیم (واحد در لیتر)	LDH	ALP	ALT	AST
AST (ارزش P)	۱/۰۰۰ (۰)	۰/۲۴۵ (۰/۲۹۸)	-۰/۰۴۷ (۰/۸۴۴)	۰/۱۶۵ (۰/۴۸۸)
ALT (ارزش P)		۰/۳۱۸ (۰/۳۵۷)	۰/۰۰۲۰/۶۴۷*	
ALP (ارزش P)			۱/۰۰۰ (۰)	۰/۱۴۲ (۰/۵۵۵)
LDH (ارزش P)				۱/۰۰۰ (۰)

میزان دیگری افزایش می‌یابد و بالعکس، ولی اینکه علت این ارتباط چیست هنوز مشخص نشده است. آنزیم‌های ALT، AST و ALP جزء آنزیم‌های با اهمیت در بررسی وضعیت سلامتی ماهیان هستند (۱۰) و سلول‌های کبدی غنی از این آنزیم‌ها می‌باشند. LDH اغلب برای ارزیابی وجود آسیب‌های بافتی کبد اندازه‌گیری می‌شود. نتایج آنالیز رگرسیون در این مطالعه نشان داد به جز آنزیم ALP، با افزایش سطح اینولین در جیره بر میزان آنزیم‌های سرم خون فیل ماهیان جوان پرورشی افزوده شد که این امر می‌تواند ناشی از تأثیر نامطلوب سطوح بالای پریبوتیک اینولین در جیره به ویژه در سطح ۳ درصد بر فعالیت بازدارندگی و آسیب‌های احتمالی به ویژه در بافت کبد باشد. تغییرات آنزیم‌های سرمی در بسیاری از بیماری‌ها و آلودگی به بعضی از انگل‌ها و سموم گزارش شده است. افزایش برخی آنزیم‌های سرم خون ماهی قزل آلا شامل ALT، LDH و g-GT در آلودگی به آئروموناس (۱۱) و همچنین افزایش آنزیم‌های ALT، AST و LDH و کاهش ALP در آلودگی تجربی به سیتی سمی هموراژیک گزارش شده است (۱۲). تغییرات عمده خونی در فیل ماهیان پرورشی در مقابل افزایش سطوح مختلف اینولین در جیره را می‌توان به صورت کاهش معنی دار (p<۰/۰۱) در تعداد کل گلبول‌های سفید، مقدار حجم متوسط گلبول قرمز (MCV)، متوسط هموگلوبین گلبول‌های قرمز (MCHC)، میزان هماتوکریت (PCV) و درصد گلبول سفید هتروفیل، لنفوسیت، ائوزینوفیل و مونوسیت در مقایسه با گروه شاهد ذکر کرد. در بیشتر موارد در این تحقیق با افزایش سطح اینولین در جیره، میزان کاهش عوامل خونی نسبت به گروه شاهد بیشتر بود و این موضوع تأییدکننده نتایج بدست آمده در تأثیر سوء افزایش سطح این نوع پریبوتیک بر عوامل خونی فیل ماهیان جوان پرورشی است اما مکانیسم دقیق کاهش عوامل خونی فوق‌الذکر نامشخص است. تغییر معنی‌داری در تعداد گلبول‌های قرمز (RBC)، وزن متوسط هموگلوبین در یک گلبول قرمز (MCH) و درصد گلبول‌های سفید بازوفیل مشاهده نشد (p>۰/۰۵). در این بررسی مشخص شد پریبوتیک اینولین در سطح ۱ درصد منجر به افزایش تعداد کل گلبول‌های سفید در ماهیان تغذیه شده گردید که این خود بیانگر تحریک سیستم ایمنی بدن

غیرالکتروولیت‌های خون در جدول ۴ نشان داده شده است. بر اساس مقادیر مندرج در جدول در میزان گلوکز خون، اسید اوریک، کلسترول، تری‌گلیسرید و آلبومین خون در تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (p<۰/۰۵). همبستگی مثبت و بسیار معنی‌داری بین مقادیر تری‌گلیسرید و کلسترول (r=۰/۷۷, p<۰/۰۱) مشاهده گردید. نتایج آنالیز رگرسیون نشان داد همبستگی مثبتی بین افزایش سطح اینولین در جیره و مقادیر برخی غیرالکتروولیت‌ها نظیر آلبومین (r=۰/۴۶, p=۰/۵۴)، کلسترول (r=۰/۷۳, p=۰/۲۸)، تری‌گلیسرید (r=۰/۴۳, p=۰/۵۷)، کراتینین (r=۰/۸۱, p=۰/۲) و اسید اوریک (r=۰/۱۶, p=۰/۸۴) وجود دارد، ولی در خصوص گلوکز (r=۰/۳۵, p=۰/۶۵)، پروتئین تام (r=۰/۲۶, p=۰/۷۴) و بیلی روبین تام (r=۰/۰۷, p=۰/۳) همبستگی منفی تعیین گردید.

### بحث

در این مطالعه که بر روی فیل ماهیان جوان پرورشی صورت گرفت مشخص گردید که میزان فعالیت آنزیم‌های اندازه‌گیری شده در تیمارهای آزمایشی که تحت تأثیر سطوح مختلف اینولین جیره قرار گرفتند در مقایسه با گروه شاهد اختلاف معنی‌داری را نشان نمی‌دهند (p<۰/۰۵). همچنین بین فعالیت آنزیم LDH و ALT همبستگی مثبت بسیار معنی‌دار وجود دارد (r=۰/۶۴۷, p<۰/۰۱)؛ به این صورت که با افزایش یکی



جدول ۳ - متغیرهای خون شناختی (میانگین  $\pm$  انحراف معیار) فیل ماهیان تغذیه شده با سطوح متفاوت پریبیوتیک اینولین. میانگین های در یک ردیف که حروف کناری آن ها شبیه هم با حداقل دارای یک حرف مشترک هستند فاقد اختلاف معنی دارند و آن هایی که فاقد حروف مشترک هستند دارای اختلاف معنی دار می باشند. اعداد داخل پرانتز نشان دهنده دامنه شاخص ها هستند.

تیمار	شاخص	شاهد	۱٪ اینولین	۲٪ اینولین	۳٪ اینولین	احتمالات
(fl)M.C.V	$20 \pm 2.2$ (۳۲۷-۳۲۷)	$2.2 \pm 0.2$ (۳۲۹-۳۷۰)	$2.7 \pm 0.4$ (۳۲۷-۳۵۷)	$2.8 \pm 0.2$ (۳۴۲-۳۶۵)	۰/۰۵۶	
(pg)M.C.H	$11.5 \pm 1.1$ (۱۰۳-۱۳۰)	$12 \pm 2$ (۹۳-۱۱۱)	$12.8 \pm 1.8$ (۸۵-۱۱۹)	$16 \pm 1.6$ (۹۹-۱۲۸)	۰/۲۱۲	
(%)M.C.H.C	$30.9 \pm 2.7$ (۲۸-۳۵)	$30 \pm 1.3$ (۲۶-۳۰)	$31 \pm 1.5$ (۲۸-۳۳)	$32 \pm 1.8$ (۳۰-۳۷)	۰/۰۳۷	
mm <sup>3</sup> (R.B.C) <sup>6</sup>	$0.6 \pm 0.5$ (۰/۴۶-۰/۶۳)	$0.6 \pm 0.1$ (۰/۵۴-۰/۸۴)	$0.8 \pm 0.1$ (۰/۴۳-۰/۶۵)	$1 \pm 0.1$ (۰/۳۸-۰/۶۴)	۰/۱۹۷	
(%)P.C.V	$19.4 \pm 2.3$ (۲۸-۳۵)	$21 \pm 3$ (۲۶-۳۰)	$17 \pm 1.7$ (۲۸-۳۳)	$22 \pm 2$ (۳۰-۳۷)	۰/۰۱۵	
(g/dl)(Hb)	$5.98 \pm 0.4$ (۵/۵-۶/۵)	$5.92 \pm 0.6$ (۵/۲-۶/۹)	$5.36 \pm 0.3$ (۵-۵/۸)	$5.2 \pm 0.4$ (۴/۵-۵/۶)	۰/۰۳۳	
گلوبول سفید (mm <sup>3</sup> )	$9800 \pm 200$ (۹۴۰۰-۱۰۳۰۰)	$11080 \pm 430$ (۱۰۵۰۰-۱۱۷۰۰)	$8880 \pm 500$ (۸۲۰۰-۹۴۰۰)	$8200 \pm 560$ (۷۵۰۰-۸۹۰۰)	۰/۰۰۰	
لنفوسیت (%)	$71.2 \pm 2.3$ (۶۹-۷۵)	$72.6 \pm 0.9$ (۷۱-۷۳)	$69.8 \pm 1.5$ (۶۸-۷۲)	$65.4 \pm 2.6$ (۶۲-۶۸)	۰/۰۰۰	
هتروفیل (%)	$22.4 \pm 1.8$ (۲۰-۲۵)	$21.6 \pm 1.2$ (۲۰-۲۳)	$25 \pm 1.6$ (۲۳-۲۷)	$25.6 \pm 1.4$ (۲۴-۲۷)	۰/۰۰۱	
اِئوزینوفیل (%)	$3.7 \pm 0.5$ (۳-۴)	$4.1 \pm 0.4$ (۳-۴)	$3.5 \pm 0.7$ (۳-۴)	$2.2 \pm 1.6$ (۲-۳)	۰/۰۰۰	
بازوفیل (%)	$1.3 \pm 0.5$ (۰/۷-۲)	$1.2 \pm 0.3$ (۰/۹-۱/۵)	$1.35 \pm 0.4$ (۰/۸-۲)	$1.5 \pm 0.8$ (۰/۵-۲/۵)	۰/۸۳۵	
مونوسیت (%)	$2.2 \pm 0.5$ (۲-۳)	$1.8 \pm 0.4$ (۱-۲)	$2.2 \pm 0.8$ (۱-۳)	$2.8 \pm 0.7$ (۲-۳)	۰/۰۸۷	

جدول ۴ - مقادیر برخی از غیرالکترولیت ها (میانگین  $\pm$  انحراف معیار) در فیل ماهیان تغذیه شده با سطوح متفاوت اینولین. میانگین های در یک ردیف که حروف کناری آن ها شبیه هم با حداقل دارای یک حرف مشترک هستند فاقد اختلاف معنی دارند و آن هایی که فاقد حروف مشترک هستند دارای اختلاف معنی دار می باشند. اعداد داخل پرانتز نشان دهنده دامنه شاخص ها هستند.

تیمار	شاخص	شاهد	۱٪ اینولین	۲٪ اینولین	۳٪ اینولین	احتمالات
گلوکز (mg/dl)	$48.6 \pm 1.8$ (۴۶-۵۱)	$50.2 \pm 4.5$ (۴۵-۵۵)	$45.8 \pm 4.6$ (۴۱-۵۳)	$48.4 \pm 3.4$ (۴۴-۵۲)	۰/۳۵۱	
اسید اوریک (mg/dl)	$2.6 \pm 0.3$ (۲/۲-۲/۹)	$2.2 \pm 0.1$ (۲-۲/۵)	$2.5 \pm 0.2$ (۲-۵/۳)	$2.6 \pm 0.5$ (۱/۵-۳/۲)	۰/۹۲۲	
کراتینین (mg/dl)	$0.22 \pm 0.03$ (۰/۱۸-۰/۲۶)	$0.22 \pm 0.03$ (۰/۱۹-۰/۲۸)	$0.33 \pm 0.06$ (۰/۲۵-۰/۴)	$0.3 \pm 0.03$ (۰/۲۵-۰/۳۳)	۰/۰۰۲	
کلسترول (mg/dl)	$65.6 \pm 11.6$ (۵۳-۸۰)	$65.4 \pm 14.7$ (۴۷-۸۲)	$74.2 \pm 20.8$ (۴۲-۹۹)	$70.6 \pm 13.2$ (۵۸-۹۳)	۰/۷۷۱	
تری گلیسرید (mg/dl)	$32.0 \pm 9.2$ (۲۴۶-۴۶۶)	$26.7 \pm 8.7$ (۱۹۱-۳۷۳)	$29.4 \pm 6.5$ (۲۰۶-۳۷۰)	$34.7 \pm 7.1$ (۲۴۷-۴۲۶)	۰/۴۴۳	
بیلی روبین تام (mg/dl)	$0.27 \pm 0.05$ (۰/۲-۰/۳۴)	$0.36 \pm 0.09$ (۰/۲۲-۰/۴۵)	$0.34 \pm 0.07$ (۰/۲۶-۰/۴۵)	$0.23 \pm 0.04$ (۰/۱۹-۰/۲۸)	۰/۰۲۳	
آلبومین (g/dl)	$4.7 \pm 0.4$ (۰/۴۲-۰/۵۲)	$4.4 \pm 0.7$ (۰/۳۸-۰/۵۲)	$4.8 \pm 0.4$ (۰/۳۶-۰/۴۵)	$5 \pm 0.7$ (۰/۴-۰/۵۶)	۰/۵۰۰	
پروتئین تام (g/dl)	$9.8 \pm 0.2$ (۰/۸۲-۱/۳۴)	$12.3 \pm 0.17$ (۰/۹۴-۱/۳۶)	$9.9 \pm 0.8$ (۰/۸۹-۱/۱)	$9.3 \pm 0.11$ (۰/۷۵-۱/۰۵)	۰/۰۳۶	

پلیمریزاسیون ۱۰ تا ۶۰ و بطور میانگین (۲۵) و به آهستگی تر تخمیر می شود (۸). از آن جا که تقریباً همه گلبول های سفید متمایز شده خون تحت تأثیر سطوح مختلف پریبیوتیک اینولین تغییر کرد می توان چنین استنتاج کرد که سهم همه گلبول های سفید در افزایش کل گلبول های سفید و تحریک سیستم ایمنی ماهیان یکسان نبوده است. افزایش هتروفیل در سطح ۳

میزبان می باشد چرا که لکوسیت ها از منابع اصلی تولید لایزوزیم (شاخص ایمنی) هستند. دلیل کاهش جمعیت لکوسیت ها در سطوح بالاتر اینولین را می توان به عدم تخمیر این نوع پریبیوتیک توسط سلول های انتروسیت روده و در نتیجه تأثیر نامطلوب آن بر سیستم ایمنی ربط داد چرا که اینولین استخراج شده از ریشه کاسنی زنجیره طولانی دارد (درجه



در کاهش کلسترول به کاهش سنتز اسید چرب در کبد به واسطه جلوگیری از فعالیت آنزیم‌های لیپوژنیک مربوط می‌شود (۶). در مطالعه حاضر با افزایش سطح اینولین در جیره چنبن روندی مشاهده نشد ( $p < 0.05$ ). 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، تراکم)، عوامل فیزیولوژیکی (گونه آبی، سیکل تولید مثلی 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 نتایج شوند (۱۷). همچنین فرمولاسیون جیره‌های غذایی، نوع پریبوتیک مصرفی، درجه خلوص پریبوتیک مصرفی و میزان مورد استفاده آن در جیره، روش‌های مختلف اضافه کردن اینولین به جیره و احتمالاً فلور میکروبی ویژه‌ای که قادر به استفاده از اینولین به عنوان سوبسترا هستند به‌طور قابل ملاحظه‌ای بر خصوصیات ریخت‌شناسی خون اثر می‌گذارند. نتایج مطالعه حاضر حاکی از آن است که افزایش سطح پریبوتیک اینولین در جیره منجر به افزایش میزان آنزیم‌ها و برخی پارامترهای بیوشیمیایی سرم خون در فیل ماهی جوان پرورشی در مقایسه با گروه شاهد گردید. بنابراین پریبوتیک اینولین در سطوح بالا نمی‌تواند مکمل مناسبی برای جیره غذایی فیل ماهی پرورشی باشد و چنبن نتیجه‌گیری می‌شود که سطح یک درصد اینولین در جیره می‌تواند دارای اثرات مثبتی روی فاکتورهای خونی و بیوشیمیایی فیل ماهی پرورشی باشد. با توجه به محدودیت منابع و مطالعات نسبتاً اندک صورت گرفته بر روی پارامترهای خون‌شناسی و بیوشیمیایی سرم خون آبزیان به‌خصوص فیل ماهی پرورشی در سنین مختلف پرورش و با توجه به گسترش روزافزون صنعت پرورش ماهیان خاویاری به نظر می‌رسد باید مطالعات بیشتری در ارتباط با پارامترهای خونی و چگونگی آن‌ها در شرایط مختلف فیزیولوژیکی و پاتولوژیکی صورت گیرد تا به موازات گسترش این صنعت بتوان پاسخگوی نیازهای علمی در زمینه پیشگیری، تشخیص و درمان بیماری‌های آن بود.

## References

- Affonso, E. G., Polez, V. L. P., Correa, C. F., Mazoa, A. F., Araujo, M. R. R., Moraes, G. (2002) Blood parameters and metabolites in teleost fish *Colossoma macropomum* exposed to sulfide or hypoxia. *Comp. Biochem. Physiol. C.* 33:375-382.

درصد اینولین جیره در این تحقیق را می‌توان به‌عنوان یک واکنش دفاعی از جانب بدن ماهی و تأثیر سوء سطوح بالای اینولین دانست و با توجه به کاهش تعداد کل گلبول‌های سفید، کاهش میزان هماتوکریت و همچنین کاهش درصد لنفوسیت‌ها که در ایمنی غیراختصاصی ماهی مؤثرند می‌توان چنبن اظهار کرد که دستگاه گوارش (روده) فیل ماهی قادر به تخمیر اینولین در سطوح بالا نبوده و منجر به افزایش این کربوهیدرات غیرقابل هضم در دستگاه گوارش گشته و در نتیجه تأثیر زیانباری را به دنبال داشته است و احتمالاً اینولین مانند سایر محرک‌های ایمنی در سطوح بالا منجر به تضعیف سیستم ایمنی می‌شود. در تحقیق حاضر بیشترین درصد گلبول‌های سفید خون را لنفوسیت‌ها و هترو فیل‌ها تشکیل می‌دادند و این مسئله در سایر ماهیان نیز به اثبات رسیده است (۱۸). در پاسخ به استرس، عفونت‌های باکتریایی، پروتوزوایی و التهاب، میزان هترو فیل‌ها نیز افزایش می‌یابد (۱۶). استرس نیز موجب افزایش تعداد گلبول‌های سفید و قند خون شده و در عوض موجب کاهش هموگلوبین، تعداد اریتروسیت (گلبول قرمز) و پروتئین سرم می‌گردد (۵). مقادیر آئوزینوفیل ماهیان در شرایط طبیعی ۳-۲ درصد و حداکثر ۱۰ درصد مقدار کل جمعیت لکوسیت‌ها را تشکیل می‌دهد (۱۶). در بررسی حاضر مقادیر آئوزینوفیل ۲-۴ درصد بود که در محدوده ذکر شده می‌باشد. همچنین به دنبال استرس‌های زیست محیطی و عفونت‌های باکتریایی مقادیر آئوزینوفیل بالا می‌رود (۱۸). Cerezuella و همکاران در سال ۲۰۰۸ در شرایط آزمایشگاهی با انکوباسیون لکوسیت‌های بخش قدامی کلیه ماهی سیم دریایی با مکمل اینولین در دامنه ۱۰۰۰-۰ میکروگرم در میلی‌لیتر دریافتند که اینولین تأثیری در زنده ماندن لکوسیت‌ها ندارد. همچنین افزودن اینولین به میزان ۵ یا ۱۰ گرم در هر کیلوگرم جیره (۵/۱ یا ۱۰ درصد) بازدارندگی معنی‌داری را در پارامترهای سیستم ایمنی به دنبال داشت و نتیجه‌گیری شد که اینولین نمی‌تواند محرک ایمنی مناسبی برای این گونه باشد (۴). استفاده از سطوح مختلف ۰/۲، ۰/۴، ۰/۶، ۰/۸ و ۱ درصد بیوتیک مانان الیگوساکارید (MOS) در ماهی تیلاپیای جوان (*niloticus*) پارامترهای هماتولوژیکی در مقایسه با گروه شاهد نگردید (۱۴). میزان گلوکز خون ماهیان در شرایط طبیعی بسته به گونه در دامنه ۲۵-۳۵ میلیگرم در دسی‌لیتر می‌باشد (۱۵). در مطالعه حاضر مقادیر گلوکز خون بین ۴۱-۵۵ میلیگرم در دسی‌لیتر بود. بیشترین مقدار این پارامتر بدون هیچ‌گونه تفاوت معنی‌داری در سطح ۱ درصد اینولین در جیره مشاهده شد ( $p < 0.05$ ) که نشانگر توانایی فیل ماهی در متابولیسم اینولین در سطح ۱ 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 آن جا که اینولین در بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیکی به‌عنوان فیبر محلول شرکت می‌کند می‌تواند سطح کلسترول سرم را کاهش و قند خون را نیز کنترل نماید. تأثیر اینولین





2. Ballarin, L., Dalloro, M., Bertotto, D., Libertini, A., Francescon, A., Barbaro, A. (2004) Haematological parameters in *Umbriana cirrosa* (Teleostei, Scianidae): a comparison between diploid and triploid specimen. *Comp. Biochem. Physiol. A.* 183: 45-51.
3. Borges, A., Scotti, L. V., Siqueira, D. R., Jurinitz, D. F., Wassermann, G. F. (2004) Hematologic and serum biochemical values for jundia' (*Rhamdia quelen*). *Fish. Physiol. Biochem.* 30: 21-25.
4. Cerezuela, R., Cuesta, A., Meseguer, J., Esteban, A. (2008) Effect of inulin on Gilthead seabream (*Sparus aurata*) innate immune parameters. *Fish Shellfish. Immunol.* 24:663-668.
5. Das, P. C., Ayyappan, S., Jena, J. K. (2006) Haematological changes in the three Indian major carps, *Catla catla*, *Labeo rohita* and *Cirrhinus mrigala* exposed to acidic and alkaline water pH. *Aquaculture.* 256: 80-87.
6. Delzenne, N. M., Roberfroid, M. R. (1994) Physiological effects of non-digestible oligosaccharides. *Lebensmittel-Wissenschaft und echnologie.* 27:1-6.
7. Feldman, B. F., Zinkl, J. G., Jian, N. C. (2000) Schalm's veterinary hematology. Lippincott Williams & Wilkins publication, Philadelphia. USA.
8. Mahious, A. S., Gatesoupe, F. J., Hervi, M., Metailler, R., Ollevier, F. (2005) Effect of dietary inulin and oligosaccharides as prebiotics for weaning Turbot (*Psetta maxima*). *Aquacult. Int.* 14:219-229.
9. Nakagawa, H. Sato, M., Gatlin D. M. (2007) Dietary supplement for the health and quality of cultured fish. Cambridge, Trowbridge. UK.
10. Racicot, J. G., Gaudet M., leray, C. (1975) Blood and liver enzymes in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) with emphasis on their diagnostic use: study of CCl<sub>4</sub> toxicity and a case of *Aeromonas* infection. *J. Fish. Biol.* 7:825-835.
11. Rehulka, J. (2002) *Aeromonas* causes server skin lesions in Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): Clinical pathology, hematology and biochemistry. *Acta. Vet. BRNO.* 71:351-360.
12. Rehulka, J. (2003) Hematological analysis in Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) affected by viral haemorrhagic septicaemia (VHS). *Dis. Aquat. Org.* 56:185-193.
13. Ross, L. G., Ross, B. (1999) Anesthetic and sedative techniques for aquatic animals. (2<sup>nd</sup> ed.) Blackwell Science. Oxford, UK.
14. Sado, R. J., Bicudo, A. J. D. A., Cyrno, J. E. P. (2008) Feeding dietary mannanoligosaccharid to juvenile Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*), has no effect on hematological parameters and showed decreased feed consumption, *World. Aqua. Soc.* 39: 821-826.
15. Shakoori, A. R., Iqbal, M. J., Mughal, A. L. (1996) Effect of sublethal doses of fenvalerate (a synthetic pyrethroid) administered continuously for four weeks on the blood, liver and muscles of a freshwater fish (*Ctenophayngodon idella*). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 57: 487-494.
16. Stoskopf, M. K. (1993) Fish medicine. WB Saunders Company. Philadelphia. USA.
17. Verdegem, M. C. J., Hilbrands, A. D., Boon, J. H. (1997) Influence of salinity and dietary composition on blood parameter values of hybrid red tilapia (*Oreochromis niloticus* & *Oreochromis mossambicus*). *Aquacult. Res.* 28:453-459.
18. Williams, R. W., Warner, M. C. (1976) Some observation on the stained blood cellular elements of *Ictalurus punctatus*. *J. Fish. Biol.* 9: 491-497.



# EFFECT OF DIETARY PREBIOTIC INULIN ON HEMATOLOGICAL AND BIOCHEMICAL PARAMETERS OF CULTURED JUVENILE BELUGA (*HUSO huso*)

Akrami, R.<sup>1\*</sup>, Ghelichi, A.<sup>2</sup>, Ahmadifar, E<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Fisheries Department, Islamic Azad University, Azadshahr Branch, Azadshahr- Iran.

<sup>2</sup>Fisheries Department, University of Zabol, Zabol- Iran.

(Received 9 July 2010 , Accepted 29 November 2010)

---

## Abstract:

Use of prebiotics, nondigestible dietary ingredients that beneficially affect the health host, is a novel concept in aquaculture. The aim of this study was to evaluate the effect of inulin supplementation on hematological and biochemical parameters of juvenile beluga (*Huso huso*). An 8-week trial was carried out to investigate the effects of different dietary prebiotic inulin at 0.0%, 1.0%, 2.0%, and 3.0% on hematologic and some blood serum nonelectrolytes of cultured juvenile great sturgeon (*Huso huso*). Blood samples were collected from caudal vein of 36 apparently healthy fish (average weight 65 g) at the end of trial. Data was analysed by regression analysis and Pearson correlation test. No significant differences ( $p > 0.05$ ) were observed in serum enzymes between treatments. There were no differences in the RBC, MCH, glucose, albumin, cholesterol, triglyceride and uric acid between treatments. A significant elevation ( $p < 0.01$ ) of Haematocrit, WBC and lymphocyte was found in the fish fed diet 1.0% inulin. The results indicate that dietary administration of inulin at the level of 1.0% can positively influence on some blood parameters of cultured juvenile great sturgeon

**Key words:** Prebiotic; inulin; Enzyme; blood serum; Blood variables; Great sturgeon (*Huso huso*).

\*Corresponding author's email: akrami@iauaz.ac.ir, Tel: 0174-6722223, Fax: 0174-6724003

