مقاله کامل علمی- پژوهشی

بهره‌برداری و پرورش آبزیان
جلد دهم، شماره اول، بهار ۱۴۰۰
۵۹-۷۰
http://japu.gau.ac.ir
DOI: 10.22069/japu.2021.18494.1557

تأثیر سطوح مختلف پکتین حاصل از تفاله سیب درختی (*Malus pomila*) بر شاخص‌های خون‌شناسی و بیوشیمیایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

سید حسین حسینی‌فر*[۱]، مهدی سلطانی[۲]، قاسم رشیدیان[۳]، حامد غفاری فارسانی[۴]، محمد امین جهازی[۱]، هین ون دوآن[۵] ایهاب الهارون[۶]، مارینا پائولوچی[۷]

[۱] گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران،
[۲] گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران،
[۳] گروه شیلات، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران،
[۴] گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران
[۵] گروه شیلات و علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه چیانگ مای، تایلند
[۶] گروه تولیدات دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه قاهره، مصر
[۷] دانشکده علوم و تکنولوژی، دانشگاه سانیو، ایتالیا

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۸/۰۶؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۸/۲۵

چکیده

در این پژوهش تأثیر پکتین حاصل از تفاله سیب درختی (*Malus pomila*) روی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) مورد بررسی قرار گرفت. در این بررسی ۳۰۰ قطعه ماهی قزل‌آلا با میانگین وزنی ۰/۰۰۷±۳/۵۶ با جیره‌های غذایی به‌ترتیب حاوی ۰/۵، ۱ و ۲ درصد پکتین در کیلوگرم جیره و گروه شاهد با جیره فاقد پکتین به‌مدت ۶ هفته تغذیه شدند. در پایان دوره، شاخص‌های خون‌شناسی و بیوشیمیایی بر اساس فرمول‌های استاندارد محاسبه و با استفاده از آزمون توکی آنالیز انجام گرفت. بر اساس نتایج به‌دست آمده از پارامترهای خون‌شناسی، تیمار تغذیه شده با ۵ و ۱۰ گرم پکتین دارای بیش‌ترین میزان هماتوکریت، هموگلوبین و گلبول سفید بود و اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد نشان دادند (P<۰/۰۵). در سایر پارامترهای خونی (گلبول‌های قرمز، MCV و MCH) اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی و گروه شاهد مشاهده نشد (P>۰/۰۵). تغذیه ماهیان با جیره حاوی پکتین طور معنی‌داری سبب بهبود شاخص آلبومین و کاهش شاخص‌های کلسترول، گلوکز و کورتیزول شد (P<۰/۰۵). در سایر پارامترهای بیوشیمیایی خون (پروتئین کل، گلوبولین و تری‌گلیسرید) اختلاف معنی‌داری بین سطوح مختلف پکتین و گروه کنترل مشاهده نشد (P>۰/۰۵). بنابراین می‌توان نتایج گرفت استفاده از پکتین در جیره

* مسئول مکاتبه: hossein.hoseinifar@gmail.com

غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان نه تنها فاقد تأثیر منفی بر سطح نرمال پارامترهای خون بلکه منجر به بهبود برخی از فاکتورهای خون‌شناسی و بیوشیمیایی می‌شود.

واژه‌های کلیدی: پربیوتیک، شاخص‌های استرس، ضایعات کشاورزی، قزل‌آلای رنگین‌کمان

مقدمه

آبزی‌پروری در دهه‌های گذشته به سرعت به یک صنعت پویا و در حال رشد تبدیل شده است. رشد جمعیت و درآمد ناشی از این فعالیت و هم‌چنین مرغوبیت پروتئین ماهی (قابلیت هضم، بالا بودن اسیدهای آمینه ضروری، ویتامین‌ها و مواد معدنی) رشد این صنعت را نسبت به سایر پروتئین‌های حیوانی تسریع کرده است (FAO، ۲۰۱۸). با گسترش این صنعت در جهان وقوع بیماری‌های عفونی به مراتب افزایش یافته و اغلب خسارات سنگینی را به این صنعت وارد کرده است (قاسمی پیربلوطی و همکاران، ۲۰۱۱). آنتی‌بیوتیک‌ها از نخستین مواد دارویی بوده‌اند که به‌دلیل بهبود رشد و ضریب تبدیل غذایی، کاهش مرگ و میر، کاهش نرخ ابتلا به بیماری‌ها و افزایش شاخص تولید مورد توجه پرورش‌دهندگان بوده است. با این وجود استفاده مکرر از آنتی‌بیوتیک‌ها در سال‌های گذشته برای مقابله با بیماری‌های عفونی در آبزیان باعث مشکلاتی مانند آسیب‌های زیست‌محیطی، کاهش میزان تولید، ایجاد باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک در ماهی و انتقال این مقاومت به انسان به‌عنوان مصرف‌کننده گوشت ماهی خطر مقاومت دارویی در جامعه بشری را افزایش داده است. از سوی دیگر گرانی، ممنوعیت استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در چند سال اخیر و مشکلات اجرایی تجویز، باعث گرایش بیشتر به استفاده از محرک‌های ایمنی به‌عنوان جایگزینی مناسب برای آنتی‌بیوتیک‌ها شده است (عالیشاهی و همکاران، ۲۰۱۱a).

ضایعات کشاورزی و صنایع غذایی به‌دلیل افزایش سطح تولید و دامنه فعالیت‌های صنایع تبدیلی در حال افزایش است. هرچند که در جریان عمل‌آوری صنعتی مواد مغذی آن‌ها عمدتاً به‌منظور استفاده‌های انسانی از محصولات مورد فرآوری استخراج می‌گردد، ولی مقادیر قابل‌توجهی از مواد مغذی در پسماندها باقی مانده و استفاده از آن‌ها نه تنها موجب کاهش هزینه‌های غذایی می‌گردد، بلکه به این طریق از دفع این مواد در طبیعت و آلودگی‌های زیست‌محیطی نیز جلوگیری می‌گردد (قائمی و همکاران، ۲۰۱۴). از جمله پسماندهای صنایع غذایی که در کشور تولید می‌شود، تفاله سیب می‌باشد که پسماند کارخانجات تولیدکننده آب سیب محسوب می‌شود. سیب سرشار از ویتامین‌ها، مواد معدنی و فیبر می‌باشد. ویتامین‌های C و A و B_2 از جمله ویتامین‌های موجود در سیب و از مواد معدنی موجود در آن می‌توان به آهن، منیزیم، کلسیم و پتاسیم اشاره کرد که این مواد کم و بیش در تفاله سیب نیز یافت می‌شوند (قائمی و همکاران، ۲۰۱۴). پکتین ماده با ارزش دیگری است که به مقدار قابل‌توجهی در تفاله سیب یافت می‌شود. پکتین‌ها هتروپلی‌ساکاریدهایی هستند که در آن‌ها اسید دی گالاکتورونیک جز اصلی را تشکیل می‌دهد (عامر و همکاران، ۲۰۱۱). گزارش شده است وجود پکتین در سیب نه تنها به سلامتی دستگاه گوارش کمک می‌کند، بلکه در کاهش کلسترول خون نیز مؤثر است (خیاط نوری و کارگری رضاپور، ۲۰۱۱). فلاوونوئیدهای موجود در سیب خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارند (ماتو و همکاران، ۲۰۰۱). استفاده از ضایعات سیب تا سطح

۳۰ درصد جیره خرگوش‌ها موجب بهبود عملکرد آن‌ها شد (فانیمو و همکاران، ۲۰۰۳). استفاده از پکتین سیب در موش‌های صحرایی به‌مدت چهار هفته موجب کاهش معنی‌دار سطح تری‌گلیسرید و کلسترول خون موش‌ها شده است (عامر و همکاران، ۲۰۱۱). استفاده از یک درصد سرکه سیب نیز در موش‌های صحرایی موجب کاهش معنی‌دار کلسترول و تری‌گلیسرید سرم خون شد (باردوس و بندر، ۲۰۱۲).

با توجه به گسترش پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در کشور و شیوع بیماری‌های عفونی امکان مواجه شدن این ماهی با این بیماری‌ها در طول دوره پرورش وجود دارد. علاوه بر این به‌دلیل مضرات و ممنوعیت استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها نیاز به استفاده از سایر محرک‌های ایمنی جایگزین می‌باشد. به همین دلیل، در این مطالعه پتانسیل اولیه پکتین استخراج شده از ضایعات سیب به‌عنوان پربیوتیک برای ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با ارزیابی شاخص‌های هماتولوژی و بیوشیمیایی مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

تعداد ۳۰۰ قطعه بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با میانگین وزنی ۰/۰۰۷±۳/۵۶ گرم خریداری و به دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان شهر گرگان منتقل شدند. ماهیان بلافاصله با محلول ۳ درصد نمک به‌مدت ۷ روز جهت سازگاری با شرایط آزمایشگاهی و ضدعفونی در مقابل هرگونه آلودگی انگلی خارجی در مخازن ۱۰۰۰ لیتری نگهداری شده و پس از اتمام دوره سازش به‌صورت تصادفی به ۴ گروه تقسیم شدند. پرورش در تانک‌های فایبرگلاس ۳۰۰ لیتری از جنس پلی‌اتیلن و با تراکم ۲۵ قطعه در هر تانک صورت گرفت. در دوران آداپتاسیون جهت تغذیه ماهیان از غذای تجاری به‌صورت پلت (SFT1) محصول شرکت فرآدانه (شهرکرد، ایران) با میزان ۵۰-۴۶ درصد پروتئین، ۱۵-۱۱ درصد چربی، ۳-۱/۵ درصد فیبر، ۱۳-۹ درصد خاکستر، ۱/۵-۱ درصد فسفر و ۱۱-۵ درصد رطوبت استفاده شد. بدین‌منظور اقلام غذایی شامل پودر ماهی کیلکا (آسیاب شده)، روغن ماهی، نشاسته ژلاتینه، مکمل‌های معدنی و ویتامینی تهیه و بر اساس نیازهای غذایی بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، جیره مورد نظر تنظیم شد. سپس پکتین در غلظت‌های مورد نظر و با توجه به تیمارهای غذایی به جیره غذایی افزوده شد. سپس جیره با آب مقطر مخلوط گردیده و بعد از تبدیل شدن به‌صورت خمیر با استفاده از چرخ گوشت صنعتی خوراک به‌صورت رشته‌های نازک (قطر تقریبی ۱/۶ میلی‌متر) درآمد. پلت‌های غذایی در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد در آون به‌طور کامل خشک شدند و سپس بسته‌بندی، کدگذاری و تا زمان مصرف در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. طراحی هر تیمار آزمایش (غلظت‌های ۰/۵، ۱ و ۲ درصد پکتین معادل ۵، ۱۰ و ۲۰ گرم در کیلوگرم جیره غذایی و یک تیمار به‌عنوان شاهد بدون افزودن پکتین) به سه تکرار به‌عنوان جایگزین سلولز به جیره غذایی افزوده شد (جدول ۱). سطوح پکتین براساس مقالات قبلی انتخاب شد (ون دوان و همکاران، ۲۰۱۸). پارامترهای کیفی آب (اکسیژن ۸-۷ میلی‌گرم در لیتر، دمای ۲±۱۶ درجه سانتی‌گراد، pH (۸/۲-۷/۵) نیز به‌صورت روزانه کنترل شدند.

جدول ۱- فرمولاسیون جیره‌های پایه.

اجزای جیره	میزان (٪)			
	شاهد	پکتین ۰/۵ درصد	پکتین ۱ درصد	پکتین ۲ درصد
آرد ماهی	۵۳/۰۳	۵۳/۰۳	۵۳/۰۳	۵۳/۰۳
آرد ذرت	۱۷	۱۷	۱۷	۱۷
کنجاله سویا	۱۰/۷۳	۱۰/۷۳	۱۰/۷۳	۱۰/۷۳
روغن ماهی	۱۰/۵۴	۱۰/۵۴	۱۰/۵۴	۱۰/۵۴
گلوتن ذرت	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴
مکمل معدنی	۱	۱	۱	۱
مکمل ویتامینی	۱	۱	۱	۱
ویتامین ث	۰/۱	۰/۱	۰/۱	۰/۱
بایندر	۲	۲	۲	۲
آنتی اکسیدان	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵
کولین کلراید	۰/۷	۰/۷	۰/۷	۰/۷
سلولز	۲	۱/۵	۱	۰
پکتین	۰	۰/۵	۱	۲

سنجش شاخص‌های خونی: جهت بررسی شاخص‌های خونی و بیوشیمایی بچه‌ماهیان، در پایان دوره پرورش تعداد ۹ قطعه ماهی از هر تیمار به‌صورت تصادفی انتخاب و پس از بیهوشی با پودر گل میخک (۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر)، نمونه‌های خونی با استفاده از سرنگ ۲/۵ سی‌سی و سر سوزن استریل از ورید ساقه دمی ماهیان گرفته شد. برای اندازه‌گیری شاخص‌های خون‌شناسی خون در لوله هپارینه که حاوی ماده ضدانعقاد بود، ریخته شد و درون لوله در یک محفظه یخ نگهداری شده و برای اندازه‌گیری به آزمایشگاه منتقل شدند (تکمه‌چی و همکاران، ۲۰۱۱).

تعیین میزان درصد هماتوکریت: بدین‌منظور نمونه‌های خونی به‌مدت ۵ دقیقه با دور ۳۰۰۰g سانتریفیوژ شده و تعیین میزان درصد هماتوکریت با استفاده از خط‌کش مخصوص هماتوکریت بر حسب درصد انجام گرفت (گلدنفارب، ۱۹۷۱).

اندازه‌گیری میزان هموگلوبین: برای اندازه‌گیری میزان هموگلوبین (g/dl) از روش سیان مت هموگلوبین استفاده شد که بدین‌منظور با استفاده از دستگاه نیمه اتوماتیک اسپکتوفتومتر، OD محلول اندازه‌گیری و با مقایسه با منحنی استاندارد، مقدار هموگلوبین در طول موج ۵۴۰ نانومتر تعیین گردید (لارسن، ۱۹۶۴).

شمارش گلبول‌های قرمز و سفید خون و تعیین شاخص‌های MCV، MCH و MCHC: به‌منظور

شمارش تعداد گلبول‌های قرمز، خون به نسبت ۲۰۰ برابر با سرم فیزیولوژی در پیپت ملانژور قرمز رقیق شد و به‌وسیله لام هموسیتومتر در ۵ خانه مربوط به شمارش گلبول‌های قرمز شمارش گردید و در عدد ثابت ۱۰۰۰۰ ضرب و تعداد گلبول‌ها در واحد حجم تعیین شد (لئونارد و کورمیک، ۲۰۰۵). جهت شمارش گلبول‌های سفید، خون به نسبت ۲۰ برابر با محلول داسیس در پیپت ملانژور سفید رقیق شد و به‌وسیله لام هموسیتومتر در ۴ خانه مربوط به شمارش گلبول‌های سفید شمارش گردید و در عدد ثابت ۵۰ ضرب و تعداد گلبول‌ها در واحد حجم تعیین شد (لئونارد و کورمیک، ۲۰۰۵). مشخصه‌های گلبول قرمز شامل میانگین حجم گلبول‌های قرمز (MCV)، میانگین هموگلوبین گلبول‌های قرمز (MCH) و میانگین غلظت هموگلوبین گلبول‌های قرمز (MCHC) با استفاده از روابط ریاضی زیر تعیین شد (بنفی و ساترلین، ۱۹۸۴).

MCH=Hb×10/RBC (million) MCV=Hct×10/RBC (million) MCHC=Hb×10/Hct

اندازه‌گیری پارامترهای بیوشیمیایی: پس از خون‌گیری برای اندازه‌گیری پارامترهای بیوشیمیایی نمونه‌های خونی به تیوب‌های ۱/۵ سی‌سی فاقد هپارینه برای جداسازی سرم خون انتقال یافت. سرم خون نمونه‌ها در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۰ دقیقه با ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند و بخش سرمی پارامترهای موردنظر، با استفاده از کیت‌های آزمایشگاهی ساخت شرکت پارس آزمون مورد سنجش قرار گرفت.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها: این پژوهش در قالب طرح کاملاً تصادفی برنامه‌ریزی و اجرا شد. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها پس از نرمال بودن آن‌ها با آزمون کولموگروف- اسمیرنف، با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه (One Way ANOVA) و پس‌آزمون توکی (Tukey's HSD test) در سطح ۰/۰۵، توسط نرم‌افزار SPSS 20 و نتایج نهایی به‌صورت (میانگین ± خطای استاندارد) انجام گرفت.

نتایج

پارامترهای خون‌شناسی: جدول ۲ نشان‌دهنده نتایج حاصل از آزمایش‌های خون‌شناسی ماهی قزل‌آلای تغذیه شده با سطوح مختلف پکتین است. تأثیر غلظت‌های مختلف پکتین بر پارامترهای خونی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان مانند گلبول‌های قرمز و MCH و MCV تفاوت معنی‌داری را بین تیمارهای مختلف نشان نداد (P>۰/۰۵)، البته بالاترین میزان گلبول‌های قرمز در تیمار ۱۰ گرم بر کیلوگرم پکتین مشاهده گردید و کم‌ترین میزان آن نیز در تیمار شاهد مشاهده شد. هم‌چنین نتایج این آزمایش نشان داد که هماتوکریت در تیمار شاهد با تیمار ۵ و ۱۰ گرم پکتین اختلاف معنی‌داری را نشان می‌دهد (P<۰/۰۵). میزان هموگلوبین از ۵/۶۴ درصد در تیمار شاهد به ۶/۱۲ درصد در تیمار ۵ گرم پکتین افزایش یافت و اختلاف معنی‌داری را نشان می‌دهد (P<۰/۰۵). نتایج حاصل از اندازه‌گیری میانگین MCHC در ماهیان شاهد و تیمارهای ۵، ۱۰ و ۲۰ گرم پکتین نیز براساس آزمون آنالیز واریانس بین تیمار شاهد و سایر تیمارها اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده شده است (P<۰/۰۵). هم‌چنین نتایج اندازه‌گیری MCH و MCV در ماهیان مورد مطالعه نیز نشان می‌دهد که براساس آزمون آنالیز واریانس بین تیمارهای شاهد و سایر تیمارها اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده نشده است (P>۰/۰۵).

سطوح مختلف پکتین سبب افزایش گلبول‌های سفید خون شده بود (P<۰/۰۵)، اما در تیمار ۲۰ گرم پکتین گلبول‌های سفید خون کاهش یافتند، هم‌چنین در تیمار ۱۰ گرم پکتین نیز سبب افزایش معنادار این شاخص خونی با تیمار شاهد گردید.

جدول ۲- مقایسه پارامترهای خون‌شناسی (میانگین ± خطای استاندارد) بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با سطوح مختلف پکتین (گرم بر کیلوگرم غذا) پس از پایان دوره پرورش.

پارامتر	شاهد	۵ گرم پکتین	۱۰ گرم پکتین	۲۰ گرم پکتین
گلبول قرمز ($\times 10^6/\mu l$)	۱/۲۴±۰/۰۷	۱/۵۸±۰/۱۰	۱/۶۱±۰/۱۸	۱/۳۵±۰/۰۸
هماتوکریت (٪)	۲۴/۳۳±۰/۸۸^{b}	۳۲/۰۰±۱/۱۵^{a}	۳۳/۶۶±۱/۲۰^{a}	۳۱/۶۶±۲/۷۲^{ab}
هموگلوبین (g/dl)	۵/۶۴±۰/۱۳^{b}	۶/۱۲±۰/۰۹^{a}	۶/۰۸±۰/۱۰^{ab}	۶/۰۲±۰/۰۶^{ab}
MCHC (g/dl)	۲۳/۲۳±۰/۵۷^{a}	۱۹/۱۸±۰/۵۲^{b}	۱۸/۱۰±۰/۳۷^{b}	۱۹/۲۸±۱/۵۲^{ab}
MCH (pg/cell)	۴۵/۶۴±۱/۸۳	۳۹/۱۷±۲/۸۸	۳۸/۷۸±۴/۳۱	۴۴/۹۶±۲/۵۱
MCV (nm^3)	۱۹۶/۷۰±۹/۷۹	۲۰۳/۹۳±۱۱/۵۷	۲۱۴/۲۸±۲۳/۸۰	۲۳۴/۹۳±۱۵/۳۱
گلبول سفید ($\times 10^3/\mu l$)	۳/۲۶±۰/۰۸^{b}	۳/۷۰±۰/۱۱^{ab}	۳/۷۸±۰/۱۱^{a}	۳/۴۲±۰/۱۲^{ab}

حروف انگلیسی غیرمشترک در هر ردیف نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین میانگین داده‌ها در سطح (P<۰/۰۵) می‌باشد.

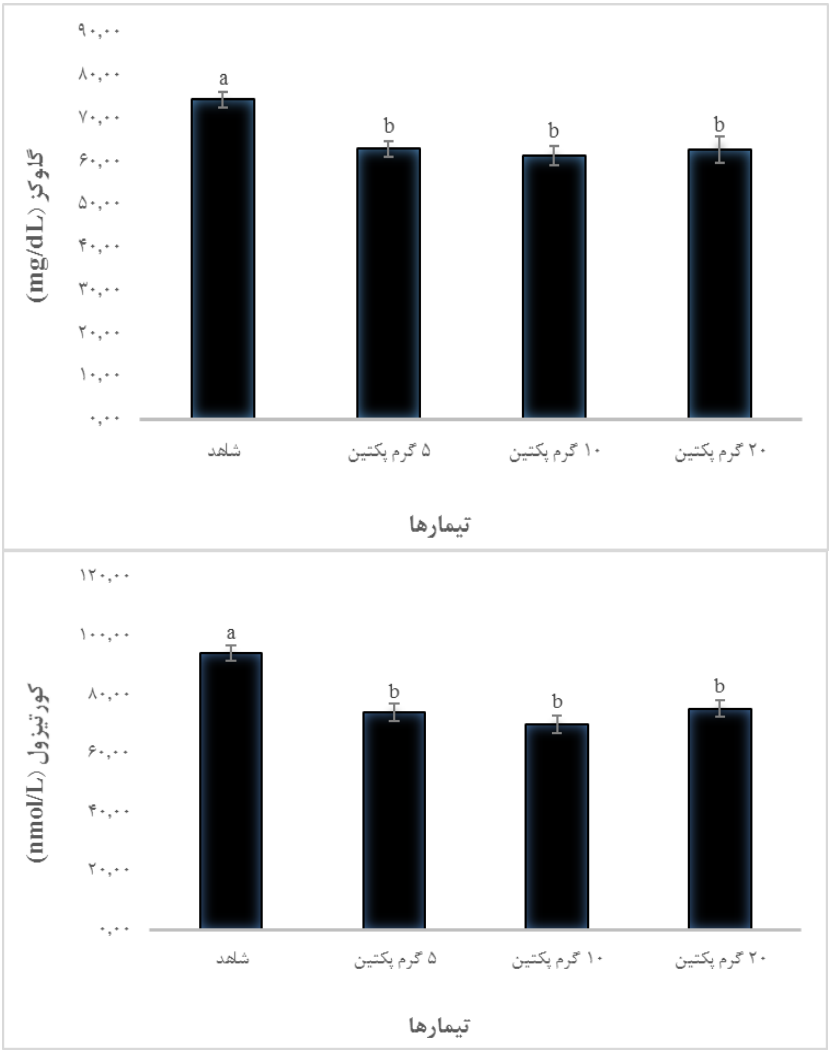
پارامترهای بیوشیمیایی: با توجه به جدول ۳ نتایج حاصل از اندازه‌گیری میانگین آلبومین در ماهیان شاهد و تیمارهای ۵، ۱۰ و ۲۰ گرم پکتین نیز بین تیمار شاهد و سایر تیمارها اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده شده است (P>۰/۰۵). بیش‌ترین میزان پروتئین کل و گلوبولین در تیمار تغذیه شده با ۵ گرم پکتین به‌دست آمد هرچند اختلاف معنی‌داری در بین تیمارهای تغذیه شده با پکتین و گروه شاهد مشاهده نشد (P>۰/۰۵). بیش‌ترین مقدار تری‌گلیسرید نیز در تیمار شاهد مشاهده شد ولی بین تیمارها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (P>۰/۰۵). هم‌چنین نتایج این آزمایش نشان داد که کلسترول در تیمار شاهد با تیمار ۵ و ۱۰ گرم پکتین اختلاف معنی‌داری را نشان می‌دهد (P<۰/۰۵). همان‌طور که در شکل ۱ مشاهده می‌کنید بیش‌ترین مقدار گلوکز و کورتیزول در تیمار شاهد مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری نسبت به سایر تیمارها داشت (P<۰/۰۵) و کم‌ترین میزان آن در تیمار ۱۰ گرم پکتین مشاهده شد.

جدول ۳- مقایسه پارامترهای بیوشیمیایی (میانگین ± خطای استاندارد) بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با سطوح مختلف پکتین (گرم بر کیلوگرم غذا) پس از پایان دوره پرورش.

پارامتر	شاهد	۵ گرم پکتین	۱۰ گرم پکتین	۲۰ گرم پکتین
پروتئین کل (g/L)	۲/۴۴±۰/۱۸	۳/۰۱±۰/۰۷	۲/۹۸±۰/۱۳	۲/۷۰±۰/۱۴
آلبومین (g/L)	۱/۱۵±۰/۰۲^{b}	۱/۴۱±۰/۰۳ ^{a}	۱/۴۵±۰/۰۳ ^{a}	۱/۴۰±۰/۰۳ ^{a}
گلوبولین (g/L)	۱/۲۸±۰/۱۵	۱/۶۱±۰/۱۰	۱/۵۲±۰/۱۰	۱/۲۹±۰/۱۰
تری‌گلیسرید (mg/dL)	۲۲۶/۲۴±۴/۰۵	۲۱۳/۸۱±۴/۳۳	۲۰۷/۵۷±۵/۴۷	۲۱۴/۳۱±۵/۴۰

کلسترول (mg/dL)	۱۱۰/۷۱±۲/۸۸ a	۹۴/۲۸±۲/۹۵ b	۹۴/۹۵±۳/۰۵ b	۹۸/۳۴±۳/۱۶ ab

حروف انگلیسی غیرمشترک در هر ردیف نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین میانگین داده‌ها در سطح (P<۰/۰۵) می‌باشد.



شکل ۱- مقایسه پارامترهای بیوشیمیایی گلوکز و کورتیزول (میانگین ± خطای استاندارد) بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با سطوح مختلف پکتین (گرم بر کیلوگرم غذا) پس از پایان دوره پرورش. حروف انگلیسی غیرمشترک در هر ردیف نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین میانگین داده‌ها در سطح (P<۰/۰۵) می‌باشد.

بحث

مطالعه پارامترهای خون‌شناسی اطلاعات مفیدی در رابطه با وضعیت سلامتی ماهی ارائه می‌دهند. به‌طور مثال کاهش میزان هماتوکریت نشان‌دهنده عدم مصرف غذا توسط ماهی یا وجود بیماری عفونی است (بنائی و همکاران، ۲۰۰۸). نتایج این مطالعه نشان داد که تجویز خوراکی ۵ و ۱۰ گرم پکتین موجب افزایش میزان هماتوکریت، هموگلوبین، MCHC و گلبول‌های سفید می‌شود اما اختلاف معنی‌داری در میزان گلبول‌های قرمز، MCV و MCH مشاهده نشد. افزایش میزان هموگلوبین و هماتوکریت در تیلاپیای نیل (شلبی و همکاران، ۲۰۰۶). و تیلاپیای هیبرید (*Oreochromis niloticus* × *Oreochromis aureus*) تغذیه شده با پودر سیر نیز گزارش شده که با نتایج

مطالعه حاضر مطابقت دارد. هم‌چنین مطالعات دیگر افزایش میزان هموگلوبین و هماتوکریت در اثر استفاده از مکمل‌های گیاهی گزارش کرده‌اند (جی و همکاران، ۲۰۰۷). در همین راستا عالیشاهی و همکاران (۲۰۱۱) گزارش دادند که عصاره گیاه خار مریم موجب افزایش میزان گلبول‌های سفید می‌باشد. در این مطالعه بیش‌ترین میزان گلبول قرمز در تیمار تغذیه شده با ۱۰ گرم پکتین به‌دست آمد هر چند اختلاف معنی‌داری با گروه کنترل مشاهده نشد. در این ارتباط در مورد تأثیر عصاره‌های گیاهی بر میزان گلبول‌های قرمز متفاوت می‌باشد. به علاوه احمدی و همکاران (۲۰۱۲) افزایش تعداد سلول‌های خونی را به‌دلیل تأثیر عصاره گیاهی سیلی مارین بر ارگان‌های خونساز مانند کلیه و طحال در تغذیه با قزل‌آلا گزارش کردند. در مورد اندیس‌های گلبولی (MCV، MCH و MCHC) در پژوهش‌های مشابه نتایج موافق و متناقض مشاهده شده است به‌طوری‌که رضایی و همکاران (۲۰۱۳) عدم تغییر این فاکتورها را در اثر استفاده از عصاره گیاهی و اکانم و یوسف (۲۰۰۸) افزایش این شاخص‌ها را در مطالعات خود گزارش کردند.

پروتئین کل در سرم خون شامل آلبومین و گلوبولین است که عملکردهای فیزیولوژیکی گسترده‌ای را در ماهیان استخوانی بر عهده دارد. آلبومین نقش مهمی در انتقال ترکیبات مختلف همانند داروها در خون برعهده دارد بنابراین تحریک سنتز این پروتئین‌ها توسط کبد یا سایر بخش‌های سیستم ایمنی می‌تواند منجر به بهبود انتقال محرک‌های ایمنی همانند مکمل‌های گیاهی در خون شود (ساندنس و همکاران، ۱۹۸۸). این فاکتورها بر سیستم ایمنی بدن تأثیر زیادی داشته و اغلب میزان آن‌ها به‌عنوان شاخص سلامتی ماهی در نظر گرفته می‌شود. میزان پروتئین کل معمولاً در زمان مواجه شدن ماهی با بیماری عفونی افزایش پیدا می‌کند. در این زمینه می‌توان به مطالعه لیو و همکاران (۲۰۱۲) اشاره کرد که افزایش میزان پروتئین کل سرم خون را در زمان مواجه شدن ماهی *Megalobrama amblycephala* با باکتری *Aeromunas hydrophila* مشاهده کردند. پروتئین کل و گلوبولین و تری‌گلیسیرید در این مطالعه اختلاف معنی‌داری را با گروه کنترل نشان ندادند. در تناقض با نتایج حاضر می‌توان به مطالعه عالیشاهی و همکاران (۲۰۱۱b) در مورد تجویز خوراکی عصاره گیاه خار مریم (*Silybum marianum*) بر پاسخ ایمنی ماهی کپور و در تطابق با نتایج پژوهش حاضر هم می‌توان به مطالعه رضایی و همکاران (۲۰۱۳) در ماهی پنگوسی اشاره نمود. افزایش میزان پروتئین کل خون در پژوهش حاضر، به جهت انجام واکنش‌های اختصاصی قوی‌تر، در ارتباط با اثر تقویتی پکتین در بهبود عملکرد اندام‌های سازنده (کبد و کلیه) آلبومین و گلوبولین ماهی می‌باشد (متوالی، ۲۰۰۹).

طبق نتایج پژوهش حاضر، تیمارهای تغذیه شده با پکتین، تفاوت معنی‌داری در مقادیر کلسترول، گلوکز و کورتیزول در مقایسه با تیمار شاهد نشان دادند. تیمارهای حاوی پکتین به ویژه در سطوح ۵ و ۱۰ گرم بر کیلوگرم، باعث پایین نگه داشتن این پارامترهای سرم خون شدند.

تلپور و اچارد (۲۰۰۵) در مطالعه بررسی برخی از اسانس‌ها روی متابولیسم انسولین موش‌های دیابتی گزارش نمودند، اسانس زیره سبز موجب افزایش حساسیت انسولین و کاهش گلوکز خون می‌شود که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد. هاشمی و همکاران (۲۰۱۲) در مطالعه‌های روی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) نتایج مشابهی با پژوهش حاضر گزارش نمودند که استفاده از زئولیت (*Clinoptiolite*) و اسانس گل میخک (*Eugenia caryophyllata*) در زمان حمل و نقل

درازمدت (بیش از ۱۲ ساعت)، باعث کاهش استرس و افزایش بازماندگی ماهیان از طریق ممانعت از افزایش کورتیزول و گلوکز خون می‌شوند.

در مطالعه الصلاحی (۲۰۰۲)، روی گربه‌ماهی (*Clarias lazera*)، ۲۴ ساعت پس از شروع آزمایش تیمارهای حاوی سطوح مختلف سیر میزان گلوکز خون بالاتری نسبت به تیمار شاهد نشان دادند و با نتایج پژوهش حاضر مغایرت نشان داد. پژوهشگران دلیل این عملکرد را مرتبط با ترکیب‌های بیوشیمیایی سیر و اثرات آن بر ذخایر گلیکوژنی بدن گربه‌ماهی (*Clarias lazera*) دانستند (سومیوشی، ۱۹۹۷). در واقع بالا بودن میزان گلوکز به‌علت نیاز به انرژی بیش‌تر جهت مقابله با عامل استرسی، عدم توانایی تنظیم قند خون، متابولیسم چربی‌ها، بالارفتن میزان تجزیه گلیکوژن کبدی شناخته شده است (آکر و نوگویرا، ۲۰۱۲). کورتیزول معمول‌ترین هورمون شاخص استرس افزایش گلوکز خون را در پاسخ به بروز استرس سبب می‌شود (بارتون، ۲۰۰۲؛ ویل و همکاران، ۱۹۹۶) و متعاقباً کورتیزول به میزان بالا از ناحیه قشری غده فوق کلیه ساخته می‌شود تا با اثر بر روی ذخایر گلیکوژن بدن ماهی امکان افزایش گلوکز خون و تنظیم میزان آن را در درازمدت سبب شود (لهنینگر، ۱۹۷۵).

کورتیزول از مهم‌ترین عوامل هورمونی مؤثر در ارزیابی پاسخ فیزیولوژیک ماهیان نسبت به تغییرات شرایط محیطی و استرس محسوب می‌شود. مطالعات نشان می‌دهد که افزایش کورتیزول همواره با افزایش گلوکز همراه است. در شرایط نامساعد و تحت استرس (داخلی یا خارجی) هورمون‌های کاتکول آمین، آدرنالین و نورآدرنالین توسط سلول‌های کرومافین به خون ترشح می‌شوند، این هورمون‌ها به همراه کورتیزول سبب می‌شوند که ماهی با انجام واکنش‌های بیوشیمیایی گلیکوژنولیز، گلیکوژن بافت را به گلوکز تبدیل کرده و وارد جریان خون کنند تا انرژی مورد نیاز سلول‌ها طی فرآیند استرس فراهم شود (سیویل و همکاران، ۲۰۰۸).

بدین‌ترتیب در پژوهش حاضر، با توجه به میزان کم‌تر گلوکز و کورتیزول در تیمارهای تغذیه شده با پکتین در مقایسه با تیمار شاهد می‌توان گفت پکتین از طریق تحریک متابولیسم انسولین و کربوهیدرات‌ها نقش در کاهش گلوکز خون دارد.

طبق نتایج پژوهش حاضر، محتوای کم‌تر تری‌گلیسرید و کلسترول در تیمارهای ۵ و ۱۰ گرم پکتین در مقایسه با سایر تیمارها می‌تواند به‌دلیل توانایی بالاتر آن در کاهش محتوای لیپید خون به‌واسطه غلظت بالاتر پکتین و یا محتوای بالای کلسترول جیره غذایی باشد (سامبایاه و سرینیواسان، ۱۹۹۱). هم‌چنین برخی پژوهشگران گزارش دادند، وجود الیاف خام به میزان بالا در گیاهان موجب بالارفتن سطح دفع صفرا و کاهش کلسترول خون می‌شود (آکیبا و ماتسوموتو، ۱۹۸۲). پژوهشگران وجود ترکیب‌هایی مثل کارواکرول و تیمول را در گیاهان، مؤثر روی کاهش کلسترول و تری‌گلیسرید خون دانستند و این مکانیسم را به خواص آنتی‌اکسیدانی و مهاری سنتز اسیدهای چرب نسبت دادند (ربابه و همکاران، ۲۰۰۴).

به‌طور کل تفاوت در نتایج مطالعات پژوهشگران به عوامل مختلفی بستگی دارد، چرا که پارامترهای سرمی تحت‌تأثیر تعداد زیادی از عوامل درونی و بیرونی مانند گونه و نژاد، درجه حرارت آب، اندازه، چرخه تولیدمثلی، نرخ متابولیک، سن، استرس، دوره‌های نوری، مرحله تولید، طول دوره آداپتاسیون و پرورش، شرایط بهداشتی محیط و سیستم پرورشی، رفتارهای تغذیه‌ای، خصوصیات فیزیولوژیک، نوع

مواد اولیه به‌کار رفته در تهیه جیره و کمیت و کیفیت آن‌ها، فرمولاسیون جیره‌های غذایی، نوع مکمل مصرفی و میزان مورد استفاده آن در جیره و روش‌های مختلف اضافه کردن پکتین به جیره در تعیین آن‌ها، نقش دارند.

هم‌چنین از مطالعه حاضر می‌توان نتیجه گرفت که استفاده از سطوح مختلف پربیوتیک پکتین تأثیر مثبت بر عملکرد شاخص‌های خون‌شناسی و بیوشیمیایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با وزن اولیه تقریباً ۴ گرم داشته و سطح ۱۰ گرم بهترین نتیجه را به همراه داشت. هم‌چنین پیشنهاد می‌گردد که مطالعات بیش‌تری در این زمینه روی ماهیان اقتصادی صورت گیرد. بنابراین به‌منظور بهبود اثرات این پربیوتیک بر پارامترهای موردنظر پژوهش‌های بیش‌تر و تخصصی‌تر بر روی مواد مؤثر موجود در پکتین استخراج شده از سیب درختی و تعیین دوز بهینه پیشنهاد می‌گردد.

سپاسگزاری

از صندوق حمایت از پژوهشگران کشور به جهت پشتیبانی مالی این طرح پژوهشی با کد طرح ۹۷۰۱۵۵۷۰ سپاسگزاری می‌نمائیم.

منابع

Acker, C.I., and Nogueira, C.W. 2012. Chlorpyrifos acute exposure induces hyperglycemia and hyperlipidemia in rats. Chemosphere, 89: 5. 602-608.

Ahmadi, K., Banaee, M., Vosoghei, A.R., Mirvaghefei, A.R., and Ataeimehr, B. 2012. Evaluation of the immunomodulatory effects of silymarin extract (*Silybum marianum*) on some immune parameters of rainbow trout, Oncorhynchus mykiss (Actinopterygii: Salmoniformes: Salmonidae). *Acta Ichthyologica Et Piscatoria*, 42: 2.

Akiba, Y., and Matsumoto, T. 1982. Effects of dietary fibers on lipi metabolism in liver and adipose tissue in chicks. J. Nutr. 112: 8. 1577-1585.

Alishahi, M. 2011a. Effects of different levels of Aloevera crude extract on the growth rate and resistance against *Aeromonas hydrophila* infection in *Amphilophus labiatus*. J. Marin Biol. 2: 4. 41-46.

Alishahi, M., Soltani, M., Mesbah, M., and Esmaeilli Rad, A. 2011b. Effects of dietary *Silybum marianum* extract on immune Parameters of the common carp (*Cyprinus carpio*). J. Vet. Res. 66: 3. 255-263.

Alishahi, M., Soltani, M., Mesbah, M., and Rad, A.E. 2011. Effects of dietary Silybum marianum extract on immune parameters of the common carp (*Cyprinus carpio*). J. Vet. Res. 66: 3. 255-286.

Al-Salahy, M.B. 2002. Some physiological studies on the effect of onion and garlic juices on the fish, *Clarias lazera*. Fish Physiology and Biochemistry, 27: 1. 129-142.

Amer, N., Al-Hilfy, E.J., and Al-Taie, M. 2011. Effect of apple- lite contained of apple fibers and gel pectin on body weight, lipid profiles, kidney function and histological structure of kidney in male albino rats. Danish J. Physiol. Sci. 8: 2. 178-187.

Banaee, M., Mirvagefei, A.R., Rafei, G.R., and Majazi Amiri, B. 2008. Effect of sub-lethal Diazinon concentrations on blood plasma biochemistry. Inter. J. Environ. Res. 2: 2. 189-198.

Bardos, L., and Bender, B. 2012. Effect of apple cider vinegar on plasma lipids (Model experiment in mice). Potravinarstvo, 6: 1. 1-4.

Barton, B.C. 2002. Stress in fishes: A diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids. Integrative and Comparative

Biology, 42: 517-525.
Benfey, T.J., and Sutterlin, A.M. 1984. The haematology of triploid land locked Atlantic salmon, *Salmo salar*. J. Fish Biol. 24: 333-338.
Ekanem, J., and Yusuf, K. 2008. Some biochemical and haematological effects of black seed (*Nigella sativa*) on *Trypanosoma brucei* infected rats. J. Afric. Biotechnol. 4: 3. 153-157.
Fanimo, A.O., Oduguwa, O.O., Alade, A.A., Ogunnaike, T.O., and Adesehinwa, A.K. 2003. Growth performance, nutrient digestibility and carcass characteristic of growing rabbits fed cashew apple waste, Livestock Research and Rural Development, 15: 8. 15-23.
FAO. 2018. Drivers, dynamics and epidemiology of antimicrobial resistance in animal production. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.
Ghaemi, H., Nobakht, A., and Razzagzadeh, S. 2014. The effect of apple pulp and multi enzyme on performance and blood parameters in native laying hens, J. Farm Anim. Nutr. Physiol. 9/1: 10-21.
Ghasemi Pirbalouti, A., Pirali, E., Pishkar, G., Jalali, S.M., Reyesi, M., Jafarian Dehkordi, M., and Hamedi, B. 2011. The essential oils of some medicinal plants on the immune system and growth of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), J. Herb. Drug. 2: 2. 149-155. (In Persian)
Goldenfarb, P., Bowyer, F.P., Hall, E., and Brosious, E. 1971. Reproductibility in the hematology laboratory: the microhematocrite determination. J. Clinic. Pathol. 56: 3. 35-39.
Hashemi, M., Sajjadi, M.M., Saaedi, M., and Vesali, S.A. 2012. The effect of zeolite (*Clinoptiolite*) and clove oil (*Eugenia caryophyllata*) on survival rate and reduction of stress during transportation of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). J. Fish. Sci. Technol. 1: 63-75.
Ji, S.C., Jeong, G.S., I.m, Lee, S.W., Yoo, J.H., and Takii, K. 2007a. Dietary medicinal herbs improve growth performance, fatty acid utilization, and stress recovery of Japanese flounder. J. Fish. Sci. 73: 70-76.
Khayat Nouri, M., and Kargari Rezapour, A. 2011. Effect of apple (*Malus domestica*) supplementation on serum lipids and lipoproteins level in cholesterol-fed male rat. Middlest J. Sci. Res. 9: 6. 744-748.
Larsen, H.N. 1964. Comparison of various methods of hemoglobin detection of channel catfish blood. J. Progressive Fish-Culturist. 26: 11-15.
Lehninger, A. 1975. Biochemistry, the Molecular Basis of Cell Structure and Function. Worth Publishers, New York, 1104p.
Leonard, J.B.K., and Cormick, S.D. 2005. Changes in haematology during up stream migration to American shad. J. Fish Biol. 54: 1218-1230.
Liu, B., Ge, X.P., Xie, J., Xu, P., Cui, Y.T., Ming, J.H., Zhou, Q.L., and Pan, L.K. 2012. Effects of anthraquinone extract from Rheum officinale Bail on the physiological responses and HSP70 gene expression of *Megalobrama amblycephala* under *Aeromonas hydrophila* infection. J. Fish Shellfish Immunol. 32: 1-7.
Matoo, F.A., Beat, G.A., Banday, M.T., and Ganaie, T.A.S. 2001. Performance of broilers fed on apple pomace diets supplemented with enzyme (S). Ind. J. Anim. Nutr. 18: 4. 349-352.
Metwally, M.A. 2009. Effect of garlic (*Allium sativum*) on some antioxidant activities in tilapia nilotica (*Oreochromis niloticus*). Fish and Marine Science, 1: 1. 56-64.
Rababah, T.M., Hettiarachchy Navam, S., and Horax, R. 2004. Total phenolics and antioxidant activities of fenugreek, green tea, black tea, grape seed, ginger, rosemary, gotu kola, and ginkgo extracts, vitamin E, and tert-butylhydroquinone. J. Agric. Food Chem. 52: 16. 5183-5186.
Rezaei, M.H., Sourinejad, I., Soltanian, S.,

and Yousefzadi, M. 2013. The effects of dietary Zhumeria majdae extract on growth indices, hematology and immunology of catfish *Pangasianodon hypophthalmus*. J. Aqua. Ecol. 3: 1. 19-8. (In Persian)

Sambaiah, K., and Srinivasan, K. 1991. Effect of cumin, cinnamon and ginger in induced hyper cholesterolemic rats. Molecular Nutrition, 35: 1. 45-51.

Sandnes, K., and Waagb, R. 1988. Normal ranges of some blood chemistry Parameters in adult farmed Atlanic salmon, *Salmo salar*. J. Fish Biol. 32: 1. 129-136.

Shalaby, A., Khattab, Y., and Abdel Rahman, M. 2006. Effects of garlic (*Allium sativum*) and chloramphenicol on growth performance, Physiological parameters and survival of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). J. Venom. Anim. Tox. Includ. Trop. Dis. 12: 172-201.

Sivil, S., Nardi, M., Sulpizio, R., Orpainesi, C., Caggiano, M., Carnevali, O., and Cresci, A. 2008. Effect of the addition of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. being of European sea bass (*Dicentra chus labrax*, L.). Microbial Ecology in Health and Disease, 20: 53-59.

Sumiyoshi, H. 1997. New pharmacological active of garlic and its constituent (review). Folia Pharmacologica Japonica, 110: 93-97.

Talpur, N., and Echard, B. 2005. Effect of anovel formulation of essential oil on glucose – insulin metabolism. Diabetes Obes Metab, 7: 2. 193-99.

Tukmechi, A., Rahmati Andani, H.R., Manaffar, R., and Sheikhzadeh, N. 2011. Dietary administration of beta-mercapto-ethanol treated Saccharomyces cerevisiae enhanced the growth, innate immune response and disease resistance of the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. J. Fish Shellfish Immunol. 30: 923-928.

Van Doan, H., Hoseinifar, S.H., Elumalai, P., Tongsiri, S., Chitmanat, C., Jaturasitha, S., and Doolgindachbaporn, S. 2018. Effects of orange peels derived pectin on innate immune response, disease resistance and growth performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) cultured under indoor biofloc system. Fish and Shellfish immunology. 80: 56-62.

Weyl, O., Kaiser, H., and Hecht, T. 1996. On the efficacy and mode of action of 2phenoxyethanol as an anaethetic for goldfish, *Carassius auratus* L., at different temperatures and concentrations. Aquaculture Research, 27: 10. 757-764.