



بررسی شاخص‌های خونی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) تغذیه شده با پری بیوتیک

سانبار و مقاومت در برابر استرس صید و حمل و نقل در سیستم بیوفلاک

سیمرا جعفریان، حسین آدینه، محمد فرهنگی*، محمد هرسیج، ضیاء کردجزی

گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران

چکیده

نوع مقاله:

پژوهشی اصیل

تاریخچه مقاله:

دریافت: ۲۰۲۱/۱۸

پذیرش: ۲۰۲۱/۱۶

نویسنده مسئول مکاتبه:

محمد فرهنگی، گروه شیلات،
دانشکده کشاورزی و منابع
طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس،
گنبد کاووس، ایران

ایمیل: s.farhangi@yahoo.com

حمل و نقل و صید ماهی یک فعالیت رایج در آبی‌پروری است که باعث استرس و تضعیف سیستم ایمنی می‌شود. هدف از این مطالعه بررسی اثرات استفاده از پری بیوتیک سانبار (پودر و مایع) در محیط بیوفلاک بر فعالیت‌های متابولیکی، شاخص‌های استرس و خون‌شناسی ماهی کپور معمولی تحت استرس صید و حمل و نقل بود. جیره‌های حاوی پری بیوتیک (۰/۱ و ۰/۲ گرم FP1 و FP2) و (۱ و ۲ میلی‌لیتر FL1 و FL2) و تیمار بدن افزودنی (FC) در محیط بیوفلاک و تیمار شاهد بدون افزودنی با آب تمیز (C) به ماهی کپور معمولی به مدت ۶۰ روز داده شد. پایان دوره پرورش برای شبیه‌سازی استرس صید، ماهیان با تور ماهیگیری دستی در مخازن به مدت ۱۰ دقیقه دنبال شدند. برای استرس ناشی از حمل و نقل طولانی‌مدت با تراکم ذخیره‌سازی ۱ کیلوگرم (۶ تیمار و هر یک با ۳ تکرار) از کیسه‌های پلاستیکی (۲۰ لیتر آب و ۲۰ لیتر اکسیژن) به مدت ۱۲ ساعت استفاده شد. بعد از اعمال استرس از ماهیان در دو گروه (صید و حمل و نقل) به‌طور مجزا خونگیری انجام شد. فعالیت‌های متابولیکی (آنزیم‌های کبدی، اوره و کراتینین)، گلبول‌های قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت در تیمارهای پری بیوتیکی تحت استرس کاهش معنی‌داری داشت. غلظت کورتیزول در تیمار FC (صید) و در تیمار شاهد (حمل و نقل) در مقایسه با دیگر تیمارهای آزمایشی افزایش معنی‌دار داشت. به‌طور کلی نتایج نشان داد که استفاده از پری بیوتیک تجاری سانبار در محیط بیوفلاک باعث کاهش اثرات استرسی صید و حمل و نقل برای ماهی کپور معمولی می‌شود.

واژه‌های کلیدی: پری بیوتیک، بیوفلاک، ماهی کپور معمولی، استرس صید و حمل و نقل

۱ | مقدمه

یک رویداد استرس‌زا به دلیل استرس فیزیکی، افزایش تراکم و کاهش کیفیت آب است (Hong *et al.*, 2019). در فرآیند صید و حمل و نقل آبیان، عموماً تعادل سیستم‌های داخلی با اختلال مواجه شده و باعث ایجاد اثرات مخرب در رفتار، رشد، فعالیت شاخص استرس اکسیداتیو، تضعیف سیستم ایمنی و مقاومت در برابر بیماری‌ها می‌شود (Jiang *et al.*, 2008; Zanuzzo *et al.*, 2017; Mirghaed, and Ghelichpour, 2019). مطالعات نشان داده است که ماهیان طی فرآیندی تحت عنوان پاسخ به استرس، تطابق‌های فیزیولوژیکی

تکنولوژی بیوفلاک به‌عنوان سیستم نوین پرورش غنی از ترکیبات زیستی مانند کلروفیل‌ها، کاروتنوئیدها، فیتوستول‌ها، بروموفنل‌ها، قندهای آمینو (Ju *et al.*, 2008) و ترکیبات آنتی‌باکتریال (Crab *et al.*, 2010) است که به‌عنوان محیط ضد استرس (Adineh *et al.*, 2019) اثرات مثبتی روی پارامترهای ایمنی دارد (Zhao *et al.*, 2014; Fauji *et al.*, 2018; Liu *et al.*, 2018). عملیات دستکاری ماهی (صید و حمل و نقل) در میان مزارع در بازه زمانی مختلف (Harmon, 2009)

قابل اعتماد و قوی برای تعیین سطح استرس در موجودات آبی شناخته شده‌اند (Kumar et al., 2017). از آنجا که پری‌بیوتیک‌ها به‌عنوان مواد مغذی غیرقابل هضم برای ازدیاد جمعیت باکتری‌های مفید در دستگاه گوارش و در نتیجه بهبود سیستم ایمنی حائز اهمیت می‌باشند بنابراین در این پژوهش از پری‌بیوتیک تجاری سانپار به‌عنوان مکمل تقویت‌کننده سیستم ایمنی ماهی استفاده شد. هدف از مطالعه حاضر بررسی شاخص‌های خون‌شناسی و متابولیسی ماهی کپور تغذیه شده با پری‌بیوتیک تجاری سانپار (پودری در غذا و مایع در آب) در محیط بیوفلاک و مقاومت در برابر استرس صید و حمل و نقل بود.

۲ | مواد و روش‌ها

طرح آزمایش: تعداد ۳۲۴ قطعه ماهی با میانگین وزنی $10/09 \pm 0/45$ گرم پس از ۱۰ روز دوره سازگاری با شرایط آزمایشگاه در ۱۸ مخزن (۶ تیمار و هر یک با ۳ تکرار) با حجم آگیری ۳۵ لیتر به مدت ۶۰ روز نگهداری شد. غذاهای به‌میزان ۳ درصد وزن بدن در ۳ نوبت (۸ صبح، ۱۳ ظهر و ۱۸ عصر) اجرا شد. تعویض آب کمتر از ۵ درصد در تیمارهای بیوفلاک و ۲۰ درصد در تیمار شاهد با آب تمیز به‌صورت روزانه انجام شد. پری‌بیوتیک سانپار برگرفته از مخمر ساکارومایسیس سروزیه (*Saccharomyces cerevisiae*) حاوی مانان الیگوساکارید و بتاگلوکان است که از شرکت کاوشگر سپهر جوان (به‌شماره ثبت ۳۷۴۸۱، دزفول-ایران) تهیه و طبق دستورالعمل شرکت تولید کننده به‌صورت مخلوط در غذا (پودری) و افزودن به آب محیط پرورش (مایع) استفاده شد. مقادیر استفاده از پری‌بیوتیک سانپار مایع برابر ۱ و ۲ میلی‌گرم در لیتر و مقادیر استفاده از پری‌بیوتیک سانپار پودری ۰/۱ و ۰/۲ گرم در ۱۰۰ گرم جیره غذایی بود. در این تحقیق از غذای آغازین ماهی کپور با کد SFC (در محدوده وزنی ۱ تا ۲۰ گرم) ساخت شرکت فرادانه با ۲۸ درصد پروتئین استفاده شد. غذای هر

و بیوشیمیایی را در مواجهه با استرس از خود نشان می‌دهند که منجر به کاهش یا حذف اثر عامل استرس‌زا می‌شود (Koeypudsa and Jongjareanja, 2011). تغییرات سیستم ایمنی ماهیان در شرایط استرسی می‌تواند تحت تأثیر نوع استرس (حاد یا مزمن)، گونه و وضعیت فیزیولوژیک قرار بگیرد (Tort, 2011).

از افزودنی‌هایی که می‌تواند استرس‌های محیطی را کاهش دهد و اثرات مثبت بر موجود بگذارد، بکارگیری پری‌بیوتیک‌ها و پروبیوتیک‌ها در جیره ماهیان پرورشی، در طول دوره پرورش آنها می‌باشد (Gibson and Roberfroid, 1995). پری‌بیوتیک‌ها ماده غذایی غیر قابل هضم که از طریق تحریک رشد و فعالیت یک یا تعداد محدودی از باکتری‌های موجود در روده، اثرات سودمندی بر بهبود وضعیت سلامت میزبان دارد. پری‌بیوتیک دارای مانان‌های مخمری هستند که قندهایی نظیر بتاگلوکان‌ها گالاکتوزامین‌ها مانوزو اولیگوساکاریدمانان را شامل می‌شوند (Gang and Huang, 2008). هر ماده غذایی که به روده می‌رسد مانند کربوهیدرات‌های غیر قابل هضم، بعضی از پپتیدها، پروتئین‌ها و نیز برخی از چربی‌ها، می‌توانند به‌عنوان پری‌بیوتیک مطرح باشند. مهمترین محصول حاصل از متابولیسم پری‌بیوتیک‌ها، اسیدهای چرب زنجیره کوتاه نظیر استات، پروپیونات، بوتیرات و اسیدلاکتیک ناشی از تخمیر پری‌بیوتیک منجر به کاهش پی‌اچ (pH) روده می‌شود که شرایط مناسب برای رشد باکتری‌های اسید لاکتیک را فراهم می‌کند (Ringo and Gatesoupe, 1998).

خون به‌عنوان یک بافت سیال، یکی از مهمترین مایعات زیستی بدن بوده که تحت تأثیر حالات مختلف فیزیولوژیک و پاتولوژیک ترکیبات آن دستخوش نوسان و تغییر می‌گردد. تغییر در میزان و سطوح شاخص‌های بیوشیمیایی و خون‌شناختی می‌تواند پاسخ‌های ماهی را نسبت به تغییرات رخ داده در محیط زندگی آنها نشان دهد. کورتیزول و گلوکز به‌عنوان شاخص‌های

تکرار) تهیه گردید. کیسه‌های پلاستیکی با حجم ۲۰ لیتر آب و میانگین ۱ کیلوگرم ماهی و ۲۰ لیتر اکسیژن فشرده با استفاده از کپسول اکسیژن پر شد و برای بررسی مقدار مقاومت ماهی در برابر استرس حمل و نقل به مدت ۱۲ ساعت در چنین شرایطی نگهداری شدند (Ranjdoost *et al.*, 2019; Jafaryan *et al.*, 2019). برای شبیه‌سازی استرس ناشی از صید در مزارع پرورش از روش Ruane و همکاران (۲۰۰۵) با کمی اصلاح استفاده شد بدین‌منظور، ماهیان به مدت ۱۰ دقیقه با تور دستی در مخازن دنبال شده و به‌طور تصادفی از نمونه‌های صید شده خونگیری انجام شد. **نمونه‌برداری:** به‌منظور سنجش برخی از فاکتورهای متابولیکی و خون‌شناسی ماهی کپور معمولی تغذیه شده با سطوح مختلف پری‌بیوتیک سانیار به‌صورت پودری و مایع در سیستم بیوفلاک، بعد از ۶۰ روز پرورش، ماهیان به مدت ۲۴ ساعت قطع غذاهای شدند. بعد از استرس صید نمونه‌های خون از ۳ ماهی از هر تانک (۹ ماهی از هر تیمار) و بعد از استرس حمل و نقل، نمونه‌های خون از ۳ ماهی از هر تانک (۹ ماهی از هر تیمار) به‌طور مجزا با استفاده از سرنگ از ساقه دمی ماهی گرفته شد. خون در دو بخش خون هپارینه (۱۰ میکرولیتر به‌ازای ۰/۵ میلی‌لیتر خون) برای اندازه‌گیری فاکتورهای خون‌شناسی و خون غیر هپارینه (حدود ۱ میلی‌لیتر سرم) جهت سنجش برخی فاکتورهای متابولیکی سرم استفاده شد.

پارامترهای متابولیکی و استرس ماهی: برای سنجش اوره از روش آنزیمی اوره‌آز در طول موج ۳۴۰ نانومتر (Sano, 1960) استفاده شد. فعالیت آنزیم‌های آلانین آمینوترانس‌فراز (ALT)، آسپاراتات ترانس‌آمیناز (AST) و آلکالین فسفاتاز (ALP) در سرم با استفاده از کیت‌های تجاری پارس آزمون (کرج، ایران) و با دستگاه آنالیزور بیوشیمیایی خودکار تعیین شدند. میزان پروتئین کل و آلبومین سرم با استفاده از کیت‌های تجاری (پارس آزمون، کرج، ایران) براساس دستورالعمل شرکت سازنده و به روش رنگ‌سنجی محاسبه گردید.

تیمار به‌طور مجزا با آسیاب برقی خرد و از الک عبور داده شد. غذای پودر شده همراه پری‌بیوتیک پودری توسط آب مقطر به حالت خمیری و بعد از عبور از چرخ گوشت و تهیه رشته در مجاورت هوا با استفاده از پنکه خشک گردید. غذا خورد شده از الک عبور داده شد و سپس غذای آماده در پلاستیک زیپ‌دار در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد فریزر یخچال نگهداری شد (Jafaryan *et al.*, 2019). تیمارهای آزمایشی در این تحقیق به شرح ذیل بودند؛ تیمار شاهد بدون افزودنی با آب تمیز (C)، تیمار شاهد بدون افزودنی با فلاک (FC)، تیمارهای فلاک حاوی مقادیر پری‌بیوتیک پودری ۰/۱ گرم (FP1) و ۰/۲ گرم (FP2) در ۱۰۰ گرم غذای پایه و همچنین تیمارهای فلاک حاوی مقادیر پری‌بیوتیک مایع ۱ میلی‌لیتر (FL1) و ۲ میلی‌لیتر (FL2) در ۱۰۰ گرم غذای پایه بودند.

تولید بیوفلاک میکروبی: برای آماده‌سازی استوک اولیه بیوفلاک، مخزن با حجم آبگیری ۵۰ لیتر تهیه که ۵۰ درصد آن با آب استخر پرورش ماهی و ۵۰ درصد دیگر با آب معمولی تأمین گردید (Adineh *et al.*, 2022). برای تشکیل فلاک از غذای ماهی و اوره برای تأمین ازت، ملاس برای تأمین کربن و از خاک رس برای ایجاد چسبندگی و کمک در تشکیل بیوفلاک استفاده گردید (Avnimelech, 2009; Crab *et al.*, 2012). برای تسریع در تشکیل بیوفلاک طی مدت ۱۰ روز نیز دمای آب بالای ۲۲ درجه سانتی‌گراد و هوادهی شدید برقرار شد. هنگامی که مقدار جامدات معلق کل آب به محدوده ۱۵۰ تا ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر رسید (Najdegerami *et al.*, 2016)، هوادهی قطع و استوک بیوفلاک تشکیل شده از توری با چشمه ۱۰ میکرومتر عبور و به هر مخزن در گروه آزمایشی بیوفلاک مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر در لیتر از استوک اولیه بیوفلاک افزوده شد (Xu and Pan, 2013).

استرس صید و حمل و نقل ماهی کپور معمولی: پایان دوره تغذیه ماهی کپور با سطوح مختلف پری‌بیوتیک سانیار در محیط بیوفلاک به مدت ۶۰ روز آزمایش، تعداد ۱۸ کیسه‌های پلاستیکی (۶ تیمار و هر یک با ۳

جدول ۱- اثرات صید بر پاسخ‌های متابولیکی ماهی کپور معمولی تغذیه شده با پری‌بیوتیک سانپار در سیستم بیوفلاک

کراتینین (mg/dl)	اوره (mg/dl)	پروتئین (g/dl)	AST (u/l)	ALT (u/l)	ALP (u/l)	
۰/۴۱±۰/۰۲۶ ^a	۵/۹۳±۰/۳۵ ^{ab}	۲/۸۹±۰/۰۵ ^c	۲۴۹/۷۰±۹/۰۱ ^a	۳۲/۵۰±۲/۵۲ ^a	۱۴۵/۸۸±۵/۹۵ ^a	C
۰/۴۱±۰/۰۳۶ ^a	۶/۳۰±۰/۵۵ ^a	۲/۸۶±۰/۰۳ ^c	۲۴۵/۰۲±۹/۵۶ ^a	۳۲/۴۶±۰/۵۵ ^a	۱۳۱/۴۷±۴/۲۷ ^{bc}	FC
۰/۳۹±۰/۰۲۶ ^a	۴/۰۴±۰/۱۵ ^c	۳/۲۴±۰/۰۳ ^a	۲۲۴/۸۰±۷/۰ ^b	۲۶/۴۹±۳/۱۳ ^b	۹۱/۳۸۰±۲/۲۹ ^d	FP1
۰/۳۱±۰/۰۰۵ ^b	۵/۱۶±۰/۳۰ ^b	۳/۲۷±۰/۰۶ ^a	۲۱۹/۷۷±۴/۰۲ ^b	۲۲/۹۳±۲/۰ ^b	۱۳۷/۴۲±۶/۵۳ ^b	FP2
۰/۳۸±۰/۰۵۵ ^a	۵/۹۸±۰/۷۰ ^{ab}	۳/۰±۰/۱۰ ^b	۲۳۰/۹۴±۲/۰ ^b	۲۶/۴۷±۰/۶۵ ^b	۱۳۰/۳۵±۲/۳۸ ^{bc}	FL1
۰/۳۵±۰/۰۱۰ ^{ab}	۵/۱۲±۰/۴۵ ^b	۳/۲۶±۰/۰۶ ^a	۲۱۹/۷۶±۳/۷۶ ^b	۲۳/۲۶±۳/۵۲ ^b	۱۲۳/۵۷±۲/۴۵ ^c	FL2
NS	P=۰/۰۰۷	NS	NS	NS	P<۰/۰۰۱	اثر پری‌بیوتیک
P=۰/۰۱۹	NS	P<۰/۰۰۱	P=۰/۰۱۵	P=۰/۰۵۳	P<۰/۰۰۱	اثر دوز مصرفی
NS	P=۰/۰۰۵	NS	NS	NS	P<۰/۰۰۱	اثر متقابل

حروف غیرهمنام در هر ستون بیانگر اختلاف معنی‌دار آماری بین تیمارهای آزمایشی است (P<۰/۰۵).

و سطح معنی‌داری قابل قبول در کلیه آزمون‌های آماری به صورت $P < 0.05$ در نظر گرفته شد. برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Microsoft Office Excel نسخه ۲۰۱۶ استفاده شد.

۳ | نتایج

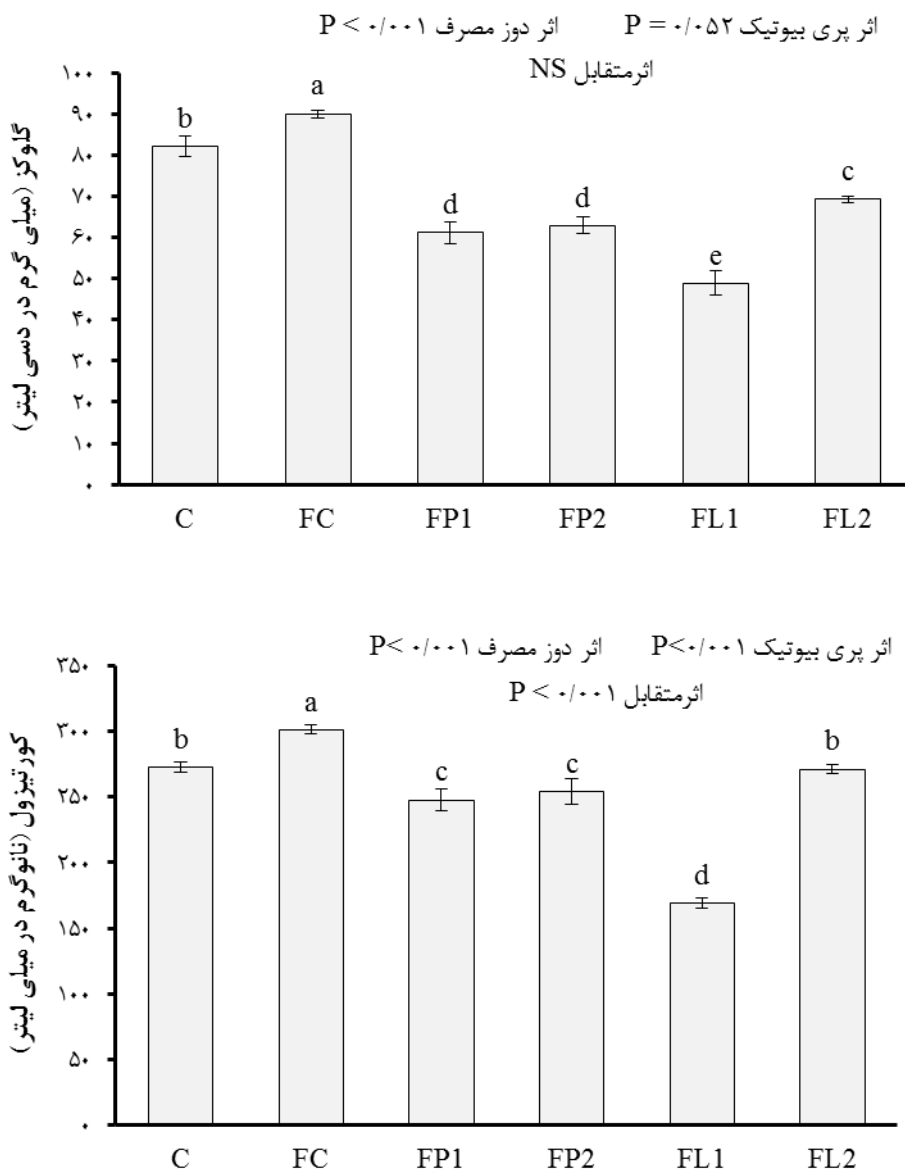
پاسخ متابولیکی ماهی کپور معمولی تغذیه شده با پری‌بیوتیک سانپار در سیستم بیوفلاک نحت استرس صید در جدول ۱ ارائه شده است. غلظت آنزیم ALP بین تیمارهای آزمایشی تفاوت معنی‌دار آماری داشت که بیشترین و کمترین مقدار آن به ترتیب در تیمارهای C و FP1 به دست آمد ($P < 0.05$). غلظت آنزیم‌های ALT و AST در تیمارهای C و FC در مقایسه با تیمارهای دیگر افزایش معنی‌دار آماری داشت ($P < 0.05$). پروتئین کل در تیمارهای پری‌بیوتیکی افزایش معنی‌دار آماری نشان داد ($P < 0.05$). بیشترین و کمترین مقدار غلظت اوره به ترتیب در تیمارهای FC و FP1 به دست آمد. کراتینین سرم خون تنها در تیمار FP2 کاهش معنی‌دار آماری داشت ($P < 0.05$). نتایج آنالیز واریانس دوطرفه نشان داد که مصرف پری‌بیوتیک توانست بر آنزیم‌های ALP و اوره سرم خون ماهی کپور معمولی تحت استرس صید در محیط بیوفلاک اثر معنی‌دار آماری داشته باشد ($P < 0.05$).

نتایج به دست از آنالیز مقادیر گلوکز و کورتیزول

شاخص‌های خون‌شناسی: برای فاکتورهای خون‌شناسی مانند تعداد گلبول‌های سفید (WBC) و گلبول‌های قرمز (RBC) با استفاده از لام هموسیترومتر نتوبار، درصد هماتوکریت (HCT) به روش استاندارد میکروهماتوکریت، غلظت هموگلوبین (Hb) به روش سیات‌مت هموگلوبین (Feldman, 2000) سنجش شد. ضرایب گلبولی (MCV، MCH، MCHC) از طریق فرمول‌های ذیل اندازه‌گیری گردید (Lee et al., 1998).

MCV = $(HCT/RBC) \times 10$, MCH = $(Hb/RBC) \times 10$, MCHC = $(Hb/RBC) \times 100$
 به منظور شمارش تفریقی گلبول‌های سفید (نوتروفیل، لنفوسیت و منوسیت‌ها) نیز گسترش خونی روی لام‌های شیشه‌ای معمولی تهیه و به روش گیمسا رنگ‌آمیزی و نتایج برحسب درصد به دست آمد (Pathiratne and Rajapakshe, 1998).

تجزیه و تحلیل آماری: مقایسه میانگین داده‌های بین تیمارهای آزمایشی (انحراف معیار ± میانگین) با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-Way ANOVA) و توسط آزمون چند دامنه دانکن تجزیه و تحلیل شدند. قبل از آنالیز، نرمال بودن داده‌ها توسط آزمون Shapiro-Wilk بررسی شد. از آنالیز واریانس دوطرفه (Two-Way ANOVA) برای بررسی اثر متقابل (اثر پری‌بیوتیک پودری و مایع و اثر دو سطح از دوز مصرفی) استفاده شد. تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار IBM SPSS Statistics نسخه ۱۶ انجام گردید



شکل ۱- تغییرات شاخص استرس سرم خون ماهی کپور معمولی تحت استرس صید در محیط بیوفلاک. حروف غیرهمنام در هر ستون نشان از اختلاف معنی‌دار آماری بین تیمارهای آزمایشی است ($P < 0.05$).

متقابل نشان داد که پری‌بیوتیک (پودری و مایع) و دوز مصرف می‌تواند به‌طور همزمان بر شاخص کورتیزول اثر معنی‌دار آماری داشته باشد ($P < 0.05$).

سنجش شاخص‌های خون‌شناسی ماهی تحت استرس صید در جدول ۲ ارائه شده است. تعداد گلبول‌های سفید در تیمار FC در مقایسه با دیگر تیمارهای آزمایشی افزایش معنی‌دار آماری داشت ($P < 0.05$). بیشترین تعداد گلبول‌های قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت در تیمارهای شاهد C و FC به‌دست آمد. نوتروفیل بین تیمارهای مختلف آزمایشی

سرم خون ماهی کپور تحت استرس صید در محیط بیوفلاک در شکل ۱ نشان داده شده است. غلظت گلوکز بین تیمارهای آزمایشی اختلاف آماری معنی‌داری داشت به‌طوری‌که بیشترین و کمترین آن به‌ترتیب در تیمارهای FC و FL1 به‌دست آمد ($P < 0.05$). بررسی اثر متقابل نشان داد که غلظت گلوکز سرم ماهی تحت تأثیر همزمان پری‌بیوتیک و دوز مصرف قرار نمی‌گیرد ($P > 0.05$). غلظت کورتیزول در تیمار FC در مقایسه با تیگر تیمارهای آزمایشی افزایش معنی‌دار آماری داشت ($P < 0.05$). آنالیز دوطرفه برای بررسی اثر

جدول ۲- اثرات صید بر شاخص‌های خون‌شناسی ماهی کپور تغذیه شده با پری‌بیوتیک سانبار در سیستم بیوفلاک

FL2	FL1	FP2	FP1	تیمارهای آزمایشی		
				بیوفلاک (FC)	آب تمیز (C)	
۳/۸۰±۰/۳ ^{ab}	۳/۶۵±۰/۴ ^{ab}	۳/۵۰±۰/۲ ^b	۳/۵۵±۰/۱ ^b	۴/۰۵±۰/۱۵ ^a	۳/۳۸±۰/۲ ^b	گلبول سفید (هزار/mm ³)
۱/۲۴±۰/۱۲ ^c	۱/۳۲±۰/۰۳۵ ^{ab}	۱/۳۱±۰/۰۴ ^{ab}	۱/۲۷±۰/۰۳۵ ^{bc}	۱/۳۳±۰/۰۳۲ ^a	۱/۳۴±۰/۰۱۵ ^a	گلبول قرمز (میلیون/mm ³)
۶/۶۵±۰/۱۵ ^c	۷/۰۵±۰/۱۵ ^b	۷/۱۰±۰/۱۰ ^b	۶/۸۳±۰/۰۶ ^{bc}	۷/۵۰±۰/۱۰ ^a	۷/۵۴±۰/۲۵ ^a	هموگلوبین (g/dL)
۲۹/۴۸±۰/۵ ^d	۳۰/۹۲±۱/۰ ^{bc}	۳۱/۹۹±۰/۲۲ ^b	۳۰/۴۹±۰/۵ ^{cd}	۳۳/۵۹±۰/۴۷ ^a	۳۳/۷۰±۰/۸۸ ^a	هماتوکریت (%)
۲۳۶/۱۵±۱/۶۱ ^{ab}	۲۳۳/۵۰±۱/۵ ^{bc}	۲۳۷/۴۸±۰/۵ ^a	۲۳۷/۳۳±۲/۵۱ ^a	۲۳۲/۴۰±۱/۵ ^c	۲۳۹/۳۸±۲/۵ ^a	(fI) MCV
۵۳/۴۴±۰/۶۵ ^a	۵۳/۱۳±۰/۲۵ ^{ab}	۵۲/۱۵±۰/۴۵ ^b	۵۲/۷۵±۰/۱۵ ^{ab}	۵۳/۵۰±۰/۵ ^a	۵۳/۷۲±۱/۰۵ ^a	(Pg) MCH
۲۲/۵۰±۰/۱۰ ^{ab}	۲۲/۷۴±۰/۲۵ ^a	۲۲/۲۲±۰/۲۵ ^b	۲۲/۱۳±۰/۳۵ ^b	۲۲/۴۹±۰/۳ ^{ab}	۲۲/۳۸±۰/۲ ^{ab}	(g/dL) MCHC
۱۲/۵۲±۰/۵ ^o	۱۲/۵۰±۱/۵ ^o	۱۲/۰۱±۱/۰ ^o	۱۱/۰۲±۱/۰ ^o	۱۲/۴۶±۰/۵ ^o	۱۲/۴۳±۰/۵ ^o	نوتروفیل ها (%)
۸۳/۵۰±۰/۵ ^{ab}	۸۵/۱۳±۱/۶۳ ^a	۸۳/۶۰±۰/۵۳ ^{ab}	۸۴/۵۰±۰/۵ ^a	۸۲/۵۲±۱/۵ ^{ab}	۸۱/۴۴±۲/۵ ^b	لنفوسیت ها (%)
۳/۹۰±۰/۱۷ ^{bc}	۵/۰۰±۱/۰ ^a	۳/۹۴±۰/۰۹ ^{bc}	۳/۳۸±۰/۵۴ ^c	۵/۵۰±۰/۵ ^a	۴/۵۱±۰/۵ ^{ab}	مونوسیت ها (%)

حروف غیرهمنام در هر ردیف بیانگر اختلاف معنی‌دار آماری بین تیمارهای آزمایشی است ($P < 0.05$).

جدول ۳- اثر متقابل پری‌بیوتیک و دوز مصرف بر تغییرات شاخص‌های خون‌شناسی ماهی کپور تحت استرس صید در سیستم بیوفلاک

آنالیز دو طرفه			
اثر متقابل	اثر دوز مصرفی	اثر پری‌بیوتیک	
NS	NS	NS	گلبول سفید (هزار/mm ³)
P=۰/۰۱۴	NS	NS	گلبول قرمز (میلیون/mm ³)
P=۰/۰۰۱	NS	NS	هموگلوبین (g/dL)
P=۰/۰۰۴	NS	P=۰/۰۲۱	هماتوکریت (%)
NS	NS	P=۰/۰۳۰	(fI) MCV
NS	NS	P=۰/۰۰۹	(Pg) MCH
NS	NS	P=۰/۰۱۸	(g/dL) MCHC
NS	NS	NS	نوتروفیل ها (%)
NS	P=۰/۰۴۶	NS	لنفوسیت ها (%)
P=۰/۰۳۷	NS	P=۰/۰۴۶	مونوسیت ها (%)

عامل بر فاکتورهای ذکر شده اثر متقابل داشت ($P < 0.05$).

پاسخ متابولیکی ماهی کپور معمولی تغذیه شده با پری‌بیوتیک سانبار در سیستم بیوفلاک تحت استرس حمل و نقل در جدول ۴ ارائه شده است. آنزیم‌های کبدی (ALP، ALT و AST) در تیمار شاهد با آب تمیز C افزایش معنی‌دار آماری داشت. پروتئین سرم خون در تیمار FP2 به بیشترین مقدار و در تیمار FC به کمترین مقدار رسید. غلظت اوره و کراتینین در تیمار C افزایش معنی‌دار آماری داشت.

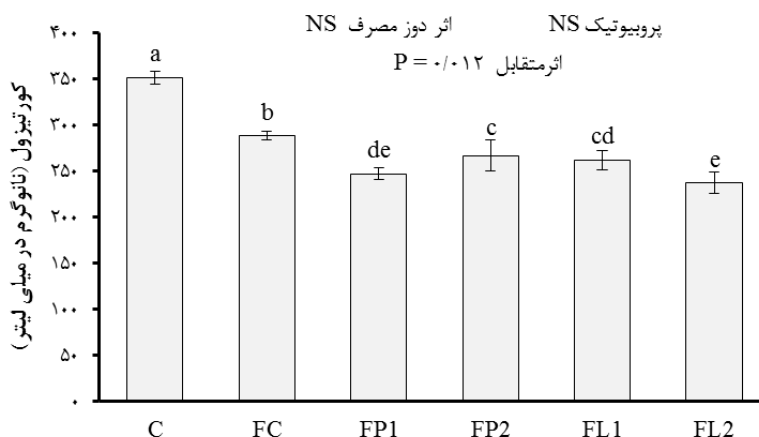
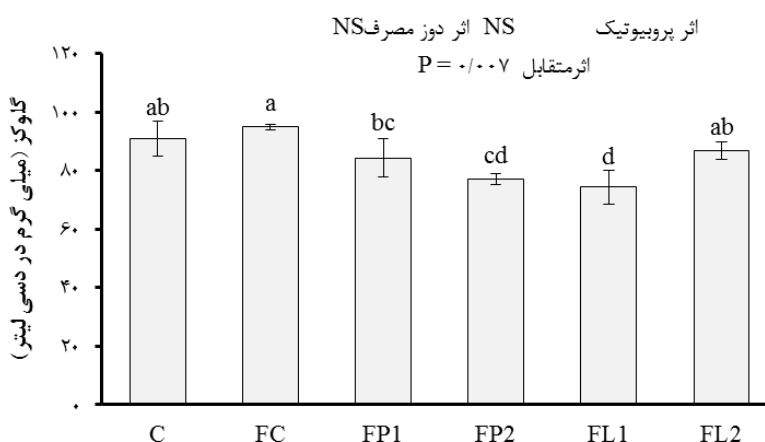
تفاوت آماری نداشت ($P > 0.05$). در تیمار FP1 بیشترین درصد لنفوسیت و کمترین درصد مونوسیت مشاهده شد.

اثر متقابل پری‌بیوتیک و دوز مصرف بر تغییرات شاخص‌های خون‌شناسی ماهی کپور تحت استرس صید در سیستم بیوفلاک در جدول ۳ ارائه شده است. تعداد گلبول‌های سفید تحت تأثیر مجزای پری‌بیوتیک و دوز مصرف و اثر همزمان این دو عامل قرار نگرفت ($P > 0.05$). پری‌بیوتیک و دوز مصرف به‌طور مجزا بر تعداد گلبول‌های قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت اثر معنی‌داری نداشت ($P > 0.05$) در حالی که این دو

جدول ۴- اثرات حمل و نقل بر شاخص‌های متابولیکی ماهی کپور معمولی تغذیه شده با پری بیوتیک سانبار در سیستم بیوفلاک

کراتینین (mg/dl)	اوره (mg/dl)	پروتئین (g/dl)	AST (u/l)	ALT (u/l)	ALP (u/l)	
۰/۴۴۶±۰/۰۲۵ ^a	۷/۳۱±۰/۴۵ ^a	۳/۲۶±۰/۰۶ ^b	۲۷۶/۸۹±۸/۰۰ ^a	۴۰/۰۴±۱/۷۳ ^a	۱۱۴/۸۲±۸/۹۲ ^a	C
۰/۴۴۰±۰/۰۲۶ ^{ab}	۷/۰۳±۰/۱۶ ^{ab}	۲/۴۷±۰/۱۱ ^e	۲۷۷/۵۷±۳/۱۶ ^a	۳۵/۹۲±۱/۰۰ ^b	۹۷/۶±۳/۵۰ ^b	FC
۰/۳۶۰±۰/۰۵۵ ^c	۶/۴۶±۰/۳۰ ^{bc}	۲/۹۰±۰/۰۳ ^c	۲۶۰/۱۶±۳/۵۴ ^b	۳۵/۰۰±۱/۰۰ ^b	۱۰۶/۵۳±۵/۸۸ ^{ab}	FP1
۰/۳۷۰±۰/۰۲۰ ^c	۵/۶۶±۰/۴۰ ^d	۳/۴۲±۰/۰۹ ^a	۲۵۲/۴۹±۳/۵۰ ^b	۳۵/۸۳±۱/۰۳ ^b	۱۱۲/۶۶±۶/۰۴ ^a	FP2
۰/۳۸۶±۰/۰۲۰ ^{bc}	۵/۹۶±۰/۳۰ ^{cd}	۲/۷۲±۰/۰۹ ^d	۲۳۰/۷۲±۲/۱۳ ^c	۳۱/۱۲±۱/۹۰ ^c	۱۱۰/۲۰±۶/۵۲ ^a	FL1
۰/۳۶۰±۰/۰۱۷ ^c	۶/۱۶±۰/۱۲ ^{cd}	۲/۶۴±۰/۰۶ ^d	۲۲۲/۳۰±۲/۵۲ ^d	۲۳/۱۶±۱/۶۰ ^d	۱۰۵/۱۴±۵/۵۳ ^{ab}	FL2
NS	NS	$P<۰/۰۰۱$	$P<۰/۰۰۱$	$P<۰/۰۰۱$	NS	اثر پری بیوتیک
NS	NS	$P=۰/۰۰۱$	$P=۰/۰۰۲$	$P=۰/۰۰۳$	NS	اثر دوز مصرفی
NS	$P=۰/۰۲۴$	$P<۰/۰۰۱$	NS	$P=۰/۰۰۱$	NS	اثر متقابل

حروف غیرهمنام در هر ردیف بیانگر اختلاف معنی‌دار آماری بین تیمارهای آزمایشی است ($P<۰/۰۰۵$).



شکل ۲- تغییرات شاخص استرس سرم خون ماهی کپور معمولی تحت استرس حمل و نقل در محیط بیوفلاک. حروف غیرمشابه در هر ستون بیانگر اختلاف معنی‌دار آماری بین تیمارهای آزمایشی است ($P<۰/۰۰۵$).

($P<۰/۰۰۵$). نتایج به دست از آنالیز مقادیر گلوکز و کورتیزول سرم خون ماهی کپور تحت استرس حمل و نقل در محیط بیوفلاک در شکل ۲ نشان داده شده است. غلظت گلوکز سرم خون ماهی تحت تأثیر استرس

نتایج آنالیز واریانس دوطرفه نشان داد که مصرف پری بیوتیک توانست بر آنزیم‌های ALT، پروتئین و اوره سرم خون ماهی کپور معمولی تحت استرس حمل و نقل در محیط بیوفلاک اثر معنی‌دار آماری داشته باشد

جدول ۵- اثرات حمل و نقل بر شاخص‌های خون‌شناسی ماهی کپور تغذیه شده با پری‌بیوتیک سانپار در سیستم بیوفلاک

تیمارهای آزمایشی						
FL2	FL1	FP2	FP1	بیوفلاک (FC)	آب تمیز (C)	
۴/۶۰±۰/۳۰ ^{ab}	۴/۶۰±۰/۱۰ ^{ab}	۴/۴۷±۰/۱۷ ^b	۵/۱۰±۰/۲۰ ^a	۴/۲۰±۰/۳۰ ^b	۳/۵۵±۰/۴۵ ^c	گلبول سفید (هزار/mm ³)
۱/۱۴±۰/۰۴ ^c	۱/۲۵±۰/۰۴ ^{ab}	۱/۱۹±۰/۰۵ ^{bc}	۱/۱۷±۰/۰۳ ^c	۱/۲۸±۰/۰۲ ^a	۱/۳۱±۰/۰۲ ^a	گلبول قرمز (میلیون/mm ³)
۶/۱۱±۰/۲۱ ^b	۶/۵۵±۰/۳۵ ^{ab}	۶/۳۵±۰/۳۵ ^{ab}	۶/۱۰±۰/۲۰ ^a	۶/۷۰±۰/۲۶ ^{ab}	۷/۰۴±۰/۹۶ ^a	هموگلوبین (g/dL)
۲۷/۰۰±۱/۰۰ ^c	۳۰/۰۱±۱/۰۲ ^{ab}	۲۸/۵۰±۱/۵۰ ^{bc}	۲۶/۷۱±۱/۵۴ ^c	۳۰/۵۰±۰/۵۰ ^{ab}	۳۱/۲۱±۱/۳۲ ^a	هماتوکریت (%)
۲۳۵/۷۳±۱/۴۲ ^d	۲۳۹/۵۰±۰/۵۰ ^{ab}	۲۳۸/۰۰±۱/۰۰ ^{bc}	۲۳۱/۴۶±۱/۳۶ ^e	۲۳۷/۴۹±۰/۵۰ ^{cd}	۲۴۰/۰۰±۱/۰۰ ^a	MCV (fL)
۵۳/۳۵±۰/۲۵ ^a	۵۳/۰۷±۰/۱۲ ^a	۵۲/۶۳±۰/۶۵ ^a	۵۱/۲۶±۰/۷۵ ^b	۵۲/۹۷±۰/۹۴ ^a	۵۳/۴۲±۰/۱۰ ^a	MCH (Pg)
۲۲/۶۱±۰/۰۷ ^a	۲۱/۷۳±۰/۴۵ ^b	۲۲/۲۸±۰/۰۹ ^{ab}	۲۲/۵۲±۰/۰۷ ^a	۲۲/۲۵±۰/۳۵ ^{ab}	۲۲/۶۰±۰/۵۲ ^a	MCHC (g/dL)
۱۳/۶۲±۰/۶۹ ^{ab}	۱۴/۴۶±۰/۴۴ ^a	۱۳/۵۵±۱/۵۳ ^{ab}	۱۳/۰۰±۰/۲۰ ^{ab}	۱۲/۵۰±۱/۵۰ ^b	۱۳/۱۶±۰/۷۶ ^{ab}	نوتروفیل‌ها (%)
۸۱/۰۰±۱/۰۰	۸۰/۶۲±۱/۳۱	۸۰/۰۰±۱/۰۰	۸۲/۱۶±۱/۷۶	۸۱/۵۴±۱/۵۶	۸۱/۷۳±۰/۴۰	لنفوسیت‌ها (%)
۵/۶۹±۱/۲۴ ^a	۴/۵۶±۰/۴۰ ^{ab}	۵/۵۰±۰/۵۰ ^{ab}	۴/۰۴±۰/۵۰ ^b	۵/۶۳±۰/۷۰ ^a	۴/۰۰±۱/۰۰ ^b	مونوسیت‌ها (%)

حروف غیرهمنام در هر ردیف بیانگر اختلاف معنی‌دار آماری بین تیمارهای آزمایشی است ($P < 0.05$).

جدول ۶- اثر متقابل پری‌بیوتیک و دوز مصرف بر تغییرات شاخص‌های خون‌شناسی ماهی کپور تحت استرس حمل و نقل در سیستم بیوفلاک

آنالیز دوطرفه			
اثر متقابل	اثر دوز مصرفی	اثر پری‌بیوتیک	
P=۰/۰۳۱	P=۰/۰۳۱	NS	گلبول سفید (هزار/mm ³)
P=۰/۰۳۷	NS	NS	گلبول قرمز (میلیون/mm ³)
NS	NS	NS	هموگلوبین (g/dL)
P=۰/۰۱۲	NS	NS	هماتوکریت (%)
P<۰/۰۰۱	NS	P=۰/۰۰۲	MCV (fL)
NS	P=۰/۰۲۴	P=۰/۰۰۳	MCH (Pg)
P=۰/۰۰۳	P=۰/۰۴۵	NS	MCHC (g/dL)
NS	NS	NS	نوتروفیل‌ها (%)
NS	NS	NS	لنفوسیت‌ها (%)
NS	P=۰/۰۱۷	NS	مونوسیت‌ها (%)

کپور تحت تأثیر معنی‌دار همزمان پری‌بیوتیک و دوز مصرف قرار می‌گیرد ($P < 0.05$).

سنجش شاخص‌های خون‌شناسی ماهی تحت استرس حمل و نقل در جدول ۵ ارائه است. بیشترین و کمترین تعداد گلبول‌های سفید به ترتیب در تیمارهای FP1 و C به دست آمد. گلبول‌های قرمز در تیمارهای شاهد C و FC افزایش معنی‌دار آماری داشت ($P < 0.05$). بیشترین مقدار هماتوکریت و MCV در تیمار شاهد C و کمترین آنها در تیمار FP1 به دست آمد. هموگلوبین در تیمارهای C و FP1 در مقایسه با

حمل و نقل نشان داد که بیشترین و کمترین مقادیر به دست آمده به ترتیب در تیمارهای FC و FL1 بود. در شرایط استرس غلظت گلوکز سرم خون ماهی کپور به طور معنی‌داری تحت تأثیر همزمان پری‌بیوتیک و دوز مصرف قرار می‌گیرد ($P < 0.05$). غلظت کورتیزول سرم خون ماهی تحت استرس حمل و نقل به طور معنی‌دار در تیمار شاهد C در مقایسه با دیگر تیمارهای آزمایشی افزایش یافت ($P < 0.05$). آنالیز واریانس دوطرفه برای بررسی اثر متقابل نشان داد که در شرایط استرس حمل و نقل غلظت کورتیزول سرم خون ماهی

آبزی‌پروری از مهمترین مسائل روز در خصوص بهبود شرایط نگهداری ماهیان و نیز افزایش محصول است. یکی از راه‌های افزایش مقاومت فیزیولوژیکی آبزیان در برابر انواع استرس‌ها استفاده از محرک‌ها و مواد سودمند در جیره غذایی و یا محیط پرورش می‌باشد. پری‌بیوتیک‌ها به‌عنوان محرک سودمند به‌طور انتخابی با تحریک رشد برخی از باکتری‌ها می‌توانند بر سلامت میزبان از طریق تقویت سیستم ایمنی کمک نمایند (Zhang *et al.*, 2012). در این تحقیق به‌منظور افزایش توان فیزیولوژیکی ماهی کپور پرورش یافته در محیط بیوفلاک در برابر استرس‌های صید و حمل و نقل از پری‌بیوتیک تجاری سانبار (پودری و محلول) استفاده شد. سنجش فعالیت‌های متابولیکی سرم خون و شاخص‌های خون‌شناسی به‌طور عمده در تشخیص وضعیت فیزیولوژی ماهی و تعیین حالت عمومی سلامت آبزی مورد استفاده قرار می‌گیرد. به‌همین دلیل می‌توان اطلاعات تشخیصی قابل توجهی را در برابر استرس‌های ناشی از بروز بیماری‌ها، شرایط بهداشتی و سلامتی (Adhikari *et al.*, 2004; Harikrishnan *et al.*, 2011) و همچنین استرس ناشی از صید و حمل و نقل ارائه دهد. آنزیم‌های کبدی آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) و آلکانین فسفاتاز (ALP) به‌عنوان شاخص استاندارد جهت بررسی اختلالات کبدی و سلامت در موجودات استفاده می‌شود. نتایج به‌دست آمده از سنجش آنزیم‌های کبدی (ALT، ALP و AST) سرم خون ماهی کپور تحت استرس صید نشان داد که بیشترین غلظت این فاکتورها در تیمارهای شاهد (C) و فلاک بدون پری‌بیوتیک (FC) در مقایسه با تیمارهای بیوفلاکی حاوی پری‌بیوتیک به‌دست آمد. در زمان بروز استرس حمل و نقل بیشترین مقادیر آنزیم‌های کبدی در تیمار شاهد C به‌دست آمد. در این ارتباط مطالعاتی در خصوص بکارگیری پری‌بیوتیک در جیره غذایی ماهی کپور انجام شده است که بیانگر اثرات مفید این ترکیبات زیستی بر فعالیت‌های آنزیم‌های کبدی می‌باشد (Imran *et al.*, 2019; Ziółkowska *et al.*, 2019).

دیگر تیمارهای آزمایشی تفاوت آماری معنی‌داری داشت ($P < 0.05$). مقادیر لنفوسیت بین تیمارهای مختلف آزمایشی تفاوت آماری نداشت ($P > 0.05$). بیشترین درصد مونوسیت در تیمارهای FC و FL2 و کمترین آن در تیمارهای C و FP1 ثبت شد. اثرمتقابل پری‌بیوتیک و دوز مصرف بر تغییرات شاخص‌های خون‌شناسی ماهی کپور تحت استرس حمل و نقل در سیستم بیوفلاک در جدول ۶ ارائه شده است. دو عامل پری‌بیوتیک و دوز مصرفی به‌طور معنی‌داری بر تعداد گلبول‌های سفید، تعداد گلبول‌های قرمز و هماتوکریت اثرمقابل داشت ($P < 0.05$). پری‌بیوتیک و دوز مصرف به‌طور مجزا و همزمان (اثر متقابل) بر مقادیر هموگلوبین، نوتروفیل و لنفوسیت اثر معنی‌دار آماری نداشتند ($P > 0.05$).

۴ | بحث

در صنعت آبزی‌پروری استفاده از تکنولوژی‌های نوین جهت استفاده بهینه از منابع آبی، کاهش آلودگی ناشی از تخلیه مواد نیتروژنی به اکوسیستم‌ها، افزایش پایداری در تولید آبزیان مورد توجه قرار گرفته است (Ahmad *et al.*, 2022). یکی از سیستم‌های جدید در این خصوص، تکنولوژی بیوفلاک است که به‌عنوان یکی از ابزارهای توسعه آبزی‌پروری می‌تواند به‌طور همزمان بر شرایط محیطی و اقتصادی اثرگذار باشد (Crab *et al.*, 2012). اساس کار این تکنولوژی بهبود کیفیت آب (مصرف ترکیبات نیتروژن‌دار مانند آمونیاک و نیترات توسط باکتری‌های هتروتروفیک محیط آب به‌منظور ازدیاد جمعیت) و تولید غذا (پروتئین میکروبی) به‌صورت متوالی در شبانه روز می‌باشد (Imran and Najim, 2019)، از این‌رو محیط بیوفلاک به‌عنوان یک محیط ضد استرس برای پرورش آبزیان معرفی گردیده است (Adineh *et al.*, 2019). در صنعت آبزی‌پروری قرار گرفتن ماهی در معرض عوامل استرس‌زای خارجی مانند صید، رقم‌بندی، حمل و نقل و افزایش تراکم پرورش می‌تواند منجر به بروز استرس شود. درک ماهیت پاسخ فیزیولوژیکی ماهی به تنش‌های مربوط به

زیستی ماهی در محیط بیوفلاک مناسب می‌باشد. بیوفلاک منبع غنی از ترکیبات زیست‌فعال مانند کاروتنوئیدها، فیتوستولها، کلروفیلها، بروموفنلها، قندهای آمینو است که در تقویت سیستم ایمنی نقش ایفا می‌کنند (Ju *et al.*, 2008; Crab *et al.*, 2010). محیط بیوفلاک می‌تواند تحت تأثیر عوامل متعددی همچون تراکم ذخیره‌سازی، دستکاری، نسبت کربن به ازت، درجه حرارت، اکسیژن محلول، مقادیر پروتئین جیره، نوع منبع کربنی، نوع گونه آبی و غیره قرار گرفته و شرایط زیستی در هر زمان تغییر یابد بنابراین با بررسی برخی از فاکتورهای ایمنی و شاخص‌های خون‌شناسی می‌توان تا حدودی شرایط زیستی آبی را پیش‌بینی کرد.

محققین به‌منظور تقویت سیستم ایمنی ماهی در برابر استرس‌ها از برخی مکمل‌های غذایی در جیره غذایی آبزیان استفاده می‌کنند. در مطالعه حاضر به‌منظور کاهش استرس صید و حمل و نقل از پری‌بیوتیک تجاری سانیار به دو شکل پودری در غذا و مایع در آب استفاده شد. همسو با پژوهش ما، گزارش شده است که بکارگیری ۱ درصد مکمل زردچوبه در جیره غذایی می‌تواند باعث بهبود اثرات نامطلوب حمل و نقل در ماهی کپور معمولی شود (Hoseini *et al.*, 2022). همچنین در تحقیقی گزارش شده است که عصاره آلوئه‌ورا منجر به بهبود پارامترهای ایمنی و افزایش توانایی ماهی به مقابله با عوامل بیماری‌زا به دنبال استرس حمل و نقل شد (Zanuzzo *et al.*, 2017).

در اغلب ماهیان اندازه‌گیری پارامترهای خون‌شناسی به‌عنوان شاخص‌های استرس استفاده می‌شود چراکه زمانی که ماهی در معرض استرس حاد یا مزمن قرار می‌گیرد تغییرات عمده‌ای در پروفایل هماتولوژیک به‌وجود می‌آید. در ماهی‌های تحت استرس، اغلب افزایش گلبول‌های قرمز، غلظت هموگلوبین و هماتوکریت مشاهده می‌شود (Dobšíková *et al.*, 2009). نتایج نشان داد استرس

در کبد ماهی آمونیاک تبدیل به اوره می‌شود بنابراین توانایی ماهی در حذف آمونیاک و تبدیل آن به اوره بستگی به حساسیت ماهی به آمونیاک دارد (Jafaryan *et al.*, 2022). غلظت اوره خون در مواجهه ماهی در برابر استرس صید در تیمار FC و در زمان اعمال استرس حمل و نقل در تیمار شاهد C به بیشترین مقدار خود رسید. استرس صید باعث شد تا غلظت کراتینین در همه تیمارهای (به‌جز تیمار FP2) افزایش یابد در حالی که بیشترین مقدار غلظت آن در زمان بروز استرس حمل و نقل در تیمار شاهد C به‌دست آمد. کراتین به‌میزان زیادی در سلول‌های ماهیچه‌ای، بافت قلب، آبشش، کلیه و مغز جانوران یافت می‌شود که در اثر آسیب به سلول‌ها می‌تواند به درون خون آزاد شود (Perrault *et al.*, 2017; Pagano *et al.*, 2019)، بنابراین افزایش فعالیت کراتینین را می‌توان به آسیب وارده به عضلات و کلیه ماهی‌ها نسبت داد.

سنجش شاخص‌های استرس همچون گلوکز و کورتیزول می‌تواند در تشخیص وجود استرس در محیط پرورش کمک شایانی نماید (Kühlwein *et al.*, 2014). در این پژوهش استرس صید باعث افزایش معنی‌دار غلظت گلوکز و کورتیزول سرم خون ماهیان تیمار FC در مقایسه با دیگر تیمارهای آزمایشی شد. غلظت کورتیزول تحت استرس حمل و نقل در تیمار شاهد C افزایش معنی‌دار آماری داشت. نتایج حاصل از شاخص‌های استرس نشان‌دهنده تأثیر مثبت استفاده از پری‌بیوتیک سانیار (پودری و مایع) است. پری‌بیوتیک‌ها حاوی طیف وسیعی از مواد هستند که باعث رشد و تکثیر باکتری‌های اسیدلاکتیک می‌شوند و نقش بسیار مهمی در مهار رشد فلور میکروب‌های بیماری‌زا روده ایفا می‌کنند و در عین حال میکروارگانسیم‌های مفید برای میزبان را تحریک می‌کنند تا سیستم ایمنی تقویت شود (Ziółkowska *et al.*, 2020). علاوه بر این براساس نتایج به‌دست آمده از سنجش کورتیزول می‌توان اظهار داشت که شرایط

در تیمارهای مختلف آزمایشی در زمان اعمال استرس صید و حمل و نقل تفاوت آماری نداشت. مطالعات محدودی در ارتباط با بکارگیری پری‌بیوتیک در سیستم‌های بیوفلاک و تاثیر آنها بر میزان شاخص‌های خونی در ماهیان تحت استرس صید و حمل و نقل صورت گرفته است. در این خصوص گزارش شده است که استفاده از پری‌بیوتیک سلماناکس در حمل و نقل ۱۲ ساعته منجر به کاهش شاخص‌های استرس خون در ماهی کپور معمولی شد (Ranjdoust *et al.*, 2017). در همین راستا مشخص گردید مکمل‌سازی پری‌بیوتیک سلماناکس و مخلوط باسیلوس‌های پروبیوتیکی در جیره ماهیان کپور معمولی نقش به‌سزایی را در کاهش شاخص‌های استرس ناشی از حمل و نقل طولانی‌مدت این ماهی داشت به‌طوری‌که در تیمارهای تحت تاثیر پری‌بیوتیک و پروبیوتیک‌ها، شاخص‌های خونی نظیر کورتیزول، قند خون و آنزیم کبدی آلانین آمینو ترانسفراز به‌طور معنی‌داری در مقایسه با گروه شاهد کاهش یافت (Ranjdoust *et al.*, 2019).

۵ | نتیجه‌گیری نهایی

در این تحقیق به‌منظور افزایش توان فیزیولوژیکی ماهی کپور در برابر استرس‌های صید و حمل و نقل از پری‌بیوتیک تجاری سانپار (پودری و مایع) در محیط بیوفلاک استفاده شد. به‌طور کلی نتایج نشان داد که استفاده از پری‌بیوتیک تجاری سانپار در محیط بیوفلاک باعث بهبود نسبی فعالیت‌های متابولیکی، شاخص‌های استرس و پارامترهای خون‌شناسی ماهی کپور در شرایط استرس صید و حمل و نقل می‌گردد.

۶ | ملاحظات اخلاقی

تعارض منافع بین نویسندگان وجود ندارد.

تقدیر و تشکر

این پژوهش با حمایت مالی دانشگاه گنبد کاووس انجام شده است. از همه همکاران که در اجرای این تحقیق ما را یاری نمودند کمال تشکر و قدردانی را داریم.

صید باعث افزایش تعداد گلبول‌های قرمز، غلظت هموگلوبین و هماتوکریت ماهیان در تیمارهای شاهد C و FC شد، درحالی‌که این تغییرات تنها در تیمار شاهد تحت استرس حمل و نقل به‌دست آمد. در تحقیقی برای کاهش استرس ناشی از حمل و نقل از پروبیوتیک پروتوکسین استفاده شد و نتایج نشان داد که استرس ناشی از حمل و نقل باعث ایجاد تغییرات معنی‌داری در سطوح گلبول سفید، هماتوکریت، هموگلوبین، MCHC، MCH، MCV و شمارش افتراقی لکوسیت‌ها بین تیمارهای مختلف آزمایشی شد اما تأثیرات معنی‌داری در سطوح گلبول قرمز و هموگلوبین نداشت (Jafaryan *et al.*, 2019). پری‌بیوتیک‌ها جذب کاتیون‌های دو ظرفیتی را سبب می‌شوند که با توجه به نتایج به‌دست آمده در مطالعه حاضر می‌توان اظهار داشت که پری‌بیوتیک جیره می‌تواند جذب آهن را افزایش دهد (Ranjdoust *et al.*, 2017). در موقعیت استرس‌زا افزایش درصد هماتوکریت و غلظت هموگلوبین در پاسخ به تقاضای متابولیکی بالاتر منجر به افزایش ظرفیت حمل اکسیژن توسط خون و در نتیجه تأمین نیاز اکسیژنی بافت‌های اصلی می‌شود. افزایش سریع تعداد گلبول‌های قرمز (که باعث افزایش حتی ۲۵ درصدی هماتوکریت می‌شود) نتیجه انقباض طحال است (Witeska, 2005). در برخی از تیمارهای تغذیه شده با پری‌بیوتیک میانگین حجم گلبول قرمز (MCV)، MCH و MCHC روند کاهشی نسبت به تیمار شاهد داشتند که کاهش حجم گلبول نشان‌دهنده عدم وجود التهاب است که سبب تسهیل حرکت و تعلیق گلبول‌های قرمز شده و سرعت رسوب آنها و تشکیل لخته‌های درون رگ را کاهش می‌دهد که یک ویژگی مثبت در فیزیولوژی دستگاه گردش خون به‌شمار می‌آید (Tangestani *et al.*, 2011). از جمله پاسخ‌های ثانویه مرتبط به شرایط استرس‌زا، افزایش سریع نوتروفیل‌ها و کاهش میزان لنفوسیت‌ها خون است که این واکنش در نتیجه افزایش ترشح کاتکول‌آمین‌ها رخ می‌دهد. در پژوهش حاضر مقادیر نوتروفیل و لنفوسیت

REFERENCES

- Adhikari S., Sarkar B., Chatterjee A., Mahapatra C.T., Ayyappan S. 2004. Effects of cypermethrin and carbofuran on certain hematological parameters and prediction of their recovery in a freshwater teleost, *Labeo rohita* (Hamilton). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 58(2): 220-226.
- Adineh H., Naderi M., Hamidi M.K., Harsij M. 2019. Biofloc technology improves growth, innate immune responses, oxidative status, and resistance to acute stress in common carp (*Cyprinus carpio*) under high stocking density. *Fish and Shellfish Immunology*, 95: 440-448.
- Adineh H., Naderi M., Jafaryan H., Khademi Hamidi M., Yousefi M., Ahmadifar E. 2022. Effect of Stocking Density and Dietary Protein Level in Biofloc System on the Growth, Digestive and Antioxidant Enzyme Activities, Health, and Resistance to Acute Crowding Stress in Juvenile Common Carp (*Cyprinus carpio*). *Aquaculture Nutrition*, 1(3): 36-42
- Ahmad A.L., Chin J.Y., Harun M.H.Z.M., Low S.C. 2022. Environmental impacts and imperative technologies towards sustainable treatment of aquaculture wastewater: A review. *Journal of Water Process Engineering*, 46(5): 102553.
- Avnimelech Y., Kochba M. 2009. Evaluation of nitrogen uptake and excretion by tilapia in biofloc tanks, using N-15 tracing. *Aquaculture*, 287: 163-168.
- Crab R., Chielens B., Wille M., Bossier P., Verstraete W. 2010. The effect of different carbon sources on the nutritional value of bioflocs, a feed for *Macrobrachium rosenbergii* post larvae. *Aquaculture Research*, 41(4): 559-567.
- Crab R., Defoirdt T., Bossier P. Verstraete W. 2012. Biofloc technology in aquaculture: beneficial effects and future challenges. *Aquaculture*, 356(2): 351-356.
- Dobšíková R., Svobodova Z., Blahova J., Modra H., Velíšek J. 2009. The effect of transport on biochemical and hematological indices of common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Czech Journal of Animal Science*, 54(11): 510-518.
- Fauji H., Budiardi T., Ekasari J. 2018. Growth performance and robustness of African Catfish *Clarias gariepinus* (Burchell) in biofloc-based nursery production with different stocking densities. *Aquaculture Research*, 49(3): 1339-1346.
- Feldman B.F., Zinkl J.G., Jian N.C. 2000. Schalm's veterinary hematology, 3rd edn. Lippincott Williams and Wilkins publication, Philadelphia, USA. pp. 32-36.
- Gang L., Huang G.L. 2008. Extraction of Two Active Polysaccharides from the Yeast Cell Wall. *Z. Naturforsch.* 63c, 919-921.
- Gibson G.R., Roberfroid M.B. 1995. Dietary modulation of the colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *Journal of Nutrition*, 125: 1401-1412.
- Harikrishnan R., Balasundaram C., Heo M.S. 2011. Impact of plant products on innate and adaptive immune system of cultured finfish and shellfish. *Aquaculture*, 317(1-4): 1-15.
- Harmon T. S. 2009. Methods for reducing stressors and maintaining water quality associated with live fish transport in tanks: a review of the basics. *Reviews in Aquaculture*, 1(1): 58-66.
- Hong J., Chen X., Liu S., Fu Z., Han M., Wang Y., Gu Z., Ma Z. 2019. Impact of fish density on water quality and physiological response of golden pompano (*Trachinotus ovatus*) fingerlings during transportation. *Aquaculture*, 507: 260-265.
- Hoseini S. M., Gupta S. K., Yousefi M., Kulikov E. V., Drukovsky S. G., Petrov A. K., Van Doan H. (2022). Mitigation of transportation stress in common carp, *Cyprinus carpio*, by dietary administration of turmeric. *Aquaculture*, 546: 737380.
- Imran S. M., Ali A. H., Najim S. M. 2019. Effect of Dietary Prebiotic Safmannan and Bio-antibiotic Fluconazole on some Growth and Haemato-immunological Parameters of Common Carp *Cyprinus carpio* Linnaeus. *Basrah Journal of Agricultural Sciences*, 32(2): 176-192.
- Jafaryan S, Jafaryan H, Bivareh M. 2019. The effect of probiotic protexin on some hematological parameters of Common carp juvenile (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758) before and after long-distance transportation in plastic baggage. *Journal of Fisheries Science and Technology*, 8 (2):75-81
- Jafaryan S., Adineh H., Farhangi M., Harsij M., Kordjazi Z. 2022. Interaction of two levels of Sanyar commercial prebiotics (powder and liquid) in reduction of water pollution load, feed and growth performance, digestive enzyme activity, non-specific immunity of common carp (*Cyprinus carpio*) in bio-floc system. *Journal of*

- Fisheries, 75(1): 137-152.
- Jiang I. F., Kumar V. B., Lee D. N., Weng C. F. 2008. Acute osmotic stress affects *Tilapia (Oreochromis mossambicus)* innate immune responses. *Fish and Shellfish Immunology*, 25: 841-846.
- Ju Z. Y., Forster I., Conquest L., Dominy W. 2008. Enhanced growth effects on shrimp (*Litopenaeus vannamei*) from inclusion of whole shrimp flocc or flocc fractions to a formulated diet. *Aquaculture Nutrition*, 14(6): 533-543.
- Koepudsa W., Jongjareanjai M. 2011. Impact of water temperature and sodium chloride (NaCl) on stress indicators of hybrid catfish (*Clarias gariepinus*, *Burchell* x *C. macrocephalus*, *Gunther*). *Songklanakarinn Journal of Science and Technology*, 33(4): 369-374.
- Kühlwein H., Merrifield D. L., Rawling M. D., Foey A. D., Davies S. J. 2014. Effects of dietary β - (1, 3) (1, 6)-D-glucan supplementation on growth performance, intestinal morphology and Haemato-immunological profile of mirror carp (*Cyprinus carpio* L.). *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 98(2): 279-289.
- Kumar N., Krishnani K. K., Kumar P., Jha A. K., Gupta S. K., Singh N. P. 2017. Dietary zinc promotes immuno-biochemical plasticity and protects fish against multiple stresses. *Fish and Shellfish Immunology*, 62: 184-194.
- Lee R. G. Foerster J., Jukens J., Paraskevas F., Greer J. P., Rodgers G. M. 1998. *Wintrobe's-Clinical Hematology*, 10th ed., Lippincott Williams and Wilkins, New York.
- Liu G., Ye Z., Liu D., Zhao J., Sivaramasamy E., Deng Y., Zhu S. 2018. Influence of stocking density on growth, digestive enzyme activities, immune responses, antioxidant of *Oreochromis niloticus* fingerlings in biofloc systems. *Fish and Shellfish Immunology*, 81: 416-422.
- Mirghaed A. T., Ghelichpour M. 2019. Effects of anesthesia and salt treatment on stress responses, and immunological and hydro mineral characteristics of common carp (*Cyprinus carpio*, Linnaeus, 1758) subjected to transportation. *Aquaculture*, 501: 1-6.
- Najdegerami E.H., Bakhshi F., Lakani F.B. 2016. Effects of biofloc on growth performance, digestive enzyme activities and liver histology of common carp (*Cyprinus carpio* L.) fingerlings in zero-water exchange system. *Fish Physiology and Biochemistry*, 42(2): 457-465.
- Pagano M., Vazzana I., Gentile A., Caracappa G., Faggio C. 2019. Hematological and biochemical parameters in Sea turtles (*Caretta caretta*) after stranding. *Regional Studies in Marine Science*: 32: 100832.
- Pathiratne A., Rajapakshe W. 1998. Hematological Changes associated with the Epizootic Ulcerative Syndrome in the Asian Cichlid Fish, *Etroplus suratensis*. *Asian Fisheries Science*, 11: 203-212.
- Perrault J.R., Stacy N.I., Lehner A.F., Poor S.K., Buchweitz J. P., Walsh C.J. 2017. Toxic elements and associations with hematology, plasma biochemistry, and protein electrophoresis in nesting loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*) from Casey Key, Florida. *Environmental Pollution*, 231: 1398-1411.
- Ranjdoust M., Jafaryan H., Harsij M., Gholipour Kaanany H. 2019. The effect of Celmanax prebiotic and five probiotic Bacilli species on the decreasing of stress of common carp (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758) during transportation with different salinity. *Aquaculture Sciences*, 6(2): 39-50.
- Ranjdoust M., Jafaryan H., Harsij M., Gholipour Kanaani H. 2017. Effect of Celmanax prebiotic on blood parameters of common carp (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758) in transport stress. *Journal of Animal Environment*, 9(4): 207-214.
- Ringo E., Gatesoupe F.J. 1998. Lactic Acid Bacteria in fish: a review. *Aquaculture*, 160: 177-203.
- Ruane N. M., Lambert J. G. D., Goos H. T., Komen J. 2005. Hypocorticism and internal hyperplasia are not directly related to masculinization in XX mas-1/mas-1 carp, *Cyprinus carpio*. *General and Comparative Endocrinology*, 143(1): 66-74.
- Sano T. 1960. Hematological studies of the culture fishes in Japan. *Journal of the Tokyo University of Fisheries* 46: 98-87.
- Tangestani R., Doughikollae E.A., Ebrahimi E., Zare P. 2011. Effects of garlic essential oil as an immunostimulant on hematological indices of juvenile beluga (*Huso huso*). *Journal of Veterinary*

- Research, 66(3): 209-279.
- Tort L. 2011. Stress and immune modulation in fish. *Developmental & Comparative Immunology*, 35 1366-1375.
- Witeska M. 2005. Stress in fish-hematological and immunological effects of heavy metals. *Electronic Journal of Ichthyology*, 1(1): 35-41.
- Xu W. J., Pan L. Q. 2013. Enhancement of immune response and antioxidant status of *Litopenaeus vannamei* juvenile in biofloc-based culture tanks manipulating high C/N ratio of feed input. *Aquaculture*, 412: 117-124.
- Zanuzzo F. S., Sabioni R. E., Montoya L. N. F., Favero G., Urbinati E. C. 2017. Aloe Vera enhances the innate immune response of pacu (*Piaractus mesopotamicus*) after transport stress and combined heat killed *Aeromonas hydrophila* infection. *Fish and Shellfish Immunology*, 65: 198-205.
- Zhang J., Liu Y., Tian L., Yang H., Liang G., Xu D. 2012. Effects of dietary manna oligosaccharide on growth performance, gut morphology and stress tolerance of juvenile Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Fish and Shellfish Immunology*, 33(4): 1027-1032.
- Zhao Z., Xu Q., Luo L., Li J., Wang L. 2014. Effect of feed C/N ratio promoted biofloc on water quality and production performance of bottom and filter feeder carp in minimum-water exchanged pond polyculture system. *Aquaculture*, 434: 442-448.
- Ziółkowska E., Bogucka J., Dankowiakowska A., Rawski M., Mazurkiewicz J., Stanek M. 2020. Effects of a transgalactooligosaccharide on biochemical blood parameters and intestine morphometric parameters of common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Animals*, 10(4): 723.

نحوه استناد به مقاله:

جعفریان س.، آدینه ح.، فرهنگ م.، هرسیج م.، کردجزی ض. م بررسی شاخص‌های خونی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) تغذیه شده با پری‌بیوتیک سانپار و مقاومت در برابر استرس صید و حمل و نقل در سیستم بیوفلاک. نشریه پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی دانشگاه گنبدکاووس. ۱۴۰۲. ۱۱(۴): ۴۶-۵۹.

Jafaryan S., Adineh H., Farhangi M., Harsij M., Kordjazi Z. Evaluation blood indicators of common carp (*Cyprinus carpio*) fed Sanyar prebiotic and resistance to catching and transportation stress in biofloc system. *Journal of Applied Ichthyological Research*, University of Gonbad Kavous. 2023, 11(4): 46-59.

Evaluation blood indicators of common carp (*Cyprinus carpio*) fed Sanyar prebiotic and resistance to catching and transportation stress in biofloc system

Simra Jafaryan^{ID}, Hossein Adineh^{ID}, Mohammad Farhangi*^{ID}, Mohammad Harsij^{ID}, Zia Kordjazi^{ID}

Department of Fisheries, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Gonbad Kavous University, Gonbad Kavous, Iran

Type: Original Research Paper	Abstract Fish transportation and catching is a common activity in aquaculture that induces stress and immunosuppression. The aim of this study was to investigate the effects of using Sanyar prebiotic (powder and liquid) in biofloc environment on metabolic activity, stress indices and hematological of common carp (<i>Cyprinus carpio</i>) under catching and transporting stress. Diets containing prebiotic (0.1 and 0.2 g powder; FP1 and FP2) and (1 and 2 ml liquid, FL1 and FL2) and control group without additive (FC) in biofloc system and control group without additive with clean water (C) were fed to common carp for 60 days. At the end of the rearing period, to simulate catching stress, the fish were followed in the tanks with hand fishing nets for 10 minutes. For stress caused by long transportation with a stocking density of 1 kg (6 treatments and each with 3 replications), plastic bags (20 liters of water and 20 liters of oxygen) were used for 12 hours. After applying stress, blood sampling was done separately from the fish in two groups (catching and transportation). Metabolic activities (hepatic enzymes, urea and creatinine), Red blood cells, hemoglobin and hematocrit had a significant decrease in prebiotic treatments under stress. Cortisol concentration in the FC treatment (catch) and in the control treatment (transportation) had a significant increase compared to other experimental treatments. In general, the results showed that the use of Sanyar commercial prebiotics in the biofloc environment reduces the stressful effects of catching and transportation for common carp. Keywords: Prebiotics, Biofloc, Common carp, Fishing stress and transportation
Paper History: Received: 07-04-2023 Accepted: 06-05-2023	
Corresponding author: Mohammad Farhangi. Department of Fisheries, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Gonbad Kavous University, Gonbad Kavous, Iran Email: s.farhangi@yahoo.com	