

تأثیر پریبیوتیک سلماناکس و پنج گونه از پروبیوتیک‌های باسیلی بر کاهش استرس حمل و نقل کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در شوری‌های مختلف

رنجدوست مهین، حجت الله جعفریان*، محمد هرسیج، حسنا قلی پورکنعانی

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

*نویسنده مسئول: hojat.jafaryan@gmail.com

تاریخ پذیرش: ۹۷/۴/۱۹

تاریخ دریافت: ۹۷/۱/۸

چکیده

یکی از مهمترین فاکتورها در زمان حمل و نقل، کاهش میزان استرس می‌باشد. تأثیرات پریبیوتیک تجاری مخمر مایع سلماناکس و محصول تجاری پروتکسین آکواتک شامل مخلوط پنج گونه از باسیلوس‌های پروبیوتیکی (*B. laterosporus*, *B. polymyxa*, *B. subtilis*, *Bacillus licheniformis*) و *B. circulans*) بر روی پارامترهای بیوشیمیایی و فاکتورهای خونی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در طول حمل و نقل ۱۲ ساعته مورد بررسی قرار گرفت. تعداد ۱۵۰ قطعه ماهی کپور با وزن متوسط $60/50 \pm 1/50$ گرم توسط جیره غذایی مکمل‌سازی شده با پریبیوتیک سلماناکس به میزان ۱ میلی‌لیتر در هر ۱ کیلوگرم جیره و جیره غذایی مکمل‌سازی شده با پروبیوتیک باسیلی در غلظت 1×10^6 CFU در ۱۰۰ گرم غذا به مدت ۹۰ روز تغذیه شدند. ماهیان با تراکم ۱ کیلوگرم در متر مکعب در کیسه‌های پلاستیکی ۴۰ لیتری ذخیره‌سازی شدند. این مطالعه در چهار تیمار و سه تکرار برای هر تیمار شامل شاهد، (۰/۵) گرم بر لیتر نمک+سلماناکس، (۵) گرم بر لیتر نمک+سلماناکس و (۰/۵) گرم بر لیتر نمک باسیلوس انجام شد. ۱۰ قطعه ماهی از کیسه‌های پلاستیکی انتخاب و در آغاز و پایان آزمایش خون‌گیری شد. میزان هماتوکریت، هموگلوبین، گلوکز و کلسیم در بین تیمارهای آزمایشی، اختلاف قابل توجهی با گروه شاهد نداشت ($P > 0/05$). بیشترین میزان کورتیزول در تیمار شاهد مشاهده شد ($P < 0/05$). نتایج مطالعه حاضر نشان داد استفاده از پریبیوتیک سلماناکس و باسیلوس‌های پروبیوتیکی در حمل و نقل طولانی مدت (۱۲ ساعته) منجر به کاهش استرس در ماهی کپور معمولی گردید.

واژگان کلیدی: مخمر مایع سلماناکس، باسیلوس‌های پروبیوتیکی، پارامترهای خونی، حمل و نقل.

مقدمه

بسته‌بندی و حمل و نقل بچه ماهیان باعث ایجاد استرس‌هایی می‌گردد که نتایج آن می‌تواند به صورت افزایش نرخ مرگ و میر و کاهش عملکرد تولید باشد (Taoka et al., 2006). ماهیان طی فرایندی تحت عنوان پاسخ به استرس، تطابق‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی را در مواجهه با استرس از خود نشان می‌دهند که منجر به کاهش یا حذف اثر عامل استرس‌زا می‌شود (Koeypudsa and Jongjareanjai, 2011). استرس با مختل کردن تعادل سیستم‌های داخلی (هومئوستاز) باعث ایجاد اثرات مخرب در رفتار، رشد، تولیدمثل، عملکرد سیستم ایمنی و مقاومت در برابر بیماری‌ها می‌شود (Goos and Consten, 2002). به منظور کاهش استرس در برخی از ماهیان پرورشی، استفاده از سطوح مطلوب نمک در طول حمل و نقل برای حفظ

هومئوستازی با کاهش گرادیان اسمزی بین پلاسما و محیط خارجی و افزایش تولید موکوس به اثبات رسیده است (Wurst, 1995). نتایج مثبتی توسط زمینی و همکاران (۱۳۸۶) بر روی بچه ماهیان انگشت‌قد تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) و همچنین Kilambi و همکاران (۲۰۰۴) برای ماهی کپور علفخوار به دست آمد.

با تغییر شوری میزان انحلال اکسیژن نیز تغییر می‌کند به طور کلی تغییر در سطح هماتوکریت یا تعداد گلبول‌های قرمز یک روش رویارویی ماهیان با شرایط تنش‌زا است (Ziegweid and Black, 2010). افزایش استرس ماهی در مواقع بحرانی سبب القای ترشح هورمون کورتیزول و به دنبال آن افزایش گلوکز پلاسما می‌گردد (Rottland and Tort, 1997). این مسأله در زمان حمل و نقل ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) مشاهده شد

(Svobodoa et al., 1999). از افزودنی‌هایی که می‌تواند استرس‌های محیطی را کاهش دهد و اثرات مثبت بر موجود بگذارد پری‌بیوتیک‌ها و پروبیوتیک‌ها می‌باشد (Gibson and Roberfroide, 1995).

پری‌بیوتیک‌ها ماده غذایی غیر قابل هضم است که از طریق تحریک رشد و فعالیت یک یا تعداد محدودی از باکتری‌های موجود در روده، اثرات سودمندی برای میزبان دارد. پری‌بیوتیک حاوی مانان‌های مخمری است. مانان‌های مخمری قندهایی نظیر بتاگلوکان‌ها گالاکتوزامین‌ها مانوزو اولیگوساکاریدمانان (MOS) می‌باشد (Gang 2008 and Huang). اولیگوساکارید مانان (MOS) تحریک عملکرد ایمنی را در فیل ماهی (*Huso huso*) سبب گردید (Razeghi Mansour et al., 2012). Torrecillas و همکاران (۲۰۱۲) گزارش کردند که افزودن مانان اولیگوساکارید به غذای *Dicentrarchus labrax* باعث کاهش اثر عوامل استرس‌زا و افزایش مقاومت در برابر رویایی باکتریایی از طریق تقویت سیستم ایمنی آن می‌شود. پروبیوتیک‌ها میکروارگانیسم‌هایی هستند که به‌منظور پایداری جمعیت میکروبی مفید و مقابله با میکروب‌های بیماری‌زای دستگاه گوارش در تغذیه جانوران به‌کار می‌روند. این‌ها با دگرگونی فلور میکروبی روده به سود باکتری‌های سودمند و همزمان با کاهش باکتری‌های بیماری‌زا و زیان بار، عملکرد روده‌ها را بهبود می‌بخشند (Fazlolahzadeh, 2011).

Neissi و همکاران (۲۰۱۳) با بررسی اثر باکتری *Pediococcus acidilactici* روی رشد و پاسخ‌های ایمنی غیراختصاصی در ماهی گرین ترور (*Aequidens rivulatus*) گزارش کردند که پروبیوتیک باکتوسل تاثیر مثبتی روی شاخص‌های رشد و ایمنی غیر اختصاصی این ماهی دارد. مطالعات مختلفی در مورد تاثیر پروبیوتیک بر شاخص‌های خونی ماهیان صورت گرفته است، که از آن جمله بررسی اثر پروبیوتی *Basillus subtilis* بر شاخص‌های خونی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus*)

(mykiss) (Kamgar and Ghane, 2012) و اثر پروبیوتیک *B. subtilis* بر شاخص‌های خونی کپور هندی (*Labeo rohita*) می‌باشد (Nayak et al., 2007). بنابراین با توجه به اهمیت اقتصادی و ارزش شیلاتی ماهی کپور معمولی و گسترش آن در آبزی-پروری کشور و جهان، ضرورت مطالعه و یافتن روش‌هایی جهت ارتقاء حمل و نقل در جهت پیشگیری از بروز استرس و تلفات در این فرایند به خوبی احساس می‌شود. بنابراین مطالعه حاضر با هدف ارزیابی تأثیرات پری بیوتیک سلماناکس و پروبیوتیک باسیلی مکمل شده در جیره به‌منظور کاهش استرس ناشی از حمل و نقل ماهی بر روی پارامترهای خونی ماهی کپور معمولی انجام شد.

مواد و روش‌ها

تهیه ماهی و غذادهی: در این تحقیق ۱۵۰ قطعه ماهی کپور معمولی جوان با وزن $60/50 \pm 1/50$ گرم از کارگاه پرورش ماهیان گرم‌آبی شهید چمران واقع در سد وشمگیر گرگان تهیه شد. ماهیان کپور پس از انتقال به آزمایشگاه آبزی پروری دانشگاه گنبد کاووس، به مدت دو هفته به شرایط آزمایشگاه سازگار شدند. ماهیان در مدت ۹۰ روز به میزان ۵ درصد وزن بدن و سه بار در روز تغذیه گردیدند. غذای مصرفی آن‌ها از غذای اکستروود شده شرکت چینه (تهران، ایران) با اندازه قطر یک میلی‌متر بود.

آماده‌سازی غذا: محصول تجاری پری‌بیوتیک سلماناکس (Celmanax) ساخت شرکت وایکور آمریکا، در سطح ۱ سی‌سی در هر کیلوگرم (با توجه به دستورالعمل مربوطه) به غذا اضافه شد. به این صورت که پری‌بیوتیک با ۵۰ سی‌سی آب مقطر بر روی غذا اسپری و سپس غذا در دمای محیط (دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، به مدت ۲۴ ساعت) خشک شد و مورد استفاده قرار گرفت (شرکت وایکور آمریکا، Arm & Hammer Animal Nutrition (VI-COR).

سوسپانسیون مخلوط باسیلوس‌های پروبیوتیکی

پی‌اچ، دما به درجه سانتی‌گراد و سختی کل (mg/lit) به ترتیب ۷/۲، ۷/۶، ۲۰/۵ و ۳۰۰ بودند.

پارامترهای خونی: تعداد گلبول‌های قرمز و سفید خون با استفاده از لام هماتوسیتمتر نئوبار شمارش گردید (Noga, 2010). هموگلوبین (Hemoglobin) (Hb) به روش استاندارد با استفاده از کیت سنجش هموگلوبین ساخت شرکت زیست شیمی، تهران محاسبه شد. حجم فشرده گلبولی یا Hematocrit (Hct) یا Packed cell volume (PCV) به روش میکروهماتوکریت و با استفاده از سانتریفوژ میکرو-هماتوکریت صورت پذیرفت (Dacie and Lewis, 1991).

برای محاسبه شاخص‌های گلبولی شامل متوسط حجم گلبول قرمز (MCV=Mean corpuscular volume)، میانگین غلظت همگلوبین در گلبول قرمز (MCH=Mean corpuscular hemoglobin)، تغییرات میانگین غلظت هموگلوبین (MCHC=Mean corpuscular hemoglobin concentration)، از فرمول‌های استاندارد زیر استفاده گردید (Dacie and Lewis, 1991):

$$\begin{aligned} \text{MCV (fL)} &= [\text{Hct/RBC (per million)}] \times 10 \\ \text{MCH (pg)} &= [\text{Hb/RBC (per million)}] \times 10 \\ \text{MCHC (\%)} &= (\text{MCH/MCV}) \times 100 \end{aligned}$$

معیارهای ایمنی: اندازه‌گیری گلوکز براساس روش آنزیمی-کالریمتری (GOD-PAP) صورت گرفت (Trinder, 1969). میزان هورمون کورتیزول با استفاده از دستگاه ال‌آی‌زا و کیت آزمایشگاهی (پارس آزمون) اندازه‌گیری گردید (Asahina et al., 1995). به دلیل این‌که آنزیم‌های کبدی شاخص وضعیت سلامت می‌باشند و تحت شرایط محیطی تغییر می‌کنند (غیائی و همکاران ۱۳۸۹)، آنزیم‌های کبدی آسپارات‌آمینوترانسفراز (AST)، آلانین‌آمینو-ترانسفراز (ALT) و آلکالین فسفاتاز (ALP) با استفاده از کیت تجاری پارس آزمون و دستگاه آوتوآنالایزر مدل اپندروف، ای‌پی‌اواس ساخت کشور آلمان اندازه‌گیری شد (Shahsavani et al., 2010). اندازه‌گیری کلسیم سرم خون کپور ماهیان

تحت عنوان محصول تجاری پروتکسین آکواتک (از شرکت نیکو تک پروتکسین، انگلیس) تهیه شد. این فرآورده میکروبی شامل سوسپانسیون اسپور مخلوط ۵ گونه باسیلوس به همراه محیط کشت اختصاصی آن‌ها پپتون، پلی‌ساکاریدها و مواد معدنی بود. باسیلوس‌های پروبیوتیکی در این سوسپانسیون باکتریایی، شامل باسیلوس لیچنی فورمیس، باسیلوس سابتیلیس، باسیلوس سیرکولانس و باسیلوس لتروسپوروس و باسیلوس پلی‌میکسا بود. باسیلوس‌های تشکیل دهنده سوسپانسیون باکتریایی، بر اساس دستورالعمل شرکت پروتکسین آکواتک، در ظروف شیشه‌ای آماده شد. با استفاده از رقت سازی سریالی غلظت 1×10^6 CFU/ml برای آزمایش به دست آمد (Makridis et al., 2001). مکمل سازی جیره از طریق مخلوط کردن هر غلظت به‌طور جداگانه، در ۱۰۰ گرم غذا صورت گرفت (جعفریان، ۱۳۸۵). تیمارهای مورد آزمایش نیز به قرار زیر بود:

شاهد = غذای تجاری بدون مکمل

A = نمک ۰/۵ گرم در لیتر + سلماناکس در جیره

B = نمک ۵ گرم در لیتر + سلماناکس در جیره

C = نمک ۰/۵ گرم در لیتر + پروبیوتیک باسیلی در جیره

کیسه‌های پلاستیکی با حجم ۲۰ لیتر آب (با شرایط ذکر شده برای هر یک از تیمارها) و میانگین یک کیلو ماهی و ۲۰ لیتر هوای فشرده، با استفاده از کپسول اکسیژن پر شده و به مدت ۱۲ ساعت نگهداری گردید. قبل از شروع آزمایش به طور تصادفی از تعداد ۱۰ قطعه نمونه‌هایی تهیه شد. ماهیان در محلول عصاره گل میخک با دوز ۲۰۰ ppm بیهوش و از آنها خون‌گیری گردید.

معیارهای کیفی آب: برخی پارامترهای کیفی آب مانند: اکسیژن محلول و pH با استفاده از دستگاه واتر چکر هانا مدل ۸۳۲۰۰ به صورت روزانه اندازه‌گیری شد. همچنین اندازه‌گیری درجه حرارت آب نیز در هر روز در ۳ نوبت و هم زمان با دفعات غذایی لاروها انجام و ثبت گردید. در طول آزمایش، معیارهای کیفی مورد سنجش شامل اکسیژن محلول،

جدول ۱- پارامترهای خون کپور ماهیان جوان در دوره حمل و نقل ۱۲ ساعته.

پارامتر	تیمار	شاهد	A	B	C
گلبول قرمز (میلیون/ میلی لیتر)	۱/۲۲۹±۰/۱ ^b	۱/۲۲۲±۰/۰۱ ^a	۱/۲۹۰±۰/۰۹۵ ^{ab}	۱/۲۹۰±۰/۰۹۵ ^{ab}	۱/۲۹۰±۰/۰۹۵ ^{ab}
گلبول سفید (هزار/ میلی لیتر)	۱۵۸۰۰±۹۰۰ ^b	۱۷۶۵۰±۱۵۰ ^a	۱۷۰۰۰±۲۰۰ ^{ab}	۱۷۰۰۰±۲۰۰ ^{ab}	۱۷۰۰۰±۲۰۰ ^{ab}
هموگلوبین (گرم دسی لیتر)	۸/۷۰±۰/۲۰ ^a	۸/۴۰±۰/۱۰ ^a	۸/۶۰±۰/۴۰ ^a	۸/۶۰±۰/۴۰ ^a	۸/۳۰±۰/۲۰ ^a
هماتوکریت (درصد)	۲۶/۱۵±۰/۹۵ ^a	۲۴/۵۸±۰/۳۹۱ ^a	۲۶/۱۵±۰/۷۵ ^a	۲۶/۱۵±۰/۷۵ ^a	۲۴/۷۰±۰/۵۰ ^a
حجم متوسط گلبول قرمز (فمتولیتر)	۲۱۴/۸۵±۲۵/۳۱ ^a	۲۰۳/۵۵±۰/۴۵ ^a	۲۰۱/۹۵±۲/۰۵ ^a	۲۰۱/۹۵±۲/۰۵ ^a	۱۶۴/۳۰±۴/۲۰ ^b
میزان متوسط هموگلوبین (پیکوگرم)	۷۱/۴۰±۷/۵ ^a	۶۸/۷۵±۰/۲۵ ^b	۶۶/۵۰±۱/۸۰ ^b	۶۶/۵۰±۱/۸۰ ^b	۵۵/۲۵±۱۳/۷۰ ^b
میزان غلظت متوسط هموگلوبین (گرم/دسی لیتر)	۳۲/۲۵±۰/۴۵ ^{ab}	۳۳/۸۰±۰/۲۰ ^a	۳۲/۹۵±۰/۵۵ ^b	۳۲/۹۵±۰/۵۵ ^b	۳۳/۶۰±۰/۱۰ ^{ab}
نوتروفیل (میلیون/ میلی لیتر)	۹۲/۰۰±۰/۰۱ ^{ab}	۹۱/۵۰±۰/۵۰ ^a	۹۳/۰۰±۱/۰۰ ^b	۹۳/۰۰±۱/۰۰ ^b	۹۳/۰۰±۱/۰۰ ^b
لنفوسیت (میلیون/ میلی لیتر)	۷/۵۰±۰/۵ ^a	۸/۰۰±۱/۰۰ ^a	۶/۵۰±۰/۵۰ ^a	۶/۵۰±۰/۵۰ ^a	۶/۰۰±۰/۵۰ ^b

حروف لاتین غیر مشترک در هر ردیف نشانه معنی دار بودن است ($P < 0.05$) (مقادیر به صورت (انحراف معیار ± میانگین) است).

جدول ۲- پارامترهای سرم خون کپور ماهیان جوان در دوره حمل و نقل ۱۲ ساعته.

پارامتر	تیمار	شاهد	A	B	C
گلوکز (میلی گرم بر دسی لیتر)	۱۹۸/۵۰±۲۹/۵۰ ^a	۱۶۳±۴۷ ^a	۱۹۶±۳۷ ^a	۱۹۶±۳۷ ^a	۱۹۷/۵±۳۳/۵۰ ^a
کورتیزول (نانوگرم بر دسی لیتر)	۶۶/۳۳±۳/۱۵ ^a	۲۸/۳۵±۰/۱۵ ^b	۲۷/۷۰±۵/۷۰ ^b	۲۷/۷۰±۵/۷۰ ^b	۱۸/۵۰±۳/۵۰ ^b
کلسیم (میلی گرم بر دسی لیتر)	۱۰/۶۰±۰/۴۰ ^a	۱۰/۴۵±۰/۷۵ ^a	۱۰/۶۰±۰/۵۰ ^a	۱۰/۶۰±۰/۵۰ ^a	۱۱/۳۵±۰/۳۵ ^a
آسپارات آمینو ترانسفراز (AST) (واحد بین المللی در هر لیتر)	۱۵۰±۲۳ ^b	۱۹۰±۵۶/۸۵ ^a	۱۳۹/۵۰±۱/۵۰ ^b	۱۳۹/۵۰±۱/۵۰ ^b	۱۶۰/۵۰±۱/۷۲ ^b
آلانین آمینو ترانسفراز (ALT) (واحد بین المللی در هر لیتر)	۵۰±۵ ^a	۱۴/۰۳±۲/۰۵ ^b	۲۲/۰۶±۴ ^c	۲۲/۰۶±۴ ^c	۱۶/۰۵±۲/۰۱ ^c
آلکالین فسفاتاز (ALP) (واحد بین المللی در هر لیتر)	۲۷/۰۷±۱/۰۶ ^b	۱۴۷/۰۸±۱/۰۱ ^a	۱۳۷/۵۰±۲/۵۰ ^a	۱۳۷/۵۰±۲/۵۰ ^a	۱۶۶±۲/۵۰ ^a

حروف لاتین غیر مشترک در هر ردیف نشانه معنی دار بودن است ($P < 0.05$) (مقادیر به صورت (انحراف معیار ± میانگین) است).

جوان با استفاده از کیت شرکت پارس آزمون و با استفاده از دستگاه مدل اورلایزر ساخت اتریش انجام شد.

تجزیه و تحلیل آماری: تجزیه و تحلیل آماری داده‌های در قالب طرح کاملاً تصادفی، با استفاده از نرم افزار SPSS مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد انجام پذیرفت.

نتایج

میزان گلبول قرمز (RBC) و میزان گلبول‌های سفید (WBC) و هموگلوبین (Hb) و درصد هماتوکریت در بین تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی داری نداشت ($P > 0.05$) (جدول ۱). در بررسی MCV، تیمار C اختلاف معنی داری با سایر تیمارها نشان داده است ($P < 0.05$)، اگرچه بین سایر گروه‌های آزمایشی و گروه شاهد اختلاف معنی داری مشاهده نشد ($P > 0.05$). البته در تیمار C اختلاف معنی داری با سایر تیمارها داشت ($P < 0.05$). از نظر میزان MCH

تفاوت معنی داری بین گروه شاهد و تیمارهای آزمایشی مشاهده شد و بالاترین میزان متوسط هموگلوبین (MCH) در تیمار شاهد به دست آمد ($P < 0.05$) (جدول ۱). میزان نوتروفیل و لنفوسیت در بین گروه‌های آزمایشی اختلاف معنی داری مشاهده نشد ($P > 0.05$).

بر طبق نتایج، مقدار گلوکز و میزان کلسیم بین تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی دار مشاهده نشد ($P > 0.05$) (جدول ۲). بالاترین میزان کورتیزول و بیشترین فعالیت آنزیم ALT و کمترین میزان آنزیم ALP در تیمار شاهد به دست آمد که اختلاف معنی داری با سایر تیمارها داشت ($P < 0.05$) (جدول ۲). در خصوص آنزیم AST بیشترین میزان در تیمار A به دست آمد که به طور معنی داری با سایر تیمارها اختلاف داشت ($P < 0.05$) (جدول ۲).

بحث

در سال های اخیر استفاده از محرک‌های سیستم

ایمنی در جیره غذایی ماهیان برای افزایش فعالیت مکانیسم‌های دفاع غیراختصاصی و ایجاد مقاومت در برابر عوامل تنش‌زا و بیماری‌زا مورد توجه قرار گرفته است (Alishahi et al., 2010). پریبیوتیک‌ها با تأثیر بر باکتری‌های مفید روده باعث افزایش حجم باکتری‌های مفید روده شده و در نهایت با افزایش قابلیت هضم‌پذیری روی برخی از ترکیبات مفید بر ترکیبات بدن نیز تأثیرگذار خواهند بود (Ye et al., 2011). همچنین افزودن پروبیوتیک‌ها به جیره غذایی ماهی باعث ایجاد تعادل میکروبی روده، ساختن ترکیبات مفید از جمله ویتامین‌ها و برخی از آنزیم‌ها، تحریک افزایش کارایی سیستم ایمنی، افزایش فعالیت‌های گوارشی و آنزیمی و به دنبال آن افزایش رشد و توسعه سطوح غذایی می‌شود (Kim and Austin, 2006).

در مطالعه حاضر بیشترین میزان هماتوکریت و هموگلوبین در گروه شاهد مشاهده شد. اما این تغییرات معنی‌دار نبود. کاهش مشاهده شده ممکن است به علت استرس باشد که باعث ایجاد اثراتی بر متابولیسم و عملکرد نرمال فیزیولوژی ماهی می‌گردد. در مطالعه‌ای که Erfan و همکاران (۲۰۱۵) روی ماهی خاویاری شیپ *Acipenser nudiventris* در شوری‌های مختلف انجام دادند تفاوت معنی‌داری را در میزان هموگلوبین تیمارهای مختلف با گروه شاهد مشاهده نکردند. که همسو با نتایج این تحقیق بود. در توافق با نتایج تحقیق حاضر در یافته‌های خرمالی و همکاران (۱۳۹۳) سطح هموگلوبین و هماتوکریت در خون کپور ماهیان جوان در یک دوره حمل‌ونقل با کیسه‌های پلاستیکی و در شرایط مختلف آب، در مقایسه با آغاز آزمایش تحت تأثیر قرار نگرفت. همسو با نتایج این مطالعه Verdegem و همکاران (۱۹۹۷) تأثیر شوری را بر فاکتورهای خونی ماهی تیل‌پای قرمز *Oreochromis niloticus* × بررسی کردند که در این مطالعه میزان هماتوکریت تحت تأثیر افزایش شوری قرار نگرفت. با افزایش شوری، جریان الکترولیت‌ها تفاوت

فشار اسمزی بین خون و سلول‌ها ایجاد می‌کند و آب از سلول‌ها خارج شده و باعث کاهش حجم گلبول‌های قرمز و میزان هماتوکریت می‌شود (Lim et al., 2005). در مطالعه بر روی مار ماهی معمولی (*Anguilla anguilla*) تأثیر شوری بر میزان کورتیزول اندازه‌گیری شد و نشان داده شد میزان کورتیزول افزایش یافته است (Martinez, 2005)؛ چون کورتیزول در تنظیم اسمزی نقش دارد و به ماهی در حفظ آب و الکترولیت‌های بدن یعنی به عملکرد، کلیه در تنظیم یون‌ها و جلوگیری از آبزدایی بدن و تنظیم اسمزی کمک می‌کند. در مغایرت با نتایج تحقیق حاضر، خرمالی و همکاران (۱۳۹۳) گزارش کردند که بالاترین میزان گلوکز در شوری ۵ گرم در لیتر در میان تیمارهای مورد حمل و نقل مشاهده شد. این ممکن است به دلیل دوز بیشتر نمک در کیسه‌های پلاستیکی و پاسخ استرس به شرایط کم اکسیژن در طول دوره حمل‌ونقل باشد (Kubilay and Ulukay, 2002). افزایش شوری باعث افزایش تعداد گلبول‌های قرمز و هموگلوبین می‌شود (صلاتی و همکاران، ۲۰۱۰). افزایش تعداد گلبول‌های قرمز نشان دهنده افزایش میزان استرس در ماهیان است (بابایی‌نژاد و همکاران، ۲۰۱۳). تفاوت‌های مشاهده شده در نتایج حاصل از مطالعات مختلف می‌تواند ناشی از تفاوت در محدوده اپتیمم شوری هر ماهی و همچنین قابلیت تطابق ماهی با تغییرات شوری باشد (محمدی‌مکوندی و همکاران، ۱۳۹۰) نتایج نشان داد که افزودن سطوح مختلف پری‌بیوتیک گریبیوتیک به جیره فیل ماهیان جوان پرورشی اثرهای معنی‌داری بر فاکتورهای خونی در مقایسه با تیمار شاهد داشته است (عادل و همکاران، ۱۳۹۴). تجزیه و تحلیل یافته‌ها نشان داد که افزودن پروبیوتیک *Bacillus subtilis* در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان تأثیری بر فاکتورهای خونی نداشت (Brunt et al., 2010). به‌طور کلی پری‌بیوتیک‌ها جذب کاتیون‌های دو ظرفیتی را سبب می‌شوند با توجه به افزایش مقدار هموگلوبین، نتایج مطالعه

حاضر احتمالاً می‌تواند نشان دهد که پریبیوتیک جیره می‌تواند جذب آهن را افزایش دهد. کاهش حجم هماتوکریت در ماهیان تغذیه شده با پروبیوتیک *Pediococcus acidilactici* نسبت به گروه شاهد مشاهده شد و در مورد تعداد گلبول قرمز و حجم هموگلوبین، تفاوت معنی‌داری به دست نیامد (Ferguson et al., 2010). افزایش تعداد گلبول قرمز و در نتیجه کاهش اندازه آن، نشان دهنده کاهش مسیر انتشار اکسیژن به بافت‌ها است، به عبارت دیگر با افزایش غلظت گلبول قرمز، قابلیت جذب بیشتر اکسیژن از آبشش و انتشار اکسیژن در بافت‌ها بالاتر می‌رود. به‌طور کلی در ماهیانی که تحت تأثیر تنش قرار گرفته‌اند، معمولاً کاهش تعداد گلبول‌های سفید به‌ویژه لنفوسیت‌ها دیده می‌شود (Balabanova et al., 2009). این نتایج با مطالعه حاضر مغایرت دارد. پدیده کاهش لنفوسیت در ماهی به‌عنوان یک اثر ثانویه استرس، مربوط به آزادسازی کتکول‌آمین‌ها است. به‌علت بالا بودن استرس القا شده، کورتیزول پلاسما مستقیماً بر لنفوسیت‌ها اثر سیتولیتیک دارد (Engelsma et al., 2003).

شاخص میانگین حجم گلبول قرمز (MCV) در تیمارهای تغذیه شده با پریبیوتیک دیواره سلولی مخمر (سلماناکس) در حمل و نقل ۱۲ ساعته در برخی موارد روند کاهشی نسبت به شاهد داشتند که کاهش حجم گلبول نشان دهنده‌ی 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). در توافقی با یافته‌های این مطالعه، دابسیکووا و همکاران (۲۰۰۶)، مشاهده کردند که در حمل و نقل ۱۲ ساعته کیپور معمولی ۳ ساله، مقادیر حجم متوسط گلبول قرمز (MCV) و میزان متوسط هموگلوبین (MCH) خون ماهیان افزایشی نداشتند. سه‌ندی و همکاران (۱۳۹۲) با مطالعه تأثیر استفاده از دو گونه باکتری پروبیوتیکی

Bifidobacterium animalis و *B. lactic* بر پارامترهای خونی در لارو ماهی قزل آلا‌ی رنگین کمان نشان دادند که بین تیمارهای آزمایشی MCH، MCV و هموگلوبین اختلاف معنی‌داری مشاهده نشده است. مقدار سطح گلوکز نسبت به تیمار شاهد در میان دیگر تیمارهای مورد حمل‌ونقل قرار گرفته، کاهش داشت. این را می‌توان به اثرات مثبت پری-بیوتیک مورد استفاده نسبت داد. در نقطه مقابل، متعاقب مصرف سطح ۳ درصد این پریبیوتیک در جیره ماهی سفید تفاوت معنی‌داری در شاخص‌های سرمی مشاهده شد. مشابه با مطالعه حاضر تأثیر معنی‌داری بر گلوکز خون در این ماهی گزارش نشد (et al., 2011). اختلافات به‌دست آمده در این نتایج را می‌توان به تفاوت‌های گونه‌ای، سن ماهیان، فرمولاسیون جیره غذایی، درجه خلوص و دوز مورد استفاده از این پریبیوتیک نسبت داد. در این‌باره Lara Flores و همکاران (۲۰۰۳) بیان کردند که استفاده از پروبیوتیک *Lactobacillus acidophilus* و پریبیوتیک *Saccharomyces cerevisiae* در جیره غذایی تیلاپپای نیل (*Oreochromis niloticus*) باعث افزایش مقاومت نسبت به استرس-های محیطی در تیمارهای پروبیوتیکی نسبت به گروه شاهد شده است. Valipour و همکاران (۲۰۱۳) نشان دادند که میزان گلوکز در بچه ماهیان سفید تغذیه شده با پروبیوتیک افزایش داشته است. دلیل تفاوت در این نتایج می‌تواند به علت تفاوت در نوع گونه پرورشی، نوع پروبیوتیک مصرفی و میزان مورد استفاده آن در جیره باشد. یکی دیگر از شاخص‌های استرس، هورمون کورتیزول می‌باشد که به‌عنوان واکنش اولیه ماهیان به استرس در خون رها می‌شود همچنین کورتیزول هورمونی است که در تنظیم اسمزی نقش داشته و به ماهی در نگهداری آب و الکترولیت‌های بدن کمک می‌کند سطوح یونی و اسمولالیتی پلاسما را در ماهیان استخوانی را جهت تطابق با شوری محیط تغییر می‌دهد (Wendelaar-Bonga, 1997) با توجه به نتایج کسب شده در طول

دوره حمل و نقل کپور ماهیان جوان، سطح کورتیزول خون ماهی بعد از حمل و نقل ۱۲ ساعته کاهش داشت که نشان از عملکرد خوب پریبیوتیک سلماناکس می‌باشد. در مطالعات دیگر در گونه‌های مختلف ماهیان استخوانی، افزایش در مقدار کورتیزول پس از قرارگیری در معرض عامل استرس‌زای حاد مشاهده شد از این نظر نتایج مطالعه حاضر با آن‌ها مغایرت دارد (Costas et al., 2011). آنزیم‌های سرمی تحت تأثیر فاکتورهای فیزیولوژیک و محیطی قرار می‌گیرند. برای مثال نوع و جیره غذایی، دمای آب، سن ماهی و شوری آب در میزان آنزیم‌های سرمی و فعالیت آن‌ها مؤثر است (غیائی و همکاران، ۱۳۸۹). در مطالعه حاضر، سطوح آسپارات آمینو ترانسفراز (AST)، آلانین آمینو ترانسفراز (ALT)، آلکالین فسفاتاز (ALP) سرم خون در حمل و نقل طولانی مدت (۱۲ ساعته) تحت تأثیر قرار گرفت. مطالعات نشان دادند که استفاده از پروبیوتیک‌ها در رژیم غذایی ماهی تیلاپپای نیل (*Oreochromis niloticus*) منجر به افزایش فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز گردید. در مطالعه (عادل و همکاران، ۱۳۹۴) مقادیر آنزیم‌های سرمی ALT، ALP، AST تحت تأثیر سطوح مختلف گروبیوتیک اضافه شده به جیره فیل ماهیان جوان قرار نگرفت، مشابه با مطالعه حاضر، متعاقب تجویز سطوح ۱ تا ۳ درصد گروبیوتیک در جیره ماهی سفید، تأثیر معنی‌داری در شاخص‌های ALT، ALP، AST سرمی مشاهده نشد (Yousefian et al., 2011). ناتوانی میکروبیوتای روده‌ای در تخمیر مقادیر اضافی پریبیوتیک و تجمع آنها در روده را می‌توان دلیل احتمالی بی‌تأثیر بودن سطوح بالاتر پریبیوتیک بیان داشت (Olsen et al., 2001). کاهش سطح فعالیت این آنزیم‌های کبدی در پلاسمای ماهیان تحت تأثیر پروبیوتیک می‌تواند حاکی از سلامتی بافت‌های ماهی و دلیلی بر عملکرد مناسب کبد و شرایط مناسب تغذیه‌ای باشد (Akrami et al., 2011). عقیده کلی بر این است که پری بیوتیک‌ها از طریق بهبود فلور

باکتریایی روده، اثرات زیان بار عوامل عفونت‌زا را کاهش و میزان بازماندگی در مواجهه با عوامل بیماری‌زا را افزایش می‌دهند (Schely, 2002) با توجه به نتایج بدست آمده در تحقیق حاضر پری بیوتیک سلماناکس بر برخی فاکتورهای خونی اثرات مثبتی داشته است که با نتایج بسیاری از محققین مطابقت دارد. در میان این شرایط در تیمار C نتایج بهتری در کاهش آنزیم‌های کبدی، کورتیزول و افزایش ایمنی کپور ماهیان جوان به‌دست آمد.

تشکر و قدردانی

این تحقیق با استفاده از امکانات دانشکده منابع طبیعی دانشگاه گنبدکاوس انجام گردید، در این خصوص از مسئولان محترم دانشگاه و همچنین خانم مهندس مهسا رنج‌دوست و آقای مهندس نیما معظمی تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

- جعفریان ح. ۱۳۸۵. تأثیر باکتری‌های باسیلوسی به‌عنوان پروبیوتیک بر رشد، بازماندگی و فعالیت آنزیم‌های گوارشی در لارو تاس ماهی ایرانی *Acipenser persicus* در طول دوره پرورش لاروی از طریق غنی سازی با آرتمیا اورمیا (*Artemia urmiana*) رساله دکترا، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ص ۱۰۳.
- حافظ امینی، پ.، عریان ش. ۱۳۸۱. بررسی اثرات ناشی از استرس کلرید سدیم روی هماتوکریت و هموگلوبین خون در کپور معمولی. مجله علمی شیلات ایران، ۱۱(۳)، صفحات ۱۳-۲۲.
- خرمالی م. ۱۳۹۳. تغییرات پارامترهای خونی کپور معمولی (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758) جوان تحت شرایط دمایی و شوری مختلف آب در زمان حمل و نقل با کیسه های پلاستیکی. پایان نامه ارشد دانشگاه گنبد کاووس. صفحات ۴۵-۵۰.
- غیائی، ف.؛ میرزرگر، س.س.؛ سالارآملی، ج.؛ باهنر، ع. و ابراهیم زاده موسوی، ع. ۱۳۸۹. مطالعه پارامترهای خونی و بیوشیمی سرمی کپور معمولی (*Cyprinus*

- Balcazar J., de Blas I., Ruiz-Zarzuela I., Cunningham D., Vendrell D., Muzquiz J. 2006. The role of probiotics in aquaculture. *Veterinary Microbiology* 114, 86-173.
- Cheesbrough M. 2005. Blood cell production; distinct laboratory practice in tropical countries. 2nd edition. Cambridge University. *United Kingdom*.
- Banaee M., Mirvaghefi A.R., Ahmadi K., Banaee S. 2008. Acute toxic effects of diazinon on hematology and biochemical parameters in common carp (*Cyprinus carpio*). *Journal of Marine Science and echnology, Azad University, Tehran North Unit* 3(2), 1-10. (Abstract in English).
- Brunt J., Newaj-Fyzul A., Austin B. 2007. The development of probiotics for the control of multiple bacterial diseases of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Fish Diseases* 30, 573-579.
- Costas B., Conceição LEC., Aragão C., Martos JA., Ruiz-Jarabo I., Mancera JM., Afonso A. 2011. Physiological responses of Senegalese sole (*Solea senegalensis*) after stress challenge: Effects on non-specific immune parameters, plasma free amino acids and energy metabolism. *Aquaculture* 316, 68-76.
- Dacie S., Lewis S. 1991. Practical Haematology. 7th Edn, *Churchill Livingstone*, London.
- Danielle C. 2010. Haematologic and immunologic parameters of bullfrogs, *Lithobates catesbeianus*, fed probiotics. *Aquaculture Research* 41(7), 1064-1071.
- Densmore C.L., Blazer V.S., Waldrop T., Pooler P.S. 2001. Effects of whirling disease on selected hematological parameters in rainbow trout. *Journal of Wildlife Diseases* 37, 375-378.
- Engelsma M.Y., Hougee S., Nap D., Hofenk M., Rombout J.H., Van Muiswinkel W.B., Lidy Verburg-Van Kemenade B.M. 2003. Multiple acute temperature stress affects leukocyte populations and antibody response 517 in common carp, (*Cyprinus carpio* L.). *Fish and Shellfish Immunology* 15, 397-410.
- Erfan S., Dae-jung K., Mohseni M., Yun H., Bai S. 2015. Effects of salinity changes on hematological responses in juvenile ship sturgeon *Acipenser nudiiventris*. *Fisheries and Aquatic Sciences* 18(1), 45-50.
- Fazlollahzadeh F., Keramati K., Nazifi S., Shirian S., Seifi S. 2011. Effect of garlic (*carpio*) متعاقب مواجهه با غلظت کم کادمیوم. مجله تحقیقات دامپزشکی دانشگاه تهران ۶۵: ۶۶-۶۱.
- محمدی مکوندی ه.، خدادادی م.، کیوان شکوه س.، محمدی مکوندی ز. ۱۳۹۰. تأثیر استرس شوری بر مقادیر هورمون کورتیزول و گلوکز ماهی کپور علفخوار انگشت قد (*Ctenopharyngodon idella*). مجله آبزیان و شیلات، ۲(۸): صفحات ۷۷-۸۴.
- Adel M., Safari R., Yeganeh S., Ahmadvand S., Ahmadvand S. 2015. Effect of a dietary prebiotic (GroBiotic®-A) on growth performance, hematological, biochemical and immunological parameters of juvenile beluga (*Huso huso*). *Research Journal* 4(3), 89-100.
- Akrami R., Ghelichi A., Ahmadvand E. 2011. Effect of dietary prebiotic inulin on hematological and biochemical parameters of cultured juvenile beluga (*Huso huso*). *Journal of Veterinary Research* 66(2), 131-136. (Abstract in English)
- Alishahi M., Ranjbar M.M., Ghorbanpour M., Peyghan R., Mesbah M., Razi jalali M. 2010. Effects of dietary Aloe vera on specific and nonspecific immunity of Common carp (*Cyprinus carpio*). *International Journal of Veterinary Research* 4, 189-195.
- Andrews S.R., Sahu N.P., Pal A.K., Kumar S. 2009. Haematological modulation and growth of Labeo rohita fingerlings: effect of dietary mannan oligosaccharide, yeast extract, protein hydrolysate and chlorella. *Aquatic Research* 41, 61-69.
- Asahina K., Kanbegawa A., Higashi T. 1995. Development of a microtiter plate enzyme-linked immunosorbent assay for 17a, 20h-21-trihydroxy-4-pregnen-l-one, a teleost gonadal steroid. *Fisheries Science* 61, 491-494.
- Babaii Nezhad L., Bahrkazemy M., Saeedi A.A., Khan Zamany Mohammadi M. 2013. Effects of two anesthetic lidocaine, sodium bicarbonate and herbal clove oil on blood parameters and cortisol in broodstock of white fish of Caspian Sea (*Rutilus frisii kutum*). *Breeding and Aquaculture Sciences Journal* 1(2), 11-22.
- Balabanova L.V., Mikryakov D.V., Mikryakov V.R. 2009. Response of common carp (*Cyprinus carpio* L.) leucocytes to hormoneinduced stress. *Inland Water Biology* 2(1), 86-88.

- expression in leucocytes and gut cells of rainbowtrout (*Oncorhynchus mykiss*) induced by probiotics. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 114, 297-304.
- Koeyupda W., Jongjareanjai M. 2011. Impact of water temperature and sodium chloride (NaCl) on stress indicators of hybrid catfish (*Clarias gariepinus*, Burchell $\times$ *C. macrocephalus*, Gunther). *Songklanakarin Journal of Science and Technology* 33(4), 369-374.
- Kubilay A., Ulukay G. 2002. The effect of acute stress on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Turkish Journal of Zoology* 26, 249-254.
- Kubokawa K., Watanabe T., Yoshizaki M., Iwama M. 1999. Effect of acute stress on plasma cortisol, sex steroid hormone and glucose level in male and female sockeye salmon during the breeding season. *Aquaculture* 172, 335-349.
- Laiz-Carrión R., Sangiao-Alvarellos S., Guzmán J.M., Martín del Río M.P., Míguez J.M., Soengas J.L., Mancera J.M. 2003. Energy metabolism in fish tissues related to osmoregulation and cortisol action. *Fish Physiology and Biochemistry* 27, 179-188.
- Lara-Flores M., Olvera-Novoa M.A., Guzmán-Méndez B.E., López-Madrid W. 2003. Use of the bacteria *Streptococcus faecium* and *Lactobacillus acidophilus*, and the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as growth promoters in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture* 216, 193-201.
- Lim C., Yildirim-Aksoy M., Welker T. 2005. Effect of feeding duration of sodium chloride containing diets on growth performance and some osmoregulatory parameters of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) after transfer to water of different salinities. In: J. Burroughs, C. Flemming, H. Egna (eds.). Twenty-Second Annual Technical Report. *Aquaculture CRSP*, Oregon State University, Corvallis, Oregon, 411-420.
- Makridis P., Bergh Q., Skjermoj J., Vadstein O. 2001. Addition of bacteria bioencapsulated in *Artemia metanauplii* to a rearing system for halibut larvae. *Aquaculture International* 9, 225-235.
- Martínez A.S., Cutler C.P., Wilson G.D., Phillips C., Neil Hazon N., Cramb G. 2005. Cloning and expression of three aquaporin homologues from the European eel (*Allium sativum*) on hematological parameters and plasma activities of ALT and AST of Rainbow trout in temperature stress. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences* 5(9), 84-90.
- Ferguson R.M.W., Merrifield D.L., Harper, G.M., Rawling M.D., Mustafa S., Picchiatti S., Balcazar J.L., Davies S.J. 2010. The effect of *Pediococcus acidilactici* on the gut microbiota and immune status of growing red tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Applied Microbiology* 109, 851-862.
- 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.
- Goos H.J.T., Consten D. 2002. Stress adaptation, cortisol and pubertal development in the male common carp, (*Cyprinus carpio*). *Molecular and Cellular Endocrinology* 197, 105-116.
- Guyton A.C., Hall J.E. 2000. Red blood cells, anemia, and polycythemia. *Textbook of Medical Physiology* 9, 388-9.
- Hoseinifar S.H., Khalili M., Khoshbavar Rostami H., Esteban M.A. 2013. Dietary galactooligosaccharide affects intestinal microbiota, stress resistance, and performance of Caspian roach (*Rutilus rutilus*) fry. *Fish and Shellfish Immunology* 1-5.
- Kamgar M., Ghane M. 2012. Evaluation of *Bacillus subtilis* Effect as Probiotic on Hematological Parameters of Rainbow Trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) Following Experimental Infection with *Streptococcus iniae*. *Journal of Fisheries and Aquatic Science* 7, 422-430.
- Katoh F., Hyodo S., Kaneko T. 2004. Vacuolar-type proton pump in the basolateral plasma membrane energizes ion uptake in branchial mitochondria-rich cells of killifish, *Fundulus heteroclitus*, adapted to a low ion environment. *Journal of Experimental Biology* 206, 793-803.
- Kilambi R.V., Zdinak A. 1980. Effect of acclimation on the salinity tolerance of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Journal of Fish Biology* 116, 171-175.
- Kim D.H., Austin B. 2006. Cytokine

- H. 2010. Determination of normal values of some blood Serum enzymes in *Acipenser stellatus* Pallas. *Fish Physiology and Biochemistry* 36, 39-43.
- Shalaby A.M., Khattab Y.A., Abdel Rahman A.M. 2006. Effects of garlic (*Alliumsativum*) and chloramphenicol on growth performance, physiological parameters and survival of Nile tilapia (*Oreochromis mosambicus*). *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases* 12, 172-201.
- Schely P.D., Feild C.J. 2002. The immune enhancing effects of dietary fibers and prebiotics. *British Journal Nutrition* 87, 227-230.
- Svobodova Z., Kalab B., Dusek L., Vykusova B., Kolarova J., Janouskova D. 1999. The effect of handling and transport on the concentration of glucose and cortisol in blood plasma of common carp. *Acta Vet Brno* 68, 265-274.
- Tangestani R., Alizadeh Doughikollae E., Ebrahimi E., Zare P. 2011. Effects of Garlic essential oils an Immunostimulant on hematological indices of juvenile beluga (*Huso huso*). *Journal of Veterinary Research* 66(3), 209-216.
- Taoka Y., Maeda H., Jo J.Y., Jeon M.J., Bai S. C., Lee W.J., Yuge K., Oshio D.S. 2006. Growth, stress tolerance and non-specific immune response of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* to probiotics in a closed recirculation system. *Fisheries Sciences* 72, 310-321.
- Torrecillas S., Makol A., Caballero M.J., Montero D., Dhanasiri A.K.S., Sweetman J., Izquierdo M.S. 2012. Effects on mortality and stress response in European sea bass, *Dicentrarchus labrax* (L.), fed mannanoligosaccharides (MOS) after *Vibrio anguillarum* exposure. *Journal of Fish Diseases* 35(8), 591-602.
- Trinder P. 1969. A colorimetric method for the determination of glucose. *Annlin Biochem* 6, 24-26.
- Valipour A.R., Hamed N., Abdollahpour H. 2013. The effect of probiotic (*Pediococcus acidilactici*) supplementation on blood parameters of fingerlings kutum (*Rutilus kutum*). *Aquaculture Europe* 14, 239-241.
- Varsamos S., Nebel C., Charmantier G. 2005. Ontogeny of osmoregulation in fish: a Comparative review. *Biochemical and Physiology* 141, 401-429.
- (*Anguilla Anguilla*): effects of seawater acclimation and cortisol treatment on renal expression. *Biology of Cell* 97, 615-662.
- Nayak S.K. 2010. Probiotics & immunity: a fish perspective. *Fish and Shellfish Immunology* 129, 2-14.
- Nayak S.K., Swain P., Mukherjee S.C. 2007. Effect of dietary supplementation of probiotic and vitamin C on the immune response of Indian major carp *Labeo rohita* (Ham.). *Fish and Shellfish Immunology*, 23(4), 892-896.
- Neissi A., Rafiee GH., Nematollahi M., Safari O. 2013. The effect of *Pediococcus acidilactici* bacteria used as probiotic supplement on the growth and non-specific immune responses of green terror, *Aequidens rivulatus*. *Fish and Shellfish Immunology* 35, 1976-1980.
- Newaj-Fyzul A., Adesiyun A.A., Mutani A., Ramsubhag A., Brunt J., Austin B. 2007. *Bacillus subtilis* AB1 controls *Aeromonas* infection in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum). *Applied Microbiology* 103, 1699-1706.
- Noga E.J. 2010. Fish disease. Diagnosis and treatment. Ablock well publishing company. 37-40.
- Olsen R.E., Myklebust R., Kryvi H., Mayhew T.M., Ringø E. 2001. Damaging effect of dietary inulin on intestinal enterocytes in Arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.). *Aquaculture Research* 32, 931-934.
- Razeghi Mansour M., Akrami R., Ghobadi, S.H., Amani Denji K., Ezatrahimi N., Gharaei A. 2012. Effect of dietary mannan oligosaccharide (MOS) on growth performance, survival, body composition, and some hematological parameters in giant sturgeon juvenile (*Huso huso Linnaeus*, 1754). *Fish Physiology and Biochemistry* 38, 829-835.
- Rottland J., Tort L. 1997. Cortisol and glucose responses after acute stress by net handling in the sparid red porgy previously subjected to crowing stress, *The Journal of Fish Biology* 51, 21-28.
- Salati A.P., Baghyan Zade A., Soltani M., Peyghan R., Riyazi G. 2010. Haematological parameters and plasma metabolic response to different salinity levels in common carp (*Cyprinus carpio*). *Iranian Journal of Veterinary Medicine* (2)4, 49-52.
- Shahsavani D., Mohri M., Gholipour Kanani

- Veerasamy R., Min L.S., Paulin R., Sivadasan S., Varghese C., Rajak H., Marimuthu K. 2014. Effect of aqueous extract of *Polygonum minus* leaf on the immunity and survival of African catfish (*Clarias gariepinus*). *Journal of Coastal Life Medicine* 2, 209-213.
- Verdegem M.C.J., Hilbrands A.D., Boom J.H. 1997. Influence of salinity and dietary composition on blood parameter values of hybrid red tilapia, *Oreochromis niloticus* (Linnaeus) × *O. Mossambicus* (Peters). *Aquaculture Research* 28, 453-459.
- Wiik E., Andersen K., Uglenes I., Egidius E. 1989. Cortisol-induced increase in susceptibility of Atlantic salmon, *Salmo salar*, to *Vibrio salmonicida*, together with the effects on the blood cell patterns. *Aquaculture* 83, 201-215.
- Wendelaar-Bonga S.E. 1997. The stress response in fish. *Physiological Reviews* 77, 591-625.
- Wurts W.A., Durborow R.M. 1992. Interactions of pH, carbon dioxide, alkalinity and hardness in fish ponds. SRAC Publication No. 464.
- Ye J.D., Wang K., Li F.D., Sun Y.Z. 2011. Single or combined effects of fructo- and mannan oligosaccharide supplements and *Bacillus clausii* on the growth, feed utilization, body composition, digestive enzyme activity, innate immune response and lipid metabolism of the Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture Nutrition* 17(4), 902-911.
- Yildiz H.Y., Uzbilek M.K. 2001. The evaluation of secondary stress response of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*; Val. 1844) after exposing to the saline water. *Fish Physiology and Biochemistry* 25, 287-290.
- Yousefian M., Hedayatifard M., Fahimi Sh., Shikholeslami M., Irani M., Amirinia C., Mousavi S.E. 2012. Effect of prebiotic supplementation on growth performance and serum biochemical parameters of Kutum (*Rutilus frisii kutum*) fries. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances* 7, 684-692.
- Ziegeweid J.R., Black M.C. 2010. Hematocrit and plasma osmolality values of young-of-year shortnose sturgeon following acute exposures to combinations of salinity and temperature. *Fish Physiology and Biochemistry* 36, 963-968

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

Mahin Ranjdost, Hojatollah Jafaryan*, Mohammad Harsig, Hosna Gholipour Kananni

Department of Fisheries, Faculty of Agriculture and natural resource, Gonbad Kavous University, P.O.Box: 4971799151, Gonbad Kavous, Iran.

*Corresponding author: hojat.jafaryan@gmail.com

Received: 2018/3/28

Accepted: 2018/7/10

Abstract

One of the most important factors during transportation of fishes is stress reduction. The effects of Celmanax liquid yeast commercial prebiotic and commercial product Protexin Aquatech including a blend of five strains of probiotic bacilli (*Bacillus licheniformis*, *B. subtilis*, *B. polymyxa*, *B. laterosporus* and *B. circulans*) on the biochemical parameters and hematological factors of common Carp juveniles were investigated during 12 h transportation in plastic bags. During 90 days, 150 juveniles with average weight of 60.50 ± 1.50 g were fed by diet supplemented with Celmanax prebiotic at the level of 1 ml per kg, and by diet supplemented with probiotic bacilli at concentrations of 1×10^6 CFU per 100 g food. Then the fish were introduced to 40 liter plastic bags in stocking density of 1 kg/m³. In this study, four treatments were performed and three replications for each treatment including control, 0.5 g per liter salinity + Celmanax, 5 g per liter salinity + Celmanax and 0.5 g per liter salinity + probiotic bacilli treatment. 10 fish were sampled from plastic bags and at the beginning and end of experiment. There were no significant differences in values hematocrite and Hb Calcium and glucose levels in different treatments. ($P > 0.05$). The control group had the highest levels of cortisol ($P < 0.05$). The results showed that using Celmanax prebiotic and probiotic bacilli in long-time transportation of Common Carp (over than 12 hours), can reduce fish stress.

Keywords: Celmanax liquid yeast, Probiotic Bacilli, Hematological factors, Transportation.