اثر پری بیوتیک سلماناکس بر پارامترهای خون بچه‌ماهی کپورمعمولی (*Cyprinus carpio* L. Linnaeus,۱۷۵۸) در برابر تنش حمل و نقل

- **مهین رنجدوست***: گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، صندوق‌پستی: ٤٩٧١٧٩٩١٥١
- **حجت‌الله جعفریان**: گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، صندوق‌پستی: ٤٩٧١٧٩٩١٥١
- **محمد هرسیج**: گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، صندوق‌پستی: ٤٩٧١٧٩٩١٥١
- **حسنا قلی‌پورکنعانی**: گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع‌طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، صندوق‌پستی: ٤٩٧١٧٩٩١٥١

تاریخ دریافت: بهمن ١٣٩٥ تاریخ پذیرش: اردیبهشت ١٣٩٦

چکیده

یکی از مهم‌ترین فاکتورها در زمان حمل و نقل، کاهش میزان استرس می‌باشد. تأثیرات پری‌بیوتیک تجاری مخمرمایع سلماناکس بر روی پارامترهای بیوشیمیایی و فاکتورهای خونی ماهی کپورمعمولی جوان (*Cyprinus carpio*) در طول حمل و نقل ۱۲ ساعته مورد بررسی قرار گرفت. ۱۵۰قطعه ماهی کپورمعمولی با وزن متوسط ۱/۵۰±۶۰/۵۰ گرم توسط رژیم غذایی پری‌بیوتیک سلماناکس در سطح ۱ میلی‌لیتر در هر ۱کیلوگرم غذا در طول ۹۰ روز تغذیه شدند. ماهیان در ۳ تیمار و هریک با ۳ تکرار با تراکم ۱کیلوگرم به کیسه‌های پلاستیکی ٤٠ لیتری ذخیره‌سازی شدند. تیمارها به‌ترتیب A (۲۵)، B (۱۸) و C (۱۰) درجه سانتی‌گراد بود. ۱۰ ماهی از کیسه‌های پلاستیکی انتخاب و در آغاز و پایان آزمایش خونگیری شد. تغییرات دمای آب در زمان حمل ونقل تأثیر معنی‌داری بر میزان هماتوکریت و MCV در بین تیمارهای آزمایشی با گروه شاهد نداشت (p>۰/۰۵). درمیزان گلوکز و کلسیم نیز در بین تیمارهای آزمایشی، اختلاف قابل توجهی با گروه شاهد نداشت (p>۰/۰۵). بیش‌ترین میزان کورتیزول در تیمار شاهد مشاهده شد (p<۰/۰۵). حداکثر AST (واحد بین‌المللی بر لیتر) ۳٦۱/۵۰ در تیمار C مشاهده گردید (p<۰/۰۵). نتایج مطالعه حاضر نشان داد استفاده از پری‌بیوتیک سلماناکس در حمل و نقل طولانی مدت (۱۲ساعته) منجر به کاهش استرس در ماهی کپورمعمولی می‌شود.

کلمات کلیدی: مخمرمایع سلماناکس، پارامترهای خونی، حمل و نقل، کپور معمولی

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: mahin.rnj @gmail.com

مقدمه

در صنعت آبزی‌پروری عملیات رقم‌بندی، صید (اغلب صید با تور)، انتقال ماهی به خارج از آب و حمل و نقل ماهیان، استرس‌زا بوده و منجر می‌گردد به پاسخی که اصطلاحاً معروف به جنگ و گریز می‌باشد (Barton و همکاران، ۱۹۸۰). استرس با مختل کردن تعادل سیستم‌های داخلی باعث ایجاد اثرات مخرب در رفتار، رشد، سبب تحریک عملکرد سیستم ایمنی و مقاومت در برابر بیماری‌ها می‌شود (Morales و همکاران، ۲۰۰۵؛ Jiang و همکاران، ۲۰۰۸). 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 و Jongjareanjai، ۲۰۱۱). تغییرات سیستم ایمنی ماهیان در شرایط استرسی می‌تواند تحت تأثیر نوع استرس (حاد یا مزمن)، گونه و وضعیت فیزیولوژیک قرار گیرد (Tort، ۲۰۱۱).

خون به‌عنوان یک بافت سیال، یکی از مهم‌ترین مایعات بیولوژیک 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 به تغییرات رخ داده در محیط نشان دهد (Satheeshkumar و همکاران، ۲۰۰۴). پاسخ‌های فیزیولوژیک ماهی (*Brycon cephalus*) پس از مراحل صید، بارگیری و حمل و نقل ۴ ساعته در تراکم‌های مختلف نشان داد که میزان هماتوکریت افزایش یافت (Urbinati و همکاران، ۲۰۰۴). مطالعات نشان داده است که در زمان حمل و نقل میزان گلبول قرمز (RBC) خون ماهیان در بالاترین سطح خود می رسد (Dobsikova و همکاران، ۲۰۰۶). در واقع افزایش استرس ماهی در مواقع بحرانی سبب القای ترشح هورمون کورتیزول وبه‌دنبال آن افزایش گلوکز پلاسما می‌باشد(Rottland و Tort، ۱۹۹۷). این‌مسأله‌در زمان حمل و نقل ماهی کپورمعمولی (*Cyprinus carpio*) ماهی آزاد اطلس (*Salmo salar*) (Svobodoa و همکاران ۱۹۹۹؛ Gatica و همکاران، ۲۰۱۰) و تاثیراسترس‌های حاد بر بچه ماهی کپور (*Cyprinus carpio*) و ماهیان طلائی (*Carassius auratus*) (روضاتی و همکاران، ۱۳۹۲؛ رعنای‌اخوان و همکاران، ۱۳۹۱) نیز به‌اثبات رسیده است. بسته‌بندی و حمل و نقل بچه‌ماهیان باعث ایجاد استرس‌هایی می‌گردد که نتایج آن می‌تواند به‌صورت افزایش نرخ مرگ و میر و کاهش عملکرد تولید باشد (Taoka و همکاران، ۲۰۰۶). استرس حاصل از حمل و نقل می‌تواند یکی از فاکتورهای مهم در ارتباط با بیماری‌های ماهیان و مرگ‌ومیر آن‌ها در آبزی‌پروی باشد (Rollo و همکاران، ۲۰۰۶).

حفظ کیفیت خوب آب در زمان حمل و نقل ماهیان جزء فاکتور اصلی و نیاز اولیه برای موفقیت این عملیات می باشد (Taylor و Solomo، ۱۹۷۹) فاکتورهای کیفی آب در زمان حمل و نقل ماهی از جمله دی اکسیدکربن و pH ، تغییر می‌کنند و باعث کاهش کیفیت آب مخازن آمونیاک غیریونیزه (NH_3) می‌شود (Ross و Ross، ۱۹۸۲). بنابراین باید از روش‌هایی استفاده شود که تنش وارده به ماهی را کنترل کند و کیفیت آب را حفظ کند. در این‌خصوص استفاده از زئولیت به‌عنوان ماده جاذب آب و نهایتاً بهبود کیفیت آب مخازن حمل و غلظت‌های پایین مواد بی‌هوشی نظیراسانس گل میخک، تریکائین متانوسولفونات (MS_{222}) یا هیدروکسی کینالدین جهت کاهش میزان متابولیسم آبزیان در زمان حمل و نقل استفاده می‌شود. استفاده ازاین مواد باعث حفظ کیفیت آب و بهبود شرایط حمل برای آبزی و در نتیجه کاهش تنش و تلفات در مدت زمان حمل و نقل ماهی می‌شود (Iversen و همکاران، ۲۰۰۳).

با توجه به خونسرد بودن ماهی میزان سوخت و ساز ماهی تحت تأثیر درجه حرارت محیط زیست می‌باشد. بنابراین در دمای پایین متابولیسم و نرخ مصرف اکسیژن، تولید آمونیاک، و تولید دی اکسیدکربن کاهش می‌یابد، لذا حمل و نقل ماهی در دماهای پایین ضروری است. دما علاوه بر این‌که به‌طور مستقیم متابولیسم را تغییر می‌دهد به‌طور غیرمستقیم هم بر ماهی اثر می‌گذارد به این ترتیب که میزان اکسیژن را در آب تغییر می‌دهد به‌دنبال آن میزان اکسژن در دسترس ماهی تغییر یافته و در نهایت میزان انتقال اکسیژن توسط خون تحت تاثیر قرار می‌گیرد (Riggs، ۱۹۷۰).

از دیگر موادی که می‌تواند رویکرد جدیدی را پیش روی آبزی پروری بگذارد و استرس‌های محیطی را کاهش دهد و اثرات مثبت بر موجودبگذارد پری‌بیوتیک‌ها می‌باشند. Gibson و Roberfroid(۱۹۹۵) اولین کسانی بودند که ایده پری‌بیوتیک را به‌عنوان ماده غذایی غیرقابل هضم که از طریق تحریک رشد و فعالیت یک یا تعداد محدودی از باکتری‌های موجود در روده، اثرات سودمندی برای میزبان داشته بیان کردند. ایده‌ای که در این‌باره مطرح شده استفاده از پربیوتیک‌ها، پروبیوتیک‌ها و سینبیوتیک‌ها در جیره غذایی ماهی و میگو است (Andrews و همکاران، ۲۰۰۹) پری‌بیوتیک حاوی مانان‌های مخمری است. مانان‌های مخمری قندهایی نظیر بتاگلوکان‌ها گالاکتوزامین‌ها مانوزو اولیگوساکارید مانان (MOS) می‌باشد (Gang و Huang، ۲۰۰۸) بتاگلوکان و مانان‌الیگوساکاریدها به‌عنوان محرک‌های ایمنی غیراختصاصی می‌توانند فعالیت بیگانه‌خواری و دیگر بخش‌های سیستم ایمنی اولیه را در ماهیان افزایش دهند (Couso و همکاران، ۲۰۰۳). مانان الیگوساکارید استخراج شده از دیواره سلولی مخمر باعث بالا بردن رشد باکتری‌های مفید اسید لاکتیک در روده می‌شود (Andrews

و همکاران، ۲۰۰۹) اولیگوساکاریدمانان (MOS) تحریک عملکرد ایمنی را در کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)، قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) و ماهی باس دریای (*Dicentrarchus labrax*) بر روی سیم دریایی (*Sparus aurata*) بر روی فیل‌ماهی را سبب گردید (Torrecillas و همکاران، ۲۰۰۷ ؛ Staykov و همکاران، ۲۰۰۵ و ۲۰۰۷ ؛ Gultepe و همکاران، ۲۰۱۰؛ Razeghi Mansour و همکاران، ۲۰۱۲). گالاکتوالیگوساکارید با افزایش باکتری‌های اسیدلاکتیک باعث افزایش رشد و افزایش تحمل استرس و تعدیل میکروبیوت روده‌ای در نوزاد ماهی سفید می‌شود (Hoseinifar و همکاران، ۲۰۱۳). Sang و همکاران (۲۰۰۹) نیز به این نتیجه رسیدند که مکمل غذایی مانان اولیگوساکارید باعث افزایش معنی‌دار ایمنی و سلامتی عمومی (*Cherax tenuimanus*) در برابر آلودگی باکتریایی و افزایش میزان آمونیاک و استرس جابجایی می‌شود. 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 با از طریق تقویت سیستم ایمنی آن می‌شود. بنابراین، با توجه به اهمیت اقتصادی و ارزش شیلاتی ماهی کپور معمولی و گسترش آن درآبزی 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 به‌خوبی احساس می‌شود. لذا مطالعه حاضر با هدف ارزیابی تأثیرات پری‌بیوتیک سلماناکس مکمل شده در جیره به‌منظور کاهش استرس ناشی از حمل و نقل ماهی بر روی پارامترهای خونی ماهی کپورمعمولی انجام شد.

مواد و روش‌ها

تهیه ماهی وغذادهی: در این تحقیق ۱۵۰ عدد ماهی کپور معمولی جوان با وزن ۱/۵۰±۶۰/۵۰ گرم از کارگاه پرورش ماهیان گرم‌آبی شهید چمران واقع در سد وشمگیر گرگان تهیه شد. ماهیان کپور پس از انتقال به آزمایشگاه آبزی‌پروری دانشگاه گنبد کاووس، به‌مدت دو هفته با شرایط آزمایشگاه سازگار شد. ماهیان در مدت ۹۰ روز به‌میزان ۵ درصد وزن بدن و سه بار در روز تغذیه گردیدند. غذای مصرفی آن‌ها از غذای اکسترود 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 (باتوجه 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، به‌مدت ۲۴ ساعت) خشک شد و مورد استفاده قرار گرفت. برخی مواد تشکیل دهنده سلماناکس پروتئین خام کم‌تر از ۶/۰۰ ٪ خام چربی کم‌تر از ۱/۰۰٪، فیبر خام بیش از ۲/۵۰٪، رطوبت بیش از ۸۲/۰۰٪، آلانین ۰/۴۶٪، آرژنین ۰/۱۷٪، آسپارتیک اسید ۰/۶۹٪، سیستین ۰/۱۲٪، گلوتامیک اسید ۰/۸۰٪ می‌باشد.

تیمارهای مورد آزمایش: شاهد : غذای تجاری، تیمار A (غذای تجاری+پری‌بیوتیک سلماناکس در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد)، تیمار B(غذای تجاری+پری‌بیوتیک سلماناکس در دمای ۱۸ درجه سانتی‌گراد)، تیمار C (غذای تجاری+پری‌بیوتیک سلماناکس در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد). بعد از این مدت 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 به‌مدت ۱۲ ساعت نگه‌داری گردید. قبل از شروع آزمایش به‌طور 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 مد ۸۳۲۰۰ به‌صورت روزانه اندازه‌گیری شد. اکسیژن محلول معادل ۰/۵۲±۷/۸۷ میلی‌گرم و pH آب معادل ۰/۱۸±۷/۶ به‌دست آمد. هم‌چنین اندازه‌گیری درجه حرارت آب نیز در هر روز در ۳ نوبت و هم زمان با دفعات غذادهی نوزادهاانجام گرفت و معادل ۱/۳۵±۲۰/۵۰ درجه سانتی‌گراد ثبت گردید.

پارامترهای خونی: تعداد گلبول‌های قرمز و سفید خون با استفاده از لام هماتوسیتومتر نئوبار شمارش گردید (Noga، ۲۰۱۰) هموگلوبین به‌روش استاندارد با استفاده از کیت سنجش هموگلوبین ساخت شرکت زیست شیمی، تهران محاسبه شد. حجم فشرده گلبولی یا (PCV) به‌روش میکروهماتوکریت و با استفاده از سانتریفوژ میکروهماتوکریت صورت پذیرفت (Dacie وLewis, ۱۹۹۱) سایر شاخص‌های خونی با استفاده از فرمول‌های استاندارد طبق منبع مطالعاتی Dacie و Lewis (۱۹۹۱) ارائه شده در ذیل محاسبه گردید:

حجم متوسط گلبولی: $MCV\ (fL) = [Hct/RBC\ (per\ million)]\times ۱۰$

میانگین غلظت همگلوبین در گلبول قرمز:

$MCH\ (pg) = [Hb/RBC\ (per\ million)]\times ۱۰$

تغییرات میانگین غلظت هموگلوبین:

$MCHC(\%)=(MCH/MCV)\times ۱۰۰$

معیارهای ایمنی: اندازه‌گیری گلوکز براساس روش آنزیمی کالری‌متری (GOD-PAP) صورت گرفت (Trinder، ۱۹۶۹). میزان هورمون کورتیزول با استفاده از دستگاه ال‌آی‌زا و کیت آزمایشگاهی (پارس آزمون) اندازه‌گیری گردید (Asahina و همکاران، ۱۹۹۵). به‌دلیل این‌که آنزیم‌های کبدی شاخص وضعیت سلامت می‌باشند و

تحت شرایط محیطی تغییر می‌کنند (غیاثی و همکاران ۱۳۸۹)، آنزیم‌های کبدی آسپارتات‌آمینوترانسفراز (AST)، آلانین‌آمینوترانسفراز (ALT) و آلکالین‌فسفاتاز (ALP) با استفاده از کیت تجاری پارس آزمون و دستگاه آوتوآنالایزر مدل اپندروف، ای‌پی‌اواس ساخت کشور آلمان اندازه‌گیری شد (Shahsavani و همکاران ۲۰۱۰). اندازه‌گیری کلسیم سرم خون کپور ماهیان 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 به‌دست آمده در قالب طرح کاملاً تصادفی، با استفاده از نرم‌افزار SPSS مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن انجام شد در سطح اطمینان ۹۵٪ انجام پذیرفت.

نتایج

میزان گلبول قرمز (RBC) و میزان گلبول‌های سفید (WBC) و هموگلوبین (Hb) در تیمار C تفاوت معنی‌داری با سایر تیمارهای آزمایشی داشت ($p<0/05$)(جدول ۱). درصد هماتوکریت در بین تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی‌داری نداشت ($p>0/05$) (جدول ۱).

در تیمار A کاهش قابل توجهی در حجم متوسط گلبول قرمز (MCV) و افزایش درمیزان غلظت هموگلوبین در گلبول قرمز مشاهده شد و اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها داشت ($p<0/05$). بالاترین میزان متوسط هموگلوبین (MCH) در تیمار شاهد به‌دست آمد، تفاوت معنی‌داری بین گروه شاهد و تیمارهای آزمایشی دیگر مشاهده شد ($p<0/05$)(جدول ۱). میزان نوتروفیل در بین گروه‌های آزمایشی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($p>0/05$). میزان لنفوسیت در تیمار C و تیمار B اختلاف معنی‌دار با یکدیگر داشت ($p<0/05$)(جدول ۱).

برطبق نتایج به‌دست آمده بالاترین مقدار گلوکز درتیمار C به‌دست آمد. بین تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد ($p>0/05$)(جدول ۲). در رابطه با میزان کلسیم اختلاف معنی‌داری میان تیمارهای آزمایشی و گروه شاهد مشاهده نشد ($p>0/05$). بالاترین میزان کورتیزول و بیشترین فعالیت آنزیم (ALT) و کم‌ترین میزان آنزیم(ALP) در تیمار شاهد به‌دست آمد که اختلاف معنی‌داری باسایر تیمارها داشت ($p<0/05$) (جدول ۲). درخصوص آنزیم (AST) بیش‌ترین میزان در تیمار C به‌دست آمد که به‌طور معنی‌داری با سایر تیمارها اختلاف داشت ($p<0/05$)(جدول ۲).

جدول ۱: پارمترهای خون کپور ماهیان جوان در دوره حمل و نقل ۱۲ ساعته

پارامتر / تیمار	شاهد (بدون سلماناکس)	A (دمای ۲۵ c°+سلماناکس)	B (دمای ۱۸ c°+سلماناکس)	C (دمای ۱۰ c°+سلماناکس)
گلبول قرمز (میلیون/ میلی‌لیتر)	۱/۲۲۹ ± ۰/۱ b	۱/۲۰۷± ۰/۰۱ b	۱/۲۰۲ ± ۰/۰۳b	۱/۳۵۷ ± ۰/۰۱۵ a
گلبول سفید (هزار/ میلی‌لیتر)	۱۵۸۰۰ ± ۹۰۰b	۱۷۷۵۰ ± ۴۵۰ a	۱۶۹۵۰ ± ۵۵۰ a	۱۷۸۵۰ ± ۳۵۰ a
هموگلوبین(گرم دسی‌لیتر)	۸/۷۰ ± ۰/۲۰ a	۸/۲۵ ± ۰/۰۵ b	۸/۲۵ ± ۰/۲۵ b	۸/۸۰ ± ۰/۰۱ a
هماتوکریت (درصد)	۲۶/۱۵ ± ۰/۹۵ a	۱۸/۴۰ ±۰/۳۹۱a	۲۴/۳۵ ± ۰/۷۵ a	۲۷/۰۵ ± ۰/۱۵ a
حجم متوسط گلبول قرمز (فمتولیتر)	۲۱۴/۸۵ ±۲۵/۳۱a	۱۵۲/۲۵ ± ۵۲/۲۵b	۲۰۲/۵۵ ۱±/۱۵a	۱۹۹/۴۰ ۱±/۱۰۰a
میزان متوسط هموگلوبین(پیکوگرم)	۷۱/۴۰ ± ۷/۵ a	۶۸/۳۵ ± ۰/۰۵ ab	۶۸/۶۵ ± ۰/۳۵ ab	۶۴/۸۵ ± ۰/۰۵b
میزان غلظت متوسط هموگلوبین (گرم/دسی‌لیتر)	۳۲/۲۵ ± ۰/۴۵ a	۵۰/۹۰ ± ۱۰/۴ a	۳۳/۹۰ ± ۰/۰۵b	۳۲/۵۰ ± ۰/۲۰ b
نوتروفیل(میلیون/ میلی‌لیتر)	۱/۱۴۵ ± ۰/۰۸۰ ab	۱/۱۳۹ ± ۰/۱۷۰ab	۱/۱۵۸± ۰/۰۸۱ b	۱/۲۸۵±۰/۱۴۷ b
لنفوسیت (میلیون/ میلی‌لیتر)	۰/۰۹۳±۰/۰۱۴ ab	۰/۰۷۹±۰/۰۲۱ a	۰/۰۵۴±۰/۰۰۷ b	۰/۰۸۲±۰/۰۰۵ c

حروف لاتین غیرمشترک در هر ردیف نشانه معنی‌دار بودن است ($p<0/05$). مقادیر به‌صورت (انحراف معیار ± میانگین)

جدول ۲: پارمترهای سرم خون کپور ماهیان جوان در دوره حمل و نقل ۱۲ ساعته

پارامتر / تیمار	شاهد (بدون سلماناکس)	A (دمای ۲۵ c°+سلماناکس)	B (دمای ۱۸ c°+سلماناکس)	C (دمای ۱۰ c°+سلماناکس)
گلوکز (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	۱۹۸/۲۹±۵۰/۵۰ a	۱۳۵/۸±۰۰/۰۰a	۱۸۹/۲۰ ۲۵±/۵۰ a	۲۰۳/۵۰ ۳۵±/۵۰ a
کورتیزول (نانوگرم بر دسی‌لیتر)	۶۶/۳۳ ۳±/۱۵ b	۲۱/۰۵ ۳±/۵۵ a	۱۱/۲±۶۰/۸۰ a	۲۵/۱±۹۵/۴۵ a
پروتئین تام (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	۲/۲۱ ± ۰/۱۶ a	۲/۳۶ ± ۰/۰۷ b	۲/۸۷ ± ۰/۲۲ b	۲/۴۸ ± ۰/۱۶ b
کلسیم	۱۰/۶۰ ± ۰/۴۰ ab	۱۰/۵۰ ± ۰/۲۰ b	۱۰/۴۰ ± ۰/۶۰ b	۱۱/۴۵ ± ۰/۷۵ a
آسپارات آمینو ترانسفراز (AST) (واحد بین‌المللی در هر لیتر)	۱۵۰/۲۳±۰۰/۰۰ b	۱۲۹/۹±۵۰/۵۰ b	۱۶۶/۵۸±۵۰/۵ b	۳۶۱/۸۰±۵۰/۸۵ a
آلانین آمینو ترانسفراز (ALT) (واحد بین‌المللی در هر لیتر)	۵۰/۰۰ ± ۵/۰۰ a	۸/۰۰ ± ۲/۰۱ c	۱۱/۰۰ ± ۴/۰۰ b	۲۳/۴±۵۰/۵۱ ab
آلکالین فسفاتاز (ALP) (واحد بین‌المللی در هر لیتر)	۲۷/۰۷ ± ۱/۰۶ b	۱۴۵/۵۰ ± ۳۱/۵۰ a	۱۵۷/۲۹±۵۰/۵۰ a	۱۳۳/۳۰±۵۰/۵۰ a

حروف لاتین غیرمشترک در هر ردیف نشانه معنی‌دار بودن است ($p<0/05$). مقادیر به‌صورت (انحراف معیار ± میانگین)

بیش‌ترین فعالیت فعالیت ویژه آنزیم (ALT) و کم‌ترین میزان فعالیت ویژه آنزیم (ALP) در تیمار شاهد به‌دست آمد که اختلاف معنی‌داری باسایر تیمارها داشت (p<۰/۰۵) (جدول۳). درخصوص فعالیت ویژه آنزیم (AST) بیش‌ترین میزان در تیمار C به‌دست آمد که به‌طور معنی‌داری با سایر تیمارها اختلاف داشت (p<۰/۰۵) (جدول۳).

جدول ۳: پارمترهای سرم خون کپور ماهیان جوان در دوره حمل و نقل ۱۲ ساعته

پارامتر	تیمار شاهد بدون سلماناکس	A (دمای ۲۵ c°+سلماناکس)	B (دمای ۱۸ c°+سلماناکس)	C (دمای ۱۰ c°+سلماناکس)
فعالیت ویژه آسپارات آمینو ترانسفراز (AST) (واحد بین‌المللی بر میلی‌گرم پروتئین)	۶/۰±۷۸/۴۷ b	۵/۰±۴۸۷/۸۲ b	۵/۰±۸۰/۸۷ b	۱۴/۱±۵۷/۰۲ a
فعالیت ویژه آمینو ترانسفراز (ALT) (واحد بین‌المللی بر میلی‌گرم پروتئین)	۲/۰±۲۶/۱۵ a	۰/۰±۳۴/۰۵ c	۰/۰±۳۸/۰۲۶ b	۰/۰±۹۴/۱۴ ab
فعالیت ویژه آلکالین فسفاتاز (ALP) (واحد بین‌المللی بر میلی‌گرم پروتئین)	۱/۲۳±۰/۱۸ b	۶/۱۶±۰/۴۳ a	۵/۴۸±۰/۸۰ a	۵/۳۸±۰/۳۷ a

حروف لاتین غیرمشترک در هر ردیف نشانه معنی‌دار بودن است (p<۰/۰۵). مقادیر به‌صورت (انحراف معیار ± میانگین)

بحث

در مطالعه حاضر بیش‌ترین میزان و گلبول قرمز و بالاترین میزان گلبول سفید در پایین‌ترین دما در تیمار C مشاهده شد، شاید بتوان آن را به تنش حاصل از سرما نسبت داد. در بسیاری از مطالعات، افزایش در مقادیر هماتوکریت و هموگلوبین در مدت زمان ۹ ساعت پس از یک‌بار استرس مشاهده شدکه این امر به‌عنوان یک استراتژی برای بهبود ظرفیت حمل اکسیژن در شرایطی که تقاضا برای انرژی بالاست، می‌باشد (Olsen و همکاران، ۲۰۰۳). میزان هموگلوبین نیز در ماهیان تغذیه شده با پری‌بیوتیک در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد دارای روند افزایشی است اما در کل تغییرات معنی‌دار نبود. شاید بتوان آن را به تنش حاصل از سرما نسبت داد. در توافق با نتایج تحقیق حاضر در یافته‌های Khormali و همکاران (۲۰۱۵) سطح هموگلوبین و هماتوکریت در خون کپور ماهیان جوان در یک دوره حمل و نقل با کیسه‌های پلاستیکی و در شرایط مختلف آب، در مقایسه با آغاز آزمایش تحت تأثیر قرار نگرفت. در مغایرت با نتایج این مطالعه Dobsikova و همکاران (۲۰۰۹)، گزارش کردند در حمل و نقل بلند مدت ماهی کپور این شاخص خونی افزایش یافته بود. به‌طورکلی پری‌بیوتیک‌ها جذب کاتیون‌های دو ظرفیتی را سبب می‌شوند که با توجه به افزایش مقدار هموگلوبین، نتایج مطالعه حاضر احتمالاً می‌تواند نشان دهد که پری‌بیوتیک جیره می‌تواند جذب آهن را افزایش دهد. افزایش تعداد گلبول‌های قرمز، میزان هموگلوبین و هماتوکریت در مطالعه Li و همکاران (۲۰۰۴) در ماهی هیبرید باس راه راه و Akrami و همکاران (۲۰۰۸) در فیل‌ماهی مطابقت دارد. علت افزایش هموگلوبین یا هماتوکریت در طول استرس می‌تواند ناشی از یکی از عوامل کاهش حجم پلاسما، تورم گلبول‌های قرمزو آزاد شدن تعداد بیش‌تری اریتروسیت در خون از بافت‌های خون‌ساز، باشد (Pearson و Stevens، ۱۹۹۱). نتایج نشان داد که افزودن سطوح مختلف پری‌بیوتیک گربیوتیک (گربیوتیک به‌عنوان یک گروبیوتیک پری‌بیوتیک دارای ساختار الیگو پلی ساکاریدی مطرح است (Gatlin و Li، ۲۰۰۴). به جیره فیل‌ماهیان جوان پرورشی اثرهای معنی‌داری بر تعداد گلبول های قرمز خون، درصد هماتوکریت، غلظت هموگلوبین و میزان نوتروفیل در تیمار ۲ درصد، در مقایسه با تیمار شاهد داشته است (Adel و همکاران، ۲۰۱۵).

شاخص میانگین حجم گلبول قرمز (MCV) در تیمارهای تغذیه شده با پری‌بیوتیک در برخی موارد روند کاهشی نسبت به شاهد داشتند که کاهش حجم گلبول نشان‌دهنده عدم وجود التهاب است که سبب تسهیل حرکت و تعلیق گلبول‌های قرمز شده که یک ویژگی مثبت در فیزیولوژی دستگاه گردش خون به‌شمار می‌آید (Tangestani و همکاران، ۲۰۱۱). در توافق با یافته‌های این مطالعه، Dobsikova و همکاران (۲۰۰۶)، مشاهده کردند که در حمل و نقل ۱۲ ساعته کپور معمولی ۳ ساله، مقادیر حجم متوسط گلبول قرمز (MCV) و میزان متوسط هموگلوبین (MCH) خون ماهیان افزایشی نداشتند. هم‌چنین در تحقیقی تاثیر مخمر برروی بچه فیل‌ماهیان مشخص شد که در میزان هموگلوبین، هماتو کریت، میانگین غلظت هموگلوبین در گلبول قرمز (MCH)، حجم متوسط گلبولیMCV، تغییرات میانگین غلظت هموگلوبین (MCHC) و گلوکز و پروتئین کل هیچ اختلاف معنی‌داری بین تیمارها و گروه شاهد مشاهده نشد که برخی از آن‌ها با یافته‌های این تحقیق مطابقت دارد(Hoseinifar و همکاران، ۲۰۱۱). نتایج نشان داد که افزودن سطوح مختلف پری‌بیوتیک گربیوتیک به جیره فیل ماهیان جوان پرورشی اثرهای معنی‌داری بر تعداد گلبول‌های قرمز خون، درصد هماتوکریت، غلظت هموگلوبین و میزان نوتروفیل در تیمار ۲ درصد، در مقایسه با تیمار شاهد داشته است (Adel و همکاران، ۲۰۱۵). در یک دوره حمل ۱۲ ساعته کپور معمولی افزایش قابل توجهی در میزان نوتروفیل و لنفوسیت مشاهده کردند که با نتایج تحقیق حاضرمطابقت داشت (Dobsikova و همکاران، ۲۰۰۹). در مغایرت با نتایج این تحقیق در مقادیر پارامترهای خونی نوتروفیل،

لنفوسیت با تغییرات درجه حرارت در حمل و نقل ۱۲ ساعته کپور ماهیان افزایش قابل توجهی مشاهده نشد (Khormali و همکاران، ۲۰۱۵). علاوه بر این، افزایش میزان نوتروفیل در مواردی از قبیل شرایط استرس‌زا، عفونت‌های باکتریایی و واکنش‌های التهابی نیز مشاهده می‌شود (Ahmadifar و همکاران، ۲۰۱۱). بالارفتن میزان نوتروفیل را می‌توان به واکنش دفاعی میزبان در برابر سطوح بالای پری‌بیوتیک نسبت داد، چنین حالتی نیز به‌دنبال تجویز ۳ درصد اینولین در جیره فیل‌ماهیان جوان پرورشی گزارش شده است (Ahmadifar و همکاران، ۲۰۱۱). سطح کلسیم پلاسما در دوره حمل و نقل ۱۲ ساعته در تیمار C افزایش یافت، اما تفاوت معنی‌داری با سطح کلسیم در تیمار شاهد نداشت. Davison و همکاران (۱۹۹۴) گزارش کردند که شرایط کم اکسیژن باعث افزایش سطح کلسیم در ماهی می‌شود. کلسیم و منیزیم در فرآیندهای بیولوژیکی خون ماهی ضروری هستند (Zabelinskii وهمکاران، ۲۰۰۶). گلوکز یکی از منابع انرژی مهم استفاده شده توسط ماهی است که برای مقابله با استرس فیزیولوژیکی استتفاده می‌شود و بنابراین میزان گلوکز خون به‌عنوان شاخص پاسخ به‌استرس استفاده می‌شود(Hanaee Kashani و همکاران، ۲۰۱۲). در این مطالعه بالاترین میزان قند خون در تیمار C مشاهده شد این را می‌توان به تنش سرما در شرایط دوره حمل و نقل نسبت داد. در فرآیند حمل‌ونقل ماهی کپور در مسافت طولانی مدت، سطوح گلوکز پلاسما در ماهیان استرس دیده، در پی افزایش سطوح کتکول آمین افزایش یافت (Dobsikova و همکاران، ۲۰۰۶). هم‌سو با نتایج فوق مطالعه اثرات استرس ناشی از حمل و نقل در مولدین ماهی کپور معمولی نشان داد که گلوکز با گذشت زمان روند افزایشی داشت ولی اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (احسانی‌کناری و همکاران، ۱۳۹۴). گلوکز خون یکی از شاخص‌های متغیر است که به‌میزان بسیار زیادی تحت تأثیر استرس دستکاری و حمل و نقل، استرس محیطی، تغییرات فصلی، وضعیت تغذیه‌ای و بلوغ جنسی قرار دارد (Khanna، ۱۹۷۱). بنابراین، بالا رفتن غلظت گلوکز خون نشان‌دهنده وجود استرس است و علت این افزایش این است که استرس مستلزم صرف انرژی زیادی است (Kavitha و همکاران، ۲۰۱۲). نتایج حاصل از مطالعه Adel و همکاران (۲۰۱۵) تفاوت معنی‌داری را در میزان گلوکز خون سرم متعاقب تجویز سطوح مختلف پری‌بیوتیک گروبیوتیک نشان نداد. در نقطه مقابل، متعاقب مصرف پربیوتیک 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 (Yousefian و همکاران، ۲۰۱۲). 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.

تقریباً هر نوع استرسی چه فیزیکی و چه عصبی، ظرف چند دقیقه منجر به افزایش شدید در ترشح کورتیزول از قشر فوق کلیوی می‌شود. یکی از آثار متعدد کورتیزول بالا بردن مقاومت بدن در هنگام استرس به‌وسیله کاهش جذب گلوکز می‌باشد (حافظ‌امینی و همکاران، ۱۳۸۱).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 مغایرت با نتایج حاصل، سطح کورتیزول خون ماهی در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد بعد از حمل و نقل ۱۲ ساعته، افزایش یافت و این افزایش حاکی از واکنش فیزیولوژیکی ماهیان در شرایط استرس می‌باشد (Khormali و همکاران، ۲۰۱۵). در مغایرت با نتایج حاضر در تاس‌ماهی سفید (*Acipenser transmontanu*) افزایش در سطح کوزتیزول خون در یک دوره حمل و نقل و بار زدن گزارش شده است (Belanger و همکاران، ۲۰۰۱). در مطالعه حاضر، میزان پروتئین در تیمارهای تغذیه شده با پری‌بیوتیک بهبود داشته است. در توافق با نتایج حاضر متعاقب تغذیه بچه ماهی اوزون برون (*Acipenser stellatus*)با پری‌بیوتیک فروکوالیگوساکارید نتایج مشابهی مشاهده‌شد(Iriوهمکاران، ۲۰۱۲)پروتئین سرمی شاخص بیوشیمیایی به نسبت ناپایداری است که تحت تأثیر شرایط خارجی و داخلی تغییر می‌کند (Shalaby و همکاران، ۲۰۰۱). بیش‌ترین بخش پروتئین سرم در کبد سنتز می‌شود که می‌تواند به‌عنوان شاخص عملکرد کبد استفاده شود (Bernet و همکاران، ۲۰۰۱). افزایش سطح پروتئین می‌تواند شاخص مناسبی برای بررسی وضعیت ایمنی ماهی باشد (Veerasamyو همکاران، ۲۰۱۴).

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. بالارفتن سطح این دو آنزیم در خون نشانه آسیب کبدی است.Dobsikova و همکاران (۲۰۰۶) گزارش کردند که حمل و نقل طولانی مدت کپور معمولی اثرات معنی‌داری بر این آنزیم‌ها دارد. در مطالعه حاضر پری‌بیوتیک تأثیر معنی‌داری بر روی آنزیم‌های کبدی به‌همراه داشت. در مطالعه Adel و همکاران (۲۰۱۵) مقادیر آنزیم‌های سرمیAST، ALT و ALP تحت تأثیر سطوح مختلف گروبیوتیک اضافه شده به جیره فیل‌ماهیان جوان قرار نگرفت، مشابه با مطالعه حاضر، متعاقب تجویز سطوح ۱ تا ۳ درصد گروبیوتیک در جیره ماهی سفید، تأثیر معنی‌داری در شاخص‌های ALT،AST و ALP سرمی مشاهده نشد (Yousefian و همکاران، ۲۰۱۲). ناتوانی میکروبیوتای روده‌ای در تخمیر مقادیر اضافی پربیوتیک و تجمع آن‌ها در روده را می‌توان دلیل احتمالی بی‌تأثیر بودن سطوح پربیوتیک بیان داشت (Olsen

و همکاران، ۲۰۰۱). فاکتورهایی مانند شوری، درجه حرارت، گونه آبزی، جنس و شرایط تغذیه‌ای می‌توانند بر فعالیت فراسنجه‌های خونی تأثیر بگذارند و باعث اختلاف درتفاسیر نتایج شوند (Williamsو Warner، ۱۹۷۶). هم‌چنین ترکیب جیره‌های غذایی، نوع پری‌بیوتیک مصرفی و میزان مورد استفاده آن در جیره، روش‌های مختلف اضافه کردن پری‌بیوتیک به جیره و احتمالاً فلور میکروبی روده نیز به‌طور قابل ملاحظه‌ای بر خصوصیات ریخت‌شناسی خون اثر می‌گذارند (Kiato و Yoshida، ۱۹۸۶).

با توجه به نتایج به‌دست آمده در تحقیق حاضر پری‌بیوتیک سلماناکس بر برخی فاکتورهای خونی اثرات مثبتی داشته است که با نتایج بسیاری از محققین مطابقت دارد. در میان این شرایط تیمار A 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 گنبدکاووس انجام گردید، در این خصوص از مسئولان محترم دانشگاه و هم‌چنین از جناب آقای دکتر حسین آدینه و خانم مهندس مهسا رنجدوست تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

۱. **احسانی‌کناری، ج.؛ اسماعیلی‌فریدونی، ا. و فرخروزلاشیدانی، م.، ۱۳۹۴.** بررسی اثرات حمل و نقل بر برخی از پارامترهای استرس، هورمون‌های استروئیدی و فاکتورهای خونی در مولدین کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). مجله زیست‌شناسی جانوری تجربی. سال ۴، شماره ۱، پیاپی ۱۳، صفحات ۵۳ تا ۶۵.

۲. **حافظامینی، پ. و عریان، ش.، ۱۳۸۱.** بررسی اثرات ناشی از استرس کلریدسدیم روی هماتوکریت و هموگلوبین خون در کپورمعمولی. مجله علمی شیلات ایران. شماره۳، سال ۱۱، صفحات ۱۳ تا ۲۲.

۳. **غیاثی، ف.؛ میرزرگر، س.س.؛ سالارآملی، ج.؛ باهنر، ع. و ابراهیم‌زاده‌موسوی، ح.ع.، ۱۳۸۹.** مطالعه پارامترهای خونی و بیوشیمی سرمی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) متعاقب مواجهه با غلظت کم کادمیوم. مجله تحقیقات دامپزشکی دانشگاه تهران. شماره ۶۵، صفحات ۶۱ تا ۶۶.

۴. **Adel, M.; Safari, R.; Yeganeh, S.; Ahmadvand, S. and 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. Vol. 4, pp: 89-100.

۵. **Ahmadifar, E.; Akrami, R.; Ghelichi, A. and Mohammadi Zarejabad, A., 2011**. Effects of different dietary prebiotic inulin levels on blood serum enzyme, hematologic and biochemical parameters of great sturgeon (*Huso huso*) juvenile. Comparative Clinical Pathology. Vol. 20, pp: 447-451.

۶. **Alishahi, M.; Ranjbar, M.M.; Ghorbanpour, M.; Peyghan, R.; Mesbah, M. and Razi jalali, M., 2010**. Effects of dietary Aloe vera on specific and nonspecific immunity of Common carp (*Cyprinus carpio*). International Journal of Veterinary Research. Vol. 4, pp: 189-195.

۷. **Akrami, R., 2008**. Effect of dietary inulin prebiotic of growth, survival and intestinal bacterial density of juvenile great sturgeon (*Huso huso*), Thesis for Ph. D. of Tehran Research Branch, Islamic Azad University. 100 p.

۸. **Andrews, S.R.; Sahu, N.P.; Pal, A.K. and Kumar, S., 2009**. Haematological modulation and growth of *Labeo rohita* fingerlings: effect of dietary mannan oligosaccharide, yeast extract, protein hydrolysate and chlorella. Aquaculture Research. Vol. 41, pp: 61-69.

۹. **Asahina, K.; Kanbegawa, A. and 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 Sciences. Vol. 61, pp: 491- 494.

۱۰. **Barton, B. A.; Peter, R.E. and Paulencu, C.R., 1980.** Plasma cortisol levels of fingerling rainbow *trout (Salmo gairdneri)* at rest, and subjected to handling confinement, transport and stocking. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. Vol. 37, pp: 805-811.

۱۱. **Benfey, T.C. and Biron, M., 2000**. Acute stress response in triploid rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and brook trout (*Salvelinus fontinalis*). Aquaculture. Vol. 184, pp: 167-176.

۱۲. **Bernet, D.; Schmidt, H.; Wahli, T. and Burkhardt-Holm, P., 2001**. Effluent from a sewage treatment works causes changes in serum chemistry of brown trout (*Salmo trutta*). Ecotoxicology and environmental safety. Vol. 48, pp: 140-147.

۱۳. **Blasko, L.; Fernadez, J. and Gutierrez, J., 1992**. Variations in tissue reserves, plasma metabolites and pancreatic hormones during fasting in immature carp (*Cyprinus carpio*). Comp. Biochemical and Physiology. Vol. 103, pp: 357-363.

۱۴. **Belanger, J.M.; Son, J.H.; Laugero, K.D.; Moberg, C.P.; Doroshov, I.; Lankford, S.E. and Cech, J.J., 2001.** Effects of short term management stress and ACTH injectionon plasma cortisol levels in cultured white sturgeon, Acipenser transmontanus. Aquaculture. Vol. 203, pp: 165-176.

۱۵. **Dacie, S. and Lewis, S. 1991**. Practical Haematology. Edn7, Churchill Livingstone, London.

۱۶. **Dobsikova, R.; Svobodova, Z.; Blahova, J.; Modra, H. and Velisek, J., 2006**. Acta Vet. Brno. Vol. 75, pp: 437-448.

۱۷. **Dobsikova, R.; Svobodova, Z.; Blahova, J.; Modra, H. and Velisek, J., 2009.** The effect of transport on biochemical and haematological indices of common carp (*Cyprinus carpio*) Czech J. Animal Sciences. Vol. 54, pp: 510-518.

۱۸. **David, M.; Shivakumar, R.; Mushigeri, S.B. and Kuri, R.C., 2005.** Blood glucose and glycogen levels as indicators of stress in the freshwater fish, *Labeo rohita*, under fenvalerate intoxication. Journal of Ecotoxicology and Environmental Monitoring. Vol. 15, pp: 1-6.

۱۹. **Davison, W.; Frsnklin, E.C. and Mckenzie, B., 1994**. Haematological changes in an Antarctic teleost, Trematomus bernacchii, following stress. Polar Bio. Vol. 14, pp: 463-466.

۲۰. **Gatica, M.C.; Monti, G.E.; Krowles, T.G.; Warriss P.D. and Gallo, C.B., 2010**. Effects of commercial live transportation and preslaughter handling of Atlantic salmon on blood constituents, Archivos the Medicina Veterinaria. Vol. 42, pp: 73-78.

۲۱. **Gang, L. and Huang, G.L., 2008**. Extraction of Two Active Polysaccharides from the Yeast Cell Wall. Z. Naturforsch. Vol. 63, pp: 919-921.

۲۲. **Gatlin, D.M. III and Li, P., 2004**. Dietary supplementation of prebiotics for haelth management of hybrid stripped bass morone chrysops × M. saxatilis. Aqua Feeds Formul Beyond. Vol. 1, No. 4, pp: 19-21.

۲۳. **Gibson, G.R. and Roberfroid, M.B., 1995.** Dietary modulation of the colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics, Journal of Nutrition. Vol. 125, pp: 1401-1412.

۲۴. **Gultepe, N.; Salnur, S.; Hossu, B. and Hisar, O., 2010.** Dietary supplementation with Mannan oligosaccharides (MOS) from Bio-Mos enhances growth parameters and digestive capacity of gilthead sea bream (*Sparus aurata*). Aquaculture Nutrition. Vol. 17, pp: 482-487.

۲۵. **Goos, H.J.T. and Consten, D., 2002.** Stress adaptation, cortisol and pubertal development in the male common carp *Cyprinus carpio*. Molecular and Cellular Endocrinology. Vol. 197, pp: 105-116.

۲۶. **Hanaee Kashani, Z.; Imanpoor, M.R.; Shabani, A. and Gorgin, S., 2012**. Effect of dietary vitamin C and highly unsaturated fatty acids on some biochemical blood parameters in goldfish (*Carassius auratus gibelio*). World Journal of Fish and Marine Sciences. Vol. 4, pp: 454-457.

۲۷. **Hoseinifar, S.H.; Mirvaghefi, A.R.; Mojazi Amiri, B.; Khoshbavar Rostami, H.A.; Pooramini, M.; and Bastami, D., 2011**. The probiotic effect of dietary inactive yeast Saccharomyces cerevisiae var ellipsoideus on growth factors,

immune responses and survival of marron, *Cherax tenuimanus* (Smith, 1912) when challenged with different stressors. Fish and Shellfish Immunol. Vol, 27, pp: 341-348.

۴۸. **Shahsavani, D.; Mohri, M. and Gholipour Kanani, H., 2010**. Determination of normal values of some blood Serum enzymes in Acipenserstellatus Pallas. Fish Physiol Biochem. Vol. 36, pp: 39-43.

۴۹. **Staykov, Y.; Denev, S. and Spring, P., 2005**. Influence of dietary mannan oligosaccharides (Bio-Mos) on growth rate and immune function of common carp (*Cyprinus carpio* L.). In: Howell, B., Flos, R. (Eds.), Lessons from the Past to Optimise the Future. Special Publication, No. 35. European Aquaculture Society. pp: 431-432.

۵۰. **Staykov, Y.; Spring, P.; Denev, S. and Sweetman, J. 2007**. Effect of a mannan oligosaccharide on the growth performance and immune status of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquac. Int. Vol. 15, pp: 153-161.

۵۱. **Svobodova, Z.; Kalab, B.; Dusek, L.; Vykusova, B.; Kolarova, J. and 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. Vol. 68, pp: 265-274.

۵۲. **Svobodova Z.; Vykusova, B. and Machova J., 1994:** The effect of pollutants on selected haematological and biochemical parameters in fish. In: Muller R., Lloyd R. (eds.): Sublethal and Chronic Effects of Pollutants on Freshwater Fish. FAO Fishing News Books, Cambridge, UK. pp: 39-52.

۵۳. **Tangestani, R.; Alizadeh Doughikollaee, E.; Ebrahimi, E. and Zare, P., 2011.** Effects of Garlic essential oils an Immunostimulant on Hematological indices of juvenile beluga (*Huso huso*). J of Veteri Rese. Vol. 66, pp: 209-216.

۵۴. **Taoka, Y.; Maeda, H.; Jo, J.Y.; Jeon, M. J.; Bai, S.C.; Lee, W.J.; Yuge, K. and Oshio, D.S., 2006**. Growth, strees tolerance and non-specific immune response of Japanese flounder Paralichthysolivaceustoprobiotics in a closed recirculation system.Fish.Sci. Vol. 72, pp: 310-321.

۵۵. **Taylor, A.L. and Solomon, H., 1979**. Critical factor in transport of living freshwater fish-1, General considerations and atmospheric gases Fish Management. Vol. 10, pp: 27-32.

۵۶. **Torrecillas, S.; Makol, A.; Caballero, M.J.; Montero, D.; Dhanasiri, A.K.S.; Sweetman, J. and Izquierdo, M.S., ۲۰۱۲.** Effects onmortality and stress response in European sea bass, *Dicentrarchus labrax* (L.), fed mannanoligosaccharides (MOS) after *Vibrio anguillarum* exposure. Journal of Fish Diseases. Vol. 35, No. 8, pp: 591-602.

۵۷. **Torrecillas, S.; Makol, A.; Caballero, M. J.; Montero, D.; Robaina, L.; Real, F.; Sweetman, J.; Tort, L. and Izquierdo, M.S., 2007.** Immune stimulation and improved infection resistance in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed mannan oligosaccharides. Fish and Shellfish Immunol. Vol. 23, pp: 969-981.

۵۸. **Tort, L., 2011**. Stress and immune modulation in fish. Dev Comp Immunol. Vol. 35, pp: 1366-1375.

۵۹. **Trinder, P., 1969**. A colorimetric method for the determination of glucose. Annlin Biochem. Vol. 6, pp: 24-26.

۶۰. **Urbinati, E.C.; De Abreu, J.S.; Da Silva Camargo, A.C. and Landinez Parra, M.A., 2004.** Loading and transport stress of juvenile matrinxa (*Brycon cephalus, Characidae*) at various densities. Aquaculture. Vol. 229, pp: 389-400.

۶۱. **Varsamos, S.; Nebel, C. and Charmantier, G., 2005**. Ontogeny of osmoregulationin fish: A Comparative review. Biochemical and Physiology. Vol. 141, pp: 401-429.

۶۲. **Veerasamy, R.; Min, L.S.; Paulin, R.; Sivadasan, S.; Varghese, C.; Rajak, H. and 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. Vol. 2, pp: 209-213.

۶۳. **Williams, R.W. and Warner, M.C., 1976**. Some observation on the stained bloodcellular elements of *Ictalurus pun ctatus*. J. Fish. Biol. Vol. 9, pp: 491-497.

۶۴. **Yousefian, M.; Hedayatifard, M.; Fahimi, Sh.; Shikholeslami, M.; Irani, M.; Amirinia, C. and 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. Vol. 7, pp: 684-692

۶۵. **Zabelinskii, S.A.; Chebotareva, M.A.; Shukolyukova, E.N.; Emel'yanova, L.V.; Savina, M.V.; Belostotskaya, G.B., 2006**. Comparative Study of Lipids and Fatty Acids in Blood Plasma of River Lamprey *Lampetra fluviatilis* and Brown *Rana temporaria* at the periods of elimination of exogenous feeding. J. Evol. Biochem. Physiol. Vol. 42, pp: 376-382.

survival, body composition and intestinal microbiota of Beluga juvenile (*Huso huso*). K-Iranian Scientific Fisheries Journal. Vol. 19, No. 4, pp: 55-66.

۲۸. **Iri, Y.; Khoshbavar, H.A. and Rostami Akrami, R., 2012**. Effect of dietary Fructooligosaccharide as a prebiotic on the growth and density of Lactobacillus in intestine of stellate (*Acipenser stellatus*) fingerling. Fisheri science and technology Scientific Research Journal. Vol. 1, pp: 1-11.

۲۹. **Iversen, M.; Finstad, B. and McKinley, E.R., 2003**. The efficacy of metomidate, clove oil, aqui-s and benzoak anestheticsin Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) smolts, and their potential stress-reducing capacity. Aquaculture. Vol. 221, pp: 549-566.

۳۰. **Jiang, I.F.; Kumar, V.B.; Lee, D.N. and Weng, C.F., 2008**. Acute osmotic stress affects Tilapia (*Oreochromis mossambicus*) innate immune responses. Fish and Shellfish Immunol. Vol. 25, pp: 841-846.

۳۱. **Khanna, S.S. and Singh, T., 1971**. Studies on the blood glucose level in Channa punctatus. Acta Zoologica. Vol. 52, pp: 97-101.

۳۲. **Kavitha, C.; Malarvizhi, A.; Kumaran, S.S. and Ramesh, M., 2010.** Toxicological effects ofarsenate exposure onhematological, biochemical and liver transaminases activity in an Indian major carp, *Catla catla*. Food and Chemical Toxicology. Vol. 48, pp: 2848-2854.

۳۳. **Kitao, T. and Yoshida, T., 1986**. Effect of an immunopotentiator on *Aeromonas salmonicida* infection in rainbow trout. Vet. Immunol. Immunopathol. Vol. 12, pp: 287-291.

۳۴. **Khormali, M. 2015**. hematological changes of juvenile Common carp (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758) with different condition of water temperature and water salinity during transportation in plastic bags. Master of Science, The University of Gonbad Kavoos. 65 p.

۳۵. **Laiz-Carrion, R.; Sangiao-Alvarellos, S.; Guzman, J.M.; Martin del Rio, M.P.; Miguez, J.M., Soengas, J.L. and Mancera, J.M., 2003.** Energy metabolism in fish tissues related to osmoregulation and cortisol action. Fish Physiology and Biochemistry. Vol. 27, pp: 179-188.

۳۶. **Li, P. and Gatlin, D.M., 2004**. Dietary brewers yeast and the prebiotic GrobioticTM AE in fluence growth performance, immune responses and resistance of hybrid striped bass (*Morone chrysops* × *M. saxatilis*) to *Streptococcus iniae* infection. Aquaculture. Vol. 231, pp: 445-456.

۳۷. **Lim, C.; Yildirim-Aksoy, M. and 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: burright, j., Flemming, C., Egna, H. (eds.). Twenty-Second Annual Technical Report. Aquaculture CRSP, Oregon State University, Corvallis, Oregon. pp: 411-420.

۳۸. **Milligan C.L. and Wood, C.M., 1982.** Disturbances in haematology, fluid volume distribution and circulatory function associated with low environmental ph in the rainbow trout, *Salmo gairdneri*. The Journal of Experimental Biology. Vol. 99, pp: 397-415.

۳۹. **Morales, P.; Reyes, P.; Klawitter, V.; Huaiquin, P.; Bustamante, D.; Fiedler, J. and Herrera-Marschitz, M., 2005.** Effects of perinatal asphyxia on cell proliferation and neuronal phenotype eval-uated with organotypic hippocampal cultures. Neuroscience. Vol. 135, pp: 421-431.

۴۰. **Noga, E.J., 2010**. Fish disease. Diaghosis and treatment. Ablock well pubishing company. pp: 37-40.

۴۱. **Olsen, R.E.; Sundell, K.; Hansen, T.; Hemre, G.I.; Myklebust, R.; Mayhew, T.M. and Ringø, E., 2003**. Acute stress alters the intestinal lining of Atlantic salmon, *Salmo salar*: An electron microscopical study. Fish Physiology and Biochemistry. Vol. 26, pp: 211-221.

۴۲. **Pearson, M.P. and Stevens, E.D., 1991**. Size and hematological impact of the splenic erythrocytereservoir in rainbow trout (*Onchorynchus mykiss*). Fish Physiology and Biochemistry. Vol. 9, pp: 39-50.

۴۳. **Pottinger, T.G., 1998**. Changes in blood cortisol, glucose and lactate in carp retained in anglers' keepnets. Journal of Fish Biology. Vol. 53, pp: 728-742.

۴۴. **Razeghi Mansour, M.; Akrami, R.; Ghobadi, S.H.; Amani Denji, K.; Ezatrahimi, N. and Gharaei, A., 2012.** Effect of dietary mannan oligosaccharide on growth performance, survival, body composition, and some hematological parameters in giant sturgeon juvenile (*Huso huso*). Fish Physiology and Biochemistry. Vol. 38, pp: 829-835.

۴۵. **Riggs A., 1970.** Properties of fish hemoglobins. In: Hoar W.S. and Randall D.J (eds). Fish Physiology. Vol 4. Academic Press, pp: 209-252.

۴۶. **Rottland, J. and 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. Vol. 51, pp: 21-28.

۴۷. **Sang, H.M.; Trung, K.Y.L. and Fotedar, R., 2009.** Dietary supplementation of mannan oligosaccharide improves the