University of Guilan with collaboration of Iranian Aquaculture Society

Aquatic Animals Nutrition

Vol. 7, No. 2, 2021, pages: 39-55

Efficacy of using Sanyar prebiotics in biofloc environment: Evaluation of production performance, water nitrogen compounds, hematological and metabolic responses of common carp, *Cyprinus carpio*

Simra Jafaryan, Hossein Adineh*, Mohammad Farhangi, Mohammad Harsij, Zia Kordjazi
Department of Fisheries, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Gonbad Kavous University, Gonbad Kavous, Golestan, Iran

Received 12 April 2021 Revised 15 June 2021 Accepted 23 June 2021

KEYWORDS

Common carp

Production performance

Blood parameters

Biofloc technology

ABSTRACT

The study was performed to find out the potential effects of Sanyar prebiotic on production performance, water nitrogen compounds, blood and metabolic parameters of common carp, *Cyprinus carpio* reared in a biofloc system. 324 fingerlings (average weight 10.09 ± 0.45 g) were stocked in eighteen 35-L tanks (18 fish in each tank). After 10 days of adaptation to laboratory conditions, six experimental groups were tested for 60 days including: control group without additive with clean water (C), control group without additive with floc (FC), floc groups with 0.1 and 0.2 g (FP_1 and FP_2) prebiotic powder and floc groups with 1 and 2 mL (FL_1 and FL_2) liquid prebiotic per 100 g of basic diet. At the end of the experiment, FP_1 group exhibited significant increase in final biomass weight, final density, and protein efficiency ratio and decrease in feed conversion ratio in comparison with the other groups. Total water ammonia nitrogen was reduced in the C group compared to the FC. Serum urea and creatinine levels increased significantly in the FC group compared to the other experimental groups. ALT, AST and ALP enzymes were significantly increased in groups C and FC compared to the groups fed with Saynar prebiotic. The highest number of red and white blood cells was obtained in FL1 and FC groups, respectively. In conclusion, dietary supplementation of FP1 (0.1 g Sanyar prebiotic per 100 g of basic diet) can be potentially used as health enhancer in common carp reared under biofloc system.

*Corresponding author: adineh.h@gmail.com; adineh.h@gonbad.ac.ir

دانشگاه گیلان با مشارکت انجمن آبزی‌پروری ایران

تغذیه آبزیان

سال هفتم، شماره دوم، تابستان ۱۴۰۰، صفحات ۵۵-۳۹

"مقاله پژوهشی"

کارایی استفاده از پری‌بیوتیک سانیار در محیط بایوفلاک: بررسی عملکـــرد تولید، ترکیبات نیتروژنی آب، فراسنجه‌های خون‌شناسی و سوخت و ساز ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

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

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

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۱/۲۳ تاریخ بازنگری: ۱۴۰۰/۰۳/۲۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۴/۰۲

چکیده

این مطالعه به منظور بررسی اثرات بالقوه پری‌بیوتیک سانیار بر عملکرد تولید، ترکیبات نیتروژن آب، فراسنجه‌های خون و سوخت و سازی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) پرورش یافته در روش بایوفلاک انجام شد. تعداد ۳۲۴ قطعه ماهی انگشت‌قد (۰/۴۵ ± ۱۰/۰۹ گرم) در ۱۸ مخزن ۳۵ لیتری (۱۸ ماهی در هر مخزن) ذخیره‌سازی شدند. ۶ گروه آزمایشی پس از ۱۰ روز سازگاری با شرایط آزمایشگاه به مدت ۶۰ روز آزمایش شدند که شامل: گروه شاهد بدون افزودنی با آب تمیز (C)، گروه شاهد بدون افزودنی با فلاک (FC)، گروه‌های فلاک با ۰/۱ و ۰/۲ گرم پری‌بیوتیک پودری (FP_1, FP_2) و گروه‌های فلاک با ۱ و ۲ میلی‌لیتر پری‌بیوتیک مایع (FL_1 , FL_2) در ۱۰۰ گرم غذای پایه بود. در پایان آزمایش نیز وزن نهایی توده زنده، تراکم نهایی و کارایی تبدیل پروتئین در گروه FP_1 به‌طور معنی‌داری افزایش و نسبت تبدیل غذایی در مقایسه با دیگر گروه‌ها کاهش یافت. آمونیاک کل آب در گروه‌های بایوفلاک حاوی مکمل پری‌بیوتیک در مقایسه با گروه بایوفلاک بدون پری‌بیوتیک (FC) کاهش یافت. مقادیر اوره و کراتینین سرم خون به‌طور معنی‌دار در گروه FC در مقایسه با دیگر گروه‌های آزمایشی افزایش یافت. آنزیم‌های ALT، AST و ALP در گروه‌های C و FC در مقایسه با گروه‌های تغذیه شده با پری‌بیوتیک سانیار به‌طور معنی‌دار افزایش داشتند. بیشترین تعداد گلبول-های سفید و قرمز به ترتیب در گروه‌های FL_1 و FC به‌دست آمد. در مجموع، مکمل غذایی FP_1 (۰/۱ گرم پری‌بیوتیک سانیار در هر ۱۰۰ گرم جیره پایه) را می‌توان به‌طور بالقوه به‌عنوان تقویت‌کننده سلامت در ماهی کپور معمولی پرورش‌یافته در روش بایوفلاک استفاده کرد.

کلمات کلیدی

کپور معمولی

عملکرد تولید

پارامترهای خونی

فناوری بایوفلاک

نویسنده مسئول: adineh.h@gmail.com; adineh.h@gonbad.ac.ir

مقدمه

روش بایوفلاک در آبزی‌پروری به عنوان یک نظریه در مقابل این طرز تفکر که همیشه آب زلال برای آبزی پروری مناسب است، مشتق شده و اساساً شامل بازیافت ضایعات متابولیک ناشی از آبزیان پرورشی و تبدیل آنها به پروتئین غنی شده طبیعی با عنوان بایوفلاک است (Hargreaves, 2013). فناوری بایوفلاک موجب افزایش لخته‌های متشکل از تجمع پلانکتون‌های گیاهی، میکروب‌ها و تجمع ذرات زنده و مرده مواد آلی در سازگان‌های پرورشی آبزیان با هدف بازیافت غذای باقیمانده انجام، و به عبارتی موجب ارتقای بازده تغذیه می‌شود. در سال‌های اخیر، افزایش تقاضا برای استفاده از آبزیان باعث شده تا منابع طبیعی شیلاتی کاهش، و استفاده از فناوری‌های جدید مانند به کارگیری روش بایوفلاک برای توسعه پایدار آبزی‌پروری در سراسر جهان گسترش پیدا کرده است (Pauly et al. 2002). فناوری بایوفلاک نوع جدیدی از فناوری تصفیه آب است که توسط آن، با حفظ کیفیت و کاهش مصرف آب، بازیافت منابع غذایی و توسعه روش‌های آبزی‌پروری پایدار برای افزایش تولید در واحد سطح گسترش یافته است (Crab et al. 2012; Adineh et al. 2019). در فرآیند بایوفلاک در سازگان‌های پرورشی، تلقیح برخی عوامل زیستی مانند پروبیوتیک ها و پری‌بیوتیک‌ها موجب تقویت فرآیند اجرایی این سازگان‌ها شده و عملکرد آنها را ارتقاء بخشیده است (کریم تبار و همکاران، ۱۳۹۸). در روش بایوفلاک سه‌راه برای تبدیل ترکیبات نیتروژنی به‌منظور حفظ کیفیت آب و تولید پروتئین میکروبی وجود دارد که می‌توان به مصرف فتواتوتروفیک توسط جلبک‌ها، تبدیل نیتروژن آمونیاکی به نیتروژن نیتراتی توسط باکتری‌های شیمیواتوتروفیک و همچنین، هضم مستقیم نیتروژن آمونیاکی و تبدیل آن به زی‌توده باکتریایی توسط باکتری-های هتروتروف اشاره کرد (Ebeling et al. 2006). باکتری‌های هتروتروف و یا منابع کربن آلی برای تحریک رشد بایوفلاک استفاده می‌شوند (Martínez-Córdova et al. 2015).

اگرچه مطالعات کمی درباره اثرات بکارگیری پری-بیوتیک‌های تجاری در سازگان بایوفلاک منتشر شده است، که استفاده از دو پری‌بیوتیک تجاری ایمکس اولترا و سلماناکس مایع در تلقیح به سازگان بایوفلاک (خسروی و همکاران، ۱۳۹۹)، به‌کارگیری مکمل خوراکی پری‌بیوتیکی (Poly-β-hydroxybutyrate) در جیره غذایی به‌عنوان ترکیب تقویت‌کننده ماهی کپور (*Carassius auratus gibelio*) در سازگان بایوفلاک (Qiao et al. 2020)، تغییرات نیتروژن و میکروبیوتای روده ماهی (*Oreochromis niloticus*) با استفاده از β-هیدروکسیبوتیرات-β-هیدروکسیوالرات به‌عنوان منبع کربن در بیوفلاک (Liu et al. 2019)، نمونه‌ای از تحقیقات گزارش شده است.

پری‌بیوتیک‌ها ترکیبات غذایی فراسودمند هستند که به-طور انتخابی سبب تحریک رشد و فعالیت تعداد از باکتری‌ها در دستگاه گوارش میزبان می‌شوند. انواع پری‌بیوتیک استفاده شده در صنعت آبزی‌پروری شامل بتاگلوکان‌ها، منان‌الیگوساکاریدها، لاکتوز، فروکتوالیگوساکارید و اینولین هستند که اثر آن‌ها در آبزیان به اثبات رسیده است. در خصوص استفاده از انواع پری‌بیوتیک‌ها در جیره غذایی ماهی کپور معمولی می‌توان به بررسی اثر مکمل غذایی سین‌بیوتیک بایومین ایمبو به‌عنوان مکمل غذایی بر عملکرد رشد، بازماندگی و فلور باکتریایی روده ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) انگشت‌قد (قاسم‌پور دهاقانی و همکاران، ۱۳۹۲)، بررسی اثر پری‌بیوتیک آلفامیون و پروبیوتیک پروتکسین به‌صورت انفرادی و ترکیبی بر رشد بچه‌ماهیان کپور معمولی (محمودیان و همکاران، ۱۳۹۴)، مقایسه عملکردهای رشد، وضعیت تغذیه، بقا و مقاومت در برابر استرس‌های محیطی در بچه-ماهیان نورس کپور معمولی با جیره‌های غذایی مکمل‌سازی شده توسط دو پری‌بیوتیک تجاری ایمکس و ایمکس اولترا (بیواره و جعفریان، ۱۳۹۶)، اثر مکمل‌های گیاهی و اینولین بر فعالیت آنزیم‌های ضداکسایشی ماهی کپور معمولی جوان (واعظ و همکاران، ۱۳۹۶)، تأثیر پری بیوتیک ایمکس بر عملکرد رشد، کارایی تغذیه و برخی از فراسنجه‌های بیوشیمیایی سرم خون بچه ماهیان انگشت‌قد کپور معمولی (بیواره و جعفریان، ۱۳۹۶)، تأثیر پری‌بیوتیک سلماناکس و پنج گونه از پروبیوتیک‌های باسیلی بر کاهش استرس حمل و نقل کپور معمولی در شوری‌های مختلف (رنجدوست و همکاران، ۱۳۹۷)، تأثیر پری‌بیوتیک مانان الیگوساکارید بر عملکرد رشد، بازماندگی و مقاومت به تنش شوری در بچه ماهی کپور معمولی (فرهنگی و کر، ۱۳۹۹) اشاره کرد. همچنین، در تحقیقی، تأثیر افزودن پروبیوتیک-های تجاری در سازگان بایوفلاک بررسی کیفیت آب،

عملکرد رشد و تغذیه و ترکیبات بیوشیمیایی بدن ماهی کپور معمولی بررسی، و در این فرایند، تلقیح این پروبیوتیک‌ها موجب افزایش رشد و تولید این ماهی شد (کریم تبار و همکاران، ۱۳۹۸). در تحقیقی دیگر خسروی و همکاران گزارش کردند که تلقیح پری‌بیوتیک تجاری سلماناکس به آب سازگان بایوفلاک در پرورش ماهی کپور معمولی موجب ارتقای فراسنجه‌های محیطی و افزایش رشد، و همچنین ارتـقای ترکیبات بیوشیمیایی بدن این ماهی می‌شود.

کپور معمولی از جمله گونه‌های آبزی است که در نقاط مختلف جهان پرورش داده می‌شود. در سال ۲۰۱۸، تولید این گونه ۴/۱ میلیون تن گزارش شد (FAO, 2020). به دلیل سازگاری بالا به شرایط زیست‌محیطی و عادات غذایی، کپور معمولی گونه‌ای مناسب برای آبزی‌پروری تجاری در آسیا و برخی از کشورهای اروپایی است (Rahman et al. 2016). در برخی از کشورهای اروپایی، بیش از ۸۰٪ کل تولید ماهیان از ماهی کپور معمولی حاصل می‌شود (Anton-Pardo et al. 2014). این مطالعه با هدف بررسی تأثیر به‌کارگیری پری‌بیوتیک سانیار (پودری و مایع) در دو سطح مختلف بر عملکرد تولید، ترکیبات نیتروژنی آب، فراسنجه‌های متابولیک و خون شناسی ماهی کپور معمولی پرورش یافته در سازگان بایوفلاک طراحی و اجرا شد.

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی بایوفلاک

برای آماده‌سازی استوک اولیه فلاک، مخزن با حجم آبگیری ۵۰ لیتر تهیه شد که ۵۰٪ آن با آب استخر پرورش ماهی و ۵۰٪ دیگر با آب معمولی تأمین شد (آدینه و هرسیج، ۱۳۹۷). برای تشکیل فلاک از غذای ماهی و اوره برای تأمین ازت، ملاس برای تأمین کربن و از خاک رس پس از عبور از الک ۲۵۰ میکرونی به دلیل داشتن بار الکتریکی برای چسبیدن ذرات به یکدیگر و کمک در تشکیل بایوفلاک استفاده شد (Avnimelech, 2009; Crab et al. 2012). برای تسریع در تشکیل بایوفلاک طی مدت ۱۰ روز، تنظیم دمای محیط بالای ۲۲ درجه‌سانتی‌گراد و تاریکی محیط برای تکثیر باکتری‌های نیتریفیکاسیون و هوادهی شدید برای جلوگیری از رسوب مواد استفاده شد. هنگامی که مقدار جامدات معلق کل در آب به حدود ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر رسید (Najdegerami et al. 2016)، هوادهی قطع و استوک بایوفلاک تشکیل شده از توری با چشمه ۱۰ میکرومتر عبور داده شد و به هر مخزن در گروه آزمایشی بایوفلاک مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر در لیتر از استوک اولیه بایوفلاک افزوده شد (Xu and Pan, 2013).

پری‌بیوتیک تجاری سانیار

پری‌بیوتیک سانیار برگرفته از مخمر *Saccharomyces cerevisiae* حاوی مانان الیگوساکارید و بتاگلوکان است که به‌صورت مایع و پودری از شرکت کاوشگر سپهر جوان (به شماره ثبت ۳۷۴۸۱، دزفول، ایران) تهیه شد. اقلام تشکیل‌دهنده پری‌بیوتیک سانیار همراه با مقادیر در جدول ۱ آورده شده است. طبق دستورالعمل شرکت تولید کننده از پری‌بیوتیک سانیار مایع به‌صورت مجزا به میزان ۱ و ۲ میـلی‌لیتر در هر ۱۰۰ گرم جیـره غـذایی و از پری‌بیوتیک پودری به صورت مجزا به میزان ۰/۱ و ۰/۲ گرم در ۱۰۰ گرم جیره غذایی استفاده شد.

جدول ۱ سنجش ترکیبات پری‌بیوتیک سانیار.

نوع آزمون	مقدار	نوع آزمون	مقدار
ماده خشک (٪)	۹۵	ویتامین B1 (mg/100 g)	۱۲
پروتئین کل (٪)	۵۰	ویتامین B2 (mg/100 g)	۲۰
کربوهیدرات کل (٪)	۴۰	ویتامین B3 (mg/100 g)	۷۵
مانان الیگوساکارید (٪)	۱۰	ویتامین B5 (mg/100 g)	۶۰
بتا گلوکان (٪)	۱۵	اشریشیاکلی (CFU/g)	منفی
نوکلئوتید (٪)	۵	سالمونلا (در ۲۵ گرم نمونه)	منفی

طرح آزمایش

تعداد ۳۲۴ قطعه ماهی کپور معمولی پس از ۱۰ روز دوره سازگاری با شرایط آزمایشگاه با میانگین وزن ۰/۴۵± ۱۰/۰۹ گرم در ۱۸ مخزن ۳۵ لیتری (۶ گروه آزمایشی هر یک با ۳ تکرار) در آزمایشگاه آبزی‌پروری دانشگاه گنبد کاووس ذخیره‌سازی شدند.

برای آماده‌سازی جیره آزمایشی، ابتدا غذای آغازین ماهی کپور با کد SFC (در محدوده‌ی وزنی ۱ تا ۲۰ گرم) از شرکت فرادانه حاوی حداقل ۳۸٪ پروتئین، ۴٪ چربی، ۳٪ فیبر، ۷٪ خاکستر، ۵٪ رطوبت، ۱٪ فسفر با قطر ۲ میلی-متر تهیه شد. غذای هر تیمار با آسیاب برقی خرد و از الک عبور داده شد. تیمار شاهد بدون استفاده از ماده افزودنی در آب تمیز (C)، تیمار شاهد بدون استفاده از ماده افزودنی در محیط بایوفلاک (FC)، تیمارهای حاوی ماده افزودنی پری‌بیوتیک سانیار (پودری و مایع) در محیط بایوفلاک که شامل تیمارهای فلاک حاوی مقادیر پری‌بیوتیک پودری ۰/۱ گرم (FP_1) و ۰/۲ گرم (FP_2) در ۱۰۰ گرم غذای پایه و همچنین، تیمارهای فلاک حاوی مقادیر پری‌بیوتیک مایع ۱ میلی‌لیتر (FL_1) و ۲ میلی‌لیتر (FL_2) در ۱۰۰ گرم غذای پایه بودند. پس از افزودن مکمل پری‌بیوتیک به غذای پایه برای تهیه خمیر از آب مقطر استفاده شد و سپس غذا از چرخ گوشت عبور داده شد و رشته‌های حاصل در مجاورت هوا با استفاده از پنکه خشک شد. غذای خرد شده از الک عبور داده شد. سپس غذای آماده در پلاستیک زیپ-دار در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. تیمارهای آزمایشی بر اساس جدول ۲ در طی ۶۰ روز دوره پرورش در سازگان بایوفلاک اجرا شد.

جدول ۲ تیمارهای آزمایشی طی ۶۰ روز دوره پرورش.

تیمار شاهد بدون افزودنی با آب تمیز	C
تیمار شاهد بدون افزودنی با فلاک	FC
تیمار فلاک حاوی ۰/۱ گرم پری‌بیوتیک پودری در ۱۰۰ گرم غذای پایه	FP_1
تیمار فلاک حاوی ۰/۲ گرم پری‌بیوتیک پودری در ۱۰۰ گرم غذای پایه	FP_2
تیمار فلاک حاوی ۱ میلی‌لیتر پری‌بیوتیک مایع در ۱۰۰ گرم غذای پایه	FL_1
تیمار فلاک حاوی ۱ میلی‌لیتر پری‌بیوتیک مایع در ۱۰۰ گرم غذای پایه	FL_2

غذادهی به میزان ۳٪ وزن بدن در ۳ نوبت (۸ صبح، ۱۳ ظهر و ۱۸ عصر) اجرا شد (Adineh et al. 2019). تعویض آب حدود ۵٪ در تیمارهای بایوفلاک و ۲۰٪ در تیمار شاهد با آب تمیز به‌صورت روزانه برای جلوگیری از تجمع فلاک اضافی انجام شد.

سنجش آمونیاک، نیترات و فسفات آب

مقدار آمونیاک کل، نیترات و فسفات آب در روزهای ۴، ۱۸، ۳۲، ۴۶ و ۶۰ آزمایش از هر مخزن (۶ تیمار با ۳ تکرار) با روش استاندارد آزمایشگاهی اندازه‌گیری شد (APHA, 1998).

خون‌گیری از ماهی

به‌منظور سنجش برخی از فراسنجه‌های خون‌شناسی و سوخت و سازی ماهی کپور معمولی تغذیه شده با سطوح مختلف پری‌بیوتیک سانیار به‌صورت پودری و مایع در سازگان بایوفلاک، بعد از ۶۰ روز پرورش، ماهیان به مدت ۲۴ ساعت از غذا محروم شدند. نمونه‌های خون از ۳ ماهی از هر مخزن (۹ ماهی از هر تیمار) و با استفاده از سرنگ از ساقه دمی ماهی گرفته شد. خون در دو بخش خون هپارینه (۱۰ میکرولیتر به ازای ۰/۵ میلی‌لیتر خون) برای اندازه-گیری فراسنجه‌های خون‌شناسی و خون غیرهپارینه (حدود ۱ میلی‌لیتر سرم) برای سنجش برخی فراسنجه‌های سوخت و سازی سرم استفاده شد.

فراسنجه‌های خون‌شناسی

برای فراسنجه‌های خون‌شناسی مانند تعداد گلبول‌های سفید (WBC) و گلبول‌های قرمز (RBC) با استفاده از لام هموسیتومتر نئوبار، درصد هماتوکریت (HCT) به روش استاندارد میکروهماتوکریت، غلظت هموگلوبین (Hb) به روش سیانومت‌هموگلوبین (Feldman, 2000) و

ضرایب گلبولی (MCV، MCH و MCHC) از طریق فرمول‌های زیر اندازه‌گیری شد (Lee et al. 1998):

MCV = (HCT/RBC) × ۱۰

MCH = (Hb/RBC) × ۱۰

MCHC = (Hb/RBC) × ۱۰۰

برای شمارش تفریقی گلبول‌های سفید (نوتروفیل، لنفوسیت و مونوسیت‌ها) نیز گسترش خونی روی لام‌های شیشه‌ای معمولی تهیه و به روش گیمسا رنگ‌آمیزی و نتایج بر حسب درصد به دست آمد (Pathiratne and Rajapakshe, 1998).

فعالیت‌های سوخت و سازی

برای سنجش اوره از روش آنزیمی اوره‌آز در طول موج ۳۴۰ نانومتر (Sano, 1960) استفاده شد. فعالیت آنزیم‌های آلانین آمینوترانس‌فراز (ALT)، آسپارتات 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) بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده و به روش رنگ‌سنجی تعیین شد.

تجزیه و تحلیل آماری

مقایسه میانگین داده‌های بین تیمارهای آزمایشی (میانگین ± انحراف معیار) با استفاده از آنالیز واریانس یکطرفه (One-Way ANOVA) و توسط آزمون چند دامنه دانکن تجزیه و تحلیل شدند. قبل از سنجش، 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 نرم افزار IBM SPSS Statistics نسخه ۱۶ انجام شد. سطح معنی‌داری قابل قبول در کلیه آزمون‌های آماری به صورت (p<۰/۰۵) در نظر گرفته شد. برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Microsoft Office Excel نسخه ۲۰۱۶ استفاده شد.

نتایج

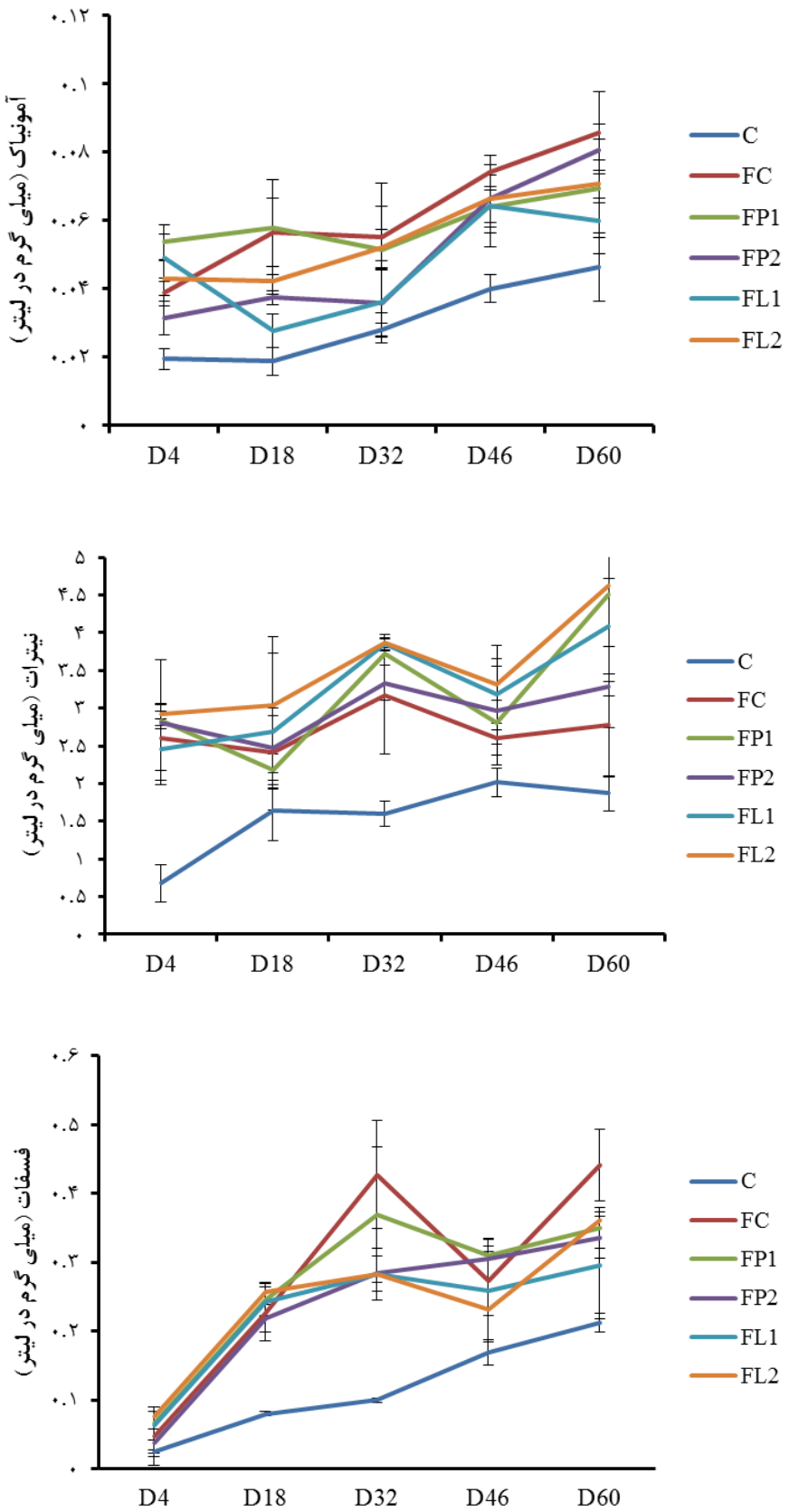
نتایج سنجش آماری زی‌توده و تراکم پرورش ماهی کپور معمولی تغذیه شده با ۰/۱ و ۰/۲ پری‌بیوتیک پودری و همچنین، ۱ و ۲ میلی‌لیتر پری‌بیوتیک مایع سانیار در مقایسه با تیمار فلاک بدون پری‌بیوتیک و تیمار آب تمیز در جدول ۳ آورده شده است. زی‌توده اولیه و تراکم ذخیره‌سازی اولیه بین تیمارهای آزمایشی تفاوت نداشت، در حالی که در پایان دوره پرورش، آزمون یک‌طرفه آماری نشان داد که بیشترین مقدار زی‌توده و تراکم نهایی، در تیمار FP_1 با ۰/۱ پری‌بیوتیک پودری سانیار به‌دست آمد.

کمترین نسبت تبدیل غذایی در تیمارهای FP_1 و FL_1 و بیشترین آن در تیمار شاهد آب تمیز C مشاهده شد. کارایی تبدیل غذایی در تیمار FP_1 در مقایسه با دیگر تیمارهای آزمایشی افزایش معنی‌دار آماری داشت (p<۰/۰۵).

جدول ۳ زی‌توده و تراکم پرورش ماهی کپور معمولی تغذیه شده با پری‌بیوتیک سانیار در سازگان بایوفلاک به‌مدت ۶۰ روز.

	وزن اولیه توده زنده (g)	وزن نهایی توده زنده (g)	تراکم اولیه (kg/m^3)	تراکم نهایی (kg/m^3)	ضریب تبدیل غذایی	کارایی تبدیل پروتئین
C	۱۸۳/۵۸ ± ۸/۴	۲۹۳/۷۶ ± ۲۱/۵۴^{cd}	۵/۲۴ ± ۰/۲۴	۸/۳۹ ± ۰/۶۱^{cd}	۱/۹۱ ± ۰/۰۹^{a}	۱/۴۲ ± ۰/۳۱^{c}
FC	۱۸۰/۵۹ ± ۷/۰۲	۲۸۸/۵۴ ± ۱۹/۱۷^{d}	۵/۱۵ ± ۰/۲	۸/۲۴ ± ۰/۵۴^{d}	۱/۷۸ ± ۰/۱۹^{ab}	۱/۵۳ ± ۰/۲۸^{bc}
FP_1	۱۷۸/۸۳ ± ۷/۲۲	۳۲۵/۸ ± ۲۹/۰۲^{a}	۵/۱ ± ۰/۲	۹/۳ ± ۰/۸۲^{a}	۱/۴۹ ± ۰/۰۹^{b}	۱/۸۲ ± ۰/۳۳^{a}
FP_2	۱۸۵/۱۹ ± ۸/۲۱	۳۰۴/۵۵ ± ۲۴/۹۴^{bc}	۵/۲۹ ± ۰/۲۳	۸/۷ ± ۰/۷۱^{bc}	۱/۷۴ ± ۰/۲۳^{ab}	۱/۶۳ ± ۰/۳۴^{ab}
FL_1	۱۸۳/۷ ± ۱۰/۱۵	۳۱۶/۲۳ ± ۲۸/۴۷^{ab}	۵/۲۴ ± ۰/۲۹	۹/۰۳ ± ۰/۸۱^{ab}	۱/۵۸ ± ۰/۲^{b}	۱/۷۴ ± ۰/۴۲^{ab}
FL_2	۱۷۸/۷ ± ۸/۴۵	۳۱۱/۵۸ ± ۲۴/۳۲^{ab}	۵/۱ ± ۰/۲۴	۸/۹ ± ۰/۶۹^{ab}	۱/۷۳ ± ۰/۱^{ab}	۱/۵۸ ± ۰/۳۲^{bc}

در هر ستون، حروف غیرمشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار آماری است (p<۰/۰۵).



شکل ۱ سنجش آمونیاک کل، نیترات و فسفات آب در روزهای ۴، ۱۸، ۳۲، ۴۶ و ۶۰ آزمایش در تیمارهای آب تمیز بدون مکمل پری‌بیوتیک (C)، تیمار بایوفلاک بدون مکمل پری‌بیوتیک (FC)، تیمارهای فلاک حاوی مقادیر پری‌بیوتیک پودری ۰/۱ گرم (FP_1) و ۰/۲ گرم (FP_2)، تیمارهای فلاک حاوی مقادیر پری‌بیوتیک مایع ۱ میلی‌لیتر (FL_1) و ۲ میلی‌لیتر (FL_2).

سنجش ترکیبات نیتروژنی (آمونیاک و نیترات) و فسفات آب محیط پرورش ماهی کپـور معمولی تغذیه شده با پری-بیوتیک سانیار در سازگان بایوفلاک در شکل ۱ نشان داده شده است. در طول دوره آزمایش کمترین مقدار آمونیاک کل در تیمار آب تمیز بدون مکمل پری‌بیوتیک (C) ۰/۰۰۴ ± ۰/۰۱۸ میلی‌گرم در لیتر و بیشترین آن در تیمار بایوفلاک بدون مکمل پری‌بیوتیک (FC) ۰/۰۱۲ ± ۰/۰۸۵ میلی‌گرم در لیتر به‌دست آمد. آمونیاک کل آب در تیمارهای بایوفلاکی حاوی پری‌بیوتیک در مقایسه با تیمار بایوفلاک بدون پری‌بیوتیک کاهش یافت. سنجش آماری نشان داد که در روز ۳۲ آزمایش آمونیاک کل آب بین تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی‌دار نداشت، به طوری که بیشترین آن در تیمار بایوفلاک بدون مکمل FC برابر ۰/۰۰۹ ± ۰/۰۵۵ میلی‌گرم در لیتر و کمترین آن در تیمار آب تمیز C برابر ۰/۰۰۲± ۰/۰۲۸ میلی‌گرم در لیتر به دست آمد. مقدار نیترات در دامنه ۰/۲۵ ± ۰/۶۷ تا ۱/۴۶ ± ۴/۶۲ میلی‌گرم در لیتر به ثبت رسید، به طوری که کمترین آن در روز ۴ آزمایش در تیمار آب تمیز C و بیشترین در روز ۶۰ آزمایش در تیمار فلاک حاوی ۲ میلی-لیتر پری‌بیوتیک مایع در ۱۰۰ گرم غذای پایه (FL_2) به دست آمد. مقدار فسفات با افزایش روزهای آزمایش نیز روندی صعودی داشت که در این پژوهش دامـنـه آن بین ۰/۰۰۳ ± ۰/۰۲۴ تا ۰/۰۵۲ ± ۰/۴۴ میلی‌گرم در لیتر بود. نتایج به دست آمده از فعالیت‌های سوخت و سازی ماهی کپور معمولی تغذیه شده با مکمل پری‌بیوتیک در مقایسه با تیمارهای شاهد در جدول ۴ نشان داده شده است. مقادیر اوره و کراتینین به طور معنی‌دار در تیمار FC در مقایسه با دیگر تیمارهای آزمایشی افزایش یافت ($p<۰/۰۵$). پری-بیوتیک به شـکل پـودری و مـایع و همچنین، دوز مصرفی بر مقدار اوره و کراتینین تأثیر معنی‌دار داشتند ($p<۰/۰۵$). اگرچه دو عامل پری‌بیوتیک و دوز مصرفی باعث اثرات متقابل بر اوره سرم خون شد، اما بر میزان کراتینین اثر متقابل نداشت ($p<۰/۰۵$). آنزیم‌های کبدی ALT، AST و ALP در تیمارهای C و FC در مقایسه با تیمارهای تغذیه شده با پری‌بیوتیک سانیار به‌طور معنی‌دار افزایش یافتند ($p<۰/۰۵$). پری‌بیوتیک و دوز مصرفی بر فعالیت آنزیم‌های ALT و AST اثرات معنی‌دار آماری داشتند، درحالی که فعالیت آنزیم ALP تحت تأثیر این دو عامل قرار نگرفت. پروتئین سرم خون ماهی کپور معمولی پرورش یافته در سازگان بایوفلاک حاوی سطوح مختلف پری-بیوتیک سانیار (پودر و مایع) در مقایسه با ماهی کپور پرورش یافته در آب تمیز C تفاوت معنی‌دار آماری داشت ($p<۰/۰۵$). پری‌بیوتیک و دوز مصـرفی نتوانست بر پروتئین سرم خون تأثیر معنی‌دار داشته باشد و در همین راستا، اثر متقابل نیز مشاهده نشد ($p>۰/۰۵$). آلبومین سرم خون بین تیمارهای مختلف آزمایشی اختلاف معنی‌دار آماری داشت و بیشترین مقدار آن در تیمار FP_2 به ثبت رسید. اگرچه دوز مصرف پری‌بیوتیک بر مقدار آلبومین تأثیری نداشت، اما اثر متقابل مشاهده شد.

جدول ۴ پاسخ‌های سوخت‌وسازی ماهی کپور معمولی تغذیه شده با دو سطح از مکمل پری‌بیوتیک سانیار (پودری و مایع) در سازگان بایوفلاک.

تیمار	اوره (mg/dL)	کراتینین (mg/dL)	ALT (u/L)	AST (u/L)	ALP (u/L)	پروتئین (g/dL)	آلبومین (g/dL)
C	۵/۶۴ ± ۰/۸۵^{ab}	۰/۳۶ ± ۰/۰۴۵^{ab}	۲۹/۸۲ ± ۱/۹۹^{a}	۲۲۸/۹۳ ± ۱۱/۰۰^{a}	۱۴۷/۰۶ ± ۵/۵۵^{a}	۲/۷۲ ± ۰/۱۱^{b}	۱/۲۲ ± ۰/۰۴^{c}
FC	۵/۹۴ ± ۰/۰۶^{a}	۰/۳۷ ± ۰/۰۱۰^{a}	۳۱/۴۳ ± ۱/۴۰^{a}	۲۳۱/۸۹ ± ۱۱/۶۳^{a}	۱۴۲/۲۹ ± ۳/۴۵^{a}	۳/۴۰ ± ۰/۰۴^{a}	۱/۳۸ ± ۰/۰۲^{b}
FP1	۴/۱۳ ± ۰/۳۵^{c}	۰/۲۹ ± ۰/۰۱۵^{cd}	۲۵/۲۶ ± ۱/۱۰^{b}	۲۰۲/۹۰ ± ۶/۷۴^{b}	۱۱۶/۲۵ ± ۶/۵۱^{b}	۳/۲۲ ± ۰/۲۸^{a}	۱/۳۶ ± ۰/۰۷^{b}
FP2	۳/۲۰ ± ۰/۱۰^{d}	۰/۲۴ ± ۰/۰۱۵^{e}	۲۱/۳۰ ± ۰/۶۰^{c}	۲۰۷/۷۴ ± ۶/۹۸^{b}	۱۰۱/۰۲ ± ۱/۸۲^{c}	۳/۳۲ ± ۰/۱۵^{a}	۱/۴۸ ± ۰/۰۲^{a}
FL1	۵/۰۶ ± ۰/۱۵^{b}	۰/۳۲ ± ۰/۰۱۱^{bc}	۱۹/۷۶ ± ۱/۰۸^{c}	۱۷۳/۳۵ ± ۸/۱۴^{c}	۹۵/۹۹ ± ۱/۷۸^{c}	۳/۱۴ ± ۰/۰۳^{a}	۱/۴۰ ± ۰/۰۱^{b}
FL2	۳/۵۵ ± ۰/۰۵^{cd}	۰/۲۶ ± ۰/۰۰۵^{de}	۱۵/۹۹ ± ۰/۹۲^{d}	۱۳۲/۲۶ ± ۱۰/۳۲^{d}	۱۱۵/۸۴ ± ۸/۰۰^{b}	۳/۲۰ ± ۰/۰۳^{a}	۱/۲۸ ± ۰/۰۲^{c}
اثر پری‌بیوتیک	P=۰/۰۰۱	p =۰/۰۰۹	p<۰/۰۰۱	p<۰/۰۰۱	NS	NS	P=۰/۰۱۱
اثر دوز مصرفی	p<۰/۰۰۱	p <۰/۰۰۱	p<۰/۰۰۱	p =۰/۰۰۵	NS	NS	NS
اثر متقابل	P=۰/۰۳۶	NS	NS	p =۰/۰۰۱	p <۰/۰۰۱	NS	P = ۰/۰۰۱

در هر ستون وجود حروف غیرمشابه نشان دهنده تفاوت آماری معنی‌دار است (p<۰/۰۵).

NS: Not significant؛ به‌معنای عدم وجود اختلاف معنی‌دار آماری است.

نتایج به‌دست آمده از آزمون یک‌طرفه شاخص‌های خون‌شناختی ماهی کپور معمولی در تیمارهای تغذیه‌ای با سطوح مختلف پری‌بیوتیک سانیار (پودری و مایع) در سازگان بایوفلاک در مقایسه با تیمارهای شاهد (بایوفلاک بدون پری‌بیوتیک) و تیمار شاهد (آب تمیز) در جدول ۵ آورده شده است. تعداد گلبول‌های سفید بین تیمارهای مختلف آزمایشی تفاوت آماری معنی‌دار داشت، به طوری که بیشترین و کمترین آن به‌ترتیب در تیمارهای FL_1 و C به‌دست آمد (p<۰/۰۵). تعداد گلبول‌های قرمز بین تیمارهای آزمایشی تفاوت معنی‌دار آماری داشت، به طوری که بیشترین و کمترین آن به‌ترتیب در تیمارهای FC و FP_1 به‌دست آمد (p<۰/۰۵). هموگلوبین و هماتوکریت در تیمار C افزایش معنی‌دار آماری در مقایسه با دیگر تیمارهای آزمایشی داشت (p<۰/۰۵). مقادیر MCV، MCH و MCHC بین تیمارهای آزمایشی تفاوت معنی‌دار داشت (p<۰/۰۵). بیشترین درصد لنفوسیت در تیمار FP_1 و کمترین آن در تیمارهای C و FC به‌دست آمد (p<۰/۰۵).

جدول ۵ شاخص‌های خون‌شناسی ماهی کپور معمولی تغذیه شده با پری‌بیوتیک سانیار در سازگان بایوفلاک به‌مدت ۶۰ روز.

شاخص	تیمارهای آزمایشی					
	C	FC	FP_1	FP_2	FL_1	FL_2
گلبول سفید (هزار/mm^3)	۳/۶۷ ± ۰/۲۷^{d}	۴/۱۷ ± ۰/۰۹^{c}	۴/۶۰ ± ۰/۱۰^{bc}	۴/۷۰ ± ۰/۲۰^{b}	۵/۲۷ ± ۰/۴۲^{a}	۴/۴۵ ± ۰/۱۰^{bc}
گلبول قرمز (میلیون/mm^3)	۱/۳۹ ± ۰/۰۰۶^{b}	۱/۴۴ ± ۰/۰۲۵^{a}	۱/۲۶ ± ۰/۰۳۳^{d}	۱/۳۲ ± ۰/۰۲۹^{c}	۱/۲۹ ± ۰/۰۰۷^{cd}	۱/۳۸ ± ۰/۰۳۵^{b}
هموگلوبین(g/dL)	۷/۵۹ ± ۰/۰۹^{a}	۷/۲۳ ± ۰/۰۵^{b}	۶/۸۱ ± ۰/۰۶^{d}	۶/۹۴ ± ۰/۱۱^{cd}	۷/۰۰ ± ۰/۱۰^{c}	۷/۳۳ ± ۰/۰۶^{b}
هماتوکریت (٪)	۳۴/۷۸ ± ۱/۰۱^{a}	۳۲/۳۶ ± ۰/۵۵^{bc}	۳۰/۲۷ ±۰/۷۷^{d}	۳۱/۳۲ ± ۰/۵۸^{cd}	۳۰/۶۱ ± ۰/۵۳^{d}	۳۳/۱۷ ± ۰/۷۷^{b}
MCV (fL)	۲۳۸/۳۷ ± ۰/۷۷^{ab}	۲۳۱/۹۰ ± ۲/۹۱^{c}	۲۴۱/۳۸ ± ۲/۱۰^{a}	۲۳۸/۳۲ ± ۱/۲۲^{ab}	۲۳۵/۵۱ ± ۲/۵۷^{b}	۲۳۹/۱۲ ± ۰/۷۹^{ab}
MCH (pg/cell)	۵۳/۷۰ ± ۰/۱۰^{a}	۵۳/۴۰ ± ۰/۷۶^{ab}	۵۱/۷۸ ± ۰/۱۹^{c}	۵۲/۵۹ ± ۰/۱۴^{bc}	۵۲/۷۰ ± ۰/۳۵^{b}	۵۳/۲۵ ± ۰/۷۷^{ab}
MCHC (g/dL)	۲۲/۹۱ ± ۰/۵۰^{a}	۲۲/۲۹ ± ۰/۲۰^{ab}	۲۲/۰۵ ± ۰/۲۲^{b}	۲۱/۸۸ ± ۰/۲۸^{b}	۲۱/۸۳ ± ۰/۳۳^{b}	۲۲/۳۲ ± ۰/۵۳^{ab}
نوتروفیل‌ها (٪)	۱۶/۰۲ ± ۰/۹۳^{a}	۱۴/۳۳ ± ۱/۰۱^{a}	۱۰/۳ ± ۱/۵۳^{c}	۱۲/۳۷ ± ۰/۶۶^{b}	۱۴/۲ ± ۰/۹۷^{a}	۱۴/۶۵ ± ۰/۶^{a}
لنفوسیت‌ها (٪)	۷۷/۰۶ ± ۲/۹۲^{c}	۷۹/۰۲ ± ۱/۹^{c}	۸۵/۰۱ ± ۱/۹۴^{a}	۷۹/۴۷ ± ۰/۷۰^{bc}	۸۲/۸۱ ± ۱/۷۰^{ab}	۸۰/۰۷ ± ۲/۰۱^{bc}
مونوسیت‌ها (٪)	۶/۰۷ ± ۰/۲۰^{ab}	۶/۵۶ ± ۱/۰۹^{a}	۵/۰۱ ± ۰/۹۷^{bc}	۴/۰۸ ± ۰/۱۶^{c}	۵/۴۸ ± ۰/۵۰^{ab}	۶/۰۲ ± ۰/۹۴^{ab}

حروف نامشابه در هر ردیف نشان از اختلاف آماری معنی‌دار است ($p<۰/۰۵$).

نتایج بدست آمده از آنالیز دوطرفه شاخص‌های خونی ماهی کپور معمولی تغذیه شده با پری‌بیوتیم در سیستم بایوفلاک در جدول ۶ آورده شده است. پری‌بیوتیک (پودری و مایع) بر گلبول‌های قرمز، هموگلوبین، هماتوکریت، MCV و MCH اثر معنی‌دار داشت (p<۰/۰۵). دوز مصرفی بر گلبول‌های سفید، قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت تاثیر معنی‌دار آماری داشت (p<۰/۰۵). اثرمتقابل دو عامل پری-بیوتیک و دوز مصرفی بر شاخص‌های گلبول‌های سفید، هموگلوبین، هماتوکریت و MCV مشخص شد (p<۰/۰۵).

جدول ۶ آزمون دوطرفه شاخص‌های خون‌شناختی ماهی کپور معمولی تغذیه شده با پری‌بیوتیک سانیار در سازگان بایوفلاک

شاخص	آزمون دوطرفه		
	اثر پری‌بیوتیک	اثر دوز مصرفی	اثر متقابل
گلبول سفید (هزار/mm^3)	NS	P =۰/۰۳۴	P =۰/۰۱۱
گلبول قرمز (میلیون/mm^3)	P =۰/۰۲۸	P =۰/۰۰۲	NS
هموگلوبین (g/dL)	P <۰/۰۰۱	P =۰/۰۰۲	P =۰/۰۹۲
هماتوکریت (٪)	P =۰/۰۲۳	P =۰/۰۰۲	P =۰/۰۸۸
MCV (fL)	P =۰/۰۴۲	NS	P =۰/۰۱۳
MCH (pg/cell)	P =۰/۰۱۵	P =۰/۰۲۸	NS
MCHC (g/dL)	NS	NS	NS
نوتروفیل‌ها (٪)	P =۰/۰۰۱	P =۰/۰۶۳	NS
لنفوسیت‌ها (٪)	NS	P =۰/۰۰۳	NS
مونوسیت‌ها (٪)	P =۰/۰۲۱	NS	NS

NS: Not significant؛ به‌معنای عدم وجود اختلاف معنی‌دار آماری است.

بحث

اساس کار تکنولوژی بایوفلاک، تبدیل ضایعات نیتروژنی به زیست توده میکروبی (بایوفلاک) است که حاوی پروتئین (اسیدهای آمینه ضروری)، اسیدهای چرب اشباع نشده، ویتامین‌ها و مواد معدنی است و در محیط پرورش به-عنوان منبع غذایی توسط ماهی استفاده می‌شود (De Schryver et al. 2008; Avnimelech, 2009). در مطالعه حاضر، بیشترین مقدار زی‌توده و تراکم نهایی در تیمار FP_1 و کمترین آنها در تیمار C و FC به‌دست آمد. این نتایج نشان می‌دهد که پری‌بیوتیک در سازگان بایوفلاک می‌تواند به‌عنوان منبع غذایی مناسبی برای تحریک رشد باکتری‌ها باشد. از این رو، به‌کارگیری نوع پودری در مقایسه با مایع از پری‌بوتیک سانیار در جیره غذایی مناسب‌تر است. یکی از راه‌های افزایش جمعیت باکتری‌ها استفاده از پری‌بیوتیک‌ها در جیره غذایی (Birkbeck and Ringo, 2005) و یا در محیط آب پرورش بایوفلاک است. پری‌بیوتیک‌ها منبع تغذیه‌ای مناسب برای رشد و فعالیت باکتری‌ها، مانند باکتری‌های اسید لاکتیک، لاکتوباسیلوس‌ها و بیفیدوباکترهاست (Staykov et al. 2007). اساس کار سازگان بایوفلاک را باکتری‌های هتروتروف تشکیل می‌دهند به طوری که هضم مستقیم ترکیبات نیتروژن آمونیاکی و تبدیل آن به زی‌توده باکتریایی توسط باکتری‌های هتروتروف صورت می‌گیرد (Ebeling et al. 2006). در مطالعه حاضر، ترکیبات نیتروژنی آب مانند آمونیاک و نیترات و همچنین فسفات در تیمارهای حاوی دو سطح از پری‌بیوتیک پودری و مایع سانیار در زمان‌های ۴، ۱۸، ۳۲، ۴۶ و ۶۰ آزمایش بررسی شد. نتایج به‌دست آمده از آمونیاک نشان داد که اگرچه مقادیر آمونیاک با افزایش زمان پرورش روندی افزایشی داشت، اما دامنه تغییرات در تیمارهای بایوفلاک حاوی پری‌بیوتیک، تیمار بایوفلاک بدون پری‌بیوتیک (F) و تیمار آب تمیز (C) در محدوده ۰/۰۱۹ تا ۰/۰۸۵ میلی-گرم در لیتر بود. در پایان دوره آزمایش، بیشترین مقدار آمونیاک در تیمار F و کمترین آن در تیمار C به‌دست آمد. کیفیت آب در تیمارهای بایوفلاک حاوی پری‌بیوتیک در حد مطلوب بود که با تحقیق حاصل از تأثیر تلقیح دو پری-

بیوتیک تجاری ایمکس اولترا و سلمانکس مایع با غلظت ۰/۱ و ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر بر کیفیت آب در سازگان بایوفلاک مشابهت داشت (خسروی و همکارن، ۱۳۹۹). کریم‌تبار و همکاران (۱۳۹۸) گزارش دادند که در پایان دوره آزمایش، پس از استفاده تلقیحی از مقادیر مختلف باسیلوس‌های پروبیوتیکی آکوا ۱ و ۲ در سازگان بایوفلاک پرورش ماهی کپور معمولی، غلظت آمونیاک آب بین گروه شاهد و تیمارهای آزمایشی تفاوت آماری معنی‌دار نداشت که با مطالعه حاضر تا حدودی هم‌سویی دارد. در مطالعه حاضر پایان دوره آزمایش بین تیمارهای بایوفلاک حاوی پری‌بیوتیک با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. تنظیم نسبت کربن به ازت با افزودن مواد آلی کربن‌دار به مخازن پرورش آبزیان منجر به تحریک رشد باکتری‌های هتروتروف شده و حضور این توده باکتریایی سبب حفظ کیفیت آب می‌شود (Khanjani et al. 2017; Adineh et al. 2019)، از این رو در این مطالعه از منبع کربنی ملاس به نسبت ۱۵ به ۱ استفاده شد.

سنجش فعالیت‌های سوخت‌وسازی سرم خون و شاخص‌های خون‌شناسی به‌طور عمده در تشخیص وضعیت فیزیولوژی ماهی و تعیین حالت عمومی سلامت آبزی استفاده می‌شود. به‌همین دلیل، می‌تواند اطلاعات تشخیصی قابل توجهی را در شناسایی بیماری‌ها، نوع تغذیه و شرایط بهداشتی و سلامتی ارائه دهد (Adhikari et al. 2004; Harikrishnan et al. 2011). در تحقیق حاضر بیشترین میزان اوره، کراتینین، آسپارتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز در تیمار FC به دست آمد، درحالی که تیمارهای بایوفلاکی حاوی پری‌بیوتیک سانیار دارای مقادیر کمتری بودند. آزمون دوطرفه نشان داد که سطوح مختلف پودری و مایع پری‌بیوتیک سانیار به صورت مجزا بر فعالیت‌های سوخت‌وسازی اثر معنی‌داری دارند. همسو با تحقیق حاضر نیز مطالعات متعددی در خصوص به کارگیری پری‌بیوتیک در جیره غذایی آبزیان انجام شده و در گزارش‌ها بر اثرات مفید این ترکیبات زیستی بر بهبود رشد و فعالیت‌های سوخت‌وسازی اشاره شده است (Hoseinifar et al. 2016; Serradell et al. 2020; Yousefi et al. 2020). با توجه به اینکه آمونیاک در کبد ماهی تبدیل به اوره می‌شود، بنابراین افزایش اوره خون در مسمومیت با آمونیاک قابل پیش‌بینی است. توانایی ماهی در حذف آمونیاک و تبدیل آن به اوره در گونه‌های مختلف یکسان نیست که این موضوع ممکن است یکی از علل تفاوت گونه‌ای در حساسیت به آمونیاک باشد. یکی از دلایل اینکه ماهی کپور معمولی می‌تواند مقادیر بالای آمونیاک را تحمل کند، توانایی آن در تبدیل آمونیاک به اوره است. در آزمایش‌ها، با اندازه‌گیری اوره خون می‌توان به طور غیرمستقیم مسمومیت با آمونیاک را تشخیص داد (خضرائی‌نیا و همکاران، ۱۳۷۹). مقادیر به‌دست آمده از کراتینین سرم خون در تیمار FC و C در مقایسه با تیمارهای مصرف‌کننده پری‌بیوتیک در محیط بایوفلاک افزایش معنی‌دار داشت. کراتین به میزان زیاد در سلول‌های ماهیچه‌ای، بافت قلب، آبشش، کلیه و مغز جانوران یافت می‌شود و در اثر آسیب به سلول‌ها ممکن است 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.

از جمله فراسنجه‌های بیوشیمیایی سرم آنزیم‌های کبدی هستند که به‌عنوان شاخص استاندارد برای بررسی اختلالات کبدی و سلامت در موجودات استفاده می‌شوند. در این تحقیق مقادیر آنزیم‌های کبدی در تیمارهای C و FC در مقایسه با تیمارهایی که تحت تأثیر افزودنی پری‌بیوتیک سانیار در سازگان بایوفلاک بودند، نیز افزایش معنی‌داری داشت. در بین آنزیم‌های کبدی نیز ALT در سیتوپلاسم سلول‌های کبدی زیاد است و هنگام آسیب از غشای سلولی عبور می‌کند و وارد خون می‌شود. بنابراین، این آنزیم به‌عنوان شناساگر اختصاصی آسیب کبدی شناخته شده است (Tohidi et al. 2007). سازگان بایوفلاک به‌عنوان محیطی ضد استرس برای پرورش آبزیان معرفی شده است. از این رو، برای حفظ شرایط زیست محیطی مناسب باید همه عوامل دخیل در این سازگان مانند حجم فلاک، کنترل ترکیبات نیتروژنی، درجه حرارت، اکسیژن محلول، تراکم ذخیره‌سازی، تنظیم نسبت کربن به ازت، تعویض آب، دوره نوری، مقدار غذای مصرفی، مکمل‌های افزودنی در آب و غذا در حد مناسب باشد (Adineh et al. 2019).

نتایج به‌دست آمده از شاخص‌های خون‌شناختی ماهی کپور معمولی در تیمارهای آزمایشی نشان داد که افزودن مقادیر مختلف پری‌بیوتیک سانیار به آب و غذا در شرایط پرورش بایوفلاک اثرمعنی‌داری بر سلول‌های خونی، هموگلوبین و

هماتوکریت بچه ماهی کپور دارند. کمترین تعداد گلبول-های سفید در تیمار آب تمیز و بیشترین آن در تیمارهای بایوفلاکی به‌دست آمد. بالا بودن تعداد گلبول‌های سفید در تیمار FL_1 در مقایسه با شاهد ممکن است نشان‌دهنده تحریک دستگاه ایمنی در ماهیانی باشد که در مواجهه با غلظت ۱ میلی‌لیتر در ۱۰۰ گرم غذای پایه از پری‌بیوتیک سانیار در محیط بایـوفلاکی قرار گرفته‌اند. بیشترین تعداد گلبول قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت در تیمارهای C و FC به‌دست آمد، در حالی که کمترین مقادیر در تیمار FP_1 مشاهده شد. در همین راستا، گزارش شده است که سطح هماتوکریت خون بین تیمارهای بایوفلاک و شاهد تفاوت معنی‌داری نداشت که نشان‌دهنده عدم افزایش استرس ماهی به دلیل وجود بیوفلاک است (Azim and Little, 2008). همچنین در مقایسه تیمار بایوفلاک و شاهد بدون فلاک مشخص شد که اختلاف آماری از نظر تعداد گلبول‌های قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت وجود ندارد (Long et al. 2015). پری‌بیوتیک‌ها عناصر تغذیه-ای غیرقابل هضم هستند که به‌عنوان ماده مغذی برای افزایش تعداد و فعالیت باکتری‌های سودمند در دستگاه گوارش استفاده می‌شوند. بنابراین، این روند باعث افزایش جذب مواد فعال زیستی و در نتیجه، ارتقای سطح ایمنی می‌شود (Crab et al. 2012).

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که اگرچه در تیمارهای مختلف پری‌بیوتیکی نتایج متفاوتی از نظر پاسخ‌های سوخت‌وسازی و شاخص‌های خون‌شناختی وجود دارد، اما به طورکلی استفاده از پری‌بیوتیک سانیار (پودری و مایع) در جیره غذایی ماهی کپور معمولی پروش‌یافته در سازگان بایوفلاک می‌تواند باعث بهبود شرایط زیستی کیفیت آب، پاسخ‌های سوخت‌وسازی و شاخـص‌های خون‌شناختی شود. لذا بر اساس نتایج به‌دست آمده، مکمل غذایی FP1 (۰/۱ گرم پری‌بیوتیک سانیار در هر ۱۰۰ گرم جیره پایه) در جیره غذایی ماهی کپور معمولی در سازگان بایوفلاک توصیه می‌شود.

تقدیر و تشکر

این پژوهش با حمایت مالی دانشگاه گنبد کاووس انجام شده است. نویسندگان از زحمات همکاران کمال تشکر و قدردانی را دارند.

تعارض منافع

بنابر اظهار نویسندگان تعارض منافع وجود ندارد.

منابع

آدینه، ح.، هرسیج، م. ۱۳۹۷. تأثیر سطوح مختلف بایوفلاک بر کیفیت آب، عملکرد رشد و بازماندگی پست لارو میگوی وانامی (*Litopenaeus vannamei*). تحقیقات دامپزشکی ۷۳: ۴۰۱-۳۹۳.

بیواره، م. ر.، جعفریان، ح. ۱۳۹۶. تأثیر پربیوتیک ایمکس بر عملکردهای رشد، کارایی تغذیه و برخی از فاکتورهای بیوشیمیایی سرم خون بچه ماهیان انگشت قد کپور معمولی. فیزیولوژی و تکوین جانوری ۱: ۲۷-۱۳.

بیواره، م. ر.، جعفریان، ح. ۱۳۹۶. مقایسه عملکردهای رشد، وضعیت تغـذیه، بقاء و مـقاومت در برابر استرس‌های محیطی در بچه ماهیان نورس کپور معمولی (*Cyprinus carpio* Linnaeus 1758) با جیره‌های غذایی مکمل سازی شده توسط دو پربیوتیک تجاری ایمکس و ایمکس اولترا. علوم و فنون دریایی ۱۲: ۶۳-۴۶.

خسروی، آ.، جعفریان، ح.، آدینه، ح.، هرسیج، م. ۱۳۹۹. تاثیر دو پربیوتیک ای‌مکس‌اولترا و سلماناکس مایع به صورت تلقیح بر کیفیت آب، عملکرد رشد و ترکیبات لاشه بچه ماهیان انگشت‌قد کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). محیط زیست جانوری ۱۲: ۱۸۸-۱۷۷.

خضرائی‌نیا، پ.، پیغان، ر.، آذری تاکامی، ق. ۱۳۷۹. بررسی تغییرات برخی آنزیمهای سرمی،اوره و کلسترول خون ماهی کپور معمولی در مسمومیت تجربی حاد با آمونیاک. تحقیقات دامپزشکی ۵۵: ۳۲-۲۹.

رنجدوست، م.، جعفریان، ح.، هرسیج، م.، قلی‌پور کنعانی، ح. ۱۳۹۷. تاثیر پری‌بیوتیک سلماناکس و پنج گونه از پروبیوتیک‌های باسیلی بر کاهش استرس حمل‌و نقل کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در شوری‌های مختلف. علوم آبزی‌پروری ۶: ۵۰-۳۹.

فرهنگی، م.، کر، ع. ۱۳۹۹. تأثیر پری بیوتیک مانان الیگوساکارید بر عملکرد رشد، بازماندگی و مقاومت به تنش شوری در بچه ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). بوم شناسی آبزیان ۱۰: ۸۱-۷۵.

قاسم‌پور دهاقانی، پ.، جواهری بابلی، م.، ضیائی‌نژاد، س.، تقوی مقدم، ا.، پورهادی، م. ۱۳۹۲. بررسی اثر مکمل غذایی سین‌بیوتیک بایومین ایمبو به عنوان مکمل غذایی بر عملکرد رشد، بازماندگی و فلور باکتریایی روده ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) انگشت قد. توسعه آبزی پروری ۷: ۵۲-۴۳.

کریم‌تبار، ف.ز.، جعفریان، ح.، آدینه، ح. ۱۳۹۸. تاثیر افزودن پروبیوتیک‌های تجاری در سازگان بایوفلاک: بررسی کیفیت آب، عملکرد رشد و تغذیه و ترکیبات بیوشیمیایی بدن ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). علوم آبزی پروری ۷: ۱۵۱-۱۴۱.

محمودیان، ا.، کرامت امیرکلایی، ع.، اکرمی، ر.، بهلکه، ا. ۱۳۹۴. بررسی اثر پری بیوتیک آلفامیون و پروبیوتیک پروتکسین به صورت انفرادی و ترکیبی بر رشد بچه ماهیان کپـور معمولی (*Cyprinus carpio*). پژوهش-های ماهی‌شناسی کاربردی ۳: ۱۰۴-۹۳.

واعظ، ر.، محمدی آذرم، ح.، موسوی، س. م.، رجب‌زاده، ا. ۱۳۹۶. اثر مکمل های گیاهی و اینولین بر فعالیت آنزیم های آنتی‌اکسیدانی در ماهی جوان کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). دامپزشکی ایران ۱۳: ۱۲۱-۱۱۵.

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: 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 & Shellfish Immunology 95: 440-448.

APHA. 1998. Standard Methods for the Examination of the Water and Wastewater, 22nd ed. American Public Health Association, Washington, DC.

Avnimelech, Y., Kochba, M. 2009. Evaluation of nitrogen uptake and excretion by tilapia in biofloc tanks, using N-15 tracing. Aquaculture 287: 163-168.

Azim, M.E., Little, D.C. 2008. The biofloc technology (BFT) in indoor tanks: water quality, biofloc composition, and growth and welfare of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Aquaculture 283: 29-35.

Birkbeck, T.H., Ringø, E. 2005. Pathogenesis and the gastrointestinal tract of growing fish. In: Mosenthin, R., Zentek, J., Zebrowska, T. 2005. Biology of Growing Animals. Elsevier, 640P.

Crab, R., Defoirdt, T., Bossier, P. Verstraete, W. 2012. Biofloc technology in aquaculture: beneficial effects and future challenges. Aquaculture 356-357: 351-356.

De Schryver, P., Crab, R., Defoirdt, T., Boon, N., Verstraete, W. 2008. The basics of bio-flocs technology: the added value for aquaculture. Aquaculture 277: 125-137.

Ebeling, J.M., Timmons, M.B., Bisogni, J.J. 2006. Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic removal of ammonia-nitrogen in aquaculture systems. Aquaculture 257: 346-358.

Emerenciano, M., Ballester, E.L., Cavalli, R.O., Wasielesky, W. 2012. Biofloc technology application as a food source in a limited water exchange nursery system for pink shrimp *Farfantepenaeus brasiliensis* (Latreille, 1817). Aquaculture Research 43: 447-457.

Feldman, B.F., Zinkl, J.G., Jian, N.C. 2000. Schalm's veterinary hematology, 3nd edn. Lippincott Williams and Wilkins publication, Philadelphia, USA. pp. 32-36.

Hargreaves, J.A. 2013. Biofloc production systems for aquaculture (Vol. 4503, pp. 1-11). Stoneville, MS: Southern Regional Aquaculture Center.

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: 1-15.

Hoseinifar, S.H., Eshaghzadeh, H., Vahabzadeh, H., Peykaran Mana, N. 2016. Modulation of growth performances, survival, digestive enzyme activities and intestinal microbiota in common carp (*Cyprinus carpio*) larvae using short chain fructooligosaccharide. Aquaculture Research 47: 3246-3253.

Khanjani, M.H., Sajjadi, M.M., Alizadeh, M., Sourinejad, I. 2017. Nursery performance of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei* Boone, 1931) cultivated in a biofloc system: the effect of adding different carbon sources. Aquaculture Research 48: 1491-1501.

Lee, R.G., Foerster, J., Jukens, J., Paraskevas, F., Greer, J.P., Rodgers, G.M. 1998. Wintrobe's-Clinical Hematology, 10th ed., Lippincott Williams & Wilkins, New York.

Liu, G., Deng, Y., Verdegem, M., Ye, Z., Zhu, S. 2019. Using poly (β-hydroxybutyrate-β-hydroxyvalerate) as carbon source in biofloc-systems: Nitrogen dynamics and shift of *Oreochromis niloticus* gut microbiota. Science of the Total Environment 694: 133664.

Long, L., Yang, J., Li, Y., Guan, C., Wu, F. 2015. Effect of biofloc technology on growth, digestive enzyme activity, hematology, and immune response of genetically improved farmed tilapia (*Oreochromis niloticus*). Aquaculture 448: 135-141.

Martínez-Córdova, L. R., Emerenciano, M., Miranda-Baeza, A., Martínez-Porchas, M. 2015. Microbial-based systems for aquaculture of fish and shrimp: an updated review. Reviews in Aquaculture 7: 131-148.

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: 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.

Pauly, D., Christensen, V., Guenette, S., Pitcher, T.J., Sumaila, U.R., Walters, C.J., Watson, R., Zeller, D. 2002. Towards sustainability in world fisheries. Nature 418: 689-695.

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.

Qiao, G., Chen, P., Sun, Q., Zhang, M., Zhang, J., Li, Z., Li, Q. 2020. Poly-β-hydroxybutyrate (PHB) in bioflocs alters intestinal microbial community structure, immune-related gene expression and early Cyprinid herpesvirus 2 replication in gibel carp (*Carassius auratus gibelio*). Fish and Shellfish Immunology 97: 72-82.

Sano T. 1960. Haematological studies of the culture fishes in Japan. Journal of the Tokyo University of Fisheries 46: 98-87.

Serradell, A., Torrecillas, S., Makol, A., Valdenegro, V., Fernández-Montero, A., Acosta, F., Montero, D. 2020. Prebiotics and phytogenics functional additives in low fish meal and fish oil based diets for European sea bass (*Dicentrarchus labrax*): effects on stress and immune responses. Fish and Shellfish Immunology 100: 219-229.

Staykov, Y., Spring, P., Denev, S., Sweetman, J. 2007. Effect of a mannan

oligosaccharide on the growth performance and immune status of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture International 15: 153-161.

Tohidi, M., Harati, H., Hadaegh, F., Mehrabi, Y., Azizi, F. 2007. Association of liver enzymes with incident type 2 diabetes: Tehran lipid and glucose study. Iranian Journal of Diabetes and Metabolism 7: 167-176.

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.

Yousefi, S., Shokri, M.M., Noveirian, H.A., Hoseinifar, S.H. 2020. Effects of dietary yeast cell wall on biochemical indices, serum and skin mucus immune responses, oxidative status and resistance against *Aeromonas hydrophila* in juvenile Persian sturgeon (*Acipenser persicus*). Fish and Shellfish Immunology 106: 464-472.