



Growth Indices, Hematological Parameters and Carcass Composition of Rainbow Trout (*Oncorhynchus Mykiss*) Fed with Immunoal Prebiotic

ARTICLE INFO

Article Type

Original Research

Authors

Sahraei H.^{*1} PhD,
Ayatollahi F.² MSc,
Golpour hassanalideh A.² MSc,
Pirali Zefrehei A.² PhD,
Zohieri F.² MSc,
Hedayati A.² PhD

How to cite this article

Sahraei H, Ayatollahi F, Golpour hassanalideh A, Pirali Zefrehei A, Zohieri F, Hedayati A. Growth Indices, Hematological Parameters and Carcass Composition of Rainbow Trout (*Oncorhynchus Mykiss*) Fed with Immunoal Prebiotic. Journal of Fisheries Science and Technology. 2019;8(1):31-37.

¹Fisheries Department, Natural Resources & Agriculture Faculty, Gonbad Kavous University, Gonbad Kavous, Iran

²Fisheries Department, Fisheries & Ecology Faculty, Gorgan University of Agricultural Sciences & Natural Resources, Gorgan, Iran

*Correspondence

Address: Fisheries Department, Natural Resources & Agriculture Faculty, Gonbad Kavous University, Basir Boulevard, Shahid Fallahi Street, Gonbad Kavous, Iran

Phone: +98 (17) 33264060

Fax: +98 (17) 33264060

hasansahraei2@gmail.com

Article History

Received: January 12, 2018

Accepted: October 30, 2018

ePublished: March 19, 2019

ABSTRACT

Aims The aim of the present study was to investigate the immunoal prebiotic performance on growth indices, hematological parameters, and rainbow trout carcass composition.

Materials & Methods Immunoal prebiotic was added to the diet in 4 levels of 0.05%, 0.1%, 0.15% and 0.2% and a diet without prebiotic was used to feed the control group. Each diet was randomly used for fish with an initial weight of 13.66 ± 0.54 g in three replicates.

Findings After 8 weeks of feeding, the final weight of fish fed with 0.1%, 0.15%, and 0.2% prebiotics was significantly higher than the fish of the control group ($p < 0.05$). The food conversion ratio in all treatments fed with prebiotic was significantly lower than the control group ($p < 0.05$) and the lowest amount was in 0.15% treatment. The specific growth rate in fish fed with prebiotic was higher than the control group ($p < 0.05$). Also, there were significant differences in the parameters of red blood cells, white blood cells, lymphocyte and neutrophil in fish fed with prebiotic diet and the control group ($p < 0.05$). In the carcass analysis, protein content was significantly higher than the control group and the highest amount was seen in 0.1% treatment. The amount of fat and carcass ash decreased significantly in the control group and the lowest amount was observed in 0.15% treatment.

Conclusion Addition of immunoal prebiotic with 0.2-0.15% rate to rainbow trout diet had positive effects on growth indices, blood parameters, and carcass composition

Keywords Rainbow Trout; Prebiotic; Immunoal; Growth Factors; Blood Parameters; Carcass Composition

CITATION LINKS

[1] The state of world fisheries and ... [2] Application of probiotics in livestock and ... [3] Probiotics in ... [4] Dietary modulation of the human colonic microbiota: Introducing the concept of ... [5] A review on application of probiotic, prebiotic and synbiotic for sustainable ... [6] Prebiotic effects of inulin and ... [7] Fibre and effects on probiotics ... [8] An overview of probiotics, prebiotics and synbiotics in the functional ... [9] Recent progress on research and applications of ... [10] Prebiotics [11] Selective stimulation of bifidobacteria in the human colon by oligofructose and ... [12] Influence of dietary vitamin C on the wound healing ... [13] The effect of probiotic premolac and immuno-probiotic probiotics on ... [14] Dietary brewers yeast and the prebiotic Grobiotic™ AE influence growth performance, immune responses and resistance of hybrid striped bass ... [15] The effect of inulin as probiotics on growth, survival and bacterial flora of young honeybee gut ... [16] Nutrient requirements ... [17] Nucleotides: The performance ... [18] Effects of clove oil anaesthesia on rainbow trout ... [19] In: Schreck CB, Moyle PB, American Fisheries ... [20] Official methods of ... [21] Effects of dietary supplementation with mannanoligosaccharide ... [22] Nutritional value of dietary nucleic acids and purine ... [23] Effect of high dietary concentrations of brewer's dried ... [24] Partial replacement of fishmeal by brewers yeast ... [25] Technological aspects of functional food-related ... [26] Nondigestible ... [27] Pathogenesis and the gastrointestinal tract of growing ... [28] Cross effects of the strain of dietary *Saccharomyces cerevisiae* and rearing ... [29] Dietary modulation of the human colonic ... [30] Probiotics in man and ... [31] Ichthyology (1): Anatomy ... [32] Determining the relationship between ... [33] Size and hematological impact of the ... [34] Physiological effects of non-digestible ... [35] Current research status of fish ... [36] Effect of vitamin C on some growth parameters ... [37] Effects of dietary mannan oligosaccharides ... [38] Effects of dietary mannan oligosaccharides ... [39] Effect of dietary inulin as prebiotic ... [40] Effects of dietary mannan oligosaccharide ... [41] Functional food properties of non-digestible ...

شاخص‌های رشد، پارامترهای خون‌شناسی و ترکیب لاشه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) تغذیه‌شده با پری‌بیوتیک ایمنووال

حسن صحرایی^{*} PhD

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

فاطمه آیت‌اللهی MSc

گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

آیتا گلپورحسنعلیه MSc

گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

احمدرضا پیرعلی‌زهره‌ئی PhD

گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

فاضل ظهیری MSc

گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

علی‌اکبر هدایتی PhD

گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

چکیده

اهداف: مطالعه حاضر با هدف بررسی عملکرد پری‌بیوتیک ایمنووال بر شاخص‌های رشد، پارامترهای خون‌شناسی و ترکیب لاشه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان انجام شد. **مواد و روش‌ها:** پری‌بیوتیک ایمنووال در چهار سطح ۰/۵٪، ۱٪، ۱/۵٪ و ۲٪ به جیره غذایی اضافه و جیره فاقد پری‌بیوتیک برای تغذیه گروه شاهد استفاده شد. هر جیره به‌صورت تصادفی برای ماهیان با وزن اولیه تقریبی ۵۴±۱۳/۷۶ گرم در سه تکرار اختصاص داده شد.

یافته‌ها: بعد از هشت هفته تغذیه، وزن نهایی ماهیان تغذیه‌شده با ۱/۵٪ و ۲٪ پری‌بیوتیک به‌صورت معنی‌داری ($p < 0/05$) بالاتر از ماهیان گروه شاهد بود. ضریب تبدیل غذایی در همه تیمارهای تغذیه‌شده با پری‌بیوتیک به‌صورت معنی‌داری ($p < 0/05$) پایین‌تر از ماهیان گروه شاهد بود که در تیمار ۱/۵٪ کمترین مقدار را داشت. ضریب رشد ویژه در ماهیان تغذیه‌شده با پری‌بیوتیک بیشتر از گروه کنترل بود ($p < 0/05$). همچنین تفاوت معنی‌داری در پارامترهای تعداد گلبول‌های قرمز، گلبول‌های سفید، درصد لنفوسیت و نوتروفیل بین ماهیان تغذیه‌شده با جیره حاوی پری‌بیوتیک و گروه شاهد وجود داشت ($p < 0/05$). در آنالیز تقریبی لاشه، میزان پروتئین افزایش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد نشان داد و بیشترین میزان نیز در تیمار ۱/۵٪ مشاهده شد. میزان چربی و خاکستر لاشه به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه شاهد کاهش پیدا کرد و کمترین میزان در تیمار ۱/۵٪ مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: افزودن پری‌بیوتیک ایمنووال به میزان ۱/۵٪ به جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان اثرات مثبتی بر شاخص‌های رشد، پارامترهای خونی و ترکیب لاشه داشته و سطح ۱/۵٪ نیز بهترین نتیجه را به همراه دارد.

کلیدواژه‌ها: قزل‌آلای رنگین‌کمان، پری‌بیوتیک، ایمنووال، فاکتورهای رشد، پارامترهای خونی، ترکیب لاشه

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۰/۲۲

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۸/۸

*نویسنده مسئول: hasansahraei22@gmail.com

مقدمه

امروزه با توجه به افزایش روزافزون جمعیت جهان، تقاضا برای محصولات غذایی آیزی بیشتر شده و به نظر می‌رسد که در آینده سهم زیادی از این تقاضا از طریق آیزی‌پروری تامین شود. تکثیر و پرورش آیزیان از فعالیت‌های اقتصادی باارزش محسوب می‌شود[1]. در این راستا محققان همواره سعی کرده‌اند که تولیدات را در کوتاه‌ترین زمان ممکن با صرف حداقل هزینه و کمترین عوارض جانبی و با استفاده از افزودنی‌هایی که ضمن حفظ ویژگی‌های مطلوب، فاقد تبعات سوء بهداشتی و زیست-محیطی باشند، افزایش دهند که از جمله آنها می‌توان به آنزیم‌ها، پروبیوتیک‌ها، پری‌بیوتیک‌ها، پروتئین‌های تک‌سلولی، مخمر و غیره اشاره کرد[2]. امروزه استفاده از مکمل‌های غذایی مانند پروبیوتیک‌ها، پری‌بیوتیک‌ها و ترکیبی از آنها (سین‌بیوتیک‌ها) به‌عنوان جایگزینی مناسب برای روش‌های درمانی قبلی مانند آنتی‌بیوتیک درمانی و استفاده از داروهای ضد میکروبی مطرح شده است[3]. گیپسون و روبرفریوید در سال ۱۹۹۵ اولین کسانی بودند که ایده پری‌بیوتیک را بیان داشتند و پری‌بیوتیک‌ها را چنین تعریف کردند که این ترکیبات مواد غذایی غیرقابل هضمی هستند که از طریق تحریک رشد و فعالیت یک یا تعداد محدودی از باکتری‌های موجود در روده اثرات سودمندی برای میزبان داشته و می‌توانند موجب بهبود سلامتی شوند[4]. پری‌بیوتیک برای داشتن اثر مثبت باید در بخش‌های بالای دستگاه گوارش جذب یا هیدرولیز نشود؛ همچنین توسط باکتری‌های مفید بومی دستگاه گوارش قابلیت تخمیر شدن داشته باشد؛ توانایی تغییر ترکیب فلور باکتریایی روده‌ای به سمت ترکیبی سالم‌تر را داشته باشد و در نهایت دارای اثرات سودمندی بر میزبان مصرف‌کننده باشد[5]. به‌منظور شناخت بیشتر از معیارهای مورد نیاز ترکیبات پری‌بیوتیک باید نیازهای غذایی باکتری‌های مفید روده را شناسایی کرده و در تهیه ترکیب پری‌بیوتیک به کار برد. طبق مطالعات انجام‌شده، کربوهیدرات‌ها، مواد غذایی مهم و ضروری برای باکتری‌ها به شمار می‌آیند. به همین دلیل کربوهیدرات‌ها ترکیبات عمده پری‌بیوتیک‌ها را تشکیل می‌دهند[6, 7]. از بین کربوهیدرات‌ها، اغلب الیگوساکاریدهای غیرقابل هضم به‌ویژه آنهایی که حاوی فروکتوز هستند، به‌عنوان پری‌بیوتیک در نظر گرفته می‌شوند[8-10]. پری‌بیوتیک به‌دلیل ترکیب غذایی خاص خود باعث تحریک انتخابی، رشد و فعال کردن باکتری‌های موجود در روده می‌شود که می‌تواند موجب سلامتی میزبان شود[11]. کربوهیدرات‌های غیرقابل هضم، پروتئین‌ها، برخی پپتیدها و نیز بعضی از چربی‌ها می‌توانند به‌عنوان گزینه‌ای برای پری‌بیوتیک‌ها باشند[12]. از جمله پری‌بیوتیک‌ها می‌توان به مانان الیگوساکاریدها، رافینوز، ایمنووال، لاکتوز، الیگوفروکتوز، لاکتوسولوز و اینولین اشاره کرد. بنابراین پری‌بیوتیک‌ها به‌عنوان مکمل‌های غذایی بر وضعیت سلامت موجود، میزان رشد، ترکیب بدن و میزان مصرف غذا تاثیرگذار هستند[13]. اگرچه در بیشتر مطالعات انجام‌شده، پری‌بیوتیک‌ها نتایج مثبتی بر رشد حیوانات داشته‌اند، اما انواع مختلف آنها دارای

آنها را در ظروف پلاستیکی در دمای 4°C و دور از نور قرار داده و برای غذادهی به ماهیان استفاده شدند. غذادهی بچه‌ماهیان به اندازه ۲٪ وزن بدن، در ۵ وعده در ساعات‌های ۸، ۱۱، ۱۳، ۱۵ و به مدت ۶۰ روز انجام شد. همچنین هر روز مدفوع و دیگر مواد باقی‌مانده از مخازن سیفون شدند.

جدول ۱) ترکیب جیره ساخته‌شده برای تیمارهای مختلف (همه اعداد بر حسب درصد هستند).

اجزای تشکیل‌دهنده	جیره پایه	۰/۵	۰/۱	۰/۱۵	۰/۲
پودر ماهی	۴۳	۴۳	۴۳	۴۳	۴۳
آرد گندم	۱۸/۶۵	۱۸/۶۵	۱۸/۶۵	۱۸/۶۵	۱۸/۶۵
سویا	۲۶	۲۶	۲۶	۲۶	۲۶
روغن سویا	۶	۶	۶	۶	۶
مکمل معدنی	۱/۵	۱/۵	۱/۵	۱/۵	۱/۵
مکمل ویتامینی	۱/۵	۱/۵	۱/۵	۱/۵	۱/۵
ویتامین C	۰/۱	۰/۱	۰/۱	۰/۱	۰/۱
ضد قارچ	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
دی‌کلسیم فسفات	۱	۱	۱	۱	۱
سلولز	۲	۱/۹۵	۱/۹۰	۱/۸۵	۱/۸۰
پری‌بیوتیک ایمنووال	۰	۰/۰۵	۰/۱	۰/۱۵	۰/۲
جمع	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰

برای بررسی رشد ماهیان و مقایسه بین تیمارها در انتهای آزمایش از شاخص‌های رشد شامل افزایش وزن بدن، ضریب تبدیل غذایی و ضریب رشد ویژه استفاده شد که با فرمول‌های زیر مورد محاسبه قرار گرفتند (جدول ۱) [17]:

$$(WG) = W_2 - W_1 \text{ افزایش وزن بدن}$$

$$(FCR) = \frac{\text{مقدار غذای خورده‌شده (گرم)}}{\text{افزایش وزن بدن (گرم)}} \text{ ضریب تبدیل غذایی}$$

$$\text{ضریب رشد ویژه} = \frac{(\ln W_2 - \ln W_1)}{\text{دوره پرورش به روز}} \times 100$$

در هفته هشتم (انتهای آزمایش) اندازه‌گیری پارامترهای خونی انجام شد. به همین منظور ابتدا به‌صورت تصادفی ۵ عدد ماهی در هر واحد آزمایشی (۱۵ عدد در هر تیمار) انتخاب شده، سپس بیهوش‌کردن ماهیان با استفاده از ۳۰ میلی‌گرم بر لیتر عصاره گل میخک انجام شد [18]. برای جلوگیری از ورود آب و موکوس به نمونه خون، ماهی کاملاً خشک شد. به‌منظور خون‌گیری ساقه دم ماهی قطع شده و نمونه خون بلافاصله به تیوب‌های (اپندورف‌ها) ضدعفونی‌شده حاوی اتیلن‌دی‌آمین‌تترااستیک‌اسید (EDTA) به‌عنوان ماده ضدانعقاد ریخته و سریعاً به آزمایشگاه منتقل شد. بلافاصله فاکتورهای خونی شامل گلبول‌های سفید (WBC) و گلبول‌های قرمز خون (RBC) از طریق لام هموسیتومتر نتوبار و با استفاده از محلول رقیق‌کننده داسیس و هموگلوبین به‌وسیله کیت

تأثیرات متفاوتی بر گونه‌های آبزیان هستند. در مطالعات قبلی، تأثیر پری‌بیوتیک تجاری گری‌بیوتیک‌آ که مخلوطی از اتولیز ناقص مخمر آبجو و بخش‌هایی از ترکیبات شیر و تولیدات تخمیری خشک‌شده بود، در تغذیه ماهیان باس ارزیابی شد، که به‌طور معنی‌داری باعث افزایش رشد، بازماندگی و کارایی تغذیه در آنها شد [14]. همچنین در یک مطالعه استفاده از پری‌بیوتیک اینولین در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان نشان داد که این پری‌بیوتیک نمی‌تواند مکمل مناسبی برای جیره غذایی این نوع ماهی باشد [15].

در مطالعه حاضر تأثیر استفاده از سطوح مختلف پری‌بیوتیک ایمنووال در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بر عملکرد رشد، پارامترهای خون‌شناسی و ترکیب لاشه ماهی بررسی شد.

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر در تیرماه سال ۱۳۹۵ در آزمایشگاه آبی‌پروری شهید ناصر فضلی‌برآبادی واقع در دانشگاه علوم کشاورزی گرگان روی ۶۰۰ قطعه بچه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با میانگین وزنی $13/76 \pm 0/54$ گرم انجام شد. قبل از ذخیره‌سازی، ضدعفونی تانک‌ها با موادی مانند هیپوکلریت سدیم انجام و سپس با آب شست‌وشو داده شدند. ماهیان نیز ابتدا با محلول نمک ۴٪ به‌مدت یک دقیقه ضدعفونی شدند و در نهایت در ۱۵ تانک ۵۰۰ لیتری (۴۰ عدد در هر تانک) قرار گرفتند. بچه ماهی‌های تهیه‌شده از کارگاه، یک هفته در این تانک‌ها نگهداری و با جیره ساخته‌شده فاقد پری‌بیوتیک غذادهی شدند تا عمل سازگاری انجام شود. اندازه‌گیری عوامل کیفی آب مانند دمای آب، اکسیژن محلول و pH به‌صورت هفتگی انجام شد. طی دوره پرورش، میانگین دمای آب برابر $14/25 \pm 0/36^{\circ}\text{C}$ ، pH برابر $7/53 \pm 0/12$ و اکسیژن محلول برابر $8/74 \pm 0/41$ میلی‌گرم بر لیتر اندازه‌گیری شد.

با توجه به تیمارهای تعیین‌شده، مکمل پری‌بیوتیک ایمنووال (INC؛ ایالات متحده) در چهار سطح ۰/۵٪، ۰/۱٪، ۰/۱۵٪ و ۰/۲٪ به جیره کنترل اضافه شد. تیمار پنجم گروه شاهد بود که مکملی به آن اضافه نشد. طبق اظهارات شرکت سازنده، این پری‌بیوتیک حاوی ۱۵/۷۳٪ مانان الیگوساکارید، ۱۶/۱۲٪ بتا‌گلوکان، ۳۲٪ پروتئین، ۸٪ خاکستر، ۱/۴٪ فیبر، ۰/۳٪ عصاره اتری و حداکثر ۱۰۰ کلونی مخمر بود. برای آزمایش سه تکرار در نظر گرفته شد. جیره ماهیان براساس پودر ماهی به‌عنوان منبع اصلی پروتئین شامل ۴۸/۲۵٪ پروتئین خام، ۱۷/۴٪ چربی خام، ۱۱/۵۳٪ خاکستر و انرژی ناخالص ۲۰۲۵ کیلوژول بر کیلوگرم با استفاده از نرم‌افزار Lindo 6.1 فرمول‌بندی شد (جدول ۱) [16]. برای تهیه جیره‌هایی با نیتروژن و لیپید یکسان از سلولز، پودر ماهی، آرد گندم و سویا استفاده شد. به‌منظور ساخت پلت (دانه‌بندی خوراک ۳-۲/۵ میلی‌متری)، جیره به چرخ گوشت منتقل شد. سپس پلت‌ها را روی سینی‌های خشک‌کن قرار داده و به‌مدت ۲۴ ساعت در خشک‌کن با دمای 50°C منتقل شدند. پس از آماده‌شدن جیره‌ها،

یافته‌ها

افزودن پری‌بیوتیک به ترکیب غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان سبب بهبود شاخص‌های رشد شامل افزایش وزن بدن، ضریب رشد ویژه و کاهش ضریب تبدیل شد. حداکثر بهبود شاخص‌های مذکور در سطح ۰/۱۵٪ بود که با تیمار ۰/۲٪ اختلاف معنی‌داری نداشت (p>۰/۰۵)، در حالی که با گروه شاهد و سایر تیمارها دارای اختلاف معنی‌داری بود (جدول ۲؛ p<۰/۰۵).

در مقادیر RBC، WBC، درصد لنفوسیت و نوتروفیل در تیمارهای تغذیه‌شده با پری‌بیوتیک در مقایسه با گروه کنترل اختلاف معنی‌داری وجود داشت (p<۰/۰۵). همچنین اختلاف معنی‌داری در مقادیر هماتوکریت و هموگلوبین بین ماهیان تغذیه‌شده با ۰/۰۵٪ پری‌بیوتیک در مقایسه با گروه کنترل مشاهده نشد (جدول ۳؛ p>۰/۰۵).

کمترین میزان چربی و خاکستر در تیمار ۰/۱۵٪ و بیشترین میزان پروتئین در تیمار ۰/۱۰٪ بود. در مورد رطوبت اختلاف معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد (جدول ۴؛ p>۰/۰۵).

مخصوص (پارس آمون؛ ایران) و در دستگاه اسپکتوفتومتر با طول موج ۵۴۰ نانومتر با روش کلرومتریک محاسبه شدند. به‌علاوه درصد هماتوکریت با سانتریفیوژ میکروه‌ماتوکریت و شاخص‌های گلبول قرمز اندازه‌گیری شد [19].

برای تعیین آنالیز تقریبی لاشه، ۹ عدد ماهی به ازای هر تیمار در پایان آزمایش به‌طور تصادفی صید شدند تا مقادیر پروتئین، چربی، رطوبت، خاکستر و ماده خشک آنها محاسبه شود [20]. نمونه‌ها (ماهی کامل) پس از چرخ‌کردن آماده آنالیز شده و برای تعیین میزان رطوبت از آنکوباتور با دمای ۱۰۵°C به مدت ۲۴ ساعت، خاکستر از آن با دمای ۶۵°C به مدت ۴۸ ساعت، چربی از سوکسله و پروتئین از کج‌دال استفاده شد.

مطالعه حاضر در قالب یک طرح کاملاً تصادفی برنامه‌ریزی و اجرا شد. نرمال‌بودن داده‌ها با آزمون کولموگروف-اسمیرنف مشخص شد. میانگین شاخص‌های رشد، خون و ترکیبات بدن در تیمارهای مختلف به کمک آنالیز واریانس یک‌طرفه مورد مقایسه قرار گرفتند. برای مقایسه‌های چندگانه تیمارها از آزمون دانکن استفاده شد. داده‌ها نیز با کمک نرم‌افزار SPSS 22 تجزیه و تحلیل شدند.

جدول ۲) میانگین آماری شاخص‌های رشد بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) تغذیه‌شده با پری‌بیوتیک ایمونوال در تیمارهای مختلف در پایان هفته هشتم (حروف غیرهمسان در هر ردیف نشانه وجود اختلاف معنی‌دار (p<۰/۰۵) است).

تیمار	وزن اولیه (گرم)	افزایش وزن بدن (گرم)	ضریب تبدیل غذایی	ضریب رشد ویژه (درصد)
شاهد	۱/۱۵±۱۳/۹۷	۲/۲۵±۳۹/۲۹	۰/۲۳±۱/۵۳	۰/۷۳±۲/۳۰
۰/۰۵٪	۱/۲۶±۱۳/۱۳	۲/۷۴±۴۲/۱۵	۰/۴۵±۱/۴۲	۰/۸۴±۲/۴۷
۰/۱٪	۰/۸۸±۱۴/۱۰	۳/۲۷±۴۸/۱۰	۰/۱۱±۱/۳۵	۰/۶۹±۲/۵۵
۰/۱۵٪	۱/۱۷±۱۴/۱۵	۲/۶۲±۵۲/۳۶	۰/۰۴±۱/۳۲	۰/۳۴±۲/۶۶
۰/۲٪	۱/۰۵±۱۳/۸۵	۴/۲۴±۵۰/۵۳	۰/۰۱±۱/۳۲	۰/۹۱±۲/۶۴

جدول ۳) میانگین آماری پارامترهای خون‌شناسی بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) تغذیه‌شده با پری‌بیوتیک ایمونوال در تیمارهای مختلف در پایان هفته هشتم (حروف غیرهمسان در هر ردیف نشانه وجود اختلاف معنی‌دار (p<۰/۰۵) است).

پارامترهای خونی	شاهد	۰/۰۵٪	۰/۱٪	۰/۱۵٪	۰/۲٪
گلبول‌های قرمز (میلیون در مترمکعب)	۱/۱۲±۰/۱۹ ^a	۱/۲۳±۰/۳۶ ^b	۱/۲۹±۰/۷۲ ^c	۱/۳۱±۰/۲۴ ^c	۱/۳۲±۰/۶۳ ^c
هماتوکریت (درصد)	۳۵/۱۱±۰/۱۳ ^a	۳۶/۷۲±۰/۴۵ ^a	۳۷/۸۵±۰/۸۷ ^b	۳۷/۷۳±۰/۸۷ ^b	۳۷/۳۷±۰/۵۱ ^b
هموگلوبین (گرم در دسی‌لیتر)	۱۱/۴۹±۰/۱۲ ^a	۱۱/۵۴±۰/۹۷ ^a	۱۱/۷۲±۰/۸۷ ^b	۱۱/۸۶±۰/۵۶ ^c	۱۱/۸۴±۰/۳۴ ^c
گلبول‌های سفید (سلول در میلی‌لیتر)	۱۱۲۵۲۳±۱۳۲/۸۷ ^a	۱۱۹۵۰/۲۱±۷۸۲ ^b	۱۲۸۳۰/۴۳±۹۲/۴ ^c	۱۲۰۴۵/۸۷±۹۲/۳ ^b	۱۲۷۸۷/۹۷±۱۵۷ ^c
لنفوسیت (درصد)	۸۷/۲۳±۰/۹۸ ^a	۸۸/۶۹±۰/۵۱ ^b	۹۰/۹۲±۰/۶۹ ^c	۹۰/۸۹±۰/۸۵ ^c	۹۰/۰۳±۰/۵۳ ^b
نوتروفیل (درصد)	۷/۲۳±۰/۱۸ ^a	۷/۴۰±۰/۱۲ ^b	۷/۵۲±۰/۰۹ ^c	۷/۴۳±۰/۰۶ ^b	۷/۴۴±۰/۱۳ ^b

جدول ۴) میانگین آماری سطوح مختلف پری‌بیوتیک بر ترکیبات بیوشیمیایی عضله با سه بار تکرار در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (همه اعداد بر حسب درصد هستند و حروف غیرهمسان در هر ردیف نشانه وجود اختلاف معنی‌دار (p<۰/۰۵) است).

تیمار	رطوبت	ماده خشک	پروتئین	چربی	خاکستر
شاهد	۷۴/۱۹±۰/۳۵	۲۲/۱۷±۰/۳۲	۱۶/۴۲±۰/۶۰	۴۲/۶۵±۰/۳۲	۲۲/۲۳±۰/۱۶
۰/۰۵٪	۷۴/۵۲±۰/۲۸	۲۴/۹۴±۰/۶۰	۱۶/۷۵±۰/۳۱	۴۲/۵۳±۰/۱۲	۲۲/۱۷±۰/۰۸
۰/۱٪	۷۴/۵۶±۰/۱۶	۲۲/۵۳±۰/۴۱	۱۶/۰۸±۰/۲۷	۴۲/۱۷±۰/۴۱	۲۲/۰۵±۰/۰۶
۰/۱۵٪	۷۴/۴۷±۰/۲۳	۲۲/۳۵±۰/۱۰	۱۶/۶۴±۰/۲۱	۴۲/۸۲±۰/۲۹	۲۲/۰۴±۰/۱۲
۰/۲٪	۷۴/۴۳±۰/۳۷	۲۲/۷۳±۰/۵۱	۱۶/۹۶±۰/۸۲	۴۲/۹۶±۰/۰۹	۲۲/۰۹±۰/۰۳

افزایش پیدا می‌کند^[31]. همچنین به دلیل افزایش تغذیه، درجه حرارت و به طور کلی افزایش متابولیسم بدن ممکن است افزایش حجم سلولی و کاهش غلظت پلاسما مشاهده شود^[32]. در مطالعه حاضر میزان هموگلوبین و هماتوکریت در ماهیان تغذیه شده با پری‌بیوتیک یک روند افزایشی داشت. مطالعات انجام شده بیانگر این است که افزایش غلظت هموگلوبین می‌تواند به دلیل کاهش حجم پلاسما و آزاد شدن تعداد بیشتر اریتروسیت‌های خون از بافت‌های خون‌ساز باشد^[33]. به طور کلی پری‌بیوتیک‌ها باعث جذب کاتیون‌های دو ظرفیتی می‌شوند که دلیل آن مشخص نشده است^[7]. در حیوانات آزمایشگاهی نیز مصرف پری‌بیوتیک‌ها باعث جذب عناصری مانند منبزمیم، روی و آهن شده است^[34]. با توجه به افزایش مقدار هموگلوبین، نتایج مطالعه حاضر احتمالاً می‌تواند نشان دهد که وجود پری‌بیوتیک در جیره می‌تواند جذب آهن را افزایش دهد. افزایش تعداد گلبول‌های قرمز، میزان هموگلوبین و هماتوکریت در مطالعه حاضر، با نتایج لی و همکاران^[14] که مطالعه آنها روی ماهی هیبرید باس راه‌راه بود و کرمی^[15] که اثر اینولین به عنوان پروبیوتیک بر رشد، بقا و فلور باکتری روده فیل‌ماهی را بررسی کرد، مطابقت دارد. گلبول‌های سفید در عمل فاگوسیتوز و پاسخ ایمنی نسبت به عوامل انگلی، باکتری و ویروسی و کمک به ترمیم بافت‌های صدمه دیده نقش مهمی ایفا می‌کنند. اندازه‌گیری این گلبول‌ها، درصد و نوع آنها در تعیین وضعیت عمومی ماهی می‌تواند کاربرد فراوانی داشته باشد. محرک‌های سیستم ایمنی می‌توانند گلبول‌های سفید را فعال کنند. برخی محرک‌های ایمنی سبب فعال شدن لنفوسیت‌ها می‌شوند که در نهایت ماکروفاژها را فعال می‌کنند^[35]. نتایج تعداد گلبول‌های سفید به دست آمده از آنالیز فاکتورهای خونی نشان داد که این فاکتور بین ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی پری‌بیوتیک با گروه شاهد تفاوت معنی‌داری دارد. با تغییر در ترکیب و اجزای جیره می‌توان روی کیفیت لاشه و طعم ماهی اثر گذاشت. اصولاً ترکیبات مختلف غذایی دارای اثرات متفاوتی بر ترکیب لاشه ماهیان هستند. همچنین ارزش بازاری ماهیان پرورشی به میزان زیادی وابسته به کیفیت و نوع غذای مصرفی بوده که این مورد یکی از فاکتورهای کنترل کیفی محسوب می‌شود. ترکیبات بدن همواره تحت تاثیر ترکیبات جیره و حتی درصد و مقدار غذایی روزانه است^[36]. براساس نتایج مطالعه حاضر، ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی پری‌بیوتیک، دارای پروتئین بیشتر و چربی و خاکستر کمتری در مقایسه با گروه کنترل بودند. مطالعات کمی در مورد تاثیر پری‌بیوتیک‌ها در جیره بر میزان پروتئین لاشه آبی‌زبان انجام شده که نتایج متضادی به دست آمده است و بعضی مطالعات حاکی از افزایش میزان پروتئین لاشه^[37, 38] و برخی نیز بی‌تاثیر بودن آن را نشان داده‌اند^[39]. جنسی و همکاران گزارش کردند که تغذیه میگوی *Penaeus semisulcatus* با جیره حاوی پری‌بیوتیک باعث کاهش پروتئین لاشه شده است. آنها علت این تفاوت را استفاده از جیره با قابلیت هضم کم و میزان کم اسید آمینه در آن فرض کردند^[40]. از مزایای ترکیبات پری‌بیوتیک می‌توان به

در مطالعه حاضر شاخص‌های رشد بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان در هفته هشتم نشان داد که افزودن پری‌بیوتیک به ترکیب غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان منجر به افزایش معنی‌داری در وزن نهایی بدن، درصد افزایش وزن بدن و ضریب رشد ویژه و کاهش معنی‌داری در ضریب تبدیل غذایی در مقایسه با گروه شاهد شده است. مطالعات گوناگون در برخی گونه‌ها نشان‌دهنده اثرات مثبت و در برخی دیگر حاکی از بی‌تاثیر بودن پری‌بیوتیک در رشد ماهیان است. در یک مطالعه، هلند و همکاران^[21] با استفاده از محصول پری‌بیوتیک حاوی مانان الیگوساکارید، فروکتوالیگوساکارید و گالاکتوالیگوساکارید از طریق افزودن به غذا منجر به افزایش وزن بدن و درصد بقا در آزادماهی اقیانوس اطلس (*Salmo salar*) شدند که این یافته با مطالعه حاضر هم‌خوانی دارد. تاثیر مثبت پری‌بیوتیک در جیره بر شاخص‌های رشد در قزل‌آلای دریاچه‌ای و قزل‌آلای رنگین‌کمان و باس دریایی نیز گزارش شده است^[22-24]. به طور کلی الیگوساکاریدها محلول در آب بوده و دارای ۰/۳-۰/۶ شیرینی واحد ساکارز هستند که این میزان به ساختار شیمیایی و درجه پلیمریزاسیون مقادیر مونوساکاریدهای موجود در آنها بستگی دارد^[10, 25]. به طوری که هر چه طول زنجیره کربنی ساکاریدها طولانی‌تر باشد، از میزان شیرینی آنها کاسته می‌شود^[26]. کاهش شیرینی در الیگوساکاریدها سبب طعم‌دهی مطلوب به غذا می‌شود و همچنین با توجه به بالاتر بودن وزن مولکولی الیگوساکاریدها، افزایش ویسکوزیتی و بهبود طعم و مزه غذا را به دنبال دارد^[10]. در این مطالعه افزایش شاخص‌های رشد و کاهش ضریب تبدیل غذایی در تیمارهای حاوی پری‌بیوتیک می‌تواند به دلیل خوش‌خوراکی یا افزایش اشتها ماهی ناشی از مصرف الیگوساکارید حاوی پری‌بیوتیک باشد. به طور کلی استفاده از پری‌بیوتیک‌ها در جیره آزادماهیان باعث افزایش جمعیت میکروبی دستگاه گوارش می‌شود^[27]. افزایش جوامع میکروبی روده نیز باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی و تولید ویتامین‌هایی می‌شود که در وضعیت بهداشتی و تغذیه ماهی موثر هستند^[28]. همچنین مهم‌ترین محصول نهایی متابولیسم پری‌بیوتیک‌ها اسیدهای چرب زنجیره کوتاه هستند که از طریق اپی‌تلیوم روده جذب شده، برای میزبان منبع انرژی فراهم کرده و سبب بهبود جذب مواد غذایی می‌شوند^[29]. پروبیوتیک‌ها و پری‌بیوتیک‌ها عموماً با تغییر در میکروفلور طبیعی روده بر فرآیند گوارش و جذب مواد غذایی مختلف موثر بوده و این تغییرات به طور غیرمستقیم بر فاکتورهای خونی موجود تاثیر می‌گذارند^[30]. در مطالعه حاضر تعداد گلبول‌های قرمز بین گروه شاهد و تیمارها اختلاف معنی‌داری داشت، به طوری که تعداد گلبول‌های قرمز طی مدت آزمایش یک روند افزایشی را نشان داد. نتایج مطالعات مختلف بیانگر این است که تعداد گلبول‌های قرمز می‌تواند تاثیرات معنی‌داری بر توازن کل انرژی بدن داشته باشد ($p < 0.05$). بنابراین هنگامی که ماهی فعالیت بیشتری دارد، شمار زیادی از اریتروسیت‌ها مورد نیاز است و تعداد آنها

development of aquaculture. J Entomol Zool Stud. 2017;5(2):422-9.

6- Kolida S, Tuohy K, Gibson GR. Prebiotic effects of inulin and oligofructose. Br J Nutr. 2002;87(S2):S193-7.

7- Gibson GR. Fibre and effects on probiotics (the prebiotic concept). Clin Nutr Suppl. 2004;1(2):25-31.

8- Ziemer CJ, Gibson GR. An overview of probiotics, prebiotics and synbiotics in the functional food concept: Perspectives and future strategies. Int Dairy J. 1998;8(5-6):473-9.

9- Sako T, Matsumoto K, Tanaka R. Recent progress on research and applications of non-digestible galactooligosaccharides. Int Dairy J. 1999;9(1):69-80.

10- Crittenden RG. Probiotics. In: Gerald W, editor. Probiotics: A Critical Review. Wymondham: Horizon Scientific Press; 1999. pp: 141-56.

11- Gibson GR, Beatty ER, Wang XI, Cummings JH. Selective stimulation of bifidobacteria in the human colon by oligofructose and inulin. Gastroenterology. 1995;108(4):975-82.

12- Fooks LJ, Fuller R, Gibson GR. Prebiotics, probiotics and human gut microbiology. Int Dairy J. 1999;9(1):53-61.

13- Haji Baghloo AA. The effect of probiotic premolac and immuno-probiotic probiotics on growth, reproductive rate and sex ratio of *Xiphophorus helleri* (and *Xiphophorus maculatus*) [Dissertation]. Gorgan: Gorgan University; 2010. [Persian]

14- Li P, Gatlin III DM. Dietary brewers yeast and the prebiotic Grobiotic™ AE influence growth performance, immune responses and resistance of hybrid striped bass (*Morone chrysops* × *M. saxatilis*) to *Streptococcus iniae* infection. Aquaculture. 2004;231(1-4):445-56.

15- Akrami R. The effect of inulin as probiotics on growth, survival and bacterial flora of young honeybee gut (*Huso huso*) [Dissertation]. Tehran: Islamic Azad University, Science and Research Branch; 2007. [Persian]

16- National Research Council. Nutrient requirements of fish. 1st Edition. Washington, D.C.: National Academies Press; 1993.

17- Mishra SK, Hertrampf JW. Nucleotides: The performance promoter. Aquac Asia Pac. 2006;2(2):32-3.

18- Velíšek J, Svobodová Z, Piačková V. Effects of clove oil anaesthesia on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Acta Veterinaria Brno. 2005;74(1):139-46.

19- Houston AH. Blood and circulation. In: Schreck CB, Moyle PB, American Fisheries Society. Methods for fish biology. Schreck CB, Moyle PB, editors. Bethesda: American Fisheries Society; 1990. pp: 273-335.

20- AOAC. Official methods of analysis. 15th Edition. 1st Volume. Rockville: AOAC; 1990.

fects of dietary supplementation with mannanoligosaccharide, fructooligosaccharide or galactooligosaccharide on the growth and feed utilization of Atlantic salmon (*Salmo salar*). Aquaculture. 2008;283(1-4):163-7.

22- Rumsey GL, Winfree RA, Hughes SG. Nutritional value of dietary nucleic acids and purine bases to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture. 1992;108(1-2):97-110.

23- Rumsey GL, Kinsella JE, Shetty KJ, Hughes SG. Effect of high dietary concentrations of brewer's dried yeast on growth performance and liver uricase in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Anim Feed Sci Technol. 1991;33(3-4):177-83.

24- Oliva-Teles A, Gonçalves P. Partial replacement of fishmeal by brewers yeast (*Saccaromyces cerevisiae*) in

بهبود متابولیسم چربی‌ها از طریق کاهش کلسترول، تری‌گلیسریدها و فسفولیپیدها در سرم خون اشاره کرد^[41]. اسیدهای چرب زنجیره کوتاه همراه با استات که محرک تولید پروپونوات است، به عنوان بازدارنده سبب تنظیم سنتز کلسترول می‌شوند. میزان چربی خام لاشه در ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی پری‌بیوتیک کاهش پیدا کرد که با مطالعه ون/و و همکاران^[41] مطابقت دارد و می‌توان دلیل این کاهش چربی را در بهبود متابولیسم چربی‌ها از طریق کاهش کلسترول، تری‌گلیسرید و فسفولیپیدها در سرم خون ماهی دانست. علاوه بر این با توجه به مشاهدات ماکروسکوپی در هنگام بازکردن لاشه ماهیان به نظر می‌رسد که وجود پری‌بیوتیک در جیره غذایی سبب کاهش چربی محوطه شکمی می‌شود که می‌تواند در کاهش چربی خام لاشه نیز موثر باشد.

نتیجه گیری

استفاده از سطوح مختلف پری‌بیوتیک ایمنووال تاثیر مثبت بر عملکرد رشد، ضریب تبدیل غذایی، افزایش وزن، ضریب رشد ویژه، فاکتورهای خون‌شناسی و ترکیب لاشه ماهی قزل‌آلای رنگین کمان با وزن اولیه ۱۳ گرم داشته و سطح ۰/۱۵٪ نیز بهترین نتیجه را به همراه دارد.

تشکر و قدردانی: از مسئول محترم سالن آبی‌پروری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان و کلیه کسانی که در انجام این مطالعه همکاری کردند، صمیمانه تشکر و قدردانی می‌شود.

تأییدیه اخلاقی: موردی از سوی نویسندگان بیان نشده است.

تعارض منافع: موردی از سوی نویسندگان بیان نشده است.

سهم نویسندگان: (حسن صحرایی)، روش‌شناس/پژوهشگر اصلی/نگارنده بحث (۳۰٪)؛ (فاطمه آیت‌اللهی)، نگارنده مقدمه (۱۵٪)؛ (آنیثا گلیپورحسنعلیده)، تحلیلگر آماری (۱۵٪)؛ (احمدرضا پیرعلی‌زفره‌ئی)، پژوهشگر کمکی/نگارنده بحث (۲۰٪)؛ (فاضل ظهیری)، روش‌شناس (۱۰٪)؛ (علی اکبر هدایتی)، روش‌شناس/پژوهشگر کمکی (۱۰٪)

منابع مالی: این مطالعه با حمایت مالی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شده است.

منابع

- 1- Food and Agriculture Organization of the United Nations. The state of world fisheries and aquaculture. Rome : Food and Agriculture Organization of the United Nations; 2009. pp: 4445-25.
- 2- Afshar A. Application of probiotics in livestock and poultry. 2nd Edition. Tehran: Noorbakhsh; 2002. [Persian]
- 3- Irianto A, Austin B. Probiotics in aquaculture. J Fish Dis. 2002;25(11):633-42.
- 4- Gibson GR, Roberfroid MB. Dietary modulation of the human colonic microbiota: Introducing the concept of prebiotics. J Nutr. 1995;125(6):1401-12.
- 5- Das S, Mondal K, Haque S. A review on application of probiotic, prebiotic and synbiotic for sustainable

- 1991;9(1):39-50.
- 34- Delzenne NM, Roberfroid MR. Physiological effects of non-digestible oligosaccharides. *LWT Food Sci Technol*. 1994;27(1):1-6.
- 35- Sakai M. Current research status of fish immunostimulants. *Aquaculture*. 1999;172(1-2):63-92.
- 36- Flahatkar B, Soltani M, Abtahi B, Kalbasi MR, Pourkazemi MR, Yasemi M. Effect of vitamin C on some growth parameters, survival rate and hepatosomatic index in juvenile cultured beluga, *huso huso*. *Anim Sci J*. 2006;19(3):98-103. [Persian]
- 37- Genc MA, Yilmaz E, Genc E, Aktas M. Effects of dietary mannan oligosaccharides (MOS) on growth, body composition, and intestine and liver histology of the hybrid *Tilapia* (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*). *Isr J Aquac Bamidgeh*. 2007;59(1):10-6.
- 38- Yilmaz E, Genc MA, Genc E. Effects of dietary mannan oligosaccharides on growth, body composition, and intestine and liver histology of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Isr J Aquac Bamidgeh*. 2007;59(3):182-88.
- 39- Akrami R, Ghelichi A, Manuchehri H. Effect of dietary inulin as prebiotic on growth performance and survival of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *J Mar Sci Technol*. 2009;4(3):1-9. [Persian]
- 40- Genc MA, Aktas M, Genc E, Yilmaz E. Effects of dietary mannan oligosaccharide on growth, body composition and hepatopancreas histology of *Penaeus semisulcatus* (de Haan 1844). *Aquac Nutr*. 2007;13(2):156-61.
- 41- Van Loo J, Cummings J, Delzenne N, Englyst H, Franck A, Hopkins M, et al. Functional food properties of non-digestible oligosaccharides: A consensus report from the ENDO project (DGXII AIRII-CT94-1095). *Br J Nutr*. 1999;81(2):121-32.
- diets for sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. *Aquaculture*. 2001;202(3-4):269-78.
- 25- Voragen AGJ. Technological aspects of functional food-related carbohydrates. *Trends Food Sci Technol*. 1998;9(8-9):328-35.
- 26- Roberfroid M, Slavin J. Nondigestible oligosaccharides. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2000;40(6):461-80.
- 27- Birkbeck TH, Ringø E. Pathogenesis and the gastrointestinal tract of growing fish. In: Holzapfel WH, Naughton PJ, Pierzynowski SG, Zabielski R, Salek E, editors. *Microbial ecology in growing animal*. 2nd Volume. Amsterdam: Elsevier; 2005. pp: 208-34.
- 28- Waché Y, Auffray F, Gatosoupe FJ, Zambonino J, Gayet V, Labbé L, et al. Cross effects of the strain of dietary *Saccharomyces cerevisiae* and rearing conditions on the onset of intestinal microbiota and digestive enzymes in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, fry. *Aquaculture*. 2006;258(1-4):470-8.
- 29- Gibson GR, Probert HM, Loo JV, Rastall RA, Roberfroid MB. Dietary modulation of the human colonic microbiota: Updating the concept of prebiotics. *Nutr Res Rev*. 2004;17(2):259-75.
- 30- Fuller R. Probiotics in man and animals. *J Appl Bacteriol*. 1989;66(5):365-78.
- 31- Sattari M. *Ichthyology (1): Anatomy and physiology*. 3rd Edition. Tehran: HAGHSHENAS; 2010. [Persian]
- 32- Yousefi A. Determining the relationship between some blood and osmotic parameters in the process of sexual evolution of ostrich fish [Dissertation]. Lahijan: Islamic Azad University, Lahijan Branch; 2007. [Persian]
- 33- Pearson MP, Stevens ED. Size and hematological impact of the splenic erythrocyte reservoir in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Fish Physiol Biochem*.