

اثرات پریوتیک زایلواولیگوساکارید جیره بر روی عملکرد رشد و تغذیه، فاکتورهای خونی و پاسخ ایمنی غیراختصاصی بچه ماهی صبیتی (*Sparidentex hasta*)

چکیده

هدف از این مطالعه، بررسی اثرات سطوح مختلف زایلواولیگوساکارید جیره بر عملکرد رشد و تغذیه، فاکتورهای خونی و پاسخ ایمنی غیراختصاصی بچه ماهی صبیتی (*Sparidentex hasta*) بود. برای این منظور تعداد ۴۲۵ قطعه ماهی با میانگین وزنی $0.3 \pm 7/64$ گرم از پژوهشکده آبی‌پروری جنوب کشور تهیه شد. این مطالعه در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با ۳ تیمار و ۳ تکرار (۴۵ قطعه ماهی به ازاء هر تکرار) در داخل مخازن فایبرگلاس ۳۰۰ لیتری توزیع انجام شد. بچه ماهیان به مدت ۴۲ روز با جیره‌های حاوی ۰، ۰/۵ و ۱ درصد زایلواولیگوساکارید در حد ۴/۵ درصد وزن بدن تغذیه شدند. در پایان آزمایش نمونه‌های خون، پلاسما و موکوس برای ارزیابی پارامترهای ایمنی (ایمنوگلوبولین کل، فعالیت لیزوزیم پلاسما، فعالیت کمپلمان پلاسما، فعالیت باکتری‌کشی پلاسما و موکوس) و خون‌شناسی (هموگلوبین، هماتوکریت و تعداد گلبول‌های قرمز و سفید) جمع‌آوری شد. نتایج حاصل نشان داد که زایلواولیگوساکارید جیره عملکرد رشد و تغذیه ماهی صبیتی شامل وزن نهایی، طول نهایی، شاخص وضعیت، نرخ رشد ویژه، ضریب تبدیل غذایی و ضریب کارایی پروتئین را تغییر نداد ($P > 0.05$). نتایج این مطالعه نشان داد که سطوح مختلف پریوتیک تأثیری بر روی پاسخ ایمنی غیراختصاصی ماهیان و تعداد گلبول‌های سفید ندارد؛ اما میزان هموگلوبین، هماتوکریت و تعداد گلبول‌های قرمز در گروه شاهد با تیمار ۰/۵ و ۱ درصد زایلواولیگوساکارید اختلاف معنی‌دار نشان دادند ($P < 0.05$). به‌طور کلی، این مطالعه نشان داد که فاکتورهای خونی به‌وسیله پریوتیک جیره تحت تأثیر قرار گرفت. بالین‌حال، افزودن ۰/۵ و ۱ درصد زایلواولیگوساکارید به جیره اثرات معنی‌داری بر روی پاسخ ایمنی غیراختصاصی و عملکرد رشد ماهی صبیتی نداشت.

واژگان کلیدی: زایلواولیگوساکارید، سیستم ایمنی غیراختصاصی، رشد، فاکتورهای خونی، ماهی صبیتی (*Sparidentex hasta*).

وحید مرشدی^۱

ناصر آق^{۲*}

جاسم مرمضی^۳

فرزانه نوری^۴

تکاور محمدیان^۵

۱. دانشجوی دکتری تکثیر و پرورش آبزیان، پژوهشکده مطالعات دریاچه ارومیه، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

۲. دانشیار گروه تکثیر و پرورش آبزیان، پژوهشکده مطالعات دریاچه ارومیه، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

۳. دانشیار پژوهشی، پژوهشکده آبی‌پروری جنوب کشور، اهواز، ایران

۴. استادیار گروه تکثیر و پرورش آبزیان، پژوهشکده مطالعات دریاچه ارومیه، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

۵. استادیار گروه بهداشت آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران، اهواز، ایران

*مسئول مکاتبات:

agh1960@yahoo.com

کد مقاله: ۱۳۹۴۰۳۰۳۱۲

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۳/۲۴

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۰۶/۲۴

این مقاله برگرفته از رساله دکتری است.

مقدمه

امروزه با توجه به افزایش روزافزون جمعیت جهان، تقاضا برای آبزیان دریایی افزایش یافته و به نظر می‌رسد که در آینده سهم زیادی از این تقاضا از طریق آبی‌پروری تأمین شود. پرورش ماهیان دریایی یکی از شاخه‌های بسیار مهم و در حال گسترش صنعت آبی‌پروری در جهان است که در توسعه اقتصادی بسیاری از جوامع ساحلی در نواحی آسیا نقش مهمی داشته است (Yap, 2003). ایران کشوری با پتانسیل بالقوه بالای پرورش

ماهیان دریایی است که در صورت استفاده از فن آوری‌های موجود در منطقه در زمینه توسعه آبی‌پروری در مورد گونه‌هایی مانند هامور ماهیان، کوبیا (*Rachycentron canadum*)، صافی ماهیان (*Siganidae*)، شانک زرد باله (*Acanthopagrus latus*) و صیبتی (*Sparidentex hasta*) می‌توان این ظرفیت‌ها را بالفعل کرد و با جلب توجه بیشتر سرمایه‌گذاران توسعه این صنعت را ممکن ساخت (Regunthan and Kitto, 2005). خانواده شانک ماهیان در سطح جهانی به خصوص کشورهای آسیای جنوب شرقی تکثیر و پرورش داده می‌شوند. ماهی صیبتی یکی از گونه‌های بومی شانک ماهیان می‌باشد که دارای استعداد بالای پرورشی بوده و از گونه‌هایی است که در برنامه توسعه صنعت تکثیر و پرورش ماهیان دریایی شیلات ایران قرار گرفته است. بچه ماهیان صیبتی (ماهیان انگشت قد) بسیار بیش فعال بوده، رشد خیلی سریعی دارند. این ماهیان به شرایط کمبود اکسیژن و شوری کم کاملاً مقاوم هستند (Teng et al., 1999). در سال ۲۰۱۱ میزان تولید ماهی صیبتی از فعالیت‌های آبی‌پروری موجود در منطقه خلیج فارس ۵۵۰ متریک تن برآورد شده است (FAO, 2014).

صنعت آبی‌پروری علی‌رغم این رشد قابل توجه، همواره با مشکلاتی روبرو بوده است که از آن جمله می‌توان به تراکم، کیفیت آب و شیوع بیماری اشاره کرد. به نحوی که شیوع بیماری‌ها به عنوان مشکل اساسی آبی‌پروری، گسترش اقتصادی این صنعت را در بسیاری از کشورهای جهان تحت تأثیر قرار داده است؛ از جمله در زمینه کنترل بیماری‌ها، استفاده از داروهای ضد میکروبی (آنتی‌بیوتیک‌ها) مطرح گردید که پس از سال‌ها این داروها خود مشکلاتی عدیده‌ایی از جمله مقاوم شدن پاتوژن‌ها، مسائل زیست‌محیطی و هزینه‌های بالا را ایجاد نموده‌اند، به طوری که امروزه در اغلب کشورها، استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها ممنوع و یا با محدودیت‌های شدیدی مواجه گردیده است ترکیبات مختلفی مانند ویتامین‌ها، محرک‌های ایمنی و پریبیوتیک‌ها استفاده می‌شود که در سال‌های اخیر استفاده از پریبیوتیک‌ها در جیره آبزیان رواج زیادی پیدا کرده است (فاطمی و میرزرگر، ۱۳۸۶؛ شریف روحانی، ۱۳۷۴).

پریبیوتیک ماده غذایی غیرقابل هضمی است که از طریق تحریک رشد و فعالیت یک یا تعداد محدودی از باکتری‌های موجود در روده اثرات سودمندی برای میزبان داشته و می‌تواند سلامتی میزبان را بهبود بخشد (Gibson and Roberfroid, 1995). بر این اساس هر ماده غذایی که به روده می‌رسد مثل کربوهیدرات‌های غیرقابل هضم، بعضی از پپتیدها و پروتئین‌ها و نیز برخی از چربی‌ها می‌توانند گزینه مناسبی برای عملکرد پریبیوتیک باشند (Fooks et al., 1999). به نظر می‌رسد که اغلب پریبیوتیک‌های معرفی شده به جیره غذایی توانایی ماندگاری، تشکیل پرگنه و جایگزینی در دستگاه گوارش میزبان و یا توانایی رقابت بر سر به دست آوردن مواد غذایی را نداشته باشند و به تبع آن سلامتی میزبان به خطر می‌افتد (Merrifield et al., 2010). مطالعات نشان می‌دهند که استفاده از پریبیوتیک در جیره غذایی ماهی مشکلات مذکور را ندارد و باعث کاهش ترکیبات آنتی‌باکتریال به کاررفته در آبی‌پروری، بهبود اشتها و نرخ رشد می‌شود. مهم‌ترین ویژگی پریبیوتیک‌ها کنترل و کاهش بیماری و بهبود ضریب تبدیل غذایی است (Irianto and Austin, 2002; Merrifield et al., 2010). خون به عنوان 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. لذا در اختیار داشتن مقادیر طبیعی پارامترهای خونی و بررسی چگونگی تغییرات آن می‌تواند در شناسایی بیماری‌ها، تعیین شرایط بهداشتی و سلامت آبزیان مفید باشد (Affonso et al., 2002). سنجش پارامترهای خونی برای تعیین احتیاجات غذایی، اجزای غذایی جدید و سایر افزودنی‌ها می‌توانند مفید واقع شوند (Affonso et al., 2002). با وجود مشخص شدن اثرات مفید پریبیوتیک‌ها، مطالعات در زمینه اثر زایلواولیگوساکارید هنوز در آغاز راه قرار داشته و تنها در مطالعه Xu و همکاران (۲۰۰۹) که سطوح مختلف زایلواولیگوساکارید افزایش عملکرد رشد و آنزیم‌های گوارشی ماهی حوض را به همراه داشت، اثر این پریبیوتیک بررسی شده است. با توجه به اینکه تحقیقات محدودی بر روی این پریبیوتیک صورت گرفته است. لذا، این تحقیق تأثیر سطوح مختلف پریبیوتیک بر شاخص‌های رشد، تغذیه، فاکتورهای خونی و پاسخ ایمنی غیراختصاصی بچه ماهیان صیبتی را مورد بررسی قرار می‌دهد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق با همکاری پژوهشکده آبی‌پروری جنوب کشور و در بخش تکثیر و پرورش ماهیان دریایی بندر امام خمینی انجام شد. بچه ماهیان از تکثیر بهار مولدین پرورشی مرکز مذکور تأمین و در مخازن فایبرگلاس ۴۰۰۰ لیتری در بخش تکثیر و پرورش این مرکز در دمای ۲۸ تا ۳۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. جهت انجام این آزمایش ۳ تیمار مختلف غذایی با ۳ تکرار در نظر گرفته شد. برای هر تکرار ۴۵ قطعه بچه ماهی صیبتی با میانگین وزنی $0.3 \pm 7/64$ گرم انتخاب و به‌صورت کاملاً تصادفی در بین مخازن فایبرگلاسی با ظرفیت ۳۰۰ لیتر (آبگیری تا ۲۵۰ لیتر) محتوی آب دریای فیلتر و تیمار شده با اشعه فرابنفش توزیع شدند. سپس ماهیان به مدت ۶ هفته با تیمارهای غذایی به شرح زیر تغذیه شدند (Xu et al., 2009).

۱. غذای کنسانتره فاقد پریبیوتیک (گروه شاهد)

۲. غذای کنسانتره حاوی ۰/۵ درصد زایلواولیگوساکارید (تیمار ۱)

۳. غذای کنسانتره حاوی ۱ درصد زایلواولیگوساکارید (تیمار ۲)

از جیره غذایی تجاری (شرکت ۲۱ بیضاء، شیراز) با اندازه ۲ میلی‌متر استفاده شد (جدول ۱). پریبیوتیک موردنیاز از شرکت Longlive Bio-Technology کشور چین خریداری شد و پس از توزین مقدار موردنیاز پریبیوتیک برای هر تیمار روی غذا اسپری شد (Najdegerami et al., 2011). سپس غلظت ۳ درصد ژلاتین نیز برای پوشش‌دار کردن غذا و جلوگیری از هدر رفت افزودنی‌ها بر روی آن اسپری شد. پس از آماده‌سازی، غذا درون یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد تا از فساد آن جلوگیری گردد. غذاهای ماهیان روزانه در دو نوبت بافاصله زمانی مناسب در حد ۴/۵ درصد وزن بدن انجام شد. شرایط محیطی شامل دما، نور، اکسیژن محلول، شوری و pH در تمام طول آزمایش برای تمام مخازن یکسان بود.

جدول ۱: ترکیب شیمیایی جیره مصرفی در طول آزمایش (میانگین \pm خطای استاندارد).

درصد در ماده خشک				
ترکیب	رطوبت	پروتئین	چربی	خاکستر
میزان	۱۰۰±۰/۱۷	۴۷/۸±۰/۴۱	۱۳/۹۲±۰/۲۲	۹/۳۳±۰/۱۲

زیست‌سنجی طول و وزن ماهیان در روزهای شروع آزمایش، وسط و پایان آزمایش صورت گرفت. در طول آزمایش شاخص‌های رشد و تغذیه با استفاده از فرمول‌های زیر تعیین شد (Marcouli et al., 2006; Abdelghany and Ahmad, 2002):

تعداد روزهای پرورش / $100 \times (\ln \text{ وزن اولیه بدن} - \ln \text{ وزن نهایی بدن}) =$ نرخ رشد ویژه وزن نهایی بدن

$3 \times (\text{میانگین طول نهایی بدن}) / 100 \times \text{میانگین وزن نهایی بدن} =$ شاخص وضعیت

پروتئین مصرف‌شده / افزایش وزن = بازده پروتئین

افزایش وزن / غذای مصرف‌شده = ضریب تبدیل غذایی

به‌منظور سنجش و بررسی پاسخ ایمنی در پایان آزمایش نمونه‌برداری به عمل آمد. برای نمونه‌برداری، ماهیان سریعاً در داخل محلول ۲ فنوکسی اتانول با غلظت ۰/۵ میلی‌لیتر به ازای هر لیتر آب قرار می‌گیرند و پس از بی‌هوشی اقدام به زیست‌سنجی ماهیان شد و سپس از ماهیان خون‌گیری شد. ابتدا جهت تهیه پلاسما نمونه‌های خون ماهیان در دور $1600 \times g$ و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ می‌شوند تا نمونه‌های پلاسما جمع‌آوری

شوند (Webb et al., 2007). موکوس ماهیان جهت اندازه‌گیری فعالیت ضد باکتریایی جمع‌آوری شد. برای این کار ابتدا سه ماهی از هر تکرار برداشته شد و به مدت یک دقیقه در فسفات بافر نمکی ۱۰ میلی مول (PBS, pH 7.5, containing 115 mM NaCl) قرار داده شد و سپس موکوس از سطح پوست ماهیان به وسیله یک تکه پنبه استریل جمع‌آوری شد. موکوس‌های جمع‌آوری شده به میزان ۴ برابر با PBS رقیق شد و پس از به هم خوردن به مدت ۳۰ دقیقه با سرعت $15000 \times g$ در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند (Aranishi and Nakane, 1997). نمونه‌های پلازما و موکوس داخل فریزر با دمای -80 درجه سانتی‌گراد برای انجام آزمایشات مربوطه نگهداری شدند. فعالیت لیزوزیم سرم بر اساس روش Austin و Kim (۲۰۰۶) و بر مبنای لیز باکتری گرم مثبت حساس به آنزیم لیزوزیم یعنی میکروکوکوس لیزودیکتکوس اندازه‌گیری می‌شود. جهت اندازه‌گیری فعالیت کمپلمان از آزمایش همولیز در ژل آگاروز استفاده شد (Brata, 1993). برای این کار ابتدا آگاروز ۱/۵ درصد در بافر فسفات (حاوی ۰/۵ میلی‌مول کلرید منیزیم و ۱/۵ میلی‌مول کلرید کلسیم با pH=۷/۲) تهیه شد. مقدار 1×10^8 گلبول قرمز خرگوش شسته شده با بافر فسفات در دمای ۵۰-۵۵ درجه سانتی‌گراد به آگارز اضافه شد. مخلوط آگارز حاوی گلبول‌های قرمز خرگوش داخل پلیت‌ها توزیع گردید. پلیت‌ها به مدت یک‌شب در یخچال ۴ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و سپس حفرات به قطر ۳ میلی‌متر و با فاصله ۲ سانتی‌متر از هم در آگارز ایجاد شد و در هر حفره میزان ۲۰ میکرو لیتر از سرم نمونه ریخته شد. پلیت‌ها در محیط مرطوب و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت انکوبه شده و پس از آن قطر هاله لیز گلبولی با خط‌کش مخصوص اندازه‌گیری شد. ایمنوگلوبولین کل با روش Siwicki و همکاران (۱۹۹۴) اندازه‌گیری شد. در این روش گلوبولین‌ها با استفاده از محلول ۱۲ درصد پلی‌اتیلن گلیکول رسوب داده شد و بر اساس تفاوت محتوای پروتئین در طول موج ۵۹۰ نانومتر در قبل و بعد از ترسیب، میزان ایمنوگلوبولین کل محاسبه گردید. پروتئین کل بر اساس روش بیوره و با استفاده از کیت شرکت زیست‌شیمی اندازه‌گیری شد. برای تعیین میزان ایمنی غیراختصاصی در ماهیان، فعالیت ضد باکتریایی پلازما و موکوس بر علیه باکتری *Aeromonas hydrophila* به‌عنوان یک باکتری بیماری‌زای رایج در آبی‌پروری بر اساس روش Rao و همکاران (۲۰۰۶) اندازه‌گیری شد.

نمونه‌های خونی از سیاهرگ دمی واقع در انتهای باله مخرجی و با استفاده از سرنگ ۲ سی‌سی گرفته شد و به‌منظور مطالعات خون‌شناسی به تیوب‌های آغشته به هپارین به آزمایشگاه بخش هماتولوژی دانشگاه خلیج فارس بوشهر منتقل گردید و بلافاصله فاکتورهای خونی شامل مقادیر گلبول‌های قرمز و سفید به‌وسیله لام هموسیتومتر نئوبار، هموگلوبین با روش Blaxhall و Daisley (۱۹۸۳) و به‌وسیله کیت مخصوص شرکت پارس آزمون و با طول موج ۵۴۰ نانومتر در دستگاه اسپکتوفتومتر (مدل RA-1000، شرکت Technicon، ساخت آمریکا) و درصد هماتوکریت با سانتریفیوژ میکروهیاتوکریت اندازه‌گیری شد.

تجزیه و تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS (نسخه ۱۵) تحت سیستم‌عامل Windows انجام گرفت. از آزمون Kolmogrov-Smirnov به‌منظور بررسی نرمال بودن داده‌ها و از آزمون لیون برای تعیین برابری واریانس‌ها استفاده شد. تفاوت‌های احتمالی بین تیمارها با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و پس‌آزمون Tukey بررسی شد. در همه آزمون‌های آماری سطح معنی‌داری ۰/۰۵ ($P > 0.05$) بیشترین میزان گرفته شد.

نتایج

نتایج مربوط به اندازه‌گیری پارامترهای فیزیوشیمیایی آب در جدول ۲ آمده است. همان‌طور که در جدول ۲ مشاهده می‌شود تمام پارامترها شامل pH، دما، اکسیژن و شوری آب در محدوده نرمال قرار داشتند. نتایج مربوط به بررسی شاخص‌های رشد در ابتدا، وسط و پایان آزمایش در جدول ۳ ارائه شده است. وزن نهایی، طول نهایی و شاخص وضعیت هیچ اختلاف معنی‌داری در پایان آزمایش نشان ندادند ($P > 0.05$). بیشترین میزان

وزن نهایی و شاخص وضعیت در تیمار ۱ درصد پریبوتیک گزارش شد. نتایج مربوط به شاخص‌های تغذیه‌ای در ابتدا، وسط و پایان آزمایش در جدول ۴ ارائه شده است. ضریب نرخ رشد ویژه، ضریب تبدیل غذایی و ضریب کارایی پروتئین هیچ اختلاف معنی‌داری در پایان آزمایش بین تیمارها نشان ندادند ($P > 0.05$).

جدول ۲: فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب محیط پرورش (میانگین \pm خطای استاندارد)

دما	اکسیژن محلول (قسمت در میلیون)	pH	شوری (قسمت در هزار)	تعویض روزانه آب (درصد)
۲۷/۱۱ \pm ۰/۹	۶/۳ \pm ۰/۵۵	۷/۵ \pm ۰/۱۵	۴۸ \pm ۰/۵	۱۰-۳۰

جدول ۳: وزن، طول استاندارد و شاخص وضعیت بچه ماهیان صبیتی (*Sparidentex hasta*) در شروع، وسط و پایان آزمایش بر اساس تیمارهای مختلف (میانگین \pm خطای استاندارد).

شاهد	تیمار ۱	تیمار ۲	
روز ۰	۷/۶۴ \pm ۰/۰۶ ^a	۷/۶۸ \pm ۰/۰۷ ^a	وزن (گرم)
روز ۲۱	۱۲/۰۸ \pm ۰/۲۵ ^a	۱۲/۶۴ \pm ۰/۰۲ ^a	
روز ۴۲	۱۶/۰۶ \pm ۰/۲۶ ^a	۱۶/۶۵ \pm ۰/۳۰ ^a	
روز ۰	۷/۲۶ \pm ۰/۰۱ ^a	۷/۲۱ \pm ۰/۰۱ ^a	طول (سانتی‌متر)
روز ۲۱	۷/۵۹ \pm ۰/۰۸ ^a	۷/۷۶ \pm ۰/۱۳ ^a	
روز ۴۲	۸/۷۷ \pm ۰/۲۲ ^a	۸/۵۸ \pm ۰/۰۸ ^a	
روز ۰	۱/۹۹ \pm ۰/۰۱ ^a	۲/۰۴ \pm ۰/۰۲ ^a	شاخص وضعیت
روز ۲۱	۲/۷۴ \pm ۰/۰۱ ^a	۲/۷۰ \pm ۰/۱۳ ^a	
روز ۴۲	۲/۳۹ \pm ۰/۰۲ ^a	۲/۶۳ \pm ۰/۰۴ ^a	

*نیود حروف متفاوت در هر ردیف نشانه عدم وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشد.

جدول ۴: ضریب تبدیل غذایی، ضریب کارایی پروتئین و نرخ رشد ویژه بچه ماهیان صبیتی (*Sparidentex hasta*) در طول آزمایش بر اساس تیمارهای مختلف (میانگین \pm خطای استاندارد).

شاهد	تیمار ۱	تیمار ۲	
دوره ۱	۳/۷۹ \pm ۰/۲۶ ^a	۳/۵۵ \pm ۰/۰۱ ^a	ضریب تبدیل غذایی
دوره ۲	۴/۶۱ \pm ۰/۰۸ ^{ab}	۴/۵۷ \pm ۰/۲۷ ^{ab}	
کل	۴/۲۰ \pm ۰/۱۳ ^{ab}	۳/۹۸ \pm ۰/۱۱ ^{ab}	
دوره ۱	۰/۵۵ \pm ۰/۰۵ ^a	۰/۵۶ \pm ۰/۰۱ ^a	ضریب کارایی پروتئین
دوره ۲	۰/۴۵ \pm ۰/۰۱ ^{ab}	۰/۴۰ \pm ۰/۰۱ ^{ab}	
کل	۰/۵۱ \pm ۰/۰۳ ^{ab}	۰/۴۶ \pm ۰/۰۲ ^{ab}	
دوره ۱	۲/۲۷ \pm ۰/۰۳ ^a	۲/۲۸ \pm ۰/۱۴ ^a	نرخ رشد ویژه (درصد در روز)
دوره ۲	۱/۴۴ \pm ۰/۱۱ ^a	۱/۳۷ \pm ۰/۰۹ ^a	
کل	۱/۸۶ \pm ۰/۰۴ ^a	۱/۹۳ \pm ۰/۰۴ ^a	

*حروف متفاوت در هر ردیف نشانه وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشد

نتایج مربوط به پارامترهای ایمنی غیراختصاصی تیمارهای مختلف در جدول ۵ آمده است. ایمنوگلوبولین کل، فعالیت لیزوزیم، فعالیت کمپلمان پلاسما و فعالیت باکتری کشی پلاسما و موکوس اختلاف معنی داری را بین گروه شاهد و تیمارهای ۰/۵ و ۱ درصد پریبیوتیک نشان ندادند ($P > 0.05$).

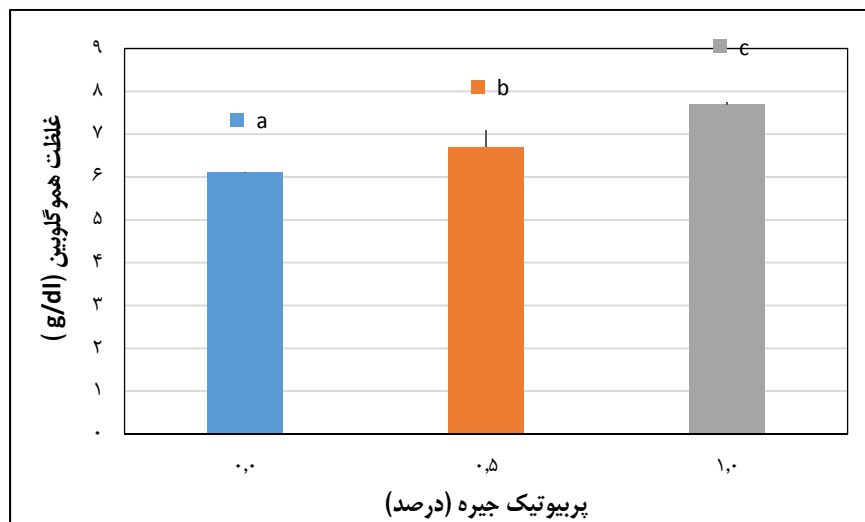
اثرات سطوح مختلف پریبیوتیک بر روی فاکتورهای خونی شامل هموگلوبین، هماتوکریت و تعداد گلبول‌های قرمز و سفید در اشکال ۱ تا ۴ آورده شده است. غلظت هموگلوبین، درصد هماتوکریت و تعداد گلبول‌های قرمز در پایان آزمایش اختلاف معنی داری را بین گروه شاهد و تیمار ۰/۵ و ۱ درصد پریبیوتیک نشان داد ($P < 0.05$). علاوه بر این، بین تیمارهای ۰/۵ و ۱ درصد پریبیوتیک از نظر میزان پارامترهای مذکور اختلاف معنی داری مشاهده شد ($P < 0.05$). همچنین یک روند افزایشی از نظر میزان این پارامترها در طول آزمایش بین تیمارهای آزمایشی وجود داشت، طوری که بیشترین میزان این سه پارامتر در تیمار ۱ درصد پریبیوتیک و کمترین میزان آن در گروه شاهد مشاهده شد. با این حال، تعداد گلبول‌های سفید بین تیمارهای مختلف پریبیوتیک و گروه شاهد تفاوت معنی داری نشان نداد ($P > 0.05$).

جدول ۵: پاسخ ایمنی غیراختصاصی پلاسما و موکوس بچه ماهیان صیبتی (*Sparidentex hasta*) در پایان آزمایش بر

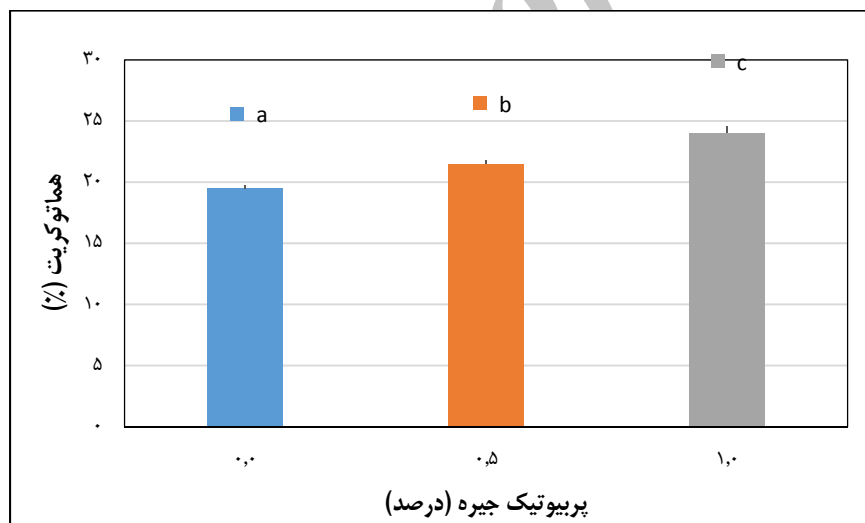
اساس تیمارهای مختلف (میانگین \pm خطای استاندارد).

تیمار ۲	تیمار ۱	شاهد	
۵/۱۰ \pm ۰/۵۴ ^a	۵/۱۳ \pm ۰/۶۸ ^a	۵/۳۹ \pm ۰/۴۹ ^a	ایمنوگلوبولین کل (گرم در دسی لیتر)
۱۲ \pm ۸/۳۸ ^a	۲۶/۳۳ \pm ۳/۱۸ ^a	۲۶/۶۷ \pm ۱/۸۵ ^a	فعالیت لیزوزیم پلاسما (میکروگرم در میلی لیتر)
۴۵/۵۱ \pm ۷/۹۶ ^a	۴۵/۴۸ \pm ۳/۵۱ ^a	۴۰/۲۶ \pm ۳/۳۹ ^a	فعالیت کمپلمان پلاسما (شعاع هاله عدم رشد (میلی متر مربع))
۱۵۱/۲۹ \pm ۱۳/۶۱ ^a	۱۳۵/۸۳ \pm ۱۸/۷۵ ^a	۱۷۴/۲۵ \pm ۹/۳۳ ^a	فعالیت باکتری کشی پلاسما (تعداد کلونی‌های باکتری)
۳۷ \pm ۶/۲۰ ^a	۱۶/۲۵ \pm ۳/۴۴ ^a	۲۵/۳۳ \pm ۶/۶۶ ^a	فعالیت باکتری کشی موکوس (تعداد کلونی‌های باکتری)

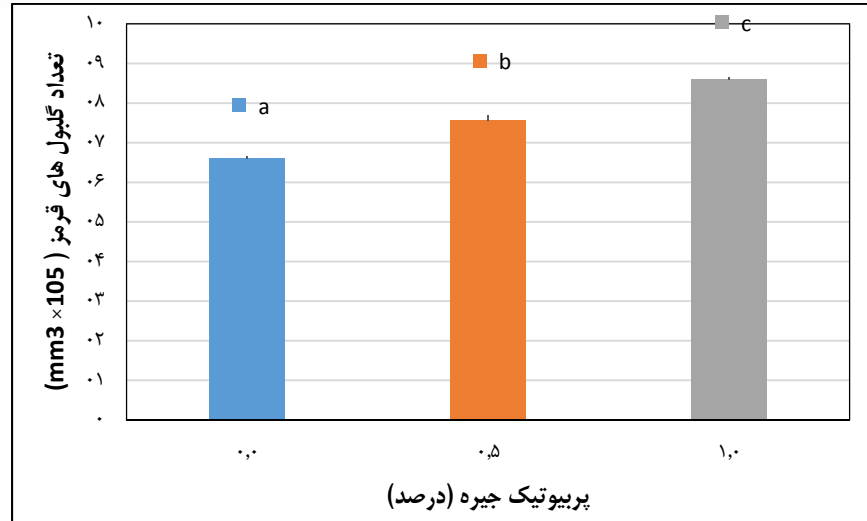
*نمود حروف متفاوت در هر ردیف نشانه عدم وجود اختلاف معنی دار می باشد



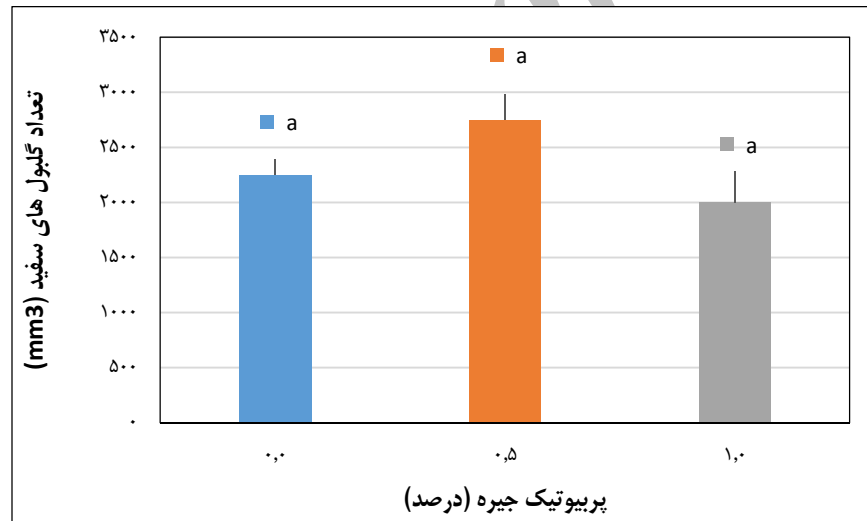
شکل ۱: غلظت هموگلوبین بچه ماهیان صبیتهی (*Sparidentex hasta*) بعد از ۴۲ روز تغذیه با سطوح مختلف پریبیوتیک (میانگین \pm خطای استاندارد).



شکل ۲: درصد هماتوکریت بچه ماهیان صبیتهی (*Sparidentex hasta*) بعد از ۴۲ روز تغذیه با سطوح مختلف پریبیوتیک (میانگین \pm خطای استاندارد).



شکل ۳: تعداد گلبول های قرمز بچه ماهیان صیبتی (*Sparidentex hasta*) بعد از ۴۲ روز تغذیه با سطوح مختلف پریبیوتیک (میانگین ± خطای استاندارد).



شکل ۴: تعداد گلبول های سفید بچه ماهیان صیبتی (*Sparidentex hasta*) بعد از ۴۲ روز تغذیه با سطوح مختلف پریبیوتیک (میانگین ± خطای استاندارد).

بحث و نتیجه گیری

غذا یکی از پرهزینه ترین بخش های آبی پروری است و بهینه سازی آن می تواند نقش بسیار مهمی را در کاهش هزینه های تولید به همراه داشته باشد. در همین راستا گزارش های مختلفی در خصوص استفاده از پریبیوتیک ها در جیره غذایی آبزیان پرورشی ارائه شده است. نتایج به دست آمده از این مطالعه نشان داد که پس از ۴۲ روز تغذیه با پریبیوتیک در دو سطح، اختلاف معنی داری در شاخص های رشد و تغذیه ماهیان در مقایسه با گروه شاهد بوجود نیامد. بدین معنی که استفاده از پریبیوتیک زایلواولیگوساکارید اثرات منفی در وزن نهایی، طول نهایی، شاخص وضعیت، نرخ رشد ویژه،

ضریب تبدیل غذایی و ضریب کارایی پروتئین بچه ماهیان صیبتی نداشت. عدم وجود اختلاف معنی‌دار را می‌توان به کم بودن سطوح انتخابی پریبوتیک جیره، کوتاه بودن طول دوره آزمایش و متعاقب آن عدم توانایی ممانعت از تشکیل کلونی‌های باکتری‌های بیماری‌زا توسط پرزهای گوارشی روده نسبت داد. در همین راستا Geraylou و همکاران در سال ۲۰۱۲ با تحقیق بر روی تاس‌ماهی سیبری (*Acipenser baerii*) به مدت ۱۲ هفته با سطوح متفاوتی از پریبوتیک آرایینوزا بلواولیگوساکارید (AXOS) گزارش کردند که میزان وزن نهایی، ضریب تبدیل غذایی، ضریب رشد ویژه ماهیان تغذیه‌شده با این پریبوتیک به نسبت تیمار شاهد معنی‌دار نبود. Hosseinifar و همکاران در سال ۲۰۱۱ به بررسی تأثیر پریبوتیک اولیگوفروکتوز بر عملکرد رشد و تغذیه فیل‌ماهی (*Huso huso*) پرداخته و اختلاف معنی‌داری را بین تیمارها مشاهده نکردند. همچنین استفاده از سطوح متفاوت پریبوتیک مانان الیگوساکارید به مدت ۴۵ روز در بچه ماهیان کپور پرورشی (*Cyprinus carpio*) سبب افزایش رشد و کارایی تغذیه در بین تیمارها به صورت معنی‌دار نشد (اکرمی و همکاران، ۱۳۹۱). از سوی دیگر، تأثیر استفاده از سطوح متفاوت پریبوتیک اینولین به مدت ۴۵ روز به جیره ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) نشان داد که وزن نهایی، نرخ رشد ویژه، فاکتور وضعیت، نسبت کارایی پروتئین، تولید خالص ماهی در مقایسه با تیمار شاهد معنی‌دار بود (خسروی و همکاران، ۱۳۸۹). تغذیه بچه ماهیان کلمه (*Rutilus rutilus*) با سطوح متفاوتی از پریبوتیک الیگوفروکتوز به مدت ۷ هفته سبب افزایش معنی‌دار شاخص‌های رشد در مقایسه با تیمار شاهد شد (سلیمانی‌فر و همکاران، ۱۳۹۱). Xu و همکاران در سال ۲۰۰۹ تأثیر زایلواولیگوساکارید را در مدت ۴۵ روز بر عملکرد رشد ماهی حوض مورد بررسی قرار داده و تأثیر معنی‌داری را مشاهده نکردند. Mahiuos و همکاران در سال ۲۰۰۵ و ۲۰۰۷ نشان دادند که استفاده از پریبوتیک‌های اینولین، الیگوفروکتوز و لاکتوسوکرز در سطح ۲ درصد در لارو ماهی کفشک (*Psetta maxima*) باعث افزایش میانگین وزن نهایی و ضریب رشد ویژه در تیمار تغذیه‌شده با الیگوفروکتوز نسبت به سایر تیمارها بود. تناقض در نتایج به دست آمده با مطالعات دیگر ممکن است به علت اختلاف نوع و میزان پریبوتیک مصرفی، درجه خلوص پریبوتیک، نوع جیره غذایی، طول دوره پرورش، شرایط محیطی، گونه ماهی و سن آن باشد (Geraylou et al., 2012; Soleimani et al., 2012).

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که پریبوتیک جیره تأثیر معنی‌داری بر میزان فعالیت لایزوزیم پلازما ندارد. مشابه با نتایج تحقیق حاضر -Grisdale و Helland و همکاران در سال ۲۰۰۸ و Geraylou و همکاران در سال ۲۰۱۲ با تحقیق بر روی ماهی آزاد اقیانوس اطلس (*Salmo salar*) و تاس‌ماهی سیبری گزارش دادند که پریبوتیک جیره تأثیر معنی‌داری بر روی میزان فعالیت لایزوزیم سرم ندارد. Akrami و همکاران در سال ۲۰۱۳ گزارش دادند که فعالیت لایزوزیم در سرم ماهی ازون برون (*Acipenser stellatus*) در تیمار ۱ درصد فروکتواولیگوساکارید نسبت به گروه شاهد افزایش داشت اما در تیمار ۲ درصد اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد. در مقابل، میزان فعالیت لایزوزیم سرم در کفشک ماهی زاپنی (*Paralichthys olivaceus*) و در ماهی کلمه پس از تغذیه با سطوح متفاوت پریبوتیک اختلاف معنی‌دار نشان داد (Ye et al., 2011; Soleimani et al., 2012). لیزوزیم سرم خون ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه‌شده با پریبوتیک اینولین به مدت ۶۰ روز به طور معنی‌داری در مقایسه با گروه شاهد بالاتر بود (شیخ‌الاسلامی امیری و همکاران، ۱۳۸۹). کمپلمان‌ها از مهم‌ترین فاکتورهای دفاعی هستند و نقش کلیدی در ایمنی ذاتی و اکتسابی ماهیان ایفا می‌کنند. بسیاری از محرک‌های ایمنی باعث افزایش فعالیت کمپلمان در سرم ماهیان می‌شوند (Magnadottir, 2006). Akrami و همکاران (۲۰۱۲)، Geraylou و همکاران (۲۰۱۲) و Soleimani و همکاران (۲۰۱۲) تأثیر سطوح مختلف سه پریبوتیک به ترتیب مانان اولیگوساکارید، آرایینوزا بلواولیگوساکارید و فروکتواولیگوساکارید را بر پاسخ ایمنی غیراختصاصی ماهی حوض (*Carassius auratus gibelio*)، تاس‌ماهی سیبری و ماهی کلمه بررسی کردند. نتایج آن‌ها نشان داد که فعالیت کمپلمان سرم (ACH50) با افزایش درصد این پریبوتیک‌ها نسبت به گروه شاهد افزایش داشت. از طرف دیگر، Cerezuela و همکاران در سال ۲۰۰۸ بیان کردند که پریبوتیک اینولین هیچ نوع تأثیر معنی‌داری روی پاسخ ایمنی غیراختصاصی ماهی سی‌باس سرطلائی (*Sparus aurata*) نداشت. در مطالعه حاضر میزان فعالیت کمپلمان در ماهیان در تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری نشان نداد، اما میزان آن در تیمارهای ۰/۵ و ۱ درصد بالاتر از

گروه شاهد بود. خاصیت تحریک ایمنی در پریبیوتیک‌ها می‌تواند به تحریک رشد باکترهای مفید روده مانند باکتری‌های اسیدلاکتیک و جنس باسیلوس نسبت داده شود، چراکه اجزاء دیواره سلولی این باکتری‌ها مانند لیپوپلی ساکاریدها فعالیت تحریک ایمنی را به واسطه تحریک تکثیر سلول‌های B، افزایش قدرت بیگانه‌خواری ماکروفاژها و افزایش مهاجرت ماکروفاژها دارا هستند؛ از این رو مقاومت میزبان در برابر عوامل بیماری‌زا را موجب می‌شود (Ringø et al., 2010; Zhang et al., 2012; علیشاهی، ۱۳۸۹).

در این مطالعه به دلیل ارزشمند بودن گونه امکان انجام آزمایش روبرویی باکتریایی برای ماهیان وجود نداشت، اما میزان فعالیت ضد باکتریایی موکوس و پلازما علیه باکتری *Aeromonas hydrophila* به‌عنوان یک شاخص مهم ایمنی مورد ارزیابی قرار گرفت. در مطالعه حاضر میزان فعالیت ضد باکتریایی پلازما و موکوس ماهیان به‌صورت معنی‌داری تغییر نکرد، با این حال فعالیت ضد باکتریایی موکوس ماهیان به شکل جالب‌توجهی در تیمار ۱ درصد زایلواولیگوساکارید نسبت سایر تیمارها افزایش یافت. متأسفانه مطالعه‌ای در مورد اثرات پریبیوتیک بر روی میزان فعالیت ضد باکتریایی موکوس و پلازما ماهیان در دست نیست و مطالعات بیشتری برای روشن شدن اثرات پریبیوتیک بر این فاکتورها نیاز است. ایمونوگلوبولین، آنتی‌بادی‌هایی را شامل می‌شود که در همه مهره‌داران در دفاع ایمنی علیه پاتوژن‌ها به‌کاربرده می‌شوند (Pilström and Bengtén, 1996). ماهیان استخوانی قادر به تولید آنتی‌بادی اختصاصی در برابر آنتی‌ژن‌های مختلف می‌باشند. شدت این پاسخ در بین گونه‌های مختلف ماهیان و شرایط مختلف محیطی متفاوت می‌باشند (Magnadottir, 1998). میزان ایمونوگلوبولین کل ماهیان در مطالعه حاضر با تغییر سطح پریبیوتیک جیره اختلاف معنی‌داری را نشان نداد. شیخ‌الاسلامی امیری و همکاران در سال ۱۳۸۹ ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان را با سطوح مختلف پریبیوتیک اینولین تغذیه نموده و گزارش کردند که اینولین در سطوح ۰/۵ و ۲ درصد باعث افزایش معنی‌دار میزان ایمونوگلوبولین کل سرم در مقایسه با تیمار شاهد در پایان هفته دوم شد، با این حال، در پایان هفته اول میزان ایمونوگلوبولین کل سرم در تیمارهای مختلف و شاهد اختلاف معنی‌داری نشان نداد. Akrami و همکاران (۲۰۱۲) و Soleimani و همکاران (۲۰۱۲) گزارش کردند که ایمونوگلوبولین کل سرم خون ماهی حوض و ماهی کلمه تغذیه‌شده با پریبیوتیک به‌طور معنی‌داری در مقایسه با گروه شاهد بالاتر بود. همه مطالعات مذکور با نتایج تحقیق حاضر هم‌خوانی ندارند. به نظر می‌رسد در مطالعه حاضر سطوح انتخابی پریبیوتیک جیره کمتر از آن بوده است که بتواند میزان ایمونوگلوبولین کل سرم را تحریک کرده و افزایش دهد.

طبق نتایج به‌دست‌آمده از این تحقیق در پارامترهای خون‌شناسی به‌استثنای تعداد گلبول‌های سفید در مقایسه با تیمار شاهد تفاوت‌های معنی‌داری مشاهده شد. مطالعات مختلفی توسط محققین در این خصوص صورت گرفته که نتایج متفاوتی را در برداشته است. Anderws و همکاران در سال ۲۰۰۹ تأثیر مانان‌اولیگوساکارید را بر شاخص‌های خونی کپور ماهی هندی بررسی کردند. نتایج مطالعه آن‌ها نشان داد که تعداد گلبول‌های قرمز و غلظت هموگلوبین در تیمارهای تغذیه‌شده با پریبیوتیک بالاتر از گروه شاهد بود. طاعتی و همکاران (۱۳۹۲) در تغذیه فیل‌ماهی جوان با سه سطح از پریبیوتیک ایمنواستر بیان کردند که تعداد گلبول‌های قرمز در سطح ۳ درصد نسبت به سایر تیمارها بالاتر بود. اکرمی و همکاران (۱۳۹۰) و حسینی فر و همکاران (۱۳۹۰) با بررسی تأثیر اینولین و اولیگوفروکتوز بر شاخص‌های خونی فیل‌ماهی گزارش دادند که میزان هماتوکریت، هموگلوبین بین ماهیان تغذیه‌شده با پریبیوتیک و گروه شاهد اختلاف معنی‌دار نشان دادند. این نتایج با یافته‌های مطالعه حاضر هم‌خوانی دارد. در مقابل، مطالعات رزاقی منصور و همکاران (۱۳۹۱)، Welker و همکاران (۲۰۰۷) و Sado و همکاران (۲۰۰۸) به ترتیب بر روی سطوح مختلف مانان‌اولیگوساکارید در فیل‌ماهی، گربه‌ماهی کانالی و تیلاپیا نیل نشان داد که جیره‌های غذایی شامل پریبیوتیک تأثیر معنی‌داری بر شاخص‌های خونی ماهیان ندارند. در تحقیق حاضر با افزایش سطح زایلواولیگوساکارید جیره افزایش معنی‌داری در مقادیر شاخص‌های خونی نسبت به گروه شاهد مشاهده شد که این موضوع تأییدکننده اثر مثبت افزایش سطح پریبیوتیک بر شاخص‌های خونی ماهی صیبتی است. هرچند مکانیسم دقیق اثر فوق‌الذکر نامشخص بوده و مطالعات تکمیلی بیشتری را می‌طلبد اما بر اساس یافته‌های محققین شاخص‌های خونی در ماهیان می‌تواند متأثر از فاکتورهایی مانند عوامل محیطی (دوره نوری، تراکم و درجه حرارت) و عوامل فیزیولوژیکی (گونه، سن، جنس و شرایط تغذیه‌ای) باشد (Brunt

(and Austin, 2005). هم‌چنین نوع و میزان پریبوتیک مصرفی، درجه خلوص پریبوتیک و زمان نمونه‌گیری نیز می‌تواند باعث اختلاف در نتایج به‌دست‌آمده شود (Geraylou et al., 2012; Soleimani et al., 2012). در مطالعه حاضر تعداد گلبول‌های سفید اختلاف معنی‌دار را بین هیچ‌یک از تیمارها نشان نداد. این نتیجه در راستای تأیید نتایج پاسخ ایمنی می‌باشد؛ چراکه سطوح مختلف زایلواولیگوساکارید جیره تأثیری بر روی شاخص‌های ایمنی نداشت و گلبول‌های سفید به‌عنوان یکی از پارامترهای مهم پاسخ ایمنی غیراختصاصی ماهیان به‌حساب می‌آید. این مسئله بیانگر این است که پریبوتیک زایلواولیگوساکارید یا سطوح انتخابی آن نمی‌توانند در ماهی صبیتی سیستم ایمنی را تحریک کند. به‌طور کلی مطالعه حاضر نشان داد که پریبوتیک جیره تأثیر معنی‌داری بر عملکرد رشد، تغذیه و پاسخ ایمنی غیراختصاصی بچه ماهی صبیتی در طول دوره مورد مطالعه ندارد؛ اما فاکتورهای خونی ماهیان به‌صورت معنی‌داری تحت تأثیر پریبوتیک جیره قرار گرفت. از این مطالعه می‌توان نتیجه گرفت که پریبوتیک زایلواولیگوساکارید نمی‌تواند در ماهی صبیتی مکمل مناسبی در تحریک رشد و سیستم ایمنی باشد.

سپاسگزاری

نویسندگان بر خود لازم می‌دانند از جناب آقای مهندس نجف آبادی رئیس ایستگاه تکثیر و پرورش ماهیان دریایی بندر امام خمینی و سایر پرسنل محترم این مجموعه به جهت همکاری در مراحل عملی و آزمایشگاهی نهایت تشکر و قدردانی را داشته باشند.

منابع

- اکرمی، ر.، قلیچی، ا.، کریمپور بهشت آباد، ا. و رزاقی منصور، م.، ۱۳۹۱. تأثیر سطوح مختلف پریبوتیک مانان الیگوساکارید بر شاخص‌های رشد، ترکیب لاشه و برخی پارامترهای هماتولوژی در بچه ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). مجله محیط‌زیست جانوری، سال چهارم، شماره ۲، صفحات ۶۷-۵۷.
- اکرمی، ر.، قلیچی، ا. و احمدی، ا.، ۱۳۹۰. تأثیر پریبوتیک اینولین جیره‌ی غذایی بر پارامترهای هماتولوژیک و بیوشیمیایی سرم خون فیل‌ماهی (*Huso huso*) جوان پرورشی. مجله تحقیقات دامپزشکی، دوره ۶۶ شماره ۲، صفحات ۱۳۶-۱۳۱.
- حسینی فر، ح.، میرواقفی، ع.، مجازی امیری، ب.، خوشباور رستمی، ح. و درویش بسطامی، ک.، ۱۳۹۰. بررسی تأثیر پریبوتیک الیگوفروکتوز بر پاره‌ای از شاخص‌های خونی، بیوشیمیایی و آنزیم‌های کبدی بچه فیل‌ماهی (*Huso huso*). مجله علمی شیلات ایران، سال بیستم، شماره ۲، صفحات ۳۶-۲۷.
- خسروی، م.، شمسایی مهرجان، م. و اکرمی، ر.، ۱۳۸۹. تأثیر سطوح متفاوت پریبوتیک اینولین جیره‌ی غذایی بر عملکرد رشد و ترکیب لاشه در بچه ماهی کلمه (*Rutilus rutilus caspicus*). مجله تحقیقات منابع طبیعی تجدیدشونده، سال اول، شماره دوم.
- رزاقی منصور، م.، اکرمی، ر.، قبادی، ش.، امانی دنجی، ک. و شعاعی، ر.، ۱۳۹۱. تأثیر سطوح مختلف پریبوتیک مانان الیگوساکارید بر برخی پارامترهای هماتولوژیک و بیوشیمیایی سرم خون فیل‌ماهی (*Huso huso*) جوان پرورشی. مجله دامپزشکی ایران، دوره هشتم، شماره ۲، صفحات ۲۱-۱۲.
- سلیمانی فر، ن.، حسینی فر، ح.، براتی، م. و حسن آبادی، ز.، ۱۳۹۱. بررسی اثرات پریبوتیک الیگوفروکتوز بر برخی شاخص‌های رشد، بازماندگی، کیفیت لاشه و مقاومت در برابر تنش شوری در بچه ماهی نورس کلمه (*Rutilus rutilus*). مجله شیلات، دوره ۲۱، شماره ۱، صفحات ۱۲۲-۱۱۳.
- شریف روحانی، م.، ۱۳۷۴. تشخیص، پیشگیری و درمان بیماری‌ها و مسمومیت‌های ماهی، معاونت تکثیر و پرورش آبزیان - اداره کل آموزش و ترویج، چاپ اول، ص ۷۶.
- شیخ الاسلامی امیری، م.، یوسفیان، م.، یآوری، و.، صفری، ر. و قیاسی، م.، ۱۳۸۹. بررسی تأثیر پریبوتیک اینولین بر فاکتورهای سیستم ایمنی و مقاومت ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در برابر باکتری استریپتوکوک. مجله زیست‌شناسی ایران، جلد ۲۴، شماره ۲، صفحات ۳۱۲-۳۰۳.
- طاعتی، ر.، تاتینا، م. و بهمنی، م.، ۱۳۹۲. تأثیر محرک‌های ایمنی ایموناستر و ایمونوال بر شاخص‌های خونی، بیوشیمیایی و ایمنی فیل‌ماهیان جوان پرورشی (*Huso huso*). مجله تحقیقات دامپزشکی، دوره ۶۸ شماره ۲، ۱۷۵-۱۸۲.
- علیشاهی، م.، ۱۳۸۹. مقدمه‌ای بر ایمنی‌شناسی آبزیان (ترجمه)، انتشارات دانشگاه شهید چمران، چاپ اول، ص ۵۱۴.

فاطمی، س. ا. و میرزرگر، س. س.، ۱۳۸۶. فارماکولوژی کاربردی ماهیان (ترجمه)، انتشارات دانشگاه تهران، چاپ اول، ص ۱۲۳.

- Abdelghany, A. E. and Ahmad, M. H., 2002.** Effects of feeding rates on growth and production of Nile tilapia, common carp and silver carp polycultured in fertilized ponds. *Aquaculture Research*, 33: 415–423.
- Affonso, E. G., Polez, V. L. P., Correa, C. F., Mazoa, A. F., Araujo, M. R. R. and Moraes, G., 2002.** Blood parameters and metabolites in teleost fish colossoma macropomum exposed to sulfide or hypoxia. *Comparative Biochemistry and Physiology C*, 33: 375-382.
- Akrami, R., Chitsaz, H., Hezarjaribi, A. and Ziaei, R., 2012.** Effect of dietary mannan oligosaccharide (MOS) on growth performance and immune response of gibel carp juveniles (*Carassius auratus gibelio*). *Journal of Veterinary Advances*, 2(10): 507-513.
- Akrami, R., Iri, Y., Khoshbavar Rostami, H. and Razeghi Mansour, M., 2013.** Effect of dietary supplementation of fructooligosaccharide (FOS) on growth performance, survival, *Lactobacillus* bacterial population and hemato-immunological parameters of stellate sturgeon (*Acipenser stellatus*) juvenile. *Fish and Shellfish Immunology*, 35: 1235-1239.
- Andrews, S. R., Sahu, N. P., Pal, A. K. and Kumar, S., 2009.** Hematological modulation and growth of *Labeo rohita* fingerlings: effect of dietary mannanoligosaccharide, yeast extract, protein hydrolysate and chlorella. *Aquaculture Research*, 41: 61-69.
- Aranishi, F. and Nakane, M., 1997.** Epidermal protease of the Japanese eel. *Fish Physiology and Biochemistry*, 16: 471-478.
- Barata, O., 1993.** Veterinary clinical immunology laboratory. Bar- Lab Inc, Vol2, Section 3: 24-25.
- Blaxhall, P. C. and Daisley, K. W., 1983.** Routine hematological methods for use with fish blood. *Journal of Fish Biology*, 5: 771-781.
- Brunt, J. and Austin, B., 2005.** Use of a probiotic to control lactococcosis and streptococcosis in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Journal of Fish Disease*, 28: 693-701.
- Cerezuela, R., Cuesta, A., Meseguer, J. and Ángeles Esteban, M., 2008.** Effects of inulin on gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) innate immune parameters. *Fish and Shellfish Immunology*, 24: 663-668.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), 2014.** Fisheries and Aquaculture Department. FAO Global Aquaculture Production (1995–2011).
- Fooks, L. J., Fuller, R. and Gibson G. R., 1999.** Prebiotics, probiotics and human gut microbiology. *International Dairy Journal*, 9: 53-61.
- Geraylou, Z., Souffreau, C., Rurangwa, E., D'Hondt, S., Callewaert, L., Courtin C. M., Delcour, J.A., Buyse, J. and Ollevier, F., 2012.** Effects of arabinoxylan-oligosaccharides (AXOS) on juvenile Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*) performance, immune responses and gastrointestinal microbial community. *Fish and Shellfish Immunology*, 33: 718-724.
- Gibson, G. R. and Roberfroid, M. B., 1995.** Dietary modulation of the colonic microbiota. Introducing the concept of prebiotics. *Journal of Nutrition*, 125: 1401-1412.
- Gridle-Helland, B. G., Helland, S. J. and Gatlin, D. M., 2008.** The effect of dietary supplementation with mannanoligosacchare, fructooligosaccharide or galactooligosaccharide on the growth Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture*, 283: 163-167.
- Hoseinifar, S. H., Mirvaghefi, A., Mojazi Amiri, B., Khoshbavar Rostami, H. and Merrifield, D.L., 2011.** The effects of oligofructose on growth performance, survival and autochthonous intestinal microbiota of beluga (*Huso huso*) juveniles. *Aquaculture Nutrition*, 17: 498–504.
- Irianto, A. and Austin, B., 2002.** Probiotics in aquaculture. *Journal of Fish Diseases*, 25: 633-642.
- Kim, D. and Austin, B., 2006.** Innate immune responses in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) induced by probiotics. *Fish and Shellfish Immunology*, 21: 513-524.

- Najdegerami, E., Ngoc Tran, T., Defoirdt, T., Marzorati, M., Sorgeloos, P., Boon, N. and Bossier, P., 2011.** Effects of poly-b-hydroxybutyrate (PHB) on siberian sturgeon (*Acipenser baerii*) fingerlings performance and its GI tract microbial community. *FEMS Microbiology Ecology*, 79: 25–33.
- Magnadottir, B., 1998.** Comparison of immunoglobulin (IgM) from four fish species. *BUVISINDI Icelandddc Agricultural Sciences*, 12: 47-59.
- Magnadottir, B., 2006.** Innate immunity of fish (overview). *Fish and Shellfish Immunology*, 20: 137-151.
- Mahious, A. S., Van Loo, J. and Liefbrig, F., 2007.** Inulin and oligofructose in aquaculture: A review. *Aquaculture Europe*, October 14-27. P: 326-327. (Istanbul, Turkey).
- Mahious, A. S., Gatesoupe, F. J., Hervi, M., Metailler, R. and Ollevier, F., 2005.** Effect of dietary inulin and oligosaccharides as prebiotics for weaning Turbot (*Psetta maxima*). *Aquaculture International*, 14: 219-229.
- Marcouli, P. A., Alexis, M. N., Andriopoulou A. and Georgudaki J., 2006.** Dietary lysine requirement of juvenile gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). *Aquaculture Nutrition*, 12: 25-33.
- Merrifield, D. L., Dimitroglou, A. and Foey, A., 2010.** The current status and future focus of probiotic and prebiotic applications for salmonids. *Aquaculture*, 302: 1-18.
- Pilström, L. and Bengtén, E., 1996.** Immunoglobulin in fish-genes, expression and structure. *Fish and Shellfish Immunology*, 6: 243–262.
- Rao, Y. V., Das, B. K., Jyotirmayee, P. and Chakrabarti, R., 2006.** Effect of *Achyranthes aspera* on the immunity and survival of *Labeo rohita* infected with *Aeromonas hydrophila*. *Fish and Shellfish Immunology*, 20: 263-273.
- Regunathan, C. and Kitto, M. R., 2005.** Persian Gulf fish culture in Iran-pointers for success. *Aquaculture Asia Magazine*, pp. 40-42.
- Ringø, E., Olsen, R. E., Gifstad, T. ø., Dalmo, R. A., Amlund, H., Hemre, G. I. and Bakke, A. M., 2010.** Probiotics in aquaculture: a review. *Aquaculture Nutrition*, 16: 117-136.
- Sado, R. Y., Bicudo, A. J. D. A. and Cyrno, J. E. P., 2008.** Feeding dietary mannanoligosaccharid to juvenile Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*), has no effect on hematological parameters and showed decreased feed consumption. *Journal of World Aquaculture Society*, 39: 821-826.
- Siwicki, A. K., Anderson, D. P. and Rumsey, G. L., 1994.** Dietary intake of immunostimulants by rainbow trout affects non-specific immunity and protection against furunculosis. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 41: 125-139.
- Soleimani, N., Hoseinifar, S. H., Merrifield, D. L., Barati, M. and Hassan Abadi, Z., 2012.** Dietary supplementation of fructooligosaccharide (FOS) improves the innate immune response, stress resistance, digestive enzyme activities and growth performance of Caspian roach (*Rutilus rutilus*) fry. *Fish and Shellfish Immunology*, 32: 316-321.
- Teng, S. K., El-Zahr, C., Al-Abdul-Elah, Kh. and Almatar, S., 1999.** Pilot-scale spawning and fry production of blue-fin porgy, *Sparidentex hasta*, Valenciennes in Kuwait. *Aquaculture*, 178: 27–41.
- Webb, M. A. H., Allert, J. A., Kappenman, K. M., Marcos, J., Feist, G. W., Schreck, C. B. and Shackleton, C. H., 2007.** Identification of plasma glucocorticoids in pallid sturgeon in response to stress. *General and Comparative Endocrinology*, 154: 98-104.
- Welker, T. L., Lim, C., Yildirim-Aksoy, M., Shelby, R. and Klesius, P. H., 2007.** Immune response and resistance to stress and *Edwardsiella ictaluri* challenge in channel cat fish, *Ictalurus punctatus*, fed diets cantaining commercial whole-cell yeast or yeast subcomponents. *Journal of World Aquaculture Society*, 38: 24-35.
- Xu, B., Wang, Y., Li, J. and Lin, Q., 2009.** Effect of prebiotic xylooligosaccharides on growth performances and digestive enzyme activities of allogynogenetic crucian carp (*Carassius auratus gibelio*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 35: 351–357.
- Yaps, W. G., 2003.** Philippine milkfish production on the rebound. *SAEP Newsletter* (A popular publication of the Society of Aquaculture Engineers of the Philippines, Inc.). January 2001-June 2002.
- Ye, J. D., Wang, K., Li, F.D. and Sun, Y. Z., 2011.** Single or combined effects of fructo- and mannan oligosaccharide supplements and *Bacillus clausii* on the growth, feed utilization, body composition, digestive enzyme activity, innate

immune response and lipid metabolism of the Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. *Aquacultur Nutrition*, 17: 902-911.

Zhang, J., Liu, Y., Tian, L., Yang, H., Liang, G. and Xu, D., 2012. Effects of dietary mannan oligosaccharide on growth performance, gut morphology and stress tolerance of juvenile Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Fish and Shellfish Immunology*, 33: 1027-1032.

Archive of SID