



تأثیر پریوتیک تجاری ایمکس اولترا بر عملکرد رشد، شاخص های خونشناسی و ایمنی غیر اختصاصی ماهی قزل آلائی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum 1792)

شمس الله کوهساریان^۱، حجت ا. جعفریان^{۲*}، رحمان پاتیمار^۲، حسین آدینه^۲

۱- کارشناسی ارشد شیلات، دانشگاه گنبد کاووس، گلستان، ایران

۲- دانشیار گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گلستان، ایران

۳- استادیار گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گلستان، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۱/۳۱

تاریخ ارسال: ۱۳۹۸/۱۲/۲۹

چکیده

این مطالعه باهدف بررسی تأثیر استفاده از پریوتیک تجاری ایمکس اولترا در رژیم غذایی ماهی قزل آلائی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) بر عملکرد رشد، شاخص های خون شناسی و پاسخ ایمنی غیر اختصاصی انجام شد. ماهیان با وزن اولیه $2/14 \pm 18/03$ گرم در ۱۲ قفس توری با ابعاد $1 \times 0/6 \times 0/6$ متر مکعب در ۴ استخر بتنی ذخیره شدند. چهار جیره آزمایشی (هر یک با ۳ تکرار) حاوی ایمکس اولترا در سطح ۰ (شاهد)، ۱ (T1)، ۲ (T2) و ۳ (T3) گرم در کیلوگرم غذای پایه به مدت ۴۵ روز مورد آزمایش قرار گرفت. ماهیان تغذیه شده با ۲ گرم پریوتیک به طور معنی داری از وزن نهایی، افزایش وزن و نرخ رشد ویژه بالاتری در مقایسه با گروه شاهد بود ($P < 0.05$). از نظر شاخص های خون شناسی؛ گلبول های قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت در ماهیان تغذیه شده با ۲ گرم در کیلوگرم پریوتیک در تیمار T2 افزایش معنی داری داشت. در پایان آزمایش، شاخص های ایمنی سرم همچون مقادیر پروتئین کل، گلوکز و فعالیت لیزوزیم در ماهیان تغذیه شده با ایمکس اولترا در بین تیمارها تفاوت معنی داری نداشت. نتایج بدست آمده نشان داد که می توان از ۲ گرم ایمکس اولترا به عنوان یک ماده پریوتیکی مفید برای بهبود عملکرد رشد و پاسخ های هماتو-ایمونولوژیک در پرورش ماهی قزل آلائی رنگین کمان استفاده شود.

واژگان کلیدی: ایمکس اولترا، عملکرد رشد، خون شناسی، ایمنی، ماهی قزل آلائی رنگین کمان.



The effect of A-Max Ultra commercial prebiotic on growth performance, hematological and non-specific immune parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum 1792)

Shamollah Kohsaryan¹, Hojatollah Jafaryani^{2*}, Rahman Patimari², Hossein Adineh³

1- Msc Student, Department of Fisheries, Faculty of Agriculture science and natural resources, Gonbad Kavous University, Gonbad, Iran

2- Associate Professor, Department of Fisheries, Faculty of Agriculture science and natural resources, Gonbad Kavous University, Gonbad, Iran

3- Assistant Professor, Department of Fisheries, Faculty of Agriculture science and natural resources, Gonbad Kavous University, Gonbad, Iran

1-

Received: 10-Mar-2020

Accepted: 13 -Apr-2020

Abstract

This study aimed to evaluate the effects of using A-Max Ultra commercial prebiotic in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) diet on the growth performance, hematological indices, and innate immune responses. Fish with initial weight of 18.03 ± 2.14 g were stocked into 12 Cage in dimensions a $0.6 \times 0.6 \times 1$ m³ in four concrete ponds. Four experimental feeds (triplicate) contained A-Max Ultra at levels of 0.0 (control), 1.0 (T1), 2.0 (T2), and 3.0 (T3) g k⁻¹ were tested for 45 days. Fish fed prebiotic of 2 g k⁻¹ had significantly higher final body weight, weight gain, and specific growth rate when compared to the control group ($P < 0.05$). Among haematological parameters, red blood cells (RBCs), hemoglobin (Hb), and hematocrit (HCT) were significantly increased in fish fed 2 g k⁻¹ of prebiotic in T2. At the end of the experiment, serum immune parameters of those fish fed A-Max Ultra including total protein and glucose content, lysozyme activity were not significant difference among all treatments. The obtained results revealed that 2 g k⁻¹ A-Max Ultra could be used as a beneficial prebiotic to improve the growth performance and haemato-immunological responses in rainbow trout culture.

Keywords: A-Max Ultra, growth performance, hematological, immunity, *Oncorhynchus mykiss*.

*Corresponding author: Hojatollah Jafarian

Email: hojat.jafaryan@gmail.com

۱. مقدمه

در حال حاضر صنعت آبی‌پروری به‌عنوان یکی از امیدبخش‌ترین و سریع‌الرشدترین صنایع تولیدکننده غذا برای جوامع انسانی در بین ۷۰ سیستم تولیدکننده غذا با یک پتانسیل قوی برای به انجام رساندن رفع نیازها بشری شناخته شده است (FAO, 2016). آبی‌پروری بخش اساسی و در حال رشد از بوم نظام‌های کشاورزی و دامپروری را در سراسر دنیا تشکیل می‌دهد و توسعه آن از اهمیت بسزایی برخوردار است بطوریکه تجارب کشورهای مختلف در این زمینه نشان داده است که توسعه این صنعت می‌تواند به امنیت غذایی کشورها و بخصوص کشورهای در حال توسعه کمک زیادی کند اما بایستی به این نکته نیز توجه داشت که این صنعت در کنار این رشد قابل توجه که در طول سال‌های اخیر به آن دست یافته است، همواره با مشکلاتی نیز روبرو بوده است که از جمله این مشکلات می‌توان به کنترل کیفیت آب، شیوع بیماری‌ها و غیره اشاره نمود به‌نحوی که شیوع بیماری‌ها به عنوان یک مشکل عمده در آبی‌پروری گسترش اقتصادی این بخش را در بسیاری از کشورهای جهان تحت تأثیر قرار داده است (Gomez-gill et al., 2000). برای کنترل بیماری‌ها می‌توان به استفاده از داروهای پادزیست (آنتی بیوتیک‌ها) اشاره نمود، اما استفاده از این محصولات به‌عنوان یک افزودنی به جیره غذایی ماهیان پس از سال‌ها استفاده باعث به وجود آمدن مشکلات عدیده‌ای از جمله مقاوم شدن عوامل بیماری‌زا، مسائل زیست‌محیطی، بازماندگی در گوشت آبی و کاهش مصرف غذا به دلیل تغییر طعم غذا و متعاقب آن خطرات انسانی و غیره شده و درنهایت باعث ممنوع شدن استفاده از این مکمل‌های غذایی - دارویی در بسیاری از کشورها گردیده است (Gibson and Roberfroid, 1995). در طول سال‌های اخیر تحقیقات فراوانی روی ترکیبات و مکمل‌های غذایی که در بالابردن سلامت موجود و کارایی تغذیه نقش دارند صورت گرفته است، از جمله این مکمل‌ها می‌توان به انواع پریبیوتیک، پریبیوتیک و سین‌بیوتیک‌ها اشاره نمود (Hoseinifar et al., 2019). پریبیوتیک‌ها نوع بسیار خاصی از مواد غذایی غیر قابل هضم در بدن هستند که به‌طور انتخابی سبب تحریک رشد و یا فعالیت یک یا تعداد محدودی از باکتری‌های روده بزرگ‌شده و با تغییرات سودمند خود

منجر به بهبود سلامت میزبان می‌گردند (Manning and Gibson, 2004). استفاده از پریبیوتیک‌ها به‌عنوان مکمل‌های غذایی باعث افزایش رشد و کارایی تغذیه، تقویت سیستم ایمنی، مقاومت نسبت به استرس و عوامل بیماری‌زا و در نتیجه افزایش سلامت می‌شود (Akrami et al., 2010; Jafaryan et al., 2019).

ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با دارا بودن ویژگی‌های خاص از جمله کیفیت گوشت، اهلی‌شدن سه‌ربع و آسان، سختگیر نبودن در غذاگیری، امکان پرورش متراکم، طول نسبتاً کوتاه دوره پرورش و مقاومت به طیف وسیعی از شرایط فیزیکی-شیمیایی محیط، از گونه‌های مهم و تجاری در ایران و جهان برای تأمین پروتئین مورد نیاز جوامع بشری به شمار می‌رود (Hardy et al., 2000). همراه با افزایش تقاضا برای تولید و مصرف این‌گونه، برای پاسخگویی به این تقاضا، تغییر روش پرورش از سمت پرورش گسترده به سمت روش‌های نیمه متراکم و متراکم صورت گرفته است، و به همین علت امکان شیوع بیماری با افزایش نرخ تراکم در این گونه افزایش یافته است (Chen et al., 2014). بنابراین، تقویت سیستم ایمنی ماهی در برابر شرایط استرس‌زا و بیماری‌ها یکی از روش‌هایی است که با تکیه بر آنها می‌توان ریسک ابتلا به بیماری را کاهش داد (Alishahi et al., 2010). در همین ارتباط در طول سال‌های اخیر مطالعات متعددی نیز در خصوص بررسی تأثیر پریبیوتیک‌های مختلف بر شاخص‌های خونی، شاخص‌های بیوشیمیایی و ایمنی در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در کشور انجام شده است که از جمله آن‌ها می‌توان به بررسی اثر پریبیوتیک دیواره سلولی مخمر *Saccharomyces cerevisiae* (Javaheri Baboli and Daer, 2014)، مانان الیگوساکارید (Akrami et al., 2014; Amani Denji et al., 2015)، مانان الیگوساکارید و بتا-۱ و ۳-گلوکان (Naseri, A., 2014; Akrami et al., 2015; Shoaie et al., 2015) و پریبیوتیک تجاری ایمنوژن اشاره کرد.

ایمکس اولترا یک فراورده یا به عبارت صحیح‌تر یک مخلوط پریبیوتیکی است که از مهم‌ترین اجزاء تشکیل‌دهنده آن می‌توان به الیگوساکاریدهای مانان و فروکتوز و ترکیباتی همچون بتاگلوکان اشاره نمود. این

برای تامین اکسیژن مورد نیاز در هر حوضچه از یک دستگاه تزریق اکسیژن با قدرت تولید ۲۰-۱۸ کیلوگرم اکسیژن در ساعت با خلوص ۹۵-۹۳ درصد استفاده شد.

۲.۲. تهیه سوسپانسیون غذایی و غذادهی

به منظور آماده سازی جیره های آزمایشی، ابتدا مقدار غذا برای کل دوره پرورش (۴۵ روز) برای هر تیمار بر مبنای خوراک اکستروود ماهی قزل آلائی رنگین کمان ساخت شرکت تولیدی فرادانه (بر حسب درصد) (۴۰-۴۴ پروتئین خام، ۱۶-۱۲ چربی خام، ۴-۲ فیبر خام، ۱۱-۷ خاکستر، ۱۱-۵ رطوبت، ۱/۵-۱ فسفر) توزین و پس از محاسبه میزان پر بیوتیک مورد نیاز برای هر تیمار ابتدا مقادیر مشخص شد که شامل ۱، ۲ و ۳ گرم از پر بیوتیک مورد نظر بود و توسط هاون چینی به خوبی پودر شد و با اضافه کردن مقدار مشخصی آب (۴۰ میلی لیتر) در بشرهای شیشه ای جداگانه توسط همزن برقی بخوبی هم زده شد و پس از یکنواخت شدن به مدت ۵ ساعت درون انکوباتور در دمای ۴۰ درجه سانتیگراد (Ghosh *et al.*, 2003) خشک شد (دارای ۱۰ درصد رطوبت). غذا ها با توجه به استاندارد مصرف و با توجه به اندازه دهان بچه ماهیان از الک های مناسب عبور داده شدند و بر اساس برنامه زمان بندی غذایی ماهیان با این جیره های آزمایشی مورد تغذیه قرار گرفتند. مقدار مصرف غذای روزانه با توجه به در صد وزن بدن (توده زنده) بچه ماهیان در سه نوبت ۸، ۱۳ و ۱۷ به میزان ۵-۴ درصد وزن بدن تا حد سیری بود.

۳.۲. اندازه گیری شاخص های رشد و تغذیه

به منظور اندازه گیری شاخص های رشد در تیمارهای آزمایشی در انتهای دوره ۴۵ روزه آزمایش تمام بچه ماهیان موجود در هر قفس صید و پس از انجام عملیات بیهوشی توسط ۲۰۰ میلی گرم در لیتر پودر گل میخک، وزن و طول آنها به ترتیب با ترازوی دیجیتال KERN KB 360-3N (با دقت ۰/۰۱ گرم) و تخته زیست سنجی (با دقت ۱ میلی متر) اندازه گیری شد. بر اساس همین اطلاعات ثبت شده پ شاخص های رشد و تغذیه با استفاده از فرمول های مربوطه به شرح زیر مورد بررسی قرار گرفتند. وزن نهایی = افزایش وزن - وزن اولیه (Tacon, 1990) / زمان (لگاریتم طبیعی میانگین وزن اولیه به گرم -

محصول پر بیوتیکی از ترکیبات دیواره سلولی و محتویات مخمر ساکارومایسس سرویزیا سویه I1077 و محیط کشت حاوی سوکروز، ملاس و عصاره ذرت است. این ترکیب به عنوان یک منبع پروتئینی گیاهی حاوی ۲۳-۳۸ درصد پروتئین (بسته به نوع ایمکس) و ویتامین های گروه B، انواع اسیدهای آمینه و مواد معدنی است. حاوی ۳۰ درصد مانان الیگوساکارید حاصل از دیواره خارجی مخمر ساکارومایسس سرویزیه ۱۲ درصد ۱ و ۳-بتاگلوکان است. بتاگلوکان و مانان الیگوساکاریدها، پلی ساکاریدهایی متشکل از واحدهای گلوکز هستند که از دیواره سلولی مخمرها، قارچ ها و جلبک های بزرگ به دست می آیند (Li and Gatlin, 2004; Salze *et al.*, 2008). هدف از این مطالعه، بررسی اثرات مصرف سطوح مختلف پر بیوتیک تجاری ایمکس اولترا بر عملکرد رشد، تغذیه و شاخص های ایمنی ماهی قزل آلائی رنگین کمان در واحد صنعتی بود.

۲. مواد و روش ها

۱.۲. تهیه بچه ماهی و شرایط پرورش

برای انجام این آزمایش تعداد ۳۶۰ قطعه بچه ماهی قزل آلائی رنگین کمان با میانگین وزن اولیه $2/14 \pm$ (میانگین \pm انحراف معیار) از یکی از مراکز تکثیر و پرورش ماهی قزل آلا (جاده هراز، ایران) تهیه به محل کارگاه خصوصی ماهیان سردابی هامون واقع در استان گلستان، شهرستان آزاد شهر انتقال یافت. پس از گذشت دوره سازگاری به مدت یک هفته، به شکل تصادفی در ۴ استخر آبراهه ای با ابعاد $20 \times 3 \times 1$ متر با تراکم و شرایط نگهداری تقریباً یکسان با استفاده از قفس های توری ساخته شده در ابعاد $0/6 \times 0/6 \times 1$ مترمکعب به شکل تصادفی تقسیم شدند. هر حوضچه به منزله یک تیمار آزمایشی در نظر گرفته شد که توسط قفس های توری ساخته شده به سه قسمت مساوی تقسیم شده بود (در مجموع ۱۲ قفس توری و هر قفس توری به منزله یک تکرار). سپس طی مدت پنج روز و به تدریج جایگزینی جیره غذایی با جیره های آزمایشی انجام گردید. لازم به ذکر است در طول دوره آزمایش میانگین دمای آب $14/6 \pm 1/36$ درجه سانتی گراد بود و آب مورد استفاده جهت پرورش از طریق منبع چشمه تأمین شد. همچنین

کور تیزول، لیزوزیم، آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و آلکالین فسفاتاز (ALP) در آزمایشگاه تخصصی ویرومد گیلان انجام شد.

۵.۲. شاخص های هماتولوژی

شمارش تعداد کل گلبول های سفید (WBC) و قرمز (WBC) از طریق لام نفوبار با میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی $\times 400$ پس از رقیق سازی خون بوسیله بافر فسفات نمکی شمارش شدند (Barros et al., 2002). برای اندازه گیری هماتوکریت (Hct) از لوله های موئینه هماتوکریت و دستگاه سانتریفیوژ هماتوکریت استفاده شد (Rehulka, 2000). برای اندازه گیری اندیس های گلبولی شامل حجم متوسط گلبولی (MCV)، همگلوبین متوسط گلبولی (MCH) و غلظت متوسط هموگلوبین گلبول های قرمز (MCHC) از طریق فرمول های مربوطه محاسبه شدند (Asadi et al., 2012). میزان هموگلوبین نیز به روش استاندارد سیانومیت هموگلوبین و پس از مخلوط کردن 0.2 خون با مقدار 5 سی سی میلی لیتراز محلول درابکین (معرف سیانیت هموگلوبین) و پس از گذشت 10 دقیقه از زمان مخلوط کردن نمونه با کمک دستگاه اسپکتوفوتومتر در طول موج 540 نانومتر اندازه گیری و برحسب میلی گرم در دسی لیتر محاسبه شد (Feldman et al., 2000). همچنین شمارش افتراقی گلبول های سفید شامل نوتروفیل (هتروفیل)، و مونوسیت نیز با تهیه گسترش خون و طبق روش توصیه شده توسط Borges و همکاران (۲۰۰۴) صورت پذیرفت.

$$MCV = (Hct \times 1000) / RBC \quad (106 \text{ mm}^3 - 3)$$

$$MCH = Hb \text{ (gdl}^{-1}) / RBC \quad (106 \text{ mm}^3 - 3)$$

$$MCHC = Hb / Hct$$

۶.۲. شاخص های بیوشیمیایی سرم

برای اندازه گیری شاخص های بیوشیمیایی سرم خون از دستگاه Auto analyser مدل Alpha-6 و طبق دستورالعمل شرکت سازنده با استفاده از کیت های آزمایشگاهی از نوع Biochemical شرکت پارس آزمون استفاده شد. در مطالعه حاضر، گلوکز به روش گلوکز اکسیداز (Glucose oxidase)، پروتئین تام به روش بیوره (Biuret)، سنجش آنزیم آلانین آمینو ترانسفراز (ALT) و آسپاراتات آمینو ترانسفراز (AST) به روش

لگاریتم طبیعی میانگین وزن نهایی به گرم) = ضریب رشد ویژه $\times 100$ (Helland et al., 1996)

میانگین وزن اولیه به گرم / میانگین وزن اولیه به گرم - میانگین وزن نهایی به گرم) = میزان رشد نسبی $\times 100$ (Kissil et al., 2001)

$100 \times$ (میانگین طول نهایی / میانگین وزن نهایی به گرم) = فاکتور وضعیت (Ojolicket al., 1995)

افزایش وزن بدن (گرم) / مقدار غذای خورده شده (گرم) = ضریب تبدیل غذایی (Hevroyet al., 2005)

(مقدار غذای خورده شده به گرم / افزایش وزن بدن به گرم) = کارایی غذا $\times 100$ (Hevroyet al., 2005)

مقدار مصرف پروتئین (گرم) / افزایش وزن بدن (گرم) = نسبت کارایی پروتئین (Helland et al., 1996)

مقدار چربی خورده شده (گرم) / وزن به دست آمده (گرم) = نسبت کارایی چربی (Helland et al., 1996)

۴.۲. خونگیری و سنجش ایمنی غیر اختصاصی

در پایان دوره 45 روزه آزمایش، برای انجام خونگیری و به منظور جلوگیری از بروز هرگونه استرس تغذیه بچه ماهیان به مدت 12 ساعت قطع شد. به منظور بررسی شاخص های هماتولوژی و پروفایل بیوشیمی سرم، تعداد 6 قطعه بچه ماهی به طور تصادفی از هر تیمار صید و پس از بیهوش کردن با 200 ppm پودر گل میخک (Ghobadi et al., 2009)، محل خونگیری کاملاً خشک و مقدار 2 سی سی میلی لیتر خون از هر ماهی از طریق ورید ساقه دمی جمع آوری شد. از این مقدار خون جمع آوری شده به شکل تقریباً مساوی مقدار 1 سی سی میلی لیتر از آن به لوله های حاوی ماده ضد انعقاد هپارین برای سنجش شاخص های هماتولوژی و 1 سی سی از آن به لوله های سرولوژی فاقد ماده ضد انعقاد برای جداسازی سرم و سنجش فاکتورهای بیوشیمی سرم انتقال یافت. برای جداسازی سرم، لوله های سرولوژی فاقد ماده ضد انعقاد به مدت 24 ساعت در یخچال بادمای 4 درجه نگهداری و پس از ته نشین شدن لخته، با سرعت 3000 دور در ثانیه به مدت 5 دقیقه سانتریفیوژ شدند. در نهایت سرم از لخته جدا و به تیوپ های جدید منتقل و تا زمان شروع آزمایشهای مربوط به بررسی شاخص های بیوشیمیایی سرم خون در دمای 80 - درجه سانتی گراد نگهداری شدند (Akrami et al., 2015). سنجش شاخص های بیوشیمیایی سرم خون همچون پروتئین کل، گلوکز،

گرم پربیوتیک ایمکس اولترا بر کیلوگرم غذای پایه بدست آمد که با تیمار شاهد اختلاف معنی‌دار آماری داشت ($p < 0/05$). نرخ رشد ویژه بین تیمارهای مختلف آزمایشی تفاوت معنی‌داری نداشت ($p < 0/05$). نتایج فاکتور وضعیت نشان داد که تنها بین تیمار شاهد با تیمار T3 اختلاف آماری وجود دارد ($p < 0/05$). افزودن ۲ گرم پربیوتیک ایمکس اولترا در جیره غذایی اثر معنی‌داری بر فاکتورهای وزن نهایی، افزایش وزن و فاکتور وضعیت در تیمارهای آزمایشی در مقایسه با گروه شاهد داشت ($p < 0/05$) در حالیکه نرخ رشد ویژه بین تیمارهای مختلف آزمایشی تفاوت معنی‌داری نداشت ($p > 0/05$). ضریب تبدیل غذایی در تیمارهای آزمایشی در مقایسه با گروه شاهد اختلاف معنی‌داری نشان نداد ($p > 0/05$). نرخ کارایی غذا برخلاف ضریب تبدیل غذایی در تمام تیمارهای مورد بررسی اختلاف معنی‌داری را در مقایسه با گروه شاهد نشان داد و بیشترین مقدار این معیار اندازه گیری شده در تیمار T2 در سطح ۲ گرم در کیلوگرم از پربیوتیک ایمکس اولترا و کمترین مقدار آن در گروه شاهد بدست آمد ($p < 0/05$). نسبت کارایی پروتئین و چربی بین تیمار T2 از پربیوتیک ایمکس اولترا در مقایسه با سایر تیمارهای آزمایشی و گروه شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده شد ($p < 0/05$).

۲،۳. شاخص‌های هماتولوژی

شاخص‌های هماتولوژی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان تغذیه شده با سطوح مختلف پربیوتیک ایمکس اولترا در جدول ۲ آورده شده است. افزودن پربیوتیک ایمکس اولترا به جیره غذایی ماهی باعث افزایش معنی‌دار در تعداد گلبول‌های سفید، تعداد گلبول‌های قرمز، میزان هموگلوبین، درصد هماتوکریت، هموگلوبین متوسط گلبولی (MCH)، غلظت متوسط هموگلوبین گلبول‌های قرمز (MCHC)، تعداد و درصد منوسیت‌ها و نوتروفیل‌های در مقایسه با تیمار شاهد شد ($p < 0/05$). بیشترین تعداد گلبول‌های سفید در تیمار T1 و بیشترین تعداد گلبول‌های قرمز در تیمار T2 مشاهده شد ($p < 0/05$).

رنگ سنجی کینتیک و آلکالین فسفاتاز (ALP) به روش آنزیماتیک کینتیک (Borges *et al.*, 2004)، اندازه‌گیری کورتیزول با استفاده از کیت سنجش هورمون کورتیزول (Monobind) به روش ELISA مستقیم (Deane and Woo, 2003) و برای تعیین میزان فعالیت لیزوزیم سرم از روش ارائه شده توسط Swain و همکاران (۲۰۰۶) استفاده شد. بدین‌منظور مقدار ۱۵ میکرولیتر از پلازما به پلیت‌های ۹۶ خانه‌ای شکل ایزا افزوده شد. در مرحله بعد مقدار ۱۵۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتریایی میکروکوکوسلیزودیکتیکوس (*Micrococcus lysodeikticus*) تهیه‌شده در بافر سیترات سدیم ۰/۰۲ مولار و pH برابر ۵/۵ به میزان ۰/۰۲ میلی گرم در لیتر اضافه و جذب نوری اولیه در طول موج ۴۵۰ nm با استفاده از دستگاه ایزا ریدرمارک Bio-Tek آمریکا اندازه‌گیری و پس از یک ساعت نگهداری در دمای اتاق، مجدداً جذب نوری اندازه‌گیری شد. از لیزوزیم سفیده تخم‌مرغ لیوفلیزه شده (سیگما) نیز به‌منظور ترسیم منحنی استاندارد استفاده شد (Swain *et al.*, 2006). هر واحد از فعالیت لیزوزیم براساس کاهش جذب (۰/۰۰۱ در دقیقه) تعیین شد.

۲،۷. تجزیه و تحلیل داده‌ها

برای تجزیه و تحلیل آماری نتایج به‌دست‌آمده، ابتدا نرم‌مال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کلموگروف-اسمیرنوف بررسی و تجزیه و تحلیل داده‌های مربوط به شاخص‌های هماتولوژی، شاخص‌های بیوشیمیایی سرم از طریق مسیر تحلیلی آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-Way ANOVA) و مقایسه میانگین بین تیمارها از طریق آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح معنی‌داری ۹۵ درصد در محیط ویندوز با استفاده از نرم‌افزارهای EXCLE (2013) و SPSS (v.21) صورت گرفت.

۳. نتایج

۱،۳. فاکتورهای رشد و تغذیه

اثرات سطوح مختلف پربیوتیک تجاری ایمکس اولترا بر فاکتورهای رشد و تغذیه ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در جدول ارائه شده است. بالاترین مقدار وزن نهایی (۶۹/۴۴ گرم) در تیمار T2 در سطح ۲

جدول ۱- میانگین شاخص های رشد و تغذیه (انحراف معیار \pm میانگین) ماهی قزل آلاهی رنگین کمان تغذیه شده با سطوح مختلف پربیوتیک ایمکس اولترا

				تیمار
T3	T2	T1	شاهد	شاخص
۶۷/۱۴ \pm ۸۷/۶۸ ^{ab}	۶۹/۱۲ \pm ۴۴/۶۴ ^a	۶۷/۱۲ \pm ۹۲/۴۹ ^{ab}	۶۴/۹ \pm ۳۹/۰۴ ^b	وزن نهایی (g)
۴۹/۱۴ \pm ۸۷/۶۸ ^{ab}	۵۱/۱۲ \pm ۴۴/۶۴ ^a	۴۹/۱۲ \pm ۹۲/۴۹ ^{ab}	۴۶/۹ \pm ۳۹/۰۴ ^b	افزایش وزن (g)
۲/۰ \pm ۸۹/۵۲۶ ^a	۲/۰ \pm ۹۶/۴۲۰ ^a	۲/۰ \pm ۹۱/۴۲۵ ^a	۲/۰ \pm ۸۱/۳۱۱ ^a	نرخ رشد ویژه (%)
۱/۰ \pm ۳۳/۳۲۳ ^a	۱/۰ \pm ۲۰/۱۹۸ ^b	۱/۰ \pm ۲۳/۱۳۹ ^b	۱/۰ \pm ۱۶/۱۱۵ ^b	فاکتور وضعیت (%)
۱/۰ \pm ۱۵/۳۲ ^a	۱/۰ \pm ۱۰/۲۱ ^a	۱/۰ \pm ۱۳/۲۲ ^a	۱/۰ \pm ۱۷/۱۶ ^a	ضریب تبدیل غذایی
۰/۰ \pm ۹۱/۱۹ ^{ab}	۰/۰ \pm ۹۳/۱۷ ^a	۰/۰ \pm ۹۱/۱۶ ^{ab}	۰/۰ \pm ۸۶/۱۲ ^b	نرخ کارایی غذا (%)
۲/۰ \pm ۱۷/۴۷ ^{ab}	۲/۰ \pm ۲۲/۴۰ ^a	۲/۰ \pm ۱۷/۴۰ ^{ab}	۲/۰ \pm ۰۶/۲۹ ^b	نسبت کارایی پروتئین (g/g)
۶/۱ \pm ۵۳/۴۱ ^{ab}	۶/۱ \pm ۶۸/۲۱ ^a	۶/۱ \pm ۵۴/۲۰ ^{ab}	۶/۰ \pm ۲۰/۸۷ ^b	نسبت کارایی چربی (g/g)

-حروف غیر مشابه بالای اعداد در هر ردیف بیانگر تفاوت معنی دار است ($p < 0.05$).

جدول ۲- میانگین (انحراف معیار \pm میانگین) شاخص های هماتولوژیک بچه ماهیان قزل آلاهی رنگین کمان در تیمار های مختلف در پایان آزمایش

				تیمار
T3	T2	T1	شاهد	شاخص های خونی
۷/۰ \pm ۹۰۰/۳۰۰ ^b	۸/۰ \pm ۱۰۰/۳۰۰ ^b	۹/۰ \pm ۱۳۳/۴۰۴ ^a	۸/۰ \pm ۵۶۶/۴۰۴ ^{ab}	گلبول سفید (10^4 mm^{-3})
۱/۰ \pm ۰۹/۰۳۶ ^b	۱/۰ \pm ۲۱/۰۳ ^a	۱/۰ \pm ۱۴/۰۴ ^b	۱/۰ \pm ۰۹/۰۴ ^b	گلبول قرمز (10^6 mm^{-3})
۶/۰ \pm ۱۷/۰۵ ^c	۷/۰ \pm ۰۷/۱۱ ^a	۵/۰ \pm ۷۳/۱۵ ^d	۶/۰ \pm ۵۳/۲۵ ^b	هموگلوبین (g/dL)
۱ \pm ۴ ^c	۴۴/۰ \pm ۳۳/۵۷ ^a	۱ \pm ۴۲ ^b	۴۱/۰ \pm ۶۷/۵۷ ^b	هماتوکریت (%)
۳۶۷/۱۳ \pm ۲۰/۲۸ ^a	۳۶۷/۱۳ \pm ۶۳/۳۲ ^a	۳۶۹/۱۲ \pm ۷/۵۷ ^a	۳۸۲/۱۵ \pm ۵۷/۱۴ ^a	حجم متوسط گلبولی
۵۶/۱ \pm ۵۰/۸۱ ^b	۵۸/۱ \pm ۵۳/۷۷ ^{ab}	۵۰/۰ \pm ۴۰/۴۵ ^c	۵۹/۲ \pm ۹۷/۳۸ ^a	متوسط هموگلوبین گلبولی غلظت
۱۵/۰ \pm ۳۷/۲۵ ^a	۱۵/۰ \pm ۹۳/۳۵ ^a	۱۳/۰ \pm ۶۳/۴۰ ^b	۱۵/۰ \pm ۷۰/۴۳ ^a	متوسط هموگلوبین گلبول های - قرمز ^۱ (%)
۱/۰ \pm ۰۸/۰۴۷ ^a	۱/۰ \pm ۰۳/۰۲۰ ^{ab}	۱/۰ \pm ۰۵/۰۰۵ ^a	۰/۰ \pm ۹۹۱/۰۱۶ ^b	مونوسیت (10^6 mm^{-3})
۰/۰ \pm ۰۲۲/۰۲ ^c	۰/۰ \pm ۱۱۱/۰۲ ^b	۰/۰ \pm ۱۵۸/۰۲۸ ^a	۰/۰ \pm ۱۰۷/۰۲۰ ^b	نوتروفیل (10^6 mm^{-3})
۹۰/۱ \pm ۳۳/۵۲ ^b	۲ \pm ۸۷ ^b	۹۰/۱ \pm ۳۳/۵۲ ^b	۲ \pm ۹۸ ^a	مونوسیت (%)
۹/۱ \pm ۶۷/۵۲ ^a	۲ \pm ۱۳ ^a	۹/۱ \pm ۶۶/۵۲ ^a	۲ \pm ۲ ^b	نوتروفیل (%)

- حروف غیر مشابه در هر ردیف بیانگر تفاوت معنی دار است ($p < 0.05$).

گرم در دسی لیتر و ۴۴/۳۳ درصد و در مقایسه با گروه شاهد معادل با ۶/۵۳ گرم در دسی لیتر و ۴۱/۶۷ درصد به

میزان هموگلوبین و درصد هماتوکریت در تیمار T2 تحت تاثیر مقدار ۲ گرم پربیوتیک به ترتیب معادل با ۷/۰۷

شاهد نشان نداد ($p > 0.05$). بی شترین مقدار پروتئین و لیزوزیم در تیمار T2 بدست آمد. شاخص کورتیزول تفاوت معنی داری بین تیمارهای آزمایشی در مقایسه با تیمار شاهد نداشت ($p < 0.05$). کمترین مقدار کورتیزول در تیمار T1 بدست آمد. فعالیت آنزیمهای آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) و آلکالین فسفاتاز (ALP) هیچ اختلاف معنی داری را در تیمارهای آزمایشی و تحت تاثیر پریبیوتیک در مقایسه با تیمار شاهد نشان نداد ($p > 0.05$). بیشترین مقدار فعالیت آنزیمهای کبدی در تیمار شاهد بدست آمد.

شکل معنی داری در سطح بالاتری قرار داشت ($p < 0.05$). هموگلوبین، هماتوکریت و حجم متوسط گلبولی در تیمار T2 افزایش معنی داری نسبت به تیمار شاهد داشت ($p < 0.05$).

۳.۳. شاخص های بیوشیمیایی سرم خون

نتایج تاثیر سطوح مختلف پریبیوتیک ایمکس اولترا بر شاخص های بیوشیمیایی سرم خون ماهی قزل آلی رنگین کمان در جدول ۳ آورده شده است. نتایج بدست آمده تفاوت معنی داری را در مقادیر پروتئین تام، گلوکز و فعالیت لیزوزیم در تیمارهای آزمایشی در قیاس با گروه

جدول ۳- میانگین (انحراف معیار ± میانگین) شاخص های بیوشیمیایی سرم خون بچه ماهیان قزل آلی رنگین در تیمارهای مختلف در پایان آزمایش

				تیمار
T3	T2	T1	شاهد	سرم خون
۲/۰ ± ۹۰/۲۰ ^a	۲/۰ ± ۹۷/۷۵ ^a	۰ ± ۲/۲۶ ^a	۲/۰ ± ۹۳/۸۰ ^a	پروتئین کل (g/dL)
۸۴/۳۵ ± ۵۰/۷ ^a	۷۳/۷ ± ۳۶/۸۳ ^a	۵۶/۱۴ ± ۲۶/۳۲ ^a	۵۷/۱۸ ± ۴۰/۲۰ ^a	گلوکز (mg/dL)
۴۸/۱ ± ۹۰/۰۵ ^a	۴۶/۲ ± ۵۶/۲۱ ^{ab}	۳۸/۴ ± ۴۳/۶۶ ^c	۴۱/۳ ± ۶۳/۲۹ ^{bc}	کورتیزول (μg/dL)
۶/۰ ± ۸۹/۱۱ ^a	۷/۰ ± ۱۳/۱۴ ^a	۶/۰ ± ۹۸/۱۳ ^a	۶/۰ ± ۸۷/۰۷ ^a	لیزوزیم (mg/mL)
۱۸۲/۲۵ ± ۶۰/۰۴ ^a	۱۷۸/۳۲ ± ۵۶/۷۸ ^a	۲۰۸/۱۹ ± ۵۶/۳۹ ^a	۱۹۵/۴۵ ± ۳۰/۴۹ ^a	A.S.T(U/L)
۹/۲ ± ۲۷/۹۹ ^b	۱۸/۴ ± ۴۳/۷ ^a	۱۰/۲ ± ۱۷/۰۴ ^b	۱۶/۲ ± ۴۰/۲۶ ^a	A.L.T(U/L)
۲۷۴/۲۵ ± ۶۷/۸۰ ^a	۲۴۱/۴۵ ± ۴۳/۵۴ ^a	۲۳۳/۱۷ ± ۵/۶۷ ^a	۲۳۸/۶۵ ± ۴۷/۶۵ ^a	A.L.P(U/L)

-حروف غیرمشابه بالای اعداد در هر ردیف بیانگر تفاوت معنی دار است ($p < 0.05$).

۴. بحث و نتیجه گیری

موجود در ساختار پریبیوتیک ایمکس اولترا نیز می تواند یکی دیگر از دلایل بهبود شاخص های رشد و تغذیه در مطالعه حاضر باشد. زیرا ، مانان الیگوساکاریدها ترکیبات غیرقابل هضمی هستند که محل استقرار مانوزها (ترکیب اصلی مانان الیگوساکارید) راروی پرزهای مخملی روده فراهم آورده و مانع اتصال باکتری های بیماری زا به سلول های پوششی جاذب روده خواهند شد. این ترکیبات باعث شکل گیری کلونی های باکتری یابی مفید می شوند و بدین سبب باعث جلوگیری از عفونت سلول های میزبان می شوند. این خصوصیات سبب بهبود کارایی روده و جذب بیشتر مواد مغذی و در نتیجه ارتقای کارایی تغذیه و تقویت رشد می گردد (Bolu et al., 2009). در همین راستا محققین گزارش دادند که تعداد 10^8 سلول *Pediococcus pentosaceus* در جیره ماهی کپور

در مزارع پرورش ماهی برای تقویت رشد و سیستم ایمنی در برابر شرایط استرسزا و بیماری ها می توان از زیست یارهای پریبیوتیک به جای آنتی بیوتیک ها استفاده نمود. در مطالعه حاضر، بیشترین عملکرد رشد و تغذیه در تیمارهای مصرف کننده پریبیوتیک اولترا ایمکس بدست آمد. بهبود عملکردهای تولید در تیمارهای حاوی پریبیوتیک را می توان به افزایش فعالیت آنزیم های هضم کننده و بهبود ساختار ریز پرزهای Microvilli موجود در سطح اینتروسیته ها نسبت داد. با افزایش سطح مورد نیاز برای جذب مواد مغذی کارایی غذا افزایش می یابد و تولید اسیدهای چرب کوتاه زنجیر Short Chain Fatty Acids (SCFAs) به عنوان نتیجه نهایی تخمیر پریبیوتیک ها در فلور میکروبی داخل سلولی خواهد بود (Ringø et al., 2010). همچنین وجود مانان الیگوساکارید و بتا گلوکان

در جیره غذایی ماهیان قرمز حوض نو جوان *Carassius auratus gibelio* (تاثیر معنی‌داری بر تعداد گلبول‌های سفید خون در تیمارهای آزمایشی در مقایسه با گروه شاهد نداشته است) (Akrami et al., 2015). Amani Denji همکاران (۲۰۱۵) گزارش دادند که استفاده از یک گرم پریبیوتیک مانان الیگوساکارید در جیره غذایی بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان باعث ایجاد اختلاف معنی‌دار در تعداد گلبول‌های سفید در تیمارهای آزمایشی در مقایسه با تیمار شاهد می‌گردد. اما تاثیر معنی‌داری بر مقادیر هماتوکریت، هموگلوبین، مونوسیت و لنفوسیت‌های خون ندارد. Javaheri Baboli و Daer (۲۰۱۴) در مطالعه‌ای با بررسی سطوح ۰/۵، ۱/۵ و ۲/۵ گرم پریبیوتیک دیواره سلولی مخمر *Saccharomyces cerevisiae* در جیره غذایی بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان تفاوت معنی‌داری در تعداد گلبول‌های سفید، میزان هموگلوبین و اندیس‌های گلبولی در مقایسه با گروه شاهد مشاهده کردند.

شاخص‌های بیوشیمیایی سرم خون برای شنا سایی تغییرات احتمالی در وضعیت عمومی ماهی بکار گرفته می‌شود که می‌تواند تحت تاثیر مواد افزودنی در جیره غذایی آبی باشد (Burgos-Aceves et al., 2019). در این آزمایش، مقادیر پروتئین، گلوکز، کورتیزول و لیزوزیم خون در تیمارهای تغذیه شده با پریبیوتیک در مقایسه با تیمار شاهد اختلاف آماری معنی‌داری نداشت. در تضاد با نتایج ما گزارش شده است که بکارگیری پریبیوتیک *Enterococcus faecium* strain CGMCC1.2136 در جیره ماهی کلمه منجر به افزایش سطح پروتئین و لیزوزیم شده است (Tarkhani et al., 2020). پروتئین سرم یکی از شاخص‌های ایمنی غیراختصاصی همورال و سلامت گونه آبی به‌شمار می‌آید. لیزوزیم نیز به عنوان یک آنزیم تجزیه‌کننده قوی موجود در خون و بافت‌های لنفوئید ماهیان نیز شناخته می‌شود که دارای نقش مهمی در سیستم ایمنی ماهیان است و یکی از مهمترین فاکتورها در مقاومت طبیعی ماهیان محسوب می‌شود (Magnadottir, 2006). میزان لیزوزیم بسته به شرایط استرس (تراکم، کیفیت آب و دستکاری)، فصل، جنسیت، مراحل رسیدگی جنسی، دمای آب و تغذیه دارای مقادیر متفاوتی در ماهیان خواهد بود (Saurabh and

معمولی (Ahmadifar, 2020)، ۲ گرم بر کیلوگرم رافینوز در جیره ماهی کپور معمولی (Hoseinifar et al., 2019)، بکارگیری 3×10^5 کلنی باکتری باسیلوس در جیره ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (Adineh et al., 2013) و افزودن یک درصد اینولین به غذای ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (Hunt et al., 2019) باعث افزایش کارایی تولید شده است.

پایش فاکتورهای هماتولوژی می‌تواند در خصوص وضعیت سلامت گونه آبی دیدگاهی کلی در اختیار ما قرار دهد. در این پژوهش، بیشترین تعداد گلبول‌های سفید در تیمار حاوی یک گرم پریبیوتیک در هر کیلوگرم جیره غذایی مشاهده شد. در این راستا، افزودن مقادیر ۰/۱، ۰/۵ و ۱ درصد پریبیوتیک سالمانکس در جیره غذایی باعث افزایش سلول‌های سفید خون و تعداد نوتروفیل‌ها در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان شده است (Khodadadi et al., 2019). در واقع تعداد کل گلبول‌های سفید و نوع آن‌ها از طریق تأثیر در عمل فاگوسیتوز و کمک به تولید آنتی‌بادی‌ها می‌تواند نقش عمده‌ای در بهبود سطح دفاع غیراختصاصی داشته باشد (Sakai, 1999). در پاسخ به استرس‌های موجود در محیط آبی، کاهش تعداد گلبول‌های سفید می‌تواند بیانگر سرکوب ایمنی و افزایش میزان آنها نشان دهنده پاسخ به استرس یا عفونت باشد (Adams, 2002). در حالیکه بیشترین تعداد گلبول‌های قرمز، میزان هموگلوبین و درصد هماتوکریت در تیمار حاوی ۲ گرم پریبیوتیک در هر کیلوگرم جیره غذایی مشاهده شد که از اختلاف معنی‌داری نیز در مقایسه با سایر تیمارهای آزمایشی و تیمار شاهد برخوردار بودند ($p < 0/05$). سرعت حرکت ماهیان، مرحله رسیدگی جنسی، فعالیت زیاد و شکل بدن با گلبول‌های قرمز خون ارتباط دارد (Satheeshkumar et al., 2012). از طرف دیگر مقدار بالای گلبول قرمز و غلظت هموگلوبین خون پاسخی به افزایش تقاضای سوخت و ساز در بدن است و افزایش تعداد گلبول‌های قرمز و به دنبال آن افزایش درصد هماتوکریت خون بیانگر تقاضای بالای نیاز اکسیژنی برای دست‌یابی به سطح اکسیژن بیشتر جهت انجام سوخت و ساز بالاتر است (Satheeshkumar et al., 2012; Zhou et al., 2009). در تائید این نتایج گزارش شده است که استفاده از سطوح مختلف پریبیوتیک اینولین

آزمایشی در مقایسه با گروه شاهد ایجاد نکرد (Grisdale-Helland *et al.*, 2008). در ماهی، کورتیزول فرآیندهای تجزیه گلیکوژن ۲ و ساخت گلوکز از منابع غیر کربوهیدراتی را فعال می‌کند و همچنین باعث می‌شود سلول‌های رومافین، کاتکول آمین بیشتری را آزاد کنند که خود موجب افزایش تجزیه گلیکوژن و تنظیم عملکرد سیستم قلبی-عروقی و تنفسی می‌شود (Reid *et al.*, 1998). این فرایندها مقدار گلوکز را افزایش می‌دهد تا انرژی مورد نیاز بدن تأمین شود. بنابراین، پس از پاسخ اولیه ماهی به استرس‌های وارد شده، یکسری پاسخ‌های ثانویه از قبیل افزایش میزان قند خون، افزایش لاکتات، افزایش کلسترول، تغییر در فعالیت آنزیم‌های پلاسمای خون و غلظت یون‌ها، کاهش مقدار گلیکوژن ماهیچه و کبد، افزایش نرخ متابولیسم و تغییرات در پروفایل خون‌شناسی و ظرفیت ایمنی‌شناسی در خون و بافت‌های ماهی ایجاد می‌شود (Goikoetxea *et al.*, 2017; Endo and Wu, 2019). در تأیید این موارد بر روی نتایج بدست آمده به صورت درون گروهی با توجه به نتایج بدست آمده بین مقادیر کورتیزول و گلوکز ارتباط معنی‌دار مثبتی مشاهده شد. در مطالعه حاضر نیز با افزایش سطح پربیوتیک در جیره غذایی بچه ماهیان جوان قزل‌آلای رنگین‌کمان مقدار هر دو شاخص بطور درون گروهی در تیمارهای آزمایشی نیز روند صعودی داشت و در تیمار حاوی سه گرم پربیوتیک به بالاترین مقدار خود رسید. بطور کلی نتایج به دست آمده نشان داد که افزودن ۲ گرم بر کیلوگرم پربیوتیک ایمکس اولترا به جیره غذایی بچه ماهیان جوان قزل‌آلای رنگین‌کمان باعث افزایش عملکرد رشد و بهبود برخی شاخص‌های ایمنی سرم خون بچه ماهیان جوان قزل‌آلای رنگین‌کمان خواهد شد.

در تأیید این نتایج افزودن پربیوتیک مانان الیگوساکارید به جیره غذایی ماهی تیلاپیا (Hisano *et al.*, 2007) و گربه‌ماهی روگامی (*Ictalurus punctatus*) (Welker *et al.*, 2007) به افزایش معنی‌دار در لیزوزیم سرم در این گونه‌ها منجر نشده است، اما در تضاد با یافته‌های این تحقیق Naseri و Akrami (۲۰۱۴) گزارش دادند که استفاده از پربیوتیک مانان الیگوساکارید و بتا-۱ و ۳-گلوکان در سطح ۱/۵ گرم در هر کیلوگرم در تغذیه مداوم با پربیوتیک به مدت ۶ هفته سبب تحریک و افزایش سطح لیزوزیم سرم در بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌شود. در مطالعه Buentello و همکاران (۲۰۱۰) نیز مشخص شد که افزودن پربیوتیک‌های مختلف نظیر MOS، FOS، TOS و GBA به میزان ۱۰ گرم در هر کیلوگرم در جیره غذایی ماهی سرخ‌طبل (*Sciaenops ocellatus*) منجر به افزایش سطح لیزوزیم سرم در این گونه می‌گردد. همچنین گزارش شده است که استفاده از پربیوتیک مانان الیگوساکارید در جیره غذایی ماهی تیلاپیا (Sado *et al.*, 2008) و ماهی روگو (Andrews *et al.*, 2009) نیز منجر به افزایش سطح لیزوزیم سرم در این گونه‌ها می‌گردد. در تحقیقی دیگر، با بررسی تأثیر جیره‌های غذایی حاوی مکمل در سطح یک درصد از سه پربیوتیک فروکتوالیگوساکارید، گالاکتوالیگوساکارید و نانوالیگوساکارید در جیره غذایی ماهی آزاد اقیانوس اطلس (*Atlantic salmon*) استفاده شد و مشخص شد که استفاده از پربیوتیک فروکتوالیگوساکارید و نانوالیگوساکارید باعث کاهش فعالیت لیزوزیم سرم در تیمارهای آزمایشی در مقایسه با تیمار شاهد می‌شود، در حالی که در استفاده از پربیوتیک گالاکتوالیگوساکارید هیچ‌گونه تغییری در فعالیت لیزوزیم سرم در تیمارهای

۵. منابع

References

- Adams, S.M., 2002. Biological Indicators of Aquatic Ecosystem Stress. American Fisheries Society, Bethesda, MD. 644 pp.
- Adineh, H., Jafaryan, H., Sahandi, J., Alizadeh, M., 2013. Effect of *Bacillus* spp. Probiotic on growth and feeding performance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) larvae. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine* 16(1), 29-36.
- Ahmadifar, E., Sadegh, T.H., Dawood, M.A., Dadar, M., Sheikhzadeh, N., 2020. The effects of dietary *Pediococcus pentosaceus* on growth performance, hemato-immunological parameters and digestive enzyme activities of

- common carp (*Cyprinus carpio*). *Aquaculture* 516, 734-656.
- Akrami, R., Ebrahimi, A., Shamoofar, M., Razeghi Mansour, M., 2014. The Effect of prebiotic mannan oligosaccharide on the growth performance, survival and resistance rate of Rainbow trout larvae (*Oncorhynchus mykiss* Wabbaum, 1792) against environmental stress. *Journal of Applied Ichthyological Research* 2(3), 29-42.
- Akrami, R., Karimabadi, A., Mohammadzadeh, H., Ahmadifar, E., 2010. Effect of dietary mannan oligosaccharide on growth performance, survival, body composition and salinity stress resistance in Kutum (*Rutilus frisii kutum*) fry stage. *Journal of Marine Science and Technology* 8(3-4), 47-57.
- Akrami, R., Nouri, F., Naseri, A.H., Razeghi Mansour, M., 2015. Effects of Discontinuous Administration of Dietary Mannan oligosaccharide and β -1,3-glucan on Hematological and Blood Serum Biochemical Parameters of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Iranian Journal of Animal Science Research* 7(3), 373-380.
- Akrami, R., Razeghi-Mansour, M., Chitsaz, H., Ziaee, R., Ahmadi, Z., 2012. Effect of Dietary Mannan Oligosaccharide on Growth Performance, Survival, Body Composition and Some Hematological Parameters of Carp Juvenile (*Cyprinus Carpio*). *Journal of Animal Science Advances* 2(11), 879-885.
- Alishahi, M., Ranjbar, M.M., Ghorbanpour, M., Peyghan, R., Mesbah, M., Razi, J.M., 2010. Effects of dietary aloe vera on some specific and non-specific immunity in the common carp (*Cyprinus carpio*). *International Journal of Veterinary Research* 4(3), 189-195.
- Amani Denji, K., Razeghi Mansour, M., Ghobadi, S., Akrami, R., Salehi, M., 2015. Effect of various levels of dietary prebiotic mannan oligosaccharide on haematological and some blood serum biochemical parameters of cultured juvenile Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Fisheries* 68(2), 177-186.
- Andrews, S.R., Sahu, N.P., Pal, A.K., Kumar, S., 2009. Hematological modulation and growth of *Labeo rohita* fingerlings: effect of dietary mannan oligosaccharide, yeast extract, protein hydro lysate and chlorella. *Aquaculture Research* 41, 61-69.
- Asadi, M., Mirvaghefi, A., Nematollahi, M., Banaee, M., Ahmadi, K., 2012. Effects of Watercress (*Nasturtium nasturtium*) extract on selected immunological parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Open Veterinary Journal* 2(2), 32-39.
- Barros, M.M., Lim, C., Klesius, P.H., 2002. Effect of iron supplementation to Cottonseed meal diets on growth performance of channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *Journal of Applied Aquaculture* 10(1), 65-86.
- Bolu, S.A., Ojo, V., Oyeleke, B.A., Ajiboye, A.O., Baa Sambo, A., Oluyemi, O., 2009. Effects of Alph-Amune G on the performance, blood chemistry and Histology of Broilers. *International Journal Poultry Science* 8(3), 32-34.
- Borges, A., Scotti, L.V., Siqueira, D.R., Jurinitz, D.F., Wassermann, G.F., 2004. Hematologic and serum biochemical values for jundia' (*Rhamdia quelen*). *Fish Physiology and Biochemical* 30(1), 21-25.
- Buentello, A., Neill, W.H., Gatlin, D.M., 2010. Effects of dietary prebiotics on the growth, feed efficiency and non-specific immunity of juvenile red drum *Sciaenops ocellatus* fed soybean based diets. *Aquaculture Research* 41, 411-418.
- Burgos-Aceves, M.A., Lionetti, L., Faggio, C., 2019. Multidisciplinary haematology as prognostic device in environmental and xenobiotic stress-induced response in fish. *Science of the total environment*.
- Chen, Y., Zhu, X., Yang, Y., Han, D., Jin, J., Xie, S., 2014. Effect of dietary chitosan on growth performance, hematology, immune response, intestine morphology, intestine microbiota and disease resistance in gibel carp (*Carassius auratus gibelio*). *Aquaculture Nutrition* 20(5), 532-546.
- Deane, E.E. Woo, N., 2003. Ontogeny of thyroid hormones, cortisol, hsp70 and hsp90 during silver sea bream larval development. *Life sciences* 72(7), 805-818.
- Endo, H., Wu, H., 2019. Biosensors for the assessment of fish health: a review. *Fisheries science* 1-14.
- FAO., 2016. The State of World Fisheries and Aquaculture 1998. Food and Agriculture Organization FAO, Rome, p. 112.
- Feldman, B.F., Zinkl, J.G., Jian, N.C., 2000. Schalm's veterinary hematology. Lippincott Williams and Wilkins publication, Canada, Pp: 1120-1125.
- Ghobadi, Sh., Matinfar, A., Nezami, Sh.A. Soltani, M., 2009. Influence of supplementary enzymes Avizyme on fish meal replacement by soybean meal and its effects on growth performance and survival rate of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Azadshahr Journal Fisheries* 3(2), 11-22.
- Ghosh, K., Sen, S.K., Ray, A.K., 2003. Supplementation of an isolated fish guts bacterium, *Bacillus circulance*, in formulated diets for rohu, *Labeo rohita*, fingerling. *Journal Aquaculture Bamidegh* 55(-), 13-21.
- Gibson, G.R., Roberfroid, M.B., 1995. Dietary modulation of the colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *Journal of Nutrition* 125(6), 1401-1412.
- Goikoetxea, A., Todd, E.V., Gemmill, N.J., 2017. Stress and sex: does cortisol mediate sex change in fish?. *Reproduction* 154 (6), R149-R160.
- Gomez-gill, B., Roque, A., Turn bell, J.F., 2000. The use and selection of probiotic bacteria for use in the culture of larval aquatic organisms. *Aquaculture* 19(1-3), 259-270.
- Grisdale-Helland, B., Helland, S.J., Gatlin III, D.M., 2008. The effects of dietary supplementation with mannanoligosaccharide, fructooligosaccharide or galactooligosaccharide on the growth and feed utilization of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* 283(1-4), 163-167.
- Hardy, R.W., Sugiura, S.H., Babbitt, J.K., Dong, F.M., 2000. Utilization of fish and animal byproduct meals in low-pollution feeds for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture Research* 31(7), 585-593.
- Helland, S.J., Grisdale, H.B., Nerland, S., 1996. A simple method for the measurement of daily feed intake of groups of fish in tanks. *Aquaculture* 139(1-2), 157-163.
- Hevroy, E.M., Espe, M., Waagbo, R., Sandness, K., Rund, M., Hemer, G.I., 2005. Nutrition utilization in Atlantic salmon

- (*Salmo salar*) fed increased level of fish protein hydrolysate during a period of fast growth. *Aquaculture Nutrition* 11(7), 301-313.
- Hisano, H., Barros, M.M., Pezzato, L.E., 2007. Levedura e zinco Como pró-nutrientes em rações para tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*). Aspectos hematológicos. *Boletim do Instituto de Pesca*. 33(1), 35-42.
- Hoseinifar, S.H., Hosseini, M., Paknejad, H., Safari, R., Jafar, A., Yousefi, M., Mozanzadeh, M.T., 2019. Enhanced mucosal immune responses, immune related genes and growth performance in common carp (*Cyprinus carpio*) juveniles fed dietary *Pediococcus acidilactici* MA18/5M and raffinose. *Developmental and Comparative Immunology* 94(3), 59-65.
- Hunt, A.Ö., Çetinkaya, M., Yılmaz, F.Ö., Yıldırım, M., Berkoz, M., Yalın, S., 2019. Effect of Dietary Supplementation of Inulin on Growth Performance, Digestion Enzyme Activities and Antioxidant Status of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology* 7(9), 1344-1353.
- Jafaryan, H., Bivareh, M.R., Jafaryan, S., 2019. Effects of Prebiotic Yeast, *Saccharomyces Cerevisiae* Cell Wall on Some Hematological Parameters and Liver Enzymes in Common Carp Fingerlings (*Cyprinus Carpio* Linnaeus. 1758). *Veterinary Research* 2 (37), 109- 121.
- Javaheri Baboli, M., Daer, N., 2014. Prebiotic effect of different levels of the cell wall of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* on growth, survival, Open retardation and blood indices of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Fisheries* 67(4), 511-522.
- Khodadadi, A., Haghighi, A., Malekinejad, H., Tukmechi, A., Afsharnasab, M., 2019. Effects of diet supplementation with different level of Celmanax® in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society* 70(1), 1347-1356.
- Kissil, G. Wm., Lupatsch, I., Elizur, A., Zohar, Y., 2001. Long photoperiod delayed spawning and increased somatic growth in gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Aquaculture* 200, 363-379.
- Li, P., Gatlin, D.M., 2004. Dietary brewer's yeast and perbiotic GroBiotic™ AE in flunce growth performance, immune responses and resistance of hybrid Striped bass (*Moron crypsos* × *M. saxatilis*) to *Sterptococ cusiniae* infection. *Aquaculture* 231(2), 445-456.
- Magnadottir, B., 2006. Innate immunity of fish (overview). *Fish and Shellfish Immunology* 20(2), 137-151
- Manning, T.S., Gibson, G.R., 2004. Prebiotics, Best Practice and Research Clinical Gastroenterology. 18(1-2), 287-298.
- Naseri, A., Akrami, R., 2014. Effect of discontinuous administration of prebiotic mannan oligosaccharide and β -1,3-glucan on growth performance and some immunity response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Fisheries* 67(3), 425-434.
- Ojolic, E.J., Cusack, R., Benfey, T.J., Kerr, S.R., 1995. Survival and growth of all female diploid Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) reared at chronic high temperature. *Aquaculture* 131(3-4), 177-187.
- Rehulka, J., 2000. Influence of astaxanthin on growth rate, condition and some blood indices of rainbow trout. *Aquaculture* 190(1-2), 27-47.
- Reid, S.G., Bernier, N.J., Perry, S.F., 1998. The adrenergic stress response in fish: Control of catecholamine storage and release. *Comparative Biochemistry and Physiology* 120(2), 1-27.
- Ringø, E., Olsen, R.E., Gifstad, T.Ø., Dalmo, R.A., Amlund, H., Hemre, G.I., Bakke, A.M., 2010. Prebiotics in aquaculture: a review. *Aquaculture Nutrition* 16(2), 117-136.
- Sado, R.J., Bicudo, A.J.D.A., Cyrino, J.E.P., 2008. Feeding dietary mannan oligosaccharid to juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), has no effect on hematological parameters and showed decreased feed consumption, *Journal of World Aquaculture Society* 39(6), 821-826.
- Sakai, M., 1999. Current research status of fish immune stimulants. *Aquaculture* 172(1-2), 63-92.
- Salze, G., McLean, E., Schwarz, M.H., Craig, S.R., 2008. Dietary mannan oligosaccharide enhances salinity tolerance and gut development of larval coibia. *Aquaculture* 274(1), 148-152.
- Satheeshkumar, P., Ananthan, G., Kumar, D.S., Jagadeesan, L., 2012. Hematology and biochemical parameters of different feeding behavior of teleost fishes from Vellar estuary, India. *Comparative Clinical Pathology* 21(6), 1187-1191.
- Saurabh, S., Shao, P.K., 2008. Lysozyme: an important defiance molecule of fish innate immune system. *Aquaculture Research* 39(3), 223-239.
- Shoaei, R., Akrami, R., Ghobadi, S., Razeghi Mansour, M., 2015. Effect of dietary of prebiotic mannan oligosaccharide and β -1, 3 glucan on growth performance, survival, body composition and serum lysozyme activity in Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fingerling. *Journal of Marine Biology* 7(1-2), 45-56.
- Swain, P., Dash, S., Sahoo, P.K., Routray, P., Sahoo, S.K., Gupta, S.D., Meher, P.K., Sarangi, N., 2006. Non-specific immune parameters of brood Indian major carp *Labeo rohita* and their seasonal variations. *Fish and Shellfish Immunology* 22(2), 38-43.
- Tarkhani, R., Imani, A., Hoseinifar, S.H., Ashayerizadeh, O., Moghanlou, K.S., Manaffar, R., Reverter, M., 2020. Comparative study of host-associated and commercial probiotic effects on serum and mucosal immune parameters, intestinal microbiota, digestive enzymes activity and growth performance of roach (*Rutilus rutilus caspicus*) fingerlings. *Fish and Shellfish Immunology* 98(3), 661-669.
- Welker, T.L., Lim, C., Yildirim-Aksoy, M., Shelby, R., Klesius, P.H., 2007. Immune response and resistance to stress and *Edwardsiella ictaluri* challenge in channel catfish (*Ictalurus punctatus*) fed diets containing commercial whole-cell yeast or yeast subcomponents. *Journal of World Aquaculture Society* 38(1), 24 -35.
- Zhou, X., Li, M., Abbas, K., Wang, W., 2009. Comparison of hematology and serum biochemistry of cultured and wild Dojo loach *Misgurnus anguillicaudatus*. *Fish physiology and biochemistry* 35(3), 435.