Archive of SID

مجله علمی شیلات ایران (DOI): 10.22092/ISFJ.2018.116928 سال بیست و هفت/شماره ۳

اثر پربیوتیک گالاکتوالیگوساکارید بر رشد، بازماندگی و برخی شاخص‌های ایمنی ذاتی لارو قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

محسن علی[۱]، پریا اکبری[۲*]، سیاووش سلطانیان[۱]، امین غلام حسینی[۱]

*paria.akbary@gmail.com

۱- گروه بهداشت و بیماری آبزیان ، دانشکده دامپزشکی شیراز، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران
۲- گروه شیلات، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، ایران

تاریخ دریافت: آذر ۱۳۹۶ تاریخ پذیرش: خرداد ۱۳۹۷

چکیده

پربیوتیک‌ها مواد غذایی غیرقابل هضم می باشند که با تحریک اختصاصی رشد و یا فعالیت باکتری‌های تخصصی ارتقاء دهنده سلامت، اثر مفیدی بر میزبان می‌گذارند. تحقیق حاضر به‌منظور بررسی اثر مکمل غذایی گالاکتوالیگوساکارید بر رشد، بازماندگی و برخی شاخص‌های ایمنی لارو قزل آلای‌رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) به مدت ۶۰ روز صورت گرفت. در این مطالعه، تعداد ۳۶۰ قطعه لارو قزل آلای‌رنگین کمان با میانگین وزنی ۰/۰۱±۰/۱۳ گرم در یک طرح کاملا تصادفی به ۴ تیمار آزمایشی و ۳ تکرار (با تعداد ۱۰ قطعه در هر تکرار) تقسیم شدند و بترتیب با رژیم‌های غذایی حاوی ۰، ۱، ۲ و ۳ ٪ گالاکتوالیگوساکارید مورد تغذیه قرار گرفتند. نتایج حاصله نشان داد که بالاترین، افزایش وزن بدست آمده، ضریب رشد ویژه و نسبت کارایی پروتئین در تیمار حاوی ۲ و ۳ ٪ گالاکتوالیگوساکارید مشاهده شد که با بقیه تیمارها دارای تفاوت معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$). بیشترین فعالیت لیزوزیم، پروتئین تام، گلوبولین، آلبومین، وزن نهایی و بقاء در تیمارحاوی ۲٪ گالاکتوالیگوساکارید مشاهده شد که با بقیه تیمارها تفاوت معنی‌داری را نشان دادند ($p<۰/۰۵$). بر اساس نتایج این تحقیق، افزودن ۲ ٪ گالاکتوالیگوساکارید در جیره غذایی ماهی قزل آلای‌رنگین کمان به‌منظور بهبود شاخص‌های رشد، بقاء و پاسخ‌های ایمنی ذاتی در این ماهی موثر است.

کلمات کلیدی: ماهی قزل آلای رنگین کمان، پربیوتیک، شاخص‌های رشد، ایمنی ذاتی

*نویسنده مسئول

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

پرورش ماهی قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) طی سالیان اخیر با شتاب زیادی توسعه یافته است، مزارع جدید ساخته شده اند و میزان تولید در واحد سطح افزایش چشمگیری پیدا کرده است. همراه چنین توسعه ای که افزایش تراکم ماهی را در واحد سطح طلب می نماید، انواع بیماری‌های عفونی با سرعت هرچه تمام‌تر در جمعیت ماهیان پرورشی گسترش می یابند، بطوریکه خسارتی بیش از ده درصد تولیدات سالانه را به این صنعت وارد می‌کند (Khodadadi *et al*., 2018; Ravelo *et al*., 2006).

سلامتی و تغذیه از اصلی ترین نگرانی‌ها در پرورش ماهیان خوراکی و زینتی می‌باشد (Ghosh *et al*., 2008) در کنار نیاز به واکسن‌ها و آنتی‌بیوتیک‌های مناسب در بعضی مناطق، مکمل‌های غذایی مانند پربیوتیک و محرک‌های ایمنی می‌توانند از حساسیت ماهیان به بیماری بکاهند (Gibson and Roberfroid, 1995). پربیوتیک‌ها مواد غذایی غیر قابل هضم می‌باشند که با تحریک اختصاصی رشد و یا فعالیت باکتری‌های تخصصی ارتقاء دهنده سلامت، اثر مفیدی بر میزبان می‌گذارند. الیگوساکاریدها با فراهم کردن امکان رشد بیشتر برای باکتری‌های مفید روده‌ای، از اصلی‌ترین ترکیبات پربیوتیک می‌باشند (Kahkesh and Roomiani, 2018; Hosseinifar *et al*., 2016; Bita *et al*., 2016). پروبیوتیک گالاکتوالیگوساکارید از واکنش آنزیمی لاکتوز حاصل می گردد و عمدتاً از مولکول‌های گلوکز و گالاکتوز تشکیل شده است (Zhou *et al*., 2007). مطالعات متعددی در زمینه اثرات اینولین، فروکتوالیگوساکارید، مانان‌الیگوساکارید و گالاکتوالیگوساکارید به عنوان پربیوتیک بر عملکرد رشد، پاسخ ایمنی و مقاومت علیه بیماری‌ها در ماهی تیلاپیای نیل (*Orechromis niloticus*) (Ibrehem *et al*., 2010)، فیل ماهی (*Huso huso*) (Hosseinifar *et al*., 2011)، ماهی سفید (*Rutilus frisii*) (Hosseinifar *et al*., 2016) و میگوی سفید هندی (*Fenneropenaeus indicus*) (Hosseinifar *et al*., 2010) صورت گرفته است. برای مثال، گالاکتوالیگوساکارید به عنوان مکمل غذایی، با افزایش باکتری‌های لاکتیک اسید سبب افزایش رشد و تحمل استرس و تعدیل میکروب‌های روده‌ای در نوزاد ماهی کلمه (*Rutilus rutilus*) شد (Hosseinifar *et al*., 2013). همچنین Solimani و همکاران (۲۰۱۲) نشان دادند که استفاده از فروکتوالیگوساکارید در جیره غذایی ماهی کلمه منجر به بهبود پاسخ ایمنی، مقاومت در برابر استرس، فعالیت آنزیم‌های گوارشی و عملکرد رشد می‌گردد. Mokhtari و همکاران (۲۰۱۶) نشان دادند که استفاده از پربیوتیک گالاکتوالیگوساکارید در جیره غذایی ماهی گورامی سه خال (*Trichogaster trichopterus*) منجر به افزایش مقاومت به بروز تنش شوری گردید. از آنجایی که تاکنون پژوهشی در زمینه استفاده از پربیوتیک گالاکتوالیگوساکارید بر ماهی قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) صورت نگرفته است و اکثر ضررهای قابل توجه در صنعت آبزی پروری به دلیل مرگ و میر لاروهای ماهیان مختلف در سرتاسر جهان گزارش شده است (Sugita *et al*., 2002)، جهت جلوگیری از مرگ و میر بالای لاروهای گونه‌های مختلف ماهیان، افزایش وضعیت ایمنی این لاروها از طریق استفاده از محرک‌های ایمنی برای مبارزه با عوامل عفونی در مراحل اولیه زندگی لازم می باشد. لذا، هدف از این تحقیق، بررسی اثر گالاکتوالیگوساکارید به عنوان مکمل غذایی بر رشد، بقاء و برخی شاخص‌های ایمنی ذاتی سرم خون در لارو ماهی قزل آلای رنگین کمان می‌باشد.

مواد و روش کار

ماهی و شرایط پرورش

این پژوهش در اواخر آذرماه ۱۳۹۵ در آزمایشگاه بخش بهداشت و بیماری‌های آبزیان دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز انجام شد. تعداد ۵۰۰ قطعه لارو ماهی قزل آلای رنگین کمان از مزرعه تکثیر و پرورش قزل آلا واقع در سپیدان شیراز خریداری و با استفاده از کیسه‌های دوجداره (یک سوم آب به همراه دوسوم اکسیژن) به محل آزمایش، انتقال داده شد. پس از طی دوره سازگاری به مدت دو هفته و اطمینان از سلامتی آنها، ۳۶۰ قطعه لارو

www.SID.ir

Archive of SID

با میانگین وزنی ۰/۰۱±۰/۱۳ گرم و میانگین طولی ۰/۱±۲/۳۰ سانتی‌متر شمارش شدند و با تراکم ۳۰ قطعه به ۱۲ آکواریوم ۷۰ لیتری منتقل گردیدند. در طول دوره، فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب اندازه‌گیری شد. به طور میانگین در کل دوره درجه حرارت آب ۱±۱۴/۵درجه سانتی‌گراد، اکسیژن محلول ۰/۸۷± ۸/۰۱ میلی‌گرم در لیتر و pH آب ۰/۵±۷/۱ بود. طی دوره آزمایش دوره نوری به صورت ۱۲D:۱۲Lبود. به منظور هوادهی و نیاز اکسیژن ماهیان، به هر یک از مخزن‌ها یک سنگ هوا که به منبع هواده متصل بود، نصب گردید (Liu *et al*., 2016). تیمارهای مورد استفاده در تحقیق حاضر شامل: تیمار شاهد که تنها با غذای تجاری (شرکت تعاونی تولیدی ۲۱ بیضاء، شیراز)، ۳ تیمار با سطوح ۳،۲ و ۱ ٪ گالاکتوالیگوساکارید بودند که برای هر تیمار سه تکرار در نظر گرفته شد و طی یک دوره ۶۰ روزه مورد استفاده قرار گرفتند (Faghani *et al*., 2013).

آماده‌سازی جیره و غذادهی به ماهیان

به منظور اضافه نمودن سطوح مختلف مکمل گالاکتوالیگوساکارید به غذای کنسانتره ابتدا مقدار غذا برای کل دوره آزمایش برای هر تیمار محاسبه شد. سپس سطوح مشخص گالاکتوالیگوساکارید (تهیه شده از شرکت Domo, Zwolle, The Netherlands) به همراه ۵۰۰ میلی‌لیتر آب به سطح غذا اسپری شدند. پس از ۴۸ ساعت جیره‌های خشک جمع آوری و در نایلون های مجزا در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. تیمار شاهد تنها با ۵۰۰ میلی‌لیتر آب اسپری گردید (Soleimani *et al*., 2012). مقدار غذای روزانه با توجه به درصد وزن بدن (توده زنده) محاسبه شد و در نوبت صبح و عصر به میزان ۳٪ وزن بدن در اختیار ماهیان قرار گرفت. عمل تمیز نمودن به صورت یک روز در میان انجام شد و باقی‌مانده غذایی و مدفوع ماهیان از مخازن خارج گردید.

زیست سنجی و بررسی شاخص‌های رشد و تغذیه

به منظور اندازه‌گیری شاخص‌های رشد، در انتهای آزمایش تمام ماهیان هر مخزن خارج شده و وزن (با دقت ۰/۰۱ گرم) و طول (با دقت ۱ میلی‌متر) آنها ثبت گردید. با استفاده از داده‌های حاصل از زیست سنجی‌ها، افزایش وزن بدن، ضریب رشد ویژه، شاخص وضعیت ضریب تبدیل غذایی ، نسبت بازدهی پروتئین و درصد بقاء تعیین شد (Wahli *et al*., 2003).

خون گیری از ماهیان

برای سنجش پارامترهای ایمنی (پروتئین تام، آلبومین، گلوبولین و لیزوزیم)، به‌صورت تصادفی از ۹ قطعه ماهی هر تیمار پس از بیهوشی با عصاره گل میخک (۲ g/L) (Hoseinifar *et al*., 2014) خون‌گیری (به میزان ۲ میلی‌لیتر) از قلب با استفاده از سوزن و سرنگ صورت گرفت. سپس نمونه ها با دور ۳۰۰۰ بر دقیقه به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ (Hettich مدل DV200، ساخت کشور ژاپن) و سرم آن جدا گردید و در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد داخل میکروتیوب نگهداری شد (Harikrishnan *et al*., 2012).

شاخص‌های ایمنی ماهی

مقدار پروتئین تام سرم با استفاده از کیت تشخیصی شرکت پارس آزمون و از روش بیوره مورد سنجش قرار گرفت و جذب نوری لوله‌های نمونه و استاندارد را در مقابل بلانک در طول موج ۵۵۰ نانومتر بوسیله دستگاه اسپکتروفتومتر (WPAS2000-UV/VIS, Cambridge, UK) خوانده شد و میزان پروتئین تام بر حسب گرم بر دسی‌لیتر (g/dL) محاسبه گردید (Burtis *et al*., 1994).

مقدار آلبومین تام سرم به روش برموکرزول سبز و با استفاده از کیت تشخیصی شرکت پارس آزمون مورد سنجش قرار گرفت. جذب نوری این محلول را در طول موج ۶۳۰ نانومتر بوسیله دستگاه اسپکتروفتومتر (WPAS2000-UV/VIS, Cambridge, UK) در مقابل بلانک قرائت گردید و میزان آلبومین برحسب گرم بر دسی‌لیتر محاسبه گردید (Burtis *et al*., 1994). و از کسر پروتئین تام از آلبومین میزان گلوبولین محاسبه شد (Kumar *et al*., 2005). میزان نسبت

www.SID.ir

Archive of SID

آلبومین به گلوبولین از تقسیم کردن مقادیر آلبومین تام گلوبولین محاسبه شد (Kumur *et al*., 2005). سنجش فعالیت لیزوزیم سرم نمونه‌ها، بر اساس روش توصیه شده توسط Ellis (۱۹۹۰) توسط سوسپانسیون میکروکوکوس لیزودیکتیکوس (*Micrococcus lysodeikticus*) (محصول سیگما) صورت گرفت.

تجزیه و تحلیل داده ها

تجزیه و تحلیل داده های حاصل از اندازه گیری شاخص‌های رشد، بقاء و برخی شاخص‌های ایمنی سرم خون با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و آزمون مقایسه چند دامنه‌ای دانکن، در سطح احتمال ۵٪ بین تیمارهای مختلف صورت گرفت. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم افزار SPSS 16 استفاده گردید.

نتایج

شاخص‌های رشد و تغذیه

نتایج مربوط به شاخص‌های رشد، تغذیه و بقاء تیمارهای مختلف در پایان دوره آزمایش در جدول ۱ ارائه شده است. ماهیان از میانگین وزن اولیه ۰/۱۳ گرم به دامنه میانگین وزن نهایی ۰/۸۶-۰/۵۰ گرم در طول دوره ۶۰ روزه آزمایش رسیدند. نتایج نشان داد که با افزودن مقادیر مختلف گالاکتوالیگوساکارید تفاوت معنی‌داری را در میانگین وزن نهایی، افزایش وزن بدست آمده، ضریب رشد ویژه، ضریب تبدیل غذایی و میزان بازده پروتئین در مقایسه با تیمار شاهد ایجاد کرد ($p<۰/۰۵$). درکل دوره آزمایش، بیشترین افزایش وزن بدست آمده، ضریب رشد ویژه، نسبت بازده پروتئین و کمترین ضریب تبدیل غذایی در تیمارهای حاوی ۳ و ۲٪ گالاکتوالیگوساکارید مشاهده شد و اختلاف معنی‌داری را در مقایسه با سایر تیمارها نشان داد ($p<۰/۰۵$).

جدول ۱: تغییرات شاخص های رشد در تیمارهای مختلف در پایان دوره آزمایش

Table 1: Means±S.E Changes of growth parameters in different treatments at the end of experiment.

شاخص‌های رشد	تیمار (درصد گالاکتواولیگوساکارید)			
	۰	۱	۲	۳
وزن اولیه (گرم)	۰/۱۳ ±۰/۰۳ ^{a}	۰/۱۶ ±۰/۰۲ ^{a}	۰/۱۴ ±۰/۰۲ ^{a}	۰/۱۳ ±۰/۰۲ ^{a}
وزن نهایی (گرم)	۰/۵۰ ±۰/۰۲ ^{d}	۰/۵۸ ±۰/۰۳ ^{c}	۰/۸۶ ±۰/۰۴ ^{a}	۰/۸۳ ±۰/۰۲ ^{b}
افزایش وزن بدست آمده (درصد)	۲۷۷/۷۱ ±۹/۱۵ ^{c}	۳۳۶/۵۷ ±۶/۹۳ ^{b}	۵۹۶/۰۷ ±۱۲/۶۸ ^{a}	۳۳۲/۳۴ ±۱۱/۹۸ ^{a}
ضریب رشد ویژه	۲/۲۰ ±۰/۰۴ ^{c}	۲/۴۵ ±۰/۰۳ ^{b}	۳/۰۹ ±۰/۰۲ ^{a}	۳/۰۳ ±۰/۰۳ ^{a}
ضریب تبدیل غذا	۱/۸۰ ±۰/۲۳ ^{a}	۱/۴۷ ±۰/۱۰ ^{b}	۰/۹۰ ±۰/۰۳ ^{c}	۱/۰۱ ±۰/۱۳ ^{c}
نسبت بازدهی پروتئین	۵/۵۹ ±۰/۱۸ ^{c}	۶/۷۸ ±۰/۳۴ ^{b}	۱۰/۹۱ ±۰/۴۳ ^{a}	۱۰/۴۷ ±۰/۲۶ ^{a}
شاخص وضعیت	۰/۸۶ ±۰/۰۲ ^{b}	۰/۸۸ ±۰/۰۲ ^{ab}	۰/۹۷ ±۰/۰۴ ^{a}	۰/۹۳ ±۰/۰۳ ^{ab}
بقاء (درصد)	۶۰/۰ ±۰ ^{c}	۶۱/۳۳ ±۱/۸۱ ^{c}	۹۳/۳۰ ±۰ ^{a}	۸۰/۰ ±۰ ^{b}

حروف نامشابه در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی دار بین تیمارها است ($p<۰/۰۵$).

پارامترهای ایمنی سرم خون

تغییرات میانگین پارامترهای ایمنی ماهی قزل آلای رنگین کمان در تیمارهای مختلف در پایان دوره آزمایش (روز۶۰) در جدول ۲ ارائه شده است. افزودن سطوح مختلف گالاکتوالیگوساکارید به جیره غذایی ماهی قزل آلای‌رنگین‌کمان تفاوت معنی‌داری را در میزان پروتئین تام، آلبومین، گلوبولین و لیزوزیم سرم خون در مقایسه با تیمار شاهد ایجاد نمود ($p<۰/۰۵$). بیشترین میزان پروتئین تام و گلوبولین، آلیومین و لیزوزیم در تیمار تغذیه شده با ۲٪ گالاکتوالیگوساکارید مشاهده شد و تفاوت معنی‌داری را در مقایسه با سایر تیمارها و تیمار شاهد نشان داد ($p<۰/۰۵$). بین تیمارهای تغذیه شده با ۱ ٪گالاکتوالیگوساکارید و تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($p>۰/۰۵$).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲ : میانگین و انحراف معیار سطوح پروتئین تام، آلبومین، گلوبولین و لیزوزیم سرم ماهی قزل آلای رنگین کمان در تیمارهای مختلف در پایان دوره آزمایش

Table 2: Means± S.E of serum total protein, Albumin, Glubolin and Lysozyme levels in *Oncorhynchus mykiss* in different treatments at the end of experiment.

پارامترهای ایمنی	تیمار (% گالاکتوالیگوساکارید)			
	۰	۱	۲	۳
پروتئین تام (g/dL)	۲/۰۶ ±۰/۱۸ ^{d}	۴/۴۰ ±۰/۴۲ ^{c}	۵/۳۷ ±۰/۰۷ ^{a}	۴/۴۶ ±۰/۲۷ ^{b}
آلبومین (g/dL)	۱/۱۶ ±۰/۰۱^{d}	۲/۰۳ ±۰/۰۵ ^{c}	۲/۱۸ ±۰/۱۰ ^{a}	۲/۱۷ ±۰/۲۳^{b}
گلوبولین (g/dL)	۰/۹۰ ±۰/۰۵ ^{d}	۲/۲۲ ±۰/۲۸ ^{c}	۳/۱۸ ±۰/۰۶ ^{a}	۲/۴۲ ±۰/۱۵^{b}
لیزوزیم (U/mL)	۲/۴۵ ±۰/۱۳ ^{d}	۳/۱۲ ±۰/۰۸ ^{c}	۴/۴۶ ±۰/۱۶ ^{a}	۳/۹۲ ±۰/۰۷ ^{b}

حروف نامشابه در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی دار بین تیمارها است ($p<۰/۰۵$).

بحث

یکی از راهکارهای موثر برای حفظ سلامت آبزیان پرورشی و افزایش مقاومت آن‌ها در برابر عوامل بیماری‌زا و استرس‌های محیطی استفاده از پربیوتیک‌ها می‌باشد (Hosseinifar *et al*., 2013). پربیوتیک‌ها نه تنها مواد مغذی ضروری را تأمین می‌کند، بلکه منجر به تقویت میکروفلور روده‌ای و ممانعت از تشکیل کلنی باکتری‌های بیماری‌زا می‌گردد. از اینرو، سبب تحریک سیستم ایمنی می‌شود (Firouzbakhs *et al*., 2011).

نتایج حاصل از این تحقیق نشان می‌دهد که تیمارهای حاوی گالاکتوالیگوساکارید نسبت به تیمار شاهد دارای شاخص‌های رشد (وزن نهایی، افزایش وزن بدست آمده، ضریب رشد ویژه) و شاخص‌های تغذیه‌ای (ضریب تبدیل غذایی و نسبت بازده پروتئین) بهتری بودند و تیمارهای حاوی ۲ و ۳ ٪ گالاکتوالیگوساکارید، در شاخص‌های رشد و تغذیه به طور معنی‌داری بیشتر بودند. Jenabi Hagparast و همکاران (۲۰۱۳) با بررسی اثرات پروبیوتیک باکتوسل و پربیوتیک مانان الیگوساکارید در ماهی قزل آلای رنگین کمان بیان نمودند که استفاده از ۲/۵ و ۵ گرم بر کیلوگرم پربیوتیک منجر به افزایش معنی‌دار شاخص‌های رشد و تغذیه در مقایسه با ماهیان شاهد می‌گردد. همچنین Mokhtari و همکاران (۲۰۱۶) نشان دادند که استفاده از پربیوتیک گالاکتوالیگوساکارید در جیره غذایی ماهی گورامی سه خال نیز منجر به افزایش معنی‌دار شاخص‌های رشد و تغذیه می گردد که با نتایج این تحقیق همخوانی داشت. همچنین Hosseinifar و همکاران (۲۰۱۶) نشان دادند که استفاده از سطوح ۱، ۲ و۳ ٪ گالاکتوالیگوساکارید در جیره غذایی ماهی سفید منجر به بهبود شاخص‌های رشد و تغذیه می گردد. بنظر می‌رسد افزایش رشد به دلیل نقش پربیوتیک‌ها در تقویت میکروفلور روده‌ای و ممانعت از تشکیل کلنی باکتری‌های بیماری‌زا می‌باشد. باکتری‌های ساکن روده قادرند به طور انتخابی پربیوتیک‌ها را تخمیر کنند، تخمیر قندهای موجود در روده سبب افزایش انرژی و رشد این باکتری‌ها می‌شود. در نتیجه، منجر به افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی و بهبود سلامت فیزیولوژی روده می‌گردد (Hosseinifar *et al*., 2016).

تحریک پاسخ ایمنی در ماهیان از طریق جیره غذایی از موضوعات مورد علاقه آبزی‌پروری است. پارامترهای ایمنی غیر اختصاصی نظیر لیزوزیم، پروتئین تام، آلیومین و گلوبوین نقش حیاتی مهمی در دفاع اولیه ماهی در برابر عوامل بیماری‌زا دارند (Hosseinifar *et al*., 2016). نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که استفاده از سطوح مختلف گالاکتوالیگوساکارید در جیره غذایی ماهی قزل آلای رنگین کمان منجر به افزایش معنی‌دار پروتئین سرم شد و بیشترین میزان پروتئین تام در تیمار تغذیه شده با ۲٪ گالاکتوالیگوساکارید مشاهده شد که با نتایج بدست آمده از تحقیق صورت گرفته بر ماهی سفید تغذیه شده ۱ و ۲ ٪ گالاکتوالیگوساکارید (Hosseinifar *et al*., 2016)، ماهی سفید تغذیه شده با ۳ درصد

www.SID.ir

Archive of SID

گزیلوالیگوساکارید (Hosseinifar *et al*., 2014) همخوانی داشت که این موضوع نشان می‌دهد که استفاده از مکمل غذایی پربیوتیک در جیره غذایی منجر به بهبود ایمنی می‌گردد. همچنین پروتئین تام یک پارامتر وابسته برای ارزیابی وضعیت فیزیولوژیک ماهی است، بنابراین، ابزاری کمکی تشخیصی محسوب می‌شود. از سویی، میزان پروتئین تام و آلبومین خون می‌تواند وضعیت تغذیه‌ای و سلامت ماهیان را به تصویر بکشاند (Mokhtari *et al*., 2016).

گلوبولین نقش مهمی در حفظ سلامت و ایمنی دارد و گاماگلوبولین به عنوان منبع همه پروتئین‌های لازم برای عملکرد ایمنی در خون شناخته شده است (Harikrishnan *et al*., 2012). در حالیکه آلبومین نقش مهمی در ثبات فشار اسمزی به منظور توزیع مناسب مایعات بدن دارد و به عنوان حامل پلاسما و لیگاندهای غیر اختصاصی (به همراه تعدادی جایگاه‌های اتصال) عمل می‌نماید (Harikrishnan *et al*., 2012). از سوی دیگر، افزایش آلبومین سرم خون در این تحقیق را می‌توان نتیجه پاسخ به افزایش انتقال اسیدهای چرب از بافت‌ها جهت فرآیند اکسیداسیون دانست که سبب ساخت بیشتر پروتئین و صرفه‌جویی در مصرف پروتئین توسط بتا اکسیداسیون اسیدهای چرب شده است Harikrishnan (*et al*., 2012; Aathi *et al*., 2013). نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که افزودن از سطوح مختلف گالاکتوالیگوساکارید منجر به افزایش معنی‌دار میزان پروتئین تام، آلبومین و گلوبولین سرم خون در مقایسه با تیمار شاهد شد که با نتایج بدست آمده از تحقیقات صورت گرفته بر ماهی گورامی سه خال تغذیه شده با گالاکتوالیگوساکارید همخوانی داشت (Mokhtari *et al*., 2016).

لیزوزیم یکی از پارامترهای دفاع غیر اختصاصی ذاتی مهم می‌باشد. همچنین از دسته آنزیم‌های باکتریسیدال مهم از ایمنی ذاتی است که در زمان عفونت با باکتری گرم مثبت همچنین در شرایط استرس زا به عنوان یک پروتئین فاز حاد عمل می‌کند و نقش عملکردی آن در مبارزه با عفونت‌های مختلف ماهیان گزارش شده است (Harikrishnan *et al*., 2012) . مطالعه حاضر نشان داد که افزودن از سطوح مختلف گالاکتوالیگوساکارید به جیره غذایی منجر به افزایش معنی‌دار فعالیت لیزوزیم در مقایسه با تیمار شاهد شد و بیشترین میزان فعالیت لیزوزیم در تیمار تغذیه شده با ۲٪ گالاکوالیگوساکارید مشاهده شد که با نتایج بدست آمده از تحقیقات صورت گرفته بر ماهی سفید تغذیه شده با ۲٪ گالاکتوالیگوساکارید (Hosseinifar *et al*., 2016) و ماهی کلمه تغذیه شده با ۲ و ۳ درصد فرکتوالیگوساکارید (Soleimani *et al*., 2012) همخوانی داشت. می‌توان گفت که پربیوتیک منجر به تقویت رشد باکتری‌های مفید نظیر باکتری‌ها اسید لاکتیک و باسیلوس که در دیواره سلولی خود دارای ترکیبات لیپوپلی ساکارید و دارای خواص تحریک ایمنی هستند، می‌گردد (Soleimani *et al*., 2012). هر چند Cerezuela و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند که استفاده از اینولین (۵ و۱۰ گرم بر کیلوگرم) در مقایسه با گروه شاهد اختلاف معنی‌داری را از نظر پاسخ ایمنی غیر اختصاصی در ماهی باس (*Sparus auratus*) ایجاد ننمود که دلیل مغایرت نتایج حاصل را می‌توان به دوره استفاده از پربیوتیک، غلظت مورد استفاده، مراحل زندگی و نوع گونه ماهی مرتبط دانست (Soleimani *et al*., 2012).

به طور کلی، نتایج بدست آمده از عملکرد رشد و برخی پارامترهای ایمنی سرم خون ماهی قزل آلای رنگین کمان نشان داد که استفاده از سطوح مختلف گالاکتوالیگوساکارید در جیره غذایی ماهی قزل آلای رنگین کمان منجر به افزایش وزن بدست آمده، ضریب رشد ویژه، بقاء، وزن نهایی نسبت بازدهی پروتئین و پروتئین تام،گلوبولین و لیزوزیم و استفاده از سطح ۲٪ گالاکتوالیگوساکارید منجر به افزایش بهینه شاخص‌های رشد و ایمنی می‌گردد. می‌توان گفت که پربیوتیک‌ها نه‌تنها مواد مغذی ضروری را تامین می‌کند، بلکه منجر به تقویت میکروفلور روده‌ای و ممانعت از تشکیل کلنی باکتری‌های بیماری‌زا می‌گردد. تخمیر قندهای موجود در روده سبب افزایش انرژی و رشد این باکتری‌ها می‌شود، در نتیجه منجر به افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی و بهبود

www.SID.ir

Archive of SID

سلامت فیزیولوژی روده می‌گردد. لذا، استفاده از ۲ درصد گالاکتوالیگوساکارید به‌عنوان بهترین سطوح به منظور عملکرد رشد، بقاء و ایمنی در رژیم غذایی ماهی قزل آلای رنگین کمان پیشنهاد می‌گردد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از همکاری مسئول محترم آزمایشگاه بخش بهداشت و بیماری آبزیان دانشگاه شیراز و کارشناس محترم آزمایشگاه مرکزی دانشکده دامپزشکی شیراز تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

Athi, K., Ramasubramanian, V., Uthayakumar, V. and Munirasu, S., 2013. Effect of chitosan supplemented diet on survival, growth, hematological, biochemical and immunological responses of indian major carp *labeo rohita*. International Research Journal of Pharmacy, 4: 141-147. DOI: 10.7897/2230-8407.04529.

Bita, S., Akbary, P., Sarhadipour, M. and Negahdaru Jafar Beigi, Y., 2016. Effect of dietary Biomin Imbo synbiotic on growth, feed and carcass chemical composition in *Mugil cephalus*. Veterinary Researches Biological Products (Pajouhesh-Va-Sazandegi), 114:194-200.

Burtis, C.A., Ashwood, E.R. and Brund, D.E., 1994. Tietz Textbook of Clinical Chemistry (5thed.).W.B.Sunders Company. Philadelphia. USA.560P.

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. DOI:10.1016/j.fsi.2007.10.002

Ellis, A.E:,1990. Lysozyme Assays:In Stolen, J.S., Fletcher, T.C., Anderson, D.P., Roberson, B.S. andVan Muiswinkel ,W.B., (ed)Techniques in :Fish Immunology,edn. Fair Haven,: SOS Publications . London, England ,pp. 101-103.

Faghani, T., Soltani, M., Shamsae, M. and Matinfar, A., 2013. The effect of dietary natural Astaxanthin(*Haematococcus pluvialis*) on the growth parameters, carcases and liver chemical composition injuvenile beluga (*Huso huso* Linnaeus, 1758). Journal of Marine Biology, 5: 69-78.

Firouzbakhsh, F.; Noori, F.; Khalesi, M.K. and JaniKhalili, K., 2011. Effects of a probiotic, protexin, on the growth performance and hematological parameters in the Oscar (*Astronotus ocellatus*) fingerlings. Fish. Physiology andBiochemistry, 29: 222-229. DOI: 10.1007/s10695-011-9481-4.

Ghosh, S.; Sinha, A. and Sahu, C.,2008. Dietary probiotic supplementation in growth and health of live-bearing ornamental fishes. Aquaculture Nutrition, 52: 227-277 .DOI: 10.1111/j.1365-2095.2007.00529.x

Gibson, G.R. and Roberfroid, M.B., 1995. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. J. Nutr. 521: 5205-5252. DOI: 10.1093/jn/125.6.1401.

www.SID.ir

Archive of SID

Harikrishnan, R., Kim, J., Balasundaram, C. and Heo , M., 2012. Immunomodulatory effects of chitin and chitosan enriched diets in *Epinephelus bruneus* against *Vibrio alginolyticus* infection. Aquaculture, 326: 46-52. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2011.11.034.

Hoseinifar, S.H., Zare, P. and Merrifield, D.L., 2010. The effects of inulin on growth factors and survival of the Indian white shrimp larvae and postlarvae (*Fenneropenaeus indicus*). Aquaculture Research, 41:348-352. DOI: 10.1111/j.1365-2109.2010.02485.x.

Hoseinifar, S.H., Mirvaghefi, A., Merrifield, D.L., Amiri, B., Yelghi, S. and Bastami, K., 2011. The study of some haematological and serum biochemical parameters of juvenile beluga (*Huso huso*) fed oligofructose. Fish Physiology and Biochemistry,37:91-96. DOI: 10.1007/s10695-010-9420-9.

Hoseinifar, S.H.; Khalili, M.; Khoshbavar Rostami, H. and Esteban, M.A., 2013. Dietary galactooligosaccharide affects intestinal microbiota, stress resistance, and performance of Caspian roach (*Rutilus rutilus*) fry. Fish andShellfish Immunology, 35:1416-1420. DOI: 10.1016/j.fsi.2013.08.007.

Hoseinifar, S.H.,Sharifian,M., Vesaghi,M.J., Khalili,M. and Esteban, M.A., 2014. The effectsof dietary xylooligosaccharide on mucosal parameters, intestinal microbiotaand morphology and growth performance of Caspian whitefish (*Rutilus frisii*kutum) fry, Fish and Shellfish Immunology, 13: 231-236. DOI: 10.1016/j.fsi.2014.05.009.

Hoseinifar, S.H., Zoheiri, F., Dadar, M., Rufchaei, R. and Ringø, E., 2016. Dietary galactooligosaccharide elicits positive effects on non-specific immune parameters and growth performance in Caspian white fish *(Rutilus frisii* kutum) fry. Fish and Shellfish immunology, 56:467- 472. DOI: 10.1016/j.fsi.2016.08.001.

Ibrahem, M.D., Fathi, M., Mesalhy, S. and Abd, E.A., 2010.Effect of dietary supplementation of inulin and vitamin C on the growth, hematology, innate immunity, and resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Fish and Shellfish Immunology,29:241-246. DOI:10.1016/j.fsi.2010.03.004.

J**enabi Haghparast, R., Meshkini, S. and Tokmehchi, A., 2013.** Effects prebiotic Mannanoliosaccharide on growth and immune in *Oncorhynchus mykiss*. Journal of Veterinary Researches, 68: 375-382.

Kahkesh, M. and Roomiani, L., 2018. Effect of dietary *Lactobacillus casei* and different levels of immunogen on the activities of immunological and hematological factors of *Cyprinus carpio.* ranian Scientific Fisheries Journal, 26; 140-151. DOI: 10.22092/ISFJ.2018.115841

Khodadadi, A., Haghighi, A.,

www.SID.ir

Archive of SID

Malekinejad, H., Tukmechi, A. and Afsharnasab, M., 2018. Dietary effect of celmanax® on growth factor, intestine histology and yersiniosis resistance in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Iranian Scientific Fisheries Journal, 26;126-139. DOI: 10.22092/ISFJ.2018.115694.

Kumar, S., Sahu, N.P., Pal, A.K., Choudhury, D., Yengkokpam, S. and Mukherjee, S.C., 2005. Effect of dietary carbohydrate on hematology, respiratory burst activity and histological changes in *Labeo rohita* juveniles. Fish. Shellfish Immun. 19: 331-344. DOI: 10.1016/j.fsi.2005.03.001.

Liu, F., Shi, H., Guo, Q., Yu, Y., Wang, A., Lv, F. and Shen, W., 2016. Effects of astaxanthin and *emodin* on the growth, stress resistance and disease resistance of yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*). Fish and Shellfish Immunology, 51: 125-135.DOI: 10.1016/j.fsi.2016.02.020.

Mokhtari, M., Imanpour, M.R., Hajimoradloo, A.M. and Hosseinifar, H.S., 2016. Effects of probiotic Bactocel and Prebiotic galactooligosaccharide on growth, survival, blood parameters and resistance against salt stress in *Trichogaster trichopterus*. Journal ofAnimalEnvironment, 3:199-206.

Ravelo, C., Magariños, B., Herrero, M. C.; Costa, L., Toranzo, A.E. and Romald, J.L., 2006. Use of adjuvanted vaccines to lengthen the protection agaist Lactococcusis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture, 251: 153-158. **DOI:** 10.1016/j.aquaculture.2005.05.027.

Soleimani, N., Hosseinifar, S.H., Merrifield, D.L., Barati, M. andHassan Abedi, Z., 2012. Dietary supplementation of fructoologosaccharide (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. DOI: 10.1016/j.fsi.2011.11.023.

Sugita, H., Okano, R., Suzuki, Y., Iwai, D., Mizukami, M., Akiyama, N. and Matsuura, S., 2002. Antibacterial abilities of intestinal bacteria from larvae and juvenile Japanese flounder against fish pathogens. Fisheries Science, 2: 1004-1011.

Wahli, T., Verlhac, V., Griling, P., Gabaudan, J. and Aebischer, C., 2003. Influence of dietary vitamin C on the wound healing process in rainbow trout (*Oncorhyncus mykiss*) Aquaculture, 225: 371-386. DOI: 10.1016/S0044-8486(03)00302-8.

Zhou, Q-C., Buentello, J.A. and Gatlin Iii, D.M., 2007. Effects of dietary prebiotics on growth performance , immune response and intestinal morphology of red drum (*Sciaenops ocellatus*). Aquaculture, 207: 212-219. DOI**:** 10.1016/j.aquaculture.2010.09.003.

www.SID.ir

Archive of SID

Effect of galactooligosaccharide prebiotic on growth performance, survival and several of innate immunity parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) larvae

Ali, M.[1], Akbary, P.[2*], Soltanian, S[1]., Gholamhosseini, A.[1]

[*]paria.akbary@gmail.com

1- Aquatic Animal Health and Diseases group, Faculty of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz, Iran
2- Fisheries group, Faculty of Marine Sciences, Chabahar Maritime University, Chabahar, Iran

Abstract

Prebiotics are non-digestive food ingredients which beneficially affect the host by selectively stimulating the growth and activity of health-promoting bacteria in the intestinal tract. This experiment was conducted to evaluate the effect of dietary supplementation of galactooilgosaccharide on the growth performances, survival and several of innate immunity parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) larvae for 60 days. In this experiment, 360 of larvae (with average weight of 0.13±0.01g) in 4 treatments and 3 replicates (n=30 in each replicate) in a completely randomized design was divided and fed with diets containing 0, 1, 2 and 3 percent galactooligosaccharide respectively. The present results showed that highest WG, SGR and PER were observed in the diet containing 2 and 3 percent of dietary galactoologosaccharide which had a significant difference compared with other treatments ($p<0.05$). The highest, survival, total protein, albumin and globulin levels were observed in treatments containing 2 percent of dietary galactooligosaccharide which showed a significant difference compared with other treatments ($p<0.05$). Finally, the present results suggest that diets containing 2 percent of dietary galactooligosaccharide could improve growth, survival and innate immunity responses of rainbow trout.

Keywords: *Oncorhynchus mykiss*, Prebiotic, Growth parameters, Innate immunity

[*]Corresponding author

www.SID.ir