اثرات پربیوتیک زایلواولیگوساکارید جیره بر روی عملکرد رشد و تغذیه، فاکتورهای خونی و پاسخ ایمنی غیراختصاصی بچه 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 آبزی‌پروری 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: ۱۳۹۴۰۲۰۳۱۲
تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۳/۲۴
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۰۶/۲۴
این مقاله برگرفته از رساله دکتری است.

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 ۰/۳ ± ۷/۶۴ گرم از پژوهشکده آبزی‌پروری 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 ($P > ۰/۰۵$). نتایج این مطالعه نشان داد که سطوح مختلف پربیوتیک 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 ($P < ۰/۰۵$). به‌طورکلی، این مطالعه نشان داد که فاکتورهای خونی به‌وسیله پربیوتیک جیره تحت تأثیر قرار گرفت. بااین‌حال، 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*).

مقدمه

امروزه با توجه به افزایش روزافزون جمعیت جهان، تقاضا برای آبزیان دریایی افزایش‌یافته و به نظر می‌رسد که در آینده سهم زیادی از این تقاضا از طریق آبزی‌پروری تأمین شود. پرورش ماهیان دریایی یکی از شاخه‌های بسیار مهم و در حال گسترش صنعت آبزی‌پروری 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 فن‌آوری‌های موجود در منطقه درزمینه توسعه آبزی‌پروری در مورد گونه‌هایی مانند هامور ماهیان، کوبیا (*Rachycentron canadum*)، صافی ماهیان (Siganidae)، شانک زرد باله (*Acanthopagrus latus*) و صبیتی (*Sparidentex hasta*) می‌توان این ظرفیت‌ها را بالفعل کرد و با جلب‌توجه بیشتر سرمایه‌گذاران توسعه این صنعت را ممکن ساخت (Regunthan and Kitto, 2005). خانواده شانک ماهیان در سطح جهانی به‌خصوص کشورهای آسیای جنوب شرقی تکثیر و پرورش داده می‌شوند. ماهی صبیتی 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 قرارگرفته است. بچه ماهیان صبیتی (ماهیان انگشت قد) بسیار بیش‌فعال 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 صبیتی از فعالیت‌های آبزی‌پروری موجود در منطقه خلیج‌فارس ۵۵۰ متریک تن برآورد شده است (FAO, 2014).

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

پربیوتیک ماده غذایی غیرقابل‌هضمی 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 غیرقابل‌هضم، بعضی از پپتیدها و پروتئین‌ها و نیز برخی از چربی‌ها می‌توانند گزینه مناسبی برای عملکرد پربیوتیک باشند (Fooks *et al*., 1999). به نظر می‌رسد که اغلب پروبیوتیک‌های معرفی‌شده 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 به‌تبع آن سلامتی میزبان به خطر می‌افتد (Merrifield *et al*., 2010). مطالعات نشان می‌دهند که استفاده از پربیوتیک در جیره غذایی ماهی مشکلات مذکور را ندارد و باعث کاهش ترکیبات آنتی‌باکتریال به‌کاررفته در آبزی‌پروری، بهبود اشتها و نرخ رشد می‌شود. مهم‌ترین ویژگی پربیوتیک‌ها کنترل و کاهش بیماری و بهبود ضریب تبدیل غذایی است (Irianto and Austin, 2002; Merrifield *et al*., 2010). خون به‌عنوان 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). باوجود مشخص شدن اثرات مفید پربیوتیک‌ها، مطالعات درزمینهٔ 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 پربیوتیک بررسی‌شده است. با توجه به اینکه تحقیقات محدودی بر روی این پربیوتیک صورت گرفته است. لذا، این تحقیق تأثیر سطوح مختلف پربیوتیک بر شاخص‌های رشد، تغذیه، فاکتورهای خونی و پاسخ ایمنی غیراختصاصی بچه ماهیان صبیتی را موردبررسی قرار می‌دهد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق با همکاری پژوهشکده آبزی‌پروری 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 صبیتی با میانگین وزنی ۰/۳ ± ۷/۶۴ 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 پربیوتیک (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). پربیوتیک موردنیاز از شرکت Longlive Bio-Technology کشور چین خریداری شد و پس از توزین مقدار موردنیاز پربیوتیک 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 سانتی گراد نگهداری شد تا از فساد آن جلوگیری گردد. غذادهی 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 ± خطای استاندارد).

	درصد در ماده خشک			
ترکیب	**رطوبت**	**پروتئین**	**چربی**	**خاکستر**
میزان	۱۰±۰/۱۷	۴۷/۸±۰/۴۱	۱۳/۹۲±۰/۲۲	۹/۲۳±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/۱۰۰×(ln وزن اولیه بدن - ln)= نرخ رشد ویژه وزن نهایی بدن

^{۳}(میانگین طول نهایی بدن)/۱۰۰×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 g×۱۶۰۰ 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 به‌وسیله یک‌تکه پنبه استریل جمع‌آوری شد. موکوس‌های جمع‌آوری‌شده به میزان ۴ برابر با PBS رقیق شد و پس از به هم خوردن به مدت ۳۰ دقیقه با سرعت g×۱۵۰۰۰ در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند (Aranishi and Nakane, 1997). نمونه‌های پلاسما و موکوس داخل فریزر با دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد برای انجام آزمایشات مربوطه نگهداری شدند. فعالیت لیزوزیم سرم بر اساس روش Kim و Austin (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 ۱×۱۰^{۸} 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 بافاصله ۲ سانتی‌متر از هم در آگارز ایجاد شد و در هر حفره میزان ۲۰ میکرو لیتر ازسرم نمونه ریخته شد. پلیت‌ها در محیط مرطوب و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت انکوبه شده و پس‌ازآن قطر هاله لیز گلبولی با خط‌کش مخصوص اندازه‌گیری شد. ایمنوگلوبولین کل با روش Siwicki و همکاران (۱۹۹۴) اندازه‌گیری شد. در این روش گلوبولین ها با استفاده از محلول ۱۲ درصد پلی‌اتیلن گلیکول رسوب داده شد و بر اساس تفاوت محتوای پروتئین در طول‌موج 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 پلاسما و موکوس برعلیه باکتری *Aeromonas hydrophila* به‌عنوان یک باکتری بیماری‌زای رایج در آبزی‌پروری 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 خلیج‌فارس 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 طول‌موج ۵۴۰ نانومتر در دستگاه اسپکتوفتومتر (مدل RA-1000، شرکت Technicon، ساخت آمریکا) و درصد هماتوکریت با سانتریفیوژ میکروهماتوکریت اندازه‌گیری شد.

تجزیه‌وتحلیل‌های 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 ۹۵ درصد در نظر گرفته شد.

نتایج

نتایج مربوط به اندازه‌گیری پارامترهای فیزیکوشیمیایی 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 ارائه‌شده است. وزن نهایی، طول نهایی و شاخص وضعیت هیچ اختلاف‌معنی‌داری در پایان آزمایش نشان ندادند ($P > ۰/۰۵$). بیشترین میزان

وزن نهایی و شاخص وضعیت در تیمار ۱ درصد پربیوتیک گزارش شد. نتایج مربوط به شاخص‌های تغذیه‌ای در ابتدا، وسط و پایان آزمایش در جدول ۴ ارائه‌شده است. ضریب نرخ رشد ویژه، ضریب تبدیل غذایی و ضریب کارایی پروتئین هیچ اختلاف‌معنی‌داری در پایان آزمایش بین تیمارها نشان ندادند ($P > ۰/۰۵$).

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

دما	اکسیژن محلول (قسمت در میلیون)	pH	شوری (قسمت در هزار)	تعویض روزانه آب (درصد)
۲۷/۱±۰/۹	۶/۳ ± ۰/۵۵	۷/۵±۰/۱۵	۴۸ ± 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 ± خطای استاندارد).

		شاهد	تیمار ۱	تیمار ۲
وزن (گرم)	روز ۰	۷/۶۲±۰/۰۱^{a}	۷/۶۴±۰/۰۶^{a}	۷/۶۸±۰/۰۷^{a}
	روز ۲۱	۱۲/۰۲±۰/۰۸^{a}	۱۲/۰۸±۰/۲۵^{a}	۱۲/۶۴±۰/۰۲^{a}
	روز ۴۲	۱۶/۰۶±۰/۲۶^{a}	۱۵/۹۹±۰/۴۷^{a}	۱۶/۶۵±۰/۳۰^{a}
طول (سانتی‌متر)	روز ۰	۷/۲۶±۰/۰۱^{a}	۷/۲۹±۰/۰۱^{a}	۷/۲۱±۰/۰۱^{a}
	روز ۲۱	۷/۵۹±۰/۰۸^{a}	۷/۵۸±۰/۲۲^{a}	۷/۷۶±۰/۱۲^{a}
	روز ۴۲	۸/۷۷±۰/۲۲^{a}	۸/۵۰±۰/۱۶^{a}	۸/۵۸±۰/۰۸^{a}
شاخص وضعیت	روز ۰	۱/۹۹±۰/۰۱^{a}	۱/۹۷±۰/۰۱^{a}	۲/۰۴±۰/۰۲^{a}
	روز ۲۱	۲/۷۴±۰/۱۰^{a}	۲/۷۹±۰/۲۳^{a}	۲/۷۰±۰/۱۳^{a}
	روز ۴۲	۲/۳۹±۰/۲۰^{a}	۲/۶۰±۰/۰۸^{a}	۲/۶۳±۰/۰۴^{a}

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

جدول ٤: ضریب تبدیل غذایی، ضریب کارایی پروتئین و نرخ رشد ویژه بچه ماهیان صبیتی (*Sparidentex hasta*) در طول آزمایش بر اساس تیمارهای مختلف (میانگین ± خطای استاندارد).

		شاهد	تیمار ۱	تیمار ۲
ضریب تبدیل غذایی	دوره ۱	۳/۷۹±۰/۲۶^{a}	۳/۵۵±۰/۰۱^{a}	۳/۳۹±۰/۰۴^{a}
	دوره ۲	۴/۶۱±۰/۰۸^{ab}	۴/۹۹±۰/۳۴^{ab}	۴/۵۷±۰/۲۷^{ab}
	کل	۴/۲۰±۰/۱۳^{ab}	۴/۲۷±۰/۰۸^{ab}	۳/۹۸±۰/۱۱^{ab}
ضریب کارایی پروتئین	دوره ۱	۰/۵۵±۰/۰۵^{a}	۰/۵۶±۰/۰۱^{a}	۰/۵۷±۰/۰۳^{a}
	دوره ۲	۰/۴۵±۰/۰۱^{ab}	۰/۳۵±۰/۰۲^{a}	۰/۴۰±۰/۰۱^{ab}
	کل	۰/۵۱±۰/۰۳^{ab}	۰/۴۶±۰/۰۱^{ab}	۰/۴۹±۰/۰۲^{ab}
نرخ رشد ویژه (درصد در روز)	دوره ۱	۲/۲۷±۰/۰۳^{a}	۲/۲۸±۰/۱۴^{a}	۲/۴۹±۰/۰۴^{a}
	دوره ۲	۱/۴۴±۰/۱۱^{a}	۱/۳۹±۰/۲۱^{a}	۱/۳۷±۰/۰۹^{a}
	کل	۱/۸۶±۰/۰۴^{a}	۱/۸۴±۰/۰۸^{a}	۱/۹۳±۰/۰۴^{a}

*حروف متفاوت در هر ردیف نشانه وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشد

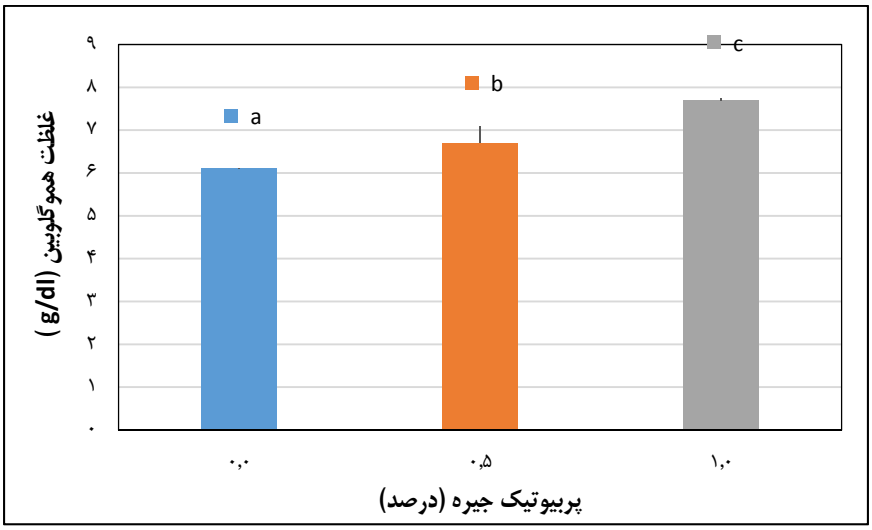
نتایج مربوط به پارامترهای ایمنی غیراختصاصی تیمارهای مختلف در جدول ۵ آمده است. ایمنوگلوبولین کل، فعالیت لیزوزیم، فعالیت کمپلمان پلاسما و فعالیت باکتری‌کشی پلاسما و موکوس اختلاف‌معنی‌داری رابین گروه شاهد و تیمارهای ۰/۵ و ۱ درصد پربیوتیک نشان ندادند (P ۰/۰۵ <).

اثرات سطوح مختلف پربیوتیک 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 اختلاف‌معنی‌داری رابین گروه شاهد و تیمار ۰/۵ و ۱ درصد پربیوتیک نشان داد (P < ۰/۰۵). علاوه بر این، بین تیمارهای ۰/۵ و ۱ درصد پربیوتیک ازنظر میزان پارامترهای مذکور اختلاف‌معنی‌داری مشاهده شد (P < ۰/۰۵). همچنین یک‌روند افزایشی ازنظر میزان این پارامترها در طول آزمایش بین تیمارهای آزمایشی وجود داشت، طوری که بیشترین میزان این سه پارامتر در تیمار ۱ درصد پربیوتیک و کمترین میزان آن در گروه شاهد مشاهده شد. بااین‌حال، تعداد گلبول‌های سفید بین تیمارهای مختلف پربیوتیک و گروه شاهد تفاوت معنی‌داری نشان نداد (P > ۰/۰۵).

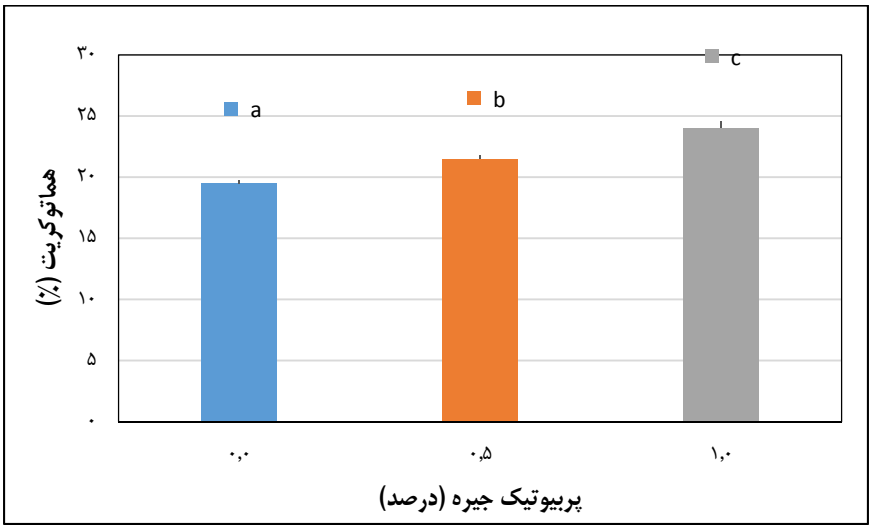
جدول ۵: پاسخ ایمنی غیراختصاصی پلاسما و موکوس بچه ماهیان صبیتی(*Sparidentex hasta*) در پایان آزمایش بر اساس تیمارهای مختلف (میانگین ± خطای استاندارد).

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

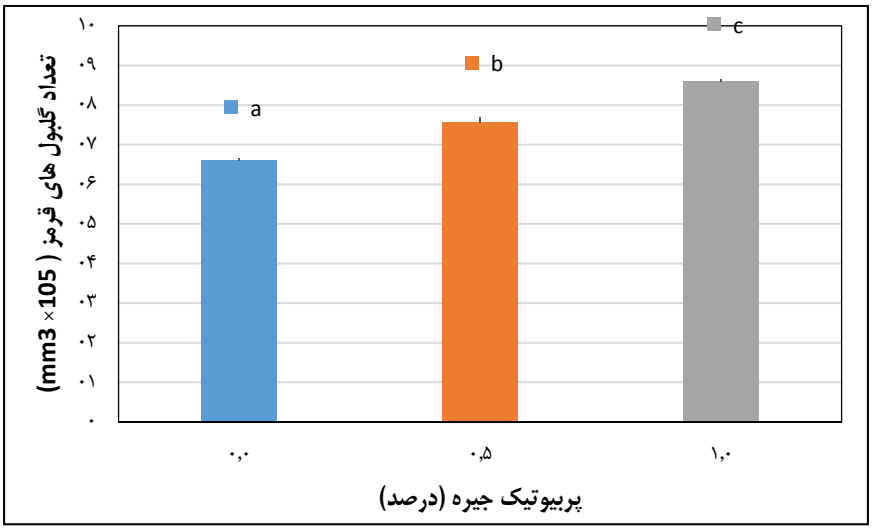
*نبود حروف متفاوت در هر ردیف نشانه عدم وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشد



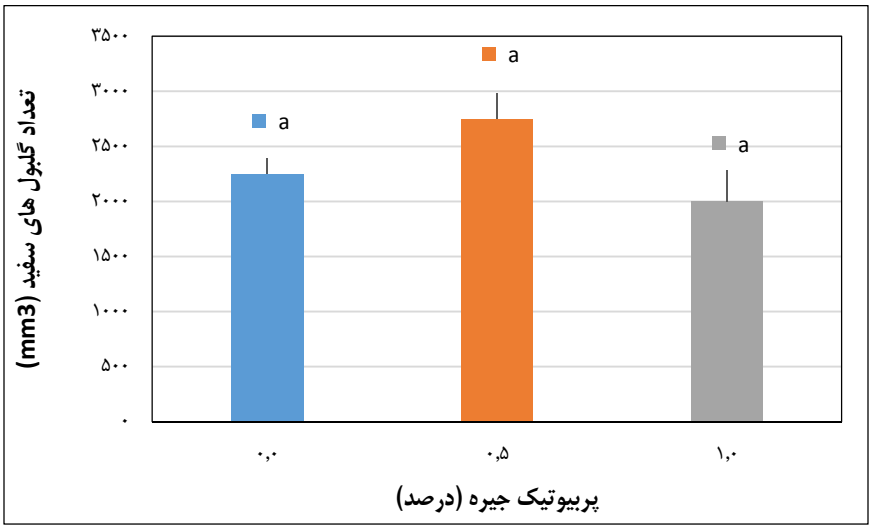
شکل ۱: غلظت هموگلوبین بچه ماهیان صبیتی (*Sparidentex hasta*) بعد از ٤٢ روز تغذیه با سطوح مختلف پربیوتیک (میانگین ± خطای استاندارد).



شکل ۲: درصد هماتوکریت بچه ماهیان صبیتی (*Sparidentex hasta*) بعد از ٤٢ روز تغذیه با سطوح مختلف پربیوتیک (میانگین ± خطای استاندارد).



شکل ۳: تعداد گلبول‌های قرمز بچه ماهیان صبیتی (*Sparidentex hasta*)بعد از ٤٢ روز تغذیه با سطوح مختلف پربیوتیک (میانگین ± خطای استاندارد).



شکل ٤: تعداد گلبول‌های سفید بچه ماهیان صبیتی (*Sparidentex hasta*) بعد از ٤٢ روز تغذیه با سطوح مختلف پربیوتیک (میانگین ± خطای استاندارد).

بحث و نتیجه‌گیری

غذا یکی از پرهزینه‌ترین بخش‌های آبزی‌پروری است و بهینه‌سازی آن می‌تواند نقش بسیار مهمی را در کاهش هزینه‌های تولید به همراه داشته باشد. در همین راستا گزارش‌های مختلفی در خصوص استفاده از پربیوتیک‌ها در جیره غذایی آبزیان پرورشی ارائه‌شده است. نتایج به‌دست‌آمده از این مطالعه نشان داد که پس از ۴۲ روز تغذیه با پربیوتیک در دو سطح، اختلاف معنی‌داری در شاخص‌های رشد و تغذیه ماهیان در مقایسه با گروه شاهد بوجود نیامد. بدین معنی که استفاده از پربیوتیک زایلواولیگوساکارید اثرات منفی در وزن نهایی، طول نهایی، شاخص وضعیت، نرخ رشد ویژه،

ضریب تبدیل غذایی و ضریب کارایی پروتئین بچه ماهیان صبیتی نداشت. عدم وجود اختلاف‌معنی‌دار را می‌توان به کم بودن سطوح انتخابی پربیوتیک 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 پربیوتیک آرابینوزایلواولیگوساکارید (AXOS) گزارش کردند که میزان وزن نهایی، ضریب تبدیل غذایی، ضریب رشد ویژه ماهیان تغذیه‌شده با این پربیوتیک به نسبت تیمار شاهد معنی‌دار نبود. Hosseinifar و همکاران در سال ۲۰۱۱ به بررسی تأثیر پربیوتیک اولیگوفروکتوز بر عملکرد رشد و تغذیه فیل‌ماهی (*Huso huso*) پرداخته و اختلاف معنی‌داری رابین تیمارها مشاهده نکردند. همچنین استفاده از سطوح متفاوت پربیوتیک مانان الیگوساکارید به مدت ۴۵ روز در بچه ماهیان کپور پرورشی (*Cyprinus carpio*) سبب افزایش رشد و کارآیی تغذیه در بین تیمارها به‌صورت معنی‌دار نشد (اکرمی و همکاران، ۱۳۹۱). از سویی دیگر، تأثیر استفاده از سطوح متفاوت پربیوتیک اینولین به مدت ۴۵ روز به جیره ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) نشان داد که وزن نهایی، نرخ رشد ویژه، فاکتور وضعیت، نسبت کارآیی 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 پربیوتیک 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 موردبررسی قرار داده و تأثیر معنی‌داری را مشاهده نکردند. Mahiuos و همکاران در سال ۲۰۰۵ و ۲۰۰۷ نشان داند که استفاده از پربیوتیک‌های اینولین، اُلیگوفروکتوز و لاکتوسوکروز 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 به‌دست‌آمده با مطالعات دیگر ممکن است به علت اختلاف نوع و میزان پربیوتیک مصرفی، درجه خلوص پربیوتیک، 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 پربیوتیک جیره تأثیر معنی‌داری بر میزان فعالیت لایزوزیم پلاسما ندارد. مشابه با نتایج تحقیق حاضر Grisdale-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 پربیوتیک 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 ژاپنی (*Paralichthys olivaceus*) و در ماهی کلمه پس از تغذیه با سطوح متفاوت پربیوتیک اختلاف معنی‌دار نشان داد (Ye *et al*., 2011; Soleimani *et al*., 2012). لیزوزیم سرم خون ماهی قزل آلای رنگین‌کمان تغذیه‌شده با پربیوتیک اینولین به مدت ۶۰ روز به‌طور معنی‌داری در مقایسه با گروه شاهد بالاتر بود (شیخ الاسلامی 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 پربیوتیک به ترتیب مانان اولیگوساکارید، آربینواولیگوساکارید 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 پربیوتیک‌ها نسبت به گروه شاهد افزایش داشت. از طرف دیگر، Cerezuela و همکاران در سال ۲۰۰۸ بیان کردند که پربیوتیک 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 پربیوتیک‌ها 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 به‌واسطه تحریک تکثیر سلول‌های B، افزایش قدرت بیگانه‌خواری ماکروفاژها و افزایش مهاجرت ماکروفاژها دارا هستند؛ ازاین‌رو 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 رویارویی باکتریایی برای ماهیان وجود نداشت، اما میزان فعالیت ضد باکتریایی موکوس و پلاسما علیه باکتری *Aeromonas hydrophila* به‌عنوان یک شاخص مهم ایمنی مورد ارزیابی قرار گرفت. در مطالعه حاضر میزان فعالیت ضد باکتریایی پلاسما و موکوس ماهیان به‌صورت معنی‌داری تغییر نکرد، بااین‌حال فعالیت ضد باکتریایی موکوس ماهیان به شکل جالب‌توجهی در تیمار ۱ درصد زایلواولیگوساکارید نسبت سایر تیمارها افزایش یافت. متأسفانه مطالعه‌ای در مورد اثرات پربیوتیک بر روی میزان فعالیت ضد باکتریایی موکوس و پلاسما ماهیان در دست نیست و مطالعات بیشتری برای روشن شدن اثرات پربیوتیک بر این فاکتورها نیاز است. ایمنوگلوبولین، 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 ایمنوگلوبولین کل ماهیان در مطالعه حاضر با تغییر سطح پربیوتیک جیره اختلاف معنی‌داری را نشان نداد. شیخ‌الاسلامی امیری و همکاران در سال ۱۳۸۹ ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان را با سطوح مختلف پربیوتیک اینولین تغذیه نموده و گزارش کردند که اینولین در سطوح ۰/۵ و ۲ درصد باعث افزایش معنی‌دار میزان ایمونوگلوبین کل سرم در مقایسه با تیمار شاهد در پایان هفته دوم شد، بااین‌حال، در پایان هفته اول میزان ایمونوگلوبین کل سرم در تیمارهای مختلف و شاهد اختلاف معنی‌داری نشان نداد. Akrami و همکاران (۲۰۱۲) و Soleimani و همکاران (۲۰۱۲) گزارش کردند که ایمونوگلوبین کل سرم خون ماهی حوض و ماهی کلمه تغذیه‌شده با پربیوتیک 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 پربیوتیک جیره کمتر از آن بوده است که بتواند میزان ایمونوگلوبین 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 پربیوتیک بالاتر از گروه شاهد بود. طاعتی و همکاران (۱۳۹۲) در تغذیه فیل‌ماهی جوان با سه سطح از پربیوتیک 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 پربیوتیک 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 پربیوتیک 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 پربیوتیک بر شاخص‌های خونی ماهی صبیتی 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 پربیوتیک مصرفی، درجه خلوص پربیوتیک 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 رابین 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 پربیوتیک زایلواولیگوساکارید یا سطوح انتخابی آن نمی‌توانند در ماهی صبیتی سیستم ایمنی را تحریک کند.

به‌طورکلی مطالعه حاضر نشان داد که پربیوتیک جیره تأثیر معنی‌داری بر عملکرد رشد، تغذیه و پاسخ ایمنی غیراختصاصی بچه ماهی صبیتی در طول دوره موردمطالعه ندارد؛ اما فاکتورهای خونی ماهیان به‌صورت معنی‌داری تحت تأثیر پربیوتیک جیره قرار گرفت. از این مطالعه می‌توان نتیجه گرفت که پربیوتیک 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 پربیوتیک مانان‌الیگوساکارید 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 پرِبیوتیک 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.

حسینی‌فر، ح.، میرواقفی، ع.، مجازی امیری، ب.، خوشباور رستمی، ح. و درویش بسطامی، ک.، ۱۳۹۰. بررسی تأثیر پرِبیوتیک 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 پرِبیوتیک 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 پرِبیوتیک مانان‌الیگوساکارید بر برخی پارامترهای هماتولوژیک و بیوشیمیایی سرم خون فیل‌ماهی (*Huso huso*) جوان پرورشی. مجله دامپزشکی ایران، دوره هشتم، شماره ۲، صفحات ۲۱-۱۲.

سلیمانی‌فر، ن.، حسینی‌فر، ح.، براتی، م. و حسن آبادی، ز.، ۱۳۹۱. بررسی اثرات پرِبیوتیک 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.، ۱۳۷٤. تشخیص، پیشگیری و درمان بیماری‌ها و مسمومیت‌های ماهی ، معاونت تکثیروپروش آبزیان- اداره کل آموزش و ترویج، چاپ اول، ص ۷۶.

شیخ الاسلامی امیری، م.، یوسفیان، م.، یاوری، و.، صفری، ر. و قیاسی، م.، ۱۳۸۹. بررسی تأثیر پرِبیوتیک اینولین بر فاکتورهای سیستم ایمنی و مقاومت ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در برابر باکتری استرپتوکوک. مجله زیست‌شناسی ایران، جلد ۲۴، شماره ۲، صفحات ۳۱۲-۳۰۳.

طاعتی، ر.، تاتینا، م. و بهمنی، م.، ۱۳۹۲. تأثیر محرک‌های ایمنی ایمنواستر و ایمنووال بر شاخص‌های خونی، بیوشیمیایی و ایمنی فیل‌ماهیان جوان پرورشی (*Huso huso*). مجله تحقیقات دامپزشکی، دوره ۶۸، شماره ۲، ۱۸۲-۱۷۵.

علیشاهی، م.، ۱۳۸۹. مقدمه‌ای بر ایمنی‌شناسی آبزیان (ترجمه)، انتشارات دانشگاه شهید چمران، چاپ اول، ص ۵۱۴.

فاطمی، س. ا. و میرزرگر، س. س.، ۱۳۸٦. 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 streptococosis 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.

Grisdle-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 immunogolobulin (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 Lieffrig, 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., Jyotyrmayee, 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. Prebiotics 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 lmmunology and lmmunopathology, 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.