

اثر مقطعی استفاده از پریوتیک مانان الیگوساکارید و بتا-۱ و

۳- گلوکان در عملکرد رشد، ترکیب لاشه و فعالیت لیزوزیم

سرم ماهی قزل آلائی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

❖ **امیرحسین ناصری:** کارشناس ارشد تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد آزادشهر، آزادشهر، آزادشهر، ایران

❖ **رضا اکرمی*:** استادیار گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد آزادشهر، آزادشهر، ایران

چکیده

اثر مقطعی استفاده از پریوتیک مانان الیگوساکارید و بتا-۱ و ۳- گلوکان در شاخص رشد، ترکیب لاشه و فعالیت لیزوزیم سرم ماهی قزل آلا با وزن اولیه 0.16 ± 0.19 به مدت ۶ هفته بررسی شد. ماهیان به میزان ۱/۵ گرم پریوتیک در هر کیلوگرم غذا با چهار استراتژی تغذیه شدند که شامل تیمار شاهد: تغذیه با جیره پایه بدون مکمل پریوتیک، تیمار ۱: تغذیه مداوم با جیره حاوی مکمل پریوتیک، تیمار ۲: تغذیه با جیره حاوی پریوتیک به مدت یک هفته، سپس، تغذیه با جیره پایه بدون پریوتیک به مدت یک هفته و تیمار ۳: تغذیه با جیره حاوی پریوتیک به مدت ۲ روز و در ادامه تغذیه با جیره پایه بدون پریوتیک به مدت ۵ روز بود. در عملکرد رشد و تغذیه بین استراتژی‌های مختلف تغذیه‌ای تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($P > 0.05$). بیشترین محتوای پروتئین لاشه در تیمار شاهد ($P < 0.05$) و بیشترین محتوای چربی لاشه در تیمار ۲ ($P < 0.05$) مشاهده شد. بیشترین میزان فعالیت لیزوزیم سرم در تیمار مداوم پریوتیک معادل ۵۳/۸۹ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و کمترین میزان مربوط به تیمار شاهد معادل ۱۶/۸۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر مشاهده شد ($P < 0.05$). این تحقیق نشان داد به کارگیری مداوم پریوتیک در مقایسه با استفاده مقطعی آن از کارایی بهتری برخوردار است.

واژگان کلیدی: پریوتیک، قزل آلائی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*)، لیزوزیم، مانان الیگوساکارید و بتا-۱ و ۳- گلوکان، مقطعی.

۱. مقدمه

ماهی قزل‌آلا با دارابودن ویژگی‌های خاص از جمله کیفیت گوشت، اهلی‌شدن سریع و آسان، سخت‌گیر نبودن در غذاگیری، امکان پرورش متراکم، طول نسبتاً کوتاه دوره پرورش و مقاومت به طیف وسیعی از شرایط فیزیکوشیمیایی محیط، از گونه‌های مهم و تجاری در ایران و جهان برای تأمین پروتئین مورد نیاز جوامع بشری به‌شمار می‌رود (Hardy, 2000). پرورش این‌گونه همواره با مشکلاتی نیز روبه‌رو بوده است که از آن جمله می‌توان به تغییرات کیفیت آب، شیوع بیماری‌ها و مشکلات تغذیه‌ای اشاره کرد، به گونه‌ای که شیوع بیماری به‌منزله مشکل عمده آبی‌پروری، گسترش اقتصادی این بخش را در بسیاری از کشورهای جهان منجمله ایران تحت تأثیر قرار داده و همواره راه‌حلی نیز برای برطرف کردن این مشکلات ارائه شده است که موفقیت چندانی نداشته‌اند. با توجه به سیستم پرورش متراکم ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، تقویت سیستم ایمنی ماهی در برابر شرایط استرس‌زا و بیماری‌ها ضروری است (Alishahi et al., 2010). از جمله در بخش کنترل بیماری‌ها، می‌توان به استفاده از داروهای پادزیست (آنتی‌بیوتیک‌ها) اشاره کرد، اما استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها و داروهای شیمیایی در آبی‌پروری در چند سال گذشته تبعاتی را به دنبال داشته است که از جمله می‌توان به خطر مقاوم‌شدن پاتوژن به این داروها، باقی‌ماندن داروها در گوشت ماهیان تغذیه‌شده انسان و آلودگی‌های زیست‌محیطی اشاره کرد (Tangestani et al., 2011). لذا شرایط ایجاب می‌کند که برای ارتقای میزان مقاومت آن‌ها و افزایش

رشد و بازماندگی از ترکیبات مناسبی در جیره غذایی این‌گونه استفاده شود تا در نهایت تولیدات آن‌ها افزایش یابد (Ahmadifar et al., 2009) که از جمله این ترکیبات می‌توان به پریبیوتیک‌ها (Prebiotic) اشاره کرد. پریبیوتیک‌ها عناصر غذایی غیر قابل هضمی به‌شمار می‌روند که از طریق تحریک رشد یا فعال‌کردن یک یا تعداد محدودی از گونه‌های باکتریایی که در روده وجود دارند، آثار سودمندی در میزبان دارند و سلامتی آن را بهبود می‌بخشند (Gibson and Roberfroid., 1995). عناصر غذایی که به‌منزله پریبیوتیک طبقه‌بندی می‌شوند باید خواصی از جمله هضم و جذب‌نکردن در بخش‌های فوقانی دستگاه گوارش، تخمیر گزینشی از طریق یک یا تعدادی از باکتری‌های مفید روده و تحریک فلور میکروبی روده به تولید ترکیبات سالم داشته باشند (Fooks and Gibson, 2002). تولید اسیدهای چرب زنجیره کوتاه و اسیدلاکتیک ناشی از تخمیر پریبیوتیک به کاهش pH روده منجر می‌شود که شرایط مناسبی را برای رشد باکتری‌های اسیدلاکتیک فراهم می‌کند (Schley and Field, 2002). مانان الیگوساکارید کربوهیدراتی پیچیده است که از دیواره سلولی مخمر *Saccharomyces cerevisiae* مشتق شده است. این ترکیبات شامل مانوز به‌منزله عنصر اولیه کربوهیدرات است و مانع اتصال و کلونیزه‌شدن باکتری‌های بیماری‌زا به دستگاه گوارش می‌شود و آثار معکوس متابولیت‌های میکروفلور را کاهش می‌دهد (Savage et al., 1997). همچنین، این ترکیب پریبیوتیکی حاوی مقادیر ویژه و مؤثری از بتا-۱ و ۳-گلوکان‌هاست که ترکیب اصلی غشای سلول مخمر ساکارومایسیس

قطعه در ۱۲ حوضچه فیبرگلاس ۵۰۰ لیتری در قالب طرح کاملاً تصادفی به مدت ۶ هفته و در ۳ تکرار برای هر تیمار در شرایط یکسان پرورشی آزمایش شدند. پریوتیک مانان الیگوساکارید و بتا-۱ و ۳-گلوکان (با نام تجاری تکنوموس) استفاده شده در این تحقیق به میزان ۱/۵ گرم در هر کیلوگرم به جیره تجاری ماهی قزل‌آلای (حاوی ۳۹ درصد پروتئین، ۱۸ درصد چربی و ۱۹/۰۲ مگاژول در کیلوگرم انرژی ناخالص) افزوده شد. سپس، با چهار استراتژی شامل تیمار شاهد: تغذیه با جیره تجاری پایه بدون مکمل پریوتیک مانان الیگوساکارید و بتا-۱ و ۳-گلوکان به مدت ۶ هفته، تیمار ۱: تغذیه مداوم با مکمل پریوتیک به مدت ۶ هفته، تیمار ۲: تغذیه با جیره حاوی پریوتیک به مدت یک هفته سپس، تغذیه با جیره شاهد بدون پریوتیک به مدت یک هفته و تکرار این عمل تا هفته ششم، تیمار ۳: تغذیه با جیره حاوی پریوتیک به مدت ۲ روز و در ادامه تغذیه با جیره بدون پریوتیک به مدت ۵ روز سپس، ادامه این فرایند تا هفته ششم (Bai et al, 2010) به ماهیان خورنده شد. ماهیان به میزان ۴ درصد وزن بدن ۳ بار در روز (ساعات ۸:۰۰، ۱۲:۰۰، ۱۶:۰۰) به مدت ۶ هفته تغذیه شدند. برای اتصال پریوتیک به جیره از روغن مایع آفتابگردان به میزان ۳۰ سی سی به ازای هر کیلوگرم خوراک استفاده و در تیمار شاهد نیز روغن به همان نسبت به جیره اضافه شد. طی دوره آزمایش میانگین دمای آب $16/3 \pm 1/4$ ، میانگین اکسیژن محلول $8/7 \pm 0/47$ میلی‌گرم در لیتر و میانگین pH $7/2 \pm 0/07$ بود. هر ۲ هفته یک بار به منظور بررسی فاکتورهای رشد، بیومتری ماهیان هر

سرویسه است. این ترکیبات، مولکول‌های پلی‌ساکاریدی بزرگی محسوب می‌شوند که کربوهیدرات گلوکز با زنجیره جانبی ۱ و ۳ را دربر می‌گیرند و به وسیله آنزیم‌های گلوکاناز تجزیه نمی‌شوند. بتاگلوکان‌ها می‌توانند از غشای مخاطی سلول‌های بافت روده عبور و با تحریک ماکروفاژها به منزله اولین خط دفاعی داخلی بدن به افزایش قدرت سیستم ایمنی کمک کنند. استفاده مقطعی از محرک‌های ایمنی مختلف ممکن است بخش‌های مختلف سیستم ایمنی ماهی و میگو را تحریک و مشکل ناشی از افت ایمنی را در صورت استفاده مداوم محرک‌های ایمنی برطرف کند (Bai et al, 2010). در حال حاضر گزارشی مبنی بر استفاده مقطعی محرک‌های ایمنی در ماهی قزل‌آلای منتشر نشده است. لذا با توجه به اهمیت تقویت سیستم ایمنی در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان که صنعت پرورش آن در حال حاضر در کشور به خوبی توسعه یافته است در این مطالعه آثار استفاده از پریوتیک مانان الیگوساکارید و بتاگلوکان به صورت پیوسته و مقطعی در فاکتورهای رشد، ترکیب شیمیایی بدن و فعالیت لیزوزیم سرم خون انجام شد.

۲. مواد و روش کار

این تحقیق در کارگاه آموزشی و پژوهشی آبی‌پروری دانشگاه آزاد اسلامی واحد آزادشهر (استان گلستان) انجام شد. پس از سازگاری اولیه و عادت‌پذیری ماهیان با غذای دستی استفاده شده در آزمایش تعداد ۳۶۰ قطعه بچه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با وزن اولیه $19/6 \pm 0/6$ گرم با تراکم ۳۰

شد. سپس، ۱۵۰ میکرولیتر سوسپانسیون باکتری میکروکوکوس لیزودیکتیکوس (*Micrococcus lysodeikticus*) تهیه شده 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 نانومتر از طریق دستگاه الیزا ریدر مارک Bio-Tek ساخت امریکا اندازه گیری و پس از یک ساعت نگهداری در دمای اتاق، مجدداً جذب نوری اندازه گیری شد. لیزوزیم سفیده تخم مرغ لیوفلیزه شده (سیگما) نیز به منظور ترسیم منحنی استاندارد استفاده شد.

برای انجام محاسبات آماری ابتدا آزمون نرمالیتی به وسیله آزمون Shapiro-Wilk انجام شد. سپس، تجزیه و تحلیل روی داده های مربوط به تغییرات معیارهای رشد، فاکتورهای تغذیه ای، ترکیب شیمیایی بدن و فعالیت لیزوزیم سرم از طریق آزمون تجزیه واریانس یکطرفه (ANOVA) و مقایسه میانگین بین تیمارها بر اساس آزمون چنددامنه ای دانکن (Duncans multiple-range test) استفاده شد. وجود یا نبود اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد با استفاده از نرم افزار SPSS (Ver. 18) انجام گرفت.

۳. نتایج

نتایج بررسی عوامل رشد و تغذیه حاکی از نبود اختلاف معنی دار بین استراتژی های مختلف تغذیه ای با پرپیوتیک بود ($p > 0.05$)، با این حال ماهیان تغذیه شده با پرپیوتیک و با استراتژی پیوسته و مداوم در وزن نهایی، افزایش وزن، درصد افزایش وزن، نرخ رشد ویژه، ضریب تبدیل غذایی، نسبت کارایی پروتئین و فاکتور وضعیت نسبت به استراتژی های مقطعی و شاهد از کارایی بهتری برخوردار بودند (جدول ۱).

تیمار انجام می شد. ماهیان به منظور کاهش استرس هنگام زیست سنجی، با استفاده از عصاره گل میخک (۱۰۰ ppm) بیهوش می شدند (Karampour behesht abad, 2011) همچنین، غذادهی به آنها به مدت ۱۲ ساعت قبل و بعد از زیست سنجی قطع شد. پس از اتمام دوره پرورش به منظور بررسی ترکیب لاشه ماهیان پس از اطمینان از تخلیه کامل محتویات شکم؛ از هر تیمار ۳ ماهی به طور تصادفی انتخاب و پس از خارج کردن امعاء و احشاء، لاشه آنها منجمد شد و به آزمایشگاه انتقال یافت. میزان پروتئین لاشه با استفاده از دستگاه کج‌دال، چربی لاشه با دستگاه سوکسله، رطوبت با قرار دادن در آون در دمای ۱۰۵ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت و برای سنجش خاکستر از کوره الکتریکی هریوس آلمانی با دمای ۵۵۰ درجه سانتی گراد به مدت ۴ ساعت استفاده شد (AOAC, 1990). در انتهای دوره آزمایش برای سنجش فعالیت لیزوزیم سرم خون از ماهیان خونگیری و بدین منظور تعداد ۹ قطعه ماهی به طور تصادفی از هر تیمار آزمایشی انتخاب شد و با سرنگ ۲ سی سی از ورید ساقه دمی خونگیری به عمل آمد. سپس، نمونه های خون برای جداسازی پلاسما درون دستگاه سانتریفوژ مدل eppendorf 5415D با سرعت ۳۶۰۰ دور در ثانیه به مدت ۱۰ قرار داده شدند. پس از جداسازی، پلاسما فوراً به فریزر دارای دمای ۲۰- درجه سانتی گراد منتقل و تا زمان انجام آزمایش ها نگهداری شد (Alishahi et al., 2010). برای تعیین میزان لیزوزیم از روش ارائه شده (Sahoo et al, 2006) استفاده شد. به این منظور ۱۵ میکرولیتر پلاسما به پلیت های ۹۶ خانه ای شکل الیزا افزوده

جدول ۱. مقایسه شاخص رشد و اعلام بازماندگی (میانگین \pm انحراف معیار) ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان تغذیه شده با استراتژی‌های مختلف تغذیه با پریبیوتیک پس از ۶ هفته

تیمار	شاهد	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳
وزن نهایی (گرم)	۶۹/۴۶ \pm ۳/۰۲	۷۷/۶۸ \pm ۲/۷	۷۷/۱۲ \pm ۱۰/۶۳	۶۸/۴۵ \pm ۱۰/۰۹
درصد افزایش وزن بدن	۲۵۰/۶۳ \pm ۷/۶۵	۳۰۱/۵۵ \pm ۱۱/۹۵	۲۹۷/۸۳ \pm ۴۵/۲۹	۲۴۴/۰۵ \pm ۴۶/۳۱
نرخ رشد ویژه (درصد در روز)	۲/۴۶ \pm ۰/۰۴	۲/۷۲ \pm ۰/۰۶	۲/۷۰ \pm ۰/۲۲	۲/۴۱ \pm ۰/۲۶
ضریب تبدیل غذایی (گرم)	۱/۶۵ \pm ۰/۱۷	۱/۴۳ \pm ۰/۰۴	۱/۴۷ \pm ۰/۱۲	۱/۴۶ \pm ۰/۰۹
نسبت کارایی پروتئین (گرم)	۱/۵۲ \pm ۰/۱۸	۱/۷۴ \pm ۰/۰۴	۱/۷۱ \pm ۰/۱۴	۱/۷۱ \pm ۰/۱۲
فاکتور وضعیت (درصد)	۱/۱۵ \pm ۰/۰۴	۱/۱۸ \pm ۰/۰۲	۱/۰۷ \pm ۰/۱۲	۱/۰۷ \pm ۰/۰۳

تیمار شاهد: تغذیه با جیره تجاری و پایه بدون مکمل پریبیوتیک به مدت ۶ هفته؛

تیمار ۱: تغذیه مداوم با مکمل پریبیوتیک به مدت ۶ هفته؛

تیمار ۲: تغذیه با جیره حاوی پریبیوتیک به مدت یک هفته سپس، تغذیه با جیره شاهد بدون پریبیوتیک به مدت یک هفته و تکرار این عمل تا هفته ششم؛

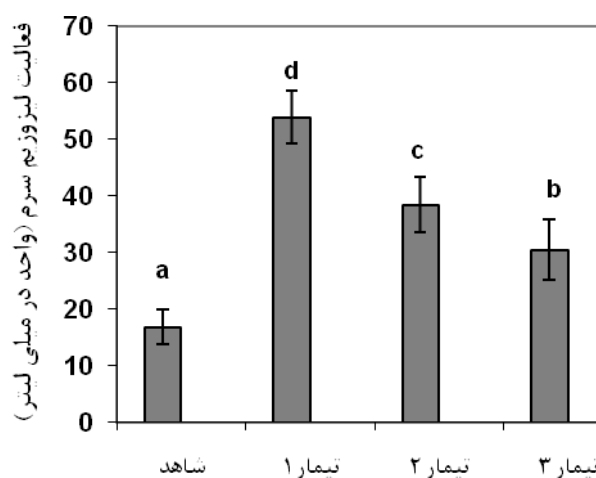
تیمار ۳: تغذیه با جیره حاوی پریبیوتیک به مدت ۲ روز و در ادامه تغذیه با جیره بدون پریبیوتیک به مدت ۵ روز. سپس ادامه این فرایند تا هفته ششم.

تأثیر جیره‌های حاوی سطوح مختلف پریبیوتیک مانان الیگوساکارید و بتا-۱ و ۳-گلوکان در ترکیب شیمیایی بدن بچه ماهیان قزل‌آلای در جدول ۲ ارائه شده است. نتایج آنالیز لاشه از نظر پروتئین، چربی و خاکستر در بین تیمارها تفاوت معنی‌داری را نشان داد ($P < 0.05$) به طوری که بیشترین میزان پروتئین، چربی و خاکستر به ترتیب در تیمارهای شاهد، تیمار ۲ (تغذیه با جیره حاوی پریبیوتیک به مدت یک هفته سپس، تغذیه با جیره پایه بدون پریبیوتیک به مدت یک هفته) و تیمار ۳ (تغذیه با جیره حاوی پریبیوتیک به مدت ۲ روز و در ادامه تغذیه با جیره پایه بدون پریبیوتیک به مدت ۵ روز) مشاهده شد.

تأثیر استراتژی‌های مختلف تغذیه ماهیان با پریبیوتیک مانان الیگوساکارید و بتا-۱ و ۳-گلوکان پس از ۶ هفته در فعالیت لیزوزیم سرم خون ماهیان نشان داد (شکل ۱) که میزان لیزوزیم سرم در ماهیان تغذیه شده با استراتژی‌های مختلف پریبیوتیکی چه به صورت مداوم و چه به صورت مقطعی در مقایسه با گروه شاهد از افزایش معنی‌داری برخوردار است ($P < 0.05$). بیشترین مقدار این شاخص معادل ۵۳/۸۹ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر مربوط به تیمار مداوم ریوتیکی و کمترین مقدار این شاخص معادل ۱۶/۸۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر مربوط به تیمار شاهد بود.

جدول ۲. مقایسه ترکیب شیمیایی بدن ماهیان قزل‌آلای تغذیه‌شده با استراتژی‌های مختلف تغذیه با پربیوتیک در انتهای آزمایش

تیمار	شاهد	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳
پروتئین	۱۹/۰۲±۰/۳۸ ^b	۱۸/۲۳±۰/۹۱ ^a	۱۸/۴۳±۱/۰۵	۱۸/۳۹±۰/۴۰ ^{ab}
چربی	۵/۶۵±۰/۵۸ ^a	۶/۲۴±۰/۴۶ ^{bc}	۶/۶۰±۰/۵۸ ^c	۵/۸۳±۰/۴۴ ^{ab}
خاکستر	۲/۲۴±۰/۱۵ ^a	۲/۷۶±۰/۲۷ ^b	۲/۸۵±۰/۳۸ ^{bc}	۳/۱۰±۰/۳۳ ^c



شکل ۱. میانگین (+ انحراف معیار) فعالیت لیزوزیم سرم (واحد در میلی‌لیتر) ماهیان قزل‌آلای تغذیه‌شده با استراتژی‌های مختلف پربیوتیکی.

نمودار حدافل یک حرف مشابه روی ستون‌ها ($a > b > c$) نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین ستون‌هاست ($P < 0.05$).

تیمار شاهد: تغذیه با جیره تجاری و پایه بدون مکمل پربیوتیک به مدت ۶ هفته؛

تیمار ۱: تغذیه مداوم با مکمل پربیوتیک به مدت ۶ هفته؛

تیمار ۲: تغذیه با جیره حاوی پربیوتیک به مدت یک هفته سپس، تغذیه با جیره شاهد بدون پربیوتیک به مدت یک هفته و تکرار این عمل تا هفته ششم؛

تیمار ۳: تغذیه با جیره حاوی پربیوتیک به مدت ۲ روز و در ادامه تغذیه با جیره بدون پربیوتیک به مدت ۵ روز. سپس، ادامه این فرایند تا هفته ششم.

۴. بحث و نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج بررسی حاضر مشخص شد به کارگیری استراتژی‌های مختلف تغذیه‌ای با پربیوتیک مانان الیگوساکارید و بتا-۱ و ۳-گلوکان در جیره بچه ماهیان قزل‌آلا در مقایسه با گروه شاهد تأثیر

معنی‌داری در شاخص‌های رشد و تغذیه ندارد ($P > 0.05$) اگرچه ماهیان تغذیه‌شده با استراتژی مداوم پربیوتیکی در سطح ۱/۵ گرم بر کیلوگرم نسبت به سایر استراتژی‌های تغذیه‌ای قابلیت تأثیرگذاری مثبت و افزایشی را به دنبال داشتند. نتایج مشابهی در

ایمنی بتاگلوکان و glycyrrhizin در میگوی پاسبید غربی (*Litopenaeus vannamei*) با استراتژی ۲ روز تغذیه با مکمل ایمنی و ۵ روز تغذیه با جیره پایه بیشترین تأثیر را روی رشد و ایمنی داشت (Bai et al., 2010). عدم قطعیت در نتایج گزارش شده محققان مختلف را احتمالاً می‌توان به نوع گونه پرورشی، اندازه، سن گونه پرورشی، مدت تجویز پربیوتیک، نوع پربیوتیک انتخابی، نوع استراتژی تغذیه، نحوه اضافه کردن پربیوتیک به جیره، شرایط محیطی بهداشتی نگهداری موجود، رفتارهای تغذیه‌ای، خصوصیات فیزیولوژیک موجود و فرمولاسیون جیره غذایی نسبت داد که ممکن است در تأثیرات متفاوت پربیوتیک روی رشد و بازماندگی نقش داشته باشد (Akrami et al., 2013). پربیوتیک‌ها با تأثیر در باکتری‌های مفید روده سبب افزایش حجم باکتری‌های مفید روده می‌شوند و در نهایت با افزایش قابلیت هضم‌پذیری روی برخی از ترکیبات مفید در ترکیبات بدن نیز تأثیرگذار خواهند بود. میزان پروتئین لاشه در بدن ممکن است تحت تأثیر جیره‌های حاوی پربیوتیک قرار گیرد اگرچه به نظر می‌رسد این واکنش بسته به گونه ماهی متفاوت باشد (Helland et al., 2008). نتایج تحقیق حاضر حاکی از تفاوت معنی‌دار در میزان پروتئین، چربی و خاکستر لاشه در بین تیمارهای آزمایشی بود. Jahanjoo در سال ۲۰۱۲ در تحقیقی که روی ماهی خواجه (*Schizothorax zarudnyi*) با افزودن سطوح مختلف مانان الیگوساکارید انجام داد تفاوت معنی‌داری را در محتوای ترکیب لاشه مشاهده کرد که نتایج مطالعه حاضر را تأیید می‌کند. اما Gultepe و همکاران و Dimitroglou و همکاران در سال ۲۰۱۰ با افزودن

خصوص نبود اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای پربیوتیکی و گروه شاهد در فیل ماهی جوان تغذیه شده با مانان الیگوساکارید (*Huso huso*) (Ghobadi et al., 2011)، ماهی تیلاپیا (*Oreochromis niloticus*) تغذیه شده با مانان الیگوساکارید (Sado et al., 2008)، ماهی سیم دریایی (*Sparus aurata*) تغذیه شده با مانان الیگوساکارید (Dimitroglou et al., 2010) گزارش شده است. بهبود عملکرد رشد و تغذیه در استراتژی مداوم پربیوتیکی شاید به این دلیل باشد که پربیوتیک مانان الیگوساکارید و بتا-۱ و ۳-گلوکان از طریق اتصال به گیرنده‌های شبه‌لکتین روی لکوسیت‌ها و افزایش تکثیر ماکروفاژها سبب تحریک سیستم ایمنی شده است (Cerezuela et al., 2008). همچنین، گزارش شده است که محرک‌های ایمنی به گیرنده‌های ویژه‌ای روی سطح سلول فاگوسیت‌ها و لنفوسیت‌ها می‌چسبند و با تولید آنزیم‌هایی عوامل بیماری‌زا را تخریب می‌کنند. علاوه بر این، می‌توانند برخی انتقال‌دهندگان شیمیایی نظیر اینترفرون، اینترلوکین و پروتئین‌های کمپلمان را تولید کنند که سبب تحریک سیستم ایمنی و افزایش فعالیت لنفوسیت B و T می‌شوند (Raa et al., 1992). بر خلاف یافته‌های تحقیق حاضر افزودن مانان الیگوساکارید به جیره ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) (Karampour behesht abad, 2011) و تغذیه گونه سیم دریایی (*Sparus aurata*) با مانان الیگوساکارید (Gulpe et al., 2010) به تفاوت معنی‌داری در شاخص‌های رشد و تغذیه منجر شد که با نتایج تحقیق حاضر مغایرت داشت. بر خلاف نتایج تحقیق گزارش شده است که استفاده مقطعی محرک

(گلوبول‌های سفید) از منابع اصلی تولید لیزوزیم به شمار می‌روند. دلیل افزایش لیزوزیم و به تبع آن تقویت ایمنی غیراختصاصی را می‌توان به تخمیر این فرآورده پریبوتیکی از طریق سلول‌های انتروسیت روده و در نتیجه تأثیر مناسب آن در سیستم ایمنی مرتبط دانست (Akrami et al., 2013). در تأیید یافته این تحقیق نتایج مشابهی به دنبال استفاده از پریبوتیک مانان الیگوساکارید در جیره ماهی تیلاپیا (Andrews et al., 2008) و ماهی روهو (Sado et al., 2009) گزارش شده است. همچنین، نتیجه مشابهی به واسطه افزودن پریبوتیک‌های مختلف نظیر FOS، MOS، TOS و GBA به میزان ۱۰ گرم در کیلوگرم در جیره ماهی Red drum گزارش شده است (Buntello et al., 2010). در اختلاف با نتایج تحقیق ما افزودن پریبوتیک مانان الیگوساکارید به جیره ماهی تیلاپیا (Hisano et al., 2007) و گربه‌ماهی روگاهی (*Ictalurus punctatus*) (Welker et al., 2007) به افزایش معنی‌داری در لیزوزیم سرم منجر نشد. در مجموع نتایج این تحقیق نشان داد که افزودن ۱/۵ گرم پریبوتیک مانان الیگوساکارید و بتا-۱ و -۳ گلوکان در هر کیلوگرم جیره غذایی با استراتژی مداوم تغذیه‌ای در مقایسه با استراتژی مقطعی می‌تواند در بهبود عملکرد رشد و ایمنی ماهیان قزل‌آلای پرورشی مؤثر واقع شود.

مانان الیگوساکارید به میزان ۲ و ۴ گرم به جیره غذایی ماهی سیم دریایی (*Sparu aurata*) تفاوت معنی‌داری را در محتوای ترکیب شیمیایی بدن مشاهده نکردند که با نتایج تحقیق حاضر مغایرت داشت. لیزوزیم پارامتر مهم دفاعی در مهره‌داران و بی‌مهرگان است. لیزوزیم آنزیم ضد باکتریایی است که از طریق لوکوسیت‌ها و به خصوص مونوسیت‌ها، ماکروفاژها و نوتروفیل‌ها تولید می‌شود (Alishahi et al., 2010). این آنزیم پپتیدوگلیکان را در دیواره باکتری‌ها می‌شکند و بدین ترتیب به طور غیراختصاصی از رشد میکروارگانیزم‌های بیماری‌زا جلوگیری می‌کند. لیزوزیم در تسهیل بیگانه‌خواری نیز مشارکت دارد که این فرایند پاسخ ایمنی است که سبب تسهیل عمل فاگوسیتوز می‌شود. همچنین، به نظر می‌رسد این آنزیم فعالیت ضد ویروسی دارد و در نتیجه به‌منزله بخش مهم از مکانیزم دفاع غیراختصاصی به شمار می‌رود. دیده شده ماهیانی که فعالیت لیزوزیم در خون آن‌ها بالاتر است، فعالیت ضد باکتریایی بیشتری در برابر باکتری‌های گرم منفی و مثبت دارند (Choi et al., 2008). نتایج تحقیق حاضر نشان داد که مکمل پریبوتیکی استفاده‌شده در این مطالعه در سطح ۱/۵ گرم در هر کیلوگرم در استراتژی‌های مختلف تغذیه‌ای سبب تحریک سیستم ایمنی در ماهی قزل‌آلای می‌شود. لکوسیت‌ها

References

- [1]. Ahmadifar, E., Jalali, M.A., Sudagar, M., Azari takami, Gh., Mohammadi Zaraj Abad, A., 2009. Effects of AquaVac Ergosan on growth performance, survival And haematological factors in beluga (*Huso huso*) juvenile. Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources 16,72- 80.
- [2]. Akrami , R., Iri, Y., Khoshbavar Rostami, H.A., 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 & Shellfish Immunology 35,1235-1239.
- [3]. Alishahi, M., Ranjbar, M.M., Ghorbanpour, M., Peyghan, R., Mesbah, M., Razi, J.M., 2010. Effects of dietary aloe vera on some specific and nonspecific immunity in the common carp (*Cyprinus carpio*). International Journal of Veterinary Research 4,189-195.
- [4]. Andrews S.R., Sahu, N.P., Pal, A.K., Kumar, S., 2009. Haematological modulation and growth of *Labeo rohita* fingerlings: effect of dietary mannan oligosaccharide, yeast extract, protein hydrolysate and chlorella. Aquaculture Research 41, 61-69.
- [5]. AOAC (Association of Official Analytical Chemists), 1990. Official method of analysis AOAC, Washington DC, USA.1263P.
- [6]. Bai, n., Zhang, W., Mai, K., Wang, X., Xu, W., Ma, H., 2010. Effects of discontinuous administration of β -glucan and glycyrrhizin on the growth and immunity of white shrimp *Litopenaeus vannamei*. Aquaculture 306 , 218–224.
- [7]. 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.
- [8]. Cerezuela, R., Cuesta, A., Meseguer, J., Esteban, A., 2008. Effect of inulin on Gilthead seabream (*Sparus aurata*) innate immune parameters. Fish & Shellfish Immunology 24,663-668.
- [9]. Choi, S-H., Park, K-H., Yoon, T-J., Kim, J-B., Jang, Y-S., Choe, C.H., 2008. Dietary Korean mistletoe enhances cellular non-specific immune responses and survival of Japanese eel (*Anguilla japonica*). Fish & Shellfish Immunology 24,67-73.
- [10]. Dimitroglou, A., Merrifield, D.L., Spring, P., Sweetman, J., Moate, R. Davies, S.J., 2010. Effects of mannan oligosaccharide (MOS) supplementation on growth performance, feed utilisation, intestinal histology and gut microbiota of gilthead sea bream (*Sparus aurata*). Aquaculture 300: 182-188.
- [11]. Fooks, L.J., Gibson, G.R., 2002. Probiotic as a modulators of the gut flora. The British Journal of Nutrition 1, S39-49.
- [12]. Ghobadi, Sh., Razeghi Mansour, M., Akami, R., Amani danji, K., Esmaili mola, A., 2011. Effect of dietary different levels of mannan oligosaccharide and growth performance, body composition and lactobacillus in beluga (*Huso huso*) juvenile cultivated. Journal of Khorramshahr Marine Science and Technology 10,67-77.
- [13]. Gibson, G.R., Roberfroid, M. B., 1995. Dietary modulation of the colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. Journal of Nutrition. Vol. 125, pp. 1401- 1412.
- [14]. Gultepe, N., Salnur, S., Hossu, B., Hisar, O., 2010. Dietary supplementation with Mannan oligosaccharides (MOS) from Bio-Mos enhances growth parameters and digestive capacity of gilthead sea bream (*Sparus aurata*). Aquaculture Nutrition 17: 482-487.

- [15]. Hardy, R.W., Sugiura, S.H., Babbitt, J.K., Dong, F.M., 2000. Utilization of fish and animal by-product meals in low-pollution feeds for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture Research* 31, 585-593.
- [16]. Helland, B.G., Helland, S.J., 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.
- [17]. 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, 35-42.
- [18]. Jahanjoo, V., 2012, Effect of dietary mannan oligosaccharide on growth performance, survival, body composition in *Schizothorax zarudnyi*, MSc. thesis. Department of Fisheries, Islamic Azad University, Azadshahr Branch, 64 pp.
- [19]. Karampour behesht abad, A., 2011. Effect of dietary different levels of mannan oligosaccharide on growth performance, survival, body composition in Common carp (*Cyprinus carpio*), MSc. thesis. Department of Fisheries, Islamic Azad University, Azadshahr Branch, 65pp.
- [20]. Raa, R., Robertson, B., Sung, H., 1992. The use of immunostimulants to increase resistance of aquatic organisms to microbial infections. In: *Diseases in Asian Aquaculture 1*, Asian Fisheries Society, Manila, Philippines, pp. 39-50.
- [21]. Tangestani, R., Alizadeh Doughikollaee, E., Ebrahimi, E., Zare, P., 2011. Effect of garlic essential oil as immunostimulation on hematological indices of juvenile beluga (*Huso huso*). *Journal of Veterinary Research* 66, 209-216.
- [22]. Sado, R. J., Bicudo, A. J. D. A., Cyrino, 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.
- [23]. Sahoo, P.K., 2006. Immune competent organs in teleosts. In: Swain, P. Sahoo, P.K. & Ayyappan, S. (Eds) *Fish & shellfish immunology*, Navendra Publishing House, Dehli. pp. 1-12.
- [24]. Savage, T.F., Zakrzewska, E.I., Andersen, J.R., 1997. The effects of feeding mannan oligosaccharide supplemented diets to poult on performance and morphology of the small intestine. *Poultry Science* 76, 139-143
- [25]. Schley, P. D., Field, C. J., 2002. The immune-enhancing effects of dietary fibres and prebiotics. *The British Journal of Nutrition*. 87, 221-230.
- [26]. 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, 24-35.