شیلات، مجله منابع طبیعی ایران
دوره ۶۷، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۲

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۴/۱۸
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۷/۱۰

ص ۵۱۱-۵۲۲

اثر سطوح مختلف پربیوتیک دیوارهٔ سلولی مخمر *Saccharomyces cerevisiae* در رشد، بقا، بازماندگی و شاخص‌های خونی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

❖ **مهران جواهری بابلی*:** استادیار گروه شیلات، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران
❖ **نوال دائر:** دانشجوی کارشناسی‌ارشد گروه شیلات، پردیس علوم و تحقیقات خوزستان، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران

چکیده

این پژوهش به منظور ارزیابی تأثیر پربیوتیک دیوارهٔ سلولی مخمر *Saccharomyces cerevisiae* به اختصار (YCW) در شاخص‌های رشد، تغذیه، درصد بازماندگی، شاخص‌های خونی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) بررسی شد. تعداد ۶۰۰ قطعه قزل‌آلا با وزن متوسط (۱±۲۰) گرم به ۴ تیمار و ۳ تکرار (در هر تکرار ۵۰ قطعه ماهی) تقسیم شدند. تیمارهای ۱،۲، ۳ و ۴ به ترتیب با جیره‌های حاوی ۰، ۰/۵، ۱/۵ و ۲/۵ گرم پربیوتیک دیوارهٔ سلولی مخمر *Saccharomyces cerevisiae* به مدت ۶۰ روز تغذیه شدند. نتایج نشان داد وزن بدن قزل‌آلای رنگین‌کمان در تیمار شاهد (تیمار ۱)، تیمار ۲، تیمار ۳ و تیمار ۴ به ترتیب ۳۰/۷۰±۰/۳۵، ۲۰/۶۰±۰/۴۸، ۵۲/۴۰±۰/۵۰، ۵۲/۳۰±۰/۱۵ گرم بود. بالاترین میزان وزن بدن در دورهٔ ۶۰ روز پرورش در تیمار ۳ مشاهده شد که نسبت به تیمار شاهد دارای اختلاف معنی‌دار بود، اما با تیمار ۲/۵ گرم اختلاف معنی‌دار نداشت (P>۰/۰۵). طول بدن قزل‌آلای رنگین‌کمان در تیمار شاهد (تیمار ۱)، تیمار ۲، تیمار ۳ و تیمار ۴ به ترتیب ۱۶/۱±۰/۰۵، ۱۶/۴±۰/۰۳، ۱۶/۸±۰/۰۳، ۱۶/۷±۰/۰۵ سانتی‌متر بود. به طوری که در دورهٔ پرورش مقادیر مختلف ۰/۵، ۱/۵ و ۲/۵ گرم پربیوتیک دیوارهٔ سلولی مخمر *Saccharomyces cerevisiae* اختلاف معنی‌داری بین تیمار شاهد و تیمارهای ۰/۵، ۱/۵ و ۲/۵ گرم در کیلوگرم جیرهٔ غذایی تأثیری در طول ماهیان پرورشی مشاهده شد (P<۰/۰۵) و فقط بین تیمار ۱/۵ و ۲/۵ گرم با هم اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد (P>۰/۰۵). افزودن پربیوتیک دیوارهٔ سلولی مخمر *Saccharomyces cerevisiae* به جیرهٔ غذایی ماهیان انگشت‌قد قزل‌آلای رنگین‌کمان تأثیری در افزایش درصد بازماندگی نداشته است. در این تحقیق پربیوتیک دیوارهٔ سلولی مخمر *Saccharomyces cerevisiae* با این‌که در تعداد فاکتورهای خونی شامل گلبول‌های قرمز (RBC) و هماتوکریت (HCT) تأثیر نداشت (P>۰/۰۵)، ولی در میزان هموگلوبین و اندیس‌های گلبولی نمونه‌های قزل‌آلای رنگین‌کمان در تیمارهای مختلف آزمایشی تفاوت معنی‌داری مشاهده شد (P<۰/۰۵). همچنین همهٔ شاخص‌های رشد در تیمارهای تغذیه‌شده با پربیوتیک دیوارهٔ سلولی مخمر *Saccharomyces cerevisiae* با تیمار شاهد تفاوت معنی‌دار داشتند (P<۰/۰۵) و باعث بهبود این شاخص‌ها نسبت به تیمار شاهد شدند.

واژگان کلیدی: بازماندگی، دیوارهٔ سلولی مخمر *Saccharomyces cerevisiae*، رشد، شاخص‌های خونی، قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*).

* نویسندهٔ مسئول : ۰۹۱۶۶۰۲۹۰۶۳
Email: mehranjavaheri@gmail.com

۱. مقدمه

استفاده از فنّاوری‌های نوین در افزایش بهره‌وری و کاهش هزینهٔ تولید از جمله موارد بااهمیت در آبزی‌پروری پایدار است. بیشترین تلاش در آبزی‌پروری پایدار بهینه‌سازی تغذیه و غذا برای گونه‌های مهم ماهیان تجاری قابل پرورش است (Mahious *et al*., 2005 ; Li *et al*., 2008).

پربیوتیک‌ها مکمل‌های غذایی‌اند که برای تحریک پاسخ ایمنی، افزایش مقاومت به عوامل بیماری‌زا، عملکرد بهبود در رشد و در آبزی‌پروری به منظور استفاده در تغذیهٔ گونه‌های ماهی و میگو در راستای تسریع رشد و کنترل بیماری‌ها استفاده می‌شوند (Montero *et al*., 1999 ; Salze *et al*., 2008 ; Staykov *et al*., 2007). استفاده از پربیوتیک‌ها در آبزی‌پروری باعث کاهش سطح ترکیبات آنتی‌باکتریال به‌کاررفته در آبزی‌پروری و بهبود اشتها، افزایش میزان غذای مصرف‌شده و نرخ رشد در گونه‌های پرورشی تغذیه‌شده می‌شود. مهم‌ترین ویژگی پربیوتیک‌ها کاهش بیماری و بهبود ضریب تبدیل غذایی بدون هر گونه رسوب بافتی در آبزی است. به عبارت دیگر استفاده از محرک‌های رشد پربیوتیک در کیفیت گوشت آبزیان تغذیه‌شده تأثیرات منفی ندارد (Irianto and Austin, 2002).

اما ماده‌ای که به‌منزلهٔ پربیوتیک انتخاب می‌شود باید مشخصه‌ها و معیارهای خاصی داشته باشد (Gibson *et al*., 1998; Mahious and Ollevier, 2005) که شامل: ۱. هیدرولیز یا جذب‌نشدن در بخش‌های بالایی دستگاه گوارش؛ ۲. تخمیر به وسیلهٔ باکتری‌های بالقوه مفید روده؛ ۳. تغییر ترکیب میکروفلور روده‌ای به سمت ترکیبی سالم‌تر؛ ۴. ترجیحاً دارای تأثیرات سودمندی در سلامتی میزبان باشد. از بین کربوهیدرات‌ها، اکثراً الیگوساکاریدهای غیر قابل هضم و به خصوص الیگوساکاریدهای حاوی فروکتوز به‌منزلهٔ پربیوتیک در نظر گرفته می‌شوند (Ziemer and Gibson, 1998).

با وجود مشخص‌شدن تأثیرات مفید پربیوتیک‌ها، تحقیقات بسیار کمی در این زمینه انجام شده و هنوز بسیاری از جنبه‌های افزودن پربیوتیک به جیره مشخص نشده است (Mahious and Ollevier, 2005). علاوه بر این، مهم‌ترین محصول نهایی متابولیسم برخی پربیوتیک‌ها اسیدهای چرب زنجیره‌کوتاه و به طور عمده شامل استات، پروپیونات و بوتریات‌اند و مواد دیگری شامل اکتات، پیرووات، اتانول، هیدروژن و سوکسینات نیز به وجود می‌آیند (Mahious *et al*., 2005).

پربیوتیک دیوارهٔ سلولی مخمر *Saccharomyces cerevisiae* حاوی ۳۰٪ مانان الیگوساکارید حاصل از دیوارهٔ خارجی مخمر ساکارمیسیس سرویزیه و ۱۲٪ ۱و۳- بتاگلوکان است. بتاگلوکان‌ها و مانان الیگوساکاریدها پلی‌ساکاریدهایی متشکل از واحدهای گلوکزند که از دیوارهٔ سلولی مخمرها، قارچ‌ها و جلبک‌های بزرگ به دست می‌آیند (Li and Galtin, 2004; Salze *et al*., 2008). تاکنون تحقیقی دربارهٔ این پربیوتیک در تغذیه، رشد و شاخص‌های خونی ماهیان انجام نشده است، البته تحقیقات مشابه دربارهٔ دیگر پربیوتیک‌ها انجام شده است که از این موارد می‌توان به تأثیرات پربیوتیک اینولین در ایمنی سلولی شانک سرطلایی (*Sparus aurata*) (Cerezuela *et al*., 2007)، تأثیر پربیوتیک‌های اینولین و

الیگوفروکتوز در تاس‌ماهی سیبری (*Acipenser baerii*) و گربه‌ماهی افریقایی (*Clarias gariepinus*) (Mahious *et al.*, 2007)، تأثیر پربیوتیک مانان الیگوساکارید در گربه‌ماهی روگاهی (*Ictalurus punctatus*) (Wekler *et al.*, 2007)، تأثیرات پربیوتیک مانان الیگوساکارید در ماهیان جوان پرورشی تیلاپیا (*Oreochromis niloticus*) (Sado *et al.*, 2008)، اثر اینولین در فیل‌ماهی پرورشی (*Huso huso*) (Akrami *et al.*, 2009)، تأثیر استفاده از پربیوتیک‌های ایمنووال و ایمنوستر (حاوی ۱۹/۳٪ مانان الیگوساکارید حاصل از دیوارهٔ خارجی مخمر ساکارمیسیس سرویزیه[1] و ۲۲٪ ۱و۳- بتاگلوکان) در رشد بچه‌ماهیان فیل‌ماهی (*Huso huso*) (Taati *et al.*, 2011) اشاره کرد.

با توجه به این‌که تاکنون تحقیقی دربارهٔ اثر پربیوتیک دیوارهٔ سلولی مخمر *Saccharomyces cerevisiae* که از دیوارهٔ سلولی مخمر گرفته شده و حاوی مقادیر مناسبی مانان الیگوساکارید، بتاگلوکان و فیبر است صورت نگرفته است. هدف این تحقیق تأثیرات این پربیوتیک در شاخص‌های رشد، بقا، بازماندگی و شاخص‌های خونی بچه‌ماهیان انگشت‌قد قزل‌آلای رنگین‌کمان بود.

۲. مواد و روش‌ها

این تحقیق در مجتمع تکثیر و پرورش ایزدی واقع در روستای کوخدان از توابع شهرستان دنا در استان کهگیلویه و بویراحمد انجام شد. ۱۲ عدد مخزن یکسان با حجم ۳۵۰ لیتری به سالن سرپوشیده که به منظور استفاده دورهٔ پرورش ۶۰ روزه در نظر گرفته شده بود منتقل و به صورت توزیع کاملاً تصادفی در سالن مستقر شد. بچه‌ماهیان انگشت‌قد با وزن تقریبی ۱±۲۰ به صورت کاملاً تصادفی و دسته‌های ۵۰تایی از آبراهه‌های پرورشی تحت شرایط کنترل‌شده و مناسب به سالن پرورش منتقل شدند.

پربیوتیک دیوارهٔ سلولی مخمر *Saccharomyces cerevisiae*، از شرکت شفق داروی پارسیان تهیه شد. این پربیوتیک حاوی ۳۰٪ مانان الیگوساکارید حاصل از دیوارهٔ خارجی مخمر ساکارمیسیس سرویزیه و ۱۲٪ ۱و۳- بتاگلوکان است.

جیرهٔ پایهٔ آزمایشی مورد استفاده به صورت پلت‌شده و با سایز EX-FFT1 و EX-FFT2 از شرکت فرادانه فارسان استان چهارمحال و بختیاری تهیه شد که ترکیبات آن شامل ۴۰ درصد پروتئین خام، ۱۴ درصد چربی، ۱۱ درصد رطوبت و ۳/۵ درصد فیبر خام بود. طی دورهٔ پرورش به منظور تغذیهٔ تیمارها از ۴ نوع جیرهٔ متفاوت به شرح زیر استفاده شد (Mazurkiewicz *et al.*, 2008):

تیمار ۱: جیرهٔ پایهٔ آزمایشی بدون افزودن پربیوتیک؛

تیمار ۲: جیرهٔ پایهٔ آزمایشی به اضافهٔ مقدار ۰/۵ گرم پربیوتیک دیوارهٔ سلولی مخمر *Saccharomyces cerevisiae* در هر کیلوگرم از جیره؛

تیمار ۳: جیرهٔ پایهٔ آزمایشی به اضافهٔ مقدار ۱/۵ گرم پربیوتیک دیوارهٔ سلولی مخمر *Saccharomyces cerevisiae* در هر کیلوگرم از جیره؛

تیمار ۴: جیرهٔ پایهٔ آزمایشی به اضافهٔ مقدار ۲/۵ گرم پربیوتیک دیوارهٔ سلولی مخمر *Saccharomyces cerevisiae* در هر کیلوگرم از جیره.

پس از بیهوش‌کردن ماهی با مادهٔ بیهوشی

1. Saccharmyces cerevisiae

MS222 با نام تجاری FINQUEL از ورید ساقه‌دمی به وسیلهٔ سرنگ ۲ سی‌سی خون‌گیری صورت گرفت و پس از شماره‌گذاری میکروتیوپ‌ها یک نمونه در میکروتیوپ‌های حاوی مادهٔ ضد انعقاد هپارین به منظور انجام‌دادن آزمایش‌های خون‌شناسی جمع‌آوری شد سپس، سرم خون با استفاده از سانتریفیوژ (۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه)، جدا شد و نمونه‌های اخذشده برای اندازه‌گیری و سنجش پارامترهای خون‌شناسی بلافاصله پس از اتمام نمونه‌گیری آزمایش شدند.

پس از اتمام دورهٔ پرورش، ماهیان موجود در هر تیمار شمارش و با استفاده از فرمول زیر درصد بازماندگی هر یک از تیمارها و تکرارها محاسبه شد (Taati *et al*., 2011):

$$survivalrate = (Nt - N۰) \otimes ۱۰۰ \qquad (۱)$$

N_t= تعداد بچه‌ماهیان در ابتدای دورهٔ آزمایش، N_0= تعداد بچه‌ماهیان در انتهای دورهٔ آزمایش.

با استفاده از اعداد و ارقام حاصل از زیست‌سنجی‌های ابتدا و انتهای دوره و از طریق فرمول‌های زیر نتایج مربوط به شاخص کیفیت، درصد افزایش وزن بدن، میزان نرخ رشد ویژه، ضریب تبدیل غذایی و میزان کارایی پروتئین حاصل شد.

شاخص کیفیت (Taati *et al*., 2011):

$$CF = \frac{W}{L^۳} \otimes ۱۰۰ \qquad (۲)$$

CF: شاخص کیفیت، W: وزن ماهی (وزن تر به گرم)، L: طول ماهی (سانتی‌متر)

درصد افزایش وزن بدن (Taati *et al*., 2011):

$$\%BWG = \frac{B_{wf} - B_{wi}}{B_{wi}} \otimes ۱۰۰ \qquad (۳)$$

%BWG : درصد افزایش وزن بدن، BW_f : وزن نهایی (گرم)، BW_i : وزن اولیه (گرم)

نرخ رشد ویژه (Grisdale-Helland *et al*., 2009):

$$\%SGR = \frac{\ln w_f - \ln w_۱}{t_۲ - t_۱} \otimes ۱۰۰ \qquad (۴)$$

W_f: وزن نهایی (گرم)، W_i: وزن اولیه (گرم)، (t2 – t1): تعداد روزهای آزمایش

ضریب تبدیل غذایی (Grisdale-Helland *et al*., 2009):

$$FCR = \frac{F}{W_f - W_۱} \qquad (۵)$$

FCR : ضریب تبدیل غذایی، F: غذای مصرفی (وزن خشک به گرم)، W_f :وزن نهایی (وزن تر به گرم)، W_i: وزن اولیه (وزن تر به گرم)

میزان کارایی پروتئین (Grisdale-Helland *et al*., 2009):

$$PER = \frac{BW_F - BW_۱}{AP} \qquad (۶)$$

BW_f : وزن نهایی (گرم)، BW_i : وزن اولیه (گرم)، AP: پروتئین مصرفی

هموگلوبین به روش استاندارد سیانومت هموگلوبین و پس از مخلوط‌کردن ۰/۰۲ میلی‌لیتر خون با ۵ سی‌سی محلول درابکین (معرف سیانومت هموگلوبین) و پس از گذشت ۱۰ دقیقه از زمان مخلوط‌کردن نمونه به وسیلهٔ دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری بر حسب گرم در دسی‌لیتر محاسبه شد (Feldman *et al*., 2000).

هماتوکریت یا PCV (Packed cell volume) به همان روش متداول میکروهماتوکریت با استفاده از

لوله‌های میکروهماتوکریت و سانتریفیوژ نمونه به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه با استفاده از سانتریفیوژ میکروهماتوکریت صورت گرفت.

شمارش کلی گلبول‌های قرمز (Total Red Blood Cell) ماهی به روش دستی و با استفاده از لام هموسیتومتر نئوبار صورت گرفت. برای این کار و به منظور رقیق‌کردن نمونه از محلول رقیق‌کنندهٔ نات ـ هریک (Natt- Herrick) استفاده شد. تعداد سلول شمارش‌شده در ضریب رقت یعنی عدد ۱۰۰۰۰ ضرب شد و تعداد گلبول‌های قرمز در میلی‌لیتر مکعب خون محاسبه شد (Thrall, 2004). اندیس‌های گلبولی یعنی حجم متوسط گلبولی (MCV)، میزان متوسط هموگلوبین گلبولی (MCH) و غلظت متوسط هموگلوبین گلبول‌های قرمز (MCHC) با استفاده از فرمول‌های استاندارد موجود محاسبه شد (Thrall, 2004).

(۷)

تعداد گلبول‌های قرمز (میلیون در میلی‌متر مکعب)/ ۱۰ × هماتوکریت (درصد) =MCV

واحد آن نیز میکرومتر مکعب یا فمتولیتر است (هر فمتولیتر مساوی $۱۰^{۱۰}$ لیتر است).

(۸)

تعداد گلبول‌های قرمز (میلیون در میلی‌متر مکعب)/ ۱۰× هموگلوبین (گرم در دسی‌لیتر) = MCH

این کمیت به پیکوگرم بیان می‌شود (هر پیکوگرم برابر $۱۰^{۱۲}$گرم است).

(۹)

هماتوکریت (درصد)/ ۱۰۰× هموگلوبین (گرم در دسی‌لیتر)= MCHC

MCHC شامل غلظت میانگین هموگلوبین در یک حجم مشخص از گلبول‌های قرمز متراکم است و از غلظت هموگلوبین و هماتوکریت محاسبه می‌شود. شمارش کلی گلبول‌های سفید (Total white Blood Cell) به روش مستقیم (هماسیتومتر) با رقیق‌کردن خون به نسبت ۱ به ۲۰۰ با محلول رقیق‌کنندهٔ نات ـ هریک صورت گرفت. سپس، تعداد کل گلبول‌های سفید در میلی‌متر مکعب خون با استفاده از فرمول زیر محاسبه می‌شد (Thrall, 2004).

(۱۰)

۲۰۰ × (۱۰ درصد + تعداد کل گلبول‌های سفید شمارش‌شده در ۹ مربع بزرگ) = تعداد کل گلبول‌های سفید

هر تراف به‌منزلهٔ یک واحد آزمایشی در نظر گرفته شد و داده‌های آماری به صورت میانگین±خطای استاندارد (Mean±standard Error of Mean) گزارش شدند. در این مطالعه همهٔ محاسبات آماری در دو نرم‌افزار SPSS20 و Microsoft office Excel 2007 انجام شد. از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA one-way) برای مقایسهٔ واریانس تیمارها و از آزمون چنددامنه‌ای دانکن (Duncans Multiple Range test) برای بررسی اختلاف معنی‌دار بین میانگین تیمارها استفاده شد. درصد اطمینان ۹۵٪ برای معنی‌داربودن تفاوت میانگین‌ها در نظر گرفته شد.

۳. نتایج

نتایج این تحقیق نشان داد که افزودن پربیوتیک دیوارهٔ سلولی مخمر *Saccharomyces cerevisiae* به جیرهٔ غذایی ماهیان انگشت‌قد قزل‌آلای رنگین‌کمان تأثیری در افزایش درصد بازماندگی نداشته است، به طوری

که طی دورهٔ پرورش هیچ‌گونه تلفاتی نه تنها از ماهیان تغذیه‌شده با دوزهای مختلف این پربیوتیک مشاهده نشد، بلکه تیمار شاهد نیز هیچ‌گونه تلفاتی را نشان نداد. در نتیجه با توجه به نتایج این تحقیق در انتهای دورهٔ آزمایش، از نظر آماری بین تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (P>۰/۰۵) (جدول۱).

وزن بدن قزل‌آلای رنگین‌کمان در تیمار شاهد (تیمار ۱)، تیمار ۲، تیمار ۳ و تیمار ۴ به ترتیب ۴۸/۷۰±۰/۳۵، ۵۰/۶۰±۰/۳۰، ۵۲/۴۰±۰/۲۰، ۵۲/۳۰±۰/۱۵ گرم بود. بالاترین میزان وزن بدن در دورهٔ ۶۰ روز پرورش در تیمار ۳ مشاهده شد که نسبت به تیمار شاهد دارای اختلاف معنی‌دار بود (P<۰/۰۵)، اما با تیمار ۲/۵ گرم اختلاف معنی‌دار نداشت (P>۰/۰۵). طول بدن قزل‌آلای رنگین‌کمان در تیمار شاهد (تیمار ۱)، تیمار ۲، تیمار ۳ و تیمار ۴، به ترتیب ۱۶/۱±۰/۰۵، ۱۶/۴±۰/۰۳، ۱۶/۸±۰/۰۳، ۱۶/۷±۰/۰۵ سانتی‌متر بود، به طوری که در دورهٔ پرورش دوزهای مختلف ۰/۵، ۱/۵ و ۲/۵ گرم پربیوتیک دیوارهٔ سلولی مخمر *Saccharomyces cerevisiae* اختلاف معنی‌داری بین تیمار شاهد و تیمارهای ۰/۵، ۱/۵ و ۲/۵ گرم در کیلوگرم جیرهٔ غذایی تأثیری در طول ماهیان پرورشی مشاهده شد (P<۰/۰۵) و تنها بین تیمار ۱/۵ و۲/۵ گرم با هم اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد (P>۰/۰۵).

شاخص وضعیت قزل‌آلای رنگین‌کمان در تیمار شاهد (تیمار ۱)، تیمار ۲، تیمار ۳ و تیمار ۴ به ترتیب ۱/۱۶±۰/۰۰۷، ۱/۱۴±۰/۰۱، ۱/۱۰±۰/۰۰۸، ۱/۱۲±۰/۰۰۹ درصد بود. بالاترین میزان شاخص وضعیت در دورهٔ ۶۰ روز پرورش در تیمار ۳ مشاهده شد که با تیمار ۴ اختلاف معنی‌داری نداشت (P>۰/۰۵). ضریب تبدیل غذایی جیرهٔ غذایی مورد استفاده برای قزل‌آلای رنگین‌کمان در تیمار شاهد (تیمار ۱)، تیمار ۲، تیمار ۳ و تیمار ۴ به ترتیب ۱/۱۶±۰/۰۱، ۱/۰۸±۰/۰۱ ، ۱/۰۲±۰/۰۰۶، ۱/۰۳±۰/۰۰۴ درصد بود. ضریب تبدیل غذایی در دورهٔ ۶۰ روز پرورش بین تیمارهای آزمایشی ۰/۵، ۱/۵ و ۲/۵ گرم در مقایسه با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده شد (P<۰/۰۵)، فقط تیمارهای ۱/۵ و ۲/۵ گرم با هم اختلاف معنی‌داری نداشت (P>۰/۰۵).

درصد افزایش وزن بدن قزل‌آلای رنگین‌کمان در تیمار شاهد (تیمار ۱)، تیمار ۲، تیمار ۳ و تیمار ۴ به ترتیب ۱۴۳/۵۰±۱/۷۵، ۱۵۳±۱/۵۲، ۱۶۲±۱/۰۴، ۱۶۱/۵۰±۰/۷۶ درصد بود. درصد افزایش وزن بدن در دورهٔ ۶۰ روز پرورش بین تیمارهای مختلف آزمایشی اختلاف معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵). در تیمارهای ۱/۵ و ۲/۵ گرم اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (P>۰/۰۵). نرخ رشد ویژهٔ قزل‌آلای رنگین‌کمان در تیمار شاهد (تیمار ۱)، تیمار ۲، تیمار ۳ و تیمار ۴ به ترتیب ۱/۴۸۳±۰/۰۱، ۱/۵۴۶±۰/۰۱، ۱/۶۰۵±۰/۰۰۶، ۱/۶۰۲±۰/۰۰۴ درصد بود. نرخ رشد ویژه در دورهٔ ۶۰ روز پرورش بین تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵). در تیمارهای ۱/۵ و ۲/۵ گرم اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (P>۰/۰۵). میزان پروتئین مصرفی قزل‌آلای رنگین‌کمان در تیمار شاهد (تیمار ۱)، تیمار ۲، تیمار ۳ و تیمار ۴ به ترتیب ۲/۱۵۳±۰/۰۲، ۲/۲۹۵±۰/۰۲، ۲/۴۳۰±۰/۰۱، ۲/۴۲۳±۰/۰۱۱ درصد محاسبه شد که بالاترین میزان پروتئین مصرفی در دورهٔ ۶۰ روز پرورش در تیمار ۳ مشاهده شد که با تیمار شاهد و تیمار ۲ اختلاف معنی‌داری

داشت (P<۰/۰۵)، اما با تیمار ۲/۵ گرم اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (P>۰/۰۵) (جدول۱).

گلبول‌های سفید قزل‌آلای رنگین‌کمان در تیمار شاهد (تیمار ۱)، تیمار ۲، تیمار ۳ و تیمار ۴ به ترتیب ۵/۷۷، ۸/۸۸، ۶/۴۴ و ۵/۵۵ تعداد در میکرولیتر بود. بالاترین میزان گلبول‌های سفید در دورهٔ ۶۰ روز پرورش در تیمار ۲ مشاهده شد که نسبت به سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵). گلبول‌های قرمز قزل‌آلای رنگین‌کمان در تیمار شاهد (تیمار ۱)، تیمار ۲، تیمار ۳ و تیمار ۴ به ترتیب ۱/۰۲، ۰/۸۹، ۰/۸۷ و ۰/۸۷ تعداد در میکرولیتر بود. میزان گلبول‌های قرمز در دورهٔ ۶۰ روز پرورش بین تیمارهای مختلف آزمایشی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (P>۰/۰۵).

شاخص هماتوکریت قزل‌آلای رنگین‌کمان در تیمار شاهد (تیمار ۱)، تیمار ۲، تیمار ۳ و تیمار ۴ به ترتیب ۳۹/۶۶، ۴۲/۱۶، ۴۲ و ۴۸ درصد بود. میزان هماتوکریت در دورهٔ ۶۰ روز پرورش بین تیمارهای مختلف آزمایشی اختلاف معنی‌داری نداشت (P>۰/۰۵) (جدول۲).

میزان هموگلوبین خون قزل‌آلای رنگین‌کمان در تیمار شاهد (تیمار ۱)، تیمار ۲، تیمار ۳ و تیمار ۴ به ترتیب ۳/۷۵، ۷/۵۹، ۵/۰۴ و ۴/۰۳ پیکوگرم در دسی‌لیتر محاسبه شد. بالاترین میزان هموگلوبین در دورهٔ ۶۰ روز پرورش در تیمار ۳ مشاهده شد که نسبت به سایر تیمارها دارای اختلاف معنی‌دار است (P<۰/۰۵). میزان حجم متوسط گلبولی خون قزل‌آلای رنگین‌کمان در تیمار شاهد (تیمار ۱)، تیمار ۲، تیمار ۳ و تیمار ۴ به ترتیب ۴۰۰/۳۸، ۴۸۶/۱۴، ۵۲۳/۹۰ و ۵۸۶/۸۶ فمتولیتر به دست آمد.

جدول ۱. مقایسهٔ شاخص‌های رشد تیمارهای مختلف پربیوتیک دیوارهٔ سلولی مخمر *Saccharomyces cerevisiae* طی دورهٔ پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (میانگین ±خطای استاندارد)

فاکتورهای رشد	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ۴
وزن نهایی بدن (W) (گرم)	۴۸/۷۰±۰/۳۵^{a}	۵۰/۶۰±۰/۳۰^{b}	۵۲/۴۰±۰/۲۰^{c}	۵۲/۳۰±۰/۱۵^{cd}
طول نهایی بدن (L) (سانتی‌متر)	۱۶/۱±۰/۰۵^{a}	۱۶/۴±۰/۰۳^{b}	۱۶/۸±۰/۰۳^{c}	۱۶/۷±۰/۰۵^{c}
شاخص وضعیت (CF)	۱/۱۶±۰/۰۰۷^{a}	۱/۱۴±۰/۰۱^{b}	۱/۱۰±۰/۰۰۸^{c}	۱/۱۲±۰/۰۰۹^{c}
ضریب تبدیل غذایی (FCR) (٪)	۱/۱۶±۰/۰۱^{c}	۱/۰۸±۰/۰۱^{b}	۱/۰۲±۰/۰۰۶^{a}	۱/۰۳±۰/۰۰۴^{a}
درصد افزایش وزن بدن (BWG) (٪)	۱۴۳/۵۰±۱/۷۵^{a}	۱۵۳±۱/۵۲^{b}	۱۶۲±۱/۰۴^{c}	۱۶۱/۵۰±۰/۷۶^{cd}
نرخ رشد ویژه (SGR) (٪)	۱/۴۸۳±۰/۰۱^{a}	۱/۵۴۶±۰/۰۱^{b}	۱/۶۰۵±۰/۰۰۶^{c}	۱/۶۰۲±۰/۰۰۴^{cd}
پروتئین مصرفی (PER) (٪)	۲/۱۵۳±۰/۰۲^{a}	۲/۲۹۵±۰/۰۲^{b}	۲/۴۳۰±۰/۰۱^{c}	۲/۴۲۳±۰/۰۱۱^{c}

تیمار ۱: تیمار شاهد، تیمار ۲: جیرهٔ حاوی ۰/۵ گرم پربیوتیک در هر کیلوگرم جیرهٔ غذایی، تیمار ۳: جیرهٔ حاوی ۱/۵ گرم پربیوتیک در هر کیلوگرم جیرهٔ غذایی، تیمار ۴: جیرهٔ حاوی ۲/۵ گرم پربیوتیک در هر کیلوگرم جیرهٔ غذایی. ردیف‌های دارای حروف همنام لاتین از نظر آماری تفاوت معنی‌داری ندارند (P>۰/۰۵).

جدول ۲. مقایسهٔ شاخص‌های خونی تیمارهای مختلف پربیوتیک دیوارهٔ سلولی مخمر *Saccharomyces cerevisiae* طی دورهٔ پرورش قزل‌آلای رنگین‌کمان (میانگین ±خطای استاندارد)

فاکتورهای خونی	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ۴
گلبول‌های سفید (WBC) (تعداد در میکرولیتر×$۱۰^{۳}$)	۵/۷۷±۴/۰^{a}	۸/۸۸±۶۳/۰^{b}	۶/۴۴±۶۲/۰^{a}	۵/۵۵±۰/۳۷^{a}
گلبول‌های قرمز (RBC) (تعداد در میکرولیتر×$۱۰^{۶}$)	۱/۰۲±۰/۱۲^{a}	۰/۸۹±۰/۰۴^{a}	۰/۸۷±۰/۰۶^{a}	۰/۸۷±۰/۰۷^{a}
هماتوکریت (HCT) (٪)	۳۹/۶۶±۴/۰۵^{a}	۴۲/۱۶±۳/۴۳^{a}	۴۲±۳/۵۲^{a}	۴۸±۱/۹۷^{a}
هموگلوبین (Hb)(g/dl)	۳/۷۵±۰/۳۴^{a}	۷/۵۹±۰/۳۸^{c}	۵/۰۴±۰/۴۳^{b}	۴/۰۳±۰/۳۲^{ab}
حجم متوسط گلبولی (MCV)(fl)	۳۰۰/۳۸±۷۵/۸۰^{a}	۴۸۶/۱۴±۳۶/۲۷^{b}	۵۲۳/۹۰±۵۶/۲۵^{b}	۵۸۶/۸۶±۵۲/۱۹^{b}
متوسط هموگلوبین گلبولی (MCH) (pg)	۳۹/۰۷±۴/۵۵^{a}	۸۶/۱۰±۵/۲۹^{c}	۵۸/۸۸±۴/۶۶^{b}	۴۹/۹۱±۷/۰۳^{ab}
غلظت متوسط هموگلوبین گلبولی قرمز (MCHC)(%)	۱۱/۰۵±۰/۹۲^{a}	۲۰/۰۷±۲/۴۶^{b}	۱۴/۵۵±۲/۵۸^{c}	۸/۷۷±۰/۵۳^{d}

تیمار ۱: تیمار شاهد، تیمار ۲: جیرهٔ حاوی ۰/۵ گرم پربیوتیک در هر کیلوگرم جیرهٔ غذایی، تیمار ۳: جیرهٔ حاوی ۱/۵ گرم پربیوتیک در هر کیلوگرم جیرهٔ غذایی، تیمار ۴: جیرهٔ حاوی ۲/۵ گرم پربیوتیک در هر کیلوگرم جیرهٔ غذایی. ردیف‌های دارای حروف همنام لاتین از نظر آماری تفاوت معنی‌داری ندارند (P>۰/۰۵).

بالاترین میزان حجم متوسط گلبولی در دورهٔ ۶۰ روز پرورش در تیمار ۲ مشاهده شد که با سایر تیمارها دارای اختلاف معنی‌دار است (P<۰/۰۵). میزان غلظت متوسط هموگلوبین گلبولی خون قزل‌آلای رنگین‌کمان در تیمار شاهد (تیمار ۱)، تیمار ۲، تیمار ۳ و تیمار ۴ به ترتیب ۳۹/۰۷، ۸۶/۱۰، ۵۸/۸۸ و ۴۹/۹۱ پیکوگرم بود. بالاترین میزان متوسط هموگلوبین گلبولی در دورهٔ ۶۰ روز پرورش در تیمار ۲ مشاهده شد که نسبت به سایر تیمارها دارای اختلاف معنی‌داری است (P<۰/۰۵). میزان غلظت متوسط هموگلوبین گلبولی قرمز خون قزل‌آلای رنگین‌کمان در تیمار شاهد (تیمار ۱)، تیمار ۲، تیمار ۳ و تیمار ۴ به ترتیب ۱۱/۰۵، ۲۰/۰۷، ۱۴/۵۵ و ۸/۷۷ درصد بود. بالاترین میزان غلظت متوسط هموگلوبین گلبولی قرمز در دورهٔ ۶۰ روز پرورش در تیمار ۲ مشاهده شد که نسبت به سایر تیمارها دارای اختلاف معنی‌دار است (P<۰/۰۵) (جدول ۲).

۴. بحث

در نتایج این تحقیق مشاهده شد که همهٔ شاخص‌های رشد در تیمارهای تغذیه‌شده با پربیوتیک دیوارهٔ سلولی مخمر *Saccharomyces cerevisiae* با تیمار شاهد تفاوت معنی‌دار داشتند (P<۰/۰۵) و باعث بهبود این شاخص‌ها نسبت به تیمار شاهد شدند. بیشترین میزان افزایش وزن، درصد افزایش وزن بدن، نرخ رشد ویژه و میزان کارایی پروتئین در تیمار ۳، که در آن میزان ۱/۵ گرم در کیلوگرم پربیوتیک به جیرهٔ غذایی پایه افزوده شده بود، مشاهده شد. کمترین میزان ضریب تبدیل غذایی نیز در تیمار ۳ مشاهده شد که با سایر تیمارها دارای اختلاف معنی‌دار بود (P<۰/۰۵)، اما با تیمار شاهد از نظر

آماری اختلاف معنی‌داری نداشت (P>۰/۰۵). مازورکی ویکز و همکاران (۲۰۰۸) تأثیرات سطوح ۱، ۲ و ۳ درصد پربیوتیک تجاری فرماکتو را در فاکتورهای رشد بچه‌ماهی نورس کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) بررسی کردند، نتایج نشان داد که استفاده از پربیوتیک به طور معنی‌داری سبب بهبود شاخص‌های رشد بچه‌ماهی نورس کپور معمولی می‌شود و بهترین سطح به‌کارگیری پربیوتیک ۳ درصد جیره است (Mazurkiewicz *et al*., 2008). تأثیر استفاده از پربیوتیک ایمنوستر و ایمنووال در فاکتورهای رشد فیل‌ماهیان جوان پرورشی (*Huso huso*) نشان داد سطوح ۱ و ۳ درصد از ایمنووال و ایمنوستر به صورت جداگانه جایگزین سلولز جیرهٔ غذایی پایه شدند و بیشترین و کمترین طول و وزن نهایی به ترتیب در جیره‌های حاوی ۱ درصد ایمنووال و شاهد گزارش شد و نتیجه‌گیری کردند که ایمنوستر و ایمنووال می‌توانند به بهبود شاخص‌های رشد فیل‌ماهی منجر شوند (Taati *et al*., 2011). تأثیرات افزودن مانان الیگوساکارید به‌منزلهٔ پربیوتیک در فاکتورهای رشد، بازماندگی و ایمنی قزل‌آلای رنگین‌کمان در دو سیستم پرورش در قفس و کانال‌های دراز نشان داد در هر دو سیستم پرورشی افزودن مانان الیگوساکارید به جیره به طور معنی‌داری سبب افزایش وزن و کاهش ضریب تبدیل غذایی شده است که این با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد (Staykov *et al*., 2007).

بیشترین میزان شاخص وضعیت یا ضریب چاقی در تیمار ۳ مشاهده شد که با تیمار ۴ اختلاف معنی‌داری نداشت، ولی با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری نداشت (P>۰/۰۵). نتایج تحقیق حاضر نشان داد تیمارهایی که دارای بازده پروتئین بالاتر و ضریب تبدیل غذایی کمتری بودند، میزان رشد بچه‌ماهیان نیز در آن‌ها بیشتر بود. با درنظرگرفتن این نکته که جیره‌های غذایی در تمامی تیمارها حاوی پروتئین یکسان بوده‌اند، می‌توان استفاده از پربیوتیک بایونیک در جیرهٔ غذایی بچه‌ماهیان را عامل اصلی این رویکرد مثبت در رشد دانست که در نهایت به کاهش هزینهٔ تمام‌شده منجر می‌شود. در تحقیقی استفاده از پربیوتیک مانان الیگوساکارید به میزان ۳ گرم در هر کیلوگرم جیره در ماهی خاویاری خلیج (*Acipenser oxyrinchus*) منجر به بروز اختلاف معنی‌داری در شاخص‌های رشد و تغذیه در مقایسه با تیمار شاهد نشد (Pryor *et al*., 2003). همچنین اثر سطوح مختلف ۰/۲، ۰/۴، ۰/۶، ۰/۸ و ۱ درصد مانان الیگوساکارید در ماهیان جوان تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) نشان داد با افزایش سطح این پربیوتیک در جیرهٔ غذایی مصرف غذای روزانه کاهش می‌یابد (Vendemiatti *et al*., 2003) که این نتایج بر خلاف نتایج تحقیق حاضر بوده است. در مجموع تفاوت‌های نتایج گزارش‌شدهٔ محققان مختلف در به‌کارگیری انواع پربیوتیک‌ها در گونه‌های مختلف آبزیان پرورشی را می‌توان با نوع گونهٔ پرورشی، اندازه و سن گونهٔ پرورشی، طول دورهٔ پرورش، شرایط محیطی، رفتارهای تغذیه‌ای، خصوصیات فیزیولوژیک آبزی پرورشی، نوع پربیوتیک مصرفی، درجهٔ خلوص و میزان مورد استفاده در جیره و احتمالاً جمعیت‌های میکروبی ویژه قادر به استفاده از انواع مختلف پربیوتیک مرتبط دانست.

در این تحقیق پربیوتیک دیوارهٔ سلولی مخمر

Saccharomyces cerevisiae با این‌که در تعداد فاکتورهای خونی شامل گلبول‌های قرمز (RBC) و هماتوکریت (HCT) تأثیر نداشت (P>۰/۰۵)، ولی در میزان هموگلوبین و اندیس‌های گلبولی در نمونه‌های قزل‌آلای رنگین‌کمان در این تحقیق در تیمارهای مختلف آزمایشی تفاوت معنی‌داری وجود داشت (P<۰/۰۵). بالاترین میزان در برخی از فاکتورهای مربوط به گلبول‌های قرمز خونی شامل هموگلوبین، MCHC و MCH در تیمار ۲ بود که نشان‌دهندهٔ تأثیر مثبت این ماده در غلظت ۰/۵ گرم در گلبول‌های قرمز خونی ماهی است، احتمالاً غنی‌سازی خوراک به نسبت ۰/۵ گرم در کیلوگرم خوراک باعث تحریک جذب مواد مغذی شده است که در تحریک بافت‌های خونساز مثل کلیهٔ قدامی و طحال به خونسازی تأثیر داشته‌اند یا با مکانیسم‌های ناشناخته باعث افزایش طول عمر گلبول‌های قرمز و کاهش تخریب گلبول‌های سفید و قرمز خونی شده‌اند (Montero *et al.*, 1999). همچنین بالاترین میزان فاکتورهای هماتوکریت و غلظت متوسط گلبولی در تیمار ۴ و میزان گلبول‌های قرمز در تیمار ۱ مشاهده شد. با این حال اطلاعات بسیار کمی در زمینهٔ تأثیرات مکمل‌های غذایی نظیر پربیوتیک‌ها در فاکتورهای خونی ارائه شده است. شاخص‌های خونی در ماهیان می‌تواند متأثر از مواردی چون نوع گونهٔ پرورشی، اندازه، سن، وضعیت فیزیولوژیکی، شرایط محیطی و رژیم غذایی باشد. هماتوکریت، گلبول قرمز و هموگلوبین خون نشان‌دهنده‌های عمومی سلامت ماهی‌اند و به بیان ناهنجاری‌های حاصل از محرک‌های ایمنی کمک می‌کنند (Iwama and Nakanishi, 1996; Irianto And Austin, 2002).

تأثیرات استفاده از مانان الیگوساکارید در جیرهٔ غذایی گربه‌ماهی کانالی (*Ictalurus panctatus*) در عملکرد رشد و فاکتورهای خونی این ماهی تأثیری نداشت (Welker *et al.*, 2007). تأثیرات ۶ سطح مانان الیگوساکارید در جیره در فاکتورهای خونی و شاخص عملکرد رشد تیلاپیای رود نیل (*Oreochromis niloticus*) بیان‌گر این بود که پربیوتیک مذکور اثر معنی‌داری در فاکتورهای خونی ندارد و سبب افزایش تعداد گلبول‌های سفید نمی‌شود. همچنین با افزایش سطح پربیوتیک در جیره اثر منفی در فاکتورهای رشد تیلاپیا مشاهده شد (Yujisado and De Almeida, 2008). گلبول‌های سفید یکی از اجزای مهم دفاع غیراختصاصی‌اند که در خون، اندام‌های لنفاوی و برخی بافت‌های دیگر حضور دارند و فعالیت بیگانه‌خواری و تولید آنتی‌بادی دارند، اما همیشه افزایش تعداد آن‌ها با افزایش محافظت از عوامل عفونی همسو نیست (Iwama and Nakanishi, 1996). افزایش تعداد گلبول‌های سفید در این مطالعه در نتیجهٔ استفاده از پربیوتیک در جیرهٔ غذایی احتمالاً به دلیل تحریک دستگاه ایمنی است و مکانیسم عملکرد این پربیوتیک بدین صورت است که آن‌ها به گیرنده‌های شبه لکتین در لوکوسیت‌ها باند شده و تکثیر ماکروفاژها را افزایش می‌دهند.

به طور کلی، پربیوتیک دیوارهٔ سلولی مخمر *Saccharomyces cerevisiae* در قزل‌آلای رنگین‌کمان در شاخص‌های رشد و برخی از فاکتورهای خونی تأثیر مثبت داشت، اما در درصد بازماندگی و فاکتورهای خونی تعداد گلبول‌های قرمز (RBC) و هماتوکریت ماهیان تأثیری نداشت.

References

[1]. Akrami, R., Hajimoradloo, A.M., Matinfar, A., Abedian Kenari, A., 2009. Effect of Dietary Prebiotic Inulin on Growth Performance, Intestinal Microflora, Body Composition and Hematological Parameters of Juvenile Beluga, *Huso huso* (Linnaeus, 1758). Journal the World Aquaculture Soceity 40, 771-779.

[2]. Cerezuela, R., Cuesta, A., Meseguer, J., Esteban, M.A., 2007. Effects of inulin on gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) innate immune parameters. Fish and Shellfish Immunology 24(5), 663-668.

[3]. Feldman, B.F., Zinkl, J.G., Jain, N.C., 2000. Schalm's Veterinary Hematology 5th ed. Lippincott Williams & Wilkins. PP, 1120-1124.

[4]. Gibson, L.F., Woodworth, J., George, A.M., 1998. Probiotic activity of *Aeromonas media* on the pacific oyster, *Crassostrea gigas*, with *Vibrio tubiashii*. Aquaculture 169, 111-120.

[5]. Grisdale-Helland, B., Helland, S.J., Gatlin, D.M., 2009. The effects of dietary supplementation with mannanoligosaccharide, fructooligosaccharide or galactooligosaccharide on the growth and feed utilization of Atlantic salmon (*Salmo salar*). Aquaculture 283, 163–167.

[6]. Irianto, A., Austin, B., 2002. Probiotics in aquaculture, Journal fishery Disease 25, 633-642.

[7]. Iwama, G., Nakanishi, T., 1996. The fish immune system. Academic Press, London. Chapter 3: innate Immunity in fish, 73-114.

[8]. Li, P., Galtin, D.M., 2004. Dietary brewer's yeast and the prebiotic GroBiotic TM AE influence growth performance, immune responses and resistance of hybrid striped bass(*Morone chrysops* × *M.saxatilis*) to *Streptococcus iniae* infection. Aquaculture 231, 445-456.

[9]. Li, P., Burr, G.S., Gatlin, D.M., Hume, M.E., Patnaik, S., Castille, F.L., Lawrence, A.L., 2008. Dietary supplementation of short-chain fructooligosaccharides influences gastrointestinal microbiota composition and immunity characteristics of pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, cultured in a recirculating system. Journal Nutrition 137, 2763-2768.

[10]. Mahious, A.S., Ollevier, F., 2005. Probiotics and Prebiotics in Aquaculture: A Review. 1st Regional Workshop on Techniques for Enrichment of Live Food for Use in Larviculture, 7-11 March, Urmia, Iran, 17-26.

[11]. Mahious, A.S., Gatesoupe, F.J., Hervi, M., Metailler, R., Ollevier, F., 2005. Effect of dietary inulin and oligosaccharides as prebiotics for weaning turbot, *Psetta maxima* (Linnaeus, C. 1758). Aquaculture International 14 (3), 219-229.

[12]. Mazurkiewicz, J., Przybyl, A., Golski, J., 2008. Usability of fermacto prebiotic in feeds for common carp (*Cyprinus carpio* L.) fry. Nauka Przyr Technology 2 (3), 15-24.

[13]. Montero, I., Asencio, A., Ruiz, I., Hernandez, I., 1999.Family interventions in schizophrenia: an analysis of non-adherence. Acta Psychiatrica Scandinavica 100, 136-141.

[14]. Pryor, G.S., Royes, J.B., Chapman, F.A., Miles, D., 2003. Mannanoligosaccharides in Fish Nutrition: Effects of Dietary Supplementation on Growth and Gastrointestinal Villi Structure in Gulf of Mexico Sturgeon. North American Journal of Aquaculture 65, 106-111.

[15]. Sado, R., Bicudo, A., Cyrino, J., 2008. Feeding dietary mannan oligosaccharides to juvenile Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, has no effect on hematological parameters and showed decreased feed consumption. Journal of the World Aquaculture Society 39, 821-827.

[16]. Salze, G., McLean, E., Schwarz, M.H., Craig, S.R., 2008. Dietary mannan oligosaccharide enhances salinity tolerance and gut development of larval cobia. Aquaculture 274, 148-152.

[17]. Staykov, Y., Spring, P., Denev, S., Sweetman, J., 2007. Effect of a mannan oligosaccharide on the growth performance and immune status of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture International 15, 153-161.

[18]. Taati, R., Soltani, M., Bahmani, M., Zamini, A.A., 2011. Effect of the prebiotics Immunoster and Immunowall on growth performance of juvenile beluga (*Huso huso*). Journal of Applied Ichthyology 27 (2), 796-798.

[19]. Thrall, M.A., 2004.Veterinary Hematology and Clinical Chemistry. Lippincott Williams & Wilkins, USA, pp: 241, 277-288, 402.

[20]. Vendemiatti, J.A., Costa, A.B., Cyrino, J.E.P., 2003. Mananoligossacarıide osalimentares (MOS) comoagentes profila´ticos das infeccxo˜es por Edwardsiellatarda emTila´pia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). Journal of the world aquaculture society 132–140.

[21]. Welker, T.L., Lim, C., Yildirim-Aksoy, M., Shelby, R., Klesius, P.H., 2007. Immune response and resistance to stress and *Edwardsiella ictaluri*, fed diets containing commercial whole cell yeast or yeast subcomponents. Journal of World Aquaculture Society 38 (1), 24-35.

[22]. Yujisado, R., De Almeida, A.J., 2008. Feeding dietary mannan oligosaccharides to juvenile Nile tilapia, *Oreochromisniloticus*, has no effect on hematological parameters and showed decreased feed consumption. Journal of the world Aquaculture Society 39 (6), 821-827.

[23]. Ziemer, C.J., Gibson, G.R., 1998. An overview of probiotics, prebiotics and synbiotics ine the functional food concept: Perspectives and future strategies. International Dairy Journal ,8473-479.