شیلات، مجله منابع طبیعی ایران

دوره ۷۰، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۶

صفحات ۱۲۵-۱۱۷

تأثیر جیره حاوی سطوح مختلف پره‌بیوتیک ایمونوژن بر عملکرد رشد و تغذیه، پارامترهای خونی و ترکیب لاشه بچه‌ماهیان کوی (*Cyprinus carpio* var. Koi)

مرتضی بهره‌مند[۱]، محمدعلی نعمت‌اللهی*[۲]، آسیه سلیمانی راد[۳]

۱. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران.
۲. دانشیار گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران.
۳. دانشجوی دکترا، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرج، باشگاه پژوهشگران و نخبگان جوان، کرج، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۵/۱۱ تاریخ تصویب: ۱۳۹۶/۳/۱۳

چکیده

این پژوهش به منظور ارزیابی تاثیر سطوح مختلف پره‌بیوتیک ایمونوژن بر عملکرد رشد، تغذیه، پارامترهای خونی و ترکیب لاشه در بچه‌ماهیان کوی (*Cyprinus carpio* var. Koi)، با استفاده از ۳۶۰ عدد بچه ماهی کوی (۰/۱۱±۴/۹۸ گرم) در چهار تیمار شامل سطوح صفر، ۲، ۵ و ۱۰ گرم پره‌بیوتیک ایمونوژن به ازای هر کیلوگرم جیره، به مدت ۶۰ روز انجام شد. نتایج حاصل نشان داد که بیشترین افزایش وزن و نرخ رشد ویژه، به تیمار ۲ تعلق داشت. کم‌ترین میزان ضریب تبدیل غذایی (۰/۰۸±۱/۳۴) نیز مربوط به تیمار ۲ بود، البته اختلاف بین تیمار ۲ و ۳ از این حیث معنی‌دار نبود ($P>0/05$). تعداد گلبول های قرمز در ماهیان گروه شاهد با تیمارهای آزمایشی تفاوت معنی‌دار نشان داد. در مورد مقدار هموگلوبین و درصد هماتوکریت، بین تیمار ۲ و گروه شاهد اختلاف معنی‌دار مشاهده شد. بیشترین تعداد گلبول سفید در تیمار ۲ مشاهده شد. با افزایش میزان پره‌بیوتیک جیره، در میزان لنفوسیت افزایش و در میزان نوتروفیل کاهش مشاهده شد ($P>0/05$). آنالیز ترکیبات لاشه نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در هر سه فاکتور اندازه‌گیری شده بود. اگرچه میزان پروتئین خام لاشه با افزایش میزان پره‌بیوتیک جیره، روند افزایشی نشان داد. نتایج به‌دست آمده مشخص نمود که افزودن ۲ تا ۵ گرم پره‌بیوتیک ایمونوژن در هر کیلوگرم جیره غذایی بچه‌ماهیان کوی می‌تواند در بهبود عملکرد رشد، تغذیه، تولید نهایی، و سلامت (ایمنی بدن) آن‌ها مفید واقع شود. بنابراین با توجه به عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای ۲ و ۳ در پارامترهای اندازه‌گیری شده، میزان ۲ گرم ایمونوژن به‌ازای هر کیلوگرم جیره به‌عنوان سطح بهینه آن انتخاب گردید.

واژگان کلیدی: ایمنی، ایمونوژن، پره‌بیوتیک، جیره غذایی، رشد، کوی.

* نویسنده مسئول: تلفن: ۹۸۲۶۲۲۲۳۰۴۴+ ایمیل: malahi@ut.ac.ir

۱. مقدمه

ماهی کوی (*Cyprinus carpio* var. Koi) که واریته رنگی کپور معمولی بوده و منشاء آن آسیا است، امروزه جزء مهم‌ترین گونه‌های ماهیان زینتی محسوب می‌شود، چرا که در حال حاضر در اکثر کشورهای دنیا پرورش و تکثیر می‌شود (Hickling *et al*., 2007). گستره تکثیر و پرورش و ارزش اقتصادی این ماهی روز به‌روز در حال افزایش می‌باشد، که در این راه، بهبود تکنیک‌های تغذیه از جایگاه ویژه‌ای برخوردار است (Haniffa *et al*., 2007)، چرا که همچون بسیاری دیگر از گونه‌های آبزی، بخش عمده‌ای از هزینه پرورش ماهی کوی نیز به تغذیه اختصاص دارد. بنابراین یکی از چالش‌های اصلی در آبزی‌پروری تجاری چنین گونه هایی، بهبود جیره‌های غذایی فرموله شده به منظور بهینه‌سازی رشد و ارتقاء سلامت می‌باشد. یکی از راه های مقابله با چنین چالشی استفاده از مکمل‌های غذایی مانند پروبیوتیک‌ها، پره‌بیوتیک‌ها و سین-بیوتیک‌ها است که علاوه بر افزایش رشد و داشتن اثرات سودمند بر ایمنی میزبان، فاقد هر گونه عوارض جانبی نیز می‌باشند (Hoseinifar *et al*., 2011).

Gibson و Roberfroid (۱۹۹۵)، اولین کسانی بودند که ایده پره‌بیوتیک را مطرح نمودند و پره‌بیوتیک‌ها را این گونه تعریف کردند: پره‌بیوتیک‌ها مواد غذایی غیر قابل هضمی هستند که از طریق تحریک رشد و افزایش فعالیت باکتری‌های مفید موجود در روده، قادرند سلامتی میزبان را بهبود بخشند. عناصر غذایی که به‌عنوان پره‌بیوتیک طبقه بندی می‌شوند باید دارای ویژگی‌هایی باشند، از جمله آن که نباید در بخش‌های فوقانی دستگاه گوارش هضم و جذب شوند، سبب تحریک میکروفلور روده در جهت تولید ترکیبات سالم شوند و توسط یک یا تعدادی از باکتری‌های مفید روده به‌صورت گزینشی تخمیر شوند (Fooks and Gibson, 2002). کربوهیدرات‌ها، مهم ترین و ضروری‌ترین مواد غذایی برای باکتری‌ها می باشند، به همین دلیل اکثر ترکیبات پره‌بیوتیکی از کربوهیدرات‌ها هستند (Kolida *et al*., 2002). بتاگلوکان‌ها (Skjermo *et al*., 2006) و مانان الیگوساکاریدها (Salze *et al*., 2008)، از جمله مهم ترین پره‌بیوتیک‌ها محسوب می‌شوند. پره‌بیوتیک تجاری ایمونوژن (Immunogen)، از دیواره سلولی مخمر آب جو (*Saccharomyces cerevisiae*) مشتق شده و شامل حدود ۳۰ درصد بتاگلوکان، حدود ۱۸ درصد مانان‌الیگوساکارید، ۳۲ درصد پروتئین، ۸ درصد خاکستر، ۸ درصد رطوبت، ۱/۴ درصد فیبر می‌باشد.

بر اساس آمارهای موجود، در چند سال اخیر میزان تولید و اهمیت اقتصادی ماهیان زینتی در کشور نسبت به ماهیان خوراکی از رشد سالانه بسیار بالاتری برخوردار بوده است (Ebadzadeh *et al*., 2015). با توجه به روند رو به رشد تکثیر و پرورش ماهیان زینتی و همچنین افزایش روزافزون اهمیت تجاری ماهی کوی در کشور، و همچنین وجود تفاوت‌های فیزیولوژیک محسوس بین ماهی کوی و منشاء آن یعنی ماهی کپور معمولی (Radu *et al*., 2009; Bartlett and Bartlett, 2007)، و از آن‌جا که تاکنون مطالعه مدونی در زمینه استفاده از پره‌بیوتیک‌ها در تغذیه این گونه زینتی با ارزش در داخل کشور صورت نگرفته است، هدف از این پژوهش، ارزیابی تأثیر سطوح مختلف پره‌بیوتیک ایمونوژن بر شاخص‌های رشد، تغذیه، پارامترهای خونی و ترکیب لاشه در بچه ماهیان کوی به‌عنوان یکی از محبوب‌ترین ماهیان زینتی موجود در ایران می‌باشد.

۲. مواد و روش‌ها

این پژوهش به مدت ۶۰ روز در در یکی از مراکز تکثیر و پرورش ماهیان زینتی شهرستان مشهد انجام پذیرفت. برای این منظور، تعداد ۳۶۰ عدد بچه‌ماهی با میانگین وزن ۰/۱۱±۴/۹۸ گرم، پس از یک هفته سازگاری با شرایط دمایی کارگاه و عادت‌دهی با جیره مورد استفاده در آزمایش، به طور کاملاً تصادفی در ۱۲ مخزن شیشه‌ای (هر یک با ظرفیت آب‌گیری ۲۴۰ لیتر)، در چهار تیمار (هر یک در سه تکرار) ذخیره سازی شدند. تیمار اول، هیچ پره‌بیوتیکی در جیره خود دریافت نکرد (گروه شاهد)، اما تیمارهای دوم، سوم و چهارم به ترتیب میزان ۲، ۵ و ۱۰ گرم ایمونوژن (ساخت شرکت International Commerce Corporation, ICC آمریکا) به ازای هر کیلوگرم جیره دریافت نمودند. ترکیبات مورد استفاده و آنالیز

جدول ۱- ترکیب شیمیایی و آنالیز تقریبی جیره‌های آزمایشی مورد استفاده برای بچه‌ماهیان کوی

اجزای تشکیل دهنده	میزان (درصد)			
	شاهد	جیره حاوی ۲	جیره حاوی ۵	جیره حاوی
پودر ماهی کیلکا	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵
گلوتن ذرت	۷	۷	۷	۷
آرد گندم	۲۵	۲۵	۲۵	۲۵
روغن ماهی کیلکا	۳	۳	۳	۳
روغن گیاهی	۱/۵	۱/۵	۱/۵	۱/۵
آرد سویا	۳۸	۳۸	۳۸	۳۸
لسیتین	۳	۳	۳	۳
مکمل معدنی*	۳	۳	۳	۳
مکمل ویتامینی*	۲	۳	۳	۳
ویتامین c	۰/۱	۰/۱	۰/۱	۰/۱
ضد قارچ	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
همبند (ملاس)	۲/۱۵	۱/۹۵	۱/۶۵	۱/۱۵
پره‌بیوتیک ایمونوژن	۰	۰/۲	۰/۵	۱/۰
تجزیه تقریبی جیره (درصد)				
پروتئین خام	۳۸/۲۳	۳۸/۳۴	۳۸/۵۸	۳۸/۷۴
چربی خام	۵/۰۱	۵/۰۲	۵/۰۴	۵/۰۱
رطوبت	۱۱/۹۰	۱۱/۹۰	۱۱/۹۵	۱۱/۹۵
خاکستر	۹/۱۱	۹/۱۲	۹/۰۴	۹/۱۱

*مکمل معدنی مورد استفاده شامل منیزیم، آهن، روی، مس، ید، سلنیوم و کولین کلراید، و مکمل ویتامینی شامل ویتامین های E، A، D3،B1، B2 ، B3، B5، B6، B12 و K می‌باشد.

تقریبی جیره مورد آزمایش در این پژوهش در جدول ۱ آورده شده است.

در طول دوره آزمایش، غذادهی به بچه‌ماهیان کوی بر اساس درصد وزن بدن (۵ درصد) و در سه نوبت (ساعات ۸، ۱۲ و ۱۸) انجام گرفت. تمامی شرایط فیزیکوشیمیایی آب مخازن (از جمله دما، میزان اکسیژن، pH) در طول دوره آزمایش به صورت روزانه کنترل و در سطح بهینه نگهداری می‌شد. در پایان آزمایش، پس از گذشت ۲۴ ساعت از زمان قطع تغذیه، ماهی‌ها صید و توزین شدند. به‌منظور سنجش پارامترهای خونی، در انتهای آزمایش از هر تکرار ۳ ماهی به صورت تصادفی صید و پس از بیهوشی با پودر گل میخک، خون‌گیری از محل ساقه دمی به عمل آمد. نمونه‌های خون به لوله‌های هپارینه منتقل و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. شمارش تعداد گلبول های قرمز و سفید (لنفوسیت، مونوسیت، نوتروفیل و ائوزینوفیل) با استفاده از روش هماتوسیتومتر نئوبار (Stoskopf, 1993)، میزان هماتوکریت خون با استفاده از روش میکروهماتوکریت (Rehulka *et al.*, 2011) و میزان هموگلوبین با استفاده از کیت و دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۵۴۰ نانومتر (Blaxhall and Daisley, 1973)، مورد سنجش قرار گرفت. برای ارزیابی شاخص‌های مربوط به رشد و تغذیه ماهی‌ها از فرمول‌های زیر استفاده شد (Ai *et al.*, 2006):

افزایش وزن بدن = وزن نهایی (گرم) - وزن اولیه (گرم)

درصد افزایش وزن بدن = [((وزن نهایی (گرم) - وزن اولیه (گرم)) / وزن اولیه (گرم)] * ۱۰۰

نرخ رشد ویژه (درصد در روز) = [(لگاریتم طبیعی(Ln) وزن نهایی - لگاریتم طبیعی(Ln) وزن اولیه) / طول دوره آزمایش] * ۱۰۰

فاکتور وضعیت (درصد) = [وزن ماهی (گرم)/ ((طول ماهی (سانتی‌متر))^۳] * ۱۰۰

ضریب تبدیل غذایی (FCR) = غذای خورده شده (گرم) / افزایش وزن ماهی (گرم)

نسبت کارآیی پروتئین (PER) = وزن به دست آمده (گرم) / پروتئین خورده شده (گرم)

تعیین ترکیب تقریبی جیره و لاشه در آزمایشگاه با استفاده از روش استاندارد AOAC (۱۹۹۰) انجام شد. به این معنی که پروتئین خام با استفاده از دستگاه کجلدال، چربی خام به شیوه سوکسله، رطوبت با استفاده از آون در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت و مقدار خاکستر با استفاده از کوره الکتریکی

جدول ۲- شاخص‌های رشد و تغذیه اندازه‌گیری شده در بچه‌ماهیان کوی (مقدار ±انحراف معیار) در تیمارهای مختلف

تیمار / شاخص	تیمار۱ (شاهد)	تیمار۲ (جیره حاوی ۲گرم ایمونوژن)	تیمار۳ (جیره حاوی ۵گرم ایمونوژن)	تیمار۴ (جیره حاوی ۱۰گرم ایمونوژن)
وزن نهایی (g)	۱۱/۹۸±۱/۳۹^{a}	۱۶/۲۱±۰/۸۱^{b}	۱۵/۴۲±۰/۶۴^{b}	۱۳/۰۷±۰/۱۹^{a}
طول نهایی (mm)	۹۶/۳۹±۵/۱۸^{a}	۱۲۶/۰۳±۵/۵۸^{c}	۱۱۸/۱۸±۴/۸۶^{bc}	۱۱۰/۸۷±۲/۴۶^{b}
افزایش وزن بدن (g)	۷/۰۰±۱/۳۲^{a}	۱۱/۲۳±۰/۶۸^{b}	۱۰/۴۵±۰/۵۱^{b}	۸/۰۹±۰/۱۰^{a}
درصد افزایش وزن بدن	۱۴۰/۱۹±۲۴/۹۳^{a}	۲۲۵/۱۵±۷/۵۴^{b}	۲۱۰/۴۱±۵/۴۳^{b}	۱۶۲/۶۸±۳/۴۵^{a}
نرخ رشد ویژه (%/day)	۱/۴۵±۰/۱۸^{a}	۱/۹۶±۰/۰۴^{b}	۱/۸۹±۰/۰۳^{b}	۱/۶۱±۰/۰۲^{a}
فاکتور وضعیت	۱/۳۴±۰/۰۶^{c}	۰/۸۱±۰/۰۷^{a}	۰/۹۴±۰/۰۸^{ab}	۰/۹۶±۰/۰۵^{b}
ضریب تبدیل غذایی	۲/۲۰±۰/۴۷^{c}	۱/۳۴±۰/۰۸^{a}	۱/۴۴±۰/۰۷^{ab}	۱/۸۵±۰/۰۲^{bc}
نسبت کارایی پروتئین	۱/۲۲±۰/۲۳^{a}	۱/۹۵±۰/۱۲^{b}	۱/۸۱±۰/۰۹^{b}	۱/۳۹±۰/۰۲^{a}

* اعدادی که با حروف یکسان نشان داده شده‌اند تفاوت معنی‌دار ندارند ($P>0/05$).

در دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ ساعت اندازه‌گیری شد.

برای تجزیه و تحلیل داده‌ها در ابتدا نرمال بودن داده‌ها به وسیله آزمون Shapiro-Wilk ارزیابی شد. تجزیه و تحلیل داده‌های مربوط به تغییرات معیارهای رشد، فاکتورهای تغذیه‌ای، خونی و ترکیب لاشه ماهیان از طریق آزمون تجزیه واریانس یک‌طرفه (ANOVA) انجام شد و برای مقایسه میانگین بین تیمارها از آزمون چنددامنه‌ای دانکن استفاده گردید (Zar, 2010). در ابتدا اطلاعات خام در محیط Microsoft Excel 2010 مورد پردازش و سپس وجود یا عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۹۵ درصد اطمینان با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۱ مورد سنجش قرار گرفت.

۳. نتایج

در انتهای دوره ۶۰ روزه آزمایش، بیشترین میزان وزن و طول (۱۶/۲۱±۰/۸۱ گرم، ۱۲۶/۰۳±۵/۵۸ میلی‌متر) متعلق به تیمار ۲ بود، که با تیمار شاهد از این لحاظ اختلاف معنی‌دار نشان داد ($P<0/05$). بیشترین افزایش وزن بدن (۱۱/۲۳±۰/۶۸ گرم) در تیمار ۲ و کم‌ترین میزان آن (۷/۰۰±۱/۳۲ گرم) در گروه شاهد مشاهده شد. البته از این حیث بین تیمار ۲ و ۳ و همچنین بین گروه شاهد و تیمار ۴، اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P>0/05$). به‌طور مشابه، بالاترین و پایین‌ترین میزان نرخ رشد ویژه نیز به‌ترتیب در تیمار ۲ و گروه شاهد، اندازه‌گیری شد. بین گروه شاهد و تیمار ۴ از این حیث تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. اندازه‌گیری فاکتور وضعیت نشان داد که بیشترین (۱/۳۴±۰/۰۶) و کم‌ترین (۰/۸۱±۰/۰۷) میزان آن به‌ترتیب در گروه شاهد و تیمار ۲ مشاهده شد (جدول ۲). البته از این حیث اختلاف معنی‌داری بین تیمار ۲ و ۳ مشاهده نشد. همچنین در مجموع در کل دوره پرورش تلفاتی در بین تیمارهای تحت بررسی مشاهده نشد. نکته جالب توجه در مورد پارامترهای رشد اندازه‌گیری شده در این آزمایش آن است که با افزایش میزان ایمونوژن جیره، از پراکندگی داده‌ها کاسته شد و یا به عبارت ساده تر یکنواختی در رشد ماهی‌ها افزایش یافت (جدول ۲). نتایج حاصل از محاسبه ضریب تبدیل غذایی نشان داد که کم‌ترین میزان ضریب تبدیل غذایی (۱/۳۴±۰/۰۸) به تیمار ۲ و بیشترین میزان آن (۲/۲۰±۰/۴۷) به گروه شاهد تعلق داشت. البته بین تیمار ۲ و ۳ از این لحاظ اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($P>0/05$). همچنین نتایج حاصل از ارزیابی نسبت کارایی پروتئین نشان داد که بیشترین (۱/۹۵±۰/۱۲) و کم‌ترین (۱/۲۲±۰/۲۳) میزان این شاخص به ترتیب در تیمار ۲ و گروه شاهد مشاهده شد (جدول ۲).

نتایج مربوط به آنالیز پارامترهای خونی در تیمارهای مختلف در جدول ۳ آمده است. تعداد گلبول‌های قرمز در ماهیان گروه شاهد با تیمارهای آزمایشی تفاوت معنی‌دار نشان داد ($P<0/05$). در مورد دو شاخص مقدار هموگلوبین و درصد هماتوکریت، بین تیمار ۲ و گروه شاهد اختلاف معنی دار مشاهده شد، ولی بین گروه شاهد و تیمار ۴ و همچنین بین تیمار ۳ و ۴، تفاوت معنی‌دار دیده نشد ($P>0/05$). شمارش تعداد گلبول‌های سفید نشان داد که بین گروه شاهد با سایر تیمارها اختلاف معنی‌دار وجود داشت. بیشترین تعداد گلبول سفید

جدول ۳- مقایسه پارامترهای خونی اندازه‌گیری شده در بچه‌ماهیان کوی (مقدار ±انحراف معیار) در تیمارهای مختلف

تیمار / پارامترهای خونی	تیمار۱ (شاهد)	تیمار۲ (جیره حاوی ۲گرم ایمونوژن)	تیمار۳ (جیره حاوی ۵گرم ایمونوژن)	تیمار۴ (جیره حاوی ۱۰گرم ایمونوژن)
گلبول قرمز (per mm^3)	۱۰۰۴۲۳۳±۶۳۵۷^{a}	۱۰۱۷۴۳۳±۲۵۱۰^{b}	۱۰۲۰۵۳۳±۱۶۹۲^{b}	۱۰۲۲۶۳۳±۲۹۷۰^{b}
هموگلوبین (g/dl)	۹/۷۳±۰/۰۲^{a}	۹/۷۸±۰/۰۱^{c}	۹/۷۷±۰/۰۲^{bc}	۹/۷۴±۰/۰۲^{ab}
هماتوکریت (٪)	۲۹/۶۷±۰/۵۸^{a}	۳۱/۶۷±۱/۱۵^{c}	۳۱/۰۰±۰/۰۰^{bc}	۳۰/۰۰±۰/۰۰^{ab}
گلبول سفید (per mm^3)	۱۱۴۹۰±۲۰۶^{a}	۱۳۷۰۳±۱۷۶^{c}	۱۳۶۹۳±۱۳۵^{c}	۱۳۰۴۳±۴۵۴^{b}
لنفوسیت (٪)	۷۳/۰۷±۰/۱۲^{a}	۷۶/۶۷±۰/۳۸^{b}	۷۷/۰۰±۰/۱۰^{b}	۷۷/۴۰±۰/۱۰^{b}
نوتروفیل (٪)	۲۱/۹۳±۰/۰۶^{a}	۱۹/۱۰±۰/۱۰^{b}	۱۹/۰۰±۰/۱۰^{b}	۱۸/۸۷±۰/۱۵^{b}
ائوزینوفیل (٪)	۳/۰۰±۰/۱۰^{a}	۲/۶۷±۰/۱۲^{a}	۲/۵۰±۰/۱۰^{a}	۲/۳۳±۰/۱۵^{a}
مونوسیت (٪)	۱/۰۰±۰/۱۰^{a}	۰/۹۰±۰/۱۰^{a}	۰/۸۳±۰/۱۲^{a}	۰/۷۳±۰/۱۵^{a}
بازوفیل (٪)	۱/۰۰±۰/۱۰^{a}	۰/۶۷±۰/۲۵^{a}	۰/۶۷±۰/۲۵^{a}	۰/۶۷±۰/۲۱^{a}

* اعدادی که با حروف یکسان نشان داده شده‌اند تفاوت معنی‌دار ندارند ($P>0/05$).

جدول ۴- مقایسه آنالیز ترکیبات لاشه اندازه‌گیری شده در بچه‌ماهیان کوی (درصد ±انحراف معیار) در تیمارهای مختلف

تیمار / ترکیبات لاشه	تیمار۱ (شاهد)	تیمار۲ (جیره حاوی ۲گرم ایمونوژن)	تیمار۳ (جیره حاوی ۵گرم ایمونوژن)	تیمار۴ (جیره حاوی ۱۰گرم ایمونوژن)
پروتئین خام (درصد)	۲۱/۳۶±۰/۲۵^{a}	۲۱/۴۴±۰/۲۴^{a}	۲۱/۵۵±۰/۲۵^{a}	۲۱/۶۵±۰/۲۱^{a}
چربی خام (درصد)	۴/۱۹±۰/۱۹^{a}	۴/۳۰±۰/۱۹^{a}	۴/۳۸±۰/۱۳^{a}	۴/۲۷±۰/۱۲^{a}
خاکستر (درصد)	۳/۱۱±۰/۰۳^{a}	۳/۱۵±۰/۰۳^{a}	۳/۲۰±۰/۰۹^{a}	۳/۱۳±۰/۰۲^{a}

* اعدادی که با حروف یکسان نشان داده شده‌اند تفاوت معنی‌دار ندارند ($P>0/05$).

(۱۷۶±۱۳۷۰۳ عدد در میلی‌متر مکعب) در تیمار ۲ مشاهده شد. البته بین تیمار ۲ و ۳ از نظر تعداد گلبول سفید تفاوت معنی‌دار دیده نشد. در نتایج حاصل از شمارش افتراقی گلبول‌های سفید، اختلاف معنی‌داری در بین تیمارها از حیث درصد بازوفیل، درصد ائوزینوفیل و درصد مونوسیت مشاهده نشد ($P>0/05$). با افزایش میزان پره‌بیوتیک جیره میزان لنفوسیت نیز در خون ماهیان کوی افزایش یافت ($P<0/05$). کم‌ترین میزان لنفوسیت در گروه شاهد مشاهده شد. در بررسی درصد نوتروفیل، روند کاهشی با افزایش میزان پره‌بیوتیک جیره مشاهده شد، به این نحو که بیشترین و کم‌ترین میزان آن به ترتیب به گروه شاهد و تیمار ۴ تعلق داشت. اختلاف معنی‌داری از نظر درصد نوتروفیل بین تیمارهای ۲، ۳ و ۴ مشاهده نشد ($P>0/05$).

نتایج حاصل از آنالیز ترکیبات لاشه ماهیان کوی در این پژوهش نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی دار بین تیمارها در تمامی شاخص‌های اندازه‌گیری شده بود ($P>0/05$). البته از حیث میزان پروتئین خام لاشه، با افزایش میزان پره‌بیوتیک جیره، روند افزایشی در میزان آن مشاهده شد، ولی این افزایش معنی‌دار نبود. کم‌ترین میزان پروتئین خام لاشه (۲۱/۳۶±۰/۲۵ درصد) به گروه شاهد تعلق داشت. به طور مشابه کم‌ترین میزان چربی خام و خاکستر لاشه نیز در گروه شاهد مشاهده شد (جدول ۴).

۴. بحث و نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که عملکرد رشد در تمامی تیمارهای پریبیوتکی نسبت به گروه شاهد افزایش داشت. Amirkolaie و Rostami (۲۰۱۵) گزارش نمودند که استفاده از میزان ۵ گرم ایمونوژن در هر کیلوگرم جیره، می‌تواند سبب افزایش معنی‌دار در عملکرد رشد ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) شود. نتایج مشابهی نیز در مطالعه Taati و همکاران (۲۰۱۱)، گزارش شد. مهم ترین محصول حاصل از متابولیسم پره‌بیوتیک‌ها توسط میکروارگانیسم‌ها در دستگاه گوارش میزبان، اسیدهای چرب زنجیره کوتاه هستند (Jenkins *et al*., 1999)، که قابلیت جذب از اپیتلیوم روده میزبان را داشته و منبع انرژی برای آن محسوب شده و همچنین سبب تقویت انتروسیت‌ها و بهبود جذب مواد غذایی در دستگاه گوارش میزبان می‌شوند. تولید اسیدهای چرب زنجیره کوتاه ناشی از تخمیر پره‌بیوتیک، منجر به کاهش pH روده شده و نهایتاً شرایط مناسب برای رشد

باکتری‌های اسید لاکتیک را فراهم می‌نماید (Schley and Field, 2002). این مسئله می‌تواند سبب افزایش رشد در موجود میزبان شود. به‌علاوه، تولید متوازن مواد غذایی ضروری، خصوصا اسیدهای چرب تولید شده توسط میکروارگانیسم‌ها، نیز ممکن است در بهبود عملکرد رشد در ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی پره‌بیوتیک مؤثر باشد (Irianto and Austin, 2002). Amirkolaie و Rostami (۲۰۱۵) با بررسی مقادیر مختلف ایمونوژن در ماهیان انگشت قد کپور معمولی، دریافتند که مقادیر بیش از ۵ گرم ایمونوژن در هر کیلوگرم جیره، نمی‌تواند سبب افزایش رشد این ماهی شود، که با نتایج حاصل از این پژوهش مطابقت دارد. Hoseinifar و همکاران (۲۰۱۰)، دریافتند که افزایش الیگوفروکتوز جیره به بیش از حد آستانه آن می‌تواند سبب کاهش تراکم باکتری‌های اسید لاکتیکی دستگاه روده و توقف رشد فیل ماهی شود.

ضریب تبدیل غذایی در تمامی ماهیان کوی تغذیه شده با ایمونوژن نسبت به گروه شاهد کاهش نشان داد. Amirkolaie و Rostami (۲۰۱۵) نشان دادند که ماهیان کپور تغذیه شده با ایمونوژن، نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌دار در میزان ضریب تبدیل غذایی داشتند. احتمالاً ایمونوژن به واسطه تکثیر باکتری‌های پروبیوتیک، باعث تولید آنزیم‌های گوارشی (آمیلاز، پروتئاز و لیپاز) (Irianto and Austin, 2002) و در نهایت موجب کاهش میزان ضریب تبدیل غذایی در میزبان می‌شود (Tovar *et al*., 2002). این آنزیم‌ها در نهایت منجر به افزایش هضم چربی‌ها و پروتئین‌های موجود در جیره غذایی شده و کارآیی تغذیه و متعاقب آن رشد را در میزبان به میزان قابل توجهی افزایش می‌دهد (De-Schrijver and Ollevier, 2000). به‌علاوه، پره‌بیوتیک‌ها تاثیرات ناگهانی و مضر حاصل از رژیم‌های غذایی واجد نشاسته را در روده محدود می‌کنند (Respondek *et al*., 2006). در مطالعات پیشین تأثیر مثبت برخی پره‌بیوتیک‌ها نظیر مانان الیگوساکارید بر کاهش ضریب تبدیل غذایی در سایر ماهیان گرمابی نیز به اثبات رسیده است (Culjak *et al*., 2006)، که مؤید نتایج پژوهش حاضر می‌باشد.

سنجش شاخص‌های خونی ماهیان، از مهم‌ترین و قابل اطمینان‌ترین موارد در بررسی وضعیت سلامت و فیزیولوژی آن‌ها می‌باشد. تفاوت در تعداد کل گلبول های قرمز ماهیان غذادهی شده با جیره حاوی پره‌بیوتیک، در مقایسه با تیمار شاهد، می‌تواند به‌دلیل تاثیر این مواد در افزایش میزان و فعالیت باکتری‌های پروبیوتیک بدن موجود باشد که نهایتا منجر به بالا رفتن متابولیسم و به دنبال آن افزایش نیاز اکسیژنی و افزایش تراکم گلبول قرمز می‌گردد (Firouzbakhsh *et al*., 2011). استفاده از پره‌بیوتیک ایمونوژن سبب بهبود پارامترهای خون‌شناسی گردید. Welker و همکاران (۲۰۰۷) تاثیر پره‌بیوتیک مانان الیگوساکارید را بر روی گربه‌ماهی روگاهی (*Ictahurus punctatus*) مورد ارزیابی قرار دادند و عنوان کردند که در پارامترهای خون‌شناسی ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی پره‌بیوتیک مانان الیگوساکارید اختلافی نسبت به تیمار شاهد مشاهده نشد که برخلاف نتایج حاصل از این مطالعه می‌باشد.

در این مطالعه بیشترین میزان گلبول سفید، که به عنوان سدهای دفاعی بدن مطرح می‌باشند، در تیمار ۲ مشاهده شد. همچنین تیمارهای پره‌بیوتیکی نسبت به گروه شاهد، لنفوسیت بیشتری نشان دادند. این موضوع نشان‌دهنده افزایش تحریک سیستم ایمنی بچه ماهیان کوی تغذیه شده با پره‌بیوتیک ایمونوژن است. بنظر می‌رسد اثر پره‌بیوتیک ایمونوژن در افزایش تحریک و تقویت سیستم ایمنی ماهی به واسطه فعالیت ضد میکروبی در مقابل عوامل بیماری‌زا و تاثیر در افزایش پاسخ ایمنی بدن با تاثیر بر تعداد گلبول‌های سفید می‌باشد. افزایش تعداد گلبول‌های سفید در گروهی که با ایمونوژن تغذیه شدند، احتمالاً به بتاگلوکان موجود در ایمونوژن ارتباط دارد، چرا که بتاگلوکان می‌تواند گیرنده‌های ویژه‌ای را بر روی سطح فاگوسیت‌ها و لنفوسیت‌ها تشخیص دهد. زمانی که گیرنده توسط گلوکان‌ها اشغال می‌شود، فعالیت گلبول های سفید در احاطه کردن، کشتن و هضم باکتری‌های بیماری‌زا بیشتر می‌شود (Andrews *et al*., 2009). Amirkolaie و Rostami (۲۰۱۵) گزارش نمودند که افزودن ایمونوژن به جیره غذایی ماهی کپور معمولی، تاثیر معنی‌داری در تعداد گلبول‌های سفید آن ندارد، که بر خلاف نتایج این مطالعه می‌باشد. احتمالاً دلیل این تفاوت، عدم تطابق شرایط محیط پرورش، و ماهی مورد آزمایش می‌باشد. تفاوت در

ترکیب جیره غذایی نیز یکی دیگر از دلایل احتمالی این مسئله است. Ebrahimi و همکاران (۲۰۱۲)، با افزودن ایمونوژن به جیره غذایی ماهیان کپور معمولی انگشت‌قد، شاهد افزایش تعداد گلبول‌های سفید خون آن‌ها بودند، که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد.

در پژوهش حاضر اختلاف معنی‌داری بین تیمارها از حیث ترکیبات لاشه مشاهده نشد. Amirkolaie و Rostami (۲۰۱۵) گزارش نمودند که افزودن ایمونوژن به جیره غذایی ماهی کپور معمولی اگرچه می‌تواند سبب بهبود پارامترهای رشد شود، اما هیچ تاثیر معنی‌داری بر ترکیبات لاشه ندارد، که با نتایج حاصل از این پژوهش مطابقت دارد. در پژوهش حاضر اگرچه در میزان پروتئین اختلاف معنی داری در بین تیمارها در مقایسه با تیمار شاهد وجود نداشت، اما با افزایش سطح پره‌بیوتیک در جیره، میزان پروتئین لاشه نیز افزایش یافت که با نتایج تحقیق Genc و همکاران (۲۰۰۷، a و b) مطابقت دارد. احتمالا پره‌بیوتیک ایمونوژن می‌تواند با تاثیر بر باکتری های مفید روده در ماهی کوی باعث افزایش حجم آن ها و در نهایت افزایش قابلیت هضم‌پذیری شود. همچنین افزایش سطح پروتئین لاشه در تیمارهای آزمایشی در این پژوهش ممکن است به بهره‌برداری بیشتر اسید آمینه و قابلیت هضم جیره مرتبط باشد (Genc *et al*., 2007a,b).

در مجموع نتایج بدست آمده مشخص نمود که افزودن ۲ تا ۵ گرم پره‌بیوتیک ایمونوژن در هر کیلوگرم جیره غذایی بچه‌ماهیان کوی می‌تواند در بهبود عملکرد رشد، تغذیه، تولید نهایی، و سلامت (ایمنی بدن) آن‌ها مفید واقع شود. با توجه به این موضوع که اختلاف پارامترهای اندازه‌گیری شده بین ماهیان کوی تغذیه شده با ۲ و ۵ گرم ایمونوژن (تیمارهای ۲ و ۳) معنی‌دار نبود و همچنین بر اساس اهداف اولیه پرورش در مقیاس تجاری (کاهش هزینه های پرورش در کنار افزایش راندمان تولید)، میزان ۲ گرم ایمونوژن به ازای هر کیلوگرم جیره، به عنوان سطح بهینه استفاده از این پره‌بیوتیک در ماهی کوی پیشنهاد می‌شود.

References

Ai, Q., Mai, K., Tan, B., Xu, W., Duan, Q., Ma, H., Zhang, L., 2006. Replacement of fish meal by meat and bone meal in diets for large Yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*). *Aquaculture* 260, 255-263.

Amirkolaie, A.K., Rostami, B., 2015. Effects of dietary supplementation with Immunogen® on the growth, hematology and gut microbiota of fingerling common Carp *Cyprinus carpio* (Linnaeus). *Fisheries and Aquatic Sciences* 18(4), 379-385.

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. *Journal of Aquaculture Research* 41, 61-69.

AOAC., 1990. Official methods of analysis. Association of Official Analytical Chemists Inc., Washington DC, USA. 1263 p.

Bartlett, R.D., Bartlett, P., 2007. Koi for dummies. Wiley Publishing, Inc. Indianapolis, Indiana, USA. 272 p.

Blaxhall, P.C., Daisley, K.W., 1973. Routine haematological methods for use with fish bloods. *Journal of Fish Biology* 5, 771-781.

Culjak, V., Bogut, G., Has-Schon, E., Milakovic, Z., Canecki, K., 2006. Effect of Bio-Mos on performance and health of juvenile carp. In: Nutrition and biotechnology in the feed and food industries: Alltech's 22nd annual symposium (suppl. 1—abstracts of posters presented), Lexington, KY, USA.

De Schrijver, R., Ollevier, F., 2000. Protein digestion in juvenile turbot (*Scophtalmus maximus*) and effects of dietary administration of Vibrio proteolyticus. *Aquaculture* 186, 107-116.

Ebadzadeh, H.M., Ahmadi, K., Mohamadnia Afroozi, Sh., Abbastaghani, R., Moradi Eslami, A., Abbasi, M., Yari, Sh., 2015. Agricultural statistics in 2014. Volume II. Ministry of Agriculture-Jahad, Planning and Economic Department, Center of Information and Communication Technology. Tehran. 379 p. (in Persian)

Ebrahimi, G., Ouraji, H., Khalesi, M.K., Sudagar, M., Barari, A., Zarei Dangesaraki, M., Jani Khalili, K., 2012. Effects of a prebiotic, Immunogen, on feed utilization, body composition, immunity and resistance to *Aeromonas hydrophila*i infection in the common carp *Cyprinus carpio* (Linnaeus) fingerlings. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 96, 591-599.

Firouzbakhsh, F., Noori, F., Khalesi, M.K., Jani-Khalili, K., 2011. Effects of a probiotic, protexin, on the growth performance and hematological parameters in the Oscar (*Astronotus ocellatus*) fingerlings. *Journal of Fish Physiology and Biochemistry*, 37, 833-842.

Fooks, L.J., Gibson, G.R., 2002. Probiotics as modulators of the gut flora. *British Journal of Nutrition* 88(1), 39-49.

Genc, M.A., Aktas, M., Genc, E., Yilmaz, E., 2007a. Effects of dietary mannan oligosaccharide on growth, body composition and hepatopancreas histology of *Penaeus semisulcatus* (de Haan 1844). *Aquaculture Nurition* 13, 156-161.

Genc, M.A., Yilmaz, E., Genc, E., Aktas, M., 2007b. Effect of dietary mannanoligosaccharid on growth, body composition and intestine and liver histology of the hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*). *The Israel Journal of Aquaculture (Bamidgeh)* 59, 10-16.

Gibson, G.R., Roberfroid, M.B., 1995. Dietary modulation of the human colonic microbiota introducing the concept of prebiotics. *Journal of Nutrition* 125, 1401-1412.

Gultepe, N., Salnur, S., Hossu, B., Hisar, O., 2010. Dietary supplementation with Mannanoligosaccharides (MOS) from Bio-Mos enhances growth parameters and digestive capacity of gilthead sea bream *(Sparus aurata)*. *Aquaculture Nutrition* 17(5), 482-487.

Haniffa, M.A., Benziger, P.S.A., Arockiaraj, A.J., Nagarajan, M., Siby, P., 2007. Breeding behaviour and embryonic development of Koi carp (*Cyprinus carpio*). *Taiwania* 52(1): 93-99.

Hickling, S., Martin, M.T., Brewster, B., 2007. The Essential Book of Koi: A Complete Guide to Keeping and Care. TFH Publications Inc., New Jersey, 256 p.

Hoseinifar S.H., Mirvaghefi A., Mojazi Amiri B., Khoshbavar Rostami H., Merrifield D., 2010. The effects of oligofructose on growth performance, survival, intestinal microbiota and liver histology of endangered great sturgeon (*Huso huso*) juvenile. *Aquaculture Nutrition* 17(5), 498-504.

Hoseinifar, S.H., Mirvaghefi, A.R., Mojazi Amiri, B., Khoshbavar Rostami, H.A., Poor Amini, M., Darvish Bastami, K., 2011. The probiotic effects of dietary inactive yeast *Saccharomyces cerevisiae* var. *ellipsoideus* on growth factors, survival, body composition and intestinal microbiota of Beluga juvenile (*Huso huso*). *Iranian Scientific Fisheries Journal* 19, 55-66. (In Persian)

Irianto, A., Austin, B., 2002. Use of probiotics to control furunculosis in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Journal of Fish Disease* 25, 333-342.

Jenkins, D.J., Kendall, C.W., Vuksan, V., 1999. Inulin, oligofructose and intestinal function. *Journal of Nutrition* 129, 1431S-1433S.

Kolida, S., Tuohy, K., Gibson, G. R., 2002. Prebiotic effects of inulin and oligofructose. *British Journal of Nutrition* 87, 193-197.

Radu, D., Oprea, L., Bucur, C., Costache, M., Oprea, D., 2009. Characteristics of haematological parameters for Carp culture and Koi (*Cyprinus carpio* Linneaus, 1758) reared in an intensive system. *Bulletin UASVM Animal Science and Biotechnologies* 66 (1-2), 336-342.

Rehulka, J., Minarik, B., Cink. D., Zalak, J., 2011. Prebiotic effect of fructooligosaccharide on growth and physiological state of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis* 5, 227-235.

Respondek, F., Goachet, A.G., Julliand, V., 2006. Effect of short chain fructooligosaccharides on biochemical disturbances occuring in the hindgut of horses following an abrupt diet change. European Society of Veterinary and Comparative Nutrition, Nantes, France. 134 p.

Salze, G., Mclean, E., Schwarz, M.H., Craig, S.R., 2008. Dietary mannanoligo saccharide enhances salinity tolerance and gut development of larval cobia. *Aquaculture* 274, 148-152.

Schley, P.D., Field, C.J., 2002. The immune-enhancing effects of dietary fibres and prebiotics. *British Journal Nutrition* 87: 221-230.

Skjermo, J., Storseth, T.R., Hansen, K., Handa, A., Oie, G., 2006. Evaluation of (1→3, 1→6) β-glucans and High-M alginate used as imunostimulatory dietary supplement during first feeding and weaning of Atlantic cod (*Gadus morhua* L.). *Aquaculture* 261, 1088-1101.

Stoskopf, M. K., 1993. In: Fish Medicine. pp. 113-131. Edited by M. K. Stoskopf. Saunders, Philadelphia.

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

Tovar, D., Zambonino, J., Cahu, C., Gatesoupe, F. J., Vazquezjuarez, R., Lesel, R., 2002. Effect of live yeast incorporation in compound diet on digestive enzyme activity in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) Larvae. *Aquaculture* 204: 113-123.

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.

Zar, J.H., 2010. Biostatistical analysis, 5th Edition. Pearson, New Jersey, USA. 960 p.