شیلات، مجله منابع طبیعی ایران
دوره ۷۵، شماره ۱، بهار ۱۴۰۱
صفحات ۱۵۲-۱۳۷

اثرمتقابل دو سطح استفاده از پری‌بیوتیک تجاری سانیار (پودری و مایع) در کاهش بار آلودگی آب، عملکرد رشد و تغذیه، فعالیت آنزیم‌های گوارشی، ایمنی غیر اختصاصی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در سیستم بیوفلاک

سیمرا جعفریان[۱]، حسین آدینه[۲*]، محمد فرهنگی[۲]، محمد هرسیج[۳] و ضیاء کردجزی[۲]

۱. دانشجوی دکتری شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس
۲. استادیار گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس
۳. دانشیار گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس

تاریخ دریافت: ۴۰۰/۰۱/۲۷ تاریخ پذیرش: ۴۰۰/۱۱/۲۹

چکیده

هدف از مطالعه حا ضر برر سی اثرات ا ستفاده از دو سطح پری‌بیوتیک سانیار (پودری و مایع) بر عملکرد ر شد، بهره‌وری تغذیه، فعالیت آنزیم‌های گوارشی و ایمنی غیر اختصاصی بچه‌ماهی کپور معمولی در سیستم بیوفلاک بود. ماهی کپور معمولی (۰/۴۵± ۱۰/۰۹ گرم) در ۱۸ مخزن (۳۵ لیتر) در ۶ تیمار به مدت ۶۰ روز ذخیره شـد که شـامل موارد زیر اسـت: تیمار شـاهد بدون افزودنی با آب تمیز (C)، تیمار شـاهد بدون افزودنی با فلاک (FC)، تیمارهای فلاک با ۰/۱ گرم و ۰/۲ گرم پری‌بیوتیک پودری (FP1 and FP2) و تیمارهای فلاک با ۱ میلی‌لیتر و ۲ میلی‌لیتر پری‌بیوتیک مایع (FL1 and FL2) در ۱۰۰ گرم غذای پایه بود. شاخص‌های آب در حد استاندارد برای این گونه حفظ شد. غلظت آمونیاک کل (TAN) بین تیمارهای آزمای شی اختلاف آماری معنی‌داری دا شت. در تیمار FP1 عملکرد ر شد ماهی به‌طور معنی‌داری بی شتر و ضریب تبدیل غذایی کمتر بد ست آمد. بی‌شترین فعالیت پروتئاز روده (۰/۰۵± ۸/۴۲) در تیمار FP1 بد ست آمد. کمترین میزان کورتیزول و گلوکز سرم در تیمار FP1 م شاهده شد. سرم ایمونوگلوبولین و لیزوزیم در تیمارهای FP2 و FL1 به‌طور معنی‌داری بیشتر از سایر تیمارها بود. نتایج این مطالعه نشان داد که استفاده از ۰/۱ گرم پودر پری‌بیوتیک سانیار در ۱۰۰ گرم غذا در سیستم بیوفلاک می‌تواند عملکرد رشد و وضعیت ایمنی ماهی کپور معمولی را بهبود بخشد.

کلمات کلیدی: بیوفلاک، پری‌بیوتیک سانیار، ماهی کپور، رشد، ایمنی، کیفیت آب.

* نویسنده مسئول: حسین آدینه
Email: adineh.h@gonbad.ac.ir

Journal of Fisheries
Vol. 75, No. 1, Spring 2022
pp. 137-152

Interaction of two levels of Sanyar commercial prebiotics (powder and liquid) in reduction of water pollution load, feed and growth performance, digestive enzyme activity, non-specific immunity of common carp (*Cyprinus carpio*) in bio-floc system

Samira Jafarian[1], Hossein Adineh[2*], Mohammad Farhangi[2], Mohammad Harsij[3], Zia Kordjazi[2]

1. *PhD student in Fisheries, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Gonbad Kavous University*
2. *Assistant Professor, Department of Fisheries, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Gonbad Kavous University*
3. *Associate Professor, Department of Fisheries, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Gonbad Kavous University*

Received: 16-Nov-2011 **Accepted: 18-Feb-2012**

Abstract

The purpose of this study was to investigate the effects of using two levels of Sanyar prebiotics (powder and liquid) on growth performance, feed productivity, digestive enzyme activity and non-specific immunity of *Cyprinus carpio* juveniles in the biofloc system. Common carp (10.09 ± 0.45 g) were stocked into 18 tanks (35 L) in six treatments for 60 days, including: Control treatment without additive and with clean water (C), Control treatments without additive with Floc (FC), Floc treatments with 0.1 and 0.2 g (FP1 and FP2) powder prebiotic and Floc treatments with 1 and 2 ml (FL1 and FL2) liquid prebiotic per 100 g of basic diet. Water parameters are maintained at the standard level for this species. Total ammonia concentration (TAN) was statistically significant between experimental treatments. The growth of fish was obtained significantly higher and the feed conversion ratio was lower in FP1. The highest intestinal protease activity (8.42± 0.05) was obtained in FP1 treatment. The lowest serum cortisol and glucose were observed in FP1. The immunoglobulin and lysozyme serum in FP2 and FL1 were significantly higher than other treatments. The results of this study showed that the use of 0.1 g of Sanyar prebiotic powder per 100 g of basic diet in the biofloc system could improve growth performance, and the immune status of *C. carpio*.

Key words: Biofloc, Sanyar prebiotics, Common carp, Growth, Immune, Water quality.

Corresponding author: Hossein Adineh Email: adineh.h@gonbad.ac.ir

۱. مقدمه

در سال‌های اخیر، افزایش تقاضا برای استفاده از آبزیان باعث شده تا منابع طبیعی شیلاتی کاهش و استفاده از فناوری‌های جدید مانند بکارگیری سیستم بیوفلاک برای توسعه پایدار آبزی‌پروری در سراسر جهان گسترش یابد (Pauly *et al.*, 2002). فناوری بیوفلاک نوع جدید از فناوری تصفیه آب است که با حفظ کیفیت آب، کاهش مصرف آب، بازیافت منابع غذایی و توسعه سیستم‌های آبزی‌پروری پایدار برای افزایش تولید در واحد سطح گسترش یافته است (Avnimelech, 2009; Crab *et al.*, 2012). بیوفلاک مجموعه‌ای رشته‌ای از میکروارگانیسم‌های مختلف از جمله باکتری‌ها، فیتوپلانکتون‌ها، روتیفرها، نماتدها، تک‌یاخته‌ها و همچنین غذاهای خورده نشده، سلول‌های مرده، دیتریتوس و مدفوع را شامل می‌شود (Emerenciano *et al.*, 2011) و به‌عنوان یک محیط ضد استرس برای آبزیان همچون ماهی کپور معمولی نقش ایفا می‌نماید (Adineh *et al.*, 2019). ماهی کپور معمولی به دلیل دارا بودن عادت غذایی همه‌چیزخواری، فیلترکنندگی، کفزی‌خواری و قابلیت جذب ذرات معلق میکروبی کاندیدای مناسبی برای پرورش در سیستم بیوفلاک است. از آنجائیکه این گونه در برابر نوسانات دمایی، اکسیژن، تراکم پرورش و بیماری‌ها نسبت به دیگر گونه‌های پرورشی مقاوم‌تر است. بنابراین یکی از گونه‌های مهم پرورشی در ایران و جهان محسوب می‌شود.

در سیستم بیوفلاک سه راه برای تبدیل ترکیبات نیتروژنی به‌منظور حفظ کیفیت آب و تولید پروتئین میکروبی وجود دارد که می‌توان به مصرف فتواتوتروفیک توسط جلبک‌ها، تبدیل نیتروژن آمونیاکی به نیتروژن نیتراتی توسط باکتری‌های شیمواتوتروفیک و همچنین جذب مستقیم نیتروژن آمونیاکی و تبدیل آن به بیوماس باکتریایی توسط باکتری‌های هتروتروفیک اشاره کرد (Ebeling *et al.*, 2006). باکتری‌های هتروتروف از منابع کربن آلی برای افزایش زیست توده و تحریک رشد فلاک‌ها استفاده می‌کنند (Martínez-Córdova *et al.*, 2015).

در سیتم بیوفلاک به کمک اضافه کردن منابع کربوهیدراتی، باکتری‌های هتروتروفیک آمونیوم را مستقیماً جذب و به پروتئین سلولی تبدیل می‌کنند. پروتئین میکروبی تولید شده در محیط بیوفلاک می‌تواند تا حدود ۱۵ درصد جایگزین غذای تجاری ماهی کپور معمولی (Adineh *et al.*, 2021) و تا حدود ۲۵ درصد جایگزین غذای کنسانتره میگوی وانامی‌شود (Adineh and Harsij, 2018). تنظیم و کنترل نسبت کربن به نیتروژن (C:N) در محدوده استاندارد (۱۰ تا ۲۰) (Asaduzzaman *et al.*, 2008) باعث تامین انرژی برای باکتری‌های هتروتروف (تنفس، تغذیه، حرکت، هضم و غیره) و در نهایت رشد و تکثیر مناسب آنها می‌گردد (Avnimelech, 2007; Emerenciano *et al.*, 2012; Ebeling *et al.*, 2006). این باکتری‌ها علاوه بر حفظ کیفیت آب به‌عنوان یک منبع غذایی حاوی پروتئین، ویتامین‌ها و مواد معدنی برای آبزیان پرورشی محسوب می‌شوند، بنابراین برای حفظ و ازدیاد این باکتری‌ها نیاز به افزودن منابع مختلف کربوهیدرات به محیط فلاک است (Ahmad *et al.*, 2017).

یکی از منابع کربوهیدرات غیر قابل هضم که بطور انتخابی سبب تحریک رشد و فعالیت تعدادی از باکتری‌ها بخصوص در دستگاه گوارش میزبان می شود پری‌بیوتیک‌ها هستند. انواع پری‌بیوتیک‌های استفاده شده در صنعت آبزی‌پروری شامل بتاگلوکان‌ها، منان‌الیگوساکاریدها، لاکتوز، فروکتوالیگوساکارید و اینولین هستند که اثر آن‌ها در آبزیان به اثبات رسیده است (Dimitroglou *et al.*, 2010; Hoseinifar *et al.*, 2016, 2017). در خصوص استفاده از انواع پری‌بیوتیک ها در جیره غذایی ماهی کپور معمولی می‌توان به بررسی اثر مکمل غذایی سین‌بیوتیک بایومین ایمبو بر عملکرد رشد، بازماندگی و فلور باکتریایی روده ماهی کپور معمولی انگشت‌قد (Qasempour Dehaghani *et al.*, 2013)، اثر پری‌بیوتیک آلفامیون و پروبیوتیک پروتکسین بصورت انفرادی و ترکیبی بر رشد بچه ماهیان کپور معمولی (Mahmuodian *et al.*, 2015)، اثر مکمل های

گیاهی و اینولین بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی ماهی کپور معمولی جوان (Vaez *et al.*, 2017)، تاثیر پری‌بیوتیک ایمکس بر عملکرد رشد، کارایی تغذیه و برخی از فاکتورهای بیوشیمیایی سرم خون بچه ماهیان انگشت‌قد کپور معمولی (Bivareh and Jafaryan., 2017)، تاثیر پری‌بیوتیک سلماناکس و پنج گونه از پروبیوتیک‌های باسیلی بر کاهش استرس حمل‌و نقل کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در شوری‌های مختلف (Ranjdoust *et al.*, 2019)، تاثیر دو پری‌بیوتیک تجاری ایمکس، سلماناکس مایع و مخلوط آن‌ها با هم در جیره غذایی بچه ماهیان نورس کپور معمولی بر عملکرد رشد، کارایی تغذیه و میزان مقاومت در برابر استرس‌های محیطی (Bivareh and Jafaryan., 2017)، تاثیر پری‌بیوتیک مانان الیگوساکارید بر عملکرد رشد، بازماندگی و مقاومت به تنش شوری در بچه ماهی کپور معمولی (Farhangi and Kor, 2020)، اشاره کرد. تحقیقاتی در ارتباط با اثرات به کارگیری پری‌بیوتیک‌های تجاری در سیستم بیوفلاک منتشر شده است. استفاده از دو پری‌بیوتیک تجاری ایمکس اولترا و سلماناکس مایع در تلقیح به سیستم بیوفلاک (Khosravi *et al.*, 2020)، به کارگیری مکمل خوراکی پربیوتیکی (Poly-β-hydroxybutyrate) در جیره غذایی به‌عنوان ترکیب تقویت‌کننده سیستم ماهی کپور (*Carassius auratus gibelio*) در سیستم بیوفلاک (Qiao *et al.*, 2020)، تغییرات نیتروژن و میکروبیوتای روده ماهی تیلاپیا نیل (*Oreochromis niloticus*) با استفاده از پلی (β- هیدروکسی بوتیرات-β- هیدروکسیوالرات) به‌عنوان منبع کربن در سیستم‌های بیوفلاک (Liu *et al.*, 2019)، استفاده از مانان الیگوساکاریدهای به‌عنوان منبع کربن در سیستم بیوفلوک برای پرورش ماهی تیلاپیا نیل (Kishawy *et al.*, 2020)، اثرات استفاده از سین‌بیوتیک (پرو بیوتیک و پری‌بیوتیک) در سیستم پرورش ماهی تیلاپیا نیل مبتنی بر بیوفلاک (BFT) مورد بررسی قرار گرفته است (Laice *et al.*, 2021). با توجه به پژوهش‌های انجام شده، نیاز است که انواعی از ترکیبات و اثرات انها در بهبود شرایط زیست آبزیان مورد استفاده قرار گیرد. لذا، در این پژوهش تاثیر پری‌بیوتیک سانیار (پودری و مایع) در دو سطح مختلف بر عملکرد رشد، بهره‌وری تغذیه، ترشح آنزیم‌های گوارشی و ایمنی غیر اختصاصی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) پرورش یافته در سیستم بیوفلاک مورد بررسی قرار گرفت.

۲. مواد و روش‌ها

۲.۱. تهیه ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

تعداد ۴۰۰ قطعه ماهی کپور معمولی تهیه و بعد از انتقال به آزمایشگاه آبزی‌پروری دانشگاه گنبد کاووس به‌مدت ۱۰ روز دوره سازگاری با شرایط آزمایشگاه سپری شد. ۱۸ مخزن (۶ تیمار و هر یک با ۳ تکرار) با حجم آبگیری ۳۵ لیتر آماده که تعداد ۳۲۴ قطعه در آن ها رهاسازی شد. تعداد ۱۸ قطعه ماهی با میانگین وزنی ۰±/۴۵ ۱۰/۰۹ گرم در هر مخزن برای ۶۰ روز پرورش نگهداری گردید. غذادهی به‌میزان ۳ درصد وزن بدن در ۳ نوبت (۸ صبح، ۱۳ ظهر و ۱۸ عصر) اجرا شد. تعویض آب کمتر از ۵ درصد در تیمارهای بیوفلاک و ۲۰ درصد در تیمار شاهد با آب تمیز بصورت روزانه برای جلوگیری از تجمع فلاک اضافی انجام شد.

۲.۲. تهیه استوک اولیه بیوفلاک

برای تهیه استوک اولیه فلاک میکروبی، دو مخزن مدور و هر یک با حجم آبگیری ۵۰ لیتر تهیه و در هریک از آنها برای تامین نیتروژن از غذای ماهی و اوره و برای تامین کربن از ملاس چغندر قند استفاده شد (Avnimelech, 2009). از خاک رس پس از عبور از الک ۲۵۰ میکرونی به دلیل داشتن بار الکتریکی جهت چسبیدن ذرات به یکدیگر و کمک در تشکیل بیوفلاک استفاده گردید (Crab *et al.*, 2012). برای تسریع در تشکیل بیوفلاک طی مدت ۱۰ تا ۱۴ روز با رعایت نکاتی چون؛ هوادهی شدید جهت جلوگیری از رسوب مواد مورد

استفاده در تولید بیوفلاک، تنظیم دمای محیط بالای ۲۲ درجه‌سانتی‌گراد و تاریکی محیط جهت تکثیر باکتری‌های اکسیدکننده آمونیاک، استفاده از آب همراه با مقداری از آب محیط پرورش ماهی برای تولید بیوفلاک در این آزمایش بکار گرفته شد (Azimi *et al.*, 2017; Adineh and Harsij, 2018). نسبت کربن به نیتروژن در استوک تهیه شده ۱۵ به ۱ بود. هنگامی که مقدار جامدات معلق کل در آب به حدود ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر و مقدار آمونیاک کل به کمتر از ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر رسید (Najdegerami *et al.*, 2016)، هوادهی قطع و استوک بیوفلاک تشکیل شده از توری با چشمه ۱۰ میکرومتر عبور داده شد و به هر مخزن در گروه آزمایشی بیوفلاک مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر در لیتر از استوک اولیه بیوفلاک افزوده شد (Xu and Pan, 2013). برای حفظ مقادیر بیوفلاک در تیمارهای آزمایشی بررسی حجم فلاک توسط ظروف مخروطی مدرج ایمهوف در طول دوره پرورش انجام شد.

۲.۳. تهیه و افزودن پری‌بیوتیک سانیار به جیره غذایی

پری‌بیوتیک سانیار از شرکت کاوشگر سپهر جوان (به شماره ثبت ۳۷۴۸۱، دزفول- ایران) تهیه شد. این پری‌بیوتیک برگرفته از مخمر ساکارومایسیس سرویزیه (*Saccharomyces cerevisiae*) حاوی مانان الیگوساکارید و بتاگلوکان است. پری بیوتیک سانیار به‌صورت مایع و پودری طبق دستورالعمل شرکت تولید کننده استفاده شد. بدین‌منظور از پری‌بیوتیک سانیار مایع بصورت مجزا به‌میزان ۱ و ۲ میلی‌لیتر در هر ۱۰۰ گرم جیره غذایی و از پری‌بیوتیک پودری بصورت مجزا به‌میزان ۰/۱ و ۰/۲ گرم در ۱۰۰ گرم جیره غذایی استفاده گردید. غذای آغازین ماهی کپور با کد SFC (در محدوده‌ی وزنی ۱ تا ۲۰ گرم) از شرکت فرادانه حاوی حداقل ۳۸درصد پروتئین، ۴در صد چربی، ۳در صد فیبر، ۷در صد خاکستر، ۵درصد رطوبت، ۱درصد فسفر با قطر ۲ میلی‌متر تهیه گردید. آماده‌سازی غذا در دو مرحله برای ۳۰ روز انجام شد. بدین منظور غذای هر تیمار با آسیاب برقی خرد و از الک عبور داده شد. سپس به ازای هر ۱۰۰ گرم غذا بصورت مجزا از پری‌بیوتیک سانیار مایع بترتیب به‌میزان ۱ میلی‌لیتر و ۲ میلی‌لیتر و از پری‌بیوتیک سانیار پودری به‌میزان ۰/۱ و ۰/۲ گرم افزوده و توسط آب مقطر به حالت خمیری و بعد از عبور از چرخ گوشت و تهیه رشته در مجاورت هوا با استفاده از پنکه خشک گردید. غذا خورد شده از الک عبور داده شد و سپس غذای آماده در پلاستیک زیپبدار در دمای ۲۰- درجه‌سانتیگراد یخچال نگهداری شد. برای تیمارهای شاهد آب تمیز و فلاک از غذای بدون افزودنی پری‌بیوتیک استفاده شد که تنها غذا پودر، توسط آب مقطر خمیری و پس از خشک و سایزبندی شدن در دمای ۲۰- درجه‌سانتیگراد یخچال نگهداری شد.

تیمارهای آزمایش در این تحقیق به شرح ذیل بودند؛ تیمار شاهد بدون افزودنی با آب تمیز (C)، تیمار شاهد بدون افزودنی با فلاک (FC)، تیمار های فلاک حاوی مقادیر پری‌بیوتیک پودری ۰/۱ گرم (FP1) و ۰/۲ گرم (FP2) در ۱۰۰ گرم غذای پایه و همچنین تیمار های فلاک حاوی مقادیر پری‌بیوتیک مایع ۱ میلی‌لیتر (FL1) و ۲ میلی‌لیتر (FL2) در ۱۰۰ گرم غذای پایه بودند.

۲.۴. عملکرد رشد و بهره‌وری تغذیه

در پایان دوره آزمایش فاکتورهای رشد و تغذیه ماهی کپور معمولی سنجش شد. وزن کل با ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۱ و طول کل با استفاده از تخته بیومتری با دقت ۰/۱ سانتی‌متر اندازه گیری شد. شاخص‌های رشد به شرح زیر مورد اندازه گیری قرار گرفت:

(WG, g) = افزایش وزن

میانگین وزن نهایی (گرم)- میانگین وزن اولیه (گرم)

(WGR, %) = درصد افزایش وزن

[(وزن نهایی (گرم)- وزن اولیه (گرم)/ (وزن اولیه)]× ۱۰۰

(SGR, ٪.day^{-1}) = ضریب رشد ویژه

((ln وزن نهایی (گرم)- ln وزن اولیه (گرم))/ مدت‌زمان پرورش (روز))× ۱۰۰

= ضریب تبدیل غذایی (FCR)
[مقدار غذای مصرف‌شده (گرم)/ (وزن نهایی (گرم)- وزن اولیه (گرم))]

= کارایی تبدیل غذا (FCE, %)
(وزن بدست آمده/ مقدار غذای مصرف شده (گرم))× ۱۰۰

۲.۵. سنجش کیفیت آب

فاکتورهای کمی و کیفی آب از قبیل دمای آب، شوری، درصد اشباعیت، میزان اکسیژن محلول و هدایت الکتریکی (EC) توسط دستگاه پورتابل کیفیت سنج آب ساخت شرکت هک آمریکا مدل D40 بصورت مستمر اندازه‌گیری شد. میزان پی‌اچ آب با استفاده از pH متر مدل ۸۲۷ متروم ساخت سوئیس انجام و قلیائیت به روش تیتراسیون و غلظت نیتروژن غیر آلی محلول شامل آمونیاک کل (TAN)، نیترات ($NO3^-$) و فسفات با استفاده از اسپکتروفتومتر بر اساس استاندارد آزمایشگاه (APHA, 1998) سنجش شد.

۲,۶. نمونه‌برداری

بعد از ۶۰ روز دوره پرورش، برای سنجش آنزیم‌های گوارشی و برخی از فاکتورهای ایمنی نیز ۲۴ ساعت قبل از نمونه‌برداری غذادهی قطع گردید و بطور تصادفی تعداد ۳ قطعه ماهی از هر تکرار صید گردید. نمونه‌های خون از ۳ ماهی از هر تانک (۹ ماهی از هر تیمار) و با استفاده از سرنگ از سیاهرگ ساقه دمی گرفته شد. محوطه شکمی نمونه‌ها با الکل ضدعفونی سپس کل روده از بدن جدا و توسط سرم فیزیولوژی شست‌وشو شد.

۲,۷. آنزیم‌های گوارشی

نمونه‌ها با ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ گرم وزن شدند و سپس به نسبت وزنی- حجمی (۱ به ۹) با محلول بافر همگن شدند (Cahu *et al.*, 1999). جهت تهیه عصاره آنزیمی ابتدا بافر ساخته شد که بدین منظور ۱۰۰ میلی‌مولار Tris-Hcl، ۰/۱ میلی‌مولار EDTA و ۰/۱ درصد Triton در پی‌اچ ۷/۸ همگن شدند. نمونه‌ها در دستگاه سانتریفیوژ یخچال‌دار با دمای ۴ درجه‌سانتی‌گراد قرار داده شد که در نهایت مایع رویی بدست آمده به‌عنوان عصاره آنزیمی برای سنجش جدا گردید (Rungruangsak-Torrissen *et al.*, 2002). میزان فعالیت آنزیم های گوارشی بر مبنای واحد/میلی‌گرم پروتین محاسبه شد. برای سنجش میزان پروتئین کل نمونه از روش Bradford (۱۹۷۶) استفاده شد. آمیلاز و پروتئاز بر اساس روش ورتینگتون انجام شد (Worthington, 1993). سنجش آنزیم لیپاز با استفاده از هیدرولیز p-Nitropheny1 myristate به‌عنوان سوبسترا در متوکسی اتانول ۰/۲۵ میلی‌مولار، Sodium Cholate ۵ میلی‌مولار و Tris-HCL ۰/۲۵ مولار در پی‌اچ ۹ انجام شد. فعالیت اختصاصی لیپاز برابر است با آزادسازی یک میکرومول پارا-نیتروفنل در یک دقیقه در دمای ۳۰ درجه سانتیگراد که در ۴۰۵ نانومتر خوانده شد (Iijima *et al.*, 1998)

۲,۸. پاسخ ایمنی غیر اختصاصی سرم خون

میزان پروتئین کل و آلبومین سرم با استفاده از کیت‌های تجاری بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده و به روش رنگ‌سنجی تعیین گردید. سطح گلوکز سرم خون با استفاده از کیت تجاری اندازه‌گیری شد (Borges *et al.*, 2004). سطوح کورتیزول سرم با استفاده از کیت آزمایشگاهی به روش الیزا (ELISA) تعیین شد. غلظت ایمنوگلوبولین توسط کیت مخصوص به روش کدورت‌سنجی و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر انجام شد. تمامی کیت‌های مورد استفاده برای بررسی فاکتورهای سرم خون از شرکت پارس آزمون (کرج، ایران) تهیه گردیدند. برای تعیین میزان فعالیت لیزوزیم سرم از روش ارائه شده توسط Ellis (1990) استفاده شد. مقدار ۲۵ میکرولیتر از سرم به پلیت های ۹۶ خانه‌ای الایزا افزوده شد. سپس مقدار ۱۷۵ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتریایی میکروکوکوس لیزودیکتیکوس (*Micrococcus Lysodeikticus*) در غلظت ۰/۰۲ میلی‌گرم در لیتر در ۰/۵ مولار بافر فسفات با پی‌اچ ۶/۲ اضافه شد. با استفاده از دستگاه خوانش الایزا Bio-Tek جذب نوری اولیه در طول‌موج ۵۳۰ نانومتر قرائت و پس

از یکساعت نگهداری در دمای اتاق، مجدداً جذب نوری اندازه‌گیری شد. هر واحد از فعالیت لایزوزیم بر اساس کاهش جذب (۰/۰۰۱ در دقیقه) تعیین شد.

۲،۹. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

این طرح در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۶ تیمار آزمایشی و هر یک با ۳ تکرار به‌مدت ۶۰ روز اجرا شد. نرمال بودن داده‌ها تو سط آزمون Shapiro-Wilk برر سی شد. مقایسه میانگین داده‌های تیمارهای آزمایشی (انحراف معیار ± میانگین) با استفاده از تجزیه واریانس یکطرفه (One-Way ANOVA) و توسط آزمون چند دامنه دانکن انجام شد. از تجزیه واریانس دوطرفه (Two-Way ANOVA) برای بررسی اثر متقابل (اثر پری‌بیوتیک پودری و مایع و اثر دو سطح از دوز مصرفی) استفاده شد. تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم افزار IBM SPSS Statistics نسخه ۱۶ انجام گردید و سطح معنی‌داری قابل قبول در کلیه آزمون‌های آماری به صورت ($P < ۰/۰۵$) در نظر گرفته شد. برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Microsoft Office Excel نسخه ۲۰۱۶ ا ستفاده شد.

۳. نتایج

نتایج آنالیز کیفیت آب در جدول ۱ نشان داده شده است. میانگین درجه حرارت و اکسیژن بین تیمارهای آزمایشی بدون اختلاف آماری در محدوده ا ستاندارد برای پرورش ماهی کپور معمولی قرار داشت. بیشترین مقادیر شوری، پی‌اچ، قلیائیت و هدایت الکتریکی در تیمار FC در مقایسه با دیگر تیمارهای آزمایشی بد ست آمد. کل مواد جامد محلول در تیمارهای بیوفلاکی در مقایسه با آب تمیز افزایش معنی‌داری داشت ($P <۰/۰۵$). آمونیاک کل در تیمارهای FC، FP1 و FL2 در مقایسه با تیمار آب تمیز C افزایش معنی‌دار آماری داشت ($P <۰/۰۵$).

جدول ۱- میانگین کیفیت آب محیط پرورش ماهی کپور معمولی تحت تاثیر پری‌بیوتیک سانیار در سیستم بیوفلاک

	C	FC	FP1	FP2	FL1	FL2
دما (°C)	۲۳/۱۷ ± ۰/۶۲	۲۳/۷۰ ± ۰/۶۰	۲۳/۷۵ ± ۰/۳۷	۲۳/۶۰ ± ۰/۵۸	۲۳/۵۳ ± ۰/۷۲	۲۳/۸۵ ± ۰/۵۵
اکسیژن (mg/L)	۶/۸۲ ± ۰/۱۷	۶/۷۸ ± ۰/۳۸	۶/۸۰ ± ۰/۲۱	۶/۹۸ ± ۰/۱۲	۶/۸۲ ± ۰/۲۲	۶/۹۵ ± ۰/۲۳
شوری (ppt)	۰/۴۴ ± ۰/۰۱۴b	۰/۴۸ ± ۰/۰۳۵a	۰/۴۷ ± ۰/۰۱۷ab	۰/۴۶ ± ۰/۰۰۹ab	۰/۴۶ ± ۰/۰۲۲ab	۰/۴۶ ± ۰/۰۲۳ab
پی‌اچ	۷/۴۸ ± ۰/۰۶۷b	۷/۷۰ ± ۰/۰۸۱a	۷/۵۰ ± ۰/۰۸۰b	۷/۵۵ ± ۰/۱۴b	۷/۴۵ ± ۰/۱۲b	۷/۵۲ ± ۰/۱۰b
سختی کل (mg/L as CaCO3)	۳۱۹/۷۱ ± ۸/۷۷b	۴۰۸/۰۰ ± ۱۸/۱۲a	۴۱۹/۱۳ ± ۱۱/۶۱a	۴۲۳/۶۹ ± ۱۶/۳۷a	۴۰۱/۲۳ ± ۲۲/۷۶a	۴۱۲/۴۸ ± ۱۳/۸۹a
قلیائیت (mg/L as CaCO3)	۲۷۴/۵۰ ± ۹/۲۵c	۳۸۳/۲۴ ± ۱۸/۸۹a	۳۷۰/۶۸ ± ۲۲/۵۵ab	۳۵۹/۱۵ ± ۱۴/۸۱ab	۳۶۳/۸۹ ± ۱۸/۱۱ab	۳۴۷/۵۲ ± ۳۳/۹۰b
هدایت الکتریکی (µs/cm)	۸۷۵/۵۰ ± ۱۰/۶۶c	۹۹۰/۷۵ ± ۱۰/۵۹a	۹۴۸/۴۷ ± ۳۴/۵۶ab	۹۴۹/۵۳ ± ۱۲/۴۴ab	۹۵۸/۲۵ ± ۴۵/۱۹ab	۹۴۱/۳۷ ± ۳۹/۳۴b
کل مواد جامد محلول (mg/L)	۳۴۴/۷۵ ± ۱۷/۴۶b	۴۷۴/۴۲ ± ۳۹/۷۴a	۴۶۶/۰۰ ± ۱۷/۸۶a	۴۶۷/۰۰ ± ۲۰/۵۷a	۴۶۲/۶۱ ± ۲۱/۶۷a	۴۵۹/۷۸ ± ۲۰/۲۰a
آمونیاک کل (mg/L)	۰/۰۳۰ ± ۰/۰۱۲b	۰/۰۶۲ ± ۰/۰۱۸a	۰/۰۵۹ ± ۰/۰۰۷a	۰/۰۵۰ ± ۰/۰۲۱ab	۰/۰۴۷ ± ۰/۰۱۵ab	۰/۰۵۴ ± ۰/۰۱۳a

در هر ردیف وجود حروف غیرمشابه نشان دهنده تفاوت آماری معنی‌دار است ($P <۰/۰۵$).

تجزیه و تحلیل آماری عملکرد رشد و تغذیه ماهی کپور معمولی تغذیه شده با دو سطح از مکمل پری‌بیوتیک پودری و مایع سانیار در جدول ۲ آورده شده ا ست. پایان ۶۰ روز دوره آزمایش نیز بیشترین مقدار وزن نهایی،

افزایش وزن، درصد افزایش وزن و ضریب رشد ویژه در تیمار FP1 در مقایسه با تیمارهای شاهد آب تمیز و بیوفلاک بدست آمد (P <۰/۰۵). شکل مورد استفاده پری‌بیوتیک سانیار (شکل پودری و مایع) بر شاخص‌های فوق‌الذکر اثر معنی‌داری نداشت در حالیکه دوز مصرفی این پری‌بیوتیک توانست بر فاکتورهای رشد تاثیر معنی‌دار داشته باشد. دو عامل شکل پری‌بیوتیک و دوز مصرفی بر عملکرد رشد اثرمتقابل داشت. ضریب تبدیل غذایی بطور معنی‌داری در تیمار FP1 و FL1 به کمترین مقدار و در تیمار C به بیشترین مقدار رسید. در همین راستا، بیشترین کارایی تبدیل غذا در تیمار FP1 بدست آمد (P <۰/۰۵). در این آزمایش تنها دوز مصرفی بر ضریب تبدیل غذایی و کارایی تبدیل غذا اثر معنی‌دار داشت.

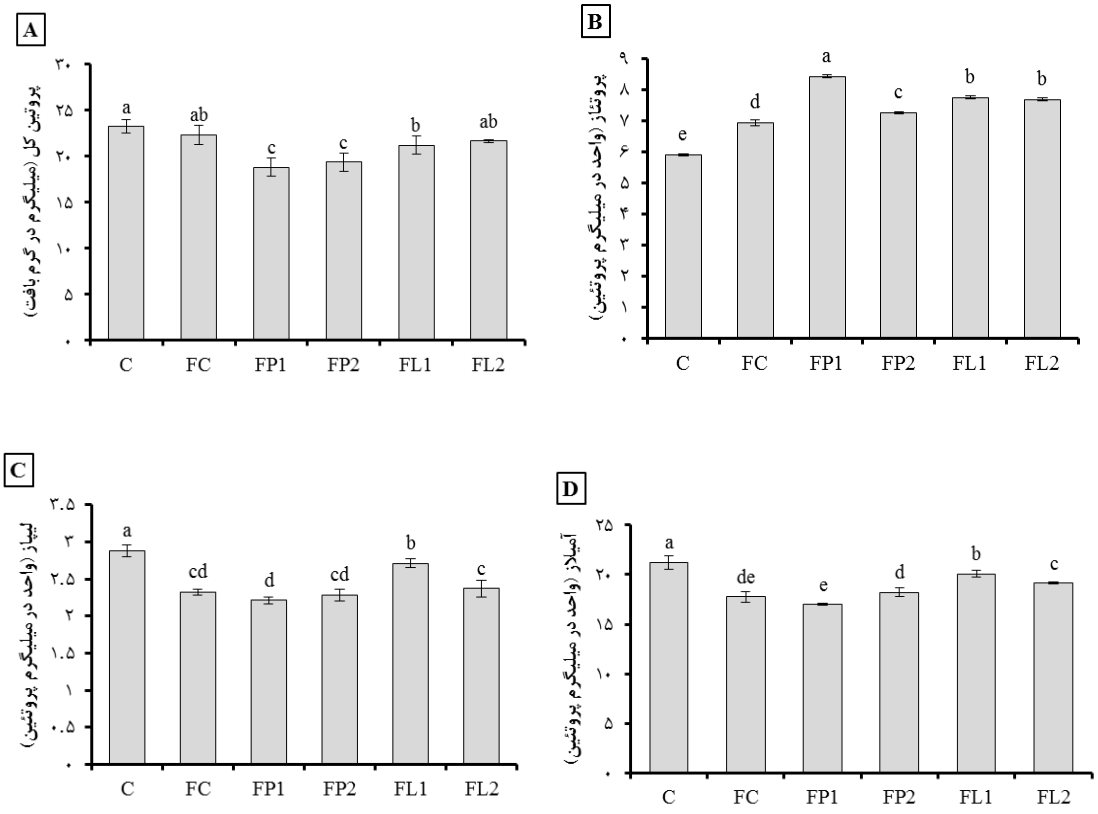
جدول ۲- عملکرد رشد و بهره‌وری تغذیه ماهی کپور معمولی تغذیه شده با مکمل پری‌بیوتیک سانیار در سیستم بیوفلاک

	وزن اولیه (گرم)	وزن نهایی (گرم)	افزایش وزن (گرم)	درصد افزایش وزن	ضریب رشد ویژه (درصد در روز)	ضریب تبدیل غذایی	کارایی تبدیل غذا (درصد)
C	۱۰/۱۹ ± ۰/۴۶	۱۶/۳۲ ± ۱/۱۹cd	۶/۱۲ ± ۱/۳۴c	۶۰/۴۲ ± ۱۴/۹۱c	۰/۷۸ ± ۰/۱۵c	۱/۹۱ ± ۰/۰۹a	۵۳/۸۶ ± ۲/۴۶c
FC	۱۰/۰۳ ± ۰/۳۹	۱۶/۰۳ ± ۱/۰۶d	۵/۹۹ ± ۱/۱۳c	۵۹/۹۹ ± ۱۲/۰۰c	۰/۷۷ ± ۰/۱۲c	۱/۷۸ ± ۰/۱۹ab	۵۸/۱۴ ± ۵/۲۷bc
FP1	۹/۹۳ ± ۰/۴۰	۱۸/۱۰ ± ۱/۶۱a	۸/۱۶ ± ۱/۵۹a	۸۲/۳۷ ± ۱۶/۸۰a	۰/۹۹ ± ۰/۱۶a	۱/۴۹ ± ۰/۰۹b	۶۹/۵۴ ± ۲/۹۳a
FP2	۱۰/۲۸ ± ۰/۴۵	۱۶/۹۱ ± ۱/۳۸bc	۶/۶۳ ± ۱/۵۴bc	۶۴/۸۹ ± ۱۶/۹۰bc	۰/۸۲ ± ۰/۱۶bc	۱/۷۴ ± ۰/۲۳ab	۶۰/۲۸ ± ۷/۹۰abc
FL1	۱۰/۲۰ ± ۰/۵۶	۱۷/۵۶ ± ۱/۵۸Aab	۷/۳۶ ± ۱/۸۹ab	۷۳/۰۱ ± ۲۱/۲۶ab	۰/۹۰ ± ۰/۲۰ab	۱/۵۸ ± ۰/۲۰b	۶۶/۵۳ ± ۷/۱۶ab
FL2	۹/۹۲ ± ۰/۴۶	۱۷/۳۱ ± ۱/۳۵ab	۷/۳۸ ± ۱/۴۷ab	۷۴/۷۶ ± ۱۶/۴۹ab	۰/۹۲ ± ۰/۱۵ab	۱/۷۳ ± ۰/۱۰ab	۵۹/۸۷ ± ۳/۴۴abc
اثر پری‌بیوتیک	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
اثر دوز مصرفی	NS	P=۰/۰۰۵	P=۰/۰۰۶	P=۰/۰۱۱	P=۰/۰۱۰	P=۰/۰۴۱	P=۰/۰۴۴
اثر متقابل	NS	P=۰/۰۰۸	P=۰/۰۰۷	P=۰/۰۱۱	P=۰/۰۰۹	NS	NS

در هر ستون وجود حروف غیرمشابه نشان دهنده تفاوت آماری معنی‌دار است (P <۰/۰۵). (NS: Not Significant) به‌معنای عدم وجود اختلاف معنی‌دار آماری است.

نتایج بدست آمده از سنجش فعالیت آنزیم‌های گوارشی در تیمارهای بیوفلاک تحت تغذیه با دو سطح پری‌بیوتیک سانیار پودری و مایع در شکل ۱ نشان داده شده است. تیمار C در مقایسه با تیمارهای بیوفلاک تفاوت آماری معنی‌داری در مقادیر فعالیت آنزیمی نشان داد (P <۰/۰۵). در بین تیمارهای آزمایشی، تیمار FP1 دارای بیشترین مقدار پروتئاز ۰/۰۵ ± ۸/۴۲ واحد در میلی‌گرم پروتئین و کمترین مقادیر لیپاز و آمیلاز بترتیب ۰/۰۵ ± ۲/۲۱ و ۰/۰۸ ± ۱۶/۹۹ واحد در میلی‌گرم پروتئین بود (P <۰/۰۵).

شاخص‌های ایمنی غیراختصاصی سرم خون ماهی کپور معمولی تغذیه شده با پری‌بیوتیک سانیار در سیستم بیوفلاک در جدول ۳ نشان داده شده است. سطح گلوکز و کورتیزول سرم بین تیمارهای آزمایشی اختلاف آماری معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵)، بطوریکه بیشترین و کمترین مقادیر هورمون استرس بترتیب در تیمارهای FC و FP1 بدست آمد. اشکال و دوز استفاده از پری‌بیوتیک اثر متقابل معنی‌داری بر مقدار غلظت کورتیزول داشت (P <۰/۰۰۱). سطح ایمنوگلوبین و فعالیت لیزوزیم سرم خون در تیمارهای FP2 و FL1 تفاوت معنی‌دار آماری در مقایسه با سایر تیمارهای آزمایشی داشت (P <۰/۰۵). اشکال پودری و مایع پری‌بیوتیک و دوزهای مصرفی بطور مجزا بر ایمنوگلوبین و لیزوزیم سرم خون تاثیری نداشتند، در حالیکه این دو عامل توانستند اثرات متقابل بر سطح ایمنوگلوبین و فعالیت لیزوزیم سرم خون ماهی کپور داشته باشند (P <۰/۰۰۱).



شکل ۱- نمودارهای سطوح پروتئین کل (A)، پروتئاز (B)، لیپاز (C) و آمیلاز (D) ماهی کپور معمولی تغذیه شده با دو سطح پری‌بیوتیک سانیار پودری و مایع در سیستم بیوفلاک

جدول ۳- شاخص‌های ایمنی غیر اختصاصی ماهی کپور معمولی تغذیه شده با دو سطح از مکمل پری‌بیوتیک (پودری و مایع) در سیستم بیوفلاک

	گلوکز (mg/dl)	کورتیزول (ng/ml)	ایمنوگلوبین (mg/dl)	لیزوزیم (u/ml/min)
C	۶۰/۳۶ ۱±/۶۵^{b}	۲۴۲/۷۷ ۹±/۰۵^{b}	۴۸/۳۰ ۳±/۴۳^{b}	۳۸/۹۴ ۲±/۹۴^{c}
FC	۷۵/۲۴ ۲±/۵۶a	۲۶۹/۴۸ ۱۴±/۸۷^{a}	۴۹/۹۴ ۳±/۰۱^{b}	۳۹/۹۷ ۲±/۰۰^{c}
FP1	۴۷/۵۰ ۱±/۳۰^{d}	۱۳۴/۲۳ ۱۰±/۵۵^{d}	۴۶/۹۹ ۱±/۷۸^{b}	۴۵/۵۰ ۱±/۴۱^{b}
FP2	۵۱/۹۲ ۲±/۸۲^{c}	۲۰۴/۷۵ ۱۰±/۵۲^{c}	۶۰/۴۴ ۲±/۲۲^{a}	۵۲/۳۰ ۴±/۰۸^{a}
FL1	۵۴/۰۴ ۱±/۷۴^{c}	۲۰۵/۹۲ ۶±/۳۱^{c}	۶۰/۴۱ ۴±/۳۵^{a}	۵۵/۴۴ ۱±/۳۷^{a}
FL2	۵۴/۰۳ ۰±/۹۹c	۲۱۱/۴۷ ۷±/۸۱c	۴۶/۰۵ ۲±/۶۷b	۴۰/۱۰ ۱±/۶۵c
اثر پری‌بیوتیک	P=۰/۰۰۴	P <۰/۰۰۱	NS	NS
اثر دوز مصرفی	NS	P <۰/۰۰۱	NS	P=۰/۰۱۵
اثر متقابل	NS	P <۰/۰۰۱	P <۰/۰۰۱	P <۰/۰۰۱

در هر ردیف عمودی وجود حروف غیرمشابه نشان دهنده تفاوت آماری معنی‌داری می‌باشد (P<۰/۰۵).

(NS: Not Significant) به‌معنای عدم وجود اختلاف معنی‌دار آماری است.

۴. بحث و نتیجه گیری نهایی

اساس کار فناوری بیوفلاک تبدیل ضایعات نیتروژنی و تولید زیست توده میکروبی است (De Schryver *et al.*, 2008; Avnimelech, 2009). در محیط‌های پرورش با کمک تکنولوژی‌های مدرن همچون فناوری بیوفلاک می‌توان کیفیت آب را کنترل و در شرایط مناسب برای آبزی‌پروری حفظ نمود. در این مطالعه برخی از شاخص‌های کیفی آب مانند دما، اکسیژن محلول، شوری، پی‌اچ، سختی کل، قلیائیت و هدایت الکتریکی در دامنه مناسب برای پرورش ماهی کپور معمولی بود (Adineh *et al.*, 2021). اگر چه بین تیمار شاهد (بدون پری‌بیوتیک در آب تمیز) با دیگر تیمارهای آزمایشی اختلاف وجود داشت اما بطور کلی سیستم فلاک حاوی پری‌بیوتیک توانست با کمترین میزان تعویض آب مقدار آمونیاک را در حد استاندارد برای پرورش ماهی کپور معمولی حفظ نماید.

پری‌بیوتیک‌ها مواد غیر قابل هضمی هستند که از طریق فعال کردن مجموعه‌ای از باکتری های مفید در دستگاه گوارش باعث تحریک رشد و بهبود سلامت میزبان می‌شوند (Gibson and Roberfroid ., 2008). علاوه بر اینکه پری‌بیوتیک ها به‌عنوان یک منبع غذایی محسوب می‌شود، استفاده از فلاک میکروبی بدلیل دارای بودن پروتئین (اسیدهای آمینه ضروری)، اسیدهای چرب اشباع نشده، ویتامین‌ها و مواد معدنی (Azim and Little, 2008; De Schryver *et al.*, 2008) می‌تواند در افزایش پایدار و راندمان تولید به صنعت آبزی‌پروری کمک نماید. عملکرد رشد و تغذیه ماهی کپور معمولی تغذیه شده با پری‌بیوتیک پودری سانیار در تیمار فلاک ۰/۱ گرم (FP1) در مقایسه با دیگر تیمارهای آزمایشی افزایش معنی‌داری داشت بطوریکه بیشترین وزن نهایی، درصد افزایش وزن و نرخ رشد ویژه و همچنین کمترین ضریب تبدیل غذایی در این تیمار بدست آمد. در خصوص استفاده از پری‌بیتیک در جیره غذایی ماهی کپور و اثرات مثبت بر عملکرد رشد و تغذیه می‌توان به تاثیر پری‌بیوتیک مانان الیگوساکارید (Farhangi and Kor, 2020)، تاثیر دو پربیوتیک تجاری ایمکس، سلماناکس مایع و مخلوط در جیره غذایی (Bivareh and Jafaryan., 2017)، بررسی اثر پری‌بیوتیک آلفامیون و پروبیوتیک پروتکسین (Mahmuodian *et al.*, 2015) و مکمل غذایی سین-بیوتیک بایومن ایمبو (ترکیب پری‌بیوتیک فروکتوالیگوساکارید و پروبیوتیک انتروکوکوس فاسیوم) (Qasempour Dehaghani *et al.*, 2013) اشاره کرد. استفاده از دو پربیوتیک تجاری ایمکس اولترا و سلماناکس مایع به‌میزان ۰/۲ میلی‌لیتر در لیتر در تلقیح به سیستم بیوفلاک باعث بهبود شاخص‌های رشد و کارایی تغذیه بچه ماهیان کپور معمولی شد (Khosravi *et al.*, 2020). به‌نظر می‌رسد این پربیوتیک‌ها از طریق تغییر در ویژگی‌های موفولوژیکی روده مانند افزایش ارتفاع میکروویلی‌ها و همچنین اصلاح جمعیت میکروبی دستگاه گوارش می‌توانند کارایی روده را افزایش و بهبود جذب مواد مغذی و ارتقای پارامترهای رشد را داشته باشند (Dimitroglou *et al.*, 2010).

در مطالعه حاضر اندازه گیری آنزیم‌های گوارشی نشان داد که بیشترین مقدار پروتئاز ۰/۰۵± ۸/۴۲ واحد در میلی‌گرم پروتئین در تیمار فلاک حاوی ۰/۱ گرم پری‌بیوتیک پودری در ۱۰۰ گرم غذای پایه (FP1) و کمترین آن در تیمار شاهد آب تمیز به‌میزان ۰/۰۴± ۵/۹۱ واحد در میلی‌گرم پروتئین بدست آمد. نتایج عملکرد رشد و ترشحات آنزی‌های گوارشی تحقیق حاضر نشان می‌دهد که بکارگیری پری‌بیوتیک بصورت پودری در جیره غذایی در مقایسه با استفاده از پری‌بیوتیک بصورت مایع در آب محیط پرورش بهتر است و می‌توان علت آن را ورود مستقیم پری‌بیوتیک به‌عنوان مکمل غذایی برای ازدیاد باکتری های در دستگاه گوارش در جهت بهبود گوارش و سوخت و ساز بدن دانست. مهمترین محصول حاصل از متابولیسم پری‌بیوتیک‌ها اسیدهای چرب زنجیره کوتاه است که از طریق ای‌تلیوم روده جذب و به‌عنوان یک منبع انرژی مهم برای میزبان تلقی شده و باعث بهبود جذب مواد غذایی می‌شوند. تولید اسیدهای چرب زنجیره کوتاه مانند استات، پروپیونات،

بوتیرات و اسید لاکتیک ناشی از تخمیر پری‌بیوتیک‌ها منجر به کاهش پی-اچ روده می شود که شرایط منا سب برای رشد باکتری‌ها فراهم می‌کند (Wang *et al.*, 2017)، از این رو بهبود فعالیت‌های آنزیم های گوارشی می‌توا ند اتفاق بیافتد، ا ما برخی مطالعات نشان از عدم تاثیرپذیری آنزیم‌های گوارشی نسبت به استفاده از انواع پری‌بیوتیک ها همچون مانان‌الیگوساکارید دارد (Torrecillas *et al.*, 2007; Salze *et al.*, 2008; Hoseinifar *et al.*, 2016). بنابراین، شرایط زیستی ماهی، وزن و گونه آبزی، دوز و روش مصرف پری‌بیوتیک می‌تواند بر تر شحات آنزیمی تاثرگذار باشند.

سیستم ایمنی غیراختصاصی یا ذاتی یک مکانیسم دفاعی در برابر عوامل بیماریزا محسوب می‌شود، بنابراین می‌توان با تقویت این سیستم آبزی را در برابر عوامل باکتریایی فر صت طلب ایمن کرد (Dixon and Stet, 2001). یکی از راه‌های بهبود و تقویت سیستم ایمنی استفاده از محرک‌ها و مواد سودمند در جیره غذایی است. پری‌بیوتیک‌ها به‌عنوان محرک سودمند به‌طور انتخابی با تحریک رشد برخی از باکتری‌ها می‌توانند بر سلامت میزبان از طریق تقویت سیستم ایمنی کمک نمایند (Zhang *et al.*, 2012). سنجش شاخص‌های خونی یکی از سنجه‌های مهم در بررسی وضعیت سلامت و فیزیولوژی ماهیان محسوب می‌شود که می‌تواند تحت تاثیر تغذیه و محیط پرورش باشد (Řehulka *et al.*, 2005). سنجش مقادیر گلوکز و کورتیزول به‌عنوان شاخص‌های مناسب فیزیولوژیکی برای تشخیص وجود استرس در محیط پرورش حائز اهمیت است (Kühlwein *et al.*, 2014). در این تحقیق، نتایج بدست آمده از مقادیر گلوکز و کورتیزول نشان داد که استفاده از پری‌بیوتیک در جیره غذایی ماهی کپور معمولی در سیستم بیوفلاک بویژه تیمار آزمایشی حاوی ۰/۱ گرم پری‌بیوتیک پودری (FP1) در مقایسه با تیمار شاهد می‌تواند بر شاخص‌های استرس اثرگذار باشد. لیزوزیم یک آنزیم ضد باکتریایی است که توسط لوکوسیت‌ها و بخصوص مونوسیت‌ها، ماکروفاژها و نوتروفیل‌ها تولید می‌شود (Sitjà-Bobadilla *et al.*, 2008). این آنزیم پپتیدوگلیکان موجود در دیواره باکتری‌ها را می‌شکند و بدین ترتیب بطور غیر اختصاصی از رشد میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا جلوگیری می‌کند. همچنین به‌نظر می‌رسد این آنزیم دارای فعالیت ضد ویروسی است که به‌عنوان یک بخش مهم دفاع غیر اختصاصی بدن محسوب می شود (Choi *et al.*, 2008). در این پژوهش، غلظت لیزوزیم و ایمنوگلوبین سرم خون در تیمارهای FP2 و FL1 در مقایسه با دیگر تیمارهای آزمایشی افزایش معنی‌داری داشتند که نشان از بهبود ایمنی غیر اختصاصی ماهی کپور معمولی در این آزمایش است. محققین گزارش دادند که به کارگیری پری‌بیوتیک‌ها در جیره غذایی آبزیان باعث کاهش شاخص‌های استرس و تقویت ایمنی می‌گردد (حسینی‌فر و همکاران، ۱۳۹۰؛ Mohammadian *et al.*, 2021؛ Hoseinifar *et al.*, 2017؛ Ghafarifarsani *et al.*, 2021)، علاوه بر این محیط بیوفلاک به‌عنوان یک محیط ضد استرس برای پرورش ماهی کپور معمولی معرفی شده است (Adineh *et al.*, 2019). بکارگیری مکمل پروبیوتیک *Bacillus subtilis*، *B. licheniformis*، *Lactobacillus brevis* به‌همراه مخمر نانوایی (*Saccharomyces cerevisiae*) در جیره غذایی ماهی تیلاپیای قرمز (Oreochromis sp) پرورش‌یافته در سیستم بیوفلاک توانست باعث تقویت سیستم ایمنی و آنتی‌اکسیدانی شود (Bañuelos-Vargas *et al*., 2021). ترکیبات فعال زیستی همچون کلروفیل‌ها، کاروتنوئیدها، فیتوستول‌ها، بروموفنل‌ها، قندهای آمینو (Ju *et al.*, 2008) و ترکیبات ضد باکتری (Crab *et al.*, 2010) در محیط‌های حاوی فلاک می‌تواند اثرات مثبت قابل توجهی بر شاخص‌های بیوشیمیایی خون داشته باشد. هم‌راستا با مطالعه حاضر، گزارش شده است که مانان الیگوساکاریدهای به‌عنوان منبع کربن در سیستم بیوفلوک منجر به تقویت واکنش‌های ایمنی در ماهی تیلاپیا نیل (*Oreochromis niloticus*) می‌شود (Kishawy *et al.*, 2020). افزایش مقادیر فاکتورهای ایمنی ماهی کپور معمولی در این مطالعه ممکن است در

نتیجه افزایش بار باکتریایی پروبیوتیک آب در سیستم بیوفلاک باشد، که باعث تحریک ماهی به ترشح گلیکوپروتئین‌های با وزن مولکولی بالا و تقویت سیستم ایمنی با ترشح سیتوکین‌های پیش‌التهابی، آنتی‌پروتئاز و لیزوزیم‌ها شود (Van der Marel *et al.*, 2010).

نتیجه‌گیری کلی

بطور کلی نتایج بدست آمده از تحقیق حاضر نشان داد که، به کارگیری پری‌بیوتیک سانیار بصورت پودری و مایع (بترتیب در غذا و آب) در محیط بیوفلاک می‌تواند بر عملکرد رشد، ایمنی ماهی کپور و بهبود کیفیت آب محیط پرورش در مقایسه با دیگر تیمارهای آزمایشی تاثیر مثبت معنی‌داری داشته باشد.

تشکر و قدردانی

این پژوهش با حمایت مالی دانشگاه گنبد کاووس انجام شده است. نویسندگان از زحمات همکاران کمال تشکر و قدردانی را دارند.

۵. منابع

References

Adineh, H., Harsij, M., 2018. Effect of different levels of biofloc on water quality, growth performance and survival of *Litopenaeus vannamei* post larvae. *Journal of Veterinary Research* 73(4), 393-401. (In Persian)

Adineh, H., jafaryan, H., Khademi Hamidi, M., Karimtabar, F., Sedaghat, Z., 2021. The effects of reducing the feeding rates on growth and feed performance, blood biochemical parameters, and water quality in bio-floc common carp (*Cyprinus carpio*) culture and clean systems. *Journal of Fisheries* 74(3), 453-466. (In Persian)

Adineh, H., Naderi, M., Hamidi, M. K., Harsij, M. 2019. Biofloc technology improves growth, innate immune responses, oxidative status, and resistance to acute stress in common carp (*Cyprinus carpio*) under high stocking density. *Fish & shellfish immunology* 95(-), 440-448.

Ahmad, I., Rani, A. B., Verma, A. K., Maqsood, M., 2017. Biofloc technology: an emerging avenue in aquatic animal healthcare and nutrition. Aquaculture International 25(3), 1215-1226.

APHA, 1998. Standard Methods for the Examination of the Water and Wastewater, 22nd ed. American Public Health Association, Washington, DC.

Asaduzzaman, M., Wahab, M.A., Verdegem, M.C.J., Huque, S., Salam, M.A., Azim, M.E. 2008. C/N ratio control and substrate addition for periphyton development jointly enhance freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* production in ponds. *Aquaculture* 280, 117-123.

Avnimelech Y., 1999. Carbon/nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems. *Aquaculture* 176 (3), 227-235.

Avnimelech, Y., 2007. Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal discharge bioflocs technology ponds. *Aquaculture* 264 (1), 140–147.

Avnimelech, Y., Kochba, M. 2009. Evaluation of nitrogen uptake and excretion by tilapia in biofloc tanks, using N-15 tracing. *Aquaculture* 287, 163–168.

Azim, M. E., Little, D. C. 2008. The biofloc technology (BFT) in indoor tanks: water quality, biofloc composition, and growth and welfare of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture* 283(1-4), 29-35.

Azimi A, Jafaryan H, Harsij M, Gholipour H, Patimar R. 2017. Eeffec of C/N different ratios on water quality parameters and growth performance of common carp (*Cyprinus carpio*) fingerlings in biofloc system. *Journal of Aquaculture Development* 10 (4), 75-89. (In Persian)

Bañuelos-Vargas, I., de Oca, G. A. R. M., Martínez-Montaño, E., Pérez-Jiménez, A., Mendoza-Gamboa, O. A., Estrada-Godínez, J. A., Hernández, C., 2021. Antioxidant and immune response of juvenile red tilapia (*Oreochromis* sp.) cultured at different densities in sea water with biofloc plus probiotics. *Aquaculture* 544,737112.

Bivareh M, Jafaryan H., 2017. The effect of A-Max prebiotic on growth performence, feed efficiency and some biochemical factors of serum of common carp (*Cyprinus carpio*) fingerling. *Journal of Animal physiology and development* 11(1), 13-27. (In Persian)

Bivareh M, Jafaryan H. 2019. Effect of Two Commercial prebiotics A-Max concentrate, Celmanax liquid and their combination on some differential Growth parameter, feed performance and Resistance to Environmental Stresses in common carp (*Cyprinus carpio*) fry. *Journal of Aquaculture Development* 12(4), 1-16. (In Persian).

Borges, A., Scotti, L.V., Siqueira, D.R., Jurinitz, D.F., Wassermann, G.F., 2004. Hematologic and serum biochemical values for jundia (*Rhamdia quelen*). *Fish Physiology and Biochemistry* 30, 21-25.

Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry 72*(1-2), 248-254.

Cahu, C.L., Zambonino-Infante, J.L., Quazuguel, P., Le Gall, M.M., 1999. Protein *hydrolysate* vs. fish meal in compound diets for 10-day old sea bass *Dicentrarchus labrax* larvae. *Aquaculture* 171,109- 119.

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*(1), 67-73.

Crab, R., Chielens, B., Wille, M., Bossier, P., Verstraete, W., 2010. The effect of different carbon sources on the nutritional value of bioflocs, a feed for *Macrobrachium rosenbergii* postlarvae. *Aquacultural Engineering* 41, 559–567.

Crab, R., Defoirdt, T., Bossier, P. Verstraete, W. 2012. Biofloc technology in aquaculture: beneficial effects and future challenges. *Aquaculture* 356-357, 351-356.

De Schryver, P., Crab, R., Defoirdt, T., Boon, N., Verstraete, W., 2008. The basics of bio-flocs technology: the added value for aquaculture. *Aquaculture* 277(3-4), 125-137.

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(1-4), 182-188.

Dixon, B., Stet, R. J. M. 2001. The relationship between major histocompatibility receptors and innate immunity in teleost fish. *Developmental & Comparative Immunology 25*(8-9), 683-699.

Ebeling, J.M., Timmons, M.B., Bisogni, J.J., 2006. Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic removal of ammonia-nitrogen in aquaculture systems. *Aquaculture* 257 (1−4), 346−358.

Ellis, A.E. 1990. Lysozyme assays. In: Stolen, J.S., Fletcher, T.C., Anderson, D.P., Robertson, B.S., Van Muiswinkel, publication. pp. 101-103.

Emerenciano, M., Ballester, E. L. C., Cavalli, R. O., Wasielesky, W., 2011 Effect of biofloc technology (BFT) on the early postlarval stage of pink shrimp *Farfantepenaeus paulensis*: growth performance, floc composition and salinity stress tolerance. *Aquaculture International* 19, 891-901.

Emerenciano, M., Ballester, E. L., Cavalli, R. O., Wasielesky, W., 2012. Biofloc technology application as a food source in a limited water exchange nursery system for pink shrimp *Farfantepenaeus brasiliensis* (Latreille, 1817). *Aquaculture research* 43(3), 447-457.

Farhangi, M., Kor, A. 2020. The effect of oligosaccharide prebiotics on growth performance, survival and salinity stress resistance in common carp (*Cyprinus carpio*). *Journal of Aquatic Ecology* 10 (2), 75-81. (In Persian)

Ghafarifarsani, H., Rashidian, G., Bagheri, T., Hoseinifar, S. H., Van Doan, H., 2021. Study on growth enhancement and the protective effects of dietary prebiotic inulin on immunity responses of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fry infected with *Aeromonas hydrophila*. *Annals of Animal Science 21*(2), 543-559.

Gibson, G.R. and Roberfroid, M. B., 2008. Hand book of prebiotics. CRC press, NemYork, 506P.

Hoseinifar, S. H., Ahmadi, A., Raeisi, M., Hoseini, S. M., Khalili, M., Behnampour, N. ,2017. Comparative study on immunomodulatory and growth enhancing effects of three prebiotics (galactooligosaccharide, fructooligosaccharide and inulin) in common carp (*Cyprinus carpio*). *Aquaculture Research 48*(7), 3298-3307.

Hoseinifar, S. H., Eshaghzadeh, H., Vahabzadeh, H., Peykaran Mana, N., 2016. Modulation of growth performances, survival, digestive enzyme activities and intestinal microbiota in common carp (*Cyprinus carpio*) larvae using short chain fructooligosaccharide. *Aquaculture Research* 47(10), 3246-3253.

Hoseinifar, S., Mirvaghefi, A., Mojazi Amiri, B., Khoshbavar Rostami, H., Darvish Bastami, K., 2011. The effects of prebiotic oligofructose on hematological, serum biochemical parameters and liver enzymes of juvenile beluga (*Huso huso*). *Iranian Scientific Fisheries Journal* 20(2), 27-36. (In Persian)

Iijima, N., Tanaka, S. and Ota, Y., 1998. Purfication and characterization of bile salt activated Lipase from the hepatopancreas of red sea bream (*Pagrus major*). *Journal of Fish Physiology and Biochemistry* 18, 59-69.

Ju, Z.Y., Forster, I., Conquest, L., Dominy, W., 2008. Enhanced growth effects on shrimp, *Litopenaeus vannamei* from inclusion of whole shrimp floc or floc fractions to a formulated diet. *Aquaculture Nutrition* 14, 533–543.

Khosravi, A., Jafarian, H., Adineh, H., Harsij, M., 2020. The effect of two prebiotics of A-Max and Ultra and Salmanax liquid as inoculation on water quality, growth performance and body composition of common carp (*Cyprinus carpio*). *Journal of Animal Environment* 12(2), 177-188. (In Persian).

Kishawy, A. T., Sewid, A. H., Nada, H. S., Kamel, M. A., El-Mandrawy, S. A., Abdelhakim, T., Ibrahim, D., 2020. Mannanoligosaccharides as a carbon source in Biofloc boost dietary plant protein and water quality, growth, immunity and Aeromonas hydrophila resistance in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Animals* 10(10), 1724.

Kühlwein, H., Merrifield, D. L., Rawling, M. D., Foey, A. D., Davies, S. J.,2014. Effects of dietary β-(1, 3)(1, 6)-D-glucan supplementation on growth performance, intestinal morphology and haemato-immunological profile of mirror carp (*Cyprinus carpio* L.). *Journal of animal physiology and animal nutrition* 98(2), 279-289.

Laice, L. M., Corrêa Filho, R. A. C., Ventura, A. S., Farias, K. N. N., do Nascimento Silva, A. L., Fernandes, C. E., Povh, J. A., 2021. Use of symbiotics in biofloc (BFT)-based Nile tilapia culture: Production performance, intestinal morphometry and hematological parameters. *Aquaculture* 530, 735715.

Liu, G., Deng, Y., Verdegem, M., Ye, Z., Zhu, S. 2019. Using poly (β-hydroxybutyrate-β-hydroxyvalerate) as carbon source in biofloc-systems: Nitrogen dynamics and shift of *Oreochromis niloticus* gut microbiota. *Science of the Total Environment* 694, 133664.

Mahmuodian, A., Keramat Amirkolaei, A., Akrami, R., Bahalkeh, A. 2015. Investigating the effect of prebiotic alphamune and probiotic protexin in separation and/or in combinationon growth performance of juvenile common carp (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758). *Journal of Applied Ichthyological Research* 3(1), 93-104. (In Persian).

Martínez-Córdova, L. R., Emerenciano, M., Miranda-Baeza, A., Martínez-Porchas, M., 2015. Microbial-based systems for aquaculture of fish and shrimp: an updated review. *Reviews in Aquaculture* 7(2), 131-148.

Mohammadian, T., Ghanei-Motlagh, R., Molayemraftar, T., Mesbah, M., Zarea, M., Mohtashamipour, H., Nejad, A. J., 2021. Modulation of growth performance, gut microflora, non-specific immunity and gene expression of proinflammatory cytokines in shabout (Tor grypus) upon dietary prebiotic supplementation. *Fish & Shellfish Immunology* 112, 38-45.

Najdegerami, E.H., Bakhshi, F., Lakani, F.B. 2016. Effects of biofloc on growth performance, digestive enzyme activities and liver histology of common carp (*Cyprinus carpio* L.) fingerlings in zero-water exchange system. *Fish physiology and biochemistry* 42(2), 457-465.

Pauly, D., Christensen, V., Guenette, S., Pitcher, T.J., Sumaila, U.R., Walters, C.J., Watson, R., Zeller, D., 2002. Towards sustainability in world fisheries, *Nature* 418, 689–695.

Qasempour Dehaghani, P., Javaheri Baboli, M., Ziaeinejad, S., Taghavi Moghadam, A., Pourhadi, M., 2013. Evaluation of the effect of Cynbiotic dietary supplement Biomin Imbo as a dietary supplement on the growth performance, survival and bacterial flora of the gut of the common carp (*Cyprinus carpio*). *Journal of Aquaculture Development* 7(3), 43-52.

Qiao, G., Chen, P., Sun, Q., Zhang, M., Zhang, J., Li, Z., Li, Q., 2020. Poly-β-hydroxybutyrate (PHB) in bioflocs alters intestinal microbial community structure, immune-related gene expression and early Cyprinid herpesvirus 2 replication in gibel carp (*Carassius auratus gibelio*). *Fish & Shellfish Immunology* 97, 72-82.

Ranjdoust, M., Jafaryan, H., Harsij, M., Gholipour Kaanany, H., 2019. The effect of Celmanax prebiotic and five probiotic Bacilli species on the decreasing of stress of common carp (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758) during transportation with different salinity. *Aquaculture Sciences* 6(2), 39-50. (In Persian).

Řehulka, J., Minařík, B., Adamec, V., Řehulková, E. 2005. Investigations of physiological and pathological levels of total plasma protein in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture Research* 36(1), 22-32.

Rungruangsak-Torrissen, K., Rustad, A., Sunde, J., Eiane, S.A., Jensen, H.B., Opstvedt, J., Nygard, E., Samuelsen, T.A., Mundheim, H., Luzzana, U., 2002. In vitro digestibility based on fish crude enzyme extract for prediction of feed quality in growth trials. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 82, 644-654.

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(1), 148-152.

Sitjà-Bobadilla, A., Palenzuela, O., Alvarez-Pellitero, P., 2008. Immune response of turbot, *Psetta maxima* (L.)(Pisces: Teleostei), to formalin-killed scuticociliates (Ciliophora) and adjuvanted formulations. *Fish & Shellfish Immunology* 24(1), 1-10.

Torrecillas, S., Makol, A., Caballero, M. J., Montero, D., Robaina, L., Real, F., Izquierdo, M. S. 2007. Immune stimulation and improved infection resistance in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed mannan oligosaccharides. *Fish & Shellfish Immunology* 23(5), 969-981.

Vaez, R., Mohammadiazarm, H., Mousavi, S., Rajabzadeh, E., 2017. Effects of herbal supplements and inulin on activity of antioxidant enzymes in juveniles of Common Carp (*Cyprinus carpio*). *Iranian Veterinary Journal* 13(3), 115-121.

Van der Marel, M., Caspari, N., Neuhaus, H., Meyer, W., Enss, M. L., Steinhagen, D., 2010. Changes in skin mucus of common carp, *Cyprinus carpio* L., after exposure to water with a high bacterial load. *Journal of fish diseases* 33(5), 431-439.

Wang, T., Cheng, Y., Chen, X., Liu, Z,. Long, X., 2017. Effects of small peptides, probiotics, prebiotics, and synbiotics on growth performance, digestive enzymes, and oxidative stress in orange-spotted grouper, *Epinephelus coioides*, juveniles reared in artificial seawater. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology* 35, 89–97.

Worthington, C.C., 1993. Worthington Enzyme Manual. Enzymes and related Biochemicals Worthington Chemical. New Jersey. USA. 730 P.

Xu, W. J., Pan, L. Q., 2013. Enhancement of immune response and antioxidant status of *Litopenaeus vannamei* juvenile in biofloc-based culture tanks manipulating high C/N ratio of feed input. *Aquaculture* 412, 117-124.

Zhang, J., Liu, Y., Tian, L., Yang, H., Liang, G., Xu, D., 2012. Effects of dietary mannan oligosaccharide on growth performance, gut morphology and stress tolerance of juvenile Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Fish & shellfish immunology* 33(4), 1027-1032.