



دانشگاه گنبد کاووس

نشریه "پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی"

دوره دوم، شماره سوم، پاییز ۹۳

<http://jair.gonbad.ac.ir>

تأثیر پری‌بیوتیک مانان الیگوساکارید بر عملکرد رشد، بازماندگی و مقاومت لارو ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss* Wabbaum, 1792) در برابر استرس‌های محیطی

رضا اکرمی^۱، علیرضا ابراهیمی^۲، مهشید شاملوفر^۱، مجید رازقی منصور^{۳*}

^۱ دانشگاه آزاد اسلامی، واحد آزادشهر، گروه شیلات، آزادشهر، ایران

^۲ کارشناس‌ارشد شیلات، اداره کل شیلات استان گلستان، گرگان، ایران

^۳ دانشگاه آزاد اسلامی، واحد آزادشهر، عضو باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، آزادشهر، ایران

تاریخ ارسال: ۹۳/۱۰/۸ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۳/۱۲/۱۷

چکیده

این پژوهش به منظور ارزیابی تأثیر پری‌بیوتیک مانان الیگوساکارید بر عملکرد رشد، بازماندگی و مقاومت لارو ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در برابر استرس‌های محیطی به مدت ۶ هفته انجام گرفت. شش سطح از پری‌بیوتیک مانان الیگوساکارید شامل ۰، ۱/۱، ۰/۲، ۰/۳، ۰/۴ و ۰/۵ درصد در سه تکرار به جیره آغازین تجاری لارو ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (حاوی ۵۰٪ پروتئین، ۲۰٪ چربی و ۲۱/۶۵ مگاژول در کیلوگرم انرژی ناخالص) افزوده شد. پس از سازگاری، تعداد ۲۵۰ قطعه لارو قزل‌آلا با میانگین وزنی ۳۷۰ میلی‌گرم در هر تراف ذخیره‌سازی و تغذیه شدند. در انتهای دوره پرورش شاخص‌های رشد، بازماندگی، تغذیه و میزان مقاومت در برابر استرس‌های محیطی از قبیل استرس دمایی (۳۳ درجه سانتی‌گراد)، پی-اچ پایین (معادل ۲)، پی-اچ بالا (معادل ۱۲) و شوری بالا (معادل ۴۰ گرم در لیتر) مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که ماهیان تغذیه شده با سطوح مختلف پری‌بیوتیک مانان الیگوساکارید به‌طور معنی‌داری از عملکرد بهتری در خصوص رشد، بازماندگی و کارایی تغذیه را در مقایسه با گروه شاهد داشتند ($P < 0.05$) و بهترین عملکرد در سطح ۰/۳ درصد پری‌بیوتیک در جیره بدست آمد ($P < 0.05$). بیشترین مدت مقاومت در برابر استرس‌های محیطی نیز در ماهیان تغذیه شده با پری‌بیوتیک و بطور ویژه در سطح ۰/۳ جیره مشاهده گردید ($P < 0.05$). نتایج این تحقیق نشان داد جیره‌های مکمل شده با پری‌بیوتیک مانان الیگوساکارید به میزان ۰/۳ جیره آغازین لارو ماهی قزل‌آلا می‌تواند در بهبود رشد، کارایی تغذیه و افزایش مقاومت در مقابله با استرس‌های محیطی مؤثر واقع شود.

واژه‌های کلیدی: پری‌بیوتیک مانان الیگوساکارید، رشد، بازماندگی، استرس، لارو قزل‌آلا

* نویسنده مسئول: razeghi2036@yahoo.com

مقدمه

ماهی قزل‌آلا با دارا بودن ویژگی‌های منحصر به فرد از جمله کیفیت گوشت، اهلی شدن سریع و آسان، سخت‌گیر نبودن در غذاگیری، امکان پرورش متراکم، طول نسبتاً کوتاه دوره پرورش و مقاومت ماهی به طیف وسیعی از شرایط فیزیوشیمیایی محیط از گونه‌های مهم و تجاری در ایران و جهان جهت در تأمین پروتئین مورد نیاز جوامع بشری مطرح می‌باشد (Hardy, 2000). مصرف آبزیان در دهه‌های اخیر هم به دلیل افزایش جمعیت و هم به دلیل رویکرد عمومی به مصرف غذاهای حاصل از منابع آبی، در پی آشکار شدن اهمیت طبی و نقش آنها در پیشگیری و درمان بسیاری از بیماری‌های صعب‌العلاج، در حال افزایش است (Bell et al., 2003). این امر موجب شده است تا بهره‌برداری از ذخایر آبزیان از دریا و آب‌های داخلی به حدی بالا رود که آنها را با خطر نابودی مواجه سازد. از طرف دیگر، امروزه با توجه به روند رو به رشد جمعیت جهان و نیاز انسان‌ها به دستیابی به منابع پروتئینی متنوع و سالم، آبی‌پروری می‌تواند به عنوان یکی از طرق تأمین پروتئین مورد نیاز نقش مهمی را ایفا کند (Bell et al., 2003). اما توسعه روز افزون آبی‌پروری در بسیاری از مناطق دنیا منجر به افزایش درخواست و استفاده از مواد شیمیایی جدید شده است به‌طوری که در سال‌های اخیر بسیاری از مواد شیمیایی و ترکیبات صنعتی از جنبه‌های اقتصادی و دامنه سلامتی طبقه‌بندی و در آبی‌پروری استفاده شده است (Akrami et al., 2009a). ایده جدیدی که در این رابطه مطرح شده، استفاده از پروبیوتیک^۱، پری‌بیوتیک^۲ و سین‌بیوتیک^۳ در جیره غذایی ماهی می‌باشد (Akrami et al., 2009a; Hoseinifar et al., 2011a). پری‌بیوتیک‌ها ترکیبات غذایی غیر قابل هضمی^۴ برای جانور میزبان هستند که از طریق تحریک رشد یا فعال کردن برخی از گونه‌های باکتریایی که در روده وجود دارند، اثرات سودمندی بر میزبان داشته و سلامتی آن را بهبود می‌بخشند (Gibson and Roberfroid, 1995). از انواع این پری‌بیوتیک‌ها می‌توان به مانان‌الیگوساکارید^۵ اشاره نمود. مانان‌الیگوساکارید یک کربوهیدرات پیچیده می‌باشد که از دیواره سلولی مخمر *Saccharomyces cerevisiae* مشتق شده است. این ترکیبات شامل مانوز به‌عنوان اولیه کربوهیدرات بوده و مانع از اتصال و کلونیزه شدن باکتری‌های بیماری‌زا به دستگاه گوارش گردیده و اثرات معکوس متابولیت‌های میکروبیوتا را کاهش می‌دهد (Savage et al., 1997). مطالعات مختلفی بر رشد، تغذیه و مقاومت در برابر تست‌های استرسی با جیره‌های حاوی پری‌بیوتیک مانان‌الیگوساکارید در گونه‌های مختلف ماهیان انجام شده است (Pryor et al., 2003; Genc et al., 2006; Torrecillas et al., 2006).

1- Probiotic

2- Prebiotic

3- Synbiotic

4- NDC(Non-Digestible Carbohydrate)

5- MOS

2007; Welker *et al.* 2007; Grisdale-Helland *et al.*, 2008; Sado *et al.*, 2008; Staykov *et al.*, 2007; Dimitroglou *et al.*, 2009; Akrami *et al.*, 2009b; Gultepe *et al.*, 2010; Razeghi Mansour *et al.*, 2012; Akrami *et al.*, 2013; Ghobadi *et al.*, 2013. ولی مطالعه استفاده از این مکمل‌ها به‌ویژه در لارو ماهی قزل‌آلا به ندرت گزارش شده است. استفاده از پری‌بیوتیک‌ها روشی نسبتاً نوین است که از طریق آن می‌توان ترکیب جمعیتی دستگاه گوارش را به سمت ترکیبات سالم سوق داد. از طرف دیگر بیشترین خسارات مراکز تکثیر و پرورش قزل‌آلای رنگین‌کمان عمده‌تاً در مرحله لاروی و بچه ماهی اتفاق می‌افتد که ناشی از عدم تکامل سیستم‌های ایمنی ماهیان در این دوره از رشد است. در نتیجه با توجه به توضیحات فوق و با توجه به اهمیت تقویت سیستم ایمنی و افزایش بازماندگی در لارو ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، که صنعت پرورش آن در حال حاضر در داخل کشور به خوبی توسعه یافته است ضرورت مطالعه و یافتن روش‌هایی جهت ارتقاء کارایی آن در جهت پیشگیری از بروز بیماری و تلفات در بین ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان به خوبی احساس می‌شود. لذا پژوهش حاضر با هدف ارزیابی تأثیر سطوح مختلف پری‌بیوتیک مانان الیگوساکارید بر شاخص‌های رشد، بازماندگی و مقاومت به استرس‌های محیطی در لارو ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان طراحی شد.

مواد و روش‌ها

محل اجرا و روش آزمایش: این تحقیق به مدت ۴۲ روز (۶ هفته) در مزرعه پرورش ماهیان سردآبی واقع در روستای شמושک علیا از توابع شهرستان گرگان انجام شد. پس از سازگاری اولیه و عادت‌پذیری ماهیان با غذای دستی مورد استفاده در آزمایش تعداد ۴۵۰۰ قطعه لارو ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با میانگین وزنی ۳۷۰ میلی‌گرم با تراکم ۲۵۰ قطعه در ۱۸ تراف به‌طور کاملاً تصادفی از لحاظ منبع تأمین نور، آب و سایر شرایط محیطی توزیع شدند. اندازه‌گیری فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب از قبیل دمای آب به‌طور روزانه اکسیژن و پی-اچ هر ۷ روز یکبار انجام گرفت. در کل دوره آزمایش میزان دمای آب 13.1 ± 0.5 درجه سانتی‌گراد، اکسیژن 8.5 ± 0.5 میلی‌گرم در لیتر و پی-اچ 7.8 ± 0.3 بود.

طرح آزمایش: این تحقیق با استفاده از طرح کاملاً تصادفی شامل سطوح ۰/۱، ۰/۲، ۰/۳، ۰/۴، ۰/۵ درصد پری‌بیوتیک مانان الیگوساکارید در جیره و یک گروه شاهد بدون پری‌بیوتیک با سه تکرار طراحی شد.

پری‌بیوتیک مورد استفاده در آزمایش: نوع پری‌بیوتیک مورد استفاده در این آزمایش مانان الیگوساکارید با نام تجاری اکتیوموس^۱ ساخت شرکت بایوریجین^۲ کشور برزیل بود که از دیواره سلولی مخمر ساکارومایسیس سرویسیه (*Saccharomyces cerevisiae*) مشتق شده است.

1- (MOS;ActiveMOS®)

2- Biorigin

تهیه جیره: به منظور تغذیه لاروها هر کدام از مقادیر پری‌بیوتیک که به شکل پودر بود به صورت کاملاً یکنواخت و همگن با یک کیلوگرم جیره مکمل‌سازی شدند. برای اتصال پری‌بیوتیک به جیره از روغن مایع آفتابگردان به میزان ۳۰ میلی‌لیتر به ازای هر کیلوگرم خوراک استفاده شد و در تیمار شاهد نیز روغن به همان نسبت به جیره اضافه شد (Naseri and Akrami, 2014). جیره مورد استفاده، غذای فرموله شده آغازین لارو ماهی قزل‌آلا با قطر ۱/۵-۱ میلی‌متر بود که از شرکت کوپنز^۱ دانمارک خریداری گردید (جدول ۱). غذادهی لاروها به میزان ۳-۵ درصد وزن توده زنده در ۶ نوبت انجام گرفت.

جدول ۱- تجزیه تقریبی جیره پایه مورد استفاده در آزمایش

میزان (درصد)	نوع ترکیب
۵۰	پروتئین خام
۸/۵	خاکستر
۲۰	چربی خام
۱۱/۵	عصاره عاری از ازت ^۱
۲۱/۶۵	انرژی ناخالص (مگاژول در کیلوگرم) ^۲

۱- (خاکستر + چربی خام + پروتئین خام) - ماده خشک = (NFE) عصاره عاری از ازت

۲- (درصد عصاره عاری از ازت × ۱۷) + (درصد چربی × ۳۹/۵) + (درصد پروتئین × ۲۳/۶ × غذا) = (MJ/kg) انرژی ناخالص

زیست‌سنجی و بررسی شاخص‌های رشد و تغذیه: در خلال دوره پرورش زیست‌سنجی لاروهای ماهی در هر هفته به میزان ۳۰ درصد از آنها به صورت تصادفی صورت گرفت و وزن آنها با ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم اندازه‌گیری شد و مجدداً به تراف‌ها رهاسازی گردیدند. لازم به ذکر است که به جهت کاهش استرس و تلفات در طول زیست‌سنجی ۱۲ ساعت قبل از زیست‌سنجی تغذیه لاروها قطع گردید. بر اساس اطلاعات ثبت شده از زیست‌سنجی شاخص‌های رشد و تغذیه (افزایش وزن بدن، درصد افزایش وزن بدن، نرخ رشد ویژه، بیومس نهایی، تولید نهایی، درصد بازماندگی، میزان غذای خورده شده روزانه، ضریب تبدیل غذایی، نسبت کارایی پروتئین و نسبت کارایی چربی) بر اساس منابع موجود از معادلات ریاضی محاسبه شد (Jafaryan *et al.*, 2011).

شاخص‌های رشد و تغذیه

افزایش وزن بدن = میانگین وزن انتهای دوره به گرم - میانگین وزن ابتدای دوره به گرم
درصد افزایش وزن بدن = [(میانگین وزن انتهای دوره به گرم - میانگین وزن ابتدای دوره به گرم) / میانگین وزن ابتدای دوره به گرم] × ۱۰۰

نرخ رشد ویژه = [(لگاریتم طبیعی میانگین وزن نهایی به گرم - لگاریتم طبیعی میانگین وزن اولیه به گرم) / زمان] $\times 100$
افزایش بیومس (گرم) = (تعداد ماهی نهایی $\times$ وزن متوسط نهایی) - (تعداد ماهی اولیه $\times$ وزن متوسط اولیه)
تولید نهایی (گرم) = (تعداد ماهی نهایی $\times$ وزن متوسط نهایی)
درصد بازماندگی = (تعداد بچه ماهیان باقیمانده در ابتدای دوره / تعداد بچه ماهیان در انتهای دوره) $\times 100$
غذای خورده شده روزانه (درصد در روز) = [(کل غذای خورده شده به ازای یک ماهی $\times 100$) / $^{1/5}$ (میانگین وزن اولیه به گرم $\times$ میانگین وزن نهایی به گرم) / زمان]
ضریب تبدیل غذایی = مقدار غذای خورده شده (گرم) / افزایش وزن بدن (گرم)
نسبت کارایی پروتئین = افزایش وزن بدن (گرم) / مقدار مصرف پروتئین (گرم)
نسبت کارایی چربی = وزن بدست آمده (گرم) / مقدار چربی خورده شده (گرم)
کارایی غذا (درصد) = (افزایش وزن بدن (گرم) / مقدار غذای خورده شده (گرم)) $\times 100$

آزمایش‌های مقاومت به تست‌های استرسی

در پایان دوره آزمایش، لاروها در مقابله با استرس محیطی از قبیل دمای بالا (33°C درجه سانتی‌گراد)، pH پایین (شرایط اسیدی)، pH بالا (شرایط قلیایی) و شوری بالا (40 گرم در لیتر) مورد آزمایش قرار گرفتند. برای انجام تست استرس pH اسیدی، آب توسط اسید کلریدریک 3.7% به 2 و برای انجام تست استرس pH قلیایی، آب با استفاده از کریستال‌های سود (NaOH) به 12 رسانده شد. همچنین برای تنظیم شوری از نمک خوراکی و برای تنظیم دما از بخای برقی آکواریومی استفاده گردید. از هر تکرار 3 قطعه لارو به‌طور همزمان در تشت آزمایش رهاسازی شد و مدت زمان زنده‌مانی آنها مورد بررسی قرار گرفت. لازم به ذکر است که لاروها به‌تدریج در معرض تست استرس قرار نگرفته بلکه به یکباره در محیط استرس‌زا قرار داده شدند و زمان زنده‌مانی لاروها، تا کشته شدن آخرین لارو در استرس ثبت گردید (Jafaryan *et al.*, 2011).

تجزیه و تحلیل داده‌ها

آزمون نرمالیتی^۱ به وسیله آزمون شاپیرو-ویلک^۲ انجام شد. تجزیه و تحلیل داده‌های مربوط به تغییرات معیارهای رشد، فاکتورهای تغذیه‌ای و استرس لاروهای قزل‌آلای رنگین‌کمان از طریق آزمون تجزیه واریانس یک‌طرفه^۳ و مقایسه میانگین بین تیمارها بر اساس آزمون دانکن^۴ انجام گردید. وجود یا عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح 5% با استفاده از نرم افزار SPSS انجام گرفت.

1- Normality

2- Shapiro-Wilk

3- One-way analysis of variance ANOVA

4- Duncans multiple-range test

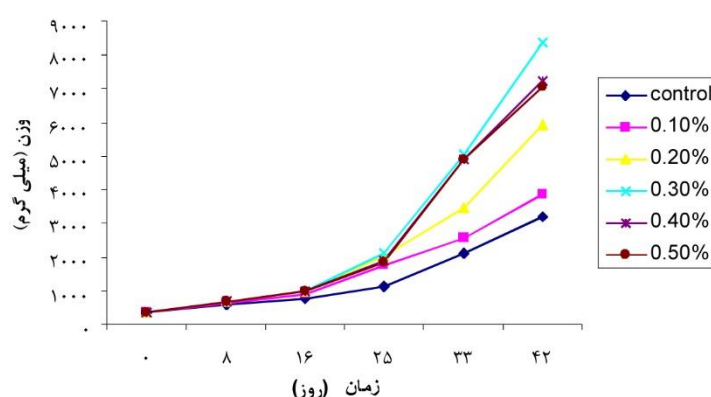
نتایج

نتایج حاصل از تأثیر سطوح متفاوت پری‌بیوتیک مانان‌الیگوساکارید بر برخی پارامترهای رشد لارو قزل‌آلای رنگین‌کمان در جدول ۲ ارائه گردیده است. بر اساس نتایج بیشترین میزان وزن نهایی در تیمار ۰/۳٪ پری‌بیوتیک مشاهده گردید که از تفاوت معنی‌داری نسبت به سایر تیمارها برخوردار بود ($P < 0/05$) (شکل ۱). همچنین افزایش وزن بدن، درصد افزایش وزن بدن، نرخ رشد ویژه، بیومس نهایی و تولید خالص در ماهیان تغذیه شده با تیمار ۰/۳٪ پری‌بیوتیک از افزایش معنی‌داری نسبت به سایر تیمارها برخوردار بود ($P < 0/05$) (جدول ۲).

جدول ۲- شاخص‌های رشد (میانگین $\pm$ انحراف معیار) لارو ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با سطوح مختلف پری‌بیوتیک پس از ۶ هفته پرورش

شاخص	افزایش وزن بدن (میلی گرم)	درصد افزایش وزن بدن	نرخ رشد ویژه (درصد در روز)	بازماندگی (درصد)	افزایش بیومس (گرم)	تولید نهایی (گرم)
شاهد	2830 ± 131^a	$764/6 \pm 38/3^a$	$3/85 \pm 0/07^a$	$82/7 \pm 3/5^a$	$647/9 \pm 31/7^a$	$763/2 \pm 31/5^a$
۰/۱٪ پری‌بیوتیک	3485 ± 209^a	$942 \pm 59/3^a$	$4/18 \pm 0/1^b$	$86/9 \pm 1/6^{bc}$	$841/7 \pm 55/4^b$	$931 \pm 55/6^b$
۰/۲٪ پری‌بیوتیک	5580 ± 364^b	$1508/1 \pm 95/6^b$	$4/95 \pm 0/1^c$	$89/2 \pm 1/4^{bc}$	$1347/7 \pm 89/3^c$	$1437/1 \pm 89/6^c$
۰/۳٪ پری‌بیوتیک	7980 ± 415^d	$2156/8 \pm 133/8^d$	$5/56 \pm 0/1^c$	$90/8 \pm 1/8^c$	$1931/2 \pm 119/8^c$	$2020/7 \pm 119/8^c$
۰/۴٪ پری‌بیوتیک	6830 ± 123^c	$1845/9 \pm 38/3^c$	$5/30 \pm 0/03^d$	$88 \pm 0/78^{bc}$	$1649/4 \pm 29/3^d$	$1738/8 \pm 29/1^d$
۰/۵٪ پری‌بیوتیک	6680 ± 63^c	$1805/4 \pm 19/1^c$	$5/26 \pm 0/02^d$	$85/4 \pm 1/3^b$	$1613/2 \pm 21/8^d$	$1702/6 \pm 22/1^d$

حروف انگلیسی غیر مشابه در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی‌دار می باشد ($P < 0/05$).



شکل ۱- میانگین وزن نهایی لارو ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با سطوح مختلف پری‌بیوتیک پس از ۶ هفته پرورش

تأثیر پری‌بیوتیک مانان الیگوساکارید بر عملکرد رشد، بازماندگی و مقاومت لارو ماهی قزل‌آلای....

جدول ۳ تأثیر سطوح متفاوت پری‌بیوتیک مانان الیگوساکارید را بر برخی پارامترهای تغذیه لارو قزل‌آلای رنگین‌کمان نشان می‌دهد. بر اساس نتایج نسبت کارایی پروتئین، نسبت کارایی چربی و میزان کارایی غذا در تیمار ۰/۳٪ پری‌بیوتیک از افزایش معنی‌داری نسبت به سایر تیمارها برخوردار بود ($P < 0.05$). همچنین میزان ضریب تبدیل غذایی هم کاهش معنی‌داری را در تیمار ۰/۳٪ پری‌بیوتیک از خود نشان داد ($P < 0.05$) (جدول ۳).

جدول ۳- شاخص‌های تغذیه‌ای (میانگین $\pm$ انحراف معیار) لارو ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با سطوح مختلف پری‌بیوتیک پس از ۶ هفته پرورش

شاخص	غذای خورده شده روزانه (درصد)	ضریب تبدیل غذایی	نسبت کارایی پروتئین	نسبت کارایی چربی	کارایی غذا (درصد)
شاهد	$3/49 \pm 0/06^d$	$0/92 \pm 0/007^d$	$2/16 \pm 0/01^a$	$5/4 \pm 0/05^a$	$1/08 \pm 0/01^a$
۰/۱٪ پری‌بیوتیک	$3/04 \pm 0/17^c$	$0/78 \pm 0/04^c$	$2/59 \pm 0/17^b$	$6/47 \pm 0/43^b$	$1/29 \pm 0/09^b$
۰/۲٪ پری‌بیوتیک	$2/89 \pm 0/28^{bc}$	$0/69 \pm 0/07^{bc}$	$2/92 \pm 0/31^{bc}$	$7/3 \pm 0/76^{bc}$	$1/46 \pm 0/15^{bc}$
۰/۳٪ پری‌بیوتیک	$2/31 \pm 0/05^{ab}$	$0/53 \pm 0/02^a$	$3/76 \pm 0/1^c$	$9/4 \pm 0/26^c$	$1/88 \pm 0/05^c$
۰/۴٪ پری‌بیوتیک	$2/54 \pm 0/05^a$	$0/59 \pm 0/01^a$	$3/38 \pm 0/06^d$	$8/46 \pm 0/15^d$	$1/69 \pm 0/03^d$
۰/۵٪ پری‌بیوتیک	$2/65 \pm 0/03^a$	$0/62 \pm 0/01^{ab}$	$3/23 \pm 0/04^{cd}$	$8/06 \pm 0/1^{cd}$	$1/61 \pm 0/02^{cd}$

حروف انگلیسی غیر مشابه در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($P < 0.05$).

نتایج حاصل از تأثیر سطوح متفاوت پری‌بیوتیک مانان الیگوساکارید بر میزان مقاومت لارو قزل‌آلای رنگین‌کمان در مقابله با استرس‌های مختلف محیطی در جدول شماره ۴ ارائه شده است. بر اساس نتایج بیشترین میزان مقاومت در برابر استرس‌های حرارتی، اسیدی، قلیائی و شوری در ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی ۰/۳٪ پری‌بیوتیک و کمترین میزان مقاومت در تیمار شاهد مشاهده گردید ($P < 0.05$) (جدول ۴).

جدول ۴- تغییرات مدت زمان بقاء (میانگین $\pm$ انحراف معیار) لارو ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با سطوح متفاوت پری‌بیوتیک در مقابله با استرس‌های مختلف محیطی پس از ۶ هفته پرورش

شاخص	استرس حرارتی (ثانیه)	استرس پی-اچ اسیدی (ثانیه)	استرس پی-اچ قلیایی (ثانیه)	استرس شوری (ثانیه)
شاهد	$27/5 \pm 0/7^a$	$207/5 \pm 10/6^a$	$276 \pm 33/9^a$	$2725 \pm 35/3^a$
۰/۱٪ پری‌بیوتیک	$30/0 \pm 1/41^{abc}$	$271/5 \pm 16/3^b$	$308/5 \pm 13/4^{ab}$	$2865 \pm 33/2^{ab}$
۰/۲٪ پری‌بیوتیک	$31/1 \pm 1/32^{bc}$	$246/5 \pm 35/5^{ab}$	$329 \pm 1/4^b$	$3082/5 \pm 45/9^{bc}$
۰/۳٪ پری‌بیوتیک	$33/0 \pm 1/05^c$	$287/5 \pm 9/3^b$	$346/5 \pm 3/5^b$	$3525 \pm 76/7^d$
۰/۴٪ پری‌بیوتیک	$28/5 \pm 2/15^{ab}$	$248/5 \pm 2/2^{ab}$	$281 \pm 1/5^a$	$3269/5 \pm 64/3^c$
۰/۵٪ پری‌بیوتیک	$27/5 \pm 0/8^a$	$240/5 \pm 19/1^{ab}$	$283/5 \pm 20/5^a$	$2880 \pm 98/9^{ab}$

حروف انگلیسی غیر مشابه در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($P < 0.05$).

بحث و نتیجه‌گیری

عوامل مختلفی می‌توانند بر روی کارایی تولید ماهیان تأثیرگذار باشند اما کاهش مرگ و میر یا کاهش عوامل بیماری‌زا از نکات مهمی هستند که بایستی همواره مد نظر قرار گیرند. لذا بهینه‌سازی فاکتورهای تغذیه‌ای و میکروبی می‌تواند باعث رشد بهتر لاروهای ماهیان شده و تلفات سنگینی که اغلب برای آنها اتفاق می‌افتد را کاهش دهد. به‌طوری‌که بکارگیری مواد محرک ایمنی به عنوان یک راهبرد مهم برای تولید بهتر محصولات زنده قابل تجدید از طریق کنترل بیولوژیکی در سیستم‌های پرورشی برای لارو ماهیان پیشنهاد می‌گردد که کاهش اثرات زیانبار عوامل عفونت‌زا و متعاقب آن افزایش میزان بازماندگی را در مواجهه با عوامل بیماری‌زا به دنبال خواهد داشت. بر اساس نتایج مطالعه حاضر، مکمل نمودن جیره با سطوح مختلف پری‌بیوتیک مانان‌الیگوساکارید و به ویژه در سطح ۰/۳ درصد منجر به بهبود فاکتورهای رشد، تغذیه، بازماندگی و مقاومت در برابر استرس‌های محیطی در لارو ماهیان قزل‌آلا در مقایسه با تیمار شاهد گردید که دلیل این افزایش را نیز می‌توان به از بین رفتن باکتری‌های مضر در اثر تخمیر مانان‌الیگوساکارید در روده و در نتیجه تولید باکتری‌های مفید از جمله باکتری‌های اسیدلکتیک دانست که ترکیباتی همانند باکتریسیون‌ها را تولید می‌کنند و بدین طریق از رشد میکروارگانیسم‌های دیگر در روده جلوگیری می‌کنند (Akrami *et al.*, 2009b). همچنین به نظر می‌رسد افزایش کارایی رشد در این تیمار بدلیل بهبود وضعیت میکروویلی روده و در نتیجه افزایش جذب مواد مغذی جیره باشد (Ring *et al.*, 2006). در راستای نتایج مطالعه حاضر، تورسیلاس و همکاران (Torrecillas *et al.*, 2007)، با ارزیابی سطوح متفاوت مانان‌الیگوساکارید به جیره غذایی ماهی سی‌باس اروپایی (*Dicentrarchus labrax*)، استیکوو و همکاران (Staykov *et al.*, 2007) در ماهی قزل‌آلا رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)، گریس‌دال هلاند و همکاران (Grisdale-Helland *et al.*, 2008)، روی ماهی آزاد اقیانوس اطلس (*Salmo salar*)، گولتپ و همکاران (Gultepe *et al.*, 2010)، روی گونه سیم دریایی (*Sparus aurata*) و قبادی و همکاران (Ghobadi *et al.*, 2013) روی ماهی قزل‌آلا رنگین‌کمان، افزایش معنی‌داری را از نظر پارامترهای رشد و تغذیه در ماهیان تغذیه شده با پری‌بیوتیک در مقایسه با تیمار شاهد مشاهده نمودند که با نتایج مطالعه حاضر یکسان بود. اما برخلاف نتایج بدست آمده از مطالعه حاضر، تحقیقات انجام گرفته توسط پریور و همکاران (Pryor *et al.*, 2003)، با اضافه کردن مانان‌الیگوساکارید به میزان ۳ گرم در هر کیلوگرم به جیره غذایی تاس‌ماهی خلیج (*Acipenser oxyrinchus desotoi*)، افزودن مانان‌الیگوساکارید با سطوح مختلف ۲، ۱ و ۳ درصد در جیره گربه ماهی آفریقایی (*Clarias gariepinus*) (Genç *et al.*, 2006)، افزودن مانان‌الیگوساکارید به میزان ۲ گرم در هر کیلوگرم در جیره گربه ماهی روگاهی (*Ictalurus punctatus*) (Welker *et al.*, 2007)، بکارگیری سطوح مختلف ۰/۲، ۰/۴، ۰/۶، ۰/۸ و ۱ درصد مانان‌الیگوساکارید در جیره ماهیان جوان پرورشی تیلاپیا

(*Oreochromis niloticus*) (Sado et al., 2008)، اضافه کردن مانان الیگوساکارید به میزان ۰/۲ و ۰/۴ درصد با جیره‌های مختلف حاوی آرد ماهی و آرد سویا به جیره غذایی ماهی سیم دریایی (*Sparus aurata*) (Gultepe et al., 2010)، افزودن مانان الیگوساکارید به جیره غذایی فیل ماهیان (*Huso huso*) جوان پرورشی (Razeghi Mansour et al., 2012) و تغذیه بچه ماهی سفید دریای خزر (*Rutilus frisii kutum*) با سطوح متفاوت ۱/۵، ۳ و ۴/۵ گرم مانان الیگوساکارید در هر کیلو گرم جیره (Akrami et al., 2009b) هیچ اختلاف معنی‌داری از نظر پارامترهای رشد و تغذیه در تحقیقات مذکور مشاهده نگردید. عدم اثرات مثبت پری‌بیوتیک در مطالعات فوق را می‌توان به ناتوانی میکروب‌های روده‌ای در تخمیر پری‌بیوتیک‌های اضافی و متعاقب آن انباشتگی مواد غیر قابل هضم در دیواره روده دانست که در نهایت باعث تحریک در روده می‌شود (Hoseinifar et al., 2011b). همچنان‌که اولسن و همکاران (Olsen et al., 2001) تأثیر نامطلوب اینولین را در سطح ۱۵ درصد جیره ماهی چار قطبی (*Salvelinus alpinus*) روی سلول‌های انتروسیست روده (enterocytes) گزارش کردند. استرس به عنوان یک پاسخ غیراختصاصی بدن به هر نوع واکنشی که بر روی آن انجام می‌شود، دانسته شده است. پاسخ به استرس در ماهیان با تحریک هیپوتالاموس مشخص می‌گردد، که منجر به فعال شدن غدد درون‌ریز و در نتیجه به راه افتادن سوخت و ساز و تغییرات فیزیولوژیکی می‌شود. این تغییرات تحمل موجود زنده را در رویارویی با تغییر محیطی یا یک وضعیت بد و آزار دهنده افزایش می‌دهند در حالی که هموستازی را حفظ می‌کنند. مقاومت در برابر استرس تحت تأثیر عواملی مانند عوامل استرس‌زای محیطی خاص، عوامل محیطی، گونه، دستکاری، اندازه، سن، مراحل مختلف زیستی و شرایط تغذیه‌ای آبی قرار دارد (Clarke, 1982). معمولاً از تنش‌های محیطی به منظور میزان مقاومت ماهیان تغذیه شده با انواع مواد مختلف محرک سیستم ایمنی استفاده می‌شود. نتایج پژوهش حاضر نشان داد ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی ۰/۳٪ پری‌بیوتیک دارای بیشترین میزان مقاومت و بازماندگی در برابر استرس‌های حرارتی، اسیدی، قلیائی و شوری بودند که از تفاوت معنی‌داری نسبت به سایر تیمارها برخوردار بود. بازماندگی بالاتر لارو قزل‌آلا در جیره‌های حاوی پری‌بیوتیک به ویژه در سطح ۰/۳ درصد نسبت به تیمار شاهد در تنش‌های محیطی را احتمالاً می‌توان ناشی از تأثیر آن بر روی میزان رشد، افزایش وزن نهایی و به احتمال قوی بهبود وضعیت میکروویلی و افزایش ضخامت دیواره بافت پوششی روده لارو ماهیان ربط داد. چرا که پیشنهاد شده از طریق بلوکه کردن اتصال باکتری‌های مضر، تعدیل فلور روده باعث افزایش قابلیت هضم مواد مغذی توسط پرزهای دیوار روده می‌گردد (Ferket, 2004). در همین راستا سالز و همکاران (Salze, et al., 2008)، با غنی سازی آرتمیا و روتیفر به مدت ۲۴ ساعت در سطح ۰/۲ مانان الیگوساکارید به جیره غذایی ماهی سوکلا (*Rachycentron canadum*) و اکرمی و همکاران (Akrami et al., 2013)، با افزودن اینولین و مانان الیگوساکارید به جیره غذایی بچه ماهیان سفید (*R. frisii kutum*) افزایش معنی‌داری را در میزان

مقاوت ماهیان در مقابله با استرس شوری در مقایسه با تیمار شاهد گزارش نمودند. همچنین بچه ماهیان قرمز حوض (*Carassius auratus gibelio*) تغذیه شده با جیره حاوی اینولین از بازماندگی و زنده‌مانی بیشتری در مقابله با تست‌های استرسی محیطی در مقایسه با تیمار شاهد برخوردار بودند (Rahnama *et al.*, 2013). تاجدار نصرآبادی و اکرمی (Tajdar Nasrabadi and Akrami, 2013)، اثر فردی و ترکیبی پری‌بیوتیک فروکتوالیگوساکارید و مانان‌الیگوساکارید را بر میزان مقاومت بچه ماهی کلمه (*Rutilus rutilus caspicus*) بررسی و گزارش کردند که تفاوت معنی‌داری در تست استرس حرارتی، شوری و اسیدی بین تیمارهای آزمایشی مشاهده نشد و کمترین میزان مقاومت در برابر تست استرس قلیائیت در تیمار شاهد بدست آمد. در پایان می‌توان این گونه نتیجه گرفت که افزودن پری‌بیوتیک مانان‌الیگوساکارید به ویژه در سطح ۰/۳ درصد جیره آغازین لارو قزل‌آلا اثر مثبتی بر بهبود شاخص‌های رشد، تغذیه و افزایش مقاومت در برابر تست‌های استرسی محیطی داشته است لیکن به‌منظور حصول اطمینان از اثرات مثبت این پری‌بیوتیک پیشنهاد می‌شود مطالعه‌ای در خصوص تأثیر آن (چه به صورت پیوسته و چه به صورت مقطعی) بر سطوح ایمنی در شرایط آزمایشگاهی و پرورشی و همچنین رویارویی با عوامل بیماری‌زا صورت پذیرد تا بتوان با قطعیت بیشتری در مورد پتانسیل پری‌بیوتیک مانان‌الیگوساکارید در ماهی قزل‌آلا و سایر آبزیان اظهار نظر کرد.

منابع

- Akrami R., Chitsaz H., Dashtian S., Razeghi Mansour M. 2013. Single or combined effects of inulin and mannan oligosaccharide supplements on the growth performance, survival, body composition and salinity resistance of Kutum (*Rutilus frisii kutum*) fry. Fisheries Science and Technology, 2: 17-29.
- Akrami R., Ghelichi A., Manuchehri H. 2009a. Effect of dietary inulin as prebiotic on growth performance and survival of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Journal of Marine Science and Technology Research, Islamic Azad University, Tehran Shomal Branch, 4: 1-9. (In Persian)
- Akrami R., Karimabadi K., Mohammadzadeh H., Ahmadifar E. 2009b. Effect of dietary mannanoligosaccharide on growth performance, survival, body composition and salinity stress resistance in Kutum (*Rutilus frisii kutum*) fry stage. Journal of Marine Science and Technology, 8: 47-57.
- Bell J.G., Henderson R.J., Tocher D.R., McGhee F., Dick J.R., Porter A., Smullen R.P., Sargent J.R. 2003. Substituting fish oil with crude palm oil in the diet of Atlantic salmon (*Salmo salar*) affects muscle fatty acid composition and hepatic fatty acid metabolism. Journal of Nutrition, 132: 222-230.
- Clarke W. 1982. Evaluation of the seawater challenge test as an index of marine survival. Aquaculture, 28: 177-183.

- Dimitroglou A., Merrifield D.L., Moate R., Davies S.J., Spring P., Sweetman J., Bradley G. 2009. Dietary mannan oligosaccharide supplementation modulates intestinal microbial ecology and improves gut morphology of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Journal of American Society Animal Science, 87: 3226-3234.
- Dimitroglou A., Merrifield D.L., Spring P., Sweetman J., Moate R., Davies S. J. 2010. Effects of mannan oligosaccharide (MOS) supplementation on growth performance, feed utilisation, intestinal histology and gut microbiota of gilthead sea bream (*Sparus aurata*). Aquaculture, 300: 182-188.
- Ferket P.R. 2004. Alternatives to antibiotics in poultry production: responses, practical experience and recommendations. In: Lyons, T.P., Jaques, K.A. (Eds.), Nutritional Biotechnology in the Feed and Food Industries. Nottingham University Press, UK, pp: 57-67.
- Genç M.A., Yilmaz E., Genç E. 2006. Yeme Eklenen Mannan-Oligosakkarit'in Karabalıkların (*Clarias gariepinus* (Burchell, 1822)) Gelişimine, Barsak ve Karaciğer Histolojisine Etkileri. Journal of Fisheries and Aquatic Science, 23: 37-41.
- Ghobadi Sh., Amani Denji K., Akrami R., Razeghi Mansour M., Shoaee R. 2013. Effect of dietary mannan oligosaccharide on growth performance, survival, body composition and intestinal microflora in Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) juvenile. Journal of Development Aquaculture, Islamic Azad University, Lahijan Branch, 7: 73-85.
- Gibson G. R., Roberfroid M. B. 1995. Dietary modulation of the colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. Journal of Nutrition, 125: 1401-1412.
- Grisdale-Helland B., Helland S.J., Gatlin D.M. 2008. The effect of dietary supplementation with mannanoligosacchare, fructooligosaccharide or galactooligosaccharide on the growth atlantic salmon (*Salmo salar*). Aquaculture, 283: 163-167.
- 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: 482-487.
- Hardy R.W., Sugiura S.H., Babbitt J.K., Dong F.M. 2000. Utilization of fish and animal by-product meals in low-pollution feeds for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture Research, 31: 585-593.
- Hoseinifar S.H., Mirvaghefi A.R., Mojazi Amiri B., Khoshbavar Rostami H.A., Poor Amini M., Darvish Bastami K. 2011a. 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.

- Hoseinifar S.H., Mirvaghefi A., Mojazi Amiri B., Khoshbavar Rostami H., Merrifield D.L. 2011b. The effects of oligofructose on growth performance, survival and autochthonous intestinal microbiota of beluga (*Huso huso*) juveniles. *Aquaculture Nutrition*, 17: 498-504.
- Jafaryan H., M. Soltani M. Taati A., Nazarpour Morovat R. 2011. The comparison of performance of isolated sturgeon gut bacillus (*Acipenser persicus* and *Huso huso*) with commercial microbial products on growth and survival of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) larvae. *Journal of Veterinary Research*, 66(1): 39-46.
- Naseri A.M., Akrami R. 2014. Effect of Periodic administration of prebiotic mannan oligosaccharide and β -1, 3-glucan (TechnoMos®) on growth performance and some immunity response of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Fisheries, University of Tehran*, 67(2): 425-434
- Olsen R.E., Myklebust R., Kryvi H., Mayhew T.M., RingØ E. 2001. Damaging effect of dietary inulin on intestinal enterocytes in Arctic charr (*Salvelinus alpinus*). *Aquaculture Research*, 32: 931- 934.
- Pryor G.S., Royes J.B., Chapman F.A., Miles R.D. 2003. Mannan oligosaccharides in fish nutrition: Effects of dietary supplementation on growth and gastrointestinal villi structure in Gulf of Mexico sturgeon. *North America Journal of Aquaculture*, 65: 106-111.
- Rahnama B., Akrami R., Chitsaz H. 2013. Effect of dietary prebiotic inulin on growth performance, survival, body composition and salinity stress resistance in *Carassius auratus gibelio*. *Breeding & Aquaculture Sciences Journal, Islamic Azad University, Babol Branch*, 1: 55-70. (In Persian)
- Razeghi Mansour M., Akrami R., Ghobadi Sh., Amani Denji K., Ezatrahimi N., Gharaei A. 2012. Effects of dietary mannan oligosaccharide (MOS) on growth performance, survival, body composition, and some hematological parameters in giant sturgeon juvenile (*Huso huso*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 38: 829-835.
- RingØ E., Sperstad S., Myklebust R., Mayhew T.M., Olsen R.E. 2006. The effect of dietary inulin on aerobic bacteria associated with hindgut of Arctic charr (*Salvelinus alpinus*). *Aquaculture Research*, 37: 891-897.
- Sado R.J., Bicudo A.J.D.A., Cyrino J.E.P. 2008. Feeding dietary mannanoligosaccharid to juvenile Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*), has no effect on hematological parameters and showed decreased feed consumption. *Journal of World Aquaculture Society*, 39: 821-826.
- Salze G., Mclean E., Schwarz M.H., Craig S.R. 2008. Dietary mannan oligosaccharide enhances salinity tolerance and gut development of larval cobia. *Aquaculture*, 174: 148-152.

- Savage T.F., Zakrzewska E.I., Andreasen J.R. 1997. The effect of feeding mannan oligosaccharide supplemented diets to poult on performance and morphology of the small intestine. *Poultry Science*, 76: 139.
- Staykov Y., Spring P., Denev S., Sweetman J. 2007. Effect of mannan oligosaccharide on the growth performance and immune status of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture International*, 15:153-161.
- Tajdar Nasrabadi M., Akrami R. 2013. Single or combined effects of fructo- and mannan oligosaccharide supplements on growth performance, survival, body composition and resistance rate of juvenile Roach *Rutilus rutilus caspicus*. *Journal of Oceanography*, 4: 33-44.
- Torrecillas S., Makol A., Caballero D., Robaina L., Real F., Sweetman J., Tort L., Izquierdo M.S. 2007. Immune stimulation and improved infection resistance in european sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed mannan oligosaccharides. *Fish and Shellfish Immunology*, 23: 969-981.
- Welker T.L., Lim C., Yildirim-Aksoy M., Shelby R., Klesius P.H. 2007. Immune response and resistance to stress and *Edwardsiella ictaluri* challenge in channel catfish, *Ictalurus punctatus*, fed diets containing commercial whole-cell yeast or yeast subcomponents. *Journal of World Aquaculture Society*, 38: 24-35.

