



## تأثیر پروبیوتیک و پری‌بیوتیک‌های تجاری مولتی بهسیل و بهسام بر فراسنجه‌های رشد، شاخص‌های بیوشیمیایی بدن و مقاومت در برابر تنش‌های محیطی در نوزادان ماهی آمور (*Ctenophryngodon idella*)

سمیرا جعفریان<sup>۱\*</sup>، جواد قاسم‌زاده<sup>۲</sup>، حجت‌الله جعفریان<sup>۳</sup><sup>۱</sup> دانشجوی کارشناسی ارشد شیلات، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، ایران<sup>۲</sup> استادیار، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، ایران<sup>۳</sup> دانشیار، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبدکاووس، گنبدکاووس، ایران

## چکیده

این مطالعه در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با یک گروه شاهد و ۶ تیمار آزمایشی و هر یک با سه تکرار انجام شد. سه سطح (۲۰۰، ۴۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم در هر کیلو جیره) از محصولات تجاری مولتی بهسام و مولتی بهسیل ( $2 \times 10^{11}$  CFU/g،  $4 \times 10^{11}$  CFU/g و  $6 \times 10^{11}$  CFU/g) با جیره پایه مکمل‌سازی گردید. ۱۰۵۰ قطعه نوزاد ماهی آمور (با وزن اولیه  $1.01 \pm 0.25$  میلی‌گرم) در حوضچه‌های گروه شاهد و ۶ تیمار آزمایشی (۲۱ حوضچه) با ظرفیت ۳۰ لیتر (۵۰ ماهی در هر حوضچه) معرفی شدند. در پایان آزمایش، نتایج حاصل نشان داد که پارامتر-های رشد اندازه‌گیری شده (شامل: وزن نهایی، نرخ رشد ویژه، ضریب رشد حرارتی، سرعت رشد وزنی، ضریب رشد روزانه و نرخ بقاء) در نوزاد ماهی آمور، تفاوت معنی‌داری را بین تیمارهای آزمایشی و در مقایسه با گروه شاهد داشت ( $p < 0.05$ ). همچنین پارامترهای بیوشیمیایی عصاره بدن شامل آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و کورتیزول در برخی از تیمارهای آزمایشی در مقایسه با گروه شاهد در ماهی آمور تغذیه‌شده با جیره‌های مکمل‌شده با پری‌بیوتیک و پروبیوتیک اختلاف معنی‌داری را نشان دادند ( $p < 0.05$ ) در حالی که بین سطوح آلکالین فسفاتاز (ALP)، گلوکز، پروتئین کل و فعالیت لیزوزیم تفاوت معنی‌داری وجود نداشت ( $p > 0.05$ ). همچنین اضافه نمودن بهسام و مولتی بهسیل به جیره غذایی، مقاومت نوزادان ماهی آمور را در برابر آزمایش‌های مقابله با تنش‌های محیطی (تنش دمایی ۴۰ درجه سانتی‌گراد، آمونیاک ۵ میلی‌گرم در لیتر، پی‌اچ ۱۲ و پی‌اچ ۲) افزایش داد و تیمارهای آزمایشی تفاوت معنی‌داری را با گروه شاهد نشان دادند ( $p < 0.05$ ). این آزمایش نشان داد که به‌کارگیری سطوح مختلف محصولات تجاری بهسام و مولتی بهسیل در پرورش اولیه نوزادان ماهی آمور تأثیرات مثبتی بر ارتقاء پارامترهای رشد و افزایش مقاومت در برابر تست‌های مقابله با تنش داشته در حالی که اثرات متفاوتی بر شاخص‌های بیوشیمیایی عصاره بدن در این ماهی دارد.

## واژه‌های کلیدی:

پروبیوتیک، پری‌بیوتیک، نوزاد ماهی آمور، آسپاراتات آمینوترانسفراز، تست‌های مقابله با استرس

نوع مقاله:

پژوهشی اصیل

تاریخچه مقاله:

دریافت: ۹۶/۰۲/۰۲

پذیرش: ۹۶/۰۷/۱۰

DOI: 10.22034/jair.9.1.71

نویسنده مسئول مکاتبه:

سمیرا جعفریان، دانشجوی کارشناسی ارشد شیلات، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، ایران

ایمیل: [hojat.jafaryan@gmail.com](mailto:hojat.jafaryan@gmail.com)

## ۱ | مقدمه

کارایی تغذیه، ایمنی و بازماندگی در آبزیان مختلف شده است (Daniel *et al.*, 2010) و از آنجایی که پروبیوتیک و پری بیوتیک‌ها به‌عنوان محرک‌های رشد و یا محرک سیستم ایمنی معرفی شده‌اند، لذا استفاده از این ترکیبات در رژیم‌های غذایی ماهیان و نرم‌تنان در دهه‌های اخیر توسعه یافته است (Chitsaz *et al.*, 2016). به‌طوری‌که تاکنون تحقیقات زیادی در ارتباط با تأثیر پروبیوتیک (باکتری‌های اسیدلاکتیک و گونه‌های مختلف باسیلوس‌ها) و پری‌بیوتیک‌های (اینولین، الیگوفروکتوز، فروکتوالیگوساکارید، مانان الیگوساکارید، گالاکتوالیگوساکارید) مختلف

باتوجه به اثرات نامطلوب استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در جیره غذایی آبزیان و ممنوعیت مصرف این ترکیبات از سوی اتحادیه اروپا در سال‌های اخیر یکی از راه‌کارهای جدید، استفاده از پروبیوتیک‌ها و پری بیوتیک‌ها برای بهبود جمعیت میکروبی دستگاه گوارش آبزیان و تلاش به‌منظور افزایش تولید و جلوگیری از میزان تلفات بوده است (Denev, 2008). بررسی‌های محققان در سال‌های اخیر نیز نشان داده است که استفاده از این محصولات در جیره غذایی آبزیان تأثیرهای مثبتی بر فلور باکتریایی دستگاه گوارش آبزیان برجای گذاشته و باعث بهبود شاخص‌های رشد،

تأثیرگذاری محصولات بیولوژیکی تجاری بهسم و مولتی بهسیل از تولیدات شرکت زیست‌بهمن که از محصولات داخلی کشورمان می‌باشد، بر عملکردهای رشد، شاخص‌های ایمنی عصاره بدن و میزان مقاومت نوزادان ماهی‌آمور (*Ctenophryngodon idella*) در مقابله با تنش-های محیطی طراحی و اجراء گردید.

## ۲ | مواد و روش‌ها

این مطالعه در اواسط تیر و مردادماه سال ۱۳۹۵ در آزمایشگاه آبی‌پروری دانشگاه گنبدکاوس به مدت ۴۵ روز انجام شد. برای شروع کار تعداد ۱۲۰۰ قطعه نوزاد ماهی‌آمور از مرکز تکثیر و پرورش ماهیان گرمایی شهید چمران (استان گلستان، ایران) تهیه و پس از انتقال به آزمایشگاه تغذیه آبیان دانشکده کشاورزی دانشگاه گنبدکاوس، به مدت یک هفته با محیط آزمایشگاه سازگار گردیدند. این مطالعه در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با یک گروه شاهد و ۶ تیمار آزمایشی و هر یک با سه تکرار انجام شد. سه سطح (۲۰۰، ۴۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم در هر کیلو جیره) از محصولات تجاری مولتی بهسم و مولتی بهسیل ( $4 \times 10^{11}$  CFU/g،  $2 \times 10^{11}$  CFU/g و  $6 \times 10^{11}$  CFU/g) با جیره پایه به روشی که در بخش ساخت جیره‌های آزمایشی اشاره خواهد شد، مکمل سازی گردید. پس از انجام دوره سازگاری و اطمینان از سلامتی نوزادان ماهی، ۱۰۵۰ قطعه نوزاد ماهی‌آمور (با وزن اولیه ۶۲۵/۲  $\pm$  ۱۰/۲ میلی‌گرم) به حوضچه‌های گروه شاهد و ۶ تیمار آزمایشی (مجموعاً ۲۱ حوضچه) با ظرفیت ۳۰ لیتر (۵۰ ماهی در هر حوضچه) معرفی شدند. جهت تأمین هوادهی و نیاز اکسیژنی ماهیان نیز به هر یک از مخازن یک سنگ هوا که به منبع هواده متصل بود نصب گردید. آب مورد استفاده برای پرورش ماهیان در طول دوره از نظر فاکتورهای دما، اکسیژن محلول، pH، نیتريت و سختی مورد پایش قرار گرفت و فاکتورهای فوق در قالب مقادیر میانگین در جدول ۱ ارائه شده است.

بر پارامترهای رشد، فلور میکروبی دستگاه گوارش، ایمنی و مقاومت در برابر بیماری در گونه‌های مختلف کپور ماهیان انجام شده است که از جمله آن‌ها می‌توان به تحقیقات صورت گرفته توسط علامه و همکاران (Allameh et al., 2015) بر روی بچه‌ماهیان انگشت قد کپور جاوه‌ای (*Puntius gonionotus*, Bleeker 1850) با استفاده از پروبیوتیک‌های *Lactobacillus mesenteroides* *Enterococcus faecalis* و *Lactobacillus fermentum* همچنین مطالعه انجام گرفته توسط گوپتا و همکاران (Gupta et al., 2014) روی لاروهای ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) با استفاده از پروبیوتیک‌های *Bacillus licheniformis* (MTCC 9872) *Bacillus coagulans* (MTCC 6824) و *Paenibacillus polymyxa* (MTCC 122) اشاره کرد. همچنین تحقیق انجام شده توسط جی‌ها و همکاران (Jha et al., 2015) در استفاده از گونه‌های مختلف پروبیوتیکی در لاروهای تازه از تخم خارج شده ۳۸ روزه و ۶۸ روزه ماهی روهو (*Labeo rohita*)، مطالعه اکرمی و همکاران (Akrami et al., 2012) در استفاده از پری-بیوتیک مانان الیگوساکارید (MOS) در جیره غذایی بچه‌ماهیان انگشت قد ماهی قرمزحوض (*Carassius auratus gibelio*)، ابراهیمی و همکاران (Ebrahimi et al., 2012) در استفاده از پری-بیوتیک (MOS + BG) Immunogen® در خصوص بچه‌ماهیان انگشت قد کپور معمولی و مطالعه حسینی‌فر و همکاران (Hoseinifar et al., 2014) در استفاده از پری-بیوتیک فروکتوالیگوساکارید (FOS) در جیره غذایی بچه‌ماهیان انگشت قد کپور از آن جمله می‌باشند. علی‌رغم گزارش‌های متعدد منتشر شده در زمینه تأثیرات مثبت پروبیوتیک و پری-بیوتیک‌ها بر گونه‌های مختلف آبیان و اطلاعات محدود در زمینه پتانسیل این محصولات تجاری در مراحل لاروی گونه‌های مختلف آبیان از جمله نوزادان ماهی‌آمور و باتوجه به اینکه پاسخ‌های فیزیولوژیکی از جمله ایمنی، پس از به‌کارگیری خوراکی تحریک‌کننده‌های ایمنی (پروبیوتیک‌ها و پری-بیوتیک‌ها) در بافت‌های هدف در طول دهه اخیر کمتر مورد بررسی قرار گرفته است، لذا این مطالعه با هدف بررسی

جدول ۱- معیارهای کیفی آب ورودی به مخازن فایبرگلاس پرورش نوزادان ماهی‌آمور (انحراف معیار  $\pm$  میانگین)

دما (C°)	pH	اکسیژن محلول (mg/L)	شوری (g/L)	نیتريت (mg/L)	کدورت (mg/L)
۲۴/۵ $\pm$ ۱/۳۵	۷/۶ $\pm$ ۰/۱۸	۷/۵ $\pm$ ۰/۶۵	۰/۵۲۵ $\pm$ ۳۲/۴	۰/۰۱۳ $\pm$ ۰/۰۰۱	۷/۵ $\pm$ ۰/۶۵

پری-بیوتیک را ایفاء کنند. مولتی بهسیل نیز یک محصول تجاری پروبیوتیکی است که حاوی  $1 \times 10^{11}$  CFU/g از مخلوط پروبیوتیک‌های باکتریایی *Lactobacillus plantarum*، *Lactobacillus casei*، *Lactobacillus delbrueckii*، *Lactobacillus acidophilus*، *Bacillus licheniformis*، *Bacillus rhamnosus*، *Streptococcus salivarius*، *Bifidobacterium subtilis*، *Enterococcus faecium*، *Lactococcus lactis*، *bifidum*، *Bacillus coagulans*، قارچ *Aspergillus oryzae* و *Saccharomyces cerevisiae* است.

در این تحقیق از پری-بیوتیک و پروبیوتیک‌های تجاری به‌ترتیب تحت عناوین بهسم و مولتی بهسیل تهیه شده از شرکت زیست‌بهمن استفاده گردید. باتوجه به مشابهت زیاد این دو پری-بیوتیک و پروبیوتیک به‌همدیگر که در ساختار پروبیوتیک بهسیل از مخمر و لاکتوباسیلوس‌ها استفاده شده و در پری-بیوتیک بهسم از جدار سلولی این مخمر و لاکتوباسیلوس‌ها به‌عنوان ترکیبات پری-بیوتیک استفاده گردیده، فلذا این دو محصول در تغذیه نوزادان ماهی به‌کار گرفته شد. بهسم حاوی دیواره‌ی سلولی مخمر نانویی (*Saccharomyces cerevisiae*) و لاکتوباسیل‌های گرم مثبت است، که می‌توانند نقش

مورد استفاده در فرآیند مکمل‌سازی جیره‌های آزمایشی، پس از ساخت جیره‌ها با انجام کشت میکروبی، از سطوح حضور پروبیوتیک‌ها در جیره‌های ساخته‌شده اطمینان حاصل گردید (Jafaryan *et al.*, 2015). در گروه شاهد هیچگونه سوسپانسیون پری‌بیوتیکی و پروبیوتیکی به جیره اضافه نگردید. مقدار غذای موردنیاز براساس جداول استاندارد معادل ۴ درصد وزن بدن در روز تعیین گردیده و در هر یک از تیمارهای آزمایشی به آن‌ها خورنده شد. هر روز صبح باقیمانده غذایی با استفاده از میکروپیت از حوضچه‌ها جمع‌آوری گردید. این مقدار غذای جمع‌آوری شده از کل غذای عرضه‌شده کسر گردیده و غذای خورده شده روزانه محاسبه گردید.

به‌منظور بررسی شاخص‌های رشد در انتهای دوره آزمایش تمام بچه‌ماهیان موجود در هر مخزن خارج‌شده و وزن (با دقت ۰/۰۱ گرم) و طول (با دقت ۱ میلی‌متر) آن‌ها ثبت گردید. با استفاده از داده‌های حاصل از زیست‌سنجی برخی از معیارهای رشد (شامل وزن نهایی، نرخ رشد ویژه، ضریب رشد حرارتی، سرعت رشد وزنی، غذای خورده‌شده روزانه) محاسبه شدند (Hevroy *et al.*, 2005; De Silva *et al.*, 1989). بقاء ماهیان نیز در انتهای دوره آزمایش تعیین شد. برای محاسبه پارامترهای رشد براساس منابع موجود از معادلات ریاضی زیر استفاده شد.

[زمان / (لگاریتم طبیعی میانگین وزن اولیه به گرم - لگاریتم طبیعی میانگین وزن نهایی به گرم)] × ۱۰۰ = ضریب رشد ویژه  
 [( میانگین وزن اولیه به گرم + میانگین وزن نهایی به گرم ) × زمان / میانگین وزن اولیه به گرم - میانگین وزن نهایی به گرم ] × ۱۰۰ = سرعت رشد وزن بدن  
 [ میانگین درجه حرارت به سانتی‌گراد × زمان / (۳۳ - وزن توده زنده اولیه ماهی به گرم - ۳۳ - وزن توده زنده نهایی ماهی به گرم) ] = ضریب رشد حرارتی  
 ۱۰۰ × [مدت مطالعه / (وزن اولیه - وزن نهایی)] = میانگین رشد روزانه  
 (تعداد بچه ماهیان باقیمانده در انتهای دوره / تعداد بچه ماهیان ابتدای دوره) × ۱۰۰ = نرخ بقاء

پس از اتمام دوره آزمایش جهت مطالعه تأثیر محصولات پروبیوتیکی (مولتی بهسیل) و پری‌بیوتیکی (بهسام) بر مقاومت لاروها، میزان ۵ لیتر از هریک از محلول‌های اسیدی با پی‌اچ ۲ (با استفاده از اسید کلریدیک غلیظ)، محلول قلیایی با پی‌اچ ۱۲ (با به‌کارگیری از سود)، محلول ۵ میلی‌گرم در لیتر آمونیاک و آب با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد تهیه گردید. چهار آزمون تنش شامل آمونیاک (۵ mg/L)، دما (۴۰°C)، pH اسیدی (pH=۲) و pH بازی (pH=۱۲) در نظر گرفته شد. از هر یک از حوضچه‌های پرورشی، تعداد ۵ قطعه نوزاد ماهی آمور به‌صورت تصادفی انتخاب و به‌طور جداگانه به این محلول‌ها منتقل شده و طول مدت زنده‌مانی آنها اندازه‌گیری و ثبت گردید (Jafaryan *et al.*, 2009).

توزیع نرمال متغیرهای اندازه‌گیری شده از تکرارهای هر تیمار، ابتدا به‌وسیله آزمون کولموگروف-اسمیرنوف تست گردید و برای تجزیه و تحلیل داده‌های آماری مربوط به تغییرات رشد، پارامترهای بیوشیمیایی عصاره بدن و مقاومت در برابر تنش‌های محیطی در ماهیان پرورشی از روش آنالیز واریانس یک‌طرفه ANOVA و در نهایت جهت مقایسه میانگین تیمارها بر اساس تست چند دامنه‌ای دانکن در سطح اطمینان

به‌منظور آماده‌سازی جیره‌های غذایی مقدار غذا برای هر یک از تیمارهای آزمایشی بر مبنای وزن بیوماس ماهیان به‌طور هفتگی تهیه گردید. از جیره آغازین تهیه‌شده از شرکت اسکرینینگ (با قطر ۱/۵ میلی‌متر، دارای ۵۰ درصد پروتئین خام، ۲۰ درصد چربی خام و ۹/۵ درصد خاکستر) استفاده گردید. ابتدا مقادیر ۲۰۰، ۴۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم از محصولات تجاری مولتی بهسام توزین شده و همچنین همین مقدار نیز از محصول پودری مولتی بهسیل که معادل غلظت باکتریایی ۲×۱۰<sup>۱۰</sup> CFU/g، ۴×۱۰<sup>۱۰</sup> CFU/g و ۶×۱۰<sup>۱۰</sup> CFU/g بود، نیز توزین شد. هر یک از مقادیر پری‌بیوتیک و پروبیوتیک ذکر شده به‌طور جداگانه به سه ظرف شیشه‌ای حاوی ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل منتقل و سپس با همزن برقی به‌خوبی هم‌زده شده و سرانجام سوسپانسیون‌های تهیه‌شده به‌طور جداگانه با مقدار ۱ کیلوگرم غذای اکستروید تهیه‌شده برای هر تیمار به‌خوبی آغشته‌سازی شدند. سرانجام ۶ جیره آزمایشی با غلظت‌های مختلفی از پری‌بیوتیک بهسام و بهسیل تهیه گردید. جیره‌های غذایی مکمل‌سازی شده درون انکوباتور با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۵ ساعت خشک شدند (Ghosh *et al.*, 2003). جیره‌های تهیه‌شده (دارای ۱۰ درصد رطوبت) و مطابق با اندازه دهان نوزادان ماهی آمور از الک‌های ریز عبور داده‌شده و براساس برنامه زمان‌بندی غذایی و مقادیر غذای محاسبه‌شده در اختیار آن‌ها قرار گرفت. همچنین جهت اطمینان از میزان غلظت‌های پروبیوتیک‌های

جهت مطالعه پارامترهای بیوشیمیایی عصاره بدن، نمونه‌های ماهی پس از شستشو با آب مقطر و آبگیری در پارچه‌های توری، ابتدا کل بدن ماهی با اسکالپر به قطعات کوچک تبدیل‌شده و سپس با استفاده از هاون چینی کاملاً به‌صورت هم‌وزن در آمدند. نمونه‌های هم‌وزن شده به ظروف اپندروف با حجم ۱ سی‌سی منتقل و در دستگاه سانتریفیوژ با دور ۳۰۰۰ rpm به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردیدند (Gabriel *et al.*, 2012). سپس جهت اندازه‌گیری پارامترهای ایمنی آنزیم‌های کبدی شامل آسپارات آمینو ترانسفراز (AST)، آلانین آمینو ترانسفراز (ALT)، آلکالین فسفاتاز (ALP) و گلوکز در آن با استفاده از کیت تشخیص آزمایشگاهی محصول شرکت پارس آزمون و دستگاه اتوآنالایزر (Eurolyzer) مورد اندازه‌گیری قرار گرفت (Nobahar *et al.*, 2015). میزان کورتیزول موجود در نمونه‌ها سرم خونی با استفاده از کیت تشخیصی مونوباند ساخت کشور آمریکا و با استفاده از روش الیزا اندازه‌گیری گردید (Nobahar *et al.*, 2015). فعالیت لایزوزیم سرم براساس روش چا و همکاران (Cha *et al.*, 2008) و بر مبنای لیز باکتری گرم مثبت حساس به آنزیم لایزوزیم (*Micrococcus lysodieticus*) اندازه‌گیری شد.

۹۵٪ با بهره‌گیری از نرم‌افزارهای Excle-2016 و Spss-19 استفاده شد. حداقل سطح معنی‌دار بودن آزمون‌ها  $p \geq 0.05$  در نظر گرفته شد. داده‌های به‌دست آمده به‌صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار ارائه شدند.

### ۳ | نتایج

نتایج مربوط به تأثیر پروبیوتیک (مولتی بهسبیل) و پری‌بیوتیک‌های (بهسام) مورد استفاده در این مطالعه، در انتهای دوره آزمایش بر پارامترهای رشد نوزادان ماهی امور در جدول ۲ ارائه شده است. در شروع آزمایش تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای مورد بررسی به‌لحاظ تغییرات وزنی وجود نداشت و هر ۷ تیمار مورد بررسی به‌لحاظ میانگین وزنی همگن بودند ( $p > 0.05$ ). درحالی‌که نتایج این مطالعه در پایان آزمایش (۴۵ روز) نشان داد که مکمل‌سازی جیره‌های غذایی نوزادان ماهی امور توسط پروبیوتیک و پری‌بیوتیک‌های به‌کار گرفته‌شده تأثیر مثبت و معنی‌داری بر وزن نهایی، نرخ رشد ویژه، ضریب رشد حرارتی، سرعت رشد روزانه، ضریب رشد روزانه و درصد بقاء دارد ( $p < 0.05$ ). در مورد وزن نهایی بهترین نتایج ثبت شده در تیمارهای بهسام ۶۰۰ و بهسبیل ۲۰۰ مشاهده گردید که تفاوت معنی‌داری با سایر تیمارهای آزمایشی و تیمار شاهد داشتند ( $p < 0.05$ ). درخصوص نرخ رشد ویژه نیز بیش‌ترین مقدار (۳/۹۲ درصد وزن بدن در روز) در تیمار آزمایشی بهسام ۶۰۰ مشاهده گردید ( $p < 0.05$ ). کمترین و بیش‌ترین نرخ بقاء ماهیان نیز به ترتیب در گروه شاهد ( $7/3 \pm 82/32$ ) و تیمار بهسبیل ۴۰۰ ( $12/5 \pm 98/2$ ) مشاهده شد ( $p < 0.05$ ).

ترکیبات بیوشیمیایی عصاره بدن نوزادان ماهی امور در تیمارهای مختلف در پایان دوره آزمایش (۴۵ روز) در جدول ۳ ارائه شده است. بر اساس نتایج به‌دست آمده، کمترین مقدار کورتیزول ( $2/49 \pm 0/41$ ) در

تیمار بهسبیل ۲۰۰ مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری با سایر تیمارهای آزمایشی و تیمار شاهد داشت ( $p < 0.05$ ). هرچند که استفاده از این محصولات تجاری باعث کاهش سطوح گلوکز، لیزوزیم و پروتئین تام در تیمارهای آزمایشی در مقایسه با تیمار شاهد شده بود اما تفاوت معنی‌داری بین سطوح مختلف گلوکز، لیزوزیم و پروتئین کل در تیمارهای آزمایشی در مقایسه با تیمار شاهد مشاهده نشد ( $p > 0.05$ ). نتایج حاصل از تأثیر پروبیوتیک‌های تجاری بهسام و بهسبیل بر آنزیم‌های کبدی عصاره بدن نیز نشان داد که استفاده از پروبیوتیک‌های به‌کار رفته در این تحقیق کاهش معنی‌داری را بر سطح آنزیم‌های آسپارات آمینوترانسفراز (AST) و همچنین آلکالین فسفاتاز (ALP) در تیمارهای آزمایشی در مقایسه با تیمار شاهد ایجاد نمود ( $p < 0.05$ ). درحالی‌که تفاوت معنی‌داری بر سطح آنزیم آلانین آمینوترانسفراز (ALT) مشاهده نشد. به‌طوری‌که سطح این آنزیم در عصاره بدن نوزادان ماهی امور در تیمارهای آزمایشی در مقایسه با تیمار شاهد به‌طور غیر معنی‌دار افزایش یافت ( $p > 0.05$ ).

نتایج حاصل از بررسی زمان زنده‌مانی نوزادان ماهی امور در تست‌های مقابله با تنش‌های محیطی در جدول ۴ ارائه شده است. نتایج به‌دست آمده حاکی از وجود تفاوت معنی‌دار بین هر چهار تست تنش انجام شده در تیمارهای آزمایشی در مقایسه با گروه شاهد بود ( $p < 0.05$ ). بالاترین زمان زنده مانی نوزادان ماهی امور (۳۱۳/۵ ثانیه) در آزمایش مقابله با تنش اسیدی و قلیایی در تیمار بهسبیل ۶۰۰ میلی‌گرم در هر کیلو جیره به‌دست آمد. همچنین بیشترین مدت زنده مانی نوزادان ماهی در تنش دمایی (۶۹/۵ ثانیه) و در تنش مقابله با آمونیاک (۲۹۰/۴ ثانیه) به‌ترتیب در تیمارهای بهسبیل ۶۰۰ و بهسبیل ۲۰۰ میلی‌گرم در هر کیلو جیره به‌دست آمد.

جدول ۲- تغییرات پارامترهای رشد بچه‌ماهی امور در گروه شاهد و تیمارهای مورد تغذیه با جیره‌های مکمل سازی شده با محصولات پروبیوتیک و پری‌بیوتیک‌های تجاری بهسام و بهسبیل - (انحراف معیار  $\pm$  میانگین)

تیمار	شاهد	بهسام ۲۰۰	بهسام ۴۰۰	بهسام ۶۰۰	بهسبیل ۲۰۰	بهسبیل ۴۰۰	بهسبیل ۶۰۰
وزن نهایی (گرم)	۴/۳۵ $\pm$ ۰/۶۱ <sup>c</sup>	۵/۱۶ $\pm$ ۰/۹۳ <sup>ab</sup>	۵/۰۳ $\pm$ ۱/۰۱ <sup>ab</sup>	۵/۴۰ $\pm$ ۱/۰۵ <sup>a</sup>	۵/۰۲ $\pm$ ۱/۰۵ <sup>ab</sup>	۴/۸۲ $\pm$ ۰/۸۲ <sup>b</sup>	۵/۰۶ $\pm$ ۱/۰۷ <sup>ab</sup>
نرخ رشد ویژه (%)	۳/۴۱ $\pm$ ۰/۶۴ <sup>c</sup>	۳/۸۳ $\pm$ ۰/۴۴ <sup>ab</sup>	۳/۷۹ $\pm$ ۰/۳۹ <sup>ab</sup>	۳/۹۲ $\pm$ ۰/۴۸ <sup>a</sup>	۳/۷۶ $\pm$ ۰/۵۱ <sup>ab</sup>	۳/۷۰ $\pm$ ۰/۳۷ <sup>b</sup>	۳/۷۹ $\pm$ ۰/۴۴ <sup>ab</sup>
ضریب رشد حرارتی (/)	۰/۶۰ $\pm$ ۰/۱۴ <sup>c</sup>	۰/۶۹ $\pm$ ۰/۱۱ <sup>ab</sup>	۰/۶۹ $\pm$ ۰/۰۹ <sup>ab</sup>	۰/۷۲ $\pm$ ۰/۱۲ <sup>a</sup>	۰/۶۸ $\pm$ ۰/۱۳ <sup>ab</sup>	۰/۶۶ $\pm$ ۰/۰۹ <sup>b</sup>	۰/۶۹ $\pm$ ۰/۱۱ <sup>ab</sup>
سرعت رشد وزنی (/)	۲/۸۴ $\pm$ ۰/۳۸ <sup>b</sup>	۳/۰۹ $\pm$ ۰/۲۲ <sup>a</sup>	۳/۰۷ $\pm$ ۰/۲۰ <sup>a</sup>	۳/۱۳ $\pm$ ۰/۲۲ <sup>a</sup>	۳/۰۴ $\pm$ ۰/۲۶ <sup>a</sup>	۳/۰۲ $\pm$ ۰/۱۹ <sup>a</sup>	۳/۰۶ $\pm$ ۰/۲۳ <sup>a</sup>
ضریب رشد روزانه (/)	۱/۴۴ $\pm$ ۰/۳۴ <sup>c</sup>	۱/۶۸ $\pm$ ۰/۲۵ <sup>ab</sup>	۱/۶۵ $\pm$ ۰/۲۲ <sup>ab</sup>	۱/۷۳ $\pm$ ۰/۲۹ <sup>a</sup>	۱/۶۳ $\pm$ ۰/۲۹ <sup>ab</sup>	۱/۵۹ $\pm$ ۰/۲۹ <sup>b</sup>	۱/۶۵ $\pm$ ۰/۲۵ <sup>ab</sup>
میزان بازماندگی (/)	۸۲/۳۲ $\pm$ ۷/۳ <sup>d</sup>	۹۰/۴ $\pm$ ۱۳/۶ <sup>b</sup>	۸۲/۵ $\pm$ ۱۰/۸ <sup>d</sup>	۸۶/۲ $\pm$ ۱۵/۲ <sup>c</sup>	۹۰/۶ $\pm$ ۱۴/۴ <sup>b</sup>	۹۸/۲ $\pm$ ۱۲/۵ <sup>a</sup>	۸۶/۳ $\pm$ ۱۵/۲ <sup>c</sup>

در هر ردیف حروف لاتین غیرمشترک نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار می باشد ( $p < 0.05$ ).

جدول ۳- تغییرات پارامترهای بیوشیمیایی عصاره بدن بچه‌ماهی‌ها در گروه شاهد و تیمارهای مورد تغذیه با جیره‌های مکمل سازی شده با محصولات پروبیوتیک و

پری‌بیوتیک‌های تجاری بهسام و بهسیل - (انحراف معیار  $\pm$  میانگین)

تیمار	شاهد	بهسام ۲۰۰	بهسام ۴۰۰	بهسام ۶۰۰	بهسیل ۲۰۰	بهسیل ۴۰۰	بهسیل ۶۰۰
شاخص های ایمنی	میلی گرم در کیلوگرم جیره	میلی گرم در کیلوگرم جیره	میلی گرم در کیلوگرم جیره	میلی گرم در کیلوگرم جیره	میلی گرم در کیلوگرم جیره	میلی گرم در کیلوگرم جیره	میلی گرم در کیلوگرم جیره
آسپاراتات آمینو ترانسفراز (U/L)	۱۳۳/۷۳ $\pm$ ۲۸/۰۴ <sup>b</sup>	۶۶/۷۳ $\pm$ ۱۷/۴۸ <sup>a</sup>	۶۲/۴۰ $\pm$ ۲۰/۴۹ <sup>a</sup>	۵۴/۱۲ $\pm$ ۱۱/۶۰ <sup>a</sup>	۶۴/۳۳ $\pm$ ۶/۶۰ <sup>a</sup>	۶۵/۴۰ $\pm$ ۲۰/۴۸ <sup>a</sup>	۷۳/۱۷ $\pm$ ۲۰/۵۲ <sup>a</sup>
آلانین آمینو ترانسفراز (U/L)	۱۰۳/۲۷ $\pm$ ۷/۶۰ <sup>a</sup>	۱۴۵/۱۳ $\pm$ ۵۲/۳۴ <sup>a</sup>	۱۶۷/۶۶ $\pm$ ۷۱/۴۴ <sup>a</sup>	۱۲۳/۲۰ $\pm$ ۴۴/۰۸ <sup>a</sup>	۱۴۸/۵۳ $\pm$ ۳۱/۳۳ <sup>a</sup>	۱۵۶/۹۰ $\pm$ ۵۶/۶۹ <sup>a</sup>	۱۷۸/۴۳ $\pm$ ۳۶/۳۱ <sup>a</sup>
آلکالین فسفاتاز (U/L)	۹۹۷/۲۸ $\pm$ ۱۸۰/۱۵ <sup>a</sup>	۴۸۳/۲۶ $\pm$ ۸۹/۰۵ <sup>b</sup>	۶۱۰/۰۱ $\pm$ ۵۶/۲۵ <sup>ab</sup>	۳۷۳/۲۰ $\pm$ ۵۸/۶۴ <sup>b</sup>	۳۰۶/۶۳ $\pm$ ۸۹/۹۵ <sup>b</sup>	۵۹۱/۸۸ $\pm$ ۸۳/۶۸ <sup>ab</sup>	۱۷۸/۴۳ $\pm$ ۳۶/۳۱ <sup>a</sup>
پروتئین کل (g/dL)	۲/۲۶ $\pm$ ۰/۴۹ <sup>a</sup>	۱/۳۰ $\pm$ ۰/۵۰ <sup>a</sup>	۱/۵۰ $\pm$ ۰/۴۵ <sup>a</sup>	۱/۷۳ $\pm$ ۰/۸۷ <sup>a</sup>	۱/۳۳ $\pm$ ۰/۵۸ <sup>a</sup>	۱/۶۳ $\pm$ ۰/۷۵ <sup>a</sup>	۱/۹۰ $\pm$ ۰/۹۰ <sup>a</sup>
گلوکز (mg/dL)	۶۹۰/۷۳ $\pm$ ۱۸۳/۹۹ <sup>a</sup>	۴۱۵/۶۱ $\pm$ ۵۱/۲۸ <sup>a</sup>	۵۲۵/۳۳ $\pm$ ۱۵۲/۳۶ <sup>a</sup>	۴۱۲/۲۲ $\pm$ ۷۵/۶۰ <sup>a</sup>	۵۴۳/۹۴ $\pm$ ۳۷/۳۶ <sup>a</sup>	۵۵۵/۰۸ $\pm$ ۱۳۹/۳۵ <sup>a</sup>	۴۹۰/۵۵ $\pm$ ۱۰۹/۱۹ <sup>a</sup>
کورتیزول ( $\mu$ g/dL)	۳/۲۷ $\pm$ ۰/۲۷ <sup>a</sup>	۳/۰۸ $\pm$ ۰/۱۷ <sup>b</sup>	۳/۴۰ $\pm$ ۰/۲۰ <sup>a</sup>	۲/۶۹ $\pm$ ۰/۱۱ <sup>bc</sup>	۲/۴۹ $\pm$ ۰/۴۱ <sup>c</sup>	۲/۸۵ $\pm$ ۰/۴۳ <sup>abc</sup>	۳/۰۳ $\pm$ ۰/۲۵ <sup>abc</sup>
فعالیت لیزوزیم ( $\mu$ g/ml)	۱/۹۲ $\pm$ ۰/۰۹ <sup>a</sup>	۱/۲۹ $\pm$ ۰/۱۰ <sup>c</sup>	۲/۰۱ $\pm$ ۰/۱۷ <sup>a</sup>	۲/۱۵ $\pm$ ۰/۲۴ <sup>a</sup>	۱/۳۸ $\pm$ ۰/۳۶ <sup>bc</sup>	۱/۷۰ $\pm$ ۰/۱۵ <sup>abc</sup>	۱/۷۷ $\pm$ ۰/۳۹ <sup>abc</sup>

در هر ردیف حروف لاتین غیرمشترک نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار می‌باشد ( $p < 0.05$ ).

جدول ۴- تغییرات زمان زنده‌مانی (ثانیه) در بچه‌ماهی‌ها در گروه شاهد و تیمارهای مورد تغذیه با جیره‌های مکمل سازی شده با محصولات پروبیوتیک و

پری‌بیوتیک‌های تجاری بهسام و بهسیل - (انحراف معیار  $\pm$  میانگین)

تیمار	شاهد	بهسام ۲۰۰	بهسام ۴۰۰	بهسام ۶۰۰	بهسیل ۲۰۰	بهسیل ۴۰۰	بهسیل ۶۰۰
تست مقابله	میلی گرم در کیلوگرم جیره	میلی گرم در کیلوگرم جیره	میلی گرم در کیلوگرم جیره	میلی گرم در کیلوگرم جیره	میلی گرم در کیلوگرم جیره	میلی گرم در کیلوگرم جیره	میلی گرم در کیلوگرم جیره
تست مقابله با pH اسیدی	۲۰۰/۴ $\pm$ ۱/۳ <sup>c</sup>	۲۰۴/۶ $\pm$ ۰/۶ <sup>b</sup>	۲۰۱/۱ $\pm$ ۱/۳ <sup>c</sup>	۲۰۲/۲ $\pm$ ۰/۶ <sup>c</sup>	۲۰۱/۲ $\pm$ ۱/۹ <sup>c</sup>	۲۰۱/۱ $\pm$ ۱/۳ <sup>c</sup>	۳۱۳/۵ $\pm$ ۰/۹ <sup>a</sup>
تست مقابله با pH قلبیایی	۲۱۸/۴ $\pm$ ۳۲/۴ <sup>c</sup>	۲۵۷/۵ $\pm$ ۹/۱ <sup>b</sup>	۲۶۰/۴ $\pm$ ۶/۶ <sup>b</sup>	۳۱۱/۴ $\pm$ ۱/۲ <sup>a</sup>	۳۲۰/۱ $\pm$ ۱/۵ <sup>a</sup>	۳۱۲/۳ $\pm$ ۱/۸ <sup>a</sup>	۳۱۳/۵ $\pm$ ۰/۹ <sup>a</sup>
تست مقابله با دما (C°)	۴۶/۱ $\pm$ ۲/۳ <sup>f</sup>	۴۹/۱ $\pm$ ۲/۵ <sup>e</sup>	۵۲/۲ $\pm$ ۲/۳ <sup>d</sup>	۵۳/۵ $\pm$ ۱/۵ <sup>d</sup>	۶۲/۵ $\pm$ ۳/۴ <sup>b</sup>	۵۸/۶ $\pm$ ۱/۳ <sup>c</sup>	۶۹/۵ $\pm$ ۲/۴ <sup>a</sup>
تست مقابله با آمونیاک (Δmg/L)	۱۶۸/۰ $\pm$ ۱۳/۲ <sup>d</sup>	۲۶۵/۲ $\pm$ ۴/۳ <sup>c</sup>	۲۶۳/۷ $\pm$ ۶/۹ <sup>c</sup>	۲۸۸/۳ $\pm$ ۱۳/۵ <sup>ab</sup>	۲۹۰/۴ $\pm$ ۱۶/۸ <sup>a</sup>	۲۵۷/۱ $\pm$ ۹۵/۷ <sup>c</sup>	۲۷۰/۰ $\pm$ ۱/۶ <sup>bc</sup>

در هر ردیف حروف لاتین غیرمشترک نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار می‌باشد ( $p < 0.05$ ).

## ۴ | بحث و نتیجه‌گیری

تغییرات شاخص‌های رشد در بین تیمارهای مختلف در این تحقیق، نشان داد که اضافه نمودن پری‌بیوتیک بهسام و پروبیوتیک بهسیل به جیره غذایی نوزادان ماهی‌ها منجر به افزایش معنی‌دار برخی از پارامترهای رشد، شاخص‌های ایمنی عصاره بدنی اندازه‌گیری شده و همچنین تست‌های مقاومت در برابر تنش‌های محیطی در تیمارهای آزمایشی در مقایسه با تیمار شاهد مشاهده شد ( $p < 0.05$ ). در این خصوص نوع پری‌بیوتیک و یا پروبیوتیک و همچنین غلظت به‌کارگیری از آن‌ها، شرایط پرورشی و مرحله زیستی ماهی مورد مطالعه در تأثیرپذیری ماهی از آن‌ها بسیار اهمیت دارد. به‌رحال مطالعات انجام‌شده در این زمینه نشان داده است که این محصولات بیولوژیکی تأثیر مثبت و معنی‌داری را بر شاخص‌های رشد، تغذیه و ایمنی در ماهیان دارند. در موافقت با یافته‌های این تحقیق نادری سامانی و همکاران (Naderi Samani et al., 2014) نیز با به‌کارگیری پروبیوتیک‌های باسیلی در سیستم پرورش نوزادان ماهی کپور معمولی (*C. carpio*) موجب افزایش پارامترهای رشد در این ماهی گردیدند. همچنین جعفریان و همکاران (Jafaryan et al., 2011) نیز در مطالعه خود در مورد به‌کارگیری باسیلوس‌های پروبیوتیکی در غذای زنده لارو ماهی‌ها (*C. idella*) گزارش دادند که استفاده از این گونه‌های پروبیوتیکی موجب افزایش پارامترهای رشد و تغذیه در این ماهی می‌گردد.

به‌طوری‌که ترکیبات بیوشیمیایی نظیر هورمون کورتیزول، آنزیم‌های کبدی و لیزوزیم در پلاسما خون (Carnevali et al., 2006) و عصاره بدن ماهیان (Gabriel et al., 2012) نشان‌دهنده وضعیت عملکرد سیستم ایمنی و سلامتی ماهی می‌باشد. شواهد علمی زیادی نمایانگر این یافته می‌باشد که استفاده از پری‌بیوتیک و پروبیوتیک‌ها می‌توانند موجب تحریک سیستم ایمنی در ماهیان شده و آن را تقویت نمایند. در همین راستا نتایج این تحقیق نشان داد که آنزیم کبدی آسپاراتات آمینو ترانسفراز (AST) در نوزادان ماهی‌ها در تیمارهای تحت تأثیر پری‌بیوتیک بهسام و پروبیوتیک بهسیل در مقایسه با ماهیان گروه شاهد کاهش یافته که می‌تواند به‌عنوان یک فاکتور مثبت در ارتقاء سیستم ایمنی ماهی باشد. در موافقت با یافته‌های این تحقیق در ارتباط با پارامترهای بیوشیمیایی عصاره بدن حسن‌پور فتاحی و همکاران (Hasanpour Fattahi et al., 2014) نیز گزارش دادند که به‌کارگیری مخمر *S. cerevisiae* و قارچ *A. niger* به‌عنوان یک پروبیوتیک در فیل‌ماهیان جوان (*Huso huso*) موجب کاهش این آنزیم کبدی گردیدند. در مغایرت با یافته‌های این تحقیق نوبهار و همکاران (Nobahar et al., 2015) نیز گزارش دادند که به‌کارگیری پروبیوتیک‌های باسیلی در جیره نوزادان ماهی کپور معمولی (*C. carpio*) موجب افزایش در میزان آنزیم آسپاراتات آمینو ترانسفراز (AST) در عصاره بدن این ماهی گردید. از دیگر نتایج به‌دست آمده در

ماهی باس دریایی (*Dicentrarchus labrax*) با جیره‌های مکمل‌سازی شده با لاکتو باسیلوس دلبروکی به دست آمد. در خصوص تأثیرات متفاوت جیره‌های غذایی مکمل‌سازی شده توسط پری‌بیوتیک و پروبیوتیک‌های مورد استفاده در این مطالعه بر فعالیت آنزیم لیزوزیم در عصاره بدن نوزادان ماهی امور گزارشات علمی نشان داده است که ترکیبات مانان اولیگوساکاریدها و منوساکاریدهای موجود در پری‌بیوتیک‌ها موجب افزایش فعالیت لیزوزیم در ماهیان می‌گردد. در مغایرت با نتایج تحقیق حاضر استایکوف (Staykov, 2004) عنوان نمود که افزودن پری-بیوتیک مانان اولیگوساکارید در ماهی کپور معمولی (*C. carpio*) و قزل‌آلای رنگین‌کمان (*oncorhynchus mykiss*) موجب افزایش فعالیت لیزوزیم در آنها می‌شود. همچنین در تحقیقات موران (Moran, 2004) نیز مشخص گردید که مانان اولیگوساکاریدها موجب تحریک پاسخ‌های ایمنی در ماهیان می‌گردد. نتایج مشابهی نیز توسط دینو (Denev, 2008) در خصوص به‌کارگیری لاکتوباسیلوس‌هایی نظیر لاکتوباسیلوس دلبروکی و باسیلوس‌ها در افزایش سیستم ایمنی در ماهیان گزارش شده است.

یافته‌های علمی نشان می‌دهد که در بسیاری از موارد استفاده از پری‌بیوتیک و پروبیوتیک‌ها در مکمل‌سازی جیره‌های غذایی توسط این عوامل بیولوژیکی موجب کاهش فعالیت عوامل بیماری‌زا گشته و همچنین با تقویت سیستم ایمنی موجب ارتقای نرخ بقای ماهی می‌گردند. در همین خصوص عنوان می‌شود که پری‌بیوتیک‌ها با ارتقاء هم‌افزایی در هم‌غذایی و همزیستی با باکتری‌های که رقیب پاتوژن‌ها می‌باشند، به‌طور مستقیم موجب مقاومت در برابر پاتوژن‌ها شده و کاهش متابولیت‌های سمی و التهابات روده‌ای را در میزبان موجب می‌گردند (Pedron and Sansonetti, 2008). در همین خصوص در تست‌های مقابله با استرس‌های پی‌اچ اسیدی، بازی و همچنین استرس دما و آمونیاک میزان مقاومت ماهی افزایش داشته و طول مدت زنده‌مانی نسبت به گروه شاهد بالا بود. این یافته نشان می‌دهد که میزان مقاومت ماهیان تغذیه‌شده با جیره‌های مکمل‌سازی شده با غلظت‌های مختلف از پری‌بیوتیک به‌سام و پروبیوتک مولتی به‌سپیل در مقایسه با گروه شاهد افزایش یافته است. اصولاً عوامل متعددی در افزایش مقاومت ماهیان در مقابله با تنش‌ها نقش داشته و در این خصوص پری‌بیوتیک‌ها و پروبیوتیک‌ها نقش بسیار خوبی را ایفاء کرده‌اند. در موافقت با یافته‌های این تحقیق جعفریان و همکاران (Jafaryan et al., 2015) تعیین نمودند که به‌کارگیری باسیلوس‌های پروبیوتیکی در جیره لارو ماهی تریکوپودوس (*Trichopodus trichopterus*) موجب گردید که مقاومت ماهی در مقابله با استرس-های پی‌اچ اسیدی و بازی و همچنین در مقابله با شوک حرارتی و آمونیاک در مقایسه با گروه شاهد در حد معنی‌داری افزایش یابد. همچنین نادری سامانی و همکاران (Naderi Samani et al., 2014) نیز افزایش زمان زنده‌مانی نوزادان کپور معمولی (*C. carpio*) پرورش-یافته در سیستم‌های پرورشی تلقیح شده با باسیلوس‌های پروبیوتیکی را در تست‌های مقابله با استرس‌های اسیدی، قلیایی، آمونیاک و دما گزارش

مطالعه حاضر این بود که میزان آنزیم آلانین آمینوترانسفراز (ALT) نیز در تیمارهای آزمایشی در مقایسه با ماهیان گروه شاهد افزایش یافت درحالی‌که اختلاف معنی‌داری در آنها مشاهده نگردید. عموماً در مطالعات بالینی سطح این آنزیم در پلاسمای خون و یا در عصاره بدن ماهی بسیار حائز اهمیت است. ماهیان در تأثیرپذیری از پری‌بیوتیک‌ها و پروبیوتیک‌های مورد استفاده پاسخ‌های متفاوتی را از خود بروز می‌دهند که بستگی زیادی به نوع میکروارگانیسم‌های مورد استفاده و غلظت به‌کارگیری آنها دارد. در همین خصوص واچی و همکاران (Wache et al., 2006) تعیین نمودند که به‌کارگیری مخمر نانویی ساکارومایسس سرویزیه از سویه (*boulardii*) موجب افزایش در میزان آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و آلکالین فسفاتاز (ALP) گردید. در خصوص کاهش معنی‌دار سطح آنزیم آلانین آمینوترانسفراز (ALP) در جیره‌های غذایی مکمل‌سازی شده توسط پروبیوتیک و پری‌بیوتیک‌های به‌کار گرفته شده در جیره غذایی مورد استفاده توسط نوزادان ماهی امور (*C. idella*)، پالیکووا و همکاران (Palikova et al., 2004) به نتایج مشابهی در خصوص تغذیه ماهیان کپور معمولی دست یافتند. به‌طوری‌که این محققین در گزارش خود اعلام کردند که آنزیم‌های آسپارات آمینوترانسفراز (AST) و آلکالین فسفاتاز (ALP) در ماهیان تغذیه‌شده توسط عصاره سیانوباکترها کاهش یافته است. همچنین در موافقت با یافته‌های تحقیق حاضر حسن‌پور فتاحی و همکاران (Hasanpour Fattahi et al., 2015) نیز کاهش معنی‌داری را در سطوح آنزیم‌های آسپارات آمینوترانسفراز (AST) و آلکالین فسفاتاز (ALP) در تغذیه فیل‌ماهیان (*Huso huso*) نوجوان توسط مخمر *S. cerevisiae* و قارچ *A. niger* به‌عنوان یک پروبیوتیک گزارش دادند. به‌عنوان نتیجه‌گیری کلی در مورد تأثیر محصولات بیولوژیکی مورد استفاده در مطالعه حاضر می‌توان این‌چنین اظهارنظر کرد که اصولاً آنزیم‌های کبدی و سایر متابولیت‌ها در پلاسمای خون و عصاره بدن ماهی امور می‌توانند توسط عوامل مختلف تغذیه‌ای اعم از ترکیبات جیره، مکمل‌های باکتریایی و سایر مکمل‌های غذایی تحت تأثیر قرار گیرند (Gan et al., 2017). هورمون کورتیزول نیز در مطالعه حاضر، به‌جز در تیمار به‌سام ۴۰۰ در بقیه تیمارهای آزمایشی کاهش پیدا کرد. مطابق با گزارش ویندیلا بونگا (Wendelaar Bonga, 1997)، کورتیزول یک وظیفه آداپتاسیون برای جانور در مقابله با عوامل تنش‌زا را دارد و کاهش کورتیزول در تیمارهای مورد مطالعه در این تحقیق نشان‌دهنده تقویت سیستم ایمنی نوزادان ماهی امور در استفاده از محصولات پری‌بیوتیکی و پروبیوتیکی مورد استفاده است. در موافقت با یافته‌های این تحقیق در خصوص کاهش سطح کورتیزول عصاره بدن، نوبهار و همکاران (Nobahar et al., 2015) تعیین نمودند که باسیلوس‌های پروبیوتیکی نظیر باسیلوس ساب‌تلیس و لیسنی فورمیس در تغذیه نوزادان ماهی کپور معمولی (*C. carpio*) توسط پروبیوتیک‌های مورد استفاده باعث کاهش سطح هورمون کورتیزول از ۱۰۱/۰۷ نانوگرم بر میلی‌لیتر به ۷۷/۵۳ نانوگرم بر میلی‌لیتر در تیمار تغذیه شده از جیره  $3 \times 10^6$  CFU/g گردید. نتایج مشابهی توسط کارنیوالی و همکاران (Carnevali et al., 2006) نیز در تغذیه نوزادان

2012. Effects of a prebiotic, Immunogen®, on feed utilization, body composition, immunity and resistance to *Aeromonas hydrophila* infection in the common carp *Cyprinus carpio* (Linnaeus) fingerlings. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 96: 591-599.
- Gabriel U.U., Akinrotimi O.A., Ariweriokuma V.S. 2012. Changes in Metabolic Enzymes Activities in Selected Organs and Tissue of *Clarias Gariepinus* Exposed to Cypermethrin. *Journal of environmental engineering and technology*, 2: 13-19.
- Gan L., Li X.-X., Pan Q., Wu S.L., Feng T., Ye H. 2017. Effects of replacing soybean meal with faba bean meal on growth, feed utilization and antioxidant status of juvenile grass carp, *Ctenopharyngodon idella*. *Aquaculture nutrition*, 23: 192-200.
- Ghosh K., Sen S.K., Ray A.K. 2003. Supplementation of an isolated fish guts bacterium, *Bacillus circulance*, in formulated diets for rohu, *Labeorohita*, fingerling. *The Israeli Journal of Aquaculture Bamidgeh*, 55: 13-21.
- Gupta A., Gupta P., Dhawan A. 2014. Dietary supplementation of probiotics affects growth, immune response and disease resistance of *Cyprinus carpio* fry. *Fish and Shellfish Immunology*, 41: 113-119.
- Hasanpour Fattahi A., Jafaryan H., Khosravi A., Abdollahi Arpanahi D. 2014. The probiotic effects of dietary *Saccharomyces cerevisiae* and *Aspergillus niger* on the growth and some immunity factors of cultured juvenile beluga sturgeon (*Huso huso*). *Journal of Iranian fishery science*, 2: 21-33.
- Hasanpour Fattahi A., Jafaryan H., Khosravi A.R. 2015. The combined effects of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* and *Aspergillus niger* on the haematological and biochemical parameters of cultured juvenile beluga (*Huso huso*). *Journal of Veterinary Research*, 70: 463-473.
- Hevroy E.M., Espe M., Waagbo R., Sandness K., Rund M., Hemre G.I. 2005. Nutrition utilization in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed increased level of fish protein hydrolysate during a period of fast growth. *Aquaculture Nutrition*, 11: 301-313.
- Hoseinifar S.H., Soleimani N., Ringø E. 2014. Effects of dietary fructo-oligosaccharide supplementation on the growth performance, haemato-immunological parameters, gut microbiota and stress resistance of common carp (*Cyprinus carpio*) fry. *British Journal of Nutrition*, 112: 1296-1302.
- Jafaryan H., Makhtomii M., Mahdavi M. 2009. The effect of baker's yeast for better utilize of nutrient compositions of *Daphnia magna* larviculture of Persian sturgeon (*Acipenser persicus*). *Aquaculture Europe*, Trondheim, Norway, pp: 282-283.
- Jafaryan H., Sahandi J., Taati M., Eslamloo Kh. 2015. The use of *Bacillus* probiotics in-feed improved stress resistance of *Trichopodus trichopterus* (Pallas, 1770), larvae. *Journal of Coastal Life Medicine*, 3(10): 757-760.
- Jafaryan H., Soltani M., Noferesti H., Ebrahimi P. 2011. Effect of adding probiotics into the rearing tanks of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) for the exploitation of *Artemia urmiana*, *Artemia franciscana*, نمودند که هم‌سوی با نتایج تحقیق حاضر بود. بررسی‌های انجام‌شده نشان می‌دهد که پری‌بیوتیک و پروبیوتیک‌ها در ماهیان مختلف با تأثیرگذاری‌های متفاوت خود باعث افزایش پارامترهای ایمنی گردیده‌اند که از جمله می‌توان به افزایش پارامترهایی نظیر انفجار تنفسی، ایمونوگلوبولین، فعالیت کمپلمان و فعالیت فاگوسیتوزی در ماهیان اشاره کرد که سبب ارتقاء سیستم ایمنی در آنها گردید که نتایج آن در افزایش نرخ بقاء در طول دوره پرورش و آزمایش‌های مقابله با استرس کاملاً مشهود می‌باشد (Mohapatra et al., 2012). به‌رحال در مجموع نتایج مطالعه حاضر نشان داد که غلظت‌های متفاوتی از پری‌بیوتیک بهسام و پروبیوتیک بهسیل توانست در افزایش عملکرد رشد، افزایش برخی از پارامترهای ایمنی و مقاومت در برابر تنش‌های محیطی نقش‌های متفاوتی داشته باشد.
- پست الکترونیک نویسندگان**
- سمیرا جعفریان: hojat.jafaryan@gmail.com  
 جواد قاسم‌زاده: hojat.jafaryan@gmail.com  
 حجت‌الله جعفریان: hojat.jafaryan@gmail.com
- REFERENCES**
- Akrami R., Chitsaz H., Hezarjaribi A., Ziaei R. 2012. Effect of dietary mannan oligosaccharide (MOS) on growth performance and immune response of Gibel carp juveniles (*Carassius auratus gibelio*). *Journal of Animal Veterinary advances*, 2: 507-513.
- Allameh S.K., Yusoff F.M., Ringø E., Daud H.M., Saad C.R., Ideris A. 2015. Effects of dietary mono-and multiprobiotic strains on growth performance, gut bacteria and body composition of Javanese carp (*Puntius gonionotus*, Bleeker 1850). *Aquaculture Nutrition*, 24 (3): 59-68.
- Carnevali O., Vivo L., Sulpizio R., Gioacchini G., Olivotto I., Silvi S., Cresci A. 2006. Growth improvement by probiotic in European sea bass juveniles (*Dicentrarchus labrax*, L.), with particular attention to IGF-1, myostatin and cortisol gene expression. *Aquaculture*, 258: 430-438.
- Cha S.H., Lee J.S., Song C.B., Lee K.J., Jeon Y.J. 2008. Effects of chitosan-coated diet on improving water quality and innate immunity in the olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture*, 278: 110-118.
- Chitsaz H., Akrami R., Arab Arkadeh M. 2016. Effect of dietary synbiotics on growth, immune response and body composition of Caspian roach (*Rutilus rutilus*). *Iranian Journal Fisheries Sciences*, 15: 170-182.
- De Silva S.S., Gunasekora R.M., Atapattu D. 1989. The dietary protein requirement of young tilapia and an evaluation of least cost dietary protein levels. *Aquaculture*, 80: 271-284.
- Denev S.A. 2008. Ecological Alternatives of Antibiotic Growth Promoters in the Animal Husbandry and Aquaculture, DSc. Thesis, Department of Biochemistry Microbiology, Trakia University, Stara Zagora, Bulgaria. 454p.
- Ebrahimi G.H., Ouraji H., Khalesi M.K., Sudagar M., Barari A., Zarei Dangesaraki M., Jani Khalili K.H.

## نحوه استناد به این مقاله:

جعفریان س.، قاسم‌زاده ج.، جعفریان ح. تأثیر پروبیوتیک و پری‌بیوتیک‌های تجاری مولتی بهسیل و بهسام بر فراسنجه‌های رشد، شاخص‌های بیوشیمیایی بدن و مقاومت در برابر تنش‌های محیطی در نوزادان ماهی‌آمور (*Ctenophryngodon idella*). نشریه پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی دانشگاه گنبدکاووس. ۱۴۰۰. ۶۵-۷۳ (۱): ۹.

Jafaryan S., Ghasemzadeh J., Jafaryan H. Effect of commercial prebiotic and probiotic of Behsam and Behsil on growth and immunity parameters in body extract of grass carp (*Ctenophryngodon idella*) fry and challenge test with stress. Journal of Applied Ichthyological Research, University of Gonbad Kavous. 2021, 9(1): 65-73.

- Nauplii. International Journal of Veterinary Research, 3: 125-128.
- Jha D.K., Bhujel R.C., Anal A.K. 2015. Dietary supplementation of probiotics improves survival and growth of rohu (*Labeo rohita* Ham.) hatchlings and fry in outdoor tanks. Aquaculture, 435: 475-479.
- Mohapatra S., Chakraborty T., Kumar V., DeBoeck G.N. Mohanta K. 2012. Aquaculture and stress management: a review of probiotic intervention. Animal physiology and animal nutrition, 97: 405-430.
- Moran A.C. 2004. Functional components of the cell wall of *Saccharomyces cerevisiae*: applications for yeast glucan and mannan. In: Proceedings of Alltech's 19<sup>th</sup> Annual Symposium. North American Biosciences Center, Alltech Inc.
- Naderi Samani M., Jafarian H., Gholipour Kanani H., Harsij M. 2014. Bioremediation of the effluent of cultivation pond of Common Carp (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758) using probiotic bacillus for reuse rearing system. Journal of Applied Ichthyological Research, 2: 51-62.
- Nobahar Z., Rahmani F., Jafaryan H. 2015. The changes of enzymes and immunity factors in body extract of Common Carp (*Cyprinus carpio*) larvae via supplementation diets with probiotic bacilli. International conference on sustainable development, strategies and challenges with a focus on Agriculture, Natural Resources, Environment and Tourism, 24-26 Feb. Tabriz, Iran. pp:1-8.
- Palikova M., Navratil S., Krejcf R., Sterba F., Tichy F., Kubala L. 2004. Outcomes of repeated exposure of carp (*Cyprinus carpio* L) to Cyanobacteria extract. ACTA Veterinaria Brno, 73: 259-265.
- Pedron T., Sansonetti P. 2008. Commensals, bacterial pathogens and intestinal inflammation: an intriguing ménage à trois. Cell Host and Microbe, 3: 344-347.
- Staykov Y. 2004. The influence of Bio-Mos on growth rate and immune status of common carp (*Cyprinus carpio*). In: Alltech's Second Annual Aquaculture Meeting. Dunboyne, Co. Meath, Oral communication. European Aquaculture Society, 35: 431-432
- Wache Y., Auffray F., Gatesoupe F.J., Zambonino J., Gayet V., Labbe L., Quentel C. 2006. Cross effect of the strain of dietary *Saccharomyces cerevisiae* and rearing condition on the onset of intestinal microbiota and digestive enzymes in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, fry. Aquaculture, 258: 470-478.
- Wendelaar Bonga S.E. 1997. The stress response in fish. Physiological Reviews, 77(3): 591-625.
- Wootton R.J. 1990. Ecology of Teleost Fish. Chapman & Hall, London, UK. 458p.

## Effect of commercial prebiotic and probiotic of Behsam and Behsil on growth and immunity parameters in body extract of grass carp (*Ctenophryngodon idella*) fry and challenge test with stress

Jafaryan S<sup>\*1</sup>, Ghasemzadeh J<sup>2</sup>, Jafaryan H<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Msc. Studen of fisheries, Faculty of Marin science, Chabahar Maritime and Marin University, Chabahar, Iran

<sup>2</sup> Assistant Prof., Dept. of Fishery, Faculty of Marin science, Chabahar Maritime and Marin University, Chabahar, Iran

<sup>3</sup> Associate Prof., Dept. of Fishery, Faculty of Agriculture and Natural resources, Gonbad Kavoods University, Iran

### Type:

Original Research Paper

### Paper History:

Received: 22-04-2017

Accepted: 02-10- 2017

### Corresponding author:

Jafaryan S. Msc. Studen of fisheries, Faculty of Marin science, Chabahar Maritime and Marin University, Chabahar, Iran.

Email: hojat.jafaryan@gmail.com

### Abstract

This experiment was conducted to evaluate the effect of different levels of two commercial prebiotic (Moltibehsam) and probiotic (Moltibehsil) on the growth performance, biochemical parameters of body extract and resistance against the challenge tests with environmental tensions in *Ctenophryngodon idella* for 45 days. This experiment conducted in a completely random design with control group and six experimental treatments which contain triplicates. Three levels (200mg/kg, 400mg/kg and 600mg/kg of diet) of commercial of probiotic of Moltibehsam and prebiotic of Moltibehsil ( $2 \times 10^{10}$  CFU/g,  $4 \times 10^{10}$  CFU/g and  $6 \times 10^{10}$  CFU/g) were supplemented with the basic diet. 1050 fish (mean initial weight of  $625 \pm 1.1$  mg) were introduced into control group and six treatments tanks (21 tanks) with a capacity of 30 liters (50 fish per tank). At the end of the trial, the results some growth performance indices (including weight gain, specific growth rate, Thermal Growth Coefficient, Velocity of growth body weight, daily growth coefficient and Survival rate) in the grass carps fry had significantly difference in experimental treatments in comparison with control group. Also the body extract biochemical parameters of aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT) and Cortisol in some of experimental treatments was showed significant differences in grass carp fed by supplemented diets with prebiotic and probiotic in compared to control group, Whiles there were no significant differences in levels of alkaline phosphatase (ALP), Glucose, total protein and lysozyme activity. Also, the addition of Behsam and Moltibehsil to the diet increased grass carp fry resistance against the challenge tests of environmental stress (thermal stress of 40°C, ammonia of 5 mg/L, pH of 12 and pH of 2 and experimental treatment showed Significant differences in comparison with control group. This study highlighted that the employing of different levels of commercial products of Behsam and Moltibehsil in rearing of grass carp fry had positive effects on promoting of growth performance and resistance to stress challenge tests, while have a different effects on body extract biochemical parameters in this fish.

**Keywords:** probiotic, prebiotic, grass carp fry, Aspartate aminotransferase, stress challenge tests