اثرات تغذیه ای مکمل سل ماناکس بر شاخص های رشد، بافت شناسی روده و مقاومت در برابر یرسینیوزیس در قزل آلای رنگین کمان

امین خدادادی[1]، عادل حقیقی[2*]، حسن ملکی‌نژاد[3و4]، امیر توکمه‌چی[5]، محمد افشارنسب[1]

*GPathologist@gmail.com

۱- گروه بهداشت، بهداشت و بیماری های آبزیان، دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران

۲- گروه پاتولوژی، دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران

۳- گروه فارماکولوژی و سم شناسی، دانشکده داروسازی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

٤- مرکز تحقیقات سلامت مواد غذایی و آشامیدنی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران

٥- گروه باکتری شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

تاریخ دریافت: مهر ۱۳۹٦ تاریخ پذیرش: بهمن ۱۳۹٦

چکیده

هدف از این مطالعه بررسی اثرات تغذیه‌ای غلظت‌های مختلف محصول تجاری سل‌ماناکس (حاوی ترکیبات فعال دیواره‌ای *ساکارومایسیس سرویسه* و مانان الیگوساکارید) بر شاخص‌های رشد، بافت شناسی دستگاه گوارش و همچنین سنجش میزان مقاومت ماهیان قزل آلای رنگین کمان پرورشی در مواجه با بیماری یرسینیوزیس بود. ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان با میانگین وزنی ۱/۴۵±۱۹/۰۸ گرم به مدت ۶۰ روز با جیره حاوی غلظت های مختلف پری بیوتیک (غذا٪۰ ، ۰/۱، ۰/۵و۱) در چهار تیمار و هر تیمار با ۳ تکرار تغذیه شدند. در روز ۶۰ مطالعه به صورت تجربی بیماری یرسینیوزیس به روش تزریق داخل صفاقی برای همه گروه‌های آزمایشی ایجاد گردید. نتایج مطالعه نشان داد افزودن پری‌بیوتیک سل‌ماناکس در جیره ماهی قزل آلای رنگین کمان با غلظت‌های مختلف به طور معنی داری سبب افزایش وزن نهایی، نرخ رشد روزانه، ضریب رشد ویژه، ضریب چاقی، شاخص کارایی غذا، بهبود ضریب تبدیل غذایی و میکروفلور دستگاه گوارش می گردد (P<۰/۰۵). نتایج بافت شناسی نشان دهنده افزایش ضخامت مخاط چین دار، طول پرزها و لایه عضلانی بافت دستگاه گوارش تیمارهای تغذیه شده با پری‌بیوتیک نسبت به گروه شاهد بود (P<۰/۰۵). همچنین تیمارهای تغذیه شده با پری‌بیوتیک در مقایسه با گروه شاهد در زمان مواجه با بیماری یرسینیوزیس به طور معنی داری تلفات کمتری داشتند (P<۰/۰۵).

کلمات کلیدی: فاکتورهای رشد، پری‌بیوتیک، یرسینیوزیس، قزل آلای رنگین کمان، مانان‌الیگوساکارید

*نویسنده مسئول

مقدمه

بدون شک استفاده از ترکیبات طبیعی با دارا بودن خواص دارویی و ضد میکروبی می‌تواند روش ایده‌آلی برای پیشگیری و درمان بیماری‌های عفونی باشد. بر این اساس در دهه‌های گذشته تلاش‌های بسیاری برای معرفی مواد طبیعی جهت مصرف در آبزیان انجام شده که نتایج آنها چشمگیر بوده است (Merrifield and Ringø, 2014). هدف کلی استفاده از این مواد طبیعی در مرحله اول افزایش رشد و تقویت ایمنی آبزیان بوده و در مراحل بعدی درمان و کنترل بیماری‌ها بوده است. یکی از این مواد طبیعی پری بیوتیک ها هستند که به طور مفیدی توانستند انتظارات ما را در این زمینه برآورده سازند. جایگزینی روشهای سنتی پرورش با روش‌های متراکم یا فوق متراکم سبب دور کردن آبزیان از محیط طبیعی زندگی و ایجاد تغییرات ناخواسته نظیر افزایش تراکم، استرس، شیوع بیماری‌ها و غیره می‌گردد. شیوع بیماری-های عفونی نیز به نوبه خود یکی از پیامدهای پرورش متراکم و فوق متراکم بوده که می‌تواند سبب خسارات اقتصادی گردد (Roozbahani *et al*., 2009). استفاده از داروهای شیمیایی جهت کنترل یا درمان سبب مشکلاتی از قبیل مقاومت‌هایی دارویی، مشکلات زیست محیطی، مشکلات بهداشتی و غیره می گردد. در این راستا کشورهای پیشرفته با وضع قوانین بازدارنده استفاده از داروهای شیمیایی به خصوص آنتی بیوتیک‌ها را محدود کرده و مصرف کنندگان آن را با جرایم سنگینی روبرو خواهند کرد (Merrifield *et al*., 2011). بعد از کشور شیلی کشورهای نروژ، فرانسه، ایتالیا، اسپانیا، دانمارک، ایالات متحده آمریکا، آلمان، ایران و انگستان بزرگترین تولید کنندگان ماهی قزل آلا در جهان می باشند (خدادادی و همکاران،۱۳۹۶). بیماری یرسینیوزیس که عامل آن باکتری *یرسینیا روکری* می باشد، یک عفونت سیستمیک می باشد که سبب ضایعات هیستوپاتولوژی در اندام های خونساز مثل کلیه، طحال و خونریزی و نکروز در آبشش ها و قلب می گردد. ایجاد نکروز در سلول‌های دستگاه گوارشی موجب خونریزی بالاخص در بخش‌های انتهایی روده می شوند (حقیقی،۱۳۸۶؛ Roberts, 2001). سل‌ماناکس(Celmanax®) از محصولات تجاری به خط تولید انبوه رسیده شرکت آمریکایی VI-COR می باشد که حاوی ترکیبات فعال دیواره‌ای مخمر *ساکارومیسس سرویسیه* (*Saccharomyces cerevisiae*) و مانان الیگوساکارید (Manan oligosaccharides) می باشد (Kaur and Bansal, 2006) و تاکنون هیچ بررسی در ارتباط با تاثیرات مصرف این محصول تجاری در آبزیان صورت نپذیرفته است. در کشور ما در سالهای اخیر تحقیقاتی اندکی در ارتباط با تاثیرات مصرف پری بیوتیک و سین بیوتیک در آبزیان صورت پذیرفته هست که می توان به تحقیقات طالبی و همکاران (۱۳۸۹) در ارتباط با تاثیر مصرف سطوح مختلف سین بیوتیک Biomin®Imbo بر شاخص های رشد و بقاء و لاشه بچه ماهیان سفید (*Rutilus frisii kutum*) دریای خزر اشاره نمود. اوجی فرد و همکاران (۱۳۸۹) به ارزیابی تاثیر پری بیوتیک اینولین بر پارامترهای همولنف میگوی پا سفید غربی (*Litopenaeus vannamei*) اقدام نمودند. در بررسی دیگری جعفری و همکاران (۱۳۹۲) به ارزیابی تاثیر سطوح مختلف پری بیوتیک فرمکتو بر شاخص های رشد و تغذیه و بازماندگی بچه ماهیان انگشت قد قزل آلای رنگین کمان اقدام نمودند. وشتانی و همکاران (۱۳۹۳) در یک بررسی اقدام به ارزیابی تاثیرات ترکیب پروبیوتیک پروتکسین و پری‌بیوتیک مانان‌الیگوساکارید بر عملکرد رشد و بقاء و ترکیب لاشه میگوی پا سفید غربی (*Litopenaeus vannamei*) اقدام نمودند. ایری و همکاران (۱۳۹۴) اقدام به ارزیابی تاثیر پری بیوتیک فروکتوالیگوساکارید بر رشد و تراکم لاکتو باسیلوس در روده بچه ماهیان ازون برون (*Acipenser stellatus*) نمودند. در سال‌های اخیر براساس گزارشات سازمان دامپزشکی کشور، گسترش یرسینیوزیس در مزارع پرورشی ماهی قزل آلای رنگین کمان سبب بروز مشکلات و ضایعات اقتصادی فراوانی گردیده است (ذریه زهرا و همکاران،۱۳۹۶) لذا با توجه به عدم انجام تحقیق در مورد تاثیر تغذیه ای سل ماناکس بر شاخص های رشد، بافت شناسی روده ها و افزایش مقاومت تجربی ماهی قزل آلای رنگین کمان در برابر یرسینیوزیس به مطالعه تاثیرات

احتمالی پری‌بیوتیک مذکور در ماهی قزل آلای پرورشی پرداخته گردید.

مواد و روش ها

تهیه ماهی و طراحی آزمایش: در این بررسی تعداد ۶۰۰ قطعه ماهی قزل آلای رنگین کمان با میانگین وزنی ۱/۴۵ ± ۱۹/۰۸ گرم پس از اخذ گواهی سلامت از سازمان دامپزشکی از مزارع پرورشی ماهی شهرستان پیرانشهر، استان آذربایجان غربی تهیه و به کمک تانکر مجهز به سیستم اکسیژن به سالن تکثیر و پرورش آبزیان پژوهشکده آرتمیا و جانوران آبزی، دانشگاه ارومیه منتقل گردید. پرورش ماهیان و تغذیه آن‌ها با غلظت‌های مختلف پری بیوتیک در ۱۲ حوضچه۳۰۰ لیتری از جنس فایبر گلاس و با تراکم ۵۰ قطعه ماهی در هر حوضچه به مدت ۶۰ روز صورت گرفت. آب مورد نیاز از طریق یک حلقه چاه نیمه عمیق تأمین شد و پارامترهای فیزیکوشیمیایی آب پرورشی به طور روزانه اندازه گیری و ثبت شد. در این بررسی پری بیوتیک سل‌ماناکس که حاوی ترکیبات فعال دیواره‌ای مخمر *ساکارومیسس سرویسیه* به همراه مانان-الیگوساکارید (MOS) بود تهیه گردید (جدول۱).

جدول ۱: اجزای تشکیل دهنده پری بیوتیک سل-ماناکس(Celmanax®)

Table 1: Components of Celmanax® Prebiotics

مواد تشکیل دهنده	درصد	اسید آمینه	درصد	اسید آمینه	درصد	ماده معدنی	درصد
پروتئین خام	٪ ۳۲/۰۰	آلانین	٪ ۲/۴۰	متیونین	٪ ۰/۵۰	کلسیم	٪۰/۳۶
چربی خام	٪ ۴/۱۵	آرژنین	٪ ۱/۰۰	فنیل آلانین	٪ ۱/۴۰	مس	٪۵/۲۵
رطوبت	٪ ۱۲/۰۰	آسپارتیک اسید	٪ ۳/۲۰	پرولین	٪ ۱/۴۰	آهن	ppm ۱۸۸
فیبر	٪ ۰/۵۰	سیستئین	٪ ۰/۳۰	سرین	٪ ۱/۳۰	منیزیم	٪۰/۲۹
ماده خشک	٪ ۸۸/۰۰	گلوتامیک اسید	٪ ۴/۰۰	ترئونین	٪ ۱/۴۲	منگنز	ppm ۱۸
مجموعه مواد قابل هضم	٪ ۶۰/۰۰	گلیسین	٪ ۱/۲۰	تریپتوفان	٪ ۰/۲۴	فسفر	٪ ۱/۲۶
		هیستیدین	٪ ۰/۶۰	تیروزین	٪ ۱/۱۳	پتاسیم	٪۲/۶۴
		ایزولوسین	٪ ۱/۳۰	والین	٪ ۱/۳۴	سدیم	٪ ۱/۰۰
		لوسین	٪ ۲/۱۰			سلفور	٪۰/۶۰
		لیزین	٪ ۱/۸۰			روی	ppm ۸۲

در ادامه تغذیه ماهیان با استفاده از غذای تجاری پلت (رشد یک $EX\ TG_1$، شرکت ۲۱ بیضاء، شیراز)، بر اساس درصد وزن زنده ماهی و دمای آب صورت گرفت (جدول۲). در این تحقیق ماهیان گروه اول (شاهد) فقط با غذای تجاری بدون افزودن هیچ گونه پری بیوتیک تغذیه گردید و ماهیان گروه‌های دوم تا چهارم به ترتیب با غذای تجاری حاوی پری بیوتیک سل ماناکس با مقدار ۰/۱ ، ۰/۵ و ۱ درصد وزن غذا تغذیه شدند (Tukmechi *et al*., 2011). همچنین لازم به ذکر است که تهیه غذا به صورت روزانه بود. طول دوره آزمایش ۶۰ روز بود و ماهیان گروه شاهد بدون افزودن هیچ گونه پری بیوتیک تغذیه گردیدند.

جدول ۲: آنالیز غذای تجاری (رشد یک شرکت ۲۱ بیضاء) مورد استفاده در این تحقیق

Table 2: Analysis of commercial basal diet (Growth1, 21 Baiza Company) used in this research

جزء	درصد
پروتئین خام	۴۵
چربی خام	۱۴
انرژی قابل هضم	۴۳۰۰
خاکستر	۱۰
فیبر	۲
فسفر	۰/۸
رطوبت	۱۰

نمونه برداری: زیست‌سنجی ماهیان در روزهای صفر، ۱۵ ،۳۰، ۴۵ و ۶۰ مطالعه انجام شد. برای این منظور از هر تکرار۱۰ قطعه ماهی (۳۰ قطعه به ازاء هر تیمار) به صورت تصادفی انتخاب و پس از بیهوشی (پودر گل میخک به غلظت ppm ۲۰۰) فاکتورهای رشد نظیر طول کل (Total length)، نرخ رشد (Growth Rate)، نرخ رشد ویژه (Special Growth Rate)، ضریب تبدیل غذایی (Food Conversion Ratio)، وزن اکتسابی (Weight Gain)، نرخ رشد روزانه (Day Growth Rate)، درصد افزایش وزن (Body Weight Growth)، ضریب چاقی (Condition Factor) و شاخص کارایی غذا (Food Efficiency) محاسبه شدند (Huang *et al*., 2008).

ایجاد آلودگی تجربی با *یرسینیا روکری*: در این تحقیق به منظور تعیین میزان مقاومت ماهیان تغذیه شده با غلظت‌های مختلف پری بیوتیک سل ماناکس در آلودگی تجربی، از باکتری بیماری‌زای *Yersinia ruckeri*

(LMG[1] 3279) استفاده شد. برای ایجاد آلودگی تجربی بعد از ۶۰ روز تغذیه ماهیان با غلظت های مختلف پری بیوتیک از هر گروه تعداد ۳۰ قطعه ماهی به صورت تصادفی انتخاب و در سه تکرار (هر تکرار ۱۰ قطعه ماهی) تقسیم شدند.

مقدار ۰/۱ ml از سوسپانسیون باکتری با تراکم CFU/ml $۱/۱×۱۰^{۷}$ به صورت داخل صفاقی به همه ماهیان تزریق شد. مطالعه دو هفته دیگر ادامه پیدا کرد. در طی این مدت روزانه دو بار از نظر تلفات و علائم بیماری شامل بی حالی، کاهش اشتها، بیرون زدگی چشم، تیرگی پوست، قرمزی دهان و فک مورد بررسی قرار گرفتند (Tukmechi *et al.*, 2011). به منظور تائید تشخیص، آزمایش باکتریایی از کلیه و کبد ماهیان تلف شده به عمل آمد.

بررسی های بافت شناسی: جهت بررسی های بافت شناسی، در روزهای صفر، ۳۰ و ۶۰ از قسمت های مختلف روده نمونه بافتی تهیه گردیده و در محلول فیکساتور فرمالین ۱۰٪ منتقل گردید و مقاطع مختلف بافت شناسی تهیه و رنگ آمیزی های هماتوکسین - ائوزین گردید (Dimitroglou *et al.*, 2010; Kristiansen *et al.*, 2011; Merrifield *et al.*, 2011). پس از تهیه لام های بافتی جهت تجزیه و تحلیل بافتی و افزودن مقیاس و Scale bar از نرم افزار تخصصی Image J (نسخه ۱.۴۶ ساخت کشور آمریکا) استفاده گردید.

تجزیه و تحلیل آماری داده ها: جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها از روش آنالیز واریانس یک‌طرفه[2] (ANOVA؛ نرم افزار SPSS نسخه ۲۱) و آزمون توکی[3] (آزمون اختلاف حقیقی که به طور مخفف HSD نامیده می‌شود) استفاده گردید. قبل از مقایسه میانگین تیمارها نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف بررسی شد. داده‌های به دست آمده به صورت Mean ± SD بیان شدند. در تمام بررسی‌ها سطح معنی-دار آزمون‌ها P<۰/۰۵ در نظر گرفته شد، همچنین ترسیم نمودارها در فضای نرم‌افزار Excel (نسخه۲۰۱۶) انجام گرفت.

نتایج

داده‌های مربوط به شاخص‌های فیزیکوشیمیایی آب که در طول دوره مطالعه ثبت شدند، در جدول ۳ ارائه شده است. نتایج نشان داد که هیچ گونه اختلاف آماری معنی‌داری (P<۰/۰۵) از نظر شاخص‌های فیزیکوشیمیایی آب حوضچه‌های پرورشی ماهیان قزل آلا در طول دوره پرورش و آزمایش وجود نداشت. همچنین مقادیر همه شاخص‌ها در محدوده مناسب برای پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین کمان بود (Kelly, 1998).

نتایج حاصل از محاسبه شاخص‌های رشد ماهیان تیمارهای مختلف در جداول ۴ الی ۶ اشاره شده است. براساس این یافته‌ها ماهیان از نظر وزن و طول کل در شروع مطالعه فاقد اختلاف آماری بودند. به تدریج با بیومتری‌های صورت پذیرفته در روز ۱۵ مطالعه، وزن ماهیان در گروه تغذیه شده با غلظت ۱درصد پری بیوتیک سل ماناکس نسبت به گروه شاهد به صورت معنی داری افزایش یافته بود (P=۰/۰۱۱) همچنین به جز شاخص طول، در بقیه شاخص ها از قبیل نرخ رشد روزانه، ضریب رشد ویژه، ضریب چاقی، ضریب تبدیل غذایی در گروه های تغذیه شده با غلظت های مختلف پری بیوتیک نسبت به گروه شاهد به صورت معنی داری اختلاف آماری وجود داشت (P<۰/۰۵). در روز ۳۰ مطالعه بیشترین افزایش وزن اکتسابی مربوط به تیمار تغذیه شده با غلظت ۱٪ پری بیوتیک سل ماناکس و سپس به ترتیب در تیمار تغذیه شده با غلظت ۰/۵٪ و ۰/۱٪ پری بیوتیک و در نهایت شاهد بود که از لحاظ آماری در تمامی گروه های تغذیه شده با غلظت های مختلف پری بیوتیک نسبت به گروه شاهد تفاوت معنی داری (P<۰/۰۵) وجود داشت.

1. Belgian Co-Ordinated Collections of Microorganisms
2. One-Way Analysis of Variance
3. Tukey's test

جدول ۳: میانگین شاخص‌های فیزیکوشیمیایی آب حوضچه‌های پرورشی در طول مطالعه

Table 2:Mean water physicochemical indicators in breeding pond

شاخص	تیمار			
	شاهد	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳
دما (درجه سانتی گراد)	۱۴/۲±۰/۲[a]	۱۴/۲±۰/۲[a]	۱۴/۲±۰/۲[a]	۱۴/۲±۰/۱[a]
pH	۷/۸±۰/۱[a]	۷/۹±۰/۱[a]	۷/۷±۰/۱[a]	۷/۷±۰/۱[a]
اکسیژن محلول (mg/l)	۱۰/۱±۰/۴[a]	۹/۹±۰/۵[a]	۱۰/۰±۰/۳[a]	۱۰/۱±۰/۴[a]
آمونیوم (mg/l)	۰/۵۶±۰/۲[a]	۰/۶۱±۰/۲[a]	۰/۵۹±۰/۲[a]	۰/۵۹±۰/۱[a]
نیترات (mg/l)	۰/۰۱۲±۰/۰۰۵[a]	۰/۰۱۱±۰/۰۰۴[a]	۰/۰۰۸±۰/۰۰۲[a]	۰/۰۰۹±۰/۰۰۲[a]

مقادیر به صورت Mean±SD بیان شده‌اند. در هر ردیف میانگین های دارای حداقل یک حرف مشابه با هم اختلاف معنی داری ندارند(P>۰/۰۵)

جدول ۴: شاخص‌های رشد ماهیان تغذیه شده با غلظت های مختلف پری بیوتیک سل ماناکس در روز ۱۵ مطالعه.

Table 4: Fish growth indices fed with different concentrations of Celmanax® prebiotic, on day 15 of study

شاخص	شاهد	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳
وزن اولیه (گرم)	۱۹/۰۸±۱/۴۵[a]	۱۹/۰۸±۱/۴۵[a]	۱۹/۰۸±۱/۴۵[a]	۱۹/۰۸±۱/۴۵[a]
وزن نهایی (گرم)	۳۱/۰۴±۲/۶۰ [c]	۳۲/۸۲±۱/۸۵ [b]	۳۳/۰۱±۱/۸۸ [ab]	۳۵/۶۵±۱/۷۹ [a]
وزن اکتسابی (گرم)	۱۱/۹۶±۲/۲۵ [c]	۱۳/۷۴±۱/۶۵ [b]	۱۳/۹۳±۱/۶۶ [b]	۱۶/۵۷±۱/۶۲ [a]
طول نهایی(سانتی متر)	۱۴/۵۵±۱/۱۶ [a]	۱۴/۲۶±۰/۸۹ [a]	۱۴±۰/۶۷ [a]	۱۴/۴۸±۱/۱۹ [a]
نرخ رشد روزانه	۰/۷۹±۰/۰۱ [d]	۰/۹۱±۰/۰۱ [c]	۰/۹۲±۰/۰۲ [b]	۱/۱۰±۰/۰۲ [a]
درصد افزایش وزن (درصد)	۶۲/۶۹±۶/۴۷ [d]	۷۲/۰۲±۱/۹۴ [c]	۷۳/۰۰±۲/۹۱ [b]	۸۶/۸۴±۱/۷۲ [a]
ضریب تبدیل غذایی	۱/۱۲±۰/۱۶ [a]	۰/۹۸±۰/۰۴ [b]	۰/۹۶±۰/۰۶ [c]	۰/۸۸±۰/۱۳ [d]
ضریب رشد ویژه	۳/۴۷±۰/۰۲ [d]	۳/۸۷±۰/۰۱ [c]	۳/۹۱±۰/۰۱ [b]	۴/۴۶±۰/۰۳ [a]
ضریب چاقی	۱±۰/۰۱ [d]	۱/۱۳±۰/۰۱ [c]	۱/۲۰±۰/۰۱ [b]	۱/۱۷±۰/۰۲ [a]
شاخص کارایی غذا	۸۹/۲۸±۵/۵۷ [d]	۱۰۲/۰۴±۴/۰۰ [c]	۱۰۴/۱۶±۶/۱۲ [b]	۱۱۳/۶۳±۱۴/۶۲ [a]

حروف غیر یکسان بالای اعداد در هر مقطع زمانی نشان دهنده وجود اختلاف آماری معنی دار (P<۰/۰۵) می‌باشد (تیمار۱: تغذیه با غلظت ۰/۱ ٪ پری بیوتیک، تیمار ۲: تغذیه با غلظت ۰/۵ ٪ پری بیوتیک و تیمار ۳: تغذیه با غلظت ۱ ٪ پری بیوتیک).

جدول ۵: شاخص‌های رشد ماهیان تغذیه شده با غلظت های مختلف پری بیوتیک سل ماناکس در روز ۳۰ مطالعه

Table 5: Fish growth indices fed with different concentrations of Celmanax® prebiotic, on day 30 of study

شاخص	شاهد	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳
وزن اولیه(گرم)	۱۹/۰۸±۱/۴۵[a]	۱۹/۰۸±۱/۴۵[a]	۱۹/۰۸±۱/۴۵[a]	۱۹/۰۸±۱/۴۵[a]
وزن نهایی(گرم)	۳۵/۳۹±۱/۷۵ [d]	۴۱/۰۶±۰/۹۰ [c]	۴۳/۲۰±۰/۴۴ [b]	۴۶/۹۲±۰/۵۲ [a]
وزن اکتسابی(گرم)	۱۶/۳۱ ± ۱/۶۰[d]	۲۱/۹۸±۱/۱۷ [c]	۲۴/۱۲±۰/۹۴ [b]	۲۷/۸۴±۰/۹۸ [a]
طول نهایی (سانتی متر)	۱۵/۱۵±۰/۳۵[c]	۱۵/۶۵±۰/۱۸ [b]	۱۵/۸۶±۰/۷۱ [b]	۱۶/۶۵±۰/۲۵ [a]
نرخ رشد روزانه	۰/۵۴±۰/۰۲ [d]	۰/۷۳±۰/۱۳ [c]	۰/۸۰±۰/۰۵ [b]	۰/۹۲±۰/۲۲ [a]
درصد افزایش وزن	۸۵/۴۸±۶/۳۳ [d]	۱۱۵/۱۹±۵/۷۲ [c]	۱۲۶/۴۱±۵/۱۴ [b]	۱۴۵/۹۱±۵/۰۳ [a]
ضریب تبدیل غذایی	۱/۸۹±۰/۱۲ [a]	۱/۴۰±۰/۱۷ [b]	۱/۲۸±۰/۰۴ [c]	۱/۱۰±۰/۲۳ [d]
ضریب رشد ویژه	۲/۱۳±۰/۰۱ [d]	۲/۶۴±۰/۰۱ [c]	۲/۸۲±۰/۰۱ [b]	۳/۱۰±۰/۰۲ [a]
ضریب چاقی	۱/۰۱±۰/۰۲ [c]	۱/۰۷±۰/۰۲ [b]	۱/۰۸±۰/۰۱ [a]	۱/۰۱±۰/۰۱ [c]
شاخص کارایی	۵۲/۹۱±۷/۴۵ [d]	۷۱/۴۲±۷/۷۲ [c]	۷۸/۱۲±۲/۳۶ [b]	۹۰/۹۰±۱۵/۷۱ [a]

حروف غیر یکسان بالای اعداد در هر مقطع زمانی نشان دهنده وجود اختلاف آماری معنی دار (P<۰/۰۵) می‌باشد (تیمار۱: تغذیه با غلظت ۰/۱ ٪ پری بیوتیک، تیمار ۲: تغذیه با غلظت ۰/۵ ٪ پری بیوتیک و تیمار ۳: تغذیه با غلظت ۱ ٪ پری بیوتیک).

جدول ۶ : شاخص‌های رشد ماهیان تغذیه شده با غلظت های مختلف پری بیوتیک سل ماناکس به مدت ۶۰ روز

Table 6: Fish growth indices fed with different concentrations of Celmanax® prebiotic, on day 60 of study

شاخص	شاهد	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳
وزن اولیه(گرم)	۱۹/۰۸±۱/۴۵ [a]	۱۹/۰۸±۱/۴۵ [a]	۱۹/۰۸±۱/۴۵ [a]	۱۹/۰۸±۱/۴۵ [a]
وزن نهایی(گرم)	۶۲/۴۰±۲/۳۷ [d]	۷۲/۹۲±۱/۷۷ [c]	۷۶/۵۴±۲/۷۰ [b]	۸۱/۱۵±۱/۷۸ [a]
وزن اکتسابی(گرم)	۴۳/۳۲±۲/۱۰ [d]	۵۳/۸۴±۱/۶۱ [c]	۵۷/۴۶±۲/۰۷ [b]	۶۲/۰۷±۱/۶۱ [a]
طول نهایی (سانتی متر)	۱۷±۰/۵۰ [d]	۱۸/۵±۰/۵۰ [c]	۱۹/۲±۰/۵۰ [b]	۲۰/۱۰±۱/۰۰ [a]
نرخ رشد روزانه	۰/۷۲±۰/۰۲ [d]	۰/۸۹±۰/۰۷ [c]	۰/۹۵±۰/۰۶ [b]	۱/۰۳±۰/۰۲ [a]
درصد افزایش وزن	۲۲۷/۰۴±۵/۴۲ [d]	۲۸۲/۱۸±۵/۵۰ [c]	۳۰۱/۱۰±۴/۸۵ [b]	۳۲۵/۳۱±۶/۱۵ [a]
ضریب تبدیل غذایی	۱/۶۶±۰/۰۷ [a]	۱/۳۴±۰/۰۳ [b]	۱/۲۵±۰/۰۳ [c]	۱/۱۵±۰/۰۱ [d]
ضریب رشد ویژه	۱/۳۸±۰/۰۱ [d]	۱/۷۵±۰/۰۱ [c]	۱/۸۶±۰/۰۱ [b]	۱/۹۹±۰/۰۱ [a]
ضریب چاقی	۱/۲۷±۰/۱۰ [a]	۱/۱۵±۰/۱۰ [b]	۱/۰۸±۰/۱۰ [c]	۰/۹۹±۰/۱۰ [d]
شاخص کارایی	۶۰/۲۴±۲/۴۳ [d]	۷۰/۶۲±۲/۳۷ [c]	۸۰±۱/۸۷ [b]	۸۶/۹۵±۰/۷۴ [a]

حروف غیر یکسان بالای اعداد در هر مقطع زمانی نشان دهنده وجود اختلاف آماری معنی دار (P<۰/۰۵) می‌باشد. (تیمار۱: تغذیه با غلظت ۰/۱ ٪ پری بیوتیک، تیمار ۲: تغذیه با غلظت ۰/۵ ٪ پری بیوتیک و تیمار ۳: تغذیه با غلظت ۱ ٪ پری بیوتیک).

کمترین میزان ضریب تبدیل غذایی در روز ۳۰ آزمایش در ماهیانی تغذیه شده با غلظت ۱٪ سل‌ماناکس و سپس در ماهیان تغذیه شده با غلظت ۰/۵٪ و ۰/۱ ٪ پری بیوتیک بود که نشان دهنده تاثیر غلظت‌های مختلف پری بیوتیک سل ماناکس در فاکتور ضریب تبدیل غذایی بود و از لحاظ آماری تفاوت معنی داری (P<۰/۰۵) بود. شاخص های نظیر کارایی غذا، ضریب چاقی (به جز گروه تغذیه شده با غلظت ۱٪ پری بیوتیک، P =۰/۸۴۵)، ضریب رشد ویژه، نرخ رشد روزانه به صورت معنی داری با گروه شاهد دارای اختلاف آماری بودند (P<۰/۰۵). همچنین در روز ۳۰ مطالعه شاخص طول تنها در گروه تغذیه شده با غلظت ۱٪ پری بیوتیک در مقایسه با گروه شاهد اختلاف آماری معنی داری داشت (P=۰/۰۲۹). در روز ۶۰ مطالعه بیشترین میزان وزن اکتسابی در تیمار تغذیه شده با غلظت ۱٪ پری بیوتیک با ۶۲/۰۷±۱/۶۱ گرم و سپس به ترتیب در تیمار تغذیه شده با غلظت ۰/۵٪ پری بیوتیک (۵۷/۴۶±۲/۰۷ گرم)، تیمار تغذیه شده با غلظت ۰/۱٪ پری بیوتیک (۵۳/۸۴±۱/۶۱ گرم) و گروه شاهد (۴۳/۳۲±۲/۱ گرم) بود که از لحاظ نتایج آماری در تمامی گروه های تغذیه شده با غلظت های مختلف پری بیوتیک نسبت به گروه شاهد تفاوت آماری معنی داری (P<۰/۰۵) وجود داشت. کمترین میزان ضریب تبدیل غذایی در ماهیان تغذیه شده با غلظت ۱٪ پری بیوتیک با ۱/۱۵±۰/۰۱ و سپس در ماهیان تغذیه شده با غلظت ۰/۵٪ پری بیوتیک (۱/۲۸±۰/۰۴)، ماهیان تغذیه شده با غلظت ۰/۱٪ پری بیوتیک (۱/۳۴±۰/۰۳) و گروه شاهد (۱/۶۶±۰/۰۷) بود که از لحاظ نتایج آماری در تمامی گروه های تغذیه شده با غلظت های مختلف پری بیوتیک نسبت به گروه شاهد تفاوت آماری معنی داری وجود داشت (P<۰/۰۵). مقایسه میزان ضریب رشد ویژه در روز ۶۰ مطالعه نشان داد که بیشترین میزان ضریب رشد ویژه مربوط به تیمار تغذیه شده با غلظت ۱٪ پری بیوتیک و سپس تیمارهای تغذیه شده با غلظت ۰/۵٪ و ۰/۱٪ پری بیوتیک و در نهایت شاهد بود که از لحاظ نتایج آماری نسبت به گروه شاهد تفاوت آماری معنی داری وجود داشت (P<۰/۰۵). در شاخص کارایی غذا نیز تیمار تغذیه شده با غلظت ۱٪ پری بیوتیک بیشترین اثر و سپس تیمار تغذیه شده با غلظت ۰/۵٪ و ۰/۱٪ پری بیوتیک در مقایسه با گروه شاهد کارایی بیشتری داشتند و از لحاظ نتایج آماری تفاوت معنی داری وجود داشت (P<۰/۰۵). سایر شاخص ها نظیر طول نهایی و ضریب چاقی در تمامی گروه های تغذیه شده با غلظت های مختلف پری بیوتیک سل ماناکس نسبت به گروه شاهد، تفاوت آماری معنی داری وجود داشت (P<۰/۰۵).

نتایج آزمون مواجه باکتریایی و میزان تلفات ماهیان در برابر باکتری عامل بیماری یرسینیوزیس در طول دو هفته در سه تکرار از هر گروه نشان از تاثیر غلظت‌های مختلف پری‌بیوتیک سل‌ماناکس بر میزان مرگ و میر در مقایسه با گروه شاهد داشت. کمترین میزان مرگ و میر مربوط به تیمار ماهیان تغذیه شده با غلظت ۰/۱٪ پری بیوتیک سل‌ماناکس (۵۶/۶۶±۵/۷۷ ٪) و بعد از آن تیمار ماهیان تغذیه شده با غلظت ۰/۵ ٪ پری بیوتیک (۶۳/۳۳±۵/۷۷ ٪) و در نهایت ماهیان تغذیه شده با غلظت ۱٪ پری بیوتیک (۷۳/۳۳±۵/۷۷ ٪) بود که در تمامی گروه های تغذیه شده با غلظت های مختف پری بیوتیک در مقایسه با گروه شاهد اختلاف آماری معنی داری بود (P<۰/۰۵). همچنین نتایج داده های آماری درصد بازماندگی ماهیان تغذیه شده با غلظت ۰/۱٪ و ۰/۵٪ پری‌بیوتیک سل ماناکس دارای ارتباط آماری معنی داری (به ترتیب برابر با p=۰/۰۰۲ و p=۰/۰۴۶) نسبت به گروه شاهد از لحاظ بقاء بود (نمودار ۱).

نمودار ۱ : منحنی درصد مرگ و میر همگانی ماهیان تیمارهای مختلف پس از مواجه شدن با *Yersinia ruckeri*

Diagram 1: Percentage of mortality rate of fish in different treatments after challenge with *Yersinia ruckeri*

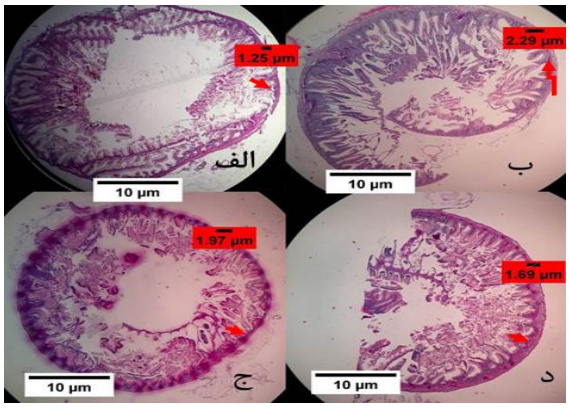
(تیمار ۱: تغذیه با غلظت ۰/۱ ٪ پری بیوتیک، تیمار ۲: تغذیه با غلظت ۰/۵ ٪ پری بیوتیک و تیمار ۳: تغذیه با غلظت ۱٪ پری بیوتیک).

بافت شناسی: در روز سی‌ام مطالعه نتایج بافت شناسی نشان دهنده وجود تغییرات بافتی بهینه در روده‌های ماهیان قزل آلای رنگین کمان تغذیه شده با غلظت های مختلف پری بیوتیک سل‌ماناکس نسبت به گروه شاهد بود. آنالیز بافتی توسط نرم افزار تخصصی Image J و بررسی های آماری در تکرارهای مختلف تیمارهای تغذیه شده با غلظت های ۰/۱٪ ، ۰/۵ ٪ و ۱٪ پری‌بیوتیک نشان از افزایش ضخامت لایه عضلانی، افزایش طول پرزها (ویلی-ها)، بافت همبند لامینا پروپا و افزایش ضخامت مخاط چین دار نسبت به گروه شاهد افزایش آماری معنی داری داشت (P<۰/۰۵) (تصاویر ۱-۳). در روز ۶۰ و روز آخر دوره پرورشی، نتایج نمونه برداری بافتی و آنالیز توسط نرم افزارتخصصی Image J و بررسی های آماری از تیمارهای مختلف نشان دهنده وجود تغییرات بهینه در روده‌های تیمارهای تغذیه شده با غلظت های مختلف پری بیوتیک سل ماناکس نسبت به گروه شاهد بود (P<۰/۰۵). افزایش ضخامت لایه عضلانی در همه تیمارهای تغذیه شده با غلظت های مختلف پری بیوتیک سل ماناکس نسبت به گروه شاهد مشاهده شد(P<۰/۰۵) و همچنین افزایش ضخامت مخاط چین‌دار، افزایش طول پرزها (ویلی‌ها) در تیمارهای تغذیه شده با غلظت های مختلف پری بیوتیک سل ماناکس به صورت معنی داری بیشتر از گروه شاهد بود (P<۰/۰۵) (تصویر ۴). بیشترین ضخامت مخاط چین-دار در روز ۶۰ مطالعه در تیمار تغذیه شده با غلظت ۰/۵٪ پری بیوتیک بود ولی در روز ۳۰ مطالعه بیشترین میزان ضخامت مخاط چین دار مربوط به تیمار تغذیه شده با غلظت ۰/۱٪ پری بیوتیک بود که نشان از تاثیر بهتر غلظت ۰/۵٪ پری بیوتیک در بلند مدت نسبت به غلظت ۰/۱٪ پری بیوتیک می باشد.

بحث

مطالعات نسبتا محدودی در ارتباط با تاثیرات برخی از پری بیوتیک در گونه های مهم آزاد ماهیان از قبیل ماهی آزاد اطلس و ماهی قزل آلای رنگین کمان صورت پذیرفته است. در این بررسی های محدود از پری بیوتیک های اینولین، مانان‌الیگوساکاریدها، گالاکتو الیگوساکاریدها و فروکتوالیگوساکاریدها در غالب محصولات تجاری بر روی گونه های از قبیل ماهی آزاد آتلانتیک، ماهی brook trout (*Salvelinus fontinalis*)، ماهی قزل آلای رنگین کمان و ماهی Arctic charr (*Salvelinus alpinus*) استفاده نمودند (Merrifield *et al*., 2010; Merrifield and Ringø., 2014). در مطالعات Dimitroglou و

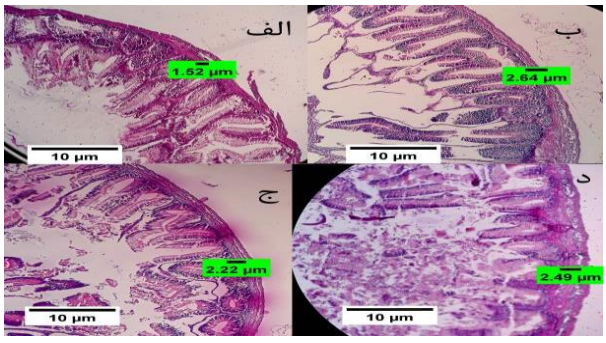
همکاران در سال ۲۰۱۱ تاثیر رژیم غذایی حاوی پری بیوتیک MOS با دز ۴ g/kg^{-1} در اسمولت آزاد ماهیان آتلانتیک با میانگین وزنی ۴۷ گرم مورد آزمایش قرار دادند.



تصویر ۱: مقاطع بافت شناسی از تیمارهای مختلف در روز ۳۰ مطالعه، رنگ آمیزی هماتوکسین- ائوزین

Figure 1: Histological sections of different treatments on day 30 of study, staining of hematoxylin-eosin

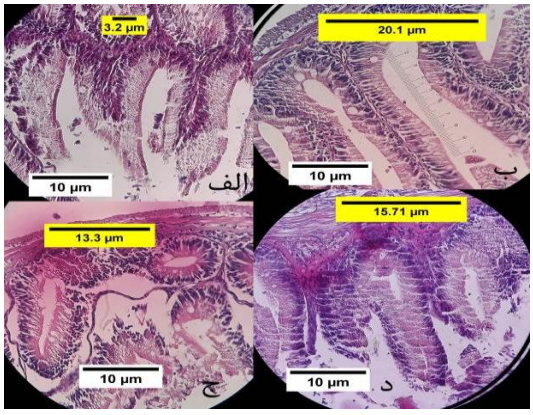
(الف: گروه شاهد تغذیه با غذایی استاندارد، ب: گروه تغذیه شده با غلظت ۰/۱ ٪ پری بیوتیک، ج: گروه تغذیه شده با غلظت ۰/۵٪ پری بیوتیک و د: گروه تغذیه شده با غلظت ۱٪ پری بیوتیک). افزایش ضخامت لایه عضلانی در گروه ب، ج و د نسبت به گروه شاهد (اعداد مستطیل قرمز).



تصویر ۲: مقاطع بافت شناسی از تیمارهای مختلف در روز ۳۰ مطالعه، رنگ آمیزی هماتوکسین- ائوزین

Figure 2: Histological sections of different treatments on day 30 of study, staining of hematoxylin-eosin

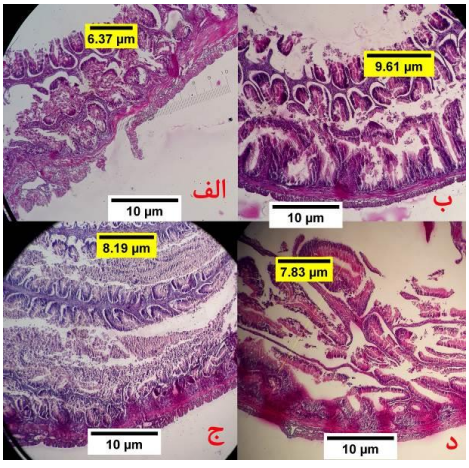
(الف: گروه شاهد تغذیه با غذایی استاندارد، ب: گروه تغذیه شده با غلظت ۰/۱ ٪ پری بیوتیک، ج: گروه تغذیه شده با غلظت ۰/۵٪ پری بیوتیک و د: گروه تغذیه شده با غلظت ۱٪ پری بیوتیک). افزایش ضخامت مخاط چین دار در گروه های ب، ج و د نسبت به گروه شاهد (اعداد مستطیل سبز).



تصویر ۳: مقاطع بافت شناسی از تیمارهای مختلف در روز ۳۰ مطالعه، رنگ آمیزی هماتوکسین- ائوزین

Figure 3: Histological sections of different treatments on day 30 of study, staining of hematoxylin-eosin

(الف: گروه شاهد تغذیه با غذایی استاندارد، ب: گروه تغذیه شده با غلظت ۰/۱ ٪ پری بیوتیک، ج: گروه تغذیه شده با غلظت ۰/۵٪ پری بیوتیک و د: گروه تغذیه شده با غلظت ۱٪ پری بیوتیک). افزایش طول پرزها (ویلی‌ها) در گروه های تغذیه شده با پری بیوتیک (اعداد داخل مستطیل زرد: طول پرزها)، افزایش بافت همبند لامینا پروپا و افزایش ضخامت مخاط چین دار در گروه های تغذیه شده با پری بیوتیک نسبت به شاهد.



تصویر ۴: مقاطع بافت شناسی از گروه های مختلف در روز ۶۰ مطالعه، رنگ آمیزی هماتوکسین- ائوزین

Figure 4: Histological sections of different treatments on day 60 of study, staining of hematoxylin-eosin

(الف: گروه شاهد تغذیه با غذایی استاندارد، ب: گروه تغذیه شده با غلظت ۰/۱ ٪ پری بیوتیک، ج: گروه تغذیه شده با غلظت ۰/۵٪ پری بیوتیک و د: گروه تغذیه شده با غلظت ۱٪ پری بیوتیک). افزایش طول پرزها (ویلی‌ها) در گروه های تغذیه شده با پری بیوتیک نسبت به گروه شاهد در روز ۶۰ مطالعه (اعداد داخل مستطیل زرد: طول پرزها).

نتایج این بررسی از عدم تغییر فاکتورهای رشد در ماهیان مورد آزمایش بود ولی درصد پروتئین بدن به صورت معنی داری افزایش نشان داد. بررسی یافته‌های بافت شناسی و آنالیز آنها نشان دهنده افزایش میزان گلیکوژن کبد در گروه تغذیه شده با پری بیوتیک MOS بود و همچنین در روده ها میزان سطح جذب بخش قدامی افزایش یافته بود. بررسی نتایج بافتی توسط میکروسکوپ الکترونی نگاره نشان دهنده افزایش تراکم میکروویلی ها به صورت قابل توجه در بخش قدامی روده بود. همچنین نتایج مشابه در بخش خلفی روده مشاهده نمودند و طول میکروویلی ها از ۱/۱۰±۰/۱۸ میلی متر در گروه کنترل به ۱/۴۱±۰/۱۹ میلی متر در گروه های تیمار افزایش پیدا نموده بود (Dimitroglou *et al*., 2011) که با نتایج این پژوهش هم خوانی دارد. در ارتباط با تاثیر پری بیوتیک در گونه ماهی *Salvelinus fontinalis* تحقیقاتی توسط Sara و همکاران در سال ۲۰۱۰ میلادی صورت پذیرفت. در این پژوهش پری بیوتیک MOS با دز g/kg^{-1} ۲ به مدت ۳۵ هفته استفاده گردید. در این مطالعه تغیرات آماری معنی داری مشاهده نگردید ولی برخی از پارامترها از قبیل SGR و ضریب تبدیل غذایی و میزان بقاء تغییر یافت. همچنین میزان نوتروفیل ها و بازوفیل ها کاهش ولی درصد گلبول های سفید افزایش یافته بود (Sara *et al*., 2010). اولین مطالعه پری بیوتیک در ماهی قزل آلا مربوط به Staykov و همکاران (۲۰۰۵) بود. در این بررسی Staykov و همکاران اثربخشی پری بیوتیک MOS با دز g/kg^{-1} ۲ در ماهیان قزل آلای پرورش یافته در قفس مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج بررسی حاکی از رشد بهتر به همراه بهبود ضریب تبدیل غذایی بود (Staykov *et al*., 2005). در بررسی دیگر Sealy و همکاران در سال ۲۰۰۷ ماهیان قزل آلای رنگین کمان با دامنه وزنی ۱۴ گرم را با محصول تجاری GroBiotic®-A که حاوی مخلوطی از مواد مغذی و مخمر brewer's بود، با دز g/kg^{-1} ۲۰ مورد ارزیابی قرار دادند و هیچ گونه تغییری را در پارامترهای مختلف رشد مشاهده ننمودند ولی میزان بقاء ماهیان استفاده کننده از محصول مذکور بعد از آزمون مواجه با بیماری ویروسی نکروز عفونی بافت های خونساز (IHN) بیشتر از گروه کنترل بود (Sealy *et al*., 2007). نتایج مذکور همانند نتایج این پژوهش در برخی از پارامترهای رشد مانند بهبود ضریب تبدیل غذایی و افزایش میزان بقاء می باشد. در مقایسه با مطالعه فوق، دو مطالعه دیگر بر روی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان با محدوده وزنی ۱۱ گرم توسط Azari و همکاران (۲۰۱۱a,b) صورت پذیرفت و از ماده تجاری GroBiotic®-A دوباره استفاده گردید. براساس نتایج Azari و همکاران پارامترهای از قبیل SGR، CF و درصد پروتئین لاشه (PER) افزایش معنی داری نسبت به شاهد داشت (Azari *et al*., 2011a). Azari و همکاران (۲۰۱۱b) در مطالعه دیگری پس از آن بیان نمود که استفاده از ماده تجاری GroBiotic®-A با دز های ۱۵، ۲۰،۲۵ و ۳۰ g/kg^{-1} سبب افزایش معنی دار میزان لیپید و پروتئین لاشه می گردد (Azari *et al*., 2011b). بررسی تاثیرات پری بیوتیک اینولین در سیستم ایمنی ماهی قزل آلای رنگین کمان اولین بار توسط Sheikholeslami و همکاران در سال ۲۰۰۷ میلادی ارزیابی گردید . در این بررسی از ماهیان قزل آلای با دامنه وزنی ۳۴ گرم با دز های g/kg^{-1} ۲۰ و ۵ از اینولین ترکیب شده در غذا به مدت ۸ هفته استفاده گردید. در پایان آزمایش پارامترهای ایمنی از قبیل لیزوزیم سرم، ایمونوگلوبین M ، میزان سطح لکوسیت ها و مقاومت در برابر بیماری باکتریایی استرپتوکوکوزیس مورد سنجش قرار گرفت. نتایج این بررسی نشان دهنده افزایش معنی دار آماری در سطح فعالیت لیزوزیم، IgM ، میزان لوکوسیت ها و مقاومت در برابر بیماری استرپتوکوکوزیس در گروه تغذیه شده با پری بیوتیک بود (Sheikholeslami *et al*., 2007). نتایج پژوهش فوق همانند نتایج این بررسی نشان از تاثیر پری بیوتیک ها و مخصوصا فراورده سل ماناکس بر افزایش مقاومت ایمنی و کاهش تلفات در مواجه با بیماری ها بود. در مطالعه دیگری که توسط Akrami و همکاران (۲۰۰۹) صورت پذیرفت میزان پایین SGR را در ماهیان قزل آلای بند انگشتی بعد از ۸ هفته تغذیه با غذای حاوی دزهای مختلف اینولین (۱۰،۲۰،۳۰ g/kg^{-1}) در مقایسه با گروه کنترل مشاهده گردید. در سایر پارامترها از قبیل ضریب

تبدیل غذایی، فاکتورهای تغذیه، پروتئین لاشه و میزان بقا تغیرات معنی داری مشاهده نگردید (Akrami *et al.*, 2009). در بررسی دیگر که توسط Ortiz و همکاران در سال ۲۰۱۲ صورت پذیرفت، اقدام به بررسی نقش مصرف پری بیوتیک fructo oligosaccharides و اینولین (inulin) در پارامترهای رشد، فاکتورهای بیوشیمیایی خون و فلور باکتریایی در دستگاه گوارش ماهیان قزل آلا به مدت ۷ هفته ارزیابی نمودند. استفاده از جیره غذایی حاوی پری بیوتیک های مذکور سبب افزایش وزن و کاهش ضریب تبدیل غذایی به صورت معنی دار گردید و همچنین پری بیوتیک ها بر روی میکروفلور روده تاثیر داشتند ولی هیچ یک از پری بیوتیک ها تاثیر معنی داری بر روی جمعیت باکتری های Aeromonas، Pseudomonas و باکتری های گرم منفی نداشتند. همچنین پری بیوتیک اینولین تاثیری بر گونه های مختلف باکتری های خانواده ویبرو ها نداشت (Ortiz *et al.*, 2012). در این راستا نقش پری بیوتیک حاوی دیواره سلولی *S. cerevisiae* و MOS به عنوان محرک رشد در جیره ماهیان به اثبات رسید. اگرچه در دهه گذشته از مخمرها به عنوان مکمل پروتئینی در جیره ماهیان استفاده شده اما به خاطر وجود مقادیر بالای ترکیبات عاری از نیتروژن (Butolo, 2002) و کمبود اسیدهای آمینه گوگرد دار کاربرد آن با محدودیت همراه می‌باشد. با این وجود نقش پری بیوتیک سل ماناکس در بهبود رشد، سلامت، افزایش پاسخ‌های ایمنی در ماهی به عنوان یک غذای عملکردی بر کسی پوشیده نیست. مخمر *S. cerevisiae* به دلیل غنی بودن از انواع مختلف پروتئین‌ها (De Silva and Anderson., 1995) و محتوای نیتروژنی بالا (Tacon and Jackson, 1985) سبب بهبود عملکرد رشد می‌گردد. Tovar و همکاران (۲۰۰۲) اظهار داشتند که مخمر با بهبود قابلیت هضم پروتئین‌های جیره، بهبود تغذیه از طریق چسبیدن به موکوس روده و تولید پلی آمین‌ها بر عملکرد رشد و کارآیی غذایی سبب افزایش رشد ماهی می‌شود که با نتایج هیستوپاتولوژی این مطالعه هم خوانی داشت. در یک بررسی Li و Gatlin III (۲۰۰۳و ۲۰۰۵) تاثیر استفاده از فراورده تجاری Grobiotic® در جیره غذایی ماهی Striped bass و ماهی تیلاپیا مورد ارزیابی قرار دادند و نتایج این مطالعه نشان داد که غلظت ۱ و ۲ ٪ این محصول سبب افزایش پاسخ سیستم ایمنی و کاهش تلفات در مواجه تجربی با باکتری *Streptococcus iniae* می‌گردد (Li and Gatlin III, 2003). همچنین پژوهشگران مذکور در مطالعه دیگری (۲۰۰۵) از تاثیر مصرف Grobiotic® در کاهش تلفات و افزایش پاسخ سیستم ایمنی در مواجه تجربی با باکتری *Maycobacterium marinum* را گزارش نمودند (Li and Gatlin III, 2005). نتایج مطالعه Kumar و همکاران (۲۰۰۶) نشان از افزایش پاسخ سیستم ایمنی و کاهش مرگ و میر در اثر مصرف پری بیوتیک MOS به همراه *E. faecalis* و PHB به صورت ترکیبی بود و سبب افزایش پاسخ سیستم ایمنی در ماهی قزل آلای رنگین کمان، ماهی فلاندر ژاپنی (Japanese flounder)، کپور معمولی (common carp) و ماهی tiger puffer گردید (Kumar *et al.*, 2006). نتایج مطالعات Peterson و همکاران و Sang و همکاران در سال ۲۰۰۹ نشان دهنده تاثیر پری بیوتیک MOS در مقابل پاتوژن ها، افزایش مقاومت میزبان و افزایش پاسخ سیستم ایمنی میزبان بود و همچنین پری بیوتیک MOS سبب افزایش پرزهای روده گردیده بود که همخوانی کامل با نتایج این پژوهش داشت (Peterson *et al.*, 2009; Sang *et al.*, 2009).

براساس نتایج این پژوهش پری بیوتیک سل ماناکس بر پارامترهای رشد در طول ۳۰ و ۶۰ روز موثر بوده و سبب بهبود برخی پارامترهای رشد از قبیل وزن اکتسابی، نرخ رشد روزانه، درصد افزایش وزن، ضریب رشد ویژه، ضریب تبدیل غذایی، ضریب چاقی و شاخص کارایی غذا گردید. همچنین سل ماناکس سبب تاثیر بهینه در ضخامت مخاط چین دار، طول پرزها و لایه عضلانی بافت دستگاه گوارش و در نهایت رشد و مقاومت بیشتردر برابر بیماری یرسینیوزیس می گردد.

تشکر و قدردانی

تحقیق حاضر با حمایت مالی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران انجام شده است و از معاونت پژوهشی و پژوهش دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی و مدیر گروه بهداشت دانشکده جناب دکتر ودود رضویلر تشکر و قدردانی می گردد. همچنین از همراهی اساتید و مسئولین آزمایشگاه دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه، مرکز تحقیقات آرتمیا دانشگاه ارومیه، سازمان دامپزشکی کشور که در انجام این پروژه همکاری نمودند تشکر و قدردانی می گردد.

منابع

اوجی فرد، ا.، عابدیان کناری، ع.، نفسی بها بادی، م.، قاعدنیا، ب.، محمودی، ن.، ۱۳۸۹. تاثیر نوکلئوید جیره بر شاخص های رشد، بقاء و برخی از پارامترهای همولنف میگوی وانامی. مجله علوم و فنون دریایی ایران. ۷(۱-۲): ۲۱-۳۱.

ایری، ی.، حافظیه، م.، حق پناه، ع.، خوشباور رستمی، ح.، فره وی، ب.، کر، ع.، کر، ن.م. و لکزائی، ف.، ۱۳۹۴. اثر پری بیوتیک الیگوفروکتوز بر عملکرد رشد، بازماندگی و شاخص های خونی بچه ماهیان ازون برون (*Acipenser stellatus*). مجله علمی شیلات ایران، ۲۴ (۱) :۱۰۹-۹۷.

جعفری، ع.ا.، قبادی، ش.، حسینی فرد، م. و سراجی، پ.، ۱۳۹۲. مقایسه تاثیر سطوح مختلف پروبیوتیک پری مالاک و پری بیوتیک فرمکتو بر شاخص های رشد، تغذیه و بازماندگی بچه ماهیان انگشت قد قزل آلای رنگین کمان. مجله علوم تکثیر و آبزی پروری، ۱۰ (۱۲) :۳۳-۲۳.

حقیقی، ع.، ۱۳۸۶. آسیب شناسی ماهی و میگو . انتشارات دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات. چاپ اول . ۴۱۱ صفحه.

خدادادی، ا.، حقیقی، ع.، نکوئی فرد، ع.، ۱۳۹۶. پروبیوتیک و پری بیوتیک در آبزیان (با تاکید بر ماهیان سردآبی) . انتشارات پریور. چاپ اول. ۱۶۹ صفحه.

ذریه زهرا، ج.، کاکولکی، ش.، عادل، م.، امیری کار، م.، بهبودی، ن.، مطلبی، ع.، آزادیخواه، د.، نکوئی فرد، ع.، یاوری، ح.، ۱۳۹۶. مطالعه اپیدمیولوژیک بیماری دهان قرمز روده ای (Disease Enteric Redmouth) در مزارع قزل آلای رنگین کمان پرورشی در استان آذربایجان غربی و تعیین ارتباط عوامل محیطی با بروز بیماری. مجله علمی شیلات ایران، ۲۶ (۱) : ۴۱-۳۱.
DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110328

طالبی حقیقی، د.، فلاحی، م. و عبدالله تبار، ی.، ۱۳۸۹. اثرات سطوح مختلف سین بیوتیک Biomin Imbo بر رشد و بازماندگی بچه ماهیان سفید. مجله شیلات دانشگاه آزاد اسلامی آزاد شهر، ۴ (۳):۱۴-۱.

وشتانی، س.، عابدیان کناری، ع.، اکرمی، ر. و جیران،آ.،۱۳۹۳. اثر جیره های حاوی سین بیوتیک (ترکیب پروبیوتیک پروتکسین و پری بیوتیک مانان الیگوساکارید) بر عملکرد رشد، بقاء و ترکیب لاشه میگوی جوان پاسفید غربی (*Litopenaeus vannamei*). نشریه توسعه آبزی پروری، ۳: ۸۵-۹۴.

Akrami, R., Ghelichi, A. and Manuchehri, H., 2009. Effect of dietary inulin as prebiotic on growth performance and survival of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Journal of Marine Science and Technology Research, 4:1–9.

Azari, A.H., Hashim, R., Habibi Rezaei, M., Sharifzadeh Baei, M., Najafpour, S., Roohi, A. and Darvishi, M., 2011a. The effects of commercial probiotic and prebiotic usage on growth performance, body composition and digestive enzyme activities in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). World Applied Science Journal, 14: 26–35.

Azari, A.H., Hashim, R., Azari-Takami, G., Farabi, S.M.V., Darvish, M. and Safari,

R., 2011b. Effect of (GroBiotic®-A) on the growth performance and intestinal microflora on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum). Journal of Research in Biology, 1: 325–334. DOI:10.1.1.635.766&rep=rep1&type.

Butolo, J.E., 2002. Qualidade de ingredientes na alimentação animal. Campinas: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, 1:430-436.

De Silva, S.S. and Anderson, T.A., 1995. Fish Nutrition in Aquaculture. Chapman and Hall, London, UK. 319 p.

Dimitroglou, A., Merrifield, D.L., Spring, P., Sweetman, J., Moate, R. and 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. DOI: 10.4194/1303-2712-v18_6_08.

Dimitroglou, A., Reynolds, P., Ravnoy, B., Johnsen, F., Sweetman, J.W., Johansen, J. and Davies, S.J., 2011. The effect of mannan oligosaccharide supplementation on Atlantic salmon smolts (*Salmo salar* L.) fed diets with high levels of plant proteins. Journal of Aquaculture Research and Development, S1: 1-11. DOI 10.4172/2155-9556.

Huang, S.S., Fuc, H.L., Higgs, D.A., Balfry, S.K., Schulte, P.M. and Brauner, C.J., 2008. Effect of dietary canola oil level on growth performance, fatty acid composition and ion regulatory development of spring Chinook salmon parr (*Oncorhynchus tshawytscha*). Aquaculture, 274: 109-117.

Kaur, T. and Bansal, M.P.M., 2006. Selenium enrichment and anti-oxidant status in baker's yeast, *Saccharomyces cerevisiae* at different sodium selenite concentrations. Journal of hospital medicine, 21: 704-708.

Kelly, L.A., 1998. Water quality and rainbow trout farming. Fish Veterinary Journal, 21: 31-45.

Kristiansen, M., Merrifield, D.L., Gonzalez Vecino, J.L., Myklebust, R. and Ringø, E., 2011. Evaluation of prebiotic and probiotic effects on the intestinal gut microbiota and histology of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). Journal of Aquaculture Research and Development, S1: 009. DOI 10.4172/2155-9546.S1-009.

Kumar, R.,S.C., Mukherjee, K., Pani Prasad, and A.K.Pal., 2006. Evaluation of *Bacillus substillis* as a probiotic to Indian major carp *Labeo rohita* (Ham.). Aquaculture Research, 37: 1215-1221. DOI: 10.1111/j.1365-2109.2006.01551.x/abstract.

Li, P., and D.M., Gatlin III., 2003. Dietary brewer yeast and the prebiotic Grobiotic® AE bass (*Morone Chrisops* × *M. saxatilis*) to *streptococcus iniae* infection. Aquaculture, 231:445-446. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2003.08.021

Li, P., and D.M., Gatlin III., 2005. Evaluation of the prebiotic GroBiotic-A and brewers yeast as dietary supplements for sub-adult hybrid striped bass (*Morone*

Aquaculture Society, 40:310-315. DOI: 10.4236/ojas.2012.22009

Roberts, R.J., 2001. Fish Pathology, 3rd edn, W. B. Saunders, London, England. pp.133-150.

Roozbahani, M.R., Bandehpour, M., Haghighi-Khiabanian-Asl, A., Abdollahi, H., and Kazemi, B., 2009. PCR-based detection of *Yersinia ruckeri* infection in rainbow trout fish**.** Asian Journal of Animal and Veterinary Advances, 4 (5): 258-262. DOI: 10.3923/ajava.2009.258.262

Sang, H.M., L.T. Ky, and R. Fotedar., 2009. Dietary supplementation of mannan oligosaccharide improves the immune responses and survival of marron, *Cherax tenuimanus* (Smith, 1912) when challenged with different stressors. Fish Shellfish Immunol, 2: 341- 348. DOI:10.1016/j.fsi.2009.06.003

Sara, A., Barbu, A., Alina, A. and Bentea, M., 2010. The effects of some additives on the bioproductive indices and meat quality of brook trout (*Salvelinus fontinalis* M.). Animal Science and Biotechnologies, 43:94–99.

Sealy, W.M., Barrows, F.T., Johansen, K.A., Overturf, K., LaPatra, S.E. and Hardy, R.W., 2007. Evaluation of the ability of partially autolysed yeast and Grobiotic-A to improve disease resistance in rainbow trout. North American Journal of Aquaculture, 69:400–406. DOI: abs/10.1577/A06-080.1

Sheikholeslami, M., Yusefian, M., Yavari, V., Mohamadian, T., Abhari, H. and

chrysops × *M. saxatilis*) challenged in situ with *Mycobacterium marinum*. Aquaculture, 248:197-205. DOI:10.1016/ j.aquaculture.2005.03.005

Merrifield, D.L., Dimitroglou, A., Foey, A., Davies, S.J., Baker, R.T.M., Bøgwald, J., Castex, M. and Ringø, E., 2010. The current status and future focus of probiotic and prebiotic applications for salmonids. Aquaculture, 302:1–18. DOI: 10.1016/S0740-0020(03)00009-1.

Merrifield, D.L., Harper, G., Mustafa, S., Carnevali, O., Picchietti, S. and Davies, S.J., 2011. Effect of dietary alginic acid on juvenile tilapia (*Oreochromis niloticus*) intestinal microbial balance, intestinal histology and growth performance. Cell and Tissue Research, 344:135–146. DOI: 10.1007/s00441-010-1125-y

Merrifield, D.L., and Ringø, E., 2014. Aquaculture nutrition: gut health, probiotics, and prebiotics. Wiley Blackwell, London, UK. 500p.

Ortiz, L.T., Rebolé, A., Velasco, S., Rodríguez, M.L., Treviño, J., Tejedor, J.L. and Alzueta, C., 2012. Effects of inulin and fructooligosaccharides on growth performance, body chemical composition and intestinal microbiota of farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture Nutrition, 4: 475–482. DOI: 10.1111/j.1365-2095.2012.00981.x

Peterson, B., N. Booth, T. Bramble and B. Manning., 2009. Improved survival in channel catfish fed mannanoligosaccharides in an extruded diet. Journal of the World

Goran, H., 2007. Modulation of rainbow trout immune system and enhance resistance against streptococcosis using dietary inulin. Paper presented at the First National Conference on Caspian Sea Fisheries Resources, University of Gorgan, Iran, p. 12. May 2007.

Staykov, Y., Spring, P. and Denev, S., 2005. Influence of dietary Bio-Mos® on growth, survival and immune status of rainbow trout (*Salmo gairdneri irideus* G.) and common carp (*Cyprinus carpio*). In: Nutritional Biotechnology in the Feed and Food Industries, 1st edn, Nottingham University, Nottingham, UK. pp333–343.

Tacon A.G.J., and Jackson, A.J., 1985. Utilization of conventional and unconventional protein sources in practical fish feeds. In: Cowey, C.B., Mackie, A.M., Bell, J.G. (Eds.), Nutrition and Feeding in Fish, 1st edn, Academic Press, London, UK. pp119-145.

Tovar D., Zambonino-Infante, J.L., Cahu, C., Gatesoupe, F.J., Vázquez-Juárez, R. and Lésel, R., 2002. Effect of live yeast incorporation in compound diet on digestive enzyme activity in sea bass larvae. Aquaculture, 204: 113-123. DOI: 10.1016/S0044-8486(01)00650-0.

Tukmechi, A., Rahmati-Andani, H.R., Manaffar, R. and Sheikhzadeh, N., 2011. Dietary administration of beta-mercapto-ethanol treated *Saccharomyces cerevisiae* enhanced the growth, innate immune response and disease resistance of the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Fish Shellfish Immunology, 30: 923-928. DOI: 10.1016/j.fsi.2011.01.016.

Dietary effect of celmanax® on growth factor, intestine histology and yersiniosis resistance in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss)*

Khodadadi A.[1]; Haghighi A.[2*]; Malekinejad H. [3,4]; Tukmechi A.[5]; Afsharnasab M.[1]

[*]GPathologist@gmail.com

1.Department of Health, Aquatic Animal Health and Disease, Faculty of Specialized Veterinary Science, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, IRAN
2. Department of Pathology, Faculty of Specialized Veterinary Science, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
3. Department of pharmacology and toxicology, Faculty of Pharmacy, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran
4. Food and beverages safety Research center, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran
5. Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran

Abstract

This study aims to analyse the effect of complementing the rations of breeding rainbow trout with different concentrations levels of celmanax® prebiotic, which contains *Saccharomyces cerevisia* associated compounds with Mannan–oligosaccharide on the growth indexes and histologic effects of the prebiotic and the gastrointestinal tract and also measuring of the resistance of breeding fishes fed with this prebiotic in infection to the yersiniosis. Three concentration levels of prebiotic (0, 0.1, 0.5 and 1 %) were mixed into pellets. The fish (19.08±1.45gr) were fed a supplemented commercial diet for 60 days in four treatments and each treatment with three replications. Also, on day 60 of study, the *Yersinia ruckeri* bacterium was injected empirically into all of our groups. This study's results showed that complementing rainbow trout rations with different concentrations level of celmanax® ($P<0.05$) increased the final weight, daily growth rate, specific growth factors, Food efficiency index and feed conversion so significantly. Histopathologic results also showed significantly changes namely, increase in the thickness of the mucous membranes, length of the villi and the muscle layer in the gastrointestinal tract of the fish which were fed with prebiotic in comparison with the control group ($P<0.05$). The results also showed that those fish that where fed with prebiotic had significantly lower death rates compared to the control group ($p<0.05$). According to these findings, it can be concluded that different concentrations level of celmanax® prebiotics could be used in order to increase the growth, histological changes in the gastrointestinal tract and rainbow trout resistance.

Keywords: Growth Factor, Prebiotics, Yersiniosis, Rainbow Trout, Mannan-oligosaccharide

[*]Corresponding author