بهره‌برداری و پرورش آبزیان
جلد هشتم، شماره اول، بهار ۱۳۹۸
http://japu.gau.ac.ir
DOI: 10.22069/japu.2019.13917.1406

تأثیر سطوح مختلف پربیوتیک رافینوز بر عملکرد رشد و شاخص‌های ایمنی موکوس در بچه ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

***محدثه کریمی[۱]، حامد پاک‌نژاد[۲]، سید حسین حسینی‌فر[۲] و علی شعبانی[۲]**

[۱]دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد گروه تکثیر و پرورش، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان،
[۲]دانشیار گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۶/۱۲؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۷/۱۲

چکیده

در این تحقیق تأثیر مکمل غذایی پربیوتیک رافینوز بر عملکرد رشد و شاخص‌های ایمنی موکوس در بچه‌ماهی کپور (*Cyprinus carpio*) بررسی شد. بچه ماهیان کپور (میانگین وزنی ۰/۰۹ ± ۶/۲۵ گرم) با جیره‌های غذایی حاوی سطوح مختلف پربیوتیک رافینوز شامل صفر (شاهد)، ۱، ۲ و ٤ گرم در کیلوگرم به‌مدت ۸ هفته تغذیه شدند. هر تیمار در ۳ تکرار انجام شد. در پایان دوره آزمایش نمونه‌برداری موکوس و سنجش پارامترهای رشد انجام گرفت. نتایج تحقیق نشان داد که میزان ایمونوگلوبولین کل موکوس در ماهیان تیمار شده با رافینوز نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌داری داشت ($p<0/05$) و بیشترین مقدار در تیمار ٤ گرم ثبت شد. فعالیت لیزوزیمی در تیمارهای پربیوتیک در مقایسه با گروه شاهد افزایش یافت، با این‌حال تفاوت معنی‌داری وجود نداشت ($p>0/05$). علاوه‌براین، نتایج بررسی حاضر نشان داد اضافه کردن سطوح مختلف پربیوتیک رافینوز به جیره غذایی هیچ اثر معناداری روی پارامترهای رشد (وزن نهایی، درصد افزایش وزن، ضریب رشد ویژه)، ضریب تبدیل غذایی و درصد بازماندگی در گروه‌های تیمار شده در مقایسه با گروه شاهد بچه ماهیان کپور معمولی نداشت ($p>0/05$). هر چند اضافه کردن این پربیوتیک به جیره با سطوح مورد مطالعه منجر به تفاوت معنی‌داری در پارامترهای رشد نگردید اما با توجه به نتایج حاصله، استفاده از پربیوتیک رافینوز به‌ویژه در سطح ۳ تا ٤ درصد به‌منظور افزایش برخی از شاخص‌های ایمنی موکوس در جیره‌غذایی کپورماهیان پرورشی توصیه می‌شود.

واژه‌های کلیدی: پربیوتیک، موکوس، فعالیت لیزوزیمی، ایمونوگلوبولین کل، کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

مقدمه

آبزی‌پروری در کنار رشد قابل توجه، همواره با مشکلاتی نیز روبه‌رو بوده است. شیوع بیماری‌ها به‌عنوان مشکل عمده آبزی‌پروری، گسترش اقتصادی این بخش را در بسیاری از کشورهای جهان تحت تأثیر قرار داده است. با این‌حال، همواره راه حل‌هایی نیز برای برطرف کردن این مشکلات ارائه شده است، استفاده از داروهای آنتی‌بیوتیک مطرح شد که این داروها مشکلات عدیده‌ای از جمله مقاوم شدن عوامل

*مسئول مکاتبه: karimimohadese93@yahoo.com

بیماری‌زا و مسائل زیست محیطی را به‌وجود آورده‌اند. علاوه‌بر آن آنتی‌بیوتیک‌ها موجب انتقال مقاومت دارویی به انسان می‌شوند که از این نظر منع قانونی و محدودیت مصرف برای این مواد وجود دارد (الی و همکاران، ۲۰۰۸). تحریک پاسخ‌های ایمنی و بهبود کارآیی رشد به‌وسیله مکمل‌های غذایی مانند ویتامین‌ها، مواد معدنی، مینرال‌ها (Mineral)، پره بیوتیک و پروبیوتیک‌ها از اهمیت بالایی در آبزی‌پروری تجاری برخوردار است (کیرون و همکاران، ۲۰۱۲؛ حسینی‌فر و همکاران، ۲۰۱٤؛ رینگو و همکاران، ۲۰۱٤)؛ به‌گونه‌ای که به‌عنوان جایگزینی برای روش‌های درمانی گذشته و به‌منظور گسترش یک صنعت دوست‌دار محیط مطرح شدند (لازادو و کایپنگ، ۲۰۱٤).

پربیوتیک‌ها ترکیب غذایی غیرقابل هضمی هستند که از طریق تحریک انتخابی، رشد و فعال کردن یک یا تعداد محددی از باکتری‌های موجود در روده اثرات سودمندی بر میزبان داشته و می‌تواند سلامتی میزبان را بهبود بخشد (گیبسون و روبرفروید، ۱۹۹۵). تحقیقات نشان داده است که الیگوساکاریدهای غیر قابل هضم، از جمله مهم‌ترین مواد دارای عملکرد پربیوتیکی هستند (فریک، ۲۰۰۷؛ گاتلین، ۲۰۰۲). در میان الیگوساکاریدهای غیرقابل هضم، رافینوز پربیوتیک شناخته شده‌ای است که اثرات آن در آبزی پروری کمتر مورد بررسی بوده است.

سیستم ایمنی در ماهیان همانند سایر مهره‌داران شامل سیستم ایمنی ذاتی و اکتسابی است. در جانوران آبزی سیستم ایمنی ذاتی نقش مهمی در حفاظت در مقابل پاتوژن‌ها دارد (ویت، ۲۰۰۷). موکوس به‌عنوان جزئی از مکانیسم ایمنی ذاتی پیوسته در حال جایگزین شدن است، همچنین منبع مهمی از اجزای دخیل در سیستم ایمنی غیراختصاصی از جمله: لیزوزیم، ایمونوگلوبولین‌ها، پروتئین‌های کمپلمان، لکتین، آنزیم‌های پروتئولیتیک، C و دیگر پروتئین‌ها و لیپیدهای آنتی‌باکتریال است (سابرامانیان و همکاران، ۲۰۰۷). ترشحات ایمینوگلاندین‌ها توسط سلول‌های پلاسماپلاست‌ها و پلاسما تولید می‌شود و نقش کلیدی را در نگهداری هموستازی موکوس ایفا می‌کند. مشاهده گردیده است که موکوس به‌دست آمده از جانوران دارای ایمونوگلوبین‌ها می‌باشد (ال- بانا و همکاران، ۲۰۱۰). پیشنهاد شده است ایمونوگلوبولین‌های موجود در سیستم‌های ایمنی پستانداران، ممکن است با ایمنی موکوسی در ماهیان وابسته باشد. در حال حاضر شاید بیشترین آنزیم مطالعه شده در موکوس ماهیان آنزیم لیزوزیم باشد. لیزوزیم (ان- استیل مورامیک گلوکوهیدرولاز یا مورامیداز) یک آنزیم باکتریایی است که در بیشتر ارگانیسم‌ها که شامل ماهیان نیز می‌شود شناسایی شده است. لیزوزیم در موکوس، بافت لنفوئید و سرم بیشتر گونه‌ها وجود دارد. آنزیم لیزوزیم در موکوس پوست ماهیان و دیگر بافت‌ها در مکانیسم دفاعی میزبان علیه عفونت‌های باکتریایی شرکت دارد. ماهی کپور به‌دلیل ویژگی‌های منحصر به فرد پرورشی در اکثر نقاط جهان کشت داده می‌شود و در ایران به‌عنوان یکی از گونه‌های مهم پرورشی شناخته شده است. جی‌هنگ‌یان و همکاران (۲۰۱۰) با به‌کارگیری سطوح مختلف رافینوز در جیره غذایی سی باس ژاپنی (*Lateolabrax japonicus*) نشان دادند که این پربیوتیک به‌طور معنی‌داری سبب افزایش مقاومت و بقای این ماهی در برابر آئرومونـاس‌هیدروفیلا می‌شود. با توجه به اثرات مبثت پربیوتیک رافینوز و خلاء تحقیقاتی در خصوص اثرات آن بر ماهی کپور، این مطالعه با هدف بررسی اثرات رافینوز بر شاخص‌های رشد، شاخص‌های ایمنی موکوس در ماهی کپور می‌باشد.

مواد و روش

محل انجام آزمایش: این تحقیق در سالن آبزی پروری دانشکده شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام گرفت. تعداد ۲٤۰ قطعه بچه ماهی کپور معمولی (میانگین وزنی در حدود ۰/۰۹ ± ٦/۲۵ گرم) از مرکز تکثیر و پرورش بخش خصوصی تهیّه و به‌مدت دو هفته با شرایط آزمایشگاه سازگار گردید.

آماده سازی جیره غذایی: برای تهیه جیره‌ها ابتدا مواد اولیه خشک به‌همراه سطوح مختلف پربوتیک‌ها توزین شده و به‌مدت ۳۰ دقیقه مخلوط گردیدند. پس از مخلوط شدن مواد اولیه مایع اضافه شده و مخلوط کردن به‌مدت ۱۵ دقیقه انجام شد. سپس خمیر حاصله به وسیله یک چرخ گوشت با قطر ۳ میلی‌متر به رشته‌های بلند تبدیل شده و پس از خشک شدن در اندازه مناسب (قطر ۳ میلی‌متر) به‌صورت پلت تهیه گردید. پس از آن جیره‌ها در بسته‌بندی‌های مناسب تا زمان مصرف در یخچال (٤ درجه سانتی‌گراد) نگهداری شد. در طول دوره آزمایش بچه کپور ماهیان حداکثر تا ۳ درصد وزن بدن و روزانه ٤ بار با جیره‌های آزمایشی تغذیه شدند. (سوداگر و حسینی‌فر، ۲۰۰۵)

تیمار بندی ماهی‌ها: ماهی‌ها به‌صورت کاملاً تصادفی در ۱۲ تانک فایبرگلاس (۲۰ قطعه در هر تیمار) تقسیم شدند. ماهیان با سطوح مختلف پربیوتیک رافینوز شامل صفر (شاهد)، ۲،۱ و ٤ گرم رافینوز در کیلوگرم به‌مدت ۸ هفته تغذیه شدند. میزان غذادهی با توجه به اشتهای ماهیان هر تیمار (میزان روزانه ۳ درصد وزن زنده ماهی‌ها) صورت گرفت. سپس کلیه بچه ماهی‌ها زیست‌سنجی شده و با میانگین وزنی ۰/۰۹ ± ٦/۲۵ گرم با تراکم ۱٤ عدد در هر مخزن فایبرگلاس ذخیره‌سازی شدند.

نمونه‌برداری: وزن ماهی‌ها درهر تکرار در ابتدای تحقیق اندازه‌گیری شد. بعد از تغذیه تیمارها با خوراک‌های مشخص شده به‌مدت یک ماه، تعداد تلفات ماهی در طول تحقیق و وزن نهایی ماهی‌ها نیز ثبت گردید. میزان خوراک مصرفی هر تیمار نیز بر اساس بیوماس و میزان اشتهای ماهی تنظیم شد و (حداکثر روزانه ۳ درصد) ثبت گردید. بعد از مشخص شدن وزن نهایی، و میزان خوراک مصرف شده، فاکتورهای زیر در هر تیمار محاسبه شد:

رابطه ۱- هیوروی و همکاران ۲۰۰۵

$$\text{ضریب رشد ویژه} = \frac{\text{لگاریتم وزن اولیه- لگاریتم وزن نهایی}}{\text{طول مدت آزمایش (روز)}}$$

رابطه ۲- تاکون ۱۹۹۰

اضافه وزن = وزن اولیه (گرم)- وزن نهایی (گرم)

رابطه ۳- هیوروی و همکاران ۲۰۰۵

$$\text{ضریب تبدیل غذایی} = \frac{\text{میزان غذای مصرف شده (گرم)}}{\text{میزان افزایش وزن (گرم)}}$$

جمع‌آوری موکوس بر اساس روش راس و همکاران (۲۰۰۰) انجام شد. از هر تانک ۳ عدد ماهی به‌صورت تصادفی نمونه‌برداری و پس از بیهوشی با پودر گل میخک (۵ میلی‌گرم در لیتر)، به‌صورت جداگانه درون کیسه‌های پلی اتیلنی (زیپ پلاست) حاوی ۱ تا ۲ میلی‌لیتر سدیم کلرید ۵۰ میلی‌مولار قرارگرفت و بعد از ۲ دقیقه ماهی‌ها از کیسه‌ها خارج گردید. موکوس جمع‌آوری شده به‌مدت ۱۰ دقیقه در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ و سوپرناتانت به میکروتیوپ ۱/۵ سی‌سی منتقل گردید.

سنجش فعالیت آنزیم لیزوزیم: سنجش آنزیم لیزوزیم به روش کدورت سنجی و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر انجام شد (سابرامانیان و همکاران، ۲۰۰۸). برای سنجش این آنزیم از باکتری میکروکوکوس لوتئوس به‌عنوان سوبسترا استفاده شد.

اندازه‌گیری ایمونوگلوبولین کل: جهت اندازه‌گیری توتال ایمونوگلوبولین از روش سیویکی و آندرسون (۱۹۹۳) استفاده شد. میزان پروتئین سرم تعیین شد و سپس به نمونه موکوس پلی اتیلن گلایکول ۱۲ درصد اضافه شد. پس از ۲ ساعت در دمای اتاق، نمونه‌ها سانتریفیوژ شد و غلظت پروتئین در قسمت بالایی محلول مجدداً توسط روش لوری اندازه‌گیری شد. میزان ایمونوگلوبولین کل از تفریق غلظت پروتئین در نمونه اولیه و غلظت پروتئین پس از افزودن پلی اتیلن گلایکول محاسبه شد.

آنالیزهای آماری: هر تانک به‌عنوان یک واحد آزمایشی در نظر گرفته شد و داده‌های آماری به‌صورت میانگین± خطای استاندارد گزارش شد .جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها از آنالیز واریانس یک‌طرفه (Anova one way) و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال (P<۰/۰۵) انجام‌گرفت. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS17 و رسم نمودارها با استفاده از Excel 2010 انجام شد.

نتایج

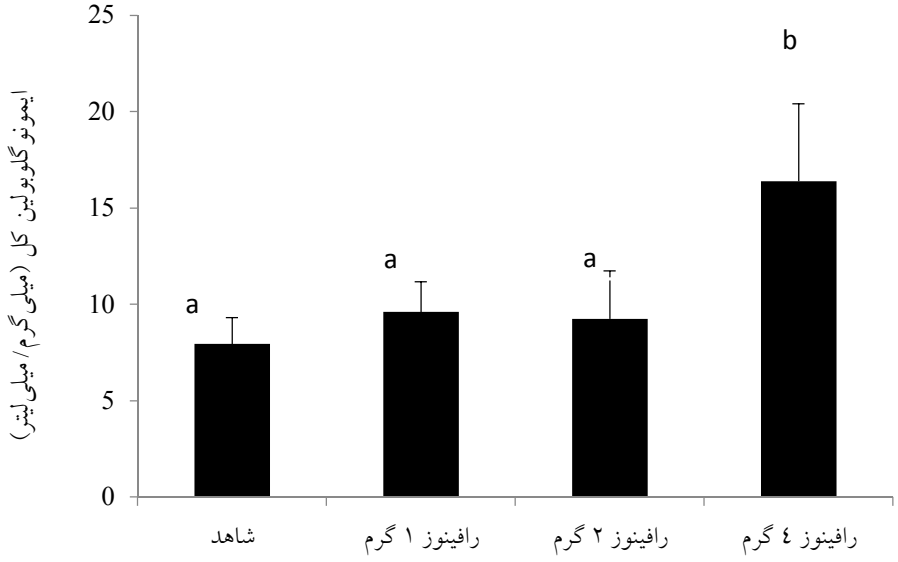
پارامترهای رشد بچه ماهیان کپور تغذیه شده با سطوح مختلف رافینوز در پایان هفته هشتم در جدول ۱ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که رژیم غذایی با سطوح مختلف رافینوز اثر معنی‌داری بر وزن نهایی، درصد افزایش وزن، ضریب رشد ویژه، ضریب تبدیل غذایی و درصد بازماندگی ندارد.

جدول ۱: مقایسه شاخص‌های رشد (میانگین ± انحراف معیار) بچه کپور ماهیان *(Cyprinus carpio)* در تیمارها با سطوح مختلف پریبیوتیک رافینوز در پایان هفته هشتم.

شاخص‌های رشد	۰(گرم)	۱(گرم)	۲(گرم)	٤(گرم)
وزن اولیه (گرم)	٦/۰±۲۷/۰۳ a	٦/۰±۲۵/۱٤ a	٦/۰±۳۳/۰۷ a	٦/۰±۲۳/۰۹ a
وزن نهایی (گرم)	۱۲ /۰±٦۹/٥٤ a	۱۲/۰±٦۹/۳۳ a	۱۲/۰±۰٦/۷۹ a	۱۱/۰±۷۲/٤۰ a
طول کل اولیه (سانتی‌متر)	۸/۰±۰۳/۰٥ a	۷/۰±۹۸/۰۱ a	۸±۰/۳ a	۷/۰±۹۸/۰۸ a
طول کل نهایی (سانتی‌متر)	۹/۳٥ ۰±/۰۷ a	۹/۸۲ ± ۰/۹۳ a	۹ ± ۰/٥۲ a	۹/۱۳ ± ۰/۰۹ a
درصد افزایش وزن بدن	۱۰۲/±٥۲ ۹ /٦٦ a	۱۰۲/±۸۷ ۱/۳٦ a	۹۰/۰±٥٤/۰۷ a	۸۸ /۲۱±۷/۳٦ a
اضافه وزن	٦/٤۲±۰/٥۷ a	٦/٤۳±۰/۱۹ a	٥/۷۳±۰/۷۳ a	٥/٤۹ ±۰/٤۱ a
ضریب رشد ویژه	۱/۱۷ ± ۰/۰۷ a	۱/۱۷ ± ۰/۰۱ a	۱/۰۷ ±۰/۰۸ a	۱/۰٥ ±۰/۰٦ a
ضریب تبدیل غذایی	۲/۸۳ ±۰/۲۳ a	۲/۷٤ ±۰/۲٥ a	۳/۰±۱۰/٤٤ a	۳/۰۲ ±۰/۲۷ a
درصد بقا	۱۰۰ a	۱۰۰ a	۱۰۰ a	۱۰۰ a

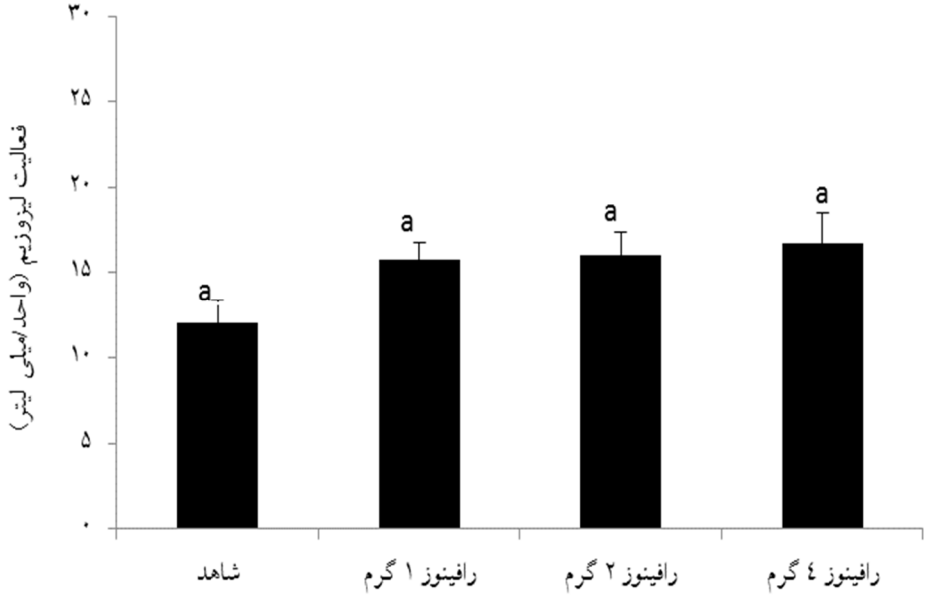
حروف نامشابه در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌داری درسطح ۰/۰٥ است.

ایمونوگلوبولین کل: مقادیر ایمنوگلوبولین کل موکوس در تمامی تیمارهای حاوی رافینوز نسبت به گروه شاهد افزایش یافت. بالاترین مقدار ایمونوگلوبولین در تیمارحاوی ٤ گرم رافینوز مشاهده شد و اختلاف معنی‌داری نسبت به سایر تیمارها داشت (p<۰/۰٥).



شکل ۱. ایمونوگلوبولین کل موکوس (میانگین ± خطای استاندارد) در ماهیان تغذیه شده با سطوح مختلف رافینوز.

فعالیت لیزوزیمی: میزان فعالیت لیزوزیمی موکوس در تمامی تیمارهای حاوی رافینوز نسبت به گروه شاهد افزایش یافت، با این‌حال این اختلاف معناداری وجود نداشت ($p<۰/۰۵$).



شکل ۲. فعالیت لیزوزیمی موکوس (میانگین ± خطای استاندارد) در ماهیان تغذیه شده با سطوح مختلف رافینوز

بحث

کمیت و کیفیت ترکیبات موجود در موکوس در انواع گونه‌های ماهی متفاوت است و به عواملی از قبیل فاکتورهای ژنتیکی گونه، سن، غذا، شرایط محیط زیست و وجود یا عدم وجود عوامل استرس‌زا هنگام نمونه‌برداری موکوس بستگی دارد. تنوع در مقدار موکوس ترشح شده بر سطح پوست سبب ایجاد اختلاف در مقاومت گونه‌ها در مقابل پاتوژن‌ها

می‌شود (سابرامانیان و همکاران، ۲۰۰۸). پربیوتیک‌ها از جمله محرک‌های سیستم ایمنی هستند که بر سیستم ایمنی ماهیان تأثیرگذار بوده و موجب فعال شدن سلول‌های مؤثر در ایمنی می‌شوند که از آن جمله اثرات آن افزایش فعالیت سلول‌های ماکروفاژی، افزایش تعداد سلول‌های فاگوسیتوز کننده (نوتروفیل‌ها و مونوسیت‌ها)، افزایش تعداد لنفوسیت‌ها و ایمونوگلوبولین‌های سرم و افزایش فعالیت لیزوزیم سرم و موکوس می‌باشد. استفاده از این مواد ابزار مؤثری به‌منظور افزایش شاخص‌های رشد، ظرفیت سیستم ایمنی و مقاومت ماهی در برابر بیماری‌های شایع بوده و تحقیق در مورد استفاده از این مکمل‌ها روند رو به رشدی دارد (حسینی‌فر و ماهیوس، ۲۰۰۷).

لیزوزیم یک آنزیم ضدباکتریایی قوی در سیستم ایمنی غیراختصاصی است که علاوه بر باکتری‌های گرم مثبت باعث لیز شدن باکتری‌های گرم منفی نیز می‌شود. نتایج حاصل از اندازه‌گیری میزان آنزیم لیزوزیم، نشان داد که فعالیت این آنزیم در تیمارهای حاوی سطوح مختلف رافینوز بیشتر بود، با این‌حال این اختلاف به‌صورت معنادار نبود. تنوع در میزان فعالیت این آنزیم می‌تواند به‌دلیل عواملی از جمله پاسخ به استرس، دستکاری، بلوغ، غذا، جنسیت، تنوع گونه‌ای و تنوع ژنتیکی باشد (سابرامانیان، ۲۰۰۷). کلنگی میاندره و همکاران (۲۰۱۶) تأثیر محرک ایمنی گالاکتوالیگوساکارید را در جیره غذایی ماهی قرمز بررسی کردند که نتایج حاصل از مطالعه ما را تأیید می‌کند و بیان کردند که میزان آنزیم لیزوزیم در ماهیان تغذیه شده با گالاکتوالیگوساکارید افزایش یافته است.

طبق نتایج این مطالعه، میزان ایمونوگلبولین موجود در موکوس ماهیان تغذیه شده با رافینوز بیشتر از گروه شاهد است و میزان ایمونوگلوبولین به‌صورت معناداری در تیمار ٤ گرم رافینوز افزایش یافت ($p<۰/۰۵$). مطابق با نتایج این مطالعه، سلیمانی و همکاران (۲۰۱۳) مطالعه‌ای در زمینه اثر پربیوتیک فروکتوالیگوساکارید بر عملکرد رشد، ایمنی غیراختصاصی، مقاومت در برابر استرس و فعالیت آنزیم‌های گوارشی در بچه ماهی کلمه (*Rutilus rutilus*) انجام دادند. نتایج آن‌ها نشان داد پاسخ ایمنی (ایمونوگلوبین کل، فعالیت لیزوزیم و سیستم کمپلمان) در سطح ۱ درصد نسبت به دو سطح دیگر بالاتر بود. بالاترین نرخ بقاء در گروه تغذیه شده با جیره حاوی ۳ درصد پربیوتیک مشاهده شد.

علاوه‌بر این، پارامترهای رشد بچه ماهیان کپور تغذیه شده با سطوح مختلف رافینوز نشان داد که رژیم غذایی با سطوح مختلف رافینوز اثر معنی‌داری بر وزن نهایی، درصدافزایش وزن، ضریب رشد ویژه، ضریب تبدیل غذایی و درصد بازماندگی ندارد. طبق نتایج به‌دست آمده از مطالعه حاضر می‌توان بیان کرد که علی‌رغم گزارش‌های متعدد مبنی‌بر افزایش ایمنی و بهبود رشد در ماهیان تحت تأثیر پری‌بیوتیک‌ها، نتایج حاصل از تحقیق حاضر، ممکن است به‌دلیل کوتاه بودن دوره آزمایش از یک سو و یا مطلوب بودن جیره آزمایشی پایه از سوی دیگر و یا احتمالاً به‌علت عدم وجود باکتری‌های اسیدلاکتیک در روده ماهیان مورد آزمایش جهت تخمیر پربیوتیک رافینوز، تمامی ماهیان در انتهای دوره تقریباً به یک اندازه رشد کردند. ولی آنچه که در این کار تحقیقی مسلم و مشهود است این است که این پربیوتیک هیچ تأثیری اعم از مثبت یا منفی روی فاکتورهای رشد بچه ماهی کپور معمولی نداشت. نتیجه این تحقیق که حاکی از بی اثر بودن پربیوتیک بر شاخص‌های رشد می‌باشد با گزارش‌های محققین پیشین به شرح زیر همخوانی دارد: (اکرمی و همکاران، ۲۰۰۹؛ شیخ الاسلامی و همکاران، ۲۰۰۸) نشان دادند که پربیوتیک اینولین

مکمل مناسبی برای رشد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان نیست. همچنین اکرمی و همکاران (۲۰۱۰)، نشان دادند که پربیوتیک مانان الیگوساکارید بر شاخص‌های رشد ماهی سفید (*Rutilus frisii kutum*) مؤثر نبود. در بررسی انجام شده توسط اکرمی و همکاران (۲۰۱۱)، مشخص شد که پربیوتیک اینولین تأثیری بر فاکتورهای رشد ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) نداشت. حسینی‌فر و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند افزودن پربیوتیک الیگوفروکتوز به جیره فیل‌ماهی (*Huso huso*) اثری بر فاکتورهای رشد نداشت و میزان رشد در تیمار ۳ درصد کاهش یافت. (حاجی بگلو و سوداگر، ۲۰۱۱)، در مطالعه‌ای تأثیر پربیوتیک ایمونووال را روی برخی فاکتورهای رشد (وزن نهایی، طول نهایی و نرخ رشد ویژه) در ماهی پلاتی (*Xiphophorus maculatus*) مورد بررسی قرار دادند، مشاهده کردند این پربیوتیک روی فاکتورهای رشد تأثیری نداشت.

در مجموع نتایج حاصل از این مطالعه حاکی از آن است که استفاده از پربیوتیک رافینوز در سطوح ۳ تا ٤ درصد در جیره غذایی کپور ماهیان پرورشی منجر به افزایش برخی از شاخص‌های ایمنی موکوس شده است. علاوه‌بر این، پربیوتیک رافینوز در سطوح مورد مطالعه و مدت زمان آزمایش انجام شده تأثیری بر عملکرد رشد و تغذیه بچه ماهی کپور معمولی نداشت.

منابع

1. Akrami, A., Karim Abadi, A., Mohammadzade, H., and Ahmadifar, A. 2009. The Effect of prebiotic mannan oligosaccharide on Growth, Survival, body Composition and resistance to salinity stress in whitefish *(Rutilus frisii kutum*). Journal of Marine Science and Technology. 47-57
2. Akrami, A., Zarei, A., Ghlichi, A. 2011. Influence of inulin Supplementation as a prebiotic on Growth, Survival, Intestinal Lactic acid bacteria density,and carcass composition of common carp(*cyprinus carpio*). Fisheries Magazine, Islamic Azad University, Azadshahr Branch. 1-16.
3. Akrami, A., Ghlichi, A., Ebrahimi, A. 2008. The Effect of Different Levels of Inhibitory prebiotic on the Growth and Survival of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). First National Conference on The Science of Fisheries and Aquaculture in Iran.Islamic Azad University, Lahijan Unit. 10-12.
4. Al-Banaw, A., Kenngott, R., Al-Hassan, J., Mehana, N., and Sinowatz, F. 2010. Histochemical analysis of glycoconjugates in the skin of a catfish (*Arius Tenuispinis*, *Day*). Anatomia, Histologia, Embryologia., 39: 42-50.
5. Aly, S.M., Atti, N.M.A., and Mohamed, M.F. 2008. Effect of garlic on the survival, growth, resistance and quality of *Oreochromis niloticus*. In 8th International Symposium on Tilapia in Aquaculture.
6. Fric, P. 2007. Probiotics and prebioticsrenaissance of a therapeutic principle. Central European Journal of Medicine., 2(3): 237-270.
7. Gatlin, III, D.M. 2002. Nutrition and fish health. Fish nutrition. 3: 671-702.
8. Gibson, G.R., and Roberfroid, M.B. 1995. Dietary modulation of the human colonic microbiota: Introducing the concept of prebiotics. Journal of Nutrition. 125: 1401-1412.
9. Hajibeglou, A., and Sudagar, M. 2011. Effect of Dietary Probiotic Level on the Reproductive Performance of Female Platy (*Xiphophorus maculatus)*. Agricultural Journal. 6: 119-123.
10. Hevrøy, E., Espe, M., Waagbø, R., Sandnes, K., Ruud, M., and HEMRE, G.I. 2005. Nutrient utilization in Atlantic salmon (*Salmo salar L.*) fed increased levels of fish protein hydrolysate during a period of fast

growth. Aquaculture Nutrition., 11: 301-313.

11. Hong-Yun, G., Lan-Mei, W., Yin-Hua, ZH., Min, X., Wei-Xiang, ZH., Xiu-Feng, W., Liang, H., Jia, W. 2010. Effects of raffinose on growth performance, immunity, stress/response and survival of Japanese seabass (*lateolabrax/japonicus*) challenged with aeromonas hydrophila. CNKI JOURNAL.
12. Hosseinifar, S.H., and Mahious, A.S. 2007. Probiotics, prebiotics and synbiotics in aquaculture: A review. Proceeding of the First International Training Course on fish Nutrition and disease. Ghaemshahr, Iran.
13. Hoseinifar, S.H., Mirvaghefi, A., Mojazi Amiri, B., and Merrifield, D.L. 2011. The effects of oligofructose on growth performance, survival, intestinal microbiota and liver histoligy of of endangered great sturgeon (*Huso huso*) juvenile .Aquaculture Nutrition. 17: 497-504.
14. Hoseinifar, S.H., Soleimani, N., Ringo, E. 2014. Effects of dietary fructo-oligosaccharide supplementation on the growth performance,hemato-immunological parameters,gut microbiota and stress resistance of common carp (*cyprinus carpio*) fry, Br y nutr.
15. Kiron, V. 2012. Fish immue system and its nutritional modulation for preventive health care, Animal feed Sci. Technol., 33: 111-173.
16. Lazado, C.E., and Caiping, C.M.A. 2014. Bacterial viability differentially influences the immunomodulatory capabilities of potential host-derived probiotics in the intestinal epithelial cells of Atlantic cod (*Gadus morhua*), J APP microbial. 116: 990-8.
17. Kolangi Miandare, H., Farvardin, Sh., Shabani, A., Hoseinifar, S.H., Ramezanpour, S. 2016. The effects of galactooligosacharide on systemic and mucosal immune respone, growth performance and appetite related gene transcript in goldfish(*Carassius auratus gibelio*). Fish and shellfish immunology. 55: 479-483.
18. Ringo, E., Dimitroglou, A., Hoseinifar, S.H., Davies, S.J. 2014. Probiotics in finfish; an update.In Ringo, E, merrifield, D, edirors. Aquaculture nutrition: gut health probiotics and prebiotics.1 ed.wiley-Blackwell.p. 416.
19. Ross, N.W., Firth, K.J., Wang, A., Burka, J.F., and Jojnson, S.C. 2000. Changes in hydrolytic enzyme activities of Atlantic salmon (*Salmo salar*) skin mucus due to infection with the salmon louse *(Lepeophtheirus salmonis*) and cortisol implantation. Disease of Aquatic Organisems. 41: 43-51.
20. Sheikheslami Amiri, M., Yousefain, M., Yavari, A., Mohammadian, T., Abhari, H., Guran, H. 2009. "Stimulation of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and increasing resistance to streptococcus by supplementing the prebiotic inulin to diet. "Summary of articles of the first National Conference on Caspian Sea Fishery Resources, 68p.
21. Siwicki, A.K., and Anderson, D.P. 1993. Nonspecific defense mechanisms assay in fish: II. Potential killing activity of neutrophils and macrophages, lysozyme activity in serum and organs and total immunoglobulin level in serum. Fish Disease Diagnosis and Prevention Methods Olsztyn, Poland. 1993: 105-12.
22. Soleimani, N., Hoseinifar, S.H., Merrifield, D.L., Barati, M., and Abadi, Z.H. 2013. Dietary supplementation of fructooligosaccharide (FOS) improves the innate immune response, stress resistance, digestive enzyme activities and growth performance of Caspian roach *(Rutilus rutilus*) fry. Fish and Shellfish Immunology. 32: 316-321.
23. Subramanian, S., MacKinnon, Sh.L., and Ross, N.W. 2007. A comparative study on innate immune parameters in the epidermal mucus of various fish species. Comprative Biochemistry and Physiology, Part B. 148: 256-263.
24. Subramanian, S., Ross, N.W., MacKinnon, S.L. 2008. Comparison of antimicrobial activity in the epidermal mucus extracts of fish. Comparative

Biochemistry and Physiology. 150: 85-92.
25. Sudagar, M., and Hoseinifar, S.H. 2005. The use of Optimun in diet of grand sturgeon (*Huso huso)* fry and its effects on growth factors and survival rate.
26. Proceedings of the 5th international symposium on sturgeons, Ramsar, Iran. 9-13 may, 93p.
27. Tacon, A. 1990. Standards methods for the nutrition and feeding of farmed fish and shrimp.
28. Whyte, SK. 2007. The innate immune response of finfish e a review of current knowledge. Fish Shellfish Immuno. 23: 1127-51.