مجله علوم وفنون دریایی، فصل نامه ی علمی پژوهشی

در دست انتشار / DOI: 10.22113/JMST.2022.367844.2499

مقاله پژوهشی

Available Online: *http://jmst.kmsu.ac.ir*

اثرات سطوح مختلف پری بیوتیک ایزومالتوالیگوساکارید بر عملکرد رشد، ترکیب بیوشیمیایی بدن و ایمنی موکوس ماهی جوان تیلاپیای قرمز (*Oreochromis mossambicus* × *Oreochromis niloticus*)

سید هاشم بیت علوی[1]، حمید محمدی آذرم*[1]، میلاد منیعات [2]

۱. گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دریا، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، ایران.

۲. اداره شیلات خرمشهر، اداره کل شیلات خوزستان، خرمشهر، ایران.

نویسنده مسئول، پست الکترونیک: azarmhamid@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۸/۱۱ **تاریخ بازنگری:** ۱۴۰۱/۰۸/۱۶ **تاریخ پذیرش:** ۱۴۰۱/۰۸/۲۱

شناسه دیجیتال (DOI): 10.22113/JMST.2022.367844.2499

چکیده

در این مطالعه به جهت استفاده از پری‌بیوتیک‌ها به عنوان یکی از بهترین راهکارها برای حفظ سلامت آبزیان پرورشی و افزایش مقاومت آنها در برابر عوامل بیماریزا به جای آنتی‌بیوتیک‌ها، اثرات سطوح مختلف پری‌بیوتیک ایزومالتوالیگوساکارید بر عملکرد رشد، ترکیب بیوشیمیایی بدن و ایمنی ماهی جوان تیلاپیای قرمز(Oreochromis mossambicus × Oreochromis niloticus) مورد بررسی قرار گرفت. به این منظور تعداد ۳۰۰ قطعه ماهی تیلاپیای قرمز در ۱۵ آکواریوم با حجم آبگیری۱۰۰ لیتر در ۵ تیمار با ۳ تکرار به صورت تصادفی تقسیم شدند. تیمارهای آزمایشی به شرح تیمار شاهد: جیره غذایی پایه بدون ایزومالتوالیگوساکارید، تیمار اول: جیره غذایی حاوی ۲/۵ گرم ایزومالتوالیگوساکارید در هر کیلوگرم غذا، تیمار دوم: جیره غذایی حاوی ۵ گرم ایزومالتوالیگوساکارید در هر کیلوگرم غذا، تیمار سوم: جیره غذایی حاوی ۱۰ گرم ایزومالتوالیگوساکارید در هر کیلوگرم غذا، تیمار چهارم: جیره غذایی حاوی ۲۰ گرم ایزومالتوالیگوساکارید در هر کیلوگرم بودند. لذا ماهیان سه بار در روز در حد سیری به مدت ۸ هفته تغذیه شدند. نتایج نشان داد که پری‌بیوتیک ایزومالتوالیگوساکارید استفاده‌شده منجر به بهبود عملکرد رشد و تغذیه‌ای، ترکیبات بیوشیمیایی بدن و برخی شاخص‌های بیوشیمیایی سرم خون ماهی تیلاپیای قرمز شده است. همچنین شاخص‌های ایمنی موکوس ماهیان نیز تحت تاثیر استفاده از جیره‌های غذایی حاوی پری‌بیوتیک ایزومالتوالیگوساکارید بهبود پیدا کردند. تیمار سوم در بین تیمارهای آزمایشی بهترین عملکرد را از نظر مقدار وزن نهایی (۰/۳۱±۱۳/۴گرم)، ضریب تبدیل غذایی (۰/۰۲±۱/۰۲)، درصد پروتئین بدن (۰/۲۵±۱۳/۴۹)، پروتئین سرم خون (۰/۱۰±۴/۶۶ گرم در دسی‌لیتر)، گلوبولین (۰/۰۲±۳/۲۳ گرم در دسی‌لیتر) و شاخص‌های ایمنی موکوس مانند پروتئین موکوس (۱/۰۵±۲۰/۲۹ میلی‌گرم در میلی‌لیتر)، ایمونوگلوبین(۰/۳۲±۷/۶۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) و فعالیت لیزوزیم (۰/۲۴±۹/۱۴ واحد در میلی‌لیتر) نشان داد. لذا می‌توان نتیجه‌گیری نمود استفاده از پری‌بیوتیک ایزومالتوالیگوساکارید در سطح ۱ درصد اثرات مطلوبی بر عملکرد ماهیان جوان تیلاپیای قرمز دارد.

واژگان کلیدی: تیلاپیای قرمز، پری‌بیوتیک، رشد، ترکیب بیوشیمیایی بدن، ایمنی

Copyrights:

Copyright for this article is retained by the author(s), with publication rights granted Journal of Marine Science and Technology. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/ by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

In Press

۱. مقدمه

تغذیه مناسب به عنوان یکی از عوامل کلیدی در ارتقای رشد و سلامت ماهی می‌با شد. به وا سطه غذای منا سب همواره باید علاوه بر تأمین نیازهای فیزیولوژیک ماهی، موجبات سلامت ماهیان را تامین نمود (Lee et al., 2015). در طی ده سال گذشته آنتی‌بیوتیک‌ها بطور مر سوم برای مدیریت بیماری‌های آبزیان و همچنین برای افزایش رشد و بهبود ضریب تبدیل غذای مورد استفاده قرار می‌گرفتند (Akrami et al., 2010). با توجه به اینکه پخش و گسترش باکتری های مقاوم نسبت به آنتی‌بیوتیک ها به اثبات رسیده است، این خطر وجود دارد که باکتری‌های مقاوم نسبت به آنتی‌بیوتیک ها از محیط آبزی‌پروری به محیط‌های آبی وارد شوند و در نتیجه منجر به صدمه به جوامع میکروبی و سیستم ایمنی ماهیان موجود در محیط‌های آبی شوند(Sapkota et al., 2008). همچنین آنتی‌بیوتیک‌ها منجر به متوقف کردن ر شد یا کشتن باکتری‌های مفید روده‌ای شده و از سوی دیگر در بدن آبزی تجمع می‌کنند (Merrifield and Ringo, 2014).

بر همین اساس استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها بعنوان محرک رشد در سی ستم های تولید آبزیان با محدودیت و ممنوعیت همراه می‌با شد. لذا در ارتباط با ممنوعیت ا ستفاده از محرک‌های ر شد آنتی بیوتیکی برنامه های جدیدی برای مدیریت تغذیه و سلامتی آبزی در نظر گرفته شده ا ست. مانند بکارگیری مکمل‌های غذایی جدید نظیر پروبیوتیک‌ها، پری بیوتیک‌ها، سین‌بیوتیک‌ها، فیتوبیوتیک‌ها و سایر مکمل‌های غذایی کاربردی که حاوی ترکیبات مختلف برای افزایش ر شد، تحریک و بلوغ سریع سیستم ایمنی، بهبود کارایی غذا، کاهش میزان مرگ و میر، بهبود فرآیند ه ضم، ر شد سریع میکرو فلورهای منا سب روده، تاثیر بر میزان اشتها و افزایش میزان تغذیه ا ست (Denev et al., 2009). همچنین ارتقاء سیستم ایمنی موکوسی در ماهی به جهت افزایش مقاومت و کاهش امکان ابتلا به بیماری با استفاده از مکمل‌های غذایی از جمله محرک های ایمنی، پروبیوتیک، پری‌بیوتیک و سین‌بیوتیک یکی از راهکارهایی است که اخیراً بسیار مورد توجه قرار گرفته است (Merrifield and Ringo, 2014). موکوس به عنوان جزئی از مکانی سم ذاتی، با ریختن پو ست و بافت های مرده و تولید م ستمر آن، همی شه وجود دا شته و از ات صال پاتوژن‌ها و عوامل بیگانه نیز جلوگیری می‌کند. همچنین موکوس منبع مهمی از اجزاء مهم در سیستم ایمنی غیراختصاصی شامل لیزوزیم، ایمنوگلوبین‌ها، پروتئین‌های کمپلمان، لکتین ها، آنزیم های پروتئولیتیک، پروتئین واکنش ده نده C و دیگر پروتئین‌ها و لیپیدهای آنتی باکتریال می‌باشد (Subramanian et al., 2007).

پری‌بیوتیک‌ها مواد غذایی غیرقابل هضمی هستند که به عنوان محرک رشد شناخته شده و همچنین با محدود کردن تمام یا تعدادی از باکتری های روده منجر به بهبود سلامت میزبان می شوند (Gibson and Roberfroid, 1995). پری‌بیوتیک با تغییر فلور دستگاه گوارش و مهاررشد گونه های بیماری‌زا یا رشد باکتری‌های مفید دستگاه گوارش اثر خود را اعمال می کند (Merrifield and Ringo, 2014). این مواد به عنوان کربوهیدرات‌ها پیچیده جیره که غیرقابل هضم هستند تعریف می‌شوند، زیرا باندهای بتا بین مونومرهای فروکتوز نمی توانند توسط آنزیم‌های داخلی بدن حیوان هیدرولیز شوند در نتیجه به عنوان سوبسترا در دسترس میکروارگانیسم‌های دستگاه گوارش قرار می گیرند (Merrifield and Ringo, 2014) از طرفی پری‌بیوتیک ها به صورت انتخابی باعث تحریک فعالیت و متابولیسم باکتری‌های مفید موجود در انتهای دستگاه گوارش شده و از این طریق باعث تعادل باکتریایی در میزبان می‌شوند (Lee et al., 2015). یکی از انواع الیگوساکاریدها که اخیراً به عنوان پری‌بیوتیک در تغذیه آبزیان مطرح شده ایزومالتوالیگوساکارید است.

با وجود اثرات مفیدی که برای پری‌بیوتیک در نظر گرفته شده ا ست، تحقیقات در این زمینه هنوز در ابتدای راه قرار دا شته و تحقیقات محدودی انجام شده است. برای مثال در مطالعه‌ای در خصوص اثر ۰/۴ درصد بتاگلوکاکان و ۰/۴ درصد مانان الیگوساکارید در ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*)، فاکتورهای رشد و ایمنی ماهیان بهبود یا فت (Jami et al., 2019). استفاده از ۰/۵ تا ۱/۵ گرم بتاگلوکاکان و مانان الیگوساکارید در جیره غذایی ماهی تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) منجر به افزایش مقاومت در برابر عوامل بیماری‌زای محیطی شد (Ismail et al., 2019). همچنین در مطالعه‌ای بر ماهی شانک سفید (*Diplodus sargus*) اثر سطوح مختلف فروکتوالیگوساکارید، گالاکتوالیگوساکارید و زیلوالیگوساکارید بر عملکرد رشد، زنده‌مانی، ایمنی، فعالیت آنزیم‌های گوارشی و مرفولوژی روده ماهیان انجام گرفت. لذا نتایج نشان دهنده اثرگذاری مطلوب یک درصد فروکتوالیگوساکارید، زیلوالیگوساکارید و یا گالاکتوالیگوساکارید بر پارامترهای بیان شده در ماهیان بود (Guerreiro et al., 2018). استفاده از یک درصد فروکاوالیگوساکارید در جیره غذایی ماهیان استرلیاد (*Acipenser stellatus*) منجر به افزایش فعالیت لیزوزیم سرم در ماهیان شد (Akrami et al., 2013). همچنین استفاده از یک درصد گالاکتوالیگوساکارید در جیره غذایی ماهیان شوریده قرمز (*Sciaenops ocellatus*)، منجر به افزایش سطوح پارامترهای ایمنی مانند فعالیت لیزوزیم و انفجار تنفسی و همچنین طول پرزهای روده ماهیان شد(Zhou et al., 2010). از طرفی برر سی اثرات ا ستفاده از سطوح مختلف مانان الیگوساکارید در جیره غذایی سی‌بریم اروپایی (*Dicentrarchus labrax*) نشان دهنده اثرات مثبت سطح ۰/۴ درصد پری‌بیوتیک به‌کار رفته در جیره غذایی ماهیان بود (Torrecillas et al. 2016).

In Press

در خصوص پری‌بیوتیک ایزومالتوالیگوساکارید تحقیقات بسیار نادر است. با این حال بررسی‌های یک مطالعه نشان داد استفاده از ایزومالتوالیگوساکارید در جیره غذایی بچه ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) باعث افزایش زنده‌مانی و مقاومت به استرس شوری می‌شود (Haghipoor et al., 2015). همچنین استفاده از پروبیوتیک باسیلوس و ایزومالتوالیگوساکارید باعث افزایش بازماندگی و ارتقای سطح سیستم ایمنی در میگوی ببری ژاپنی شد (Zhang et al., 2010).

امروزه تیلاپیا به یکی از رایج‌ترین ماهیان موجود در سیستم‌های پرورشی در جهان تبدیل شده و پس از ماهی کپور بالاترین میزان تولید را به خود اختصاص داده است (ElSayed, 2019). در این میان پرورش ماهی تیلاپیای قرمز که هیبرید بین گونه تیلاپیای نیل و موزامبیک (*Oreochromis mossambicus* × *Oreochromis niloticus*) می‌باشد، در کشورهای آسیایی مانند چین، تایوان، تایلند، اندونزی و فیلیپین بسیار رواج دارد. از علل مهم تمایل به پرورش ماهی تیلاپیای قرمز رشد بسیار مناسب و رنگ پذیری جذاب و مشتری پسندی بالای این ماهی می‌باشد (ElSayed, 2019). لازم به ذکر است در حال حاضر در کشور ایران در چهار استان سمنان، یزد، خراسان جنوبی و قم پرورش تیلاپیای قرمز در بلامانع اعلام‌شده است. دوره رشد سریع و تراکم‌پذیری بالا، ضریب تبدیل مناسب و تکثیر آسان، بازارپسندی مناسب، فیله پذیری، ارزش غذایی مطلوب و امکان پرورش در آب‌های لب‌شور و غیرمتعارف از دیگر مزیت‌های تولید ماهی تیلاپیا در این استانها می‌باشد که می‌تواند نقش مؤثری در امنیت غذایی کشور داشته باشد. در نتیجه دستر سی به جیره مناسب تغذیه ای مناسب به لحاظ تولید این ماهی ضروری است. لذا در این مطالعه به بررسی اثرات سطوح مختلف پری‌بیوتیک ایزومالتوالیگوساکارید بر عملکرد رشد و برخی فاکتورهای بیوشیمیایی سرم خون و ایمنی موکوس ماهی تیلاپیای قرمز پرداخته می‌شود.

۲. مواد و روش‌ها

تعداد ۳۰۰ قطعه ماهی تیلاپیای قرمز با میانگین وزن اولیه ۰/۰۴ ±۶۵/۱ گرم از یکی مزارع پرورش تجاری تیلاپیا در استان یزد تامین شد و به طور کاملا تصادفی بین ۱۵ عدد آکواریوم با حجم آبگیری ۱۰۰ لیتر توزیع شد (۲۰ قطعه ماهی به ازای هر آکواریوم یا تکرار). در این مطالعه پنج تیمار با سه تکرار در نظر گرفته شد. چهار تیمار آزمایشی و یک گروه شاهد بود. قبل از ذخیره‌سازی، آکواریوم ها کاملا با بتادین(۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر) ضدعفونی و با آب شستشو داده شدند و سپس آبگیری آنها با آب شهری کلرزدایی شده با هوادهی صورت گرفت. دوره‌ی سازگاری ماهیان جهت سازگار شدن با شرایط جدید، به مدت دو هفته قبل از شروع آزمایش انجام شد. در طول دوره‌ی سازگاری، روزانه ۳ بار غذادهی تا حد سیری با غذای فرموله شده پایه (شاهد) انجام گرفت (جدول ۱). تیمارهای آزمایشی به شرح تیمار شاهد: جیره غذایی پایه بدون ایزومالتوالیگوساکارید، تیمار اول: جیره غذایی حاوی ۲/۵ گرم ایزومالتوالیگوساکارید در هر کیلوگرم غذا، تیمار دوم: جیره غذایی حاوی ۵ گرم ایزومالتوالیگوساکارید در هر کیلوگرم غذا، تیمار سوم: جیره غذایی حاوی ۱۰ گرم ایزومالتوالیگوساکارید در هر کیلوگرم غذا، تیمار چهارم: جیره غذایی حاوی ۲۰ گرم ایزومالتوالیگوساکارید در هر کیلوگرم غذا بودند.

جدول ۱- ترکیب جیره‌های آزمایشی مورد استفاده (درصد وزن خشک)

Table1- Composition of experimental diets (percent of dry matter)

اقلام غذایی	شاهد	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ٤
آرد ماهی	۱۷/٦۲	۱۷/٦۲	۱۷/٦۲	۱۷/٦۲	۱۷/٦۲
پودر سویا	۳۵	۳۵	۳۵	۳۵	۳۵
آرد گندم	۳۰/۷۸	۳۰/۷۸	۳۰/۷۸	۳۰/۷۸	۳۰/۷۸
گلوتن ذرت	۵	۵	۵	۵	۵
روغن ماهی	۵/٦۰	۵/٦۰	۵/٦۰	۵/٦۰	۵/٦۰
مکمل ویتامینه	۲	۲	۲	۲	۲
مکمل معدنی	۱	۱	۱	۱	۱
ژلاتین	۱	۱	۱	۱	۱
پرکننده (سلولز)	۲	۱/۷۵	۱/۵	۱	۰
پری بیوتیک	۰	۰/۲۵	۰/۵	۱	۲

ترکیب بیوشیمیایی جیره پایه (بر مبنای وزن خشک): ماده خشک:۹۰/۳۱٪، پروتئین: ۳۵٪، چربی: ۸٪، انرژی: ۳/۵ کیلوکالری در هر گرم

Biochemical composition of basal diet (based on dry weight): dry matter: 90.31%, protein: 35%, fat: 8%, energy: 3.5 kcal per gram

In Press

لذا به جهت آماده سازی جیره‌های غذایی پس از تعیین میزان مورد نیاز هر کدام از اقلام جیره‌های غذایی در برنامه جیره نویسی WUFFDA مطابق با نیاز غذایی (Jobling, 2012)، ابتدا اقلام غذای خشک جیره‌ی پایه آسیاب گردیده و از الک عبور داده شدند. سپس با استفاده از ترازوی دیجیتال توزین و به مدت ۳۰ دقیقه به صورت یکنواخت به هم زده شدند. سپس مقادیر مشخص روغن نیز به مخلوط اضافه گردیدو مجددا به مدت ۳۰ دقیقه مخلوط شد. در ادامه مقادیر مورد نیاز پری‌بیوتیک ایزومالتوالیگوساکارید تهیه شده (BENEO GmbH, Mannheim, Germany) به همراه محلول آب و پودر ژلاتین به مخلوط اضافه شده و خمیر حاصله به وسیله دستگاه چرخ گوشت برقی به صورت رشته‌های غذایی در سینی‌های جداگانه قرار گرفتند. در نهایت جیره‌های غذایی تهیه شده در دمای معمولی آزمایشگاه به مدت ۲۴ ساعت خشک و در کیسه‌های پلاستیکی بسته بندی و در یخچال ۴ درجه سانتی‌گراد تا زمان مصرف نگهداری گردید. در طول مدت آزمایش که به مدت ۸ هفته ادامه یافت، ماهیان ۳ بار در روز در ساعات ۸ ، ۱۲ و ۱۸ در حد سیری تغذیه شدند. به منظور توزیع یکنواخت غذا، کاهش تلاطم آب و افزایش زمان ماندگاری غذا در آب، در طول مدت غذادهی، هوادهی در تانک ها قطع گردیده و پس از ۳۰ دقیقه، مجددا هوادهی انجام گرفت.

در انتهای دوره و پس از بیهوشی کامل با عصاره گل میخک (۲۰۰ میلی گرم به ازای هر یک لیتر آب)، تمام ماهیان هر تکرار وزن شدند. در ادامه شاخص‌های افزایش وزن بدن، ضریب رشد ویژه، ضریب تبدیل غذایی و میزان بازماندگی، بر اساس روابط ۱ تا ۴ محاسبه شدند.

رابطه (۱) وزن اولیه – وزن نهایی =افزایش وزن بدن (Weight gain: WG)

ربطه (۲) ۱۰۰× دوره پرورش به روز (Ln W_2 Ln W_1) = درصد ضریب رشد ویژه (Specific growth rate: SGR)

رابطه (۳) افزایش وزن بدن(گرم)/مقدار غذای خورده شده(گرم) = ضریب تبدیل غذایی (Food conversion ratio: FCR)

رابطه (۴) ۱۰۰× تعداد ماهیان/ تعداد ماهیان باقی مانده = درصد بازماندگی (Survival rate: SR)

همچنین در پایان دوره‌ی آزمایش جهت ارزیابی ترکیبات بیوشیمیایی لاشه ماهیان، تعداد ۵ قطعه ماهی از هر تکرار (۱۵ قطعه ماهی از هر تیمار) به طور تصادفی از تانک‌ها خارج و تا زمان انجام آنالیزها در فریزر، دردمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. آنالیز تقریبی ترکیبات بیوشیمیایی لاشه با استفاده از روش‌های استاندارد (AOAC,1995) انجام شد. لذا مقدار رطوبت درون نمونه‌ها با استفاده از آون در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت مورد سنجش قرار گرفت. میزان پروتئین بدن ماهیان براساس روش کجلدال و با استفاده از دستگاه کجلدال اتوماتیک (مدل TM2300، شرکت Foss، سوئد) تعیین گردید. همچنین میزان چربی نمونه‌های ماهی، با استفاده از دستگاه سوکسله (مدل TM8000، شرکت Foss، سوئد) مورد سنجش قرار گرفت. در ادامه به منظور سنجش مقدار خاکستر، نمونه‌ها به مدت ۶ ساعت در یک کوره الکتریکی با دمای تقریبی ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد سوزانده شدند.

در پایان دوره آزمایش، به منظور ارزیابی فاکتورهای خونی تعداد ۳ قطعه ماهی از هر تکرار (۹ قطعه ماهی از هر تیمار) به صورت کاملاً تصادفی انتخاب شده و به وسیله عصاره گل میخک (۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر) بیهوش شدند. خون گیری از طریق ساقه دمی و با استفاده از سرنگ‌های غیر هپارینه انجام گردید. در ادامه سرم مورد آزمایش تا زمان سنجش در فریزر ۸۰ نگهداری شد. پارامترهای بیوشیمیایی سرم خون در این مطالعه شامل گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسرید، پروتئین، آلبومین به وسیله دستگاه اتوآنالایزر (Mindrey BS200، چین) با استفاده از کیت‌های آزمایشگاهی (شرکت پارس آزمون، کرج، ایران) و روش فتومتریک مورد سنجش قرار گرفت. همچنین قبل از اندازه‌گیری فاکتورهای مورد نظر به منظور بالابردن دقت و صحت نتایج، دستگاه اتوآنالایزر به وسیله سرم کالیبراتور TruCal U و سپس با استفاده از سرم کنترل‌های TruLab P و TruLab N ساخت شرکت پارس آزمون قبل از انجام آزمایش و در طول انجام آزمایش کنترل گردید. برای به دست آوردن میزان گلوبولین نیز، مقادیر آلبومین از پروتئین کسر گردید.

جهت جمع آوری موکوس ماهیان ۳ عدد ماهی از هر تکرار (۹ قطعه ماهی از هر تیمار) پس از بیهوشی با عصاره گل میخک به صورت جداگانه درون کیسه‌های پلاستیکی حاوی ۲ میلی لیتر سدیم کلرید ۵۰ میلی مولار قرار گرفتند. سپس به مدت ۲ دقیقه ماهی ها در کیسه‌های مورد نظر تکان داده شدند و بعد از آن ماهی‌ها از کیسه خارج شدند. موکوس جمع آوری شده به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۵۰۰×g در دمای ۴

In Press

درجه سانتی گراد سانتریفیوژ شد. سپس مایع رویی به میکروتیوب‌های ۲ میلی لیتری منتقل و در دمای منفی ۸۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (Safari et al., 2017). اندازه‌گیری مقدار پروتئین کل موکوس با استفاده از کیت آزمایشگاهی (شرکت پارس آزمون، کرج، ایران) و روش لوری در طول موج ۷۴۰ به وسیله دستگاه اتوآنالایزر (Mindrey BS200، چین) انجام شد. اندازه‌گیری ایمونوگلوبولین کل بر اساس اندازه‌گیری میزان پروتئین کل مخاط ماهی‌ها قبل و بعد از رسوب مولکول‌های ایمونوگلوبولین و با استفاده از محلول پلی اتیلن گلیکول ۱۲ ٪ انجام شد (Siwicki, 1993). همچنین فعالیت لیزوزیم بر اساس رسوب و نابودی باکتری گرم مثبت Micrococcus lysodeikticus که به لیزوزیم حساس است به روش کدورت سنجی و در طول موج ۴۵۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (Ellis, 1990).

نرمال بودن داده‌ها به وسیله آزمون ShapiroWilk مورد بررسی قرار گرفت. شاخص های رشد و ایمنی با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه (oneway ANOVA) و تست Duncan به عنوان پس آزمون، جهت مقایسه میانگین ها مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. تجزیه و تحلیل کلیه داده ها به وسیله نرم افزار SPSS انجام پذیرفت. نتایج به صورت میانگین ± خطای استاندارد (Mean ± SE) بیان شده است.

۳. نتایج

نتایج ارزیابی شاخص‌های رشد و تغذیه ای ماهیان تیلاپیای قرمز در انتهای دوره آزمایشی در جدول ۲ آمده است. نتایج ارزیابی شاخص های رشد و تغذیه‌ای در تیمارهای حاوی پری‌بیوتیک نشان دهنده بهبود نسبت به تیمار شاهد بود (P<۰/۰۵). دراین بین وزن نهایی ماهیان تیلاپیای قرمز در تیمار ۳ (یک درصد پری‌بیوتیک) نسبت به گروه شاهد و سایر گروه‌های آزمایشی اختلاف معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵). به طوری که با افزایش معنی‌دار میزان وزن نهایی در این تیمار، میزان افزایش وزن بدن (گرم) و میزان ضریب رشد ویژه، افزایش معنی‌داری نشان داد (P<۰/۰۵). میزان ضریب تبدیل غذایی نیز به صورت معنی‌داری در تیمار ۳ نسبت به گروه شاهد و سایر گروه‌های آزمایشی به جز تیمار ۲ کاهش پیدا کرد (P<۰/۰۵). اما میزان بازماندگی در پایان دوره آزمایشی هیچ اختلاف معنی‌داری در بین گروه های آزمایشی نداشت (P>۰/۰۵).

نتایج ارزیابی شاخص‌های ترکیبات بیوشیمیایی بدن ماهیان تیلاپیای قرمز در انتهای دوره آزمایشی در جدول ۳ آمده است. نتایج ارزیابی میزان پروتئین کل ماهیان تیلاپیای قرمز در انتهای دوره آزمایشی نشان داد، میزان پروتئین کل در تیمارهای حاوی پری‌بیوتیک به صورت معنی‌داری نسبت به سایر گروه شاهد افزایش داشتند (P<۰/۰۵). میزان چربی بدن در تیمارهای حاوی پری‌بیوتیک به طور معنی‌داری نسبت به گروه شاهد کاهش یافت (P<۰/۰۵). کمترین درصد چربی لاشه (۰/۰۸±۶/۰۲) و بیشترین درصد پروتئین لاشه (۰/۲۵±۱۳/۴۹) در تیمار ۳ (یک درصد پری‌بیوتیک) مشاهده شد. همچنین میزان رطوبت و خاکستر تفاوت معنی‌داری در بین گروه‌های آزمایشی نداشت (P>۰/۰۵).

جدول ۲- شاخص های رشد و تغذیه ماهیان تیلاپیای قرمز در انتهای دوره آزمایش

Table 2- Growth and feeding parameters of Red tilapia fish at the end of experiment.

شاخص	تیمارهای آزمایشی				
	شاهد	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ٤
وزن اولیه (گرم)	۱/٦٧±۰/۰٤	۱/٦٦±۰/۰۳	۱/٦٣±۰/۰٤	۱/٦٦±۰/۰٥	۱/٦٦±۰/۰۳
وزن نهایی (گرم)	۸/۱۸±۰/۲۲^{a}	۹/٥۱±۰/٤۳^{b}	۱۲/۰۳±۰/۹۸^{c}	۱۳/٤۰±۰/۳۱^{d}	۹/٤۱±۰/۲۹^{b}
افزایش وزن بدن(گرم)	٦/٥۰±۰/۱۷^{a}	۷/۸۳±۰/٤۰^{b}	۱۰/٤۰±۰/۹٦^{c}	۱۱/۷۳±۰/۲٥^{d}	۷/۷۳±۰/۲٦^{b}
ضریب رشد ویژه (درصد در روز)	۲/۸۳±۰/۰۲^{a}	۳/۱۲±۰/۰٤^{b}	۳/٥٦±۰/۰۹^{c}	۳/۷۲±۰/۱۷^{d}	۳/۱۰±۰/۰۲^{b}
ضریب تبدیل غذایی	۱/٦۰±۰/۱۰^{c}	۱/۲۷±۰/۰٦^{b}	۱/۱۱±۰/۰٥^{a}	۱/۰۲±۰/۰۲^{a}	۱/۳٤±۰/۰٦^{b}
بازماندگی (درصد)	۹٦/٦٦±۲/۸۸	۱۰۰	۹۸/۳۳±۲/۸۸	۹۸/۳۳±۲/۸۸	۹٦/٦٦±۲/۸۸

*** حروف متفاوت نشانه در هر ردیف وجود اختلاف معنی دار بین گروه های آزمایشی است (داده ± خطای استاندارد، P<۰/۰٥).**

A different lowercase in the same row denotes statistically significant differences (Mean± S.E, P < 0.05).

In Press

نتایج حاصل از ارزیابی فاکتورهای بیوشیمیایی سرم خون ماهیان در جدول ۴ آمده است. مقدار پروتئین، گلوبولین و آلبومین در تیمارهای حاوی پری‌بیوتیک نسبت به گروه شاهد افزایش داشت که در تیمار ۳ (یک درصد پری بیوتیک) این افزایش معنی‌دار، بیشترین مقدار بوده است (P<۰/۰۵). نتایج ارزیابی گلوکز حاکی از کاهش معنی‌دار میزان گلوکز در تیمار ۳ نسبت به گروه شاهد و سایر گروه‌های آزمایشی بود (P<۰/۰۵). همچنین مقدار کلسترول و تری‌گلیسرید در تیمار ۳ (یک درصد پری‌بیوتیک) به صورت معنی‌داری نسبت به گروه شاهد کاهش پیدا نمود (P<۰/۰۵).

نتایج ارزیابی شاخص‌های ایمنی موکوس ماهیان در انتهای دوره آزمایشی نشان داد که مقدار پروتئین کل و ایمونوگلوبولین موکوس در تیمارهای حاوی پری‌بیوتیک به صورت معنی‌داری نسبت به گروه شاهد افزایش یافتند (P<۰/۰۵). از طرفی مقدار پروتئین کل در تیمار ۳ (یک درصد پری‌بیوتیک) به صورت معنی‌داری نسبت به سایر گروه‌های آزمایشی افزایش داشت (P<۰/۰۵). همچنین بیشترین میزان ایمونوگلوبولین کل موکوس در انتهای دوره آزمایشی مربوط به تیمار ۳(یک درصد پری بیوتیک) بود، که اختلاف معنی‌داری با سایر گروه‌های آزمایشی داشت (P<۰/۰۵). از طرفی فعالیت لیزوزیم موکوس ماهیان تیلاپیای قرمز در تیمار ۳ به صورت معنی داری نسبت به گروه شاهد و سایر گروه‌های آزمایشی افزایش داشت (P<۰/۰۵).

جدول۳- آنالیز تقریبی ماهیان تیلاپیای قرمز در انتهای دوره آزمایش (درصد وزن تر)

Table 3- The proximate composition of Red tilapia fish at the end of experiment (wet weight)

شاخص	تیمارهای آزمایشی				
	شاهد	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ٤
رطوبت	۷۷/۱۹±۳/۱۰	۷٦/۰۷±٤/۰۹	۷٦/۷٤±٥/۱۱	۷٥/٦۳±۱/٤۷	۷٦/۱۹±٤/۰٥
پروتئین	۱۱/۲۲±۰/٦۰^{a}	۱۲/۳۸±۰/۳٦^{b}	۱۲/۹۸±۰/۲۷^{c}	۱۳/٤۹±۰/۲٥^{d}	۱۲/۲٤±۰/۷۳^{b}
چربی	٦/٤٦±۰/۱۹ ^{b}	٦/٤۲±۰/۲۰ ^{b}	٦/۲۱±۰/۱٥ ^{ab}	٦/۰۲±۰/۰۸ ^{a}	٦/۲۰±۰/۱۱ ^{ab}
خاکستر	۳/۷۷±۰/۱۲	۳/٦۸±۰/۲۰	۳/٥۲±۰/۱٥	۳/٥٤±۰/۱۳	۳/٦۹±۰/۰۸

*** حروف متفاوت در هر ردیف نشانه وجود اختلاف معنی دار بین گروه‌های آزمایشی است (داده ± خطای استاندارد، P<۰/۰٥).**

A different lowercase in the same row denotes statistically significant differences (Mean± S.E, P < 0.05).

جدول ٤- فاکتورهای بیوشیمیایی سرم خون و ایمنی موکوس ماهیان تیلاپیای قرمز در انتهای دوره آزمایش

Table4 - Serum biochemical and mucosal immunity indices of Red tilapia fish at the end of experiment

شاخص بیوشیمیایی خون	تیمارهای آزمایشی				
	شاهد	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ٤
پروتئین (گرم بر دسی‌لیتر)	۴/۱۰±۰/۱۲^{a}	۴/۳۴±۰/۲۴^{abc}	۴/٥٦±۰/۱۷^{bc}	۴/۶۶±۰/۱۰^{c}	۴/۲۸±۰/۱۸^{ab}
آلبومین (گرم بر دسی‌لیتر)	۱/۱۴±۰/۰۷^{a}	۱/۲۳±۰/۰۹^{abc}	۱/۳٦±۰/۱۰^{bc}	۱/۴۲±۰/۱۰^{c}	۱/۱۷±۰/۰٦^{ab}
گلوبولین (گرم بر دسی‌لیتر)	۲/۹٦±۰/۰٥^{a}	۳/۱۱±۰/۱۴^{ab}	۳/۱۹±۰/۰۷^{b}	۳/۲۳±۰/۰۲^{b}	۳/۱۰±۰/۰۷^{ab}
گلوکز (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	۷٥/۱۴±۱/۰۳^{a}	۷۴/۱۹±۱/۰۲^{a}	۷۰/۱٥±۱/۳٥^{a}	۶۷/۲۸±۰/۹۶^{b}	۷۴/۸٥±۱/۱۶^{a}
کلسترول (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	۱۲۲/۳±۳/۷۸^{b}	۱۱۴/۶±۴/۰۴^{ab}	۱۱۱/۳±۸/۱۴^{ab}	۱۰۳/٥±۴/۷۱^{a}	۱۲۳/۲±٥/۸۹^{b}
تری گلیسرید (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	۲۲٥/۳±۱۶/۶۲^{c}	۲۱۸/۱±۱۱/۰۰^{c}	۲۰۰/۶±۶/٥۰^{b}	۱۸۶/۲±۱۲/۱٥^{a}	۲۱۶/۶±۲۰/۲۰^{c}
پروتئین کل موکوس (میلی‌گرم بر میلی لیتر)	۱۱/۴۲±۰/۲۹^{a}	۱۴/۷۸±۰/٥٥^{b}	۱۷/۹۰±۰/۶۹^{c}	۲۰/۲۹±۱/۰٥^{d}	۱۳/۴۷±۱/٥٥^{b}
ایمونوگلوبولین موکوس (میلی‌گرم بر میلی لیتر)	۴/۱۷±۰/۱۱^{a}	٥/۷۰±۰/۴۱^{b}	۶/۴۴±۰/۳۳^{c}	۷/۶۲±۰/۳۲^{d}	٥/۶۶±۰/۳٥^{b}
لیزوزیم موکوس (واحد در میلی‌لیتر)	۸/۲٥±۰/۱۶ ^{a}	۸/۴۰±۰/۱۸ ^{ab}	۸/۶۲±۰/۱۲ ^{b}	۹/۱۴±۰/۲۴ ^{c}	۸/۲۹±۰/۱۳ ^{a}

*** حروف متفاوت در هر ردیف نشانه وجود اختلاف معنی دار بین گروه‌های آزمایشی است (داده ± خطای استاندارد، P<۰/۰٥).**

A different lowercase in the same row denotes statistically significant differences (Mean± S.E, P < 0.05).

In Press

٤. بحث

نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که استفاده از سطوح مختلف پری‌بیوتیک ایزومالتوالیگوساکارید منجر به بهبود عملکرد رشد و تغذیه‌ای در ماهیان تیلاپیای قرمز می‌گردد، که در این بین ماهیان تغذیه شده با مقدار یک درصد یا ۱۰ گرم پری بیوتیک به ازای کیلوگرم غذا بهترین عملکرد را نشان دادند. در این ارتباط Ibrahim et al. (2013) بیان کردند استفاده از پری‌بیوتیک ایزومالتوالیگوساکارید در جیره غذایی تیلاپیا نیل منجر به افزایش معنی‌دار رشد و مصرف خوراک شده است که با نتایج تحقیق حاضر همخوانی دارد. همچنین سایر مطالعات همانند Jami et al. (2019) بر ماهی آزاد دریای خزر، Ismail et al. (2019) بر تیلاپیای نیل، Guerreiro et al. (2018) بر شانک سفید، Akrami et al. (2013) بر ماهی استرلیاد، Zhou et al. (2010) بر ماهی شوریده قرمز نشان دهنده اثرات بهینه بکارگیری پری‌بیوتیک‌ها در جیره غذایی ماهیان بر رشد، زنده مانی و ایمنی ماهیان بوده است.

در خصوص اثر گذاری مطلوب پری بیوتیک مورد استفاده می‌توان بیان کرد که الیگوساکاریدها به دلیل ساختار خاص و عدم برخورداری ماهیان از آنزیم‌های هیدرولیزکننده‌ی اتصالات نوع β بین واحدهای منوساکاریدی، در برابر فرآیند گوارش مقاومت کرده و صرفاً توسط برخی از باکتری‌های بی‌هوازی موجود در دستگاه گوارش قابلیت تجزیه شدن را دارند (Merrifield and Ringo, 2014). لذا عمدتاً باکتری‌ها شامل لاکتوباسیلوس‌ها، بیفیدوباکترها و بسیاری از باکتری‌های اسید لاکتیک هستند که می‌توانند با استفاده از تخمیر از الیگوساکاریدها تغذیه کرده و به این وسیله اثرات مفیدی روی میزبان داشته باشند. در نتیجه تغذیه ماهیان با این نوع کربوهیدارت‌ها می‌تواند باعث افزایش جمعیت باکتری های مفید روده و به خصوص بیفیدوباکترها و باکتری‌های اسید لاکتیک گردد. همچنین به علت کاهش pH روده به دلیل وجود شرایط تخمیری و تولید اسید توسط جمعیت باکتری‌های مفید، از فعالیت باکتری‌های مضر و بیماری‌زا در دستگاه گوارشی جلوگیری شده و از طرفی جذب مواد معدنی افزایش می‌یابد (Merrifield and Ringo, 2014) که با توجه به مقادیر افزایشی سطح آلبومین در تیمارهای آزمایشی که در ارتباط با جذب عنصر فسفر است این فرضیه می‌تواند تایید شود.

در خصوص ترکیب بیوشیمیایی لاشه ماهیان مورد آزمایش، مقدار پروتئین و چربی تحت تاثیر استفاده از پری‌بیوتیک ایزومالتواولیگوساکارید به ترتیب افزایش و کاهش یافت. در این خصوص Aftabgard et al. (۲۰۲۰) بیان کردند استفاده از پری‌بیوتیک ایزومالتوالیگوساکارید به همراه پروبیوتیک در جیره غذایی ماهی آزاد دریای خزر دارای پتانسیل موثری در مصرف چربی برای تولید انرژی مورد نیاز بدن و در نتیجه صرفه‌جویی در مصرف پروتئین و تبدیل حداکثر غذای مصرفی به پروتئین بافت بدن بوده است که با نتایج تحقیق حاضر همخوانی دارد. همچنین لازم به ذکر است در برخی آزمایشات عدم تاثیر گذاری استفاده از پری‌بیوتیک در ترکیب بیوشیمیایی لاشه ماهیان گزارش شده است (Akrami et al., 2010). که علت اختلاف در نتایج را می‌توان به نوع، اندازه و سن گونه پرورشی و همچنین طول دوره پرورشی، شرایط محیطی و بهداشتی، رفتارشناسی تغذیه ای، خصوصیات فیزیولوژیک موجود، نوع مواد تشکیل دهنده جیره غذایی و کمیت و کیفیت آن‌ها، ترکیب جیره غذایی، نوع پری‌بیوتیک مورد استفاده، میزان درجه خلوص و سطح مورد استفاده آن در جیره غذایی، نحوه افزودن پری‌بیوتیک به جیره غذایی و حتی فلور میکروبی روده ماهی که قادر به استفاده از آن به عنوان سوبسترا هستند، نسبت داد (Sabrin Joibari et al., 2017).

بررسی اثر سطوح مختلف ایزومالتوالیگوساکارید بر شاخص‌های بیوشیمیایی سرم خون نشان داد، تا سطح ۱۰ گرم بر کیلوگرم منجر به ایجاد روند افزایشی در مقدار پروتئین کل، آلبومین و گلوبولین سرم خون در ماهیان مورد آزمایش می شود. در این خصوص Lotfan et al. (2009) بیان کرده‌اند که افزایش پروتئین سرم می‌تواند نشان دهنده افزایش متابولیسم، قابلیت هضم و جذب پروتئین در اندام‌های جاندار تغذیه شده با جیره‌های حاوی پری‌بیوتیک با شد. همچنین بیان کردند پری‌بیوتیکها با افزایش باکتریهای مفید روده، موجب تشدید متابولیسم پروتئین و افزایش جذب آن در اندام‌های موجود و با تحریک جذب و ذخیره مواد معدنی به خصوص کلسیم و فسفر، روی متابولیتهای خون از جمله آلبومین اثر می گذارند. همچنین Mokhtari et al. (2016) بیان داشتند که سطح بالای پروتئین و گلوبولین خون نشان دهنده ی بالا بودن ایمنی در آبزی می باشد. لذا افزایش سطح گلوبولین می‌تواند ناشی از تحریک لکوسیت ها به ویژه لنفوسیت ها و ترشح ایمونوگلوبولین‌ها باشد که بیشترین میزان گلوبولین‌های خون را به خود اختصاص می‌دهند.

از طرفی در مطالعه حاضر مشاهده شد که سطوح مختلف پری‌بیوتیک ایزومالتوالیگوساکارید تا سطح ۱۰ گرم در کیلوگرم غذا به طور معنی داری منجر به ایجاد روندکاهشی در مقدار تری‌گلیسرید، کلسترول و گلوکز در مقایسه با شاهد شده است. در تطابق با نتایج این آزمایش، نتایج سایر تحقیقات نشان می‌دهد که اضافه کردن پری‌بیوتیک ها به جیره جاندران منجر به کاهش کلسترول و تری گلیسرید می‌شود (Gargari et al., 2013). در خصوص کاهش کلسترول توسط پری‌بیوتیکها، مکانیسم‌های متفاوتی پیشنهاد شده است. برای مثال بیان شده است که اثرات مفید پری‌بیوتیک‌ها بر روی

In Press

الگوی لیپیدی سرم از طریق اسیدهای چرب کوتاه زنجیره می‌باشد که طی تخمیر توسط پری‌بیوتیک ها در دستگاه گوارش تولید می شوند. بوتیرات از سنتز کلسترول در کبد جلوگیری می‌کند و منبع خوبی از انرژی، برای سلول‌های پوششی روده را فراهم می‌کند (Demigne et al., 1995). همچنین پروپیونات احتمالاً با کاهش استفاده از استات به عنوان پیش‌ساز جهت سنتز کلسترول، سرعت سنتز کلسترول در کبد کاهش می‌دهد (Delzenne and Kok, 1999).

علاوه بر این بیان شده است که که مصرف پری‌بیوتیکها سبب افزایش رشد باکتریهای اسید لاکتیک در دستگاه گوارش میگردند. این میکروارگانیسمها با غیر مزدوج ساختن نمکهای صفراوی، قابلیت جذب آنها را در روده کاهش می‌دهند. در نتیجه بخش زیادی از نمکهای صفراوی به شکل مدفوع از بدن خارج می‌شوند. به دنبال این فرایند با افزایش نیاز تبدیل کلسترول به اسیدهای صفراوی در کبد از غلظت کلسترول سرم خون کاسته می‌شود (Ooi and Liong, 2010).

یکی دیگر از مکانیسم‌های پیشنهادی، کاهش قابلیت جذب روده‌ای کلسترول با افزایش ضخامت لایه‌های پوشش جدار روده است. همچنین افزایش بیان ژنی آنزیم ۳ هیدروکسی۳ متیل گلوتاریل کوآنزیم آ ردوکتاز و افزایش در پروتئین‌های عناصر پیوندی کنترل استرول نیز از مکانیسم‌های دیگر کاهش کلسترول توسط پری‌بیوتیک هاست (Gargari et al., 2013). در خصوص کاهش تری گلیسرید سرم، احتمالاً مکانیسم اصلی کاهش فعالیت‌های لیپوژنیک در کبد می‌باشد. کاهش بیان ژنی آنزیم های لیپوژنیک نظیر استیل کوآ کربوکسیلاز، آنزیم مالیک، سیترات لیپاز، گلوکز ۶ فسفات دهیدروژناز و اسید چرب سنتاز، کاتابولیسم لیپوپروتئین های غنی از تری‌گلیسرید را افزایش می‌دهد (Beylot, 2005). همچنین گلوکز نیز محرک اصلی لیپوژنز است و کاهش سطح گلوکز خون می تواند لیپوژنز را کاهش دهد (Gargari et al., 2013). در خصوص کاهش گلوکز بیان شده است که فیبرهای پری‌بیوتیکی منجر به بهبود و تعدیل سطح گلوکز خون و کاهش ترشح انسولین به واسطه ی داشتن اندیس گلیسمی پایین می‌شوند (Weickert et al., 2006).

از نظر شاخص‌های ایمنی موکوس ماهیان میزان پروتئین کل، لیزوزیم و ایمونوگلوبین کل در تیمارهای حاوی پری‌بیوتیک ایزومالتوالیگوساکارید تا سطح ۱۰ گرم بر کیلوگرم افزایش معنی‌داری داشت. تنوع در مقدار موکوس ترشح شده بر سطح پوست سبب اختلاف در مقاومت گونه‌ها در برابر پاتوژنها می گردد (Subramanian et al., 2007). سلولهای کیسه‌های شکل در موکوس ماهیان، با ترشح پروتئینهایی ماهیان را در برابر عفونتهای ناشی از انگلهای خارجی حفظ می‌کنند. لکتینها، گلیکوپروتئینها از جمله این پروتئینها هستند (Suzuki et al., 2003). افزایش پروتئین محلول موکوس تحت تأثیر محرکهای ایمنی از جمله محرک ایمنی گالاکتوالیگوساکارید در جیرهٔ غذایی ماهی قرمز (*Carassius auratus gibelio*) (Kolangi Miandare et al., 2016)، مخمر ساکارومیسس سروزیه (Sheikhzadeh et al., 2012a) و همچنین محرک ایمنی ارگوسان (Sheikhzadeh et al., 2012b) در ماهی قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) گزارش شده است که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد.

همچنین افزایش فعالیت لیزوزیم در موکوس ماهی، سرم و بافتهای سرشار از لوکوسیت گزارش شده است (Ellis, 1999). این آنزیم، یک آنزیم ضدباکتریایی بوده که پیوندهای پپتیدوگلیکان موجود در دیواره سلولی باکتریها را شکسته و در حالت کلی مولکول دفاعی مهم در سیستم ایمنی ذاتی ماهی به شمار می‌رود (Choi et al., 2008). نتایج به دست آمده حاکی از این موضوع بود که میزان فعالیت آنزیم لیزوزیم به صورت مطلوبی افزایش یافته و بیشترین سطح مربوط به بچه ماهیان تغذیه شده با جیرهٔ حاوی ۱۰گرم درکیلوگرم ایزومالتوالیگوساکارید می‌باشد. از طرفی نتایج به دست آمده از تحقیق حاضر مشابه با نتایج به دست آمده سایر محققین در خصوص افزایش فعالیت آنزیم لیزوزیم موجود در موکوس ماهیان تحت تاثیر محرکهای ایمنی پری‌بیوتیکی بود (Guardiola et al., 2015; Subramanian et al., 2007).

در تحقیقی در ارتباط با تاثیر سایر محرکهای ایمنی پری‌بیوتیکی همانند گالاکتوالیگوساکارید در جیرهٔ غذایی ماهی قرمز نشان داده شد که فعالیت لیزوزیم در ماهیان تغذیه شده با گالاکتوالیگوساکارید افزایش می یابد (Kolangi Miandare et al., 2016). همچنین Chang et al. (2013) دریافتند، استفاده از پری‌بیوتیک مانند بتاگلوکان منجر به افزایش فعالیت لیزوزیم در ماهی هامور معمولی (*Epinephelus coioides*) می‌شود و یا اینکه Guzman-Villanueva و همکاران (2014) بیان کردند استفاده از بتاگلوکان در جیره غذایی ماهی شانک سر طلایی (*Sparus aurata*) باعث افزایش ایمونوگلوبولین می‌شود و یا افزودن محرک ایمنی گالاکتوالیگوساکارید در جیرهٔ غذایی ماهی قرمز، منجر به افزایش معنی‌دار ایمونوگلوبین نسبت به گروه شاهد شد که با نتایج حاصل از مطالعهٔ کنونی همسو است.

در خصوص علت افزایش شاخص‌های ایمنی موکوس در پاسخ به پری‌بیوتیک خوراکی می‌توان به تغییر فلور باکتریایی دستگاه گوارش ماهیان توجه کرد که منجر به بهبود وضعیت سیستم ایمنی غیراختصاصی در ماهیان می‌شود (Hoseinifar et al., 2015). همچنین لازم به ذکر است که استفاده از مقدار ۲۰ گرم پری‌یوتیک گالاکتوالگیوساکارید در کیلوگرم جیره غذایی از اثرگذاری کمتری بر

In Press

شاخص های زیستی مورد مطالعه در این آزمایش برخوردار بود. در این خصوص بیان شده استفاده از پری‌بیوتیک ها با درجه پلیمرازیسیون بالا منجر به اثر سو بر باکتری‌های اسید لاکتیک در میکروبیوتای روده‌ای و به تبع آن اثر زیان بار بر میزبان می‌شود (Hoseinifar and Rufcahei, 2015).

در نهایت با توجه به نتایج بدست آمده می‌توان اظهار داشت، تحت تاثیر استفاده از جیره‌های غذایی حاوی پری‌بیوتیک ایزومالتوالیگوساکارید شاخص های رشد، تغذیه، ترکیب لاشه، بیوشیمیایی خون و ایمنی موکوس ماهیان تیلاپیای قرمز بهبود پیدا کردند که با توجه به دستیابی به بالاترین عملکرد از نظر شاخص‌های مربوطه در تیمار ۳، استفاده از ۱۰ گرم پری‌بیوتیک ایزومالتوالیگوساکارید در کیلوگرم جیره غذایی ماهی تیلاپیای قرمز جوان توصیه می‌شود.

سپاسگزاری

از مسئولین دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر به دلیل حمایت از انجام پژوهش حاضر در قالب پایان‌نامه کارشناسی ارشد کمال تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

References

Akrami, R., Ghelichi, A. and Gharaei, A. 2010. The use of prebiotics in aquaculture. 2010. *Journal of Fisheries*, *4*(1), pp111. (In Persian)

Akrami, R., Iri, Y., Rostami, H.K. and Mansour, M.R., 2013. Effect of dietary supplementation of fructooligosaccharide (FOS) on growth performance, survival, lactobacillus bacterial population and hematoimmunological parameters of stellate sturgeon (*Acipenser stellatus*) juvenile. *Fish & shellfish immunology*, *35*(4), pp.12351239. DOI: 10.1016/j.fsi.2013.07.039

Aftabgard, M., Salarzadeh, A., Mohseni, M., Rastravan, M.E., Bahri, A.H., Zorriehzahra, S.J., Najjar Lashgari, S. and Lashtoo Aghaee, G.R., 2020. The synergistic effects of BetaPlus Ultra and prebiotic oligosaccharides on growth performance, hepatosomatic index, hematological parameters, and carcass quality of Caspian trout (*Salmo caspius*). *ISFJ*, *29*(5), pp.99110. (In Persian). DOR: 20.1001.1.10261354.1399.29.5.6.2

AOAC. 1995. Association of Official Analytical Chemists.Official methods of analysis ofthe Association of Official Analytical Chemists, 16thedn. AOAC, Arlington. 331337.

Beylot, M., 2005. Effects of inulintype fructans on lipid metabolism in man and in animal models. *British Journal of Nutrition*, *93* (1), pp. 1638. DOI: 10.1079/bjn20041339

Chang, C.S., Huang, S.L., Chen, S. and Chen, S.N., 2013. Innate immune responses and efficacy of using mushroom beta-glucan mixture (MBG) on orange-spotted grouper, Epinephelus coioides, aquaculture. *Fish & shellfish immunology*, *35*(1), pp.115-125. DOI: 10.1016/j.fsi.2013.04.004

Choi, S.H., Park, K.H., Yoon, T.J., Kim, J.B., Jang Y.S. and Choe C.H., 2008. Dietary Korean mistletoe enhances cellular nonspecific immune responses and survival of Japanese eel (*Anguilla japonica*). *Fish and Shellfish Immunology*, *24*, pp. 6773. DOI: 10.1016/j.fsi.2007.08.007

Denev, S., Staykov, Y., Moutafchieva, R. and Beev, G., 2009. Microbial ecology of the gastrointestinal tract of fish and the potential application of probiotics and prebiotics in finfish aquaculture. *Journal International Aquatic Research*, *1*(1), pp. 129.DOI:10.1111/j.1749-7345.2005.tb00390.x

Delzenne, N.M. and Kok, N.N., 1999. Biochemical basis of oligofructoseinduced hypolipidemia in animal models. *Journal of Nutrition 129* (7), pp.146770. DOI: 10.1093/jn/129.7.1467S

Demigne, C., Morand, C., Levrat, M.A., Besson, C., Moundras, C. and Remesy, C., 1995. Effect of propionate on fatty acid and cholesterol synthesis and on acetate metabolism in isolated rat hepatocytes. *Brithish Journal of Nutrition 74*(2): 20919. DOI: 10.1079/bjn19950124

Ellis, A.E. 1990. Lysozyme Assays. In Techniques in Fish Immunology, SOS Publications, Fair Haven.

ElSayed, A. F., 2019. Tilapia Culture. Academic Press; second edition.

Gargari, B.P., Dehghan, P., Mirtaheri, E. and Aliasgarzadeh, A., 2013. Effects of inulin on lipid profile, inflammation and blood pressure in women with type 2 diabetes: A randomized controlled trial, *Journal of Ardabil University of Medical Sciences*, *13* (4), pp. 359370. (In Persian)

Gibson, G.R. and Roberfroid, M.B., 1995. Dietary modulation of the colonic microbiota: introducing the

In Press

concept of prebiotics. *Journal of Nutrition*, *125*(6), pp14011412. DOI: 10.1093/jn/125.6.1401

Guardiola, F.A., Dioguardi, M., Parisi, M.G., Trapani, M.R., Meseguer, J., Cuesta, A. and Esteban, M.A. 2015. Evaluation of waterborne exposure to heavy metals in innate immune defenses present on skin mucus of gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Fish and Shellfish Immunology*, *45* (1), pp.112123. DOI: 10.1016/j.fsi.2015.02.010

Guerreiro, I., Serra, C.R., Pousão-Ferreira, P., Oliva-Teles, A. and Enes, P., 2018. Prebiotics effect on growth performance, hepatic intermediary metabolism, gut microbiota and digestive enzymes of white sea bream (*Diplodus sargus*). *Aquaculture Nutrition*, *24*(1), pp.153163. DOI:10.1111/anu.12543

Guzman-Villanueva, L.T., Tovar-Ramírez, D., Gisbert, E., Cordero, H., Guardiola, F.A., Cuesta, A., Meseguer, J., Ascencio-Valle, F. and Esteban, M.A., 2014. Dietary administration of β-1, 3/1, 6-glucan and probiotic strain Shewanella putrefaciens, single or combined, on gilthead seabream growth, immune responses and gene expression. *Fish & shellfish immunology*, *39*(1), pp.34-41. DOI: 10.1016/j.fsi.2014.04.024

Haghipoor, M., Sudagar, M., Mazandarani, M. and Hoseinifar, S.H., 2015. The effects of prebiotic isomaltooligosaccharide on some growth factors, survival, and resistance to salinity stress of Common carp (*Cyprinus carpio*) fry. *Journal of Animal Environment*, *7*(3), pp. 235240. (In Persian)

Hoseinifar, S.H., Esteban, M.A., Cuesta, A. and Sun, YZ. 2015. Prebiotics and fish immune response: a review of current knowledge and future perspectives, *Reviews in Fisheries Science and Aquaculture*, *23* (4), pp.315328. https://doi.org/10.1080/23308249.2015.1052365

Hoseinifar, S.H. and Rufcahei, R. 2015. Comparative study of Caspian roach (*Rutilus rutilus caspicus*) fry gut microbiota modulation following administration of galacto and fructooligosaccharide prebiotics, *Biological Journal of Microorganism*, *4*(15), pp.135144(In Persian)

Ibrahim, M.T., Samy, H.M., Mahmoud, M.M. and Fathalla, G.M. 2013. Evaluation of Prebiotic (Isomaltooligosaccharide) as a Feed Additive on Growth Performance, Digestibility, and Intestinal Histology of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Arabian Journal of Science*, *1*(2), pp30.

Ismail, M., Wahdan, A., Yusuf, M.S., Metwally, E. and Mabrok, M., 2019. Effect of dietary supplementation with a synbiotic (Lacto Forte) on growth performance, haematological and histological profiles, the innate immune response and resistance to bacterial disease in *Oreochromis niloticu*s. *Aquaculture Research*, *50*(9), pp.25452562. DOI:10.1111/are.14212

Jobling, M., 2012. National Research Council (NRC): Nutrient requirements of fish and shrimp.

Jami, M.J., Kenari, A.A., Paknejad, H. and Mohseni, M., 2019. Effects of dietary bglucan, mannan oligosaccharide, Lactobacillus plantarum and their combinations on growth performance, immunity and immune related gene expression of Caspian trout, Salmo trutta caspius (Kessler, 1877). *Fish & shellfish immunology*, *91*, pp.202208. DOI:10.1111/are.14212

Kolangi Miandare, H., Farvardin, S., Shabani, A., Hoseinifar, S.H. and Ramezanpour, S.S. 2016. The effects of galactooligosaccharide on systemic and mucosal immune response, growth performance, and appetite related gene transcript in goldfish (*Carassius auratus gibelio*). *Fish and Shellfish Immunology*, *55*, pp. 479483. DOI: 10.1016/j.fsi.2016.06.020

Lee, C.S., Lim, C., Gatlin, D.M. and Webster, C.D. 2015. Dietary Nutrients, Additives, and Fish Health. Wiley-Blackwell.

Lotfan, M., Nazer, A.K., Ebrahimnezhad, Y. and Moghadam, M. 2009. The effects of different sources and levels of prebiotics on performance and carcass characteristics of broiler chickens. *Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources*, *16*(1A), pp. 1122. (In Persian)

Merrifield, D.L. and Ringo, E. 2014. Aquaculture Nutrition: Gut Health, Probiotics, and Prebiotics. WileyBlackwell.

Mokhtari, M., Imanpoor, M.R., Hajimoradloo, A. and Hoseinifar, S.H., 2016. Effects of bactocell probiotic and galactooligosaccharide peribiotic on the growth, survival, blood parameters, and resistance to salinity stress in treespot gourami (*Trichogaster trichopterus*). *Journal of Animal Environment*, *8*(3), pp.199206. (In Persian)

Ooi, L.G. and Liong, M.T. 2010. Cholesterollowering effects of probiotics and prebiotics: a review of in vivo and in vitro findings. *International Journal of Molecular Sciences*, *11*(6), pp. 24992522. DOI: 10.3390/ijms11062499

In Press

Sabrin Joibari, M., Qobadi, S. and Watan Dost, S. 2017. The effect of different levels of prebiotic AMAX on growth indices, survival and carcass composition in common carp fry (*Cyprinus carpio*). *Aquaculture development, 11*(1), pp 6375. DOR: 20.1001.1.23223545.1396.11.1.3.0

Safari, R., Hoseinifar, S.H., Van Doan, H. and Dadar, M. 2017. The effects of dietary Myrtle (*Myrtus communis*) on skin mucus immune parameters and mRNA levels of growth, antioxidant, and immune related genes in zebrafish (*Danio rerio*). *Fish and Shellfish Immunology, 66*, pp. 264269. DOI: 10.1016/j.fsi.2017.05.007

Sapkota, A., Sapkota, A.R., Kucharski, M., Burke, J., McKenzie, S., Walker, P. and Lawrence, R., 2008. Aquaculture practices and potential human health risks: current knowledge and future priorities. *Environment international*, *34*(8), pp.12151226. DOI:10.1016/j.envint.2008.04.009

Sheikhzadeh, N., Heidarieh, M., Karimi Pashaki, A., Nofouzi, K., Ahrab Farshbafi, M. and Akbari, M. 2012a. Hilyses, Fermented *Saccharomyces cerevisiae*, enhances the growth performance and skin nonspecific immune parameters in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish and Shellfish Immunology*, *32*(6), pp.407410. DOI:10.1016/j.fsi.2012.03.00

Sheikhzadeh, N., Karimi Pashaki, A., Nofouzi, K., Heidarieh, M. and TayefiNasrabadi, H. 2012b. Effects of dietary Ergosan on cutaneous mucosal immune response in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish and Shellfish Immunology*, *32* (3), pp.407410. DOI:10.1016/j.fsi.2011.11.028

Siwicki, A.K, 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. pp.10512.

Subramanian, S., MacKinnon, S.L. and Ross, N.W. 2007. A comparative study on innate immune parameters in the epidermal mucus of various fish species. *Comparative Biochemistry and Physiology*, *148*(3), pp.256263. DOI:10.1016/j.cbpb.2007.06.003

Suzuki, Y., Tasumi, S., Tsutsui, S., Okamoto, M. and Suetake, H. 2003. Molecular diversity of skin mucus lectins in fish. *Comparative Biochemistry and Physiology*, *136* (4), pp.723730. DOI: 10.1016/s1096-4959(03)00178-7

Torrecillas, S., Caballero, M.J., Montero, D., Sweetman, J. and Izquierdo, M., 2016. Combined effects of dietary mannan oligosaccharides and total fish oil substitution by soybean oil on E uropean sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juvenile diets. *Aquaculture Nutrition*, *22*(5), pp.10791090. DOI:10.1111/anu.12322

Weickert, M.O., Mohlig, M.A.T.T.H.I.A.S., Schofl, C., Arafat, A.M., Otto, B., Viehoff, H., Koebnick, C., Kohl, A., Spranger, J. and Pfeiffer, A.F., 2006. Cereal fiber improves wholebody insulin sensitivity in overweight and obese women. *Diabetes care*, *29*(4), pp.775780. DOI: 10.2337/diacare.29.04.06.dc05-2374

Zhang, Q., Tan, B., Mai, K., Zhana, W. and Ai, Q. 2010. Dietary administration of Bacillus (*B. licheniformis and B. subtilis*) and isomaltooligosaccharide influences the intestinal microflora, immunological parameters and resistance against *Vibrio Alginolyticus* in shrimp, *Penaeus Japonicas* (Decapoda: *Penaeeidae*). *Aquaculture research*, *42*(7), pp. 943952. DOI:10.1111/j.1365-2109.2010.02677.x

Zhou, Q.C., Buentello, J.A. and Gatlin III, D.M., 2010. Effects of dietary prebiotics on growth performance, immune response and intestinal morphology of red drum (*Sciaenops ocellatus*). *Aquaculture*, *309*(14), pp.253257. DOI:10.1016/j.aquaculture.2010.09.003.

In Press

Journal of Marine Science and Technology

***In Press* / DOI: 10.22113/JMST.2022.367844.2499**

Available Online: *http://jmst.kmsu.ac.ir*

Original Article

Effects of different levels of Isomaltooligosaccharide on growth, biochemical body composition, and mucosal immunity parameters of juvenile red tilapia (*Oreochromis mossambicus* × *Oreochromis niloticus*)

Seyed Hashem Beitalavi [1], Hamid Mohammadiazarm[*] [1], Milad Maniat [2]

1. Department of Fisheries, Faculty of Marine Natural Resources, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Khorramshahr, Iran.

2. Department of Fisheries, Iranian Fisheries organization, Khorramshahr, Khuzestan, Iran

Corresponding author: azarmhamid@gmail.com

Received: 02 November 2022 **Revise Date:** 07 November 2022 **Accepted:** 12 November 2022

DOI: 10.22113/JMST.2022.367844.2499

Abstract

In this study, in order to use prebiotics as one of the best solutions to maintain the health of farmed aquatic animals and increase their resistance against pathogenic instead of antibiotics, the effects of different levels of isomaltooligosaccharide (ISO) prebiotics on growth performance, biochemical body composition, and mucosal immunity of red tilapia (*Oreochromis mossambicus* × *Oreochromis niloticus*) were investigated. For this purpose, 300 pieces of red tilapia were randomly divided into 15 aquariums with capacity of 100 L in 5 treatments with 3 replications. Experimental treatments as described in the control treatment without ISO, first treatment: the diet containing 2.5 g/kg of ISO, second treatment: the diet containing 5 g/kg of ISO, third treatment: the diet containing 10 g/kg of ISO, and fourth treatment: the diet containing 20 g/kg of ISO. Therefore, the fish were fed ad libitum three times per day for 8 weeks. The result showed that the used prebiotic ISO improves growth and nutritional performance, body biochemical composition, and some biochemical parameters of blood serum in red tilapia. In addition, the mucosal immunity indices of fish were improved under the effect of diets containing prebiotic ISO. Among the experimental treatments, the third treatment had the best performance in terms of final weight (13.4±0.31g), food conversion factor (1.02±0.02), percentage of protein content of body (13.49±0.25), blood serum protein (4.66±0.10 gr/dl), globulin (3.23±0.02 g/dl), and mucus immune indices such as mucus protein (20.29±1.05 mg/ml), immunoglobulin (62.0±0.32 mg/ml) 7), and lysozyme activity (9.14±0.24 u/ml). Therefore, it could be concluded that the use of ISO prebiotics at the level of 1% can have beneficial effects on performance of juveniles red tilapia fish.

Key words: Red tilapia, Prebiotic, Growth, Biochemical body composition, Immunity.

Copyrights:

Copyright for this article is retained by the author(s), with publication rights granted Journal of Marine Science and Technology. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons. org/licenses/ by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

In Press