



## تأثیر جیره حاوی پریبیوتیک ایمونوژن بر تغذیه، رشد جبرانی و برخی پارامترهای خونی ماهی کوی (*Cyprinus carpio* var. Koi)، پس از دوره های گرسنگی

مرتضی بهره مند<sup>۱\*</sup>، احسان کامرانی<sup>۲</sup>، قاسم رشیدیان<sup>۳</sup>، آسیه سلیمانی راد<sup>۱</sup>

<sup>۱</sup> دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرج، باشگاه پژوهشگران و نخبگان جوان، کرج

<sup>۲</sup> گروه شیلات، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس

<sup>۳</sup> گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج

نوع مقاله:	چکیده
پژوهشی	
تاریخچه مقاله:	
دریافت: ۹۵/۰۳/۲۱	
اصلاح: ۹۵/۰۵/۳۰	
پذیرش: ۹۵/۰۶/۰۳	
کلمات کلیدی:	
ایمونوژن	این تحقیق به منظور بررسی اثرات پریبیوتیک ایمونوژن بر رشد جبرانی بچه ماهیان کوی ( <i>Cyprinus carpio</i> var. Koi) بعد از یک هفته گرسنگی انجام شد. به این منظور از ۳۰۰ عدد بچه ماهی با میانگین وزن ۳/۶۰±۰/۱۲ گرم استفاده شد. آزمایش شامل ۳ تیمار بود، گروه شاهد هیچ دوره گرسنگی را تجربه نکرد و در تمام طول تحقیق (۶۰ روز) با غذای فاقد پریبیوتیک تغذیه شد (تیمار C) و تیمار دوم (G1) و سوم (G2) که هر دو مدت یک هفته گرسنگی را تجربه کردند. اما تیمار دوم بعد از غذای حاوی ۲ گرم پریبیوتیک ایمونوژن در هر کیلوگرم جیره تغذیه شد. نتایج حاصل نشان داد که بیشترین افزایش وزن و نرخ رشد ویژه، پس از گروه شاهد به G1 تعلق داشت. کمترین ضریب تبدیل غذایی نیز به تیمار شاهد تعلق داشت. در تعداد گلبول‌های قرمز بین سه تیمار اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ( $P>0/05$ ). بیشترین میزان هموگلوبین و هماتوکریت در گروه شاهد و بیشترین تعداد گلبول سفید در G1 مشاهده شد. کمترین میزان نوتروفیل و بیشترین میزان لنفوسیت در G1 مشاهده شد. بر اساس نتایج حاصل اگرچه افزودن ۲ گرم پریبیوتیک ایمونوژن در هر کیلوگرم جیره نتوانست میزان رشد در بچه ماهیان را به اندازه گروه شاهد افزایش دهد، اما در مقایسه با گروه سوم که غذای فاقد پریبیوتیک را بعد از دوره گرسنگی دریافت کرده بود، نتوانست نتایج مطلوب‌تری را در زمینه رشد حاصل کند، به ویژه اینکه از نظر افزایش میزان ایمنی بدن، بهترین نتیجه در تیمار دوم مشاهده شد.
دوره گرسنگی	
رشد جبرانی	
ماهی کوی	

### مقدمه

میزان و سرعت رشد و همچنین مقاومت به بیماری‌ها در آبیان پرورشی، از مسائل بسیار مهم و مورد توجه هستند (Li and Gatlin, 2005). از جمله عواملی که در بحث مقاومت به بیماری‌ها در آبیان بسیار با اهمیت می باشد، افزایش میزان قدرت سیستم ایمنی بدن آبی است. بعلاوه، موفقیت در امر پرورش ماهی به کاهش هزینه های تولید بستگی دارد و پرهزینه ترین بخش در آبی پروری هزینه های مربوط به تغذیه آبیان است. واضح است که غذاهای بیش از اندازه در آبی پروری ممکن است به

\* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: [bahremand.m@ut.ac.ir](mailto:bahremand.m@ut.ac.ir)

هدررفت غذا در استخرها منجر شود که از عواقب آن افزایش هزینه های تولید و آلودگی محیط آبی است. از طرفی غذادهی کمتر از حد نیاز نیز منجر به رشد ضعیف و مرگ و میر بالای ماهیان و ضرر و زیان در آبی پروری خواهد شد (Eroldogan *et al.*, 2006). از جمله روش های مؤثر در مقابله با این مسئله می توان به بهبود جیره های غذایی فرموله شده از طریق استفاده از مکمل های غذایی مانند پروبیوتیک ها، پریبیوتیک ها و سین بیوتیک ها (Hoseinifar *et al.*, 2011)، و استفاده از دوره های گرسنگی و غذادهی مجدد (Eslamloo *et al.*, 2014)، اشاره نمود. در موارد بسیاری ثابت شده است که استفاده از پریبیوتیک ها منجر به افزایش رشد آبی می شود (Fooks and Gibson, 2002).

پریبیوتیک ها مواد غذایی غیرقابل هضمی هستند که از طریق تحریک رشد و فعالیت یک یا تعداد محدودی از باکتری های موجود در روده اثرات سودمندی برای میزبان داشته و می توانند سلامتی میزبان را بهبود بخشند (Hanley *et al.*, 1995). عناصر غذایی که به عنوان پریبیوتیک طبقه بندی می شوند باید دارای ویژگی هایی باشند، از جمله آن که نباید در بخش های فوقانی دستگاه گوارش هضم و جذب شوند، سبب تحریک میکروفلور روده در جهت تولید ترکیبات سالم شوند و توسط یک یا تعدادی از باکتری های مفید روده به صورت گزینشی تخمیر شوند (Fooks and Gibson, 2002). کربوهیدرات ها، مهم ترین و ضروری ترین مواد غذایی برای باکتری ها می باشند، به همین دلیل اکثر ترکیبات پریبیوتیکی از کربوهیدرات ها هستند (Kolida *et al.*, 2002). بتاگلوکان ها (Skjermo *et al.*, 2006) و مانان الیگوساکاریدها (Salze *et al.*, 2008)، از جمله مهم ترین پریبیوتیک ها محسوب می شوند. پریبیوتیک تجاری ایمونوژن (Immunogen)، از دیواره سلولی مخمر آب جو (*Saccharomyces cerevisiae*) مشتق شده و شامل حدود ۳۰ درصد بتاگلوکان، حدود ۱۸ درصد مانان الیگوساکارید، ۳۲ درصد پروتئین، ۸ درصد خاکستر، ۸ درصد رطوبت و ۱/۴ درصد فیبر می باشد. بتاگلوکان ها و مانان الیگوساکاریدها پلی ساکاریدهایی متشکل از واحدهای گلوکز هستند که از دیواره سلولی مخمرها، قارچ ها و جلبک های بزرگ به دست می آیند (Salze *et al.*, 2008; Skjermo *et al.*, 2006).

استفاده از دوره های گرسنگی و غذادهی مجدد موجب القای پاسخ رشد جبرانی می شود. رشد جبرانی به منزله جهشی در رشد است که در ادامه برگشت شرایط مطلوب، بعد از دوره کاهش رشد حاصل می شود (Jobling, 2010). پاسخ رشد جبرانی با فاکتورهای مختلفی از قبیل گونه آبی، سن، طول دوره گرسنگی و وضعیت بلوغ جانور، تغییر می کند (Heide *et al.*, 2006; Ryan, 1990).

با توجه به منابع موجود، تاکنون هیچ گونه مطالعه مدونی در زمینه بررسی تاثیر استفاده از پریبیوتیک ها بر رشد جبرانی ماهی کوی، که وارثه رنگی ماهی کپور معمولی با نام علمی (*Cyprinus carpio var. Koi*) و یکی از مهم ترین ماهیان زینتی خانواده کپورماهیان محسوب می شود (Haniffa *et al.*, 2007)، صورت نگرفته است. بنابراین هدف از این پژوهش به عنوان اولین مطالعه در نوع خود، ارزیابی تأثیر پریبیوتیک ایمونوژن بر شاخص های رشد جبرانی، بازماندگی، برخی شاخص های تغذیه ای و پارامترهای خونی بعد از یک هفته گرسنگی در بچه ماهیان کوی می باشد.

## مواد و روش ها

این پژوهش در بهار سال ۱۳۹۴، به مدت ۶۰ روز در یکی از مراکز تکثیر و پرورش ماهیان زینتی شهرستان مشهد انجام پذیرفت. تعداد ۳۰۰ عدد بچه ماهی کوی (*Cyprinus carpio*) با میانگین وزن  $0.06 \pm 0.037$  گرم از یکی از کارگاه های تکثیر محلی تهیه و به محل آزمایش منتقل گردید. پس از سازگاری اولیه ماهیان با شرایط دمایی کارگاه و عادت دهی آن ها با جیره مورد استفاده در آزمایش به مدت یک هفته، تعداد ۲۷۰ عدد بچه ماهی پس از زیست سنجی و اندازه گیری طول ( $0.9 \pm 0.52/36$  میلی متر) و وزن

( $3/6 \pm 0/12$  گرم)، به طور کاملاً تصادفی در ۹ مخزن شیشه‌ای (هر یک با ظرفیت آگیری ۲۴۰ لیتر) ذخیره سازی شدند. طرح آزمایشی مورد استفاده در این پژوهش، طرح کاملاً تصادفی و شامل سه تیمار (هر یک در سه تکرار) بود. تیمار اول (گروه شاهد، C) که هیچ دوره گرسنگی را تجربه نکرد و در تمام طول دوره پرورش با غذای معمولی تغذیه شد. تیمار دوم (G1) و سوم (G2) هر دو به مدت یک هفته گرسنگی را تجربه کردند. تیمار دوم بعد از گذراندن دوره گرسنگی با غذای حاوی ۲ گرم در کیلوگرم جیره پریبیوتیک ایمونوژن تغذیه شد (مقدار بهینه این پریبیوتیک، قبلاً در آزمایشی که توسط نویسندگان انجام گرفته بود، مشخص شده بود). اما تیمار سوم بعد از گذراندن دوره گرسنگی با غذای معمولی (فاقد پریبیوتیک) تغذیه شد.

ترکیبات مورد استفاده و آنالیز تقریبی جیره مورد آزمایش در این پژوهش در جدول ۱ آورده شده است. جهت تهیه جیره آزمایشی حاوی پریبیوتیک ایمونوژن، به غذای مذکور مقدار ۲ گرم در کیلوگرم جیره، پریبیوتیک ایمونوژن (ساخت شرکت ICC آمریکا (International Commerce Corporation, USA)) اضافه گردید. تعیین ترکیب جیره در آزمایشگاه با استفاده از روش استاندارد AOAC (۱۹۹۰) انجام شد. به این معنی که پروتئین خام با استفاده از دستگاه کج‌دال، چربی خام به شیوه سوکسله، رطوبت با استفاده از آون در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت و مقدار خاکستر با استفاده از کوره الکتریکی در دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ ساعت اندازه‌گیری شد.

در طول دوره آزمایش، غذاهای به بچه ماهیان کوی بر اساس درصد وزن بدن (۳ درصد) و در سه نوبت (ساعات ۸، ۱۲ و ۱۸) انجام گرفت (Takeuchi *et al.*, 2002). تمامی شرایط فیزیکی و شیمیایی آب مخازن (دما، میزان اکسیژن، pH) در طول دوره آزمایش به صورت روزانه کنترل و در سطح بهینه نگهداری می‌شد. در پایان دوره ۶۰ روزه آزمایش، پس از گذشت ۲۴ ساعت از زمان قطع تغذیه، تمام ماهیان صید و توزین شدند. به منظور سنجش پارامترهای خونی، در انتهای آزمایش از هر تکرار ۳ عدد ماهی به صورت تصادفی صید و پس از بیهوشی با پودر گل میخک با دوز یک گرم در لیتر آب، خون‌گیری از محل ساقه دمی به عمل آمد (Svobodova and Vykusova, 1991). نمونه‌های خون به لوله‌های هپارینه منتقل و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. شمارش تعداد گلبول‌های قرمز و سفید (لنفوسیت، مونوسیت، نوتروفیل و ائوزینوفیل) با استفاده از روش هماتوسیتومتر نئوبار (Stoskopf, 1993)، میزان هماتوکریت خون با استفاده از روش میکروهاتوکریت (Rehulka *et al.*, 2011) و میزان هموگلوبین با استفاده از کیت و دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۵۴۰ نانومتر (Blaxhall and Daisley, 1973)، مورد سنجش قرار گرفت. برای ارزیابی شاخص‌های مربوط به رشد و تغذیه ماهی‌ها از فرمول‌های زیر استفاده شد (Hevroy *et al.*, 2005; Ai *et al.*, 2006):

وزن اولیه (گرم) - وزن نهایی (گرم) = افزایش وزن بدن

$100 \times \left[ \frac{\text{طول دوره آزمایش (لگاریتم طبیعی Ln) وزن اولیه - لگاریتم طبیعی Ln وزن نهایی}}{\text{طول دوره آزمایش (لگاریتم طبیعی Ln) وزن نهایی}} \right] = \text{نرخ رشد ویژه (درصد در روز)}$

$100 \times \left[ \frac{\text{افزایش وزن ماهی (گرم)}}{\text{طول ماهی (سانتی متر)}} \right] = \text{فاکتور وضعیت}$

افزایش وزن ماهی (گرم) / غذای خورده شده (گرم) = ضریب تبدیل غذایی

پروتئین مصرفی (گرم) / وزن به دست آمده (گرم) = نرخ کارایی پروتئین

$100 \times \left[ \frac{\text{تعداد ماهیان در ابتدای دوره}}{\text{تعداد ماهیان در انتهای دوره}} \right] = \text{نرخ بقا (درصد)}$

برای تجزیه و تحلیل داده‌ها، در ابتدا نرمال بودن داده‌ها به وسیله آزمون Shapiro-Wilk مورد ارزیابی قرار گرفت. تجزیه و تحلیل بر روی داده‌های مربوط به تغییرات معیارهای رشد، فاکتورهای تغذیه‌ای و خونی ماهیان از طریق آزمون تجزیه واریانس یک طرفه (ANOVA) و برای مقایسه میانگین بین تیمارها از آزمون چنددامنه‌ای دانکن استفاده شد (Zar, 2010). در ابتدا اطلاعات

خام در محیط Microsoft Excel 2010 مورد پردازش و سپس وجود یا عدم وجود اختلاف معنی دار در سطح ۹۵ درصد اطمینان با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۱ مورد سنجش قرار گرفت.

جدول ۱. ترکیب شیمیایی و آنالیز تقریبی جیره آزمایشی مورد استفاده برای بچه ماهیان کوی

میزان (درصد)	اجزای تشکیل دهنده
۵	پودر ماهی کیلکا (پروتئین ۵۷/۳۵ درصد)
۵	گلو تن ذرت
۲۴	آرد گندم
۳	روغن ماهی کیلکا
۱/۵	روغن گیاهی
۳۶	آرد سویا
۳	سیتین سویا
۰/۲۱	کولین کلراید
۰/۱۹	متیونین
۰/۲۵	مکمل معدنی*
۰/۵	مکمل ویتامینی*
۰/۱	ضد قارچ
۰/۱۳	ویتامین C پایدار
۰/۲	همبند (ملاس)
میزان (درصد)	نوع ترکیب
۳۶/۲۳	پروتئین خام
۵	چربی خام
۱۱/۹۵	رطوبت
۹/۱۵	خاکستر

\* مکمل معدنی مورد استفاده شامل منگنز، آهن، روی، مس، ید، سلنیوم و کولین کلراید، و مکمل ویتامینی شامل ویتامین های A, E, D3, B1, B2, B3, B5, B6, B12 و K می باشد.

## نتایج

نتایج حاصل از اندازه گیری افزایش وزن بدن نشان داد که در انتهای دوره آزمایش، بیشترین میزان افزایش وزن بدن ( $7/93 \pm 0/06$  گرم) در گروه شاهد و کم ترین میزان آن ( $2/81 \pm 0/15$  گرم) در تیمار سه مشاهده شد (جدول ۲). به طور مشابه، بیشترین ( $91/63 \pm 0/39$  میلی متر) و کم ترین ( $64/41 \pm 0/81$  میلی متر) میزان طول نهایی نیز به ترتیب در گروه شاهد و تیمار سه مشاهده شد ( $P < 0/05$ ). نتایج حاصل از اندازه گیری نرخ رشد ویژه نشان داد که بیشترین میزان نرخ رشد ویژه ( $0/76 \pm 0/00$  درصد در روز) به گروه شاهد و کم ترین میزان آن ( $0/41 \pm 0/01$  درصد در روز) به تیمار سه تعلق داشت (جدول ۲). اندازه گیری فاکتور وضعیت نشان داد که بیشترین ( $1/99 \pm 0/21$  درصد) و کم ترین ( $1/44 \pm 0/00$  درصد) میزان آن به ترتیب در تیمار سه و گروه شاهد مشاهده شد. البته از این حیث اختلاف معنی داری بین گروه شاهد و تیمار دو مشاهده نشد ( $P > 0/05$ ). همچنین در مجموع در کل دوره پرورش تلفاتی در بین تیمارهای تحت بررسی مشاهده نشد (جدول ۲).

جدول ۲. شاخص های رشدی و تغذیه ای اندازه گیری شده در تیمارهای مختلف (مقدار  $\pm$  انحراف معیار)

تیمار			شاخص
تیمار ۱ (C)	تیمار ۲ (G1)	تیمار ۳ (G2)	
۱۱/۵۳±۰/۱۰ <sup>c</sup>	۷/۹۱±۰/۱۷ <sup>b</sup>	۶/۴۱±۰/۱۲ <sup>a</sup>	وزن نهایی (گرم)
۹۱/۶۳±۰/۳۹ <sup>c</sup>	۷۹/۹۰±۰/۲۵ <sup>b</sup>	۶۴/۴۱±۰/۸۱ <sup>a</sup>	طول نهایی (میلی متر)
۷/۹۳±۰/۰۶ <sup>c</sup>	۴/۲۳±۰/۱۸ <sup>b</sup>	۲/۸۱±۰/۱۵ <sup>a</sup>	افزایش وزن بدن (گرم)
۲۰۷/۹۹±۰/۶۰ <sup>c</sup>	۱۲۱/۳۱±۰/۵۰ <sup>b</sup>	۸۸/۵۳±۰/۱۵ <sup>a</sup>	درصد افزایش وزن بدن
۰/۷۶±۰/۰۰ <sup>c</sup>	۰/۵۲±۰/۰۱ <sup>b</sup>	۰/۴۱±۰/۰۱ <sup>a</sup>	نرخ رشد ویژه (درصد در روز)
۱/۴۴±۰/۰۰ <sup>a</sup>	۱/۵۰±۰/۰۰ <sup>a</sup>	۱/۹۹±۰/۲۱ <sup>b</sup>	فاکتور وضعیت
۲/۲۱±۰/۱۲ <sup>a</sup>	۲/۵۴±۰/۱۰ <sup>b</sup>	۳/۱۴±۰/۱۳ <sup>c</sup>	ضریب تبدیل غذایی
۱/۳۴±۰/۰۱ <sup>c</sup>	۱/۱۶±۰/۰۴ <sup>b</sup>	۰/۹۴±۰/۰۴ <sup>a</sup>	نسبت کارایی پروتئین (گرم/گرم)
۱۰۰±۰/۰۰ <sup>a</sup>	۱۰۰±۰/۰۰ <sup>a</sup>	۱۰۰±۰/۰۰ <sup>a</sup>	نرخ بقا (درصد)

اعدادی که با حروف یکسان نشان داده شده اند تفاوت معنی دار ندارند ( $P>0/05$ )

نتایج حاصل از محاسبه ضریب تبدیل غذایی نشان داد که کم ترین میزان ضریب تبدیل غذایی ( $2/21 \pm 0/12$ ) به تیمار شاهد و بیشترین میزان آن ( $3/14 \pm 0/13$ ) به تیمار سه تعلق داشت. همچنین نتایج حاصل از ارزیابی نسبت کارایی پروتئین نشان داد که بیشترین ( $1/34 \pm 0/01$ ) و کم ترین ( $0/94 \pm 0/04$ ) میزان این شاخص به ترتیب در گروه شاهد و تیمار سه مشاهده شد (جدول ۲).

نتایج مربوط به آنالیز پارامترهای خونی در تیمارهای مختلف در جدول ۳ آورده شده است. تعداد گلبول های قرمز در ماهیان گروه شاهد و سایر گروه ها تفاوت معنی داری نداشت ( $P>0/05$ ). البته بیشترین تعداد گلبول قرمز ( $1012300 \pm 51065$ ) عدد در هر میلی متر مکعب) در بین تیمارها، در گروه شاهد مشاهده شد. در مورد مقدار هموگلوبین، بین تیمار دو و سه اختلاف معنی داری دیده نشد، ولی بین گروه شاهد و دو تیمار دیگر تفاوت معنی دار مشاهده شد ( $P<0/05$ ). بیشترین مقدار هموگلوبین ( $9/74 \pm 0/01$ ) گرم بر دسی لیتر) به گروه شاهد تعلق داشت. نتایج حاصل نشان داد که بین تیمار دو و سه از لحاظ میزان هماتوکریت نیز اختلاف معنی داری وجود نداشت، البته بین تیمارهای آزمایشی و گروه شاهد از این حیث اختلاف معنی دار مشاهده شد. بالاترین میزان هماتوکریت ( $30/00 \pm 1/60$ ) نیز در گروه شاهد دیده شد (جدول ۳).

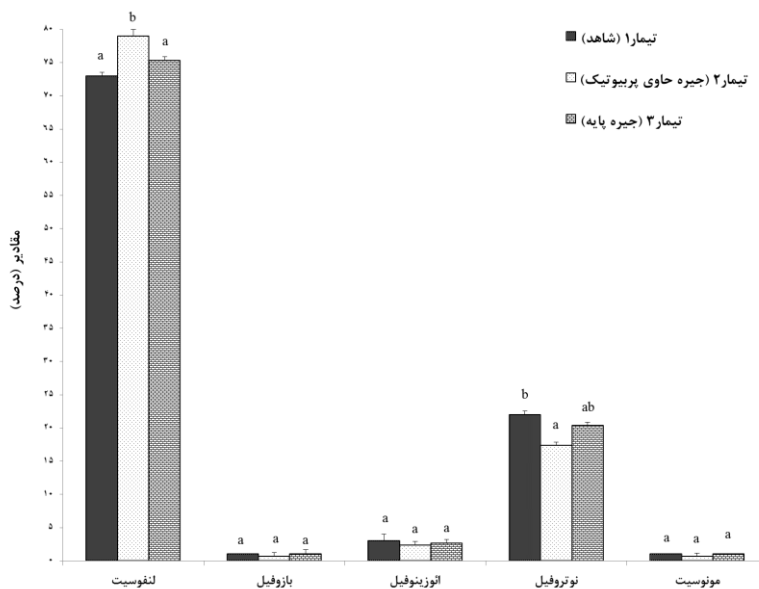
جدول ۳. مقایسه پارامترهای خونی اندازه گیری شده در بچه ماهیان کوی در تیمارهای مختلف (مقدار  $\pm$  انحراف معیار)

تیمار			پارامترهای خونی
تیمار ۱ (C)	تیمار ۲ (G1)	تیمار ۳ (G2)	
۱۰۱۲۳۰۰±۵۱۰۶۵ <sup>a</sup>	۱۰۰۹۴۰۰±۴۳۱۵۵ <sup>a</sup>	۹۹۹۸۰۰±۳۹۷۴۵ <sup>a</sup>	گلبول قرمز (تعداد در میلی متر مکعب)
۹/۷۴±۰/۰۱ <sup>b</sup>	۹/۵۶±۰/۰۳ <sup>a</sup>	۹/۵۹±۰/۰۳ <sup>a</sup>	هموگلوبین (گرم بر دسی لیتر)
۳۰/۰۰±۱/۶۰ <sup>b</sup>	۲۲/۰۰±۱/۱۰ <sup>a</sup>	۲۳/۰۰±۱/۲۰ <sup>a</sup>	هماتوکریت (درصد)
۱۱۴۳۰±۴۹۰ <sup>a</sup>	۱۳۶۹۰±۵۵۰ <sup>b</sup>	۱۱۰۸۰±۷۴۰ <sup>a</sup>	گلبول سفید (تعداد در میلی متر مکعب)

اعدادی که با حروف یکسان نشان داده شده اند تفاوت معنی دار ندارند ( $P>0/05$ )

نتایج حاصل از ارزیابی تعداد گلبول های سفید نشان داد که تنها تیمار دو با سایر تیمارها از این حیث اختلاف معنی دار داشت. بیشترین تعداد گلبول سفید ( $13690 \pm 550$ ) عدد) نیز در تیمار دو مشاهده شد. در نتایج حاصل از شمارش افتراقی گلبول های سفید، اختلاف معنی داری در بین تیمارها از حیث درصد بازوفیل، درصد ائوزینوفیل و درصد مونوسیت مشاهده نشد ( $P>0/05$ ).

در بررسی درصد نوتروفیل، بین تیمارها اختلاف معنی دار وجود داشت به این نحو که بیشترین ( $22/00 \pm 0/57$  درصد) و کم‌ترین ( $17/33 \pm 0/57$  درصد) میزان آن به ترتیب به گروه شاهد و تیمار دو تعلق داشت. شمارش افتراقی تعداد گلبول‌های سفید همچنین نشان داد که بین تیمار دو و سایر تیمارها از لحاظ درصد لنفوسیت اختلاف معنی دار وجود داشت، به این ترتیب که بیشترین میزان لنفوسیت ( $79/00 \pm 1/00$  درصد) در تیمار دو و کم‌ترین میزان آن ( $73/00 \pm 0/57$  درصد) در گروه شاهد مشاهده شد. بین تیمار سه و گروه شاهد از این حیث اختلاف معنی داری مشاهده نشد (شکل ۱).



شکل ۱. شمارش افتراقی گلبول‌های سفید، در بین تیمارهای مختلف آزمایشی در بچه ماهیان کوی

## بحث

در بررسی اثر جیره حاوی پریبیوتیک ایمونوژن و دوره‌های گرسنگی بر رشد جبرانی ماهی کوی، نتایج نشان داد که تاثیر تغذیه مجدد با جیره حاوی پریبیوتیک ایمونوژن در سطح ۲ گرم در کیلوگرم جیره بعد از یک هفته دوره گرسنگی با افزایش وزن نهایی بدن، طول نهایی، درصد افزایش وزن بدن و نرخ رشد ویژه معنی دار بود و بیشترین میزان این پارامترها در تیمار شاهد و کمترین میزان در تیمار ۳ که بعد از دوره گرسنگی با جیره پایه تغذیه شده بود، مشاهده شد. بسیاری از ماهیان در طول زندگی خود دوره‌های گرسنگی طولانی یا کوتاه مدت را سپری می‌کنند. واکنش در مقابل دوره‌های گرسنگی در گونه‌های مختلف ماهیان متفاوت است. ماهی طی دوره محدودیت تغذیه، ذخایر مواد مغذی بدن خود را مصرف می‌کند. در زمان تغذیه مجدد پدیده رشد جبرانی وارد عمل می‌شود و نرخ رشد افزایش می‌یابد. این پدیده به مواردی همچون گونه ماهی، سن ماهی، مدت گرسنگی و نوع غذا در تغذیه مجدد بستگی دارد (Heide *et al.*, 2006). به عنوان مثال، Heide و همکاران (۲۰۰۶)، نشان دادند که حداکثر مدت زمان دوره گرسنگی قابل جبران (در رشد) در ماهی هالیبوت اقیانوس اطلس (*Hippoglossus hippoglossus*)، ۳۲ روز می‌باشد. Abolfathi (۲۰۱۰)، با بررسی اثرات گرسنگی و تغذیه مجدد در ماهی کلمه (*Rutilus rutilus caspicus*) نشان داد که شاخص‌های رشدی در این ماهی پس از دوره‌های گرسنگی، قابل جبران می‌باشد. در مطالعه Taheri و Aliasghari (۲۰۱۲)، بر روی کلمه، گروه شاهد دارای بیشترین درصد افزایش وزن، نرخ رشد روزانه و نرخ رشد ویژه و کمترین ضریب چاقی بود، که با نتایج حاصل از این مطالعه مطابقت دارد. در اغلب موارد که تغذیه مجدد قادر بود رشد از دست رفته را به طور کامل جبران کند، دوره‌های

گرسنگی و رشد جبرانی طولانی بودند. بررسی‌های انجام شده روی کپور ماهیان نشان داده است که فرآیند رشد جبرانی ۶ تا ۱۲ روز پس از آغاز تغذیه مجدد پدیدار می‌شود (Wieser *et al.*, 1992) و در اغلب موارد، جبران کامل رشد از دست رفته ۲ تا ۴ هفته به طول می‌انجامد و عوامل محیطی همچون دما نیز در این امر موثر هستند (Ali *et al.*, 2003). بنابراین با افزایش مدت غذادهی مجدد، احتمال تقویت پدیده رشد جبرانی بیشتر می‌شود. از این رو می‌توان بیان داشت که دوره‌های کوتاه مدت گرسنگی و تغذیه مجدد، نمی‌توانند شرایط لازم را برای پدیده رشد جبرانی فراهم سازند. دلیل پایین تر بودن میزان شاخص‌های رشدی در تیمار دوم نسبت به تیمار شاهد در پژوهش حاضر نیز می‌تواند به همین موضوع ارتباط داشته باشد. Mohajer Esterabadi و همکاران (۲۰۱۰)، نشان دادند که استفاده از سطوح مختلف پریبیوتیک ایمونوژن در رژیم غذایی فیل ماهی (*Huso huso*) سبب افزایش معنی‌دار پارامترهای رشد (وزن، طول، درصد افزایش وزن بدن و ضریب چاقی) نسبت به گروه شاهد می‌شود که با نتایج حاصل از مقایسه تیمار ۲ و ۳ (تیمارهای با شرایط یکسان، یکی با جیره حاوی ایمونوژن و دیگری فاقد آن) در این تحقیق مطابقت دارد. Rostami و Amirkolaie (۲۰۱۵)، گزارش نمودند که استفاده از میزان ۵ گرم ایمونوژن در هر کیلوگرم جیره، می‌تواند سبب افزایش معنی‌دار در عملکرد رشد ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) شود.

در مطالعه حاضر، کمترین مقدار ضریب تبدیل غذایی مربوط به تیمار شاهد و بیشترین مقدار مربوط به تیمار ۳ بود. Amirkolaie و Rostami (۲۰۱۵)، نشان دادند که ماهیان کپور تغذیه شده با ایمونوژن، نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌دار در میزان ضریب تبدیل غذایی داشتند. نتایج مشابهی نیز در مطالعه Mohajer Esterabadi و همکاران (۲۰۱۰)، بر روی فیل ماهی به دست آمد. اگرچه این نتایج با نتیجه حاصل از پژوهش حاضر مطابقت ندارد، اما می‌توان این عدم تطابق نتایج را به وجود دوره گرسنگی در این پژوهش ارتباط داد و نه به استفاده از ایمونوژن. بازماندگی یکی از پارامترهای مهم در آبی پروری است و می‌تواند تحت تأثیر دوره‌های گرسنگی قرار گیرد. در اغلب موارد، ماهیانی که برای مدت کوتاه تحت تأثیر دوره‌های گرسنگی قرار می‌گیرند، بازماندگی بالایی دارند، اما اگر دوره گرسنگی طولانی شود، مرگ و میر افزایش می‌یابد. در این تحقیق، هیچ اختلاف معنی‌داری در نرخ بازماندگی بین گروه کنترل و تیمارهای مختلف مشاهده نشد و کلیه تیمارها از بازماندگی کامل برخوردار بودند که می‌تواند به دلیل کوتاه بودن دوره‌های گرسنگی باشد. در مطالعه Taheri و Aliasghari (۲۰۱۲)، بر روی کلمه نیز اختلاف معنی‌داری در بازماندگی ماهیان مشاهده نشد، که با نتایج حاصل از پژوهش حاضر مطابقت دارد.

یکی از شاخص‌های مهم و قابل اطمینان در بررسی وضعیت سلامت و فیزیولوژی ماهیان، سنجش شاخص‌های خونی آن‌ها می‌باشد که تحت تأثیر تغذیه، عوامل محیطی، سن، جنس و سایر موارد فیزیولوژیک می‌باشد (Gazerani Farahani, 2009). در مطالعه حاضر در بررسی تغییرات شاخص‌های هماتولوژی در بچه ماهیان کوی در مقابل تأثیر پریبیوتیک ایمونوژن و دوره گرسنگی، گلبول قرمز در بین سه تیمار اختلاف معنی‌داری را نشان نداد، ولی بیشترین مقدار در تیمار شاهد و کمترین مقدار در تیمار ۲ مشاهده شد. افزایش غلظت هموگلوبین بر قابلیت انتقال گازهای تنفسی در خون، بازده قلب و افزایش وزن ماهی موثر است (Gazerani Farahani, 2009). مقدار هموگلوبین در گروه شاهد اختلاف معنی‌داری را با دو تیمار دیگر نشان داد، که این امر نشان دهنده برتری وضعیت تنفسی در گروه شاهد در مقایسه با دو تیمار دیگر بود. هماتوکریت به عنوان یک شاخص مهم و مفید و در عین حال ساده و سریع در ارزیابی خونی است. در مطالعه حاضر، بیشترین میزان هماتوکریت نیز در گروه شاهد مشاهده شد. Welker و همکاران (۲۰۰۷)، تأثیر پریبیوتیک مانان الیگوساکارید را بر روی گربه ماهی روگامی (*Ictahurus punctatus*) مورد ارزیابی قرار دادند و عنوان کردند که در پارامترهای خون شناسی ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی پریبیوتیک مانان الیگو ساکارید اختلافی نسبت به تیمار شاهد مشاهده نشد که برخلاف نتایج حاصل از این مطالعه می‌باشد. نوع و ترکیب شیمیایی پریبیوتیک مورد آزمایش، نوع گونه، عدم استفاده از دوره‌های گرسنگی، مدت زمان آزمایش، و شرایط پرورش را می‌توان از جمله مهم‌ترین دلایل این اختلاف نتیجه عنوان نمود.

تعداد گلبول‌های سفید و ترکیب آن از جمله لنفوسیت‌ها، نوتروفیل‌ها، مونوسیت‌ها از شاخص‌های مهم سلامتی ماهی و یکی از بخش‌های اصلی سیستم ایمنی غیراختصاصی بدن هستند (Ahmadifar *et al.*, 2009). در این مطالعه بیشترین میزان گلبول سفید و لنفوسیت، که به عنوان سدهای دفاعی بدن مطرح می‌باشند، در تیمار دو مشاهده شد. این موضوع نشان‌دهنده افزایش تحریک سیستم ایمنی بچه ماهیان تغذیه شده با پریبیوتیک ایمونوژن است. به نظر می‌رسد اثر پریبیوتیک ایمونوژن در افزایش تحریک و تقویت سیستم ایمنی ماهی به واسطه فعالیت ضد میکروبی در مقابل عوامل بیماری‌زا و تاثیر در افزایش پاسخ ایمنی بدن با تاثیر بر تعداد گلبول‌های سفید می‌باشد. افزایش تعداد گلبول‌های سفید در گروهی که با ایمونوژن تغذیه شدند، احتمالاً به بتاگلوکان موجود در ایمونوژن ارتباط دارد، چرا که بتاگلوکان می‌تواند گیرنده ویژه‌ای را بر روی گلبول‌های سفید تشخیص دهد. زمانی که گیرنده توسط گلوکان‌ها اشغال باشد، فعالیت گلبول‌های سفید در احاطه کردن، کشتن و هضم باکتری‌های بیماری‌زا بیش‌تر می‌شود (Andrews *et al.*, 2009). Ebrahimi و همکاران (۲۰۱۲)، با افزودن ایمونوژن به جیره غذایی ماهیان کپور معمولی انگشت قد، شاهد افزایش تعداد گلبول‌های سفید خون آنها بودند که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد. Amirkolaie و Rostami (۲۰۱۵)، گزارش نمودند که افزودن ایمونوژن به جیره غذایی کپور معمولی، تاثیر معنی‌داری در تعداد گلبول‌های سفید آن ندارد، که بر خلاف نتایج این مطالعه می‌باشد. Razeghi-Mansour و همکاران (۲۰۱۲)، با ارزیابی جیره‌های حاوی سطوح مختلف پریبیوتیک مانان الیگوساکارید تفاوت معنی‌داری در پارامترهای خون‌شناسی فیل ماهیان جوان پرورشی مشاهده نکردند که با نتایج این پژوهش مطابقت ندارد. دلیل عمده این عدم تطابق نتایج را می‌توان تفاوت در ترکیب شیمیایی ایمونوژن و مانان الیگوساکارید دانست، چرا که ایمونوژن علاوه بر مانان الیگوساکارید، بتاگلوکان و مواد دیگری نیز در ترکیب خود دارد که سبب می‌شود تاثیر متفاوتی از اجزای تشکیل‌دهنده خود به صورت مجزا داشته باشد (Mohajer Esterabadi *et al.*, 2012). Andrews و همکاران (۲۰۰۹) با افزودن پریبیوتیک مانان الیگوساکارید به جیره ماهیان انگشت قد گونه *Labeo rohita* افزایش معنی‌داری را در میزان گلبول سفید، گلبول قرمز و هموگلوبین در ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی پریبیوتیک مانان الیگوساکارید در مقایسه با تیمار شاهد مشاهده نمودند.

در مجموع با توجه به نتایج مطالعه حاضر می‌توان چنین استنباط نمود که اگرچه استفاده از پریبیوتیک ایمونوژن در جیره غذایی تا حد زیادی سبب حصول رشد جبرانی در بچه ماهیان کوی شد، اما در این دوره کوتاه، رشد جبرانی به حدی نبود که بتواند به گروه شاهد رسیده و بیشترین میزان رشد در گروه شاهد مشاهده شد. در عین حال مقایسه دو تیمار ۲ و ۳، که هر دو یک هفته گرسنگی را تجربه کردند، نشان داد که افزودن ایمونوژن می‌تواند تاثیر معنی‌داری در پارامترهای تغذیه و رشد بگذارد. البته در مورد پارامترهای خونی، نتایج نشان داد که افزودن ۲ گرم پریبیوتیک ایمونوژن در هر کیلوگرم جیره می‌تواند سطح ایمنی بدن بچه ماهیان را به طور معنی‌داری حتی نسبت به گروه شاهد، افزایش دهد که می‌تواند به عنوان یک مکمل مناسب برای افزودن به جیره توصیه شود.

## منابع

- Abolfathi, M. 2010. Effect of starvation and refeeding on digestive enzyme activities (Trypsin, chymotrypsin, alpha-amylase and alkaline phosphatase) in *Rutilus rutilus*. MSc thesis. Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources. 80 p. (in Persian).
- Ahmadifar, E., Jalali, M.A., Sudagar, M., Azari Takami, G.h., Mohammadi Zaraj Abad, A. 2009. Effects of AquaVac Ergosan on growth performance, survival and haematological factors in beluga (*Huso huso*) juvenile. Gorgan Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources. 16: 1. 72-80. (in Persian).
- Ai, Q., Mai, K., Tan, B., Xu, W., Duan, Q., Ma, H., Zhang, L. 2006. Replacement of fish meal by meat and bone meal in diets for large Yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*). Aquaculture. 260: 255-263.

- Ali, M., Nicieza, A., Wootton, R.J. 2003. Compensatory growth in fishes: a response to growth depression. *Fish and Fisheries*. 4: 147-190.
- Amirkolaie, A.K., Rostami, B. 2015. Effects of dietary supplementation with Immunogen® on the growth, hematology and gut microbiota of fingerling common Carp *Cyprinus carpio* (Linnaeus). *Fisheries and Aquatic Sciences*. 18(4): 379-385.
- Andrews, S.R., Sahu, N.P., Pal, A.K., Kumar, S. 2009. Haematological modulation and growth of *Labeo rohita* fingerlings: effect of dietary mannan oligosaccharide, yeast extract, protein hydrolysate and chlorella. *Journal of Aquaculture Research*. 41: 61-69.
- AOAC. 1990. Official methods of analysis. Association of Official Analytical Chemists Inc., Washington DC, USA. 1263 p.
- Blaxhall, P.C., Daisley, K.W. 1973. Routine haematological methods for use with fish bloods. *Journal of Fish Biology*. 5: 771-781.
- Ebrahimi, G., Ouraji, H., Khaledi, M.K., Sudagar, M., Barari, A., Zarei Dangesaraki, M., Jani Khalili, K. 2012. Effects of a prebiotic, Immunogen, on feed utilization, body composition, immunity and resistance to *Aeromonas hydrophilai* infection in the common carp *Cyprinus carpio* (Linnaeus) fingerlings. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. 96: 591-599.
- Eroldogan, O.T., Kumlu, M., Kiris, G.A., Sezer, B. 2006. Compensatory growth response of *Sparus aurata* following different starvation and refeeding protocols. *Aquaculture Nutrition*. 12: 203-210.
- Eslamloo, Kh., Azodi, M., Morshedi, V. 2014. Survey of compensatory growth of Tinfoil Barb (*Barbonymus schwanenfeldii*) following periods of starvation and refeeding. *Journal of Fisheries*. 66(4): 519-524. (in Persian).
- Fooks, L.J., Gibson, G.R. 2002. Probiotics as modulators of the gut flora. *British Journal of Nutrition*. 88(1): 39-49.
- Gazerani Farahani, Sh. 2009. The survey of amount of hematological factors in Acipenseridae family. *Journal of Animal Biology*. 2(1): 57-61. (in Persian).
- Haniffa, M.A., Allen Benziger, P.S., Jesu Arockiaraj, A., Nagarajan, M., Siby, P. 2007. Breeding behaviour and embryonic development of Koi carp (*Cyprinus carpio*). *Taiwania*. 52(1): 93-99.
- Hanley, F., Brown, H., Carbery, J. 1995. First observations on the effects of mannan oligosaccharide added to hatchery diets for warmwater hybrid red Tilapia. Poster at the 11th Annual Symposium on Biotechnology in the Feed Industry, Lexington, KY, USA.
- Heide, A., Foss, A., Stefansson, S.O., Mayer, I., Norberg, B., Roth, B., Jenssen, M.D., Nortvedt, R., Imsland, A.K. 2006. Compensatory growth and fillet crude composition in juvenile Atlantic halibut: Effects of short term starvation periods and subsequent feeding. *Aquaculture*. 261: 109-117.
- Hevroy, E.M., Espe, M., Waagbo, R., Sandnes, K., Ruud, M., 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.
- Hoseinifar, S.H., Mirvaghefi, A.R., Mojazi Amiri, B., Khoshbavar Rostami, H.A., Poor Amini, M., Darvish Bastami, K. 2011. The probiotic effects of dietary inactive yeast *Saccharomyces cerevisiae* var. *ellipsoideus* on growth factors, survival, body composition and intestinal microbiota of Beluga juvenile (*Huso huso*). *Iranian Scientific Fisheries Journal*. 19: 55-66. (in Persian).
- Jobling, M. 2010. Are compensatory growth and catch-up growth two sides of the same coin? *Aquaculture International*. 18: 501-510.
- Kolida, S., Tuohy, K., Gibson, G.R. 2002. Prebiotic effects of inulin and oligofructose. *British Journal of Nutrition*. 87: 193-197.
- Li, P., Gatlin, D.M. 2005. Evaluation of the prebiotic Grobionic™ AE and brewers yeast as dietary supplements for sub-adult hybrid striped bass (*Morone chrysops* × *M. saxatilis*) challenged in situ with *Mycobacterium marinum*. *Aquaculture*. 248: 197-205.
- Mohajer Esterabadi, M., Vahabzadeh, H., Zamini, A.A., Sudagar, M., Ghorbani Nasrabadi, R. 2010. Effect of dietary immunogen prebiotic on growth and survival indices of giant sturgeon (*Huso huso* Linne, 1758) juveniles. *Azadshahr Journal of Fisheries*. 4(3): 61-73. (in Persian).

- Mohajer Esterabadi, M., Vahabzadeh, H., Zamini, A.A., Sudagar, M., Ghorbani Nasrabadi, R. 2012. Effect of dietary immunogen prebiotic on some hematological and immunological parameters of giant sturgeon (*Huso huso* Linne, 1758) juveniles. *Azadshahr Journal of Fisheries*. 6(1): 131-140. (in Persian).
- Razeghi Mansour, M., Akrami, R., Ghobadi, S.H., Amani Denji, K., Ezatrahimi, N., Gharaei, A. 2012. Effect of dietary mannan oligosaccharide (MOS) on growth performance, survival, body composition, and some hematological parameters in giant sturgeon juvenile (*Huso huso* Linnaeus, 1754). *Journal of Fish Physiology and Biochemistry*. 38: 829-835.
- Rehulka, J., Minarik, B., Cink, D., Zalak, J. 2011. Prebiotic effect of fructooligosaccharide on growth and physiological state of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*. 5: 227-235.
- Ryan, W.J. 1990. Compensatory growth in cattle and sheep. *Nutritional Abstract Review of Series*. 60 (B): 653-664.
- Salze, G., Mclean, E., Schwarz, M.H., Craig, S.R. 2008. Dietary mannanoligo saccharide enhances salinity tolerance and gut development of larval cobia. *Aquaculture*. 274: 148-152.
- Skjermo, J., Storseth, T.R., Hansen, K., Handa, A., Oie, G. 2006. Evaluation of (1→3, 1→6)  $\beta$ -glucans and High-M alginate used as immunostimulatory dietary supplement during first feeding and weaning of Atlantic cod (*Gadus morhua* L.). *Aquaculture*. 261: 1088-1101.
- Stoskopf, M.K. 1993. *Fish Medicine*. W.B. Saunders Co. Philadelphia. pp. 113-131.
- Svobodova, Z., Vykusova, B. 1991. Diagnostics, prevention and therapy of fish diseases and intoxications. In: *Manual for International Training Course on Freshwater Fish Diseases and Intoxications* (in Czech). Research Institute of Fish Culture and Hydrobiology, Vodnany. 270 p.
- Taheri, H., Aliasghari, M. 2012. Effect of starvation and compensation growth on growth and body composition of *Rutilus rutilus caspicus* fry. *Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics*. 1(1): 81-92. (in Persian).
- Takeuchi, T., Satoh, S., Kiron, V. 2002. *Common carp*. In: Webster, C.D., Lim, C. (eds.). *Nutrient Requirements and Feeding of Finfish for Aquaculture*. CABI Publishing. pp. 245-261.
- Welker, T.L., Lim, C., Yildirim-Aksoy, M., Shelby, R., Klesius, P.H. 2007. Immune response and resistance to stress and *Edwardsiella ictaluri*, fed diets containing commercial whole-cell yeast or yeast subcomponents. *Journal of the World Aquaculture Society*. 38(1): 24-35.
- Wieser, W., Krumschnalbel, G., Ojwang-Okwor, J.P. 1992. The energetics of starvation and growth after refeeding in juveniles of three cyprinid species. *Environmental Biology of Fishes*. 33: 63-71.
- Zar, J.H. 2010. *Biostatistical analysis*. 5<sup>th</sup> edition. Pearson, New Jersey, USA. 960 p.