مجله بوم شناسی آبزیان

Journal homepage: http://jae.hormozgan.ac.ir

اثرات سطوح مختلف پربیوتیک جیره بر شاخص‌های رشد و برخی شاخص‌های ایمنی غیر اختصاصی در ماهی دانیو گورخری (*Danio rerio*)

سمیرا یوسفی، سید حسین حسینی‌فر*، عبدالمجید حاجی‌مرادلو، حامد کلنگی میاندره

گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

نوع مقاله:
پژوهشی

تاریخچه مقاله:
دریافت: ۹۵/۱۱/۳۰
اصلاح: ۹۶/۰۳/۲۱
پذیرش: ۹۶/۰۴/۱۶

کلمات کلیدی:
آلکالین فسفاتاز
ایمونوگلوبولین
پربیوتیک
شاخص رشد
ماهی دانیو گورخری

چکیده

هدف از این مطالعه بررسی تأثیر سطوح مختلف پربیوتیک گالاکتوالیگوساکارید بر رشد و شاخص‌های ایمنی غیراختصاصی ماهی دانیو گورخری (*Danio rerio*) بود. تعداد ۴۲۰ قطعه ماهی ۰/۱ ± ۴۵ میلی‌گرم) به طور کاملا تصادفی در چهار تیمار با سه تکرار در آکواریوم‌ها توزیع شده و با چهار جیره آزمایشی حاوی صفر، ۰/۵، ۱ و ۲ درصد پربیوتیک به مدت ۸ هفته غذادهی شدند. در پایان دوره شاخص‌های رشد، کارایی مصرف جیره (وزن نهایی، ضریب رشد ویژه و ضریب تبدیل غذایی) و نیز شاخص‌های ایمنی غیراختصاصی (سطوح ایمونوگلوبولین کل، پروتئین کل و فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز) بررسی شد. نتایج به دست آمده نشان داد استفاده از سطوح مختلف گالاکتوالیگوساکارید اثر معنی داری بر شاخص‌های رشد نداشت ($P>0/05$). همچنین بررسی شاخص‌های ایمنی غیر اختصاصی نشان داد که استفاده از سطوح ۰/۵ و ۲ درصد گالاکتوالیگوساکارید باعث افزایش معنی دار ایمونوگلوبولین کل گردید ($P<0/05$). بررسی میزان فعالیت آلکالین فسفاتاز موید این است که سطح ۲ درصد پربیوتیک باعث افزایش معنی‌دار فعالیت آلکالین فسفاتاز شد ($P<0/05$). میزان پروتئین کل نیز نشان داد که هر سه سطح گالاکتوالیگوساکارید باعث افزایش معنی‌دار میزان پروتئین کل می‌شود ($P<0/05$). با توجه به این نتایج به نظر می‌رسد استفاده از سطوح بالای گالاکتوالیگوساکارید (۲ درصد) باعث افزایش شاخص‌های ایمنی غیراختصاصی در ماهی دانیو گورخری می‌شود.

مقدمــه

در سال‌های اخیر آبزی پروری از سریع الرشدترین بخش‌های تولید مواد غذایی بوده و از چندین دهه گذشته به سرعت به یک صنعت پویا و رو به رشد تبدیل شده است. افزایش تولید سیستم‌های آبزی پروری، ماهی را در معرض استرس‌های متعدد مانند کیفیت پایین آب، تراکم زیاد، دست‌کاری و حمل و نقل قرار می‌دهد که ممکن است تأثیر منفی روی وضعیت ایمنی و بهداشت ماهیان داشته باشد. ضعیف شدن سیستم ایمنی توسط استرس‌های زیست محیطی می‌تواند منجر به مستعد شدن ماهیان به ابتلا به بیماری‌ها شود، که تولید اقتصادی سیستم‌های آبزی‌پروری را محدود می‌کند (Sado *et al*., 2008). همواره راه‌حل‌هایی نیز برای برطرف کردن این مشکلات ارائه شده است که آنتی‌بیوتیک‌ها از جمله راه‌کارهای سنتی برای درمان بیماری‌ها و همچنین ماده محرک رشد در پرورش ماهی می‌باشند که می‌توانند رشد و کارایی تغذیه را در میزبان افزایش دهند

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: hoseinifar@gau.ac.ir

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-05-19]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1396.7.2.5.2]

و سبب بهبود قابلیت هضم و جذب مواد مغذی گردند. با این وجود نگرانی‌ها در مورد اثرات منفی استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها بر محیط زیست و سلامت بشر از جمله ظهور سویه‌های باکتریایی مقاوم به آنتی‌بیوتیک، تجمع بقایای آن در بافت‌های خوراکی و تضعیف سیستم ایمنی باعث ایجاد مقررات سختگیرانه برای استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در بسیاری از کشورها شد (Reverter *et al*., 2014). بنابراین استفاده از جایگزین‌های سازگار با محیط زیست به جای استفاده درمانی از آنتی‌بیوتیک‌ها مانند مدیریت کاربردی مکمل‌های غذایی مانند پربیوتیک‌ها گسترش یافت (Hoseinifar *et al*., 2014a). پربیوتیک‌ها عناصر غذایی (کربوهیدرات‌های) غیرقابل هضمی هستند که از طریق تحریک رشد یا فعال کردن یک یا تعداد محدودی از گونه‌های باکتریایی که در روده وجود دارند، اثرات سودمندی بر میزبان داشته و سلامتی آن را بهبود می‌بخشند. اجزای خوراکی همچون کربوهیدرات‌های غیر قابل هضم (الیگوساکاریدها و پلی‌ساکاریدها) دارای رفتار پربیوتیکی هستند (Ringø *et al*., 2014). این ترکیبات باعث بهبود و تعادل میکروبیوتای روده و افزایش مکانیسم دفاعی میزبان می‌شوند (Li and Gatlin, 2004). عناصر غذایی که به‌عنوان پربیوتیک طبقه‌بندی می‌شوند باید دارای خواصی از جمله غیر قابل هضم بودن در بخش‌های فوقانی دستگاه گوارش، تخمیر گزینشی توسط یک یا تعدادی از باکتری‌های مفید روده و تحریک میکروبیوتای روده به تولید ترکیبات سالم‌تر باشند (Fooks and Gibson, 2002). علاوه بر این مهم‌ترین محصول حاصل از متابولیسم پربیوتیک‌ها، اسیدهای چرب کوتاه زنجیر (SCFA) هستند (Mahious and Ollevier, 2005؛David *et al*., 1999) که از طریق اپیتلیوم روده جذب می‌شوند و سبب تقویت انتروسیت‌ها و بهبود جذب مواد غذای می‌شوند. گالاکتوالیگوساکارید (GOS)، پربیوتیکی است که از واکنش آنزیمی لاکتوز حاصل شده و عمدتا از مولکول‌های گلوکز و گالاکتوز تشکیل شده است (Sako *et al*., 1999). مشخص شده است که افزودن پربیوتیک گالاکتوالیگوساکارید به جیره ماهی باعث افزایش ایمنی ذاتی و بهبود عملکرد رشد می‌شود (Hoseinifar *et al*., 2013). در مطالعه‌ای Wang و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند که سطوح مختلف فروکتوالیگوساکارید در ماهی قرمز (*Carassius auratus gibelio*) باعث افزایش سطح ایمنی می‌شود. اگرچه در بسیاری از مطالعات بهبود رشد و ایمنی در نتیجه افزودن پربیوتیک‌ها به جیره گزارش شده است اما در مطالعه‌ای که اکرمی و همکاران (۱۳۸۸)، اثرات افزودن پربیوتیک مانان الیگوساکارید را به جیره ماهی سفید (*Rutilus frisii kutum*)، بر شاخص‌های رشد، FCR، بازماندگی و مقاومت به تنش شوری بررسی کردند، گزارش شد که این پربیوتیک اثری بر فاکتورهای بررسی شده نداشت. همچنین Gerisdale-Helland و همکاران (۲۰۰۸)، در مطالعه‌ای اثرات مانان الیگوساکارید، فروکتوالیگوساکارید و گالاکتوالیگوساکارید را بر فاکتورهای رشد، مصرف جیره و ایمنی ماهی آزاد اقیانوس اطلس (*Salmo salar*) بررسی کردند. نتایج به دست آمده نشان داد که این پربیوتیک‌ها اثر معنی‌داری بر فاکتورهای مورد بررسی نداشت.

علی‌رغم مطالعات فوق، اطلاعات بسیار محدود درباره اثر پربیوتیک‌ها بر ماهیان زینتی در دسترس است. ماهی دانیو گورخری (*D. rerio*) در سال‌های اخیر به‌عنوان مدلی جهت آنالیز سریع عملکرد ژن‌ها و فعالیت‌های بیولوژیکی مولکول‌های آلی مطرح شده است (Zon and Peterson, 2005). به‌دلیل شباهت‌های زیاد ژنتیکی، فیزیولوژیکی و فارماکولوژیکی با انسان، این ماهی جهت تشخیص مواد طبیعی با پتانسیل‌های درمانی مختلف، بسیار مناسب است. دلایلی که سبب گسترش استفاده از این ماهی به عنوان مدل شده است عبارت‌اند از اندازه کوچک لارو و جنین مورد آزمایش (۱ تا ۵ میلی‌متر بسته به مرحله رشد)، قدرت باروری بالای ماهی‌های بالغ (صدها بچه ماهی در یک بار جفت‌گیری طی یک هفته)، شفافیت جنین و لارو این ماهی (راحتی مشاهده ارگان‌ها و اعضای داخلی ماهی) و سرعت رشد خارج رحمی (تمام مراحل رشد از تخم تک سلولی تا لارو در خارج از رحم صورت می‌گیرد) و به این ترتیب امکان ردگیری اثرات مختلف ترکیبات مورد آزمایش امکان پذیر خواهد بود (Crawford and Esguerra, 2008). با توجه به مدل بودن ماهی دانیو گورخری و قابل تعمیم بودن نتایج به مطالعات انسانی و نیز خلاء تحقیقاتی در زمینه اثرات این پربیوتیک در ماهیان زینتی، در این تحقیق اثرات احتمالی افزودن پربیوتیک گالاکتوالیگوساکارید (GOS) به جیره غذایی بر فاکتورهای رشد و برخی شاخص‌های ایمنی ماهی دانیو گورخری (*D. rerio*) بررسی شده است.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-05-19]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1396.7.2.5.2]

مواد و روش‌ها

تهیه ماهی و شرایط آزمایشگاهی

این تحقیق در مرکز تحقیقات آبزی‌پروری شهید ناصر فضلی برآبادی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شد. ماهی دانیو گورخری (۴۲۰ عدد) با میانگین وزنی ۱/۰±۴۵ میلی‌گرم از مرکز تکثیر و پرورش ماهیان زینتی خصوصی در استان گلستان تهیه و به طور تصادفی در ۱۲ آکواریوم (۴۰ لیتری)، با تراکم ۳۵ ماهی در هر آکواریوم ذخیره‌سازی شد. درجه حرارت آب، سختی کل، اکسیژن محلول و pH به‌طور روزانه اندازه‌گیری شده و به‌ترتیب مقادیر آن $^{\circ}C$ ۱/۱۲±۲۶/۷۸، $mg\ L^{-1}$ ۱۳/۲±۲۵۰، $mg\ L^{-1}$ ۰/۲±۷/۶، ۰/۱۵±۷/۱۹، بود. تیمارها تحت هوادهی (با استفاده از سنگ هوا در هر آکواریوم و یک پمپ هوادهی مرکزی) و ۵۰٪ تعویض آب روزانه، و همچنین فیلتراسیون جهت کاهش مواد معلق آب مورد آزمایش قرار گرفتند.

ساخت جیره غذایی

ماهی‌ها جهت سازگاری به مدت ۲ هفته با غذای تجاری (بیومار فرانسه با قطر ۰/۵ میلی‌متر) تغذیه شدند (جدول ۱). سپس آکواریوم‌ها به ۴ تیمار و ۳ تکرار تقسیم بندی شدند. جهت ساخت جیره‌های آزمایش سطوح مدنظر (۵، ۱۰ و ۲۰ گرم پربیوتیک بر کیلوگرم غذا) از پربیوتیک گالاکتوالیگوساکارید (ساخت شرکت دوموفریسلند هلند) با استفاده از پلاتین به جیره پایه (جیره تجاری بیومار) اسپری شد. همچنین برای گروه شاهد نیز فقط غذای تجاری با ژلاتین فاقد پربیوتیک اسپری شد (Miandare *et al.*, 2016). برای تهیه جیره مکمل، ابتدا پربیوتیک توزین گردید و سپس به محلول ژلاتین اضافه و به غذای مورد استفاده اسپری شد. سپس ترکیب به‌دست آمده خشک شده و در زیپ‌پلاست در یخچال نگهداری شد. طی دوره آزمایش (۸ هفته) ماهی‌ها ۳ نوبت در روز به صورت دستی و تا حد سیری تغذیه شدند.

اندازه‌گیری پارامترهای رشد

همه ماهیان در آخر دوره، اندازه‌گیری و جهت بررسی میزان رشد توزین شدند. عملکرد رشد در ماهی دانیو گورخری طبق فرمول‌های زیر محاسبه شد (Tacon, 1990):

وزن ابتدای دوره (میلی‌گرم) – وزن انتهای دوره (میلی‌گرم) = افزایش وزن بدن (میلی‌گرم)

طول دوره/وزن ابتدای دوره (میلی‌گرم) – وزن انتهای دوره (میلی‌گرم) = افزایش وزن روزانه (میلی‌گرم)

۱۰۰×وزن ابتدای دوره (میلی‌گرم) /(وزن ابتدای دوره (میلی‌گرم)- وزن انتهای دوره (میلی‌گرم) = درصد افزایش وزن بدن

۱۰۰×طول دوره/(لگاریتم طبیعی وزن اولیه ماهی- لگاریتم طبیعی وزن نهایی ماهی)= نرخ رشد ویژه

میلی‌گرم وزن به‌دست آمده ماهی / غذای خورده شده (میلی گرم)= ضریب تبدیل غذایی

جدول ۱. آنالیز ترکیب تقریبی غذای بیومار مورد استفاده در مطالعه

مشخصات شیمیایی	مقدار (٪)
ماده خشک	۹۲
پروتئین	۵۴
چربی	۱۸
خاکستر	۷/۹

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-05-19]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1396.7.2.5.2]

اندازه‌گیری فعالیت آلکالین فسفاتاز، پروتئین کل و ایمونوگلوبولین کل

به منظور بررسی فعالیت آلکالین فسفاتاز، پروتئین کل و ایمونوگلوبولین در انتهای دوره آزمایش تعداد ۶ قطعه ماهی از هر تکرار به‌طور تصادفی برداشته شد به‌دلیل کوچک بودن اندازه ماهی و امکان‌پذیر نبودن خونگیری، از کل بدن ماهی استفاده شد به این صورت که در شرایط کاملا استریل بعد از بیهوش کردن ماهی‌ها با گل میخک با دوز ppm ۲۰۰۰، سر و باله‌ها جدا شد و سپس ماهی‌ها طبق روش Holbech و همکاران (۲۰۰۱) هموژن شدند و با دور rpm ۲۰۰۰ در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ گردیدند. سپس از فاز بالایی برای سنجش شاخص‌های ایمنی استفاده شد.

اندازه‌گیری ایمونوگلوبولین کل

جهت اندازه‌گیری ایمونوگلوبولین کل از روش Siwicki و Anderson (۱۹۹۶) استفاده شد. به نمونه پلی‌اتیلن گلایکول ۱۲ درصد اضافه شد. پس از ۲ ساعت انکوباسیون در دمای اتاق نمونه‌ها سانتریفیوژ شده و غلظت پروتئین در قسمت بالایی محلول با استفاده از روش بیوره (Gornall *et al*., 1994) اندازه‌گیری شد. ۲۰ میکرولیتر نمونه با ۹۸۰ میکرولیتر از کیت ترکیب شده و جذب نوری آن در طول موج ۵۶۰ نانومتر ثبت گردید و با قرار دادن جذب نوری در فرمول (۶×(X/۰/۲۴۳)) میزان پروتئین محلول برحسب میلی‌گرم بر میلی‌لیتر محاسبه شد. میزان ایمونوگلوبولین کل از تفریق غلظت پروتئین در نمونه اولیه و غلظت پروتئین پس از افزودن پلی اتیلن گلایکول محاسبه گردید.

اندازه‌گیری پروتئین محلول

پروتئین محلول طبق روش بیوره (Gornall *et al*., 1994) با استفاده از کیت بیورت شرکت پارس آزمون و قرائت نوری دستگاه اسپکتروفتومتر انجام گرفت. به‌طوری که میزان ۲۰ میکرولیتر از نمونه با ۹۸۰ میکرولیتر از کیت ترکیب شده و جذب نوری در طول موج ۵۶۰ نانومتر ثبت گردید و با قرار دادن جذب نوری به‌دست آمده در فرمول (۶ × (X/۰/۲۴۳)) میزان پروتئین محلول بر حسب میلی‌گرم بر میلی‌لیتر محاسبه شد.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز

بررسی فعالیت آلکالین فسفاتاز از روش طیف‌سنجی با استفاده از کیت تشخیص کمی آلکالین فسفاتاز شرکت پارس آزمون و دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۰۵ نانومتر و اختلاف جذب نوری در ۳ دقیقه انجام شد (Roosta *et al*., 2012).

آنالیزهای آماری

در این آزمایش، نمونه‌گیری ماهیان در قالب طرح کاملا تصادفی انجام گرفت. پس از بررسی نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگراف اسمیرنف و همگن بودن واریانس داده‌ها با آزمون لون (Levene) بررسی گردید. پس از تعیین محقق بودن شرط نرمال بودن داده‌ها، اختلاف میانگین داده‌های به‌دست آمده از طریق آزمون آنالیز واریانس یکطرفه One-way-ANOVA و تست توکی در سطح معنی‌داری (P<۰/۰۵) و با استفاده از نرم افزار SPSS 16.00 بررسی گردید.

نتایــج

شاخص‌های رشد و بازماندگی

اثرات سطوح مختلف گالاکتوالیگوساکارید بر برخی شاخص‌های رشد بچه ماهی دانیو گورخری در جدول شماره ۲ ارائه شده است. در ابتدای دوره، اختلاف معنی داری بین تیمارها از نظر وزن وجود نداشت (P>۰/۰۵). بررسی شاخص‌های رشد (افزایش وزن بدن، درصد افزایش وزن، نرخ رشد ویژه، رشد روزانه و ضریب تبدیل غذایی) در انتهای دوره نشان داد که افزودن سطوح مختلف گالاکتوالیگوساکارید به جیره بچه ماهی دانیو گورخری اثر معنی‌داری بر افزایش آن‌ها نداشت (P>۰/۰۵) (جدول ۲). میزان بقای گروه‌های تحت تیمار و گروه شاهد نیز در طول دوره صد درصد بود.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-05-19]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1396.7.2.5.2]

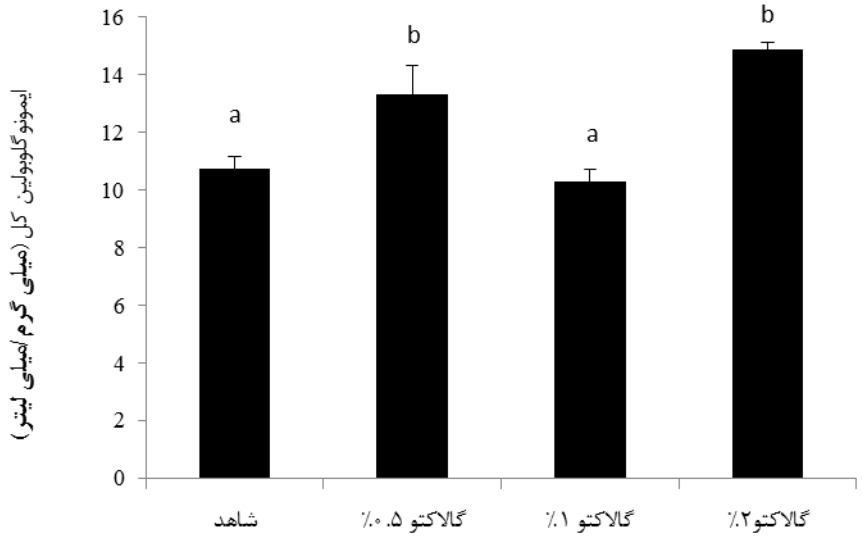
جدول ۲. مقایسه برخی از شاخص‌های رشد و کارایی مصرف جیره ماهی دانیو گورخری تغذیه شده با سطوح مختلف گالاکتوالیگوساکارید

شاخص‌های رشد	شاهد	گالاکتوالیگوساکارید ۰/۵ درصد	گالاکتوالیگوساکارید ۱درصد	گالاکتوالیگوساکارید ۲ درصد
میانگین وزن ابتدای دوره (گرم)	۴۳/۱۹۳ ± ۱/۶۴۰ [a] 0.140119	۴۸/۵۸۳ ± ۲/۲۰۷[a]	۴۵/۷۵۳ ± ۱/۴۵۵[a]	۴۶/۲۴۶ ± ۱/۸۰۰ [a]
میانگین وزن انتهای دوره (گرم)	۱۵۱/۵۳۹ ± ۳/۶۲۴[a]	۱۵۳/۵۷۵ ± ۶/۰۵۰ [a]	۱۵۱/۸۹۱ ± ۳/۴۱۲[a]	۱۵۷/۰۲۶ ± ۳/۵۲۸[a]
افزایش وزن بدن	۱۰۸/۳۴۶ ± ۵/۱۴۰ [a]	۱۰۴/۹۹۲ ± ۸/۲۵۴[a]	۱۰۶/۱۳۹ ± ۴/۲۵۰ [a]	۱۱۰/۷۸۰ ± ۲/۲۱۴[a]
درصد افزایش وزن	۲۵۲/۴۲۴ ± ۲۲/۰۲۳[a]	۲۱۸/۳۷۵ ± ۲۵/۹۴۰ [a]	۲۳۲/۸۵۹ ± ۱۵/۸۵۵[a]	۲۴۰/۰۴۴ ± ۷/۹۲۹[a]
نرخ رشد ویژه (درصد در روز)	۲/۲۴۳ ± ۰/۱۰۹[a]	۲/۰۵۶ ± ۰/۱۵۱[a]	۲/۱۴۳ ± ۰/۰۸۳[a]	۲/۱۸۵ ± ۰/۰۴۱[a]
میانگین رشد روزانه	۲/۱۱۱ ± ۰/۰۹۲[a]	۱/۵۹۲ ± ۰/۱۴۷[a]	۱/۹۰۳ ± ۰/۰۷۶[a]	۲/۰۳۲ ± ۰/۰۳۹[a]
ضریب تبدیل غذایی	۲/۸۷۲ ± ۰/۰۶۵[a]	۳/۱۰۹ ± ۰/۲۴۴[a]	۲/۷۷۴ ± ۰/۰۵۷[a]	۲/۷۹۱ ± ۰/۰۲۶[a]

اعداد (SE ± میانگین) در یک ردیف با حروف مشابه فاقد اختلاف معنی‌دار هستند (P>0.05).

ایمونوگلوبولین کل

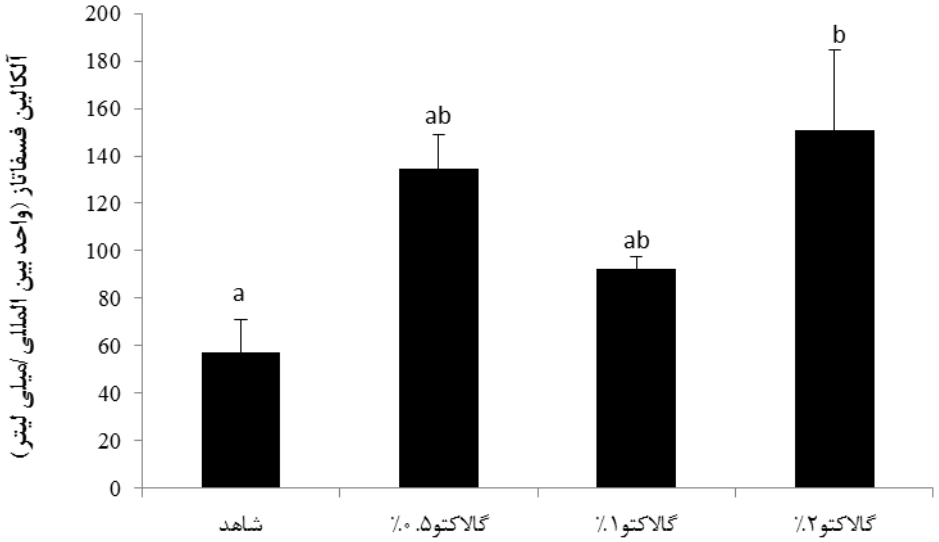
شکل ۱ نشان دهنده اثرات افزودن سطوح مختلف گالاکتوالیگوساکارید بر میزان ایمونوگلوبولین کل بدن می‌باشد. بررسی‌های انجام شده در پایان دوره نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین میزان ایمونوگلوبولین در کل بدن ماهی‌های تغذیه شده با سطوح ۰/۵٪ و ۲٪ گالاکتوالیگوساکارید با گروه شاهد و گروه تغذیه شده با سطح ۱٪ گالاکتوالیگوساکارید وجود دارد (P<۰/۰۵). با این وجود اختلاف معنی‌داری بین گروه تغذیه شده با سطح ۱٪ گالاکتوالیگوساکارید با گروه شاهد مشاهده نشد (P>۰/۰۵) (جدول ۳).



شکل ۱. اثرات تغذیه ۸ هفته‌ای با جیره حاوی سطوح مختلف پربیوتیک گالاکتوالیگوساکارید بر سطوح ایمونوگلوبولین کل بدن ماهی دانیو گورخری. ستون‌های مشخص شده با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشد (P<0.05).

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-05-19]

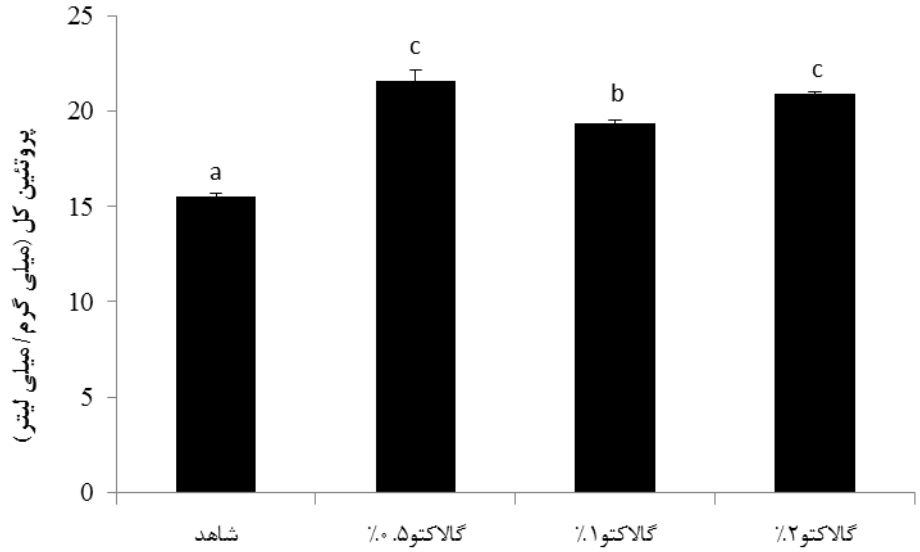
[DOR: 20.1001.1.23222751.1396.7.2.5.2]



شکل ۲. اثرات تغذیه ۸ هفته‌ای با جیره حاوی سطوح مختلف گالاکتوالیگوساکارید بر فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز در ماهی دانیو گورخری. ستون‌های مشخص شده با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار هستند ($P<0.05$).

فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز

اثرات افزودن سطوح مختلف گالاکتوالیگوساکارید به جیره بچه ماهی دانیو گورخری بر فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز در شکل شماره ۲ ارائه شده است. همان‌طور که در شکل نشان داده شده است، فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز در گروه تغذیه شده با سطح ۲درصد گالاکتوالیگوساکارید افزایش معنی‌داری با گروه شاهد وجود داشت ($P<۰/۰۵$). درحالی‌که بین سطوح ۰/۵ و ۱ درصد با گروه شاهد و سطح ۲درصد اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P>۰/۰۵$) (جدول ۳).



شکل ۳. اثرات تغذیه ۸ هفته‌ای با جیره حاوی سطوح مختلف گالاکتوالیگوساکارید بر سطوح پروتئین کل بدن ماهی زبرا. ستون‌های مشخص شده با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار هستند ($P<0.05$).

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-05-19]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1396.7.2.5.2]

پروتئین محلول

تاثیر سطوح مختلف گالاکتوالیگوساکارید در جیره بر میزان پروتئین کل بدن در شکل شماره ۳ ارائه شده است. میزان پروتئین کل در تیمار ۰/۵، ۱ و ۲ درصد گالاکتوالیگوساکارید به ترتیب ۰/۹۸۸± ۲۱,۵۶۳، ۰,۳۷۷ ± ۱۹,۳۴۱ و ۰,۱۴۲ ± ۲۰,۹۰۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر است که نشان دهنده افزایش معنی‌دار آن‌ها نسبت به گروه شاهد است (P<۰/۰۵). با این وجود بین تیمارهای تغذیه شده با سطوح ۰/۵ و ۲ درصد اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (P>۰/۰۵) (جدول ۳).

جدول ۳. مقایسه برخی شاخص‌های ایمنی ماهی دانیو گورخری تغذیه شده با سطوح مختلف گالاکتوالیگوساکارید

شاخص‌های ایمنی	شاهد	گالاکتوالیگوساکارید ۰/۵درصد	گالاکتوالیگوساکارید ۱درصد	گالاکتوالیگوساکارید ۲درصد
ایمونوگلوبولین کل	۱۰/۷۵ ± ۰/۴۱ [a] 0.140119	۱۳/۳۳ ± ۱/۰۰ [b]	۱۰/۲۹ ± ۰/۴۳[a]	۱۴/۸۷ ± ۰/۲۹[b]
آلکالین فسفاتاز	۵۷/۲۲ ± ۱۳/۸۷[a]	± ۱۴/۴۵ ۱۳۴/۶۶[ab]	۹۲/۱۲ ± ۵/۲۰ [ab]	۱۵۱/۰۵ ± ۳۳/۵۲[b]
پروتئین کل	۱۵/۵۵ ± ۰/۱۴[a]	۲۱/۵۶ ± ۰/۵۹[c]	۱۹/۳۴ ± ۰/۲۲[b]	۲۰/۹۰ ± ۰/۰۸[c]

اعداد (SE ± میانگین) در یک ردیف با حروف مشابه فاقد اختلاف معنی‌دار هستند (P>0.05).

بحث

در مطالعه حاضر افزودن سطوح مختلف گالاکتوالیگوساکارید به جیره بچه ماهی دانیو گورخری تاثیر معنی‌داری بر شاخص‌های رشد نداشت (P > ۰/۰۵). هم‌راستا با نتایج تحقیق حاضر Grisdale-Helland و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند که افزودن مانان الیگوساکارید، فروکتوالیگوساکارید و گالاکتوالیگوساکارید بر شاخص‌های رشد و مصرف جیره ماهی آزاد اقیانوس اطلس اثر معنی داری نداشت. همچنین در مطالعه‌ای دیگر نیز گزارش شد که افزودن پربیوتیک مانان الیگوساکارید به جیره ماهی سفید اثر معنی‌داری بر شاخص‌های رشد و FCR نداشت (Akrami *et al*., 2009). تاثیر پربیوتیک‌ها بر کارایی رشد گونه‌های آبزی همچنان مبهم است چون در بعضی از مطالعات افزایشی در کارایی رشد مشاهده نشده است (Salze *et al*., 2008؛ Burr *et al*., 2009). از طرفی در بعضی از مطالعات افزایش معنی دار در شاخص‌های رشد در نتیجه افزودن پربیوتیک گالاکتوالیگوساکارید به جیره ماهی گزارش شده است (Hoseinifar *et al*., 2013). که این اختلاف در نتایج را می‌توان به گونه، مرحله زندگی ماهی، دوز پربیوتیک،و شرایط آزمایشگاهی نسبت داد (Miandare *et al*., 2016). افزایش در شاخص‌های رشد را نیز می‌توان به کاهش pH روده در نتیجه تخمیر پربیوتیک و تولید اسید که از فعالیت باکتری‌های بیماری‌زا و مضر در میزبان ممانعت کرده و نیز سبب جذب مواد معدنی می‌شود نسبت داد (Cummings and Macfarlane, 2002؛ Ringø *et al*., 2010). علاوه‌بر این افزایش رشد را می‌توان به بهبود وضعیت فیزیولوژیک در نتیجه تخمیر پربیوتیک و تولید اسیدهای چرب کوتاه زنجیر نسبت داد. با توجه به اینکه اسیدهای چرب به‌عنوان منبع انرژی برای میکروویلی‌ها می‌شود (Scheppach, 1994) این افزایش رشد، افزایش جذب و بهبود کارایی مصرف جیره را به‌دنبال داشته و باعث رشد ماهی می‌شود. به‌علاوه اسیدهای چرب کوتاه زنجیره، متابولیسم چربی‌ها را بهبود بخشیده و استفاده بهتر از جیره را سبب می‌شود.

ایمونوگلوبولین‌ها جزء آنتی‌بادی‌های طبیعی بوده و به‌صورت کاملا تنظیم شده در غیاب محرک آنتی‌ژنیک خارجی تولید می‌شوند و محافظت فوری، بلافاصله و گسترده‌ای را در برابر عوامل بیماری‌زا ایجاد می‌کنند. این ویژگی آن‌ها را به‌عنوان یکی از بخش‌های حیاتی سیستم ایمنی غیر اختصاصی ماهی تبدیل کرده است (Magnadottir, 2006). بررسی‌ها نشان داد که میزان ایمونوگلوبولین در بدن ماهی‌های تغذیه شده با سطوح ۰/۵ و ۲ درصد گالاکتوالیگوساکارید در مقایسه با گروه شاهد افزایش یافت. پروتئین کل نیز در تیمارهای تغذیه شده با سطوح ۰/۵، ۱ و ۲ درصد نسبت به گروه شاهد افزایش یافت. نتایج این

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-05-19]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1396.7.2.5.2]

مطالعه هم‌راستا با مطالعه Hoseinifar و همکاران (۲۰۱۵a) بود که گزارش کردند میزان ایمنوگلوبولین کل در بچه ماهی سفید خزری تغذیه شده با ۱ درصد گالاکتوالیگوساکارید افزایش یافته است، همچنین استفاده از ۳ درصد پربیوتیک زایلوالیگوساکارید در جیره غذایی ماهی سفید، باعث بهبود شاخص‌های ایمنی گردیده است (Hoseinifar *et al*., 2014b). در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با ۱ درصد گالاکتوالیگوساکارید میزان پروتئین موکوس افزایش یافت (Hoseinifar *et al*., 2015b). Miandare و همکاران (۲۰۱۶) نیز گزارش کردند که سطوح ۱ و ۲ درصد گالاکتوالیگوساکارید در جیره ماهی قرمز باعث افزایش میزان پروتئین کل موکوس گردید. افزایش ایمونوگلولولین کل احتمالا موید افزایش ایمنی غیر اختصاصی در ماهی‌های تغذیه شده با پربیوتیک می‌باشد. اگرچه اظهار نظر قطعی در این زمینه نیازمند بررسی دقیق سایر شاخص‌های ایمنی می‌باشد.

آنزیم فسفاتاز قلیایی به‌دلیل فعالیت هیدرولیتیکی به‌عنوان یک عامل ضدباکتریایی ضروری شناخته شده و عملکرد حفاظتی در بهبود زخم، عفونت انگلی و استرس دارد (Iger and Abraham, 1990). بررسی فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز در مطالعه حاضر نشان دهنده افزایش فعالیت آلکالین فسفاتاز در ماهیان تغذیه شده با ۲ درصد گالاکتوالیگوساکارید بود. هم‌راستا با نتایج این مطالعه می‌توان به افزایش فعالیت آلکالین‌فسفاتاز در نتیجه افزودن پروبیوتیک *Saccharomyces cerevisiae* به جیره قزل‌آلای رنگین‌کمان (Heidarieh *et al*., 2013) و پروبیوتیک *Lactobacillus acidophilus* به جیره ماهی دم‌شمشیری اشاره کرد (Hoseinifar *et al*., 2015c). با این وجود Miandare و همکاران (۲۰۱۶) گزارش کردند که سطوح مختلف گالاکتوالیگو ساکارید تأثیری بر فعالیت آلکالین فسفاتاز در ماهی قرمز نداشت که مغایر با یافته‌های این مطالعه بود. همچنین Guerreiro و همکاران (۲۰۱۶) گزارش کردند که پربیوتیک فروکتوالیگوساکارید در ماهی *Diplodus sargus* تأثیری بر پارامترهای ایمنی نداشت. بهبود سیستم ایمنی ناشی از مصرف گالاکتوالیگوساکارید می‌تواند به‌دلیل تولید اسیدهای چرب کوتاه زنجیری باشد که حاصل تخمیر گالاکتوالیگوساکارید توسط میکروب‌های مفید روده باشد که از طریق اتصال به گیرنده‌های پروتئین G (GPR43) در بیان پاسخ ایمنی ذاتی و سلول‌های التهابی نقش دارد (Maslowski and Mackay, 2011). علاوه بر این تأثیر پربیوتیک‌ها بر پاسخ‌های ایمنی می‌تواند به تغییر در میکروبیوتای روده و افزایش باکتری‌های اسیدلاکتیک و جنس باسیلوس نسبت داده شود که دارای دیواره سلولی (لیپو پلی‌ساکاریدی) با خواص محرک ایمنی است (Hoseinifar ؛ Song *et al*., 2014 *et al*., 2015). همچنین اسیدهای چرب کوتاه زنجیر تولید شده می‌توانند به‌طور مستقیم به‌وسیله سلول‌ها به عنوان منبع انرژی استفاده شوند و در سراسر روده به‌وسیله سیستم عروقی حمل می‌شوند (Scheppach, 1994). اختلافات جزئی در نتایج گزارش شده در خصوص تحریک‌کنندگی سیستم ایمنی گالاکتوالیگوساکارید در مطلعات مختلف می‌تواند ناشی از تفاوت در گونه ماهی، ترکیب میکروبیوتای بومی روده، سطوح و مدت زمان بکارگیری پربیوتیک باشد ولی احتمالا مواد فیبری قابل تخمیر متفاوت (به‌عنوان پربیوتیک) از طریق مکانیسم یکسانی می‌توانند بر سیستم ایمنی گونه آبزی اثر گذارند. همچنین در مطالعات قبلی در ارتباط با عملکرد و نقش دستگاه گوارش بر سیستم ایمنی بیان شده است که یک بخش از سیستم دفاع غیر اختصاصی در ماهی و سایر مهره‌داران سیستم لنفوئیدی در ارتباط با دستگاه گوارش (GALT) است که نقش عمده‌ای را در ارتباط با بروز و تنظیم پاسخ‌های ایمنی در پاسخ به مواد غذایی دارد (Lazado and Caipang, 2014). احتمالا پربیوتیک گالاکتوالیگوساکارید از طریق اثر بر سیستم لنفوئیدی در ارتباط با دستگاه گوارش سبب بهبود وضعیت ایمنی ماهی می‌گردد. به‌طور کلی نتایج مطالعه حاضر موید این امر بود که اگرچه شاخص‌های رشد متاثر از افزودن پربیوتیک به جیره نشدند، اما افزودن پربیوتیک مزبور سبب بهبود برخی از شاخص‌های ایمنی گردید. اگرچه مطالعات بیشتری در خصوص سایر شاخص‌های ایمنی می‌بایست صورت پذیرد تا بتوان قضاوت دقیقی در این خصوص داشت.

تشکر و قدردانی

این مطالعه با حمایت مالی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان و در قالب پایانامه کارشناسی ارشد صورت پذیرفته است. نگارندگان این مقاله از کمک‌های کارشناسان آزمایشگاه های گروه شیلات تشکر و قدردانی می‌نمایند.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-05-19]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1396.7.2.5.2]

منابـع

Akrami, R., Karim Abadi, A., Mohammadzade, H., Ahmadifar, A. 2009. Prebiotic mananoligosaccharide effects on growth, body composition and salinity stress resistance in Kutum fry (*Rutilus frisii kutum*). Journal of Marine Science and Technology. 8(3-4) 47-57 (in Persian)

Burr, G., Gatlin, D.M. and Hume, M. 2009. Effects of the Prebiotics GroBiotic®-A and Inulin on the Intestinal Microbiota of Red Drum, *Sciaenops ocellatus*. Journal of the World Aquaculture Society. 40(4): 440-449.

Crawford, A.D., Esguerra, C.V., de Witte, P.A. 2008. Fishing for drugs from nature: zebrafish as a technology platform for natural product discovery. Journal of Planta Medica, 74(06): 624-632.

Cummings, J.H., Macfarlane, G.T. 2002. Gastrointestinal effects of prebiotics. British Journal of Nutrition. 87(S2): 145-151.

David, J.A., Jenkins, C.W.C, Vladimir, V. 1999. Inulin, oligofructose and intestinal function. Journal of Nutrition. 129(7): 1431-1433.

Fooks, L.J., Gibson, G.R. 2002. Probiotics as modulators of the gut flora. British Journal of Nutrition. 88(S1): 39- 49.

Gornall, A.S., Bardawill, C.J., David, M.M. 1994. Determination of serum proteins by means of biuret reaction. Journal of Biological Chemistry. 177(2): 751-766.

Grisdale-Helland, B., Helland, S.J., Gatlin, D.M. 2008. The effects of dietary supplementation with mannanoligosaccharide, fructooligosaccharide or galactooligosaccharide on the growth and feed utilization of Atlantic salmon (*Salmo salar).* Journal of Aquaculture. 283(1): 163-167.

Guerreiro, I., Couto, A., Machado, M., Castro, C., Pousão-Ferreira, P., Oliva-Teles, A., Enes, P. 2016. Prebiotics effect on immune and hepatic oxidative status and gut morphology of White Sea bream (*Diplodus sargus*). Fish & Shellfish Immunology. 50: 168-174.

Heidarieh, M., Mirvaghefi, A.R., Akbari, M., Sheikhzadeh, N., Kamyabi-Moghaddam, Z., Askari, H., Shahbazfar, A.A. 2013. Evaluations of Hilyses™, fermented *Saccharomyces cerevisiae*, on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) growth performance, enzymatic activities and gastrointestinal structure. Journal of Aquaculture Nutrition. 19(3): 343-348.

Holbech, H., Andersen, L., Petersen, G.I., Korsgaard, B., Pedersen, K.L., Bjerregaard, P. 2001. Development of an ELISA for vitellogenin in whole body homogenate of zebrafish (*Danio rerio*). Journal of Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology. 130(1): 119-131.

Hoseinifar, S.H., Esteban, M.Á., Cuesta, A., Sun, Y.Z. 2015a. Prebiotics and fish immune response: a review of current knowledge and future perspectives. Journal of Reviews in Fisheries Science & Aquaculture. 23(4): 315-328.

Hoseinifar, S.H., Khalili, M., Rostami, H.K., Esteban, M.Á. 2013. Dietary galactooligosaccharide affects intestinal microbiota, stress resistance, and performance of Caspian roach (*Rutilus rutilus*) fry. Fish & Shellfish Immunology. 35(5): 1416-1420.

Hoseinifar, S.H., Mirvaghefi, A., Amoozegar, M.A., Sharifian, M., Esteban, M.Á. 2015b. Modulation of innate immune response, mucosal parameters and disease resistance in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) upon synbiotic feeding. Fish & Shellfish Immunology. 45(1): 27-32.

Hoseinifar, S.H., Ringø, E., Shenavar Masouleh, A., Esteban, M.Á. 2014a. Probiotic, prebiotic and synbiotic supplements in sturgeon aquaculture: a review. Journal of Reviews in Aquaculture. 8(1): 89-102.

Hoseinifar, S.H., Roosta, Z., Hajimoradloo, A., Vakili, F. 2015c. The effects of Lactobacillus acidophilus as feed supplement on skin mucosal immune parameters, intestinal microbiota, stress resistance and growth performance of black swordtail (*Xiphophorus helleri*). Fish & Shellfish Immunology. 42(2): 533-538.

Hoseinifar, S.H., Sharifian, M., Vesaghi, M.J., Khalili, M., Esteban, M.Á. 2014b. The effects of dietary xylooligosaccharide on mucosal parameters, intestinal microbiota and morphology and growth performance of Caspian white fish (*Rutilus frisii kutum*) fry. Fish & Shellfish Immunology. 39(2): 231-236.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-05-19]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1396.7.2.5.2]

Iger, Y., Abraham, M. 1990. The process of skin healing in experimentally wounded carp. Journal of Fish Biology. 36(3): 421-437.

Lazado, C.C., Caipang, C.M.A. 2014. Mucosal immunity and probiotics in fish. Fish & Shellfish Immunology. 39(1): 78-89.

Li, P., Gatlin, D.M. 2004. Dietary brewer's yeast and the prebiotic Grobiotic^{TM} AE influence growth performance, immuno responses and resistance of hybrid striped bass (*Morone chrysops* x *M. saxatilis*) to *Streptococcus iniae* infection. Journal of Aquaculture. 231: 445-456.

Mahious, A.S., Ollevier, F. 2005. Probiotics and prebiotics in aquaculture: a review. In 1st regional workshop on techniques for enrichment of live food for use in larviculture. Urmia, Iran .pp.17-26.

Maslowski, K.M., Mackay, C.R. 2011. Diet, gut microbiota and immune responses. Journal of Nature Immunology. 12(1): 5-9.

Miandare, H.K., Farvardin, S., Shabani, A., Hoseinifar, S.H., 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 & Shellfish Immunology. 55: 479-483.

Reverter, M., Bontemps, N., Lecchini, D., Banaigs, B., Sasal, P. 2014. Use of plant extracts in fish aquaculture as an alternative to chemotherapy: current status and future perspectives. Journal of Aquaculture. 433: 50-61.

Ringø, E., Olsen, R.E., Gifstad, T.Ø., Dalmo, R.A., Amlund, H., HEMRE, G.I., Bakke, A.M. 2010. Prebiotics in aquaculture: a review. Aquaculture Nutrition. 16(2): 117-136.

Ringø, E., Dimitroglou, A., Hoseinifar , S.H., Davies S.J. 2014. Prebiotics in finfish: An update. In: Aquaculture Nutrition: Gut Health, Probiotics and Prebiotics. Ringø, E., Merrifield, D. (eds.). John Wiley & Sons Ltd, Chichester, UK. pp. 360-400.

Roosta, Z., Hjimoradloo, A., Hoseinifar, S.H., Vakili, F. 2012. Effect of probiotic *Lactobacillus acidiphilus* on antibacterial activity and mucosal immune response in tiger barb (*Puntius tetrazona*). Journal of Aquatic Ecology. 3(2): 13-20. (in Persian)

Sado, R.Y., Bicudo, Á.J.D.A., Cyrino, J.E.P. 2008. Feeding dietary mannan oligosaccharides to juvenile Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, has no effect on hematological parameters and showed decreased feed consumption. Journal of the World Aquaculture Society. 39(6): 821-826.

Sako, T., Matsumoto, K., Tanaka, R. 1999. Recent progress on research and applications of non-digestible galacto-oligosaccharides. International Dairy Journal. 9(1): 69-80.

Salze, G., McLean, E., Schwarz, M.H., Craig, S.R. 2008. Dietary mannan oligosaccharide enhances salinity tolerance and gut development of larval cobia. Journal of Aquaculture. 274(1): 148-152.

Scheppach, W. 1994. Effects of short chain fatty acids on gut morphology and function. Journal of Gut. 35(1): 35-38.

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.105-112.

Song, S.K., Beck, B.R., Kim, D., Park, J., Kim, J., Kim, H.D., Ringø, E. 2014. Prebiotics as immunostimulants in aquaculture: a review. Fish & Shellfish Immunology. 40(1): 40-48.

Tacon, A.G. 1990. Standard methods for the nutrition and feeding of farmed fish and shrimp. Vol. 3. feeding method. Agent Laboratories Press, Redmond, Taoka.

Wang, Y., Wu, Z.X., Pang, S.F., Zhu, D.M., Feng, X., Chen, X.X. 2008. Effect of fructooligosaccharides on non-specific immune function in *Carassius auratus*. Journal of Acta Hydrobiologica Sinica. 32(4): 488-492.

Zon, L.I., Peterson, R.T. 2005. In vivo drug discovery in the zebrafish. Journal of Nature Reviews Drug Discovery. 4(1): 35-44.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-05-19]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1396.7.2.5.2]