تأثیر سطوح مختلف پربیوتیک مانان الیگوساکارید بر شاخص‌های رشد، بازماندگی، ترکیب لاشه و برخی پارامترهای هماتولوژی در بچه ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

- **رضا اکرمی*:** گروه شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد آزاد شهر، صندوق پستی: ۳۰
- **افشین قلیچی:** گروه شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد آزاد شهر، صندوق پستی: ۳۰
- **ابوذر کرمپور بهشت‌آباد:** گروه شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد آزاد شهر، صندوق پستی: ۳۰
- **مجید رازقی منصور:** مرکز مطالعات و تحقیقات ماهیان زینتی جهاد دانشگاهی مازندران، ساری صندوق پستی: ۱٦٤٧-٤٨١٧٥

تاریخ دریافت: اسفند ۱۳۹۰ تاریخ پذیرش: تیر ۱۳۹۱

چکیده

این تحقیق به منظور ارزیابی تأثیر سطوح مختلف پربیوتیک مانان الیگوساکارید بر شاخص‌های رشد، بازماندگی، ترکیب لاشه و برخی پارامترهای هماتولوژی در بچه ماهیان کپور پرورشی به مدت ٤٥ روز انجام شد. آزمایش با استفاده از طرح کاملاً تصادفی شامل سطوح صفر (شاهد)، ۱، ۲ و ۳ گرم پربیوتیک مانان الیگوساکارید به ازای هر کیلوگرم جیره در قالب چهار تیمار با سه تکرار طراحی شد. آزمایش درون تشت‌های پلاستیکی ۱۰۰ لیتری انجام گرفت. تعداد ۲۰ بچه ماهی کپور با میانگین وزنی۰/۱۷±۱/۳ گرم ذخیره‌سازی و تا حد سیری تغذیه شدند. با توجه به نتایج بدست آمده تفاوت معنی‌داری از نظر رشد و کارایی تغذیه در بین تیمارها وجود نداشت (P>۰/۰۵). کمترین و بیشترین عملکرد رشد بترتیب در تیمار شاهد و سطح ۱ گرم مانان الیگوساکارید در هر کیلوگرم جیره تعیین گردید. از نظر بازماندگی تفاوت معنی‌داری در بین تیمارها مشاهده نشد (P>۰/۰۵). یافته آنالیز لاشه حاکی از عدم اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای آزمایشی بود (P>۰/۰۵). ولی بیشترین میزان پروتئین لاشه در سطح ۱ گرم مانان الیگوساکارید در هر کیلوگرم جیره بدست آمد (P>۰/۰۵). بیشترین میزان هماتوکریت و لنفوسیت (P<۰/۰۵). گلبول سفید، گلبول قرمز، هموگلوبین، ائوزینوفیل و نوتروفیل (P>۰/۰۵) در تیمار ۱ گرم بر کیلوگرم مانان الیگوساکارید مشاهده شد. نتایج نشان دادند افزودن یک گرم پربیوتیک مانان الیگوساکارید در هر کیلوگرم جیره غذایی ماهی کپور پرورشی می‌تواند در بهبود عملکرد رشد، بازماندگی، تولید نهایی، ترکیب مغذی بدن و پارامترهای هماتولوژی موثر واقع شود و این پربیوتیک می‌تواند بعنوان یک مکمل مناسب برای جیره غذایی بچه ماهیان کپور مد نظر قرار گیرد.

کلمات کلیدی: پربیوتیک مانان الیگوساکارید، رشد، بازماندگی، ترکیب لاشه، پارامترهای هماتولوژی، بچه ماهی کپور، *Cyprinus carpio*

*پست الکترونیکی نویسنده مسئول: Akrami202@yahoo.com

مقدمه

استفاده از آنتی بیوتیک‌ها و داروهای شیمیایی در آبزی پروری در چند سال گذشته تبعاتی از جمله خطر مقاوم شدن پاتوژن به این داروها، باقی ماندن داروها در گوشت ماهیان مورد تغذیه انسان و نیز آلودگی‌های زیست محیطی را بدنبال داشته است (۲۹). از اینرو امروزه قوانین بسیار جدی در زمینه استفاده از آنتی بیوتیک‌ها وجود دارد. در نتیجه راهکارهای مختلفی برای کاهش نیاز به استفاده از آنتی بیوتیک‌ها مورد بررسی قرار گرفته است. یکی از این راهکارها استفاده از مکمل‌های غذایی مانند پروبیوتیک‌ها، پربیوتیک‌ها و سین بیوتیک‌ها است که علاوه بر افزایش رشد اثرات سودمندی بر ایمنی میزبان دارد (۱۷). پربیوتیک‌ها عناصر غذایی غیر قابل 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 دارد و باعث بهبود سلامتی آن می‌شود (۱۳). از انواع این پربیوتیک‌ها می‌توان به مانان الیگوساکارید اشاره کرد که یک کربوهیدرات پیچیده است و از دیواره سلولی مخمر *Saccharomyces cerevisiae* مشتق شده است. این ترکیبات شامل مانوز بعنوان عنصر اولیه کربوهیدرات می‌باشد و مانع از اتصال و کلونیزه شدن باکتریهای بیماریزا به دستگاه گوارش می‌گردد و اثرات معکوس متابولیت‌های میکروفلور را کاهش می‌دهد (۲۵). با توجه به اینکه بکارگیری پربیوتیک‌ها بعنوان تکنیک‌های نوین در پرورش آبزیان محسوب می‌گردد، استفاده بهینه از این قبیل فرآورده‌های غیرقابل هضم می‌تواند در گسترش و توسعه سیستم‌های پرورش ماهیان بسیار مفید واقع شود. علاوه بر بررسی فاکتورهای رشد، تغذیه و بازماندگی پس از کاربرد محرک‌های ایمنی از قبیل پربیوتیک‌ها در جیره غذایی ماهیان، ارزیابی پارامترهای دیگری از قبیل شمارش تعداد کل لکوسیت‌ها و اریتروسیت‌ها و میزان تکثیر لنفوسیت‌ها در موجودات مورد آزمایش، حائز اهمیت می‌باشد (۱). از جمله تحقیقات صورت گرفته در زمینه اثر پربیوتیک مانان الیگوساکارید بر فاکتورهای رشد، تغذیه و فاکتورهای هماتولوژی در ماهیان می‌توان به تحقیقات Pryor و همکاران (۲۰۰۳) روی گونه خاویاری خلیج (*Acipenser oxyrinchus desotoi*)، Genc و همکاران (۲۰۰۶ و ۲۰۰۷b) روی گربه ماهی آفریقایی (*Clarias gariepinus*) و هیبرید ماهی تیلاپیا (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*)، Torrecillas و همکاران (۲۰۰۷) روی باس دریایی جوان (*Dicentrarchus labrax*)، Yilmaz و همکاران (۲۰۰۷) و Staykov و همکاران (۲۰۰۷) روی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*)، Welker و همکاران (۲۰۰۷) روی گربه ماهی روگاهی (*Ictalurus punctatus*)، Helland و همکاران (۲۰۰۸) روی ماهی آزاد اقیانوس اطلس (*Salmo salar*)، Sado و همکاران (۲۰۰۸) روی ماهی تیلاپیای نیل جوان (*Oreochromis niloticus*)، Samrongpan و همکاران (۲۰۰۸) روی ماهیان جوان پرورشی تیلاپیا (*Oreochromis niloticus*)، Andrews و همکاران (۲۰۰۹) روی گونه راهو (*Labeo rohita*)، Dimitroglou و همکاران و Gultepe و همکاران (۲۰۱۰) روی سیم دریایی (*Sparus aurata*)، Akrami و همکاران (۲۰۱۰) روی بچه ماهی سفید دریای خزر (*Rutilus frisii kutum*) و Razeghi Mansour و همکاران (۲۰۱۱) روی فیل ماهی (*Huso huso*) جوان پرورشی اشاره کرد. ماهی کپور معمولی یکی از گونه‌های مهم پرورشی می‌باشد که تقریباً در کل دنیا پرورش داده می‌شود (۳۰). از اینرو با توجه به ویژگی‌های منحصر بفرد این گونه از قبیل مقاومت زیاد در مقابل نوسانات محیطی، استفاده از محدوده وسیعی از مواد غذایی قابل دسترس (۲۳) و اهمیت اقتصادی این گونه، این تحقیق به منظور بررسی تأثیر سطوح مختلف پربیوتیک مانان الیگوساکارید بر شاخص‌های رشد، بازماندگی، ترکیبات لاشه و برخی پارامترهای هماتولوژی در بچه ماهی کپور معمولی انجام شد.

مواد و روشها

این تحقیق از اوایل اردیبهشت ماه ۱۳۹۰ به مدت ۴۵ روز در شهر قم در محیط کارگاهی مسقف انجام شد. بچه ماهیان کپور معمولی مورد استفاده از یکی از مراکز عمده توزیع و تولید پرورش ماهیان گرمابی در بخش کهک تهیه گردید و در کیسه‌های پلاستیکی حاوی ۳۰ درصد آب و ۷۰ درصد اکسیژن به محل آزمایش انتقال داده شدند. پس از سازگاری اولیه و عادت‌پذیری ماهیان با غذای دستی مورد استفاده در آزمایش که حدود ۷ روز بطول انجامید، ۲۴۰ عدد بچه ماهی کپور معمولی با میانگین

وزنی ۰/۱۷± ۱/۳ گرم با تراکم ۲۰ عدد در ۱۲ تشت پلاستیکی ۱۰۰ لیتری توزیع شدند. آب مورد استفاده در طول دوره آزمایش از آب لوله‌کشی شهری بود که با هوادهی و ماندگاری به مدت ۲۴ ساعت، کلرزدایی از آن صورت گرفت.

پربیوتیک مورد استفاده در این آزمایش، مانان الیگوساکارید (MOS) با نام تجاری اکتیوموس (MOS;ActiveMOS®) ساخت شرکت Biorigin کشور برزیل بود که از دیواره سلولی مخمر ساکارومایسس سرویزیا (*Saccharomyces cerevisiae*) مشتق شده که این ترکیبات شامل مانوز بعنوان عنصر اولیه کربوهیدرات می‌باشد.

به منظور بررسی اثر این ماده بر شاخص‌های رشد بچه ماهیان کپور، طرح کاملاً تصادفی متعادل شامل سه سطح ۱ ، ۲ و ۳ گرم مانان الیگوساکارید به ازای هر کیلوگرم غذا و یک گروه شاهد بدون پربیوتیک با سه تکرار طراحی شد.

برای تغذیه بچه ماهیان با توجه به نتایج حاصل از زیست سنجی، غذای مورد نیاز هر تشت محاسبه و برای ۲ هفته بعد تنظیم شد. در طول دوره آزمایش، غذادهی به بچه ماهیان کپور براساس مشاهدات و رفتار تغذیه‌ای آنها تا حد سیری در ۳ نوبت در ساعات ۸، ۱۴ و ۲۰ انجام گرفت که حدود ۶-۴ درصد وزن توده زنده در طول دوره پرورش متغیر بود. باید خاطرنشان نمود که در کل دوره پرورش از غذای کنسانتره بچه ماهیان کپور وابسته به شرکت بهسان تغذیه آریا استفاده گردید (جدول ۱).

برای آنالیز لاشه در پایان دوره آزمایش دو نمونه از هر تکرار بطور تصادفی انتخاب و بعد از خارج کردن امعاء و احشاء و جدا کردن سر و باله، ماهیان، به کمک چرخ گوشت، چرخ شده و مخلوط حاصله در فریزر در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری و منجمد شد و سپس به آزمایشگاه برای آنالیز لاشه منتقل گردیدند. برای آنالیز تقریبی ترکیب جیره و لاشه ماهیان جهت کنترل مقادیر پروتئین، چربی و خاکستر از روش‌های مندرج در AOAC (۱۹۹۹) استفاده گردید. پروتئین کل با استفاده از دستگاه کجلدال، چربی با استفاده از روش سوکسله و خاکستر با استفاده از کوره الکتریکی در دمای ۵۵۰ درجه سانتیگراد به مدت ۴ ساعت اندازه‌گیری گردید.

جدول ۱: تجزیه تقریبی غذای کنسانتره بچه ماهیان کپور (محصول بهسان تغذیه آریا)

نوع ترکیب	(درصد)
پروتئین خام	۳۵
خاکستر	۸
چربی خام	۱۲
عصاره عاری از ازت[1]	۳۰
فیبر خام	۵
رطوبت	۱۰
انرژی ناخالص (مگاژول در کیلوگرم)[2]	۱۸/۱

۱) عصاره عاری از ازت (NFE) = ماده خشک – (فیبر+خاکستر+چربی خام+پروتئین خام)

۲) انرژی ناخالص (مگا ژول در کیلوگرم) = (درصد پروتئین غذا × ۲۳/٦) + (درصد چربی × ۳۹/۵) + (درصد عصاره عاری از ازت × ۱۷)

هر ۱۴ روز یکبار تمام ماهیان بصورت جداگانه با ترازویی با دقت ۰/۰۱ گرم مورد زیست‌سنجی قرار گرفتند. بدین منظور به جهت کاهش استرس و تلفات در طول زیست‌سنجی و همچنین اطمینان از خالی شدن دستگاه گوارش از غذا، ۱۲ ساعت قبل از زیست‌سنجی تغذیه ماهیان قطع گردید و از پودر گل میخک با مقدار ۱۰۰ppm بعنوان ماده بیهوشی استفاده شد. با توجه به اطلاعات اخذ شده از زیست‌سنجی برای بررسی رشد بچه ماهیان و مقایسه بین تیمارها، شاخص‌های رشد و تغذیه از قبیل وزن نهایی، افزایش وزن بدن، درصد افزایش وزن بدن، ضریب تبدیل غذایی، نرخ رشد ویژه، میزان غذای خورده شده روزانه، تولید خالص ماهی، درصد بازماندگی و نسبت کارایی پروتئین براساس منابع موجود از معادلات ریاضی محاسبه شد (۵). برای بررسی اثر پربیوتیک روی بازماندگی بچه ماهیان کپور، شاخص درصد بازماندگی براساس تعداد بچه ماهیان زنده در پایان دوره آزمایش صورت گرفت.

در پایان دوره آزمایش، برای انجام آزمایشات هماتولوژی خونگیری از بچه ماهیان صورت گرفت. بدین منظور برای جلوگیری از استرس، ۲۴ ساعت قبل از خونگیری، تغذیه ماهیان قطع گردید و از پودر گل میخک با مقدار ppm ۲۰۰ بعنوان ماده بیهوشی استفاده شد. در ادامه ۳۶ عدد ماهی (۳ ماهی به ازای هر تکرار) که از نظر ظاهری سالم و فاقد نشانه‌های بیماری بودند بطور تصادفی انتخاب و برای جلوگیری از ورود موکوس و آب به نمونه خون، ماهیان کاملاً خشک شدند و در نهایت از طریق قطع ساقه دمی خونگیری انجام گردید. از نمونه‌های خون بدست آمده مقدار ۱ سی‌سی در لوله‌های سرولوژی حاوی ماده ضد انعقاد هپارین منتقل گردید.

آزمایش‌های هماتولوژی روی خون حاوی ماده ضد انعقاد هپارین انجام گرفت. فاکتورهای خونی مورد مطالعه شامل تعداد گلبولهای قرمز (RBC)، تعداد گلبولهای سفید (WBC)، هماتوکریت (PCV)، هموگلوبین (Hb)، حجم متوسط گلبولی (MCV)، هموگلوبین متوسط گلبولی (MCH) و غلظت متوسط هموگلوبین گلبولهای قرمز (MCHC) بود (۹). همچنین شمارش افتراقی گلبولهای سفید شامل نوتروفیل (هتروفیل)، لنفوسیت، مونوسیت و ائوزینوفیل نیز انجام شد (۶). باید خاطر نشان کرد که نوع رنگ‌آمیزی در شمارش گلبولهای سفید از نوع گیمسا بود و از محلول ریس برای رقیق کردن خون استفاده شد.

اندازه‌گیری فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب از قبیل دمای آب بطور روزانه و اکسیژن و pH هر ۱۴ روز یکبار انجام گرفت. در کل دوره آزمایش میزان دمای آب ۳/۳±۲۵ درجه سانتیگراد، pH برابر با ۸/۸-۶/۹ و میزان اکسیژن ۰/۶±۵/۳ میلیگرم در لیتر بود.

در ابتدا آزمون نرمالیتی (normality) بوسیله آزمون Shapiro-Wilk انجام شد. تجزیه و تحلیل روی داده‌های مربوط به تغییرات معیارهای رشد، فاکتورهای تغذیه‌ای، ترکیبات شیمیایی لاشه و پارامترهای هماتولوژی بچه ماهیان کپور از طریق آزمون تجزیه واریانس یکطرفه (one-way ANOVA) و مقایسه میانگین بین تیمارها براساس آزمون دانکن (Duncans) استفاده شد. وجود یا عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد با استفاده از نرم‌افزار SPSS و Excel در محیط ویندوز انجام گرفت و مقادیر P<۰/۰۵ معنی‌دار تلقی گردید.

نتایج

نتایج حاصل از تأثیر سطوح مختلف مانان الیگوساکارید موجود در جیره غذایی بچه ماهیان کپور بر شاخص‌های رشد و تغذیه در جدول ۲ ارائه شده است. در ابتدای آزمایش از نظر تغییرات وزنی تفاوت معنی‌داری در بین تیمارها وجود نداشت و چهار گروه مورد آزمایش از نظر میانگین وزنی همگن بودند (P>۰/۰۵). در انتهای دوره آزمایش تفاوت معنی‌داری در بین تیمارها مشاهده نگردید اما با این حال تیمار ۱ گرم مانان الیگوساکارید در هر کیلوگرم جیره از نظر پارامترهای رشد و تغذیه بدون هیچگونه تفاوت معنی‌داری از بیشترین میزان در مقایسه با سایر تیمارها برخوردار بود (P>۰/۰۵). همچنین کمترین ضریب تبدیل غذایی و بیشترین درصد بازماندگی نیز بدون هیچ گونه تفاوت معنی‌داری در تیمار ۱ گرم در کیلوگرم مانان الیگوساکارید مشاهده گردید (P>۰/۰۵). همچنین افزودن مانان الیگوساکارید در سطح ۱ گرم در کیلوگرم جیره سبب کاهش قیمت غذا گردید (P<۰/۰۵).

جدول ۲: مقایسه برخی از معیارهای رشد (میانگین ±انحراف معیار) بدست آمده در بچه ماهیان کپور پرورشی تغذیه شده با سطوح مختلف پربیوتیک مانان الیگوساکارید طی مدت ٤٥ روز

شاخص	شاهد	۱MOS (گرم در کیلوگرم)	۲ MOS (گرم در کیلوگرم)	۳ MOS (گرم در کیلوگرم)
وزن اولیه (گرم)	۱/۲۸±۰/۰۱۵	۱/۲۹±۰/۰۱۵	۱/۳۰±۰/۰۲	۱/۲۹±۰/۰۱۵
وزن نهایی (گرم)	۳/۲۰±۰/۲۰	۳/٦٤±۰/۳٥	۳/٥۰±۰/۱٥	۳/٦۰±۰/۳۰
افزایش وزن بدن (گرم)	۲/۰۰±۰/۲۱	۲/۳۱±۰/۳٥	۲/۲۷±۰/۱٤	۲/۲۷±۰/۳۱
درصد افزایش وزن بدن	۱٤۸/۸۰±۰/۱۸٤	۱۷۸/۹±۰/۲۷۷	۱۷۳±۰/۱۰	۱۷٦/۲۰±۰/۲٦۲
نرخ رشد ویژه (درصد در روز)	۲/۰۱±۰/۱۷	۲/٤۳±۰/۲۳	۲/۳۹±۰/۸۷	۲/٤۱±۰/۲۱
غذای خورده شده روزانه (درصد در روز)	۲/۳٥±۰/۰٥	۲/٦۸±۰/۱۱[a]	۲/٥۸±۰/۱۳	۲/٥٦±۰/۱۸
ضریب تبدیل غذایی (گرم)	۳/۷٥±۰/٦۱	۳/۱٦±۰/۲	۳/۷۳±۰/٤٥	۳/۲۳±۰/٥۷
نسبت کارایی پروتئین	۱/۷۷±۰/۱۲	۱/۹٤±۰/۱٦	۱/۷۸±۰/۱۱	۱/۸٥±۰/۲۱
بازماندگی (درصد)	٦۳/۳۰±۰/۲۸	۷۰/۰۰±۰/٥	٦٦/٦±۰/۰۲۸	٦۸/۳۰±۰/۲۸
تولید نهایی (گرم)	٤٤/۷۳±۰/۱۷	٤۸/۸٤ ±۰/۳۱	٤٤/۹٦±۰/۲۸	٤۸/۰۱±۰/۳۸
شاخص قیمت غذا (تومان)	۳٥٦۲/٥±٤٥/۳[b]	۳۰۲۷/۳۰±۳٤/۷[a]	۳٦۰۳/٥±۸٥/۹[a]	۳۰۷۷/۲±٥۰/٤[a]

عدم وجود حروف در ستون، نشان‌دهنده‌ی معنی‌دار نبودن اختلافات در بین تیمارها می‌باشد (P>۰/۰٥).

بدن وزن افزایش وزن بدن = میانگین وزن انتهای دوره (گرم) – میانگین وزن ابتدای دوره (گرم)

درصد افزایش وزن بدن= [(میانگین وزن انتهای دوره (گرم) – میانگین وزن ابتدای دوره (گرم))/ میانگین وزن ابتدای دوره (گرم) × ۱۰۰]

نرخ رشد ویژه= [لگاریتم طبیعی میانگین وزن نهایی (گرم) - لگاریتم طبیعی میانگین وزن اولیه (گرم)/زمان] × ۱۰۰

غذای خورده شده روزانه= [(میانگین وزن نهایی (گرم) × میانگین وزن اولیه (گرم)$^{۰/٥}$ / کل غذای خورده شده به ازای یک ماهی×۱۰۰)]

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

نسبت کارآیی پروتئین = افزایش وزن بدن (گرم)/ مقدار مصرف پروتئین (گرم)

درصد بازماندگی = تعداد بچه ماهیان انتهای دوره / تعداد بچه ماهیان باقیمانده در ابتدای دوره × ۱۰۰

تولید خالص ماهی = [میانگین وزن اولیه (گرم) / میانگین وزن نهایی (گرم)] × (تعداد ماهیان باقیمانده انتهای دوره)

شاخص قیمت = ضریب تبدیل غذا × قیمت یک کیلوگرم غذا

جدول ۳ تأثیر جیره غذایی حاوی سطوح مختلف پربیوتیک مانان الیگوساکارید را بر ترکیب بدن بچه ماهیان کپور نشان می‌دهد. نتایج آنالیز لاشه تفاوت معنی‌داری را از نظر پروتئین، چربی و خاکستر در بین تیمارها نشان نداد (P>۰/۰٥) بطوریکه بیشترین میزان پروتئین و خاکستر بدون هیچگونه تفاوت معنی‌داری در تیمار ۱ گرم مانان الیگوساکارید در هر کیلوگرم جیره مشاهده گردید (P>۰/۰٥). همچنین با افزایش سطح مانان الیگوساکارید در جیره میزان چربی لاشه نیز افزایش یافت اما تفاوت معنی‌داری با سایر تیمارها نداشت (P>۰/۰٥).

جدول ۳: مقایسه میانگین ترکیبات شیمیایی بدن بچه ماهی کپور پرورشی (درصد) نسبت به اثر سطوح مختلف پربیوتیک مانان الیگوساکارید بعد از ٤٥ روز تغذیه

تیمار / شاخص	شاهد	۱ MOS (گرم در کیلوگرم)	۲ MOS (گرم در کیلوگرم)	۳ MOS (گرم در کیلوگرم)
پروتئین (درصد)	۱۹/۹۷±۰/۱۸	۲۰/۵٦±۰/۱۹	۲۰/٤٤±۰/۳٤	۲۰/۲٦±۰/۱۳
چربی (درصد)	۱/٦٤±۰/۳۰	۱/٦۱±۰/۳۰	۱/٦۷±۰/۲۰	۱/٦۸±۰/۱۰
خاکستر (درصد)	۲/۹۵±۰/۲۱	۲/۹٦±۰/۲۰	۲/۹۱±۰/۲۳	۲/۹۰±۰/۲۵

عدم وجود حروف در ستون، نشان‌دهنده‌ی معنی‌دار نبودن اختلافات در بین تیمارها می‌باشد (P>۰/۰۵).

نتایج حاصل از تأثیر سطوح مختلف مانان الیگوساکارید موجود در جیره غذایی بر شاخص‌های هماتولوژی بچه ماهیان کپور در جدول ۴ ارائه شده است. براساس نتایج بیشترین میزان هماتوکریت و لنفوسیت در تیمار حاوی ۱ گرم بر کیلوگرم مانان الیگوساکارید مشاهده گردید که از تفاوت معنی‌داری نسبت به سایر تیمارها برخوردار بود (P<۰/۰۵). همچنین بیشترین میزان گلبول قرمز، گلبول سفید، هموگلوبین، ائوزینوفیل و نوتروفیل هم بدون هیچگونه تفاوت معنی‌داری در تیمار حاوی ۱ گرم بر کیلوگرم مانان الیگوساکارید مشاهده گردید (P>۰/۰۵). اما میزان منوسیت هیچگونه تفاوت معنی‌داری را در بین تیمارها از خود نشان نداد، اگرچه در تیمار حاوی ۲ گرم بر کیلوگرم مانان الیگوساکارید از بیشترین میزان برخوردار بود (P>۰/۰۵).

جدول ٤: متغییرهای خونشناختی (میانگین ±انحراف معیار) بچه ماهیان کپور تغذیه شده با سطوح متفاوت پربیوتیک مانان الیگوساکارید طی مدت ٤٥ روز

تیمار / شاخص	شاهد (n=۹)	۱MOS (گرم در کیلوگرم) (n=۹)	۲MOS (گرم در کیلوگرم) (n=۹)	۳MOS (گرم در کیلوگرم) (n=۹)
گلبول قرمز (10^6 میلیمتر)	۱/۲۰±۰/۱۱ a	۱/۲۹±۰/۱۵ ab	۱/۱۹±۰/۰٦ a	۱/۱±۰/۱۸ a
گلبول سفید (10^3 میلیمتر)	۱۲/۹۰±۱/۳۱ ab	۱٤/٦۹±۳/٤۳ a	۱۳/۸۵±٤/۵۰ ab	۱۳/۲۵±۳/۲۸ a
هماتوکریت (درصد)	۳٦/۰۰±۳/۲۱ a	۳۹/۰۰±۲/۰۰ b	۳۲/۰۰±۲/٦۰ a	۳۷/۳۳±۳/۰۵ a
هموگلوبین (گرم در دسی لیتر)	۸/۲۳±۲/۳٦ ab	۹/۲۵±۲/۱۵ a	۸/٤۰±۱/۱۵ ab	۸/۲٦±۱/۵٦ ab
ائوزینوفیل(درصد)	٤/۰۰±۰/۰۱ a	٤/٦۷±۰/۵۷ a	٤/۳۳±۰/۵۷ a	٤/۳۳±۰/۵۷ a
منوسیت (درصد)	۲/۳۳±۱/۵۲ a	۳/۰۷±۰/۰۱ a	۳/۳۳±۲/۳۰ a	۳/۰۰±۱/۷۳ a
لنفوسیت (درصد)	۷۸/۳۳±۰/۱۸ b	۸۰/٦٦±۰/۵۱ a	۷۸/۳۳±۰/۱۵ b	۷۸/٦٦±۰/۵۲ b
نوتروفیل (درصد)	۱۵/٤۰±۱/۰۱ a	۱٤/۹±۱/۰۳ a	۱۵/۱±۱/۷۳ a	۱٤/۱±۱/۷۳ a

در یک ردیف حروف مشابه نشان‌دهنده‌ی عدم اختلاف معنی‌دار (P>۰/۰۵) و حروف غیرمشابه دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (P<۰/۰۵).

بحث

در سالهای اخیر آبزی‌پروری از رشد سریعی در بخش‌های تولید غذا برخوردار بوده و در کنار این رشد قابل توجه همواره با مشکلاتی مواجه است که از جمله آنها می‌توان به تغییرات کیفیت آب، شیوع بیماری‌ها و مشکلات تغذیه‌ای اشاره کرد، به گونه‌ای که شیوع بیماری ها به عنوان مشکل عمده آبزی‌پروری، گسترش اقتصاد این بخش را در بسیاری از کشورهای جهان تحت تأثیر قرار داده است و همواره راه حلهایی نیز برای برطرف کردن این مشکلات ارائه شده که موفقیت چندانی نداشته‌اند (۱۸). در نتیجه پربیوتیک‌ها بعنوان یک مکمل غذایی برای افزایش رشد و سیستم ایمنی مطرح شده‌اند به این صورت که پربیوتیک‌ها با تغییر میکروفلور روده در جهت افزایش باکتریهای مفید مانند لاکتوباسیلوس‌ها در جذب مواد مغذی با عوامل بیماریزا رقابت نموده و در نهایت منجر به افزایش رشد و بقا موجود می‌شوند (۲۶).

براساس نتایج تحقیق حاضر تفاوت معنی‌داری از نظر پارامترهای رشد، تغذیه و بازماندگی در بین تیمارها در مقایسه با تیمار شاهد مشاهده نگردیده است اگرچه بیشترین مقادیر این شاخص‌ها در تیمار ۱ گرم بر کیلوگرم مانان الیگوساکارید بدست آمد. در همین راستا اضافه کردن مانان الیگوساکارید به میزان ۳ گرم در هر کیلوگرم به جیره غذایی تاسماهی خلیج (*Acipenser oxyrinchus desotoi*) (۱۹)، افزودن مانان الیگوساکارید با سطوح مختلف ۱، ۲ و ۳ درصد در جیره گربه ماهی آفریقایی (*Clarias gariepinus*)، مکمل کردن جیره با سطوح متفاوت ۱/۵، ۳ و ۴/۵ گرم مانان الیگوساکارید در هر کیلوگرم هیبرید ماهی تیلاپیا (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*) (Genc *et al*., 2006, 2007a)، افزودن مانان الیگوساکارید به میزان ۲ گرم در هر کیلوگرم در جیره گربه ماهی روگاهی (*Ictalurus punctatus*) (۳۲)، بکارگیری سطوح مختلف ۰/۲، ۰/۴، ۰/۶، ۰/۸ و ۱ درصد مانان‌الیگوساکارید در جیره ماهیان جوان پرورشی تیلاپیا (*Oreochromis niloticus*) (۲۲)، اضافه کردن مانان الیگوساکارید به میزان ۰/۲ و ۰/۴ درصد با جیره‌های مختلف حاوی آرد ماهی و آرد سویا به جیره غذایی ماهی سیم دریایی (*Sparus aurata*) (۷)، تغذیه بچه ماهی سفید دریای خزر (*Rutilus frisii kutum*) با سطوح متفاوت ۱/۵، ۳ و ۴/۵ گرم مانان الیگوساکارید در هر کیلو گرم جیره (۲) و Razeghi Mansour و همکاران (۲۰۱۲) با بررسی تأثیر سطوح متفاوت ۲ و ۴ گرم در کیلوگرم مانان الیگوساکارید در جیره غذایی فیل ماهیان (*Huso huso*) جوان پرورشی نتایج تحقیق حاضر را تأیید می‌کنند بدین ترتیب که هیچ اختلاف معنی‌داری از نظر پارامترهای رشد و تغذیه در تحقیقات مذکور مشاهده نگردید. اما برخلاف یافته‌های تحقیق حاضر، Torrecillas و همکاران (۲۰۰۷) با ارزیابی سطوح مختلف ۲ و ۴ گرم مانان الیگوساکارید به جیره غذایی ماهی سی‌باس اروپایی (*Dicentrachus labrax*)، Yilmaz و همکاران و Staykov و همکاران (۲۰۰۷) در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*)، Helland و همکاران (۲۰۰۸) روی ماهی آزاد اقیانوس اطلس (*Salmo salar*)، Samrongpan و همکاران (۲۰۰۸) روی ماهیان جوان پرورشی تیلاپیا (*Oreochromis niloticus*) و Gultepe و همکاران (۲۰۱۰) روی گونه سیم دریایی (*Sparus aurata*) تفاوت معنی‌داری را در شاخص‌های رشد و تغذیه در بین تیمارهای حاوی مانان الیگوساکارید در مقایسه با تیمار شاهد گزارش نمودند. عدم قطعیت در نتایج گزارش شده توسط محققین مختلف را احتمالاً می‌توان به نوع گونه پرورشی، اندازه، سن، طول دوره پرورش، مدت تجویز پربیوتیک، شرایط محیطی و بهداشتی نگهداری موجود، رفتارهای تغذیه‌ای، خصوصیات فیزیولوژیک موجود، نوع مواد اولیه بکار رفته در تهیه جیره و کمیت و کیفیت آنها، فرمولاسیون جیره غذایی، نوع پربیوتیک انتخابی، درجه خلوص و میزان مورد استفاده آن در جیره، نحوه اضافه کردن پربیوتیک به جیره و احتمالاً فلور میکروبی ویژه‌ای که قادر به استفاده از آن بعنوان سوبسترا هستند، نسبت داد که ممکن است بر تأثیرات متفاوت پربیوتیک روی رشد و بازماندگی مؤثر باشد.

پربیوتیک‌ها با تأثیر بر باکتری‌های مفید روده باعث افزایش حجم باکتری‌های مفید روده شده و در نهایت با افزایش قابلیت هضم پذیری برخی از ترکیبات مفید بر ترکیبات بدن نیز تأثیرگذار خواهند بود. همچنین Helland و همکاران (۲۰۰۸) عنوان کردند که میزان پروتئین لاشه در بدن بسته به گونه ماهی ممکن است تحت تأثیر جیره‌های حاوی پربیوتیک قرار بگیرد. نتایج آنالیز لاشه تفاوت معنی‌داری را از نظر پروتئین، چربی و خاکستر در بین تیمارها نشان نداد ($P>0/05$) بطوریکه بیشترین میزان پروتئین و خاکستر بدون هیچگونه تفاوت معنی‌داری در تیمار ۱ گرم مانان الیگوساکارید در هر کیلوگرم جیره مشاهده گردید ($P>0/05$). همچنین با افزایش سطح مانان الیگوساکارید در جیره میزان چربی لاشه نیز افزایش یافت اما تفاوت معنی‌داری با سایر تیمارها نداشت ($P>0/05$). در همین راستا Dimitroglou و همکاران (۲۰۱۰) و Gultepe و همکاران (۲۰۱۰) با افزودن مانان الگوساکارید به میزان ۲ و ۴ گرم به جیره غذایی ماهی سیم دریایی (*Sparus aurata*) و Akrami و همکاران (۲۰۱۱) با افزودن مانان الگوساکارید به میزان ۱/۵، ۳ و ۴/۵ گرم به جیره غذایی بچه ماهی سفید دریای خزر (*Rutilus frisii kutum*) تفاوت معنی‌داری را از نظر ترکیبات لاشه در بین تیمارها مشاهده نکردند که با نتایج تحقیق حاضر مشابهت داشت. همچنین Razeghi Mansour و همکاران (۲۰۱۲) با

ارزیابی تأثیر سطوح متفاوت پربیوتیک مانان الیگوساکارید به میزان ۲ و ۴ گرم به جیره غذایی فیل ماهیان (*Huso huso*) جوان پرورشی تفاوت معنی‌داری را از نظر پروتئین و خاکستر در بین تیمارها مشاهده نکردند و فقط میزان چربی در سطح ۲ گرم بر کیلوگرم مانان الیگوساکارید دارای تفاوت معنی‌داری با سایر تیمارها بود. اما در تحقیقاتی دیگر Genc و همکاران (2007_b) و Yilmaz و همکاران (۲۰۰۷) با ارزیابی اثر جیره حاوی مانان الیگوساکارید با سطوح مختلف صفر، ۱/۵، ۳ و ۴/۵ گرم در کیلوگرم در جیره غذایی هیبرید ماهی تیلاپیا (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*) و ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) مشاهده نمودند که با افزایش سطح مانان الیگوساکارید در جیره میزان پروتئین لاشه افزایش یافت که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت نداشت که این مسأله ممکن است به علت استفاده کمتر از آمینواسیدها و هضم‌پذیری جیره باشد (Genc *et al*., 2007_a).

برای افزایش میزان مقاومت در برابر ابتلا به بیماریها و کاهش میزان مصرف آنتی بیوتیک‌ها، امروزه افزودن محرک‌های ایمنی به غذاها رایج شده است که این افزودنی‌ها موجب فعال شدن گلبول سفید و افزایش سلامت روده می‌شود و بوفور در پرورش ماکیان و سایر دام‌های پرورشی مورد استفاده قرار می‌گیرد (۲۲). یکی از شاخص‌های مهم و قابل اطمینان در بررسی وضعیت سلامتی و فیزیولوژی ماهیان سنجش شاخص‌های خون آنان می‌باشد که تحت تأثیر تغذیه، عوامل محیطی و سن آنهاست (۸). بنابراین برای مقایسه تأثیر رژیمهای متفاوت غذایی بر سلامت بدن و سیستم دفاعی می‌توان شاخص‌های خونی را بررسی کرد (۲۱). شاخص‌های مربوط به خون مانند گلبول‌های قرمز و لوکوسیت‌ها از جمله لنفوسیت‌ها، نوتروفیل‌ها و مونوسیت‌ها یکی از بخش‌های اصلی سیستم ایمنی غیراختصاصی سلولی هستند که نوسان در تعداد آنها می‌تواند بعنوان یک شاخص مناسب در ارتباط با پاسخ ماهیان به عوامل استرس‌زا مطرح باشد (۲۸). براساس نتایج تحقیق حاضر، بیشترین میزان هماتوکریت و لنفوسیت در تیمار ۱ گرم بر کیلوگرم مانان الیوساکارید مشاهده گردید که دارای اختلاف معنی‌داری نسبت به سایر تیمارها بود ($P<0/05$). همچنین بیشترین میزان گلبول سفید، گلبول قرمز، هموگلوبین، ائوزینوفیل و نوتروفیل هم بدون هیچگونه تفاوت معنی‌داری در ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی ۱ گرم بر کیلوگرم مانان الیگوساکارید مشاهده شد ($P>0/05$). در همین راستا Hisano و همکاران (۲۰۰۷) با ارزیابی ۲ درصد مخمر دهیدراته (منبع اصلی مانان الیگوساکارید) در جیره غذایی ماهی تیلاپیا (*Oreochromis niloticus*)، Welker و همکاران (۲۰۰۷) با بررسی تأثیر پربیوتیک مانان الیگوساکارید بر روی گربه ماهی روگاهی (*Ictalurus punctatus*) Sado و همکاران (۲۰۰۸) با بکارگیری سطوح مختلف ۰/۲، ۰/۴، ۰/۶، ۰/۸ و ۱ درصد مانان الیگوساکارید به مدت ۴۵ روز در جیره غذایی ماهیان جوان پرورشی تیلاپیا (*Oreochromis niloticus*) و Razeghi Mansour و همکاران (۲۰۱۲) با اضافه کردن مانان الیگوساکارید به میزان ۲ و ۴ گرم به جیره غذایی فیل ماهیان (*Huso huso*) جوان پرورشی تفاوت معنی‌داری را از نظر پارامترهای هماتولوژی در بین تیمارها در مقایسه با تیمار شاهد مشاهده نکردند اما برخلاف نتایج حاضر، Andrews و همکاران (۲۰۰۹) با افزودن مانان الیگوساکارید به جیره غذایی ماهیان انگشت قد گونه راهو (*Labeo rohita*)، افزایش معنی‌داری را در میزان گلبول سفید، گلبول قرمز و هموگلوبین در ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی پربیوتیک مانان الیگوساکارید در مقایسه با تیمار شاهد مشاهده نمودند. بنابراین محرک‌های ایمنی با تأثیری که می‌توانند روی سیستم ایمنی بدن ایجاد کنند باعث مقاومت بیشتر آبزیان شده و تحت شرایط نامناسب محیطی که ممکن است با استرس‌های خاصی مانند تنش‌های شیمیایی، فیزیکی و عفونی همراه باشد مؤثر واقع شده و در نهایت افزایش بازده تولید را در پی داشته باشند (۱).

در مجموع با توجه به نتایج مطالعه حاضر می‌توان استنباط کرد که استفاده از پربیوتیک مانان الیگوساکارید در سطوح مورد مطالعه اگرچه تأثیر معنی‌داری روی فاکتورهای رشد، تغذیه، بازماندگی، ترکیبات لاشه و پارامترهای هماتولوژی ندارد اما افزودن ۱ گرم پربیوتیک مانان الیگوساکارید در هر کیلوگرم به جیره غذایی ماهی کپور پرورشی سبب کارایی رشد، بهبود عملکرد تغذیه، بازماندگی، تولید نهایی محصول، ترکیب مغذی بدن، پارامترهای هماتولوژی و کاهش قیمت تمام شده محصول می‌گردد و این پربیوتیک می‌تواند بعنوان یک مکمل مناسب برای جیره غذایی بچه ماهیان کپور مد نظر قرار گیرد. البته بمنظور حصول اطمینان بیشتر از اثرات مثبت انواع پربیوتیک و بویژه مانان‌الیگوساکارید پیشنهاد می‌شود مطالعه‌ای درخصوص تأثیر آن بر سطوح ایمنی در شرایط آزمایشگاهی و پرورشی و همچنین مقابله با عوامل محیطی و سایر عوامل استرس‌زا صورت پذیرد تا بتوان با قطعیت بیشتری در مورد پتانسیل پربیوتیکی مانان الیگوساکارید در بچه ماهیان کپور و سایر آبزیان اظهار نظر کرد.

منابع

1-Ahmadifar, E.; Jalali, M.A.; Sudagar, M.; Azari Takami, Gh. and Mohammadi Zaraj Abad, A., 2009. Effects of AquaVac Ergosan on growth performance, survival and haemat-ological factors in beluga (*Huso huso*) juvenile.

Gorgan. J. Agri. Sci. & Natur. Resour. 16:72-80.

2-Akrami, R.; Karimabadi, A.; Mohammadzadeh, H. and Ahmadifar, E., 2010. Effect of dietary mannan oligosaccharide on growth performance, survival, body composition and salinity stress resistance in Kutum (*Rutilus frisii kutum*) fry stage. J Mar Sci Technol. 8:47–57.

3-Andrews, S.R.; Sahu, N.P.; Pal, A.K. and Kumar, S., 2009. Haematological modulation and growth of *Labeo rohita* fingerlings: Effect of dietary mannan oligosaccharide, yeast extract, protein hydrolysate and chlorella. Aquac. Res., 41:61-69.

4-AOAC (Association of Official Analytical Chemists), 1990. Official method of analysis AOAC, Washington DC, USA.1263P.

5-Bekcan, S.; Dogankaya, L. and Cakirogollari, G.C., 2006. Growth and body composition of European catfish (*Silurus glanis*) fed diet containing different percentages of protein. The Israeli J. Aquac., Bamidgeh. Vol. 58, No. 2, pp.137-142.

6-Borges, A.; Scotti, L.; Siqueira, D.R.; Jurinitz, D.F. and Wassermann, G.F., 2004. Hemat-ologic and serum biochemical values for jundia (*Rhamdia quelen*). Fish. Physiol Biochem., 30:21–25.

7-Dimitroglou, A.; Merrifield, D.L.; Spring, P.; Sweetman, J.; Moate, R. and Davies, S.J., 2010. Effects of mannan oligosaccharide (MOS) supplementation on growth performance, feed utilisation, intestinal histology and gut microbiota of gilthead sea bream (*Sparus aurata*). Aquaculture, 300:182-188.

8-Fanouraki, E.; Divanach, P. and Pavlidis, M., 2007. Baseline values for acute and chronic stress indicators in sexually immature red porgy (*Pagrus pagrus*). Aquaculture, 265:294-304.

9-Feldman, B.F.; Zinkl, J.G. and Jian, N.C., 2000. Schalm's veterinary hematology. Lippincott Williams and Wilkins publication, Canada, pp.1120-1125.

10-Genc, M.A.; Yilmaz, E. and Genç, E., 2006. Yeme ekhlenen mannan-oligosakkaritin genc karabaliklarin (*Clarias Gariepinus*) gelişimine, barsak ve karaciğer histopatolojisine etkileri. Ege Uni. J. Fish. Aqua. Sci., 23(1-2):37-41.

11-Genc, M.A.; Yilmaz, E.; Genç, E. and Aktas, M., 2007a. Effect of dietary mannan oligoscaccharides (MOS) on growth, body composition, and intestine liver histology of the hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*). Israel J. Aqua., Vol. 59, No. 1, pp.10-16.

12-Genc, M.A., Aktas, M.; Genç, E. and Yilmaz, E., 2007b. Effects of dietary mannan oligosaccharide on growrh, body composition and hepatopancreas histology of *Penaeus semisculcatus* (De Haan 1844) Aqua. Nut., Vol. 13, No. 2, pp.156-161.

13-Gibson, G.R. and Roberfroid, M.B. 1995. Modulation of the colonic microbiota: Introducing the concept of prebiotics. J. Nut., 125:1401-1412.

14-Gultepe, N.; Salnur, S.; Hossu, B. and Hisar, O., 2010. Dietary supplementation with mannan oligosaccharides (MOS) from Bio-Mos enhances growth parameters and digestive capacity of gilthead sea bream (*Sparus aurata*). Aquac. Nutr., Vol. 17, No. 5, pp.482-487.

15-Helland, B.G.; Helland, S.J. and Gatlin, D.M., 2008. The effect of dietary supplementation with mannanoligosacchare, fructooligosaccharide or galactooligosaccharide on the growth Atlantic salmon (*Salmo salar*). Aquaculture, 283:163-167.

16-Hisano, H.; Barros, M.M. and Pezzato, L.E., 2007. Levedura e zinco como pró-nutrientes em rações para tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*). Aspectos hematológicos. Boletim do Instituto de Pesca. Vol. 33, No. 1, pp.35–42.

17-Hoseinifar, S.H.; Mirvaghefi, A.R.; Mojazi Amiri, B.; Khoshbavar Rostami, H.A.; Poor Amini, M. and 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 Sci. Fish. J. Vol. 19, No. 4, pp.55-66.

18-Mohamadi Azarm, H.; Abedin Kenari, A.M. and Abtahi, B., 2004. Effect of probiotic protexin on the growth and survival of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Iranian J. Mar. Sci., 3:69-75. (In Persian).

19-Pryor, G.S.; Royes, J.B.; Chapman, F.A. and Miles, R.D., 2003. Mannan oligosaccharides in fish nutrition: Effects of dietary supplementation on growth and gastrointestinal villi structure in Gulf of Mexico sturgeon. N. American J. Aquac., 65:106-111.

20-Razeghi Mansour, M.; Akrami, R.; Ghobadi, S.H.; Amani Denji, K.; Ezatrahimi, N. and 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). Fish Physiol. Biochem., 38:829-835.

21-Rehulka, J.; Minark, B.; Adamec, V. and Rehulka, E., 2005. Investigation of physic-ological and pathological levels of total plasma protein in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquac. Res., 36:22-32.

22-Sado, R.J.; Bicudo, A.J.D.A. and Cyrno, J.E.P., 2008. Feeding dietary mannan oligosaccharid to juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), has no effect on hematological parameters and showed decreased feed consumption. World. Aquac. Soc., 39:821-826.

23-Salehi, H., 2003. Market perspective on cultured carp products in Iran. Asia Pacific Conference on Aquac. Bangkok, Thailand. 45P.

24-Samrongpan, C.; Areechon, N.; Yoonpundhand, R. and Srisapoome, P., 2008. Effects of mannan oligosaccharide on growth survival and disease resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus linnaeus*) fry. 8th International Symposium on Tilapia in Aquaculture.

25-Savage, T.F.; Zakrzewsla, E.I. and Andreasen, J.R., 1997. The effect of feeding mannan oligosaccharide supplemented diets to poult on performance and morphology of the small intestine. Poultry Sci., 76: 139P.

26-Schley, P.D. and Field, C.J., 2002. The immune-enhancing effects of dietary fibres and prebiotics. British J. Nut., 87:221–230.

27-Staykov, Y.; Spring, P.; Denev, S. and Sweetman, J., 2007. Effect of mannan oligosaccharide on the growth performance and immune status of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquac. Inter., 15:153-161.

28-Stoskopf, M.A., 1993. Fish medicine. Sounders Company, U.S.A, 882P.

29-Tangestani, R.; Alizadeh Doughikollaee, E.; Ebrahimi, E. and Zare, P., 2011. Effects of garlic essentialoilasan immunostimulant on hematological indices of juvenile beluga (*Huso huso*). J. Vet. Res., Vol. 66, No. 3, pp.209-216.

30-Tokur, B.; Ozkutuk, S.; Atici, E.; Ozyurt, G. and Ozyurt, C.E., 2006. Chemical and sensory quality changes of fish fingers, made from mirror carp (*Cyprinus carpio* L., 1758), during frozen storage (-18°C). Food Chem., 99:335-341.

31-Torrecillas, S.; Makol, A.; Caballero, D.; Robaina, L.; Real, F.; Sweetman, J.; Tort, L. and Izquierdo, M.S., 2007. Immune stimulation and improved infection resistance in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed mannan oligosaccharides. Fish and Shellfish Immuno. 23:969-981.

32-Welker, T.L.; Lim, C.; Yildirim-Aksoy, M.; Shelby, R. and Klesius, P.H., 2007. Immune response and resistance to stress and *Edwardsiella ictaluri*, fed diets containing commercial whole-cell yeast or yeast subcomponents. World. Aquac. Soc., Vol. 38, No. 1, pp.24–35.

33- Yilmaz, E.; Gence, M.A. and Gence, E., 2007. Effect of dietary mannan oligosaccharides on growth, body composition, intestine and liver histology of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). The Israel J. Aquac. Bamidgeh. 59:182-188.