اثرات پروبیوتیک باکتوسل و پربیوتیک گالاکتوالیگوساکارید بر رشد، بازماندگی، پارامترهای خونی و مقاومت در برابر استرس شوری ماهی گورامی سه‌خال (*Trichogaster trichopterus*)

- **مینا مختاری***: گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، صندوق پستی: ۴۸۷-۴۹۱۷۵
- **محمدرضا ایمانپور**: گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، صندوق پستی: ۴۸۷-۴۹۱۷۵
- **عبدالمجید حاجی‌مرادلو**: گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، صندوق پستی: ۴۸۷-۴۹۱۷۵
- **سیدحسین حسینی‌فر**: گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، صندوق پستی: ۴۸۷-۴۹۱۷۵

تاریخ دریافت: فروردین ۱۳۹۴ تاریخ پذیرش: تیر ۱۳۹۴

چکیده

این پژوهش با هدف بررسی اثر استفاده خوراکی پروبیوتیک تجاری باکتوس و پربیوتیک گالاکتوالیگوساکارید بر رشد، بازماندگی، پارامترهای خونی و مقاومت در برابر استرس شوری ماهی گورامی سه‌خال انجام گرفت. برای این منظور ۷۲۰ قطعه بچه‌ماهی گورامی سه‌خال (۰/۰۶۱±۱) در دوازده گروه هرکدام با سه تکرار تصادفی تقسیم شدند. تیمار اول (شاهد) فقط با غذای تجاری ومابقی تیمارها با غذای تجاری مکمل شده به پروبیوتیک و پربیوتیک به‌ترتیب حاوی، تیمار دوم (۰/۱ گرم بر کیلوگرم پروبیوتیک)، تیمار سوم (۰/۲ گرم بر کیلوگرم پروبیوتیک)، تیمار چهارم (۰/۴ گرم بر کیلوگرم پروبیوتیک)، تیمار پنجم (۱٪ پربیوتیک)، تیمار ششم (۲٪ پربیوتیک)، تیمار هفتم (۰/۱ گرم بر کیلوگرم پروبیوتیک و ۱٪ پربیوتیک)، تیمار هشتم (۰/۱ گرم بر کیلوگرم پروبیوتیک و ۲٪ پربیوتیک)، تیمار نهم (۰/۲ گرم بر کیلوگرم پروبیوتیک و ۱٪ پربیوتیک)، تیمار دهم (۰/۲ گرم بر کیلوگرم پروبیوتیک و ۲٪ پربیوتیک)، تیمار یازدهم (۰/۴ گرم بر کیلوگرم پروبیوتیک و ۱٪ پربیوتیک) و تیمار دوازدهم (۰/۴ گرم بر کیلوگرم پروبیوتیک و ۲٪ پربیوتیک)، به‌مدت ۹۰ روز تغذیه شدند. اندازه‌گیری فاکتورهای رشد، فاکتورهای خون و درصد بقاء در برابر تنش شوری در اتمام دوره آزمایش انجام شد. تیمار هفتم به‌طور معنی‌داری دارای شاخص رشد و تغذیه بهتر بود ($p<0/05$). هم‌چنین در بین فاکتورهای خونی نتایج نشان داد که تیمار هشتم دارای پروتئین کل بیش‌تر با تفاوت معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد بود ($p<0/05$)، ولی تیمارهای تغذیه شده با پربیوتیک (به تنهایی)، (تیمارهای پنجم و ششم) به‌طور معنی‌داری دارای درصد بقاء بیش‌تری نسبت به تیمار شاهد بود ($p<0/05$). بنابراین پروبویتیک باکتوسل و پربیوتیک گالاکتوالیگوساکارید به‌صورت تلفیقی می‌تواند باعث بهبود رشد و میزان پروتئین کل خون و پربیوتیک گالاکتوالیگوساکارید (به تنهایی) می‌تواند باعث افزایش مقاومت به بروز تنش در ماهی گورامی سه‌خال شود.

کلمات کلیدی: ماهی گورامی سه‌خال، پروبیوتیک باکتوسل، پربیوتیک گالاکتوالیگوساکارید، شاخص‌های رشد، پارامترهای خونی، استرس شوری

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: Mina.mokhtari.am@gmail.com

مقدمه

گورامی سه‌خال (*Trichogaster trichopterus*)، ماهی است با تنفس هوازی از خانواده آنابانتیده (Anabantidae) که در دریاچه‌ها، مرداب‌ها، مزارع برنج، رودخانه‌ها و نهرهای جنوب شرق آسیا، سوماترا و بورنیو زیست می‌کند (Lowe-McConnell، ۱۹۷۵؛ Johnson، ۱۹۶۷). بسیاری از ماهیان خانواده آنابانتیده به‌دلیل رفتار تولیدمثلی جالب محبوب افراد علاقه‌مند به ماهیان آکواریومی هستند (Mills، ۲۰۰۰؛ Axelrod و Vorderwinkler، ۱۹۹۵)، ماهی گورامی سه‌خال، به‌دلیل طبیعت آرام و ظاهر جذاب خال‌های طلایی باله پشتی و مخرجی (Linke، ۱۹۹۱) یکی از محبوب‌ترین ماهیان لابیرنت‌دار (Labyrinth) محسوب می‌شود که با رنگ آبی خاکستری و دو خال تیره روی بدن تشخیص داده می‌شود (Frankel، ۲۰۰۴). ماهی گورامی سه‌خال بسیار ماهی سرسختی است که قادر است گستره وسیعی از تغییرات پارامترهای آب از جمله سختی، درجه حرارت، شوری و اکسیژن محلول را تحمل کند (Webb و همکاران، ۲۰۰۷). بنابراین نگه‌داری آن در شرایط آزمایشگاهی کار آسانی است (Clatfelter و Rodriguez، ۲۰۰۶) و هم‌چنین یکی از ماهیان زینتی رایج در ایران است.

سلامتی و تغذیه از اصلی‌ترین نگرانی‌ها در تجارت ماهیان زینتی می‌باشد (Ghosh و همکاران، ۲۰۰۸) در کنار نیاز به واکسن‌ها و آنتی‌بیوتیک‌های مناسب در بعضی مناطق، مکمل‌های غذایی مانند پروبیوتیک، پربیوتیک و محرک‌های ایمنی می‌توانند حساسیت ماهیان به بیماری را بکاهند (Gibson و Roberfroid، ۱۹۹۵).

پروبیوتیک‌ها، میکروارگانیسم‌هایی هستند که برای هدف‌های مختلفی چون ارتقاء رشد، تسهیل هضم و جذب و جلوگیری از ابتلا به بیماری‌های عفونی استفاده می‌شود (Nayak، ۲۰۱۰؛ Balcazar و همکاران، ۲۰۰۶). باکتوسل یک مکمل غذایی تجاری بر پایه سلول‌های زنده باکتری *Pediococcus acidilactici* (CNCM MA ۱۸/۵ M)، می‌باشد که اخیراً با هدف افزایش تعداد گلبول‌های سفید خون، بهبود مورفولوژی ریزپرزهای روده‌ای و افزایش فعالیت‌های انتروسیت-اندوسیت در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان *Oncorhynchus mykiss* (Merrifield و همکاران، ۲۰۱۰؛ Aubin و همکاران، ۲۰۰۵) و بهبود افزایش رشد، بقاء، ضریب تبدیل غذایی (FCR) و کل حالت آنتی‌اکسیدانی همولنف در میگو (Castex و همکاران، ۲۰۰۹) استفاده می‌شود. با این‌حال مکانیسم عمل این فواید به‌خوبی مشخص نشده است.

طبق تعریف Gibson و Roberfroid (۱۹۹۵)، پربیوتیک‌ها مواد غذایی غیرقابل هضم می‌باشند که با تحریک اختصاصی رشد و یا فعالیت باکتری‌های تخصصی ارتقاءدهنده سلامت، اثر مفیدی رو میزبان می‌گذارند، از جمله الیگوساکارایدها، که با فراهم کردن رشد بیش‌تر باکتری‌های مفید روده‌ای، از اصلی‌ترین ترکیبات پربیوتیکی می‌باشند. گالاکتوالیگوساکارید (GOS)، پربیوتیکی است که از واکنش آنزیمی لاکتوز حاصل شده و عمدتاً از مولکول‌های گلوکوز و گالاکتوز تشکیل شده است (Sako و همکاران، ۱۹۹۹) گرچه چندین مطالعه درخصوص اثرات GOS بر موجودات خشکی‌زی انجام شده است (Yang و Silva، ۱۹۹۵؛ Shephard، ۱۹۹۴)، مطالعات بسیار کمی از خواص GOS در موجودات آبزی در دسترس است (Hoseinifar و همکاران، ۲۰۱۳؛ Grisdale-Helland و همکاران، ۲۰۰۸؛ Zhou و همکاران، ۲۰۰۷).

در مطالعات انجام شده، مشاهده گردیده است که گالاکتو الیگوساکارید با افزایش باکتری‌های لاکتیک اسید باعث افزایش رشد و افزایش تحمل استرس و تعدیل میکروبیوت روده‌ای در نوزاد ماهی سفید می‌شود (Hoseinifar و همکاران، ۲۰۱۳). در تحقیق دیگری Fergusen و همکاران (۲۰۱۰) اثر *Pediococcus acidilactici* را بر میکروبیوت روده و ایمنی تیلاپیا قرمز پرواری بررسی کردند و نتیجه گرفتند که این مکمل غذایی موجب تعادل جمعیت فلور باکتریایی روده شده و هم‌چنین موجب تحریک پاسخ ایمنی غیراختصاصی می‌شود. هم‌چنین Neissi و همکاران (۲۰۱۳) با بررسی اثر باکتری *Pediococcus acidilactici* روی رشد و پاسخ‌های ایمنی غیراختصاصی در ماهی گرین‌ترور *Aequidens rivulatus* گزارش کردند که پروبیوتیک باکتوسل تاثیر مثبتی روی شاخص‌های رشد و ایمنی غیراختصاصی این ماهی دارد.

با این‌حال اطلاعات درباره اثر پروبیوتیک‌ها و پربیوتیک‌ها بر ماهیان زینتی بسیار محدود است، این تحقیق به بررسی اثرات ممکن اضافه کردن پدیوکوکوس اسیدی لاکتیسی (*Pediococcus acidilactici*) به‌عنوان پروبیوتیک، گالاکتوالیگوساکارید (GOS) به‌عنوان پربیوتیک و تلفیق پروبیوتیک پدیوکوکوس اسیدلاکتیکی و گالاکتوالیگوساکارید (GOS) به‌عنوان سین‌بیوتیک به جیره غذایی، بر رشد، بازماندگی، پارامترهای خونی (تعداد گلبول سفید و هماتوکریت) و بیوشیمیایی خون (گلوکز، پروتئین کل و کلسترول) و مقاومت در برابر استرس شوری ماهی گورامی سه خال (*Trichogaster trichopterus*) خواهد پرداخت.

مواد و روش‌ها

تهیه ماهی و شرایط آزمایشگاهی: این تحقیق در سال ۱۳۹۳ در مرکز تحقیقات آبزی‌پروری شهید ناصر فضلی برآبادی

دانشگاه کشاورزی و منابع‌طبیعی گرگان انجام شد. ماهی گورامی سه‌خال (۷۲۰عدد) با میانگین وزنی (۰/۰۶۱±۱ گرم) از مرکز تکثیر و پرورش ماهیان زینتی باران کوه استرآباد تهیه و به‌طور تصادفی در ۳۶ آکواریوم (۴۰لیتری)، با تراکم ۲۰ ماهی در هر آکواریوم به‌طور کاملاً تصادفی ذخیره‌سازی شد. درجه‌حرارت آب، سختی کل، اکسیژل محلول و pH روزانه اندازه‌گیری شده و به‌ترتیب در ۱/۱۲±۲۶/۷۸ درجه سانتی‌گراد، ۱۳/۲±۲۵۰ میلی‌گرم بر لیتر، ۰/۲±۷/۶ میلی‌گرم بر لیتر، ۰/۱۵±۷/۱۹، باقی ماند. 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 آزمایش شدند.

ساخت جیره غذایی: ماهی‌ها جهت سازگاری به‌مدت ۲ هفته با غذای پلت تجاری (بیومار فرانسه با قطر ۰/۹میلی‌متر) تغذیه شدند. سپس آکواریوم‌ها به ۱۲ تیمار و ۳ تکرار تقسیم‌بندی شدند. تیمار اول (شاهد) فقط با غذای تجاری و مابقی تیمارها با غذای تجاری مکمل شده به پروبیوتیک و پربیوتیک به‌ترتیب حاوی، تیمار دوم (۰/۱ گرم بر کیلوگرم پروبیوتیک)، تیمار سوم (۰/۲ گرم بر کیلوگرم پروبیوتیک)، تیمار چهارم (۰/۴گرم بر کیلوگرم پروبیوتیک)، تیمار پنجم (۱٪ پربیوتیک)، تیمار ششم (۲٪ پربیوتیک)، تیمار هفتم (۰/۱ گرم بر کیلوگرم پروبیوتیک و ۱٪ پربیوتیک)، تیمار هشتم (۰/۱ گرم بر کیلوگرم پروبیوتیک و ۲٪ پربیوتیک)، تیمار نهم (۰/۲ گرم بر کیلوگرم پروبیوتیک و ۱٪ پربیوتیک)، تیمار دهم (۰/۲ گرم بر کیلوگرم پروبیوتیک و ۲٪ پربیوتیک)، تیمار یازدهم (۰/۴ گرم بر کیلوگرم پروبیوتیک و ۱٪ پربیوتیک) و تیمار دوازدهم (۰/۴ گرم بر کیلوگرم پروبیوتیک و ۲٪ پربیوتیک)، تغذیه شدند. برای تهیه جیره مکمل، ابتدا پروبیوتیک و پربیوتیک توزین سپس به محلول ژلاتین اضافه و به بیومار اسپری شد، سپس خشک شده و در زیپ‌کیف پلاستیکی در یخچال نگه‌داری شد. طی دوره آزمایش (۹۰ روز) ماهی‌ها به‌صورت دستی ۴-۳٪ وزن بدن و ۳ نوبت در روز تغذیه شدند.

اندازه‌گیری پارامترهای رشد: همه ماهیان در آخر دوره اندازه‌گیری جهت بررسی میزان رشد توزین شدند. عملکرد رشد در ماهی گورامی سه‌خال طبق فرمول‌های ذیل محاسبه شد:

وزن ابتدای دوره- وزن انتهای دوره= افزایش وزن بدن

طول دوره/وزن ابتدای دوره-وزن انتهای دوره= افزایش وزن روزانه (Tacon، ۱۹۹۰)

۱۰۰×وزن ابتدای دوره/(وزن ابتدای دوره-وزن انتهای دوره) = درصد افزایش وزن بدن (Bekcan و همکاران، ۲۰۰۶)

۱۰۰× طول دوره/ (لگاریتم طبیعی وزن اولیه ماهی- لگاریتم طبیعی وزن نهایی ماهی)= نرخ رشد ویژه (Hevroy و همکاران، ۲۰۰۵)

گرم وزن به‌دست آمده ماهی/غذای خورده شده (گرم)=ضریب تبدیل غذایی (Hevroy و همکاران، ۲۰۰۵)

محاسبه شاخص بازماندگی (درصد بقاء): در پایان مطالعه به‌منظور بررسی اثرات افزودن پروبیوتیک پدیوکوکوس اسیدی لاکتیسی و پربیوتیک گالاکتوالیگوساکارید به جیره بچه‌ماهی گورامی سه‌خال بر بازماندگی ماهیان، شاخص درصد بازماندگی اندازه‌گیری شد. شاخص درصد بازماندگی براساس مقایسه تعداد بچه‌ماهی‌ها در ابتدا و انتهای آزمایش به‌صورت زیر محاسبه می‌شود (Ai و همکاران، ۲۰۰۶):

۱۰۰×تعداد ماهیان در ابتدای دوره آزمایش/(تعداد ماهیان در انتهای دوره آزمایش-تعداد ماهیان در ابتدای دوره آزمایش)=درصد بازماندگی

مطالعات خون‌شناسی: در اتمام دوره آزمایش، در آزمایشگاه ماهی‌شناسی مرکز تحقیقات آبزی‌پروری شهید ناصر فضلی برآبادی دانشگاه کشاورزی و منابع‌طبیعی گرگان از ماهیان بی‌هوش شده، پس از قطع ساقه دمی و با استفاده از لوله‌های مویینه هماتوکریت هپارینه، خون‌گیری انجام شد و جهت شمارش گلبول سفید به اپندورف منتقل و بقیه مراحل ذیل انجام شد (جهت اندازه‌گیری فاکتورهای بیوشیمیایی خون با استفاده از لوله غیرهپارینه خون‌گیری انجام شد). برای بررسی هماتوکریت و پارامترهای بیوشیمیایی خون را سانتریفیوژ کرده و پلاسمای آن از سلول‌های خونی جدا گشت سپس پلاسما در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد جهت آزمایشات بیوشیمیایی خون نگه‌داری شد.

شمارش گلبول‌های سفید (W.B.C) و اندازه‌گیری هماتوکریت (Htc): شمارش گلبول سفید خون با استفاده از لام هماسیتومتر انجام شد و اندازه‌گیری میزان هماتوکریت خون توسط میکروهماتوکریت صورت گرفت، هم‌چنین میزان اندیس‌هاس گلبولی طبق فرمول محاسبه شد (شیشه‌ئیان، ۱۳۷۸).

اندازه‌گیری میزان گلوکز، کلسترول و پروتئین کل خون: میزان گلوکز، کلسترول و پروتئین کل، به‌وسیله روش فتومتریک و با استفاده از کیت اندازه‌گیری شرکت پارس آزمون سنجیده شد (Borges و همکاران، ۲۰۰۴).

بررسی مقاومت بچه‌ماهیان به تنش شوری: جهت بررسی مقاومت بچه ماهی در برار تنش شوری، در انتهای دوره (هفته دوازدهم) تعداد ۱۵ عدد ماهی از هر تکرار به‌صورت تصادفی انتخاب شدند و در معرض شوری ۲۰ گرم بر لیتر به‌مدت ۷۲ ساعت قرار گرفتند. پس از آن میزان مقاومت (درصد بازماندگی)

ماهیان بررسی و ثبت شد.

روش آماری و تجزیه تحلیل داده‌ها: داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA)، با استفاده از نرم‌افزار SPSS مورد ارزیابی قرار گرفت. تفاوت معنی‌داری ($p<0/05$) در بین میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن به‌دست آمد. تمام داده‌ها براساس میانگین ± انحراف‌معیار، محاسبه شدند.

نتایج

بین گروه شاهد و تیمارهای پروبیوتیک و پربیوتیک اختلاف معنی‌داری در وزن ابتدای دوره مشاهده نشد ($p>0/05$) (جدول ۱). بین گروه شاهد و تیمارهای پروبیوتیک و پربیوتیک اختلاف معنی‌دار در وزن انتهای دوره مشاهده شد ($p<0/05$)، بیش‌ترین وزن انتهای دوره در تیمار ۷ با اختلاف معنی‌دار با تیمار ۱۲ مشاهده شد ($p<0/05$) (جدول ۱). از نظر افزایش وزن بین تیمارهای پروبیوتیکی و پربیوتیکی با تیمار شاهد تفاوت معنی‌داری مشاهده شد ($p<0/05$) و تیمار ۷ با بیش‌ترین افزایش وزن اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد و تیمار ۱۲ نشان داد ($p<0/05$) (جدول ۱). از نظر افزایش وزن روزانه نیز بین تیمارهای پروبیوتیکی و پربیوتیکی با تیمار شاهد تفاوت معنی‌داری مشاهده شد ($p<0/05$)، و تیمار ۷ با بیش‌ترین افزایش وزن روزانه اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد و تیمار ۱۲ نشان داد ($p<0/05$) (جدول ۱). بین گروه شاهد و تیمارهای پروبیوتیک و پربیوتیک اختلاف معنی‌دار در درصد افزایش وزن مشاهده شد ($p<0/05$)، بیش‌ترین درصد افزایش وزن در تیمار ۷ با اختلاف معنی‌دار مشاهده شد ($p<0/05$) (جدول ۱). نرخ رشد ویژه بین تیمارهای پروبیوتیکی و پربیوتیکی با تیمار شاهد تفاوت معنی‌داری را نشان داد ($p<0/05$) و بیش‌ترین نرخ رشد ویژه در تیمار ۷ با اختلاف معنی‌دار مشاهده شد ($p<0/05$) (جدول ۱). از نظر ضریب تبدیل غذایی بین تیمارهای پروبیوتیک و پربیوتیک با تیمار شاهد اختلاف معنی‌دار مشاهده شد ($p<0/05$) و کم‌ترین ضریب تبدیل غذایی در تیمار ۷ با اختلاف معنی‌داری مشاهده شد ($p<0/05$) (جدول ۱). بین گروه شاهد و تیمارهای پروبیوتیکی و پربیوتیکی در نرخ بازماندگی اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد ($p>0/05$) (جدول ۱).

جدول ۱: مقایسه میانگین برخی شاخص‌های رشد و بازماندگی ماهی گورامی سه‌خال تغذیه شده با باکتوسل و گالاکتوالیگوساکارید در تیمارهای مختلف طی ۱۲ هفته پرورش

متغیر	تیمار۱	تیمار۲	تیمار۳	تیمار٤	تیمار٥	تیمار٦	تیمار۷	تیمار۸	تیمار۹	تیمار۱۰	تیمار۱۱	تیمار۱۲
میانگین وزن ابتدای دوره (گرم)	۱/۰۱±۰/۱۲^{a}	۱/۰۱±۰/۰۲^{a}	۰/۹۹±۱/۰۲^{a}	۱/۰٤±۰/۰۲^{a}	۱/۰۱±۰^{a}	۱/۰۵±۰/۰۲^{a}	۰/۹۹±۰/۰۷^{a}	۱±۰/۰۲^{a}	۱/۰۲±۰/۱۵^{a}	۰/۹٦±۰/۰۲^{a}	۱/۰۵±۰/۱۲^{a}	۰/۹۷±۰/۰۲^{a}
میانگین وزن انتهای دوره (گرم)	۳/۸۹±۰/۵۲^{bc}	٤/۰۵±۰/۱٦^{abc}	۳/۹٦±۰/۰۵^{bc}	٤/۱۱±۰/۲۹^{abc}	٤/۰۸±۰/٤۲^{abc}	٤/۲۲±۰/۰۰۷^{abc}	٤/۵۲±۰/۱۸^{a}	٤/۱۹±۰/۲^{abc}	٤/۲۷±۰/۱۸^{abc}	٤/۱۲±۰/۰۷^{abc}	٤/۱۹±۰/۱۸^{ab}	۳/۹۸±۰/۰۰۷^{c}
افزایش وزن بدن(گرم)	۲/۸۸±۰/٤۱^{c}	۳/۰٤±۰/۱۲^{bc}	۲/۹۷±۰/۰۸^{bc}	۳/۰۷±۰/۲٦^{bc}	۳/۰۷±۰/٤۳^{bc}	۳/۱۷±۰/۰٤^{abc}	۳/۵۹±۰/۱۰^{a}	۳/۱۹±۰/۱۹^{abc}	۳/۲٦±۰/۰۲^{abc}	۳/۱۷±۰/۰۲^{abc}	۳/٤٤±۰/۰۵^{ab}	۲/۸۱±۰/۰٤^{c}
رشد روزانه (گرم	۰/۰۳۲±۰^{c}	۰/۰۳۳±۰^{bc}	۰/۰۳۳±۰^{bc}	۰/۰۳٤±۰^{bc}	۰/۰۳٤±۰^{bc}	۰/۰۳۵±۰^{abc}	۰/۰۳۹۹±۰^{a}	۰/۰۳۵۵±۰^{abc}	۰/۰۳٦±۰^{abc}	۰/۰۳۵۲±۰^{abc}	۰/۰۳۵۸±۰^{ab}	۰/۰۳۱۲±۰^{c}
درصد افزایش وزن	۲۸۲/۳±۱/۸^{b}	۳۰۱/٤±٤/۸^{ab}	۳۰۰/۳±۱۷/۱^{ab}	۳۰٤/۹±۱۷/۸^{ab}	۳۰٤/٤±٤/۲۷^{ab}	۳۰۸/۷±۱۱/۰^{ab}	۳۲۹/٤±۱۸/۸^{a}	۳۱۹/۳±۸/٦^{ab}	۳۲۱/۱±٤/٦^{ab}	۳۲۰/۸±۷/۰^{ab}	۳۲۹/۷±۳٤/۵^{ab}	۲۸۸/٤±۱٤/۸^{b}
نرخ رشد ویژه (درصد در روز)	۱/٤۹±۰/۰۲^{b}	۱/۵٤±۰/۰۲^{b}	۱/۵٤±۰/۰٤^{b}	۱/۵۲±۰/۰۵^{b}	۱/۵٤±۰/۱۱^{b}	۱/۵٤±۰/۰۲^{b}	۱/۷۱±۰/٤^{a}	۱/۶۹±۰/۰۲^{ab}	۱/۶۹±۰/۱۲^{ab}	۱/۶۲±۰/۰۱^{ab}	۱/۶۱±۱/۰۸^{ab}	۱/۵۰±۰/۰٤^{b}
ضریب تبدیل غذایی	۱/۲۷±۰/۰۲^{a}	۱/۱۹±۰/۰۲^{a}	۱/۲۰±۰/۰۷^{a}	۱/۲۲±۰/۰۷^{a}	۱/۱۹ ±۰/۱۲^{a}	۱/۱۹±۰/۰۵^{a}	۰/۹۷±۰/۰۵^{b}	۱/۱۲±۰/۰۲^{ab}	۱/۱۲±۰/۱۲^{ab}	۱/۰۸±۰/۰۲^{ab}	۱/۰۹±۰/۱۱^{ab}	۱/۲۱±۰/۰۶^{a}
نرخ بازماندگی (درصد)	۹۷/۵±۳/۵^{a}	۹۷/۵±۳/۵^{a}	۹۵±۰^{a}	۱۰۰±۰^{a}	۹۷/۵±۳/۵^{a}	۹۵±۰^{a}	۹۵±۰^{a}	۱۰۰±۰^{a}	۱۰۰±۰^{a}	۱۰۰±۰^{a}	۹۵±۰^{a}	۹۷/۵±۳/۵^{a}

حروف انگلیسی مشترک در هر ستون نشان‌دهنده عدم معنی‌دار بودن در سطح ۰/۰۵ می‌باشد ($p>0/05$). داده‌ها به‌صورت میانگین ± انحراف معیار می‌باشد.

جدول ۲: مقایسه میانگین درصد بازماندگی ماهی گورامی سه‌خال تغذیه شده با باکتوسل و گالاکتوالیگوساکارید پس از تنش شوری

متغیر	تیمار۱	تیمار۲	تیمار۳	تیمار٤	تیمار٥	تیمار ٦	تیمار۷	تیمار۸	تیمار۹	تیمار۱۰	تیمار۱۱	تیمار۱۲
بقاء پس از تنش شوری	۸۰±۰^{b}	۹۰±۰^{ab}	۹۰±۰^{ab}	۹۰±۰^{ab}	۱۰۰±۰^{a}	۱۰۰±۰^{a}	۹۵±۰^{ab}	۹۵±۰^{ab}	۹۰±۰^{ab}	۹۰±۰^{ab}	۹۰±۰^{ab}	۹۰±۰^{ab}

جدول ۳: مقایسه میانگین برخی فاکتورهای خونی ماهی گورامی سه‌خال تغذیه شده با باکتوسل و گالاکتوالیگوساکارید در تیمارهای مختلف طی ۱۲ هفته پرورش

متغیر	تیمار۱	تیمار۲	تیمار۳	تیمار٤	تیمار٥	تیمار ٦	تیمار۷	تیمار۸	تیمار۹	تیمار۱۰	تیمار۱۱	تیمار۱۲
هماتوکریت (٪)	۳۶±۱/٤۱^{a}	۳۵/۵±۰/۹^{a}	۳۶±۱/۱^{a}	۳۶±۱/۰۲^{a}	۳۵/۵±۰/۵^{a}	۳۵/۵±۰/۹^{a}	۳۵/۵±۰/۹^{a}	۳۵/۵±۱/۲^{a}	۳۵/۵±۱/۲^{a}	۳۶±۱/۱^{a}	۳۶/۵±۰/۹^{a}	۳۶±۱/۱^{a}
گلبول سفید ($\times10^{3}$/mm^{3})	۱۶/۹۰±۱/۲۳^{a}	۱۶/۹۶±۱/۲۸^{a}	۱۶/۹۵±۱/۴۴^{a}	۱۶±۰/۸۶^{a}	۱۶/۱۲±۱/۴۱^{a}	۱۶±۰/۸۶^{a}	۱۶±۰/۸^{a}	۱۶/۴۵±۱/۲۲^{a}	۱۶/۴۵±۱/۵۶^{a}	۱۶/۱۲±۱/۵۱^{a}	۱۶/۹۵±۰/۶۴^{a}	۱۶/۶۲±۰/۶۹^{a}
گلوکز (mg/dl)	۱۶۰/۲±۴/۱^{a}	۱۵۰/۹±۱/۲^{a}	۱۵۰/۹±۵/۶^{a}	۱۵۹/۵±۵/۶^{a}	۱۶۵/۵±۴/۲^{a}	۱۴۶/۵±۱/۲^{a}	۱۴۶/۵±۵/۶^{a}	۱۴۶/۵±۱/۲^{a}	۱۴۶/۵±۱/۳^{a}	۱۴۸/۲±۱/۲^{a}	۱۴۹/۹±۵/۶^{a}	۱۵۰/۹±۱۱/۹^{a}
کلسترول (mg/dl)	۲۲۶/۵±۳۴/۶^{a}	۲۲۶/۵±۳۴/۶^{a}	۲۲۶/۵±۳۴/۶^{a}	۲۲۱±۳/۴^{a}	۲۲۶/۵±۱۰/۶^{a}	۲۲۶/۵±۱۰/۶^{a}	۲۰۸/۲±۲۶/۶^{a}	۲۲۶/۵±۱۳/۶^{a}	۲۲۶/۵±۱۳/۶^{a}	۲۲۶/۵±۱۳/۶^{a}	۲۱۱/۶±۵/۶^{a}	۲۲۱/۶±۵/۶^{a}
پروتئین کل (mg/dl)	۶/۸۶±۰/۱۵^{ab}	۶/۶۶±۰/۱۴^{ab}	۶/۶۶±۰/۱۴^{ab}	۶/۶۶±۰/۱۴^{ab}	۶/۱۰۲±۰/۲۲^{ab}	۶/۶۶±۰/۱۵^{ab}	۶/۱۵±۰/۱۶^{ab}	۶/۶۶±۰/۲۱^{ab}	۶/۶۶±۰/۱۰۶^{ab}	۶/۶۶±۰/۱۴^{ab}	۶/۶۶±۰/۱۱^{ab}	۶/۶۲±۰/۱۶^{ab}

بین گروه شاهد و تیمارهای پروبیوتیک و پربیوتیک اختلاف معنی‌دار در درصد بازماندگی پس از تنش شوری مشاهده شد ($p<0/05$)، بیش‌ترین درصد بازماندگی در تیمار ۵ و ۶ با اختلاف معنی‌دار با تیمار شاهد مشاهده شد ($p<0/05$) (جدول ۲). بین گروه شاهد و تیمارهای پروبیوتیکی و پربیوتیکی در درصد هماتوکریت خون اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد ($p>0/05$) ولی بیش‌ترین درصد هماتوکریت در تیمار ۶ مشاهده شد (جدول ۳). بیش‌ترین تعداد گلبول سفید در تیمار ۴ مشاهده شد ولی با این وجود بین گروه شاهد و تیمارهای پروبیوتیکی و پربیوتیکی در تعداد گلبول سفید خون اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد ($p>0/05$) (جدول ۳). بیش‌ترین مقدار گلوکز خون در تیمار ۱ مشاهده شد ولی بین گروه شاهد و تیمارهای پروبیوتیکی و پربیوتیکی در مقدار گلوکز خون اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد ($p>0/05$) (جدول ۳). هم‌چنین بیش‌ترین میزان کلسترول خون در تیمار ۶ مشاهده شد ولی بین گروه شاهد و تیمارهای پروبیوتیکی و پربیوتیکی در مقدار کلسترول خون اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد ($p>0/05$) (جدول ۳). بین گروه شاهد و تیمارهای پروبیوتیک و پربیوتیک اختلاف معنی‌دار در مقدار پروتئین خون مشاهده شد ($p<0/05$)، تیمار ۸ با بیش‌ترین میزان پروتئین خون اختلاف معنی‌داری را با گروه شاهد نشان داد ($p<0/05$) (جدول ۳).

بحث

هدف همیشگی تولید آبزیان به حداکثر رساندن کارایی و بازده تولید برای حداکثر سوددهی است. جیره غذایی حاوی پروبیوتیک‌ها نه‌تنها مواد مغذی ضروری را تأمین می‌کند، بلکه می‌تواند یکی از بهترین راهکارها برای حفظ سلامت آبزیان پرورشی و افزایش مقاومت آن‌ها به استرس و عوامل بیماری‌زا باشد. هم‌چنین عملکرد پروبیوتیک‌ها در بهبود محیط آبی از طریق کاهش باکتری‌های بیماری‌زا است (Gatlin، ۲۰۰۲) اثرات مثبت پروبویتیک‌ها در آبزیان پرورشی، با دیدگاه‌های متفاوتی نظیر بهینه‌سازی پارامترهای فیزیکی و شیمیایی محیط پرورشی آن‌ها، پیش‌گیری از ابتلاء و مبارزه با عوامل بیماری‌زا و هم‌چنین ارتقاء عملکرد رشد آبزیان پرورشی در تحقیقات بی‌شماری توسط محققان شیلاتی تایید شده است (Irianto و Austin، ۲۰۰۲). بیش‌تر این تحقیقات منجر به ثبت نتایج با ارزشی شد که امروزه در سیستم‌های پرورشی به‌عنوان فنون کاربردی مورد استفاده قرار می‌گیرند (Gomez و همکاران، ۱۹۹۸). اضافه کردن پروبویتیک‌ها به جیره غذایی ماهی باعث افزایش فعالیت‌های گوارشی و آنزیمی و تحریک اشتها (Kruger، ۱۹۹۶)، ایجاد تعادل میکروبی در روده میزبان، ساختن ترکیبات مفید از جمله ویتامین‌ها و برخی آنزیم‌ها، تحریک و افزایش کارایی سیستم ایمنی، افزایش رشد، بهبود سطوح غذا (Merrifield و همکاران، ۲۰۰۹) و هم‌چنین افزایش کیفیت آب و افزایش بقای موجود می‌شوند (Panigrahi و همکاران، ۲۰۰۷). به‌کارگیری مؤثر پربیوتیک‌ها در آبزیان نیازمند شناخت جمعیت و نوع میکروب‌های لوله گوارشی آبزیان می‌باشد. باکتری‌های ساکن روده قادرند به‌طور انتخابی پربیوتیک‌ها را تخمیر کنند، تخمیر قندهای موجود در روده سبب افزایش انرژی و رشد این باکتری‌ها می‌شود که این مورد، باعث تقویت میکرو فلور روده‌ای و ممانعت از تشکیل کلنی باکتری‌های بیماری‌زا می‌گردد. این باکتری‌ها موادی ترشح می‌کنند که سبب تحریک سیستم ایمنی می‌شود، از این‌رو سبب افزایش مقاومت میزبان در برابر عوامل بیماری‌زا می‌گردد (Firouzbakhsh و همکاران، ۲۰۱۱).

نتایج حاصل از آنالیز آماری داده‌های این تحقیق نشان می‌دهد که تیمارهای دارای پروبیوتیک و پربیوتیک به‌صورت تلفیقی نسبت به تیمار شاهد و تیمارهای دارای پروبیوتیک و پربیوتیک به‌تنهایی دارای شاخص‌های رشد (افزایش وزن، اختلاف وزن روزانه، درصد افزایش وزن) و شاخص‌های تغذیه‌ای (ضریب تبدیل غذایی و شاخص رشد ویژه) بهتری بودند ولی از بین تیمارهای تلفیقی، تیمار هفتم (۰/۱ گرم بر کیلوگرم پروبیوتیک و ۱٪ پربیوتیک) در شاخص‌های رشد و تغذیه به‌طور معنی‌داری بیش‌تر بود ($p<0/05$)، به‌نظر می‌رسد که افزایش رشد به‌دلیل افزایش اشتها و ترشح آنزیم یا بهبود سلامتی ماهی در نتیجه کنترل عفونت و افزایش قابلیت هضم مواد غذایی باشد (Gatesoupe و Ringo، ۱۹۹۸)، هم‌چنین تیمار دوازدهم (۰/۴ گرم بر کیلوگرم پروبیوتیک و ۲٪ پربیوتیک) از بین تیمارهای تلفیقی و تیمار شاهد در شاخص‌های رشد و تغذیه نسبت به تیمار هفتم به‌طور معنی‌داری کم‌تر بود ($p<0/05$)، به‌نظر می‌رسد کاهش شاخص‌های رشد و تغذیه در تیمار دوازده به‌دلیل بالا بودن دوز مصرفی بوده است. در منابع قابل دسترس تاکنون گزارشی درباره نقش پروبیوتیک باکتوسل و پربیوتیک گالاکتوالیگوساکارید بر روی پارامترهای رشد و تغذیه، بازماندگی، خون و مقاومت در برابر تنش شوری در ماهی گوارمی سه‌خال بیان نشده است ولی مطالعات مشابهی وجود دارد که در ادامه عنوان شده است. قبادی و همکاران (۱۳۹۳) تاثیر پروبویتیک باکتوسل در سطوح ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳ گرم بر کیلوگرم غذای خشک بر عوامل رشد و کارایی تغذیه در

بچه‌ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) بررسی کردند و دریافتند که گروه ماهیانی که پروبیوتیک دریافت کرده بودند شاخص‌های رشد و راندمان غذایی از جمله افزایش وزن، نرخ رشد ویژه، کارایی پروتئین، ضریب تبدیل غذا و درصد بقاء سطح بالاتر و مطلوب‌تری را نسبت به گروه ماهیانی که جیره آن‌ها فاقد پروبیوتیک بودند، نشان دادند ($p<0/05$). در مطالعه دیگری حسینی و همکاران (۱۳۹۳)، تاثیر پروبیوتیک پدیوکوکوس اسیدی لاکتیسی در سطوح ۰/۱،۰/۲،۰/۳، و ۰/۴ گرم بر کیلوگرم روی رشد، فاکتورهای خونی و سرمی در ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*) را بررسی کردند و دریافتند که ضریب تبدیل غذایی در تیمار پنجم (۰/۴ گرم پروبیوتیک) به‌طور معنی داری نسبت به تیمار شاهد کاهش یافت. ضریب رشد ویژه، وزن نهایی و افزایش وزن در تیمار سوم (۰/۲ گرم پروبیوتیک) در مقایسه با گروه شاهد افزایش یافت. در تحقیق دیگری مشابه تحقیق حاضر به بررسی ترکیبی پروبیوتیک و پربیوتیک پرداختند، در این آزمایش جنابی حق‌پرست و همکاران (۱۳۹۲) اثرات پروبیوتیک باکتوسل و پربیوتیک مانان‌الیگوساکارید در سطوح اول (شاهد)، دوم (پروبیوتیک ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، سوم (پربیوتیک ۲/۵ گرم بر کیلوگرم)، چهارم (پربیوتیک ۵ گرم بر کیلوگرم)، پنجم (پروبیوتیک۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و پربیوتیک ۲/۵ گرم بر کیلوگرم) و ششم (پروبیوتیک۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و پربیوتیک ۵ گرم بر کیلوگرم) بر رشد و ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان پرداختند و نتیجه گرفتند که تیمارهای تغذیه شده با پروبیوتیک و پربیوتیک دارای شاخص‌های رشد (درصد افزایش وزن، ضریب تبدیل غذایی، شاخص وضعیت و نرخ رشد ویژه) بهتری در مقایسه با ماهیان شاهد بودند. تیمار ۴ و ۵ و ۶ دارای افزایش وزن بیش‌تری با اختلاف معنی‌داری نسبت به گروه شاهد و گروه ۲ و۳ نشان داد، در تحقیق جاری نیز تیمارهای دارای پروبیوتیک و پربیوتیک به‌صورت تلفیقی شاخص‌های رشد بهتری نسبت به تیمار شاهد و تیمارهای دارای پروبیوتیک و پربیوتیک به‌تنهایی داشتند البته تیمار ۱۲ که دارای بیش‌ترین سطح پروبیوتیک و پربیوتیک به‌صورت تلفیقی بود شاخص‌های رشد کم‌تری با اختلاف معنی‌دار از سایر تیمارهای تلفیقی نشان داد. Merrifield و همکاران (۲۰۰۹) در تحقیقی اثر پدیوکوکوس اسیدی لاکتیسی را بر رشد، شاخص تغذیه‌ای، کلنی روده و پارامترهای سلامتی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بررسی کردند و برخلاف تحقیق حاضر هیچ اثر معنی‌داری بر فاکتورهای رشد و تغذیه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان نیافتند ($p>0/05$).

تحریک پاسخ ایمنی در ماهیان از طریق جیره غذایی از موضوعات مورد علاقه آبزی‌پروری تجاری است. در واقع پربیوتیک‌ها در روده به‌واسطه فرایند تخمیر در روده منجر به تکثیر پروبیوتیک‌ها می‌گردند. شواهدی وجود دارد که باکتری‌های پروبیوتیکی با تحریک سیستم ایمنی میزبان موجب افزایش مقاومت آن در برابر تنش‌های محیطی گشته و درصد بقا را بالا می‌برد (تاجدار نصر آبادی و اکرمی، ۱۳۹۲). منطبق با یافته‌های این تحقیق، Hoseinifar و همکاران (۲۰۱۳) گزارش کردند که تیمارهای حاوی ۱٪ و ۲٪ گالاکتوالیگوساکاراید اثر معنی‌داری بر فاکتورهای رشد نشان نداد و فقط در کاهش ضریب تبدیل غذایی موثر بود، هم‌چنین تیمارهای حاوی ۱٪ و ۲٪ گالاکتوالیگوساکاراید به‌طور معنی دارای مقاومت بیش‌تری در برابر تنش شوری نسبت به گروه شاهد (۰٪) نشان داد ($p<0/05$)، در تحقیق حاضر نیز تیمارهای دارای ۱٪ و ۲٪ گالاکتوالیگوساکاراید (به‌تنهایی) اثر معنی‌داری در فاکتورهای رشد نشان نداد ($p>0/05$) ولی این دو تیمار مقاومت بیش‌تری در برابر تنش شوری نسبت به گروه شاهد (۰٪) نشان داد ($p<0/05$). نتایج به‌دست آمده با نتایج تحقیقی که اکرمی و همکاران (۱۳۸۸) تحت عنوان تاثیر پربیوتیک مانان الیگوساکارید بر رشد، بازماندگی، ترکیب بدن و مقاومت به تنش شوری در بچه ماهی سفید (*Rutilus frisii kutum*) انجام دادند مطابقت ندارد زیرا در تحقیق نام‌برده میزان بازماندگی ماهیان پس از گذشت ۴۸ ساعت تنش شوری از نظر آماری تفاوتی نشان نداد ($p>0/05$). هم‌چنین در تحقیقی که تاجدار نصرآبادی و اکرمی (۱۳۹۲) انجام دادند تفاوت معنی‌داری در آزمایش تنش شوری، حرارتی و اسیدی بین تیمارهای آزمایش مشاهده نشد ($p>0/05$).ولی تیمار دارای ۵ گرم بر کیلوگرم فروکتوالیگوساکارید با تیمار شاهد در تنش قلیائیت نشان داد ($p<0/05$).

خون به‌عنوان بافت سیال و سهل الوصول، یکی از مهم‌ترین مایعات بیولوژیک بدن بوده که تحت تأثیر حالات مختلف فیزیولوژیک و پاتولوژیک، ترکیبات آن دستخوش نوسان و تغییر می‌گردند. لذا در اختیار داشتن مقادیر طبیعی پارامترهای خونی و بررسی چگونگی تغییرات آن‌ها در بیماری‌های مختلف همواره از ابزارهای مهم تشخیص در بسیاری از بیماری‌های آبزیان بوده است. شاخص‌های خونی در ماهیان می‌تواند متأثر از مواردی چون گونه پرورشی، اندازه، سن، وضعیت فیزیولوژیکی، شرایط محیطی و رژیم غذایی باشد (Brunt و Austin، ۲۰۰۵). گلوکز خون متغیرترین پارامتری است که به‌مقدار بسیار زیادی تحت تأثیر استرس دستکاری و حمل، استرس محیطی، تغییرت فصلی، وضعیت تغذیه‌ای و بلوغ جنسی قرار دارد (Khanna و Singh، ۱۹۷۱) میزان گلوکز خون ماهیان در شرایط طبیعی بسته به

گونه در دامنه ۳۵۰-۲۵ میلی‌گرم در دسی‌لیتر می‌باشد (Shakoori و همکاران، ۱۹۹۶)، در مطالعه حاضر میزان گلوکز خون بین ۱۶۶-۱۴۵میلی‌گرم در دسی‌لیتر بود و در میزان گلوکز خون اختلاف معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد ($p>0/05$). پروتئین تام پلاسما یک پارامتر وابسته برای ارزیابی وضعیت فیزیولوژیک ماهی است، بنابراین یک ابزار کمکی تشخیصی محسوب می‌شود. از سوئی میزان پروتئین تام و آلبومین خون می‌تواند وضعیت تغذیه‌ای و سلامت ماهیان را به تصویر کشاند (Svetina و همکاران، ۲۰۰۲). نتایج حاصل از آنالیز آماری داده‌های این تحقیق نشان داد که میزان پروتئین کل سرم خون در تیمار ۸ (۰/۱ گرم بر کیلوگرم پروبیوتیک و ۲٪ پربیوتیک) نسبت به سایر تیمارهای حاوی مکمل بیش‌تر و با تیمار شاهد اختلاف معنی‌دار دارد ($p<0/05$)، برخی از محققین نشان دادند که پروبیوتیک باکتوسل موجب افزایش تعداد گلبول سفید به‌طور معنی‌دار می‌شود از جمله، حسینی و همکاران (۱۳۹۳) که با بررسی اثر پروبیوتیک پدیوکوکوس اسیدی لاکتیسی در سطوح ۰/۱، ۰/۲، ۰/۳ و ۰/۴ گرم بر کیلوگرم روی رشد، فاکتورهای خونی و سرمی در ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*)، دریافتند که تیمار دارای ۰/۲ گرم بر کیلوگرم پروبیوتیک به‌طور معنی‌داری تعداد گلبول سفید بیش‌تری نسبت به تیمار شاهد و تیمار ۰/۴ داشت و تیمار ۰/۱ به‌طور معنی‌داری میزان گلوکز بیش‌تر نسبت به سایر تیمارها نشان داد ولی درصد هماتوکریت، میزان کلسترول و پروتئین خون تفاوت معنی‌دار نداشت. در تحقیق حاضر اختلاف معنی‌داری در تعداد گلبول سفید مشاهده نشد ولی بیش‌ترین میزان گلبول سفید در تیمار ۴ (۰/۴ گرم بر کیلوگرم پروبویتیک) مشاهده شد و مطابق تحقیق عنوان شده تیمارهای دارای پروبیوتیک (به تنهایی) اختلاف معنی‌داری در درصد هماتوکریت، میزان کلسترول و پروتئین خون با گروه شاهد نشان نداد ($p>0/05$).هم‌چنین Hisano و همکاران (۲۰۰۷)، گزارش نمودند که مصرف ۲٪ مخمر دهیدراته (منبع اصلی مانان الیگوساکارید) در جیره غذایی ماهی تیلاپیا تاثیری بر پارامترهای هماتولوژی نداشت که مطابق با نتایج مطالعه حاضر در رابطه با استفاده پربیوتیک (به‌تنهایی) بود.

براساس نتایج به‌دست آمده از این تحقیق می‌توان نتیجه گرفت که افزودن ۰/۱ گرم بر کیلوگرم پروبیوتیک باکتوسل و ۱٪ پربیوتیک گالاکتوالیگوساکارید به جیره غذایی ماهی زینتی گورامی سه‌خال باعث بهبود فاکتورهای رشد و تغذیه می‌شود. هم‌چنین افزودن ۱٪ و ۲ ٪پربیوتیک گالاکتوالیگوساکارید باعث افزایش مقاومت در برابر تنش محیطی این ماهی می‌شود بنابراین ۰/۱ گرم بر کیلوگرم پروبیوتیک باکتوسل و ۱٪ پربیوتیک گالاکتوالیگو ساکارید می‌تواند فرمولاسیون مناسبی برای جیره غذایی ماهی گورامی سه‌خال باشد.

منابع

۱. **اکرمی، ر.؛ کریم‌آبادی، ع.؛ محمدزاده، ح. و احمدی‌فر، ا.، ۱۳۸۸.** تاثیر پربیوتیک مانان الیگوساکارید بر رشد، بازماندگی، ترکیب بدن و مقاومت به تنش شوری در بچه‌ماهی سفید (*Rutilus frisii kutum*). مجله علوم و فنون دریایی. دوره ۸، شماره ۳ و ۴، صفحات ۴۷ تا ۵۷.

۲. **تاجدار نصرآبادی، م. و اکرمی، ر.، ۱۳۹۲.** تاثیر مکمل غذایی فروکتوالیگوساکارید و مانان‌الیگوساکارید به‌تنهایی و ترکیبی بر عملکرد رشد، میزان بازماندگی، ترکیب بیوشیمیایی بدن و میزان مقاومت بچه‌ماهی کلمه دریای خزر (*Rutilus rutilus caspicus*). مجله اقیانوس‌شناسی. سال۴، شماره ۱۶، صفحات ۳۳ تا ۴۴.

۳. **جنابی‌حق‌پرست، ر.؛ مشکینی، س. و توکمه‌چی، ا.، ۱۳۹۲.** اثرات پری‌بیوتیک مانان‌الیگوساکارید بر رشد و ایمنی در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان. مجله تحقیقات دامپزشکی. دوره ۶۸، شماره ۴، صفحات ۳۷۵ تا ۳۸۲.

۴. **حسینی، ع.؛ اورجی، ح.؛ یگانه، س. و شهابی، ح.، ۱۳۹۳.** تاثیر پروبیوتیک پدیوکوکوس اسیدی لاکتیسی روی رشد، فاکتورهای خونی و سرمی در ماهی آزاد دریای خزر. مجله علمی شیلات ایران. سال ۲۳، شماره ۲، صفحات ۳۴ تا ۴۵.

۵. **شیشه‌ئیان، ب. و سعیدی، ف.، ۱۳۷۸.** خون‌شناسی پزشکی. انتشارات دانشجو. ۱۸۳ صفحه.

۶. **قبادی، ش.؛ توکلی، ه. و مجازی امیری، ب.، ۱۳۹۳.** اثر سطوح مختلف پروبیوتیک باکتوسل بر برخی شاخص‌های رشد، بازماندگی و ترکیبات بدن بچه‌ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). نشریه توسعه آبزی‌پروری. سال ۸، شماره ۴، صفحات ۷۷ تا ۸۸.

۷. **Ai, Q.; Mai, K.; Tan, B.; Xu, W.; Duan, Q.; Ma, H. and Zhang, L., ۲۰۰۶.** Replacment of fish meal by meat and bone meal in diets for larg Yellow croaker (*pseudosciae nacrocea*). Aquaculture. Vol. ۲۶۰, pp: ۲۵۵-۲۶۳.

۸. **Aubin, J.; Gatesoupe, F.; Labbe, L. and Lebrun, L. (۲۰۰۵)** Trial of probiotics to prevent the vertebral column compression syndrome in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture Research. Vol. ۳۶, pp: ۷۵۸-۷۶۷.

۹. **Axelrod, H.R. and Vorderwinkler, W., ۱۹۹۵.** Encyclopedia of tropical fishes with special, emphasis on techniques of breed-ing. Tropical Fish Hobbyist Magazine. Publications, Neptune City. ۷۶۳ p.

۱۰. **Balcazar, J.; de Blas, I.; Ruiz-Zarzuela, I.; Cunningham, D.; Vendrell, D. and Muzquiz, J., ۲۰۰۶.** The role of probiotics in aquaculture. Veterinary Microbiology. Vol. ۱۱۴, pp: ۸۶-۱۷۳.

۱۱. Bekcan, S.; Dogankaya, L. and Cakirogullari, G.C., ۲۰۰۶. Growth and body composition of European catifish (*Silurus glanis*) fed diet containing different percentages of protein. The Israeli Journal of Aquaculture Bamidgeh. Vol. ۵۸, pp: ۱۳۷-۱۴۲.

۱۲. Borges, A.; Scotti, L.V.; Siqueira, D.R.; Jurinitz, D.F. and Wassermann, G.F., ۲۰۰۴. Hematologic and serum biochemical values for jundia´ (*Rhamdia quelen*). Fish Physiology and Biochemical. Vol. ۳۰, pp: ۲۱-۲۵.

۱۳. Brunt, J., and Austin, B., ۲۰۰۵. Use of a probiotic to control lactococcosis and streptococosis in rainbow trout, (*Oncorhynchus mykiss*). Journal of Fish Disease. Vol. ۲۸, pp: ۶۹۳-۷۰۰.

۱۴. Castex, M.; Lemaire, P.; Wabete, N. and Chim, L., ۲۰۰۹. Effect of dietary probiotic Pediococcus acidilacticion antioxidant defences and oxidative stress status of shrimp *Litopenaeus stylirostris*. Aquaculture. Vol. ۲۹۴, pp: ۳۰۶-۳۱۳.

۱۵. Clatfelter, E.D. and Rodriguez, A.C., ۲۰۰۶. Behavioral changes in fish exposed to Phytoestrogens. Enviromental Pollution. Vol. ۱۴۴, pp: ۸۳۳-۸۳۹.

۱۶. Fergusen, R.M.W.; Merrifield, D.L.; Harper, G.M.; Rawling, M.D.; Mustafa, S.; Picchietti, S.; Balcazar, J.L. and Davies, S.J., ۲۰۱۰. The effect of Pediococcus acidilacticion the gut microbiota and immune status of on-growing red tilapia (*Oreochromis niloticus*)**.** Journal of Applied Microbiology ISSN. Vol. ۱۰۹, pp: ۸۵۱-۸۶۲.

۱۷. Firouzbakhsh, F.; Noori, F.; Khalesi, M.K. and Jani-Khalili, K., ۲۰۱۱. Effects of a probiotic, protexin, on the growth performance and hematological parameters in the Oscar (*Astronotus ocellatus*) fingerlings. Fish Physiology and Biochemistry. Vol. ۳۷, pp: ۸۳۳-۸۴۲.

۱۸. Frankel, J.S., ۲۰۰۴. Inheritance of trunk banding in the tetra (*Gymnocorymbus ternetzi*, Characidae). Journal of Heredity. Vol. ۹۵, pp: ۲۶۲-۲۶۴.

۱۹. Gatesoupe, F.J. and Ringo, E., ۱۹۹۸. Lactic acid bacteria in fish: a review. Aquaculture. Vol. ۱۶۰, pp: ۱۷۷-۲۰۳.

۲۰. Gatlin, D.M., ۲۰۰۲. Nutrition and fish health. In: Fish Nutrition. Halver, J.E., Hardy, R.W. (eds.). (۱st ed.). Academic Press, San Diego, USA. Vol. ۳, pp: ۶۷۱-۷۰۲.

۲۱. Ghosh, S.; Sinha, A. and Sahu, C., ۲۰۰۸. Dietary probiotic supplementation in growth and health of live-bearing ornamental fishes. Aquacul. Nutrition. Vol. ۱۴, pp: ۲۸۹-۲۹۹.

۲۲. Gibson, G.R. and Roberfroid, M.B., ۱۹۹۵. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. Journal of Nutrition. Vol. ۱۲۵, pp: ۱۴۰۱-۱۴۱۲.

۲۳. Gomez-Gill, B.; Herrera-Vega, M.A.; Abreu-Grobois, F.A. and Roque, A., ۱۹۹۸. Bioencapsulation of two different Vibrio species in nauplii of the brine shrimp (*Artemia franciscana*). Applied and Environmental Microbiology. Vol. ۶۴, pp: ۱۸-۲۲.

۲۴. Grisdale-Helland, B.; Helland S.J. and Gatlin Iii D.M., ۲۰۰۸. The effects of dietary supplementation with mannanoligosaccharide fructooligosaccharide or gal actooligosaccharide on the growth and feed utilization of Atlantic salmon. Aquaculture. Vol. ۲۸۳, pp: ۱۶۳-۱۶۷.

۲۵. Hevroy, E.M.; Espe, M.; Waagbo, R.; Sandness, K.; Rund, M. and Heme, G.I., ۲۰۰۵. Nutrition utilization in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed increased Level of fish protein hydrolysate during a period of fast growth. Aquaculture Nutrition. Vol. ۱۱, pp: ۳۰۱-۳۱۳.

۲۶. Hisano, H.; Barros, M.M. and Pezzato, L.E., ۲۰۰۷. Levedura e zinco Como prónutrientes em rações para tilápia-do-Nilo. Aspectos hematológicos. Boletim do Instituto de Pesca. Vol. ۳۳, pp: ۳۵-۴۲.

۲۷. Hoseinifar, S.H.; Khalili, M.; Khoshbavar Rostami, H. and Esteban, M.A., ۲۰۱۳. Dietary galactooligosaccharide affects intestinal microbiota, stress resistance, and performance of Caspian roach (*Rutilus rutilus*) fry. Fish and Shellfish Immunology xxx. pp: ۱-۵.

۲۸. Irianto, A. and Austin, B., ۲۰۰۲. Probiotics in aquaculture. Journal of Fish Diseases. Vol. ۲۵, pp: ۶۳۳-۶۴۲.

۲۹. Johnson, D.S., ۱۹۶۷. Distributional patterns in Malayan freshwater fish. Ecology. Vol. ۴۸, pp: ۷۲۲-۷۳۰.

۳۰. Khanna S.S. and Singh T., ۱۹۷۱. Studies on the blood glucose level in *Channa punctatus* (Bloch). Acta Zoology. Vol. ۵۲, pp: ۹۷-۱۰۱.

۳۱. Kruger, N.J., ۱۹۹۶. The Bradford method for protein quantitation. In: The Protein Protocols Handbook, Vol. ۱. Walker, J. (ed.). Hummana Press. Totowa, USA. pp: ۱۱-۱۵.

۳۲. Linke H., ۱۹۹۱. Labyrinth fish the bubble-nest-builders. Tetra Press, Melle. ۱۷۴ p.

۳۳. Lowe-McConnell, R.H., ۱۹۷۵. Fish Communities in Tropical Freshwaters. New York: Longmans. ۳۳۷ p.

۳۴. Merrifield, D.; Bardley, G.; Baker, R. and Davies, S., ۲۰۰۹. Probiotic applications for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): Effects on growth perform-ance, feed utilization, intestinal microbiota and related heath criteria post antibiotic treatment. Aquaculture Nutrition. Vol. ۱۶, pp: ۴۹۶-۵۰۳.

۳۵. Merrifield, D.L.; Bradley, G.; Harper, G.M.; Baker, R.T.M.; Munn, C.B. and Davies, S.J., ۲۰۱۰. Assessment of the effects of vegetative and lyophilised Pediococcus acidilactici on growth, feed utilisation, intestinal colonisation and health parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) .Aquacul. Nutri. Vol. ۱۷, pp: ۷۳-۷۹.

۳۶. Mills, D., ۲۰۰۰. Aquarium fish. Dorling Kindersley, London. ۷۲ p.

۳۷. Nayak, S.K., ۲۰۱۰. Probiotics & immunity: a fish perspective. Fish and Shellfish Immunology. Vol. ۲۹, pp: ۲-۱۴.

۳۸. Neissi, A.; Rafiee, GH.; Nematollahi, M. and Safari, O., ۲۰۱۳. The effect of *Pediococcus acidilactici* bacteria used as probiotic supplement on the growth and non-specific immune responses of green terror, *Aequidens rivulatus*. Fish and Shellfish Immunology. Vol. ۳۵, pp: ۱۹۷۶-۱۹۸۰.

۳۹. Panigrahi, A.; Kiron, V.; Satoh, S.; Hirono, I.; Kobayashi, T.; Sugita, H.; Puangkaew, J. and Aoki, T., ۲۰۰۷. Immune modulation and expression of cytokine genes in rainbow trout upon probiotic feeding. Fish and Shellfish Immunology. Vol. ۳۱, pp: ۳۷۲-۳۸۲.

۴۰. Sako, T, Matsumoto, K. and Tanaka, R., ۱۹۹۹. Recent progress on research and applications of non-digestible galacto-oligosaccharides. International Dairy Journal. Vol. ۹, pp: ۶۹-۸۰.

۴۱. Shakoori, A.R.; Iqbal, M.J. and Mughal, A.L., ۱۹۹۶. Effect of sublethal doses of fenvalerate (a synthetic pyrethroid) administred continuousely for four weeks on the blood, liver and muscles of a freshwater fish (*Ctenophayngodon idella*). Bulletin Environmental Contamination and Toxicology. Vol. ۵۷, pp: ۴۸۷-۴۹۴.

۴۲. Shephard, K.L., ۱۹۹۴. Functions for fish mucus. Reviews in Fish Biology and Fisheries. Vol. ۴, pp: ۴۰۱-۴۲۹.

۴۳. Svetina, A.; Matasin, Z.; Tofant, A.; Vucemilo, M. and Fijan, N., ۲۰۰۲. Haematology and some blood chemical parameters of young carp till the age of three years. Acta Veterinaria Hungarica. Vol. ۵۰, pp: ۴۵۹-۴۶۷.

۴۴. Tacon, A.G.J., ۱۹۹۰. Standard methods for the nutrition and feeding of famed fish and shrimp. Argent Laboratories Press. pp: ۴-۲۴.

۴۵. Webb, A.; Maughan, M. and Knott, M., ۲۰۰۷. Pest fish profiles (*Trichogaster trichopterus* Three spot gourami). ACTFR, James Cook University. pp: ۱-۵.

۴۶. Yang, S.T. and Silva, E.M., ۱۹۹۵. Novel products and new technologies for use of a familiar carbohydrate, milk lactose. Journal of Dairy Science. Vol. ۷۸, pp: ۲۵۴۱-۲۵۶۲.

۴۷. Zhou, Q-C.; Buentello, J.A. and Gatlin Iii, D.M., ۲۰۱۰. Effects of dietary prebiotics on growth performance, immune response and intestinal morphology of red drum (*Sciaenops ocellatus*). Aquaculture. Vol. ۳۰۹, pp: ۲۵۳-۲۵۷.