Archive of SID

نشریه دامپزشکی
در
پژوهش و سازندگی شماره ۱۰۶ بهار ۱۳۹۴
DOI: 10.22034/vj.2015.100908

مطالعه تأثیر ایمونوژن خوراکی بر روی فلور باکتریایی روده و ترکیب لاشه در ماهی شیربت *(Barbus grypus)*

• **تکاور محمدیان (نویسنده مسئول) و مهرزاد مصباح**
گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز
• **سیامک روحانی‌زاده**
کارشناس ارشد بهداشت آبزیان اداره کل دامپزشکی خوزستان
مجتبی علیشاهی
گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز
پرسام علیزاده
کارشناس ارشد تکثیر و پرورش آبزیان
• **اسماعیل عبدی**
دانشجوی دکترای تخصصی بهداشت آبزیان دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران
تاریخ دریافت: اردیبهشت ۱۳۹۱ تاریخ پذیرش: آبان ماه ۱۳۹۳
Email: takavar_m2002@yahoo.com

چکیده

پژوهش حاضر به منظور ارزیابی اثرات پری‌بیوتیک تجاری ایمونوژن بر روی فلور باکتریایی دستگاه گوارش و ترکیب لاشه ماهی شیربت (*Barbus grypus*) انجام گرفت. تعداد ۳۶۰ قطعه بچه ماهی شیربت با وزن متوسط ۲±۳۵ به ۴ تیمار تقسیم گردیدند، تیمارها به ترتیب با خوراک حاوی ایمونوژن با سطوح، صفر، ۰/۵ درصد، ۱ درصد، ۱/۵ درصد به مدت ۹۰ روز تغذیه شدند. نتایج نشان داد که پری‌بیوتیک ایمونوژن باعث ایجاد تغییر در فلور باکتریایی دستگاه گوارش بچه ماهیان شد به طوری که تعداد باکتری‌های لاکتوباسیلوس روده نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری یافت ($p < ۰/۰۵$). نتایج مربوط به ترکیب لاشه نشان داد که میزان پروتئین لاشه در تیمار تغذیه شده با ۱/۵ درصد ایمونوژن اختلاف معنی‌داری با گروه کنترل و سایر تیمارها داشته است ($p < ۰/۰۵$). چربی، خاکستر و رطوبت اختلاف معنی‌داری در بین تیمارها نداشت ($p > ۰/۰۵$)، هرچند که در تیمار تغذیه شده با ۱/۵ درصد ایمونوژن میزان چربی نسبت به سایر تیمارها افزایش نشان داد. بر اساس یافته‌های تحقیق می‌توان نتیجه گرفت که تجویز خوراکی پری‌بیوتیک ایمونوژن بر فلور باکتریایی روده و جمعیت لاکتوباسیلوس‌های دستگاه گوارش و نیز میزان پروتئین لاشه موثر می‌باشد.

کلمات کلیدی: ایمونوژن، پری‌بیوتیک، لاکتوباسیل، ترکیب لاشه، شیربت (*Barbus grypus*)

www.SID.ir

Archive of SID

Veterinary Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 106 pp: 2-9

Studying the effect of Immunogen on microflora of intestine and carcass composition of *Barbus Grypus*

By: Mohammadian, T. (Corresponding Author). Mesbah, M.; Department of Clinical Sciences,Veterinary Faculty of Shahid Chamran University, Ahvaz, Iran.

Rohanizade, S.; MSc. Veterinary Organization, Khuzestan, Ahvaz, Iran.

Alishahi, M.; Department of Clinical Sciences, Veterinary Faculty of Shahid Chamran University, Ahvaz, Iran.

Alizade, P.; MSc. Veterinary Organization, Khuzestan, Ahvaz, Iran.

Abdi, E.; PhD Student of Fish Health and Diseases, Veterinary Medicin,Veterinary Faculty of Shahid Chamran University, Ahvaz, Iran.

Email: takavar_m2002@yahoo.com

Received: August 2012 Accepted: June 2014

Immunogen is a commercial prebiotic. It is a natural compound such as beta golcan and mannan oligosaccharide that use as a feed complement. Usage of prebiotic as indigestible nutrient in digestion system that potentially affect health condition of host is a new idea for improving production in aquaculture. The aim of this study is survey bacteria flora and body composition of Barbus grypus in 360 pcs fingerling with 35±2 gr weight in 4 treatment group randomly. (3 replicates) treatments were feed by Immunogen with zero, 0/5, 1 and 1/5% respectively in 90 days. Result shows that Immunogen has positive effect on bacterial flora in fingerling. Lactobacillus population in intestine of treatment groups in contrast with control group (p<0/05). Results showed that the amount of carcass protein in 1.5% treated Immunogen was significantly higher than control (p <0/05) where as lipid content, ash and moisture showed no significant differences between treatments (p> 0/05), although this factor was slightly higher in group fed with 1.5% Immunogen. Therefore it can be concluded that oral administration of prebiotic Immunogen can induces positive effects on microflore of gut and Lactobacillus population plus carcass protein level.

Key words: Immunogen, Prebiotic, Carcass Analysis, *Barbus grypus*.

مقدمه

یکـی از جدیدترین ایده‌هـا در خصوص پروبیوتیک‌ها بهبود مناسـب جمعیت میکروبی میزبان بوده که از طریق دسـتکاری جمعیت باکتری در آبزیان به روش غنی‌سـازی، اضافه کـردن باکتری‌های پروبیوتیکی از جمله لاکتوباسـیل‌ها، مخمرها و باسـیلوس‌ها، به آب محیط پرورشـی آبزیان و تلقیـح برخی از ترکیبات طبیعی به جیره غذایی آبزیان می‌باشـد (Ringo و Birkbeck، ۱۹۹۹). به دلیل آنکه سـویه‌های پروبیوتیکی، فقط از طریق تیمارهـای تغذیه‌ای در دسـتگاه گوارش غالب هسـتند و از طرفی قابلیت زنده‌مانی سویه‌های پروبیوتیکی در طی عمل‌آوری ساخت جیره‌های غذایی و ذخیره‌سـازی آن‌ها نیز یک محدودیت عمده در استفاده از پروبیوتیک‌ها در آبزی پروری می‌باشـد، Mahious و همـکاران (۲۰۰۵) همچنین امکان رقابت پروبیوتیک معرفی شده با برخی میکروارگانیسم‌های میکروفلور روده و توانایی تثبیت و تشـکیل کلنی موثر سـبب شـد تا محققین به فکر ارائه راه‌کارهای جدید در این راستا برآیند (Mahious و همکاران ۲۰۰۵). استفاده از پری‌بیوتیک‌هـا که عناصر غذایی غیرقابل هضمی هسـتند و در ماهی از طریق بهبود رشد و یا اثر بر عملکرد متابولیسم باکتری‌های مفید در روده اثر می‌گذارند، مبحث جدیدی در آبزی پروری می‌باشد. مشخص شده است که در میان کربوهیدرات‌ها، اینولین، الیگوفروکتوز، ترانس گالاکتوالیگوساکارید و لاکتوز را می توان به عنوان پری‌بیوتیک اسـتفاده کرد. مکمل مانان الیگو سـاکارید در جیره‌ی غذایی ماهیان به عنوان یک بهبود دهنده‌ی سـلامتی و عملکرد رشـد به اثبات رسـیده اسـت. Staykov و همـکاران (۲۰۰۷)، Torrecillas و همـکاران (۲۰۰۷)، Burr و همـکاران (۲۰۰۸). همچنیـن بـه عنوان اصلاح کننده‌ی میکروفلور دسـتگاه گـوارش Salze و همکاران (۲۰۰۸)، Jafarzadeh و همـکاران (۲۰۱۰) و اصـلاح کننده‌ی میکروفلور روده شناخته شده است. یک میکروفلور متعادل و معمولی در روده می‌تواند جاندار را در برابر هجوم میکروارگانیسـم‌های بیمـاری‌زا به خوبی حفاظت نمایـد. هدف از به کارگیـری محصولات زنده میکروبـی، تأثیر آن بر روی فعالیت میکروب‌های دستگاه گوارش از طریق تثبیت میکروب‌های مطلوب و جلوگیری از تجمع باکتری‌های مضر و به دنبال آن کمک به حفظ سلامت جاندار می‌باشد (Hoseinifar و همکاران ۲۰۱۰). مهم ترین محصول حاصل از متابولیسـم پری بیوتیک‌ها، اسیدهای چرب زنجیره کوتاه هستند (Jen-iss و همکاران ۱۹۹۹، Mahious و Ollivier, ۲۰۰۵) که از طریق اپی‌تلیوم روده جذب می‌شـوند و به عنوان یک منبع انـرژی مهم برای میزبان تلقی شـده و سـبب بهبود جذب مواد غذایی می‌شـوند. باکتری‌های بومی روده

www.SID.ir

Archive of SID

قادرند به طور گزینشی پری‌بیوتیک‌ها را تخمیر کنند. تخمیر سوبستراهای موجـود در روده سـبب افرایش انرژی و رشـد این باکتری‌ها می‌شـود که ایـن روند خود اثرات مفیـدی از طریق تقویت میکروفلور روده و ممانعت از تشکیل باکتری‌های بیماری‌زا را به دنبال دارد. با وجود مشخص شدن اثرات مفید پری‌بیوتیک‌ها، تحقیقات بسـیار کمی در این زمینه انجام شـده است و هنوز بسـیاری از جنبه‌های افزودن پری بیوتیک به جیره مشـخص نشده اسـت (Mahious و Ollevier, ۲۰۰۵). پری‌بیوتیک تجاری ایمونوژن شامل ۳±۳۰ درصد (۱ و ۱-۳ و۶) بتاگلوکان، ۳±۱۸ درصد مانان الیگوسـاکارید، ۳۲ درصدپروتئین، ۸ درصد خاکسـتر، ۸ درصدرطوبـت و ۱/۴درصد فیبر می‌باشـد (Estarabadi و همـکاران ,۲۰۱۰). مصرف ایـن محصول به طور کلی باعث پیشـگیری از اسـهال، ایمنی‌زا، جایگزیـن آنتی‌بیوتیک، محرک رشد و جاذب مایکوتوکسین می‌شود. از آنجا که پری‌بیوتیک‌ها باعث بهبود رشـد و تعادل میکروفلور روده و افزایش مکانیسم دفاعی میزبان می‌شوند، مطالعاتی در زمینه بررسی تأثیر پری‌بیوتیک‌های مختلف بر فلور باکتریایی دسـتگاه گوارش ماهیان انجام شـد. نام علمی ماهی مورد مطالعه *Barbus grypus* می‌باشد که از ماهیان مهم بومی استان خوزستان و کشور محسوب می‌گردد. درمنابع، نام‌های مترادف تورگریپوس و لبوباربوس کوشـچی برای آن ذکر شـده است. نام محلی آن به فارسی شیربت و در زبان عربی شبوط می‌باشد که نام‌گذاری آن سابقه ۱۵۰۰ ساله دارد. باتوجه به فقدان اطلاعات در مـورد اسـتفاده از پری‌بیوتیک‌ها در ماهیان بومی اسـتان خوزسـتان و بررسـی اثر ایمونوژن بر فلور باکتریایی روده و ترکیب لاشـه ماهی شیربت هدف این تحقیق قرار گرفت.

مواد و روش کار

تأمین بچه‌ماهی و معرفی آن‌ها به محیط آزمایشی

تعـداد ۳۶۰ قطعه بچه ماهی با وزن ابتدایی ۲±۳۵ گرم از مرکز تکثیر ماهیان گرمابی شـهید ملکی اهواز برای این آزمایشات تهیه شد و با ماشین مخصوص حمل ماهی زنده به سـالن آکواریوم دانشکده دامپزشکی منتقل گردید و دو هفته قبل از آغاز مطالعه با شـرایط اسـتاندارد فراهم شـده در بخش بیماری های آبزیان سازگار شدند.

گروه‌های آزمایشی

بچه ماهی‌ها به صورت کاملاً تصادفی به ۴ تیمار در سـه تکرار تقسـیم شـده بطوری که هر تکرار شـامل ۳۰ قطعه بچه ماهی بود. تیمارها شامل: تیمار اول: تغذیه شـده با خـوراک حاوی ۰/۵ گرم ایمونـوژن در کیلوگرم خوارک، تیمار دوم تغذیه شـده با خـوراک حاوی ۱ گرم ایمونوژن در کیلو گرم خوارک، تیمار سوم تغذیه شده با خوراک حاوی ۱/۵ گرم ایمونوژن در کیلوگرم خوارک، تیمار چهارم تغذیه شده با خوراک فاقد ایمونوژن می‌باشد. طـول دوره تحقیق دوازده هفته بود و در روزهای ۳۰، ۶۰ و انتهای دوره از ماهی‌ها نمونه‌گیری شـد و فاکتورهای آزمایشی به شرحی که در ادامه ذکر شده است بین تیمارها مقایسه گردید.

تهیه غذا

ابتدا مواد خشـک غـذا و پری‌بیوتیک ایمونوژن با نسـبت‌های از پیش تعیین شده جهت گروه‌های آزمایشی به وسیله ترازوی دیجیتال توزین و به مدت ۳۰ دقیقه به وسیله هم زن برقی مخلوط شدند. سپس مقداری آب به مواد اضافه شـده و ترکیبات دوباره به مدت ۱۵ دقیقه دیگر مخلوط شدند. سـپس با استفاده از چرخ گوشـت صنعتی به قطر ۳ میلیمتر به رشته‌های بلند تبدیل گردید و ادامه جهت خشـک شـدن در دسـتگاه خشک کن به مدت ۷ سـاعت در دمای ۵۰-۶۰ درجه سـانتیگراد قرار داده شـد. پس از آن در اندازه‌ی مناسـب (۸ میلیمتر و قطر ۳ میلیمتر) به صورت پلت تهیه گردید (Sudagar و همکاران ,۲۰۰۴).

تغذیه ماهی‌ها با جیره‌های آزمایشی

بچـه ماهی‌ها در طول دوره تحقیق با خوراک ماهی (سـاخت شـرکت ماهـی کارون) با ترکیب غذایی ۲۱/۵ درصد پروتئین، ۴/۲ درصد چربی، ۵ درصد خاکسـتر و ۱۰/۶۲ درصد رطوبت تغذیه شدند. غذادهی بچه ماهی‌ها بطور روزانه و در سه نوبت در ساعت‌های ۸ صبح ، ۱۲ ظهر و ۱۶ عصر انجام گرفت. میزان غذادهی حداکثر ۳ درصد وزن بیوماس بصورت روزانه تعیین گردیـد (Zaccorate و همکاران ,۱۹۹۶) و جهت به حداقل رسـاندن اتلاف غذا قطر پلت‌ها برای تمام جیره‌ها ۳ میلی‌متر در نظر گرفته شده بود (Kim و Kaushik, ۱۹۹۲). غذادهی به جز در روزهای زیست سنجی در تمام طول دوره پرورش بدون وقفه ادامه داشت.

اندازه گیری و ثبت عوامل فیزیکی و شیمیایی آب

کیفیـت آب در طـول دوره پرورش در حدی قابل قبـول و تقریباً ثابت بود. شستشـوی مخازن نیز بطور روزانه صـورت گرفت. پارامترهای فیزیکی و شـیمیایی آب از قبیل اکسیژن، دما، pH ، شـوری و هدایت الکتریکی به صورت روزانه اندازه‌گیری و ثبت شد. پارامترهای کیفی آب از قبیل آمونیاک، نیتـرات نیز به صورت هفتگی مورد ارزیابی قـرار گرفت. میانگین دمای آب حوضچه‌هـا در طـول دوره پرورش ۱ ± ۲۸ درجه سـانتیگراد و pH معادل ۷/۵-۸/۳ بود.

برداشت

پس از طی ۱۲ هفته پرورش (معادل ۲۳۵۲ روز/درجه)، جهت اطمینان از تخلیه کامل محتویات شـکمی غذادهی به مدت دو روز متوقف گردید و عملیات برداشـت آغاز شد. بدین ترتیب که پس از بیهوش کردن ماهی‌ها و ثبت اطلاعات زیسـت سنجی لاشـه آن‌ها پس از یخ‌گذاری در محفظه‌های عایق، سـریعاً به آزمایشـگاه منتقل گردید و آنالیز ترکیب شـیمیایی بدن انجام شد.

فلور باکتریایی روده

نمونه‌گیـری از فلور میکروبی روده پس از ۹۰ روز غذادهی با جیره‌ی حاوی ایمونـوژن انجام گرفت. برای نمونه‌گیری ابتدا ۲۴ سـاعت قبل از نمونه‌برداری تغذیه ماهیان قطع شـد. ماهی‌ها با وارد نمودن ضربه به سر آسان‌کشـی شدند و کالبدگشایی با رعایت شـرایط استریل انجام گرفت. روده در حـد فاصل بعد از مری و ۰/۵ سـانتی‌متر مانـده به مخرج قطع شـده، محتویات روده‌ای با مالش ملایم تیغ اسکالپل خارج گردید. سپس این محتویات در ۹ میلی‌لیتر از سـرم فیزیولوژی ۹ در هزار رقیق گردید

www.SID.ir

Archive of SID

(یک گرم محتویات روده در ۹ میلی لیتر سرم فیزیولوژی). از نمونه فوق رقت‌های متوالی تهیه (از ۱۰۲ تا ۱۰۵) و پس از کشت سطحی در محیط کشت MRS Agar به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۰-۲۸ درجه سانتیگراد انکوباسیون شدند. پس از انکوباسیون، کلنی‌ها شمارش شده و تعداد کل کلنی‌ها با احتساب رقت مورد استفاده مشخص گردید (Zhou و همکاران ,۲۰۰۷).

آزمایش ترکیبات شیمیایی لاشه
اندازه‌گیری پروتئین خام

برای این کار از روش Kjehldal مطابق با AOAC ۱۹۹۰ و از دستگاه اتوکجلدال ساخت کشور سوئد (Kjeltec Auto Analyser Unit) Sweden BUCHI ۳۷۰۰ K استفاده شد و طی آن پس از سه مرتبه انجام مراحل هضم، تقطیر و تیتراسیون بر روی نمونه‌ها، با استفاده از فرمول، درصد نیتروژن نمونه‌های هر تکرار مشخص گردید و با ضرب نمودن آن در عدد ۶/۲۵، درصد پروتئین خام محاسبه گردید.

اندازه گیری چربی

برای این کار مطابق با روش مرسوم AOAC ۱۹۹۰، با استفاده از وسیله دستگاه سوکسله اتوماتیک ساخت کشور سوئد صورت گرفت و پس از استخراج چربی‌ها از نمونه توسط حلال، با کم کردن وزن ثانویه از وزن اولیه نمونه، میزان چربی بدست آمد و با نسبت‌گیری درصد آن مشخص شد:

درصد وزن چربی خام = (وزن نمونه / چربی استخراجی) × ۱۰۰

اندازه گیری خاکستر

خاکستر نمونه‌ها از روش AOAC ۱۹۹۰ و با استفاده از کوره الکتریکی اندازه‌گیری شد. برای این منظور نمونه‌ها برای مدت ۴ ساعت در دستگاه کوره کربولیت آلمانی در دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. وزن نمونه خاکستری رنگ باقی مانده نمایان‌گر میزان خاکستر نمونه‌ها بود و با نسبت‌گیری آن‌ها درصد این ماده در نمونه‌ها محاسبه گردید:

درصد وزن خاکستر = (وزن نمونه / وزن خاکستر) × ۱۰۰

اندازه‌گیری رطوبت خام

با استفاده از روش AOAC ۱۹۹۰ استفاده شد و مطابق آن تعداد سه تکرار از نمونه‌های هر تیمار به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد در آون قرار داده شد و مطابق فرمول زیر درصد رطوبت آن محاسبه گردید:

درصد رطوبت = وزن اولیه نمونه) – (وزن ثانویه نمونه / وزن اولیه نمونه ×۱۰۰

روش‌ها و ابزار تجزیه و تحلیل داده‌ها

تأثیر پری‌بیوتیک بر فاکتورهای مورد بررسی بین ۴ تیمار پس از هموژن کردن داده‌ها از طریق آزمون لون (Leven) و بررسی نرمالیته داده‌ها از روش (KS) توسط آنالیزواریانس یک طرفه آنووا (One way Anova) تجزیه و تحلیل گردید و معنی‌دار بودن تفاوت میانگین‌ها با ضریب اطمینان ۹۵٪ با استفاده از آزمون تکمیلی Duncan انجام شد. از نرم افزار آماری SPSS ویرایش ۱۶ برای آنالیز اطلاعات استفاده شد (Duncan, ۱۹۵۵).

نتایج

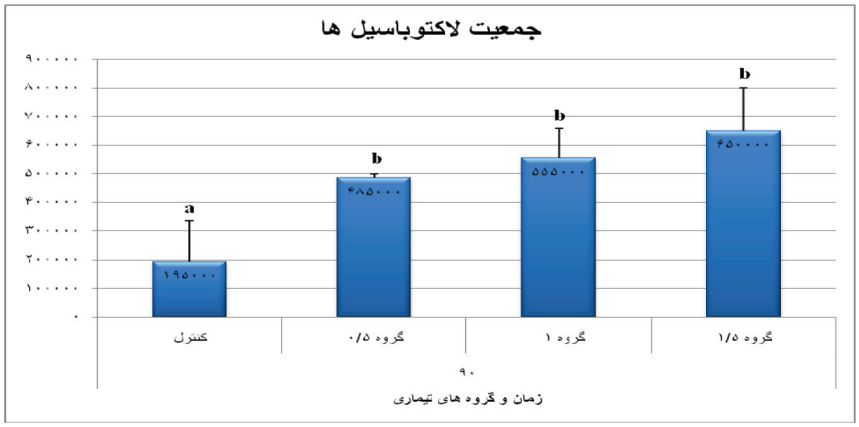
آزمایشات باکتریایی روده

نتایج حاصل از مقایسه کشت میکروبی دستگاه گوارش گروه‌های تغذیه شده با سطوح متفاوت ایمونوژن در انتهای دوره مطالعه، در نمودار زیر نشان داده شده است.

در بررسی تعداد لاکتوباسیلوس‌های سه تیمار تغذیه شده با سطوح مختلف پری‌بیوتیک ایمونوژن مشاهده شد که تعداد این باکتری‌ها در این گروه‌ها افزایش داشته به طوری‌که اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد داشتند ($p < ۰/۰۵$) ولی اختلاف معنی‌داری بین تیمارها ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد دیده نشد ($p > ۰/۰۵$). بررسی نتایج حاصل از آزمایشات باکتریایی در انتهای دوره پرورش ، نشان داد تیمار ۱/۵ (حاوی ۱/۵درصد پری بیوتیک) بهترین جایگزینی پروبیوتیکی را در طول دوره آزمایش در روده ماهیان داشته است.

درصد پروتئین خام لاشه

نتایج مربوط به درصد پروتئین خام لاشه درماهی شیربت تغذیه شده



نمودار ۱ -جمعیت لاکتوباسیل‌های دستگاه گوارش

www.SID.ir

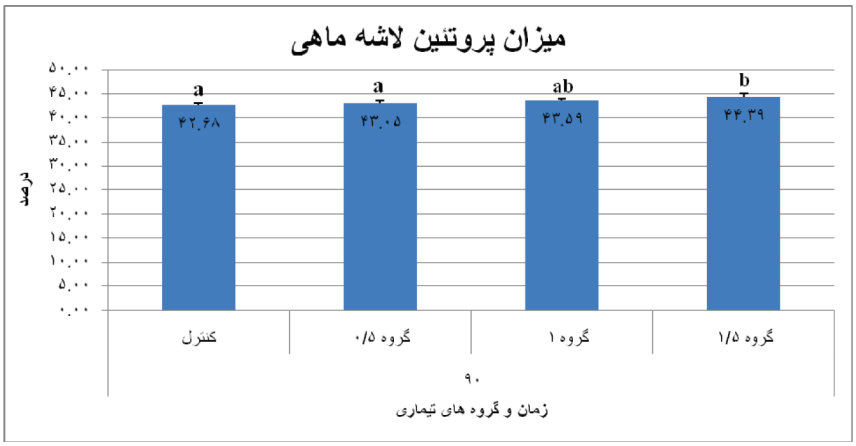
Archive of SID

با سطوح مختلف ایمونوژن در نمودار زیر نشان داده شده است.

همان‌طـور کـه از نمودار مشـخص اسـت در پروتئین لاشـه اختلاف معنـی‌داری در تیمـار ۱ و تیمـار ۰/۵ بـا گـروه کنترل مشـاهده نشـد ($p \geq ۰/۰۵$). ولی اختلاف معنی‌داری بین گروه تیماری ۱/۵ درصد با گروه کنترل و تیمار ۰/۵ مشاهده شد ($p < ۰/۰۵$). همچنین تیمار ۱/۵ درصد بیشترین میزان پروتئین لاشه را به خود اختصاص داد.

درصد چربی خام

نتایج مربوط به درصد چربی خام در ماهی شیربت تغذیه شده با سطوح مختلف ایمونوژن در شکل ۳ نشان داده شده است.



نمودار ۲- درصد پروتئین خام لاشه در تیمارهای تغذیه شده با غلظت های مختلف ایمونوژن

طبق این نمودار اختلاف معنی داری بین تیمارهای مختلف در سـطح چربی خام با تیمار کنترل دیده نمی شود ($p > ۰/۰۵$)، هرچند که تیمار ۱/۵ درصد نسبت به سایر تیمارها افزایش در میزان چربی داشت.

اندازه گیری رطوبت خام

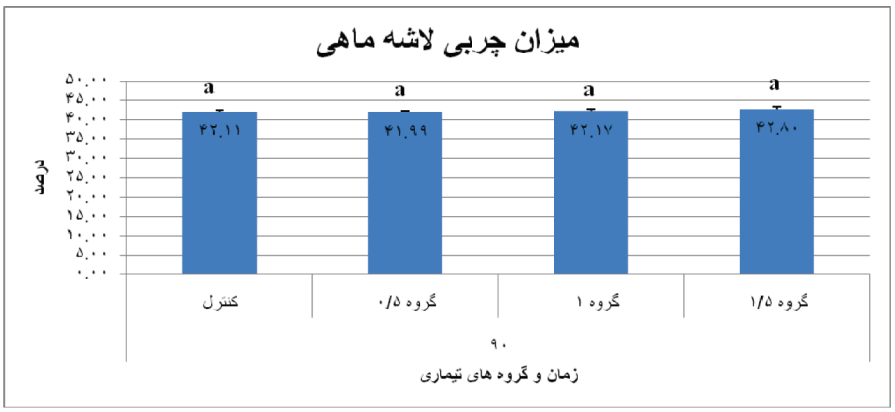
نتایج مربوط به اندازه‌گیری رطوبت خام در ماهی شیربت تغذیه شده با سطوح مختلف ایمونوژن در نمودار ۴ نشان داده شده است.

با توجه به نمودار باید گفت که درصد رطوبت خام بین سطوح مختلف ایمنوژن در ماهی اختلاف معنی‌داری نداشته است ($p \geq ۰/۰۵$).

اندازه‌گیری خاکستر

نتایج مربوط به اندازه گیری خاکسـتر درماهی شـیربت تغذیه شده با سطوح مختلف ایمونوژن در شکل ۵ نشان داده شده است.

همان‌طور که در نمودار مشـخص اسـت درصد خاکسـتر بین سطوح مختلف ایمونوژن اختلاف معنی‌داری نداشته است ($p \geq ۰/۰۵$).



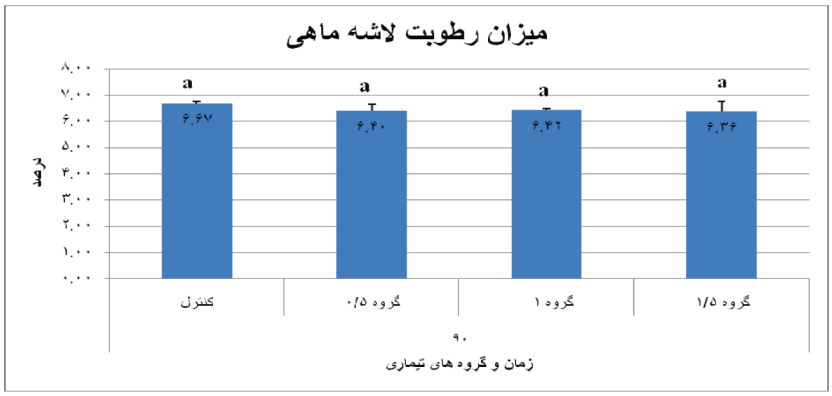
نمودار ۳- درصد چربی خام لاشه در تیمارهای تغذیه شده با غلظت های مختلف ایمونوژن

www.SID.ir

Archive of SID

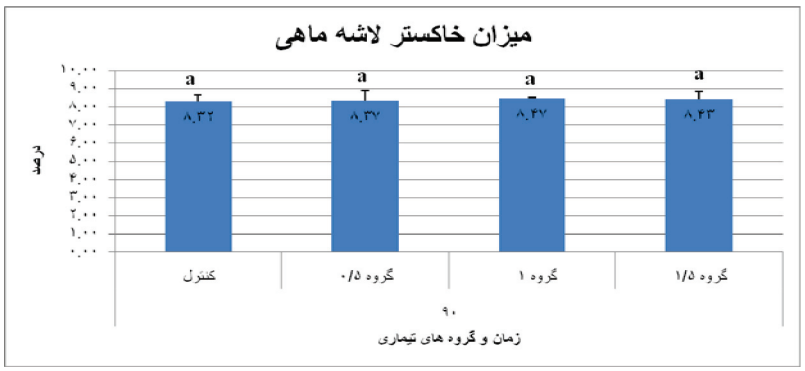
بحث و نتیجه گیری

امروزه استفاده از پری‌بیوتیک‌ها به عنوان یک ایده در دامپروری مطرح شده است. از آنجا که این ترکیبات غیرقابل هضم هستند، عقیده بر این است که از طریق بهبود فلور باکتریایی روده، اثرات زیان بار عوامل عفونت‌زا را کاهش داده و میزان بازماندگی در مواجهه با عوامل بیماری‌زا را افزایش می‌دهند. بکارگیری موثر پری بیوتیک‌ها در آبزیان نیازمند شناخت جمعیت و نوع میکروب های لوله گوارشی آبزیان می‌باشد. باکتری‌های بومی روده قادرند بطور گزینشی پری‌بیوتیک‌ها را تخمیر کنند. این



نمودار ۴- درصد رطوبت خام لاشه در تیمارهای تغذیه شده با غلظت های مختلف ایمونوژن

امر (تخمیر سوبستراهای موجود در روده) سبب افزایش انرژی و رشد باکتری‌های روده می‌شود که این مورد خود به معنی تقویت میکروفلور روده‌ای و ممانعت از تشکیل کلنی باکتری‌های بیماری‌زا می‌باشد. در مطالعه حاضر جمعیت لاکتوباسیل‌های روده ماهیان شیربت سه تیمار تغذیه شده با سطوح مختلف ایمونوژن اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد داشتند ($p < ۰/۰۵$) ولی اختلاف معنی‌داری بین تیمارها ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد دیده



نمودار ۵- مقایسه درصد خاکستر لاشه در تیمارهای تغذیه شده با غلظت های مختلف ایمونوژن

نشد ($p \geq ۰/۰۵$) هرچند که تیمار ۱/۵ درصد نسبت به سایر گروهها افزایش بیشتری نشان داد، می توان بیان نمود که احتمالاً افزایش فاصله غلظت‌ها می تواند سبب ایجاد تفاوت‌های معنی‌دار نیز گردد. بر طبق گزارشات متعدد، پری‌بیوتیک‌ها می‌توانند با تغییر جمعیت میکروبی روده سبب بالا بردن پاسخ ایمنی گردند (Bailey همکاران، ۱۹۹۱). تولید اسیدهای چرب کوتاه زنجیر نظیر استات، پروپیونات، بوتیرات و اسید لاکتیک ناشی از تخمیر پری‌بیوتیک، منجر به کاهش pH روده می شود که شرایط مناسب برای رشد باکتری های اسید لاکتیک را فراهم می‌کند (Schley و Field، ۲۰۰۲). در تحقیقی که بر روی تأثیر اینولین بر باکتری‌های هوازی مرتبط با روده خلفی در ماهی چار قطبی *Salvelinus alpinus* صورت پذیرفت مشخص گردید که جایگزین کردن مقادیر بالای اینولین (۱۵درصد جیره) به جای ۱۵ درصد دکسترین، سبب کاهش سطح جمعیت باکتریایی در روده از ۱۰۵ ۴/۸ به ۱۰۴ ۳/۵۶ می‌گردد. همچنین مشخص گردید که ماهیانی که از اینولین تغذیه کرده بودند فلور باکتریایی غالب روده خلفی آن‌ها را غالباً

www.SID.ir

Archive of SID

باکتری‌های گرم مثبت جنس استافلوکوکوس، باسیلوس، استرپتوکوکوس و کارنوباکتریوم تشکیل می‌داد (Ringo و همکاران ۲۰۰۶). در تحقیقی که Mahious و همکاران ,۲۰۰۶، بر روی لاروهای ماهی توربوت *(Psetta maxima)* انجام دادند نشان داده شد که مکمل‌سازی جیره با ۲ درصد اینولین به طور معنی‌داری میکروفلور لوله گوارش توربوت را تغییر می‌دهد بطوری که گونه‌های Bacillus sp تا ۱۴درصد فلور روده را در ماهیان تغذیه شده با اینولین تشکیل داده و همچنین گونه‌های *Vibrio* به مقدار قابل توجهی کاهش یافته بودند. به علاوه لاروهای توربوت که به میزان ۲ درصد جیره از اولیگوفروکتوز تغذیه کرده بودند به طور معنی‌داری از نرخ رشد بالاتری نسبت به ماهیانی برخوردار بودند که از جیره‌ای تغذیه شده بودند که حاوی ۲ درصد اینولین، ۲ درصد لاکتوسروز یا ۲ درصد سلولز بود. نتایج بدست آمده از کشت میکروبی روده قزل آلا در تحقیقی Shei-holeslami و همکاران ,۲۰۰۷ نشان دادند که به هنگام استفاده از اینولین شمار فلور هوازی و بی هوازی افزایش می‌یابد که این تغییر در اینولین ۲ درصد بیشتر از اینولین ۰/۵ درصد می‌باشد. فلور باکتری های بی‌هوازی در دستگاه گوارش ماهی قزل آلا نسبت به باکتری‌های هوازی با ضریب بیشتر از ۱۰۶ وجود داشته است. به نظر می‌رسد که اضافه نمودن اینولین به جیره غذایی بچه ماهی (به عنوان پری‌بیوتیک) جمعیت فلور باکتریایی را افزایش داده و این کار با مکانیسم‌های مختلف از جمله متعادل نمودن فلور دائم دستگاه گوارش، تقویت تولید متابولیت‌های مختلف که خود باعث تقویت فلور می‌شوند (نظیر ویتامین ها) و کمک به جذب بهتر مواد غذایی دریافتی انجام می‌گردد. بررسی نتایج حاصل از آزمایشات باکتریایی در انتهای دوره پرورش تحقیق حاضر نشان داد تیمار ۴ (حاوی ۱/۵ درصد پری‌بیوتیک ایمونوژن) بهترین جایگزینی پروبیوتیکی را در طول دوره آزمایش در روده ماهیان داشته است. در مطالعه‌ای تأثیر مخرب اینولین بر روی ماهی چار قطبی *Salvelinus alpinus* گزارش شده است. بر اساس نتایج این تحقیق اضافه شدن مقادیر بالای اینولین (به میزان ۱۵درصد جیره) اثر تخریب کننده‌ای بر روی انتروسیت‌های ماهی داشت.

تشکیل یک کلنی غالب از باکتری های لاکتوباسیلوس در بچه ماهیان در مطالعه Ringo و Gatesoupe، ۱۹۹۸ گزارش شده است. توجیه احتمالی این امر می‌تواند به این دلیل باشد که باکتری‌های مورد استفاده در تحقیق پس از ورود به دستگاه گوارش و گذراندن مراحل رشد تصاعدی و رسیدن به مرحله سکون به یک سطح ثابت و تعادل در زمان نمونه‌برداری رسیدند در نتیجه تفاوت معنی‌داری از نظر تعداد لاکتوباسیل‌ها در روده بچه ماهیان کپور معمولی مشاهده نشد. البته این نتایج با مطالعه حاضر همخوانی ندارند.

در تحقیق حاضر پس از آنالیز پروتئین لاشه مشخص شد که تیمار ۱/۵ درصد ایمونوژن نسبت به تیمار شاهد افزایش معنی‌داری داشته است ($p < ۰/۰۵$). اما درصد چربی و خاکستر و رطوبت نسبت به تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری نشان ندادند ($p > ۰/۰۵$). Gatlin و همکاران ,۲۰۰۶ آزمایشی را با استفاده از فرکتوالیگوساکارید و گالاکتوالیگوساکارید بر روی ترکیبات بدن ماهی سالمون انجام دادند که نتایج آن افزایش معنی‌دار درصد پروتئین را به اثبات رساند که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد. در تحقیق Ojifar و همکاران ,۲۰۰۸ جایگزین اینولین ۲ درصد با سلولز جیره شاهد در ترکیب غذایی میگو وانامی اختلاف معنی‌داری در میزان چربی و پروتئین لاشه در مقایسه با گروه شاهد مشاهده نگردید. در مطالعه تغییرات ترکیبات لاشه بچه ماهیان قزل آلای تغذیه شده با سطوح مختلف سین‌بیوتیک، درصد پروتئین در همه‌ی تیمارهای آزمایشی نسبت به تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری نشان داد ولی درصد چربی و درصد رطوبت نسبت به تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری نداشت که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد در حالی که برخلاف تحقیق حاضر اختلاف معنی دار درصد خاکستر در همه‌ی تیمارها نسبت به تیمار شاهد مشاهده نمودند (Heydari و همکاران ,۲۰۱۰).

به عنوان نتیجه‌گیری کلی تجویز این پری‌بیوتیک تأثیر معنی‌داری بر میزان پروتئین لاشه داشته، ولی سایر اجزای لاشه را تحت تأثیر قرار نداد که می‌تواند به علت بالاتر بودن بازده پروتئینی و ابقاء پروتئین در این گروه باشد. در مجموع نتایج مطالعه حاضر حاکی از آن است که استفاده از پری‌بیوتیک ایمنوژن قابلیت تأثیرگذار بر افزایش جمعیت باکتری‌های تولید کننده اسید لاکتیک و ترکیبات لاشه در بچه ماهیان شیربت را دارد که این تأثیرات در سطح ۱/۵ درصد واضح تر می باشند.

پاورقی ها

1- Crude Protein
2 - Crude Lipid
3 - Crude Humidity
4 - Exponential phase
5 - Stagnant phase

منابع مورد استفاده

1- Association of Official Analytical Chemists (AOAC). (1990). Official methods of analysis of the association of official analytical chemists. 15th ed. Washington DC. USA.

2- Bailey, J., Blankenship, L. and Cox N. (1991). Effect of fructooligosaccharide on Salmonella colonization of the chicken intestine. Poult Sci. 70:2433-2438.

3- Burr, G., Hume, M., Neill, W. H. and Gatlin, D. M. (2008). Effects of prebiotics on nutrient digestibility of a soybean-meal-based diet by red drum Sciaenops ocellatus(Linnaeus). Aquaculture Research. 39:1680-1686.

4- Jenkins, D. J., Kendall, C. W. and Vuksan, V. (1999). Inuline, Oligofructose and Intestinal Function . J Nutr . 129:1431-1433.

5- Duncan, D. B. (1955). Multiple-range and multiple F tests. Biometrics 11, 1– 42.

6- Gatlin, D. M., Li, P., Wang, X., Burr, G. S., Castille, F. and Lawrence, A. L. (2006). Potential aplication of prebiotics in aquaculture, 8th International simposium on aquaculture nutrition, 371-376.

7- Heydari, M., Faridbakhsh, F., Mehrabi, Z. and Jafarpour, A. (2010). Effect of different levels sin biotic on performance and car-

www.SID.ir

Archive of SID

cass characteristics of juveniles finger length of rainbow trout, 4th congress of Animal science, university of Tehran.

8- Hoseinifar S.H., Mirvaghefi A., Mojazi Amiri B., Khoshbavar-Rostami, H. and Merrifield D. 2010 . The effects of oligofructose on growth performance, survival, intestinal microbiota and liver histology of endangered great sturgeon (*Huso huso*) juvenile. Aquaculture Nutrition. 5:498-504.

9- Irianto, A. and B. Austin. (2002). Probiotics in aquaculture. Journal of Fish Diseases. 25:633-642.

10- Jafarzadeh, A., Soudagar, M., Aslanparviz, h. and Heydari, M. (2010). The Effect of the Commercial Prebiotic Immunogen_ on Growth Performance, Survival, Blood Indices and Intestinal Bacterial Flora of Persian Sturgeon *Acipenser persicus*. MSc thesis, Gorgan University, Gorgan, Iran (in Persian).

11- Kim, J. D. and Kaushik, S. J. (1992). Contribution of digestible energy from carbohydrate and estimation of protein / energy requirements for growth of rainbow trout. Aquaculture. 106:161-169.

12- Mahious, A. S. and Ollevier, F. (2005). Probiotic and Prebiotics in Aquaculture: Review. P 17-26.1.st Regional Workshop on Techniques for Enrichment of Live Food for Use in Larviculture (Uremia, Iran).

13- Mahious, A. S., Gatesoupe, F. J., Hervi, M., Metailler, R. and Ollevier, F. (2005). Effect of dietary inulin and oligosaccharides as prebiotics for weaning turbot, *Psetta maxima*. Aquaculture International. 14:219-229.

14- Ojifar, A., Abedin-Kenari, A. M., Nafisi-Bahabadi, M. and Abbaszadeh, A. (2008). The effect of dietary inulin on body fatty acid composition of pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). The First National Conference on Fisheries Sciences & Aquatic Organisms, Lahijan, Iran. (in Persian). 13-15.

15- Panigrahi, A., Kiron, V., Satoh, S., Hirono, I., Kobayashi, T., Sugita, H., Puangkaew J. And Aoki, T. (2007). Immune modulation and expression of cytokine genes in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* upon probiotic feeding. Fish and Shellfish Immunology. 31:372-382.

16- Ringo, E. and Gatesoupe, F. J. (1998). Lactic acid bacteria in fish: a review. Aquaculture. 160:177-203.

17- Ringo, E. and Birkbeck,T. H. (1999). Intestinal micro flora of fish larvae and fry. Aquaculture. 30: 73-93.

18- Ringo, E., Sperstad, S., Myklebust, R., Mayhew, T. M. and Olsen, R. E. (2006). The effect of dietary inulin on aerobic bacteria associated with hindgut of Arctic charr (*Salvelinus alpinus*). Aquaculture Research. 37:891- 897.

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

20- Schley, P. D. and Field, C. J. (2002). The immune-enhancing effects of dietary fibers and prebiotics. British Journal Nutrition. 87:221-230.

21- Sheikholeslami, M., Yusefian, M., Yavari, V., Mohamadian, T., Abhari, H. and Goran, H. (2007). Modulation of rainbow trout immune system and enhance resistance against streptococosis using dietary Inulin, The first national conference on Caspian Sea fisheries resources. Gorgan, Iran: Gorgan University.

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

23- Sudagar, M., Imanpoor, M., and Hoseinifar, S. H. (2004). Effect of optimum (Ascogen or Vannagen) growth stimulant supplementation on the growth and survival rate of grand beluga juvenile (*Huso huso*). Iranian Journal of Marine Science. 3:33-38.

24- Torrecillas, S., Makol, A., Caballero, M. J., Montero, 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. Journal of Fish & Shellfish Immunology. 23:981-969.

25- Zaccorate, I. Gasco, L. Sicuro, B. Palmegiano, G. B. and Luzzana, U. (1996). Use of by-product frpm poultry slaughtering in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Rivista Italiana diaquacoltura. 31:145-156.

26- Zhou, Z., Shi, P., Yao, B., He, S. and Su, Y. (2007). Comparison of the predominant bacterial community structure in the gastrointestinal wall between Lutjanus sebae and Ephippus orbis based on 16S rDNA PCR-DGGE fingerprint. Acta Hydrobiol. Sin. 31: 78-84.

www.SID.ir