



## اثر پری بیوتیک فروکتوالیگوساکارید جیره بر رشد و تراکم لاکتوباسیلوس روده در بچه ماهی ازون برون (*Acipenser stellatus*)

یوسف ایری<sup>۱\*</sup>، حسینعلی خوشباور رستمی<sup>۲</sup> و رضا اکرمی<sup>۳</sup>

۱- کارشناس ارشد شیلات، مرکز تحقیقات ذخایر آبزیان آب‌های داخلی، ایستگاه تحقیقاتی قره سو، بندر ترکمن

۲- استادیار پژوهشی، مرکز تحقیقات ذخایر آبزیان آب‌های داخلی، گرگان

۳- استادیار گروه شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد آزادشهر، آزادشهر

پذیرش: ۱۳۹۱/۰۸/۲۹

دریافت: ۱۳۹۱/۰۵/۲۱

\* نویسنده مسئول مقاله: صندوق پستی: ۱۳۹، Email: Yousef\_er47@yahoo.com

### چکیده

هدف از این مطالعه بررسی اثر پری بیوتیک فروکتوالیگوساکارید بر رشد و تراکم باکتری‌های لاکتوباسیلوس در روده بچه ماهی ازون برون (*Acipenser stellatus*) بود. برای این منظور تعداد ۹۰ قطعه بچه ماهی ازون برون (در هر تکرار ۱۰ قطعه) با میانگین وزن  $0/14 \pm 30/16$  گرم از مؤسسه بین المللی تحقیقات ماهیان خاویاری تهیه و با استفاده از طرح کاملاً تصادفی در ۳ تیمار و ۳ تکرار در حوضچه‌های فایبرگلاس ذخیره سازی شدند. بچه ماهیان به مدت ۱۱ هفته با جیره‌های حاوی سطوح ۰ و ۱ و ۲ درصد فروکتوالیگوساکارید (۹۵ Raftilose p) (شرکت سیگما) تغذیه شدند. نتایج در این تحقیق نشان داد سطح ۱ درصد فروکتوالیگوساکارید بر عوامل افزایش وزن، میزان رشد ویژه، ضریب تبدیل غذایی، کارایی غذا، نسبت کارایی پروتئین و شاخص کبدی تأثیر معناداری داشته است ( $P < 0/05$ ). تعداد کلنی باکتری‌های لاکتوباسیلوس در سطح ۱ درصد افزایش معناداری در مقایسه با شاهد داشت ( $P < 0/05$ ). در جمع بندی نهایی، پری بیوتیک فروکتوالیگوساکارید قابلیت تأثیرگذاری به نسبت خوبی بر افزایش عملکرد رشد و کارایی تغذیه در بچه ماهی ازون برون دارد و سطح ۱ درصد فروکتوالیگوساکارید در جیره می‌تواند آثار مثبتی بر معیارهای رشد و تراکم باکتری‌های لاکتوباسیلوس در روده داشته باشد.

کلید واژگان: پری بیوتیک فروکتوالیگوساکارید، رشد، لاکتوباسیلوس، ازون برون.

## مقدمه

شده است که از جمله این ترکیبات می‌توان به پری‌بیوتیک اشاره کرد. مطالعات انجام شده درباره آثار پری‌بیوتیک فروکتولیگوساکارید (FOS) در لارو ماهی کفشک (*Psetta maxima*) (Mahious et al., 2005)، میگو (*Litopenaus vannamei*) (Li et al., 2008; Zhou et al., 2009)، آزاد ماهی آتلانتیک (*Salmo salar*) (Grisdale-Helland et al., 2008)، گربه ماهی آفریقایی (*Clarias gripinus*) (Mahious et al., 2005)، تاس ماهی سیبری (*Acipenser baeri*) (Mahious et al., 1998) و هیبرید تیلپیا (*Hybrid tilapia*) (Zhou et al., 2007) و فیل ماهی (*Huso huso*) (Hosseinfar, 2009) نشان داده است که فروکتولیگوساکارید (FOS) تأثیر مفیدی بر میزان دارد و باعث افزایش رشد، توازن میکروفلور روده و افزایش ایمنی می‌شود. بنابراین با هدف بالابردن ایمنی و کارایی غذا و افزایش بازماندگی ماهی، تحقیق مذکور با به‌کارگیری پری‌بیوتیک فروکتولیگوساکارید در جیره با سطوح متفاوت انجام شد.

## مواد و روش‌ها

این تحقیق به مدت ۱۱ هفته در اوایل بهار سال ۱۳۹۰ در ایستگاه تحقیقات شیلاتی قره‌سو وابسته به مؤسسه تحقیقات شیلات ایران در مجاورت ساحل دریای خزر در ناحیه جنوب شرق خلیج گرگان در فاصله ۵ کیلومتری شهرستان بندر ترکمن (استان گلستان) انجام شد. پس از دو هفته سازگاری بچه‌ماهیان با غذای دستی مورد استفاده (کنستانتتره با اندازه ۱/۹ میلی‌متر) با محتویات غذایی شامل پودر ماهی، دانه‌های روغنی، نخود فرنگی، روغن ماهی، گلو تن ذرت، روغن گیاهی، ویتامین‌ها، مواد معدنی و آنالیز تقریبی جیره پروتئین ۴۸ درصد و چربی ۲۲ درصد خاکستر ۸/۲ درصد، انرژی ناخالص (mj/Kg) ۲۲ و انرژی

ماهی ازون‌برون (*Acipenser Stellatus*) یکی از با ارزش‌ترین ماهیان خاویاری دریای خزر است که به دلیل زودرس بودن بلوغ جنسی، از لحاظ استحصال خاویار ارزشمند است و می‌تواند به‌عنوان یکی از آبزیان پرورشی سودآور از اهمیت بالایی برخوردار باشد. پس از مشخص شدن رابطه بین سلامتی و توازن باکتریایی روده، ایده‌ای با عنوان پروبیوتیک مطرح شد که هدف از آن تغییر بالانس باکتریایی روده به سمت باکتری‌های بالقوه مفید بود (kolida et al., 2002). به دنبال شناسایی باکتری‌های اسید لاکتیک در فلور باکتریایی روده ماهی و میگو در دهه اخیر و مشخص شدن نقش آن‌ها در سلامتی و رشد میزبان، اهمیت آن‌ها بیش از پیش مشخص شد و ایده‌ای به‌نام پری‌بیوتیک شکل گرفت (Mahious et al., 2005; Gibson et al., 2006). استفاده از پری‌بیوتیک‌ها به دلیل تخمیر گزینشی به‌وسیله باکتری‌های مفید روده‌ای، سبب افزایش تعداد و غالبیت آنها می‌شود (Roberfroid, 2007). در میان الیگوساکاریدهای غیرقابل هضم، اینولین و فروکتولیگوساکارید پری‌بیوتیک‌های شناخته شده‌ای هستند که آثار مفید آن‌ها به اثبات رسیده است. این مواد به صورت گزینشی به‌وسیله باکتری‌های مفید روده‌ای از جمله بیفیدوباکتری‌ها و لاکتوباسیلوس تخمیر شده، سبب تحریک رشد این باکتری‌های مفید در روده می‌شوند (Gibson, 1998). پری‌بیوتیک‌ها عناصر غذایی غیرقابل هضمی‌اند که از طریق تحریک رشد یا فعال کردن یک یا تعداد محدودی از گونه‌های باکتریایی که در روده وجود دارند، آثار سودمندی بر میزبان دارند و سلامتی آن را بهبود می‌بخشند (Gibson et al., 2006). در سال‌های اخیر تحقیقات فراوانی روی ترکیبات و مکمل‌های غذایی که در بالابردن سلامت موجود و کارایی تغذیه نقش دارند، انجام

(Akrami, 2008; Hosseinifae, 2009). بچه ماهیان روزانه ۳ بار و براساس ۰/۴٪ وزن بدن تغذیه می شدند.

#### بررسی شاخص های رشد

زیست سنجی بچه ماهیان طی دوره بررسی که به مدت ۷۶ روز بود به صورت هر ۱۵ روز یک بار انجام گرفت. برای اندازه گیری وزن از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ گرم و برای اندازه گیری طول با تخته زیست سنجی با دقت ۱ میلی متر استفاده شد. ارزیابی روند رشد و شاخص های رشد (افزایش وزن، میزان رشد ویژه، عامل وضعیت و غیره) براساس منابع موجود با استفاده از معادلات ریاضی محاسبه شدند (Akrami, 2008; Bekcan et al., 2006).

#### بررسی تراکم لاکتوباسیلوس روده

به منظور ارزیابی قابلیت تشکیل کلنی و تثبیت لاکتوباسیلوسها در روده ازون برون تغذیه شده با سطوح مختلف پری بیوتیک فروکتوالیگوساکارید در ابتدا و انتهای دوره آزمایش، به طور تصادفی نمونه برداری انجام شد. برای این کار ابتدا ۴۸ ساعت قبل از نمونه برداری تغذیه ماهیان قطع شد و در ادامه از هر تکرار ۱ عدد ماهی انتخاب و به صورت زنده به آزمایشگاه منتقل گردید. سپس نسبت به تهیه محلول با رفتهای سریالی در دامنه  $10^{-1}$  تا  $10^{-6}$  اقدام شد (Akrami, 2008; Hosseinifar, 2009; Makridis et al., 2001) که در ادامه به وسیله نمونه بردار در شرایط استریل، حجمی معادل ۰/۱ میلی متر برداشته شد و به پلیت حاوی محیط کشت PCA و MRS (DeMan, Rogosa and Sharpe) منتقل و در سطح آن پخش گردید (Mahious et al., 2005; Rengpipat et al., 1998). پس از انجام کشت باکتریایی، پلیت های مذکور به مدت ۵ شبانه روز در دمای  $37^{\circ}\text{C}$  در داخل انکوباتور Binder قرار داده شد و در پایان، شمارش

قابل هضم ( $\text{mj/Kg}$ ) ۱۸/۳ بود. تعداد ۹۰ قطعه بچه ماهی ازون برون با میانگین وزن  $30/16 \pm 0/14$  گرم از مؤسسه بین المللی ماهیان خاویاری تهیه شد و در ۹ حوضچه (۲۰۰۰ لیتری) که با ۱۰۰۰ لیتر آب پر شده بود، با تراکم ۱۰ قطعه در هر حوضچه ذخیره سازی شدند. برای تأمین نیاز اکسیژنی علاوه بر جریانداربودن آب از سیستم هوادهی نیز استفاده گردید. این تحقیق با استفاده از طرح کاملاً تصادفی در ۳ تیمار و ۳ تکرار طراحی شد. پری بیوتیک مورد استفاده در این آزمایش فروکتوالیگوساکارید (رافتیلوز p۹۵ شرکت سیگما) می باشد که جزء فروکتان های خطی ( $\beta$ -۲ → ۱) است و در قوطی ۵۰ گرمی بسته بندی شده است.

#### نحوه افزودن پری بیوتیک به جیره مصرفی

غذای ماهی در این تحقیق از کنستانتره بیومار شرکت سبلان متناسب با اندازه دهان بچه ماهی به اندازه ۱/۹ میلی متر تهیه شد. به منظور تهیه جیره های آزمایشی سطوح صفر (شاهد)، ۱ و ۲ درصد پری بیوتیک فروکتوالیگوساکارید در نظر گرفته شد. پس از آرد کردن غذا به ازای هر کیلوگرم غذای مذکور، مقادیر مورد نظر فروکتوالیگوساکارید به آن اضافه گردید. سپس جیره تهیه شده به طور کامل با استفاده از دستگاه همزن برقی به مدت ۱۵ دقیقه با پری بیوتیک مخلوط شد. در ادامه به مخلوط حاصل آب اضافه شد تا به حالت خمیری درآید (Akrami, 2008). پس از آن خمیر حاصل با استفاده از چرخ گوشت به رشته هایی به قطر ۲ میلی متر تبدیل شد. رشته های خمیری در معرض جریان هوای اتاق قرار داده شد تا خشک شود. پس از خشک شدن پلت ها شکسته شدند تا به اندازه مناسب درآیند. پس از آن غذا به صورت پلت در ظروف پلاستیکی بسته بندی و در یخچال در دمای  $4^{\circ}\text{C}$  نگهداری شد

نسبت به شاهد دارای اختلاف معناداری بودند ( $P < 0/05$ ). همچنین بررسی روند تغییرات وزنی با استفاده از زیست‌سنجی‌های منظم نشان داد که همواره ماهیان تغذیه شده با فروکتوالیگوساکارید ۱ درصد وضعیت بهتری از لحاظ شاخص‌های رشد داشتند. طول بدن بچه‌ماهیان تغذیه شده با سطوح مختلف فروکتوالیگوساکارید (۱ و ۲ درصد) نسبت به شاهد اختلاف معناداری داشت ( $P < 0/05$ ), اما بین تیمار ۱ درصد و تیمار ۲ درصد اختلاف معناداری مشاهده نگردید. میزان رشد ویژه در تیمارهای ۱ و ۲ درصد نسبت به شاهد افزایش معناداری نشان داد ( $P < 0/05$ ). کمترین مقدار میزان رشد ویژه مربوط به شاهد معادل ۰/۵۶ بود و بیشترین مقدار در تیمار ۱ درصد معادل ۱/۲۸ مشاهده گردید. سطوح مختلف پری‌بیوتیک فروکتوالیگوساکارید، میانگین رشد روزانه وزن بچه‌ماهیان ازون‌برون را در تیمارهای آزمایشی نسبت به شاهد افزایش داد. به طوری که در تیمار ۱ و ۲ درصد فروکتوالیگوساکارید افزایش معناداری نسبت به شاهد نشان داد ( $P < 0/05$ ). بچه‌ماهیان تغذیه شده با سطوح مختلف پری‌بیوتیک فروکتوالیگوساکارید نسبت به گروه شاهد از سرعت رشد وزنی بیشتری برخوردار بودند. این افزایش سرعت رشد در تیمارهای ۱ و ۲ درصد نسبت به شاهد از اختلاف معنادار برخوردار بود ( $P < 0/05$ ). اما در سرعت رشد طولی هیچگونه اختلاف معناداری در بین تیمارها و شاهد مشاهده نگردید ( $P > 0/05$ ). تولید خالص ماهی در تیمارهای ۱ و ۲ درصد نسبت به شاهد دارای اختلاف معنادار بود ( $P < 0/05$ ) و بیشترین مقدار این شاخص در تیمار ۱ درصد فروکتوالیگوساکارید مشاهده گردید. همچنین عامل وضعیت یا ضریب چاقی در بین تیمارهای آزمایشی در مقایسه با گروه شاهد اختلاف معناداری نشان نداد ( $P > 0/05$ ).

کلنی‌های تشکیل شده براساس لگاریتم واحد کلنی (عکس ضریب رقت × تعداد کلنی حاصله = CFU) محاسبه گردید (Peter et al., 1986).

با توجه به اهمیت عوامل آب بر سلامتی بچه‌ماهیان علاوه بر نظافت محل نگهداری برای کنترل کمی و کیفی آب، اندازه‌گیری دما با استفاده از دماسنج جیوه‌ای، اکسیژن محلول با استفاده اکسی متر (WTW) مدل ox320/set، اسیدیته آب با استفاده از pH متر مدل -B/set1- و هدایت الکتریکی آب با استفاده از EC سنج ۳۲۲۳wtw و هدایت الکتریکی آب با استفاده از EC سنج مدل Cond ۳۳۰i/set wtw به صورت روزانه انجام و ثبت شد. میانگین مقدار اکسیژن (mg/l) ۶/۶۶، pH ۸/۰۵، دمای آب ۲۲/۴۱°C، دمای هوا ۲۸/۸۶°C، EC (ms/cm) ۴/۹۸ به دست آمد. برای مقایسه بین تیمارها در سطح احتمال ( $P < 0/05$ ) از آنالیز واریانس یک طرفه ANOVA و آزمون چند دامنه‌ای دانکن استفاده گردید. تمام آنالیزهای آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS (ویرایش پانزدهم) و ترسیم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار ۲۰۰۷ اکسل در محیط ویندوز انجام شد.

## نتایج

### عوامل رشد

آثار سطوح مختلف فروکتوالیگوساکارید بر عوامل رشد بچه‌ماهی ازون‌برون در جدول (۱) ارائه شده است. نتایج این مطالعه نشان داد افزودن سطوح مختلف پری‌بیوتیک فروکتوالیگوساکارید به جیره بچه‌ماهیان ازون‌برون اثر معناداری بر برخی عوامل رشد دارد ( $P < 0/05$ ). از لحاظ وزنی بچه‌ماهیان تغذیه شده با سطوح ۱ درصد نسبت به تیمار ۲ درصد و شاهد اختلاف معنادار داشت. هرچند بچه‌ماهیان تغذیه شده با سطح ۲ درصد فروکتوالیگوساکارید نسبت به ۱ درصد در انتهای دوره وزن کمتری داشتند، اما

جدول ۱ مقایسه برخی شاخص های رشد به دست آمده در بچه ماهیان ازون برون تغذیه شده با سطوح مختلف پری بیوتیک فروکتوالیگوساکارید طی مدت ۷۶ روز

تیمار	شاهد	%۱ فروکتوالیگوساکارید	%۲ فروکتوالیگوساکارید
میانگین وزن ابتدای دوره (گرم)	۳۰/۱۸ ± ۰/۳۳	۳۰/۰۱ ± ۰/۳۴	۳۰/۲۹ ± ۰/۳۷
میانگین طول ابتدای دوره (سانتیمتر)	۲۳/۴۷ ± ۱/۱	۲۳/۰۸ ± ۰/۴۵	۲۳/۷۲ ± ۰/۷۵
میانگین وزن انتهایی دوره (گرم)	۴۹/۲۸ ± ۳/۲۳ <sup>a</sup>	۷۸/۳۹ ± ۶/۴ <sup>c</sup>	۶۵/۴۲ ± ۳/۶۲ <sup>b</sup>
میانگین طول انتهایی دوره (سانتیمتر)	۲۹/۸۹ ± ۰/۵۹ <sup>a</sup>	۳۳/۹۵ ± ۱/۱۹ <sup>b</sup>	۳۲/۹۹ ± ۰/۰۵ <sup>b</sup>
افزایش وزن بدن (گرم)	۱۹/۱ ± ۳/۵۴ <sup>a</sup>	۴۸/۳۸ ± ۶/۳۱ <sup>c</sup>	۳۵/۱۳ ± ۳/۶۶ <sup>b</sup>
درصد افزایش وزن بدن (درصد)	۶۳/۳۷ ± ۱۲/۴۴ <sup>a</sup>	۱۶۱/۱۳ ± ۲۰/۱۷ <sup>c</sup>	۱۱۶/۰۲ ± ۱۲/۳۹ <sup>b</sup>
میزان رشد ویژه (درصد)	۰/۵۶ ± ۰/۰۹ <sup>a</sup>	۱/۲۸ ± ۰/۰۸ <sup>c</sup>	۰/۹۷ ± ۰/۱۳ <sup>b</sup>
میانگین رشد روزانه (گرم ماهی در روز)	۰/۸۴ ± ۰/۱۶ <sup>a</sup>	۲/۱۲ ± ۰/۲۷ <sup>c</sup>	۱/۴۲ ± ۰/۲۹ <sup>b</sup>
سرعت رشد طولی (درصد)	۰/۳۲ ± ۰/۰۶	۰/۳۷ ± ۰/۲۲	۰/۴۳ ± ۰/۰۴
سرعت رشد وزنی (درصد)	۰/۶۳ ± ۰/۰۹ <sup>a</sup>	۱/۱۷ ± ۰/۰۸ <sup>c</sup>	۰/۹۶ ± ۰/۰۷ <sup>b</sup>
عامل وضعیت	۰/۱۹ ± ۰/۰۱ <sup>a</sup>	۰/۲ ± ۰/۰۱ <sup>a</sup>	۰/۱۸ ± ۰/۰۱ <sup>a</sup>
تولید خالص ماهی (گرم)	۱۸۳/۳ ± ۲۲/۷ <sup>a</sup>	۴۵۲/۹۳ ± ۷۸/۵ <sup>b</sup>	۲۹۲/۵۶ ± ۵۷ <sup>a</sup>

اعداد در هر ردیف با حروف متفاوت دارای اختلاف معنادارند (P < ۰/۰۵).

(Body Weight Increase) (BWI) - افزایش وزن بدن:  $BWI = W_t - W_i$

(Percent Body Weight Increase) (PBWI) - درصد افزایش وزن بدن:  $PBWI (\%) = (W_t - W_i / W_i) \times 100$

(Specific Growth Rate) (SGR) - ضریب (سرعت) رشد ویژه:  $SGR = (\ln W_t - \ln W_i / T) \times 100$

(Average daily growth) میانگین رشد روزانه =  $[W_t - W_i / W_i \times T] \times 100$

(Velocity of growth of body length) سرعت رشد طولی =  $[2(L_2 - L_1) / n(L_2 + L_1)] \times 100$

(Velocity of growth of body weight) سرعت رشد وزنی =  $[2(W_t - W_i) / n(W_t + W_i)] \times 100$

(Body weight gain) تولید خالص ماهی =  $(W_t - W_i) \times N$

(Condition Factor) (K) - ضریب چاقی =  $K = W_t / L^3$

## معیارهای تغذیه‌ای

نتایج آثار سطوح مختلف پری‌بیوتیک فروکتوالیگوساکارید بر معیارهای تغذیه‌ای بچه‌ماهیان ازون‌برون در جدول (۲) ارائه شده است. ضریب تبدیل غذایی در تیمارهای در نظر گرفته‌شده در مقایسه با شاهد اختلاف معناداری نشان داد ( $P < 0/05$ ). کمترین مقدار این شاخص معادل  $2/48 \pm 0/48$  مربوط به تیمار ۱ درصد فروکتوالیگوساکارید بود و بیشترین مقدار  $6/06 \pm 0/74$  در گروه شاهد به دست آمد. غذای خورده شده روزانه (درصد در روز) یکی از شاخص‌های کمی تبدیل غذا می‌باشد که نسبت به زمان در نظر گرفته می‌شود و در بین تیمارهای مورد آزمایش نسبت به شاهد اختلاف معناداری نشان نداد ( $P > 0/05$ ). در بررسی کارایی غذا در بین تیمارهای مورد آزمایش تیمار ۱ درصد فروکتوالیگوساکارید

اختلاف معناداری نسبت به شاهد نشان داد ( $P < 0/05$ ). همچنین نسبت کارایی پروتئین در تیمار ۱ درصد نسبت به شاهد دارای اختلاف معنادار بود ( $P < 0/05$ ). کمترین مقدار معادل  $4/3 \pm 34/72$  در گروه شاهد و بیشترین مقدار معادل  $14/87 \pm 85/78$  در تیمار ۱ درصد فروکتوالیگوساکارید مشاهده شد. شاخص کبدی که از نسبت وزن کبد به وزن بدن ماهی به دست می‌آید در بین تیمارها نسبت به شاهد اختلاف معناداری را نشان داد ( $P < 0/05$ ). بیشترین مقدار مربوط به گروه شاهد معادل  $2/29 \pm 0/01$  و کمترین مقدار این شاخص در تیمار ۲ درصد فروکتوالیگوساکارید جیره معادل  $2/05 \pm 0/46$  مشاهده شد.

جدول ۲ مقایسه برخی شاخص‌های تغذیه‌ای به دست آمده در بچه‌ماهیان ازون‌برون تغذیه شده با سطوح مختلف

پری‌بیوتیک فروکتوالیگوساکارید طی مدت ۷۶ روز

شاخص	تیمار	شاهد	٪۱	٪۲
ضریب تبدیل غذایی		$6/06 \pm 0/74^b$	$2/48 \pm 0/48^a$	$3/87 \pm 0/84^a$
کارایی غذا (درصد)		$16/66 \pm 2/06^a$	$41/18 \pm 7/14^b$	$26/6 \pm 5/18^a$
غذای خورده شده روزانه (درصد در روز)		$3/77 \pm 0/11$	$2/9 \pm 0/3$	$3/22 \pm 1/17$
نسبت کارایی پروتئین (گرم/گرم)		$3/62 \pm 0/67^a$	$9/16 \pm 1/2^c$	$6/65 \pm 0/69^b$
شاخص کبدی		$2/29 \pm 0/01^a$	$2/17 \pm 0/12^{ab}$	$2/05 \pm 0/46^b$

اعداد در هر ردیف با حروف متفاوت دارای اختلاف معنادارند ( $P < 0/05$ ).

(FCR) (Feed Conversion Ratio) - ضریب تبدیل غذایی:  $FCR = C / Wt - W_i$

(PER) (Protein Efficiency Ratio) - نسبت کارایی پروتئین:  $PER = \text{گرم اضافه وزن} / \text{گرم پروتئین مصرف شده}$

(درصد پروتئین × غذای مصرفی = پروتئین مصرفی)

زمان /  $^{1/5}$  (میانگین وزن اولیه به گرم × میانگین وزن نهایی به گرم) / (کل غذای خورده شده به ازای یک ماهی × ۱۰۰) = غذای خورده شده روزانه

Hepatosomatic Index (%) = liver wet weight × 100 / body wet weight

در معادلات بالا:

Wi: وزن اولیه ماهی (گرم)، Wt: وزن نهایی ماهی (گرم)،  
T: طول مدت پرورش (روز)، C: مقدار غذای خورده شده  
(گرم)، L<sub>1</sub>: طول اولیه ماهی (سانتیمتر)، L<sub>2</sub>: طول نهایی  
ماهی (سانتیمتر)، N: تعداد ماهی.

اختلاف معناداری بین تیمارهای مورد آزمایش در  
مقایسه با شاهد مشاهده گردید ( $P < 0/05$ ) (جدول ۳).

### تعداد لاکتوباسیلوس های روده

بررسی تعداد لاکتوباسیلوس ها در ابتدای دوره آزمایش  
معادل  $2/89 \pm 1/59$  (log CFU/gr) بود. در پایان دوره  
تعداد باکتری های جنس لاکتوباسیلوس در بچه ماهیان  
تغذیه شده با ۱ درصد فروکتوالیگوساکارید از  $1/59 \pm$   
 $2/89$  به  $6/22 \pm 1/25$  رسید که بیشترین میزان در مقایسه  
با تیمار ۲ درصد و شاهد بود و اختلاف معناداری را  
نسبت به شاهد و تیمار ۲ درصد نشان داد ( $P < 0/05$ ). با  
این حال تفاوت معناداری بین تیمار ۲ درصد نسبت به  
شاهد مشاهده نشد ( $P > 0/05$ ).

### تعداد کل باکتری های روده

در ابتدای دوره آزمایش تعداد کل باکتری های روده  
برحسب لگاریتم تعداد کلنی در گرم وزن روده  $2/08 \pm$   
 $4/89$  تعیین گردید. بچه ماهیان تغذیه شده با ۱ درصد  
فروکتوالیگوساکارید بیشترین میزان افزایش تعداد کل  
باکتری های روده را نسبت به تیمار ۲ درصد  
فروکتوالیگوساکارید و شاهد نشان دادند. به طوری که

جدول ۳ مقایسه میکروفلور باکتریایی روده بچه ماهیان ازون برون تغذیه شده با سطوح مختلف فروکتوالیگوساکارید

شاهد		فروکتوالیگوساکارید ۱٪	فروکتوالیگوساکارید ۲٪
ابتدای دوره	logCFU کل باکتری روده	$4/89 \pm 2/08$	$4/89 \pm 2/08$
	logCFU لاکتوباسیلوس های روده	$2/89 \pm 1/59$	$2/89 \pm 1/59$
انتهای دوره	logCFU کل باکتری روده	$5/51 \pm 0/02^a$	$6/76 \pm 0/26^b$
	logCFU لاکتوباسیلوس های روده	$3/31 \pm 0/35^a$	$6/22 \pm 1/25^b$

اعداد در هر ردیف با حروف متفاوت دارای اختلاف معنادارند ( $P < 0/05$ ).

### بحث

نتایج به دست آمده از تحقیق حاضر نشان می دهد که  
سطح ۱ درصد فروکتوالیگوساکارید منجر به افزایش  
معنادار وزن نسبت به شاهد و تیمار ۲ درصد شد. برخی  
محققان به تأثیر مثبت پری بیوتیک ها بر عملکرد رشد ارائه  
پی برده اند. طی مطالعه ای که روی لارو ماهی کفشک  
انجام دادند، ماهیان تغذیه شده با سطح ۲ درصد

فروکتوالیگوساکارید میانگین وزن نهایی بیشتری نسبت به  
سایر گروهها نشان دادند (Mahious et al., 2005).  
همچنین براساس گزارشی پری بیوتیک فروکتوالیگوساکارید  
و اینولین آثار مثبت معناداری بر عملکرد رشد و مصرف  
جیره تاسماهی سبیری (*Acipenser baeri*) و گربه ماهی  
آفریقایی (*Clarias gariepinus*) دارد (Mahious et al., 1998; Mahious et al., 2005).  
محققانی که تأثیر

همچنین براساس گزارش تحقیقی (Hosseinifar, 2009)، استفاده از سطوح مختلف فروکتوالیگوساکارید در جیره بچه فیل ماهی در مدت زمان استفاده شده سبب تغییر توازن باکتریایی میکروفلور روده به سمت باکتری‌های بالقوه مفید روده (لاکتوباسیلوس‌ها) شده است. یکی از دلایل این افزایش تعداد لاکتوباسیلوس‌ها پس از استفاده از پری‌بیوتیک فروکتوالیگوساکارید، تأمین مواد غذایی مورد نیاز این باکتری‌های مفید روده‌ای می‌باشد. لاکتوباسیلوس‌ها قادر نیستند آنزیم‌های تجزیه‌کننده خارج سلولی را تولید کنند. بنابراین آن‌ها برای رشد به میکروارگانیزم‌های دیگری وابسته می‌باشند تا بر مولکول‌های پیچیده عمل کرده و مواد غذایی خاصی را برای آنها فراهم کنند (Ringo et al., 1998). در مطالعه حاضر تعداد کل باکتری‌های میکروفلور روده پس از تغذیه با سطوح مختلف فروکتوالیگوساکارید اختلاف معناداری در بین تیمارها نسبت به شاهد نشان داد. به نظر می‌رسد افزودن فروکتوالیگوساکارید به جیره غذایی بچه‌ماهیان (به عنوان پری‌بیوتیک) جمعیت فلورباکتریایی را افزایش می‌دهد و این کار با مکانیسم‌های مختلف از جمله متعادل کردن فلور دائم دستگاه گوارش، تقویت تولید متابولیت‌های مختلف که خود باعث تقویت فلور می‌شوند (نظیر ویتامین‌ها) و کمک به جذب بهتر مواد غذایی دریافتی انجام می‌گیرد.

### تشکر و قدردانی

از جناب آقای دکتر رسول قربانی به خاطر رهنمودهای سازنده خود در آنالیز آماری داده‌ها، همچنین از همکاری کارشناسان آزمایشگاه بیماری‌های آبزیان پژوهشکده اکولوژی دریای خزر و آزمایشگاه پاتوبیولوژی دکتر فدایی رشت، دکتر بهروز قره‌وی و عبدالوهاب کر و همه عزیزانی که در انجام این تحقیق همکاری نمودند، تشکر و قدردانی می‌گردد.

اینولین (Raftilin ST)، فروکتوالیگوساکارید (Raftilose P95) و لاکتوسوکروز را به عنوان پری‌بیوتیک بر رشد لارو ماهی کفشک (*Psetta maxima*) در سطح ۲ درصد مطالعه نمودند، نتیجه‌گیری کردند میانگین وزن نهایی و ضریب رشد ویژه در گروه تغذیه شده با فروکتوالیگوساکارید نسبت به سایر گروه‌ها بالاتر بود (Mahious et al., 2005). آثار مثبت پری‌بیوتیک بر برخی عوامل رشد در سخت‌پوستان نیز بررسی شد. با توجه به نتایج به دست آمده در این تحقیق پری‌بیوتیک فروکتوالیگوساکارید بر برخی عوامل رشد آثار مثبتی داشته است که نتایج مطالعه حاضر با نتایج سایر محققان مطابقت دارد. در این مطالعه نتایج به دست آمده از کشت میکروبی روده نشان می‌دهد که در ابتدای دوره در بین تیمارها و شاهد تفاوت معناداری وجود ندارد. در حالی که در انتهای دوره تعداد باکتری‌های جنس لاکتوباسیلوس‌ها در کشت میکروبی روده بچه ماهیان ازون‌برون تغذیه شده با جیره حاوی ۱ درصد فروکتوالیگوساکارید به طور معناداری بیشتر از تیمار شاهد و تیمار ۲ درصد فروکتوالیگوساکارید بود. طی تحقیقی که روی لاروهای ماهی کفشک (*Psetta maxima*) با پری‌بیوتیک اینولین (Raftilin ST) و فروکتوالیگوساکارید (Raftilose P95) انجام شد، دریافتند که به کارگیری ۲ درصد اینولین در جیره به طور معناداری میکروفلور لوله گوارش ماهی کفشک را تغییر داده و گونه‌های *Bacillus sp* تا ۱۴ درصد فلور روده را در ماهیان تغذیه شده با فروکتوالیگوساکارید تشکیل داده بود (Mahious et al., 2005). در حالی که در سایر تیمارها گونه‌های *Vibrio* مشاهده شد که جنس لاکتوباسیلوس توانسته است از فروکتوالیگوساکارید به‌عنوان تنها منبع کربن استفاده کند و در نتیجه آثار مثبتی بر سلامت و عوامل رشد لارو ماهی کفشک داشته است.



منابع

9. Li, P., Burr, G. S, Gatlin, D. M., Hume, M. E., Patnaik, S., Castille, F., Lawrence, A. L. 2008. Dietary Supplementation of Short-Chain Fructooligosaccharides Influences Gastrointestinal Microbiota Composition and Immunity Characteristics of Pacific White Shrimp, *Litopenaeus vannamei*, Cultured in a Recirculating System, *Journal of Nutrition*, 137: 2763-2768.
10. Mahious, A. S. and Ollevier F. 2005. Probiotics and prebiotics in aquaculture: a review; *The 1st Regional Workshop on techniques for Enrichment of Live Food for Use in Larviculture*, 7–11 March, Urima, Iran. 17-26.
11. Mahious, A. S., Gatesoupe, F. J., Hervi, M., Metailler, R., Ollevier, F. 2005. Effect of dietary inulin and oligosaccharides as prebiotics for weaning turbot, *Psetta maxima* (Linnaeus, C. 1758), *Aquaculture International*, 14 (3): 219-229.
12. Mahious, A. S., Van Loo, J., Ollevier, F. 2006. Impact of the Prebiotics, Inulin and Oligofructose on Microbial Fermentation in the Spiral Valve of Siberian Sturgeon (*Acipenser baerii*), *World Aquaculture Society*, Florence, Italy, May 3–9, 2006a, 564-565.
13. Makridis, P., Bergh, Q., Skjermo, J., Vadstein, O. 2001. Addition of bacteria bioencapsulated in *Artemia metanauplii* to a rearing system for halibut larvae, *Aquaculture International*, 9: 225-235.
14. Peter, H. and Sneath, A. 1986. Bergeys manual of systematic Bacteriology, Vol 2: 1104-1154.
15. Ringo, E. and Gatesoupe F. J 1998. Lactic acid bacteria in fish: a review, *Aquaculture*, 160: 177-203.
16. Rengpipat, S., Phianphak W., Piyatitivorakul S., Menasveta P., 1998. Effects of a probiotic bacterium on survival and growth of black tiger shrimp (*Penaeus monodon*), *Journal of Aquaculture*, 167: 301-313.
17. Ringo, E. and Gatesoupe, F. J 1998. Lactic acid bacteria in fish: a review, *Aquaculture*, 160: 177–203.
1. Akrami, R. 2008. Effect of dietary inulin prebiotic of growth, survival and intestinal bacterial density of juvenile great sturgeon (*Huso huso*), Thesis for Ph. D. of Tehran Research Branch, Islamic Azad University, p. 100.
2. Bekcan, S., Dogakaya, L., Cakirogullari, G. C. 2006. Growth and body composition of European catfish (*Silurus glanis*) fed diet containing different percentages of protein, *The Israeli Journal of Aqauculture–Bamidgeh*, 58 (2):137-142.
3. Gibson, G. R. and Roberfroid, M. B. 1995. Dietary modulation of the colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics, *Journal of Nutrition*, 125: 1401-1412.
4. Gibson, G. R. 1998. Dietary modulation of the Human Gut Microflora Using the prebiotics olifruuctose and Inulin, *Nutritional and Health Benefits of Inulin and Oligofructose conference*, May 18-19, Bethesda.
5. Grisdale-Helland, B., Helland, S. J., Gatlin, D. M. 2008. The effects of dietary supplementation with mannan oligo saccharide, fructo oligo saccharide or galacto oligo saccharide on the growth and feed utilization of Atlantic salmon (*Salmo salar*), *Aquaculture*, 283: 163-167.
6. Hosseinifar, S. H. and Mahious, A. S. 2007. Probiotics, Prebiotics and synbiotics in Aquaculture: A review; *Proceeding of International Training Course on fish Nutrition and disease*, 5 september, Ghaemshhr, iran, p. 23.
7. Hosseinifar S. H 2009. The effects of oligofructos on growth performance, survival and autochthonous intestinal microbiota of bluga (*Huso huso*) juveniles, M.Sc. Thesis, Tehran University, p.125.
8. Kolida, S., Tuohy, K., Gibson, G. R. 2002. Prebiotic effects of inulin and oligofructose; *British Journal of Nutrition*, 87, Suppl. 2, 193-197.

- of the *World Aquaculture Society*, 40: 450-459.
20. Zhou, Z., Ding, Z., Huiyuan, L. V. 2007. Effects of dietary short chain fructooligosaccharides on intestinal microflora, survival, and growth performance of juvenile white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, *Journal of the World Aquaculture Society*, 38: 296-301.
18. Roberfroid, M. B. 2007. Prebiotics: the concept revisited, *Journal of Nutrition*, 137: 830S-837S.
19. Zhou, Z., He, S., Liu, Y., Shi, P., Huang, G., Yao B. 2009. The effects of dietary yeast culture or short-chain fructo-ligosaccharides on the intestinal autochthonous bacterial communities in juvenile hybrid tilapia *Oreochromis niloticus* & *O. aureus*, *Journal*

## Effect of dietary Fructooligosaccharide as a prebiotic on the growth and density of *Lactobacillus* in intestine of stellate (*Acipenser stellatus*) fingerling

Yousef Iri<sup>1\*</sup>; Hosseinali Khoshbavar Rostami<sup>2</sup>; Reza Akrami<sup>3</sup>

1- M.Sc of Fisheries, Inland waters Aquatics Stocks Research Center, Gharasou Station, Bandar-Torkaman, Iran

2- Ph.D. of Fisheries Science, waters Aquatics Stocks Research Center, Gorgan, Iran

3- Ph.D. of Fisheries Science, Azadshahr branch of Islamic Azad University, Azadshahr, Iran

\*Corresponding author, P. O. Box: 139 e-mail: [Yousef\\_er47@yahoo.com](mailto:Yousef_er47@yahoo.com)

**Abstract:** In this study, the effect of fructooligosaccharide as a prebiotic on the growth and density of lactobacillus in intestine of stellate (*Acipenser stellatus*) has been investigated. To do this, 90 individuals of stellate fingerlings (ten in each replications) were prepared with an average weight of  $30.16 \pm 0.14$  gr from International Sturgeon Research Institute. This study was carried out in a completely randomized design with three replications in fiberglass tanks with 2000 liters volume. They were fed with feed containing 0, 1 and 2 percents of fructooligosaccharide (Raftilos P95, Sigma Company). Results indicated that feed with one percent fructooligosaccharide had a significant effect ( $P < 0.05$ ) on weight gain, SGR, FCR, FE, PER and HI. The number of colonies regarding to lactobacillus showed a significant increase compared to the control (in one percent fructooligosaccharide). Results indicated that fructooligosaccharide as a prebiotic (in level of one percent in feed) caused good growth capabilities and feed efficiency through increasing the density of lactobacillus in intestine.

**Keywords:** Prebiotic, Fructooligosaccharide, Growth, Lactobacillus, Stellate (*Acipenser stellatus*)