اثرات پربیوتیک گالاکتو الیگوساکارید جیره بر روی عملکرد رشد و مورفولوژی روده در ماهی قرمز (*Carassius auratus gibelio*)

حسن صحرایی[1*]، احمدرضا پیرعلی زفره ئی[2]، فاطمه آیت اللهی[3]، شعیب فروردین[4] سیدعلی اکبر هدایتی[3]

۱- گروه شیلات، دانشکده علوم کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، ایران

۲- باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد اصفهان (خوراسگان)، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران

۳- گروه تولید و بهره‌برداری آبزیان، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

٤- گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران

[*]مسئول مکاتبات: hasansahraei22@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/٦/۳۰ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۲/۲۸

چکیده

این مطالعه به منظور بررسی سطوح مختلف پربیوتیک گالاکتو الیگوساکارید بر شاخص‌های رشد و مورفولوژی روده ماهی قرمز (*Carassius auratus gibelio*) طراحی و اجرا گردید. بدین منظور تعداد ۲٤۰ قطعه بچه ماهی با میانگین وزنی ۰/۲۸ ± ٤/۸۸ گرم به چهار گروه تقسیم شدند. گروه اول به عنوان شاهد با جیره پایه (فاقد گالاکتو الیگوساکارید)، گروه‌های دوم، سوم و چهارم به ترتیب با جیره‌های حاوی ۰، ۰/۵، ۱ و ۲ درصد گالاکتوالیگوساکارید به ازاء هر کیلوگرم جیره غذایی به مدت شش هفته تغذیه شدند. در انتهای آزمایش شاخص‌های رشد (شامل وزن نهایی، ضریب رشد، ضریب تبدیل غذا) محاسبه گردید. علاوه براین از روده ماهیان قرمز نمونه‌برداری به عمل آمد و میانگین طول، عرض و سطح جذب پرزهای روده در هر تیمار مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان‌دهنده تاثیرمعنی‌دار تیمار ۲ درصد گالاکتوالیگوساکارید بر افزایش طول و عرض و سطح جذب پرز روده بود ($p < ۰/۰۵$). در حالیکه اختلاف معنی‌داری در شاخص‌های رشد مشاهده نشد. با توجه به تأثیر معنی‌دار پربیوتیک گالاکتو الیگوساکارید در افزایش سطح جذب روده ماهیان قرمز و هم‌چنین افزایش نسبی شاخص‌های رشد در ماهیان تغذیه شده با گالاکتو الیگوساکارید نسبت به تیمار شاهد، بنظرمی‌رسد این ماده می‌تواند بعنوان یک عامل محرک رشد و تغذیه در جیره غذایی ماهیان قرمز زینتی مورد استفاده قرار گیرد.

کلمات کلیدی: پربیوتیک، رشد، موفولوژی روده، گالاکتو الیگوساکارید، ماهی قرمز.

مقدمه

پربیوتیک‌ها ترکیبات غذایی از جنس کربوهیدرات‌های زنجیره کوتاه غیرقابل هضم و قابل تخمیرند که به جیره غذایی افزوده می‌شوند و دارای این توانایی هستند که یک سویه یا دسته محدودی از باکتری‌ها به خصوص باکتری‌های تخمیرکننده را به‌صورت انتخابی بهبود بخشند و در حفره‌ها و سطح موکوسی روده افزایش دهند (۳).

پربیوتیک‌ها به طور غیرمستقیم اثر می‌گذارند و به طور انتخابی با تاثیر خود بر پروبیوتیک‌ها باعث تغییر فلور باکتریایی مفید و همزیست در دستگاه گوارش ماهی

می‌شود و در نتیجه سبب بهبود رشد و سلامتی میزبان می‌گردد (۳).

پربیوتیک‌های الیگوساکارید از دیواره‌ی سلول مخمر *Saccharomyces cerevisiae* مشتق شده است (۲٤) و اثرات زیادی از جمله بهبود رشد و ایمنی (۲۹)، بهبود مورفولوژی روده، تعدیل فلور میکروبی روده (۷)، افزایش ایمنی و توانایی مقاومت در برابر استرس (۱۳) را در ماهی ایجاد می‌کند. گالاکتو الیگوساکاریدها گروهی از کربوهیدرات‌های غیرقابل‌هضم زنجیره کوتاه طبقه‌بندی شده به‌عنوان پربیوتیک‌اند که ترکیب میکروبی روده را به‌طور انتخابی و مفید تغییر می‌دهند. این پربیوتیک به‌طور طبیعی در شیر انسان یافت می‌شود هم‌چنین به‌طور تجاری به‌عنوان مکمل غذایی و در محصولات لبنی، نوشیدنی‌های میوه‌ای و انرژی‌زا کافه‌ها و قنادی تولید می‌شود. بنابراین، گالاکتو الیگوساکارید می‌تواند به‌طور نافعی سیستم ایمنی بدن و روده را تعدیل کند و این بدان معنی است که دارای پتانسیل پیشگیری و یا درمان بسیاری از بیماری‌های التهابی روده می‌باشد (۱۰).

ماهی قرمز (*Carassius auratus gibelio*) از خانواده کپور ماهیان (Cyprinidae) از لحاظ زیستی و تغذیه‌ای شبیه کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) است (۵). لذا می‌توان از آن به‌عنوان یک مدل‌آزمایشگاهی برای کپور ماهیان استفاده کرد. با افزایش درخواست پرورش ماهی قرمز و با در نظر گرفتن این نکته که عوامل محدودکننده‌ی زیادی بر سر راه پرورش این ماهی اعم از شرایط پرورشی و تغذیه‌ای وجود دارد لذا ضرورت دارد همانند سایر آبزیان برای مقاوم کردن ماهی و افزایش رشد و بازماندگی، از ترکیبات خاصی در جیره این ماهی استفاده شود که در تحقیق حاضر پربیوتیک گالاکتو الیگوساکارید برای بهبود رشد و سلامت آن مورد بررسی قرارگرفته است. با توجه به اینکه جذب غذا از طریق ریزپرزهای روده انجام می‌شود و در نهایت این عمل روی رشد اثرگذار است، هدف این پژوهش بررسی تاثیر افزودن پربیوتیک گالاکتو الیگوساکارید بر روی رشد و مورفولوژی بافت روده در ماهی قرمز(*Carassius auratus gibelio*) به عنوان یک مدل آزمایشی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

ماهی و محیط آزمایشگاهی: در این مطالعه۲٤۰ عدد ماهی قرمز(*Carassius auratus gibelio*) از مراکز تکثیر و پرورش ماهی قرمز شهر رشت با میانگین وزنی ٤/۸۸±۰/۲۸ گرم تهیه و سپس به مرکز آبزی پروری شهید فضلی برآبادی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان منتقل شدند. بعد از انتقال به محیط آزمایشگاه، تمام ماهیان به مدت ۷ روز برای آداپتاسیون نگهداری شدند. این آزمایش به‌صورت طرح کاملاً تصادفی در ٤ تیمار و با ۳ تکرار انجام شد. تیمارها شامل گروه تغذیه شده با۰، ۰/۵، ۱ و ۲ درصد مکمل غذایی گالاکتوالیگوساکارید (۰، ۵، ۱۰ و ۲۰ گرم در هر کیلوگرم غذا) بودند. به‌طور تصادفی تعداد ۱۵ عدد ماهی با میانگین وزنی ۰/۲۸ ± ٤/۸۸ در مخزن‌های فایبرگلاس ۵۰۰ لیتری ذخیره‌سازی شدند که یک‌سوم ظرفیت آن (۱۵۰ لیتر) آبگیری شده بود.

تهیه غذا، مکمل غذایی، و غذادهی: منبع پربیوتیک Vivinal-GOS بود که توسط شرکت " Friesland Foods Domo" (زووله، هلند) تولید شده است. این محصول غنی از گالاکتوالیگوساکارید است و با کمک آنزیم لاکتاز فرآوری شده و از لاکتوز طی واکنش ترانس گالاکتوزیلیشن تولید می‌شود. در این آزمایش جهت ساخت جیره آزمایشی از غذای تجاری رو آبی تایلندی مخصوص ماهی قرمز با سایز ۳۰۰۱ استفاده شد. جیره پایه تهیه شده به‌صورت پلت بود و مکمل به کمک محلول ژلاتین ۵ درصد با غذا مخلوط شد. برای این کار ابتدا غذا با ترازوی دیجیتال با نشان تجاری AND EK610i با دقت ۰/۱ گرم توزین شد و به نسبت وزن غذا برای سطوح

مختلف، گالاکتوالیگوساکارید به صورت محلول در ژلاتین درآمد و با اسپری یکنواخت با غذا مخلوط شد. سپس جیره‌های آماده‌شده در هوای محیط کارگاه و با رعایت نکات بهداشتی خشک شدند و تا زمان مصرف به یخچال با دمای ٤ درجه سانتی‌گراد منتقل شدند. لازم به ذکر است جهت از بین بردن اثر ژلاتین به جیره تیمار ۰ درصد نیز به همان میزان ۱۰۰ سی‌سی به ازای ۱ کیلوگرم غذا محلول ژلاتین اسپری شد. غذادهی بر اساس ٤ درصد وزن بیومس زنده موجود در تانک به‌صورت دستی انجام می‌شد. میزان غذای موردنیاز هرروز به دو قسمت مساوی تقسیم می‌شد و دو بار در روز در ساعت ۸ و ۱۵ در اختیار ماهیان قرار می‌گرفت.

بررسی عملکرد رشد و موفولوژی بافت روده، آماده‌سازی بافت: پس از طی دوره آزمایش (٦ هفته) از ماهیان نمونه‌برداری شد و پس از بیهوشی در پودر گل میخک (۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر) بیهوش شدند، وزن ماهیان جهت محاسبات رشد اندازه گیری و مطابق فرمولهای زیر محاسبه گردید. در نهایت تعداد ۳ ماهی به طور تصادفی از هر تکرار انتخاب و تشریح شد و لوله گوارشی آنها کامل از سایر اندام‌های درونی جدا گردید و از قسمت میانی روده نمونه‌برداری به عمل آمد. نمونه‌ها بلافاصله در فرمالین بافر ۱۰ درصد جهت تثبیت غوطه ور گردیدند و سپس عملیات بافت‌شناسی به روش پارافینه کردن بر روی بافت صورت گرفت. رنگ‌آمیزی این برش‌ها با روش هماتوکسیلین – ائوزین انجام گرفت. پس از تهیه لام‌های میکروسکوپی توسط میکروسکوپ نوری مدل E 100 با بزرگنمایی ٤۰ مورد بررسی قرار گرفتند و در نهایت طول و عرض ریزپرزهای روده به همراه سطح جذب پرز (میانگین طول پرز × میانگین عرض پرز)، با استفاده از میکرومتر اندازه‌گیری و ساختار بافتی دقیق روده مورد مطالعه قرار گرفت(٤). برای ارزیابی کیفیت رشد و عملکرد جیره از شاخص‌های نرخ رشد ویژه (SGR)، ضریب تبدیل غذایی (FCR)، وزن نهایی (WF) و درصد افزایش بدن (رشد نسبی) (BWI)) استفاده شد (٦، ۲۰، ۲۷).

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

ضریب تبدیل غذایی= میزان غذای خشک شده مصرفی (گرم)/ وزن تر تولید شده

میانگین افزایش وزن= وزن انتهایی- وزن ابتدایی ماهی

درصد افزایش بدن= وزن انتهایی- وزن ابتدایی/وزن اولیه ماهی

آنالیز آماری: با توجه به نوع داده‌ها و ماهیت آزمایش از طرح آزمون بلوک‌های کاملا تصادفی و روش‌های آماری عمومی از جمله آنالیز واریانس یکطرفه (ANOVA) با ضریب اطمینان ۹۵ درصد، جهت بررسی تفاوت‌ها در غلظت‌ای مختلف در طول دوره‌ی پرورش استفاده شد. کلیه آنالیزهای آماری با استفاده از نرم افزار آمار SPSS نسخه ١٦ صورت گرفت.

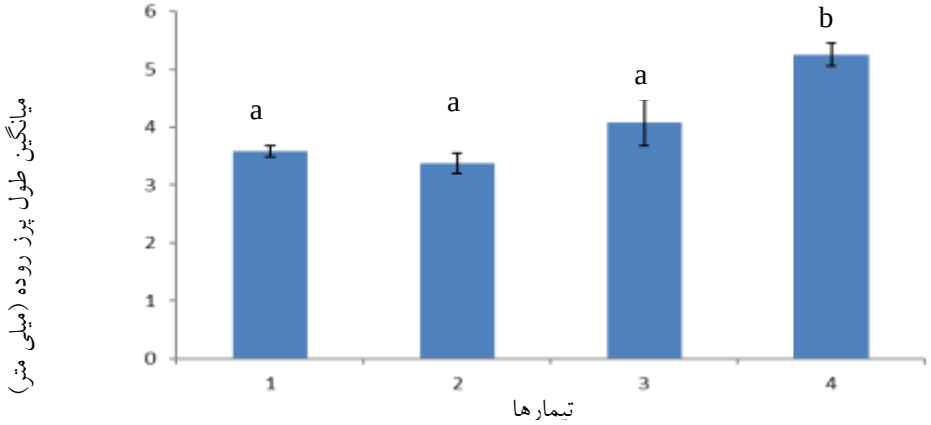
نتایج

نتایج نشان داد افزودن پربیوتیک گالاکتوالیگوساکارید به جیره غذایی ماهی قرمز (*Carassius auratus gibelio*) سبب بهبود موفولوژی روده و افزایش طول و عرض پرزهای روده ماهی قرمز گردیده است. شکل ۱ نتایج طول پرزهای روده را نسبت به اثر سطوح مختلف گالاکتو الیگوساکارید جیره را در هفته ششم نشان می‌دهد. باتوجه به شکل، تیمار ۲درصد با طولی برابر ۰/۱۳± ۵/۲۳ میلی‌متر بیشترین افزایش طول پرز راداشته و با سایر تیمارها اختلاف معنی‌دار را نشان داد (p <۰/۰۵). پس از آن تیمار ۱ درصد با میانگین ۰/٦ ± ٤/۰۸ قرار گرفت. کمترین طول پرز روده مربوط به تیمار ۰/۵درصد و شاهد می‌باشد. همانطور که در شکل۲ مشاهده می‌شود بیشترین عرض پرزهای روده در تیمارهای مختلف نیز مربوط به تیمار ۲ درصد (۰/۰۵ ± ۱/۸۳ میلی‌متر) می‌باشد که بین گروه‌ها

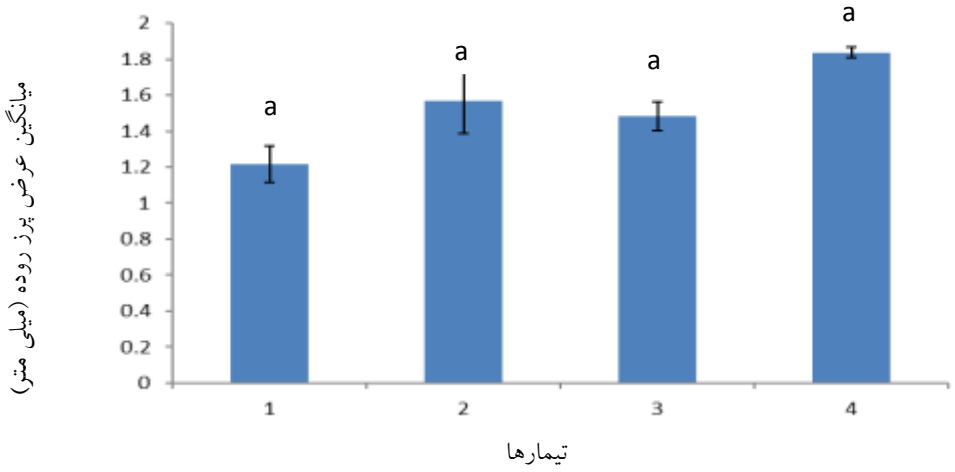
اختلاف معنی‌داری وجود ندارد. بیشترین سطح جذب پرزهای روده نیز در تیمار ۲ درصد مشاهده شد که خود نشان دهنده این بود که اختلاف گروه‌ها معنی‌دار نیست (جدول ۲). براساس شاخص‌های رشد (جدول ۱)، بیشترین میزان افزایش بدن و ضریب رشد ویژه، به همراه کمترین ضریب تبدیل غذایی در تیمار شاهد مشاهده شد. در مقایسه با شاهد سطوح ۲ و ۰/۵ درصد گالاکتو الیگوساکارید، شاخص‌های افزایش بدن و ضریب رشد ویژه عملکرد بهتری داشتند. همچنین بیشترین ضریب تبدیل غذایی در تیمار ۱ درصد مشاهده شد. در طول دوره پرورش تلفات در هیچکدام از تیمارهای آزمایشی مشاهده نشد.

همچنین نتایج آنالیز آماری شاخص‌های رشد نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار در تیمارهای مختلف آزمایشی بود ($p>$ ۰/۰۵) (جدول۱). نتایج ارائه شده در شکل ۱ و ۲ نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در طول و سطح جذب پرزهای روده ماهی قرمز تغذیه شده بامقادیر مختلف پربیوتیک گالاکتوالیگوساکارید می‌باشد ($p<$ ۰/۰۵).

برش عرض بافت روده ماهی قرمز در تیمار شاهد در شکل۳ و مقاطع بافتی تهیه شده از تیمارهای مختلف تغذیه شده با سطوح مختلف گالاکتو الیگوساکارید در پایان دوره آزمایش در شکل ٤ آورده شده است.



شکل۱- طول ریزپرزهای بخش میانی روده ماهی قرمز در سطوح مختلف گالاکتوالیگوساکارید (میانگین ± خطای معیار). حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در تیمارها می‌باشد ($p <$ ۰/۰۵)



شکل۲- عرض ریزپرزهای بخش‌میانی روده ماهی قرمز در سطوح مختلف گالاکتوالیگوساکارید (میانگین± خطای معیار). حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی دار در تیمارها می‌باشد ($p <$ ۰/۰۵)

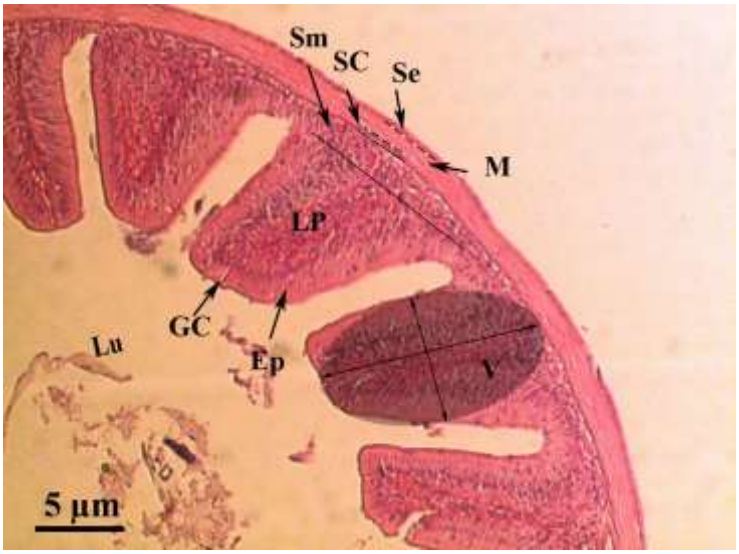
جدول ۱- مقایسه شاخص‌های رشد ماهی قرمز در سطوح مختلف گالاکتوالیگوساکارید پس از ٦ هفته (میانگین ± خطای معیار)

شاخص رشد	سطوح مختلف گالاکتو الیگوساکارید (درصد)			
	صفر	۰/۵	۱	۲
وزن نهایی (گرم)	۸/۱۳ ± ۰/۰۲	۸/۲۵ ± ۰/۱۵	۷/۸٦ ± ۰/۲۳	۸/۱۵ ± ۰/۷
درصد افزایش وزن بدن	۷۳/٦۷ ± ۳/۸	٦۳/۰۲ ± ۳/۱۱	٦۲/٤۸ ± ۱۳	٦۵/۱٦ ± ۱۱/٦۵
نرخ رشد ویژه	۲/۹۵ ± ۰/۰۹	۲/۷٦ ± ۰/۲۳	۲/۳٦ ±۰/۳٦	۲/۷٦ ± ۰/۳٤
ضریب تبدیل غذایی	۲/۷۵ ± ۰/۱۲	۳/۱٤ ± ۰/۱۳	۳/۲۵ ± ۰/٦۳	۳/۱۲ ± ۰/٤۳

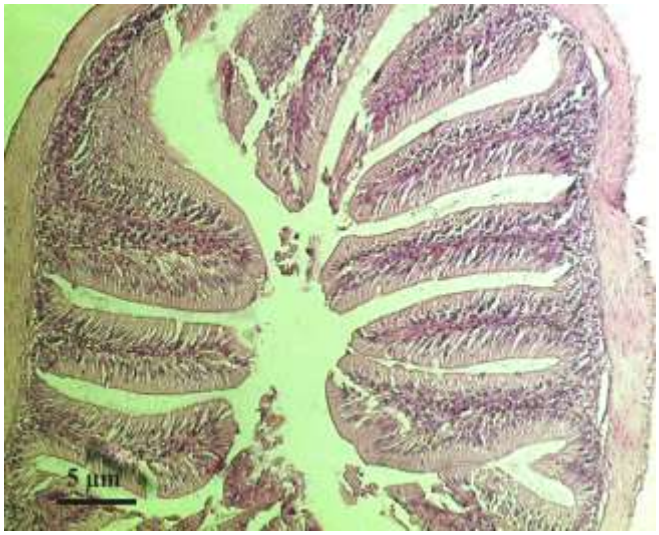
جدول ۲- سطح جذب پرز در تیمارهای مختلف گالاکتو الیگوساکارید (میانگین ± خطای معیار)

تیمارها	صفر	۰/۵	۱	۲
سطح جذب پرز (mm^2)	٤/۳۵۵ ± ۰/۱۲ ^{b}	۵/۲۹ ± ۰/۱۸ ^{b}	٦/۰۵ ± ۰/۰۸ ^{b}	۹/٦۵ ± ۰/۱۱ ^{a}

حروف غیرمشابه در یک ردیف دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (p< ۰/۰۵)

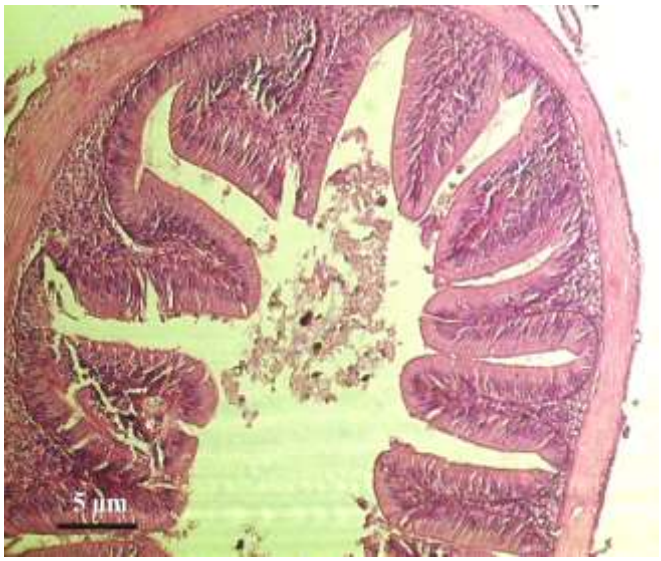


شکل ۳- برش عرضی روده ماهی قرمز در تیمار شاهد (زتگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین: H&E) (بزرگنمایی: ٤۰X)
Lu: حفره داخلی روده، Ep: بافت پوششی روده، GC: سلول‌های جامی، LP: بافت همبند پارین، Sm: لایه زیر مخاطی، SC: لایه متراکم، M: لایه عضلانی، Se: لایه سروز،V: پرزهای روده‌ای، یک پرز روده ای (بیضی تیره رنگ) که نحوه اندازه گیری طول و عرض پرز نیز نمایش داده شده است.



شکل ٤- مقاطع بافتی روده ماهیان قرمز تغذیه شده با ۲ درصد گالاکتوالیگوساکارید در پایان هفته ششم، بزرگنمایی ٤٠X.

شکل ٥- مقاطع بافتی روده ماهیان قرمز تغذیه شده با ۱ درصد گالاکتو الیگوساکارید در پایان هفته ششم.



شکل ٦- مقاطع بافتی روده ماهیان قرمز تغذیه شده با ۰/۵درصد گالاکتو الیگوساکارید در پایان هفته ششم.

بحث

استفاده از پربیوتیک‌ها نسبت به پروبیوتیک‌ها دارای مزایا و سهولت‌هایی است که باعث شده است مطالعات زیادی در مورد استفاده از پربیوتیک‌ها در زمینه آبزیان و اثرات آن‌ها بر جنبه‌های مختلف زندگی آن‌ها از جمله تأثیر بر فاکتورهای رشد، هماتولوژی، فلور باکتریایی دستگاه گوارش، فاکتورهای ایمنی انجام گیرد. همچنین، شواهد کم موجود، بیان‌کننده این موضوع است که پربیوتیک‌ها نیز از طریق مسیر کلی که پروبیوتیک‌ها بر روی میزبان خود اثر می‌گذارند، یعنی تغییر فلور میکروبی و تخمیر در دستگاه گوارش بر میزبان اثر می‌گذارند (۲۲، ۲۸). متاسفانه اطلاعات محدودی در زمینه تاثیر پربیوتیک گالاکتوالیگوساکارید بر سایر آبزیان صورت گرفته است.

پژوهشی توسط Hoseinifar و همکاران (۲۰۱۵) مبنی بر بررسی اثرات مکمل‌های غذایی گالاکتو الیگوساکارید، *Pediococcus acidilactici* و گالاکتوالیگوساکارید + *P. acidilactici* در پاسخ ایمنی‌ذاتی، مخاط‌پوست و همچنین مقاومت در برابر بیماری قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) انجام شد که نتایج حاصل از آن نشان داد سه رژیم غذایی به‌طور قابل‌توجهی پارامترهای پاسخ ایمنی در ایمنی ذاتی و موکوس سطح پوست قزل‌آلای رنگین‌کمان را افزایش داده است بالاترین پاسخ ایمنی در تغذیه ماهی با سین‌بیوتیک (گالاکتوالیگوساکارید + *P. acidilactici*) مشاهده شد (۱۶).

محدوده میانگین درصد افزایش وزن ماهی بین ۳/۱۱ ± ۶۲/۴۸ تا ۳/۸ ± ۷۳/۶۷ بود که بطور معنی‌داری تحت تاثیر سطوح مختلف گالاکتوالیگوساکارید نمی باشد ($p > ۰/۰۵$). رشد ویژه بین ۰/۲۳ ± ۲/۳۶ تا ۰/۰۹ ± ۲/۹۵ که تحت تاثیر سطوح مختلف گالاکتو الیگوساکارید نمی‌باشد ($p > ۰/۰۵$). بهترین ضریب تبدیل غذایی با میانگین ۰/۱۲ ± ۲/۷۵ در تیمار شاهد مشاهده شد که بیانگر عدم معنی‌داری اختلاف‌ها بود. در مطالعه Helland و همکاران (۲۰۰۸) در ماهی آزاد اقیانوس اطلس (*Salmo salar*)، پربیوتیک گالاکتوالیگوساکارید تاثیر معنی‌دار بر عملکرد رشد ماهیان نداشتند اما جیره حاوی پربیوتیک‌های مانان الیگوساکارید و فروکتو الیگوساکارید بر رشد، قابلیت هضم، درصد غذای خورده شده روزانه و ترکیبات لاشه ماهی آزاد اقیانوس اطلس تأثیر مثبتی داشت (۱۲).

مطالعات مشابهی نیز بر روی الیگوساکاریدهای پروبیوتیک مانند مانان الیگوساکارید نیز صورت گرفته که از جمله این مطالعات میتوان به مواردی همچون Pryor و همکاران (۲۰۰۳) در ماهیان خاویاری خلیج (*Acipenser oxyrinchus desotoi*)، Mahious و همکاران (۲۰۰۳) در کفشک‌ماهی (*Scophthalmus maximus*)، Genc و همکاران (۲۰۰۷) در هیبرید ماهی تیلاپیا (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*) که بیانگر فاقد تاثیر پربیوتیک مانان الیگوساکارید بر عملکرد رشد ماهیان بود اشاره نمود (۹، ۲۱، ۲۶).

اکرمی و همکاران در سال ۱۳۸۸ اثر پربیوتیک مانان الیگوساکارید را با سطوح متفاوت صفر، ۱/۵، ۳ و ۴/۵ در هر کیلوگرم جیره تجاری در بچه ماهی سفید دریای خزر (*Rutilus frisii kutum*) مورد ارزیابی قراردادند و عنوان نمودند که از نظر رشد، کارایی تغذیه و بازماندگی تفاوت معنی داری در بین تیمارها مشاهده نشد که با نتایج آزمایش حاضر یکسان بود (۲).

مدت زمان آزمایش نیز می‌تواند تاثیر زیادی بر تغییرات ایجاد شده در پارامترهای مورد ارزیابی در پایان آزمایش داشته باشد، به طوری که اگر تغذیه بچه ماهیان به مدت طولانی تر صورت می‌گرفت، این امکان وجود داشت که تفاوت‌های آماری در سایر

سطوح نیز مشاهده شود. احتمالاً علت عدم مشاهده تفاوت معنی‌دار فاکتورهای رشد علاوه بر طول دوره پرورش می‌توان به اندازه، سن گونه پرورشی، گونه پرورشی، 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 به عنوان سوبسترا هستند، نسبت داد که ممکن است بر تأثیرات متفاوت پربیوتیک روی رشد مؤثر باشد (۱).

مطالعاتی که در مورد انسان و همچنین سایر حیوانات تک معده‌ای انجام‌شده است نشان داده‌اند که ترکیبات فیبری و همچنین ترکیبات مشابه مانند پربیوتیک‌های فیبری از جمله پربیوتیک‌های دسته الیگوساکاریدها، از طریق مکانیسم‌های مختلف شامل تغییر فلور باکتریایی دستگاه گوارش و همچنین متابولیت‌های حاصل از عمل تخمیر بر سیستم ایمنی مجرای گوارش که به‌عنوان بافت‌های لنفوئیدی در ارتباط با مجرای گوارشی شناخته شده است (لنفی-گوارشی)، نه تنها به‌عنوان یک سد دفاعی در برابر عوامل بیماری‌زا عمل می‌کند بلکه نقش مهمی در تنظیم سیستم ایمنی هم دارد، اثرگذار است. این مطالعات نشان می‌دهند که تقویت این بخش از سیستم ایمنی می‌تواند در ارتباط بهبود فاکتورهای ایمنی باشد. با توجه به این مطالب مشخص می‌شود ارتباط متقابلی بین جیره غذایی، فلور میکروبی دستگاه گوارش و پارامترهای ایمنی در ارتباط با آن وجود دارد (۱۱، ۱۹، ۲۳).

در مطالعه کنونی، فاکتورهای وزنی بدست آمده (درصد افزایش وزن بدن، نرخ رشد ویژه) تحت تاثیر مقدار غذای مصرفی بودند به طوری که با افزایش مقادیر مصرف غذا تیمار شاهد و ۲ درصد گالاکتو الیگوساکارید نسبت به سایر تیمارها عملکرد بهتری داشتند. در بیشتر موارد اضافه شدن بیش از مکمل‌های غذایی از یک حد آستانه باعث افزایش ضریب تبدیل غذایی در بازدهی جیره‌های غذایی شده است.در مطالعه حاضر نیز از سطح ۰/۵ درصد گالاکتو الیگوساکارید به بالا این وضعیت مشاهده شد. افزایش ضریب تبدیل غذایی ماهیان با اضافه نمودن گالاکتو الیگوساکارید در جیره می‌تواند بدلیل بالانس کمتر از حد مطلوب ترکیبات جیره، قابلیت هضم پایین،تاثیر مواد ضدتغذیه‌ای و سطوح نامناسب انرژی در جیره باشد. بافت اپیتلیال روده‌ای مهمترین قسمت جذب مواد مغذی، بالانس اسمزی و بازگردانی مواد مغذی ضروری و آنزیم‌ها و بافت انتهایی روده بهترین مکان برای جذب پروتئین و هضم درون سلولی در ماهیان استخوانی می‌باشد (۳۰).

در مطالعه مورفولوژی روده، تیمارهای ۱ و ۲ درصد گالاکتو الیگوساکارید طول پرز بیشتری نسبت به سایر تیمارها داشتند. این نتایج با نتایج بدست آمده در خصوص رشد ماهیان در این تیمارها می‌باشد. که میانگین رشد بالاتری نسبت به سایر تیمارها نشان داده اند. فضای داخلی لوله گوارش در تمامی تیمارها با پرزهای روده‌ای اشغال شده است که علاوه بر افزایش نسبت سطح به حجم، افزایش جایگاه جهت اتصال باکتری های مفید را در روده فراهم می کند. افزایش وزن ماهیان تغذیه شده با جیره‌های حاوی مواد محرک رشد و سیستم ایمنی می‌تواند به علت افزایش میزان سلامتی، بهبود میزان هضم و جذب غذا، گسترش سطوح جذب مواد هضم شده در لوله گوارش و یا تحریک ترشح آنزیم‌های گوارشی توسط معده باشد (۱۷).

علاوه بر این، مواد محرک رشد و سیستم ایمنی از طریق افزایش میزان هورمون رشد در پلاسمای خون و افزایش میزان ترشح لیزوزیم در ماهیان باعث افزایش

رشد می‌شود (۱۵). درتوافق با نتایج این تحقیق، Zhou و همکاران (۲۰۱۰)، Wang و همکاران (۲۰۰۸) و Staykov و همکاران (۲۰۰۷) نشان دادند که استفاده از پربیوتیک‌های مختلف و همچنین ترکیبات فیبری غیرقابل هضم و قابل تخمیر، افزایش برخی از پارامترهای دفاع غیراختصاصی و بهبود وضعیت سلامت در گونه‌های مختلف ماهی را به دنبال داشته‌اند (۲۹، ۳۲، ۳۱).

در مطالعاتی توسط Hamilton-Miller (۲۰۰٤) و Parracho و همکاران (۲۰۰۷) نشان داده شده است که پروبیوتیک با مصرف پربیوتیک و توسط توانایی خود در حفظ سلامتی و یکپارچگی دیواره روده باعث افزایش جذب مواد غذایی می‌شود و فلور میکروبی سالم در روده (پروبیوتیک) در دسترس بودن مواد مغذی را افزایش می‌دهد که این در دسترس بودن از ابتدای روده تا پایان تخمیر پربیوتیک توسط فلور میکروبی در قسمت‌های انتهایی دستگاه گوارش ادامه می‌یابد و در دسترس بودن مواد مغذی و آزاد شدن آن به خون به‌طور مستقیم با سرکوب اشتها همراه است (۱٤، ۲۵). بااین‌حال مطالعات بیشتری برای ارزیابی توانایی‌های بالقوه پربیوتیک و باکتری‌های پروبیوتیک مانند لاکتوباسیلوس‌ها در طولانی‌تر شدن سیری و کاهش اشتها مورد نیاز است (۸).

از این نتایج می‌توان دریافت که گالاکتوالیگوساکارید به‌عنوان پربیوتیک علاوه بر دارا بودن اثرات پربیوتیکی بر تعدیل فلور میکروبی به نفع میزبان، تخمیر و ایجاد متابولیت‌هایی مانند اسید چرب‌های زنجیره کوتاه که طی مطالعات گذشته ثابت‌شده است (۷).

همچنین می‌تواند به‌عنوان محرک سیستم ایمنی در ماهی قرمز به‌عنوان یک ماهی پرورشی و همچنین مدلی برای کپور ماهیان مورد استفاده قرار گیرد. اما باید در نظر داشت که مدت‌زمان استفاده و همچنین سطح پربیوتیک اهمیت ویژه‌ای دارد و با توجه به مکانیسم اثر آن که تقریباً نامشخص است جابجایی خصوصاً در سطوح گالاکتوالیگوساکارید ممکن است نتایجی غیر از نتایج مورد انتظار ایجاد کند، که نیاز به مطالعات گسترده تر را می طلبد. به‌عنوان یک نتیجه‌ی کلی می‌توان بیان کرد که با وجود گزارش‌های متعدد مبنی بر افزایش ایمنی و بهبود رشد در ماهیان تحت تأثیر پربیوتیک‌ها، گالاکتوالیگوساکارید به عنوان یک پربیوتیک باعث ایجاد حالت آماده‌باش در سیستم ایمنی و تحریک آن می‌شود اما سطح تولید گرلین که محرک اشتهاست و هم‌چنین سبب آزادسازی هورمون رشد می‌شود (۱۸) را کاهش می‌دهد که با یافته‌های شاخص رشد در این تحقیق تطابق داشت. در پایان استفاده از سطوح مشخص‌شده پربیوتیک گالاکتو الیگوساکارید در مزارع کپور ماهیان جهت افزایش سطح ایمنی جهت جلوگیری از بروز بیماری‌ها و به‌عنوان کنترل‌کننده اشتها در موارد خاص پیشنهاد می‌گردد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از زحمات آقای دکتر پدرام ملک پوری و مسئول محترم سالن آبزی‌پروری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان صمیمانه تشکر و قدردانی می‌نماییم.

منابع

1. Akrami R., Hajimoradlou A., Matinfar A., Abediyankonari A., Ali mohammadi S A., 2008. Effects of Different Levels of Inhibitory Periotin Ratio on Growth Indices, Nutrition, Survival Rates and Organic Component of Huso huso. Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources. 15(5): 55-67.

2. Akrami R., Karim abadi A., Mohammad zadeh H., Ahamadifar A., 2009. Effect of

oligosaccharide, fructooligosaccharide or galactooligosaccharide on the growth and feed utilization of Atlantic salmon (Salmo salar), *Aquaculture*, 283: 163–167.

10. Gu M., Ma H.M., Mai K.S., Zhang W.B., Bai N., Wang X.J., 2011. Effects of dietary b-glucan, mannanoligosaccharide and their combinations on growth performance, immunity and resistance against Vibrio splendidus of sea cucumber, Apos-tichopus japonicus. *Fish and Shellfish Immunology*, 31: 303-309.

11. Hamilton-Miller J. 2004. Probiotics and prebiotics in the elderly. *Postgraduate Medical Journal*, 80:447-451.

12. Heidarieh M., Soltani M., Tamimi, A.H., Toluei M.H. 2011. Comparative effect of raw fiber (Vitacel) and alginic acid (Ergosan) on growth performance, immunocompetent cell population and plasma lysozyme content of giant sturgeon (Huso huso). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 11: 445-450.

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

14. Hoseinifar S.H., Mirvaghefi A., Merrifield L.D., 2011. The effects of dietary inactive brewer's yeast Saccharomyces cerevisiae var. ellipsoideus on the growth, physiological responses and gut microbiota of juvenile beluga (Huso huso). *Aquaculture*, 318: 90-94.

15. Hosoda H., Kojima M., Kangaw K., 2006. Biological, physiological, and pharmacological aspects of ghrelin. *Journal of Pharmacological Sciences*, 100: 398-410.

16. Jenabi haghparast R., Meshkini S., Tokmehchi A., 2013. Probiotic effects of bactiocell and mannan oligosaccharide precursor on growth and immunity in Mannan oligosaccharide probiotic on growth, survival, body composition and resistance to salt stress in whitefish Rutilus frisii kutum. *Journal of Marine Science and Technology, Marine Science and Technology University of Khorramshahr*, 8(3): 17-31.

3. Bai S.C., J. Koo K., Kim S., 2001. Effects of Chlorella powder as feed additive on growth performance in juvenile Korean rockfish, *Sebastes schlegeli* (Hilgendorf). *Aquaculture Research.* 32: 92–98.

4. Dimitroglou A., Merrifield D.L., Spring P., Sweetman J., Moate R., 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.

5. Forssten S.D., Korczyńska M.Z., Zwijsen R.M.L., Noordman W.H., Madetoja M., Ouwehand A.C., 2013. Changes in satiety hormone concentrations and feed intake in rats in response to lactic acid bacteria. *Appetite*, 71:16-21.

6. Genc M.A., Yilmaz E., Genc E., Aktas M., 2007. Effects of dietary mannan oligosaccharides (MOS) on growth, body composition, and intestine and liver histology of the hybrid Tilapia (Oreochromis niloticus × O. aureus). The *Israeli Journal of Aquaculture*, 59:10–16.

7. Gopalakrishnan A., Clinthorne J.F., Rondini E.A., McCaskey S.J., Gurzell E.A., Langohr I.M., Gardner E.M., Fenton J.I., 2012. Supplementation with galacto-oligosaccharides increases the percentage of NK cells and reduces colitis severity in Smad3-deficient mice. *The Journal of Nutrition*, 142:1336-1342.

8. Grimble R., 2001. Nutritional modulation of immune function. *Proceedings of the Nutrition Society*, 60: 389-397.

9. Grisdale-Helland B., Helland S.J., Gatlin Delbert M., 2008. The effects of dietary supplementation with mannan

25. Pryor G.S., Royes J.B., Chapman F.A., Miles R.D., 2003. Mannanoligosaccharides in fish nutrition: effects of dietary supplementation on growth and gastrointestinal villi structure in Gulf of Mexico sturgeon. *North American Journal of Aquaculture*, 65: 106–111.

26. Ricker W.E., 1979. Growth rates and models. *Fish Physiology*, 8: 677-743.

27. Ringo E., Olsen R., Gifstad T., Dalmo R., Amlund H., Hemre G.I. Bakke A., 2010. Prebiotics in aquaculture: a review. *Aquaculture Nutrition*, 16: 117-136.

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

29. Uran P.A., Schrama J.W., Rombout J.H. W.M., Obach A., Jensen L., Koppe W., Verreth J.A.J., 2008. Soybean meal-induced enteritis in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) at different temperatures. *Aquaculture Nutrition*, 14: 324-330.

30. Vosoughi G., Mostahger B., Freshwater fish. Tehran University Press. Page 317.

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

32. Zhou Q.C., Buentello J.A., Gatlin D.M., 2010. Effects of dietary prebiotics on growth performance, immune response and intestinal morphology of red drum (*Sciaenops ocellatus*). *Aquaculture*, 309: 253-257.

rainbow trout. *Journal of Veterinary Research*, 68(4): 375-382.

17. Kazemi R., Bahmani M., 1998. Texture coloring guidelines for histological study. Department of Physiology and Biochemistry, Institute of International Research of Sturgeon. P: 70.

18. Kiron V., 2012. Fish immune system and its nutritional modulation for preventive health care. *Animal Feed Science and Technology*, 173:111-133.

19. Lovell T., 1998. Nutrition and feeding of fish. Klumer Academic Publishers (send Ed). pp. 71 – 214.

20. Mahious A.S., Gatesoupe F.J., Hervi M., Metailler R., Ollevier F., 2006. Effect of dietary inulin and oligosaccharides as prebiotics for weaning turbot, Psetta maxima (Linnaeus, C. 1758). *Aquaculture International*, 14: 219–229.

21. Merrifield D.L., Dimitroglou A., Foey A., Davies S.J., Baker R.T., Bøgwald J., Castex M., Ringø E., 2010. The current status and future focus of probiotic and prebiotic applications for salmonids. *Aquaculture*, 302(1-2): 1-18.

22. Nayak S.K., 2010. Role of gastrointestinal microbiota in fish. *Aquaculture Research*, 41:1553-1573.

23. Otaka K., 2006. Functional Oligosaccharide and Its New Aspect as Immune Modulation. *Journal of Biological Macromolecules*, 6(1): 3-9.

24. Parracho H., McCartney A.L., Gibson G.R., 2007. Probiotics and prebiotics in infant nutrition. *Proceedings of the Nutrition Society*, 66: 405-411.