دو فصلنامه علوم تکثیر و آبزی‌پروری/ سال سوم/ شماره هفتم/ پاییز و زمستان۹۴/ صفحات۷۴-۶۱

ارزیابی تأثیر پربیوتیک ایمنوستر بر عملکرد رشد، ترکیب بدن و فلور باکتریایی دستگاه گوارش بچه ماهی کپور معمولی(*Cyprinus carpio*)

مهران جواهری بابلی*[۱]، علی عطایی[۱]، رضا طاعتی[۲]، سحر کلانتر هرمزی[۱]

چکیده

این پژوهش به منظور ارزیابی تأثیر پربیوتیک ایمنوستر بر شاخص های رشد، تغذیه، بقا، ترکیب بدن و فلور باکتریایی دستگاه گوارش بچه ماهیان کپور معمولی انجام شد. این تحقیق با استفاده از سطوح ۰/۵، ۱/۵ و ۲/۵ گرم ایمنوستر در هر کیلوگرم جیره پایه در ۴ تیمار با ۳ تکرار طراحی شد. بچه ماهیان با میانگین وزنی ۱±۱۲ گرم و تراکم ۱۵ عدد در هر تانک به مدت ۶۰ روز با جیره های آزمایشی تا حد سیری تغذیه شدند. شاخص های اندازه گیری شده شامل فاکتورهای رشد (افزایش وزن، درصد افزایش وزن بدن، نرخ رشد ویژه و شاخص وضعیت)، شاخص‌های تغذیه‌ای (ضریب تبدیل غذایی و میزان کارایی پروتئین)، ترکیب شیمیایی لاشه (رطوبت، خاکستر، چربی و پروتئین خام)، تعداد کل باکتری ها و باکتری های لاکتوباسیلوس روده بود. در این تحقیق افزایش معنی دار شاخص‌های رشد شامل افزایش وزن، درصد افزایش وزن بدن، کارایی پروتئین را شامل شد. پربیوتیک مورد نظر در تیمار ۱/۵ گرم بیشترین افزایش وزن بدن، درصد وزن بدن و کارایی پروتئین را داشت($p<۰/۰۵$). این پربیوتیک بر درصد بقا و لاکتوباسیلوس ها و همپنین ترکیب لاشه تأثیر معنی داری نداشت($p>۰/۰۵$). نتایج این تحقیق نشان داد که پربیوتیک ایمنوستر قابلیت تأثیرگذاری بر عملکرد رشد و تغذیه‌ای داشت.

کلید واژه: : پربیوتیک ایمنوستر، رشد، تغذیه، بازماندگی، ترکیب بدن، فلور باکتریایی دستگاه گوارش، کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

۱- گروه شیلات، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران

۲- گروه شیلات، واحد تالش، دانشگاه آزاد اسلامی، تالش، ایران mehranjavaheri@gmail.com

۱- مقدمه

در حال حاضر ۸۰۰ میلیون نفر در کشورهای در حال توسعه با کمبود غذا مواجه هستند. میزان غذای تولیدی انسان‌ها ۴ میلیارد تن می‌باشد که ۹۸ درصد آن را از ۵-۳ درصد سطح زمین قابل کشت و زرع بدست می آورند و ۷۱ درصد سطح کره زمین(سطح اقیانوسها و دریاها) فقط ۲ درصد غذای انسان‌ها را تأمین می‌کند. مسلماً با توجه به قابل توسعه‌نبودن اراضی قابل کشت و جوابگونبودن تولیدات کنونی غذا، انسان باید به فکر تأمین مواد غذایی از منابع دیگر باشد که یکی از آنها، پرورش ماهی در منابع آبی می‌باشد (نظری، ۱۳۷۷).

مصرف سرانه ماهی در کشور ما ۹/۲ کیلوگرم بوده که در مقایسه با متوسط مصرف سرانه جهانی که ۱۹/۲ کیلوگرم می باشد بسیار فاصله دارد، این در حالی است که رساندن سرانه کشور به متوسط جهانی عزمی را می طلبد. با توجه به این امر، اهمیت حفظ ذخایر طبیعی آبزیان و تأمین شرایط لازم برای تداوم استفاده از آنها در آینده و توسعه همه جانبه صنعت آبزی پروری و پرورش ماهی برکسی پوشیده نیست و لزوم برداشتن هر چه بیشتر گامهای علمی و پژوهشی درجهت افزایش دانش تخصصی در زمینه‌های مختلف مرتبط با آبزیان اجتناب‌ناپذیر است.

پربیوتیک‌ها عناصر غذایی(عمدتاً کربوهیدرات‌ها) غیر قابل هضمی هستند که از طریق تحریک رشد یا فعال‌کردن یک یا تعداد محدودی از باکتری هایی که در روده وجود دارند، اثرات سودمندی بر میزبان داشته و سلامتی آن را بهبود می‌بخشند(Gibson and Roberfroid,1995)، بنابراین پربیوتیک ها باعث بهبود و تعادل میکروفلور روده و افزایش مکانیسم دفاعی میزبان می‌شوند. عناصر غذایی که به عنوان پربیوتیک طبقه‌بندی می شوند باید خواصی را داشته باشند، از جمله این که نباید در بخش‌های فوقانی دستگاه گوارش هضم و جذب شوند، توسط یک یا تعدادی از باکتری های مفید روده به صورت گزینشی تخمیر شوند و جمعیت میکروبی غالب روده را به تولید ترکیبات سالم تر سوق دهند(Gibson et al., 2007). علاوه بر این مهم ترین محصول حاصل از متابولیسم پربیوتیک ها، اسیدهای چرب زنجیر کوتاه هستند (David et al ., 1999) که از طریق اپیتلیوم روده جذب می شوند و به عنوان یک منبع انرژی مهم برای میزبان تلقی شده و سبب تقویت انتروسیت‌ها و بهبود جذب مواد غذایی می‌شوند. تولید اسیدهای چرب زنجیره کوتاه نظیر استات، پروپیونات و اسید لاکتیک ناشی از تخمیر پربیوتیک، منجر به کاهش pH روده می شود که شرایط مناسب برای رشد باکتری های اسید لاکتیک را فراهم می‌کند(Schely and Field, 2002).

پربیوتیک تجاری ایمنوستر حاوی ۱۹/۳٪ مانان الیگوساکارید حاصل از دیواره خارجی مخمر ساکارمیسیس سرویزیه[1] و ۲۲٪ ۱و۳- بتاگلوکان می باشد. هدف از این تحقیق ارزیابی تأثیر پربیوتیک

1. *Saccharmyces cerevisiae*

ایمنوستر بر عملکرد رشد، ترکیب بدن و فلور باکتریایی دستگاه گوارش ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) بود.

۲- مواد و روش‌ها

تحقیق حاضر با استفاده از ۱۲ تانک ۳۰۰ لیتری و در کارگاه پرورشی در ۲ کیلومتری شیبان، واقع در کوت سید عنایت انجام پذیرفت. پس از اطمینان از ایجاد شرایط کنترل شده ۱۵ بچه ماهیان انگشت قد با وزن تقریبی ۱±۱۲ به صورت کاملاً تصادفی در این تانک‌ها رها سازی شدند. پربیوتیک ایمنوستر از طریق شرکت شفق داروی پارسیان تهیه گردید. پربیوتیک مذکور حاوی ۱۹/۳٪ مانان الیگوساکارید حاصل از دیواره خارجی مخمر ساکارمیسیس سرویزیه و ۲۲٪ ۱و۳- بتاگلوکان بود.

غذای مورد استفاده به صورت پلت شده و با سایز EX-TG1 از کارخانه تولید خوراک آبزیان تعاونی ۲۱ بیضاء تهیه شد. جیره پایه مورد استفاده حاوی ترکیبات زیر بود (جدول ۱) :

جدول ۱- تجزیه جیره تیمارهای مورد استفاده(درصد)

مواد تشکیل دهنده	مقدار
پروتئین خام(حداقل)	۳۵-۳۷
چربی خام(حداقل)	۷-۹
فیبر خام(حداکثر)	۵
رطوبت(حداکثر)	کمتر ار ۱۰
انرژی قابل هضم(Kcal/kg)	۳۸۰۰-۴۰۰۰

به طور کلی این تحقیق شامل ۴ جیره غذایی به شرح زیر بوده است (Genc et al., 2007):

تیمار ۱(شاهد): جیره پایه آزمایشی بدون هیچ ماده افزودنی

تیمار ۲: جیره پایه آزمایشی به اضافه ۰/۵ گرم ایمنوستر در هر کیلوگرم جیره پایه

تیمار ۳: جیره پایه آزمایشی به اضافه ۱/۵ گرم ایمنوستر در هر کیلوگرم جیره پایه

تیمار ۴: جیره پایه آزمایشی به اضافه ۲/۵ گرم ایمنوستر در هر کیلوگرم جیره پایه

هر یک از تیمار های مذکور دارای ۳ تکرار بودند. پربیوتیک پس از حل شدن در میزان یکسان آب، به صورت کاملا یکنواخت بر روی مقدار متناظر از جیره پایه آسیاب شده، که برای تمام تیمار ها در هر نوبت مقدار یکسانی بود، سپس خمیر حاصل بوسیله دستگاه چرخ گوشت بصورت پلت درآورده شد. همان مقدار آب مورد استفاده سایر تیمارها نیز به جیره تیمار شاهد افزوده شده، با جیره مخلوط شده و خمیر حاصله را بصورت پلت در آورده می شد. غذادهی به صورت دستی و ۳ بار در روز تا حد سیری

انجام می گرفت. کلیه تیمارها به مدت ۶۰ روز و مطابق برنامه مذکور غذادهی شدند. در طول دوره آزمایش دمای آب به وسیله دماسنج جیوه‌ای، اکسیژن محلول توسط اکسیژن متر هاک[1] و pH آب از طریق دستگاه pH سنج هانا[2] اندازه‌گیری شد. میانگین دما، اکسیژن محلول و pH آب طی دوره ۲ ماهه پرورش از خرداد تا مرداد ماه ۱۳۹۱ در جدول ۲ آورده شده است:

جدول ۲- میانگین دما و pH در طول دوره آزمایش

دما	اکسیژن محلول	pH
۲۶-۲۸	۴-۵	۸-۹

عملیات زیست‌سنجی در ابتدا و انتهای دوره پرورش انجام گرفت. بدین منظور در هر نوبت تعداد ۵ قطعه بچه ماهی از هر یک از تانک‌ها به صورت تصادفی انتخاب و اعداد مربوط به طول کل و وزن آنها ثبت گردید. پس از اتمام دوره پرورش ماهیان موجود در هر تیمار شمارش و با استفاده از فرمول زیر درصد بازماندگی هر یک از تیمارها و تکرارها محاسبه شد(حسینی فر، ۱۳۸۸)(رابطه ۱) :

میزان بقا $= (Nt - N_0) \times 100$

۱) شاخص کیفیت(Jenkins *et al.*, 1999) (رابطه ۲) :

$$CF = \frac{W}{L^3} \times 100$$

CF : شاخص کیفیت W : وزن ماهی (وزن تر به گرم) L : طول ماهی (سانتی متر)

۲)درصد افزایش وزن بدن (Jenkins *et al.*, 1999) (رابطه ۳) :

$$\%BWG = \frac{BW_f - BW_i}{BW_i} \times 100$$

%BWG : درصد افزایش وزن بدن BW_f : وزن نهایی (گرم) BW_i : وزن اولیه (گرم)

۲) نرخ رشد ویژه (Grisdale-Helland et al., 2009) (رابطه ۴):

$$\%SGR = \frac{Ln W_f - Ln W_i}{t_2 - t_1} \times 100$$

W_f : وزن نهایی (گرم) W_i : وزن اولیه (گرم) $(t2 - t1)$: تعداد روزهای آزمایش

1. HACH
2 .HANA

۴) ضریب تبدیل غذایی (Grisdale-Helland et al., 2009) (رابطه۵):

$$FCR = \frac{F}{W_f - W_i}$$

FCR : ضریب تبدیل غذایی F : غذای مصرفی (وزن خشک به گرم)

W_f : وزن نهایی (وزن تر به گرم) W_i: وزن اولیه (وزن تر به گرم)

۵) میزان کارایی پروتئین(Grisdale-Helland et al., 2009) (رابطه ۶) :

$$PER = \frac{BW_f - BW_i}{AP}$$

BW_f : وزن نهایی (گرم) BW_i : وزن اولیه (گرم) AP : پروتئین مصرفی

به منظور بررسی کیفیت لاشه در انتهای دوره پرورش تعداد ۶-۵ قطعه ماهی به صورت کاملا تصادفی از هر تانک صید و پس از جداسازی گوشت و چرخ کردن در چرخ گوشت ترکیبات لاشه شامل درصد پروتئین، درصد چربی، درصد رطوبت (استاندارد ملی ایران به شماره ۸۴۳۸ و مطابق با استاندارد ایزو ۴۹۴

۶) و درصد خاکستر مطابق با استاندارد ملی ایران محاسبه گردید. عملیات فوق برای هر یک از ۱۲ نمونه انجام و درصد رطوبت به کمک رابطه زیر محاسبه گردید(رابطه ۷) :

$$w = \frac{m3 - (m5 - m4)}{m3} \times 100$$

۷) درصد پروتئین خام به روش کلدال بر اساس استاندارد ملی ایران به شماره ۱-۱۰۷۰۳ و مطابق با استاندارد ایزو ۱-۵۹۸۳ اندازه گیری شد.

۸) اندازه گیری مقدار چربی

درصد چربی بر اساس استاندارد ملی ایران به شماره ۱۰۷۰۰ و مطابق با استاندارد ۶۴۹۲ و با استفاده از رابطه ۸ محاسبه شد:

$$W = \frac{(m6 - m5)}{m4} \times 100$$

۹) درصد خاکستر کل

درصد خاکستر بر اساس استاندارد ملی ایران به شماره ۱۱۱۴۳ و مطابق با استاندارد ۵۹۸۴ و رابطه ۹ محاسبه شد:

$$W = \frac{m2-m0}{m1-m0} \times 100$$

۱۰) بررسی فلور باکتریایی دستگاه گوارش

برای انجام کشت باکتریایی، محیط کشت ام آر اس آگار (محصول شرکت QUELAB) و محیط کشت نوترینت (محصول شرکت QUELAB) مورد استفاده قرار گرفتند .

بعد از اتمام دوره پرورش ازهر تانک ۵ قطعه ماهی به صورت کاملاً تصادفی انتخاب شد و بدن انها با الکل ضدعفونی شد. پس از ضدعفونی‌کردن و شستشو با آب مقطر، نمونه‌ها با تیغ اسکالپل استریل، کالبدگشایی شده و روده آنها خارج شد. مونه‌های روده پس از تخلیه کامل محتویات، توزین و به منظور هموژن نمودن به هموژنایزر دستی منتقل گردید برای محیط کشت ام آر اس آگار ، ۵ مرحله رقیق‌سازی و برای محیط کشت نوترینت آگار تا ۶ مرحله رقیق‌سازی (هر مرحله رقیق سازی به نسبت ۱ واحد محتویات روده هموژن شده، به ۹ واحد آب مقطر استریل) انجام شد (تعداد مراحل رقیق‌سازی به صورت تجربی بدست آمد، از طریق آزمایش میزان رشد کلونی‌ها در مراحل مختلف رقیق‌سازی تا جایی که شمارش کلونی‌ها قابل قبول باشد). ۱۰۰ میکرو لیتر از محلول رقیق شده، بر روی محیط‌های کشت نوترینت آگار و ام آر اس آگار ، به روش Spread، کشت داده شد. پس از کشت، پتری دیش‌ها به مدت ۳۶-۲۴ ساعت ، درون انکوباتور، در دمای ۳۰ $^{\circ}$ C قرار داده شدند (Mahious et al., 2005).

نتیجه و تحلیل داده‌ها بر پایه طرح کاملاً تصادفی و آزمون آنالیز واریانس یک طرفه[1] در سطح اطمینان ۹۵٪ و تست تکمیلی دانکن توسط نرم افزار spss و رسم نمودارها توسط نرم افزار excel انجام گردید.

۳- نتایج

۳-۱- بازماندگی

یافته‌های بدست آمده از این تحقیق، نشان داد که افزودن پربیوتیک ایمنوستر به جیره غذایی ماهیان انگشت قد کپور معمولی، تأثیری در افزایش درصد بازماندگی نداشت (P>۰/۰۵).

۳-۲- شاخص‌های کارایی رشد

افزودن پربیوتیک ایمنوستر، به جیره غذایی ماهیان انگشت قد کپور معمولی، بر شاخص های رشد، تأثیر گذار بود(جدول ۳).

در روز ۶۰، بیشترین افزایش وزن بدن مربوط به تیمار ۳ بود که با سایر تیمارها دارای اختلاف معنی داری بود.تیمار ۲ و ۴ با هم اختلاف معنی‌داری نداشتند ولی با سایر تیمارها دارای اختلاف معنی داری

1 .One way Anova

بودند. تیمار شاهد با همه تیمارها دارای اختلاف معنی‌داری بود(P<۰/۰۵).

در روز ۶۰، بیشترین میزان شاخص وضعیت مربوط به تیمار ۳ بود که با تیمار شاهد اختلاف معنی داری نداشت ولی با تیمار ۲ و ۴ دارای اختلاف معنی‌داری بود. تیمار شاهد و تیمارهای ۲ و ۴، با هم اختلاف معنی‌داری نداشتند (P<۰/۰۵).

در روز ۶۰، تیمار ۳ دارای بیشترین میزان درصد افزایش وزن بدن بود که با سایر تیمارها دارای اختلاف معنی داری بود. تیمار ۲ و ۴ با هم اختلاف معنی‌داری نداشتند ولی با تیمار شاهد و تیمار ۳، دارای اختلاف معنی داری بودند. تیمار شاهد با سایر تیمارها دارای اختلاف معنی داری بود(P<۰/۰۵).

در روز ۶۰، بیشترین میزان نرخ رشد ویژه، مربوط به تیمار ۳ بود که با سایر تیمارها دارای اختلاف معنی‌داری بود. تیمار ۲ و ۴، با هم اختلاف معنی‌داری نداشتند ولی با سایر تیمارها دارای اختلاف معنی-داری بودند. تیمار شاهد با همه تیمارها دارای اختلاف معنی‌داری بود(P<۰/۰۵).

جدول ۳- افزایش وزن(گرم)، شاخص وضعیت، درصد افزایش وزن بدن و نرخ رشد ویژه در تیمارهای مختلف در روز ۶۰ آزمایش

تیمار	افزایش وزن	شاخص وضعیت	درصد افزایش وزن بدن	نرخ رشد ویژه
۱	^{a}۰/۹۲ ± ۲۴/۱۴	۱/۵۱ ± ۰/۰۷^{ab}	۲۰۲/۶۹ ± ۸/۸۵^{a}	۱/۸۳ ± ۰/۰۵^{a}
۲	۲۸/۱۱ ± ۰/۵۳^{b}	۱/۴۴ ± ۰/۰۱^{a}	۲۳۹/۱۲ ± ۷/۸۹^{b}	۲/۰۳ ± ۰/۰۳^{b}
۳	^{c}۰/۱۴ ± ۳۵/۰۷	۱/۶۳ ± ۰/۰۲^{b}	۲۹۶/۰۹ ± ۴/۰۵^{c}	۲/۲۸ ± ۰/۰۱^{c}
۴	۲۹/۳۴ ± ۰/۵۹^{b}	۱/۴۶ ± ۰/۰۱^{a}	۲۴۲/۰۱ ± ۴/۴۶^{b}	۲/۰۴ ± ۰/۰۲^{b}

(ستون هایی که دارای حروف لاتین مشابه هستند، از نظر آماری تفاوت معنی داری در سطح(P<۰/۰۵) ندارند)(میانگین ± S.D.).

۳-۳- شاخص‌های کارایی تغذیه

افزودن پربیوتیک ایمنوستر، به جیره غذایی ماهیان انگشت قد کپور معمولی، بر شاخص های کارایی تغذیه، تأثیرگذار بوده است (جدول۴). در روز ۶۰، کمترین میزان ضریب تبدیل غذایی، مربوط به تیمار ۳ بود که با سایر تیمارها دارای اختلاف معنی داری بود. تیمارهای ۱ و ۲ و ۴، با هم اختلاف معنی داری نداشتند ولی با تیمار ۳ دارای اختلاف معنی داری بودند(P<۰/۰۵). در روز ۶۰، بیشترین میزان کارایی پروتئین، مربوط به تیمار ۳ بود که اختلاف معنی داری با تمامی تیمارها داشت. تیمارهای ۱ و ۲ و ۴ اختلاف معنی داری با هم نداشتند ولی با تیمار ۳ دارای اختلاف معنی‌داری بودند(P<۰/۰۵).

جدول ۴- ضریب تبدیل غذایی و میزان کارایی پروتئین، در تیمارهای مختلف در روز ۶۰ آزمایش

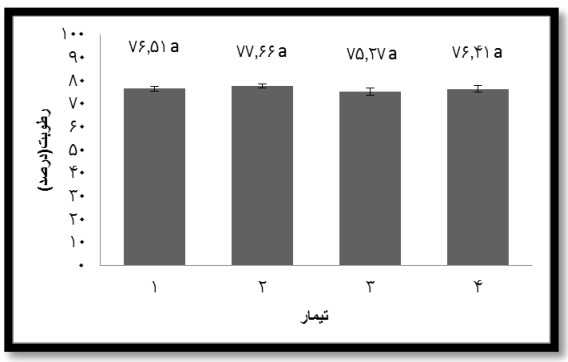
تیمار	ضریب تبدیل غذایی	میزان کارایی پروتئین
۱	^{b}۰/۰۸ ± ۱/۵۴	۱/۸۱ ± ۰/۰۹ ^{a}
۲	۱/۴۷ ± ۰/۰۱ ^{b}	۱/۸۸ ± ۰/۰۱ ^{a}
۳	^{a}۰/۰۱ ± ۱/۲۵	۲/۲۱ ± ۰/۰۱ ^{b}
۴	^{b}۰/۰۲ ± ۱/۴۲	۱/۹۴ ± ۰/۰۳ ^{a}

* (ستون هایی که دارای حروف لاتین مشابه هستند، از نظر آماری تفاوت معنی داری در سطح(P<۰/۰۵) ندارند)

۳-۴- نتایج حاصل از تأثیر جیره های مختلف غذایی بر کیفیت لاشه ماهیان

۱) رطوبت

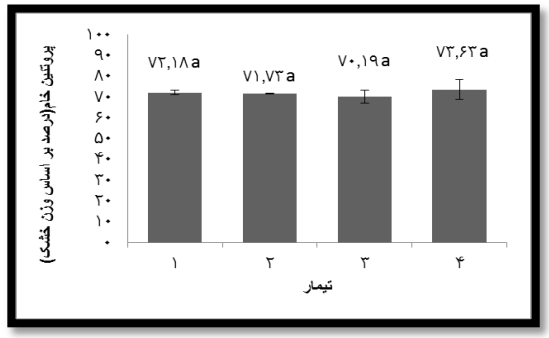
طی نتایج به دست آمده از آزمایش‌ها، بیشترین میانگین رطوبت موجود در لاشه ماهیان تغذیه شده توسط پربیوتیک ایمنوستر، مربوط به تیمار ۱ بود که با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری نداشت(P>۰/۰۵) (نمودار ۱).



نمودار۱- مقایسه میانگین رطوبت(درصد) لاشه ماهیان در تیمارهای تغذیه شده توسط پربیوتیک ایمنوستر طی دوره پرورش (ستون هایی که دارای حروف لاتین مشابه هستند، از نظر آماری تفاوت معنی‌داری در سطح(P<۰/۰۵) ندارند)

۲) پروتئین

طی نتایج به دست‌آمده از آزمایش ها، بیشترین میانگین پروتئین خام مربوط به تیمار ۴ بود که با سایر تیمارها اختلاف معنی داری نداشت(P>۰/۰۵) (نمودار۲).

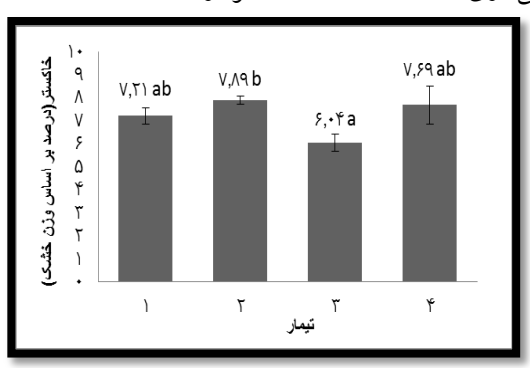


نمودار۲- مقایسه میانگین پروتئین خام لاشه ماهیان(درصد بر اساس وزن خشک) در تیمارهای تغذیه شده توسط پربیوتیک ایمنوستر طی دوره پرورش

* ستون هایی که دارای حروف لاتین مشابه هستند، از نظر آماری تفاوت معنی داری در سطح($P<۰/۰۵$) ندارند

۳) خاکستر

طی نتایج به دست آمده از آزمایش‌ها، بیشترین درصد خاکستر مربوط به تیمار ۲ بود که با تیمارهای ۴ و ۱، اختلاف معنی داری نداشت ولی با تیمار ۳ دارای اختلاف معنی‌داری بود. تیمارهای ۴ و ۱، با تیمارهای ۳ و ۲ اختلاف معنی‌داری نداشتند($P<۰/۰۵$) (نمودار۳).

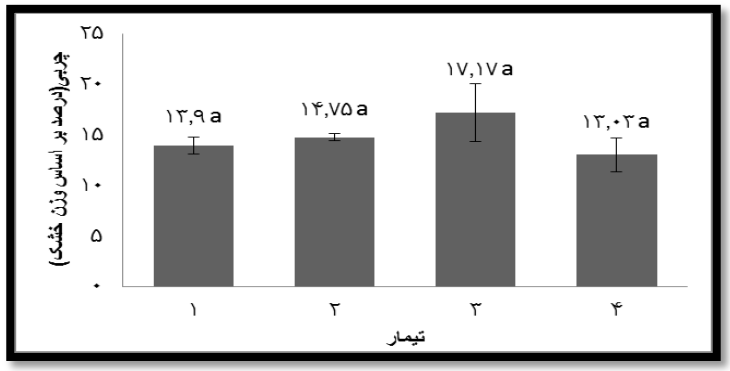


نمودار۳- مقایسه میانگین خاکستر لاشه ماهیان(درصد بر اساس وزن خشک) در تیمارهای تغذیه شده توسط پربیوتیک ایمنوستر طی دوره پرورش

* ستون هایی که دارای حروف لاتین مشابه هستند، از نظر آماری تفاوت معنی داری در سطح($P<۰/۰۵$) ندارند

۴) چربی

طی نتایج به دست آمده از آزمایش‌ها، بیشترین میانگین چربی، مربوط به تیمار ۳ بود که تفاوت معنی‌داری با سایر تیمارها نداشت($P>۰/۰۵$)(نمودار۴).



نمودار۴- مقایسه میانگین چربی لاشه ماهیان(درصد بر اساس وزن خشک) در تیمارهای تغذیه شده توسط پربیوتیک ایمنوستر طی دوره پرورش

* ستون هایی که دارای حروف لاتین مشابه هستند، از نظر آماری تفاوت معنی داری در سطح($P<۰/۰۵$) ندارند

۵) نتایج شمارش باکتریایی محتویات روده ماهیان در انتهای دوره آزمایش

در روز ۶۰، بیشترین تعدادلاکتوباسیلوس ها در تیمار ۴ دیده شد که با سایر تیمارها اختلاف معنی داری نداشت($P<۰/۰۵$). در روز ۶۰، بیشترین تعداد باکتری های کل، در تیمار ۳ دیده شد که با سایر تیمارها دارای اختلاف معنی داری بود. تیمار ۲، با تیمار شاهد و تیمار ۳ دارای اختلاف معنی داری بود ولی با تیمار ۴ اختلاف معنی داری نداشت. تیمار ۴، با تیمار شاهد و تیمار ۲، اختلاف معنی داری نداشت ولی با تیمار ۳ دارای اختلاف معنی داری بود($P<۰/۰۵$) (جدول ۵). جدول ۵- تعداد کل باکتری ها و لاکتوباسیلوس ها، در تیمارهای مختلف در روز ۶۰ آزمایش (ستون هایی که دارای حروف لاتین مشابه هستند، از نظر آماری تفاوت معنی داری در سطح($P<۰/۰۵$) ندارند)(میانگین $\pm$ S.D.).

تیمار	تعداد کل	لاکتوباسیلوس
۱	$^{b}(۶/۵\pm۰/۲۳)\times۱۰^{۷}$	$^{a}(۱/۴\pm۰/۳)\times۱۰^{۵}$
۲	$(۳/۹\pm۰/۷)\times۱۰^{۸\ a}$	$^{a}(۱/۶\pm۰/۰۸)\times۱۰^{۶}$
۳	$(۸/۵\pm۰/۶۶)\times۱۰^{۸\ c}$	$^{a}(۴/۱\pm۲/۴۲)\times۱۰^{۷}$
۴	$(۴/۳\pm۰/۱۷)\times۱۰^{۸ab}$	$^{a}(۶/۱۶\pm۱/۰۱)\times۱۰^{۶}$

۴- بحث و نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق پس از ۶۰ روز پرورش نشان داده که پربیوتیک مورد استفاده توانسته عملکرد رشد و تغذیه(افزایش وزن، درصد افزایش وزن بدن، ضریب رشد ویژه، ضریب تبدیل غذایی و میزان کارایی پروتئین) را نسبت به گروه شاهد به خوبی بهبود بخشد. افزودن اینولین به میزان ۷۵ گرم به ازاء هر کیلوگرم در جیره غذایی ماهی آزاد اقیانوس اطلس(*Salmo salar*) همراه با آنتی بیوتیک اکسی تتراسایکلین با تیمار شاهد، تفاوت معنی داری در طول و وزن نهایی به دست نیامد که احتمالا علت آن بالا بودن میزان اینولین در جیره غذایی است و همچنین احتمال تخمیر و تجزیه ناکافی و انباشت این کربوهیدرات در دستگاه گوارش بوده است که در نتیجه آن تاثیر نامطلوب و زیان بار بر سلول‌های انتروسیت روده ایجاد شده است(Bake-McKellep و همکاران، ۲۰۰۷). Vendermiatti و همکاران (۲۰۰۳)، تأثیر سطوح مختلف ۰/۲، ۰/۴، ۰/۶، ۰/۸ و ۱ درصد مانان الیگوساکارید را در ماهیان جوان تیلاپیای نیل(*Oreochromis niloticus*) بررسی کردند که افزایش سطح این پربیوتیک در جیره، مصرف غذای روزانه را کاهش داده که این موضوع در تضاد با نتایج حاصل از تحقیق حاضر می باشد. Mazurkiewicz و همکاران (۲۰۰۸)، اثرات سطوح مختلف (۱، ۲ و ۳ درصد) پربیوتیک تجاری فرماکتو را بر فاکتورهای رشد بچه ماهی نورس کپور معمولی(*Cyprinus carpio*) مورد بررسی قرار دادند. در ابن تحقیق مشخص شد که افزایش سطوح پربیوتیک فرماکتو بطور معنی داری سبب بهبود فاکتورهای رشد بچه ماهیان نورس کپور معمولی شده است.در این تحقیق بهترین سطح بکارگیری فرماکتو، سطح ۳ درصد بوده است. در سال ۲۰۰۱، Olsen و همکاران به تأثیر زیانبار اینولین بر روی انتروسیت‌های روده ماهی چار قطبی(*Salvelinus alpinus*) دست یافتند. در این مطالعه میزان به کار گرفته شده اینولین بسیار بالا(۱۵ درصد) بود که عدم توانایی باکتری های روده ای برای تخمیر آن منتج به انباشته شدن اینولین در روده و اثرات زیان‌بار بر انتروسیت‌ها شد که این نتایج بر خلاف نتایج حاصل از تحقیق حاضر می باشد. اکرمی و همکاران در سال ۱۳۸۷، تأثیر سطوح ۱، ۲و ۳ درصد اینولین را بر شاخص رشد و بقا فیل ماهیان (*Huso huso*) جوان پرورشی بررسی کردند که نتایج حاصله از این تحقیق نشان داد که پربیوتیک اینولین قابلیت تاثیرگذاری بالایی بر افزایش عملکرد رشد و کارایی تغذیه در فیل ماهیان پرورشی نداشت، همچنین سطح ۳ درصد این پربیوتیک باعث کاهش عملکرد رشد و تغذیه در این ماهیان در مقایسه با تیمار شاهد بوده است. مهمـترین محصول حاصل از متابولیسم پربیوتیک‌ها، اسیدهای چرب زنجیره کوتاه هستند (David et al., Mahimous and Oliver, 2005) که از طریق اپیتلیوم روده جذب می شوند و به عنوان یک منبع انرژی مهم برای میزبان تلقی شده و سبب تقویت انتروسیت‌ها و بهبود جذب مواد غذایی می‌شوند. تولید اسیدهای چرب زنجیره کوتاه و باکتری‌های اسید لاکتیک ناشی از تخمیر پربیوتیک-ها در روده، باعث افزایش رشد جاندار می گردند(Schely and Field, 2002). در تحقیق حاضر

مشخص شد که درصد بقا در تمام تیمارها ۱۰۰٪ بوده است و بین تیمارها اختلاف معنی داری مشاهده نشد. تعدادی از بررسی‌های انجام شده به اثر مثبت پروبیوتیک‌ها، پری بیوتیک‌ها و ترکیب آنها (سین-بیوتیک‌ها) در افزایش درصد بقاء در آبزیان مورد آزمایش اشاره کرده اند. در مطالعه‌ای که تأثیر سین-بیوتیک بایومین ایمبو بر بچه ماهی قزل‌آلای انگشت قد بررسی شد، تیمارهای تغذیه شده با سین بیوتیک از نظر پارامترهای رشدی و افزایش بازماندگی، اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد داشتند (Mahious etal., 2005). در تحقیق حاضر، نتایج حاصل نشان داد که بیشترین تعداد لاکتوباسیلوس‌ها در تیمار ۳ (۱/۵ گرم پربیوتیک) مشاهده شده است که با تیمارهای دیگر اختلاف معنی داری نداشته است. در روز ۶۰، بیشترین تعداد باکتری‌های کل، در تیمار ۳ دیده شد که با سایر تیمارها دارای اختلاف معنی‌داری بود. تیمار ۲، با تیمار شاهد و تیمار ۳ دارای اختلاف معنی‌داری بود ولی با تیمار ۴ اختلاف معنی داری نداشت. تیمار ۴، با تیمار شاهد و تیمار ۲، اختلاف معنی داری نداشت ولی با تیمار ۳ دارای اختلاف معنی‌داری بود($P<۰/۰۵$). استفاده از مکمل‌های غذایی پربیوتیکی در جیره آبزیان پرورشی منجر به کاهش فعالیت باکتری‌های نامطلوب و بهینه‌سازی تعادل جمعیت میکروبی دستگاه گوارش شده و تأثیر مطلوبی بر رشد و بقا آنها ایجاد می‌نماید (اکرمی و همکاران، ۱۳۸۹). افزایش تعداد لاکتوباسیلوس‌ها در روده از طریق به کارگیری موادی که خاصیت پربیوتیکی دارند، اثرات سودمندی را به دنبال خواهند داشت (پورامینی و حسینی‌فر، ۱۳۸۶). حسینی‌فر و همکاران (۲۰۱۰)، اثرات الیگوفروکتوز بر باکتری‌های پروبیوتیکی بومی روده بچه ماهی فیل ماهی را بررسی کردند. در این مطالعه مشخص گردید که سطح بهینه افزودن پربیوتیک الیگوفرکتوز به جیره بچه‌ماهی فیل ماهی جهت افزایش تعداد لاکتوباسیلوس‌ها سطح ۲٪ می‌باشد، زیرا تعداد لاکتوباسیلوس‌ها در تیمار ۳٪ کاهش معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد داشت. کاهش تعداد لاکتوباسیل ها احتمالاً در نتیجه عدم توانایی لاکتوباسیلوس‌ها در تخمیر مقادیر بالای الیگوفروکتوز در جیره و تجمع آن در روده می باشد. Mahious و همکاران (۲۰۰۵)، تاثیر اینولین و الیگوفروکتوز را به عنوان پربیوتیک بر رشد و فلور باکتریایی روده ماهی توربوت بررسی نمودند. در این تحقیق لارو ماهی توربوت (از سن ۲۹ روزگی تا ۵۵ روزگی) با جیره های آزمایشی حاوی ۲ درصد از پربیوتیک های مذکور تغذیه شدند. کشت فلور باکتریایی روده نشان داد سویه ویبریو باکتری غالب فلور روده است اما در ماهی های تغذیه شده با الیگوفروکتوز، ۱۴ درصد کل فلور باکتریایی جدا شده از روده این ماهیان به سویه باسیلوس تعلق داشت که موید مصرف این ماده توسط باسیلوس‌ها به عنوان سوبسترا برای رشد می‌باشد.

طی نتایج به دست آمده از آزمایش ها، بیشترین میانگین رطوبت موجود در لاشه ماهیان تغذیه شده توسط پربیوتیک ایمنوستر، مربوط به تیمار ۱ بود که با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری نداشت($P>۰/۰۵$).

همچنین بیشترین میانگین پروتئین خام مربوط به تیمار ۴ بود که با سایر تیمارها اختلاف معنی داری نداشت($P>۰/۰۵$). بیشترین درصد خاکستر مربوط به تیمار ۲ بود که با تیمارهای ۴ و ۱، اختلاف معنی-

داری نداشت ولی با تیمار ۳ دارای اختلاف معنی‌داری بود. تیمارهای ۴ و ۱، با تیمارهای ۳ و ۲ اختلاف معنی‌داری نداشتند ($P<۰/۰۵$). در تحقیق حاضر در میزان چربی موجود در لاشه ماهیان اختلاف معنی-داری مشاهده نشد ($P<۰/۰۵$). در برخی مطالعات دیگر نیز مشابه تحقیق حاضر افزودن پربیوتیک به جیره تفاوت معنی داری در ترکیبات مغذی لاشه ایجاد نکرده است. هلاند و همکاران در سال ۲۰۰۹ با اضافه-کردن ۳ نوع پربیوتیک مانان الیگوساکارید، فروکتوالیگوساکارید و گالاکتوالیگوساکارید به میزان ۱۰ گرم در هر کیلوگرم جیره در آزاد ماهی اقیانوس اطلس تفاوت معنی‌داری را در میزان پروتئین خام، چربی و خاکستر لاشه بین تیمارهای حاوی پربیوتیک و تیمار شاهد مشاهده نکردند.

تفاوت‌های موجود در نتایج تحقیق‌های مختلف می‌تواند در اثر تفاوت در گونه ماهیان، عادات تغذیه-ای، سن ماهیان و مرحله رشد، طول دوره پرورش و نوع پربیوتیک مصرفی باشد.

۵- نتیجه‌گیری

استفاده از پربیوتیک ایمنوستر منجر به کاهش ضریب تبدیل غذایی، افزایش میزان کارایی پروتئین و افزایش وزن بیش تر بچه ماهیان کپور معمولی شده است. در نتیجه استفاده از پربیوتیک ایمنوستر می‌تواند به لحاظ اقتصادی تأثیر مثبت در هزینه‌های پرورش بچه ماهیان کپور معمولی داشته باشد. پربیوتیک مورد نظر در این تحقیق، از طریق بهبود فلور باکتریایی روده و افزایش تعداد باکتری‌های لاکتوباسیلوس باعث بهبود شرایط و افزایش فاکتورهای رشد بچه ماهیان کپور شده است.

منابع

۱. **اکرمی، ر.، قیلیچی، ا.، ابراهیمی، ا.، (۱۳۸۷)** . تأثیر سطوح مختلف پربیوتیک اینولین بر رشد و زنده مانی ماهی قزل آلای رنگین‌کمان(*Oncorhynchus mykiss*). خلاصه مقالات اولین کنفرانس ملی علوم شیلات و آبزیان ایران، صفحه ۱۲-۱۰.

۲. **پورامینی، م. حسینی فر، س.ح.، (۱۳۸۶)**. کاربرد پروبیوتیک‌ها و پری بیوتیک‌ها در آبزی پروری. موج سبز. ۳۱-۲۹

۳. **حسینی‌فر، س.ح.، (۱۳۸۸)**. اثرات استفاده از پربیوتیک الیگوفروکتوز بر غالبیت جنس لاکتوباسیلوس در فلور باکتریایی روده، بقا، فاکتورهای خونی و بافت کبد بچه فیل ماهی(*Huso huso*). پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه تهران، ۱۳۱ صفحه.

۴. **سایت سازمان استاندارد.** www.isiri.org

۵. **نظری، ر.م. (۱۳۷۷)**. آشنایی با تکثیر و پرورش آبزیان. انتشارات معاونت تکثیر و پرورش آبزیان. اداره کل آموزش و ترویج. صفحه ۷.

6. **Bakke-McKellep,A., Penn,M., Mora Salas,P., Refsite,S., Sperstad,S., Landsverk,T., Ringo,E., Krogdahl,A., (2007).** Effects of dietary soybean meal,

inulin and oxytetracycline on intestinal microbiota and epithelial cell stress, apoptosis and proliferation in the teleost Atlantic salmon (*Salmo salar L*.). The Brithish journal of nutrition, 97(4), 699-713.

7.**David, J.A., Jenkiss, C.W.C., Vladimir, V., (1999**). Inulin, oligofructose and intestinal function. Journal of Nutrition, 129, 1431-1433.

8. **Genc, M., Yilmaz, E., Genc, E., (2007).** Effects of dietary Mannan-oligosaccharide on growth, intestine and liver histology of the Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. The Israeli journal of Aquaculture-Bamidgeh 59 (1), 12-17.

9.**Ghosh, S., Sinha, A., Sahu, C., (2007).** Effect of probiotic on reproductive performance in female livebearing ornamental fish. Aquaculture Research, 38; 518–526

10.**Gibson, G.R. and Roberfroid, M.B. 1995.** Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. Journal of Nutrition 125, 1401-1412.

11.**Grisdale-Helland, B., Helland S.J., Gatlin, D.M., (2009).** The effects of dietary supplementation with mannanoligosaccharide, fructooligosaccharide or galactooligosaccharide on the growth and feed utilization of Atlantic salmon (*Salmo salar*). Aquaculture, 283, 163–167.

12.**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, 19(4), 110-119.

13. **Jenkins, David, J.A., Kendall, Cyril W.C. and Vuksan, Vladimir. (1999).** Inulin, Oligofructose and Intestinal Function. Presented at the conference Nutritional and Health Benefits of Inulin and Oligofructose held May 18-19, 1998 in Bethesda, MD.

14. **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* (Linnaeus, C. 1758). Aquaculture International, 14(3), 219-229.

15. **Mazurkiewicz, J., Przybył, A., Golski, Janusz., (2008).** Usability of fermacto prebiotic in feeds for common carp (*Cyprinus carpio* L.) fry. Nauka Przyr. Technol. 2(3), 15-24.

16. **Schely, P.D. and Feild, C.J., (2002).** The immune-enhancing effects of dietary fibres and prebiotics. British Journal Nutrition 87, 227-230.

17. **Taati, R., Abolghasemi, S. J., Tatina, M. and Nasri Tajan, M., (2012).** Influence of prebiotic Immunowall on growth performance, body composition and immunophysiological variables in juvenile great sturgeon, *Huso huso*. Annals of Biological Research.

18.**Vendemiatti, J.A., Costa, A.B., and Cyrino, J.E.P., (2003).** Mananoligossacarıide os alimentares (MOS) comoagentes profila´ticos das infeccxo˜es por Edwardsiellatarda em Tila´pia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). Journal of the world aquaculture society, Pages 132–140:

19.**Sen, R.E., Myklebust, R., Kryvi, H., Mayhew, T.M., Ringø, E., (2001).**Damaging effect of dietary inulin on intestinal enterocytes in Arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.). Aquaculture Resources 32, 931–934.