

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 35 ± 2 به ۴ تیمار تقسیم گردیدند، تیمارها به ترتیب با خوراک حاوی ایمونوژن با سطوح، صفر، ۱/۵، 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 ($p < 0/05$). 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 ($p < 0/05$). چربی، خاکستر و رطوبت اختلاف معنی‌داری در بین تیمارها نداشت ($p > 0/05$)، هر چند 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*)

● 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 galcan 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 microflora of gut and *Lactobacillus* population plus carcass protein level.

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

مقدمه

یکی از جدیدترین ایده‌ها در خصوص پروبیوتیک‌ها بهبود مناسب جمعیت میکروبی میزبان بوده که از طریق دستکاری جمعیت باکتری در آبزیان به روش غنی‌سازی، اضافه کردن باکتری‌های پروبیوتیکی از جمله لاکتوباسیل‌ها، مخمرها و باسیلوس‌ها، به آب محیط پرورشی آبزیان و تلقیح برخی از ترکیبات طبیعی به جیره غذایی آبزیان می‌باشد (Ringo و Birkbeck، ۱۹۹۹). به دلیل آنکه سویه‌های پروبیوتیکی، فقط از طریق تیمارهای تغذیه‌ای در دستگاه گوارش غالب هستند و از طرفی قابلیت زنده‌مانی سویه‌های پروبیوتیکی در طی عمل‌آوری ساخت جیره‌های غذایی و ذخیره‌سازی آن‌ها نیز یک محدودیت عمده در استفاده از پروبیوتیک‌ها در آبی پروری می‌باشد، Mahious و همکاران (۲۰۰۵) همچنین امکان رقابت پروبیوتیک معرفی شده با برخی میکروارگانیسم‌های میکروفلور روده و توانایی تثبیت و تشکیل کلنی موثر سبب شد تا محققین به فکر ارائه راه کارهای جدید در این راستا برآیند (Mahious و همکاران ۲۰۰۵). استفاده از پری‌بیوتیک‌ها که عناصر غذایی غیرقابل هضمی هستند و در ماهی از طریق بهبود رشد و یا اثر بر عملکرد متابولیسم باکتری‌های مفید در روده اثر می‌گذارند، مبحث جدیدی در آبی پروری می‌باشد. مشخص شده است که

در میان کربوهیدرات‌ها، اینولین، الیگوفروکتوز، ترانس گالاکتوالیگوساکارید و لاکتوز را می‌توان به عنوان پری‌بیوتیک استفاده کرد. مکمل مانان الیگو ساکارید در جیره‌ی غذایی ماهیان به عنوان یک بهبود دهنده‌ی سلامتی و عملکرد رشد به اثبات رسیده است. Staykov و همکاران (۲۰۰۷)، Torrecillas و همکاران (۲۰۰۷)، Burr و همکاران (۲۰۰۸). همچنین به عنوان اصلاح کننده‌ی میکروفلور دستگاه گوارش Salze و همکاران (۲۰۰۸)، Jafarzadeh و همکاران (۲۰۱۰) و اصلاح کننده‌ی میکروفلور روده شناخته شده است. یک میکروفلور متعادل و معمولی در روده می‌تواند جاندار را در برابر هجوم میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا به خوبی حفاظت نماید. هدف از به کارگیری محصولات زنده میکروبی، تأثیر آن بر روی فعالیت میکروبی‌های دستگاه گوارش از طریق تثبیت میکروبی‌های 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 متابولیسم پری بیوتیک‌ها، اسیدهای چرب زنجیره کوتاه هستند (Jen-iss و همکاران ۱۹۹۹، Mahious و Ollivier، ۲۰۰۵) که از طریق اپی تلیم روده جذب می‌شوند و به عنوان یک منبع انرژی مهم برای میزبان تلقی شده و سبب بهبود جذب مواد غذایی می‌شوند. باکتری‌های بومی روده

مدت ۳۰ دقیقه به وسیله هم زن برقی مخلوط شدند. سپس مقداری آب به مواد اضافه شده و ترکیبات دوباره به مدت ۱۵ دقیقه دیگر مخلوط شدند. سپس با استفاده از چرخ گوشت صنعتی به قطر ۳ میلیمتر به رشته‌های بلند تبدیل گردید و ادامه جهت خشک شدن در دستگاه خشک کن به مدت ۷ ساعت در دمای ۵۰-۶۰ درجه سانتیگراد قرار داده شد. پس از آن در اندازه‌ی مناسب (۸ میلیمتر و قطر ۳ میلیمتر) به صورت پلت تهیه گردید (Sudagar و همکاران، ۲۰۰۴).

تغذیه ماهی‌ها با جیره‌های آزمایشی

بچه ماهی‌ها در طول دوره تحقیق با خوراک ماهی (ساخت شرکت ماهی کارون) با ترکیب غذایی ۲۱/۵ درصد پروتئین، ۴/۲ درصد چربی، ۵ درصد خاکستر 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 گردید (Zaccorrate و همکاران، ۱۹۹۶) و جهت به حداقل رساندن 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.

اندازه‌گیری و ثبت عوامل فیزیکی و شیمیایی آب

کیفیت آب در طول دوره پرورش در حدی قابل قبول و تقریباً ثابت بود. شستشوی مخازن نیز بطور روزانه صورت گرفت. پارامترهای فیزیکی و شیمیایی آب از قبیل اکسیژن، دما، pH، شوری و هدایت الکتریکی به صورت روزانه اندازه‌گیری و ثبت شد. پارامترهای کیفی آب از قبیل آمونیاک، نیترات نیز به صورت هفتگی مورد ارزیابی قرار گرفت. میانگین دمای آب حوضچه‌ها در طول دوره پرورش 1 ± 28 درجه سانتیگراد 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 شکمی غذادهی به مدت دو روز متوقف گردید و عملیات برداشت آغاز شد. بدین ترتیب که پس از بیهوش کردن ماهی‌ها و ثبت اطلاعات زیست سنجی لاشه آن‌ها پس از یخ‌گذاری در محفظه‌های عایق، سریعاً به آزمایشگاه منتقل گردید و آنالیز ترکیب شیمیایی بدن انجام شد.

فلور باکتریایی روده

نمونه‌گیری از فلور میکروبی روده پس از ۹۰ روز غذادهی با جیره‌ی حاوی ایمونوژن انجام گرفت. برای نمونه‌گیری ابتدا ۲۴ ساعت قبل از نمونه‌برداری تغذیه ماهیان قطع شد. ماهی‌ها با وارد نمودن ضربه به سر آسان‌کشی شدند و کالبدگشایی با رعایت شرایط استریل انجام گرفت. روده در حد فاصل بعد از مری و ۰/۵ سانتی‌متر مانده به مخرج قطع شده، محتویات روده‌ای با مالش ملایم تیغ اسکالپل خارج گردید. سپس این محتویات در ۹ میلی‌لیتر از سرم فیزیولوژی ۹ در هزار رقیق گردید

قادرنه به طور گزینشی پری‌بیوتیک‌ها را تخمیر کنند. تخمیر سوبستراهی موجود در روده سبب افزایش انرژی و رشد این باکتری‌ها می‌شود که این روند خود اثرات مفیدی از طریق تقویت میکروفلور روده و ممانعت از تشکیل باکتری‌های بیماری‌زا را به دنبال دارد. با وجود مشخص شدن اثرات مفید پری‌بیوتیک‌ها، تحقیقات بسیار کمی در این زمینه انجام شده است و هنوز بسیاری از جنبه‌های افزودن پری‌بیوتیک به جیره مشخص نشده است (Mahious و Ollevier، ۲۰۰۵). پری‌بیوتیک تجاری ایمونوژن شامل 3 ± 30 درصد (۱ و ۳-۶) بتاگلوکان، 3 ± 18 درصد مانان الیگوساکارید، ۳۲ درصد پروتئین، ۸ درصد خاکستر، ۸ درصد رطوبت و ۱/۴ درصد فیبر می‌باشد (Estarabadi و همکاران، ۲۰۱۰). مصرف این محصول به طور کلی باعث پیشگیری از اسهال، ایمنی‌زا، جایگزین آنتی‌بیوتیک، محرک رشد و جاذب مایکوتوکسین می‌شود. از آنجا که پری‌بیوتیک‌ها باعث بهبود رشد و تعادل میکروفلور روده و افزایش مکانیسم دفاعی میزبان می‌شوند، مطالعاتی در زمینه بررسی تأثیر پری‌بیوتیک‌های مختلف بر فلور باکتریایی دستگاه گوارش ماهیان انجام شد. نام علمی مورد مطالعه *Barbus grypus* می‌باشد که از ماهیان مهم بومی استان خوزستان و کشور محسوب می‌گردد. در منابع، نام‌های مترادف تورگریپوس و لبوباربوس کوشچی برای آن ذکر شده 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 مورد استفاده از پری‌بیوتیک‌ها در ماهیان بومی استان خوزستان و بررسی اثر ایمونوژن بر فلور باکتریایی روده و ترکیب لاشه ماهی شیربت هدف این تحقیق قرار گرفت.

مواد و روش کار

تأمین بچه‌ماهی و معرفی آن‌ها به محیط آزمایشی

تعداد ۳۶۰ قطعه بچه ماهی با وزن ابتدایی 2 ± 35 گرم از مرکز تکثیر ماهیان گرمابی شهید ملکی اهواز برای این آزمایشات تهیه شد و با ماشین مخصوص حمل ماهی زنده به سالن آکواریوم دانشکده دامپزشکی منتقل گردید و دو هفته قبل از آغاز مطالعه با شرایط استاندارد فراهم شده در بخش بیماری‌های آبزیان سازگار شدند.

گروه‌های آزمایشی

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

تهیه غذا

ابتدا مواد خشک غذا و پری‌بیوتیک ایمونوژن با نسبت‌های از پیش تعیین شده جهت گروه‌های آزمایشی به وسیله ترازوی دیجیتال توزین و به

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:

$$\text{درصد رطوبت} = \text{وزن اولیه نمونه} - (\text{وزن ثانویه نمونه} / \text{وزن اولیه نمونه} \times ۱۰۰)$$

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 نرمالیده داده‌ها از روش (KS) توسط آنالیزواریانس یک طرفه آنوا (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 و 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 طوری که 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 ۱/۵ درصد 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 در ماهی شیریت تغذیه شده

(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.

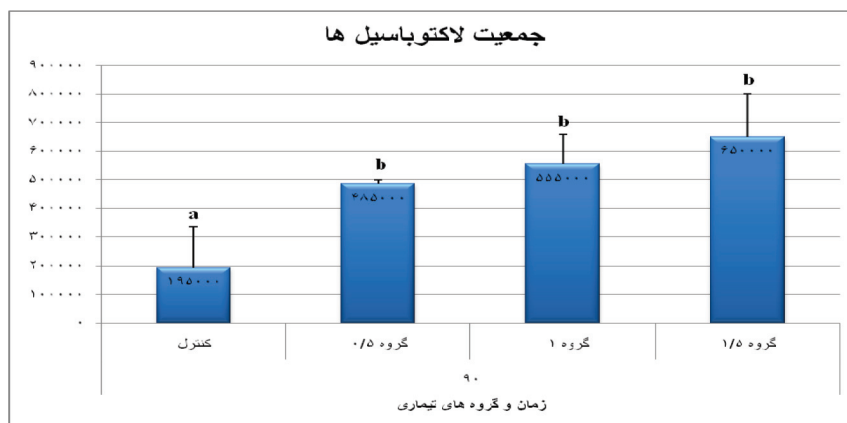
اندازه‌گیری چربی

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:

$$۱۰۰ \times (\text{وزن نمونه} / \text{چربی استخراجی}) = \text{درصد وزن چربی خام}$$

اندازه‌گیری 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:

$$۱۰۰ \times (\text{وزن نمونه} / \text{وزن خاکستر}) = \text{درصد وزن خاکستر}$$


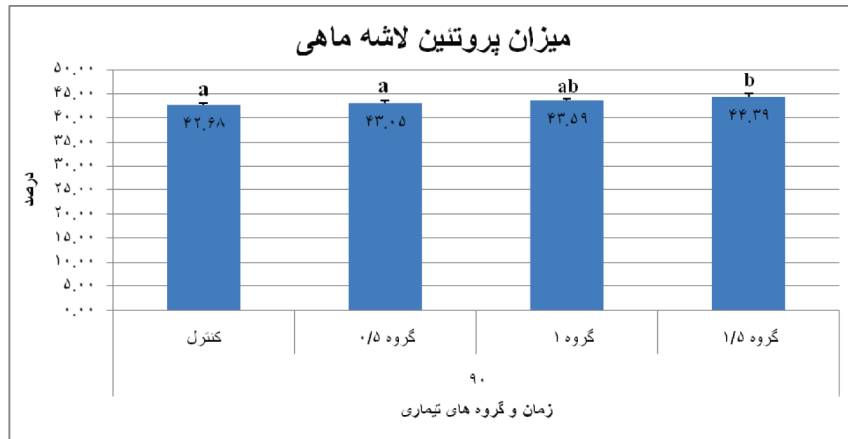
نمودار ۱ - جمعیت لاکتوباسیل‌های دستگاه گوارش

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.

با سطوح مختلف ایمونوژن در نمودار زیر نشان داده شده است. همان‌طور که از نمودار مشخص است در پروتئین لاشه اختلاف معنی‌داری در تیمار ۱ و تیمار ۰/۵ با گروه کنترل مشاهده نشد ($p \geq 0/05$). ولی اختلاف معنی‌داری بین گروه تیماری ۱/۵ درصد با گروه کنترل و تیمار ۰/۵ مشاهده شد ($p < 0/05$). همچنین تیمار ۱/۵ درصد



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

با توجه به نمودار باید گفت که درصد رطوبت خام بین سطوح مختلف ایمونوژن در ماهی اختلاف معنی‌داری نداشته است ($p \geq 0/05$).

اندازه‌گیری خاکستر

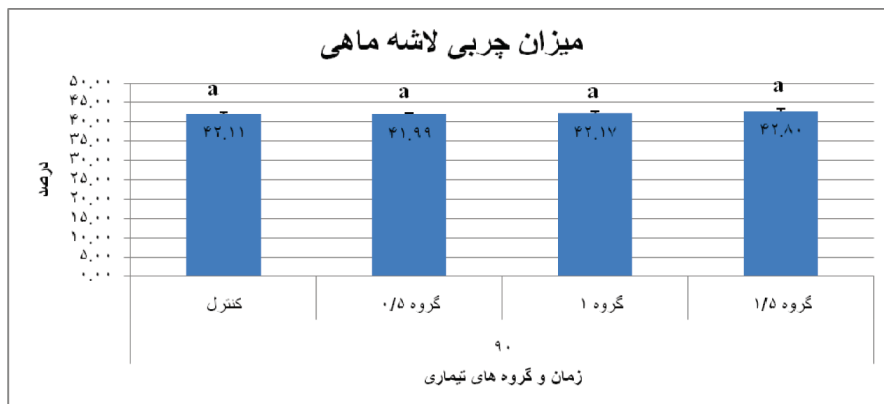
نتایج مربوط به اندازه‌گیری خاکستر در ماهی شیربت تغذیه شده با سطوح مختلف ایمونوژن در شکل ۵ نشان داده شده است.

همان‌طور که در نمودار مشخص است درصد خاکستر بین سطوح مختلف ایمونوژن اختلاف معنی‌داری نداشته است ($p \geq 0/05$).

طبق این نمودار اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای مختلف در سطح چربی خام با تیمار کنترل دیده نمی‌شود ($p > 0/05$), هرچند که تیمار ۱/۵ درصد نسبت به سایر تیمارها افزایش در میزان چربی داشت.

اندازه‌گیری رطوبت خام

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

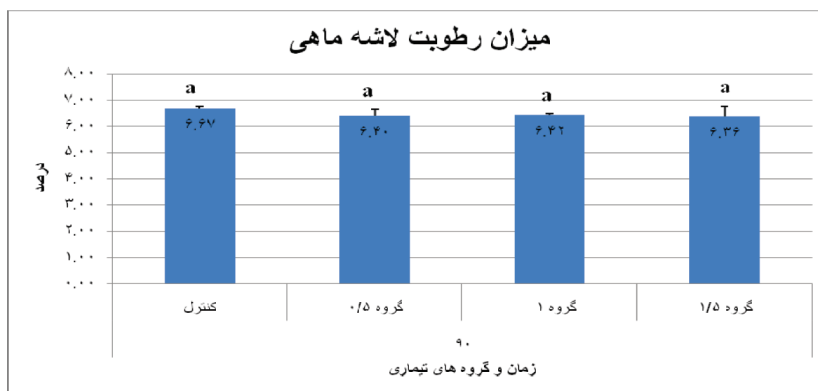


نمودار ۳- درصد چربی خام لاشه در تیمارهای تغذیه شده با غلظت های مختلف ایمونوژن

عفونت‌زا را کاهش داده و میزان بازماندگی در مواجهه با عوامل بیماری‌زا را افزایش می‌دهند. بکارگیری موثر پری بیوتیک‌ها در آبزبان نیازمند شناخت جمعیت و نوع میکروب های لوله گوارشی آبزبان می‌باشد. باکتری‌های بومی روده قادرند بطور گزینشی پری بیوتیک‌ها را تخمیر کنند. این

بحث و نتیجه گیری

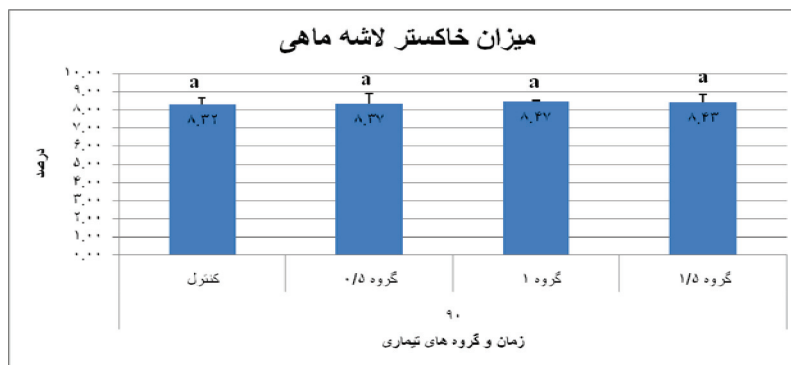
امروزه استفاده از پری بیوتیک‌ها به عنوان یک ایده در دامپرووری مطرح شده است. از آنجا که این ترکیبات غیرقابل هضم هستند، عقیده بر این است که از طریق بهبود فلور باکتریایی روده، اثرات زیان بار عوامل



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

مطالعه حاضر جمعیت لاکتوباسیل‌های روده ماهیان شیربت سه تیمار تغذیه شده با سطوح مختلف ایمونوژن اختلاف معنی داری با گروه شاهد داشتند ($p < 0.05$) ولی اختلاف معنی داری بین تیمارها ۱، ۱/۵ و ۱/۵ درصد دیده

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



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

رشد باکتری های اسید لاکتیک را فراهم می‌کند (Field و Schley, 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 (۱۵ درصد جیره) به جای ۱۵ درصد دکستروز، سبب کاهش سطح جمعیت باکتریایی در روده از ۱۰۵/۴ به ۱۰۴/۳ می‌گردد. همچنین مشخص گردید که ماهیانی که از اینولین تغذیه کرده بودند فلور باکتریایی غالب روده خلفی آن‌ها را غالباً

نشد ($p \geq 0.05$) هرچند که تیمار ۱/۵ درصد نسبت به سایر گروه‌ها افزایش بیشتری نشان داد، می‌توان بیان نمود که احتمالاً افزایش فاصله غلظت‌ها می‌تواند سبب ایجاد تفاوت‌های معنی دار نیز گردد. بر طبق گزارشات متعدد، پری بیوتیک‌ها 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 پری بیوتیک، منجر به کاهش pH روده می‌شود که شرایط مناسب برای

چربی و پروتئین لاشه در مقایسه با گروه شاهد مشاهده نگردید. در مطالعه تغییرات ترکیبات لاشه بچه ماهیان قزل آلائی 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 معنی‌دار 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 ایمونوژن قابلیت تأثیرگذار بر افزایش جمعیت باکتری‌های تولید کننده اسید لاکتیک و ترکیبات لاشه در بچه ماهیان شیرت را دارد که این تأثیرات در سطح ۱/۵ درصد واضح تر می‌باشند.

پاورقی‌ها

- 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. Poultry 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 application 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-

باکتری‌های گرم مثبت جنس استافیلوکوکوس، 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 ۱۴ درصد 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 جیره‌های 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 بی‌هوازی افزایش می‌یابد که این تغییر در اینولین ۲ درصد بیشتر از اینولین ۰/۵ درصد می‌باشد. فلور باکتری‌های 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 ویتامین‌ها) 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 پری‌بیوتیکی 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 ۱۵ درصد جیره) اثر تخریب کننده‌ای بر روی انتروسیت‌های ماهی داشت.

تشکیل یک کلنی غالب از باکتری‌های 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 ($p < 0/05$). اما درصد چربی و خاکستر و رطوبت نسبت به تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری نشان ندادند ($p > 0/05$). 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

class 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. 1st 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- Zaccorrate, I. Gasco, L. Sicuro, B. Palmegiano, G. B. and Luzzana, U. (1996). Use of by-product from poultry slaughtering in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Rivista Italiana diaquacultura*. 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.

