فصلنامه علمی ـ پژوهشی دورهٔ ۵، شمارهٔ ٤، زمستان ۱۳۹۵، صفحه ۷۱- ۸۳

مطالعه تأثیر سینبیوسیس فروکتوالیگوساکارید با پروبیوتیک‌های پدیوکوکوس اسیدی لاکتیسی(*Pediococcus acidilactici*) و لاکتوکوکوس لاکتیس (*Lactococcus lactis*) بر برخی شاخص‌های رشد، هماتولوژی و فلور باکتریایی دستگاه گوارش بچه ماهی سفید (*Rutilus frisii kutum* Kamenskii 1901) دریای خزر

مهدی سلطانی[1*]، سید سعید میرزرگر[1]، غلامرضا بادزهره[1]، مهرداد فرهنگی[2]، علیرضا ولی‌پور[3]

۱- استاد، گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران
۲- دانشیار، گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران
۳- دانشجوی دکتری، بهداشت آبزیان دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران
٤- دانشیار، گروه شیلات دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج
۵- استادیار، پژوهشکده آبزی‌پروری آب‌های داخلی، بندرانزلی

دریافت: ۹٤/۱۰/۱۳ پذیرش: ۹۵/۰۱/۲۱

*نویسنده مسئول: msoltani@ut.ac.ir

چکیده:

هدف از این تحقیق بررسی تأثیر سینبیوسیس پربیوتیک فروکتوالیگوساکارید و باکتری‌های پروبیوتیک پدیوکوکوس اسیدی لاکتیسی و لاکتوکوکوس لاکتیس بر شاخص‌های رشد، فاکتورهای خونی و میکروبیوتای روده بچه ماهی سفید دریای خزر است. براساس کشت باکتری‌ها در شرایط آزمایشگاهی و تولید اسیدهای چرب کوتاه زنجیر سه تیمار با غلظت یکسان ۰/۵ درصد فروکتوالیگوساکارید به‌اضافه لاکتوکوس‌لاکتیس و پدیوکوکوس‌اسیدی‌لاکتیکی به‌ترتیب با غلظت 10^{10} و 10^{7} (تیمار اول)، 10^{10} و 10^{10} (تیمار دوم) و 10^{7} و 10^{10} (تیمار سوم) کلنی بر گرم غذا انتخاب شد. ماهیان سفید با میانگین وزن (۰/۰۲± ۰/۷۵)گرم انتخاب و پس از دو هفته سازگاری با تراکم ٤۰۰ قطعه در تانک‌های فایبرگلاس با حجم آبگیری ۱۰۰۰ لیتر رهاسازی و ٦۰ روز پرورش یافتند. نتایج بررسی نشان داد شاخص وزن نهایی، ضریب تبدیل غذایی و ضریب رشد ویژه در تیمارهای مورد بررسی در مقایسه با تیمار شاهد به‌صورت معناداری بهتر می‌باشد ($p<0/05$). در ضمن در تیمار ۱ وزن نهایی برابر ۱/٦۷ گرم، ضریب تبدیل غذایی به میزان ۲ و ضریب رشد ویژه با مقدار ۱/۳٤ به‌صورت معناداری بهتر از سایر تیمارها بود. از نظر شاخص‌های خونی بین تیمارها اختلاف معناداری مشاهده نشد، اما میزان ایمونوگلوبولین در تیمار ۱ با مقدار ۲۲/۳۳ mg/ml به‌صورت معناداری بیشتر از سایر تیمارها است ($p<0/05$). تعداد باکتری‌های اسید لاکتیک نیز در تیمار ۱ با ۵/۲ و تیمار۳ با ۵ لگاریتم کلنی بر گرم به‌صورت معناداری بیشتر از سایر تیمارها بود. نتایج این تحقیق نشان داد پروبیوتیک و پربیوتیک بررسی شده در این مطالعه می‌تواند اثر سینبیوسیس مطلوبی روی بچه ماهی سفید دریای خزر داشته باشد.

کلید واژگان: بچه ماهی سفید دریای خزر، سینبیوسیس، رشد، میکروبیوتای روده

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-20]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.4.3.4]

مقدمه

با توجه به اثرهای نامطلوب استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در جیره غذایی آبزیان و ممنوعیت مصرف این ترکیبات از سوی اتحادیه اروپا (Denev., 2009)، در سال‌های اخیر یکی از راهکارهای جدید، بهبود فلور دستگاه گوارش آبزیان و تلاش به‌منظور افزایش تولید و جلوگیری از میزان تلفات با استفاده از پروبیوتیک‌ها (Probiotics) و پری‌بیوتیک‌ها (Prebiotics) است. بررسی‌های محققان در سال‌های اخیر نشان داده است که استفاده از پرو و پربیوتیک‌ها در جیره غذایی آبزیان تأثیرهای مثبتی بر فلور باکتریایی دستگاه گوارش آبزیان بر جای گذاشته و باعث بهبود شاخص‌های رشد، کارایی تغذیه، ایمنی و بازماندگی در آبزیان مختلف شده است. در سال‌های اخیر بر استفاده تلفیقی از این افزودنی‌های غذایی نیز که در اصطلاح سین بیوسیس (Synbiosis) گفته می‌شود، تأکید شده و کاربرد آن نتایج خوبی نیز داشته است، زیرا مصرف توأم پروبیوتیک و پربیوتیک می‌تواند تأثیر بیشتری بر شاخص‌های مذکور داشته باشد که این امر ناشی از فراهم شدن غذای پروبیوتیک توسط پربیوتیک می‌باشد. به عبارت دیگر، پروبیوتیک‌ها با مصرف پربیوتیک‌ها به‌عنوان غذای خود از رشد و ماندگاری بیشتری برخوردار بوده و در نتیجه موجب بهبود رشد و ایمنوفیزیولوژی ماهی می‌شوند. به‌علاوه آن دسته از پربیوتیک‌هایی که واجد ترکیبات گلوکانی هستند، خود موجب تحریک برخی پاسخ‌های ایمنی جانور شده و از این نظر نیز مفید می‌باشند. برای مثال در مطالعه‌ای بر روی تأثیر آرتمیای غنی شده با یک ترکیب سینبیوسیس محتوای باکتری باسیلوس و مانان الیگوساکارید در لارو لابستر (*Homarus gammarus*) نشان داده شد که ضریب رشد ویژه، ضریب تبدیل غذایی و وزن نهایی موجود متأثر از سینبیوسیس مصرفی به‌طور معناداری بیشتر شده و علت افزایش وزن به‌دلیل افزایش طول و تراکم میکروویلی‌های روده در این آبزی بوده است (Daniel et al., 2010). در مطالعه دیگری بر روی تأثیر ترکیب سینبیوسیس تجاری Biomin imbo در ماهی سفید دریای خزر، شاخص‌های رشد افزایش و هزینه تمام شده جیره نیز با مصرف آن به‌طور معناداری کاهش یافته است (Haghighi et al., 2010). همچنین در مطالعه‌ای دیگر بر روی ماهی فلاندر (*Paralichthys olivaceus*) نشان داده شد که اثر سینبیوتیکی فروکتوالیگوساکارید، مانان الیگوساکارید و باسیلوس *سابتیلیس* در افزایش شاخص‌های رشد و فعالیت آنزیمی بهتر از مصرف جداگانه آنها بوده است (Ye et al ., 2011). در تحقیق دیگر نیز اثر سینبیوتیکی کیتوزان الیگوساکارید و باسیلوس کواگولنس *Bacillus coagulans* در ماهی کپور کوی (Koi) نه تنها شاخص‌های رشد را بهبود بخشید، بلکه شاخص‌های ایمنی نیز در این ماهی ارتقا پیدا کرد(Lin et al., 2012). در ماهی قزل‌آلا نیز مصرف سینبیوتیک تجاری Biomin imbo موجب ارتقای فاکتورهای رشد و ایمنی و بقای ماهی شده است (Firouzbakhsh et al., 2014). همچنین استفاده از اثر سینبیوتیکی گالاکتوالیگوساکارید و باکتری پدیوکوکوس اسیدی‌لاکتیسی نیز توانست شاخص‌های ایمنی و میزان بازماندگی ماهی قزل‌آلا را در مواجهه با بیماری استرپتوکوکوس اینیایی نسبت به شاهد به‌طور معناداری افزایش دهد (Hoseinifar et al., 2015).

اسیدهای چرب کوتاه زنجیر یکی از محصولات تخمیر و تجزیه پربیوتیک‌ها است که نوع و مقدار تولید آنها بسته به نوع و ترکیب پربیوتیک مصرفی متغیر است. این نوع از اسیدهای چرب تولیدی در دستگاه گوارش آبزیان هم به‌عنوان منبع انرژی قابل استفاده بوده و هم تنوع و ترکیب فلور باکتریایی در دستگاه گوارش را تغییر

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-20]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.4.3.4]

داده و به استقرار بهتر باکتری‌های مفید کمک می‌کند (Burr 2007). ماهی سفید دریای خزر گونه‌ای با ارزش بوده و بیشترین سهم از صید ماهیان استخوانی دریای خزر و بازسازی ذخایر کشور متعلق به آن است. این ماهی از گونه‌های با ارزش شیلاتی بوده و بدیهی است کمک به افزایش ماندگاری و تولید بچه ماهیان مقاوم بر افزایش کارایی فعالیت‌های بازسازی ذخایر آن در کارگاه‌های تکثیر از اهمیت بالایی برخوردار است. هدف از پژوهش حاضر مطالعه تأثیر تجویز پربیوتیک فروکتوالیگوساکارید به‌عنوان یک سوبسترای رشد بر عملکرد رشد و متابولیت‌های تولیدی دو پروبیوتیک لاکتوکوکوس لاکتیس و پدیوکوکوس اسیدی لاکتیکی در شرایط آزمایشگاهی و نیز تأثیر استفاده توأم آنها با اندازه‌گیری میزان اسیدهای چرب کوتاه زنجیر آنها و در مرحله بعد مطالعه تأثیر آنها بر شاخص‌های رشد و ایمنی بچه ماهی سفید بوده است.

مواد و روش‌ها

ماهی و غذادهی

تحقیق حاضر در کارگاه تکثیر و بازسازی ذخایر شهید انصاری شیلات ایران واقع در شهرستان رشت انجام شد. بچه ماهیان سفید از این کارگاه تأمین و پس از سازگاری به‌مدت دو هفته در تانک‌های فایبر گلاس ۲۰۰۰ لیتری با تراکم ٤٠٠ قطعه در هر تانک ۲۰۰۰ لیتری با حجم آبگیری ۱۰۰۰ لیتر رهاسازی شد. این طرح به‌صورت کاملاً تصادفی با یک گروه شاهد و سه گروه تیماری با سه تکرار برای هر تیمار به‌مدت ٦٠ روز انجام شد. تیمار ۱ ($F_1L_2P_1$)، تیمار۲ ($F_1L_2P_2$) و تیمار۳ ($F_1L_1P_2$)، به‌ترتیب تیمارهای انتخابی بودند که F_1 معادل ۰/۵ درصد پربیوتیک فروکتوالیگوساکارید و L_1 و L_2 به‌ترتیب معادل 10^7و10^{10} کلنی بر گرم از پروبیوتیک لاکتوکوکوس لاکتیس بوده و P_1 و P_2 نیز به‌ترتیب معادل 10^7و10^{10} کلنی بر گرم از پروبیوتیک پدیوکوکوس اسیدی لاکتیکی است.

وزن اولیه بچه ماهی سفید به‌طور میانگین (انحراف معیار ±) وزنی(۰/۰۲ ±۰/۷۵)گرم بود. ماهیان بر مبنای اشتها روزانه به میزان ۱۵ تا ۲۰ درصد وزنی در سه وعده غذادهی شدند (Shahkar et al., 2011). میانگین دما، pH و اکسیژن در طول دوره به‌ترتیب ۰/۲ ±۲۸ سانتی‌گراد، ۰/۱۵± ۷/٤ و ۰/۳٦± ٦ میلی‌گرم در لیتر بود. غذای تجارتی پودری به‌نام SFK از شرکت خوراک آبزیان مازندران برای تغذیه ماهیان تهیه شد. ترکیبات شیمیایی غذای مورد نظر شامل رطوبت (٤/٥±۹/۳۱ درصد)، پروتئین(۱/۵ ±۳۵ درصد)، چربی (۱/۱±۸/۷ درصد) و فیبر(۰/۸± ۵ درصد) بود. زیست‌سنجی از ماهیان هر دو هفته یکبار انجام شد. برای این کار تعداد ۱۰ درصد از ماهیان را صید و سپس با ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ درصد وزن شدند. شاخص‌های رشد مانند افزایش وزن نهایی، افزایش طول نهایی، درصد بازماندگی، ضریب رشد ویژه، ضریب تبدیل غذایی نیز تعیین شد. غذای مورد استفاده نیز روزانه آماده و به ماهیان داده شد. برای آماده‌سازی غذا برای تغذیه ماهیان ابتدا در شرایط استریل پروبیوتیک و پربیوتیک مورد نظر بر مبنای تیمار انتخابی به غذا اضافه شد. سپس با استفاده از سرم فیزیولوژی (۰/۹ درصد) مخلوط و غذای خمیری تهیه و در فضای آزمایشگاه خشک گردید. به‌منظور تثبیت بهتر پروبیوتیک‌ها به میزان یک درصد روغن آفتابگردان به جیره‌ها اضافه و درون ظرف‌های غذادهی موجود در هر تانک قرار داده شد (Bandyopadhyay et al., 2009).

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-20]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.4.3.4]

پربیوتیک و پروبیوتیک استفاده شده

از پربیوتیک فروکتوالیگوساکارید با نام تجاری Fructooligosaccharid from chicory (Sigma) و پروبیوتیک‌های پدیوکوکوس اسیدی لاکتیسی با نام تجاری باکتوسل (Lallemand, France) و *لاکتوکوکوس لاکتیس* به‌دست آمده از دستگاه گوارش ماهیان خاویاری ایران که پیش از این با توالی‌یابی ژنی تأیید شده بود، استفاده شد.

تعیین شاخص‌های خونی

در پایان دوره برای تعیین شاخص‌های خونی از ماهیان خونگیری شد. برای این کار ابتدا ماهیان با پودر گل میخک بیهوش (غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر) و از ٤۰ قطعه از آنها در هر تیمار با خشک کردن بدن و قطع ساقه دمی خونگیری و نمونه‌های خون آنها با هم مخلوط شد. نمونه‌های خون در لوله‌های اپندروف حاوی هپارین جمع‌آوری و پس از آن در کنار یخ به آزمایشگاه منتقل و بلافاصله برای جداسازی سرم اقدام شد. برای جداسازی سرم نیز از سانتریفوژ با دور ۳۰۰۰ به‌مدت ۵ دقیقه استفاده شد. اندازه‌گیری تعداد گلبول قرمز با محلول Levis و لام نئوبارو تعداد گلبول سفید نیز با محلول Levis در ۰/۱ گرم (Brilliant crystal blue) و با لام نئوبار انجام شد. برای شمارش تفریقی گلبول‌های سفید نیز پس از تهیه گسترش و رنگ‌آمیزی با گیمسا و شمارش سلولی در زیر میکروسکوپ اقدام شد. اندازه‌گیری هموگلوبین با استفاده از محلول درایکین و در طول موج ٥٤۰ با استفاده از منحنی استاندارد تعیین شد. درصد هماتوکریت نیز با سانتریفوز Nuve و با دور ۱٤۰۰۰ به‌دست آمد. میزان ایمونوگلوبولین تام سرم براساس روش (Siwicki et al.,1993) و فعالیت لیزوزیم با استفاده از روش (Ellis 1,990) سنجش شد. اندازه‌گیری آنالیز تقریبی ترکیبات شیمیایی غذا و لاشه ماهی نیز با روش (AOAC.,1990) انجام گردید.

کشت میکروبی

برای شمارش باکتری‌های روده در پایان آزمایش پس از ۲٤ ساعت قطع غذای ماهیان، روده تعداد ۱۰ ماهی در هر تیمار در شرایط استریل جدا و هموژن گردید. سپس با استفاده از محلول نمکی ۰/۹ درصد رقت‌های سریالی 10^{1} تا 10^{-10} تهیه و در شرایط استریل میزان ۱۰۰ میکرولیتر از هر رقت برروی محیط DeMan, Rogosa and Sharpe یا MRS (محیط کشت اختصاصی باکتری‌های اسید لاکتیک) تلقیح و به‌مدت ۵ شبانه روز در انکوباتور با دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. سپس تعداد کلنی‌های تشکیل یافته شمارش گردید. برای تعیین شمارش کلی باکتریایی نیز ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره روده هموژن شده را روی محیط‌های MRS و ژلوز خون تلقیح و پس از ۲٤ ساعت انکوباسیون در ۳۵ درجه سانتی‌گراد تعداد کلنی‌ها شمارش گردید.

اندازه‌گیری اسیدهای چرب

اندازه‌گیری اسیدهای چرب کوتاه زنجیر (اسید پروپیونیک، اسید بوتریک و اسید استیک) با استفاده از دستگاه GC مدل Agilent 9750 ساخت امریکا در پژوهشگاه دانشگاه تهران انجام گردید. برای استخراج سوپر ناتانت در انتهای مرحلهٔ لگاریتمی رشد، ۲ میلی‌لیتر از محیط برداشته و در سانتریفوژ با دور ۱۱۰۰۰ به‌مدت ۱۵ دقیقه جداسازی شد. سپس عصاره باکتریایی با فیلترهای ۰/۲ میکرونی هر تیمار فیلتر شده و سوپر ناتانت به‌دست آمده به میکروتیوب‌ها منتقل و در دمای ۷۰ – درجه سانتی‌گراد تا اندازه‌گیری

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-20]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.4.3.4]

اسیدهای چرب نگهداری گردید. برای اندازه‌گیری اسیدهای چرب ۲۰ میکرولیتر از سوپرناتانت را به دستگاه GC تزریق و با منحنی استاندارد هر اسید چرب مقایسه و مقادیر هر کدام قرائت گردید.

تجزیه تحلیل داده‌ها

در ارزیابی آماری و تعیین اختلاف معنادار در سطح ($p<۰/۰۵$) از طرح فاکتوریل و آنالیز واریانس دوطرفه برای ارزیابی اثر سینبیوسیس کشت آزمایشگاهی باکتری‌ها و در مرحله پرورش ماهیان نیز از طرح کاملاً تصادفی و سپس آنالیز واریانس یکطرفه (Anova) با آزمون چند دامنه توکی به کمک نرم‌افزار SPSS استفاده شد.

نتایج

تأثیرسینبیوسیس در شرایط آزمایشگاهی

در این مطالعه به‌منظور انتخاب ترکیب مناسب برای تلفیق پروبیوتیک و پربیوتیک کشت تلفیق این دو ترکیب نیز در شرایط آزمایشگاهی انجام گردید. نتایج تجزیه واریانس دوطرفه و معنادار بودن ($p<۰/۰۵$) میزان تولید اسید استیک متأثر از اثر متقابل سه عامل غلظت، نوع پروبیوتیک و درصد فروکتوالیگوساکارید در جدول ۱ ارائه شده است. با توجه به نقش اسید استیک در ایجاد رشد مناسب در پروبیوتیک مصرفی از بین تیمارهای مطالعه شده سه تلفیق شامل تیمار ۱ ($F_1L_2P_1$)، تیمار۲ ($F_1L_2P_2$) وتیمار۳ ($F_1L_1P_2$) انتخاب گردید.

جدول ۱ تجزیه واریانس دوطرفه تأثیر تلفیقی تیمارها بر تولید اسید استیک

اسید استیک	درصد فروکتو الیگو ساکارید(A)			غلظت لاکتوکوکوس لاکتیس (B)		غلظت پدیوکوکوس‌اسیدی لاکتیکی (C)	
	۰/۵	۱	۲	10^7 CFU/ml	10^{10} CFU/ml	10^7 CFU/ml	10^{10} CFU/ml
p-value							
A	B	C	AB	AC	BC	ABC	
0.000	0.937	0.03	0.189	0.315	0.149	0.049	

نتایج شاخص‌های رشد

نتایج حاصل از تأثیر این تیمارها بر روی شاخص‌های رشد بچه ماهی سفید دریای خزر در جدول ۲ ارائه شده است. بیشترین افزایش وزن متعلق به تیمار ۱ بوده است. تیمار شاهد کمترین افزایش وزن را داشته و در مقایسه با سایر تیمارها اختلاف معناداری را نشان داد ($p<۰/۰۵$). ضریب تبدیل غذایی در تیمار شاهد بیشتر از سایر تیمارها بوده است. به‌علاوه ضریب رشد ویژه در تیمارهای استفاده شده بهتر از شاهد بود و در این بین تیمار ۱ بیشتر از بقیه بود. همچنین درصد افزایش وزن روزانه در تیمار ۱ بیشتر از بقیه تیمارها بود.

جدول ۲ مقایسه شاخص‌های رشد بچه ماهی سفید دریای خزر در تیمارهای استفاده شده

شاخص‌ها	شاهد	تیمار ۱	تیمار۲	تیمار۳
وزن اولیه (گرم)	۰/۷۵ ±۰/۰۲	۰/۷۵ ±۰/۰۲	۰/۷۵ ±۰/۰۲	۰/۷۵ ±۰/۰۲
وزن نهایی (گرم)	۱/٤ ^{a}± ۰/۰۳	۱/٦٨ ^{c}± ۰/۰۵	۱/۵۹ ^{bc}± ۰/۰	۱/۵٤ ^{b}± ۰/۰۱
طول کل اولیه (سانتی‌متر)	٤± ۰/۰۵	٤± ۰/۰۵	٤± ۰/۰۵	٤± ۰/۰۵

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-20]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.4.3.4]

شاخص‌ها	شاهد	تیمار ۱	تیمار۲	تیمار۳
طول کل نهایی(سانتی‌متر)	۵/۳ ^{a}± ۰/۰۵	۵/۸۳ ^{c}±۰/۱٤	۵/۵ ^{bc}± ۰/۰۵	۵/۵ ^{b}± ۰/۰۸
ضریب تبدیل غذایی	۳/۳ ^{b}± ۰/۲٤	۲ ^{a}± ۰/۰۵	۲/۱ ^{a}±۰/۱۸	۲/۲ ^{a}± ۰/۱۵
ضریب رشد ویژه (درصد در روز)	۱/۰٤ ^{a}±۰/۰۱	۱/۳٤ ^{c}± ۰/۰۵	۱/۲۵ ^{b}± ۰/۰۰	۱/۲۵ ^{b}± ۰/۰۱
درصد بازماندگی	۹۹^{b}±۰/۰	۹۹^{b}±۰/۰	۱۰۰^{a}±۰/۰	۹۸^{b}±۰/۳۳

داده‌هاشامل میانگین ±انحراف معیار است. ارقام نشانه‌گذاری شده با حروف مختلف لاتین اختلاف معنادار در سطح (آزمون توکی۰/۰۵>p) دارند.
تیمار۱ شامل نیم درصد فروکتوالیگوساکارید حاوی ۱۰^{۷} کلنی بر گرم لاکتوکوکوس لاکتیس و ۱۰^{۷} کلنی بر گرم پدیوکوکوس اسیدی لاکتیکی.
تیمار ۲ شامل نیم درصد فروکتوالیگوساکارید حاوی ۱۰^{۱۰}کلنی بر گرم لاکتوکوکوس لاکتیس و ۱۰^{۱۰} کلنی بر گرم پدیوکوکوس اسیدی لاکتیکی.
تیمار۳ شامل نیم درصد فروکتوالیگوساکارید اضافه۱۰^{۷} کلنی بر گرم لاکتوکوکوس لاکتیس و ۱۰^{۱۰} کلنی بر گرم پدیوکوکوس اسیدی لاکتیکی

SGR (ضریب رشد ویژه)= {(لگاریتم طبیعی وزن نهایی به گرم−لگاریتم طبیعی وزن اولیه به گرم)/زمان}×۱۰۰
FCR (ضریب تبدیل غذایی)= مقدار غذای خورده شده به گرم /افزایش وزن به گرم
درصد بازماندگی= (تعداد بچه ماهی پایان دوره /تعداد بچه ماهی ابتدای دوره)×۱۰۰

نتایج آنالیز لاشه

نتایج آنالیز لاشه ماهیان در جدول ۳ آمده است به‌طوری‌که شاخص‌های مطالعه شده عمدتاً از اختلاف معناداری برخوردار نبودند ۰(p<۰/۰۵).

جدول ۳ مقایسه آنالیز لاشه (میانگین ± انحراف معیار) بچه ماهی سفید دریای خزر در تیمارهای استفاده شده

شاخص(درصد)	شاهد	تیمار ۱	تیمار۲	تیمار۳
رطوبت	٦۸/٦^{a} ±۱/٦	٦۸/۸^{a} ±۱	٦۸/۲^{a} ±۱/۵	٦۸/۱^{a} ±۱/۸
پروتئین	۱٦/۲^{a} ±۰/٦	۱٦/۸۵^{a}± ۰/۵	۱٦/٤٤^{a}± ۰/۷	۱۷/۱^{b}±۰/۵۵
چربی	۱۰/۸^{a} ±۱/٦	۱۱/۱^{a} ± ۰/۵۵	۱۱/۲^{a} ±۰/۹	۱۰/۸^{a}±۰/٤۵
خاکستر	۳/۹^{a}±۰/۵٦	۳/۹^{a}±۰/۲	۳/۸^{a} ±۰/۳۲	٤^{a} ±۰/٦٦

تیمار ۱ شامل نیم درصد فروکتوالیگوساکارید حاوی ۱۰^{۷} کلنی بر گرم لاکتوکوکوس لاکتیس و ۱۰^{۷} کلنی بر گرم پدیوکوکوس اسیدی لاکتیکی.
تیمار ۲ شامل نیم درصد فروکتوالیگوساکارید حاوی ۱۰^{۱۰}کلنی بر گرم لاکتوکوکوس لاکتیس و ۱۰^{۱۰} کلنی بر گرم پدیوکوکوس اسیدی لاکتیکی.
تیمار ۳ شامل نیم درصد فروکتوالیگوساکارید اضافه۱۰^{۷} کلنی بر گرم لاکتوکوکوس لاکتیس و ۱۰^{۱۰} کلنی بر گرم پدیوکوکوس اسیدی لاکتیکی

نتایج هماتولوژی

تأثیر تیمارها بر روی شاخص‌های خونی در جدول ٤ ارائه شده است. در این مطالعه تیمارهای استفاده شده بر روی شاخص‌های خونی در سطح (p>۰/۰۵) تأثیر معناداری نداشته است. تعداد گلبول‌های سفید در تیمار ۲ بیشتر از شاهد اما در سایر تیمارها کمتر از شاهد بوده است. میزان گلبول قرمز نیز با وجود افزایش آن در تیمار ۱ نسبت به تیمار شاهد دارای اختلاف معناداری نبوده است (p>۰/۰۵). میزان هموگلوبولین در تیمار ۱ بیشتر از شاهد بوده اما در تیمار ۲ و ۳ کمتر از شاهد بوده است (p>۰/۰۵). بیشترین میزان نوتروفیل در تیمار ۲ و ۳ و کمترین میزان در تیمار ۱ به‌دست آمد (p>۰/۰۵). درصد لنفوسیت‌ها در تیمار ۱ بیشتر از سایر تیمارها بوده است (p>۰/۰۵).

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-20]
[DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.4.3.4]

نتایج بیوشیمیایی خون

نتایج بیوشیمیایی خون در جدول ٤ نشان داده شده است. میزان گلوکز در تیمار ۱ بیشتر از سایر تیمارها بوده است، اما از اختلاف معناداری برخوردار نبود (p>۰/۰۵). میزان گلوکز در تیمارهای ۲ و ۳ نیز بیشتر از تیمار شاهد بوده است. مقدار پروتئین سرم نیز در تیمارهای ۱ و شاهد به‌طور معناداری بیشتر از تیمارهای ۲ و ۳ بوده است(p<۰/۰۵). بیشترین میزان پروتئین در تیمار ۱ مشاهده شد و میزان ایمونوگلوبولین سرم در تیمار ۱ به‌صورت معناداری بیشتر از سایر تیمارها بود، در حالی که بین تیمارهای شاهد و ۲ اختلاف معناداری دیده نشد (p>۰/۰۵). کمترین میزان ایمونوگلوبولین مربوط به تیمار ۳ بوده است. از نظر میزان لیزوزیم نیز با وجود بالا بودن میزان آن در تیمارها نسبت به شاهد اختلاف معناداری بین آنها وجود نداشت (p>۰/۰۵).

جدول٤ مقایسه شاخص‌های هماتولوژی و بیوشیمیایی بچه ماهی سفید دریای خزر در تیمارهای استفاده شده

شاخص	شاهد	تیمار۱	تیمار۲	تیمار۳
جمعیت لکوسیتی (هزار در میلی‌متر مکعب)	۳/۸^{a}±۲۵۱	۳/۲^{a}±۵۷	۳/۸^{a}±۳۱۷	۳/۵^{a}±۲۰۸
گلبول قرمز(میلیون در میلی‌متر مکعب)	۱/۵^{a}±۱۳٦	۱/٦^{a}±۱۹٦	۱/۵^{a}±۳٤	۱/٤^{a}±۵۳
هموگلوبین(گرم بر دسی‌لیتر)	۷/۲^{a}±۰/۵۵	۷/۵^{a}±۰/۷۳	۷/۰۳^{a}±۰/۱٤	٦/۵^{a}±۰/۱۵
هماتوکریت (درصد)	۳۸/۳۳^{a}±۳/۳	۳۹/۳۳^{a}±۳/۸	۳۷^{a}±۰/۵۷	۳٤/٦٦^{a}±۰/۸۸
نوتروفیل(درصد)	۲۳/۳۳ ^{a} ±۱/۸۵	۲۰/٦^{a}±۰/۸۸	۲٦^{a}±۱/۵۲	۲٤/۳^{a}±۱/۸۵
لنفوسیت(درصد)	۷۱/۳^{a} ±۱/۰۸۵	۷۵/٦^{a}±۰/۸۸	٦۹/٦^{a}±۲/۳	۷۱/۳^{a}±۱/٤۵
مونوسیت(درصد)	٤/٦^{a}±۰/۳۳	۳/۳۳^{a}±۰/۳۳	٤^{a}±۱	٤^{a}±۰/۵۷
ائوزینوفیل(درصد)	۰/۳۳۳^{a}±۰/۳۳	۰/۳۳۳^{a}±۰/۳۳	۰/۳۳۳^{a}±۰/۳۳	۰/۳۳۳^{a}±۰/۳۳
گلوکز(mg/dl)	۳۸/۳۳^{a} ±۱/۰٤۵	٤۷/٦٦^{a}±۲/٦	٤۵/٦٦^{a}±۱/٤۵	٤۵/٦٦^{a}±۰/۸۸
پروتئین(g/dl)	٤/۲^{b}±۰/۳۳	٤/٤۳^{b}±۰/۱٦	۳/٦٦^{ab}±۰/۰٦	۳/۲٦^{a}±۰/۳۳
ایمونوگلوبولین(mg/ml)	۱۸/٦٦^{b}±۰/۳۳	۲۲/۳۳^{c}±۰/٦٦	۱۸/٦٦^{b}±۰/۳۳	۱٦/۳۳^{a}±۰/۳۳
لیزوزیم(µg/ml)	۱۹/۳۳^{a}±۰/۸۸	۲۰/۳۳^{a}±۱/۲	۲۰/۳۳^{a}±۰/٦٦	۱۸/۳^{a}±۰/۸۸

داده‌ها شامل میانگین ±انحراف معیاراست. ارقام نشانه‌گذاری شده با حروف مختلف لاتین اختلاف معناداری در سطح (آزمون توکی۰/۰۵>p) دارند.

تیمار ۱ شامل نیم درصد فروکتوالیگوساکارید حاوی ۱۰^{۷} کلنی بر گرم لاکتوکوکوس لاکتیس و ۱۰^{۷} کلنی بر گرم پدیوکوکوس اسیدی لاکتیکی.

تیمار ۲ شامل نیم درصد فروکتوالیگوساکارید حاوی ۱۰^{۱۰}کلنی بر گرم لاکتوکوکوس لاکتیس و ۱۰^{۱۰} کلنی بر گرم پدیوکوکوس اسیدی لاکتیکی.

تیمار ۳ شامل نیم درصد فروکتوالیگوساکارید اضافه^{۷} ۱۰ کلنی بر گرم لاکتوکوکوس لاکتیس و ۱۰^{۱۰} کلنی بر گرم پدیوکوکوس اسیدی لاکتیکی

نتایج شمارش باکتریایی روده

نتایج شمارش باکتریایی روده در جدول ۵ آمده است. باکتری‌های اسید لاکتیک در ابتدای دوره پرورش در روده بچه ماهی سفید دیده نشد، اما در پایان دوره پرورش تعداد آنها افزایش یافته و بین تیمارهای بررسی شده و تیمار شاهد اختلاف معناداری دیده شد (p<۰/۰۵). همچنین شمارش کلی باکتریایی نیز بین تیمارها در پایان دوره پرورش دارای اختلاف معناداری بود (p<۰/۰۵).

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-20]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.4.3.4]

جدول ۵ مقایسه کشت باکتریایی روده بچه ماهی سفید دریای خزر در تیمارهای استفاده شده (لگاریتم کلنی بر گرم روده)

تیمارها	ابتدای دوره	شاهد	تیمار اول	تیمار دوم	تیمار سوم
باکتری‌های اسید لاکتیک	صفر	۲/۲ ^{a}±۰/۰٦	۵/۲ ^{c}±۰/۰٤	٤ ^{b}±۰/۰۳	۵ ^{c}±۰/۰۸
شمارش کلی	۵ ±۰/۱۸	٦ ^{a}±۰/۰۳	۷ ^{b}±۰/۰۷	٦/۹^{b}±۰/۰۳	٦/۱ ^{a}±۰/۰۵

داده‌هاشامل میانگین ±انحراف معیار است. ارقام نشانه‌گذاری شده با حروف مختلف لاتین اختلاف معنادار در سطح (آزمون توکی$p<۰/۰۵$) دارند.
تیمار ۱ شامل نیم درصد فروکتوالیگوساکارید حاوی $۱۰^{۷}$ کلنی بر گرم لاکتوکوکوس لاکتیس و $۱۰^{۷}$ کلنی بر گرم پدیوکوکوس اسیدی لاکتیکی.
تیمار ۲ شامل نیم درصد فروکتوالیگوساکارید حاوی $۱۰^{۱۰}$کلنی بر گرم لاکتوکوکوس لاکتیس و $۱۰^{۱۰}$ کلنی بر گرم پدیوکوکوس اسیدی لاکتیکی.
تیمار۳ شامل نیم درصد فروکتوالیگوساکارید اضافه^{۷} ۱۰ کلنی بر گرم لاکتوکوکوس لاکتیس و $۱۰^{۱۰}$ کلنی بر گرم پدیوکوکوس اسیدی لاکتیکی

بحث

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که ترکیب سینبیوسیس مورد استفاده بر روی افزایش وزن و طول نهایی، ضریب رشد ویژه و ضریب تبدیل غذایی بچه ماهی سفید دریای خزر اثر معناداری داشته است. نتایج مشابه دربارهٔ اثرهای سینبیوسیس بر عملکرد شاخص‌های رشد خرگوش ماهی (*Siganus rivulatus*) (El-Dakar et al.,2007)، لابستر اروپایی (*Homarus gammarus*) (Daniels et al, 2010) و میگوی وانامی (Lin et al, 201) نیز گزارش شده است.

بهبود رشد حاصل از اثر سینبیوسیس در آبزیان به اثر افزایشی این ترکیبات بر جمعیت باکتری‌های مفید روده، میزان فعالیت آنزیم‌های گوارشی و همچنین تأثیر آن بر بهبود ساختار روده و پرزهای آن نسبت داده می‌شود. نتیجه این امر بهبود هضم و جذب ترکیبات مغذی مانند ویتامین‌ها، پروتئین‌ها و سایر مواد مغذی است که در نهایت شاخص‌های رشد افزایش می‌یابد (Ye et al., 2011., Daniel et al.,2010). در این باره افزایش قابلیت هضم و بالا رفتن ظرفیت جذب ترکیبات غذایی به‌ویژه پروتئین‌ها به افزایش کارایی پروتئین مصرفی کمک کرده و تبدیل پروتئین به گوشت را نیز بهبود می‌بخشد (Ghosh et al ., 2004). به‌نظر می‌رسد نوع، مقدار و ترکیب پروبیوتیک یا پربیوتیک مصرفی، گونه، شرایط محیطی و مدت زمان استفاده از شاخص‌های مؤثر در اثربخشی یک سینبیوتیک است.

در این مطالعه ترکیب سینبیوتیک مصرفی بر روی ترکیب شیمیایی بدن بچه ماهی سفید اثرهای معناداری گذاشته است به‌طوری‌که در تیمار ۳ تفاوت معناداری بین میزان پروتئین لاشه با سایر تیمارها دیده شد. در سایر تیمارها با وجود افزایش میزان پروتئین لاشه تفاوت معناداری با شاهد مشاهده نشد. به‌علاوه درصد چربی و خاکستر لاشه نیز اختلاف معناداری را نشان نداد. در مطالعه بر روی تغذیه گونه‌ای از خانواده خرگوش ماهیان (*Siganus rivulatus*) با ترکیب تجارتی با نام بیوژن که حاوی قند فروکتو الیگوساکارید و باکتری باسیلوس سابتلیس بود، درصدهای صفر تا ۲، تأثیری معناداری بر پروتئین لاشه نداشت اما در درصدهای بالاتر این تأثیر معنادار بود (El-dakar et al., 2007). اگر چه کیفیت هضم و جذب غذا با میزان تبدیل آن به پروتئین بستگی دارد (Ghosh et al ., 2004)، اما شرایط پرورش، میزان جذب و دریافت روزانه غذا، فعالیت آنزیمی و میکروبی دستگاه گوارش و کیفیت هضم نیز در این خصوص مؤثر است.

نتایج این تحقیق نشان داد که شاخص‌های خونی شامل سطح گلبول سفید و قرمز و میزان هموگلوبوبین، هماتوکریت در تیمارها با تیمار شاهد اختلاف معناداری نداشته است. مشابه این تحقیق در مطالعه بر روی تأثیر مانان الیگوساکارید بر روی قزل‌آلای رنگین‌کمان Sado et al.,2008) نیز دیده شده است. در مطالعه تأثیر

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-20]
[DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.4.3.4]

سینبیوسیس ترکیب Biomin imbo روی شاخص‌های خونی فیل ماهی نیز تأثیر معناداری بر لنفوسیت‌ها، مونوسیت‌ها، هماتوکریت و گلبول قرمز دیده نشد، اما تعداد گلبول سفید و هموگلوبولین تفاوت معناداری را نشان دادند (Akrami et al ., 2015). شاخص‌های خونی در ارزیابی عملکرد فیزیولوژیکی آبزیان و عوامل استرس‌زا در تغییر آنها نقش مهمی دارند. به هرحال افزایش معنادار در میزان پروتئین کل و ایمونوگلوبولین در تیمار ۱ در مقایسه با شاهد می‌تواند بیانگر اثر مثبت باشد. به‌علاوه نبود اختلاف معنادار در میزان لیزوزیم در بین تیمارها و نیز با شاهد، با تغییرات جمعیت لکوسیتی هم‌خوانی دارد. در مطالعه‌ای تأثیر اینولین حاوی پروبیوتیک *Weissella cibaria* به‌صورت جداگانه و توأم بر شاخص‌های خونی و ایمنی ماهی گونه *Pseudoplatystoma* مشخص شد که این ترکیب بر لنفوسیت‌ها، مونوسیت‌ها، هماتوکریت، گلوکز، پروتئین و لیزوزیم تأثیر معناداری در مقایسه با شاهد نداشته، اما میزان ایمونوگلوبولین افزایش یافته بود (Mourino et al., 2012). در مطالعه دیگری تأثیر پروبیوتیک باسیلوس سابتلیس در ماهی هامور (*Larimichthys crocea*)، میزان لیزوزیم سرم افزایش معناداری نسبت به شاهد داشته، اما استفاده از فروکتوالیگوساکارید به‌صورت جداگانه و همچنین تلفیق فروکتوالیگوساکارید با باسیلوس سابتلیس اختلاف معناداری نشان نداد (Ai et al.,2011). همچنین در مطالعه اثر پروبیوتیک تجارتی پریمالاک (Imanpoor et al., 2015) در بچه ماهی سفید دریای خزر نیز تفاوت معنادار در مقدار پروتئین خون دیده نشد، اما استفاده از باکتری *Lactobacillus rhamnosus* با دوز بالا موجب افزایش معنادار لیزوزیم در ماهی قزل‌آلا شده است (Panigrahi.,2004). نشان داده شد که پربیوتیک‌ها گیرنده‌های ایمنی ماهی را برای ترشح ترکیبات ایمنی همچون لیزوزیم تحریک می‌کنند (Sado et al., 2014). در مطالعه حاضر به‌نظر می‌رسد با توجه به آنکه لوکوسیت‌های خون، منشأ تولید لیزوزیم‌های سرم در ماهی است بنابراین نبود تفاوت در میزان لوکوسیت‌ها در این مطالعه، دلیل عدم ایجاد اختلاف در میزان لیزوزیم خون است. به هر حال افزایش غیرمعناداری در میزان لکوسیت‌ها و لیزوزیم سرم در تیمارها در مقایسه با شاهد دیده شد. میزان لیزوزیم بسته به شرایط استرس (تراکم، کیفیت آب، دستکاری)، فصل، جنسیت، مراحل رسیدگی جنسی، دمای آب و تغذیه مقادیر متفاوتی در ماهیان خواهد بود (Saurabh.,2008). ایمونوگلوبولین‌ها به‌همراه لکتین‌ها در حذف پاتوزن‌ها در بدن نقش دارند که در این بین ایمونوگلوبولین‌ها ظرفیت بالاتری در حذف پاتوژن‌ها داشته و اختصاصی‌تر نیز عمل می‌کنند. ترکیباتی مانند پروبیوتیک‌ها یا سینبیوتیک‌ها با ایجاد تنوع گونه‌ای و یا افزایش نوع خاصی از باکتری‌های مفید در دستگاه گوارش آبزیان مانند باکتری‌های اسید لاکتیک به تحریک سیستم ایمنی ماهی نیز کمک خواهند کرد. سازوکار عملی در این خصوص نیاز به مطالعات مولکولی خاص دارد (Mourino et al., 2012) اما به وجود ترکیبات خاص لیپوپلی ساکاریدی در دیواره این باکتری‌ها که تأثیر تحریک‌کنندگی بر سیستم ایمنی دارد، نیز نسبت داده می‌شود(Solimani et al., 2012). باید توجه داشت که تأثیرگذاری سینبیوسیس در تیمارها بسته به نوع و میزان فروکتو الیگوساکارید، نوع پروبیوتیک، گونه ماهی و یا شرایط محیطی متغیر خواهد بود.

بیشتر میکروب‌ها در دستگاه گوارش آبزیان بر خلاف جانوران خشک‌زی استقرار پایداری در دستگاه گوارش آنها نداشته و به حالت گذری (Transit) خود را نشان می‌دهند که شاید به‌دلیل خونسرد بودن این موجودات و تأثیر

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-20]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.4.3.4]

تغییرات دمایی یا شوری و فشار اسمزی نشأت گرفته از چنین حالتی بر روی باکتری‌های ورودی به دستگاه گوارش باشد (Panigrahi.,2004). فروکتوالیگوساکارید ترکیبی است که در برابر آنزیم‌های گلیکولیتیک دستگاه گوارش مقاوم بوده و باعث افزایش تعداد و تنوع باکتری‌های کلون می‌شود (Oku et al., 1984). این قند در صورتی‌که با پروبیوتیک مصرف شود، می‌تواند در افزایش تعداد باکتری‌های روده و باکتری‌های پروبیوتیک مؤثر باشد (Roberfroid, 1998) و جمعیت باکتری‌های اسید لاکتیک روده را نیز افزایش دهد (Mourino et al., 2012). در این مطالعه تعداد کل باکتری‌ها و باکتری‌های اسید لاکتیک دستگاه گوارش لارو ماهی سفید دریای خزر متأثر از نوع تیمارها به‌طور معناداری بیشتر از شاهد بوده است. به نظر می‌رسد تولید اسیدهای چرب کوتاه زنجیر مانند اسید استیک، پروپیونیک و بوتریک ناشی از تخمیر فروکتوالیگوساکارید محیط را برای رشد بیشتر باکتری‌های اسید لاکتیک فراهم می‌کند و تعداد باکتری‌های اسید لاکتیک نسبت به شاهد افزایش بیشتری را از خود نشان داده است. شمارش کلی باکتری‌ها نیز در تیمارها تفاوت معناداری را نشان داده است. این در حالی است که تعداد آن در تیمارهای ۱ و ۲ بیشتر از شاهد و تیمار ۳ است. تغییر در شمارش کلی ممکن است ناشی از شرایط محیطی و تغذیه‌ای باشد. در مطالعات مشابه نیز این حالت گزارش شده است. برای مثال در مطالعه‌ای تأثیر توأم فروکتوالیگوساکارید به‌همراه باکتری *Lactobacillus paracasei* در خوک (Bomba et al.,2002) تأثیر توأم پروبیوتیک *Bacillus spp*. و مانان الیگوساکارید بر روی لارو لابستر *Homarus gammarus* (Daniel et al.,2010)، استفاده از گلوکان در ماهی سفید دریای خزر (Roufchaie et al.,2012) نیز تعداد باکتری‌های اسید لاکتیک دستگاه گوارش افزایش معناداری را نشان داده است. در مجموع استفاده از پربیوتیک فروکتوالیگوساکارید به‌همراه پروبیوتیک‌های مورد مصرف در این مطالعه در تغییر و استقرار بیشتر و بهتر باکتری‌های اسید لاکتیک در دستگاه گوارش ماهی سفید دریای خزر تأثیر معناداری داشته است.

جمع‌بندی کلی مطالعه حاضر نشان می‌دهد که ترکیب سین بیوتیکی استفاده شده در این مطالعه بر روی شاخص‌های رشد، ایمنی و ترکیب باکتریایی دستگاه گوارش لارو بچه ماهی سفید دریای خزر تأثیر مثبتی داشته است. به هر حال مطالعات بیشتر با استفاده از مقادیر متفاوت این ترکیبات بر روی این گونه تجارتی پیشنهاد می‌شود.

تشکر و قدردانی

این مطالعه در قالب طرح تحقیقاتی مصوب شورای پژوهشی دانشگاه تهران و با حمایت قطب علمی بهداشت و بیماری‌های آبزیان دانشگاه تهران انجام شده است. از زحمات آقای مهندس باقری کارشناس محترم آزمایشگاه باکتری‌شناسی ماهیان و کارشناسان محترم آزمایشگاه مرکزی دکتر رستگار دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران و همچنین مهندس خمیرانی ریاست محترم کارگاه تکثیر و بازسازی ذخایر شهید انصاری رشت و سایر کارشناسان و زحمت‌کشان این مجموعه کمال تشکر و امتنان را دارد.

منابع

Ai, Q., Xu, H., Mai, K., Xu, W.,Wang, J.and Zhang, W .2011. Effects of dietary supplementation of *Bacillus subtilis* and fructooligosaccharide on growth performance, survival, non-specific immune response and disease resistance of juvenile large yellow croaker, *Larimichthys crocea* Aquaculture, 317 : 155–161.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-20]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.4.3.4]

Hoseinifar, S. H., Mirvaghefi, A., Amoozegar, M. A.. Merrifield, D. L. and Ringø, E. (2015). In vitro selection of a synbiotic and in vivo evaluation on intestinal microbiota, performance and hysiological response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fingerlings. Aquaculture Nutrition . JohnWiley&SonsLtd

Imanpoor, M. R. and Roohi, Z. 2015. Effect of a multi-strain probiotic (Primalac) on growth performance, some blood biochemical parameters, survival and stress resistance on Caspian kutum (*Rutilus kutum*) fry. Iranian Scientific Fisheries Journal.24(2):95-102 (Abstarct in English)

Li, J.,Tan, B. and Mai, K. 2009. Dietary probiotic Bacillus OJ and isomaltooligosaccharides in⌋uence the intestine microbial populations, immune responses and resistance to white spot syndrome virus in shrimp (*Litopenaeus vannamei*).Aquaculture 291:35-40.

Lin, S., Mao, S., Guan, Y., Luo, L., Luo L. and Pan,Y. 2012. Effects of dietary chitosan oligosaccharides and Bacillus coagulans on the growth,innate immunity and resistance of koi (*Cyprinus carpio koi*) .Aquaculture ,342–343 : 36–41.

Mohapatra, S., Chakraborty, T., Prusty, A. K., Kumar, K., Prasad, K. P. and Mohanta, K. N. 2012. Fenvalerate induced stress mitigation by dietary supplementation of multispecies probiotic mixture in a tropical freshwater fish, *Labeo rohit*. Pesticide Biochemistry and Physiology ,104 : 28–37.

Mourino, J. L. P., Vieira, F. D. N., Jatoba, A. B., DaSilva, B. C., Jesus, G. F. A., Seiffert, W. Q. and Martines, M. N. 2012. Effect of dietary supplementation of inulin and *W. cibaria* on haemato-immunological parameters of hybrid surubim (*Pseudoplatystoma* sp.Aquaculture Nutrition, 18;73–80.

Nayak , S. K, Swain, P. and Mukherjee, S. C. 2007. Effect of dietary supplementation of probiotic and vitamin C on the immune response of Indian major carp, *Labeo rohita* . Fish & Shellfish mmunology,23:892–896.

Oku, T., Tokunaga, T and Hosoga N.1984. Nondigestibility of a new sweetener 'Neosugar' in the rat. Journal of Nutrition.114:1574–151.

Panigrahi, A., Kiron, V., Kobayashi, T., Puangkaew, J., Satoh, S. and Sugita, H. 2004. Immune responses in rainbow trout *Oncorhynchus*

AOAC. 1990. Official Methods of Analysis.15th edition. Association of Official Analytical Chemists Inc.Arlington,Virginia.

Bomba, A., Nemcova, R., Gancarcikova, S., Herich, R., Guba, P.and Mudronova, D.2002. Improvement of the probiotic effect of micro-organisms by their combination with maltodextrins, fructo-oligosaccharides and polyunsaturated fatty acids. British Journal of Nutrition, 88(1):95-99.

Bandyopadhyay, P., Pradeep, K. and Mohapatra, D. 2009. Effect of a probiotic bacterium *Bacillus circulans* PB7 in the formulated diets: on growth, nutritional quality and immunity of *Catla catla* (Ham.). Fish Physiology and Biochemistry, 35:467–478.

Daniels, C. L., Merrifield, D. L., Boothroyd, D. P., Davies, S. J., Factor, J. R. and Arnold, K.E.2010. Effect of dietary *Bacillus spp*. and mannan oligosaccharides (MOS) on European lobster (*Homarus gammarus L*.) larvae growth performance, gut morphology and gut microbiota. Aquaculture, 304: 49–57.

Denev, S., Staykov,Y.,Moutafchieva,R. and Beev, G. 2009. Microbial ecology of the gastrointestinal tract of fish and the potential application of probiotics and prebiotics in finfish aquaculture. International Aquatic Research,1: 1-29.

El-Dakar, A.Y., Shalaby, S. M. and Saoud ,I. P. 2007. Assessing the use of a dietary probiotic/prebiotic as an enhancer of spinefoot rabbitfish *Siganus rivulatus* survival and growth. AquacultureNutrition,13;407–412.

Firouzbakhsh1, F.,Mehrabi1,M., Heydari1, M., Khalesi1, M. and Tajick, M. A .2014.Protective effects of a synbiotic against experimentalSaprolegnia parasitica infection in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. Aquaculture Research, 45: 609–618.

Ghosh, K., Shina, A. and Sahu, C. 2008. Dietary probiotic supplementation in growth and health of live-bearing ornamental fishes. Aquaculture Nutrition,14: 289–299.

Haghighi1, D. T., Fallahi, M., Abdollahtabar, Y. 2010. The effect of different levels of Biomin Imbo synbiotic on growth and,survival *of Rutilus frisii kutum* fry.Journal of Fisheries Islamic Azad University, Azadshahr Branch, 4(3):1-15

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-20]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.4.3.4]

(*Rutilus frisii kutum*,kamensky 1901) *Journal of* Fisheries, Islamic Azad University, Azadshahr Branch, 5(1):107-117.(in Persian)

Siwicki, A. K., Anderson, D. P. and Rumsey G. L. 1994. Dietary intake of immunostImulants by rainbow trout affects non-specific immunity and protection against furunculosis. Veterinary Immunology and Immunopathology, 41:125-139.

Soleimani, N., Hoseinifar, S.H., Merrifield, D.L., Barati, M., Hassan Abadi, Z., 2012. Dietary supplementation of fructooligosaccharide (FOS) improves the innate immune response, stress resistance, digestive enzyme activities and growth performance of Caspian roach (*Rutilus rutilus*) fry. Fish & Shellfish Immunology, 32: 316-321

Ye, J. K., Wang, F. and Li, Y. 2011. Single or combined effects of fructo- and mannan oligosaccharide supplements and *Bacillus clausii* on the growth, feed utilization, body composition, digestive enzyme activity, innate immune response and lipid metabolism of the Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. Aquaculture Nutrition, 17: 902-911.

Yousefian, M., Hedayatifard, M., Fahimi, S., Shikholeslami, M., Irani, M., Amirinia,C. and Mousavi,S.E. 2012. Effect of Prebiotic Supplementation on Growth Performance and Serum Biochemical Parameters of Kutum (*Rutilus frisii kutum*) Fries.Asian Joutnal of Animal and Veterinary Advances, 7(8) : 684-692.

mykiss induced by a potential probiotic bacteria *Lactobacillus rhamnosus* JCM 1136. Veterinary Immunology and Immunopathology. 102: 379 – 388.

Roberfroid , M. B. 1998. Prebiotics and synbiotics: concepts and nutritional properties. British Journal of Nutrition, 80(2):197 –202.

Roufchaie, R.,Hoseinifar, S. H., Zamini, A., Borani, M. S., Kohan, H. M. and Faied, M. 2012. Effects of glucan on growth performance, carcass composition and intestinal microbiota in *Rutilus frisii kutum* fingerling. Journal of Fisheries Science and Technology (JFST).2(1)43-54 (Abstarct in English)

Sado, R.Y., Bicudo, A. J. A. and Cyrino, J. E. P. 2008. Feeding dietary mannan oligosaccharides to juvenile Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* have no effect on hematological parameters and showed decreased feed consumption. Journal of the World Aquaculture Society,39(6): 821-826.

Sado , R.Y., Bicudo, A. J. A. and Cyrino, J. E. P .2014. Hematology of juvenile pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887)fed graded levels of mannan oligosaccharides (MOS).Latin American Journal of Aquatic Research , 42(1): 30-39

Saurabh, S and Shaoo, P. K. 2008 . Lysozyme: an important defence molecule of fish innate immune system.Aquaculture Research, 39:223-239

Shahkar, M., Khara, H. and Sudagar, M. 2011. Effects of increase diet protein on feeding frequency and growth and survival of Caspian kutum larvae

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-20]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.4.3.4]

Fisheries Science & Technology
TMU
Scientific - Research Journal Vol. 5, No. 4, Winter 2017

Sdudy of combined effect of fructo-oligosaccharid with *Pediococcus acidilactici* and *Lactococcus lactis* as probiotics on some growth performance, haematology and intestine bacterial flora of *Rutilus frisi katum* larva

Mehdi Soltani*[1], Seyed Saeed Mirzargar[1], Gholamreza Badzohreh[1], Mehrdad farhangi[2], Alireza Valipour

1- Professor, Department of Aquatic Animal Health, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran
2- Associate Prof., Department of Aquatic Animal Health, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran
3- PhD Student, Department of Aquatic Animal Health, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran,Tehran, Iran
4- Associate Prof.. Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran
5- Assistant Prof., Inland Water Aquaculture Research Center, Bandar Anzali, Iran

Accepted:03.01.2016 Received: 09.04.2016

*Corresponding author: msoltani@ut.ac.ir

Abstract:
The purpose of this study was to determine the effect combined application of dietary Fructooligosaccharid (FOS) and *Pediococcus acidilactici*plus *Lactococcus lactis* on some growth preformane, haematological parameters and intestinal microbiota of *Rutilus frisii kutum*. According to the bacterial growth in *in vitro* condition and production of volatile fatty acid (VFA), t hree treatments consisting of (Treat1): 0.5% FOS plus 10^{10}cfu/g *Lactococcus lactis*and and 10^{7}cfu/g *Pediococcus acidilactici*, (Treat2): 0.5% FOS plus 10^{10}cfu/g *Lactococcus lactis*and and 10^{10}cfu/g *Pediococcus acidilactici* and (Treat3): 0.5% FOS plus10^{7}cfu/g *Lactococcus lactis*and and 10^{10}cfu/g *Pediococcus acidilactici* were used in 400 Kutum fry weighing 0.75±0.02 g obtained from a reproduction fish center, Guilan Province Iran.. Fish were kept in 1000 L water and fed on experimental diet for 60 days. Results showed that growth indices such as final weight (FW) and specific growth rate (SGR) were significantly increased in all treatment groups compared to control one ($p<0.05$). Also, FCR in all treatments were lower than control one. In treatment 1, final weight (1.67) , SGR (1.34) and FCR (2) were significantly higher than other treatments. The results showed that hematological parameters values in different treatments showed no significant differences ($p>0.05$). However, immunoglubolin level in treatment 1 (22.33mg/ml) was significantly higher than other treatments. The total lactic acid bacteria counts in treatment 1 (5.2) and treatment 3 (5) was significantly higher than other treatments ($p<0.05$). The present findings show that the combined application of probiotics and prebiotics could be a useful tool in the rearing of early stages of Rutilus frisi kutum fry.

Key word: *Rutilus frisikutum* fry, Synbiosis,growth, Intestinal microbiota

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-20]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.4.3.4]