

## اثرات سطوح متفاوت گلوکان بر شاخص‌های رشد، ترکیب شیمیایی بدن و میکروبیوتای روده ماهی سفید (*Rutilus frisii kutum*) انگشت قد

رودابه روفچایی<sup>۱\*</sup>، سیدحسین حسینی فر<sup>۲</sup>، عباسعلی زمینی<sup>۳</sup>، محمد صیاد بورانی<sup>۴</sup>، حسن مقصودیه کهن<sup>۵</sup> و مریم فئید<sup>۶</sup>

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، پژوهشکده آبی‌پروری آبهای داخلی، بندرانزلی، ایران

۲- استادیار، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

۳- استادیار، دانشگاه لاهیجان، لاهیجان، ایران

۴- استادیار، مرکز ملی ماهیان سردابی، تنکابن، ایران

۵- کارشناس شیلات، پژوهشکده آبی‌پروری آبهای داخلی، انزلی، ایران

۶- دانشجوی دکترا، پژوهشکده آبی‌پروری آبهای داخلی، بندرانزلی، ایران

پذیرش: ۱۳۹۱/۰۸/۲۸

دریافت: ۱۳۹۱/۰۳/۲۸

\* نویسنده مسئول مقاله: تلفن: ۰۹۱۱۸۳۴۱۳۴، Email: r\_rufchaie@yahoo.com

### چکیده:

اثر مکمل تجاری هاپلایت<sup>۱</sup> به عنوان محرک ایمنی و رشد با ماده مؤثر گلوکان (۱۰/۵٪ آلفا، ۲۳/۶٪ بتا) به میزان صفر، ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲٪ در جیره بچه ماهی سفید بر شاخص‌های رشد، ترکیب لاشه و میکروبیوتای روده‌ای بررسی شد. آزمایش در مخازن ۱۰۰ لیتری و آبیگری تا ۸۰۱ لیتر و تعداد ۲۵ بچه ماهی (میانگین وزن ۰/۰۶ ± ۱/۱۵ گرم) انجام شد. بچه ماهیان به مدت ۶۰ روز، و روزانه سه بار تا حد سیری ظاهری تغذیه و هر ۱۵ روز یک بار زیست‌سنجی می شدند. بچه ماهیان تیمار ۰/۵ و ۱٪ بالاترین افزایش وزن، ضریب رشد ویژه و وزن نهایی را داشتند که با تیمار شاهد اختلاف معناداری داشت (P<۰/۰۵). همچنین تعداد کل باکتریها و لاکتوباسیلهای روده‌ای در تیمار ۰/۵٪ افزایش معناداری در مقایسه با سایر تیمارها داشت (P<۰/۰۵). نتایج این مطالعه بیانگر این است که استفاده از گلوکان در دوران اولیه زندگی با میزان مناسب، سبب بهبود رشد و تغییر ترکیب میکروبیوتای روده‌ای بچه ماهی سفید می‌شود.

کلید واژگان: ماهی سفید، گلوکان، رشد، میکروبیوتای روده.

## مقدمه

شرایط مناسبی برای رشد باکتریهای اسید لاکتیک را فراهم می‌کند (Schley and Field, 2002).

پری‌بیوتیکها به عنوان مواد غذایی غیرقابل هضم، سلامتی میزبان را از طریق تحریک یا محدود کردن رشد باکتری‌های موجود در روده، تحت تأثیر قرار می‌دهند. از اینرو با توجه به گزارش‌های قبلی مبنی بر تأثیر گلوکان بر برخی گونه‌های خانواده کپور ماهیان تأثیر این پری-بیوتیک بر شاخص‌های رشد، میزان بازماندگی، ترکیب بدن و میکروبیوتای روده‌ای بچه‌ماهی سفید بررسی شد.

## مواد و روش‌ها

این مطالعه در ایستگاه تغذیه و غذای زنده شمال کشور واقع در ساحل غازیان بندر انزلی انجام شد. جهت تامین آب از آب شهر که در یک مخزن ۴۰۰۰ لیتری به مدت ۲۴ ساعت کلرزائی شده بود استفاده گردید. بچه‌ماهیان سفید حدود ۳ هفته در شرایط ایستگاه برای سازگاری نگهداری شدند. سپس ۲۵ عدد بچه‌ماهی با وزن اولیه  $1/15 \pm 0/06$  گرم به صورت تصادفی در ۱۵ مخزن فایبرگلاس ۱۰۰ لیتری که تا ۸۰ لیتر آبگیری شده بود، با تراکم ۰/۳ گرم در لیتر توزیع گردیدند.

این بررسی با یک گروه کنترل و ۴ گروه تیمار شامل ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ درصد محرک رشد و ایمنی تجاری هاپلایت (ساخت شرکت Cargill، کشور آمریکا) با ماده موثر گلوکان (آلفا و بتا گلوکان، ۳۴/۱ درصد) که به جیره پایه (جدول ۱) اضافه شد. در سه تکرار انجام گردید. بچه‌ماهیان سفید به مدت ۶۰ روز با جیره‌های آزمایشی غذادهی شدند.

امکان تکثیر طبیعی ماهی سفید دریای خزر به دلیل از بین رفتن بسیاری از زیستگاه‌های طبیعی محدود شده است در نتیجه تولید و پرورش مصنوعی آن ضروری است (Azari et al., 1990). در هنگام رهاسازی بچه‌ماهیان به رودخانه، کیفیت پرورش قبل از رهاسازی برای افزایش بازگشت شیلاتی اهمیت بسیار دارد و دستیابی به راهکارهایی که بتواند سبب افزایش راندمان رشد و بازماندگی شود از اهداف مهم آبی‌پروری پایدار محسوب می‌شود. در همین راستا گزارش‌های مختلفی درخصوص استفاده از پری‌بیوتیک‌ها در جیره غذایی آبزبان پرورشی و تأثیر آن بر شاخص‌های رشد و بازماندگی ارائه شده است (Hoseinifar et al., a,b; Meena et al., 2013; Soleimani; Dimitroglou et al., 2011; et al., 2011).

گلوکان‌ها که با منشأ پلی‌ساکاریدهای دیواره سلول‌های گیاهی بوده و با فرایند هیدرولیز آنزیمی قابل بهره‌برداری به عنوان یک مکمل پری‌بیوتیکی می‌باشند، در فیبر و تفاله سبوس غلات یافت می‌شوند. گلیکوالیگوساکاریدها موجب افزایش رشد باکتری‌های اسید لاکتیک و خواص پروبیوتیکی آنها (Pooramini et al., 2009). مهمترین محصول حاصل از تخمیر پری‌بیوتیک‌ها، اسیدهای چرب زنجیره کوتاه (SCFA) هستند (Mahious et al., 2005) که از طریق اپتیلیوم روده جذب شده و به عنوان یک منبع انرژی مهم برای میزبان سبب تقویت انتروسیت‌ها و بهبود جذب مواد غذایی می‌شوند. تولید اسیدهای چرب زنجیره کوتاه نظیر استات، پروپیونات و بوتیرات و اسید لاکتیک ناشی از تخمیر پری‌بیوتیک، منجر به کاهش pH روده می‌شود که

جدول ۱ اجزاء و ترکیب بیوشیمیایی جیره غذایی پایه برای بچه-

ماهی سفید

نسبت اجزا (درصد)	اجزا سازنده
۴۲	پودر ماهی (ساردین)
۲	پودر گاماروس <i>pontogammarus maeoticus</i>
۳۰	پودر سویا
۵	پودر گندم
۵	پودر ذرت
۹	روغن ماهی
۴	ویتامین <sup>۱</sup>
۱	مواد معدنی <sup>۲</sup>
۱	پودر صدف <i>Crastoderma lamarki</i>
ترکیب بیوشیمیایی (درصد)	
۴۲	پروتئین خام
۱۷	چربی خام
۱۹/۲	خاکستر
۲۲/۸	رطوبت

۱. مکمل ویتامینه پلاس مینرال شرکت ایران دارو (mg/kg):  
 ویتامین A: ۶۰۰۰ IU/kg، ویتامین D: ۴۰۰۰ IU/kg،  
 ویتامین E: ۴۵۰ IU/kg، ویتامین k: ۱۰۰ IU/kg، ویتامین  
 B: ۱۲۲/۰ mg/kg، تیامین: ۵، ریوفلاوین: ۱۵، پریدوکسین: ۱۰،  
 اسید پانتوتیک: ۳۰، کولین کلرید: ۳۰۰، نیاسین: ۱۵۰، اسید  
 فولیک: ۵، بیوتین: ۲، اینوسیتول.

۲. مکمل معدنی شرکت سیانس (mg/kg): (CaHPO<sub>4</sub>:  
 NaCl: 1, KCl: 1, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>: 10, CaCO<sub>3</sub>: 15, 2H<sub>2</sub>O: 20,  
 MgSO<sub>4</sub>: 3, FeSO<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O: 5/0, MnSO<sub>4</sub> H<sub>2</sub>O: 35, 5,  
 CoCl<sub>2</sub>: 3, ZnCO<sub>3</sub>: 35, CuSO<sub>4</sub> 5H<sub>2</sub>O: 10, KIO<sub>3</sub>: 3,  
 Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>: 1, 0027/0).

برای ساخت غذا ابتدا موادی را که نیاز به الک داشتند مثل آرد سویا، پودر ماهی، آرد ذرت، آرد گندم، پودر گاماروس و پودر صدف، مجدداً آسیاب و الک شدند و با توجه به درصد ماده مورد نیاز در ۱ کیلوگرم تمام مواد بجز روغن ماهی وزن شدند. سپس کم کم به میزان ۲۰ درصد آب اضافه و بعد از مخلوط شدن مجدد در سایه خشک شده و در نهایت از الک با قطر چشمه ۱۲۰ میکرون عبور داده شدند (Haghighi et al., 2010<sup>a</sup>). پودر بدست آمده پس از خشک شدن کامل در فریزر نگهداری و هر روز به مقدار مورد نیاز از جیره‌ها برداشت گردید.

هر ۱۵ روز ۳۰ درصد ماهیان هر وان زیست‌سنجی می‌شدند. میانگین دما، اکسیژن و pH در طول دوره پرورش به ترتیب ۲۳/۹±۰/۱ درجه سانتیگراد، ۶/۸۵±۰/۱ میلی‌گرم در لیتر و ۷/۵±۰/۲ بود.

برای آنالیز لاشه تعداد ۱۵ نمونه لاشه در پایان کار برداشته شد و در دمای ۲۱- درجه نگهداری شدند. پروتئین با روش کلدال<sup>۱</sup> به وسیله دستگاه KJeltec ۲۳۰۰ auto Analyzer unit، چربی خام با روش Soxtec به کمک دستگاه Soxtec system مدل تکاتور ۱۰۴۳، خاکستر به وسیله کوره الکتریکی Heraeus آلمان در دمای ۵۵۰ درجه و رطوبت در دمای ۱۵۰ درجه (آون Binder آلمان) بررسی و همگی بر اساس روش استاندارد AOAC اندازه گیری شدند (AOAC, 1990).

به منظور بررسی تعداد باکتری‌های اسید لاکتیک و همچنین تعداد کل باکتری‌های بی‌هوازی و کل باکتری‌های زیست‌پذیر در میکروبیوتای روده بچه‌ماهی سفید با سطوح مختلف پری‌بیوتیکی در انتهای دوره به طور تصادفی از ماهیان نمونه برداری شد. برای از بین بردن کامل باکتری‌های موجود در سطح خارجی بدن بچه

1. Kjeldahl method

### نتایج

نتایج بررسی شاخص‌های رشد در جدول ۲ نشان داده شده است. در بررسی آنالیز لاشه همانطور که جدول-های ۱ تا ۳ نشان می‌دهد میزان پروتئین در تیمار ۲ درصد با  $18/4 \pm 0/4$  درصد کمترین و تیمار ۱ درصد با  $22/37 \pm 0/55$  درصد بیشترین مقدار را داشت. کمترین میزان چربی در تیمار ۰/۵ با  $0/1 \pm 0/4$  و بیشترین میزان در تیمار ۱/۵ درصد با  $1/03 \pm 0/06$  برآورد شد. در تیمار شاهد با  $65/1 \pm 0/8$  درصد کمترین میزان رطوبت و در تیمار ۱/۵ درصد با  $70/3 \pm 0/3$  بیشترین میزان رطوبت محاسبه گردید. خاکستر در تیمار درصد با  $7/7 \pm 0/26$  کمترین و در تیمار شاهد درصد با  $12/53 \pm 0/29$  بیشترین مقدار بود.

بر اساس نمودارهای ۱ تا ۳، بیشترین میانگین باسیلوس ها در تیمار ۰/۵ درصد برابر با  $(72111 \pm 30000)$  (CFU/g) و کمترین میانگین در تیمار شاهد مشاهده گردید. تیمار ۰/۵ درصد با  $(4800000 \pm 0/35)$  (CFU/g) بیشترین میانگین تعداد کل باکتری را دارا بود. بیشترین میانگین باکتری‌های بی‌هوازی اجباری در تیمار شاهد و برابر با  $(30000 \pm 43589)$  (CFU/g) و کمترین در تیمارهای ۱، ۰/۵ و ۲ درصد مشاهده شد. نتایج بدست آمده افزایش معناداری را در تعداد لاکتوباسیلوس در تیمار ۰/۵ نشان داد.

### بحث

پریبیوتیک‌ها از طریق بهبود فلور باکتریایی روده، آثار زیانبار عوامل عفونت‌زا را کاهش و میزان بازماندگی در مواجهه با عوامل بیماری‌زا را افزایش می‌دهند. تولید اسید-های چرب زنجیره کوتاه و باکتری‌های اسیدلاکتیک ناشی از تخمیر پری‌بیوتیک‌ها در روده، سبب افزایش رشد و حفظ آبزی در برابر عوامل بیماری‌زا می‌شوند

ماهیه‌ها، به مدت ۶۰ ثانیه در محلول بنزالکونیوم کلراید ۰/۱ درصد شسته شدند. پس از آن دوباره با آب استریل شستشو داده و آب نمونه‌ها پس از مدتی گرفته شد (Olsen *et al.*, 2001).

نمونه‌های روده پس از تخلیه کامل محتویات، توزین و برای هموژن کردن به هاون چینی استریل منتقل شد. پس از هموژن کردن نمونه‌های روده با استفاده از محلول نمکی استریل (۰/۸۷ NaCl درصد) رقت‌های  $10^{-1}$  تا  $10^{-7}$  تهیه گردید. از رقت‌های تهیه شده، تحت شرایط کاملاً ضد عفونی حجمی معادل ۰/۱ میلی‌لیتر برداشته شد و به محیط‌های کشت Tryptic Soy Agar یا TSA (به منظور تعیین تعداد کل باکتری‌های موجود در میکروبیوتای روده)، محیط-کشت DeMan, Rogosa and Sharpe یا MRS (برای تعیین تعداد باکتری‌های اسید لاکتیک) و محیط کشت Sulfite polymexin Sulfadiazine (برای تعیین تعداد کل باکتری‌های بی‌هوازی) منتقل و در سطح پلیت پخش شدند (Hoseinifar *et al.*, 2011). پس از انجام عمل کشت، انکوباسیون (با استفاده از انکوباتور Kottermann ساخت آمریکا) پلیت‌ها به مدت ۵ روز انجام شد (Mahious *et al.*, 2006). پس از سپری شدن زمان انکوباسیون، باکتری‌های هر پلیت برحسب واحد کلنی (CFU/g) در وزن روده توسط دستگاه کلنی‌شمار (مدل SSGMP-671M، ساخت آلمان) شناسایی و شمارش شدند (Hoseinifar *et al.*, 2011<sup>b</sup>). برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از برنامه‌های Excel و SPSS استفاده گردید. جهت بررسی نرمال بودن توزیع داده‌ها از آزمون Shapiro Wilk استفاده شد. داده‌های درصدی پیش از آزمون آماری به صورت آرک سینوس تبدیل شدند. با توجه به نرمال بودن داده‌ها جهت بررسی وجود یا نبود اختلاف از آنالیز واریانس یکطرفه<sup>۱</sup> و آزمون توکی استفاده گردید.

1. One-Way ANOVA

اثرات سطوح متفاوت گلوکان بر شاخص‌های رشد ... رونمایی و همکاران

(Schley and Field, 2002). در سالهای اخیر اطلاعاتی درخصوص به کارگیری پری‌بیوتیک‌ها در آبی‌پروری ارائه شده است (Ringo et al., 2010)، با این وجود مشخص شدن جنبه‌های مختلف استفاده از این دسته از مکمل‌های غذایی همچنان به مطالعات بیشتری نیاز است. با توجه به بررسی انجام شده بتاگلوکان به عنوان یک پری‌بیوتیک

محرك رشد و ایمنی پتانسیل چشمگیری برای استفاده در پرورش ماهی، مدیریت بیماری و توسعه محصولات آبی-پروری از طریق بیوتکنیک دارد و استفاده از این ماده تحقیق و توجه بیشتری را می‌طلبد (Meena et al., 2013).

جدول ۲ اثر سطوح مختلف هاپلایت (گلوکان) بر عملکرد رشد بچه ماهی سفید

شاخص رشد/ درصد هاپلایت	۰	۰/۵	۱	۱/۵	۲
وزن اولیه $W_1$ (گرم)	۱/۲۳±۰/۱۲	۱/۱۴±۰/۰۱	۱/۱۹±۰/۰۱	۱/۲۴±۰/۱۵	۱/۰۷±۰/۰۴
میزان افزایش وزن $\Delta W$ (گرم)	۰/۳۷±۰/۱۵ <sup>a</sup>	۰/۷۵±۰/۰۸ <sup>b</sup>	۰/۷۸±۰/۰۴ <sup>b</sup>	۰/۳۵±۰/۰۴ <sup>a</sup>	۰/۴۵±۰/۰۱ <sup>a</sup>
WG (درصد)	۳۲/۷±۲۱/۴۶ <sup>ab</sup>	۶۵/۷±۲۲/۷۷ <sup>b</sup>	۶۵/۵±۴/۷ <sup>b</sup>	۲۸/۳۹±۶/۶ <sup>a</sup>	۴۲/۵±۴/۷۴ <sup>ab</sup>
SGR (درصد)	۰/۴۷±۰/۰۱ <sup>a</sup>	۰/۸۴±۰/۱۳ <sup>b</sup>	۰/۸۴±۰/۱۴ <sup>b</sup>	۰/۴۱±۰/۰۸ <sup>a</sup>	۰/۵۸±۰/۱۵ <sup>ab</sup>
درصد بقا (درصد)	۹۰±۰/۰۵ <sup>a</sup>	۹۲±۰/۰۱ <sup>b</sup>	۹۰±۰/۰۴ <sup>b</sup>	۸۵±۰/۰۴ <sup>a</sup>	۸۷±۰/۰۲ <sup>a</sup>
FCR	۴/۳۲±۰/۱۷ <sup>c</sup>	۲/۶۶±۰/۲۱ <sup>a</sup>	۲/۸۲±۰/۰۸ <sup>a</sup>	۴/۴۲±۰/۰۱ <sup>c</sup>	۳/۳۳±۰/۱۱ <sup>b</sup>
PER	۰/۹±۰/۳۲ <sup>a</sup>	۰/۷۴±۰/۰۲۸ <sup>c</sup>	۱/۵۹±۰/۰۸ <sup>bc</sup>	۰/۸۷±۰/۰۲ <sup>ab</sup>	۰/۹۳±۰/۰۳۲ <sup>a</sup>

ارقام نشانه‌گذاری شده با حروف مختلف لاتین، اختلاف معنادار آماری دارند (آزمون توکی  $P < 0/05$ ).

$\Delta W$  (میزان افزایش وزن بدن) = میانگین وزن انتهای دوره به گرم - میانگین وزن ابتدای دوره به گرم

WG (درصد افزایش وزن بدن) = [(میانگین وزن انتهای دوره به گرم - میانگین وزن ابتدای دوره به گرم) / میانگین وزن ابتدای دوره به گرم] × ۱۰۰

SGR (ضریب رشد ویژه) = [(لگاریتم طبیعی میانگین وزن نهایی به گرم - لگاریتم طبیعی وزن اولیه به گرم) / زمان] × ۱۰۰

درصد بقا = (تعداد بچه ماهیان ابتدای دوره / تعداد بچه‌ماهیان باقیمانده در انتهای دوره) × ۱۰۰

FCR (ضریب تبدیل غذایی) = مقدار غذای خورده شده به گرم / افزایش وزن بدن به گرم

PER (نسبت کارایی پروتئین) = افزایش وزن بدن به گرم / پروتئین مصرفی

جدول ۳ اثر سطوح مختلف هاپلایت (گلوکان) بر تغییرات بیوشیمیایی لاشه بچه ماهی سفید

آنالیز لاشه / درصد هاپلایت	شاهد	۰/۵ درصد	۱ درصد	۱/۵ درصد	۲ درصد
رطوبت	۶۵/۱±۰/۸ <sup>a</sup>	۶۷/۳±۰/۸ <sup>b</sup>	۶۸/۲±۰/۲۵ <sup>b</sup>	۷۰/۳±۰/۳ <sup>c</sup>	۶۸/۳±۰/۱۱ <sup>c</sup>
پروتئین*	۲۰/۷±۱/۱۸ <sup>b</sup>	۲۲/۱±۰/۳۶ <sup>c</sup>	۲۲/۳±۰/۰۵ <sup>c</sup>	۱۹/۲±۰/۲۵ <sup>a</sup>	۱۸/۴±۰/۰۴ <sup>a</sup>
چربی*	۰/۶۳±۰/۱۵ <sup>b</sup>	۰/۴±۰/۰۱ <sup>a</sup>	۰/۷۳±۰/۱۵ <sup>a</sup>	۱/۰۳±۰/۰۰۵ <sup>c</sup>	۰/۴۳±۰/۰۰۵ <sup>a</sup>
خاکستر*	۱۲/۵±۰/۲۹ <sup>e</sup>	۹/۳±۰/۰۲۸ <sup>c</sup>	۷/۵±۰/۰۰۷ <sup>a</sup>	۸/۴۵±۰/۰۴۹ <sup>b</sup>	۱۱/۵±۰/۰۳۵ <sup>d</sup>

ارقام نشانه‌گذاری شده با حروف مختلف لاتین، اختلاف معنادار آماری دارند (آزمون توکی  $P < 0/05$ ).

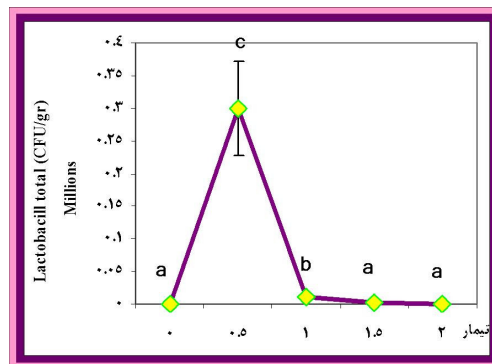
\* مقادیر بر حسب درصد وزن خشک

نمودار ۳ تعداد کل باکتریهای بی‌هوازی میکروبیوتای روده‌ای  
بچه‌ماهی سفید در تیمارهای مختلف

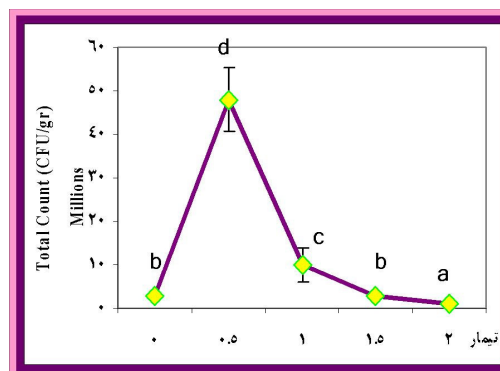
از فاکتورهای رشد مورد بررسی همانطور که در جدول ۲ بیان شده ضریب رشد ویژه و ضریب تبدیل غذایی بین تیمارهای ۰/۵ و ۱ درصد هاپلایت در جیره با تیمار شاهد و سایر تیمارها بطور معنی‌داری افزایش نشان می‌دهد.

از بررسی‌های انجام شده روی این گونه در مرحله لاروی، می‌توان به مطالعه حقیقی و همکاران اشاره کرد که افزایش برخی از عوامل رشد را طی ۷۱ روز بررسی بر روی بچه‌ماهی سفید ۶۲۳ میلی‌گرمی با استفاده از سین-بیوتیک تجاری *Biomim® imbo* به دست آوردند (Haghighi et al., 2010<sup>b</sup>).

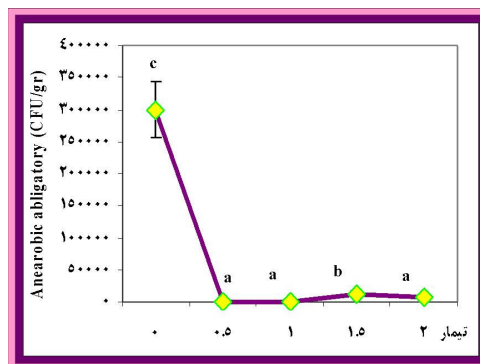
از ترکیبات تجاری حاوی گلوکان و تأثیر آن بر رشد، می‌توان به تحقیقی اشاره کرد که در آن از ماده تجاری ایمنو استر و ایمنو وال در جیره فیل ماهی استفاده گردید. در این مطالعه افزایش عوامل رشد در تیمارهای تغذیه‌ای ۱ و ۳ درصد از این ماده مشاهده شد (Van Hai و Fotedar, 2011).  
۲۰۰۹ با استفاده از (Bio - Mos® and  $\beta$ -1, 3-d - glucan) در جیره غذایی جونایلهای شاه‌میگوی غربی (*Penaeus latissulcatus*) اختلاف معناداری را در افزایش وزن، کاهش ضریب تبدیل غذایی و میزان مرگ و میر نسبت به گروه شاهد ملاحظه کردند (Van Hai and Fotedar, 2009).  
Misra و همکاران در سال ۲۰۰۶ نیز تأثیر افزایش برخی از عوامل رشد از قبیل شاخص رشد ویژه و کاهش ضریب تبدیل غذایی را بر *Labeo rohita* با مصرف خوراکی گلوکان گزارش کردند.



نمودار ۱ تعداد لاکتوباسیلوسهای میکروبیوتای روده بچه‌ماهی سفید در تیمارهای مختلف



نمودار ۲ تعداد کل باکتریهای هوازی میکروبیوتای روده بچه‌ماهی سفید در تیمارهای مختلف



(Schley and field, 2002). افزایش تعداد لاکتوباسیلوس‌ها و بیفیدوباکترها و تولید اسیدهای چرب زنجیره کوتاه در اثر تخمیر پری‌بیوتیک‌ها می‌تواند از طریق افزایش تعداد و طول میکروویلیها (RingØ et al., 2010; Dimitroglou et al., 2009; Salze et al., 2008) سبب هضم و جذب بهتر مواد مغذی شود (Li and Gatlin, 2005).

در این مطالعه نیز مشخص شد استفاده از ۰/۵ درصد هاپلایت در جیره غذایی سبب افزایش معنی دار تعداد لاکتوباسیلوس‌ها و تعداد کل باکتری‌ها در میکروبیوتای روده‌ای می‌شود که می‌تواند توجیه کننده اثرات مفید مشاهده روی شاخص‌های رشد و بازماندگی باشد.

درصد بازماندگی در تیمارهای تغذیه شده با ۰/۵ و ۱ درصد هاپلایت به طور معناداری بیشتر از سایر تیمارها بود. نتایج مشابهی در مطالعات انجام شده در زمینه به کارگیری گلوکان در آبی‌پروری نیز گزارش شده است (Rodríguez et al., 2009; Meena et al., 2013; Misra et al., 2006<sup>b</sup>; Yoo et al., 2007). این افزایش بازماندگی احتمالاً می‌تواند ناشی از بهبود سلامت عمومی و افزایش ایمنی و مقاومت ماهی در برابر استرس‌های رایج در روند پرورش می‌باشد (Hoseinifar et al., 2011<sup>c</sup>).

بررسی آنالیز لاشه طبق نتایج نشان داد که بیشترین درصد پروتئین مربوط به تیمار ۰/۵ و ۱ درصد هاپلایت و کمترین آن مربوط به تیمار ۲ درصد و شاهد است و میزان چربی لاشه تقریباً یک رابطه متقابل را در تیمارهای ۰/۵ و ۱ درصد نشان داد. بیشترین میزان چربی لاشه در تیمار ۱/۵ درصد و کمترین در تیمار ۲ درصد مشاهده شد.

نتایج مشابهی در تحقیق Maurilio و همکاران در سال ۲۰۰۲ گزارش شده است که بیانگر رابطه متقابل بین درصد پروتئین و چربی پس از مصرف مخمر *Saccharomyces*

لازم به ذکر است که بررسی‌ها نشان می‌دهند منبع استخراج گلوکان بر رشد بسیار مؤثر است. به طوری که Skjermo و همکاران در سال ۲۰۰۶ نشان دادند گلوکان استخراج شده از دیاتومه *Chaetoceros mulleri* در مقایسه با حالت تجاری آن در قالب محصول Macro grad<sup>®</sup> به طور معنی‌داری بر میزان بازماندگی و افزایش وزن تأثیر دارد. از طرفی مدت زمان استفاده از این محرک‌ها نیز بر نتایج به دست آمده مؤثر است. Misra و همکاران در سال ۲۰۰۶ در بررسی دیگر نشان دادند که مصرف کوتاه مدت گلوکان بر عوامل ایمنی و مصرف بلند مدت بر عوامل رشد بچه‌ماهی انگشت قد *Labeo rohita* مؤثر است

از بررسی تأثیر سایر پری‌بیوتیک‌های انجام شده که بر عوامل رشد کپور ماهیان نتایج معنی‌دار داشته است، می‌توان به بررسی اشاره کرد که در آن افزودن ۰/۲ درصد پری‌بیوتیک‌های تجاری (Bio-Mos<sup>®</sup>, Alltech MOS Inc., KY با ماده مؤثر گلوکان در جیره ماهی کپور *Cyprinus carpio*، بر روی شاخص‌های رشد و بازماندگی اثرگذار بود (Staykov et al., 2005).

دلیل افزایش رشد، کارایی پروتئین، کاهش ضریب تبدیل غذایی و در نهایت بهبود هضم و جذب را طبق بررسی‌های انجام شده بر روی سایر پری‌بیوتیک‌ها، می‌توان ناشی از افزایش توانایی تشکیل کلنی لاکتوباسیلوس هادر روده و تولید پروتئازها و آمیلازها توسط این گروه از باکتری‌ها در لوله گوارشی بیان کرد (Yanbo and Hoseinifar et al., 2011<sup>a</sup>; Waché et al., 2006; Zirong, 2006; Farzanfar 2006). مطالعات انجام شده نشان می‌دهند که اسیدهای چرب کوتاه زنجیره حاصل از تخمیر روده‌ای پری‌بیوتیک‌ها، سبب افزایش جذب کلسیم، منیزیم، روی، آهن در حیوانات آزمایشگاهی و افزایش سلامتی می‌گردد

(Hoseinifar et al., 2011<sup>a</sup>). در مطالعه ساجدی‌راد و همکاران در سال ۲۰۱۰ نیز استفاده از پری‌بیوتیک ایمنوژن سبب افزایش معنادار تراکم لاکتوباسیلوس‌های روده‌ای گردید. همچنین در مطالعه Hoseinifar و همکاران در سال ۲۰۱۱ نیز استفاده از مخمر *Saccharomyces cerevisiae* تراکم لاکتوباسیلوس‌های میکروبیوتای روده‌ای بچه‌ماهی فیل را افزایش داد با توجه به اینکه گلوکان استفاده شده در این مطالعه محصول تجاری به دست آمده از مخمر است، احتمالاً همانطور که در مطالعه فوق بیان شده است دلیل افزایش تعداد لاکتوباسیلوس‌های روده‌ای می‌تواند فراهم شدن آنزیمها، RNA، نوکلئوتیدهای آزاد، ویتامینهای B-complex و آمینواسیدها می‌باشد.

تحقیقات نشان می‌دهد که منبع تولید (Skjeremo et al., 2006)، میزان مصرف (Ai et al., 2007)، نحوه مصرف (خوراکی یا تزریقی) (Misra et al., 2006<sup>a</sup>)، طول دوره مصرف و زمان مصرف (Bagni et al., 2005; Misra et al., 2006<sup>b</sup>) گلوکان، تأثیر معناداری بر رشد، بازماندگی و ایمنی ماهی دارد (Meena et al., 2013).

استفاده کاربردی از پری‌بیوتیک‌های مناسب برای هر یک از گونه‌های مورد استفاده در آبی‌پروری تجاری مستلزم انجام تحقیقات بیشتر است تا با افزایش اطلاعات در زمینه مکانیسم اثر و میزان اندازه بهینه استفاده از پری‌بیوتیک‌ها در جیره‌های غذایی آبزیان، به عنوان محرک ایمنی و رشد تثبیت شوند (Burr et al., 2005). اگرچه نتایج این بررسی مناسب بودن مکمل غذایی تجاری گلوکان را برای افزایش رشد بچه‌ماهی سفید نشان داد، اما تأیید نتایج به دست آمده نیازمند تکرار مطالعه در مقیاس وسیع‌تر و در شرایط پرورشی استخرهای خاکی است.

*cerevisiae* بود. دلیل آن احتمالاً استفاده از چربی به جای پروتئین به عنوان منبع انرژی برای متابولیسم می‌باشد (Maurilio et al., 2002).

در تحقیق حاضر بیشترین درصد خاکستر در تیمار شاهد و کمترین میزان در تیمار ۱ درصد هاپلایت بود که مطابق با نتایج گزارش شده در مطالعه پیشین است (Bandyopadhyay & Das Mohapatra, 2009; Lara-Flores et al., 2003; El-Dakar et al., 2007). در مطالعات انجام شده توسط ساجدی‌راد و همکاران در سال ۲۰۱۰ نیز کمترین درصد خاکستر مربوط به تیمار پری‌بیوتیک (۲ Kg/g) و بیشترین درصد خاکستر مربوط به گروه شاهد بود اگرچه در مطالعات مختلفی اثرگذاری این دسته از مکمل‌های غذایی بر ترکیب لاشه ماهیان مختلف گزارش شده اما هنوز مکانیسم دقیق اثرگذاری مشخص نشده است.

مجموعه پیچیده‌ای از انواع باکتری‌ها در میکروبیوتای روده‌ای ماهی وجود دارند که به شکل دائم یا موقتند (Olsen et al., 2001). نتایج به دست آمده بیانگر افزایش معنادار تعداد لاکتوباسیلوس‌ها و نیز تعداد کل باکتری‌های زیست‌پذیر در تیمارهای ۵ و ۱ درصد هاپلایت بود. در حالی که در بچه‌ماهیان گروه شاهد هیچ لاکتوباسیلوسی از میکروبیوتای روده‌ای جدا نشد. لاکتوباسیلوسها باکتریهای مفیدی‌اند که امروزه اهمیت زیادی به عنوان پروبیوتیک برای آبزیان دارند (Ringø et al., 1998).

با وجود اینکه حضور باکتری‌های اسید لاکتیک در روده بسیاری از ماهیان از جمله قره‌برون، فیل ماهی، تیلاپیا و کپور ماهیان ثابت شده است اما این باکتری‌ها جزء فلور غالب روده‌ای آبزیان نیستند (Bucio Galindo et al., 2009; Sugita et al., 1985; Ghanbari et al., 2009).

افزایش تعداد لاکتوباسیلوس‌ها از طریق به کارگیری مکمل‌های غذایی آثار سودمندی را به دنبال خواهد داشت



gut morphology of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Journal of animal science*, 87 (10): 3226-3234.

EL-Dakar, Shalaby, S., Saoud, I. 2007. Assessing the use of a dietary probiotic/prebiotic as an enhancer of spinefoot rabbitfish *Siganus rivulatus* survival and growth. *Aquaculture nutrition*, 13 (6): 407-412.

Farzanfar, A. 2006. The use of probiotics in shrimp aquaculture. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, 48 (2): 149-158.

Ghanbari, M., Rezaei, M., Jami, M., Nazari, R. 2009. Isolation and characterization of *Lactobacillus* species from intestinal contents of beluga (*Huso huso*) and Persian sturgeon (*Acipenser persicus*). *Iranian J. Vet. Res.*, 27: 152-157.

Haghighi, T. D., Toloie, M. H., Afraz, A., Mehdizadeh, A., Mahisefat, F., Nikkhah, A., Rabiei, R. 2010<sup>a</sup>. Determining appropriate levels of protein and fat in the diet of white fish larvae with artificial food. Institute of Fisheries Research Project Final Report, 43 P. Haghighi, D. T., Fallahi, M., Abdollahtabar, Y. 3.2010<sup>b</sup>. 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.

Hoseinifar, S., Mirvaghefi, A., Mojazi Amiri, B., Rostami, H. K., Merrifield, D. 2011<sup>a</sup>. The effects of oligofructose on growth performance, survival and autochthonous intestinal microbiota of beluga (*Huso huso*) juveniles. *Aquaculture nutrition*, 17 (5): 498-504.

Hoseinifar, S. H., Mirvaghefi, A., Merrifield, D. L. 2012b. 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 (1): 90-94.

## منابع

Ai, Q., Mai, K., Zhang, L., Tan, B., Zhang, W., Xu, W., Li, H. 2007. Effects of dietary  $\beta$ -1, 3 glucan on innate immune response of large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea*. *fish & shellfish immunology*, 22 (4): 394-402.

AOAC. 1990. In: (K. Helrich sd.), Official Methods of Analyses, 15<sup>th</sup> edition. Association of Official Analytical Chemists Inc. Arlington VA. USA.

Azari, T.G.H., Razavi, S. B., Piri, H. 1990. Study artificial propagation of the white fish *Rutilus frisii* kutum in Iran. *Journal of veterinary research*, Tehran University, 45 (1): 15-25.

Bagni, M., Romano, N., Finioia, M., Abelli, L., Scapigliati, G., Tiscar, P., Sarti, M., Marino, G. 2005. Short-and long-term effects of a dietary yeast [beta]-glucan (Macrogard) and alginic acid (Ergosan) preparation on immune response in sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Fish & shellfish immunology*, 18(4): 311-325.

Bandyopadhyay, P., Das Mohapatra, P. K. 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 (3): 467-478.

Bucio Galindo, A., Hartemink, R., Schrama, J., Verreth, J., Bucio, GL., Zwietering, M. 2009. Kinetics of *Lactobacillus plantarum* 44a in the faeces of tilapia (*Oreochromis niloticus*) after its intake in feed. *Journal of applied microbiology*, 107 (6): 1975-1967.

Burr, G., Gatlin, D., Ricke, S. 2005. Microbial ecology of the gastrointestinal tract of fish and the potential application of prebiotics and probiotics in finfish aquaculture. *Journal of the world aquaculture society*, 36 (4): 425-436.

Dimitroglou, A., Merrifield, D., Moate, R., Davies, S., Spring, P., Sweetman, J., Bradley, G. 2009. Dietary mannan oligosaccharide supplementation modulates intestinal microbial ecology and improves

- injections of [beta]-glucan on non-specific immune response and disease resistance in (*Labeo rohita*) fingerlings. *Fish & shellfish immunology*, 20(3): 305-319.
- Misra, C. K., Das, B. K., Mukherjee, S. C., Pattnaik, P. 2006b. Effect of long term administration of dietary  $\beta$ -glucan on immunity, growth and survival of (*Labeo rohita*) fingerlings). *Aquaculture*, 255 (1): 82-94.
- Olsen, R., Myklebust, R., Kryvi, H., Mayhew, T., Ringo, E. 2001. Damaging effect of dietary inulin on intestinal enterocytes in Arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.). *Aquaculture research*, 32 (11): 931-934.
- Pooramini, M., Kamali, A., Hajimoradloo, A., Alizadeh, M., Ghorbani, R. 2009. Effect of using yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) as probiotic on growth parameters, survival and carcass quality in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fry. *International aquatic research*, 1 (1): 39-44.
- Ringo, E., Olsen, R., Gifstad, T.O., Dalmo, R., Amlund, H., Hemer, G.I., Bakke, A. 2010. Prebiotics in aquaculture: a review. *Aquaculture nutrition*, 16 (2): 117-136.
- Ringo, E., Gatesoupe, F. J. 1998. Lactic acid bacteria in fish: a review. *Aquaculture*, 160 (3): 203-177.
- Rodríguez, I., Chamorro, R., Novoa, B., Figueras, A. 2009.  $\beta$ -Glucan administration enhances disease resistance and some innate immune responses in zebrafish (*Danio rerio*). *Fish & shellfish immunology*, 27 (2): 369-373.
- Sajedirad, A., Zamini, A. A., Valipour, A., Haiatbakhsh, M. R. 2010. Effect add Protexin probiotic in the diet of freshwater crayfish (*Astacus leptodactylus*) on the growth and survival. *Journal of microbial biotechnology*, 2 (4): 29-35.
- Salze, G., McLean, E., Schwarz, M., Craig, S. 2008. Dietary mannan oligosaccharide enhances salinity tolerance and gut
- Hoseinifar, S. H., Mirvaghefi, A., Merrifield D. L., Amiri, B. M., Yelghi, S., Bastami, K. D. 2011<sup>c</sup>. The study of some haematological and serum biochemical parameters of juvenile beluga (*Huso huso*) fed oligofructose. *Fish physiology and biochemistry*, 37 (1): 91-96.
- Lara-Flores, M., Olvera-Novoa, M. A., Guzmán-Méndez, B.E., López-Madrid W. 2003. Use of the bacteria *Streptococcus faecium* and *Lactobacillus acidophilus*, and the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as growth promoters in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 216 (1-4): 193-201.
- Li, P., Gatlin, D. M. 2005. Evaluation of the prebiotic GroBiotic®-A and brewer's yeast as dietary supplements for sub-adult hybrid striped bass (*Morone chrysops* × *M. saxatilis*) challenged in situ with *Mycobacterium marinum*. *Aquaculture*, 248 (1): 197-205.
- Mahious, A., Gatesoupe, F., 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 (3):219-229.
- Mahious, A., Ollevier, F. 2005. Probiotics and Prebiotics in Aquaculture: Review. Workshop on Techniques for Enrichment of live food for use in larviculture, Urmia, Iran. pp.17-26.
- Maurilio, L., Miguel, A., Beatriz, E., Wilberth, L. 2003. Use of the bacteria *Streptococcus faecium* and *Lactobacillus acidophilus*, and the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as growth promoters in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 216: 193-201.
- Meena, D., Das, P., Kumar, S., Mandal, S., Prusty, A., Singh, S., Akhtar, M., Behera, B., Kumar, K. and Pal, A. 2013. Beta-glucan: an ideal immunostimulant in aquaculture (a review). *Fish physiology and biochemistry*, 39(3): 431-457.
- Misra, C. K., Das, B. K., Mukherjee, S. C., Pattnaik, P. 2006a. Effect of multiple

- Ta'ati, R., Soltani, M., Bahmani, M., Zamini, A. 2011. Growth performance, carcass composition, and immunophysiological indices in juvenile great sturgeon (*Huso huso*) fed on commercial prebiotic, Immunoster. *Iranian journal of fisheries sciences*, 10 (2): 324-335.
- Van Hai, N., Fotedar, R. 2009. Comparison of the effects of the prebiotics (Bio-Mos® and [beta]-1, 3-d-glucan) and the customised probiotics (*Pseudomonas synxantha* and *P. aeruginosa*) on the culture of juvenile western king prawns (*Penaeus latisulcatus* Kishinouye, 1896). *Aquaculture*, 289 (3-4): 310-316.
- Waché, Y., Auffray, F., Gatesoupe, F. J., Zambonino, J., Gayet, V., Labbé, L., Quentel, C. 2006. Cross effects of the strain of dietary *Saccharomyces cerevisiae* and rearing conditions on the onset of intestinal microbiota and digestive enzymes in rainbow trout, *Onchorhynchus mykiss*, fry. *Aquaculture*, 258 (1): 470- 478.
- Yanbo, W., Zirong, X. 2006. Effect of probiotics for common carp (*Cyprinus carpio*) based on growth performance and digestive enzyme activities. *Animal feed science and technology*, 127 (3): 283-292.
- Yoo, G., Lee, S., Kim, Y. C., Okorie, O. E., Park, G. J., Han, Y.O., Choi, S.M., Kang, J. C., Sun, M., Bai, S. C. 2007. Effects of Dietary  $\beta$ -1, 3 Glucan and Feed Stimulants in Juvenile Olive Flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Journal of the world aquaculture society*, 38(1):138-145.
- development of larval cobia. *Aquaculture*, 274(1): 148-152.
- Schley, P., Field, C. 2002. The immune-enhancing effects of dietary fibres and prebiotics. *British journal of nutrition*, 87(2): 221-230.
- Skjermo, J., Størseth, T.R., Hansen, K., Handa, A., Oie, G. 2006. Evaluation of  $\beta$ -(1 $\rightarrow$  3, 1 $\rightarrow$  6)-glucans and High-M alginate used as immunostimulatory dietary supplement during first feeding and weaning of Atlantic cod (*Gadus morhua* L.). *Aquaculture*, 261(3): 1088-1101.
- Soleimani, N., Hoseinifar, S.H., Merrifield D. L., Barati, M., Abadi, Z. H. 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.
- Staykov, Y., Spring, P., Denev, S. 2005. The Influence of dietary Bio-Mos® on growth, survival and immune status of rainbow trout (*Salmo gairdneri irideus* G.) and common carp (*Cyprinus carpio* L.). *European aquaculture society*, 35: 431-432.
- Sugita, H., Tokuyama, K., Deguchi, Y. 1985. The intestinal microflora of carp *Cyprinus carpio*, grass carp *Ctenopharyngodon idella* and tilapia *Sarotherodon niloticus*. *Bulletin of the japanese society of scientific fisheries*, 51(8): 1325-1329.

## Effects of glucan on growth performance, carcass composition and intestinal microbiota in *Rutilus frisii kutum* fingerling

Rudabeh Roufchaie<sup>1\*</sup>, Seyed Hossein Hoseinifar<sup>2</sup>, Abbsali Zamini<sup>3</sup>,

Mohammad Saiad Borani<sup>4</sup>, Hassan Maghsodie Kohan<sup>5</sup> and Monire Faied<sup>6</sup>

1- M.Sc. of Fisheries Science, National Inland Water Aquaculture Research Institute, Anzali, Iran

2- PhD, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

3- PhD of Islamic Azad University – Lahijan Branch, Faculty of Natural Resources, Lahijan, Iran

4- PhD, Iranian fisheries research organization (IFRO), Coldwater Fisheries Research Center, Tonekabon, Iran

5- B.Sc. of Fisheries, National Inland Water Aquaculture Research Institute, Anzali, Iran

6- PhD of Fisheries, National Inland Water Aquaculture Research Institute, Anzali, Iran

Received: 17.06.2012

Accepted: 18.12.2012

\*Corresponding author: r\_rufchaie@yahoo.com

**Abstract:** The effects of adding a commercial dietary supplement (Hoplite) containing  $\alpha$  and  $\beta$  glucan at 0, 0.5, 1 and 2% levels on the growth performance, body composition and intestinal microbiota of kutum roach, *Rutilus frisii kutum*, was investigated. The fingerlings (mean weight =  $1 \pm 0.15$  g) were stocked in 100 litre PVC tanks (25 individuals per tank) and fed experimental diets 3 times a day to apparent satiation for 60 days at constant water parameters. Biometry was performed every two weeks. At the end of the trial period, growth parameters, body composition and intestinal microbiota were studied. Fish fed 0.5 and 1% Hoplite exhibited highest weight gain, specific growth rate and final body weight, which were significantly different ( $P < 0.05$ ) compared to the control group. In addition, total bacterial count and intestinal lactic acid bacteria were significantly higher ( $P < 0.05$ ) in the group fed 0.5% compared to the other groups. These results revealed that administration of an optimum level of glucan in early life stages causes growth promotion and modulation of intestinal microbiota in kutum roach.

**Keywords:** *Rutilus frisii kutum*, Glucan, Growth factors, Intestinal microbiota