

اثر پری بیوتیک الیگوفروکتوز بر عملکرد رشد، بازماندگی و شاخص‌های خونی بچه ماهی ازون برون (*Acipenser stellatus*)

یوسف ایری^{(۱)*}، محمود حافظیه^(۲)، عبدا.. حق پناه^(۱)، حسینعلی خوشباور رستمی^(۱)، بهروز فره وی^(۱)، عبدالوهاب کر^(۱) نیاز محمد کر^(۱)، فرحناز لکزائی^(۲)

*Yousef_er47@yahoo.com

۱- مرکز تحقیقات ذخایر آبزیان آبهای داخلی، گرگان صندوق پستی ۱۳۹

۲- موسسه تحقیقات علوم شیلاتی ایران

تاریخ پذیرش: اسفند ۱۳۹۳

تاریخ دریافت: اردیبهشت ۱۳۹۲

چکیده

هدف از این مطالعه، بررسی اثر الیگوفروکتوز بر عملکرد رشد و بازماندگی بچه ماهی ازون برون (*Acipenser stellatus*) می باشد. بدین منظور تعداد ۹۰ قطعه بچه ماهی ازون برون با میانگین وزن $30/16 \pm 0/14$ گرم از انستیتو بین المللی تحقیقات ماهیان خاویاری تهیه و با استفاده از طرح کاملاً تصادفی در ۳ تیمار هر یک با ۳ تکرار در حوضچه های فایبرگلاس و شرایط فیزیکی شیمیایی آب نسبتاً ثابت ($p < 0.05$) ذخیره و به مدت دو هفته با غذای پایه سازش داده شدند. بچه ماهیان به مدت ۱۱ هفته با جیره های حاوی سطوح ۰٪ (جیره پایه) ۱٪ و ۲٪ الیگوفروکتوز (رافتیلوز P95 شرکت سیگما) تا حد سیری تغذیه شدند. نتایج این تحقیق آشکار نمود که سطح ۱٪ پری بیوتیک نسبت به سایر سطوح، بر افزایش معنی دار وزن، نرخ رشد ویژه، کارایی غذا، نسبت کارایی پروتئین، شاخص کبدی و کاهش ضریب تبدیل غذایی تاثیر دارد ($p < 0.05$) با این وجود تفاوت معنی داری در نرخ بازماندگی میان تیمارها مشاهده نگردید ($p > 0.05$). در انتهای دوره از بچه ماهیان خونگیری و شاخصهای تعداد گلبول های قرمز و سفید، نسبت های حجمی و شمارش افتراقی انواع سلولی، هماتوکریت و هموگلوبین بررسی شدند که نتایج آن، اختلاف معنی داری را در تعداد گلبولهای قرمز، میانگین حجم گویچه ها (MCV)، میانگین هموگلوبین گویچه ها (MCH)، میانگین غلظت هموگلوبین گویچه ها (MCHC)، هماتوکریت و هموگلوبین تیمارها نشان نداد ($p > 0.05$) ولی شمارش افتراقی تعداد گلبول های سفید خون در تیمار ۱٪ و تعداد نوتروفیل تیمارهای ۱٪ و ۲٪ در مقایسه با جیره پایه، اختلاف معنی داری نشان دادند ($p < 0.05$). بر اساس این نتایج می توان گفت، الیگوفروکتوز و به خصوص در سطح ۱٪ قابلیت تأثیر گذاری نسبتاً خوبی بر افزایش عملکرد رشد و کارایی تغذیه در بچه ماهی ازون برون دارد.

لغات کلیدی: پری بیوتیک الیگوفروکتوز، رشد، بازماندگی، ازون برون، شاخص‌های خونی

*نویسنده مسئول

مقدمه

ماهی ازون برون (*Acipenser Stellatus*) یکی از با ارزش ترین ماهیان خاویاری دریای خزر می باشد که دلیل زودرس بودن بلوغ جنسی از لحاظ استحصال خاویار ارزشمند بوده و می تواند بعنوان یکی از آبریان پرورشی سودآور مطرح باشد. پس از مشخص شدن رابطه بین سلامتی و توازن باکتریایی روده، ایده ای تحت عنوان پروبیوتیک مطرح گردید که هدف از آن تغییر بالانس باکتریایی روده به سمت باکتری های بالقوه مفید بود (Kolida et al., 2002). به دنبال شناسایی باکتری های اسید لاکتیک در فلور باکتریایی روده ماهی و میگو در دهه اخیر و مشخص شدن نقش آنها در سلامتی و رشد میزبان، ایده کاربرد پری بیوتیک ها در جایگزینی بهتر پروبیوتیک ها شکل گرفت (Gibson & Roberfroid, 1995; Rinngø Gatesoupe, 1998; Mahious et al., 2005;). استفاده از پری بیوتیک ها به دلیل تخمیر گزینشی توسط باکتری های مفید روده، سبب افزایش تعداد و غالبیت آنها می شود (Roberfroid, 2007).

در میان الیگو ساکاریدهای غیر قابل هضم، اینولین و الیگو فروکتوز پری بیوتیک های شناخته شده ای هستند که اثرات مفید، آنها به اثبات رسیده بطوریکه به صورت گزینشی توسط باکتریهای مفید روده ای از جمله، بیفیدوباکتری ها و لاکتوباسیلوس تخمیر شده، سبب تحریک رشد این باکتری های مفید در روده می شوند (Gibson, 1998). پری بیوتیک ها عناصر غذایی غیر قابل هضمی هستند که از طریق تحریک رشد یا فعال کردن یک یا تعداد محدودی از گونه های باکتریایی که در روده وجود دارند، اثرات سودمندی بر میزبان داشته و سلامتی آن را بهبود می بخشند (Gibson & Roberfroid, 2008). در سالهای اخیر تحقیقات فراوانی بر روی ترکیبات و مکمل های غذایی و از جمله پری بیوتیک ها و نقش آنها در بالا بردن سلامت آبریان صورت گرفته است با این وجود، در مورد اولیگوفروکتوز (FOS)، مطالعات محدودی از جمله در لارو توربوت (*Psetta maxima*) (Mahious et al., 2005)، میگو پا سفید غربی (*Litopenaus vannamei*) (Li et al., 2007; Zhou et al., 2007)، خیار دریایی (*Aposthopus japonicas*) (Zahang et al., 2007).

(al., 2010)، آزاد ماهی آتلانتیک (*Salmo salar*) (Grisdale-Helland et al., 2009)، گربه ماهی آفریقایی (*Clarias gripinus*) (Mahious et al., 2005)، تاس ماهی سیبری (*Acipenser baeri*) (Mahious et al., 2005)، هیبرید تیلپیا (Hybrid tilapia) (Zhou et al., 2009) و فیل ماهی (*Huso huso*) (Hosienifar, 2010) انجام شده که همگی به اثرات مثبت آن بر میزبان اشاره داشته، افزایش رشد، توازن میکروفلور روده و افزایش ایمنی را سبب شده اند. از طرف دیگر فاکتورهای خونی (از جمله تعداد گلبولهای قرمز، سفید و میزان هموگلوبین) از موارد هستند که در ارزیابی وضعیت سلامتی ماهیان شاخص می باشند (Houston, 1997; Asadi et al., 2006). همچنین ارزیابی شاخصهای خونی از نظر اقتصادی نیز می تواند در شناسایی بیماریها، تعیین وضعیت بهداشتی و سلامت ماهیان مفید باشد (جمیلی و همکاران، ۱۳۸۷). Hoseinifar و همکاران (۲۰۱۰) تاثیر پری بیوتیک الیگوفروکتوز را بر برخی شاخصهای خونی فیل ماهی (*Huso huso*) مورد مطالعه قرار داد. سرزوئلا و همکاران (۲۰۰۷) تاثیر پری بیوتیک اینولین را بر برخی شاخصهای خونی شانک سر طلایی (*Sparus aurata*) مورد مطالعه قرار دادند. با این وجود هنوز اثرات پری بیوتیک ها بر بسیاری از جنبه های فیزیولوژیکی و شاخصهای خونی ماهیان دیگر مشخص نشده لذا با هدف، بالا بردن ایمنی و کارایی غذا و افزایش بازماندگی ماهی ازون برون (*Acipenser stellatus*) در برابر شرایط نا مساعد محیطی، تحقیق فوق با بکار گیری پری بیوتیک الیگوفروکتوز در جیره با سطوح ۰ و ۱ و ۲ درصد (۰ و ۱۰ و ۲۰ گرم در کیلوگرم غذا) مورد استفاده قرار گرفت.

مواد و روش

محل آزمایش: این تحقیق به مدت ۱۱ هفته در بهار ۱۳۹۰ در ایستگاه تحقیقات شیلاتی قره سو واقع در ناحیه جنوب شرق خلیج گرگان و فاصله ۵ کیلومتری شهرستان بندر ترکمن (استان گلستان) انجام شد. تعداد ۹۰ قطعه بچه ماهی ازون برون با میانگین وزن ۳۰/۱۶±۰/۱۴ گرم از انستیتو بین المللی ماهیان خاویاری تهیه و پس از دو

هفته سازش با غذای دستی مورد استفاده (کنستانتره شرکت بیومار با سایز ۱/۹ میلی متر)، در ۹ تانک فایبرگلاس با حجم آبگیری ۱۰۰۰ لیتر و با تراکم ۱۰ قطعه در هر تانک ذخیره سازی شدند. جهت تامین نیاز اکسیژنی علاوه بر جریاندار بودن آب از سیستم هوادهی استفاده گردید.

طرح آزمایش: این تحقیق با استفاده از طرح کاملاً تصادفی در ۳ تیمار هر یک با ۳ تکرار طراحی گردید.

نوع پری بیوتیک و نحوه مصرف: پری بیوتیک مورد استفاده در این آزمایش الیگو فروکتوز (رافتیلوز P95 شرکت سیگما) جزو فروکتان های خطی (۱ → ۲) β است که در قوطی ۵۰ گرمی تهیه گردید. غذای پایه مورد استفاده در این تحقیق، کنستانتره آماده شرکت بیومار (جدول ۱) با اندازه ۱/۹ میلی متر متناسب با سایز دهان

بچه ماهی انتخاب و به منظور تهیه جیره های آزمایشی، پس از آرد نمودن ترکیبات اولیه غذا به وسیله آسیاب برقی، به ازای هر کیلو گرم غذا، مقادیر سطوح مورد نظر الیگو فروکتوز صفر، ۱۰ و ۲۰ گرم به طور جداگانه اضافه گردید. جیره های تهیه شده با استفاده از دستگاه همزن برقی به مدت ۳۰ دقیقه با اضافه کردن آب به حالت خمیری در آمد (اکرمی، ۱۳۸۷). خمیر حاصله با استفاده از چرخ گوشت به صورت رشته هایی به قطر ۲ میلی متر در آمده، در معرض جریان هوای اتاق خشک و سپس شکسته شدند تا اندازه نهایی بدست آید. غذاهای تفکیکی در ظروف پلاستیکی بسته بندی و در یخچال ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شدند (اکرمی، ۱۳۸۷ و حسینی فر، ۱۳۸۸). تغذیه بچه ماهیان روزانه ۳ بار و تا حد سیری صورت گرفت.

جدول ۱: آنالیز شیمیایی غذای مصرفی

اجزای جیره	مقدار	اجزای جیره	مقدار
پروتئین	۴۸٪	ویتامین A	۷۵۰۰ IU/Kg
چربی	۲۲٪	ویتامین D ₃	۱۵۰۰ IU/Kg
سلولز	۱/۸٪	مس	۱/۵ mg/kg
خاکستر	۸/۲٪	منگنز	۱۲ mg/kg
فسفر	۴۴٪	روی	۷۵ mg/kg
کلسیم	۰/۸٪	یدید کلسیم	۱/۸ mg/kg
سدیم	۰/۳۵٪		

۱۳۸۷ و حسینی فر، ۱۳۸۸) با استفاده از معادلات ریاضی، شاخص های رشد محاسبه گردیدند.

سنجش مقادیر هماتولوژیک خون: جهت مطالعات خون شناسی و آنزیم های سرم خون، ۹ قطعه ماهی از هر تیمار انتخاب و از ناحیه دمی آنها خونگیری به عمل آمد. مقدار ۲ سی سی از خون بدست آمده در لوله های هپارینه و فاقد هپارینه ریخته و جهت بررسی فاکتورهای خونی

بررسی شاخص های رشد: زیست سنجی بچه ماهیان در طی دوره بررسی به صورت هر ۱۵ روز یک بار انجام گرفت. جهت اندازه گیری وزن و طول به ترتیب از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ گرم و تخته بیومتری با دقت ۱ میلی متر استفاده گردید. به منظور ارزیابی روند رشد، بر اساس منابع موجود (بکن و همکاران، ۲۰۰۶ و اکرمی،

آماري SPSS (ویرایش پانزدهم) و نرم افزار Excel (۲۰۰۷) انجام گرفت.

نتایج

فاکتورهای رشد: اثرات سطوح مختلف الیگوفروکتوز بر فاکتورهای رشد بچه ماهی ازون برون در جدول (۲) ارائه شده است. نتایج این مطالعه نشان داد افزودن سطوح مختلف این پری بیوتیک به جیره بچه ماهیان ازون برون اثر معنی داری بر برخی فاکتورهای رشد دارد ($p < 0.05$). وزن نهایی بچه ماهیان تغذیه شده با سطوح ۱٪ نسبت به تیمار ۲٪ و صفر درصد اختلاف معنی دار نشان داد ($p < 0.05$)، هرچند بچه ماهیان تغذیه شده با سطح ۲٪ نسبت به ۱٪ در انتهای دوره وزن کمتری داشتند، ولی نسبت به گروه صفر درصد دارای اختلاف معنی دار بود ($p < 0.05$). بررسی روند تغییرات وزنی با استفاده از زیست سنجی های منظم ۱۵ روزه نشان دادند که ماهیان تغذیه شده با الیگوفروکتوز ۱ درصد در مقایسه با بقیه تیمارها وضعیت بهتری از لحاظ شاخصهای رشد داشتند. طول بدن بچه ماهیان تغذیه شده با سطوح مختلف الیگوفروکتوز (۱٪ و ۲٪) نسبت به گروه صفر درصد اختلاف معنی دار داشتند ($p < 0.05$)، ولی بین تیمار ۱٪ و تیمار ۲٪ اختلاف معنی داری مشاهده نگردید ($p > 0.05$). نرخ رشد ویژه در تیمارهای ۱ و ۲ درصد نسبت به صفر، افزایش معنی داری نشان داد ($p < 0.05$). کمترین مقدار نرخ رشد ویژه مربوط به گروه صفر درصد (معادل ۰/۵۶) و بیشترین مقدار در تیمار ۱٪ (معادل ۱/۲۸) مشاهده گردید. سطوح مختلف پری بیوتیک، میانگین رشد روزانه وزنی بچه ماهیان ازون برون را در تیمارهای ۱ و ۲٪ نسبت به صفر درصد را افزایش داد ($p < 0.05$). همچنین بچه ماهیان تغذیه شده با سطوح مختلف اولیگوفروکتوز از سرعت رشد وزنی متفاوتی برخوردار بودند بطوریکه افزایش سرعت رشد در تیمارهای ۱٪ و ۲٪ نسبت به تیمار صفر درصد از اختلاف معنی داری برخوردار بودند ($p < 0.05$). در سرعت رشد طولی هیچگونه اختلاف معنی داری بین تیمارها مشاهده نگردید ($p > 0.05$). کمترین و بیشترین درصد بازماندگی بچه ماهیان به ترتیب در گروه ۲٪ و صفر درصد ($15/28 \pm$) ۸۳/۳۳ و

بلافاصله در مخزن حاوی یخ به آزمایشگاه منتقل شدند (حقیقی، ۱۳۸۸). مقدار ۱ سی سی از نمونه های خون به ترتیب در لوله های هپارینه (به عنوان شاهد) و فاقد هپارینه ریخته، لوله های فاقد هپارین به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۷۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شدند. سرم جداسازی شده را در اپندورف ریخته و تا زمان بررسی آنزیمهای سرم در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند. شمارش تعداد گلبولهای قرمز و سفید پس از رقیق سازی با استفاده از لام هموسیستمتر انجام شد. همچنین شمارش افتراقی گلبولهای سفید (لنفوسیت، نوتروفیل، ائوزینوفیل، مونوسیت) پس از تهیه گسترش خونی و رنگ آمیزی با رنگ گیمسا صورت گرفت. میزان هماتوکریت بر اساس روش میکروهماتوکریت و میزان هموگلوبین بر اساس روش Sahli تعیین گردیدند (Brown., 1988). میانگین حجم گویچه (MCV)، میانگین هموگلوبین گویچه (MHC) و میانگین غلظت هموگلوبین گویچه (MCHC) بر اساس فرمولهای استاندارد مشخص گردید (حقیقی، ۱۳۸۸).

بررسی فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب: با توجه به اهمیت فاکتورهای آب بر سلامتی بچه ماهیان، علاوه بر نظافت محل نگهداری و به منظور کنترل کیفی، روزانه برخی پارامترهای آب شامل دما با استفاده از ترمومتر جیوه ای، اکسیژن محلول با استفاده اکسی متر (WTW) مدل oxi320/set، اسیدیته با استفاده از pH متر مدل 3223-B/set1-wtw و هدایت الکتریکی با استفاده از EC سنج مدل Cond 330i/set WTW ثبت گردیدند.

تجزیه و تحلیل آماری داده ها: توزیع نرمال متغیرهای اندازه گیری شده از تکرارهای هر تیمار، ابتدا به وسیله آزمون Shapiro-Wilk تایید و تجزیه و تحلیل داده های مربوط به تغییرات رشد، فاکتورهای تغذیه و خون شناسی، تراکم باکتریایی روده (شمارش کلی باکتری و شمارش تراکم لاکتوباسیلوس) و مقادیر برخی پارامترهای ایمنی غیراختصاصی ماهیان پرورشی از روش آنالیز واریانس یک طرفه ANOVA انجام و در نهایت مقایسه میانگین تیمارها بر اساس تست چند دامنه ای دانکن در سطح اطمینان ۹۵٪ با بهره گیری از نرم افزار

نسبت به صفر درصد اختلاف معنی داری مشاهده نشد ($p>0.05$). فاکتور وضعیت یا ضریب چاقی در بین تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی داری را نشان ندادند ($p>0.05$).

۹۶/۶۷±۵/۷۷ (مشاهده شد ولی درصد بازماندگی بین تیمارهای صفر و ۱٪ اختلاف آماری نشان نداد ($p>0.05$). تولید خالص ماهی بین تیمارهای ۱٪ و ۲٪ نسبت به صفر درصد اختلاف معنی دار نشان داد ($p<0.05$) با این وجود، بیشترین مقدار تولید خالص در تیمار ۱٪ الیگوفروکتوز بدست آمد درحالیکه بین تیمار ۲٪

جدول ۲: مقایسه برخی شاخص‌های رشد (میانگین و انحراف معیار) بدست آمده در بچه ماهیان ازون برون تغذیه شده با سطوح مختلف پربیوتیک الیگوفروکتوز طی مدت ۷۶ روز

شاخص	تیمار	صفر درصد	۱٪ الیگوفروکتوز	۲٪ الیگوفروکتوز
میانگین وزن ابتدای دوره (گرم)	۳۰/۱۸ ± ۰/۳۳ ^a	۳۰/۰۱ ± ۰/۳۴ ^a	۳۰/۲۹ ± ۰/۳۷ ^a	
میانگین طول ابتدای دوره (سانتی متر)	۲۳/۴۷ ± ۱/۱ ^a	۲۳/۰۸ ± ۰/۴۵ ^a	۲۳/۷۲ ± ۰/۷۵ ^a	
میانگین وزن انتهای دوره (گرم)	۴۹/۲۸ ± ۳/۲۳ ^a	۷۸/۳۹ ± ۶/۴ ^c	۶۵/۴۲ ± ۳/۶۲ ^b	
میانگین طول انتهای دوره (سانتی متر)	۲۹/۸۹ ± ۰/۵۹ ^a	۳۳/۹۵ ± ۱/۱۹ ^b	۳۲/۹۹ ± ۰/۰۵ ^b	
افزایش وزن بدن (گرم)	۱۹/۱ ± ۳/۵۴ ^a	۴۸/۳۸ ± ۶/۳۱ ^c	۳۵/۱۳ ± ۳/۶۶ ^b	
در صد افزایش وزن بدن (درصد)	۶۳/۳۷ ± ۱۲/۴۴ ^a	۱۶۱/۱۳ ± ۲۰/۱۷ ^c	۱۱۶/۰۲ ± ۱۲/۳۹ ^b	
نرخ رشد ویژه (درصد)	۰/۵۶ ± ۰/۰۹ ^a	۱/۲۸ ± ۰/۰۸ ^c	۰/۹۷ ± ۰/۱۳ ^b	
میانگین رشد روزانه	۰/۸۴ ± ۰/۱۶ ^a	۲/۱۲ ± ۰/۲۷ ^c	۱/۴۲ ± ۰/۲۹ ^b	
سرعت رشد طولی (در صد)	۰/۳۲ ± ۰/۰۶ ^a	۰/۳۷ ± ۰/۲۲ ^a	۰/۴۳ ± ۰/۰۴ ^a	
سرعت رشد وزنی (درصد)	۰/۶۳ ± ۰/۰۹ ^a	۱/۱۷ ± ۰/۰۸ ^c	۰/۹۶ ± ۰/۰۷ ^b	
فاکتور وضعیت	۰/۱۹ ± ۰/۰۱ ^a	۰/۲ ± ۰/۰۱ ^a	۰/۱۸ ± ۰/۰۱ ^a	
نرخ بقاء (درصد)	۹۶/۶۷ ± ۵/۷۷ ^b	۹۳/۳۳ ± ۵/۷۷ ^b	۸۳/۳۳ ± ۱۵/۲۸ ^a	
تولید خالص ماهی (گرم)	۱۸۳/۳ ± ۲۲/۷ ^a	۴۵۲/۹۳ ± ۷۸/۵ ^b	۲۹۲/۵۶ ± ۵۷ ^a	

اعداد (SD ± میانگین) در هر ردیف با حروف مشترک دارای اختلاف معنی دار نیستند.

نداد ($p>0.05$). در بررسی کارایی غذا و پروتئین تیمار ۱٪ پری بیوتیک اختلاف معنی داری نسبت به صفر درصد نشان دادند ($p<0.05$). بیشترین کارایی غذا (۷/۱۴ ± ۴۱/۱۸) و پروتئین (۸۵/۷۸±۱۴/۸۷) در تیمار ۱٪ الیگوفروکتوز مشاهده گردید. شاخص کبدی که از نسبت وزن کبد به وزن بدن ماهی بدست می آید، در بین تیمارها اختلاف معنی دار نشان داد ($p<0.05$). بیشترین مقدار آن در گروه صفر درصد (۲/۲۹ ± ۰/۰۱) و کمترین در تیمار ۲٪ الیگوفروکتوز (۲/۰۵ ± ۰/۴۶) مشاهده گردید.

معیارهای تغذیه ای: نتایج اثرات سطوح مختلف الیگوفروکتوز بر معیارهای تغذیه ای بچه ماهیان ازون برون در جدول (۳) ارائه شده است. ضریب تبدیل غذایی در تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی دار نشان داد ($p<0.05$).

کمترین مقدار این شاخص معادل ۲/۴۸ ± ۰/۴۸ مربوط به تیمار ۱٪ و بیشترین مقدار ۶/۰۶ ± ۰/۷۴ در گروه صفر درصد بدست آمد. غذای خورده شده روزانه (درصد در روز) که یکی از شاخصهای کمی تبدیل غذا در واحد زمان می باشد، بین تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی دار نشان

جدول ۳: مقایسه برخی شاخص‌های تغذیه ای (میانگین و انحراف معیار) بدست آمده در بچه ماهیان ازون برون تغذیه شده با سطوح مختلف

پریبیوتیک الیگوفروکتوز طی مدت ۷۶ روز

شاخص	تیمار	صفر درصد	۱٪ الیگوفروکتوز	۲٪ الیگوفروکتوز
ضریب تبدیل غذایی		$6/06 \pm 0/74^b$	$2/48 \pm 0/48^a$	$3/87 \pm 0/84^a$
کارایی غذا (در صد)		$16/66 \pm 2/06^a$	$41/18 \pm 7/14^b$	$26/6 \pm 5/18^a$
غذای خورده شده روزانه (در صد در روز)		$3/77 \pm 0/11^a$	$2/9 \pm 0/3^a$	$3/22 \pm 1/17^a$
نسبت کارایی پروتئین (گرم/گرم)		$34/72 \pm 4/3^a$	$85/78 \pm 14/87^b$	$55/41 \pm 10/8^a$
شاخص کبدی		$2/29 \pm 0/01^a$	$2/17 \pm 0/12^{ab}$	$2/05 \pm 0/46^b$

اعداد (sd $\pm$ میانگین) در هر ردیف با حروف مشترک دارای اختلاف معنی دار نیستند.

شاخص‌های خونی بچه ماهیان ازون برون: اثر سطوح مختلف پری بیوتیک الیگوفروکتوز روی برخی متغیرهای خون شناختی در جدول (۴) نشان داده شده است. میزان میانگین حجم گویچه ها (MCV)، میانگین هموگلوبین گویچه ها، میانگین غلظت هموگلوبین گویچه ها (MCHC)، گلبول قرمز، هماتوکریت و هموگلوبین بین تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی داری نشان ندادند ($p > 0.05$).

نتایج شمارش افتراقی گلبول های سفید خون و مقادیر نوتروفیل در تیمارهای آزمایشی در جدول (۵)

نشان داده شده است. در شمارش گلبول سفید بین تیمار ۱٪ و ۲٪ الیگوفروکتوز، اختلاف معنی دار مشاهده گردید ($p < 0.05$). بیشترین شمار گلبول سفید $2133/42 \pm$ در تیمار ۱٪ و کمترین آن $271/48 \pm$ در گروه صفر درصد بدست آمد. در مورد اندازه گیری مقادیر لنفوسیت و نوتروفیل اختلاف معنی داری بین تیمارها مشاهده نگردید ($p > 0.05$) ولی بین مقادیر اندازه گیری شده نوتروفیل تیمار ۱٪ نسبت به تیمارهای صفر و ۲ درصد اختلاف معنی دار مشاهده گردید ($p < 0.05$).

جدول ۴: مقادیر برخی پارامترهای هماتولوژیک بچه ماهیان ازون برون تغذیه شده با سطوح مختلف

شاخص	تیمار	شاهد	۱٪ الیگوفروکتوز	۲٪ الیگوفروکتوز	P
(fl)MCV	۲۲۹/۵۹ ± ۱۶/۹۸ ^a	۲۴۵/۰۳ ± ۶/۰۲ ^a	۲۲۶/۹ ± ۱۳/۲۶ ^a	۰/۲۵۶ ns	
(pg) MCH	۴۶/۵۴ ± ۰/۹۱ ^a	۴۵/۸۹ ± ۱/۶۴ ^a	۴۴/۶۴ ± ۵/۸۴ ^a	۰/۸۰۶ ns	
(%) MCHC	۱۹/۶۶ ± ۰/۷۴ ^a	۱۸/۷۷ ± ۰/۵۲ ^a	۱۹/۳۸ ± ۳/۴۳ ^a	۰/۸۸۵ ns	
(mm ³ ×10 ⁶) RBC	۰/۹۶ ± ۰/۰۳ ^a	۱/۰۳ ± ۰/۱۲ ^a	۰/۹ ± ۰/۲۴ ^a	۰/۶۱۳ ns	
(%) HCT	۲۲/۶۷ ± ۱/۲ ^a	۲۵/۲۲ ± ۳/۱۷ ^a	۲۰/۶۷ ± ۴/۵۸ ^a	۰/۳۰۷ ns	
(g/dl) Hb	۴/۴۹ ± ۰/۱۹ ^a	۴/۷۲ ± ۰/۴۸ ^a	۴/۱۱ ± ۱/۵۳ ^a	۰/۷۳۵ ns	

اعداد (SD $\pm$ میانگین) در هر ردیف با حروف مشترک دارای اختلاف معنی دار نیستند. S. معنی دار و ns غیر معنی دار

جدول ۵: شمارش افتراقی گلبول های سفید در بچه ماهیان ازون برون تغذیه شده با سطوح مختلف پری بیوتیک

شاخص	تیمار	شاهد	۱٪ الیگوفروکتوز	۲٪ الیگوفروکتوز	P
گلبول سفید ($1000 \times \text{mm}^3$)	1000 ± 27^a	5186 ± 27^a	13311 ± 21^c	8185 ± 0.3^b	0.001 S
لنفوسیت (%)	80.67 ± 16.65^a	80.67 ± 16.65^a	94.78 ± 1.64^a	81.11 ± 7.04^a	0.251 NS
اِئوزینوفیل (%)	1.44 ± 0.51^a	1.44 ± 0.51^a	0.72 ± 0.35^a	2.44 ± 0.69^a	0.288 NS
نوتروفیل (%)	4.67 ± 1.53^a	4.67 ± 1.53^a	25.44 ± 10.34^b	15.11 ± 7.81^{ab}	0.041 S

اعداد (SD $\pm$ میانگین) در هر ردیف با حروف مشترک دارای اختلاف معنی دار نیستند. S معنی دار و NS غیر معنی دار

بودن شرایط برای تیمارها تفاوت چندانی بین این فاکتورها در تیمارهای مورد آزمایش بدست نیامد ($p > 0.05$). میانگین نتایج بدست آمده از ثبت فاکتورهای کیفی آب در طول دوره پرورش در جدول (۶) نشان داده شده است.

فاکتورهای کیفی آب: فاکتورهای کیفی آب شامل اکسیژن محلول، دمای آب و هوا، pH، EC روزانه در طول دوره پرورش از تانک ها اندازه گیری و ثبت گردیدند. با توجه به جریان دار بودن آب ورودی برای تانک ها و یکسان

جدول ۶: میانگین فاکتورهای کیفی آب در طول دوره پرورش

فاکتور	مقادیر
اکسیژن محلول (mg/lit)	6.66 ± 0.98
pH	8.05 ± 0.2
دمای آب	22.41 ± 2.72
دمای هوا	28.86 ± 4.83
EC (ms/cm)	4.98 ± 0.1

بحث

کردند که پری بیوتیکهای الیگوفروکتوز و اینولین اثرات معنی دار مثبتی بر عملکرد رشد و مصرف جیره تاسماهی سیبری (*Acipenser baeri*) و گربه ماهی آفریقایی (*Clarias gariepinus*) داشتند. Mahious و همکاران (۲۰۰۵) تأثیر اینولین (Raftilin ST)، الیگوفروکتوز (Raftilose P95) و لاکتوسوکروز را به عنوان پری بیوتیک روی رشد لارو ماهی کفشک (*Psetta maxima*) در سطح ۲٪ مطالعه و نتیجه گیری کردند که میانگین وزن نهایی و ضریب رشد ویژه در گروه تغذیه شده با الیگوفروکتوز نسبت به سایر گروهها بالاتر بود. اثرات مثبت پری بیوتیک بر برخی فاکتورهای رشد در سخت پوستان نیز مورد بررسی قرار گرفته است (Zhou, ۱۰۳

نتایج بدست آمده از تحقیق حاضر نشان می دهد که سطح ۱٪ الیگوفروکتوز منجر به افزایش معنی دار وزن نسبت به دیگر تیمارها گردید. برخی محققین نتایج مثبتی از تاثیر پری بیوتیکها بر عملکرد رشد ارائه دادند. Mahious و همکاران (۲۰۰۵) با مطالعه روی لارو ماهی توربوت نشان دادند که ماهیان تغذیه شده با سطح ۲٪ الیگوفروکتوز میانگین وزن نهایی بیشتری نسبت به سایر گروهها داشتند. Hui-Yuan و همکاران (۲۰۰۷) در مطالعه ای ۸ هفته ای تغذیه تیلاپیا با پری بیوتیک الیگوفروکتوز زنجیره کوتاه، به افزایش رشد معنی دار دست یافتند. Mahious و همکاران (۲۰۰۵) گزارش

2007). نتایج مطالعه حاضر نشان داد پری بیوتیک الیگوفروکتوز بر روی بازماندگی بچه ماهیان ازون برون تأثیر نداشت و لذا بیشترین نرخ بازماندگی در گروه صفر درصد بدست آمد. در مطالعه اکرمی (۱۳۸۷) که از سطوح مشابه پری بیوتیک اینولین در جیره فیل ماهی استفاده نمود چنین بدست آمد که اینولین هیچ اثر معنی داری بر بازماندگی بچه فیل ماهی ندارد. همچنین سطوح مختلف اینولین اثری بر بازماندگی قزل آلائی رنگین کمان نیز نداشت (اکرمی و همکاران، ۱۳۸۷). سطوح مختلف پری بیوتیک مانان الیگوساکارید اثرات نامطلوب بر بازماندگی تیلابی رود نیل (*Oreochromis niloticus*) داشت (Vendemiatti et al., 2003). حسینی فر (۱۳۸۸) گزارش کرد که الیگوفروکتوز به طور معنی داری بازماندگی بچه فیل ماهی را تحت تأثیر قرار می دهد و بازماندگی در تیمار ۲٪ بیشتر از تیمار صفر و ۳٪ الیگوفروکتوز بود.

اثرات پری بیوتیک بر بازماندگی، ارتباط مستقیمی با توانایی میکروفلور باکتریایی دستگاه گوارش آبی برای تخمیر پری بیوتیک دارد (Hoseinifar & Zare, 2008) از طرف دیگر قابلیت تخمیر نیز به طول زنجیره و درجه پلیمریزاسیون بستگی دارد. مشخص شده که اینولین استخراج شده از ریشه کاسنی با زنجیره طولانی (درجه پلیمریزاسیون ۱۰ تا ۶۰) نسبت به الیگوفروکتوز زنجیره کوتاه (با درجه پلیمریزاسیون ۲ تا ۸) ۲ برابر آهسته تر تخمیر می شود (Roberfroid et al., 1998). عدم تخمیر و تجمع پری بیوتیک در روده، اثرات نامطلوب فیزیولوژیکی بر آبی خواهد داشت (Olsen et al., 2001). نتایج متفاوت بدست آمده در زمینه بازماندگی آبیان در اثر استفاده از سطوح مختلف پری بیوتیک ها را می توان به شرایط محیط پرورش، کمیت و کیفیت غذا، اختلاف رژیم غذایی، نوع گونه پرورشی، اندازه و سن می تواند برفاکتورهای خونی نسبت داد (Dumeizan et al., 1997). در مطالعه حاضر بررسی فاکتورهای خونی از جمله تعداد گلبول های قرمز و سفید، هموگلوبین، هماتوکریت، میانگین حجم گویچه ها، میانگین هموگلوبین گویچه ها و میانگین غلظت هموگلوبین گویچه ها تفاوت معنی داری در بین تیمارها نشان ندادند ولی مقادیر هموگلوبین و هماتوکریت، گلبول قرمز و میانگین حجم

گویچه ها در تیمار ۱٪ نسبت به سایر تیمارها بیشتر بودند. بیشترین میزان گلبول سفید در تیمار ۱٪ پری بیوتیک مشاهده شده که اختلاف معنی داری نسبت به سایر تیمارها داشت ($p < 0.05$). اکرمی (۱۳۸۷) بیشترین میزان گلبول سفید را در تیمار ۱٪ پری بیوتیک اینولین گزارش کرد و با افزایش سطح پری بیوتیک تعداد گلبول سفید دچار کاهش معنی داری شد. افزایش تعداد گلبول های سفید می تواند نشانه اثرات مثبت پری بیوتیک به عنوان محرک دستگاه ایمنی باشد (اکرمی و همکاران، ۱۳۸۷). حسینی فر (۱۳۸۸) نیز گزارش کرد که تفاوت معنی داری از نظر تعداد گلبول قرمز در بین تیمارهای پری بیوتیکی وجود ندارد درحالیکه تعداد گلبول های سفید در تیمار الیگوفروکتوز ۲٪ افزایش معنی داری نسبت به الیگوفروکتوز ۱٪ نشان داد. میزان هموگلوبین نیز در تیمار ۳٪ کمتر از ۱ و ۲٪ بود. در دیگر مطالعات بی تأثیر بودن پری بیوتیک بر فاکتورهای خون ماهی گزارش شده است. به عنوان مثال، افزودن سطوح ۰/۵ و ۲٪ اینولین به جیره ماهی قزل آلائی رنگین کمان، اثر معنی داری بر فاکتورهای خونی (تعداد گلبول های قرمز، هماتوکریت، هموگلوبین) نداشت (شیخ الاسلامی و همکاران، ۱۳۸۷). در شمارش تفریقی گلبول های سفید مطالعه حاضر، تفاوت معنی داری بین تعداد گلبولهای سفید و نوتروفیل بین تیمارها بدست نیامد در حالی که بیشترین میزان لنفوسیت و نوتروفیل در تیمار ۱٪ و کمترین میزان ائوزونوفیل نیز در تیمار ۱٪ پری بیوتیک مشاهده شد. در شمارش تفریقی گلبول های سفید مطالعه حسینی فر (۱۳۸۸)، تفاوت معنی داری بین تعداد نوتروفیل، مونوسیت و ائوزونوفیل تیمارهای مختلف بدست نیامد اما تعداد لنفوسیت در تیمار ۱ و ۲٪ الیگوفروکتوز به طور معنی داری بیشتر از صفر و ۳٪ بود.

اکرمی و همکاران (۱۳۸۷) گزارش کردند تعداد لنفوسیت ها در شمارش تفریقی تیمار ۱٪ اینولین به طور معنی داری بیشتر از سایر تیمارها بود درحالیکه این روند در مورد سایر گلبول های سفید قابل تسری نیست. گلبول های سفید جزو اولین سدهای دفاعی بدن در برابر عوامل بیماری زا هستند (اکرمی و همکاران، ۱۳۸۷). افزایش گلبول های سفید و به خصوص لنفوسیت ها در تیمار الیگوفروکتوز ۱٪ مؤید اثرات مطلوب پری بیوتیک

اکرمی، ر.، قلیچی، ا.، و ابراهیمی، ا.، ۱۳۸۷. تأثیر سطوح متفاوت پری بیوتیک اینولین بر رشد و زنده ماندن ماهی قزل آلا رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*). اولین کنفرانس ملی علوم شیلات و آبزیان ایران. دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان (۱۹-۱۷ اردیبهشت ۱۳۸۷). صفحه ۱۰-۱۲.

حسینی فر، س.ح.، ۱۳۸۸. اثرات پری بیوتیک الیگو فروکتوز بر غالبیت لاکتوباسیلوس فلور باکتریایی روده، بقاء، شاخصهای خونی و بافت کبد بجه فیل ماهی (*Huso huso*) پایان نامه کارشناسی ارشد دانشگاه تهران ۱۲۵ صفحه.

شیخ الاسلامی، ا.، یوسفیان، م.، یآوری، و.، محمدیان، ت.، ابهری، ح. و گوران ح.، ۱۳۸۷. تحریک سیستم ایمنی قزل آلا رنگین کمان *Oncorhynchus mykiss* و افزایش مقاومت در برابر استرپتوکوک با افزودن پری بیوتیک اینولین به جیره غذایی. خلاصه مقالات اولین همایش ملی منابع شیلاتی دریای خزر، ۶۸ صفحه.

Asadi, F., Rostami, A., Pourkabir, M. and Shahriari, A., 2006. Serum lipid and lipoprotein profile of Asian orotise (*Agrionemys horsfieldi*) in prehibernation state. Comparative Clinical Pathology, 16(3), 193-195.

Dumeizan, A., Garcia-Galleo, M., Domeizan, J. and Sanz, A., 1997. Evolution during growth of the biometry and the blood constants of the Sturgeon (*Acipenser naccarii*). Abstract book, 3rd. International Symposium of Sturgeon. Italy.

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

الیگوفروکتوز بر ایمنی غیر اختصاصی ماهی ازون برون می باشد. البته می بایست مطالعات بیشتری به منظور ارزیابی دقیق اثرات پریبیوتیک الیگوفروکتوز بر ایمنی و مقاومت ازون برون در مواجهه با عوامل بیماری زا انجام شود.

بر اساس یافته های موجود در این بررسی و یافته های دیگر پژوهشگران مشاهده می شود که فاکتورهای مانند عوامل محیطی، فصول سال، شوری، دوره نوری، درجه حرارت و تراکم، عوامل فیزیولوژیکی گونه آبی، سیکل تولید مثلی و وضعیت بلوغ، سن، جنس و شرایط تغذیه ای، زمان نمونه گیری، چگونگی تهیه نمونه، دقت و حساسیت روش های اندازه گیری می توانند بر فعالیت فراسنجه های خونی تأثیر بگذارند و باعث اختلاف در تفسیر نتایج شوند (ویلیام و وارنر، ۱۹۷۶). هم چنین ترکیب جیره های غذایی، نوع پری بیوتیک مصرفی، درجه خلوص پری بیوتیک و میزان مورد استفاده آن در جیره، روش های مختلف اضافه کردن پری بیوتیک به جیره و احتمالاً فلور میکروبی ویژه ای که قادر به استفاده از پری بیوتیک به عنوان سوبسترا هستند نیز به طور قابل ملاحظه ای بر خصوصیات ریخت شناسی خون اثر می گذارند. با توجه به نتایج بدست آمده در تحقیق حاضر پری بیوتیک الیگوفروکتوز بر برخی فاکتورهای رشد و فراسنجه های خونی اثرات مثبتی داشته است که با نتایج بسیاری از محققین مطابقت دارد.

تشکر و قدر دانی

از جناب آقای دکتر رسول قربانی به جهت رهنمودهای سازنده در آنالیز آماری داده ها و از کلیه همکارانی که در انجام این تحقیق بنده را یاری نمودند تشکر و قدردانی می گردد.

منابع

اکرمی، ر.، ۱۳۸۷. تأثیر پری بیوتیک اینولین بر رشد، بازماندگی و تراکم باکتریایی دستگاه گوارش فیل ماهیان جوان (*Huso huso*). رساله دکتری دانشگاه آزاد علوم و تحقیقات تهران، ۱۰۰ صفحه.

- Li, P., Burr, G.S., Gatlin, D.M., Hume, M.E., Patnaik, S., Castille, F.L. and Lawrence, A.L., 2008.** Dietary Supplementation of Short-Chain Fructooligosaccharides Influences Gastrointestinal Microbiota Composition and Immunity Characteristics of Pacific White Shrimp, *Litopenaeus vannamei*, Cultured in a Recirculating System, J. Nutr. 137, 2763-2768.
- Mahious, A.S., Gatesoupe, F.J., Hervi, M., Metailler, R. and Ollevier, F., 2005.** Effect of dietary inulin and oligosaccharides as prebiotics for weaning turbot, *Psetta maxima* (Linnaeus, C. 1758). Aquaculture International, 14(3), 219-229.
- Olsen, R.E., Myklebust, R., Kryvi, H., Mayhew, T.M. and Ringø, E., 2001.** Damaging effect of dietary inulin on intestinal enterocytes in Arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.). Aquac. Res. 32, 931-934.
- Ringø, E. and Gatesoupe, F.J., 1998.** Lactic acid bacteria in fish: a review. Aquaculture 160:177-203. doi:10.1016/S0044-8486(97)00299-8
- Roberfroid, M., Van Loo, J.A. and Gibson, E.R., 1998.** The bifidogenic nature of chicory inulin and its hydrolysis products. Journal of Nutrition, 128, 11-19.
- Roberfroid, M.B. 2007.** Prebiotics: the concept revisited, *Journal of Nutrition*, 137, 830S-837S.
- Vendemiatti, J.A., Costa, A.B., and Cyrino, J.E.P., 2003.** Mananoligosaccharide os alimentares (MOS) como agentes profiláticos das infecções por *Edwardsiella* em Tilápia do Nilo
- Gibson, G.R., 1998.** Dietary modulation of the Human Gut Microflora using the prebiotics oligofructose and Inulin. Nutritional and Health Benefits of Inulin and Oligofructose conference, May 18-19, Bethesda.
- Gibson, G.R. and Roberfroid, M. B., 2008.** Hand book of prebiotics. CRC press, New York, 506P.
- Grisdale-Helland, B., Helland, S.J. and Gatlin, D.M., 2008.** The effects of dietary supplementation with mannanoligosaccharide, fructooligosaccharide or galactooligosaccharide on the growth and feed utilization of Atlantic salmon (*Salmo salar*). Aquaculture, 283, 163-167.
- Hoseinifar, S.H. and Zare, A.S., 2008.** Probiotics, Prebiotics and synbiotics in Aquaculture: A review. Proceeding of International Training Course on fish Nutrition and disease, 5 September, Ghaemshahr, Iran, 23P.
- Hoseinifar, S.H., Mirvaghefi, A., Mojazi Amiri, B., Khosbavar 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. In press.
- Houston, H., 1997.** Are the classical hematological variables acceptable indicators of fish health? American Fish Society, 126, 879-894.
- Kolida, S., Tuohy, K. and Gibson, G.R., 2002.** Prebiotic effects of inulin and oligofructose. British Journal of Nutrition, 87(2), S193-S197.

Zhou, Z.G., Ding, Z.K. and Huiyuan, L.V., 2007. Effects of dietary short-chain fructooligosaccharides on intestinal microflora, survival, and growth performance of juvenile white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. J. World Aquacult. Soc. 38(2), 296–301.

(*Oreochromis niloticus*). pp. 132–140, In : Yuji sado, R. and De Almeida, A.J., 2008. Feeding dietary mannan oligosaccharides to juvenile Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, has no effect on hematological parameters and showed decreased feed consumption. Journal of the world aquaculture society, 39 (6), 821-827.

An assessment the effect of Fructo-oligosaccharide on growth performance, survival and hematological factors in sturgeon juvenile (*Acipenser stellatus*)

Iri Y.^{(1)*}; Hafezieh M⁽²⁾; Haghpanah A⁽¹⁾; Rostami H.K⁽¹⁾; Ghareve B.⁽¹⁾; Kor A.V.⁽¹⁾; Kor N.M.⁽¹⁾; Lakzaie F.⁽²⁾

1- Inland waters Aquatics Stocks Research Center, P.O.Box:139 Gorgan, Iran

2- Iranian Fisheries Science Research Institute

Key words: Prebiotics, Oligofructose, Hematological factors, Survival rate, *Acipenser stellatus*

Abstract

The purpose of this study was to evaluate the effect of Fructo-oligosaccharide (FOS) on growth and survival performances of sturgeon juvenile fish (*Acipenser stellatus*). 90 sturgeon fry fishes (average weight 30.16 ± 0.14 gram) has been brought from Sturgeon International, Research Institute and stored in fiberglass tanks using randomize design with 3 treatments each with 3 replicates in relative constant physico-chemical water parameters ($P > 0.05$) then fed with basal adaptive food for two weeks. Fry fed 11 weeks with diets containing 0% (Basal food), 1% and 2% oligofructose (Raftilose p95, Sigma Co.) added to the basal food. The results revealed that 1% prebiotic compare to other treatments caused increasing weight gain, specific growth rate, feed conversion, feed efficiency, protein efficiency ratio and liver indices significantly ($p < 0.05$) but there is no any significant difference between treatment's survival rates ($p > 0.05$). At the end of experiment, after bleeding from sample fries, the hematological characters showed that there are no any differences between hemoglobin, WBC and RBC numbers, hematocrit, MCV, MCH and MCHC between treatments ($P > 0.05$) although the number of WBC in 1% and numbers of neutrophils in 1 and 2% prebiotic had differences with zero% significantly ($P < 0.05$). Based on these results good influence on the improving growth and feeding performances by oligofructose as prebiotic was proved in *Acipenser stellatus* fries and 1% level was the best.

*Corresponding author