تأثیر سطوح مختلف پربیوتیک مانان الیگو ساکارید بر شاخص های رشد، بازماندگی، ترکیب لاشه و تراکم لاکتوباسیل روده در فیل ماهیان *Huso huso* (Linnaeus, 1754) جوان پرورشی

شایان قبادی[۱]، مجید رازقی منصور*[۲]، رضا اکرمی[۳]، کیا امانی دنجی[۴] و عباس اسماعیلی ملاء[۵]

۱. گروه شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی، واحدبابل
۲. دانش آموخته کارشناسی ارشد تکثیر و پرورش آبزیان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بابل
۳. گروه شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد آزادشهر
۴. عضو باشگاه پژوهشگران جوان، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قائم شهر
۵. مرکز تکثیر و بازسازی ذخایر آبزیان شهید رجایی ساری

چکیده

این پژوهش به منظور ارزیابی تأثیر سطوح مختلف پربیوتیک مانان الیگوساکارید بر شاخص های رشد، بازماندگی، ترکیب لاشه و تراکم لاکتوباسیل روده در فیل ماهی (*Huso huso*) جوان پرورشی به مدت ۴۶ روز انجام گرفت. آزمایش با استفاده از طرح کاملاً تصادفی شامل سطوح صفر (شاهد)، ۲ و ۴ گرم پربیوتیک مانان‌الیگوساکارید به ازای هر کیلوگرم جیره در قالب سه تیمار با سه تکرار طراحی شد. آزمایش درون مخازن فایبرگلاس ۲۰۰۰ لیتری که با ۹۰۰ لیتر آب پر شده بود انجام گرفت. تعداد ۱۵ عدد فیل ماهی جوان با میانگین وزنی۰/۵۷± ۴۶/۸۹ گرم درون مخازن، ذخیره سازی و تا حد سیری تغذیه شدند. نتایج با استفاده از آنالیز رگرسیون و ضریب همبستگی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. با توجه به نتایج بدست آمده تفاوت معنی داری از نظر رشد و کارایی تغذیه در بین تیمارها وجود نداشت به طوری که فقط در سطح ۴ گرم در کیلوگرم مانان الیگوساکارید تفاوت معنی داری از نظر غذای خورده شده به ازای هر ماهی مشاهده شد کمترین و بیشترین عملکرد رشد به ترتیب درسطح ۴ و ۲ گرم مانان-الیگوساکارید در هر کیلوگرم جیره بود. از نظر بازماندگی تفاوت معنی داری در بین تیمارها مشاهده نگردید. یافته های آنالیز لاشه نشان داد که افزودن مانان الیگوساکارید به جیره در سطح ۲ گرم در کیلوگرم باعث تفاوت معنی داری در مقدار چربی لاشه گردید .ولی در میزان پروتئین، خاکستر و رطوبت تفاوت معنی داری در بین تیمارها مشاهده نشد. تفاوت معنی داری در تعداد کل لاکتوباسیل های روده تیمار شاهد با تیمارهای آزمایشی مشاهده نگردید .نتایج مطالعه حاضر نشان داد که سطوح مختلف پربیوتیک مانان الیگوساکارید مورد مطالعه تأثیری بر افزایش عملکرد رشد و تغذیه در فیل ماهی جوان پرورشی ندارند و این پربیوتیک نمی تواند مکمل مناسبی برای جیره غذایی فیل ماهی باشد.

واژگان کلیدی: پربیوتیک مانان الیگوساکارید، رشد، بازماندگی، ترکیب بدن، فیل ماهی (*Huso huso*)

* نویسنده مسوول، پست الکترونیک: Razeghi2036@yahoo.com

۱. مقدمه

فیل ماهی (*Huso huso*) یکی از مهمترین گونه های ماهیان خاویاری است که به دلیل کیفیت ممتاز خاویار و ارزش بالای اقتصادی از اهمیت زیادی در فعالیت های صیادی (پیکان حیرتی و همکاران، ۱۳۸۸) و همچنین به لحاظ دارا بودن شرایط خاص از جمله عادت پذیری به غذاهای مصنوعی و کنسانتره، ظرفیت رشد بالا و سریع، داشتن مقاومت در برابر شرایط نامناسب محیطی (احمدی فر و همکاران، ۱۳۸۸) و سازگاری به شرایط پرورشی دارای اهمیت فراوان از نظر آبزی پروری است (پیکان حیرتی و همکاران، ۱۳۸۸). اما در سال های اخیر به دلایل مختلفی از جمله صید بی رویه و غیر مجاز، آلودگی های زیست محیطی، از بین رفتن مناطق مناسب تخم ریزی، سدسازی بر روی رودخانه ها و محدود شدن آب های جاری از طرف سازمان جهانی حفاظت از طبیعت (IUCN) به عنوان گونه در معرض خطر انقراض قرار گرفته است (IUCN, 1996). در چنین شرایطی به جهت حمایت از ذخایر ماهیان خاویاری حوضه دریای خزر، توجه به پرورش تجاری آن از اهمیت ویژه ای برخوردار است. اما با توجه به اینکه در پرورش آبزیان حدود ۵۰ درصد هزینه های پرورش مربوط به تغذیه است (سوداگر و همکاران، ۱۳۸۶) و از طرف دیگر با افزایش درخواست پرورش این گونه و با درنظر گرفتن این نکته که ممکن است ناملایمات زیادی تحت شرایط پرورشی کنترل شده وجود داشته باشد، لذا شرایط ایجاب می کند که برای ارتقاء میزان مقاومت آنها و همچنین افزایش رشد و بازماندگی از ترکیبات مناسبی در جیره غذایی این گونه استفاده شود تا در نهایت تولیدات آنها افزایش یابد (احمدی فر و همکاران، ۱۳۸۸) که از جمله این ترکیبات می توان به پربیوتیک ها اشاره نمود. پربیوتیک ها (Prebiotic) عناصر غذایی غیر قابل هضمی ((NDC) Non-Digestible Carbohydrate) 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 and Roberfroid, 1995). عناصر غذایی که به عنوان پربیوتیک طبقه بندی می شوند بایستی خواصی را داشته باشند از جمله اینکه در بخشهای فوقانی دستگاه گوارش نبایستی هضم و جذب شوند، توسط یک یا تعدادی از باکتریهای مفید روده به صورت گزینشی تخمیر شوند و فلور میکروبی روده را به تولید ترکیبات سالم سوق دهند (Fooks and Gibson, 2002). تولید اسیدهای چرب زنجیره کوتاه و اسید لاکتیک ناشی از تخمیر پربیوتیک منجر به کاهش pH روده می شود که شرایط مناسبی را برای رشد باکتریهای اسید لاکتیک فراهم می کند (Schley and Field, 2002). بیشترین موادی که به عنوان پربیوتیک در تغذیه انسان ها و حیوانات مورد بررسی قرار گرفته اند، کربوهیدرات ها هستند. در حال حاضر پربیوتیکها بیشتر بر اساس توانایی شان در افزایش رشد میکروارگانیسم های تولیدکننده اسیدلاکتیک انتخاب می شوند (Gibson, 1998). همچنین پربیوتیک ها در تولید ترکیبات ضد میکروبی، رشد سلولهای پروبیوتیک در pH پایین و چسبیدن سلولهای پروبیوتیک به مخاط روده نیز نقش دارند (Brink *et al*., 2005). مانان‌الیگوساکارید یک کربوهیدرات پیچیده می باشد که از دیواره سلولی مخمر *Saccharomyces cerevisiae* مشتق شده است. این ترکیبات شامل مانوز بعنوان عنصر اولیه کربوهیدرات بوده و مانع از اتصال و کلونیزه شدن باکتریهای بیماریزا به دستگاه گوارش گردیده و اثرات معکوس متابولیتهای میکروفلور را کاهش می دهد (Savage *et al*., 1997). با وجود اثرات مفیدی که برای پربیوتیک ها در نظر گرفته شده است، تعدادی تحقیق در زمینه اثر پربیوتیک مانان الیگوساکارید در ماهیان انجام شده است که از جمله آنها می توان به تحقیقات Pryor و همکاران (۲۰۰۳) بر روی گونه خاویاری خلیج (*Acipenser oxyrinchus desotoi*)، Torrecillas و همکاران

(۲۰۰۷)، Staykov و همکاران (۲۰۰۷) و Dimitroglou و همکاران (۲۰۰۹) بر روی قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*)، Welkerو همکاران (۲۰۰۷) بر روی گربه ماهی روگاهی (*Ictalurus punctatus*)، Helland و همکاران (۲۰۰۸) بر روی ماهی آزاد اقیانوس اطلس (*Salmo salar*)، Sadoو همکاران(۲۰۰۸) بر روی تیلاپیای نیل جوان (*Oreochromisniloticus*)، Samrongpan و همکاران (۲۰۰۸) بر روی ماهیان جوان پرورشی تیلاپیا (*Oreochromisniloticus*)،Dimitroglou و همکاران و Gultepe و همکاران (۲۰۱۰) بر روی سیم دریایی (*Sparus aurata*) و اکرمی و همکاران (۱۳۸۸) بر روی بچه ماهی سفید دریای خزر (*Rutilus frisii kutum*) اشاره کرد. در نتیجه با توجه به موارد فوق و با در نظر گرفتن این نکته که اضافه کردن پربیوتیک ها به جیره غذایی ماهیان خاویاری می تواند به عنوان یک مکمل غذایی مناسب در جهت بهبود عملکرد رشد، کارایی تغذیه و سلامت آنها مورد استفاده قرار گیرد، لذا این پژوهش به منظور بررسی تأثیرسطوح مختلف پربیوتیک مانان الیگوساکارید بر شاخص های رشد، بازماندگی، ترکیبات لاشه و تراکم لاکتوباسیلهای روده انجام شد.

۲. مواد و روش ها

این پژوهش از تاریخ ۸۹/۴/۱۴ لغایت ۸۹/۵/۲۸ به مدت ۴۶ روز در مرکز تکثیر و بازسازی ذخایر آبزیان شهید رجایی واقع در شمال شرق ساری انجام پذیرفت. پس از سازگاری اولیه و عادت پذیری ماهیان با غذای دستی مورد استفاده در آزمایش (جدول ۱) که حدود یک ماه به طول انجامید تعداد ۱۳۵ عدد فیل ماهی جوان با وزن متوسط ۰/۵۷ ± ۴۶/۸۹ گرم با تراکم ۱۵ عدد در ۹ حوضچه فایبرگلاس توزیع شدند. ابعاد حوضچه های فایبرگلاس ۰/۵×۲×۲ متر با حجم ۲۰۰۰ لیتر بود که با حدود ۹۰۰ لیتر آب پر شده بود و منبع تأمین کننده آن از آب چاه با دبی آب ۵ لیتر در ثانیه بود. دوره روشنایی/ تاریکی به صورت ۱۵ ساعت روشنایی و ۹ ساعت تاریکی بود. اندازه گیری فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب از قبیل دمای آب به طور روزانه در ساعات مشخص (۸ ، ۱۳ و ۱۸) و اکسیژن و pH به صورت هفتگی انجام گرفت. در کل دوره آزمایش میزان دمای آب ۰/۷ ± ۲۲/۷ درجه سانتیگراد، اکسیژن ۰/۵± ۷/۵ میلی گرم در لیتر و pH ۰/۴ ± ۷/۸ بود. پربیوتیک مورد استفاده در این آزمایش مانان‌الیگوساکارید با نام تجاری اکتیوموس (MOS; ActiveMOS®) ساخت شرکت Biorigin کشور برزیل بود که از دیواره سلولی مخمر ساکارومایسیس سرویزیا (*Saccharomyces cerevisiae*) مشتق شده که این ترکیبات شامل مانوز بعنوان عنصر اولیه کربوهیدرات می باشد. به منظور بررسی اثر این پربیوتیک بر شاخص های رشد فیل ماهیان جوان طرح کاملاً تصادفی متعادل شامل دو سطح ۲ و ۴ گرم مانان الیگوساکارید (Torrecillas *et al*., 2007). به ازای هر کیلوگرم غذا و یک گروه شاهد بدون پربیوتیک با سه تکرار طراحی شد. هر کدام از مقادیر به صورت همگن و یکنواخت با غذا مخلوط شد. برای جیره نویسی از نرم افزار لیندو (Lindo copyright 1999, Realeas 6.1) استفاده شد و فرمولاسیون غذایی به نحوی صورت گرفت که مطابق با نیازهای غذایی فیل ماهیان جوان باشد (جدول۱). برای تهیه جیره ها ابتدا مواد غذایی خشک شامل پودر ماهی، آرد گندم، مکمل معدنی و مکمل ویتامینی توسط ترازوی دیجیتال با دقت ۵ گرم و پربیوتیک مانان الیگوساکارید توسط ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم وزن شده و به مدت ۲۰ دقیقه مخلوط گردیدند. سپس اقلام غذایی مایع شامل روغن ماهی، روغن سویا و ملاس چغندر به مواد

اولیه اضافه و به مدت ۱۵ دقیقه عمل مخلوط شدن ادامه پیدا کرد. در ادامه با استفاده از چرخ گوشت صنعتی به قطر ۱ میلی متر غذاها به صورت پلت درآمد که بعد از خشک شدن در بسته های مناسب بسته بندی و کدگذاری گردید و تا زمان مصرف در فریزر در دمای ۴- درجه سانتیگراد نگهداری شد. باید خاطر نشان کرد که ساخت غذا هر ۱۵ روز یک بار انجام می شد. در طول دوره آزمایش، غذادهی به فیل ماهیان جوان بر اساس مشاهدات و رفتار تغذیه ای آنها تا حد سیری در ۳ نوبت (ساعات ۸ ، ۱۳ و ۱۸) انجام می گرفت که بین ۵-۲ درصد وزن توده زنده در کل دوره آزمایش متغیر بود. ماهیان هر دو هفته یک بار مورد بیومتری قرار می گرفتند که برای اندازه گیری وزن از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۱ گرم و برای اندازه گیری طول چنگالی از خط کش با دقت ۱ میلی متر استفاده شد. به جهت کاهش استرس و تلفات در طول بیومتری و همچنین اطمینان از خالی شدن دستگاه گوارش از غذا، ۱۸ ساعت قبل از بیومتری تغذیه ماهیان قطع گردیده و از پودر گل میخک با دوز ۶ گرم در ۳۰ لیتر آب (محمدی و همکاران، ۱۳۸۱). به عنوان ماده بیهوشی استفاده شد. با توجه به اطلاعات اخذ شده از بیومتری، شاخص های رشد از قبیل وزن نهایی، افزایش وزن بدن، درصد افزایش وزن بدن، نرخ رشد ویژه، میزان غذای خورده شده روزانه، فاکتور وضعیت(ضریب چاقی) و تولید خالص ماهی و همچنین شاخص های تغذیه ای نظیر ضریب تبدیل غذایی و نسبت کارائی پروتئین بر اساس منابع موجود از معادلات ریاضی محاسبه شد. به جهت بررسی اثر پربیوتیک مانان الیگوساکارید بر روی بازماندگی فیل ماهیان جوان، شاخص درصد بازماندگی بر اساس تعداد بچه ماهیان زنده مانده در پایان دوره آزمایش صورت گرفت. برای آنالیز لاشه در پایان دوره آزمایش دو نمونه از هر تکرار به طور تصادفی انتخاب و بعد از خارج کردن امعاء و احشاء و جدا کردن سر و باله و فیله نمودن کامل ماهیان، به کمک چرخ گوشت، چرخ شده و مخلوط حاصله بعد از کدگذاری در فریزر در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد تا زمان انجام آزمایش (به مدت ۱۰ روز) نگهداری و منجمد شد و سپس به آزمایشگاه جهت آنالیز لاشه منتقل گشت. برای آنالیز تقریبی ترکیب جیره و لاشه ماهیان جهت کنترل مقادیر پروتئین، چربی، خاکستر و رطوبت از روش های مندرج در AOAC,1990 استفاده گردید. پروتئین کل با استفاده از دستگاه کجلدال ساخت کشور سوئد، چربی با استفاده از روش سوکسله به وسیله دستگاه سوکسله اتوماتیک ساخت کشور سوئد، خاکستر با استفاده از کوره الکتریکی در دمای ۵۵۰ درجه سانتی گراد به مدت ۴ ساعت به وسیله دستگاه کوره هریوس آلمانی و رطوبت با استفاده از دستگاه آون ساخت کشور ایران در دمای ۱۰۵ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت بوسیله اندازه گیری گردید. به منظور ارزیابی قابلیت تشکیل کلنی و تثبیت لاکتوباسیلوس ها در روده فیل ماهیان جوان تغذیه شده با سطوح مختلف مانان‌الیگوساکارید در انتهای دوره آزمایش، بطور تصادفی نمونه برداری انجام گردید. برای این کار ابتدا ۴۸ ساعت قبل از نمونه برداری تغذیه ماهیان قطع شد. در ادامه از هر تکرار ۱ عدد ماهی انتخاب و در مجاورت یخ به آزمایشگاه منتقل شد و سپس به مدت یک دقیقه در آب استریل قرار داده شد.

در ادامه به منظور از بین بردن باکتریهای سطح بدن ماهیان، نمونه های ماهی در محلول بنزالکونیوم کلراید ۰/۹ درصد قرار گرفت (Makridis *et al.*, 2001) و مجدداً توسط آب استریل شسته شد.

جدول۱. ترکیب جیره پایه ساخته شده برای فیل ماهیان جوان پرورشی

اجزای تشکیل دهنده	جیره پایه(درصد)
پودر ماهی کیلکا (پروتئین ۵۷/۳۵)	۶۰
آرد گندم	۲۱
روغن ماهی کیلکا	۶
روغن سویا	۶
مکمل معدنی	۳
مکمل ویتامینی	۲
همبند (ملاس)	۲

مکمل ویتامینی شامل ویتامین های K3(۸۰۰میلیگرم)، B1(۷۲۰میلیگرم)، B2(۲۶۴۰میلیگرم)، B3(۴۰۰۰میلیگرم)، B5 (۱۲۰۰۰میلیگرم)، B6(۱۲۰۰میلیگرم)، B9(۴۰۰میلیگرم)، B12(۶میلیگرم)، H2(۴۰میلیگرم) و A(۳میلیون و ۶۰۰ هزار واحد بین المللی)، D3(۸۰۰ هزار واحد بین المللی)، E(۷۲۰۰ واحد بین المللی) و مکمل معدنی شامل منیزیم(۴۰۰۰۰میلیگرم)، آهن(۲۰۰۰۰میلیگرم)، روی(۴۰۰۰۰میلیگرم)، مس(۴۰۰۰میلیگرم)، ید(۴۰۰میلیگرم)، سلنیوم(۸۰میلیگرم) و کولین کلراید(۲۰۰۰۰میلیگرم) بود. همه این مقادیر فوق در یک کیلوگرم می باشد. مکمل های فوق مربوط به شرکت ارس بازار بود.

جدول ۲. تجزیه تقریبی جیره پایه مورد استفاده برای تغذیه فیل ماهیان جوان

نوع ترکیب	درصد
پروتئین خام	۳۱/۲۳
چربی خام	۱۴/۸
رطوبت	۹/۹۵
خاکستر	۹/۱۵
عصاره عاری از ازت[1]	۳۱/۸۷
انرژی ناخالص (مگاژول بر کیلوگرم)[2]	۱۸/۶۳

در ادامه ناحیه شکمی ماهیان با استفاده از تیغ جراحی استریل شکافته و بعد از جدا نمودن روده از سایر امعاء و احشاء و توزین روده به جهت هموژن سازی به هاون چینی استریل شده منتقل شد. سپس به میزان ۹ برابر وزن روده، محلول نمکی نرمال استریل (NaClw/v ۰/۸۵ درصد) به آن اضافه گردید تا هموژن گردد و از محلول فوق، رقت های سریالی در دامنه 10^{-1} تا 10^{-6} تهیه شد که در ادامه توسط نمونه بردار تحت شرایط استریل، حجمی معادل ۰/۵ میلی لیتر برداشته و به پلیت حاوی محیط کشت نوترینت آگار وام آر اس آگار (MRS)(DeMan,Rogosa and Sharpe) منتقل و در سطح آن پخش گردید (Rengpipat *et al.*, 1998; Mahiousand Ollevier, 2005). پس از انجام کشت باکتریایی، پلیت های فوق به مدت ۵ شبانه روز در دمای اتاق انکوباسیون شده و در پایان، شمارش کلنی های تشکیل شده بر اساس لگاریتم واحد کلنی (عکس ضریب رقت* تعداد کلنی حاصله=CFU) انجام گرفت (Peter and Sneath, 1986).

تجزیه و تحلیل آماری شامل محاسبه میانگین، انحراف معیار، آنالیز رگرسیون و ضرایب همبستگی با استفاده از نرم افزار SPSS صورت پذیرفت. تجزیه و تحلیل بر روی داده های مربوط به تغییرات معیارهای رشد، فاکتورهای تغذیه ای، سطوح مختلف تراکم باکتریایی(تراکم لاکتوباسیلوس ها) و ترکیبات شیمیایی لاشه از طریق آزمون تجزیه واریانس یکطرفه (one-way analysis of variance ANOVA) و مقایسه میانگین بین تیمارها بر اساس آزمون چند دامنه ای (تست جدا ساز) دانکن (Duncans multiple-range test) استفاده شد. به طوریکه در ابتدا اطلاعات خام در محیط Excelمورد پردازش و در نهایت وجود یا عدم وجود اختلاف معنی دار در سطح ۵٪ با استفاده از نرم افزارSPSS (Ver. 12) انجام گرفت. جهت تعیین همبستگی بین پارامترهای اندازه گیری شده و سطوح مختلف مانان الیگوساکارید از آزمون رگرسیون خطی استفاده شد و مقادیر P<۰/۰۵ معنی دار تلقی گردید.

۳. نتایج

در پایان آزمایش از نظر وزن نهایی و افزایش وزن بدن تفاوت معنی داری در بین تیمارها مشاهده نگردید اما با این حال بیشترین میزان رشد در سطح ۲ گرم مانان الیگوساکارید در هر کیلوگرم جیره مشاهده شد (P>۰/۰۵). همبستگی منفی بین وزن نهایی و افزایش سطح مانان الیگوساکارید در جیره وجود داشت (r= -۰/۴۵ ، P=۰/۲۸). در مقایسه بین تیمارها، تیمار ۲ گرم در کیلوگرم مانان الیگوساکارید از میانگین طولی و درصد افزایش وزن بدن بالاتری برخوردار بود اما تفاوت معنی داری مشاهده نشد (P>۰/۰۵). همبستگی منفی بین افزایش وزن بدن با افزایش سطح مانان الیگوساکارید در جیره وجود داشت (r= -۰/۴۲۰ ، P=۰/۲۶). نرخ رشد ویژه در تیمار ۲ گرم در کیلوگرم با اینکه از میزان بالاتری برخوردار بود اما از تفاوت معنی داری در بین تیمارها برخوردار نبود (P>۰/۰۵). بین نرخ رشد ویژه و افزایش سطح مانان الیگوساکارید در جیره همبستگی منفی وجود داشت (r= -۰/۴۶۵ ، P=۰/۲). ضریب تبدیل غذایی تفاوت معنی داری را در بین تیمارها از خود نشان نداد (P>۰/۰۵) ولی با این وجود در تیمار ۲ گرم در کیلوگرم از میزان بهتری برخوردار بود. بین افزایش سطح این پربیوتیک با ضریب تبدیل غذایی همبستگی معنی داری مشاهده نشد (r= ۰/۲۷۴ ، P=۰/۴۷۵). نسبت کارایی پروتئین و فاکتور وضعیت در تیمار ۲ گرم در کیلوگرم از میزان بالاتری برخوردار بود اما تفاوت معنی داری با سایر تیمارها نداشت (P>۰/۰۵). همچنین با افزایش سطح مانان الیگوساکارید در جیره با نسبت کارایی پروتئین همبستگی منفی وجود داشت (r= -۰/۳۲۴ ، P=۰/۳۹۶). از نظر درصد غذای خورده شده روزانه تفاوت معنی داری در بین تیمارها مشاهده نشد اما با این حال در سطح شاهد از میزان بهتری برخوردار بود (P>۰/۰۵). همبستگی منفی بین غذای خورده شده روزانه با افزایش سطح مانان الیگوساکارید در جیره مشاهده شد (r= -۰/۲ ، P=۰/۶). میزان بیومس نهایی حاکی از عدم اختلاف معنی دار در بین تیمارهای مورد بررسی بود (P>۰/۰۵) به طوری که با افزایش سطح مانان الیگوساکارید در جیره میزان این دو فاکتور کاهش یافت اما با این حال در بین تیمارها، تیمار ۲ گرم در کیلوگرم از میزان بالاتری برخوردار بود. در مقایسه بین تیمارها، تیمار ۲ گرم در کیلوگرم از نظر غذای خورده شده به ازای هر ماهی از میزان بهتری برخوردار بود و تفاوت معنی داری با سایر تیمارها داشت (P<۰/۰۵).همچنین از ابتدا تا انتهای دوره پرورش تلفاتی در بین تیمارهای تحت بررسی صورت نگرفت و نرخ بقاء فیل ماهیان جوان پرورشی در تیمارهای آزمایشی که پربیوتیک مانان الیگوساکاریدرا دریافت کرده بودند در مقایسه با گروه شاهد اختلاف معنی داری را نشان نداد (P>۰/۰۵).

تأثیر جیره های حاوی سطوح مختلف پربیوتیک مانان الیگوساکارید بر ترکیب بدن فیل ماهیان جوان پرورشی در جدول ۴ ارائه گردیده است. نتایج آنالیز لاشه تفاوت معنی داری را از نظر پروتئین، خاکستر و رطوبت در بین تیمارها نشان نداد (P>۰/۰۵) ولی بیشترین میزان پروتئین و خاکستر در تیمار ۴ گرم در کیلوگرم مشاهده گردید، اما از نظر میزان چربی تفاوت معنی داری در بین تیمارها مشاهده شد به طوری که تیمار ۲ گرم در کیلوگرم از میزان بالاتر چربی برخوردار بود (P<۰/۰۵) (جدول ۴).

جدول ۳ . شاخص های رشد و بازماندگی (میانگین ± انحراف معیار) فیل ماهیان جوان پروشی در تیمارهای مختلف طی ۴۶ روز پرورش

تیمار	*شاهد*	*۲g/kg MOS*	*۴g/kg MOS*
شاخص			
وزن اولیه(گرم)	۴۶/۵۲± ۰/۶۲	۴۷/۲۷ ± ۰/۵۶	۴۶/۸۹ ± ۰/۴۲
وزن نهایی(گرم)	۱۸۵/۷۷ ±۲۰	۱۹۶/۴۴ ±۱۰/۰۹	۱۷۰/۲۱ ±۹/۱۹
میانگین طول	۳۱/۸۳ ± ۰/۹۸	۳۲/۳۳ ± ۰/۲۷	۳۱/۲۲ ± ۰/۴۶
چنگالی(سانتیمتر)			
افزایشوزنبدن(گرم)	۱۳۹/۲۶±۱۹/۸۳	۱۴۹/۱۶± ۹/۵۵	۱۲۳/۳۳ ±۹/۳۲
درصدافزایشوزنبدن	۲۹۹/۲۳±۴۲/۲۷	۳۱۵/۴۶ ±۱۶/۳۵	۲۶۳/۰۳± ۲۰/۸۵
نرخ رشد ویژه(درصد در روز)	۳ ±۰/۲۳	۳/۰۹ ±۰/۰۸	۲/۸۰ ± ۰/۱۲
غذای خوردهشدهروزانه (درصد درروز)	۳/۱۳ ±۰/۱۶	۳/۱۰ ±۰/۰۵	۳/۰۹ ±۰/۰۶
ضریب تبدیل غذایی(گرم)	۰/۹۷± ۰/۱۴	۰/۹۲ ±۰/۰۳	۱/۰۳ ±۰/۰۷
نسبت کارایی پروتئین(گرم/گرم)	۳/۳۴ ± ۰/۴۵	۳/۴۷ ± ۰/۱۱	۳/۱۱ ± ۰/۲۱
فاکتوروضعیت(درصد)	۰/۵۷ ±۰/۰۱	۰/۵۸ ±۰/۰۲	۰/۵۵ ±۰/۰۵
غذای خورده شده به ازای هر ماهی(گرم)	۱۳۳/۵۵ ± ۰/۸۰ [a]	۱۳۷/۳۷± ۵ [a]	۱۲۶/۸۷ ±۰/۹۴ [b]
تولید خالص ماهی(گرم)	۲۰۸۸/۷۶ ± ۲۹۷/۷۹	۲۲۳۷/۶۳ ± ۱۴۳/۰۰	۱۸۴۹/۸۳ ± ۱۳۹/۹۵

عدم وجود حروف در ستون، نشان دهنده ی معنی دار نبودن اختلافات در بین تیمارها می باشد (P>۰/۰۵).

جدول ۴. ترکیبات بدن فیل ماهیان جوان (درصد ماده خشک) نسبت به اثر سطوح مختلف مانان‌الیگوساکارید در پایان دوره آزمایش

ترکیبات لاشه (درصد)	*شاهد*	*۲g/kg MOS*	*۴g/kg MOS*
پروتئین خام	۱۷/۵۱ ±۰/۱۲	۱۷/۲۰± ۰/۲۱	۱۷/۶۵ ±۰/۰۶
چربی خام	۳/۲۶± ۰/۰۱ [a]	۳/۵۳ ±۰/۰۹ [b]	۳/۳۵ ±۰/۰۷ [a]
خاکستر	۳/۴۰ ±۰/۱۰	۳/۷۴± ۰/۰۴	۳/۷۷ ±۰/۱۷
رطوبت	۷۳/۹۲± ۰/۲۹	۷۳/۲۰ ±۰/۰۷	۷۳/۳۷ ±۰/۳۸

عدم وجود حروف در ستون، نشان دهنده ی معنی دار نبودن اختلافات در بین تیمارها می باشد (P>۰/۰۵).

جدول ۵ . تراکم بار باکتریایی روده در فیل ماهیان تغذیه شده با سطوح مختلف مانان الیگوساکارید

Log CFU/g	*شاهد*	*۲g/kg MOS*	*۴g/kg MOS*
NA	۶/۳ ±۰/۳۸	۶/۱± ۰/۴۳	۷/۴ ±۰/۸۴
MRS	۴/۹۷± ۱/۱۸	۵/۱۲ ±۰/۶۸	۴/۴ ±۰/۷۲

عدم وجود حروف در ستون، نشان دهنده ی معنی دار نبودن اختلافات در بین تیمارها می باشد (P>۰/۰۵).

نتایج حاصل از بررسی تراکم لاکتوباسیلوس‌های روده در انتهای دوره تغذیه نشان داد بین تعداد کل لاکتوباسیلوس های روده در تیمارهای آزمایشی با تیمار شاهد اختلاف معنی داری مشاهده نمی شود(P>۰/۰۵).

۴. بحث و نتیجه گیری

بر اساس نتایج حاصل از این تحقیق مشخص شد که افزودن پربیوتیک مانان الیگوساکارید در سطوح ۲ و ۴ گرم در کیلوگرم به جیره فیل ماهیان منجر به تفاوت معنی داری در وزن نهایی، افزایش وزن بدن، درصد افزایش وزن بدن، افزایش طول چنگالی، نرخ رشد ویژه، غذای خورده شده روزانه، ضریب تبدیل غذایی، نسبت کارایی پروتئین، فاکتور وضعیت، پروتئین خورده شده و میزان بیومس نهایی نگردید و تنها در پارامتر غذای خورده شده به ازای هر ماهی در سطح ۴ گرم در کیلوگرم تفاوت معنی داری نسبت به سایر تیمارها مشاهده گردید. در همین راستا تحقیقات انجام گرفته توسط Pryor و همکاران در سال ۲۰۰۳ با اضافه کردن مانان الیگوساکارید به میزان ۳ گرم در هر کیلوگرم به جیره غذایی تاس ماهی خلیج (*Acipenser oxyrinchus desotoi*)، افزودن مانان الیگوساکارید با سطوح مختلف ۲،۱ و۳ درصد در جیره گربه ماهی آفریقایی (*Clarias gariepinus*)، افزودن مانان الیگوساکارید به میزان ۲ گرم در هر کیلوگرم در جیره گربه ماهی روگاهی (*Ictalurus punctatus*) (Welker *et al*., 2007)، بکارگیری سطوح مختلف ۰/۲ ، ۰/۴ ، ۰/۶ ، ۰/۸ و ۱ درصد مانان‌الیگوساکارید در جیره ماهیان جوان پرورشی تیلاپیا (*Oreochromis niloticus*) (Sado *et al*., 2008)، اضافه کردن مانان الیگوساکارید به میزان ۰/۲ و ۰/۴ درصد با جیره های مختلف حاوی آرد ماهی و آرد سویا به جیره غذایی ماهی سیم دریایی (*Sparus aurata*) (Dimitroglou *etal*., 2010) و تغذیه بچه ماهی سفید دریای خزر (*Rutilus frisii kutum*) با سطوح متفاوت ۱/۵ ، ۳ و ۴/۵ گرم مانان الیگوساکارید در هر کیلو گرم جیره (اکرمی و همکاران، ۱۳۸۸) نتایج تحقیق حاضر را تأیید می کنند بدین ترتیب که هیچ اختلاف معنی داری از نظر پارامترهای رشد و تغذیه در تحقیقات مذکور مشاهده نگردید. اما Torrecillas و همکاران در سال ۲۰۰۷ با ارزیابی سطوح مختلف ۲ و ۴ گرم مانان الیگوساکارید به جیره غذایی ماهی سی باس اروپایی (*Dicentrachuslabrax*)، Yilmazو همکاران و Staykov همکاران در سال ۲۰۰۷ در ماهی قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*)، Helland و همکاران در سال ۲۰۰۸ بر روی ماهی آزاد اقیانوس اطلس (*Salmo salar*)، Samrongpan و همکاران در سال ۲۰۰۸ بر روی ماهیان جوان پرورشی تیلاپیا (*Oreochromisniloticus*) وGultepe و همکاران در سال ۲۰۱۰ بر روی گونه سیم دریایی (*Sparus aurata*) تفاوت معنی داری را در شاخص های رشد و تغذیه در بین تیمارهای حاوی مانان الیگوساکارید در مقایسه با تیمار شاهد گزارش نمودند که با نتایج تحقیق حاضر مغایرت داشت. عدم قطعیت در نتایج گزارش شده توسط محققین مختلف را احتمالاً می توان به نوع گونه پرورشی، اندازه، سن گونه پرورشی، طول دوره پرورش، مدت تجویز پربیوتیک، شرایط محیطی و بهداشتی نگهداری موجود، رفتارهای تغذیه‌ای، خصوصیات فیزیولوژیک موجود، نوع مواد اولیه بکار رفته در تهیه جیره و کمیت و کیفیت آنها، فرمولاسیون جیره غذایی، نوع پربیوتیک انتخابی، درجه خلوص و میزان مورد استفاده آن در جیره، نحوه اضافه کردن پربیوتیک به جیره و احتمالاً فلور میکروبی ویژه ای که قادر به استفاده از آن به عنوان سوبسترا هستند، نسبت داد که ممکن است بر تأثیرات متفاوت پربیوتیک روی رشد و بازماندگی مؤثر باشد. پربیوتیک ها با تأثیر بر باکتری های مفید روده باعث افزایش حجم باکتری های مفید روده شده و در نهایت با افزایش قابلیت هضم پذیری برخی از ترکیبات مفید بر ترکیبات بدن نیز تأثیرگذار خواهند

بود. همچنین Helland و همکاران در سال ۲۰۰۸ عنوان کردند که میزان پروتئین لاشه در بدن ممکن است تحت تأثیر جیره های حاوی پربیوتیک قرار بگیرد اگرچه به نظر می رسد این واکنش بسته به گونه ماهی متفاوت باشد. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که در آنالیز تقریبی لاشه در فاکتورهای پروتئین، خاکستر و رطوبت تفاوت معنی داری در بین تیمارها مشاهده نشد و تنها در میزان چربی در سطح ۲ گرم در کیلوگرم دارای اختلاف معنی داری با سایر تیمارها بود. Dimitroglou و همکاران و Gultepe و همکاران در سال ۲۰۱۰ با افزودن مانان الیگوساکارید به میزان ۲ و ۴ گرم به جیره غذایی ماهی سیم دریایی (*Sparus aurata*) و اکرمی و همکاران در سال ۱۳۸۸با افزودن مانان الیگوساکارید به میزان ۱/۵، ۳ و ۴/۵ گرم به جیره غذایی بچه ماهی سفید دریای خزر (*Rutilus frisii kutum*) تفاوت معنی داری را از نظر ترکیبات لاشه در بین تیمارها مشاهده نکردند که با نتایج تحقیق حاضر مشابهت داشت. همچنین در نتایج پژوهش حاضر مشاهده شد که اگرچه در میزان پروتئین اختلاف معنی داری در بین تیمارها در مقایسه با تیمار شاهد وجود نداشت اما با افزایش سطح مانان الیگوساکارید در جیره میزان پروتئین لاشه افزایش یافت. در جداسازی باکتری های اسید لاکتیک فاکتورهایی نظیر نوع محیط کشت، دمای انکوباسیون و طول مدت انکوباسیون بسیار مهم به نظر می رسد (Hagi *et al*., 2004). علاو بر موارد مذکور، RingQ و همکاران (۲۰۰۶) عدم وجود گلوکز در محیط کشت و کند رشد بودن را عامل محدود کننده دیگری برای رشد باکتری های اسید لاکتیک ذکر کرده اند. نتایج حاصل از تحقیق نشان داد که در پایان دوره آزمایش اختلاف معنی داری در بین تعداد کل لاکتوباسیل های روده در تیمارهای آزمایشی در مقایسه با تیمار شاهد مشاهده نگردید که با تحقیق اکرمی و همکاران (۱۳۸۸) بر روی بچه ماهی سفید دریای خزر (*Rutilus frisii kutum*) مطابقت داشت. در مجموع با توجه به نتایج مطالعه حاضر می توان استنباط کرد که استفاده از پربیوتیک مانان الیگوساکارید نه تنها قابلیت تأثیرگذاری بر عملکرد رشد و تغذیه در فیل ماهی جوان پرورشی ندارد بلکه در سطوح بالاتر نتایج منفی را به دنبال داشته و این پربیوتیک نمی تواند مکمل مناسبی برای جیره غذایی فیل ماهی باشد. لذا بمنظور حصول اطمینان از اثرات مثبت انواع پربیوتیک و بویژه مانان‌الیگوساکارید پیشنهاد می شود مطالعه ای در خصوص تأثیر آن بر سطوح ایمنی در شرایط آزمایشگاهی و پرورشی و همچنین مقابله با عوامل محیطی و سایر عوامل استرس زا صورت پذیرد تا بتوان با قطعیت بیشتری در مورد پتانسیل پربیوتیکی مانان‌الیگوساکارید در فیل ماهی و سایر آبزیان اظهار نظر کرد.

تشکر و قدردانی

از مدیریت و کارکنان محترم بخش ماهیان خاویاری و آزمایشگاه مرکز تکثیر و بازسازی ذخایر آبزیان شهید رجایی ساری، مدیریت و کارکنان محترم آزمایشگاه دانشگاه آزاد اسلامی واحد بابل، مزرعه ماهیان سردآبی فدک، استاد محترم جناب آقای دکتر سید مهدی حسینی فرد و همچنین از دوستان بزرگوار سرکار خانم نرمین عزت رحیمی و آقایان مراد شاکر، صادق مقیمی، اویس قاسمپور و راوین شعاعی که در طول پروژه نهایت همکاری را داشتند سپاسگزاریم.

منابع

احمدی فر، ا.، جلالی، م.ع.، سوداگر، م.، آذری تاکامی، ق. و محمدی زرج آباد، ا. ۱۳۸۸. اثرات آکواک ارگوسان (AquaVac Ergosan) بر میزان رشد، بازماندگی و شاخص های مربوط به خون در فیل ماهیان جوان (*Huso huso*)، مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی، جلد شانزدهم، ویژه نامه ۱- الف، سال ۱۳۸۸، صفحه: ۸۰-۷۲.

اکرمی، ر.، کریم آبادی، ع.، محمدزاده، ح. و احمدی فر، ا. ۱۳۸۸. تأثیر پربیوتیک مانان

الیگوساکارید بر رشد، بازماندگی، ترکیب بدن و مقاومت به تنش شوری در بچه ماهی سفید (*Rutilus frisii kutum*) دریای خزر،س مجله علوم و فنون دریایی- دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، دوره هشتم، شماره سوم و چهارم، پاییز و زمستان ۱۳۸۸، صفحه: ۵۷-۴۷.

پیکان حیرتی، ف.، مجازی امیری، ب. و فرحمند، ح. ۱۳۸۸. توالی یابی فاکتور رشد شبه انسولین – یک IGF-Iدر فیل ماهی (*Huso huso*) و بررسی بیان آن در بافت های مختلف، ژنتیک نوین، دوره چهارم، شماره ۳، پاییز ۱۳۸۸، صفحه: ۲۵-۱۷.

سوداگر، م.، جعفری شموشکی، و.، حسینی، س.ع.، گرگین، س. و عقیلی، ک. ۱۳۸۶. اثر اسیدآمینه آسپارتیک و آلانین به عنوان ماده جاذب غذایی بر شاخص های رشد و بقاء بچه فیل ماهیان (*Huso huso*)، مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی، جلد پانزدهم، شماره اول، ویژه نامه منابع طبیعی، صفحه: ۵۳-۴۴.

محمدی، م.، عابدیان کناری، ع.، شریعتمداری، ف. و محسنی، م. ۱۳۸۱. بررسی اثرات سطوح پروتئین جیره بر شاخص های رشد و ترکیبات بدن بچه فیل ماهی (*Huso huso*)، مجله علوم و فنون دریایی ایران، سال اول، شماره ۴، پاییز ۱۳۸۱، صفحه: ۱۰۹-۹۹.

AOAC (Association of Official Analytical Chemists), 1990. Official method of analysis AOAC, Washington DC, USA.1263P.

Brink, M., senekal, M. and Dicks. L.M.T. 2005. Market and product assessment of probiotic/prebioticcontaining functional foods and supplements manufactured in South Africa. J. Sou Africa Medi. 95(2): 114-119.

Dimitroglou, A., Merrifield, D.L., Moate, R., Davies, S.J., Spring, p., Sweetman, J. and Bradley, G. 2009.Dietary mannan oligosaccharide supplementation modulates intestinal microbial ecology and improves gut morphology of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. America Soc AnimSci. 87: 3226–3234.

Dimitroglou, A., Merrifield, D.L., Spring, P.,Sweetman, J.,Moate, R. andDavies, S.J. 2010.Effects of mannan oligosaccharide (MOS) supplementation on growth performance, feed utilisation, intestinal histology and gut microbiota of gilthead sea bream (*Sparus aurata*). Aquacult. 300: 182-188.

Fooks, L.J. and Gibson, G.R. 2002. Probiotic as a modulators of the gut flora. British J. Nutr. 1: 39-49.

Gibson, G.R. and Roberfroid, M.B. 1995. Dietary modulation of the colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. J. Nutr. 125: 1401- 1412.

Gibson, G.R. 1998. Dietary modulation of the human gut microflora using prebiotics. British J. Nutr. 2: 209-212.

Gultepe, N.,Salnur, S.,Hossu, B. and Hisar, O. 2010.Dietary supplementation with Mannanoligosaccharides (MOS) from Bio-Mos enhances growth parameters and digestive capacity of gilthead sea bream (*Sparus aurata*). Aquaculture Nutr. 17(5): 482-487.

Hagi, T., Tanaka, D., Iwamura, Y. and Hoshino, T. 2004. Diversity and seasonal changes in lactic acid bacteria in the intestinal tract of cultured freshwater fish. Aquacult. 234: 335-346.

Helland, B.G., Helland, S.J., Gatlin, D.M., 2008. The effect of dietary supplementation with mannanoligosacchare, fructooligosaccharide or galactooligosaccharide on the growth atlantic salmon (*Salmo salar*). Aquacult. 283: 163-167.

IUCN, 1996. IUCN Red List of Threatened Animals. IUCN, Gland, Switzerland and Cambridge, UK.

Makridis, P., Bergh, Q., Skjermo, J. and Vadstein, O. 2001. Addition of bacteria bioencapsulated in Artemia metanauplii to a rearing system for halibut larvae. Aquacult. Int. 9: 225-235.

Mahious, A.S. and Ollevier, F. 2005. Probiotics and Prebiotics in Aquaculture: Review. 1st Regional Workshop on Techniques for Enrichment of Live Food for Use in Larviculture AAARC, pp. 17-26 (Urmia, Iran).

Peter, H. and Sneath, A. 1986. Bergeys manual of systematic Bacteriology. 2: 1104-1154.

Pryor, G.S., Royes, J.B., Chapman, F.A. and Miles, R.D. 2003. Mannan oligosaccharides in fish nutrition: Effects of dietary supplementation on growth and

poult on performance and morphology of the small intestine. Poult. Scien. 76, P: 139.

Schley, P.D. and Field, C.J. 2002. The immune-enhancing effects of dietary fibres and prebiotics. Br. J. Nutr. 87: 221–230.

Staykov, Y., Spring, P., Denev, S. and Sweetman, J. 2007. effect of mannan oligosaccharide on the growth performance and immune status of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture Int. 15: 153-161.

Torrecillas, S., Makol, A., Caballero, D., Robaina, L., Real, F., Sweetman, J., Tort, L. and Izquierdo, M.S. 2007. Immune stimulation and improved infection resistance in european sea bass(*Dicentrarchus labrax*) fed mannan oligosaccharides. Fish Shellfish Immunol. 23: 969-981.

Welker, T.L., Lim, C., Yildirim-Aksoy, M., Shelby, R. and Klesius, P.H. 2007. Immune response and resistance to stress and Edwardsiella ictaluri challenge in channel catfish, *Ictalurus punctatus*, fed diets containing commercial whole-cell yeast or yeast subcomponents. J. World Aquaculture Soc. 38: 24 –35.

gastrointestinal villi structure in gulf of mexico sturgeon. North America J. Aquacult. 65: 106-111.

Rengpipat, S., Phianphak, W., Piyatiratitivorakul, S. and Menasveta, P. 1998. Effects of a probiotic bacterium on black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) survival and growth. Aquaculture 167: 301–313.

RingØ, E., Sperstad, S., Myklebust, R., Mayhew, T.M. and Olsen, R.E. 2006. The effect of dietary inulin on aerobic bacteria associated with hindgut of Arctic charr (*Salvelinus alpinus*). Aquatic. Res. 37: 891-897.

Sado, R.J., Bicudo, A.J.D.A. and Cyrino, J.E.P. 2008. Feeding dietary mannanoligosaccharid to juvenile nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), has no effect on hematological parameters and showed decreased feed consumption. J World Aquacult Soc. 39: 821-826.

Samrongpan, C., Areechon, N., Yoonpundhand, R., Srisapoome. P., 2008. Effects of mannan oligosaccharide on growth survival and disease resistance of nile tilapia (*Oreochromis niloticus linnaeus*) fry. 8th International Symposium on Tilapia in Aquaculture.

Savage, T.F., Zakrzewsla, E.I. and Andreasen, J.R. 1997. The effect of feeding mannan oligosaccharide supplemented diets to