

تاثیر سطوح مختلف پروبیوتیک گروبیوتیک بر شاخص‌های رشد، بازماندگی، ترکیبات لاشه و تراکم بار باکتریایی روده فیل ماهیان *Huso huso* (Linnaeus, 1754) جوان پرورشی

میلاذ عادل^{۱*}، رضا صفری^۲، سکینه یگانه^۳، شراره احمدوند^۳

۱. گروه بهداشت و بیماری آبیان، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج وزارت جهاد کشاورزی، تهران، ایران
۲. گروه میکروبیولوژی، پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج وزارت جهاد کشاورزی، ساری، ایران
۳. گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی، ساری، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۱۲/۱۷

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۴/۲۲

چکیده

این تحقیق به منظور ارزیابی تاثیر سطوح مختلف پروبیوتیک گروبیوتیک جیره بر روی برخی شاخص‌های رشد، بازماندگی، ترکیبات لاشه و میکروبیوتای روده‌ای فیل ماهیان (*Huso huso*) جوان پرورشی در کارگاه پرورش ماهیان خاویاری در استان مازندران اجرا شد. ۴ گروه از فیل ماهیان با میانگین وزنی $40/82 \pm 5/8$ گرم در حوضچه‌های فایبرگلاس با تراکم ۲۰ عدد ماهی در هر حوضچه، به مدت ۵۶ روز با سطوح مختلف گروبیوتیک (۰، ۰/۵، ۱ و ۲ درصد غذا، هر تیمار با ۳ تکرار) غذادهی شدند. در انتهای دوره شاخص‌های رشد (میانگین افزایش وزن بدن، درصد افزایش وزن بدن، شاخص وضعیت، ضریب تبدیل غذایی، ضریب کارایی پروتئین مصرفی، شاخص کبدی، ضریب رشد ویژه)، درصد بازماندگی، ترکیبات لاشه و میکروبیوتای روده‌ای این تیمارها با تیمار شاهد مورد مقایسه قرار گرفت. نتایج بدست آمده نشان داد، که فیل ماهیان تغذیه شده با سطح ۲ درصد گروبیوتیک، از شاخص‌های رشد بهتر و بازماندگی بیشتری نسبت به تیمار شاهد و نیم درصد برخوردارند ($P < 0/05$). بررسی ترکیب شیمیایی لاشه نشان دهنده آن بود که اختلاف معناداری در ترکیب تقریبی لاشه بین تیمارهای مختلف وجود نداشت ($P > 0/05$). تعداد باکتری‌های اسید لاکتیک و تعداد کل باکتری‌های زیست‌پذیر روده در طی آزمایش در تمامی تیمارها افزایش یافته و اختلاف معناداری در تعداد آن‌ها در تیمار ۲ درصد نسبت به سایر تیمارها در پایان آزمایش مشاهده شد ($P < 0/05$). بر اساس نتایج حاصل از این مطالعه، استفاده از سطح ۲ درصد گروبیوتیک در جیره فیل ماهیان جوان پرورشی، به منظور بهبود شاخص‌های رشد، بازماندگی و افزایش باکتری‌های لاکتیک روده توصیه می‌شود.

واژگان کلیدی: فیل ماهی، گروبیوتیک، شاخص‌های رشد، بازماندگی، ترکیبات بدن

۱. مقدمه

ماهیان خاویاری (تاس ماهیان) از جمله منابع زیستی ارزشمند ملی هستند که از نظر زیست شناسی، بوم شناختی و اقتصادی برای کشورمان حایز اهمیت می‌باشند (Bahmani et al., 2001).

امروزه به دلیل صید غیر مجاز، وجود آلاینده‌های زیست محیطی و از بین رفتن زیستگاه‌های تکثیر طبیعی، ماهیان خاویاری در لیست گونه‌های در خطر انقراض قرار گرفته‌اند. مشکلات به وجود آمده در زیستگاه‌های طبیعی این گروه از ماهیان موجب شده که ماهیان خاویاری به صنعت آبی پروری کشور معرفی گردند و بیش از دو دهه است که پرورش ماهیان خاویاری شروع شده و روندی رو به رشد داشته است (Bahmani et al., 2001).

فیل ماهی (*Huso huso*) به دلیل رشد سریع، سازگاری با شرایط پرورشی و ارزش خاویار گونه اصلی پرورشی در ایران محسوب می‌شود. با توجه به اینکه بخش عمده ای از هزینه‌های پرورش مربوط به غذا می‌باشد، بهبود وضعیت تغذیه‌ای منجر به سودمند شدن پرورش این ماهیان خواهد گردید (Mohseni et al., 2006).

استفاده از مکمل‌های غذایی از قبیل پروبیوتیک‌ها، پرپیوتیک‌ها و سین بیوتیک‌ها به منظور افزایش رشد، بهبود سیستم ایمنی و کارایی مصرف جیره یکی از ایده‌های مطرح در این زمینه می‌باشد (Mahious et al., 2005; Hosseinifar and Mahious, 2005).

پرپیوتیک‌ها مواد غذایی غیر قابل هضمی هستند که به طور انتخابی موجب تحریک رشد و فعال کردن باکتری‌های مفید روده‌ای، بهبود و تعادل میکروفلورهای روده و افزایش مکانیسم دفاعی میزبان می‌گردد (Gibson and Roberfroid, 1995).

پرپیوتیک‌ها ممکن است کربوهیدرات‌های غیر قابل هضم، الیگوساکاریدها یا کربوهیدرات‌هایی با زنجیره کوتاه باشند. از جمله پرپیوتیک‌های مورد استفاده در صنعت آبی پروری می‌توان به اینولین، صمغ‌های فیبری، زایلان، فروکتو الیگو ساکارید، لاکتوسوکروز،

لاکتیلول، مالتو دکسترین، ایمونوژن و گروبیوتیک اشاره کرد (Ringø et al., 2010).

گروبیوتیک به عنوان یک پرپیوتیک دارای ساختار الیگو پلی ساکاریدی مطرح است (Li Gatlin, 2005) and). تاکنون مطالعات اندکی در خصوص تاثیر این پرپیوتیک در گونه‌های آبی از قبیل: قزل آلی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*)، هیبریدباس مخطط (*Morone chrysops* × *M. saxatilis*) و ماهی حوض (*Carassius auratus*) صورت گرفته است (Azari et al., Savolainen and Gatlin, 2009) (Li and Gatlin, 2005; 2011)، ولی با این وجود مطالعه‌ای در خصوص تاثیر این پرپیوتیک در فیل ماهیان پرورشی صورت نگرفته است. لذا این مطالعه به منظور ارزیابی تاثیر سطوح مختلف گروبیوتیک بر شاخص‌های رشد، بازماندگی، ترکیبات لاشه و میکروبیوتای روده ای فیل ماهیان جوان پرورشی صورت پذیرفت.

۲. مواد و روش‌ها

این تحقیق در یک دوره ۸ هفته ای (۵۶ روزه) در پاییز سال ۱۳۹۲ در کارگاه پرورش ماهیان خاویاری قره برون در روستای سمندک واقع در حومه شهرستان ساری انجام پذیرفت. در ابتدای آزمایش و به منظور سازگاری ماهیان با شرایط جدید پرورشی تعداد ۲۴۰ قطعه فیل ماهی جوان با میانگین وزنی $40/82 \pm 5/8$ گرم در ۱۲ حوضچه فایبرگلاس به ابعاد $2 \times 2 \times 0/5$ متر (هر وان ۲۰ عدد ماهی) با شرایط یکسان از نظر حجم آب (۲۰۰۰ لیتر) و فاکتورهای کمی و کیفی آب مشابه توزیع شدند. میانگین پارامترهای فیزیکوشیمیایی آب در طول دوره پرورش شامل: اکسیژن محلول ($5/7 \pm 4/4$ میلی گرم در لیتر)، دما ($20/4 \pm 1/5$ درجه سانتیگراد)، شوری ($2/4 \pm 1/1$ گرم در لیتر)، pH ($7/76 \pm 4/4$ میلی گرم در لیتر) و هدایت الکتریکی ($5826/4 \pm 159/2$ میلی موس در سانتیمتر) بود.

کارایی پروتئین مصرفی (PER)^۲، شاخص وضعیت (CF)^۴، شاخص کبدی (HSI)^۵ و درصد بازماندگی (SR%)^۶ طبق روابط زیر محاسبه گردید (Tacon, 1990).

جدول ۱. ترکیب و تجزیه بیوشیمیایی جیره پایه ساخته شده برای فیل ماهیان جوان پرورشی مورد مطالعه در این آزمایش

نوع ماده	میزان (%)
پودر ماهی کیلکا	۵۸
آرد گندم	۱۹
روغن ماهی	۶/۲
روغن سویا	۵/۸
مکمل ویتامینی	۳
مکمل معدنی	۲/۵
سلولز	۲
بایندر	۲
نمک	۱
ضد قارچ	۱/۴
آنتی اکسیدان	۰/۲۵
ترکیب بیوشیمیایی جیره پایه میزان (%)	
پروتئین خام	۴۰/۳۲
فیبر	۱/۸
چربی	۱۸/۸۶
خاکستر	۹/۶
رطوبت	۸/۱
عصاره عاری از ازت	۱۸/۸
انرژی خام (مگاژول بر کیلوگرم)	۲۱/۸۴

افزایش وزن بدن از رابطه (۱) به دست می آید.

پس از سازگاری فیل ماهیان با شرایط جدید پرورشی، ماهیان به مدت ۸ هفته با غذای دستی تغذیه شدند. مواد اولیه مورد استفاده در جیره شامل پودر ماهی کیلکا، آرد گندم، روغن ماهی، روغن سویا، مکمل‌های ویتامینی و معدنی، سلولز، بایندر (آمیت بایندر، مه‌رتابان، یزد)، نمک، ضد قارچ (توکسیبان) و آنتی-اکسیدان (BHT، مرک، آلمان) بود (جدول ۱). پربیوتیک مورد استفاده در این مطالعه گروبیوتیکی با نام تجاری GroBiotic®-A (St. Louis, MO, USA) بود که دارای ساختار الیگو پلی ساکاریدی می‌باشد. به منظور تهیه جیره های آزمایش سطوح صفر (شاهد)، نیم، یک و دو درصد از گروبیوتیک به جیره پایه فرموله شده افزوده و به صورت یکنواخت و همگن با جیره پایه مخلوط گردید. در این آزمایش فیل ماهیان جوان پرورشی به مدت ۸ هفته به میزان ۳ درصد بیوماس بدن و ۴ بار در روز تا حد سیری با جیره‌های تهیه شده تغذیه شدند.

این بررسی در قالب یک طرح کاملاً تصادفی انجام شد و برای هر تیمار ۳ تکرار در نظر گرفته شد. در طی دوره هر روز، مدفوع و سایر مواد باقی مانده از کف حوضچه‌ها سیفون و حدود یک سوم آب هر حوضچه تعویض گردید.

به منظور ارزیابی تأثیر سطوح مختلف گروبیوتیک بر شاخص‌های رشد فیل ماهیان و مقایسه بین تیمارهای مختلف، به فاصله زمانی ۱۵ روز یکبار وزن ماهیان هر حوضچه با ترازو دیجیتال با دقت ۰/۱ گرم و طول کل با خط کش با دقت ۱ میلی متر اندازه‌گیری شد (بدین منظور ۲۴ ساعت قبل از زیست سنجی تغذیه ماهیان قطع شد و قبل از اندازه‌گیری شاخص‌های رشد، فیل ماهیان جوان با اسانس گل میخک با غلظت ۵۰ ppm بیهوش شدند). همچنین، شاخص‌های رشد ماهیان شامل: میانگین افزایش وزن بدن، درصد افزایش وزن بدن، ضریب رشد ویژه (SGR)^۱، ضریب تبدیل غذایی (FCR)^۳، ضریب

^۲ Food Conversion Ratio

^۳ Protein Efficiency Ratio

^۴ Condition Factor

^۵ Hepatosomatic Index

^۶ Survival Rate

^۱ Specific Growth Rate

عدد فیل ماهی و در انتهای دوره تعداد ۴ ماهی از هر تکرار به صورت تصادفی انتخاب شد (تغذیه فیل ماهیان ۲۴ ساعت قبل از نمونه گیری از روده متوقف شد). پس از انتقال ماهیان به آزمایشگاه در شرایط استریل کالبدگشایی صورت گرفته و نمونه‌های روده پس از تخلیه کامل محتویات، توزین و به منظور هموزن نمودن به هاون‌های چینی استریل منتقل گردید (Olsen et al., 2001).

پس از هموزن کردن نمونه‌های روده با استفاده از ۰/۸۷ w/v NaCl درصد، رقت‌های 10^{-1} تا 10^{-6} تهیه گردید. در ادامه، ۰/۵ میلی لیتر از رقت‌های تهیه شده به محیط‌های کشت پلیت کانت آگار یا PCA (به منظور تعیین تعداد کل باکتری‌های موجود در میکروبیوتای روده) و به محیط کشت MRS یا DeMan Rogosa and sharpe (جهت تعیین تعداد باکتری‌های اسید لاکتیک) منتقل و به صورت سطحی در پلیت کشت داده شد (Rengpipat et al., 1998; Mahious et al., 2006). سپس پلیت‌ها به مدت ۵ روز در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد و در شرایط هوای گرمخانه گذاری شد. در نهایت پس از سپری شدن زمان انکوباسیون، تعداد باکتری‌های هر پلت، بر حسب لگاریتم واحد کلنی (Log CFU) در گرم وزن روده شمارش شد (Peter and Sneath, 1986; Bagheri et al., 2008).

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS و ANOVA) صورت گرفت. مقایسه میانگین بین تیمارهای مختلف بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن (Multiple-range test Duncans) در سطح احتمال ۵ درصد تعیین گردید ($P < 0.05$).

۳. نتایج

اثرات سطوح مختلف گروبیوتیک بر برخی شاخص‌های رشد فیل ماهیان جوان پرورشی در جدول ۲ آمده است. در ابتدای دوره اختلاف معناداری از نظر وزن و طول بین تیمارهای مختلف مشاهده

(وزن اولیه بر حسب گرم - وزن نهایی بر حسب گرم) = افزایش وزن بدن بر حسب گرم

- ضریب رشد ویژه از رابطه (۲) به دست می‌آید.
 $100 \times (\text{تعداد روزهای پرورش}) / ((\text{میانگین وزن اولیه} - \text{میانگین وزن ثانویه})$

- ضریب تبدیل غذایی از رابطه (۳) محاسبه می‌شود.
 افزایش وزن بدن بر حسب گرم / مقدار غذای خورده شده بر حسب گرم

- ضریب کارایی پروتئین مصرفی بر اساس رابطه (۴) به دست می‌آید.

مقدار پروتئین مصرفی بر حسب گرم - مقدار افزایش وزن بدن بر حسب گرم

- شاخص وضعیت از رابطه (۵) حاصل می‌شود.
 $\{ \text{طول بر حسب سانتیمتر به توان } 3 \times 100 / (\text{وزن بر حسب گرم}) \}$

- شاخص کبدی بر اساس رابطه ۶ محاسبه می‌شود.
 $100 \times (\text{وزن بدن بر حسب گرم} / \text{وزن کبد بر حسب گرم})$

- درصد بازماندگی از رابطه ۷ حساب شده است.
 $100 \times (\text{تعداد ماهیان اولیه} / \text{تعداد ماهیان باقیمانده})$

در ابتدا و انتهای آزمایش تعداد ۴۸ قطعه ماهی (تعداد ۴ ماهی از هر تکرار) به صورت تصادفی انتخاب و جهت تعیین تقریبی لاشه در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد منجمد شد. تعیین ترکیب جیره پایه و لاشه در آزمایشگاه با استفاده از روش استاندارد AOAC (1995) انجام شد. اندازه گیری پروتئین خام با استفاده از دستگاه کج‌دال، چربی خام به روش سوکسله، رطوبت با استفاده از اون در دمای ۱۰۵ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت و مقدار خاکستر با استفاده از کوره الکتریکی در دمای ۵۵۰ درجه سانتیگراد به مدت ۴ ساعت انجام شد.

به منظور بررسی تعداد باکتری‌های اسید لاکتیک و همچنین تعداد کل باکتری‌های زیست پذیر موجود در میکروبیوتای روده فیل ماهیان جوان تغذیه شده با سطوح مختلف گروبیوتیک، در ابتدای دوره تعداد ۱۲

نشد ($P > 0/05$). بررسی شاخص‌های رشد در انتهای دوره نشان داد افزودن سطوح مختلف گروبیوتیک به جیره فیل ماهیان جوان به طور معنی داری سبب افزایش این شاخص‌ها می‌شود ($P < 0/05$). بچه ماهیان تغذیه شده با ۲ درصد گروبیوتیک بیشترین میزان افزایش وزن را نشان دادند بطوریکه در انتهای دوره اختلاف معناداری بین افزایش وزن فیل ماهیان جوان بین تیمارهای ۱ و ۲ درصد با تیمارهای نیم درصد و شاهد مشاهده شد ($P < 0/05$). طول فیل ماهیان جوان تغذیه شده با سطوح مختلف گروبیوتیک در طول آزمایش افزایش یافته و در انتهای دوره اختلاف معناداری بین افزایش طول فیل ماهیان جوان در تیمار ۱ و ۲ درصد با تیمار شاهد مشاهده شد ($P < 0/05$). نتایج تحقیق حاضر کمترین میزان ضریب تبدیل غذایی را در تیمار ۲ درصد و بیشترین میزان ضریب تبدیل غذایی را در تیمار شاهد نشان داد، میانگین ضریب تبدیل غذایی فیل ماهیان جوان تیمارهای ۱، ۲ و ۳ درصد گروبیوتیک به ترتیب $2/08 \pm 0/4$ ، $1/86 \pm 0/3$ و $1/76 \pm 0/6$ بود (جدول ۲). بیشترین ضریب کارایی پروتئین مصرفی در فیل ماهیان جوان تغذیه شده با ۲ درصد گروبیوتیک مشاهده شد که از نظر آماری اختلاف معناداری با تیمار شاهد و نیم درصد نشان داد ($P < 0/05$)، هر چند که بین تیمار ۲ و ۱ درصد تفاوت معناداری مشاهده نشد ($P > 0/05$).

همچنین، بیشترین میزان بازماندگی در فیل ماهیان جوان تغذیه شده با ۲ درصد گروبیوتیک مشاهده شد

که از نظر آماری تفاوت معناداری با تیمار شاهد و نیم درصد نشان داد ($P < 0/05$). بررسی آماری نشان دهنده آن است که اختلاف معناداری در ترکیب تقریبی لاشه بین تیمارهای مختلف وجود ندارد ($P > 0/05$)، هر چند که میزان پروتئین و خاکستر لاشه در تیمار ۲ درصد بیشتر از سایر تیمارها بوده است (جدول ۳). میانگین تعداد باکتری‌های اسید لاکتیک و تعداد کل باکتری‌های زیست پذیر موجود در میکروبیوتای روده فیل ماهیان جوان در شروع آزمایش و ۸ هفته بعد از تغذیه با سطوح مختلف گروبیوتیک در جدول ۴ آمده است. نتایج نشان داد که تعداد باکتری‌های لاکتیک و تعداد کل باکتری‌های زیست‌پذیر در طی آزمایش در تمامی تیمارها افزایش یافته است و اختلاف معناداری در تعداد باکتری‌های اسیدلاکتیک در تیمار ۲ درصد با سایر تیمارها در پایان آزمایش مشاهده شد ($P < 0/05$).

جدول ۲. میانگین شاخص‌های رشد و بازماندگی فیل ماهیان جوان پرورشی در تیمارهای مختلف طی ۵۶ روز پرورش

شاخص	شاهد	گروبیوتیک ۱/۵٪	گروبیوتیک ۱٪	گروبیوتیک ۲٪
وزن اولیه (گرم)	۴۰/۸±۵/۷۰ ^a	۴۰/۸۲±۵/۶۸ ^a	۴۰/۸۱±۵/۵۳ ^a	۴۰/۸۱±۵/۶۷ ^a
وزن نهایی (گرم)	۶۴/۲۶±۸/۴۲ ^a	۶۳/۸۹±۱۰/۵۸ ^a	۷۱/۰۹±۱۱/۳۲ ^b	۷۵/۵۶±۱۲/۴۵ ^c
طول اولیه (سانتیمتر)	۲۷/۵±۱/۷ ^a	۲۷/۸±۱/۶ ^a	۲۷/۴±۱/۳ ^a	۲۷/۶±۱/۱ ^a
طول نهایی (سانتیمتر)	۳۶/۵±۰/۷ ^a	۳۶/۸±۰/۸ ^a	۳۸/۷±۱/۱ ^{ab}	۴۰/۲±۱/۵ ^b
درصد افزایش وزن	۵۷/۹۶±۵/۶ ^a	۵۶/۵±۴/۶ ^a	۹۴/۸±۶/۳ ^b	۹۸/۶۸±۷/۱۴ ^b
افزایش وزن بدن (گرم)	۲۳/۶۴±۱/۲۹ ^a	۲۳/۰۶±۱/۲۳ ^a	۳۰/۲۲±۱/۸۶ ^b	۳۴/۷۵±۱/۱۶ ^c
ضریب کارایی پروتئین مصرفی	۰/۸۲±۰/۰۵ ^a	۰/۸۳±۰/۰۶ ^a	۰/۸۸±۰/۰۸ ^b	۰/۹۶±۰/۰۱ ^c
ضریب تبدیل غذایی	۲/۱۶±۰/۰۶ ^a	۲/۰۸±۰/۰۴ ^a	۱/۸۶±۰/۰۳ ^b	۱/۷۶±۰/۰۶ ^c
شاخص وضعیت	۰/۳۶±۰/۰۲ ^a	۰/۳۷±۰/۰۲ ^a	۰/۳۵±۰/۰۲ ^a	۰/۳۲±۰/۰۲ ^b
ضریب رشد ویژه	۲/۲۹±۰/۵۹ ^a	۲/۴۱±۰/۶۲ ^b	۲/۵۹±۰/۷۱ ^c	۲/۸۳±۰/۸۴ ^d
شاخص وضعیت کبدی	۳/۱۹±۰/۶۶ ^a	۳/۲۱±۰/۷۲ ^a	۳/۲۵±۰/۶۲ ^{ab}	۳/۲۹±۰/۵۸ ^b
درصد بازماندگی	۸۸±۱/۶ ^a	۹۳±۲/۷ ^a	۹۶±۱/۱ ^{ab}	۹۸/۲±۱/۳ ^b

اعدادی که در هر ردیف با حروف متفاوت مشخص شده اند، اختلاف معناداری دارند ($P < 0.05$).

جدول ۳. ترکیبات بدن فیل ماهیان جوان نسبت به اثر سطوح مختلف گروبیوتیک در پایان دوره آزمایش

شاخص	شروع آزمایش	شاهد	گروبیوتیک ۱/۵٪	گروبیوتیک ۱٪	گروبیوتیک ۲٪
پروتئین خام	۱۴/۲۶±۰/۵۸	۱۴/۸۱±۰/۷۰	۱۴/۸۳±۰/۷۱	۱۵/۰۱±۰/۴۵	۱۵/۲۴±۰/۶۵
لیپید خام	۳/۷۶±۰/۳۸	۳/۸۵±۰/۴۲	۳/۸۹±۰/۴۲	۴/۰۹±۰/۳۸	۴/۰۷±۰/۴۵
خاکستر	۲/۸۹±۰/۳۵	۳/۱۶±۰/۵۶	۳/۱۲±۰/۰۱	۳/۲۹±۰/۴۸	۳/۳۱±۰/۲۱
رطوبت	۸۰/۳۶±۲/۱۶	۷۸/۵۲±۱/۶۲	۷۸/۳۸±۱/۵۹	۷۷/۱۲±۲/۵۸	۷۷/۸۵±۱/۲۹
انرژی (مگاژول بر کیلوگرم)	۱۹/۸۲±۱/۲۸	۲۰/۰۵±۱/۳۶	۲۰/۰۸±۱/۴۵	۲۰/۱۴±۱/۳۸	۲۰/۲۳±۱/۴۸

عدم وجود حروف در هر ردیف نشان دهنده معنی دار نبودن اختلافات در بین تیمارها می‌باشد ($P > 0.05$).

جدول ۴. میانگین تعداد باکتری‌های اسید لاکتیک روده (LAB)، تعداد کل باکتری‌های زیست پذیر روده (TVC) و نسبت تعداد باکتری‌های اسید لاکتیک به تعداد کل باکتری‌های زیست پذیر روده (LAB/TVC (%)) در فیل ماهیان جوان تغذیه شده با سطوح

مختلف گروبیوتیک

شاخص (Log CFU/g)	شروع آزمایش	شاهد	گروبیوتیک ۱/۵٪	گروبیوتیک ۱٪	گروبیوتیک ۲٪
TVC	۴/۴۱±۰/۶۲	۵/۶۸±۰/۵۹ ^a	۵/۸۵±۰/۵۱ ^a	۵/۴۷±۰/۶۹ ^a	۵/۸۴±۰/۴۳ ^a
LAB	۱/۹۳±۰/۱۱	۲/۷۸±۰/۵۳ ^c	۲/۸۲±۰/۵۲ ^c	۲/۹۳±۰/۴۲ ^b	۳/۱۸±۰/۶۳ ^a
LAB/TVC (%)	۰/۳۸±۰/۰۴ ^a	۰/۵۱±۰/۰۶ ^b	۰/۵۲±۰/۰۵ ^b	۰/۵۷±۰/۰۳ ^{ab}	۰/۶۴±۰/۰۴ ^a

اعدادی که در هر ردیف با حروف متفاوت مشخص شده اند، اختلاف معناداری دارند ($P < 0.05$).

۴. بحث و نتیجه‌گیری

از جمله مشکلات پیش رو به منظور تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری مسئله تغذیه و تکنولوژی غذایی می‌باشد، زیرا اطلاعات تغذیه‌ای در زمینه این ماهیان محدود و اندک می‌باشد. از جمله مهمترین اهداف مطالعات تغذیه‌ای افزایش شاخص‌های رشد به منظور

کوتاهتر کردن محدوده زمانی دوره پرورش در جهت سودمند و اقتصادی‌تر کردن این صنعت می‌باشد. چالش عمده در آبی‌پروری تجاری، بهبود جیره‌های غذایی فرموله شده جهت بهینه‌سازی رشد و ارتقا سلامت ماهیان می‌باشد (Gibson and Roberfroid, 1995). از جمله ایده‌های مطرح شده در این رابطه

۳ درصد گروبیوتیک بر فاکتورهای رشد ماهی سفید توسط Yousefian و همکاران (۲۰۱۲) گزارش شده است.

یکی از عوامل اقتصادی بودن پرورش آبزیان ضریب تبدیل غذا است، چرا که موجب کاهش هزینه‌های غذا و مقدار غذا دهی و به تبع آن موجب کاهش آلودگی آب محیط پرورشی و کاهش عفونت‌های ثانویه خواهد شد. نتایج این تحقیق نشان داد که تجویز خوراکی گروبیوتیک با غلظت ۲٪ موجب کاهش معنادار میزان ضریب تبدیل غذا نسبت به تیمار شاهد می‌گردد. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که حتی سطوح پایین گروبیوتیک جیره نیز می‌تواند روی میزان ضریب تبدیل غذایی و کاهش مقدار آن در مقایسه با تیمار شاهد تاثیر گذار باشد.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که استفاده از سطوح مختلف گروبیوتیک اثر معنی داری بر ترکیب لاشه فیل ماهیان جوان نداشته است. در مطالعه Burr و همکاران (۲۰۱۰) نیز مشابه با این مطالعه، افزودن سطوح مختلف گروبیوتیک اثر معنی داری بر ترکیب لاشه هیبریدهای باس مخطط نداشته است. علاوه بر آن، بررسی Burr و همکاران (۲۰۰۹) نیز نشان داد که سطوح مختلف این پربیوتیک تاثیر معناداری بر روی ترکیب لاشه ماهی *Sciaenops ocellatus* نداشته است. هر چند که، Azari و همکاران (۲۰۱۱) گزارش کردند که افزودن گروبیوتیک به جیره قزل آلی رنگین کمان جوان اثرات معنی داری بر میزان پروتئین، چربی، خاکستر و رطوبت لاشه داشته است. در مطالعه حاضر میزان پروتئین لاشه در فیل ماهیان جوان تغذیه شده با ۲ درصد گروبیوتیک بیشتر از سایر تیمارها بود که احتمالاً به دلیل افزایش کارایی هضم و ابقای پروتئین در این تیمار بوده است. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که گروبیوتیک به طور معناداری بازماندگی فیل ماهیان جوان را تحت تاثیر قرار می‌دهد. بازماندگی فیل ماهیان در تیمار ۲ درصد به طور معناداری بیشتر از تیمار شاهد بود. نتایج مشابهی را Azari و همکاران (۲۰۱۱) در هنگام به

استفاده از پربیوتیک‌ها در جیره غذایی ماهیان می‌باشد که علاوه بر بهبود پارامترهای رشد، اثرات سودمندی بر سیستم ایمنی میزبان دارد.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که افزودن سطوح مختلف گروبیوتیک به جیره فیل ماهیان جوان اثرات معنی داری بر شاخص‌های رشد داشته است. در انتهای دوره فیل ماهیان تغذیه شده با سطوح ۲ درصد گروبیوتیک بیشترین وزن را داشتند که اختلاف وزن آنها با تیمار شاهد و نیم درصد معنی دار بود ($P < 0.05$). نتایج مشابهی در رابطه با افزایش وزن بدن و ضریب کارایی پروتئین مصرفی به دست آمد، هر چند که این اختلاف بین تیمار ۱ و ۲ درصد معناداری نبود ($P > 0.05$). وزن کسب شده در تیمار ۲٪ در بیشترین میزان و در تیمار شاهد در کمترین میزان مشاهده شد. این نتایج بیانگر آن است که سطوح گروبیوتیک مورد استفاده در این تیمارها بر وزن کسب شده تاثیر گذار بوده است. به عبارت دیگر واکنش متقابلی بین سطوح بالای گروبیوتیک جیره و سطوح پایین آن بر وزن کسب شده در فیل ماهیان پرورشی مشاهده شده است. چنین نتایجی نیز به هنگام افزودن این پربیوتیک به جیره قزل آلی رنگین کمان جوان توسط Azari و همکاران (۲۰۱۱) گزارش شده است. در این مطالعه افزودن سطوح ۱ و ۲ درصد گروبیوتیک به جیره قزل آلی رنگین کمان جوان به طور معنی داری باعث افزایش وزن و طول ماهیان شد. Li و Gatlin (۲۰۰۵) نیز نشان دادند که استفاده از سطح ۲ درصد این در جیره هیبرید باس مخطط موجب بهبود وزن کسب شده و کارایی غذای مصرفی می‌شود. بهبود شاخص‌های رشد ناشی از مصرف این پربیوتیک می‌تواند به دلیل تولید پلی آمین‌ها، بهبود هضم مواد مغذی جیره یا به علت افزایش سطح فعالیت آنزیم‌های گوارشی یا کبدی ماهی باشد. از سوی دیگر، بررسی Savolainen و Gatlin (۲۰۰۹) نشان داد که افزودن گروبیوتیک هیچ تاثیر معنی داری بر فاکتورهای رشد ماهی حوض داشته است. مشابه چنین نتایجی نیز در زمان افزودن سطوح ۱ تا

دنبال داشته است و میزان بازماندگی ماهیان افزایش یافته است. در مطالعه Azari و همکاران (۲۰۱۱) نیز به دنبال افزایش سطوح گروبیوتیک در جیره قزل آلی رنگین کمان، افزایش معناداری در تعداد کلی باکتری‌های روده و لاکتوباسیل‌های روده مشاهده شد. هر چند که Burr و همکاران در سال ۲۰۰۹ مشاهده کردند که سطوح مختلف گروبیوتیک تأثیر معناداری بر جمعیت میکروبیوتای روده ماهی *S. ocellatus* نداشته است.

در مجموع نتایج حاصل از این مطالعه حاکی از آن است که استفاده از سطح ۲ درصد گروبیوتیک در جیره فیل ماهیان جوان با اثرگذاری بر سطوح لاکتوباسیلوس‌ها روده ای موجب بهبود عملکرد رشد و کارایی مصرف جیره غذایی ماهیان می‌شود. بنابراین این پروبیوتیک می‌تواند بعنوان مکمل مناسبی برای جیره غذایی فیل ماهیان پرورشی به کار گرفته شود. با این حال، تعیین سطح بهینه پروبیوتیک مذکور در جیره غذایی، اثر گذاری این پروبیوتیک بر فعالیت آنزیم‌های گوارشی و کبدی، اثرات ایمنی زایی آن و میزان مقاومت فیل ماهیان در برابر باکتری‌های بیماری‌زای شایع (از قبیل آئروموناس هیدروفیلا) نیازمند انجام مطالعات جامع‌تری می‌باشد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله بر خود می‌دانند تا از تلاش‌ها و زحمات مسئولین محترم کارگاه پرورشی ماهیان خاویاری قره برون بویژه جناب آقای مهندس اسلامی و سرکار خانم مهندس خطی تشکر نمایند.

منابع

AOAC (1995). Official Methods of Analysis, 16th edn. Association of Official Analytical Chemists International, Arlington, VA, USA, pp: 21–25.
Azari, A.H., Hashim, R., Azari Takami, G., Farabi, S.M.V., Darvish, M. and Safari, R. 2011. Effect of prebiotic (GroBiotic®-A) on the growth performance and intestinal

کارگیری گروبیوتیک در جیره قزل آلی رنگین کمان جوان بدست آوردند. همچنین Li و همکاران (۲۰۰۴)، Li و Gatlin (۲۰۰۵) نیز نشان دادند که استفاده از سطوح ۱ و ۲ درصد گروبیوتیک موجب افزایش بازماندگی و مقاومت هیبریدهای باس مخطط در برابر باکتری‌های استرپتوکوکوس اینیایی و میکوباکتریوم مارینوم می‌گردد. در نقطه مقابل، بررسی‌های Savolainen و Gatlin (۲۰۰۹) بر روی ماهی حوض و Yousefian و همکاران (۲۰۱۲) در ماهی سفید نشان داد که افزودن سطوح مختلف این پروبیوتیک تأثیر معناداری بر روی میزان بازماندگی این ماهیان نداشته است. اختلافات به دست آمده در نتایج مطالعات مختلف را می‌توان به تفاوت‌های گونه‌ای، سن ماهیان، فرمولاسیون جیره غذایی، درجه خلوص و دوز مورد استفاده از این پروبیوتیک نسبت داد.

نتایج به دست آمده از این مطالعه نشان دهنده افزایش معنادار تعداد لاکتوباسیلوس‌ها در میکروبیوتای روده به موازات افزایش سطح به کارگیری گروبیوتیک در روده بود. افزایش تعداد لاکتوباسیلوس‌ها متعاقب به کارگیری گروبیوتیک احتمالاً در نتیجه تامین مواد غذایی مورد نیاز این باکتری‌های مفید روده ای می‌باشد. این باکتری‌ها بواسطه تولید باکتریوسین‌ها مانع از رشد باکتری‌های بیماری‌زا شده که متعاقب آن اثرات مثبتی را بر میکروفلوورهای روده گذشته و بهبود پارامترهای رشد و ایمنی میزبان و افزایش میزان بازماندگی ماهی را به دنبال خواهد داشت. نتایج مطالعه حاضر نیز موید این مطلب می‌باشد به طوری‌که با افزایش میزان گروبیوتیک جیره از نیم به ۲ درصد، بهبود شاخص-های رشد و افزایش تعداد لاکتوباسیل‌های روده را به

microflora on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum). J. Res Biol 1(5): 325-334.
Azari, A.H., Hashim, R., Habibi Rezaei, M., Najafpour, Sh., Azari Takami, Gh. and Roohi, A.Gh. 2011. The Effects of Commercial Probiotic and Prebiotic Usage on Growth Performance, Body Composition and Digestive Enzyme Activities in Juvenile Rainbow Trout

- (*Oncorhynchus mykiss*). World Appl Sci J 14: 26-35.
- Bagheri, T., Hedayati, S.A., Yavari, V., Alizade, M. and Farzanfar, A. 2008. Growth, survival and gut microbial load of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fry given diet supplemented with probiotic during the two months of first feeding. Turkish J Fish Aqua Sci 8: 43-48.
- Bahmani, M., Kazemi, R. and Donskaya, P. 2001. A comparative study of some hematological features in young reared sturgeon. Fish Physiol Biochem 24: 135-140.
- Burr, G., Delbert, M. and Gatlin III, D.M. 2009. Effects of the Prebiotics GroBiotic®-A and Inulin on the Intestinal Microbiota of Red Drum, *Sciaenops ocellatus*. J World Aquacult Soc 40(4): 440-449.
- Burr, G., Hume, M., Ricke, S., Nisbet, D. and Gatlin III, D.M. 2010. In Vitro and in vivo evaluation of the prebiotics GroBiotic®-A, Inulin, Mannanooligosaccharide, and Galactooligosaccharide on the digestive microbiota and performance of hybrid Striped Bass (*Morone chrysops* × *Morone saxatilis*). Microb Ecol 59:187-198.
- Dumont, H.J. 1998. The Caspian Lake: history, biota, structure and function. Limnology and Oceanograph 43: 44-52.
- Gibson, G.R. 2004. Fiber and effects on probiotics (the prebiotic concept). Clin Nutr 1:25-31.
- Gibson, G.R. and Roberfroid, M.B. 1995. Dietary modulation of the human colonic microbiota: Introducing the concept of prebiotics. J. Nutr 125, 1401-1412.
- Hosseinfar, S.H. and Mahious, A.S. 2007. Probiotics, Prebiotics and synbiotics in Aquaculture: A review; Proceeding of International Training Course on fish Nutrition and disease, 5 september, Ghaemshhr, iran, pp: 23-24.
- Jalali, M.A., Ahmadifar, E., Sudagar, M. and Azari Takami, GH. 2009. Growth efficiency, body composition, survival and hematological change in great sturgeon (*Huso huso* Linnae, 1758) Juvenile fed diets supplemented with different level of Ergosan. Aquac Res 219: 891-909.
- Li, P. and Gatlin III, D.M. 2004. Dietary brewer's yeast and the Prebiotic Grobiotic AE influence growth performance, immune responses and resistance of hybrid striped bass (*Morone chrysops* × *M. saxatilis*) to *Streptococcus iniae* infection. Aquaculture 231: 445-456.
- Li, P. and Gatlin III, 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: 197-205.
- Mahious, A.S., Gatesoupe, F.J., Hervi, M., Metailler, R. and Ollevier, F. 2006. Effect of dietary inulin and oligosaccharides as prebiotics for weaning turbot, *Psetta maxima*. Aquac Int 14:219-229.
- 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*). Aquac Int 14:219-229.
- Mohseni, M., Pourkazemi, M., Bahmani, M., Falahatkar, B., Pourali, H.R. and Salehpour, M. 2006. Effects of feeding rate and frequency on growth performance of yearling great sturgeon, *Huso huso*. J. Appl. Ichthyol 22, 278-282.
- Nazari, R.M., Sohrabnejad M. and Ghomi. M.R. 2009. The effect of maternal size on larval characteristics of Persian sturgeon, *Acipenser persicus*. Aquac Res 40: 1083-1088.
- 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.
- Peter, H. and Sneath, A. 1986. Bergeys manual of systematic Bacteriology, USA, pp: 1104-1154.
- 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., Olsen, R.E., Tø, G., Dalmo, R.A., Amlund, H., Hemre, G. and Bakke, A.M. 2010. Prebiotics in aquaculture: a review. Aquac Nutr 16:117-136.
- Savolainen, L.C. and Gatlin III, D.M. 2009. Evaluation of dairy-yeast prebiotic supplementation in the diet of juvenile goldfish in the presence or absence of phytoplankton and zooplankton. J. Aqua Anim Health 21:156-163.
- Tacon, A.G. 1990. Standard methods for the nutrition and feeding of farmed fish and shrimp. Feeding Methods. Agent Laboratories Press, Redmond, Taoka, pp: 131-138.

Yousefian, M., Hedayatifard, M., Fahimi, Sh., Shikholeslami, M., Irani, M., Amirinia, C. et al. 2012. Effect of prebiotic supplementation on growth performance and serum biochemical

parameters of Kutum (*Rutilus frisii kutum*) fries. Asian J. Anim Vet Advanc 7(8): 684-692.

Effect of different dietary prebiotic GroBiotic®-A on growth factors, survival rate, body composition and intestinal microflora of cultured juvenile Beluga (*Huso huso*)

Milad Adel¹, Reza Safari², Sekineh Yeganeh³, Sharareh Ahmadvand³

1. Department of Aquatic Animal Health and Diseases, Research Organization of Caspian Sea, Sari, Iran
2. Department of Microbiology, Research Organization of Caspian Sea, Sari, Iran
3. Department of Fisheries, Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Sari, Iran.

Abstract

This study was conducted to evaluate the effects of different levels of prebiotic GroBiotic®-A on growth factors, survival rate, body composition and intestinal microbiota of cultured juvenile beluga (*Hous huso*) in the sturgeon culture center (Samandak, Sari). Four groups of beluga sturgeon with mean weight of 40.82 ± 5.8 g were raised for 56 days in fiber glass tanks (20 fish to each tank) and feeding with different levels of GroBiotic®-A with concentrations of % 0, % 0.5, % 1.0 and % 2.0 (Three replicates were used for each concentration). At the end of the trial, growth factors (final weight, weight gain, SGR, CF feed conversion ratio (FCR), body composition and intestinal microbiota (total viable bacteria and *Lactobacillus* spp. levels) were determined and compared with control group. Our results confirmed that juveniles fed on diet supplemented with 2% GroBiotic®-A had significantly higher growth factors and survival rate compared to control and 0.5% treatment ($P < 0.05$). The study of body composition showed no significant difference between different treatments ($P > 0.05$). Total viable bacteria and *Lactobacillus* spp. count were increased during this study and these parameters significantly higher in 2% treatment compared to other treatments ($P < 0.05$). Based on the results, using of GroBiotic®-A at the level of 2.0% in order to improve the growth performance, survival rate and *Lactobacillus* spp. levels of farmed beluga is recommended.

Keywords: *Hous huso*, GroBiotic®-A, Growth performance, Survival, Body composition.

Table 1. Dietary formulations and proximate composition used in basal diet of beluga juveniles. pp: 3.

Table 2. Growth performance and survival rate of juvenile beluga fed diets containing different levels of GroBiotic-A (g kg^{-1}) after 8 week. pp: 5.

Table 3. Proximate composition (g kg_1) in carcass of juvenile beluga fed diets containing different levels of GroBiotic-A (g kg_1) after 8 week. pp: 6.

Table 4. Total viable aerobic bacteria (TAC) and lactic acid bacteria (LAB) levels [\log colony-forming units (CFU) g_1 intestine] in the gut of beluga juveniles fed diets containing different levels of GroBiotic-A (g kg_1) after 8 week. pp: 7.

*Corresponding author, E-mail: miladadel85@yahoo.com