

# اثر پری بیوتیک الیگوفروکتوز بر عملکرد رشد، بازماندگی و شاخص‌های خونی بچه ماهی ازوون برون (*Acipenserstellatus*)

یوسف ایری<sup>(۱)</sup> \*، محمود حافظیه<sup>(۲)</sup>، عبدالدا.. حق پناه<sup>(۱)</sup>، حسینعلی خوشبادر رستمی<sup>(۱)</sup>، بهروز فرهادی<sup>(۱)</sup>، عبدالوهاب کریمی<sup>(۱)</sup> نیاز محمد کریمی<sup>(۱)</sup>، فرحناز لکزانی<sup>(۲)</sup>

\*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 ازوون برون (*Acipenserstellatus*) می‌باشد. بدین منظور تعداد ۹۰ قطعه بچه ماهی ازوون برون با میانگین وزن  $30/16 \pm 0/14$  گرم از انتستیو بین المللی تحقیقات ماهیان خاویاری تهیه و با استفاده از طرح "کاملاً تصادفی در ۳ تیمار هر یک با ۳ تکرار در حوضچه‌های فایبرگلاس و شرایط فیزیکو شیمیایی آب نسبتاً ثابت ( $p < 0.05$ ) ذخیره و به مدت دو هفتگه با غذای پایه سازش داده شدند. بچه ماهیان به مدت ۱۱ هفته با جیره‌های 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 ضربیت 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 گلbul‌های قرمز و سفید، نسبت‌های حجمی و شمارش افتراقی انواع سلولی، هماتوکریت و هموگلوبین بررسی شدند که نتایج آن، اختلاف معنی داری را در تعداد گلbul‌های قرمز، میانگین حجم گوییچه‌ها (MCV)، میانگین هموگلوبین گوییچه‌ها (MCH)، میانگین غلظت هموگلوبین گوییچه‌ها (MCHC)، هماتوکریت و هموگلوبین تیمارها نشان نداد ( $p > 0.05$ ) ولی شمارش افتراقی تعداد گلbul‌های 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 می‌توان گفت، الیگوفروکتوز و به خصوص در سطح ۱٪ قابلیت تأثیرگذاری نسبتاً خوبی بر افزایش عملکرد رشد و کارایی تغذیه در بچه ماهی ازوون برون دارد.

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

\*نویسنده مسئول

**4 مقدمه**

(*Salmo salar*)، آزاد ماهی آتلانتیک (*al.*, 2010 Grisdale-Helland *et al.*, 2009)، گربه ماهی آفریقایی (*Clarias gariepinus*) (Mahious *et al.*, 2005) (*Acipenser baeri*) (Hybrid) (Mahious *et al.*, 2005) (*Huso*) (Zhou *et al.*, 2009)(tilapia) (Hosienifar, 2010) (*huso*) (angam شده که همگی به اثرات مثبت آن بر میزان 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 بخشی شاخصهای خونی فیل ماهی (*Huso huso*) مورد مطالعه قرار داد. سرزوئلا و همکاران (۲۰۰۷) تاثیر پری بیوتیک اینولین را بر بخشی شاخصهای خونی شانک سر طلایی (*Sparus aurata*) مورد مطالعه قرار دادند. با این وجود هنوز اثراً 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 محیطی، تحقیق فوق با بکار گیری پری بیوتیک الیگوفروکتوز در جیره با سطح 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 بندرترکمن (استان گلستان) انجام شد. تعداد ۹۰ قطعه بچه ماهی ازون برون با میانگین وزن  $۳۰/۱۶ \pm ۰/۱۴$  گرم از انستیتو بین المللی ماهیان خاویاری تهیه و پس از دو

ماهی ازون برون (*Acipenser Stellatus*) یکی از با ارزش ترین ماهیان خاویاری دریای خزر می باشد که بدليل زودرس بودن بلوغ جنسی از لحاظ استحصال خاویار ارزشمند بوده و می تواند بعنوان یکی از آبزیان 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 میزان، ایده کاربرد پری بیوتیک ها در جایگزینی بهتر (Gibson& Roberfroid, 1995; RinngØ Gatesoupe, 1998; Mahious *et al.*, 2005; گزینشی توسط باکتری های مفید روده، سبب افزایش تعداد و غالباً آنها می شود (Roberfroid., 2007).

در میان الیگو ساکاریدهای غیر قابل هضم، اینولین و الیگوفروکتوز 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 غیرقابل هضمی هستند که از طریق تحریک رشد یا فعال کردن یک یا تعداد محدودی از گونه های باکتریایی که در روده وجود دارند، اثراً سودمندی بر میزان داشته و سلامتی آن را بهبود می بخشنند (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 آبزیان صورت گرفته است با این وجود، در مورد اولیگوفروکتوز (FOS)، مطالعات محدودی از جمله در لارو توربوت (*Psetta maxima*) (Litopenaus *et al.*, 2005)، میگو پا سفید غربی (Li *et al.*, 2007; Zhou *et al.*, 2007) (*vannamei* Zahang *et al.*) (*Apostichopus japonicas*) (Zahang دریایی)

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 شدن 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.

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 آمده شرکت بیومار (جدول ۱) با اندازه ۱/۹ میلی متر مناسب با سایز دهان

جدول ۱: آنالیز شیمیایی غذای مصرفی

اجزای جیره	مقدار	اجزای جیره	مقدار	مقدار
پروتئین	۴۸٪	ویتامین A	۷۵۰۰ IU/Kg	مقدار
چربی	۲۲٪	ویتامین D <sub>۳</sub>	۱۵۰۰ IU/Kg	
سلولز	۱۸٪	مس	۱/۵ mg/kg	
حاکستر	۸٪	منگنز	۱۲ mg/kg	
فسفر	۴٪	روی	۷۵ mg/kg	
کلسیم	۰/۸٪	پدید 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 آنژیم 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،

آماری SPSS (ویراش 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 دار 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 (معدل ۰/۰۵) و بیشترین مقدار در تیمار ۱٪ (معدل 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 بطوريکه 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 ( $\pm 15/28$  و  $\pm 83/33$  و

بلافارسله 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 در دقیقه سانتریفیوژ شدند. سرم جداسازی شده را در اپندورف ریخته و تا زمان بررسی آنزیمهای سرم در دمای ۲۰-۲۰ درجه سانتی گراد نگهداری شدند. شمارش تعداد گلbulهای قرمز و سفید پس از رقیق سازی با استفاده از لام هموسیتومتر انجام شد. همچنین شمارش افتراقی گلbulهای سفید (لنفوسيت، نوتروفيل، ائوزينوفيل، مونوسيل) پس از تهیه گسترش خونی و رنگ آميزی با رنگ گيمسا صورت گرفت. ميزان هماتوكريت بر اساس روش ميكروهماتوكريت و ميزان هموگلوبين بر اساس روش Sahli تعين گردیدند (Brown., 1988). ميانگين حجم گويچه (MCV)، ميانگين هموگلوبين گويچه (MCHC) و ميانگين غلظت هموگلوبين گويچه (MCH) بر اساس فرمولهای استاندارد مشخص گردید (حقیقی، ۱۳۸۸).

**بررسی فاکتورهای فيزيکي و شيميايی آب :** با توجه به اهميت فاکتورهای آب بر سلامتی بچه ماهیان، علاوه بر نظافت محل نگهداری و به منظور كنترل كيفي، روزانه برخی پارامترهای آب شامل دما با استفاده از ترمومتر جيوه اي، اكسيثن محلول با استفاده اكسي متر (WTW مدل oxi320/set ، اسيديته با استفاده از pH متر مدل 3223-B/set1-wtw و هدايت الكتريكي با استفاده از EC سنج مدل Cond 330i/set WTW ثبت گردیدند. تجزيه و تحليل آماري داده ها: توزيع نرمال متغير های اندازه گيري شده از تكرارهای هر تیمار، ابتدا به وسیله آزمون Shapiro-Wilk تاييد و تجزيه و تحليل داده های مربوط به تغييرات رشد، فاکتورهای تغذیه و خون شناسی، تراكم باكتريابي روده (شمارش كلی باكتري و شمارش تراكم لاكتوباسيلوس) و مقادير برخی پارامترهای ايمني غيراختصاصي ماهیان پرورشي از روش آناليز واريанс يک طرفه ANOVA انجام و در نهايit مقایسه ميانگين تیمارها بر اساس تست چند دامنه اي دانکن در سطح اطمینان ۹۵٪ با بهره گيري 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( $p>0.05$ ).

( $96/67\pm 5/77$ ) مشاهده شد ولی درصد بازماندگی بین تیمارهای صفر و  $1\%$  اختلاف آماری نشان نداد ( $p>0.05$ ). تولید خالص ماهی بین تیمارهای  $1\%$  و  $2\%$  نسبت به صفر درصد اختلاف معنی دار نشان داد ( $p<0.05$ ) با این وجود، بیشترین مقدار تولید خالص در تیمار  $1\%$  الیگوفروکتوز بدست آمد در حالیکه بین تیمار  $2\%$

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

شاخص	تیمار	صفر درصد	$1\%$ الیگوفروکتوز	$2\%$ الیگوفروکتوز
میانگین وزن ابتدای دوره(گرم)		$30/18 \pm 0/33^a$	$30/01 \pm 0/34^a$	$30/29 \pm 0/37^a$
میانگین طول ابتدای دوره (سانتی متر)		$23/47 \pm 1/1^a$	$23/08 \pm 0/45^a$	$23/72 \pm 0/75^a$
میانگین وزن انتهای دوره(گرم)		$49/28 \pm 3/23^a$	$78/39 \pm 6/4^c$	$65/42 \pm 3/62^b$
میانگین طول انتهای دوره (سانتی متر)		$29/89 \pm 0/59^a$	$33/95 \pm 1/19^b$	$32/99 \pm 0/05^b$
افزایش وزن بدن(گرم)		$19/1 \pm 3/54^a$	$48/38 \pm 6/31^c$	$35/13 \pm 3/66^b$
درصد افزایش وزن بدن(درصد)		$63/37 \pm 12/44^a$	$161/13 \pm 20/17^c$	$116/02 \pm 12/39^b$
نرخ رشد ویژه(درصد)		$0/56 \pm 0/09^a$	$1/28 \pm 0/08^c$	$0/97 \pm 0/13^b$
میانگین رشد روزانه		$0/84 \pm 0/16^a$	$2/12 \pm 0/27^c$	$1/42 \pm 0/29^b$
سرعت رشد طولی(درصد)		$0/32 \pm 0/06^a$	$0/37 \pm 0/22^a$	$0/43 \pm 0/04^a$
سرعت رشد وزنی (درصد)		$0/63 \pm 0/09^a$	$1/17 \pm 0/08^c$	$0/96 \pm 0/07^b$
فاکتور وضعیت		$0/19 \pm 0/01^a$	$0/2 \pm 0/01^a$	$0/18 \pm 0/01^a$
نرخ بقاء(درصد)		$96/67 \pm 5/77^b$	$93/33 \pm 5/77^b$	$83/33 \pm 15/28^a$
تولید خالص ماهی (گرم)		$183/3 \pm 22/7^a$	$452/93 \pm 78/5^b$	$292/56 \pm 57^a$

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

نداد( $p>0.05$ ). در بررسی کارایی غذا و پروتئین تیمار  $1\%$  بری بیوتیک اختلاف معنی داری نسبت به صفر درصد نشان دادند( $p<0.05$ ). بیشترین کارایی غذا ( $7/14 \pm 41/18$ ) و پروتئین ( $85/78 \pm 14/87$ ) در تیمار  $1\%$  الیگوفروکتوز مشاهده گردید. شاخص کبدی که از نسبت وزن کبد به وزن بدن ماهی بدست می‌آید، در بین تیمارها اختلاف معنی دار نشان داد( $p<0.05$ ). بیشترین مقدار آن در گروه صفر درصد( $1/0 \pm 2/29$ ) و کمترین در تیمار  $2\%$  الیگوفروکتوز ( $2/05 \pm 0/46$ ) مشاهده گردید.

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

کمترین مقدار این شاخص معادل  $2/48 \pm 0/48$  مربوط به تیمار  $1\%$  و بیشترین مقدار  $6/06 \pm 0/74$  در گروه صفر درصد بدست آمد. غذای خورده شده روزانه (درصد در روز) که یکی از شاخصهای کمی تبدیل غذا در واحد زمان می‌باشد، بین تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی دار نشان

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

پریوتوکالیک الیگوفروکتوزی مدت ۷۶ روز

شاخص	تیمار	صفر درصد	٪ الیگوفروکتوز	٪ الیگوفروکتوز
ضریب تبدیل غذایی				
کارابی غذا (در صد)				$2/48 \pm 0/48^a$
غذای خورده شده روزانه(در صد در روز)			$16/66 \pm 2/06^a$	$26/6 \pm 5/18^a$
نسبت کارابی پروتئین(گرم/اگرم)			$3/77 \pm 0/11^a$	$3/22 \pm 1/17^a$
شاخص کبدی			$34/72 \pm 4/3^a$	$55/41 \pm 10/8^a$
			$2/29 \pm 0/10^a$	$2/05 \pm 0/46^b$

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

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 بین  $2133/42 \pm 2121/48$  در تیمار ۱٪ و کمترین آن  $13311/1 \pm 5855/56$  در گروه صفر درصد بدست آمد. در مورد اندازه گیری مقادیر لنفوسیت و ائوزینوفیل 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 ( $p<0.05$ ).

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 (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)

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

تیمار	شاهد	٪ الیگوفروکتوز	٪ الیگوفروکتوز	P
(fl) MCV	$229/59 \pm 16/98^a$	$245/03 \pm 6/02^a$	$226/9 \pm 12/26^a$	.۰/۲۵۶ ns
(pg) MCH	$46/54 \pm 0/91^a$	$45/89 \pm 1/64^a$	$44/64 \pm 5/84^a$	.۰/۸۰۶ ns
(/.) MCHC	$19/66 \pm 0/74^a$	$18/77 \pm 0/52^a$	$19/38 \pm 3/43^a$	.۰/۸۸۵ ns
'mm <sup>3</sup> × 10 <sup>6</sup> RBC	$0/96 \pm 0/03^a$	$1/03 \pm 0/12^a$	$0/9 \pm 0/24^a$	.۰/۶۱۳ ns
(/.) HCT	$22/87 \pm 1/12^a$	$25/22 \pm 3/17^a$	$20/67 \pm 4/58^a$	.۰/۳۰۷ ns
(g/dl) Hb	$4/49 \pm 0/19^a$	$4/72 \pm 0/48^a$	$4/11 \pm 1/53^a$	.۰/۷۳۵ ns

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

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

p	٪ الیگوفروکتوز	٪ الیگوفروکتوز	شاهد	تیمار	شاخص
					گلbul سفید( $\text{mm}^3$ )
۰/۰۰۱ s	۸/۸۵ ± ۰/۳ <sup>b</sup>	۱۲/۳۱ ± ۲/۱ <sup>c</sup>	۵/۸۶ ± ۰/۲۷ <sup>a</sup>	لوفوسیت (٪)	۱۰۰۰ × (mm <sup>3</sup> )
۰/۲۵۱ ns	۸۱/۱۱ ± ۷/۰۴ <sup>a</sup>	۹۴/۷۸ ± ۱/۶۴ <sup>a</sup>	۸۰/۶۷ ± ۱۶/۶۵ <sup>a</sup>	اوزینوفیل (٪)	
۰/۲۸۸ ns	۲/۴۴ ± ۰/۶۹ <sup>a</sup>	۰/۷۲ ± ۰/۳۵ <sup>a</sup>	۱/۴۴ ± ۰/۵۱ <sup>a</sup>	نوتروفیل (٪)	
۰/۰۴۱ s	۱۵/۱۱ ± ۷/۸۱ <sup>ab</sup>	۲۵/۴۴ ± ۱۰/۳۴ <sup>b</sup>	۴/۶۷ ± ۱/۵۳ <sup>a</sup>	معنی دار ns	اعداد (SD ± میانگین) در هر ردیف با حروف مشترک دارای اختلاف معنی دار نیستند. ns معنی دار و

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

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 و رویدی برای تانک ها و یکسان

جدول ۶: میانگین فاکتورهای کیفی آب در طول دوره پرورش

مقادیر	فاکتور
۶/۶۶ ± ۰/۹۸	اکسیژن محلول (mg/lit)
۸/۰۵ ± ۰/۲	pH
۲۲/۴۱ ± ۲/۷۲	دمای آب
۲۸/۸۶ ± ۴/۸۳	دمای هوا
۴/۹۸ ± ۰/۰	(ms/cm) EC

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 (Raftilin ST)، همکاران (۲۰۰۵) تأثیر اینولین (۲۰۰۵) را بر ایگوفروکتوز (Raftilose P95) و لاکتسوکروز را به عنوان پری بیوتیک روی رشد لارو ماهی کشفک (Psetta maxima) در سطح ۰.۲٪ 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, ۲۰۰۷).

## بحث

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 ۰.۲٪ 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 داردست یافته‌اند. همچنین Mahious و همکاران (۲۰۰۵) گزارش

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 محرك 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 در حالیکه تعداد گلبول های سفید در تیمار الیگوفروکتوز ۰.۲٪ افزایش معنی داری نسبت به الیگوفروکتوز % نشان داد. میزان هموگلوبین نیز در تیمار ۰.۳٪ کمتر از ۱ و ۰.۲٪ بود. در دیگر مطالعات بی تأثیر بودن پری بیوتیک بر فاکتورهای خون ماهی گزارش شده است.

به عنوان مثال، افزودن سطح ۰/۵ و ۰/۲ اینولین به جیره ماهی قزل آلای 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 لنفوسيت و نوتروفیل در تیمار ۱٪ و کمترین میزان ائزوونوفیل 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 ائزوونوفیل تیمارهای مختلف بدست نیامد اما تعداد لنفوسيت در تیمار ۱ و ۲٪ الیگوفروکتوز به طور معنی داری بیشتر از صفر و ۰٪ بود.

اکرمی و همکاران (۱۳۸۷) گزارش کردند تعداد لنفوسيت ها در شمارش تفریقی تیمار ۱٪ اینولین به طور معنی داری بیشتر از سایر تیمارها بود در حالیکه 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 لنفوسيت ها در تیمار الیگوفروکتوز ۱٪ مؤید اثرات مطلوب پری بیوتیک

(۲۰۰۷). 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 بdest آمد. در مطالعه اکرمی (۱۳۸۷) که از سطوح مشابه پری بیوتیک اینولین در جیره فیل ماهی استفاده نمود چنین بdest آمد که اینولین هیچ اثر معنی داری بر بازماندگی بچه فیل ماهی ندارد. همچنین سطوح مختلف اینولین اثری بر بازماندگی قزل آلای رنگین کمان نیز نداشت (اکرمی و همکاران، ۱۳۸۷). سطوح مختلف پری بیوتیک مانان الیگوساکارید اثرات نامطلوب بر بازماندگی تیلاپیای رود نیل (*Oreocbromis 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 ۰٪ الیگوفروکتوز بود.

اثرات پری بیوتیک بر بازماندگی، ارتباط مستقیمی با توانایی میکروفلور باکتریایی دستگاه گوارش آبزی 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 آبزی خواهد داشت (Olsen *et al.*, 2001). نتایج متفاوت بdest آمده در زمینه بازماندگی آبزیان در اثر استفاده از سطوح مختلف پری بیوتیک ها را می توان به شرایط محیط پرورش ، کمیت و کیفیت غذا، اختلاف رزیم غذایی، نوع گونه پرورشی، اندازه و سن می تواند برفاکتور های 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

اکرمی، ره، قلیچی، اه، و ابراهیمی، اه، ۱۳۸۷. تأثیر سطوح متفاوت پری بیوتیک اینولین بر رشد و زندگانی ماهی قزل آلای 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 الیگوفروکتوز بر غالیت لاکتوباسیلوس فلور باکتریایی روده، بقاء، شاخصهای خونی و بافت کبد بجه فیل ماهی (*Huso huso*) پایان نامه کارشناسی ارشد دانشگاه تهران ۱۲۵ صفحه.

شيخ الاسلامی، اه، یوسفیان، مه، یاوری، و، محمدیان، ته، ابهری، حه، و گوران حه، ۱۳۸۷. تحریک سیستم ایمنی قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhyncbus mykiss*) و افزایش مقاومت در برابر استرپتوكوک 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 ortoise (*Agrionemys horsfieldi*) in prehibernation state. Comparative Clinical Pathology, 16(3), 193-195.

**Dumeizan, A., Garcia-Galloo, M., Domeizan, J. and Sanz, A., 1997.** Evolution during growth of the biometry and the blood constants of the Sturgeon (*Acipenser naccarii*). Abstract book, 3<sup>rd</sup>. 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 اینمنی غیر اختصاصی ماهی ازون برون می باشد. البته می باشد مطالعات بیشتری به منظور ارزیابی دقیق اثرات پری بیوتیک الیگوفروکتوز بر اینمنی و مقاومت ازون برون در مواجهه با عوامل بیماری را انجام شود. بر اساس یافته های موجود در این بررسی و یافته های دیگر پژوهشگران مشاهده می شود که فاکتورهایی مانند عوامل محیطی، فصول سال، شوری، دوره نوری، درجه حرارت و تراکم، عوامل فیزیولوژیکی گونه آبزی، 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 بمنه را یاری نمودند تشکر و قدردانی می گردد.

## منابع

اکرمی، ره، 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.** Mananoligosacaride os alimentares (MOS) como agentes profilaíticos das infecções por Edwardsiella tarda em Tilaípia 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, NemYork, 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, Ghaemshhr, 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.<sup>(1)\*</sup>; Hafezieh M<sup>(2)</sup>; Haghpanah A<sup>(1)</sup>; Rostami H.K<sup>(1)</sup>; Ghareve B.<sup>(1)</sup>; Kor A.V.<sup>(1)</sup>; Kor N.M.<sup>(1)</sup>; Lakzaie F.<sup>(2)</sup>

1- Inland waters Aquatics Stocks Research Center,P.O.Box:139Gorgan,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  $30.16 \pm 0.14$  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