CORE
Metadata, citation and similar papers at core.ac.uk
Provided by Aquatic Commons

بررسی بافت شناسی کلاسیک روده و پروفیل اسیدهای چرب میگوی وانامی (*Litopenaeus vannamei*) تحت تاثیر پربیوتیک اینولین

امین اوجی فرد[*۱]، عبدالمحمد عابدیان کناری[۲]، علی طاهری[۳]

۱. گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه خلیج فارس بوشهر، برازجان
۲. گروه شیلات، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور
۳. گروه شیلات، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار

چکیده

تاثیر پربیوتیک اینولین بر شاخص های رشد، مورفولوژی روده و پروفیل اسیدهای چرب میگوی وانامی (*Litopenaeus vannamei*) با وزن متوسط ۰/۰۳±۳/۲۱ گرم به مدت ۵ هفته مورد بررسی قرار گرفت. آزمایش با ۳ تکرار درون مخازن پلی اتیلنی مدور با ظرفیت ۳۰۰ لیتر و با تراکم ذخیره سازی ۲۵ عدد میگو در مرکز آبزی پروری شیلات (استان بوشهر، دلوار) انجام گرفت. اینولین در ۲ سطح (صفر و ۲ درصد) به جیره های غذایی اضافه گردید. غذادهی به میگوها به میزان سیری و ۵ بار در روز در ساعات ۸، ۱۲، ۱۶، ۲۰ و ۲۴ انجام شد. افزودن اینولین تغییر معنی‌داری در شاخص‌های رشد (شامل، بقاء، ضریب تبدیل غذایی، ضریب رشد ویژه و نرخ بازده پروتئین) ایجاد نکرد ($P>۰/۰۵$) ولی میزان اسید چرب ۲۰:۳n۳ بطور معنی داری افزایش یافت ($P<۰/۰۵$). همچنین، طول سلولهای اپیتلیال روده در هر سه بند شکمی در تیمار اینولین به طور معنی‌داری بیشتر از گروه شاهد بود ($P<۰/۰۵$). نتایج این آزمایش نشان داد که اضافه کردن اینولین به جیره میگوی وانامی به میزان ۲ درصد اثرات مثبتی بر پروفیل اسیدهای چرب و مورفولوژی روده دارد.

واژگان کلیدی: اینولین، اسیدهای چرب، پربیوتیک، مورفولوژی روده، رشد، میگوی وانامی.

* نویسنده مسوول، پست الکترونیک: Oujifard.amin@gmail.com

۱. مقدمه

در حال حاضر میگوها به عنوان بزرگترین گروه از سخت پوستان پرورشی در جهان بشمار می روند. اغلب گونه های میگوی پرورشی از خانواده پنائیده بوده که از میان آنها *Litopenaeus vannamei* با تولید ۴۷ درصدی از کل تولید و ارزش مالی حدود ۴۳ درصد، از مهمترین گونه های میگوی پرورشی در جهان است. ویژگی های این گونه از جمله رشد سریع، مقاومت در برابر برخی بیماریها، تحمل درجه حرارت های بین ۱۵ تا ۴۰ درجه سانتیگراد و تحمل شوری های مختلف از ۰/۵ تا ۴۵ قسمت در هزار باعث گردیده که در حال حاضر بعنوان اولین گونه از نظر میزان تولید در آسیا شناخته شود (Briggs *et al.*, 2004). با توجه به گستردگی صنعت پرورش میگو در ایران و جدید بودن گونه وارداتی، انجام پاره ای از آزمایشات به خصوص در زمینه بهبود جیره های غذایی ضروری به‌نظر می‌رسد. پربیوتیک ها جزء کربوهیدراتهای غیرقابل جذب بوده که باعث تحریک رشد و متابولیسم باکتری های مفید موجود در روده می‌شوند. این عمل به طبع سبب افزایش سرعت رشد (بهبود متابولیسم تغذیه) و سلامتی میزبان می گردد (Mahious and Ollevier, 2005). ایده بکارگیری پر بیوتیک در آبزی پروری از آنجا ناشی شده که اینولین و الیگو فروکتوز به صورت گزینشی توسط بفیدوباکترها، لاکتوباسیلوسها، باسیلوس ها و باکتروئیدها که جزء باکتری های غالب فلور دستگاه گوارش هستند، تخمیر شده و سبب تحریک رشد این باکتری های مفید در روده موجود زنده می شوند و درنتیجه اثرات سودمندی بر سلامتی میزبان دارند (Mahious and Ollevier, 2005). از بین کل پربیوتیک‌های آزمایش شده، فروکتون های نوع اینولین بیش از همه مورد بررسی قرار گرفته اند. اینولین یک کربوهیدرات گیاهی همو پلی ساکاریدی است که دارای فیبر محلول بوده و از گیاهان مختلفی نظیر سیر، پیاز، سیب زمینی ترشی، تره فرنگی، گندم، موز، گل کوکب و کاسنی با درجه پلیمریزاسیون متفاوت بدست می‌آید (Roberfroid, 1993). ساختار منحصر به فرد اینولین، باندهای-β 2,1 می باشد که این اتصالات مانع از این می‌شوند که اینولین همانند سایر کربوهیدراتها در روده کوچک هضم، تجزیه و جذب شود ولی توسط باکتریهای مفید در روده، تخمیر شده و مورد مصرف قرار می‌گیرند (Lopez-Molina *et al.*, 2005). در مدل های انسانی تاثیرات مثبت اینولین بر تحریک رشد و بهبود باکتریهای میکروفلور روده‌ای، متابولیسم چربی و کربوهیدرات، افزایش جذب مواد معدنی، افزایش ایمنی سلولی و تولید ترکیبات غذایی مانند ویتامین های گروه ب به اثبات رسیده است (Manning and Gibson, 2004). با وجود اثرات مفیدی که برای پربیوتیک در نظر گرفته شده است، تحقیقات در این زمینه هنوز در آغاز راه خود قرار داشته و تنها تعداد محدودی تحقیق در زمینه اثر پربیوتیک در آبزیان انجام شده است (Mahious *et al.*, 2005). لذا با توجه به اثرات بسیار متنوع اینولین روی موجودات و عدم شناخت کامل عملکرد آن در تغذیه میگوها، شاید با بکار بردن آن در جیره میگوی وانامی سبب بهبود تغذیه و متابولیسم آن شده و بتوان موجب تغییرات رفتاری و فیزیولوژیکی میگو در مواجه با مشکلات را فراهم ساخت.

۲. مواد و روشها

آزمایش در ایستگاه تحقیقات شیلات بوشهر (در شهر دلوار) انجام شد. میگوهای وانامی با میانگین وزنی ۰/۰۳ ± ۳/۲۱ گرم از مزرعه پرورشی در دلوار تهیه شدند. ۶ مخزن مدور پلی اتیلن ۳۰۰ لیتری (قطر کف ۷۰ سانتیمتر و قطر سقف ۸۰ سانتیمتر × ارتفاع ۶۰ سانتیمتر) برای آزمایش در نظر گرفته شد. قبل از ذخیره سازی، تانکها بوسیله هیپو کلریت سدیم کاملاً ضدعفونی، سپس با آب شستشو داده شدند و سپس ۲۵ عدد میگو در هر تانک توزیع شد. هر یک از مخازن با ۲۰۰ لیتر آب پر شده و روزانه ۵۰٪ آب آن از طریق سیفون جهت برداشت مدفوع و دیگر مواد

باقیمانده تعویض می‌شد. جهت هوادهی و تامین اکسیژن به هر یک از مخازن ۱ عدد سنگ هوا که به منبع هواده متصل بود نصب گردید. آزمایش در یک سالن سرپوشیده با دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی به مدت ۵ هفته انجام شد. اندازه گیری عوامل کیفی آب، همچون دمای آب و میزان شوری در ساعات ۱۰ الی ۱۱ و pH به صورت هفتگی انجام گرفت. در کل دوره آزمایش میزان دمای آب c ° ۳۵-۳۱، میزان شوری ۴۳-۴۱ و pH آب ۸/۴-۸/۲ در نوسان بود.

تغذیه و زیست سنجی میگوها

میگوها بعد از انتقال از مزرعه پرورشی به ایستگاه تحقیقاتی شیلات دلوار، به منظور سازگاری به مدت یک هفته با جیره کنترل تغذیه شدند. بعد از مرحله سازگاری در ابتدای آزمایش زیست سنجی میگوها انجام شد. سپس پربیوتیک اینولین در سطح ۲ درصد به جیره کنترل اضافه شد (Li and Gatlin, 2004; Li *et al.*, 2005; Mahious *et al.*, 2005; Burr *et al.*, 2006). پربیوتیک مورد استفاده در این آزمایش عصاره کاسنی[1] است که شکل استاندارد اینولین استخراج شده از ریشه گیاه کاسنی می‌باشد. این ماده از شرکت BNP، کشور چین تهیه گردید (جدول ۱). تیمار دوم گروه شاهد بود که هیچگونه مکملی به آن اضافه نشد. آزمایش برای هرتیمار در ۳ تکرار در نظر گرفته شد. از نرم‌افزار (Copy right 1999, release 6.1, USA) Lindo در تهیه جیرها آزمایشی هم‌ازت و هم انرژی استفاده شد (Halver, 1976) (جدول ۲). غذادهی روزانه در ۵ وعده در ساعات ۸، ۱۲، ۱۶، ۲۰ و ۲۴ انجام شد. مدفوع و دیگر مواد باقیمانده هر روز صبح از مخازن سیفون شده و آب نیز قبل از غذادهی تعویض گردید. تعداد حبه های خوراک[2] خورده نشده به طور تقریبی شمارش شده و وزن خشک همان تعداد حبه به عنوان مقدار غذای خورده نشده محاسبه گشت. کلیه مراحل ساخت غذا در آزمایشگاه شیلات دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی نور انجام شد. زیست سنجی میگوها یک بار در اول دوره و بار دیگر در انتهای دوره (بعد از ۵ هفته) انجام گرفت.

جدول ۱. مشخصات پربیوتیک مورد استفاده

نام محصول	عصاره کاسنی
نام علمی	*Helianthus tuberosus*
ماده فعال	*اینولین*
ساخت	*چین*
درصد اینولین	۹۱/۲
درصد گلوکز و فروکتوز	۰/۰۵
درصد ساکارز	۱/۳۸

تعیین ترکیب اسیدهای چرب عضله

نمونه چربی میگو (مخلوطی از ۳ میگو برای هر تیمار) با کلروفرم/ متانول استخراج شد (Folch *et al.*, 1957) و اسیدهای چرب با BF_3 در متانول متیله شدند. اسیدهای چرب متیل استر بوسیله n-هگزان استخراج شدند (Metcalfe *et al.*, 1966). برای بررسی و شناسایی اسیدهای چرب موجود در نمونه از دستگاه گازکروماتوگراف varian (GC) مدل CP-3800 (ساخت کشور هلند) مجهز به ستون کاپیلاری از نوع (60 m×0.25 mm SGE BPX70) و آشکار ساز نوع FID[3] استفاده گردید. در این روش از گاز هلیم (با خلوص ۹۹/۹۹۹۹٪) به عنوان گاز حامل و گاز هیدروژن به عنوان سوخت، ازت (با خلوص ۹۹/۹۹۹۹٪) به عنوان گاز کمکی و هوای خشک استفاده شد. با مقایسه زمانهای خروج هر اسید چرب نمونه با زمان‌های خروج اسیدهای چرب استاندارد و همچنین مقایسه سطح زیر منحنی نمودارها رسم شده، تک‌تک اسیدهای چرب شناسایی و مقدار آن محاسبه شد. مقادیر اسید چرب به صورت درصد سطح زیر پیک از کل بیان شد (Firestone, 1998).

[1]. Chicory extract
[2]. Pellet
[3]. Flame ionization detector

جدول۲. ترکیب جیره های ساخته شده برای بچه میگوهای وانامی

اجزای تشکیل دهنده (٪)	جیره پایه	جیره حاوی ۲٪ اینولین
پودر ماهی[۵]	۳۵	۳۵
پودر میگو[۵]	۱۵	۱۵
دکسترین[۲]	۳۳/۰۵	۳۳/۰۵
روغن ماهی[۱]	۳	۳
روغن سویا [۳]	۳	۳
مکمل معدنی[۴]••	۲	۲
مکمل ویتامینی[۴]•	۲	۲
کلسترول [۴]	۰/۵	۰/۵
ضد قارچ[۳]	۰/۲۳	۰/۲۳
دی کلسیم فسفات[۶]	۱	۱
سلولز[۲]	۲/۴۵	۰/۴۵
آنتی اکسیدان[۶]	۰/۰۲	۰/۰۲
بایندر[۵]	۲	۲
لستین[۴]	۰/۷۵	۰/۷۵
پربیوتیک اینولین[۷]	۰	۲
جمع	۱۰۰	۱۰۰

تجزیه تقریبی (٪)

پروتئین	۳۳/۴۲
چربی	۱۰/۰۳
رطوبت	۵/۳۲
خاکستر	۹/۱۱
کربوهیدرات	۴۲/۱۲
انرژی قابل هضم (Kcal/Kg)	۳۹۲۴/۳

۱- تهیه شده درشرکت پارس کیلکا. ۲- ساخت شرکت مرک آلمان. ۳- تهیه شده ازکارخانه خوراک دام آبزیان ساری. ۴- تهیه شده در شرکت کیمیا رشد. ۵- تهیه شده از کارخانه هوواش ۶- تهیه شده از شرکت گرماب شیمی. ۷- ساخت شرکت BNP (چین)

• - هر۵ کیلوگرم مکمل ویتامین ۰/۵٪ حاوی ویتامین های:A=8000000IU، D3=2000000IU، E=150g، K3=50g ،B1=50 ،B2=40g ،B3=150g ،B5=200g ،B6=80g ،B9=15g ،B12=0/05g ، H=1/5g ، C=500g ، BHT=100g ، اینوزیتول=۵۰۰گرم، کریر=تا ۵ کیلوگرم می باشد.

•• - هر کیلوگرم مکمل معدنی حاوی مواد معدنی کمیابی شامل: آهن(۲۰ گرم)، روی(۶۰ گرم)، سلنیم(۴۰۰ میلی گرم)، کبالت(۲۰۰ میلی گرم)، مس(۲ گرم)، منگنز(۴۰ گرم)، ید(۴۰۰ میلی گرم)، کولین کلراید(۶۰ گرم)، کریر(تا ۱ کیلوگرم) می باشد.

تجزیه و تحلیل رشد

برای بررسی رشد میگو ها و مقایسه بین تیمار ها از شاخص های رشد استفاده شد که با استفاده از فرمولهای زیر محاسبه گردید (Goytortua-Bores, 2006).

میانگین وزن اولیه(گرم) - میانگین وزن ثانویه(گرم) =افزایش وزن بدن
افزایش وزن بدن(گرم) / مقدار غذای خورده شده(گرم) = ضریب تبدیل غذایی
۱۰۰ × میانگین وزن اولیه(گرم)/میانگین وزن اولیه(گرم) - میانگین وزن ثانویه(گرم) = %افزایش وزن بدن
{ زمان/ (لگاریتم طبیعی میانگین وزن اولیه-لگاریتم طبیعی میانگین وزن نهایی)}× ۱۰۰= ضریب رشدویژه
(تعداد میگوهای انتهای دوره/تعداد میگوهای ابتدای دوره)×۱۰۰= درصد بقاء
پروتئین مصرفی(گرم) /وزن تر تولید شده(گرم) = نرخ بازده پروتئین
(روزهای پرورش/$^{0.5}$(وزن نهایی میگو×وزن اولیه میگو))/(کل غذای مصرفی برای یک میگو)× ۱۰۰=غذای مصرفی روزانه

بافت شناسی کلاسیک

در پایان دوره تعداد ۳ میگو از هر تیمار با وزن و طول یکسان انتخاب و به مدت ۲۴ ساعت در محلول دیویدسون فیکس شدند. پس از آن چندین مرتبه با الکل اتانول ۷۰٪ مورد شستشو قرار گرفتند، سپس نمونه ها توسط الکل اتانول های ۹۵٪ و۱۰۰٪ و نهایتاً توسط الکل بوتانول آبگیری شدند. نمونه ها پس از قرار گیری به مدت ۳ ساعت در گزیلن به منظور پارافینه کردن، در داخل آون در پارافین مایع قرار داده شدند و پس از آن توسط پارافین مرک[1] قالب گیری شدند. از بافت ها برش هایی به ضخامت ۴ میکرومتر توسط میکروتوم تهیه شد. لامها پس از نگهداری در داخل آون در دمای ^{o}C ۳۷ و پس از آن پارافین زدایی توسط گزیلن به روش هماتوکسیلین-فوشین رنگ آمیزی شده و توسط میکروسکوپ نوری Micros مورد مطالعه و عکسبرداری قرار گرفتند (Khodabandeh *et al.*, 2006). حدود ۸۰ عدد لام که بر روی هر کدام حدود ۱۵ مقطع بافتی از روده قرار گرفته بود (بطور تقریبی حدود ۱۲۰۰ مقطع بافتی برای شاهد و همین مقدار برای تیمار) انتخاب شد و با استفاده از میکروسکوپ نوری با بزرگ نمایی ۱۰۰۰ اقدام به تهیه عکس از آنها شد. سپس با استفاده از نرم افزار Image Tools (2.0)، میانگین طولی سلولهای اپیتلیال بندهای اول، دوم و سوم شکمی به طور جداگانه مورد سنجش قرار گرفت (Mortoja and Mortoja-Pierson, 1967).

تجزیه و تحلیل آماری داده ها

تجزیه وتحلیل داده ها ومقایسه میانگین ها با آزمون T-test در سطح ۵ درصد انجام شد و از نرم افزار آماری Spss برای آنالیز داده هااستفاده گردید.

۳. نتایج

شاخص های رشد

جدول ۳ نتایج مربوط به مقایسه میانگین شاخص‌های رشد میگوی وانامی درگروه شاهد و تیمار ۲ درصد اینولین را نشان می‌دهد. نتایج مشخص نمود که افزودن اینولین به ترکیب غذایی میگوی وانامی

1. Merck

تاثیر معنی‌داری بر شاخص های رشد نداشته است (P>۰/۰۵) و تنها باعث افزایش معنی داری در میزان غذای مصرفی روزانه شده است (P<۰/۰۵).

ترکیب اسید های چرب عضله

در خصوص ترکیب اسید های چرب عضله، افزودن اینولین سبب افزایش معنی‌داری در میزان اسیدهای چرب ۲۰:۳n۳ در مقایسه با گروه شاهد شد (P<۰/۰۵) ولی تغییر معنی‌داری در بقیه اسیدهای چرب حاصل نشد (جدول۴) (P>۰/۰۵).

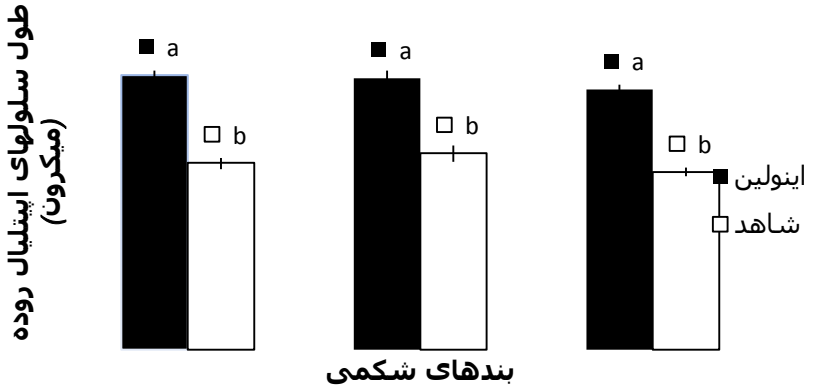
طول سلولهای اپیتلیال روده میگوی وانامی

در هر سه بند شکمی، طول سلولهای اپیتلیال روده در تیمار اینولین نسبت به گروه شاهد افزایش یافت که این افزایش در هر سه بند شکمی معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). طول سلولهای اپیتلیال روده در بندهای اول، دوم و سوم شکمی به ترتیب ۴۹/۹۲، ۳۷,۱۶ و ۳۵,۵۵ درصد افزایش نشان داد (نمودار ۱).

جدول۳. نتایج شاخص های رشد میگوهای وانامی تغذیه شده با جیره شاهد و جیره حاوی اینولین

شاخص رشد/ تیمار	*صفر(٪)*	**۲ (٪)**
متوسط وزن اولیه (g)	*۳/۲۱±۰/۰۳*	**۳/۱۹±۰/۰۲**
متوسط وزن ثانویه(g)	۵/۲۱±۰/۱۰	۵/۲۳±۰/۰۳
افزایش وزن بدن (g)	۲/۰۰±۰/۰۷	۲/۰۴±۰/۰۲
غذای مصرفی روزانه (٪وزن بدن در روز)	۳/۹۱±۰/۰۰^{b}	۴/۰۴±۰/۰۲^{a}
افزایش وزن بدن (٪)	۶۲/۲۳±۱/۷۷	۶۳/۸۸±۰/۹۳
ضریب تبدیل غذایی (FCR)	۲/۸۰±۰/۰۸	۲/۸۴±۰/۰۴
ضریب رشد ویژه (SGR)	۱/۳۸±۰/۰۳	۱/۴۱±۰/۰۱
درصد بقا	۹۳/۳۳±۲/۳۰	۹۷/۳۳±۲/۳۰
نرخ بازده پروتئین٪ (PER)	۱/۰۶±۰/۰۳	۱/۰۵±۰/۰۱

میانگین± SD ۳ تکرار، نبودن حروف در هر ردیف نشانه عدم اختلاف معنی دار است (P>۰/۰۵)



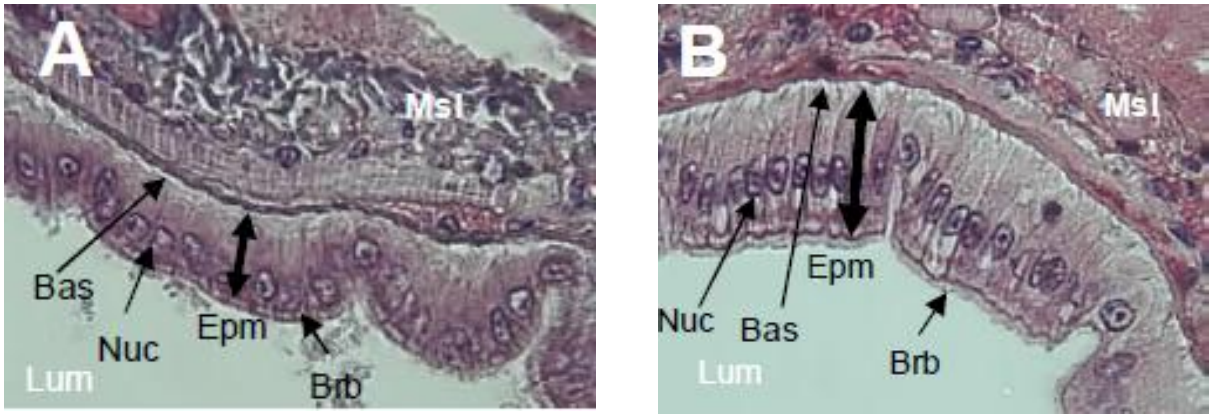
نمودار۱. افزایش رشد سلولهای اپیتلیال روده در میگوهای وانامی تغذیه شده با جیره شاهد و جیره حاوی اینولین. حروف لاتین غیر یکسان در راس ستونها بیانگر وجود اختلاف معنی دار (P <۰/۰۵)، بین بندهای مختلف شکمی میگوی وانامی می باشد.

جدول ۴. اسید های چرب بافت عضله میگوهای وانامی تغذیه شده با جیره شاهد و جیره حاوی اینولین و میزان اسیدهای چرب غذا

اسیدهای چرب (٪)	صفر(٪)	۲ (٪)	جیره پایه
C14	۰/۹۰±۰/۵۰	۰/۷۱±۰/۲۷	۲/۳۹
C16	۲۰/۲۰±۱/۱۵	۱۶/۳۱±۴/۶۰	۱۶/۷۴
C18	۱۲/۲۰±۱/۵۸	۱۱/۱۴±۳/۴۹	۴/۴۴
C20	۰/۳۳±۰/۰۶	۰/۳۳±۰/۱۴	۰/۲۶
SFA	۳۳/۶۳±۹/۵۷	۲۸/۴۹±۷/۹۱	۲۳/۸۳
C14:1n-5	ND	ND	۰/۱۷
C16: 1n-7	۱/۳۵±۰/۱۱	۱/۰۳±۰/۳۵	۳/۱۹
C18: 1n-7	۲/۶۶±۰/۰۶	۱/۶۷±۰/۷۸	۲/۷۲
C18: 1n-9	۱۴/۴۷±۱/۰۰	۱۲/۷۲±۳/۹۰	۲۴/۸۴
C20: 1n-9	۱/۲۳±۰/۰۷	۱/۰۵±۰/۳۱	۲/۰۷
MUFA	۱۹/۷۱±۶/۳۹	۱۶/۴۷±۵/۷۴	۳۲/۹۹
C18:3n-3	۰/۸۰±۰/۲۱	۰/۵۵±۰/۱۸	۳/۵۶
C18:2n-6	۱۰/۱۸±۱/۴۸	۹/۳۳±۲/۵۷	۲۳/۸۷
C20:3n-3	۰/۳۴±۰/۰۳[b]	۲/۴۷±۰/۴۰[a]	ND
C20:2n-6	۰/۵۸±۰/۰۵	۰/۴۷±۰/۱۳	۰/۱۹
C20:4n-6	ND	ND	ND
C20:5n-(EPA)	۷/۷۹±۲/۱۵	۷/۴۶±۱/۸۱	۲/۳۶
C22:6n-(DHA)	۵/۴۳±۰/۹۴	۵/۹۲±۱/۹۴	۳/۳۶
PUFA	۲۵/۱۲±۴/۲۳	۲۶/۲۰±۳/۷۴	۳۳/۳۴
n-3	۱۴/۳۶±۳/۶۲	۱۶/۴۰±۳/۱۵	۹/۲۸
n-6	۱۰/۷۶±۶/۷۸	۹/۸۰±۶/۲۶	۲۴/۰۶
n-3/n-6	۱/۳۳	۱/۶۷	۰/۳۸
EPA+DHA	۱۳/۲۲±۱/۶۶	۱۳/۳۸±۱/۰۸	۵/۷۲
TOTAL	۷۸/۴۶±۶/۴۰	۷۱/۱۶±۵/۴۰	۹۰/۱۶

میانگین± SD ۳ تکرار، نبودن حروف در هر ردیف نشانه عدم اختلاف معنی دار است *(P>۰/۰۵)*

ND مقدار بسیار ناچیز و غیر قابل تعیین



شکل ۱. برش عرضی از سلولهای اپیتلیوم (Epm) و بافتهای وابسته به آن در روده میانی میگوی تغذیه شده با (A) جیره شاهد و (B) جیره حاوی ۲ درصد اینولین. Brb: حاشیه مسواکی؛ Lum: لومن؛ Nuc: هستک؛ Bas: غشای پایه؛ Msl: ماهیچه؛ با استفاده از نرم افزار Image Tools (2.0) میانگین طول سلول های اپیتلیال روده (فلش تیره) مورد سنجش قرار گرفت. بزرگنمایی ۲۴۰۰، رنگ آمیزی هماتوکسیلین- فوشین، فیکساتور دیویدسون.n= 1200 .

۴. بحث و نتیجه گیری

بطور کلی اطلاعات در ارتباط با تاثیرات پربیوتیک در آبزی پروری بسیار محدود می‌باشد. در ارتباط با تاثیر پربیوتیک بر رشد، مشخص شده است که در برخی تحقیقات اثر مثبت بر آبزیان داشته و در برخی دیگر بی تاثیر بوده است، و حتی گزارشاتی مبنی بر تاثیر منفی آن بر رشد نیز وجود دارد. Mahious و همکاران (۲۰۰۵) تاثیر اینولین، raftilin ST و الیگو فروکتوز، Raftilose P95 و لاکتو سوکروز را به عنوان پربیوتیک برروی رشد و فلور باکتریایی روده در لارو ماهی کفشک مطالعه نمودند. در این تحقیق لارو ماهی توربوت با جیره های آزمایشی در سطح ۲ درصد از پربیوتیک های مذکور و گروه شاهد مورد تغذیه قرار گرفتند. میانگین وزن نهایی و ضریب رشد ویژه در گروه تغذیه شده با الیگو فروکتوز نسبت به سایر گروهها بالاتر بود (P<۰/۰۵). ولی تفاوت معنی-داری بین گروه شاهد و گروه تغذیه شده با اینولین ۲ درصد مشاهده نگردید که با نتایج این مطالعه مطابقت داشت. Chotikachinda و همکاران (۲۰۰۸) تاثیر الیگوساکارید جیره را روی میگوهای وانامی با میانگین وزنی ۷/۱۵ گرم به مدت ۴ هفته در سه سطح (۰، ۱ و ۲ گرم بر کیلوگرم) مورد بررسی قرار دادند اما تاثیر معنی‌داری در وزن نهایی، میزان بقا، ضریب رشد ویژه، نرخ بازده پروتئین و ضریب تبدیل غذایی مشاهده نکردند. اکرمی (۱۳۸۷) فیل ماهی-های جوان به وزن ۱۶/۱۴ گرم را به مدت ۸ هفته با اینولین (رافتیلین ST) در ۳ سطح ۱، ۲ و ۳ درصد، مورد تغذیه قرار داد و مشاهده کرد که در مقایسه با تیمار شاهد، تیمارهای آزمایشی اینولین از وزن نهایی و درصد وزن بدست آمده کمتری برخوردار هستند *(P<۰/۰۵)*. نتایج بدست آمده در بررسی حاضر مبین این موضوع است که جایگزینی ۲ درصد اینولین در جیره میگوی وانامی قابلیت تاثیرگذاری بر افزایش عملکرد رشد میگوی پرورشی نداشته است. دلایل اصلی چگونگی تاثیر پربیوتیک ها بر رشد تا کنون مشخص نشده است. Shim (۲۰۰۵) بیان کرد که فاکتورهایی مثل درجه پلیمریزاسیون وساختار مولکولی الیگوفروکتوزها، میزان پلی ساکارید غیر نشاسته ای در جیره، دوز الیگوساکاریدها مورد استفاده، شرایط نگهداری و بهداشت موجود، ممکن است بر تاثیرات متفاوت پربیوتیک روی رشد موثر باشد. علت عدم تاثیر معنی‌دار اینولین بر شاخص‌های رشد در این تحقیق می‌تواند به نوع اینولین، درجه

پلیمریزاسیون بالا و یا حتی نوع گونه و میکروفلورهای متشکله در روده آن باشد.

تولید اسیدهای چرب زنجیره کوتاه نظیر استات، پروپیونات و بوتیرات از تخمیر اینولین و الیگوفروکتوز و اثرات مثبت الیگوساکاریدهای غیرقابل هضم در متابولیسم چربی در بخش انتهایی روده بزرگ انسان به اثبات رسیده است (Schley and Field, 2002). از طرفی تغییرات غلظت کلسترول در سرم با تغییرات میکروفلور روده‌ای مرتبط می‌باشد چراکه بعضی از لاکتوباسیلوس‌ها قادر به جذب کلسترول از دیواره روده بوده در حالیکه بعضی مانع جذب کلسترول ازاین طریق می‌شوند (Pereira and Gibson, 2002). Kok و همکاران (۱۹۹۶) نشان دادند که اضافه کردن الیگوفروکتوز به عنوان فیبر در جیره موشها، سبب کاهش غلظت، و رهاسازی تری اسیل گلیسرول با چگالی پایین (VLDL-TAG) از کبد می‌شود. کاهش سنتز تری گلیسرید کبد نتیجه کاهش میزان لیپوژنیک بوده که آن نیز در ارتباط با کاهش فعالیت Fatty acid synthase، آخرین آنزیم کلیدی در مسیر لیپوژنیک می‌باشد (Kok *et al.*, 1996). Delzenne و Roberfroid (۱۹۹۴) فرض کردند که چنین تغییراتی در پارامترهای لیپید نتیجه آداپتاسیون متابولیکی کبد می‌باشد که ممکن است از طریق اسیدهای چرب زنجیره کوتاه تحت تاثیر قرار گیرد. همچنین تولید اسیدکربوکسیلیک زنجیره کوتاه در روده بزرگ موجودات تغذیه شده با الیگوفروکتوز باعث افزایش میزان استات و پروپیونات شد (Delzenne and Roberfroid, 1994). پروبیونات در شرایط آزمایشگاهی یک بازدارنده سنتز اسید چرب بوده (Lin *et al.*, 1995) در حالی که استات یک ماده لیپوژنیک محسوب می‌شود (Delzenne and Kok, 2001). در تحقیق حاضر با تغذیه میگوهای وانامی به مدت ۵ هفته با پربیوتیک اینولین، میزان اسیدهای چرب ۲۰:۳n۳ افزایش معنی‌داری یافت که نشان دهنده تاثیر مثبت اینولین بر متابولیسم چربی‌ها است. متاسفانه با توجه به تجهیزات موجود در ارتباط با سنجش اسیدهای چرب، امکان سنجش اسیدهای چرب کوتاه زنجیر ممکن نبود ولی با توجه به مطالبی که در بالا گفتیم شاید با سنجش این اسیدهای چرب تاثیر اینولین پررنگ تر می‌شد.

همچنین این امکان وجود دارد که تاثیر اینولین بر افزایش اسیدهای چرب کوتاه زنجیر باعث هیپرپلازی موکوس و افزایش ضخامت دیواره روده شود (Remesy *et al.*, 1992). فعالیت های باکتریایی و ساختار شیمیایی (درجه پلیمریزاسیون) سوبستراها باعث ایجاد اختلاف در میزان تخمیر می‌شود. تولید اسیدهای چرب آزاد که به عنوان محصول نهایی تخمیر بوده و توسط فلور میکروبی ایجاد می‌شود ممکن است برای بهداشت و بهبود دستگاه گوارش مناسب باشد (shim, 2005). در این میان اسیدهای چرب کوتاه زنجیر منفرد که در روده تولید می‌شوند دارای نقش ویژه ای هستند. بطور مثال، استیک اسید به عنوان منبع انرژی برای بافت ماهیچه است و پروپیونیک اسید نقش سوبسترا را برای سلولهای اپیتلیال دارد. همچنین بوتیرات روی تکثیر و تمایز سلولهای موکوسی نقش دارد (shim, 2005). بطور کلی عمق کریپت‌ها[1] و تراکم سلولها و ارتباط بین این دو بعنوان پارامتری جهت مطالعه تکثیر سلولهای اپیتلیال بکار می‌رود. متاسفانه در این رابطه تحقیقی در آبزیان صورت نگرفته که بتوان داده‌های این مقاله را با آن مقایسه کرد. تنها در تحقیقی روی نوزاد انسان نشان داد که اضافه کردن گالاکتوالیگوساکارید به تنهایی و همراه با پروبیوتیک (سیم بیوتیک) symbiotic به غذا باعث افزایش معنی‌دار تکثیر کریپت‌ها می‌شود (Perez-Conesa *et al.*, 2002)

در مطالعه حاضر، پربیوتیک اینولین بر رشد میگوی وانامی تاثیر معنی‌داری به جای نگذاشت. البته در مواقعی دیده شده که اینولین و یا دیگر مواد افزودنی بر شاخص‌های رشد تاثیر معنی‌دار نداشته ولی بر برخی شاخص‌های دیگر مثل فلور باکتریایی,

1. Crypt

ایمنی و غیره تاثیر می‌گذارند که این به نوبه خود در مواقع خاصی مثل بروز استرسها یا بیماری‌ها می‌تواند موثر باشد (Mahious *et al*., 2005، اکرمی، ۱۳۸۷). در تحقیق حاضر نیز مشخص گردید که اینولین تاثیرات مثبتی بر پروفیل اسیدهای چرب و همچنین طول سلولهای اپیتلیال روده دارد که این خود می-تواند تاثیر مثبتی بر فیزیولوژی موجود داشته باشد. با اینحال از آنجا که برای اولین بار گزارش می‌گردد لازم است مطالعات تکمیلی در خصوص اثرات همه جانبه آن انجام پذیرد.

تشکر وقدردانی

از مدیریت و کارکنان محترم ایستگاه تحقیقاتی شیلات دلوار به ویژه آقای مهندس عباس تمیمی و مهندس عبدالرضا بازیاری که در فراهم کردن امکانات این تحقیق نهایت همکاری را مبذول داشتند تقدیر و تشکر می شود.

منابع

اکرمی، ر. ۱۳۸۷. تاثیر اینولین به عنوان پربیوتیک بر رشد، بازماندگی و فلور باکتریایی دستگاه گوارش فیل ماهی جوان (*Huso huso*). رساله دکترای شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات. ۱۱۰ ص.

Briggs, M., Funge-Smite, S., Subasinghe, R. and Phillips, M. 2004. Introductions and movement of *Penaeus vannamei* and *Penaeus stylirostris* in Asia and Pacific. FAO, RAP Publication. Thailand. Pp. 20-45.

Burr, G., Hume, M., Ricke, S. and Gatlin, D. M. 2006. Evaluation of Grobiotic-A, Brewer yeast and Fructo-oligosaccharide as Prebiotics for the red drum *Sciaenops ocellatus*. Aquaculture America 2006 - Meeting Abstract.

Chotikachinda, R., Lapjatupon, W., Chaisilapasung, S. and Sangsue, D. 2008. Effect of mannanoligosaccharides (MOS) on growth performance, survival rate and some immune parameters in pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*.world aquaculture conference. Busan, Korea. 131.

Delzenne, N. M. and Roberfroid, M. R. 1994. Physiological effects of non-digestible oligosaccharides. Lebensmittel-Wissenschaft und-echnolo-gie, 27, 1–6.

Delzenne, N. M and Kok, N. 2001. Effects of fructans-type prebiotics on lipid metabolism. Am J Clin Nutr. 73: 456S–8S.

Firestone, D. 1998. Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists Society, Vol. I–II (5 ed.) (Method 1–62). Champaign: AOCS.

Folch, J., Lees, M. and Sloane-Stanley, C.H. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. J. Biochim Chemistry.226: 477-509.

Goytortua-Bores, E., Civera-Cerecedo, R., Rocha-Meza, S. and Green-Yee, A. 2006. Partial replacement of red crab (*Pleuroncodes planipes*) meal for fish meal in practical diets for the white shrimp *Litopenaeus vannamei*. Effects on growth and in vivo digestibility. Aquacul. 256:414–422

Halver, J. E. 1976. The Nutritional requirements of cultivated warm water and cold water fish species. Paper no31, Fao Tech. Conf. In Aquaculture. Kyoto, May 26- June2. 9pp.

Khodabandeh, S., Charmantier, G. and Charmantier-Daures, M. 2006. Immunolocalization of Na^+, K^+-ATPase in osmoregulatory organs during the embryonic ans post-embryonic development of the lobster *Homarus gammarus*. J. Crusta. biology. 26 (4): 515-523.

Kok, N., Roberfroid, M. and Delzenne, N. 1996. Involvement of Lipogenesis in the lower VLDL secretion induced by oligofructose in rats. Br .J. Nutr. 76: 881-890.

Li, P., Delbert, M. and Gatlin, D. M. 2005. Evaluation of the prebiotic Grobiotic™ AE and brewers yeast as dietary supplements for sub-adult hybrid striped bass (*Morone chrysops* × *M. saxatilis*) challenged in situ with *Mycobacterium marinum*. Aquacult. 248: 197-205.

Li, P. and Gatlin, D. M. 2004. Dietary brewers 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. Aquacult. 231: 445-456.

Lin, Y., Vonk, R. J. And Sloof, M. J. 1995. Differences in propionate-induced inhibition

Pereira, D. I. A. and Gibson, G. R. 2002. Effects of consumption of probiotics and prebiotics on serum lipid levels in humans. des Sciences Pharmaceutiques, Avenue E. Mournier 73, UCL/BCTC, B-1200 Bruxelles, Belgium.

Perez-Conesa, D., Lopez, G., Ros, G., Abellan, P., Haro, J. F. and Periago, M. J. 2002. Galactooligosaccharides (GOS) as ingredient in infant formulas have stimulatory effects on epithelial colonic cell in rats. Ninth seminar on inulin. Budapest, Hungary. April 18-19, 2002.

Remesy, C., Behr, S. R., Levrat, M., Demigne, C. 1992. Fiber fermentability in the rat cecum and its physiological consequences. Nut. Res. 12:1235.

Roberfroid, M. B. 1993. Dietary fiber, inulin, and oligofructose-A review comparing their physiological effects. Crit Rev Food Sci Nutr. 33: 103-148.

Schley, P.D. and Field, C. J. 2002. The immune-enhancing effects of dietary fibers and prebiotics. Br .J. Nutr. 87: 224230.

Shim, S. B. 2005. Effects of prebiotics, probiotics and synbiotics in the diet of young pigs. Eur. j. nutr.44: 293-302.

Varsamos, S. 2002. Tolerance Range and Osmoregulation in Hypersaline Conditions in the European Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*). J. Mar. Biol. Assoc. U. K. 82: 1047-1048.

of cholesterol and triacylglycerol synthesis between human and rat hepatocytes in primary culture. Br .J. Nutr. 74: 197-207.

Lopez-Molina, D., Navarro-Martinez, M. D. Melagrejo, F. R., Hiner, A. N. P., Chazarra, S. and Rodriguez-Lopez, J. N. 2005. Molecular properties and prebiotic effect of inulin obtained from artichock (*Cynara scolymus* L.). J. phytochemistry. 66: 1476- 1484.

Metcalfe, L. D., Schmitz, A. A. and Pelka, J. R. 1966. Rapid preparation of fatty acids esters from lipids for gas chromatographic analysis. Annals of Chemistry. 38: 524–535.

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). Aquacult Int. 14: 219–229.

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, Urmia, Iran. P : 17-26.

Manning, T. S. and Gibson, G. R. 2004. Prebiotics. Best Pract Res Clin Gastroenterol. 18: 287–298.

Mortoja, R., and Mortoja – Pierson, M. 1967: Initiation Aux Techniques de l histologe animale. Masson et Cie, Paris, 345.