بهره‌برداری و پرورش آبزیان
جلد سوم، شماره سوم، پاییز ۱۳۹۳
http://japu.gau.ac.ir

بررسی مقایسه‌ای اثرات سطوح مختلف فروکتوالیگوساکارید و پربیوتیک مخمری بر ترکیب میکروبیوتای روده‌ای فیل‌ماهی (*Huso huso*) جوان

* سیدحسین حسینی‌فر[۱] و زینب حسین‌نیا[۲]
[۱]استادیار گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
[۲]دانشجوی کارشناسی ارشد گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱۰/۷ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۱۰/۲۱

چکیده

هدف از این مطالعه بررسی اثرات سطوح مختلف دو نوع پربیوتیک فروکتوالیگوساکارید و پربیوتیک مخمری بر ترکیب میکروبیوتای روده‌ای فیل ماهی (*Huso huso*) جوان بود. این پژوهش در قالب یک طرح کاملا تصادفی انجام شد که شامل تغذیه فیل ماهی‌های جوان با جیره‌های غذایی حاوی ۱ و ۲ درصد پربیوتیک مخمری و ۱ و ۲ درصد فروکتوالیگوساکارید به همراه یک گروه شاهد (۵ تیمار و ۳ تکرار) بود. بچه فیل ماهی‌ها با تراکم ۳۵ قطعه و میانگین وزنی (۰/۵۶±۱۱/٤۰ گرم) در حوضچه‌های فایبرگلاس ذخیره‌سازی و به مدت ٦ هفته با جیره‌های آزمایشی حاوی سطوح مختلف پربیوتیک مخمری و فروکتوالیگوساکارید تغذیه شدند. در انتهای دوره، میکروبیوتای روده‌ای (تعداد باکتری‌های زیست‌پذیر، تعداد باکتری‌های اسید لاکتیک و نسبت آن‌ها) از طریق روش مبتنی بر کشت بررسی شد. نتایج این مطالعه بیانگر آن بود که بکارگیری این دو نوع پربیوتیک هیچ‌گونه اثر معنی‌داری بر تعداد کل باکتری‌های زیست‌پذیر در مقایسه با تیمار شاهد نشان نداد ($P>0/05$). بیشترین میزان افزایش تعداد باکتری‌های اسید لاکتیک در تیمار ۲ درصد مخمر و ۲ درصد فروکتوالیگوساکارید مشاهده شد که باتیمار شاهد اختلاف معنی‌داری نشان دادند ($P<0/05$). نسبت باکتری‌های اسیدلاکتیک به تعداد کل باکتری‌های زیست‌پذیر، در تمامی تیمارهای فروکتوالیگوساکاریدی و مخمری

*مسئول مکاتبه: hoseinifar@gau.ac.ir

در طی دوره پرورش افزایش معنی‌دار نشان داد (P<۰/۰۵) و بیشترین میزان در تیمار ۲درصد فروکتوالیگوساکارید مشاهده گردید.

واژه‌های کلیدی: پربیوتیک مخمری، فروکتوالیگوساکارید، میکروبیوتای روده‌ای، باکتری‌های اسیدلاکتیک، فیل ماهی

مقدمه

طیف گسترده‌ای از میکروب‌هایی که در محیط‌های آبی، خاکی، رسوبات و غذا یافت می‌شوند در دستگاه گوارش ماهیان نیز متمرکز شده و تشکیل میکروبیوتای روده‌ای را می‌دهند. اگرچه حضور باکتری‌های بومی در دستگاه گوارش ماهیان شناخته شده است، اما اطلاعات محدودی در زمینه جوامع میکروبی، استقرار، تنوع و مهمتر از همه امکان تغییر آن به سمت جوامع باکتریایی مفید وجود دارد (نایاک، ۲۰۱۰). ثبات جمعیت باکتریایی از آن جهت حائز اهمیت می‌باشد که روده ماهیان جایگاه مهمی از نقطه نظر بروز عفونت‌های میکروبی و بیماری ماهیان به‌شمار می‌آید، بویژه زمانی که استفاده از واکسیناسیون وجود نداشته باشد (بیرکبک و رینگو، ۲۰۰۵). همانند مهره‌داران عالی‌تر میکروبیوتای روده‌ای ماهی می‌بایستی به شرایط متفاوتی از قبیل ترکیبات غذایی، pH، شرایط بی‌هوازی، غلظت نمک‌های صفراوی و آنزیم‌های گوارشی سیستم ایمنی میزبان و تاثیرات متقابل جمعیت باکتریایی روده سازگار شود (هانسن و اولافسن، ۱۹۹۹). تعداد نرمال جمعیت باکتری در روده ماهیان $۱۰^{۸}$ باکتری هتروتروفیک هوازی در گرم و تقریبا $۱۰^{۵}$ باکتری غیرهوازی در گرم می‌باشد (رینگو و همکاران، ۱۹۹۵).

در سال‌های اخیر استفاده از پربیوتیک‌ها در جیره غذایی آبزیان جهت تغییر در میکروبیوتای روده‌ای آبزیان و سوق دادن آن به سمت جوامع باکتریایی بالقوه مفید از اهمیت ویژه‌ای برخوردار شده است. پربیوتیک‌ها، ترکیبات غذایی غیر قابل هضمی هستند که باعث تحریک رشد و تکثیر یک یا تعداد محدودی از باکتری‌های روده شده و به‌این ترتیب سلامت میزبان را بهبود بخشیده (کالین و گیبسون، ۱۹۹۹) و در ارتقای رشد و سیستم ایمنی ماهی تأثیر به‌سزایی دارند (مری فیلد و همکاران، ۲۰۱۰؛ اسچلی و فیلد، ۲۰۰۲). در واقع این ترکیبات توسط باکتری‌های مفید تخمیر شده و بستر مناسبی را برای رشد و افزایش تعداد این دسته از باکتری‌ها در میکروبیوتای روده‌ای فراهم می‌کنند (مارتیو و فلوری، ۲۰۰۱). مهمترین محصول حاصل از تخمیر پربیوتیک‌ها، اسیدهای چرب

زنجیره‌ی کوتاه هستند (ماهیوس و الیور، ۲۰۰۵) که از طریق اپیتلیوم روده جذب شده و به‌عنوان منبع انرژی مهم برای میزبان، سبب تقویت انتروسیت‌ها و بهبود جذب مواد غذایی می‌شوند. نتایج امید بخشی از تأثیر مثبت پربیوتیک‌ها بر شاخص‌های رشد و بازماندگی گونه‌های مختلف آبزیان بدست آمده است (رینگو و همکاران، ۲۰۱٤).

ماهیان خاویاری از جمله ماهیان ارزشمند از نظر اقتصادی هستندکه امروزه به دلیل صید غیرمجاز، آلوده شدن محیط زیست و از بین رفتن زیستگاه‌های تکثیر درمعرض خطر انقراض قراردارند (کارمونا و همکاران، ۲۰۰۹). پرورش ماهیان خاویاری تا سن بازاری جهت تولیدگوشت و خاویار به دلیل اهمیت آن درکاهش فشار به ذخایرطبیعی مورد توجه بوده و توسعه یافته است (پورکاظمی، ۱۹۹۷). فیل ماهی یکی ازگونه‌های ماهیان خاویاری است که به دلیل رشد سریع، سازگاری با شرایط پرورشی و ارزش خاویارگزینه مناسبی برای پرورش می‌باشد (محسنی و همکاران، ۲۰۰۸). علی‌رغم گزارش‌های منتشر شده در زمینه اثرات پربیوتیک‌ها بر میکروبیوتای روده‌ای و افزایش تعداد باکتری‌های مفید، تا امروز اطلاعات محدودی در زمینه پتانسیل ایجاد تغییر در میکروبیوتای روده ای فیل‌ماهی جوان گزارش شده است. بنابراین مطالعه حاضر با هدف تعیین پتانسیل تغییر میکروبیوتای روده‌ای فیل‌ماهی جوان و سوق دادن آن به سمت جوامع بالقوه مفید با استفاده از دو نوع پربیوتیک در جیره غذایی صورت پذیرفت.

مواد و روش‌ها

این مطالعه در ایستگاه تحقیقات شیلاتی قره‌سو وابسته به موسسه تحقیقات شیلات ایران به مدت ٦ هفته انجام شد. بچه فیل ماهی‌ها با میانگین وزنی ۰/٥٦±۱۱/٤۰ گرم از کارگاه شهید مرجانی تامین و پس از سازگاری اولیه به تعداد ۳۵ قطعه در حوضچه‌های فایبرگلاس ۳۵۰ لیتری ذخیره‌سازی شدند. جهت تامین اکسیژن مورد نیاز بچه ماهی‌ها هوادهی تانک‌ها به طور مداوم با استفاده از سنگ‌های هوای متصل به پمپ هواده مرکزی صورت پذیرفت. این بررسی در قالب یک طرح کاملا تصادفی انجام شد و در این مدت بچه‌ماهی‌ها با سطوح مختلف (۱ و ۲ درصد) دو نوع پربیوتیک فروکتوالیگوساکارید و پربیوتیک مخمری (مخمر *Saccharomyces cerevisiae* var. *ellipsoideus* غیرفعال) تغذیه شدند. مواد استفاده شده جهت تهیه جیره پایه فرموله شده شامل آرد ماهی، آرد گندم، آرد سویا، روغن ماهی، روغن سویا، مکمل‌های معدنی – ویتامینی و دیگر افزودنی‌ها بود (جدول ۱). برای تهیه جیره‌ها، ابتدا مواد اولیه خشک به همراه سطوح مختلف پربیوتیک‌ها توزین شده و به مدت ۳۰ دقیقه

مخلوط گردیدند. پس از مخلوط شدن مواد اولیه مایع اضافه شده و مخلوط کردن به مدت ۱۵ دقیقه انجام شد. سپس خمیر حاصله با استفاده از یک چرخ گوشت با قطر ۳ میلی‌متر به رشته‌های بلند تبدیل شده و پس از خشک شدن در اندازه مناسب (قطر ۳ میلی‌متر) به صورت پلت تهیه گردید. پس از آن جیره‌ها در بسته‌بندی‌های مناسب تا زمان مصرف در یخچال (٤ درجه سانتی‌گراد) نگهداری شد. در طول دوره آزمایش بچه فیل ماهی‌ها تا حد سیری و روزانه ٤ بار با جیره‌های آزمایش تغذیه شدند (سوداگر و حسینی‌فر، ۲۰۰۵).

به منظور بررسی تغییرات ایجاد شده در ترکیب میکروبیوتای بومی در روده بچه فیل ماهی، تعداد باکتری‌های اسید لاکتیک، تعداد کل باکتری‌های زیست‌پذیر و همچنین نسبت باکتری‌های اسید لاکتیک به کل باکتری‌ها در اثر تغذیه با سطوح مختلف دو نوع پربیوتیک، در ابتدای دوره و همچنین انتهای دوره به طور تصادفی نمونه‌برداری از ماهیان انجام شد. در ابتدای دوره تعداد ۱۵ قطعه بچه ماهی و در انتهای دوره تعداد ۳ ماهی از هر تکرار به‌طور تصادفی انتخاب شدند. پس از انتقال به آزمایشگاه بچه فیل ماهی‌ها با وارد نمودن ضربه فیزیکی به ناحیه سر کشته شده و سپس با آب استریل شستشو داده شدند. بچه‌ماهی‌ها، ٦۰ ثانیه در محلول بنزالکونیوم کلراید ۰/۱ درصد شسته شده و پس از شستشو با آب استریل، آب نمونه‌ها بطور کامل گرفته شد (اولسن و همکاران، ۲۰۰۱). که این عمل، سبب از بین رفتن کامل باکتری‌های سطح خارجی بدن آنها می‌شود. تا جهت بدست آوردن اثرات احتمالی پربیوتیک مخمری بر جوامع باکتریایی میکروبیوتای روده‌ای و شمارش تعداد باکتری‌های اسیدلاکتیک و نیز تعداد کل باکتری‌های زیست‌پذیر در روده بچه‌ماهی‌ها از بروز خطای احتمالی کاسته شود.

پس از ضدعفونی کردن و شستشو با آب مقطر، نمونه‌ها با تیغ اسکالپل استریل، کالبدگشایی شده و روده آنها خارج شد. نمونه‌های روده پس از تخلیه کامل محتویات، توزین و به منظور هموژن نمودن به هاون‌های چینی استریل منتقل گردید. پس از هموژن نمودن نمونه‌های روده با استفاده از محلول نمکی استریل (۰/۸۷NaCl w/v درصد) رقت‌های 10^{-1} تا 10^{-7} تهیه گردید. از رقت‌های تهیه شده، تحت شرایط کاملا ضدعفونی حجمی معادل ۰/۱ میلی‌لیتر برداشته شد و به محیط‌های کشت پلیت کانت آگار یا PCA (به منظور تعیین تعداد کل باکتری‌های موجود در میکروبیوتای روده) و محیط کشت DeMan, Rogosa and Sharpe یا MRS (جهت تعیین تعداد باکتری‌های اسید لاکتیک) منتقل و در سطح پلیت پخش شدند (ماهیوس و همکاران، ۲۰۰٦؛ رنجپیپات و همکاران، ۱۹۹۸). پس از انجام عمل کشت، انکوباسیون پلیت‌ها به‌مدت ۵ روز در دمای اتاق و در شرایط هوازی صورت

پذیرفت (ماهیوس و همکاران، ۲۰۰٦). بعد از سپری شدن زمان انکوباسیون، باکتری‌های هر پلیت بر حسب لگاریتم واحد کلنی (CFU) در گرم وزن روده براساس مشخصات فنوتیپی شناسایی و شمارش شدند (پیتر و اسنیز، ۱۹۸٦).

جدول ۱- اجزا و ترکیب شیمیایی تقریبی جیره‌های پایه مورد استفاده

اجزای جیره	شاهد
پودر ماهی	٥۹/۲٥
آرد گندم	۲۱
روغن ماهی	٦
روغن سویا	٦
مکمل معدنی	۳
مکمل ویتامینی	۲
همبند	۲
مخمر	۰
آنتی‌اکسیدانت	۰/٥
ضدقارچ	۰/۲٥
پروتیئن خام	٤۳/۷۱
چربی خام	۱۸/۸٦
خاکستر	۹/٤٤
رطوبت	۹/۱۰

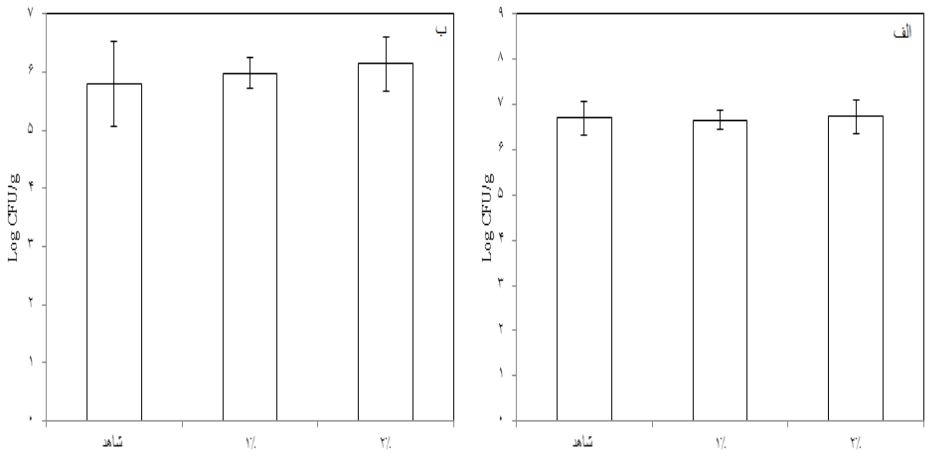
با توجه به اهمیت فراسنجه‌های کیفی آب در پرورش ماهی، علاوه بر دقت کافی در خصوص نظافت محل نگهداری بچه ماهی‌ها و کنترل کمیت آب ورودی، فاکتورهای کیفی آب شامل دمای آب (با استفاده از دستگاه WTW ساخت کشور آلمان)، اکسیژن محلول (با استفاده از Oximeter, oxi320/set wtw)، پی- اچ آب (با استفاده از pH 323- B/setl-wtw.Best-Nr100745)، هدایت الکتریکی و شوری (با استفاده از دستگاه Cond 330i/set wtw) به صورت روزانه اندازه‌گیری و ثبت شدند.

تجزیه تحلیل آماری: برای مقایسه بین تیمارها و نیز وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در

سطح احتمال (P<۰/۰۵) از آنالیز واریانس یک طرفه ANOVA و آزمون چند دامنه‌ای دانکن (Duncan's multiple-range test) استفاده گردید (زار، ۱۹۹٤). داده‌های درصدی پیش از انجام آنالیزها به صورت آرک سینوس (Arc sin) در آورده شدند کلیه آنالیزهای آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS (ویرایش ۱۳) و ترسیم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel 2007 در محیط ویندوز انجام شد.

نتایج

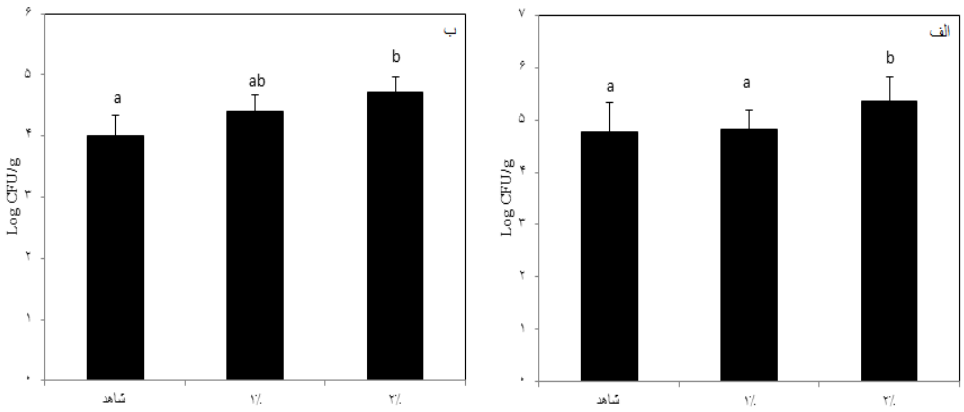
نتایج بررسی میکروبیوتای روده‌ای: در ابتدای دوره تعداد کل باکتری‌های زیست‌پذیر میکروبیوتای روده و تعداد باکتری‌های اسیدلاکتیک به‌ترتیب ۰/۷۳±٤/۹۲ و ۰/۱۹±۳/٦۸ واحد کلنی بر گرم وزن روده بود. مقادیر تعداد کل باکتری‌های زیست‌پذیر در فیل ماهی‌های تغذیه شده با سطوح مختلف پربیوتیک مخمری و فروکتوالیگوساکارید در شکل ۱ نشان داده شده است. تعداد کل باکتری‌های زیست‌پذیر میکروبیوتای روده‌ای در تمامی تیمارهای تغذیه شده با پربیوتیک در طی دوره پرورش افزایش داشت اما تفاوت معنی‌داری بین این تیمارها و نیز بین این تیمارها و گروه شاهد مشاهده نشد (P>۰/۰۵) (شکل ۱).



شکل ۱- اثرات مقادیر مختلف پربیوتیک‌ها فروکتوالیگوساکارید (الف) و پربیوتیک مخمری (ب) بر تعداد کل باکتری‌های زیست‌پذیر[1] (برحسب لگاریتم واحد کلنی در گرم وزن روده) در میکروبیوتای روده‌ای بچه فیل ماهی. ستون‌ها (SD± میانگین) با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار هستند (P<۰/۰۵)

1- Total viable counts

بررسی تعداد باکتری‌های اسیدلاکتیک در میکروبیوتای روده‌ای بچه فیل ماهی‌های تغذیه شده با جیره حاوی فروکتوالیگوساکارید در انتهای دوره نشان داد افزودن ۲ درصد فروکتوالیگوساکارید به جیره به طور معنی‌داری سبب افزایش آنها در مقایسه با تیمار ۱ درصد و شاهد می‌شود ($P<۰/۰۵$) (شکل ۲)، همچنین در ماهی‌های تغذیه شده با جیره‌های حاوی ۱ و ۲ درصد پربیوتیک مخمری افزایش تعداد باکتری‌های اسیدلاکتیک مشاهده شد اما اختلاف معنی‌داری بین این دو تیمار و همچنین تیمار ۱ درصد و شاهد مشاهده نگردید ($P>۰/۰۵$)، در حالی‌که اختلاف معنی‌داری بین تیمار تغذیه شده با ۲ درصد پربیوتیک مخمری و شاهد مشاهده شد ($P<۰/۰۵$). بررسی نسبت (درصد) باکتری‌های اسیدلاکتیک به تعداد کل باکتری‌های زیست‌پذیر، نشان داد که در تمامی تیمارهای تغذیه شده با پربیوتیک این نسبت افزایش یافت و از این لحاظ بین تمامی تیمارها پربیوتیکی و شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده شد ($P<۰/۰۵$) (جدول ۲). بیشتری میزان افزایش نسبت باکتری‌های اسیدلاکتیک به تعداد کل باکتری‌های زیست‌پذیر در تیمار تغذیه شده با ۲ درصد فروکتوالیگوساکارید مشاهده گردید که اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها داشت.



شکل ۲- اثرات مقادیر مختلف پربیوتیک‌های فروکتوالیگوساکارید (الف) و پربیوتیک مخمری (ب) بر تعداد باکتری‌های اسیدلاکتیک (برحسب لگاریتم واحد کلنی در گرم وزن روده) در میکروبیوتای روده‌ای بچه فیل ماهی. ستون‌ها (±SD میانگین) با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار هستند ($P<۰/۰۵$)

فاکتورهای کیفی آب: با توجه به وجود شرایط یکسان در تمامی حوضچه‌های فایبرگلاس و جریان

دائم آب ورودی تفاوت چندانی بین واحدهای آزمایشی از نظر فاکتورهای کیفی آب نبود. مقادیر اکسیژن محلول به طور متوسط در طول دوره پرورش ۵/۷۳±۰/٤ میلی‌گرم در لیتر؛ دمای آب ۲٤/۳۸±۰/۵۷ درجه سانتی‌گراد؛ pH آب ۷/۹۷±۰/۰٦؛ قابلیت هدایت‌الکتریکی آب ٤/۸۹±۰/۰۱ میلی‌موس بر سانتی‌متر؛ شوری آب ۲/٦ گرم بر لیتر در نوسان بود.

جدول ۲- نسبت (درصد) باکتری‌های اسیدلاکتیک به تعداد کل باکتری‌های زیست‌پذیر[1] میکروبیوتای روده‌ای بچه فیل ماهی در اثر تغذیه با سطوح مختلف فروکتوالیگوساکارید و پربیوتیک مخمری

		شاهد	۱ درصد	۲ درصد
نسبت LAB به TVC	فروکتوالیگوساکارید	$1/55\pm0/34^{a}$	$2/53\pm0/84^{b}$	$5/42\pm1/21^{c}$
	پربیوتیک مخمری	$1/51\pm0/35^{a}$	$2/60\pm0/72^{b}$	$3/80\pm0/95^{c}$

ردیف‌ها (SD± میانگین) با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار هستند (P<۰/۰۵).

بحث

پربیوتیک‌ها از طریق بهبود فلور باکتریایی روده، آثار زیان‌بار عوامل عفونت‌زا را کاهش و میزان بازماندگی در مواجهه با عوامل بیماری‌زا را افزایش می‌دهند (اسچلی و فیلد، ۲۰۰۲). فلور باکتریایی روده‌ی ماهی شامل مجموعه پیچیده‌ای از انواع باکتری‌های هوازی، بی‌هوازی اختیاری و بی‌هوازی اجباری می‌باشد. باکتر ی‌های موجود در میکروبیوتای روده ای به شکل بومی (indigenous) یا موقت و گذرا (transit) هستند (اولسن و همکاران، ۲۰۰۱). باکتری‌های اسید لاکتیک از جمله باکتری‌های مفید روده‌ای هستند که امروزه اهمیت بسیاری زیادی در به کارگیری به عنوان پروبیوتیک یا پربیوتیک دارند (رینگو و گاتسوپ، ۱۹۹۸). تولید اسیدهای چرب زنجیره کوتاه نظیر استات، پروپیونات، بوتیرات و اسیدلاکتیک ناشی از تخمیر پربیوتیک، منجر به کاهش pH روده می‌شود که شرایط مناسب برای رشد باکتری‌های اسیدلاکتیک را فراهم می‌کند (اسچلی و فیلد، ۲۰۰۲). با وجود اینکه حضور باکتری‌های اسید لاکتیک در روده بسیاری از ماهیان از جمله ماهی کاد اقیانوس اطلس، ماهی آزاد اقیانوس اطلس، قزل آلای رنگین کمان، فیل ماهی، قره برون و چار قطبی ثابت شده است اما این باکتری‌ها جزء فلور غالب روده نیستند (رینگو و گاتسوپ، ۱۹۹۸؛ سوگیتا و همکاران، ۱۹۹۸؛

1- Total viable counts

عسکریان و همکاران، ۲۰۰۷؛ حقی و همکاران، ۲۰۰٤). افزایش تعداد باکتری‌های اسیدلاکتیک در روده از طریق به‌کارگیری موادی که خاصیت پربیوتیکی دارند اثرات سودمندی را به دنبال خواهد داشت (پورامینی و حسینی‌فر، ۲۰۰۹). نتایج این مطالعه نشان داد بکارگیری فروکتوالیگوساکارید و پربیوتیک مخمری اثر معنی‌داری بر تعداد کل باکتریهای زیست‌پذیر در میکروبیوتای روده‌ای بچه فیل ماهی ندارد. این در حالیست که تعداد باکتری‌های اسیدلاکتیک در انتهای دوره در میکروبیوتای روده‌ای بچه فیل ماهی‌های تغذیه شده با پربیوتیک مخمری و الیگوفروکتوز ۲ درصد به‌طور معنی‌داری بیشتر از تیمار شاهد بود. نتایج مشابهی در مطالعه سطوح مختلف اینولین بر میکروفلور روده بچه فیل ماهی بدست آمده است (اکرمی و همکاران، ۲۰۱۳). البته در مطالعه مذکور بیشترین سطح باکتری‌های اسیدلاکتیک در میکروبیوتای روده‌ای مربوط به تیمار اینولین ۱ درصد بود و با افزایش سطح اینولین در جیره، جمعیت لاکتوباسیلوس‌های روده دچار کاهش شد. هم‌راستا با یافته‌های مطالعه حاضر بکارگیری سطوح مختلف پربیوتیک‌ها مانان الیگوساکارید و فروکتو الیگوساکارید به‌طور معنی‌داری سبب افزایش تعداد باکتری‌های اسیدلاکتیک در میکروبیوتای روده‌ای فیل ماهی و ازون برون گردید (اکرمی و همکاران، ۲۰۱۳؛ رازقی منصور و همکاران، ۲۰۱۲). درحالی‌که لی و همکاران (۲۰۰۷) گزارش کردند که سطوح مختلف پربیوتیک فروکتوالیگوساکارید که اثر مشخصی بر میکروبیوتای روده میگوی پاسفید غربی (*Litopenaeus vannamei*) ندارد. نتایج مطالعه حاضر نیز منطبق بر نتایج مطالعات فوق‌الذکر می‌باشد و باکتری‌های اسید لاکتیک میکروفلور دستگاه گوارش فیل‌ماهی توانستند (در تیمار پربیوتیک فروکتوالیگوساکارید ۲ درصد و ۱ درصد) به‌خوبی فروکتوالیگوساکارید را تخمیر نموده و افزایش تعداد و غالبیت پیدا کنند. اختلاف نتایج مطالعه حاضر با برخی از مطالعات پیشین احتمالا ناشی از نوع گونه، میزان پربیوتیک مورد استفاده و نحوه بکارگیری است. همچنین این بررسی افزایش معنی‌دار تعداد باکتریهای اسیدلاکتیک در میکروبیوتای روده‌ای را به موازات افزایش سطح بکارگیری مخمر در جیره نشان می‌دهد که نتایج مشابهی در اثر استفاده از مخمر نانوایی بر میکروبیوتای روده‌ای تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) گزارش شده است (عبدل تواب و همکاران، ۲۰۰۸). به‌طورکلی پربیوتیک فروکتوالیگوساکارید کارایی بیشتری در مقایسه با پربیوتیک مخمری در زمینه افزایش تعداد و نسبت باکتری‌های اسیدلاکتیک نشانداد. افزایش تعداد باکتری‌های اسیدلاکتیک پس از بکارگیری مخمر ساکارومایسیس سرویزیه غیرفعال و فروکتوالیگوساکارید احتمالاً در نتیجه تامین مواد غذایی مورد نیاز این باکتری‌های

مفید روده‌ای می‌باشد. باکتری‌های اسیدلاکتیک قادر به تولید آنزیم‌های تجزیه کننده خارج سلولی نیستند بنابراین آن‌ها برای رشد وابسته به میکروارگانیزم دیگری هستند تا بر مولکول‌های پیچیده عمل کرده و مواد غذایی خاصی را برای آنها فراهم کنند (رینگو و گاتسوپ، ۱۹۹۸). درصورتی‌که مواد غذایی مورد نیاز برای باکتری‌های اسیدلاکتیک فراهم شود، آنها به سرعت رشد یافته و تعداد آنها افزایش می‌یابد که چنین روندی در مطالعه حاضر نیز مشاهده شده است.

در مجموع نتایج این مطالعه بیانگر آن است فروکتوالیگوساکارید و پربیوتیک مخمری در سطح ۲ درصد کارایی بالایی در تغییر ترکیب میکروبیوتای روده‌ای و افزایش تعداد و نسبت باکتری‌های اسیدلاکتیک دارد که دارای اثرات پروبیوتیکی هستند. براساس نتایج بدست آمده پربیوتیک فروکتوالیگوساکارید کارایی بیشتری جهت افزایش تعداد باکتری‌های اسید لاکتیک دارد. از این رو استفاده از سطح ۲ درصد از هریک از این پربیوتیک‌ها می‌توانند به عنوان مکمل مناسبی برای جیره غذایی فیل ماهی جهت افزایش سطوح باکتری‌های مفید مدنظر قرار گیرد.

منابع

1. Abdel-Tawwab, M., Abdel-Rahman, A.M. and Ismael, N. 2008. Evaluation of commercial live baker's yeast, *Saccharomyces cerevisiae* as a growth and immunity promoter for fry Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) challenged in situ with *Aeromonas hydrophila*. Aquaculture. 280: 185-189.
2. Akrami, R. 2010. The effects of prebiotic on growth and intestinal microflora of beluga juvenile (Huso huso). PhD thesis, Islamic Azad University Science and research branch of Tehran, 100 p. (in Persian)
3. Akrami, R., Iri, Y., Rostami, H.K. and Razeghi Mansour, M. 2013. Effect of dietary supplementation of fructooligosaccharide (FOS) on growth performance, survival, lactobacillus bacterial population and hemato-immunological parameters of stellate sturgeon (*Acipenser stellatus*) juvenile. Fish and Shellfish Immunology. 35: 1235-1239.
4. Askarian, F., Kousha, A., Shenavar, A., Ringe, E., Bahmani, M., Khorshidi, K. and Matinfar, A. 2007. Isolation of lactic acid bacteria as probiotic from gastrointestinal tracts of Beluga (*Huso huso*) and Persian sturgeon (*Acipenser persicus*). Proceeding of International Training Course on fish Nutrition and disease, 5 September, Ghaemshahr, Iran, 27p.
5. Birkbeck, T.H. and Ringo, E. 2005. Pathogenesis and gastrointestinal tract of growing fish. In: Holzapfel, W., Naughton, P (Eds.): Microbial Ecology in Growing Animals. Elsevier, Edinburgh, UK, Pp: 208-234.
6. Carmona, R., Domezain, A., Garcia-Gallego, M., Antonio Hernando, J., Rodriguez,

F. and Ruiz-Rejon, M. 2009. Biology, Conservation and Sustainable Development of Sturgeons. Springer publication, 467p.
7. Collins, M.D. and Gibson, G.R. 1999. Probiotics, prebiotics, and synbiotics: approaches for modulating the microbial ecology of the gut. American Society for Clinical Nutrition. 69(5): 1052-1057.
8. Hagi, T., Tanaka, D., Iwamura, Y. and Hoshino, T. 2004. Diversity and seasonal change in lactic acid bacteria in the intestinal tract of cultured freshwater fish. Aquaculture. 234: 335-346.
9. Hansen, G.H. and Olafsen, J.A. 1999. Bacterial Interactions in early life stages of marine Cold water Fish. Microbial Ecology, 38(1): 1-26.
10. Li, P., Burr, G., Gatlin, D., Hume, M.E., Patnaik, S., Castile, F.L. and Lawrence, A.L. 2007. Dietary supplementations of short-chain fructooligosaccharides influences gastrointestinal microbiota composition and immunity characteristics of pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei,* cultured in a recirculating system. American Society for Nutrition. 137(12): 2763-2768.
11. Mahious, A. and Ollevier, F. 2005. Probiotics and Prebiotics in Aquaculture: Review.Workshop on Techniques for Enrichment of live food for use in larviculture, Urmia, Iran. Pp: 17-26.
12. 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* (Linnaeus, C. 1758). Aquaculture. 14(3): 219-229.
13. Marteau, P. and Flourie, B. 2001. Tolerance to low-digestible carbohydrates: symptomatology and methods. British Journal of Nutrition 85: S17-S21.
14. Merrifield, D.L., Dimitroglou, A., Foey, A., Davies, S.J., Baker, R.T.M. and Bøgwald, J. 2010. The current status and future focus of probiotic and prebiotic applications for salmonids. Aquaculture 302: 1-18.
15. Mohseni, M., Ozorio, R.O.A., Pourkazemi, M. and Bai, S.C. 2008. Effects of dietary L-carnitine supplements on growth and body in beluga sturgeon (*Huso huso*) juveniles. Journal of Applied Ichthyology. 24: 646-649.
16. Nayak, S.K. 2010. Role of gastrointestinal microbiota in fish. Aquaculture Research. 41(11): 1553-1573.
17. 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.). Aquaculture Research. 32: 931-934.
18. Peter, H. and Sneath, A. 1986. Bergeys manual of systematic Bacteriology. 2:1104-1154.
19. Pooramini, M., Hoseinifar. S.H., 2009. Application of probiotics and prebiotic in aquaculture, Green wave publication, Tehran, 120 pages. (In Persian)
20. Pourkazemi, M. 1997. The survey status of sturgeon fishes and their conservation in the Caspian Sea. Iranian Journal Fisheries Science. 3: 13-22.

21. Razeghi Mansour, M., Akrami, R., Ghobadi, S.H., Amani Denji, K., Ezatrahimi, N. and Gharaei, A. 2012. Effect of dietary mannan oligosaccharide (MOS) on growth performance, survival, body composition, and some hematological parameters in giant sturgeon juvenile (*Huso huso* Linnaeus, 1754). Fish Physiology and Biochemistry. 38: 829-835.
22. 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.
23. Ringø, E. and Gatesoupe, F.J. 1998. Lactic acid bacteria in fish: a review. Aquaculture 160: 177-203.
24. Ringø, E., Dimitroglou, A., Hoseinifar, S.H. and Davies, S.J. 2014. Prebiotics in finfish: an update In Aquaculture Nutrition: Gut Health, Probiotics and Prebiotics (Ringø, E. & Merrifield, D. eds.), pp. 416 Wiley-Blackwell.
25. Ringø, E., Strom, E. and Tabachek, J.A. 1995. Intestinal microflora of salmonids: a review. Aquaculture Research. 26: 773-789.
26. Schley, P. and Field, C. 2002. The immune enhancing effects of dietary fibers and prebiotics. British Journal of Nutrition. 87(2): 221-230.
27. Sudagar, M. and Hoseinifar, S.H. 2005. The use of Optimun in diet of grand sturgeon *Huso huso* fry and its effects on growth factors and survival rate. Proceedings of the 5th international symposium on sturgeons, Ramsar, Iran, 9-13 may, 93p.
28. Sudagar, M., Azari Takami, Gh., Panomariov, S., Abedian kenari, A., Hosseini, S.A. 2009. The effects of different levels of betaine and methionine as attractant on growth performance and survival of beluga juvenile (*Huso huso*). Iranian Journal of Fisheries Science, 14(2): 41-50. (In Persian)
29. Sugita, H., Hirose, Y., Matsuo, N. and Deguchi, Y. 1998. Production of the antibacterial substance by *Bacillus* sp. strain NM12, an intestinal bacterium of Japanese coastal fish. Aquaculture. 165: 269-280.
30. Zar, J.H. 1994. Biostatistical Analysis. Prentice-Hall, New Jersey, 662p.