

تأثیر پریبیوتیک فرمکتو بر عملکرد رشد، فلور باکتریایی و مورفولوژی روده در ماهی قزل آلاهی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

- نصرالله محبوبی صوفیانی: گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان
- ابراهیم متقی*: گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان
- امین نعمت الهی: دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، صندوق پستی: ۱۱۵

تاریخ دریافت: بهمن ۱۳۹۴ تاریخ پذیرش: اردیبهشت ۱۳۹۵

چکیده

پریبیوتیک‌ها مواد غذایی غیر قابل هضمی هستند که از طریق تحریک رشد و فعالیت باکتری‌های موجود در روده اثرات سودمندی بر سلامتی میزبان دارند. علاوه بر این، گزارش‌های موجود اثر مثبت این افزودنی‌های جیره را بر عملکرد رشد نیز نشان داده است. تحقیق حاضر به منظور آگاهی از اثرات کاربرد مکمل پریبیوتیکی فرمکتو بر عملکرد رشد، میکروفلور روده و ساختار روده در جیره ماهی قزل آلاهی رنگین کمان انجام گرفت. تعداد ۱۶۲ قطعه ماهی انگشت‌قد قزل آلاهی رنگین کمان با میانگین وزنی $19/06 \pm 1/83$ گرم تحت ۳ جیره آزمایشی شامل ۳ سطح پریبیوتیک فرمکتو (صفر، ۱ و ۲ گرم در کیلوگرم غذا) در سه تکرار مورد استفاده قرار گرفت. تعداد ۱۸ قطعه ماهی در هر مخزن (مجموعاً ۹ مخزن) به مدت ۱۰ هفته با جیره‌های آزمایشی تغذیه شدند. افزودن فرمکتو به‌طور معنی‌داری ($p < 0/05$) شاخص‌های رشد مانند رشد ویژه و میزان افزایش وزن را کاهش و ضریب تبدیل غذایی را افزایش داد. استفاده از مکمل‌های فرمکتو سبب تغییر در جمعیت کل باکتری‌های روده شد ($p < 0/05$). بافت پوششی روده نیز به‌طور معنی‌دار ($p < 0/05$) تحت تاثیر استفاده از فرمکتو قرار گرفت. کاربرد فرمکتو سبب کاهش طول پرزهای روده شد و کم‌ترین طول پرزهای روده در سطح ۲ گرم فرمکتو مشاهده گردید. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که فرمکتو علی‌رغم تأثیر قابل ملاحظه بر فلور و مورفولوژی روده، بر عملکرد رشد تأثیر چندانی نداشت.

کلمات کلیدی: پریبیوتیک، فرمکتو، قزل آلاهی رنگین کمان، میکروفلور روده



مقدمه

جمعیت لاکتوباسیلوس‌های دستگاه گوارش و نیز میزان پروتئین لاشه موثر می‌باشد (محمدیان و همکاران، ۱۳۹۴). این ترکیب در حیوانات تک معده‌ای با بهبود مواد مغذی و همچنین وجود فیبر در میسلایوم قارچ که سبب ازدیاد باکتری‌های روده می‌شود میزان قابلیت هضم را افزایش می‌دهد (Glenn و Roberfroid، ۱۹۹۵).

به‌علت اهمیت ماهی قزل‌آلدر آبی پروری ایران، سیاست افزایش تولید آن و همچنین خصوصیات اثبات شده ترکیبات پریبیوتیک، در پژوهش حاضر تأثیر استفاده از سطوح مختلف این مواد در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، بر عملکرد رشد، بافت‌شناسی روده و میکروفلور روده‌ای ماهی مورد بررسی و ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

تأمین بچه ماهی و معرفی آن‌ها به محیط آزمایشی: این بررسی در یک سیستم طراحی شده در یک مزرعه خصوصی در شهر اصفهان به مدت ۱۰ هفته انجام گرفت. گله‌ای از ماهیان انگشت‌قد قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) از یک مزرعه خصوصی واقع در استان چهارمحال و بختیاری تهیه گردید. این ماهیان به مدت ۲۰ روز با شرایط مجموعه پرورشی سازگار و با جیره تجاری FFT شرکت رشدانه (بدون پریبیوتیک) تغذیه شدند. پس از سازگاری، تعداد ۱۶۲ قطعه ماهی سالم (از نظر ظاهری) با میانگین وزنی حدود $1/83 \pm 19/06$ گرم به‌صورت انفرادی توزین و به ۹ مخزن پلاستیکی ۱۰۰ لیتری منتقل گردیدند. در این آزمایش از آب یک‌بار استفاده می‌شد و به هیچ عنوان آب خروجی هر وان با آب ورودی در تماس نبوده است. سپس به مدت ۱۰ هفته با ۳ جیره آزمایشی حاوی مقادیر مختلف پریبیوتیک فرمکتو تغذیه شدند. پریبیوتیک فرمکتو محصول شرکت PetAg آمریکا شامل ۱۲٪ پروتئین، ۱/۱٪ چربی، ۴۵٪ فیبر و ۳٪ خاکستر است.

تهیه غذا: جهت تهیه جیره‌های آزمایشی از جیره FFT شرکت رشدانه استفاده شد. با استفاده از روش استاندارد (AOAC، ۲۰۰۲)، درصد رطوبت (خشک‌کردن با آون)، خاکستر (روش سوزاندن)، پروتئین (تعیین نیتروژن کل به روش کج‌لدال) و چربی (حل کردن چربی در اتر و تعیین مقدار آن به روش سوکسله) در جیره غذایی تعیین گردید (جدول ۱). سه جیره آزمایشی با سه سطح صفر، یک و دو گرم پریبیوتیک به‌ازای هر کیلوگرم جیره تهیه شد.

فلور باکتریایی روده: با پایان ده هفته آزمایش برای بررسی فلور باکتریایی روده از هر واحد آزمایش چهار قطعه ماهی بی‌هوش شد. بلافاصله پس از خارج نمودن روده از بدن ماهی،

علی‌رغم پیشرفت‌های انسان در زمینه‌های مختلف علمی و همچنین رشد سریع جمعیت طی قرون متمادی هنوز مسائل و مشکلات فراوانی زندگی بشر را تهدید می‌نماید. در این بین تغذیه و تأمین غذای سالم و کافی از بدو خلقت تاکنون مهم‌ترین مسئله حیاتی انسان بوده است. آبی پروری که بخش اساسی و در حال رشد صنعت کشاورزی را در سرتاسر دنیا تشکیل می‌دهد، یکی از منابع مهم تأمین پروتئین مورد نیاز جامعه بشری می‌باشد (ابراهیمی و بیرق‌دار، ۱۳۸۵). در حال حاضر پرورش ماهی در اکثر کشورهای جهان متداول و در حال توسعه است. در ایران نیز امکانات وسیعی در زمینه تکثیر و پرورش آبزیان وجود دارد. به موازات افزایش آگاهی از ارزش غذایی و بهداشتی ماهی انتظار می‌رود که در آینده تقاضا برای مصرف آن افزایش یابد. در شرایط کنونی که مزارع پرورش ماهی در حال گسترش می‌باشند، شناخت و استفاده از توانایی‌های موجود در زمینه پرورش ماهیان سردآبی در سطح کشور، لزوم افزایش دانش و آگاهی در مورد فناوری زیستی این نوع ماهیان را الزامی می‌سازد (شیلات، ۱۳۷۳). در این راستا محققین همواره سعی و تلاش وافر در امر افزایش تولیدات در کوتاه‌ترین زمان ممکن، با صرف حداقل هزینه و کم‌ترین عوارض جانبی با استفاده از افزودنی‌هایی که ضمن حفظ ویژگی‌های مطلوب فاقد تبعات سوء بهداشتی و زیست‌محیطی باشند، نموده‌اند و در دهه‌های اخیر توجه خود را به استفاده از افزودنی‌های بیولوژیک در جیره جهت افزایش تولید معطوف داشته‌اند. از جمله این افزودنی‌ها می‌توان به آنزیم‌ها، پریبیوتیک‌ها، پریبیوتیک‌ها، پروتئین‌های تک‌سلولی (SCP)، مخمر و غیره اشاره نمود (افشار و رجب، ۱۳۸۹).

پریبیوتیک‌ها ترکیبات غیرقابل هضمی هستند که از طریق تحریک و افزایش رشد میکروفلور طبیعی روده و مساعد نمودن شرایط تثبیت و بقا باکتری‌های مفید، سبب افزایش عملکرد و سلامتی موجود می‌گردند. فرمکتو نیز نوعی از ترکیبات پریبیوتیک است که شامل آرد قارچ اسپرگیلوس می‌باشد. علی‌رغم فراوانی اطلاعات در مورد استفاده از این ترکیبات و خصوصاً اثر متقابل استفاده ترکیبی از آن‌ها با توجه به قابلیت فراهمی و کاربرد سودمند آن‌ها در پرورش دام و طیور، تحقیقات نسبتاً کمی در مورد استفاده از این افزودنی‌ها در پرورش ماهی صورت گرفته است. اثرات پریبیوتیک تجاری ایمونوزن بر روی فلور باکتریایی دستگاه گوارش و ترکیب لاشه ماهی شیربت (*Barbus grypus*) انجام گرفت. براساس یافته‌های تحقیق می‌توان نتیجه گرفت که تجویز خوراکی پریبیوتیک ایمونوزن بر فلور باکتریایی روده و

جدول ۱: ترکیب شیمیایی غذای مورد استفاده در طول دوره آزمایش

ترکیب شیمیایی	رطوبت	خاکستر	پروتئین خام	چربی خام
درصد	۶/۵۴±۰/۲۳	۱۲/۴۹±۰/۲۱	۴۰/۴۲±۰/۶۱	۱۸/۶±۰/۲۹

اعداد مربوط به میانگین±خطای استاندارد ۵ اندازه‌گیری است.

ضریب تبدیل غذایی (Food Conversion Ratio-FCR) از طریق فرمول زیر محاسبه شد.

$$FCR = \frac{F}{W_f - W_i}$$

لازم به ذکر است W: وزن ماهی، TL: طول کل، Wf: وزن نهایی، Wi: وزن اولیه و F: غذای خورده شده می‌باشد.

اندازه‌گیری و ثبت عوامل فیزیکی و شیمیایی آب:

پارامترهای فیزیکی و شیمیایی از جمله دما ۱۷±۱ درجه سانتی‌گراد، اکسیژن محلول ۷/۸±۱/۱ میلی‌گرم بر لیتر، دی‌اکسید کربن ۳/۶±۱/۴ میلی‌گرم در لیتر و pH ۷/۴±۰/۴ نیز در طول دوره آزمایش اندازه‌گیری و ثبت گردید این مطالعه به صورت کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام گرفت. هر مخزن به عنوان یک واحد آزمایشی در نظر گرفته شد و داده‌های آماری به صورت میانگین±خطای استاندارد گزارش گردیدند. کلیه محاسبات آماری با استفاده از برنامه SAS و رویه تجزیه واریانس یک‌طرفه (Sas، ۱۹۸۹) و مقایسه میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۰/۰۵ انجام گردید. داده‌هایی که به صورت درصد بودند به Arcsin√x تبدیل و سپس مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند (اعداد گزارش شده درصدهای واقعی هستند).

نتایج

اثر پربیوتیک بر شاخص رشد ماهی: نتایج به‌دست آمده حاکی از آن است که استفاده از پربیوتیک فرمکتو در طول دوره آزمایش بر شاخص وضعیت (ضریب چاقی) و وزن نهایی اثر معنی‌دار (p<۰/۰۵) نداشته است ولی سبب افزایش معنی‌دار ضریب تبدیل، کاهش شاخص رشد ویژه و افزایش وزن در بین تیمارها گردید. بیش‌ترین میزان ضریب تبدیل در اثر استفاده از تیمار ۳ (۲ گرم فرمکتو در کیلوگرم غذا) به‌دست آمد. هم‌چنین استفاده از ۲ گرم فرمکتو سبب کم‌ترین میزان شاخص رشد ویژه و افزایش وزن شده است. به‌طورکلی نتایج نشان می‌دهد که استفاده از مکمل فرمکتو سبب افزایش میزان ضریب تبدیل و کاهش وزن حاصل و شاخص رشد ویژه نسبت به شاهد گردیده است (جدول ۲).

قسمت‌های کاملاً مساوی به ابعاد ۰/۵×۰/۵ سانتی‌متر و وزن ۰/۵ گرم جدا شده و پس از هموزن نمودن، از آن‌ها رقت‌های مختلف تهیه و سپس روی محیط پلیت کانت آگار کشت داده شد و با استفاده از رنگ‌آمیزی گرم شناسایی شدند. ۲۴-۴۸ ساعت در دمای ۳۵-۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد و سپس تعداد کلونی‌ها شمارش و تعداد باکتری‌های مورد نظر با توجه به رقت‌های به‌دست آمده تعیین شد.

مورفولوژی روده:

جهت بررسی مورفولوژی روده از هر مخزن چهار قطعه ماهی با استفاده از گل‌میخک بی‌هوش شدند، روده آن‌ها را از قسمت انتهایی زوائد باب‌المعده بریده و از داخل حفره شکمی خارج کرده و توسط نخ بخیه یک قسمت آن را بسته و با سرنگ به داخل روده فرمالین ۱۰٪ تزریق گردید. سپس قسمت دیگر را با نخ بخیه گره زده تا دیواره روده روی هم قرار نگیرد و روده در هنگام تهیه برش شکل طبیعی خود را حفظ کند. بعد از آن بافت روده را جهت فیکس شدن داخل فرمالین ۱۰٪ قرار داده و پس از فیکس کردن، مراحل مختلف آب‌گیری، شفاف‌سازی، پارافینه‌کردن، قالب‌گیری، برش و رنگ‌آمیزی، به‌ترتیب انجام شدند (Kiernan، ۱۹۹۹).

زیست‌سنجی ماهیان هر دو هفته یک‌بار انجام شد. وزن با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۱ گرم و طول کل با خط‌کش با دقت ۱ میلی‌متر اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری شاخص‌های رشد: شاخص وضعیت (Condition=CF)

(Factor) با استفاده فرمول زیر محاسبه شد.

$$CF = \frac{W}{TL^3} \times 100$$

درصد افزایش وزن بدن (Weight Gain Percentage= WGP) برای کل دوره پرورش از طریق فرمول زیر محاسبه شد.

$$WGP = \frac{W_f - W_i}{W_i} \times 100$$

میزان رشد ویژه (Specific Growth Rate=SGR) در دوره پرورش با استفاده از رابطه زیر به‌دست آمد. این شاخص در واقع بیانگر افزایش وزن روزانه ماهی برحسب درصد وزن بدن می‌باشد.

$$SGR = \frac{\ln W_f - \ln W_i}{t} \times 100$$



جدول ۲: اثر فرمکتو بر شاخص‌های رشد

جیره	فرمکتو (گرم بر کیلوگرم)	وزن اولیه (گرم)	وزن نهایی (گرم)	ضریب تبدیل غذا	شاخص وضعیت نهایی	رشد ویژه (درصد)	افزایش وزن (درصد)
۱	۰	۱۹/۵۶±۰/۴۶	۶۰/۲۹±۲/۲۸	۱/۴۵±۰/۰۳ ^b	۱/۲۱±۰/۰۱۲	۱/۷۳±۰/۰۱ ^a	۲۴۷/۲±۱۲/۴ ^a
۲	۱	۱۹/۱۲±۰/۵۲	۶۵/۳۴±۲/۳۶	۱/۴۶±۰/۰۳ ^b	۱/۲۲±۰/۰۱۶	۱/۷۷±۰/۰۳ ^{ab}	۲۴۱/۲±۱/۰ ^a
۳	۲	۱۹/۳۶±۰/۴۸	۶۲/۰۴±۲/۹۴	۱/۵۹±۰/۰۲ ^a	۱/۲۳±۰/۰۱۷	۱/۶۸±۰/۰۶ ^b	۲۲۰/۵±۸/۱ ^b
	منابع تغییرات فرمکتو	۰/۷۴۲۵	۰/۲۷۸۴	۰/۰۰۰۱	۰/۸۴۱۸	۰/۰۴۹۲	۰/۰۳۹۶

حروف الفبای انگلیسی نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار میانگین‌ها در هر ستون است.

را استفاده نموده‌اند در جدول ۳ نشان داده شده است.

تأثیر پریبیوتیک بر میکروفلور روده: نتایج حاصل از کشت

نمونه‌های برداشته شده از روده ماهیانی که سطوح مختلف پریبیوتیک

جدول ۳: تنوع باکتریایی در روده ماهی

نوع باکتری	گونه و جنس
کوکسی‌های گرم منفی	آئروموناس هیدروفیلا، اشرشیاکولی، ویبریو، پلزیوموناس، فلاویباکتریوم، پاستورولا، گزنورابدوس و فتورابدوس
کوکسی‌های گرم مثبت	استافیلوکوکوس اورئوس
باسیل‌های گرم مثبت	باسیلوس سرئوس و باسیلوس سوبتیلیس

تیمارها نشده است. در جدول ۴ داده‌های مربوط به شمارش تعداد باکتری‌های روده ماهیان تیمار شده با جیره‌های مختلف آورده شده است. نتایج به‌دست آمده از آزمایش‌های میکروبیولوژی مشخص نمود که استفاده از فرمکتو در سطح ۱ گرم فرمکتو جیره می‌تواند مجموع باکتری‌های روده را به‌طور معنی‌داری ($p=0/0001$) افزایش دهد.

نمونه‌های کشت داده شده از هر تیمار، تنوع فلور باکتریایی موجود در روده ماهیان تحت تیمار قرار گرفته را نشان می‌دهد. استفاده از ترکیب پریبیوتیک فرمکتو در تیمارهای تغذیه‌کننده از این مکمل با این که سبب افزایش جمعیت فلور باکتریایی طبیعی روده شده اما سبب افزایش معنی‌دار باکتری باسیلوس سوبتیلیس در این

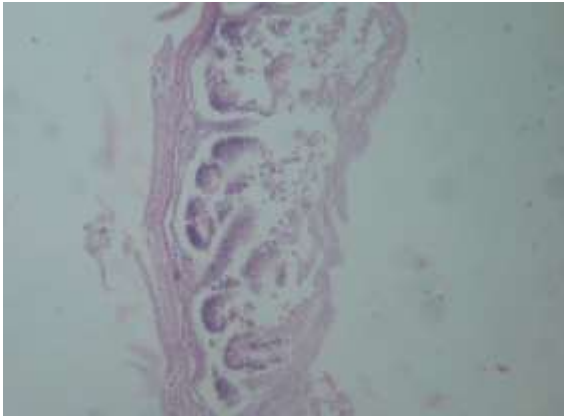
جدول ۴: تعداد کل باکتری‌های روده در تیمارهای مختلف

تیمار	فرمکتو	تعداد کل باکتری‌های روده (تعداد کلنی بر گرم)
۱	۰	$3/00 \times 10^7 \pm 5/0 \times 10^6$ ^b
۲	۱	$1/68 \times 10^8 \pm 6/2 \times 10^7$ ^a
۳	۲	$2/90 \times 10^7 \pm 3/7 \times 10^7$ ^b
	دامنه تغییرات فرمکتو	احتمال ۰/۰۰۰۱

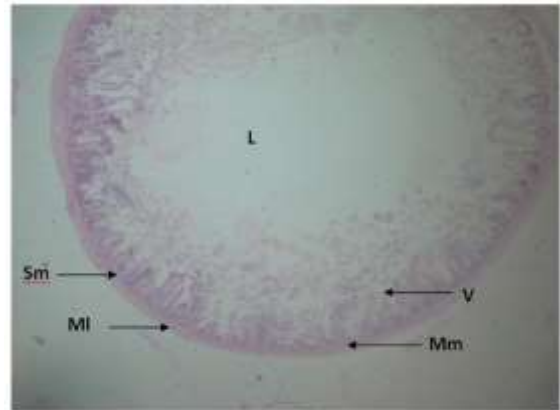
حروف الفبای انگلیسی نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار میانگین‌ها در هر ستون است ($p=0/0001$).

آمده از آزمایش مشخص گردید که وجود ترکیبات پریبیوتیک نمی‌تواند سبب افزایش طول پرزهای روده‌ای شوند. با توجه به شکل ۱ پرزهای روده به‌طور یکسان رشد نیافته‌اند از جمله در تیمار ۳ (۲ گرم پریبیوتیک در کیلوگرم غذا). در این تیمار فضای داخل لوله گوارش به‌صورت لوله خالی قابل مشاهده است و سبب کاهش ضخامت دیواره روده شده است (شکل ۲).

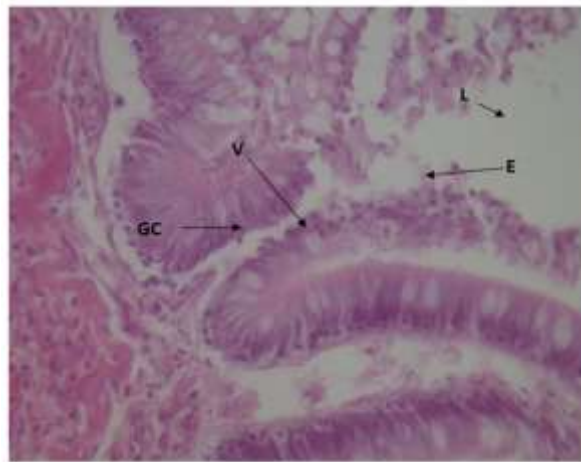
تأثیر مصرف پریبیوتیک بر بافت روده: بررسی میکروسکوپی برش‌های عرضی روده ماهیان نشان داد که فرمکتو نقش چندان موثری بر طول اپیتلیوم و پرزهای روده نداشته و حتی در تیمار ۳ عدم توسعه پرزهای روده‌ای نیز قابل مشاهده می‌باشد. شکل ۱ مقطع روده را در ماهیانی که بافت اپیتلیومی آن‌ها گسترش مناسبی نیافته است مشخص می‌نماید (شکل ۱). با توجه به نتایج به‌دست



شکل ۲: برش عرضی روده در تیمار ۳ با توسعه کم ایتلیوم



شکل ۱: برش عرضی روده (H&E) (بزرگ‌نمایی ۴X) L: حفره داخلی روده، V: پرزهای روده‌ای، Sm: لایه زیر مخاطی، Ml: لایه عضلانی و Mm: لایه ماهیچه‌ای مخاطی



شکل ۳: برش عرضی پرز روده در تیمار شاهد (بزرگ‌نمایی ۴X) (H&E). L: حفره داخلی روده، V: پرزهای روده‌ای، E: انتروسیت و GC: گابلت سل

قرار گرفت. برای این کار از ماهیچه مخاطی روده تا انتهای طول پرز از نقاط مختلف مقطع عرضی روده اقدام به اندازه‌گیری شد که نتایج در جدول ۵ آورده شده است. براساس داده‌های جدول ۵ استفاده از پریبیوتیک سبب ایجاد اختلاف معنی‌دار در بین تیمارها گردیده است ($p=0/0001$). کم‌ترین طول پرز روده در تیمار ۳ با میانگین $0/145 \pm 0/019$ به‌دست آمده است.

شکل ۳ لایه‌های مختلف بافت روده مانند بافت پوششی خارجی، لایه‌های عضلانی و ایتلیوم داخلی همراه با پرزهای روده و گابلت سل‌ها را در تیمار شاهد نشان می‌دهد. فضای داخلی لوله گوارش در این دسته از ماهیان با پرزهای روده‌ای اشغال گردیده که علاوه بر افزایش نسبت سطح به حجم، افزایش جایگاه جهت اتصال باکتری‌های مفید از جمله باسیلوس سوبتیلیس را در روده فراهم می‌نماید. برای بررسی اختلاف بین تأثیر تیمارهای گوناگون بر رشد و توسعه بافت پوششی روده، طول پرزها در همه تیمارها مورد اندازه‌گیری



جدول ۵: طول پوزه‌های روده در ماهیان بررسی شده از تیمارهای مختلف

جیره	فرمکتو	طول ویلی (میلی متر)
۱	۰	۰/۳۱۳±۰/۰۴ ^a
۲	۱	۰/۳۱۶±۰/۰۲۸ ^a
۳	۲	۰/۱۴۵±۰/۰۱۹ ^b
دامنه تغییرات		احتمال
فرمکتو		۰/۰۰۰۱

حروف الفبای انگلیسی نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار میانگین‌ها در هر ستون است (p=۰/۰۰۰۱).

بحث

برای میزبان نقش به‌سزایی دارد. اگرچه اسیدهای چرب غیراشباع محرک رشد برخی ارگانیزم‌ها می‌باشد اما مطالعاتی که روی اثر این اسیدها بر جمعیت لاکتوباسیلوس‌ها صورت گرفته، نشان می‌دهد که اسیدهای چرب غیراشباع می‌توانند به‌عنوان مانع رشد و تکثیر این دسته از باکتری‌ها عمل نمایند.

در مطالعه Ringø و همکاران (۱۹۹۵) نشان داده شد که اسید چرب غیراشباع لینولئیک سبب افزایش فراوانی جنس‌های *آئروموناس*، *سودوموناس* و *انتروباکتریاسه* در روده ماهی چار قطبی می‌شود. این در حالی است که باکتری‌های اسید لاکتیک چندان قابل شمارش نبود اما در جیره شاهد این کاهش در جمعیت لاکتوباسیل‌ها مشاهده نگردید (Ringø و همکاران، ۱۹۹۵). بنابراین، نتایج حاصل از آزمایش فعلی در خصوص کاهش جمعیت *باسیلوس سوبتیلیس* در تیمارهایی که فرمکتو مصرف نموده‌اند می‌تواند به‌دلیل حضور اسیدهای چرب غیراشباع حاصل از تخمیر آرد/سپرگیلوس در ترکیب فرمکتو باشد. استفاده از فرمکتو در سطح ۱ گرم در کیلوگرم جیره، جمعیت کل باکتری‌های موجود در روده را به‌طور معنی‌داری افزایش داد. در حالی که افزایش دوز این ترکیب سبب کاهش معنی‌داری در جمعیت کل باکتری‌ها شد (سطح ۲ گرم فرمکتو)، که نشان می‌دهد با توجه به نتایج حاصل افزایش میزان استفاده از فرمکتو می‌تواند تأثیر منفی بر جمعیت کل باکتری‌ها داشته باشد. این مطلب با مطالعه Sako و همکاران (۱۹۹۹) قابل توجه است که الیگوساکاریدهای غیرقابل هضم به‌عنوان محرک رشد باکتری‌های روده‌ای (غالباً بیفیدوباکترها) عمل می‌نمایند و باعث افزایش جمعیت میکروفلور روده می‌شوند (Sako و همکاران، ۱۹۹۹).

اما افزایش غلظت این الیگوساکاریدها و تخمیر آن‌ها در روده سبب کاهش pH روده‌ای می‌شوند که می‌تواند رشد و نمو عوامل بیماری‌زا و هم‌چنین میکروفلور طبیعی روده مانند بیفیدوباکترها را کاهش دهد (Taoka و همکاران، ۲۰۰۶). بنابراین افزایش دوز استفاده از پریبیوتیک می‌تواند عامل محدودکننده رشد و افزایش

نتایج این مطالعه نشان داد که استفاده از پریبیوتیک فرمکتو در سطوح ۱ و ۲ گرم به‌ازای هر کیلوگرم غذا در بچه ماهیان قزل‌آلا تأثیر چندانی بر عملکرد رشد، وزن نهایی، رشد ویژه و بهبود ضریب تبدیل نداشته است. این نتایج با پژوهش‌های صورت گرفته روی حیوانات تک‌معدده‌ای که سبب بهبود در قابلیت هضم مواد مغذی و افزایش رشد می‌گردد، مغایرت دارد (Jin و همکاران، ۱۹۹۷). نتایج حاصل از این آزمایش در مغایرت کامل با تأثیر مثبت فرمکتو بر افزایش رشد، بازده غذایی و کاهش ضریب تبدیل غذا در مرغ گوشتی می‌باشد (Salamkhan و همکاران، ۲۰۰۰).

در پژوهشی دیگر، فرمکتو در سه سطح ۱، ۲ و ۳ گرم بر کیلوگرم جیره در تغذیه بچه ماهیان کپور معمولی ۳۹ گرمی استفاده گردید. سطح ۱ و ۲ گرم بر کیلوگرم فرمکتو همانند نتایج این آزمایش اختلاف معنی‌دار بر افزایش عملکرد رشد، ضریب تبدیل و رشد ویژه نداشته است. در حالی که استفاده از ۳ گرم فرمکتو در کیلوگرم جیره سبب افزایش معنی‌دار رشد ویژه، ضریب تبدیل غذایی و بازده پروتئین و درصد افزایش وزن شده است (Mazurkiewicz و همکاران، ۲۰۰۸). با مقایسه نتایج به‌دست آمده از تحقیق حاضر با مطالعه فوق به‌نظر می‌رسد عدم تأثیر مثبت فرمکتو بر عملکرد رشد در ماهی قزل‌آلا را بتوان با کم بودن دوز مصرفی آن توجیه نمود. علاوه بر این تفاوت در گونه و سن ماهی نیز می‌تواند از جمله دلایل احتمالی این اختلاف باشد.

بررسی فلور باکتریایی موجود در روده ماهیان مورد آزمایش در محیط کشت اختصاصی نشان داد که آن دسته از ماهیانی که با فرمکتو تغذیه شده‌اند علاوه بر این که جمعیت باکتریایی کم‌تری در روده مشاهده شده، تعداد باکتری‌های *باسیلوس سوبتیلیس* نیز به نسبت کم بوده است. یکی از عملکردهای مهم پریبیوتیک‌ها در روده میزبان تولید اسیدهای چرب غیراشباع می‌باشد که از نظر تغذیه‌ای

از این افزایش در اثر استفاده از مکمل‌های پروبیوتیک و پربیوتیک بررسی‌های تخصصی بیش‌تری صورت گیرد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله مراتب تشکر و قدردانی صمیمانه خود را از کلیه اعضای هیئت علمی و کارشناسان دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان اعلام می‌دارد.

منابع

۱. ابراهیمی، ع. و بیرقدار، الف.، ۱۳۸۵. تغذیه و غذایی ماهیان در آبزی‌پروری (با تاکید برگونه‌های قابل پرورش در ایران). (ترجمه): انتشارات جهاد دانشگاهی واحد صنعتی اصفهان. ۳۱۰ صفحه.
۲. افشار، ن. و رجب، الف.، ۱۳۸۹. پروبیوتیک‌ها و کاربرد آن در تغذیه دام و طیور. انتشارات نوربخش. ۳۶۰ صفحه.
۳. شیلات. ۱۳۷۳. دوره تکمیلی پرورش ماهیان سردآبی. شرکت سهامی شیلات ایران. ۱۰۶ صفحه.
۴. محمدیان، ت.؛ مصباح، م.؛ روحانی‌زاده، س.؛ علیشاهی، م.؛ عزیززاده، پ. و عبدی الف.، ۱۳۹۴. مطالعه تأثیر ایمونوزن خوارکی بر روی فلور باکتریایی روده و ترکیب لاشه در ماهی شیریت *Barbus grypus*. دامپزشکی پژوهش و سازندگی. سال ۲۸، شماره ۱، صفحات ۲ تا ۹.
۵. AOAC, ۲۰۰۲. Official method of analysis of the association of official analytical chemists ۱۷th edn. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, Virginia. ۱۱۱۴ p.
۶. Glenn, G. and Roberfroid, M., ۱۹۹۵. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. J nutr. Vol. ۱۲۵, pp: ۱۴۰۱-۱۴۱۲.
۷. Jin, L.; Ho, Y.; Abdullah, N. and Jalaludin, S., ۱۹۹۷. Probiotics in poultry: modes of action. World's Poultry Science Journal. Vol. ۵۳, pp: ۳۵۱-۳۶۸.
۸. Kiernan, J.A., ۱۹۹۹. Histological and histochemical methods: theory and practice. Shock. Vol. ۱۲, pp: ۴۷۹.
۹. Mazurkiewicz, J.; Przybyl, A. and Golski, J., ۲۰۰۸. Usability of Fermacto prebiotic in feeds for common carp [Cyprinus carpio L.] fry. Nauka Przyroda Technologie Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu. Vol. ۲.
۱۰. Ringø, E.; Strøm, E. and Tabachek, J.A., ۱۹۹۵. Intestinal microflora of salmonids: a review. Aquaculture Research. Vol: ۲۶, pp: ۷۷۳-۷۸۹.

جمعیت در میکروفلور طبیعی روده باشد (Šušković و همکاران، ۲۰۰۱).

با توجه به تصاویر ماکروسکوپی و میکروسکوپی، سطوح مختلف فرمکتو سبب کاهش توسعه اپیتلیوم روده می‌گردد. تغییر سطح اپیتلیوم با رشد و توسعه پرزهای روده تحت تأثیر پربیوتیک فرمکتو مورد تأیید قرار نگرفت. بر خلاف نتایج به‌دست آمده در این تحقیق، مصرف فروکتوالیگوساکاریدها در تغذیه خوک سبب افزایش طول ویلی‌های روده و در نتیجه افزایش سطح جذب و استقرار میکرو فلور طبیعی در روده شده است (Shim و همکاران، ۲۰۰۵). نتایج حاصل از اندازه‌گیری طول پرزهای روده‌ای (جدول ۵) با مشاهده میکروسکوپی روده مطابقت داشت.

استفاده از فرمکتو اثر منفی بر رشد پرزها داشته است که با توجه به سایر نتایج ممکن است فرمکتو سبب به‌هم‌ریختگی میکروفلور روده شده باشد که خود تأثیر منفی بر گسترش بافت پوششی روده می‌گذارد. با افزایش سطح فرمکتو در تیمارها نیز طول پرزها کاسته شد.

با توجه به عدم وجود گزارشات مستند در مورد تأثیر پربیوتیک فرمکتو در ماهیان، نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که فرمکتو سبب کاهش معنی‌دار عملکرد رشد در ماهی قزل‌آلا در سطوح به‌کار رفته می‌شود. البته این امکان نیز وجود دارد که با افزایش میزان دوز فرمکتو و یا طولانی نمودن مدت آزمایش، فرمکتو بتواند اثرات مفیدتری بر بچه‌ماهیان جوان قزل‌آلا داشته باشد. با توجه به نتایج حاصل از این آزمایش و تأثیر معنی‌دار ترکیبات پروبیوتیکی و پربیوتیکی بر ماهیانی که میکروفلور روده طبیعی آن‌ها شکل گرفته است پیشنهاد می‌گردد از سطوح دیگری از فرمکتو در جیره ماهیان با اوزان دیگر استفاده شود.

علی‌رغم عدم کارایی فرمکتو در این بررسی، ولیکن با توجه به گزارش‌های موجود مبنی بر ماهیت سودمند این ترکیبات پیشنهاد می‌گردد از این ترکیب در سطوح بالاتر و یا از لارو ماهیان قزل‌آلای تازه به تغذیه افتاده استفاده گردد تا نقش احتمالی مفید ترکیب فرمکتو بررسی گردد.

علاوه بر این، تأثیر این ترکیبات را نیز بر سایر فاکتورهای بیوشیمیایی خون و سیستم ایمنی بدن می‌توان مورد بررسی قرار داد. پیشنهاد می‌شود چربی موجود در حفره شکمی و کبد ماهی با استفاده از این ترکیبات مورد بررسی قرار گیرد. علاوه بر آن پیشنهاد می‌شود در ارتباط با دلایل افزایش طول پرزهای روده و تغییرات سلولی حاصل



۱۱. Sako, T.; Matsumoto, K. and Tanaka, R., ۱۹۹۹. Recent progress on research and applications of non-digestible galacto-oligosaccharides. *Int Dairy J.* Vol. ۹, pp: ۶۹-۸۰.
۱۲. Salamkhan, A.; Khalique, A. and Pasha, T., ۲۰۰۰. Effect of dietary supplementation of various levels of Fermacto on the performance of broiler chicks. *Int J Agri Biol.* Vol. ۲, pp: ۳۲-۳۳.
۱۳. Sas, S., ۱۹۸۹. *STAT user's guide.* Vol. ۶, pp: ۱۰۲۴-۱۰۷۶.
۱۴. Shim, S.; Williams, I. and Verstegen, M., ۲۰۰۵. Effects of dietary fructo-oligosaccharide on villous height and disaccharidase activity of the small intestine, pH, VFA and ammonia concentrations in the large intestine of weaned pigs. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section A-Animal Science.* Vol. ۵۵, pp: ۹۱-۹۷.
۱۵. Šušková, J.; Kos, B.; Goreta, J. and Matošić, S., ۲۰۰۱. Role of lactic acid bacteria and bifidobacteria in synbiotic effect. *Food technology and biotechnology.* Vol. ۳۹, pp: ۲۲۷-۲۳۵.
۱۶. Taoka, Y.; Maeda, H.; JO, J.Y.; JEON, M.J.; Bai, S.C.; LEE, W.J.; Yuge, K. and Koshio, S., ۲۰۰۶. Growth, stress tolerance and non-specific immune response of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* to probiotics in a closed recirculating system. *Fisheries Science.* Vol. ۷۲, pp: ۳۱۰-۳۲۱.

