

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

- نصرالله محبوبی صوفیانی: دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان
- ابراهیم متقی*: دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان
- امین نعمت الهی: دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، صندوق پستی: 115

تاریخ دریافت: بهمن 1394 تاریخ پذیرش: اردیبهشت 1395

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 آلاي رنگین کمان انجام گرفت. تعداد 162 قطعه ماهی انگشت‌قد قزل آلاي رنگین کمان با میانگین وزنی $19/06 \pm 1/83$ گرم تحت 3 جیره آزمایشی شامل 3 سطح پریبیوتیک فرمکتو (صفر، 1 و 2 گرم در کیلوگرم غذا) در سه تکرار مورد استفاده قرار گرفت. تعداد 18 قطعه ماهی در هر مخزن (مجموعاً 9 مخزن) به مدت 10 هفته با جیره‌های آزمایشی تغذیه شدند. افزودن فرمکتو به طور 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 به طور معنی‌دار ($p < 0/05$) تحت تأثیر استفاده از فرمکتو قرار گرفت. کاربرد فرمکتو سبب کاهش طول پرزهای روده شد و کمترین طول پرزهای روده در سطح 2 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 آلاي رنگین کمان، میکروفلور روده

مقدمه

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، 1373). 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

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. آبی‌پروری 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، 1385). 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



محصول شرکت PetAg آمریکا شامل 12% پروتئین، 1/1% چربی، 45% فیبر و 3% خاکستر است.

تهیه غذا: جهت تهیه جیره‌های آزمایشی از جیره FFT شرکت رشدانه استفاده شد. با استفاده از روش استاندارد (AOAC، 2002)، درصد رطوبت (خشک‌کردن با آون)، خاکستر (روش سوزاندن)، پروتئین (تعیین نیتروژن کل به روش کج‌دال) و چربی (حل کردن چربی در اتر و تعیین مقدار آن به روش سوکسله) در جیره غذایی تعیین گردید (جدول 1). سه جیره آزمایشی با سه سطح صفر، یک و دو گرم پریبیوتیک به ازای هر کیلوگرم جیره تهیه شد.

جدول 1: ترکیب شیمیایی غذای مورد استفاده در طول دوره آزمایش

ترکیب شیمیایی	رطوبت	خاکستر	پروتئین خام	چربی خام
0±54/23	0±49/21	0±42/61	0±6/29	
درصد	6/	12	40	18

اعداد مربوط به میانگین±خطای استاندارد 5 اندازه‌گیری است.

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، قسمت‌های کاملاً مساوی به ابعاد 0/5×0/5 سانتی‌متر و وزن 0/5 گرم جدا شده و پس از هموژن نمودن، از آن‌ها رقت‌های مختلف تهیه و سپس روی محیط پلیت کانت آگار کشت داده شد و با استفاده از رنگ‌آمیزی گرم شناسایی شدند. 48-24 ساعت در دمای 35-37 درجه سانتی‌گراد انکوبه شد و سپس تعداد کلونی‌ها شمارش و تعداد باکتری‌های مورد نظر با توجه به رقت‌های بدست 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 باب‌المعدة بریده و از داخل حفره شکمی خارج کرده و توسط نخ بخیه یک قسمت آن را بسته و با سرنگ به داخل روده فرمالین 10% 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 10% قرار داده و پس از فیکس کردن، مراحل مختلف آب‌گیری، شفاف‌سازی، پارافینه‌کردن، قالب‌گیری، برش و رنگ‌آمیزی، به ترتیب انجام شدند (Kiernan, 1999).

زیست‌سنجی ماهیان هر دو هفته یکبار انجام شد. وزن با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت 0/1 گرم و طول کل با خط کش با دقت 1 میلی‌متر اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری شاخص‌های رشد: شاخص وضعیت¹ (CF) با استفاده فرمول زیر محاسبه شد.

به آنزیم‌ها، پروبیوتیک‌ها، پریبیوتیک‌ها، پروتئین‌های تک-سلولی (SCP)، مخمر و غیره اشاره نمود (افشار و رجب، 1389).

پریبیوتیک‌ها ترکیبات غیر قابل 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 اسپرجیلوس 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 ایمونوژن بر روی فلور باکتریایی دستگاه گوارش و ترکیب لاشه ماهی شیربت (*Barbus grypus*) انجام گرفت. بر اساس یافته‌های تحقیق می‌توان نتیجه گرفت که تجویز خوراکی پریبیوتیک ایمونوژن بر فلور باکتریایی روده و جمعیت لاکتوباسیلوس‌های دستگاه گوارش و نیز میزان پروتئین لاشه موثر می‌باشد (محمدیان و همکاران، 1394). این ترکیب در حیوانات تک معده‌ای با بهبود مواد مغذی و همچنین وجود فیبر در میسلوم قارچ که سبب ازدیاد باکتری‌های روده می‌شود میزان قابلیت هضم را افزایش می‌دهد (Glenn و Roberfroid، 1995).

به علت اهمیت ماهی قزل‌آلا در آبی‌پروری 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 قزل‌آلا رنگین‌کمان، بر عملکرد رشد، بافت‌شناسی روده و میکروفلور روده‌ایماهی 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 10 هفته انجام گرفت. گله‌ای از ماهیان انگشت‌قد قزل‌آلا رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) از یک مزرعه خصوصی واقع در استان چهارمحال و بختیاری تهیه گردید. این ماهیان به مدت 20 روز با شرایط مجموعه پرورشی سازگار و با جیره تجاری FFT شرکت رشدانه (بدون پریبیوتیک) تغذیه شدند. پس از سازگاری، تعداد 162 قطعه ماهی سالم (از نظر ظاهری) با میانگین وزنی حدود 1/83±19/06 گرم به صورت انفرادی توزین و به 9 مخزن پلاستیکی 100 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 10 هفته با 3 جیره آزمایشی حاوی مقادیر مختلف پریبیوتیک فرمکتو تغذیه شدند. پریبیوتیک فرمکتو

¹ Condition Factor.



کربن $3/6 \pm 1/4$ میلی گرم در لیتر و $7/0 \pm 6/4$ pH نیز در طول دوره آزمایش اندازه گیری 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 داده های آماری به صورت میانگین $\pm$ خطای استاندارد گزارش گردیدند. کلیه محاسبات آماری با استفاده از برنامه SAS و رویه تجزیه واریانس یک طرفه (Sas، 1989) و مقایسه میانگین ها با آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال 0/05 انجام گردید. داده هایی که به صورت درصد بودند به $\text{Arcsin}\sqrt{x}$ تبدیل و سپس مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند (اعداد گزارش شده درصدهای واقعی هستند).

نتایج

اثر پربیوتیک بر شاخص رشد ماهی: نتایج بدست آمده حاکی از آن است که استفاده از پربیوتیک فرمکتو در طول دوره آزمایش بر شاخص وضعیت (ضریب چاقی) و وزن نهایی اثر معنی دار ($p < 0/05$) نداشته است ولی سبب افزایش معنی دار ضریب تبدیل، کاهش شاخص رشد ویژه و افزایش وزن در بین تیمارها گردید. بیشترین میزان ضریب تبدیل در اثر استفاده از تیمار 3 (2 گرم فرمکتو در کیلوگرم غذا) بدست آمد. همچنین استفاده از 2 گرم فرمکتو سبب کمترین میزان شاخص رشد ویژه و افزایش وزن شده است. به طور کلی نتایج نشان می دهد که استفاده از مکمل فرمکتو سبب افزایش میزان ضریب تبدیل و کاهش وزن حاصل و شاخص رشد ویژه نسبت به شاهد گردیده است (جدول 2).

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

درصد افزایش وزن بدن² (WGP) برای کل دوره پرورش از طریق فرمول زیر محاسبه شد.

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

میزان رشد ویژه³ (SGR) در دوره پرورش با استفاده از رابطه زیر بدست آمد. این شاخص در واقع بیانگر افزایش وزن روزانه ماهی برحسب درصد وزن بدن می باشد.

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

ضریب تبدیل غذایی⁴ (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 می باشد. اندازه گیری و ثبت عوامل فیزیکی و شیمیایی آب: پارامترهای فیزیکی و شیمیایی از جمله دما 17 ± 1 درجه سانتی-گراد، اکسیژن محلول $7/8 \pm 1/1$ میلی گرم بر لیتر، دی اکسید

جدول 2: اثر فرمکتو بر شاخص های رشد

جیره	فرمکتو (گرم بر کیلوگرم)	وزن اولیه (گرم)	وزن نهایی (گرم)	ضریب تبدیل غذا	شاخص وضعیت نهایی	رشد ویژه (درصد)	افزایش وزن (درصد)
1	0	19/0 $\pm$ 56/46	60/2 $\pm$ 29/28	1/0 $\pm$ 45/03 ^b	1/0 $\pm$ 21/012	1/0 $\pm$ 73/01 ^a ab	247/12 $\pm$ 2/4 ^a
2	1	19/0 $\pm$ 12/52	65/2 $\pm$ 34/36	1/0 $\pm$ 46/03 ^b	1/0 $\pm$ 22/016	1/0 $\pm$ 77/03	241/1 $\pm$ 2/0 ^a
3	2	19/0 $\pm$ 36/48	62/2 $\pm$ 04/94	1/0 $\pm$ 59/02 ^a	1/0 $\pm$ 23/017	1/0 $\pm$ 68/06 ^b	220/8 $\pm$ 5/1 ^b
منابع تغییرات فرمکتو		0/7425	0/2784	0/0001	0/8418	0/0492	0/0396

حروف الفبای انگلیسی نشان دهنده اختلاف معنی دار میانگین ها در هر ستون است.

تأثیر پربیوتیک بر میکروفلور روده: نتایج حاصل از کشت نمونه های برداشته شده از روده ماهیانی که سطوح مختلف پربیوتیک را استفاده نموده اند در جدول 3 نشان داده شده است.

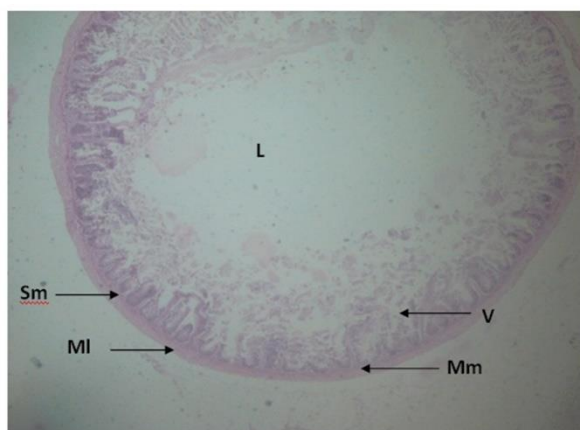
Food Conversion Ratio.⁴

Weight Gain Percentage.²
Specific Growth Rate.³



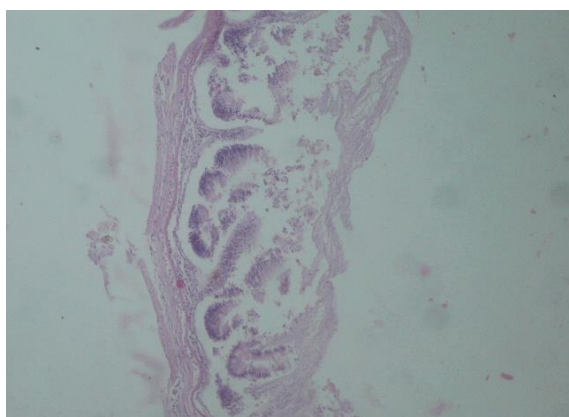
جدول 3: تنوع باکتریایی در روده ماهی

نوع باکتری	گونه و جنس
کوکسی‌های گرم منفی	آنروموناتس هیدروفیلا، اشرشیاکولی، ویبریو، پلزیوموناتس، فلاوباکتریوم، پاستورولا، گزنورابدوس و فئورابدوس
کوکسی‌های گرم مثبت	استافیلوکوکوس اورئوس
باسیل‌های گرم مثبت	باسیلوس سرئوس و باسیلوس سوبتیلیس



شکل 1: برش عرضی روده (H&E) (بزرگنمایی 4X): L: حفره داخلی روده، V: پرزهای روده‌ای، Sm: لایه زیر مخاطی، MI: لایه عضلانی و Mm: لایه ماهیچه‌ای مخاطی.

با توجه به نتایج بدست آمده از آزمایش مشخص گردید که وجود ترکیبات پریبیوتیک نمی‌توانند سبب افزایش طول پرزهای روده‌ای شوند. با توجه به شکل 1 پرزهای روده بطور یکسان رشد نیافته‌اند از جمله در تیمار 3 (2 گرم پریبیوتیک در کیلوگرم غذا). در این تیمار فضای داخل لوله گوارش بصورت لوله خالی قابل مشاهده است و سبب کاهش ضخامت دیواره روده شده است (شکل 2).



شکل 2: برش عرضی روده در تیمار 3 با توسعه کم اپیتلیوم

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 تغذیه کننده از این مکمل با اینکه سبب افزایش جمعیت فلور باکتریایی طبیعی روده شده اما سبب افزایش معنی‌دار باکتری باسیلوس سوبتیلیس در این تیمارها نشده است. در جدول 4 داده‌های مربوط به شمارش تعداد باکتری‌های روده ماهیان تیمار شده با جیره‌های مختلف آورده شده است. نتایج به‌دست آمده از آزمایشان میکروبیولوژی مشخص نمود که استفاده از فرمکتو در سطح 1 گرم فرمکتو جیره می‌تواند مجموع باکتری‌های روده را بطور معنی‌داری ($p=0/0001$) افزایش دهد.

جدول 4: تعداد کل باکتری‌های روده در تیمارهای مختلف

تیمار	فرمکتو	تعداد کل باکتری‌های روده (تعداد کلنی بر گرم)
1	0	$3/00 \times 5 \pm 10^7 / 0 \times 10^6$
2	1	$1/68 \times 6 \pm 10^8 / 2 \times 10^7$
3	2	$2/90 \times 3 \pm 10^7 / 7 \times 10^7$
دامنه تغییرات	احتمال	
فرمکتو	0/0001	

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

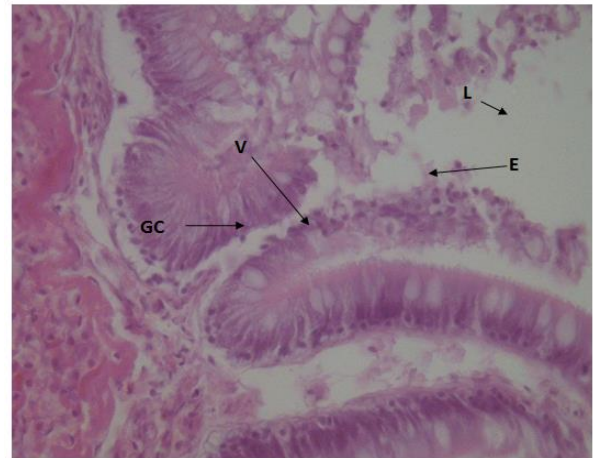
تأثیر مصرف پریبیوتیک بر بافت روده: بررسی

میکروسکوپی برش‌های عرضی روده ماهیان نشان داد که فرمکتو نقش چندان موثری بر طول اپیتلیوم و پرزهای روده نداشته و حتی در تیمار 3 عدم توسعه پرزهای روده‌ای نیز قابل مشاهده می‌باشد. شکل 1 مقطع روده را در ماهیانی که بافت اپیتلیومی آن‌ها گسترش مناسبی نیافته است مشخص می‌نماید (شکل 1).

نتایج این مطالعه نشان داد که استفاده از پریبیوتیک فرمکتو در سطوح 1 و 2 گرم به ازای هر کیلوگرم غذا در بچه ماهیان قزل آلا 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، 1997). 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، 2000). در پژوهشی دیگر، فرمکتو در سه سطح 1، 2 و 3 گرم بر کیلوگرم جیره در تغذیه بچه ماهیان کپور معمولی 39 گرمی استفاده گردید. سطح 1 و 2 گرم بر کیلوگرم فرمکتو همانند نتایج این آزمایش اختلاف معنی‌دار بر افزایش عملکرد رشد، ضریب تبدیل و رشد ویژه نداشته است. در حالیکه استفاده از 3 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، 2008). با مقایسه نتایج بدست آمده از تحقیق حاضر با مطالعه فوق به نظر می‌رسد عدم تأثیر مثبت فرمکتو بر عملکرد رشد در ماهی قزل آلا 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 اینکه 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 غیر اشباع می‌باشد که از نظر تغذیه‌ای برای میزبان نقش به سزایی دارد. اگرچه اسیدهای چرب غیر اشباع محرک رشد برخی ارگانیزم‌ها می‌باشد اما مطالعاتی که روی اثر این اسیدها بر جمعیت لاکتوباسیلوس‌ها صورت گرفته، نشان می‌دهد که اسیدهای چرب غیر اشباع می‌توانند به عنوان مانع رشد و تکثیر این دسته از باکتری‌ها عمل نمایند. در مطالعه Ringø و همکاران (1995) نشان داده شد که اسید چرب غیر اشباع لینولئیک سبب افزایش فراوانی جنس‌های *آنروموناس*، *سودوموناس* و *انتروباکتریاسه* در روده ماهی چار قطبی می‌شود. این در حالیست که باکتری‌های اسیدلاکتیک چندان قابل شمارش نبود اما در جیره کنترل این کاهش در جمعیت لاکتوباسیل‌ها مشاهده نگردید (Ringø و همکاران، 1995). بنابراین، نتایج حاصل از آزمایش فعلی در خصوص کاهش جمعیت *باسیلوس سوبتیلیس* در تیمارهایی که فرمکتو مصرف نموده‌اند می‌تواند به دلیل حضور اسیدهای چرب غیر اشباع حاصل از تخمیر آرد اسپرجیلوس در ترکیب فرمکتو باشد.

استفاده از فرمکتو در سطح 1 گرم در کیلوگرم جیره، جمعیت کل باکتری‌های موجود در روده را به طور معنی‌داری افزایش داد. در حالیکه افزایش دوز این ترکیب سبب کاهش معنی‌داری



شکل 3: برش عرضی پرز روده در تیمار شاهد (بزرگنمایی 40X) (H&E). L: حفره داخلی روده، V: پرزهای روده‌ای، E: انتروسیت و GC: گابلت سل.

شکل 3 لایه‌های مختلف بافت روده مانند بافت پوششی خارجی، لایه‌های عضلانی و اپیتلیوم 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 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 5 آورده شده است.

بر اساس داده‌های جدول 5 استفاده از پریبیوتیک سبب ایجاد اختلاف معنی‌دار در بین تیمارها گردیده است ($p=0/0001$). کمترین طول پرز روده در تیمار 3 با میانگین $0/145 \pm 0/019$ بدست آمده است.

جدول 5: طول پرزهای روده در ماهیان بررسی شده از تیمارهای مختلف

جیره	فرمکتو	طول ویلی (میلی‌متر)
1	0	$0/0 \pm 313/040^a$
2	1	$0/0 \pm 316/028^a$
3	2	$0/0 \pm 145/019^b$

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



دلایل افزایش طول پرزهای روده و تغییرات سلولی حاصل از این افزایش در اثر استفاده از مکمل‌های پربیوتیک 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

1. ابراهیمی، ع. و بیرقدار، الف، 1385. تغذیه و غذایی ماهیان در آبی‌پروری (با تاکید بر گونه‌های قابل پرورش در ایران) (ترجمه): انتشارات جهاد دانشگاهی واحد صنعتی اصفهان. 310 صفحه.
2. افشار، ن. و رجب، الف، 1389. پربیوتیک‌ها و کاربرد آن در تغذیه دام و طیور: انتشارات نوربخش. 360 صفحه.
3. شیلات، 1373. دوره تکمیلی پرورش ماهیان سردآبی: شرکت سهامی شیلات ایران. 106 صفحه.
4. محمدیان، ت.؛ مصباح، م.؛ روحانی‌زاده، س.؛ علیشاهی، م.؛ عزیززاده، پ. و عبدی الف، 1394. مطالعه تأثیر ایمونوژن خوراک بر روی فلور باکتریایی روده و ترکیب لاشه در ماهی شیرب *Barbus grypus*. دامپزشکی پژوهش و سازندگی. سال 28، شماره 1، صفحات 2 تا 9.
5. AOAC, 2002. Official method of analysis of the association of official analytical chemists 17th edn. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, Virginia, 1114 p.
6. Glenn, G. and Roberfroid, M., 1995. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. J nutr. Vol. 125, pp: 1401-1412.
7. Jin, L.; Ho, Y.; Abdullah, N. and Jalaludin, S., 1997. Probiotics in poultry: modes of action. World's Poultry Science Journal. Vol. 53, pp: 351-368.
8. Kiernan, J.A., 1999. Histological and histochemical methods: theory and practice. Shock. Vol. 12, pp: 479.
9. Mazurkiewicz, J.; Przybyl, A. and Golski, J., 2008. Usability of Fermacto prebiotic in feeds for common carp [Cyprinus carpio L.] fry. Nauka Przyroda Technologie Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu. Vol. 2.
10. Ringø, E.; Strøm, E. and Tabachek, J.A., 1995. Intestinal microflora of salmonids: a review. Aquaculture Research. Vol. 26, pp: 773-789.
11. Sako, T.; Matsumoto, K. and Tanaka, R., 1999. Recent progress on research and applications of non-digestible galacto-oligosaccharides. Int Dairy J. Vol. 9, pp: 69-80.
12. Salamkhan, A.; Khalique, A. and Pasha, T., 2000. Effect of dietary supplementation of various levels of Fermacto on the performance of broiler chicks. Int J Agri Biol. Vol. 2, pp: 32-33.
13. Sas, S., 1989. STAT user's guide. Vol. 6, pp: 1024-1076.
14. Shim, S.; Williams, I. and Verstegen, M., 2005. 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. 55, pp: 91-97.

در جمعیت کل باکتری‌ها شد (سطح 2 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 (1999) قابل توجیه است که الیگوساکاریدهای غیرقابل هضم به عنوان محرک رشد باکتری‌های روده‌ای (غالباً بیفیدوباکترها) عمل می‌نمایند و باعث افزایش جمعیت میکروفلور روده می‌شوند (Sako و همکاران، 1999). 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، 2006). بنابراین افزایش دوز استفاده از پربیوتیک می‌تواند عامل محدود کننده رشد و افزایش جمعیت در میکروفلور طبیعی روده باشد (Šuškoć و همکاران، 2001).

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 بدست 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، 2005). نتایج حاصل از اندازه‌گیری طول پرزهای روده‌ای (جدول 5) 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 بهم‌ریختگی 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 بکار 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 پربیوتیکی 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 قزل‌آلا 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



Paralichthys olivaceus to probiotics in a closed recirculating system. Fisheries Science. Vol. 72, pp: 310-321.

15. Šušković, J.; Kos, B.; Goreta, J. and Matošić, S., 2001. Role of lactic acid bacteria and bifidobacteria in synbiotic effect. Food technology and biotechnology. Vol. 39, pp: 227-235.
16. Taoka, Y.; Maeda, H.; JO, J.Y.; JEON, M.J.; Bai, S.C.; LEE, W.J.; Yuge, K. and Koshio, S., 2006. Growth, stress tolerance and non-specific immune response of Japanese flounder

