

عملکرد رشد و تغذیه آلوین قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در تغذیه با جیره دارای پودر دافنی (*Daphnia magna*) تخمیر شده با باسیلوس - های پروبیوتیکی

پریسا مرادی^{۱*}، حجت ا... جعفریان^۱، مهدی سلطانی^۲، حسنا قلی پور کنعانی^۱، جواد سهندی^۳

۱- گروه شیلات، دانشکده علوم کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران

۲- گروه بهداشت و بیماری های آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

۳- دانشکده علوم زیستی اقیانوسی، دانشگاه اقیانوسی چین، چینگدائو، چین

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۴/۲۷

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۸/۸

چکیده

این مطالعه به منظور ارزیابی سطوح مختلف پودر تخمیر شده دافنی (*Daphnia magna*) به عنوان منبع تامین بخشی از پروتئین جیره بر نرخ رشد، تغذیه و کارایی ترکیبات غذایی جیره در آلوین های قزل آلای رنگین کمان به مدت ۸ هفته انجام شد. تعداد ۷۰۰ قطعه آلوین قزل آلای رنگین کمان با میانگین وزنی 0.19 ± 0.58 گرم (انحراف معیار $\pm$ میانگین) پس از سازگاری با محیط مطالعه در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با پنج تیمار که هر یک دارای سه تکرار بود در شرایط کاملاً یکسان مورد تغذیه قرار گرفتند. چهار جیره آزمایشی با پروتئین یکسان (۵۲/۷۰٪ پروتئین خام) به شکل دو جیره حاوی پودر دافنی تخمیر شده و دو جیره حاوی پودر دافنی خام (تخمیر نشده) در سطوح ۲۰ و ۳۰٪ تهیه گردید. جیره ای نیز بدون افزودن پودر دافنی تحت عنوان جیره شاهد با درصد یکسان پروتئین در نظر گرفته شد. پنج گونه باسیلوس تجاری شامل: *Bacillus subtilis*، *B. licheniformis*، *B. polymyxa*، *B. circulans* و *B. laterosporus* جهت تخمیر پودر دافنی استفاده شد. نتایج بدست آمده نشان دهنده تاثیر معنی دار پودر دافنی تخمیر شده بر افزایش نرخ رشد و افزایش نسبت کارایی ترکیبات مغذی جیره در مقایسه با پودر دافنی خام در سطوح مشابه و همچنین تیمار شاهد بود ($P < 0.05$). همچنین تیمارهای تغذیه شده با سطوح مختلف از پودر دافنی تخمیر شده دارای ضریب تبدیل غذایی کمتری نسبت به تیمارهای آزمایشی دیگر و تیمار شاهد بودند ($P < 0.05$). استفاده از باسیلوس های پروبیوتیکی که قابلیت ترشح آنزیم های خارج سلولی را دارند و از طریق تولید اسپور قابل افزایش هستند، ضمن تخمیر پودر دافنی قابلیت تلقیح در دستگاه گوارش آلوین ها را خواهند داشت. این امر ضمن بهبود ترکیبات غذایی پودر دافنی موجب افزایش فلور باکتریایی دستگاه گوارش آلوین ها و در نهایت رشد آن ها خواهد شد.

کلمات کلیدی: باسیلوس، تخمیر، آلوین، رشد، تغذیه، قزل آلای رنگین کمان، دافنی.

مقدمه

تولید آبریان از سال ۲۰۰۴ تا ۲۰۱۰ تقریباً ۲۰ درصد افزایش داشته است که در این مدت منبع تامین پروتئین خوراک مصرفی تولید شده، پودر ماهی بوده است. همسو با این افزایش پرورش دهندگان اقدام به استفاده از ماهیان کم ارزش به عنوان منبع پروتئینی خوراک ماهیان پرورشی خود نمودند. در این بین تولید پودر ماهی در آسیا با سرعت کمی همراه بود تا جایی که موجب واردات این محصول جهت تولید خوراک آبریان گردید (De Silva and Turchini, 2009). با روند افزایشی استفاده از پودر ماهی، مطالعاتی به منظور یافتن جایگزین مناسب به عنوان منبع تامین کننده پروتئین خوراک آبریان آغاز گردید که از آن جمله می توان به استفاده از آرد تخمیر شده برگ باقلا سیاه (Ramachandran and Ray, 2007)، آرد گیاه لوسیانا (Bairagi et al., 2004)، پودر گاماروس (عظیمی و همکاران، ۱۳۹۰) و آرد دانه کنجد (Mukhopadhyay and Ray, 1999) اشاره نمود. با این حال پودر ماهی به دلیل تعادل آمینواسیدها، مقدار ویتامین و خوش خوراکی از ارزش بالایی برخوردار است (Tacon, 1993). لذا توجه به برخی موارد خاص همچون میزان انرژی، پروتئین و چربی از ضروریات تولید خوراک است. برای مثال تامین انرژی مورد نیاز ماهی بسیار مهم است چراکه خوردن بیش از اندازه خوراک ممکن است پروتئین مصرفی را محدود کرده و رشد را کاهش دهد (NRC, 1993). استفاده از منابع پروتئینی جانوری به علت خوش خوراکی برای گونه قزل آلا رنگین کمان بیشتر مد نظر قرار دارد، لذا تاکنون موارد مختلفی به عنوان منابع پروتئینی جانوری همچون پودر کرم خاکی (Tacon, 1985) و پودر آلون

حشرات (Sogbesan et al., 2005) مورد بررسی قرار گرفته است.

در این بین آنتن منشعب ها به عنوان شاخه ای از سخت-پوستان آبرزی نیز می توانند به عنوان یکی از این منابع جانوری مورد بررسی قرار گیرند. تولید انبوه و ارزان قیمت گونه های متعلق به جنس دافنی در صنعت آبرزی-پروری حائز اهمیت است. پودر این آبرزی می تواند به عنوان منبع پروتئین جانوری مورد توجه قرار گیرد. انواع گونه های متعلق به این جنس در سرتاسر جهان وجود دارند. یکی از خصوصیات عمده دافنی ها این است که بخش اصلی بدن بوسیله یک اسکلت خارجی حفاظت می شود که تحت عنوان کاراپاس شناخته می شود و از جنس کیتین است که نوعی فاکتور ضد تغذیه ای محسوب می شود. اساس مطالعه Krogdahl و همکاران (۲۰۰۵) ترکیبات کیتینی دارای تاثیر منفی بر قابلیت هضم و جذب ماکرونوترینت های جیره می شود. وجود ترکیبات ضد تغذیه ای در منابع جایگزین باعث محدودیت استفاده از آن ها در جیره آبریان می شود. به همین منظور توجه محققان به کاهش ترکیبات ضد تغذیه ای و امکان استفاده از این منابع در جیره ماهی به صورت نامحدود بوده است که طی این بررسی ها فرآیند تخمیر به عنوان عامل کاهش دهنده ترکیبات ضد تغذیه ای و افزایش قابلیت هضم و کارایی غذایی پیشنهاد گردید (Ramachandran and Ray, 2007). تخمیر یکی از تکنولوژی های قدیمی مورد استفاده برای نگهداری مواد غذایی است. طی قرون گذشته این روش استنتاج شده و اصلاح گردیده است. امروزه تنوع بسیاری از مواد غذایی از این تکنولوژی است که در مقیاس کوچک، خانواده ها، صنایع غذایی و سرمایه گذاری بزرگ تجاری مورد استفاده قرار می گیرد. فرآیند تخمیر

تحت تاثیر فعاليت قارچی و يا باکتریایی صورت می‌گیرد. یافته‌های محققان در استفاده از میکروارگانيسم‌ها در فرآیند تخمیر نشان می‌دهد استفاده از میکروارگانيسم‌های موثر و مفید در فرآیند تخمیر اثر گذار است (Ramachandran؛ Ghosh et al., 2004؛ and Ray, 2007). باسیلوس‌ها از جمله ارگانيسم‌های مفید هستند که قابلیت تولید آنزیم‌های خارج سلولی را دارند و می‌توانند در فرآیند تخمیر به کار گرفته شوند (Bairagi et al., 2004). در سال‌های اخیر تولید ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در سطح دنیا به شدت در حال افزایش می‌باشد. لذا دستیابی به خوراک با کیفیت و ارزان قیمت می‌تواند موجب کاهش هزینه‌های تولید این ماهی و در نتیجه قیمت نهایی ماهی گردد. بر همین اساس این مطالعه با هدف مطالعه ارزیابی تاثیر پودر دافنی تخمیر شده و خام با استفاده از پنج گونه باسیلوس پروبیوتیکی و تاثیر آن بر نرخ رشد، تغذیه و نسبت کارایی ترکیبات غذایی در آلونین‌های قزل‌آلای رنگین‌کمان انجام شد.

مواد و روش‌ها

محل و طرح آزمایش

این مطالعه در اسفند ماه ۱۳۹۱ در آزمایشگاه آبی-پروری دانشگاه گنبد کاووس طراحی و طی مدت ۸ هفته اجرا گردید. در این مطالعه تعداد ۷۰۰ قطعه آلونین قزل-آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)، با وزن متوسط 0.19 ± 0.053 g از کارگاه گل‌چشمه منطقه گزنک شهرستان آمل (مازندران- ایران) تهیه گردید. آلونین‌ها پس از تهیه و انتقال به آزمایشگاه در حوضچه‌ای ۲۰۰۰ لیتری دارای گردش آب و هوادهی مستمر به مدت ۱۴ روز جهت سازگاری نگهداری شدند. تعداد ۲۰

مخزن پلاستیکی با حجم آبیگری ۱۵ لیتر، هوادهی ثابت، جریان آب با دبی ۲ لیتر در دقیقه و شرایط نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی در سالن آزمایشگاه جایابی شدند. جهت کنترل معیارهای کیفی آب مخازن پرورش لوله‌ای جهت ورود آب و لوله‌ای جهت خروج آب مازاد جهت گردش مستمر آب برای هر مخزن در نظر گرفته شد. مجموعاً آلونین‌ها پس از گذشت دوره سازگاری در ۴ تیمار آزمایشی و ۱ تیمار شاهد با تراکم ۲ آلونین در هر لیتر تقسیم شدند که مجموعاً تعداد ۳۰ آلونین در هر حوضچه ذخیره‌سازی شد. آلونین‌ها روزانه ۴ بار در ساعت‌های ۸:۰۰، ۱۲:۰۰، ۱۶:۰۰ و ۲۰:۰۰ مورد غذادهی قرار گرفتند. غذادهی در طول دوره مطالعه بر حسب ۴-۷ درصد وزن صورت گرفت (محمدي آذر و همکاران، ۱۳۸۳).

پروبیوتیک مورد استفاده

گونه‌های پروبیوتیکی استفاده شده جهت تخمیر پودر دافنی شامل پنج گونه باسیلوس پروبیوتیکی تجاری پروتکسین بود (لندن، انگلستان) که شامل: *Bacillus subtilis*، *B. licheniformis*، *B. polymyxa*، *B. laterosporus* و *circulans* بودند. باکتری‌ها در پلیت‌های تریپتیک سوی آگار (TSA) در دمای ۳۷°C به مدت ۲۴ ساعت مورد کشت قرار گرفتند. پس از کشت باکتریایی غلظت 10^8 CFU/g با استفاده از روش کدورت سنجی (Optical density) با دستگاه اسپکتوفتومتر Biochrom مدل Libera-S22 تهیه گردید. در این روش پس از برداشت توده باکتریایی با استفاده از آنس استریل از سطح محیط کشت و ترکیب آن با سرم فیزیولوژی استریل (۰/۹ وزنی/حجمی NaCl) با استفاده از دستگاه شیکر سوسپانسیون همگنی

تهیه و سپس کدورت آن علیه محلول مک فارلند با طول موج ۶۲۵ نانومتر در دستگاه اسپکتوفتومتر قرائت گردید (Gomez-Gil et al., 1998).

تخمیر پودر دافنی و تهیه جیره غذایی

دافنی مورد استفاده در این مطالعه گونه *Daphnia magna* بود که از کارگاه تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید مرجانی (آق‌قلا- گلستان) تهیه شد. دافنی‌ها پس از آگیری اولیه با استفاده از صافی پارچه‌ای جهت خشک کردن در دمای 60°C به مدت ۲۰ ساعت در آون الکتریکی قرار داده شد (Edmondson and Winberg, 1971) و پس از آن با استفاده از آسیاب الکتریکی تفال مدل VBL-999A1 (پاریس-فرانسه) به صورت پودر درآمده و با استفاده از الک یکنواخت شد. پودر تهیه شده توزین و پس از ترکیب با محلول پایه شامل ترکیبات KH_2PO_4 , 4; Na_2HPO_4 , 4; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.2; CaCl_2 , 0.0001; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.004 (به میزان ۵۰٪ وزنی/حجمی جهت آماده‌سازی برای فرآیند تخمیر مخلوط گردید و سپس در اتوکلاو با دمای 121°C درجه سانتیگراد تحت فشار یک اتمسفر به مدت ۱۵ دقیقه استریل شد. پس از اتوکلاو نمودن، سوسپانسیون باکتریایی شامل پنج گونه باسیلوس مذکور با غلظت 10^8 CFU/g به آن افزوده و جهت تخمیر در دمای 37°C به مدت ۱۵ روز درون انکوباتور قرار داده شد.

(Ramachandran and Ray, 2007). جیره‌ای نیز بدون افزودن پودر دافنی به عنوان شاهد در نظر گرفته شد و فرآینده فوق در مورد آن جیره به صورت مشابه انجام گرفت. در تهیه جیره غذایی تیمارها سعی شد تا جیره غذایی دارای پروتئین یکسان باشد به طوری که پنج جیره غذایی دارای ترکیبات تقریبی یکسان ($52/70$ درصد پروتئین؛ $8/52$ درصد چربی؛ $4653/61$ کالری بر گرم انرژی؛ $93/13$ درصد ماده خشک) با استفاده از پودر دافنی به صورت خام و تخمیر شده در سطوح ۲۰ و ۳۰ درصد تهیه شد. ترتیب تیمارهای آزمایشی و درصد جایگزینی آرد دافنی در جیره لاروهای قزل‌آلای رنگین کمان در این مطالعه شامل شاهد: جیره پایه بدون افزودن آرد دافنی، T۱: جیره دارای ۲۰ درصد دافنی تخمیر شده، T۲: جیره دارای ۳۰ درصد دافنی تخمیر شده، T۳: جیره دارای ۲۰ درصد دافنی خام، T۴: جیره دارای ۳۰ درصد دافنی خام بود. برای این منظور جیره تجاری ۲۱ بیضاء (فارس- ایران) ابتدا آسیاب شده و میزان لازم از پودر دافنی و آرد جیره تجاری با استفاده از روش مربع پیرسون محاسبه و مخلوط گردید و مجدد به شکل پلت درآمد. برای کاهش هرگونه عامل بیرونی فرایند مذکور در مورد تیمار شاهد بدون افزودن پودر دافنی صورت گرفت. آنالیز ترکیبات مغذی دافنی و جیره غذایی پیش از تهیه جیره‌های آزمایشی ارزیابی شد (جدول ۱).

جدول ۱: نتایج آنالیز تقریبی جیره مصرفی و پودر دافنی ماگنا مصرفی در این مطالعه

نوع ماده	درصد پروتئین	درصد چربی	درصد خاکستر	درصد رطوبت
جیره مصرفی	۵۰	۱۷	۹/۷۰	$10 <$
پودر دافنی ماگنا	۳۶/۶۸	۲۸/۹۹	۲۸/۱۵	۹۵/۰۱

اندازه گیری پارامترهای رشد و تغذیه

در انتهای دوره آزمایش تعداد کل آلون های هر حوضچه صید و پس از بیهوش شدن با پودر گل میخک به میزان ۱۰۰ میلی گرم در لیتر، طول و وزن آن ها با تخته زیست سنجی با دقت ۱ میلی متر و ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ گرم اندازه گیری شد. سپس بر اساس داده های بدست آمده و بر طبق فرمول های موجود، برخی از شاخص های رشد و تغذیه به شرح ذیل تعیین گردید:

(Helland et al., 1996) $100 \times [\text{مدت مطالعه} / (\text{وزن}$

اولیه $-\ln - \ln \text{وزن نهایی}]) = (\text{درصد در روز})$ نرخ رشد ویژه

(جعفریان، ۱۳۸۵) $100 \times [(\text{مدت مطالعه} \times \text{افزایش}$

وزن) $\times 0/5] = (\%)$ غذای خورده شده = غذای نسبی خورده شده

(Helland et al., 1996) $(\text{افزایش وزن} / \text{غذای خورده}$

شده) = ضریب تبدیل غذایی

(جعفریان، ۱۳۸۵) پروتئین خام خورده شده / افزایش

وزن = نسبت کارایی پروتئین

(جعفریان، ۱۳۸۵) انرژی خام دریافت شده / افزایش

وزن = نسبت کارایی چربی

(Helland et al., 1996) $100 \times [(\text{مدت مطالعه}) /$

پروتئین اولیه لاشه $\times$ وزن اولیه) - (پروتئین نهایی لاشه

$\times$ وزن نهایی) = پروتئین ابقاء شده

(Helland et al., 1996) $100 \times [(\text{مدت مطالعه}) / \text{چربی}$

اولیه لاشه $\times$ وزن اولیه) - (چربی نهایی لاشه $\times$ وزن

نهایی) = چربی ابقاء شده

روش آماری مورد استفاده

این مطالعه بر اساس طرح کاملاً تصادفی طراحی و اجرا شد که طی آن ۴ تیمار آزمایشی و ۱ تیمار شاهد هر یک با ۳ تکرار برای هر تیمار در نظر گرفته شد. داده ها پس از بررسی نرمال بودن با استفاده از آزمون شاپیرو-ویلک جهت تعیین معنی دار بودن اختلاف بین تیمارهای مختلف با استفاده از آزمون واریانس یک طرفه بر اساس آزمون دانکن در سطح ۰/۰۵ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت (نرم افزار SPSS ورژن ۱۹).

نتایج

معیارهای کیفی آب شامل دما ($1/33^\circ\text{C} \pm$)، pH ($7/63 \pm 0/08$)، هدایت الکتریکی ($450/03 \mu\text{mhos/cm} \pm 62/3012$)، شوری ($2/01 \pm 0/13 \text{mg/L}$)، قلیائیت (240mmol/L) و سختی کل ($391/6 \text{mg/L}$)، بود که در طول مدت آزمایش بین تیمارهای مختلف یکسان بود. بر اساس معیارهای رشد اندازه گیری شده در جدول ۲ نتایج نشان داد که استفاده از پودر دافنی تخمیر شده در جیره غذایی آلون های قرل آلائی رنگین کمان تاثیر معنی داری بر رشد، ضریب تبدیل غذایی و کارایی ترکیبات مغذی آلون ها داشته است به طوری که بیشترین میزان رشد وزنی مربوط به تیمار T۲ ($6/05 \pm 20/69$ گرم) و T۱ ($4/97 \pm 20/66$ گرم) می باشد که به ترتیب با ۳۰ و ۲۰ درصد از پودر دافنی ماگنای تخمیر شده فرآیند جایگزینی صورت گرفته شد ($P < 0/05$). استفاده از پودر دافنی خام نیز در تیمارهای T۳ و T۴ موجب افزایش رشد معنی دار نسبت به تیمار شاهد گردید ($P < 0/05$) هرچند بین دو تیمار دریافت کننده سطوح مختلف پودر دافنی خام اختلاف معنی داری مشاهده نشد.

جدول ۲: شاخص‌های رشد آلومین‌های قزل‌آلای رنگین کمان تغذیه شده با جیره حاوی پودر دافنی تخمیر شده و خام ($\pm$ میانگین).

تیمارهای آزمایشی					معیارهای رشد
T _۴	T _۳	T _۲	T _۱	شاهد	
۰/۵۸ $\pm$ ۰/۱۹	۰/۵۸ $\pm$ ۰/۱۹	۰/۵۸ $\pm$ ۰/۱۹	۰/۵۸ $\pm$ ۰/۱۹	۰/۵۸ $\pm$ ۰/۱۹	وزن اولیه (گرم)
۱۸/۴۹ $\pm$ ۴/۲۴ ^b	۱۹ $\pm$ ۴/۳۹ ^b	۲۰/۶۹ $\pm$ ۶/۰۵ ^a	۲۰/۶۶ $\pm$ ۴/۹۷ ^a	۱۴/۵۰ $\pm$ ۳/۶۹ ^c	وزن نهایی (گرم)
۵/۸۰ $\pm$ ۰/۴۰ ^c	۵/۸۴ $\pm$ ۰/۴۱ ^{bc}	۵/۹۶ $\pm$ ۰/۵۲ ^{ab}	۵/۹۸ $\pm$ ۰/۴۳ ^a	۵/۳۵ $\pm$ ۰/۹۴ ^d	نرخ رشد ویژه (درصد)
۱۳۰/۰۶ $\pm$ ۳۹/۶۳ ^b	۱۳۴/۸۳ $\pm$ ۴۰/۸۱ ^b	۱۵۱/۳۸ $\pm$ ۵۷/۸۹ ^a	۱۵۰/۵۸ $\pm$ ۴۷/۱۰ ^a	۹۴/۲۸ $\pm$ ۳۱/۸۲ ^c	کارایی تبدیل رشد (درصد)
۷/۴۲ $\pm$ ۱/۴۳ ^b	۴/۶۲ $\pm$ ۱/۲۵ ^{bc}	۴/۳۸ $\pm$ ۱/۵۴ ^{bc}	۴/۲۵ $\pm$ ۱/۱۸ ^c	۶/۲۸ $\pm$ ۲/۳۲ ^a	غذای نسبی خورده شده (درصد)
۱/۴۱ $\pm$ ۰/۴۲ ^b	۱/۳۸ $\pm$ ۰/۳۷ ^{bc}	۱/۳۱ $\pm$ ۰/۴۶ ^{bc}	۱/۲۷ $\pm$ ۰/۳۵ ^c	۱/۸۷ $\pm$ ۰/۶۹ ^a	ضریب تبدیل غذایی

حروف غیر مشابه در هر ردیف نشانه اختلاف معنی‌دار در سطح ($P < ۰/۰۵$) است.

در تیمار T_۱ تغذیه شده با ۲۰ درصد پودر دافنی تخمیر شده کاهش داشت ($P < ۰/۰۵$). به علاوه کارایی تبدیل رشد نشان داد تیمارهای تغذیه شده با سطوح ۲۰ و ۳۰ درصد از پودر دافنی تخمیر شده و خام بیشترین کارایی تبدیل رشد را داشته‌اند ($P < ۰/۰۵$). اختلاف بین تیمارهای آزمایشی در نسبت کارایی پروتئین، چربی و انرژی در تیمارهای T_۱ و T_۲ بیشترین مقدار در مقایسه با سایر تیمارها مشاهده شد ($P < ۰/۰۵$). (جدول ۳).

میانگین وزن نهایی ماهی در تمامی تیمارهای آزمایشی به طور معنی‌داری نسبت به وزن اولیه افزایش پیدا کرد. آلومین‌های قزل‌آلای تغذیه شده با جیره حاوی ۲۰ و ۳۰ درصد پودر تخمیر شده دافنی، به ترتیب بیشترین افزایش وزن را داشتند که از نظر آماری اختلاف معنی‌داری بین این دو تیمار مشاهده نشد ($P > ۰/۰۵$). با این حال اختلاف بین دو تیمار در نرخ رشد ویژه معنی‌دار بود ($P < ۰/۰۵$). ضریب تبدیل غذایی در تیمارهای آزمایشی از ۱/۸۷ در تیمار شاهد به ۱/۲۷

جدول ۳: شاخص‌های تغذیه‌ای در آلومین‌های قزل‌آلای رنگین کمان تغذیه شده با جیره حاوی پودر دافنی تخمیر شده و خام ($\pm$ میانگین).

تیمارها					معیارهای تغذیه‌ای
T _۴	T _۳	T _۲	T _۱	شاهد	
مکمل سازی شده با ۳۰٪ پودر دافنی خام	مکمل سازی شده با ۲۰٪ پودر دافنی خام	مکمل سازی شده با ۳۰٪ پودر دافنی تخمیر شده	مکمل سازی شده با ۲۰٪ پودر دافنی تخمیر شده	شاهد	
۱/۹۶ $\pm$ ۰/۳۸ ^b	۱/۷۴ $\pm$ ۰/۴۰ ^b	۱/۸۹ $\pm$ ۰/۵۵ ^a	۱/۸۹ $\pm$ ۰/۴۵ ^a	۱/۳۲ $\pm$ ۰/۳۳ ^c	نسبت کارایی پروتئین (گرم)
۶/۱۱ $\pm$ ۱/۴۰ ^b	۶/۲۸ $\pm$ ۱/۴۵ ^b	۶/۸۴ $\pm$ ۲ ^a	۶/۸۳ $\pm$ ۱/۶۴ ^a	۴/۷۹ $\pm$ ۱/۲۲ ^c	نسبت کارایی چربی (گرم)
۰/۱۷ $\pm$ ۰/۰۴ ^b	۰/۱۸ $\pm$ ۰/۰۴ ^b	۰/۲۰ $\pm$ ۰/۰۵ ^a	۰/۲۰ $\pm$ ۰/۰۴ ^a	۰/۱۴ $\pm$ ۰/۰۳ ^c	نسبت کارایی انرژی (کیلو کالری/گرم)
۱/۸۰ $\pm$ ۰/۴۲ ^b	۱/۸۸ $\pm$ ۰/۴۵ ^b	۲/۰۹ $\pm$ ۰/۶۳ ^a	۲/۰۱ $\pm$ ۰/۵۰ ^a	۱/۳۷ $\pm$ ۰/۳۶ ^c	میزان بهره‌برداری از پروتئین (گرم)
۶۷/۲۵ $\pm$ ۱۵/۴۴ ^a	۶۲/۸۲ $\pm$ ۱۴/۵۴ ^b	۶۱/۵۵ $\pm$ ۱۸/۰۲ ^b	۶۸/۳۴ $\pm$ ۱۶/۴۴ ^a	۳۸/۳۴ $\pm$ ۹/۷۸ ^c	میزان بهره‌برداری از چربی (گرم)

حروف غیر مشابه در هر ردیف نشانه اختلاف معنی‌دار در سطح ($P < ۰/۰۵$) است.

بحث

افزایش تولید آبزیان مختلف از جمله ماهیان و نیاز به تولید خوراک، توجه به منابع پروتئینی جایگزین با پودر ماهی را مورد توجه قرار داده است. یکی از منابع پیشنهادی که مورد مطالعه قرار گرفته است، شامل جانوران کوچک آبزی است که از آن جمله می‌توان به استفاده از دافنی در مطالعه جعفریان و همکاران (۱۳۸۸)، Adineh و همکاران (۲۰۱۳) و همچنین استفاده از پودر گاماروس در مطالعه عظیمی و همکاران (۱۳۹۰) اشاره نمود. همچنین می‌توان به مطالعه Moren و همکاران (۲۰۰۶) در استفاده از ناجورپایان در جیره غذایی آزاد ماهی اقیانوس اطلس (*Salmo salar*) اشاره نمود. علی‌رغم پیشنهاد استفاده از پودر انواع موجودات آبزی و غیر آبزی همچون گاماروس، دافنی، پودر ناجورپایان و حتی ترکیبات گیاهی همواره محدودیت‌هایی وجود داشته است که مهمترین آن‌ها وجود ترکیبات ضد تغذیه‌ای از جمله کیتین، فیتات و تانن در ساختار پیکره موجود یا ماده مورد استفاده بوده است که می‌تواند بر قابلیت هضم و جذب ترکیبات مغذی تاثیر منفی داشته باشد (عظیمی و همکاران، ۱۳۹۰، Krogdahl et al., 2005). بررسی فرآیند تخمیر با هدف کاهش ترکیبات ضد تغذیه‌ای مستلزم مطالعات گسترده و خاص خود می‌باشد. با این حال بررسی تاثیر آن بر کارایی غذایی جیره تهیه شده با ترکیبات تخمیری می‌تواند عاملی جهت بررسی تاثیر آن باشد. مدیریت میکروبی در فرآیند تخمیر از جمله موارد قابل توجهی است که در مطالعات تخمیری در حوزه آبزیان مد نظر بوده است. در واقع این به آن معنا است که استفاده از گونه‌های موثر میکروبی می‌تواند راندمان تخمیر را افزایش دهد. مطابق با این گفتار می‌توان به تخمیر گیاه نخود فرنگی، *Lathyrus*

sativus با استفاده از باسیلوس‌های پروبیوتیکی اشاره نمود که به طور قابل ملاحظه‌ای در کاهش میزان فیبر خام، فاکتورهای ضد تغذیه‌ای، تانن‌ها، اسید فایتیک، نئوروتوکسین، β -ODAP تاثیر داشته است (Ramachandran, et al., 2005). بهبود ترکیبات غذایی در جیره پس از تخمیر در مطالعه Mukhopadhyay و Ray (۱۹۹۹) نیز مشاهده شد که طی آن پس از تخمیر آرد دانه کنجد ترکیبات مغذی آن دستخوش تغییر شد بطوریکه میزان چربی خام از ۵۶ گرم در کیلوگرم آرد دانه کنجد خام بعد از تخمیر به ۶۷ گرم در کیلوگرم رسید. در مطالعات مطرح شده تلاش محققان بر آن بوده است که از گونه‌های خاص باکتریایی که معمولاً مستخرج از دستگاه گوارش خود آبزی هدف است استفاده شود. در همین زمینه Bairagi و همکاران (۲۰۰۲) از فلور میکروبی دستگاه گوارش کپور ماهی روهو، *Labeo rohita* جهت تخمیر آرد برگ عدسک آبی، *Lemna polyrrhiza* استفاده نمودند و سپس از جیره تهیه شده جهت تغذیه آلونین همان گونه استفاده نمودند. در برخی مطالعات نیز پودر جایگزین با پودر ماهی با باکتری‌های پروبیوتیکی ترکیب و استفاده شده است که از آن جمله می‌توان به مطالعه جعفریان و همکاران (۱۳۸۸) در استفاده از پودر دافنی مکمل‌سازی شده با باسیلوس‌های پروبیوتیکی، Bairagi و همکاران (۲۰۰۴) در استفاده از آرد گیاه *Leucaena leucocephala* به شکل ترکیب شده با دو گونه باسیلوس *Bacillus subtilis* و *Bacillus circulans* در تغذیه کپور ماهی روهو اشاره نمود. باسیلوس‌های پروبیوتیکی بر اساس مطالعه Bairagi و همکاران (۲۰۰۴)، Ghosh و همکاران (۲۰۰۲)، Kar و همکاران (۲۰۰۸) قادر به تولید آنزیم‌های خارج سلولی هستند و

این آنزیم‌ها موجب ارتقاء کارایی غذایی خواهند شد (جعفریان، ۱۳۸۵؛ قبادی و همکاران، ۱۳۹۳). بر همین اساس در مطالعه حاضر پنج گونه باسیلوس پروبیوتیکی جهت فرآیند تخمیر استفاده شد. نتایج بدست آمده نشان داد استفاده از پودر دافنی در هر دو حالت تخمیر شده و خام موجب افزایش معنی‌دار وزن نهایی و دیگر پارامترهای رشد در آلون‌های قزل‌آلای رنگین‌کمان شد. تغذیه با پودر دافنی خام به ترتیب موجب افزایش وزن نهایی $19 \pm 4/39$ گرم و $18/49 \pm 4/24$ گرم در مقایسه با تیمار شاهد ($14/50 \pm 3/69$ گرم) شد. معنادار بودن این اختلاف نشانگر پایین بودن ترکیبات ضد تغذیه‌ای در دافنی نسبت به گاماروس است که در مطالعه عظیمی و همکاران (۱۳۹۰) مورد بررسی قرار گرفت. با این حال وزن نهایی تیمارهای تغذیه شده با پودر تخمیر شده دافنی موجب افزایش وزن نهایی از $14/50 \pm 3/69$ گرم در تیمار شاهد به $20/66 \pm 4/97$ گرم در T۱ و نرخ رشد ویژه از $0/94 \pm 5/35$ در تیمار شاهد به $0/439$ $\pm 5/984$ در تیمار T۱ شد. افزایش معنی‌دار تیمارهای تخمیری نسبت به خام و شاهد می‌تواند موید تاثیر تخمیر بر جیره دارای پودر دافنی باشد. در تایید این یافته در مطالعه‌ای Ghosh و همکاران (۲۰۰۴)، با تخمیر جیره غذایی ماهی روهو توسط آنزیم‌های خارج سلولی *Bacillus circulans* وزن نهایی را از $3/45$ گرم در تیمار شاهد به $14/61$ گرم در تیمار آزمایشی ارتقا بخشیدند. در تشریح علل این افزایش در تیمارهای تغذیه شده با جیره دارای پودر دافنی تخمیر شده با باسیلوس-های پروبیوتیکی باید گفت تولید آنزیم‌ها خارج سلولی موجب ارتقاء ترکیبات غذایی و سهل الهضم شدن آن‌ها شده است (Ghosh et al., 2004؛ مدبری و همکاران،

۱۳۹۲؛ جعفریان، ۱۳۸۵). بهبود کارایی تغذیه‌ای جیره-های حاوی پودر دافنی تخمیر شده به شکلی بود که نسبت کارایی پروتئین، چربی و انرژی در تیمارهای آزمایشی به شکل معنی‌داری بیشتر از تیمار شاهد بود ($P < 0/05$). در بیان این افزایش باید گفت تولید آنزیم-های خارج سلولی در طول فرآیند تخمیر توسط عوامل میکروبی موجب افزایش میزان آمینواسیدهای آزاد و کاهش فیر می‌شود (Hui and Evranuz, 2012). با این شرایط ابقاء ترکیبات مغذی از جمله پروتئین افزایش می‌یابد که در این مطالعه میزان ابقاء پروتئین در تیمار تغذیه شده با ۳۰ درصد پودر دافنی تخمیر شده $22/76 \pm 6/86$ درصد مشاهده شد در حالی نرخ ابقاء چربی در این تیمار $3 \pm 0/90$ درصد بود. با این حساب می‌توان گفت بهره‌برداری از ترکیبات مغذی جیره در تیمارهای دارای پودر دافنی تخمیر شده بیشتر بوده است و هدایت چربی به تامین انرژی موجب ابقاء پروتئین گردیده است. احتمالاً همانطور که اشاره شد آنزیم‌های خارج سلولی ترشح شده توسط باسیلوس‌های پروبیوتیکی موجب شکست پیوندهای پیچیده زنجیره-های پپتیدی شده و همچنین دسترسی اسیدهای چرب را تسهیل نموده است و این موضوع باعث افزایش نسبت کارایی چربی در آلون‌های قزل‌آلای رنگین‌کمان شده است. در تیمارهای تغذیه شده با پودر دافنی تخمیر شده شاهد کاهش ضریب تبدیل غذایی و غذای نسبی خورده شده بودیم به گونه‌ای که کمترین ضریب تبدیل غذایی مربوط به تیمار T۱ ($1/273 \pm 0/352$) و بیشترین میزان آن مربوط به تیمار شاهد ($1/876 \pm 0/690$) بود. همچنین معیارهای رشد از جمله وزن نهایی بدست آمده، نرخ رشد ویژه افزایش معنی‌دار را در تیمارهای تغذیه شده با پودر دافنی تخمیر شده در مقایسه با تیمار تغذیه شده با

جیره حاوی پودر دافنی خام داشت. مطابق با این نتایج Sogbesan و Ugwumba (۲۰۰۶) با استفاده از پودر موریانه به عنوان منبع پروتئینی با نسبت‌های ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰٪ در جیره غذایی گربه ماهی، *Heterobranchus longifilis* شاهد افزایش رشد وزنی و کاهش ضریب تبدیل غذایی در تیمار آزمایشی در مقایسه با تیمار شاهد بودند. در خصوص بهبود ضریب تبدیل غذایی در تیمارهای تغذیه شده با پودر دافنی تخمیر شده و خام نسبت به تیمار شاهد نتایج مشابهی مجدداً توسط Sogbesan و Ugwumba در سال ۲۰۰۷ گزارش شد. در خصوص تاثیر باسیلوس‌های پروبیوتیکی بر فرآیند تخمیر دارای باید اشاره کرد که باسیلوس‌ها دارای فعالیت‌های سلولولیتیک و آمیلولیتیک خارج سلولی هستند و استفاده از آن‌ها موجب فعالیت آنزیم‌های سلولاز، پروتئاز و لیپاز می‌شود (Bairagi et al., 2004). در تحقیقی Ray و Mukhopadhyay (۱۹۹۹) گزارش دادند استفاده از پودر کنجد تخمیر شده به عنوان یکی از منابع جایگزین پروتئین موجب کاهش ضریب تبدیل غذایی و افزایش رشد در بچه ماهیان انگشت قد رو هو گردید. Ghosh و همکاران (۲۰۰۴) نیز از جیره تخمیر شده با *Bacillus circulans* جهت تغذیه لاروهای ماهی رو هو استفاده نمودند که نتایج بدست آمده نشان داد استفاده از جیره تخمیر شده در دوره زمانی ۵ روز موجب افزایش معیارهای رشد در آلونهای ماهی رو هو شده است. طبق مطالعات Jones (۱۹۷۵) در طول مدت تخمیر تغییرات ترکیبات مغذی همچون کاهش و حذف برخی مواد در اثر نور، فعالیت میکروبی، حرارت و اکسیژن امکان پذیر است. این در حالی است کاهش ترکیبات مغذی طی سنتز میکروبی بسیار ناچیز بوده و در عوض موجب افزایش نرخ کارایی آن‌ها می‌گردد (Wee, 1991). بهبود

نرخ کارایی ترکیبات مغذی از جمله پروتئین، چربی و انرژی از جمله عوامل بهبود رشد در ماهیان خواهد بود و امکان افزایش رشد در خصوص ماهیان تغذیه شده با جیره‌های حاوی ترکیبات تخمیر شده دور از انتظار نخواهد بود. شاخص کارایی تبدیل رشد به عنوان یک شاخص فیزیولوژی و بیوانرژتیک ماهی تحت شرایط آزمایشگاهی به جای نرخ انرژی تعیین می‌گردد (De Silva and Anderson, 1995). میزان این معیار در این مطالعه نشان داد تیمارهای تغذیه شده با سطوح ۲۰ و ۳۰٪ از پودر دافنی تخمیر شده کارایی تبدیل رشد بالاتری را در مقایسه با تیمارهای دیگر داشت. همچنین نرخ کارایی تبدیل رشد در تیمارهای تغذیه شده با جیره حاوی پودر دافنی خام نیز نسبت به تیمار شاهد به طور معنی‌داری بالاتر بود. همسو با این نتایج جعفریان و همکاران (۱۳۸۸) از پودر دافنی ماگنا به همراه باسیلوس‌های پروبیوتیکی در جیره غذایی آلون قزل‌آلای رنگین‌کمان استفاده کردند و شاهد افزایش این نرخ از $8/08 \pm 52/99$ ٪ در تیمار شاهد به $18/54 \pm 78/87$ ٪ در تیمار آزمایشی بودند. نتایج بدست آمده از این مطالعه نشان داد که استفاده از پودر دافنی ماگنا تخمیر شده با باسیلوس‌های پروبیوتیکی موجب افزایش شاخص‌های رشد و تغذیه در آلونهای قزل‌آلای رنگین‌کمان شده است. البته استفاده از پودر دافنی خام (تخمیر نشده) نیز موجب ارتقاء پارامترهای رشد در مقایسه با تیمار شاهد گردیده است. در بررسی نتایج و تحلیل آن نیز باید گفت تیمار دریافت کننده ۳۰ درصد پودر دافنی تخمیر شده نسبت به تیمار ۲۰٪ مناسب تر عمل کرده و پیشنهاد می‌شود سطوح بالاتر نیز مورد مطالعه قرار گیرد.

سپاسگزاری

نگارندگان مراتب تقدیر و تشکر خود را از همکاری صمیمانه دکتر جواد بیات کوهسار مدیریت وقت آزمایشگاههای دانشگاه گنبد کاووس و همچنین از همکاران محترم ایشان آقایان مهندس جعفرزاده، مهندس حسینی و سرکار خانم مهندس سراوانی ابراز می‌دارند.

منابع

۱. جعفریان، ح.، ۱۳۸۵. تاثیر باکتری‌های باسیلوسی تحت عنوان پروبیوتیک بر رشد، بازماندگی و فعالیت آنزیم‌های گوارشی در لارو تاس ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) در طول دوره پرورش لاروی از طریق غنی‌سازی با آرتمیا اورمیا (*Artemia urmiana*)، رساله دکتری، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.
۲. جعفریان، ح.، طاعتی کلی، م.، نظرپور، ع.ر.، ۱۳۸۸. بررسی اثر باسیل‌های پروبیوتیکی بر رشد لارو ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)، مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی، ۱۶(۳)، ۴۸-۵۹.
۳. عظیمی، ع.، حسینی، س.ع.، سوداگر، م.، اصلان پرویز، ح.، ۱۳۹۰. اثر جایگزینی پودر گاماروس با بخشی از پودر ماهی کیلکای دریای خزر بر عملکرد رشد، ضریب تبدیل غذایی و بقاء بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان. مجله علمی شیلات ایران، ۲۰(۳)، ۶۳-۷۴.
۴. قبادی، ش.، توکلی، ح.، مجازی امیری، ب.، ۱۳۹۳. اثر سطوح مختلف پروبیوتیک باکتوسل بر برخی شاخص‌های بازماندگی و ترکیبات بدن بچه

ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)، نشریه

توسعه آبزی پروری، ۸(۴)، ۷۷-۸۶.

۵. محمدی آذر، ح.، عابدیان کناری، ع. و ابطحی، ب. ۱۳۸۳. تاثیر پروبیوتیک پروتکسین بر رشد و زنده ماننی لارو ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). مجله علوم دریایی ایران، ۳(۲ و ۳): ۷۵-۶۹.

۶. مدبری، ع.، آذری تاکامی، ق.، بهمنش، ش.، خارا، حسین.، ۱۳۹۲. تاثیر مقادیر مخلف زیست‌یار حیاتی باکتوسل (*Bactocell*) در جیره غذایی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) بر فاکتورهای رشد و فلور باکتریایی، نشریه توسعه آبزی پروری ۷(۴)، ۷۷-۸۷.

7. Adineh, H., Jafaryan, H., Sahandi, J., Alizadeh, M., 2013. Effect of *Bacillus spp.* Probiotic on growth and feeding performance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) larvae. Bulgarian Journal of Veterinary Medicine, 16(1), 29-36.
8. Bairagi, A., Sarkar-Ghosh, K., Sen, S.K., Ray, A.K., 2004. Evaluation of nutritive value of *Leucaena leucocephala* leaf meal inoculated with fish intestinal bacteria *Bacillus subtilis* and *Bacillus circulans* in formulated diets for rohu, *Labeo rohita* (Hamilton) fingerlings. Aquaculture Research, 35, 436-446.
9. De-Silva, S.S., Anderson, T.A., 1995. Fish Nutrition in Aquaculture, 2-6 Boundary Row: London, Chapman & Hall, 318.
10. De-Silva, S.S., Turchini, G.M., 2009. Use of wild fish and other aquatic organisms as feed in aquaculture – a review of practices and implications in the Asia-Pacific. In M.R. Hasan and M. Halwart (eds). Fish as feed inputs for aquaculture: practices, sustainability and implications. FAO Fisheries and Aquaculture Technical Papers, 518, 63-127.
11. Edmondson, W.T., Winberg, G.G., 1971. An annual on methods for the assessment of

21. NRC (National Research Council)., 1993. Nutrient requirements of fish. Washington DC, National Academy Press, 114.
22. Ramachandran, S., Bairagi, A., Ray, A.K., 2005. Improvement of nutritive value of grass pea (*Lathyrus sativus*) seed meal in the formulated diets for rohu, *Labeo rohita* (Hamilton) fingerlings after fermentation with a fish gut bacterium. Bioresource Technology, 96, 1465-1472.
23. Ramachandran, S., Ray, A.K., 2007. Nutritional evaluation of fermented black gram (*Phaseolus mungo*) seed meal in compound diets for rohu, *Labeo rohita* (Hamilton), fingerlings. Journal of Applied Ichthyology, 23, 74-79.
24. Sogbesan, A.O., Ugwumba, A.A.A., 2006. Nutritional evaluation of Termite (*Macrotermes subhaylinus*) meal as animal protein supplements in the diets of *Heterobranchus longifilis* (Valenciennes, 1840) fingerling, Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Science, 8, 149-157.
25. Sogbesan, O.A., Ajuonu, N.D., Ugwumba, A.A.A., Madu, C.T., 2005. Cost benefits of maggot meal as supplemented feed in the diets of *Heterobranchus longifilis* x *Clarias gariepinus* (Pisces-Clariidae) hybrid fingerlings in outdoor concrete tanks. Journal of Industrial and Scientific Research, 3(2), 51-55.
26. Tacon, A.G.J., Jackson, A.J., 1985. Protein sources in fish feeds. In: Cowey, C.B., Nackie, A.M., Bell, J.G., (eds.): Nutrition and Feeding in Fish. London, Academic Press, 120-145.
27. Tacon, A.G.J., 1993. Feed ingredients for warm water fish: fish meal and other processed feedstuffs. Rome, FAO Fisheries Circular, No: 856, 64.
28. Wee, K.L., 1991. Use of non-conventional feedstuff of plant origin as fish feeds is it practical and economically feasible? In: De-Silva, S.S., (ed.) Fish Nutrition Research in Asia. Asian Fisheries Society Special Publication, Vol. 5. Proceedings of the Fourth Asian Fish Nutrition Workshop. Asian Fisheries Society, Manila, Philippines, 13-32.
- secondary productivity in fresh waters. London, Blackwell; Oxford, 358.
12. Ghosh, K., Sen, S.K., Ray, A.K., 2004. Growth and survival of rohu, *Labeo rohita* (Hamilton, 1822) spawn feed diets fermented with intestine bacterium, *Bacillus circulans*. Acta Ichthyologica Piscatoria, 34(2), 155-165.
13. Gomez-Gil, B., Herrera-Vega, M. A., Aberu- Grobis, F.A., and Roque, A., 1998. Bioencapsulation of two different vibrio species in nauplii of the Brine shrimp (*Artemia fransiscana*). Applied Environmental microbiology, 64, 2318-2322.
14. Helland, S.J., Grisdale, H.B., Nerland, S., 1996. A simple method for the measurement of daily feed intake of groups of fish in tanks. Aquaculture, 139, 157-163.
15. Hui, Y.H., Ervanuz, E.O., 2012. Handbook of Plant-Based Fermented Food and Beverage Technology, Second Edition: Florida, CRC Press. 821.
16. Jones, I.D., 1975. Effects of processing by fermentation on nutrients. In Nutritional Evaluation of Food Processing. Ed R.S. Harris and E. Karmas, 2nd ed: Westport, Avi Pub., 324 p.
17. Kar, N., Ghosh, K., 2008. isolation and characterization of extracellular enzyme producing bacilli in the digestive tracts of Rohu, *Labeo rohita* (Hamilton) and Murrel, *Channa punctatus* (Bloch). Asian Fisheries Science, 21, 421-434.
18. Krogdahl, A., Hemre, G.I., Mommsen, T.P., 2005. Carbohydrates in fish nutrition: digestion and absorption in post larval stages. Aquaculture Nutrition, 11, 103-122
19. Moren, M., Suontama, J., Hemre, G.I., Karlsten, O., Olsen, R.E., Mundheim, H., Julshamn, K., 2006. Element concentrations in meals from krill and amphipods, possible alternative protein sources in complete diets for farmed fish. Aquaculture, 261, 174-181.
20. Mukhopadhyay, M., Ray, A.K., 1999. Effect of fermentation on the nutritive value of sesame seed meal in the diets for rohu, *Labeo rohita* (Hamilton), fingerling. Aquaculture Nutrition, 5, 229-236.