

اثرات سین‌بیوتیک تجاری بایومین ایمبو (Biomin®IMBO) بر عملکرد رشد، برخی شاخص‌های بیوشیمیایی و ایمونولوژیک موکوس بافت پوست ماهی کاراس معمولی (*Carassius carassius*)

نجمه شیخ‌زاده^{*}، مرضیه حیدریه^۲

۱- گروه بهداشت مواد غذایی و آبریان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران، صندوق پستی: ۵۱۶۶۶-۱۶۴۷۱

۲- گروه دامپزشکی و علوم دامی، پژوهشکده کشاورزی هسته‌ای، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، کرج، ایران، صندوق پستی: ۳۱۴۸۵ / ۴۹۸

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۲/۱۲

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۰/۱۱

چکیده

در این مطالعه، اثرات سین‌بیوتیک تجاری بایومین ایمبو با میزان ۱ و ۵ گرم در کیلوگرم جیره بر عملکرد رشد، برخی شاخص‌های بیوشیمیایی سرم و پاسخ‌های ایمونولوژیک موکوس بافت پوست ماهی کاراس معمولی (*Carassius carassius*) بررسی گردید. ماهیان با میانگین وزنی $0/36 \pm 8/03$ گرم به طور کاملاً تصادفی به ۲ تیمار و گروه شاهد با ۳ تکرار (۹ آکواریوم و هر آکواریوم شامل ۱۲ قطعه ماهی) تقسیم شدند. ماهیان به مدت ۴۵ روز با جیره آماده‌سازی شده مورد تغذیه قرار گرفتند. میزان رشد در تیمار ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خوراک ماهی در مقایسه با گروه شاهد افزایش معنی‌داری نشان دادند ($P < 0/05$). میزان گلوکز و کلسترول در سرم ماهیان نیز به طور معنی‌داری نسبت به گروه شاهد کاهش داشتند ($P < 0/05$). به طور مشابه، فعالیت پروتئاز و لیزوزیم در موکوس بافت پوست ماهیان در هر دو تیمار در مقایسه با شاهد افزایش معنی‌داری داشتند ($P < 0/05$). براساس نتایج به دست آمده، می‌توان بیان نمود که افزودن سین‌بیوتیک تجاری بایومین ایمبو به طور ویژه با میزان ۵ گرم در کیلوگرم جیره می‌تواند منجر به بهبود عملکرد رشد، برخی پارامترهای بیوشیمیایی و ایمنی موکوسی پوست در ماهی کاراس معمولی شود.

کلمات کلیدی: ماهی کاراس معمولی، سین‌بیوتیک، Biomin®IMBO، رشد، پاسخ‌های ایمنی موکوسی.

مقدمه

در صنعت پرورش ماهی، رشد سریع و مقاومت بالا در برابر عوامل بیماری‌زا بسیار مهم است. بدین منظور، مطالعات زیادی در خصوص یافتن ترکیبات مناسب جهت ایجاد مقاومت در برابر عوامل بیماری‌زا در زمان بروز استرس‌های فراوان در دوره پرورش و افزایش رشد در گونه‌های مختلف ماهی انجام شده است (Sakai, 1999). از این گونه ترکیبات مورد استفاده در آبزیان می‌توان به ترکیبات صناعی، مشتقات باکتریایی و قارچی، ویتامین‌ها، هورمون‌ها و ترکیبات حیوانی اشاره نمود (Sakai, 1999). استفاده از مکمل‌های غذایی مثل پروبیوتیک‌ها و پری‌بیوتیک‌ها از طریق مکانیسم‌های مختلفی می‌تواند منجر به بهبود عملکرد رشد و سیستم ایمنی از جمله افزایش سطح فعالیت پارامترهای ایمنی موکوس را به همراه داشته باشند (Hoseinifar et al., 2015).

سین‌بیوتیک ترکیبی از پروبیوتیک و پری‌بیوتیک است که اثرات سودمندی بر افزایش ماندگاری و بقاء زیستی یک یا تعداد معدودی از باکتری‌های بخش بالایی روده دارد. بنابراین، منجر به بهبود بقاء و رشد میزبان می‌گردد (Mehrabi et al., 2012). علی‌رغم وجود گزارشات متعدد در زمینه تأثیر پروبیوتیک‌ها و پری‌بیوتیک‌ها به طور جداگانه در صنعت پرورش آبزیان، در حال حاضر اطلاعات محدودی در زمینه استفاده از سین‌بیوتیک‌ها (ترکیب پروبیوتیک و پری‌بیوتیک) در جیره غذایی آبزیان وجود دارد. سین‌بیوتیک تجاری بایومین ایمبو (Biomin®IMBO) از پروبیوتیک (DSM530/IMB52/نتروباکتریوم فسیوم *Enterococcus faecium*) و پری‌بیوتیک (صفوی و

همکاران، ۱۳۹۷). اخیراً مزیت استفاده از سین‌بیوتیک بایومین ایمبو در جیره برخی از گونه‌های مختلف تجاری ماهی گزارش شده است (قاسم پوردهاقانی و همکاران، ۱۳۹۲؛ Montajami et al., 2012; Nekoubin et al., 2012; Ghasempour Dehaghani et al., 2013; Jafarzadeh et al., 2015; Vaezi et al., 2016).

ماهی کاراس معمولی (*Carassius carassius*) جزء خانواده کپورماهیان و یکی از شش گونه اصلی پرورشی ماهیان آب شیرین در سیستم توأم ماهیان گرمابی در برخی از کشورها مانند چین است. مقاومت و سازگاری بالای ماهی کاراس معمولی در شرایط استرس‌زا، پرزاد و ولد بودن و داشتن گوشت لذیذ و مغذی علیرغم دارا بودن استخوان‌های فراوان از مزایای این ماهی است (Chiu et al., 2013) که مورد توجه برخی از پرورش‌دهندگان در کشور به خصوص در شهرهای جنوبی مانند خوزستان (به علت تحمل درجه حرارت بالا توسط ماهی کاراس معمولی) نیز قرار گرفته است. با توجه به پتانسیل پرورش ماهی کاراس معمولی در ایران و از طرف دیگر اهمیت بررسی مواد محرک ایمنی مانند سین‌بیوتیک تجاری بایومین ایمبو در این گونه ماهی، تحقیق حاضر با هدف بهبود عملکرد رشد، برخی شاخص‌های بیوشیمیایی سرم و پاسخ‌های ایمونولوژیک موکوس بافت پوست ماهی کاراس معمولی با استفاده از این سین‌بیوتیک تجاری به صورت خوراکی انجام گردید.

مواد و روش‌ها

طراحی آزمایش

این مطالعه به مدت ۴۵ روز در پژوهشکده کشاورزی هسته‌ای، کرج انجام شد. بدین منظور، ۱۰۸

قطعه ماهی کاراس معمولی سالم با میانگین وزنی $0/36 \pm 8/03$ گرم از یک مرکز تکثیر و پرورش ماهیان زینتی در گرگان خریداری شد. ماهی‌ها پس از ۱۵ روز سازگاری اولیه در آکواریوم‌های شیشه‌ای با ابعاد $90 \times 35 \times 40$ سانتی‌متر و حجم ۱۰۸ لیتر ذخیره‌سازی شدند. درجه حرارت آب $28-26$ درجه سانتی‌گراد، سختی آب $320-360$ ppm، pH برابر $7/3-7/8$ و اکسیژن $6/9-7/5$ ppm بود.

این تحقیق در یک طرح کاملاً تصادفی با ۲ تیمار، گروه شاهد و با ۳ تکرار (۹ آکواریوم و هر آکواریوم شامل ۱۲ قطعه ماهی) صورت گرفت. به منظور تهیه جیره‌های آزمایشی، تیمار ۱ با سطح ۱ گرم و تیمار ۲ با سطح ۵ گرم از سین‌بیوتیک تجاری با یومین ایمبو (شرکت BIOMIN، اتریش) به ازاء کیلوگرم خوراک ماهی، طبق روش ارائه شده توسط Ahmadifar و همکاران (۲۰۱۹) به جیره پایه افزوده شد. در این مطالعه مقادیر انتخابی براساس دوزهای مناسب در مطالعات قبلی (Montajami *et al.*, 2012; Nekoubin *et al.*, 2012; Jafarzadeh *et al.*, 2015; Vaezi *et al.*, 2016) بود. ماهیان کاراس معمولی مورد آزمایش به مدت ۴۵ روز با خوراک‌های آماده شده به میزان $2/5\%$ وزن بدن چهار بار در روز تغذیه شدند. جیره پایه مورد استفاده در این تحقیق خوراک بیومار (فرانسه) بود که آنالیز شیمیایی آن به شرح رطوبت 11% ، پروتئین خام 36% ، چربی کل 14% ، خاکستر 10% ، فیبر 4% است. قابل ذکر است به منظور حفظ سلامت خوراک و جلوگیری از واکنش‌ها و فعل و انفعالات باکتریایی در جیره، آماده‌سازی خوراک به صورت روزانه انجام گردید.

کارایی رشد

زیست‌سنجی ماهیان پس از اتمام دوره آزمایش ۴۵ روزه غذادهی با سین‌بیوتیک تجاری با یومین ایمبو صورت پذیرفت. همه ماهی‌های موجود در هر آکواریوم به صورت مجزا با استفاده از عصاره گل میخک (۵۰ میکرولیتر در لیتر) بی‌هوش شدند (Keene and Noakes, 1998). براساس داده‌های به دست آمده برخی شاخص‌های رشد مانند وزن نهایی، طول نهایی، ضریب چاقی و نرخ رشد ویژه ماهیان براساس روابط ذیل مورد بررسی قرار گرفت.

رابطه (۱): افزایش وزن نهایی بدن = وزن نهایی - وزن اولیه

رابطه (۲): افزایش طول بدن = طول نهایی - طول اولیه

رابطه (۳): ضریب چاقی = (میانگین وزن / میانگین طول استاندارد) $\times 100$

رابطه (۴): نرخ رشد ویژه (%) = { (لگاریتم طبیعی وزن نهایی - لگاریتم طبیعی وزن اولیه) / طول دوره پرورش } $\times 100$

جمع‌آوری و آماده‌سازی نمونه‌ها

در روز ۴۵، سه قطعه ماهی از هر آکواریوم به صورت تصادفی برداشت شد و پس از بی‌هوشی در عصاره گل میخک (۵۰ میکرولیتر در لیتر) خون‌گیری با سرنگ از ساقه دمی ماهی‌ها انجام شد. سرم‌ها به مدت ۳ ساعت در دمای اتاق نگهداری شده و سپس به مدت ۵ دقیقه و با دور ۲۰۰۰ سانتریفیوژ شدند (Khani Oushani *et al.*, 2020). سرم‌ها در میکروتیوب‌های جداگانه و در دمای $80-^{\circ}\text{C}$ درجه سانتی‌گراد تا زمان اندازه‌گیری شاخص‌های بیوشیمیایی نگهداری شدند.

بررسی شاخص‌های ایمنی در موکوس پوست ماهی‌ها

جهت بررسی میزان فعالیت لیزوزیم عصاره موکوس از روش ارائه شده توسط Sheikhzadeh و همکاران (۲۰۱۲) استفاده شد. بدین منظور، پس از تهیه ۰/۷۵ میلی گرم باکتری میکروکوکوس لیزودیکتیکوس (سیگما) در میلی لیتر بافر سیترات فسفات ۰/۱ مولار با pH برابر ۸/۵، ۲۵ میکرو لیتر عصاره موکوس با ۱۷۵ میکرو لیتر بافر سیترات فسفات در میکرو پلیت‌های الایزا مخلوط گردید. جذب نوری در ۴۵۰ نانومتر برای ۳۰ دقیقه به طور پیوسته اندازه گیری شد. مقداری از موکوس که سبب ۰/۰۰۱ کاهش میزان جذب در مدت زمان یک دقیقه گردید، به عنوان یک واحد در میلی گرم در نظر گرفته شد.

بررسی فسفاتاز قلیایی موکوس پوست ماهی با روش ارائه شده توسط Palashka و همکاران (۲۰۰۸) انجام شد. نمونه‌های موکوس با میزان هم حجم از پی‌نیترو فنل فسفات ۴ میلی مولار، تهیه شده در ۱۰۰ میلی مولار آمونیوم بی‌کربنات حاوی ۱ میلی مولار کلرید منیزیم با pH برابر ۷/۸ انکوبه شد. تغییرات در میزان جذب نوری در ۴۰۵ نانومتر در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ ساعت به صورت پیوسته اندازه گیری شد. مقداری از آنزیم که سبب آزاد نمودن میلی مول از ترکیب پی‌نیترو فنل در مدت زمان یک دقیقه گردید، به عنوان ۱ واحد فعالیت آلکالین فسفاتاز منظور گردید. برای پی‌نیترو فنل ضریب جذب برابر $1/78 \times 10^4$ مول در سانتی متر در نظر گرفته شد.

فعالیت آنزیمی پروتئاز در موکوس بافت پوست ماهی براساس هیدرولیز آزوکازین به عنوان سوبسترا اندازه گیری شد. در این روش حجم برابری از نمونه

به منظور سنجش برخی از پارامترهای ایمنی موکوس از جمله پروتئین کل، فسفاتاز قلیایی، پروتئاز و همچنین لیزوزیم در پایان دوره آزمایش اقدام به جمع آوری موکوس ماهیان شد. ۹ قطعه ماهی از هر آکواریوم در عصاره گل میخک (۵۰ میکرو لیتر در لیتر) بی‌هوش شده و موکوس جلدی ماهی‌ها به آرامی با استفاده از کاردک پلاستیکی نرم جمع آوری گردید. نمونه‌های موکوس هر ۹ ماهی در هر آکواریوم به عنوان یک نمونه در نظر گرفته شد. در حین نمونه گیری برای جلوگیری از آلوده شدن نمونه‌ها با خون یا ترشحات سلول‌های اپی تلیال، دقت شد تا به پوست آسیبی نرسد. نمونه‌ها با ۴ برابر حجم موکوس جمع آوری شده بافر تریس (pH برابر ۵، ۸ میلی مولار تریس اسید کلریدریک، ۱۵۰ میلی مولار سدیم کلرید) هموژن شده، با دور ۴۰۰۰ به مدت ۳۰ دقیقه و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ شده و مایع رویی لیوفیلیزه گردید (Sheikhzadeh *at al.*, 2012). پودر لیوفیلیزه در بافر تریس حل شده و موکوس حل نشده با سانتریفوژ جدا شد. در ادامه، مایع رویی با استفاده از جریان ملایم گاز ازت تغلیظ شده و پس از عبور از فیلتر میلی پور به عنوان عصاره موکوسی تا زمان استفاده در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد فریز گردید.

اندازه گیری شاخص‌های بیوشیمیایی در سرم ماهی

سطح تری گلیسیرید، گلوکز، کلسترول و مقدار پروتئین سرم ماهی با استفاده از محلول‌ها و استانداردهای مربوطه و توسط کیت‌های تجاری و تشخیصی شرکت زیست شیمی (تهران، ایران) مورد سنجش قرار گرفتند.

شاخص‌های مختلف رشد از جمله افزایش وزن نهایی، افزایش نرخ رشد ویژه و ضریب چاقی در ماهیان تغذیه شده با سطح ۵ گرم در کیلوگرم خوراک سین بیوتیک افزایش معنی‌داری را در مقایسه با سایر گروه‌ها نشان دادند ($P < 0/05$). افزایش طول نهایی در هر دو تیمار نسبت به گروه شاهد تغییر معنی‌دار نداشتند ($P > 0/05$).

نتایج مربوط به تأثیر تغذیه سین بیوتیک بایومین ایمبو برخی از شاخص‌های بیوشیمیایی سرم خون از جمله میزان پروتئین، گلوکز، کلسترول و تری‌گلیسیرید در ماهی کاراس معمولی در جدول ۲ آورده شده است. مقادیر سرمی پروتئین و تری‌گلیسیرید در هر دو گروه تیمار نسبت به گروه شاهد تغییر معنی‌داری نداشتند ($P > 0/05$). اما کاهش معنی‌داری در میزان گلوکز و کلسترول در سرم ماهیان تغذیه شده با سطوح ۱ و ۵ گرم سین بیوتیک در کیلوگرم جیره نسبت به شاهد مشاهده شد ($P < 0/05$). نتایج مربوط به تأثیر تغذیه با دو سطح مختلف سین بیوتیک بایومین ایمبو بر میزان پروتئین کل، فسفاتاز قلیایی، پروتئاز و همچنین لیزوزیم موجود در موکوس پوست ماهی در جدول ۳ آورده شده است. تفاوت‌های بارزی در سطوح پروتئینی و فسفاتاز قلیایی موکوس پوست، میان ماهی‌های گروه‌های مختلف مشاهده نشد ($P > 0/05$). فعالیت لیزوزیم در ماهیان تغذیه شده با دو سطح ۱ و ۵ گرم سین بیوتیک نسبت به گروه شاهد از سطح معنی‌داری بالاتری برخوردار بود ($P < 0/05$). مشابه فعالیت لیزوزیم، افزایش قابل ملاحظه‌ای نیز در میزان فعالیت پروتئاز در هر دو گروه تیمار گروه‌های تیمار مشاهده شد ($P > 0/05$).

موکوس به همراه بافر آمونیوم بی‌کربنات ۱۰۰ میلی‌مولار که این بافر شامل ۷٪ (وزنی / حجمی) کازئین در آب با pH برابر ۸/۷ بود به مدت ۱۹ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. واکنش آنزیمی با اضافه کردن ۰/۶ میلی‌لیتر از ۴/۶٪ (وزنی / حجمی) تری‌کلراستیک اسید متوقف شد. سپس در دمای ۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۱۰۰۰۰ سانتریفیوژ شد. برای سنجش آنزیم قسمت رویی جداسازی شد و به همراه ۰/۵ مولار سود میزان جذب در طول موج ۴۰۵ نانومتر قرائت شد (Palaksha *et al.*, 2008).

تجزیه و تحلیل آماری

در این تحقیق در ابتدا داده‌ها با آزمون Kolmogorov-Smirnov نرمال و هم‌گرایی واریانس داده‌ها نیز با آزمون Levene انجام گردید. سپس برای تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها از واریانس یک طرفه آنوا One way ANOVA با نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ استفاده گردید. مقایسه گروه‌ها نیز با آزمون Tukey انجام و سطح معنی‌داری آزمون‌ها کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

نتایج

نتایج شاخص‌های رشد ماهی کاراس معمولی پس از ۴۵ روز تغذیه با جیره‌های حاوی سطوح مختلف سین بیوتیک تجاری بایومین ایمبو در جدول ۱ نشان داده شده است. بررسی شاخص‌های رشد و بهره‌وری غذایی نشان داد که جیره حاوی ۵ گرم سین بیوتیک تجاری در هر کیلوگرم جیره به طور موفقیت‌آمیزی باعث بهبود عملکرد رشد ماهی شد. به طوری که

جدول ۱: مقایسه میانگین شاخص های رشد ماهی های کاراس معمولی تحت تیمارهای مختلف

شاخص های رشد				گروه های آزمایش
ضریب چاقی	نرخ رشد ویژه	طول نهایی (سانتی متر)	وزن نهایی (گرم)	
$5/17 \pm 0/38$	$0/325 \pm 0/026$	$6/69 \pm 0/36$	$15/48 \pm 1/48^b$	شاهد
$6/15 \pm 1/02$	$0/342 \pm 0/018$	$6/43 \pm 1/03$	$16/32 \pm 0/93^b$	۱ گرم/کیلوگرم جیره
$8/34 \pm 0/22$	$0/402 \pm 0/015$	$6/33 \pm 0/87$	$21/12 \pm 1/18^a$	۵ گرم/کیلوگرم جیره

مقادیر به صورت (میانگین \pm انحراف معیار) ارائه شده است.

*اعداد با حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی دار بین تیمارها می باشد ($P < 0/05$).

جدول ۲: مقایسه میانگین برخی شاخص های بیوشیمیایی سرم ماهیان تغذیه شده با تیمارهای مختلف

شاخص های بیوشیمیایی سرم				گروه های آزمایش
تری گلیسرید	کلسترول	گلوکز	پروتئین	
(میلی گرم/دسی لیتر)	(میلی گرم/دسی لیتر)	(میلی گرم/دسی لیتر)	(گرم/دسی لیتر)	
$373/72 \pm 18/59$	$112/07 \pm 4/70^a$	$103/58 \pm 6/60^a$	$3/50 \pm 0/33$	شاهد
$344/33 \pm 20/62$	$79/60 \pm 12/45^b$	$71/05 \pm 3/28^b$	$3/62 \pm 1/13$	۱ گرم/کیلوگرم جیره
$363/29 \pm 19/37$	$80/55 \pm 3/05^b$	$70/00 \pm 4/07^b$	$3/66 \pm 2/12$	۵ گرم/کیلوگرم جیره

مقادیر به صورت (میانگین \pm انحراف معیار) ارائه شده است.

*اعداد با حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی دار بین تیمارها می باشد ($P < 0/05$).

جدول ۳: مقایسه میانگین حاصل از آنالیز فعالیت آنزیم ها و برخی شاخص های بیوشیمیایی موکوس بافت پوست ماهیان تغذیه شده با تیمارهای مختلف

فعالیت آنزیمی و شاخص های بیوشیمیایی موکوس بافت پوست				گروه های آزمایش
پروتئاز	فسفاتاز قلیایی	لیزوزیم	پروتئین	
(واحد/میلی گرم)	(واحد/میلی گرم)	(واحد/میلی گرم)	(گرم/دسی لیتر)	
$5/08 \pm 1/15^b$	$2/21 \pm 0/60$	$28/03 \pm 1/40^b$	$2/01 \pm 0/59$	شاهد
$12/84 \pm 0/14^a$	$2/02 \pm 0/17$	$79/51 \pm 2/15^a$	$1/63 \pm 0/37$	۱ گرم/کیلوگرم جیره
$12/51 \pm 0/43^a$	$2/33 \pm 0/10$	$79/62 \pm 2/66^a$	$1/57 \pm 0/16$	۵ گرم/کیلوگرم جیره

مقادیر به صورت (میانگین \pm انحراف معیار) ارائه شده است.

*اعداد با حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی دار بین تیمارها می باشد ($P < 0/05$).

بحث

گونه های باکتری مقاوم به دارو، استفاده از آنتی بیوتیک ممنوع شده است (FAO, 2014). یکی از روش های به کار رفته جهت حفظ سلامت آبرزی و در

در بسیاری از کشورها، به علت نگرانی عمومی از اثرات احتمالی پس مانده های آنتی بیوتیکی و یا بروز

اشاره نمود (Hoseinifar *et al.*, 2015). همچنین می توان به اثر جزء پری بیوتیک، ترکیب سین بیوتیک تجاری بایومین ایمبو در بهبود عملکرد رشدی ماهی اشاره نمود. فروکتوالیگوساکارید به عنوان جزء پری بیوتیک آن یک ترکیب غیر قابل هضم ولی قابل تخمیر است که از طریق بهبود ساختار بافتی دستگاه گوارش باعث جذب بهتر مواد مغذی و در نتیجه افزایش رشد می شود (Dimitroglou *et al.*, 2011).

مصرف سین بیوتیک بایومین ایمبو به میزان ۱ و ۵ گرم سین بیوتیک در کیلوگرم جیره سبب تغییر معنی داری در میزان تری گلیسیرید و پروتئین سرم ماهی کاراس ایجاد نکرد. نتایج این آزمایش با نتایج به دست آمده از Mehrabi و همکاران (۲۰۱۲)، مبنی بر فقدان اثر بر میزان تری گلیسیرید سرم در قزل آلاهی رنگین کمان مصرف کننده این سین بیوتیک هم خوانی دارد. از طرف دیگر افزودن سین بیوتیک بایومین ایمبو به جیره غذایی ماهی کاراس معمولی سبب کاهش معنی داری در غلظت کلسترول و گلوکز سرم نسبت به گروه شاهد شده است. در چندین تحقیق مشاهده شد که استفاده از سین بیوتیک ها سبب کاهش کلسترول سرم شده اند (Kavitha *et al.*, 2016). پروبیوتیک ها و پری بیوتیک ها از طریق جذب مستقیم کلسترول در روده و عدم اتصال به نمک های صفراوی و از طرف دیگر با تولید اسیدهای چرب زنجیره کوتاه منجر به کاهش تولید کلسترول می شوند (Dimitroglou *et al.*, 2011). در خصوص اثر سین بیوتیک ها بر میزان گلوکز سرم نتایج متناقضی وجود دارد. در این مطالعه کاهش میزان گلوکز سرم متعاقب مصرف سین بیوتیک بایومین ایمبو مشاهده شد. در مقابل، De valdez و همکاران (۱۹۹۷) نشان دادند که به کارگیری سین بیوتیک منجر به بهبود جذب

عین حال کاهش استفاده از آنتی بیوتیک ها، استفاده از مکمل های غذایی مانند سین بیوتیک ها می باشد که اخیراً مورد توجه محققین و پرورش دهندگان قرار گرفته است (FAO, 2014). سین بیوتیک ها حاوی میکروارگانیسم ها و سوسترهای مفیدی هستند که سبب بهبود عملکرد رشد و افزایش کارایی مصرف خوراک می شوند (Song *et al.*, 2014)؛ همچنین پروبیوتیک های موجود در سین بیوتیک ها سبب حفظ جمعیت مفید میکروبی، بهبود مصرف و هضم خوراک و تغییر متابولیسم باکتریایی نیز می گردند (Hoseinifar *et al.*, 2014). در مطالعه حاضر افزایش معنی دار وزن نهایی، ضریب چاقی و نرخ رشد ویژه در گروه تیمار شده با ۵۰۰ میلی گرم سین بیوتیک تجاری بایومین ایمبو به ازای یک کیلوگرم خوراک مشاهده شد. هم راستا با این نتیجه، پس از ۶۰ روز تغذیه با این سین بیوتیک تجاری عملکرد رشد در ماهی کپور معمولی در سائز انگشت قد و قزل آلاهی رنگین کمان را در مقایسه با گروه شاهد بهبود یافت (قاسم پور دهقانی و همکاران، ۱۳۹۲؛ Heidari baladehi and Firouzbaksh, 2018). به منظور تأیید نتایج این تحقیق، قاسم پور دهقانی و همکاران (۱۳۹۲) نشان دادند که افزودن سطوح مختلف این سین بیوتیک به جیره بچه ماهی کپور معمولی اثرات معنی داری بر شاخص های رشد دارد. قشلاقی و همکاران (۱۳۹۴) نیز در ماهی سوروم (*Heros severus*) در مورد اثر سین بیوتیک بایومین ایمبو بر پارامترهای رشد و بهره وری غذایی نتایج مشابهی را گزارش نمودند. از دلایل عمده افزایش بازده آبی پروری پس از استفاده از سین بیوتیک ها می توان به اثر قسمت پروبیوتیکی آن بر رشد پایدار و بهبود باکتری های مفید پروبیوتیکی در میکروفلور آبیان

پروبیوتیک در جیره ماهی قزل‌آلا رنگین کمان افزایش معنی‌داری را در فعالیت آنزیم پروتئاز نسبت به گروه شاهد در موکوس بافت پوست ماهی مشاهده کردند. استفاده از آرتیمیا غنی‌سازی شده با سین‌بیوتیک نیز افزایش معنی‌داری را در میزان فعالیت پروتئاز موکوس پوست ماهی آنجل موجب گردید (Azimirad et al., 2016).

در کل برخی باکتری‌ها که قادر به بیان فروکتوزیداز هستند قادر به تخمیر فروکتوالیگوساکاریدها می‌باشند. بنابراین، افزودن فروکتوالیگوساکاریدها در جیره قادر به تحریک رشد و زنده‌مانی این دسته از باکتری‌ها در دستگاه گوارش میزبان می‌باشند. سیستم ایمنی غیراختصاصی همه موجودات دارای گیرنده‌های شناسایی است. این گیرنده‌ها، که گیرنده‌های شبه Toll نیز نامیده می‌شوند، برخلاف گیرنده‌های شناسایی سیستم ایمنی اختصاصی، تقریباً، محدود و به صورت عمودی از طریق مادری، قابل انتقال هستند (Bricknell and Dalmo, 2005). مطالعات نشان داده است که فروکتوالیگوساکاریدها با گیرنده شبه Toll شماره ۲ وارد واکنش می‌شوند که این گیرنده در سطح غشای سلول‌هایی مانند ماکروفاژها، گرانولوسیت‌ها و سلول‌های دندریتی بیان می‌شوند که این فرایند در نهایت سبب فعال شدن سلول‌های ایمنی از طریق مسیرهای القاء سینگال می‌شود (Song et al., 2014). بنابراین، اثرات سین‌بیوتیکی این دو ترکیب /اتروکوکوس فسیوم و فروکتوالیگوساکارید سبب ایجاد اثرات مطلوب در ماهی می‌گردد.

با توجه به نتایج این مطالعه می‌توان بیان نمود که استفاده از سین‌بیوتیک تجاری بایومین ایمبو به میزان ۵ گرم در کیلوگرم جیره غذایی ماهی باعث بهبود

لاکتوز و همچنین افزایش میزان واکنش گلوکونوز و گلوکز سرم می‌شوند. از طرف دیگر، Mehrabi و همکاران (۲۰۱۲) تغییر معنی‌داری را در میزان گلوکز سرم در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان گزارش نکردند. براساس گزارشات متفاوت باید به این نکته اشاره نمود که تأثیرگذاری سین‌بیوتیک‌ها در تیمارها بسته به نوع و میزان پری‌بیوتیک، نوع پروبیوتیک، گونه ماهی و یا شرایط محیطی متغیر خواهد بود (Soltani et al., 2017).

نتایج حاصل از مطالعه اخیر نشان داد که استفاده از سطوح ۱ و ۵ گرم سین‌بیوتیک در کیلوگرم خوراک ماهی کاراس معمولی به شکل معنی‌داری باعث افزایش سطح فعالیت لیزوزیم موکوس بافت پوست شده است. سطح یا فعالیت لیزوزیم موکوس پوست یکی از مهم‌ترین شاخص‌های ایمنی در دفاع اولیه ماهیان است (Saurabh and Sahoo, 2008). هم‌راستا با نتایج حاصل از این مطالعه، مطالعات قبلی نشان داده‌اند که استفاده از سین‌بیوتیک‌ها در جیره غذایی باعث افزایش فعالیت لیزوزیم سرمی و موکوسی در ماهی می‌شوند (Sepehrfar et al., 2018). پروتئازها گروهی از آنزیم‌ها با خاصیت کاتالیزوری هیدرولیز پیوندهای پپتیدی هستند. انواع مختلف پروتئازها در موکوس ماهیان گزارش شده است که در سیستم ایمنی ذاتی ماهیان نقش بسزایی دارند (Sheikhzadeh et al., 2012). در تحقیق حاضر افزایش میزان فعالیت آنزیم پروتئاز موکوسی بافت پوست ماهی کاراس معمولی در هر دو تیمار نسبت به گروه شاهد نشان‌دهنده اثر مثبت پروبیوتیک تجاری بایومین ایمبو است. هم‌راستا با نتایج این تحقیق، Sheikhzadeh و همکاران (۲۰۱۲) با به کارگیری مخمر ساکارومایسس سروریه به عنوان

۳. قشلاقی، پ.، رشیدیان، ق.، چهارده بالادهی، ا.، باقری، ط.، غفاری فارسانی، ح.، ۱۳۹۴. تأثیر سطوح مختلف سین بیوتیک بایومین ایمبو بر پارامترهای رشد، بقاء، آنزیم‌های گوارشی و پارامترهای ایمنی موکوس ماهی سوروم (*Heros severus*) فیزیولوژی و بیوتکنولوژی آبزیان، ۱، ۷۴ تا ۴۹.

4. Ahmadifar, E., Sheikhzadeh, N., Roshanaei, K., Dargahi, N., Faggio, C., 2019. Can dietary ginger (*Zingiber officinale*) alter biochemical and immunological parameters and gene expression related to growth, immunity and antioxidant system in zebrafish (*Danio rerio*)? *Aquaculture*, 507, 341-348.
5. Azimirad, M., Meshkini, S., Ahmadifard, N., Hoseinifar, S.H., 2016. The effects of feeding with synbiotic (*Pediococcus acidilactici* and fructooligosaccharide) enriched adult *Artemia* on skin mucus immune responses, stress resistance, intestinal microbiota and performance of angel fish (*Pterophyllum scalare*). *Fish and Shellfish Immunology*, 54, 516-522.
6. Bricknell, I., Dalmo, R.A., 2005. The use of immunostimulants in fish larval aquaculture. *Fish and Shellfish Immunology*, 19, 457-472.
7. Chiu, A., Li, L., Guo, S.H. Bai, J., Fedor, C.H., Naylor, R.L., 2013. Feed and fish meal use in the production of carp and tilapia in China. *Aquaculture*, 414-415, 127-34.
8. De Valdez, D.F., Martos, G., Taranto, M.P., Lorca, G.L., Oliver, G., De Ruiz Holgado, A.P., 1997. Influence of bile on b galactosidase activity and cell viability of *Lactobacillus reuteri* when subjected to freeze-drying. *Journal of Dairy Science*, 80, 1955-1958.
9. Dimitroglou, A., Merrifield, D.L., Carnevali, O., 2011. Microbial manipulations to improve fish health and production—a Mediterranean perspective. *Fish and Shellfish Immunology*, 30, 1-16.
10. FAO, 2014. Aquaculture department. The State of World Fisheries and Aquaculture

عملکرد رشد، شاخص‌های بیوشیمیایی و همچنین تقویت ایمنی موکوسی پوست آنها می‌گردد که این اثرات مثبت در نهایت باعث افزایش تولید و کاهش هزینه پرورش خواهد شد. بنابراین، افزودن میزان ۵ گرم در کیلوگرم سین بیوتیک مذکور در خوراک ماهی کاراس معمولی توصیه می‌شود. اما انجام مطالعات تکمیلی در زمینه بررسی مکانیسم اثر این سین بیوتیک و انجام آزمون‌های چالشی در گونه‌های مختلف ماهی ضروری به نظر می‌رسد.

سپاسگزاری

در اینجا بر خود لازم می‌دانیم از زحمات کلیه کسانی که ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند سپاسگزاری نمایم.

منابع

۱. صفوی، ف.، باقری، ط.، شهبازی ناصرآباد، س.، ۱۳۹۷. تأثیر سین بیوتیک بایومین ایمبو (Biomin Imbo®) بر شاخص‌های هماتولوژی، رشد، بهروری غذا، ترکیب شیمیایی لاشه و بقای ماهی سفید خزری (*Rutilus frisii*). نشریه توسعه آبزی پروری، ۱۲، ۷۱ تا ۸۲.
۲. قاسم‌پور دهاقانی، پ.، جواهری بابلی، م.، ضیایی نژاد، س.، تقوی مقدم، ا.، پور فرهادی، م.، ۱۳۹۲. بررسی اثر مکمل غذایی سینبیوتیک بایومین ایمبوه عنوان مکمل غذایی بر عملکرد رشد، بازماندگی و فلور باکتریایی روده ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) انگشت قد. نشریه توسعه آبزی پروری، ۷، ۴۳ تا ۵۲.

- Rajabi Islami, H., 2020. Effects of dietary chitosan and nano-chitosan loaded clinoptilolite on growth and immune responses of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish and Shellfish Immunology*, 98, 210-217.
19. Mehrabi, Z., Firouzbakhsh, F., Jafarpour, A., 2012. Effects of dietary supplementation of synbiotic on growth performance, serum biochemical parameters and carcass composition in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* fingerlings. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 96, 474-481.
 20. Montajami, S., Hajiahmadyan, M., Forouhar Vajargah, M., Hosseini Zarandeh, A.S., Shihood Mirzaie, F., Hossein, S.A., 2012. Effect of synbiotic (Biomin imbo) on growth performance and survival rate of Texas cichlid (*Herichthy scyanoguttatus*) Larvae. *Global Veterinaria*, 9, 358-361.
 21. Nekoubin, H., Gharedaashi, E., Imanpour, M.R., Nowferesti, H., Asghari Moghadam, A., 2012. The influence of synbiotic (Biomin Imbo) on growth factors and survival rate of Zebra fish (*Danio rerio*) larvae via supplementation with biomar. *Global Veterinaria*, 8, 503-506.
 22. Palaksha, K.J., Shin, G.W., Kim, Y.R., Jung, T.S., 2008. Evaluation of non-specific immune components from the skin mucus of olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Fish and Shellfish Immunology*, 24, 479-88.
 23. Sakai, M. 1999. Current research status of fish immunostimulants. *Aquaculture*, 172, 63-92.
 24. Saurabh, S., Sahoo, P.K., 2008. Lysozyme: an important defense molecule of fish innate immune system. *Aquaculture Research*, 39, 223-239.
 25. Sepehrfar, D., Hoseinifar, S.H., Jafarnodeh, A., 2018. The Effects of singular or combined administration of *Pediococcus acidilactici* and Raffinos on mucosal immune parameters and intestinal histomorphology of gold fish (*Carassius auratus*). *Journal of Animal Physiology and Development*, 12, 25-34.
 26. Sheikhzadeh, N., Heidarieh, M., Pashaki, A.K., Nofouzi, K., Farshbafi, M.A., Akbari, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, p., 243.
 11. hasempour Dehaghani, P., Javaheri Baboli, M., Ziaei Nejad, S., Taghavi Moghadam, A., Pourfarhadi, M., 2013. Effects of BIOMIN®IMBO synbiotics as dietary supplementation on growth, survival and gut bacteria flora of common carp (*Cyprinus carpio*). *Journal of Aquaculture Research and Development*, 7, 43-52.
 12. Heidari Baladehi, M., Firouzbakhsh, F., 2018. Effect of synbiotic on growth and hematological parameters of rainbow trout fry. *Journal of Aquatic Ecology*, 8, 138-143.
 13. Hoseinifar, S.H., Soleimani, N., Ringo, E., 2014. Effects of dietary fructo-oligosaccharide supplementation on the growth performance, haemato-immunological parameters, gut microbiota and stress resistance of common carp (*Cyprinus carpio*) fry. *British Journal of Nutrition*, 112, 1296-1302.
 14. Hoseinifar, S.H., Roosta, Z., Hajimoradloo, A., Vakili, F., 2015. The effects of *Lactobacillus acidophilus* as feed supplement on skin mucosal immune parameters, intestinal microbiota, stress resistance and growth performance of black swordtail (*Xiphophorus helleri*). *Fish and Shellfish Immunology*, 42, 533-538.
 15. Jafarzadeh, E., Kharar, H., Ahmadnezhad, M., 2015. Effects of synbiotic (Biomin IMBO) on haematological and immunological components of Russian sturgeon, *Acipenser guldenstadti*. *Comparative Clinical Pathology*, 24, 1317-1323.
 16. Kavitha, K., Reddy, A.G., Reddy, K.K., Kumar, C.S., Boobalan, G., Jayakanth, K., 2016. Hypoglycemic, hypolipidemic and antioxidant effects of pioglitazone, insulin and synbiotic in diabetic rats. *Veterinary World*, 9, 118-121.
 17. Keene, J.L., Noakes, D.L.G., 1998. The efficacy of clove oil as an anesthetic for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture Research*, 29, 89-101.
 18. Khani Oushani, A., Soltani, M., Sheikhzadeh, N., Shamsaie Mehrgan, M.,

28. Song, S.K., Beck, B.R., Kim, D., Park, J., Kim, J., Kim, H.D., Ringo, E., 2014. Prebiotics as immunostimulants in aquaculture: A review. *Fish and Shellfish Immunology*, 40, 40-48.
29. Vaezi, M., Khara, H., Shenavar, A., 2016. Synbiotic (Biomim imbo) alters gut bacterial microflora of Russian sturgeon, *Acipenser guldenstadti* (Brandt & Ratzeburg, 1833) in a time-dependent pattern. *Journal of Parasitic Diseases*, 40, 1189–1192.
- M., 2012. Hilyses®, fermented *Saccharomyces cerevisiae*, enhances the growth performance and skin non-specific immune parameters in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish and Shellfish Immunology*, 32, 1083-1087.
27. Soltani, M., Mirzargar, S.S., Badzohreh, G.R., Farhangi, M., Valipour, A.R., 2017. Study of combined effect of fructo-oligosaccharid with *Pediococcus acidilactici* and *Lactococcus lactis* as probiotics on some growth performance, haematology and intestine bacterial flora of *Rutilus frisi katum* larva. *Journal of Fisheries Science and Technology*, 5, 71-83.