

بررسی اثر مکمل غذایی سین بیوتیک با یومین ایمبو به عنوان مکمل غذایی بر عملکرد رشد، بازماندگی و فلور باکتریایی روده ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) انگشت قد

پگاه قاسم پور دهقانی^{۱*}، مهران جواهری بابلی^۲، سعید ضیایی نژاد^۳،

احمد تقوی مقدم^۴، مسعود پورفرهادی^۵

۱- دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات خوزستان، گروه شیلات، اهواز، ایران، صندوق پستی: ۶۱۵۵۵-۶۳

۲- دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز، گروه شیلات، اهواز، ایران، صندوق پستی: ۱۹۱۵

۳- دانشگاه صنعتی خاتم الانبیاء بهبهان، دانشکده منابع طبیعی، گروه شیلات، بهبهان، ایران، صندوق پستی: ۶۳۶۱۵-۱۵۱

۴- موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی-شعبه جنوب غرب کشور، اهواز، ایران، صندوق پستی: ۶۱۳۳۵۷۳۳

۵- دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، گروه شیلات، تهران، ایران، صندوق پستی: ۱۹۵۸۵/۹۳۶

تاریخ پذیرش: ۱۳ مرداد ۱۳۹۲

تاریخ دریافت: ۹ اردیبهشت ۱۳۹۲

چکیده

این تحقیق به منظور ارزیابی اثرات مکمل سازی جیره غذایی با سین بیوتیک با یومین ایمبو که ترکیبی از پروبیوتیک انتروکوکوس فاسیوم و پری بیوتیک فروکتوالیگوساکارید می باشد، بر عملکرد رشد، بازماندگی و فلور باکتریایی روده بچه ماهی کپور معمولی انگشت قد انجام شد. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی، شامل سطوح صفر (شاهد) ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد سین بیوتیک در چهار تیمار با سه تکرار طراحی شد. بچه ماهی ها با میانگین وزن 2 ± 10 گرم و تراکم ۲۵ عدد در هر تانک پلی اتیلنی به مدت ۷۵ روز با جیره های آزمایشی تغذیه شدند. ماهیان به مدت ۶۰ روز با تیمارهای فوق تغذیه شدند و سپس ماهیان در همه تیمارها به مدت ۱۵ روز دیگر فقط غذای تجاری (شاهد) دریافت کردند تا تغییرات فلور باکتریایی روده آن ها بررسی گردد. نتایج نشان داد که ترکیب پرو و پری بیوتیک (سین بیوتیک) توانست عملکرد رشد را از قبیل افزایش وزن، درصد افزایش وزن، افزایش طول و نرخ رشد ویژه را به خوبی بهبود بخشد ($P < 0/05$) به طوری که تیمار ۱/۵ درصد در روز ۶۰ بیشترین میزان شاخص های رشدی را نشان داد و اختلاف معنی دار با تیمار شاهد داشت ($P < 0/05$) ولی بر میزان بقاء تأثیری نداشت و با درصد بقاء ۱۰۰٪ بین تیمارها اختلاف معنی داری مشاهده نشد ($P > 0/05$). ماهیان تغذیه شده با مکمل غذایی تغییرات معنی داری را در فلور باکتریایی روده نشان دادند و بیشترین میزان باکتری های اسید لاکتیک و انتروکوکوس ها در تیمار ۳ مشاهده شد که با تیمار شاهد اختلاف معنی داری داشت ($P < 0/05$) و توانست بیشترین جایگزینی پروبیوتیکی را نشان دهد، ولی با قطع مکمل غذایی در جیره، تعداد باکتری ها در روز ۷۵ کاهش یافت که بازم تیمار ۳ بیشترین تعداد پروبیوتیک را نشان داد و با تیمار شاهد اختلاف معنی داری داشت ($P < 0/05$). در نتیجه به لحاظ جایگزینی پروبیوتیکی تیمار ۳ بهترین عملکرد را نشان داده است.

کلمات کلیدی: کپور معمولی، سین بیوتیک، رشد، فلور باکتریایی.

مقدمه

در طول دهه گذشته اکولوژی میکروبی دستگاه گوارش انواع آبزیان آب شیرین و دریایی توسط بسیاری از پژوهشگران بررسی شده است. ثابت شده است که جمعیت باکتریایی ساکن روده، استقرار میکروارگانیزم‌های بیماری‌زا را در دستگاه گوارش تحت تاثیر قرار می‌دهند. با این حال نقشی که هر یک از میکروب‌های موجود در دستگاه گوارش در سلامت یا تغذیه آبزیان ایفا می‌کنند هنوز به درستی درک نشده است و نیازمند انجام تحقیقات بیشتری می‌باشد. استفاده از مکمل‌های غذایی مانند پروبیوتیک‌ها، پری بیوتیک‌ها و سین بیوتیک‌ها به منظور افزایش رشد و بهبود جمعیت باکتریایی دستگاه گوارش از ایده‌های مطرح می‌باشد (Hoseinifar et al., 2010). سین بیوتیک به صورت ترکیبی از یک پروبیوتیک و پری بیوتیک تعریف می‌گردد و پنداشته می‌شود سین بیوتیک‌ها از اثرات هر دوی این اجزاء بهره‌مند می‌باشد (Ai et al., 2011). *Enterococcus faecium* از باکتری‌های لاکتوباسیلوس است که ساکنین غالبی از اکوسیستم روده ماهی را از طریق تولید باکتروسین‌ها تشکیل می‌دهند، که از رشد پاتوژن‌های خاصی در ماهی جلوگیری می‌کند، بنابراین اثرات مثبتی در میکروفلورای میزبان دارند (Ringo and Gatesoupe, 1998). همچنین افزایش تعداد لاکتوباسیل‌ها در روده از طریق به کارگیری الیگوساکاریدها که خاصیت پری بیوتیکی دارند، اثرات سودمندی را بر رشد میزبان خواهد داشت (پورامینی و حسینی، ۱۳۸۶). محققان مختلفی اثرات سودمند استفاده از پروبیوتیک‌ها و پری بیوتیک‌ها را بر گونه‌های مختلف ماهی و میگو گزارش کرده‌اند (Li and Gatlin, 2003). مشخص شده که

پروبیوتیک انتروکوکوس فاسیوم و پری بیوتیک فروکتوالیگوساکارید باعث افزایش ایمنی غیر اختصاصی ماهی (Soleimani et al., 2012; Sun et al., 2011) و افزایش راندمان رشد ماهی می‌شود (Wang et al., 2008; Sun et al., 2011; Mehrabi et al., 2012; Soleimani et al., 2012). مطالعات صورت گرفته بر تاثیر ترکیب پروبیوتیک انتروکوکوس فاسیوم و پری بیوتیک فروکتوالیگوساکارید افزایش پارامترهای رشد را در بچه ماهی سفید (طالبی حقیقی و همکاران، ۱۳۸۹) و بچه ماهی قزل آلائی رنگین کمان انگشت قد (محرابی و همکاران، ۱۳۸۹) نشان داده است. بررسی اثر سین بیوتیک ذکر شده در این مطالعه بر روی ماهی کپور معمولی بوده که از گونه‌های پرورشی رایج در دنیا و نیز کشور ما می‌باشد. این ماهی در سال ۲۰۰۷ از نظر میزان تولید با ۲/۳ میلیون تن رتبه‌ی هفتم را در بین آبزیان پرورشی در سطح دنیا به خود اختصاص داده است (FAO, 2012). همچنین بنا به گزارش فائو، ایران نیز رتبه‌ی هفتم را در میزان تولید این ماهی در سال ۲۰۰۷ در بین کشورها داشته است. هدف از این مطالعه تعیین اثر مکمل سین بیوتیک بایومین ایمبو بر شاخص‌های رشد، بازماندگی و فلور باکتریایی بچه ماهی کپور معمولی بوده است.

مواد و روش‌ها

این مطالعه در پژوهشکده آبی‌پروری جنوب کشور - اهواز، به مدت ۷۵ روز انجام شد. بچه ماهی‌های کپور معمولی پس از سازگاری اولیه به تعداد ۲۵ عدد در هر تانک پلی اتیلنی ۲۵۰ لیتری با میانگین وزن تقریبی 2 ± 10 گرم ذخیره‌سازی شدند. جهت تامین اکسیژن مورد نیاز بچه ماهی‌ها، در داخل هر

زیست سنجی بچه ماهیان کپور معمولی در روز ۳۰ و ۶۰ صورت پذیرفت (Sun et al., 2011). براساس داده‌های به‌دست آمده شاخص‌های افزایش وزن، درصد افزایش وزن، افزایش طول، نرخ رشد ویژه مورد بررسی قرار گرفت (Tacon, 1990).

به منظور بررسی تعداد باکتری‌های انتروکوکوس روده و همچنین تعداد کل باکتری‌های اسید لاکتیک زیست پذیر موجود در فلور باکتریایی روده بچه ماهی کپور معمولی تغذیه شده با سطوح مختلف سین بیوتیک با یومین ایمبو در روزهای ۶۰ و ۷۵ از هر تانک ۴ عدد ماهی به طور تصادفی جهت انجام آزمایشات باکتریایی انتخاب گردید. پس از انتقال به آزمایشگاه بچه ماهیان با وارد کردن ضربه فیزیکی به ناحیه سر کشته شده و سپس با آب استریل شستشو داده شدند. جهت از بین بردن کامل باکتری‌های موجود در سطح خارجی بدن بچه ماهی‌ها، به مدت ۶۰ ثانیه در محلول نمکی بنزالکونیوم کلراید (Benzalkonium Chloride) ۰/۱٪ شسته شده و پس از آن دوباره با آب استریل شستشو داده شده و سپس آب نمونه‌ها پس از مدتی گرفته شد (Olsen et al., 2001). پس از ضد عفونی کردن و شستشو با آب مقطر، نمونه‌ها با تیغ اسکالپل استریل، کالبدگشایی شده و روده آن‌ها خارج شد. نمونه‌های روده پس از تخلیه کامل محتویات، توزین و به منظور هموژن نمودن به هموژنایزر دستی منتقل گردید. پس از هموژن نمودن نمونه‌های روده با استفاده از محلول نمکی استریل (۰/۸۷N_۲Cl_۲/v درصد) رقت‌های ۱۰^{-۱} تا ۱۰^{-۷} تهیه گردید. از رقت‌های تهیه شده، تحت شرایط کاملاً ضد عفونی حجمی معادل ۱۰۰ μlit برداشته شد و بر روی محیط کشت Kanamycin Aesculinazid Agar (به منظور تعیین

تانک یک عدد سنگ هوا قرار گرفته و همچنین جریان آب مداوم و آهسته جهت تعویض آب و خارج سازی فضولات و مواد دفعی، به طور شبانه روزی از طریق سیستم لوله کشی در بالای هر تانک برقرار بود. این بررسی در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با ۴ تیمار و هر کدام با ۳ تکرار صورت گرفت. به منظور تهیه جیره‌های آزمایشی، تیمار ۱ با سطوح صفر درصد از سین بیوتیک (شاهد)، تیمار ۲ با سطح ۰/۵ درصد از سین بیوتیک، تیمار ۳ با سطح ۱ درصد از ترکیب سین بیوتیک و تیمار ۴ با سطح ۱/۵ درصد از سین بیوتیک (ساخت شرکت BIOMIN کشور ایتالیا)، به جیره پایه افزوده شد. ماهیان گروه‌های فوق به مدت ۶۰ روز با ترکیبات ذکر شده تغذیه شده و سرانجام ۱۵ روز دیگر فقط با غذای تجاری فاقد مکمل غذایی تغذیه شدند، تا تغییرات فلور باکتریایی روده مورد بررسی قرار گیرد. جیره پایه در این تحقیق که مکمل غذایی به آن افزوده شد به صورت پلت در ساینز SFC2 تولیدی کارخانه بتا هرزگان بود که آنالیز خوراکی آن به شرح ذیل است:

پروتئین ۲±۳۵٪، انرژی قابل هضم ۲۰۰±۳۳۰۰

کیلو کالری/کیلوگرم، فیبر خام ۲٪، چربی ۱۱±۲٪.

غذای پلت را در آب استریل خیس کرده و آن را به صورت خمیر درآورده، مکمل غذایی را به نسبت ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد به خمیر غذا اضافه کرده تا کاملاً مخلوط و همگن شود، سپس غذا به شکل پلت با ساینز مناسب درآمده و خشک گردید (Sun et al., 2011). قابل ذکر است جهت سالم ماندن و جلوگیری از واکنش‌ها و فعل و انفعالات باکتریایی در جیره، غذا به صورت روزانه تهیه و به مصرف ماهی رسانده می‌شد. غذادهی روزانه در ۳ وعده انجام می‌شد.

تیمار ۰/۵ درصد اختلاف معنی داری نشان داد ($P < 0/05$)، ولی با تیمار ۱ درصد اختلاف معنی داری نشان نداد ($P > 0/05$). در روز ۶۰ نیز، بیشترین افزایش وزن مربوط به تیمار ۴ بود ($1/29 \pm 13/93$ گرم)، ولی با تیمارهای ۲ و ۳ که حاوی دوزهای مختلف سین بیوتیک بودند، اختلاف معنی داری را نشان نداد ($P > 0/05$).

شاخص افزایش طول در بچه ماهی های تغذیه شده با سطوح مختلف سین بیوتیک در طول دوره آزمایش افزایش یافت. در روز ۳۰ آزمایش، بیشترین افزایش طول بدن در تیمار ۴ مشاهده شد ($2/1 \pm 0/47$ سانتی متر) ولی با تیمار شاهد و تیمار ۲ و ۳ به لحاظ آماری اختلاف معنی داری نشان نداد ($P > 0/05$). در روز ۶۰ نیز، بیشترین افزایش طول مربوط به تیمار ۴ بود ($2/91 \pm 0/11$ سانتی متر) که با تیمار ۲ و ۳ اختلاف معنی داری را نشان نداد ($P > 0/05$). ولی با تیمار شاهد اختلاف معنی داری داشت ($P < 0/05$).

نرخ رشد ویژه در بچه ماهی های تغذیه شده با سطوح مختلف سین بیوتیک بیشتر از تیمار شاهد بود به طوری که اختلاف معنی داری بین تیمارهای ۱/۵ و ۱ درصد و تیمار شاهد و همچنین تیمار ۱ و ۱/۵ درصد مشاهده شد ($P > 0/05$). در روز ۶۰ همه گروه های تغذیه شده با مکمل غذایی با شاهد اختلاف معنی داری نشان دادند ($P < 0/05$). یافته های به دست آمده از این تحقیق، نشان داد که افزودن ترکیب پروبیوتیک انتروکوکوس فاسیوم و پری بیوتیک فروکتولیگوساکارید به جیره غذایی بچه ماهیان کپور، تاثیری در افزایش درصد بازماندگی نداشته است. در نتیجه در انتهای دوره آزمایش، از نظر آماری، بین تیمارهای مختلف، تفاوت معنی داری مشاهده نشد ($P > 0/05$) (شکل ۱).

تعداد باکتری های انتروکوکوس موجود در روده (Suzzi *et al.*, 2000) و محیط کشت MRS Agar (جهت تعیین تعداد باکتری های اسید لاکتیک) به روش Spread کشت داده شد. آنگاه انکوباسیون پلیت ها به مدت ۵ روز در دمای اتاق و در شرایط هوازی بصورت پذیرفت (Mahious *et al.*, 2006). بعد از سپری شدن زمان انکوباسیون، باکتری های هر پلت بر حسب لگاریتم واحد کلنی (CFU) در گرم وزن روده براساس مشخصات فوتیپی شناسایی و شمارش شدند (Peter and Sneath, 1986).

جهت بررسی وجود اختلاف معنی دار بین تیمارها، نتیجه تحلیل داده ها بر پایه طرح کاملاً تصادفی و آزمون واریانس یک طرفه (One Way Anova) و دانکن در سطح اطمینان ۹۵٪ توسط نرم افزارهای SPSS (ویرایش ۱۶) و Excel انجام گردید.

نتایج

اثرات سطوح مختلف سین بیوتیک بر برخی شاخص های رشد بچه ماهی کپور معمولی در جدول ۱ ارائه شده است. بررسی شاخص های رشد در روز ۳۰ و ۶۰ دوره پرورش، نشان داد افزودن سطوح مختلف سین بیوتیک به جیره بچه ماهیان کپور معمولی به طور معنی داری سبب افزایش آن ها می شود ($P < 0/05$). بچه ماهی های تغذیه شده با ۱/۵ درصد مکمل غذایی بیشترین میزان افزایش وزن و افزایش طول و نرخ رشد ویژه را نشان دادند. به طوری که در انتهای دوره تفاوت معنی داری بین افزایش وزن بچه ماهی های تیمار ۱/۵ درصد و شاهد مشاهده شد ($P < 0/05$). در روز ۳۰ آزمایش، بیشترین افزایش وزن بدن در تیمار ۱/۵ درصد مشاهده شد ($11/04 \pm 0/36$ گرم) که با تیمار شاهد و

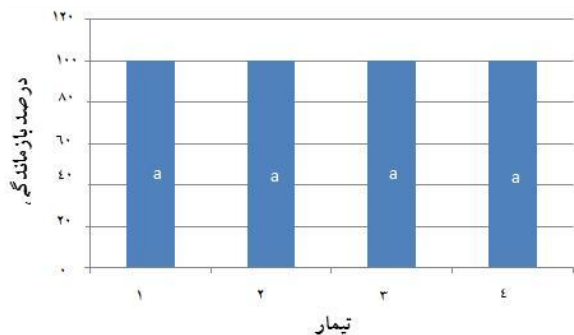
جدول ۱: افزایش وزن بدن (گرم)، درصد افزایش وزن، افزایش طول (سنتی متر) و نرخ رشد ویژه در

تیمارهای مختلف در روزهای ۳۰ و ۶۰ آزمایش در تیمارهای مختلف

| تیمار | روز نمونه برداری | افزایش وزن | درصد افزایش وزن | افزایش طول | نرخ رشد ویژه |
|-------|------------------|---------------------------|-----------------------------|---------------------------|---------------------------|
| ۱ | ۳۰ | ۶/۹۱ ± ۱/۳۳ ^a | ۶۵/۲۷ ± ۱۲/۵۵ ^a | ۱/۲۶ ± ۰/۲۸ ^a | ۰/۸۲ ± ۱/۲۹ ^a |
| | ۶۰ | ۷/۶۹ ± ۰/۹۴ ^a | ۷۲/۵۸ ± ۸/۸۸ ^a | ۱/۵۲ ± ۰/۲۵ ^a | ۰/۹ ± ۰/۰۸ ^a |
| ۲ | ۳۰ | ۷/۸ ± ۰/۵۷ ^a | ۷۳/۶۱ ± ۵/۴۲ ^a | ۱/۴۸ ± ۰/۱۵ ^a | ۰/۹۱ ± ۰/۰۵ ^a |
| | ۶۰ | ۱۱/۴۹ ± ۱/۳۹ ^b | ۱۰۸/۴۷ ± ۱۳/۱۷ ^b | ۲/۲۷ ± ۰/۲۴ ^{ab} | ۱/۲۱ ± ۰/۱ ^b |
| ۳ | ۳۰ | ۹/۶۷ ± ۰/۸۴ ^{ab} | ۹۱/۳ ± ۷/۹۲ ^{ab} | ۱/۷۷ ± ۰/۰۲ ^a | ۱/۰۷ ± ۰/۰۶ ^{ab} |
| | ۶۰ | ۱۱/۴۴ ± ۰/۱۲ ^b | ۱۰۸/۰۴ ± ۱/۲ ^b | ۲/۴۸ ± ۰/۲۹ ^b | ۱/۲۲ ± ۰/۰۰۹ ^b |
| ۴ | ۳۰ | ۱۱/۰۴ ± ۰/۳۶ ^b | ۱۰۴/۲۲ ± ۴/۴۷ ^b | ۲/۱ ± ۰/۴۷ ^a | ۱/۱۸ ± ۰/۰۲ ^b |
| | ۶۰ | ۱۳/۹۳ ± ۱/۲۹ ^b | ۱۳۱/۵۲ ± ۱۳/۲۱ ^b | ۲/۹۱ ± ۰/۱۱ ^b | ۱/۳۹ ± ۰/۰۹ ^b |

برای روز ۳۰ اعداد در یک ستون با حروف متفاوت برای هر شاخص دارای اختلاف معنی دار ($P < 0.05$) هستند، و همچنین برای روز ۶۰ اعداد در یک ستون با حروف متفاوت برای هر شاخص دارای اختلاف معنی دار ($P < 0.05$) می‌باشد.

معنی دار با شاهد داشتند ($P < 0.05$) و تیمار ۳ بیشترین جایگزینی پروبیوتیکی را نشان داد (6×10^4 CFU/g). در بررسی لاکتوباسیلوس‌ها نیز سه تیمار تغذیه شده با سین بیوتیک اختلاف معنی داری با شاهد داشتند ($P < 0.05$) ولی برخلاف بررسی آنتروکوکوس‌ها اختلاف معنی داری بین تیمارهای ۲، ۳ و ۴ دیده نشد ($P > 0.05$). بیشترین رشد لاکتوباسیلوس‌ها مربوط به تیمار ۳ (15×10^4 CFU/g) بود. ولی نتایج حاصل از بررسی باکتریایی در روز ۷۵ نشان داد که تراکم باکتریایی پس از قطع تغذیه با مکمل غذایی حاوی سین بیوتیک در روده کاهش یافت که بازم تیمار ۳ بیشترین تعداد را در باکتری‌های آنتروکوکوس و باکتری‌های اسید لاکتیک نشان داد و با تیمار شاهد اختلاف معنی داری داشت ($P < 0.05$) (شکل ۳).

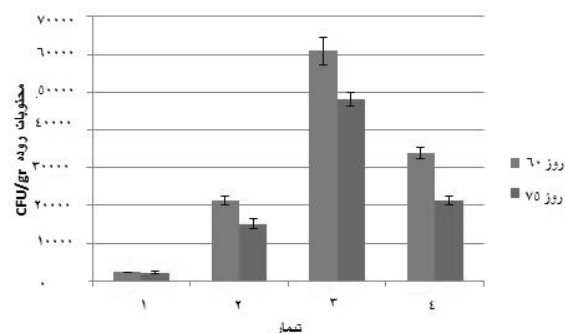


شکل ۱: درصد بازماندگی در تیمارهای مختلف طی دوره پرورش

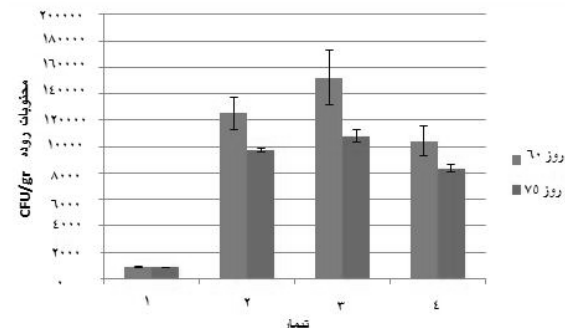
نتایج حاصل از بررسی آنتروکوکوس‌های روده در انتهای دوره تغذیه با مکمل غذایی (روز ۶۰)، همانطور که در شکل ۲ دیده می‌شود، بین چهار تیمار اختلاف معنی داری را به لحاظ آماری نشان داد ($P < 0.05$) و به طور واضح تاثیر دوزهای مختلف سین بیوتیک، بر فلور باکتریایی روده بچه ماهیان کپور مشاهده شد. در این بررسی سه تیمار تغذیه شده با سین بیوتیک اختلاف

و پری بیوتیک استفاده شده بود، گزارش کرده‌اند (Ghosh *et al.*, 2007) و دیده شده که ترکیب پروبیوتیک و پری بیوتیک‌ها اثرات سینرجیستی بیشتری را به دنبال خواهد داشت (Daniels *et al.*, 2010). تحقیقات انجام شده در زمینه پروبیوتیک‌ها و پری بیوتیک‌ها در سراسر جهان و از جمله ایران نتایج امیدوارکننده‌ای به دنبال داشته است (حسینی فر و همکاران، ۱۳۸۹). نتایج این مطالعه نشان داد که افزودن سطوح مختلف سین بیوتیک به جیره بچه ماهی کپور معمولی اثرات معنی داری بر شاخص‌های رشد دارد. در انتهای دوره بچه ماهی‌های تغذیه با سطح ۱/۵ درصد سین بیوتیک، بیشترین وزن را داشتند که اختلاف وزن آن‌ها با تیمار شاهد معنی دار بود، نتایج مشابهی درباره افزایش طول و نرخ رشد ویژه نیز به دست آمد. ولی بین تیمارهای ۱/۵، ۱ و ۱/۵ درصد مکمل غذایی از نظر شاخص‌های رشد به لحاظ آماری اختلاف معنی داری مشاهده نشد. نتایج مشابهی در مطالعه Mehrabi و همکاران (۲۰۱۲) به دست آمده است. در آن مطالعه افزودن پروبیوتیک انتروکوکوس فاسیوم و پری بیوتیک فروکتوالیگوساکارید به طور معنی داری سبب افزایش پارامترهای رشدی از جمله افزایش وزن و نرخ رشد ویژه در بچه ماهی قزل آلا رنگین کمان شد. همچنین Wang و همکاران (۲۰۰۸) نشان دادند استفاده از پروبیوتیک انتروکوکوس فاسیوم به عنوان مکمل غذایی در جیره ماهی تیلاپیا سبب افزایش پارامترهای رشد می‌شود. به علاوه افزایش وزن نهایی و نرخ رشد ویژه و کاهش ضریب تبدیل غذایی در لارو ماهی سفید دریای خزر که با پری بیوتیک فروکتوالیگوساکارید تغذیه شده بودند، بهبود قابل توجهی نسبت به تیمار شاهد نشان داد (Soleimani *et al.*, 2012). این افزایش

بررسی نتایج حاصل از آزمایشات باکتریایی در انتهای دوره پرورش، نشان داد تیمار ۳ (حاوی سین بیوتیک ۱ درصد) بهترین جایگزینی پروبیوتیکی را در طول دوره آزمایش در روده ماهیان داشته است (شکل ۲).



شکل ۲: نتایج شمارش باکتری‌های انتروکوکوس‌های محتویات روده ماهیان در روزهای ۶۰ و ۷۵ دوره پرورش (CFU/gr) در تیمارهای مختلف



شکل ۳: نتایج شمارش باکتری‌های اسید لاکتیک محتویات روده ماهیان در روزهای ۶۰ و ۷۵ دوره پرورش (CFU/gr) در تیمارهای مختلف

بحث

پروبیوتیک‌ها و پری بیوتیک‌ها همواره به دلیل داشتن مزایای فراوان به عنوان یکی از راه‌های افزایش بازده آبرزی پروری مطرح بوده‌اند. از میان فواید متعدد پروبیوتیک و پری بیوتیک‌ها، محققین تاثیر آن‌ها را در بهبود رشد آبرزیانی که در جیره غذایی آن‌ها پروبیوتیک

در مطالعه‌ای که سین بیوتیک مشابه تحقیق حاضر بر بچه ماهی قزل‌آلای انگشت‌قد بررسی شد، افزایش پارامترهای رشد و بازماندگی نسبت به تیمار شاهد مشاهده شد (Mehrabi *et al.*, 2012). به‌دست آمدن نتایج متفاوت در این مطالعات احتمالاً به دلیل تفاوت در مقدار و نحوه بکارگیری سین بیوتیک با یومین ایمبو و نیز گونه مورد بررسی می‌باشد (Lara-Flores *et al.*, 2003). باکتری‌های اسید لاکتیک از جمله باکتری‌های مفید روده‌ای هستند که امروزه اهمیت بسیار زیادی در بکارگیری به عنوان پروبیوتیک دارند (Ringo and Gatesoupe, 1998). باکتری انتروکوکوس فاسیوم به عنوان پروبیوتیکی از خانواده لاکتوباسیوس‌ها، باعث ایجاد یک فلور طبیعی پایدار در دستگاه گوارش شده و با رشد سریع و اسیدی کردن محیط مانع رشد میکروارگانیزم‌های بیماری‌زا می‌گردد (Wang *et al.*, 2008; Sun *et al.*, 2011). همچنین پری بیوتیک فروکتوالیگوساکارید به صورت انتخابی با تحریک رشد باعث افزایش باکتری‌های *Bifidobacteria* می‌گردد. این باکتری مفید به همراه پروبیوتیک انتروکوکوس فاسیوم باعث پایداری میکروفلور روده شده و به عنوان سدی در مقابل اجرام بیماری‌زا عمل می‌نماید. با وجود اینکه حضور باکتری‌های اسید لاکتیک در روده بسیاری از ماهیان ثابت شده است، اما این باکتری‌ها جزء فلور غالب روده نیستند (Ringo and Gatesoupe, 1998). افزایش تعداد لاکتوباسیل‌ها در روده از طریق بکارگیری باکتری‌های این گروه در جیره و همین‌طور بکارگیری موادی که خاصیت پری‌بیوتیکی دارند، اثرات سودمندی را به دنبال خواهد داشت (حسینی فر و همکاران، ۱۳۸۹). طبق نتایج آزمایش حاضر در بررسی

رشد در نتیجه استفاده از ترکیب پرو و پری بیوتیک می‌تواند به این دلیل باشد که باکتری‌ها می‌توانند فعالیت هضم را به واسطه تولید ویتامین و کوفاکتورها از طریق بهبود فعالیت‌های آنزیمی ارتقاء دهند (Gatesoupe, 1999). مطالعات برخی از محققین در رابطه با بی‌تاثیر بودن استفاده از پروبیوتیک‌ها و پری بیوتیک‌ها بر شاخص‌های رشد نیز گزارش شده است (Akrami *et al.*, 2009; Razeghi *et al.*, 2011). اختلاف به‌دست آمده در نتایج مطالعات اثرات پروبیوتیک‌ها و پری بیوتیک‌ها را می‌توان به تفاوت‌های درون‌گونه‌ای نسبت داد (Lara-Flores *et al.*, 2003). همچنین نحوه افزودن پرو و پری بیوتیک به جیره نیز در نتایج به‌دست آمده اثرگذار است. در مواردی که پروبیوتیک و یا پری بیوتیک به پلت‌ها الحاق شده (از طریق اسپری نمودن به الکل یا روغن بر سطح پلت‌ها) غالباً این کار موجب از بین رفتن خصوصیات فیزیکی و شکل پلت‌ها شده است (Tovar-Ramírez *et al.*, 2002). با مشاهده نتایج حاصل از تأثیرات استفاده از سطوح مختلف ترکیب پروبیوتیک انتروکوکوس فاسیوم و پری بیوتیک فروکتوالیگوساکارید بر میزان بقاء بچه ماهیان کپور معمولی، طی روزهای پرورش می‌توان چنین نتیجه گرفت که درصد بقاء بین تیمارهای آزمایشی و تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری را نشان نداد و میزان بقاء در تمامی تیمارها ۱۰۰ درصد بوده است. نتایج مشابهی با تحقیق حاضر در بررسی اثر سطوح سین بیوتیک بر میزان بقاء بچه ماهیان سفید به‌دست آمد که میزان بقاء ۱۰۰ درصد در تمامی تیمارها مشاهده شد (طالبی حقیقی و همکاران، ۱۳۸۹)، با این وجود محققان زیادی تأثیرگذار بودن استفاده از پرو و پری بیوتیک‌ها را در افزایش میزان بقاء بر روی آبزیان به اثبات رسانده‌اند،

نمونه برداری رسیدند (Ziaei-Nejad *et al.*, 2006) در نتیجه تفاوت معنی داری از نظر تعداد لاکتوباسیل ها در روده بچه ماهیان کپور معمولی مشاهده نشد. ممکن است با افزایش بیشتر استفاده از دوزهای ترکیب پروبیوتیک انتروکوکوس فاسیوم و پری بیوتیک فروکتوالیگوساکارید و در نتیجه افزایش باکتری انتروکوکوس در روده هر یک از شرایط محیطی به صورت عامل محدود کننده عمل کرده و باعث کاهش تعداد و کارایی عملکرد باکتری ها گردد.

Bagheri و همکاران (۲۰۰۸) طی مطالعات خود اظهار داشتند که تراکم باکتری های پروبیوتیک موجود در محتویات روده با گذشت زمان مصرف آن ها افزایش پیدا می کند. در تمامی این تحقیقات نشان داده شده است، زمانی که باکتری مورد نظر به صورت مرتب در جیره غذایی وجود داشته باشد و در دسترس ماهی قرار بگیرد، می تواند کلنی غالب را در روده تشکیل دهد و هنگامی که باکتری مورد نظر از جیره غذایی خارج گردد، سریعاً تعداد آن در روده ماهیان کاهش می یابد. توکمه چی (۱۳۸۶) گزارش نمود پس از تغذیه ماهیان قزل آلا با گونه لاکتوباسیلوس دلبروکئی افزایش این باکتری در روده ماهی مشاهده شد و پس از قطع تغذیه با باکتری، میزان باکتری در روده کاهش پیدا کرد. Bagheri و همکاران (۲۰۰۸)، اظهار کردند که در تغذیه ماهیان قزل آلا انگشت قد باسویه هایی از باسیلوس، میزان باکتری جدا شده از روده اختلاف معنی داری ($P < 0.05$) با گروه شاهد داشته و در گروه شاهد باکتری یافت نشده است.

در مجموع نتایج این مطالعه حاکی از آن است که نبودن تفاوت معنی دار در تعداد کلی لاکتوباسیل ها و اختلاف معنی دار در تعداد انتروکوکوس ها این نکته را

انتروکوکوس های روده، در انتهای دوره پرورش، بین چهار تیمار اختلاف معنی داری به لحاظ آماری مشاهده شد ($P < 0.05$). در این بررسی سه تیمار تغذیه شده با سین بیوتیک اختلاف معنی دار با شاهد داشتند ($P < 0.05$) و تیمار ۳ بیشترین جایگزینی پروبیوتیکی را نشان داد. این افزایش ممکن است به دلیل معرفی پروبیوتیک ها و تغییر قابل ملاحظه در نسبت باکتری های موجود در فلور روده و محدود شدن سایر باکتری ها (به خصوص باکتری های مضر) توسط پروبیوتیک ها (Ziaei-Nejad *et al.*, 2006) و تقویت پروبیوتیک ها توسط پری بیوتیک ها صورت گرفته است. در بررسی لاکتوباسیل ها نیز سه تیمار تغذیه شده با سین بیوتیک اختلاف معنی داری با شاهد داشتند ($P < 0.05$) ولی برخلاف بررسی انتروکوکوس ها اختلاف معنی داری بین تیمارها ۲، ۳ و ۴ دیده نشد ($P > 0.05$). بیشترین رشد لاکتوباسیل ها نیز مربوط به تیمار ۳ بود. بررسی نتایج حاصل از آزمایشات باکتریایی در انتهای دوره پرورش، نشان داد تیمار ۳ (حاوی سین بیوتیک ۱ درصد) بهترین جایگزینی پروبیوتیکی را در طول دوره آزمایش در روده ماهیان داشته است. این مساله بیانگر این است که دوز ۱ درصد از سین بیوتیک در جیره غذایی مناسب ترین سطح به لحاظ جایگزینی پروبیوتیکی است و در طول روده بهترین شرایط را برای استقرار باکتری های مفید فراهم می کند. تشکیل یک کلنی غالب با ارائه باکتری های اسید لاکتیک در بچه ماهیان از نتایج جالب توجه آزمایشات Ringo و Gatesoupe (۱۹۹۸) بوده است. این امر می تواند به این دلیل باشد که باکتری های مورد استفاده پس از ورود به دستگاه گوارش و گذراندن مراحل رشد تصاعدی و رسیدن به مرحله سکون به یک سطح ثابت و تعادل در زمان

فعال بر برخی از شاخص‌های رشد، مصرف جیره، بازماندگی و میکروبیوتای روده بچه فیل ماهی (*Huso huso*). مجله علمی شیلات ایران، شماره ۴، سال نوزدهم، زمستان ۸۹، صفحات ۵۵-۶۶.

۴. طالبی حقیقی، د.، فلاحتی کپور چالی، م.، و عبدالله تبار، س.ی.، ۱۳۸۹. اثرات سطوح مختلف سین بیوتیک Biomin Imbo بر رشد و بازماندگی بچه ماهیان سفید (*Rutilus Frisian kutum*). مجله شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد آزاد شهر. سال چهارم، شماره سوم، پاییز ۱۳۸۹. صفحه‌های ۱ تا ۱۵.

۵. محرابی، ز.، فریدبخش، ف.، حیدری، م.، جعفرپور، ع.، ۱۳۸۹. بررسی اثر پروبیوتیک و پری‌بیوتیک به عنوان مکمل غذایی ترکیبی بر عملکرد رشد و بازماندگی بچه ماهیان انگشت قد قزل‌آلای رنگین کمان. چهارمین کنگره علوم دامی ایران، دانشگاه تهران.

6. Ai, Q., Xu, H., Mai, K., Xu, W., Wang, J., Zhang, W., 2011. Effects of dietary supplementation of *Bacillus subtilis* and fructooligosaccharide on growth performance, survival, non-specific immune response and disease resistance of juvenile Large Yellow Croaker, *Larimichthys crocea*. *Aquaculture*, Vol. 317, pp.155-161.
7. Akrami, R., Hajimoradloo, A., Matinfar, A., Abedian, K.S., 2009. Effect of dietary prebiotic inulin on growth performance, intestinal microflora, body composition and haematological parameters of juvenile Beluga, *Huso huso* (Linnaeus, 1758). *Journal of World Aquaculture Society*, Vol. 40, pp. 771-779.
8. Bagheri, T., Hedayati, S.A., Yavari, V., Alizade, M., Farzanfar, A., 2008. Growth, survival and gut microbial load of Rainbow Trout (*Onchorhynchus mykiss*) fry given diet supplemented with Probiotic during the two months of first feeding. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, Vol. 8, pp. 43-48.
9. Daniels, C., Merrifield, D., Boothroyd, D., Davies, S., Factor, J., Arnold, K., 2010. Effect of dietary *Bacillus* spp. and mannan oligosaccharides (MOS) on European Lobster (*Homarus gammarus* L.) larvae growth performance, gut morphology and gut

نشان می‌دهد که انتروکوکوس‌ها توانسته‌اند به عنوان گونه‌ای از لاکتوباسیل‌ها، تعداد خود را در دستگاه گوارش بچه ماهیان کپور افزایش دهند و فلور غالب‌تری را تشکیل دهند و به نظر می‌رسد پروبیوتیک و پری‌بیوتیک موجود در ترکیب مورد استفاده، با افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی و ترشح این آنزیم‌ها به محوطه لوله گوارش ماهی‌ها باعث افزایش قابلیت هضم و جذب غذا و در نتیجه افزایش کارایی تغذیه‌ای گشته‌اند و در کل تیمار سوم بهترین عملکرد مورد نظر را نشان داده است.

سپاسگزاری

کمال تشکر و قدردانی خود را نسبت به زحمات فراوان کارکنان پژوهشکده آبی‌پروری جنوب کشور-اهواز، به خاطر همکاری‌های بی‌دریغشان و جناب آقای دکتر مجتبی علیشاهی که با راهنمایی‌هایشان راه را در انجام این مطالعه هموار نمودند.

منابع

۱. پورامینی، م.، حسینی فر، س.ح.، ۱۳۸۶. کاربرد پروبیوتیک‌ها و پری‌بیوتیک‌ها در آبی‌پروری، تهران، انتشارات موج سبز. ۱۲۰ صفحه.
۲. توکمه چی، ا.، ۱۳۸۶. تاثیر باکتری لاکتوباسیلوس دلبروکنی (به عنوان یک پروبیوتیک) بر روی برخی از پارامترهای پاسخ ایمنی در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان. پایان نامه دکتری تخصصی دامپزشکی در رشته میکروبیولوژی، دانشگاه ارومیه. ۳۲-۱.
۳. حسینی فر، س.ح.، میرواقفی، ع.، مجازی امیری، ب.، خوشباور رستمی، ح.، پورامینی، م.، درویش بسطامی، ک.، ۱۳۸۹. بررسی اثرات پری‌بیوتیکی مخمر *Saccharomyces cerevisiae* var. *ellipsoideus* غیر

2011. Effect of dietary mannan oligosaccharide (MOS) on growth performance, survival, body composition, and some hematological parameters in giant sturgeon juvenile (*Huso huso* Linnaeus, 1754). *Fish Physiology and Biochemistry*, Volume 38, Issue 3, pp 829-835.
21. Ringø, E., Gatesoupe, F. J., 1998. Lactic acid bacteria in fish: a review. *Aquaculture*, Vol.160, pp. 177– 203.
 22. Soleimani, N., Hoseinifar, S.H., Merrifield, D.L., Barati, M., Hassan Abadi, Z., 2012. Dietary supplementation of fructooligosaccharide (FOS) improves the innate immune response, stress resistance, digestive enzyme activities and growth performance of Caspian Roach (*Rutilus rutilus*) fry. *Fish & Shellfish immunology*, Volume 32, Issue 2, Pages 316–321.
 23. Sun, Y.Z., Yang, H.L., Ma, R.L., Song, K., Li, J.S., 2011. Effect of *Lactococcus lactis* and *Enterococcus faecium* on growth performance, digestive enzymes and immune response of grouper *Epinephelus coioides*. *Aquaculture Nutrition*, 18(3):281 - 289.
 24. Suzzi, G., Gardini, F., Lombardi, A., Vannini, L., Guerzoni, M.E., Andrighetto, C., Lanorte, M.T., 2000. A survey of the enterococci isolated from an artisanal Italian goat's cheese (*Semicotto caprino*). *Journal of Applied Microbiology*, Vol. 89, pp. 267-274.
 25. Tacon, A.G., 1990. Standard methods for the nutrition and feeding of farmed fish and shrimp. Feeding methods. Agent Laboratories Press, Redmond, Taoka. Vol.3. 208 p.
 26. Tovar-Ramírez, D., Zambonino, J., Cahu, C., Gatesoupe, F.J., Vázquez-Juárez, R., Lésel, R., 2002. Effect of live yeast incorporation in compound diet on digestive enzyme activity in Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. *Aquaculture*, Vol. 204, pp. 113–123.
 27. Wang, Y.B., Tian, Z., Yao, J., Li, W., 2008. Effect of probiotics, *Enterococcus faecium*, on Tilapia (*Oreochromis niloticus*) growth performance and immune response. *Aquaculture*, Vol. 277, pp.203-207.
 28. Ziaei-Nejad, S., Rezaei, M.H., Takami, G.A., Lovett, D.L., Mirvaghefi, A.R., Shakouri, M., 2006. The effect of Bacillus spp. bacteria used as probiotics on digestive enzyme activity, survival and growth in the Indian (*Fenneropenaeus indicus*). *Aquaculture*, Vol. 252, pp. 516-524.
 - microbiota. *Aquaculture*, Vol. 304, Issues 1-4, pp. 49-57.
 10. F.A.O, 2012. The state of world fisheries and aquaculture. FAO Fisheries and Aquaculture Department. 230 p.
 11. Gatesoupe, F.J., 1999. Review: The use of probiotics in aquaculture. *Aquaculture*, Vol. 180, pp. 147-165.
 12. Ghosh, S., Sinha, A., Sahu, C., 2007. Effect of probiotic on reproductive performance in female live bearing ornamental fish. *Aquaculture Research*, Vol. 38, pp. 518–526.
 13. Hosseinifar S.H., Zare, P., Merrifield, D.L., 2010. The effects of inulin on growth factors and survival of the Indian White Shrimp larvae and post-larvae (*Fenneropenaeus indicus*). *Aquaculture Research*, Vol. 41(9), pp. 348-352.
 14. Lara-Flores, M., Olvera-Novoa, M., Guzman-Mendez, B., Lopez-Madrid, W., 2003. Use of the bacteria *Streptococcus faecium* and *Lactobacillus acidophilus*, and the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as growth promoters in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, Vol. 216, pp. 193–201.
 15. Li, P., Gatlin, D.M., 2003. Evaluation of brewer's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) as a feed supplement for hybrid Striped Bass (*Morone chrysops* × *M. saxatilis*). *Aquaculture*, Vol. 219, pp. 681–692.
 16. Mahious, A.S., Gatesoupe, F.J., Hervi, M., Metailler, R., Ollevier, F., 2006. Effect of dietary inulin and oligosaccharides as prebiotics for Weaning Turbot, *Psetta maxima*. *Aquaculture International*, Vol. 14, pp. 219-229.
 17. 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(3):474-81.
 18. Olsen, R.E., Myklebust, R., Kryvi, H., Mayhew, T.M., Ring, E., 2001. Damaging effect of dietary inulin on intestinal enterocytes in Arctic Charr (*Salvelinus alpinus* L.). *Aquaculture Research*, Vol. 32, pp. 931-934.
 19. Peter, H., Sneath, A., 1986. Bergeys manual of systematic Bacteriology, 2:1104-1154.
 20. Razeghi, M., Akrami, R., Ghobadi, SH., AmaniDenji, K., Ezatrahimi, N., Gharaei, A.,