



اثر جیره های حاوی پودر جوانه جو و جلبک کلرلا بر شاخص های رشد، فلور میکروبی گوشت و دستگاه گوارش ماهی کپور معمولی (*Cyprinus Carpio L.*)

عبدالرحمان نسرین^{۱*}، مراد هاژاو^۱، حسن نازنین^۲، سلیمان هاوان^۳، صالح هیوار^۴

۱-استاد یار، دانشکده دامپزشکی و دارو سازی، دانشگاه سلیمانیه، عراق

۲-مربی، دانشکده دامپزشکی و دارو سازی، دانشگاه سلیمانیه، عراق

۳-کارشناس ارشد، دانشکده دامپزشکی و دارو سازی، دانشگاه سلیمانیه، عراق

۴-کارشناس، مدیر باغبانی، شهرداری سلیمانیه، عراق

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۱/۲۵

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۱/۱۵

چکیده

در این آزمایش اثر پودر حاوی جوانه جو و جلبک کلرلا به عنوان پربیوتیک بر شاخص های رشد و فلور میکروبی کپور معمولی مورد بررسی قرار گرفت. این آزمایش به این علت انجام شد تا شرایط طبیعی تغذیه ماهی کپور مورد ارزیابی قرار گیرد. اثر سطوح مختلف این مواد در جیره غذایی در یک دوره ۸۴ روزه مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که بکار گیری این مواد در جیره اثر معنی داری را در شاخص های رشد مانند وزن نهایی، رشد ویژه و زیست توده ماهی در هنگام بر داشت دارد. میزان وزن و وزن انفرادی ماهیان از ۳۴/۲۳ گرم در تیمار های ۱، ۲، ۳، ۴ و ۵ به ترتیب به ۰.۰۳۴±۵۴.۲۶، ۰.۰۵۲±۵۶.۷۷، ۰.۰۵۳±۶۲.۳۲، ۰.۰۷۴±۵۹.۵۸ و ۰.۰۹۰±۶۶.۹۳ گرم در پایان آزمایش رسید. این مقدار در جیره در تیمار ۵ که دارای ۲۰ درصد پودر جوانه جو بود بیش از تیمار های حاوی ۵ و ۱۰ درصد جلبک و ۱۰ درصد پودر جوانه جو بود. اختلاف معنی داری در ضریب تبدیل غذایی و کارایی پروتئین در بین جیره های حاوی ۵ درصد کلرلا و ۱۰ درصد پودر جوانه جو مشاهده نشد. با افزایش میزان کلرلا در جیره و تا حد ۱۰ درصد مقدار باکتریهای دستگاه گوارش افزایش یافت و با کتریهای انترو باکتر *Enterobacteriaceae* بیشتری نسبت به کنترل و دیگر تیمار ها داشتند. میزان باکتری های کل در جیره شاهد از سایر تیمار ها بیشتر بود، ولی باکتریهای انترو باکتر *Enterobacteriaceae* در جیره حاوی پودر جوانه جو بیشتر از سایر تیمار ها بود و در جیره T5 میزان کلی فرم در عضله و دستگاه گوارش بیشتر از سایر تیمار ها بود و کلی فرم کمتری در جیره T3 حاوی ۱۰ درصد کلرلا در این بخش ها دیده شد.

واژگان کلیدی: کلرلا، پودر جوانه جو، شاخص های رشد، جیره غذایی، دستگاه گوارش، انترو باکتری ها. *Enterobacteriaceae*



Effects of dietary-Chlorella and germinated barely powder on growth indices and microflora formation in muscle and intestinal duct of common carp, *Cyprinus Carpio* L.

Abdulrahman Nasreen^{*1}, Murad Hazha^W¹Hasan Nazenine², Sleman, Havan³, Salih Hevar⁴

1- Assistant Professor, College of veterinary medicine, university of Sulaimani, Iraq

2- MSc. Graduate, College of veterinary medicine, university of Sulaimani, Iraq

3. Bsc Graduate, College of veterinary medicine, university of Sulaimani, Iraq

4. Municipality of Sulaimani, director of gardeners, Sulaimaniya, Iraq

Received: 04-Apr-2020

Accepted: 14-Apr-2020

Abstract

This experiment was carried out to evaluate the effect of adding of Microalgae Chlorella and Germinated Barely Powder in diet on growth performance microbiological counts of common carp. The study was assigned to depend on using of natural products as back to nature in fish feeding. The effect of adding microalgae Chlorella and germinated barely powder in common carp, *Cyprinus carpio*, diets with different levels for 84 days and the results revealed a significant role of both additives in each of fish Final wt., Wt. Gain, Specific and relative growth rate. No significant differences observed in FCR, the FER was higher significantly in control, T2 with 5 % *Chlorella* and T4 with 10 % Germinated barely. The total Bacterial and Enterobacteriaceae count/ CFU was increased in the additives treatments with increasing the levels, the T3 with 10 % Chlorella was higher than control and other treatments were 192.5 and 150 respectively. The control treatment without any addition was higher significantly in Total Bacterial count /CFU in common carp intestine samples, the T4 with 10 % Germinated barely was higher in Total Enterobacteriaceae count/CFU in fish Intestine samples. The highest Coliform bacteria in fish muscles and intestine recorded in T5 and the lowest in T3.

Keywords: Chlorella, Germinated Barely, growth performance, feed utilization, total Bacterial count, Enterobacteriaceae count, intestine.

*Corresponding author: Abdulrahman Nasreen

Email: nasreen.abdulrahman@univsul.edu.iq

۱. مقدمه

سودمند و بیماریزا و با جایگزین شدن و چسبیدن به غشا های روده ای به اثبات رسیده است (Backhed et al., 2004). نوع غذا و روش غذا دهی، نقش های مهمی را در جایگزینی باکتری های در روده آبزیان دارند (Delzenne and Cani, 2008). تاثیر نوع جیره، فصل، مرحله تکاملی و نوع گونه آبزی در بسیاری از پژوهش ها مورد بررسی و تایید قرار گرفته است (Bairagi et al., 2002; Fjellheim et al., 2007). کیفیت گوشت ماهی با طولانی شدن زمان نگه داری آن به علت تغییر شیمیایی در بافت کاهش می یابد. این موضوع ناشی از اثر باکتری ها بر گوشت ماهی است (Mchazime and Kapute, 2018). ماهی زمانی که زنده است، باکتری ای را در بافت خود حمل نمی کند ولی در آبشش ها، روده و موکوس خود بار زیادی از باکتری ها را دارد. بعد از مرگ ماهی، این باکتری ها فعال می شوند و باعث تخریب بافت های ماهی خواهند شد (Adeosun et al., 2015). ماهیانی برای مصرف جذابیت دارند که مانند سایر اقلام غذایی عاری از میکروب های مضر، آلودگی های خارجی و داخلی و مواد سمی باشند (Grigorakis, 2007). در این ارتباط کیفیت و تازگی ماهیان از طریق تست های ارگانولپتیک مورد ارزیابی قرار می گیرد. تغییر در رنگ گوشت، بو و طعم دارای اهمیت زیادی است. یک مصرف کننده، از طریق ارزیابی های بویایی خود یک محصول را مورد سنجش قرار می دهد و زمانی محصول از نظر او قابل قبول است که در شرایط مناسبی از زمان تولید، تا مصرف نگه داری شده باشد. گرچه، در زمان نگه داری خود به خود کیفیت کاهش می یابد (Abiodun et al., 2014). با توجه به شرح بالا، هدف از این مطالعه بررسی اثر استفاده از پودر جلبک کلرلا و پودر جوانه جو در جیره غذایی و تاثیر این مواد بر شاخص های رشد و تغییرات بار میکروبی روده و گوشت ماهی کپور بود.

۲. مواد و روش ها

۲.۱. تهیه ماهی و شرایط نگهداری

تعداد ۷۵ قطعه ماهی کپور معمولی از یک مزرعه پرورش ماهی واقع در پراماروم در سلیمانیه عراق

از سال ۱۹۶۰ میلادی، میزان نرخ رشد جمعیت ۱/۶ درصد و میزان مصرف ماهی ۳/۲ در صد افزایش داشته است. مصرف گوشت جانوران خشکی زی به جز جوجه های گوشتی که ۴/۹ در صد افزایش نشان داده است، در سایر جانوران دیگر مانند گاو، گوسفند و خوک و غیره رشدی حدود ۲/۸ درصد دیده شده است. برحسب مصرف سرانه، میزان مصرف ماهی از ۹ کیلو گرم در سال ۱۹۶۱ میلادی به ۲۰/۲ کیلو گرم در سال ۲۰۱۵ رسید و میزان رشدی را در حدود ۱/۵ درصد نشان داد. این میزان رشد در سال ۲۰۱۶ و ۲۰۱۷ افزایش داشت و به ترتیب به ۲۰/۳ و ۲۰/۵ کیلو گرم برای هر فرد در سال رسید (FAO, 2018). علت این افزایش مصرف را می توان به رشد جمعیت، افزایش شهر نشینی، کیفیت تولید و تنوع در روش مصرف، افزایش درآمد سالانه و تقاضای مصرف و نیز تبلیغ از طریق کانال های تلویزیونی دانست. آبزیان تا این حد مصرف، می توانند تا ۳۴ درصد انرژی مورد نیاز هر فرد را تامین کنند. گرچه جدا از منبع انرژی، آبزیان هضم راحت تری دارند و دارای پروتیین با کیفیت تر و نیز حاوی املاح معدنی هستند. به عنوان مثال، میزان ۱۵۰ گرم گوشت ماهی، می تواند نیاز های یک فرد به پروتیین را تا ۶۰ درصد در روز تامین کند. پروتیین ماهی نقش مهمی را در تامین پروتیین جوامع فقیر در برخی از کشور ها دارد و منبع اصلی مواد پروتیینی را در بسیاری از جزایر کوچک تشکیل می دهد (FAO, 2018). باکتری ها نقش مهمی را در تحریک و تنظیم سیستم ایمنی میزبان دارند. مشخص شده است که با کتری ها در دستگاه گوارش جانوران خونگرم عملکرد هایی نظیر: تحریک به هضم مواد غذایی، ترشح موکوسی و یا حفاظت میزبان در برابر باکتری های بیماریزا را دارند. بیشتر این باکتری ها در دستگاه گوارش میزبان فعالند. این باکتری ها نقش مهمی را در جذب موادی دارند که میزبان قادر به هضم آنها نیست. لذا، سود مندی آنها در جذب برخی از مواد مغذی مانند چربی ها نیز شناخته شده است. بنا براین این باکتری ها می توانند نقش مهمی را در تکامل دستگاه گوارش، تقویت سیستم ایمنی و سلامت میزبان داشته باشند. نقش حفاظتی آنها در رقابت با باکتری های غیر

۲.۴. سنجش شاخص‌های رشد و تغذیه

جهت بررسی اثر جیره‌های غذایی بر عملکرد رشد در انتهای دوره ابتدا ماهیان با مقدار ۴۰۰ میلی گرم در لیتر به روش غوطه‌وری با عصاره گل میخک بیهوش شدند و به صورت انفرادی بیومتری و وزن آنها با دقت یک گرم و طول با دقت یک میلی‌متر اندازه‌گیری شد. هر دو هفته یکبار، شاخص‌های وزن نهایی ((WG، نرخ رشد ویژه ((SGR، درصد افزایش وزن ((BWI، کارایی پروتئین ((PER و کارایی چربی ((LER) با استفاده از فرمول‌های زیر تعیین شد.

وزن نهایی (گرم) - وزن اولیه (گرم) = WG (گرم)

وزن نهایی (گرم) / وزن اولیه (گرم) × ۱۰۰ = RGR

{(لگاریتم وزن نهایی (گرم) - لگاریتم

وزن اولیه (گرم)) / مدت زمان آزمایش (روز)} × ۱۰۰

مقدار مصرف غذا / وزن انفرادی = FCR

وزن انفرادی / مقدار مصرف غذا = FER

۲.۴. سنجش شاخص‌های باکتریایی

از بافت عضله و روده ماهی طبق دستورالعمل‌های استاندارد شده نمونه برداری شد (Andrews and Hammack, 2001) و به دانشکده دامپزشکی، دانشکده سلیمانیه برای انجام آزمایش‌های باکتریایی انتقال داده شد. این آزمایش‌ها از روز صفر یا خرید و در انتها، برای تعیین مقدار قارچ‌ها، باکتری‌های انتروباکتر، کلی‌فرم و مخمر در بخش عضلانی ماهی و روده انجام شد. تمام وسایل مورد نیاز در دمای ۱۸۰ درجه سانتیگراد به مدت ۶ دقیقه در اتو کلواستریل و با الکل اتیلیک ۱۰۰ درصد ضد عفونی شدند. تعدادی ماهی کپور به عنوان نمونه، به طور تصادفی، از مخازن مختلف انتخاب شدند. منفذ تناسلی با الکل ۷۰ درصد ضد عفونی شد. برای دسترسی آسان تر یک شکاف کوچک در منفذ مخرجی ایجاد شد و با یک سواپ استریل، یک گرم از روده نمونه برداری شد و کشت داده شد. پلیت‌ها در انکوباتور به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و سپس جهت بررسی تطابق یا عدم تطابق باکتری‌های روده ای و باکتری‌های سوسپانسیون فعال آزمون‌های مربوطه انجام گرفت. برای تعیین میزان باکتری و سایر موارد از نمونه‌ها، تمام سریال‌های تهیه شده (رقیق شده) کشت داده شدند.

خریداری و به مخازن پرورشی وارد شد. میا نگیل وزن انفرادی ماهیان ۳۴/۲۳ گرم بود. پس از انتقال، به منظور سازگاری با شرایط محیطی جدید به مدت ۸۴ روز در مخازن ۷۰ لیتری از جنس پلاستیک در محیط کارگاه با غذای تجاری ماهی کپور معمولی در دو نوبت در روز ساعت ۷:۰۰ و ۱۹:۰۰ به میزان ۲ درصد وزن بدن تغذیه شدند. در طی این مدت هوادهی مخزن نگهداری ماهیان دائماً انجام شد و روزانه ۲۵ درصد از حجم آب مخزن نگهداری تعویض گردید. پس از پایان دوره سازگاری، ماهیان با میانگین وزنی ۴۳±۲/۶ گرم جهت شروع آزمایش به طور تصادفی در ۱۰ مخزن از جنس از جنس پلی اتیلن به حجم ۷۰ لیتر توزیع شدند (هر مخزن ۶ قطعه ماهی) و با دو تکرار تحت تاثیر تیمارهای گوناگون قرار گرفتند.

۲.۲. طرح آزمایش

اندازه‌گیری عوامل کیفی آب، همچون دمای آب (با داماسنج جیوه‌ای) به صورت روزانه، اکسیژن محلول (توسط اکسیژن متر) و pH (از طریق دستگاه pH متر) به صورت هفتگی انجام گرفت. میزان دمای آب، اکسیژن محلول و pH به ترتیب ۱۳ تا ۱۶ درجه سانتی‌گراد، ۸ تا ۹ میلی‌گرم در لیتر و ۷/۴ تا ۸ اندازه‌گیری گردید. طرح آزمایش یک طرح کاملاً تصادفی شامل: پنج تیمار و دو تکرار بود.

گروه یا تیمار T1: ۰ (شاهد). جیره تجاری بدون مکمل پربیوتیک

گروه یا تیمار T2: جیره غذایی حاوی ۵ درصد پودر کلرلا

گروه یا تیمار T3: جیره غذایی حاوی ۱۰ درصد پودر کلرلا

گروه یا تیمار T4: جیره غذایی حاوی ۱۰ درصد پودر جوانه جو

گروه یا تیمار T5: جیره غذایی حاوی ۲۰ درصد پودر جوانه جو

۳.۲. آماده سازی جیره

جهت تهیه غذا از مواد مختلفی طبق جدول ۱ استفاده شد. ترکیب و اجزای جیره‌های آزمایشی در جدول ۱ ارایه شده‌اند.

محلول مصرفی بر حسب (CFU) مورد شمارش قرار گرفتند (Collins and Lyne, 1984).

۶,۲. تجزیه و تحلیل آماری (هنداژمون داده

(ها

ابتدا نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون Kolmogorov-Smirnov بررسی شد. به منظور مقایسه میانگین‌ها از آنالیز واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) و تست دانکن Duncan's test به عنوان post hoc استفاده شد. اختلاف میانگین‌ها در کلیه موارد با سطح اطمینان $P < 0.05$ تعیین گردید. تجزیه و تحلیل داده‌ها با نرم افزار XLSTAT 2016 Version.02.28451 انجام شد. داده‌ها به صورت میانگین \pm خطای استاندارد ارائه شده‌اند.

۵,۲. آماده سازی محیط کشت

سه محیط کشت انتخابی برای این کار تهیه شد. محیط کشت (Oxoid)(NA) Nutrient agar برای بیشتر باکتری های بکار می رود مورد استفاده قرار گرفت. از محیط های کشت (VRB) Violet Red Bile Agar به عنوان کلی فرم های تخمیر گلوکز، Eosin Methylene Blue agar (EMB) نیز برای جدا سازی باکتری های تخمیر کننده لاکتوز و غیر تخمیر کننده ها (از گرم مثبت ها) استفاده شد. محیط کشت ها در دمای ۱۲۱ درجه سانتیگراد و فشار ۱۵ اتمسفر برای ۱۵ دقیقه قرار گرفتند. این کار در مورد محیط کشت VRB انجام نشد، چون نیازی نداشت. بعد از آغشته شدن پلت های حاوی کشت در محیط استریل، پلت ها در انکوباتور رشد قرار داده شدند و در دمای ۳۲ درجه سانتیگراد به مدت ۱۲-۲۴ ساعت ارزیابی شدند (Slaby et al., 1981). کلونی یا پرگنه های رشد یافته به معنی یک باکتری در

جدول ۱- مواد تشکیل دهنده جیره های آزمایشی

اجزای جیره	(%) درصد
ذرت زرد	۱۵ %
سبوس گندم	۱۵ %
سویا با ۴۸ درصد پروتئین	۳۵ %
پودر گوشت	۲۰ %
جو	۱۵ %
جمع کل	۱۰۰
ترکیب بیوشیمیایی جیره	
پروتئین خام	۲۸.۰۶
انرژی (kcal/kg feed)	۲۲۴۲/۷
آرژنین %	۰/۲۳۹۴
لایزین %	۰/۲۵۳۷۵
سیستئین + متیونین %	۰/۱۲۸۷۲
ترئونین %	۰/۰۱۷
تریبتوفان %	۰/۰۲۹

۳. نتایج

غذا در میان تیمارهای حاوی جلبک و پودر جوانه جو در مقایسه با شاهد دیده شد ($P > 0.05$). تیمارهای حاوی ۵ درصد پودر جلبک و ۱۰ درصد جوانه جو مقادیر بیشتری را نشان دادند. همانطور که در جدول ۳ مشاهده می شود، در طول دوره آزمایش تغییرات زیادی در مقدار pH مشاهده شد. این مقدار همیشه پایین تر از ۷ بود.

در جدول ۲ داده های مربوط به اثر بکار گیری پودر جلبک و پودر جوانه جو در جیره های غذایی ارایه شده است. اختلاف معنی داری میان تیمار های مورد آزمایش و در ارتباط با رشد انفرادی، رشد نسبی و زیست توده ماهی در بین تیمار ها مشاهده شد ($P < 0.05$). اختلاف معنی داری بین ضریب تبدیل غذایی و کارایی

جدول ۲- میانگین (میانگین \pm انحراف معیار) شاخص های رشد در میان تیمار های مختلف جیره های غذایی در پایان دوره

آزمایش

تیمار ۱	Initial Wt.	Final wt.	Wt. Gain	% SGR	RWG	FER	FCR
T1	۳۳/۲۹ \pm ۰/۰۶ a	۵۴/۲۶ \pm ۰/۰۳۴ c	۲۰/۹۷ \pm ۰/۰۵۴ c	۱۷۰/۲۸ \pm ۰/۶۵ c	۳۸/۶۵ \pm ۰/۷۶ c	۰/۸۸ \pm ۰/۰۹ a	۰/۱۴ \pm ۰/۰۱ ab
T2	۳۵/۰۷ \pm ۰/۰۴۳ a	۵۶/۷۷ \pm ۰/۰۵۲ c	۲۱/۷ \pm ۰/۱۳ bc	۱۷۲/۱۹ \pm ۰/۶۱ bc	۳۸/۲۲ \pm ۰/۸۳ c	۰/۸۹ \pm ۰/۰۳ a	۱/۱۳ \pm ۰/۰۴ ab
T3	۳۳/۳۷ \pm ۰/۰۳۴ a	۶۲/۳۲ \pm ۰/۰۵۳ a	۲۸/۹۵ \pm ۰/۰۵۴ a	۱۷۶/۲۹ \pm ۰/۹۳ a	۴۶/۴۵ \pm ۰/۹۹ b	۰/۶۹ \pm ۰/۰۶ b	۰/۴۴ \pm ۰/۰۶ a
T4	۳۵/۸۳ \pm ۰/۰۲۲ a	۵۹/۵۸ \pm ۰/۰۷۴ b	۲۳/۷۵ \pm ۰/۰۷۹ b	۱۷۴/۲۷ \pm ۰/۹۱ b	۳۹/۸۶ \pm ۰/۰۲ c	۰/۸۴ \pm ۰/۰۱	۰/۱۹ \pm ۰/۰۴ ab
T5	۳۳/۵۶ \pm ۰/۰۵۲ a	۶۶/۹۳ \pm ۰/۰۹۰ a	۳۳/۳۷ \pm ۰/۰۴۱ a	۱۷۹/۳۸ \pm ۰/۵۳ a	۴۹/۸۶ \pm ۰/۰۵۴ a	۰/۶۳ \pm ۰/۰۴ b	۱/۵۸ \pm ۰/۰۳ a

-حروف انگلیسی غیرمشترک در بالای اعداد در هر ردیف نشان دهنده تفاوت معنی دار است ($P < 0.05$).

جدول ۳- میانگین (میانگین \pm انحراف معیار) تغییرات pH در تیمار های مختلف در طول دوره آزمایش

pH	روز سی ام	روز شصتم	روز هشتادم
T1	۶/۵۰	۶/۵۰	۵/۷۵
T2	۶/۵۰	۶/۵۰	۶/۰۰
T3	۷/۲۵	۷/۵۰	۶/۵۰
T4	۶/۷۵	۶/۵۰	۶/۰۰
T5	۵/۷۵	۶/۵۰	۶/۵۰

انتروباکتری *Enterobacteriaceae* در تیمار های حاوی جلبک کلرلا و پودر جوانه جو افزایش بیشتری را نسبت به شاهد داشت. این مقدار در تیمار حاوی ۱۰ درصد جلبک T3، بیش از سایر تیمار ها بود. تعداد باکتری در تیمار شاهد T1، ۱۹۲/۵ و در تیمار حاوی ۱۰ درصد جلبک T3 به تعداد ۱۵۰ باکتری افزایش یافت (جدول ۴).

۱،۳. شمارش تعداد باکتری ها

بیشترین تعداد کل باکتری در تیمار شاهد T1 و تیمار حاوی ۱۰ درصد جلبک T3 شمارش شد. مقدار باکتریهای انتروباکتری *Enterobacteriaceae* نیز در این دو تیمار بیشتر بود و اختلاف معنی داری را در مقایسه با سایر تیمار ها نشان داد ($P < 0.05$) مقدار باکتری های

جدول ۴- میانگین (میانگین \pm انحراف معیار) تعداد باکتری کل و باکتری های *Enterobacteriaceae* در عضله ماهی در بین تیمارهای مختلف

تیمارها	تعداد کل باکتری / CFU	<i>Enterobacteriaceae</i> / CFU تعداد باکتری های
T1	۱۴۳ \pm ۰/۴۳ b	۱۰۳/۵ \pm ۰/۵۳ b
T2	۱۰۰ \pm ۰/۹۳ c	۵۲/۵ \pm ۰/۵۲ c
T3	۱۹۲/۵ \pm ۰/۹۹ a	۱۵۰ \pm ۰/۵۸ a
T4	۳۵/۵ \pm ۰/۲۵ d	۷۱/۵ \pm ۰/۴۸ c
T5	۴۶ \pm ۰/۹۱ d	۱۰۴ \pm ۰/۷۱ b

-حروف انگلیسی غیرمشترک در بالای اعداد در هر ردیف نشان دهنده تفاوت معنی دار است ($P < 0/05$).

۲۸ باکتری در میلی گرم بافت روده و در تیمار حاوی ۱۰ درصد پودر جو T5 به تعداد ۵۱/۵ باکتری شمارش شد (جدول ۵). بیشترین تعداد کلی فرم در روده و عضله در تیمار T5 مشاهده شد و اختلاف معنی داری را میان تیمارها نشان داد ($P < 0/05$) (جدول ۶).

تعداد کل باکتری در تیمار شاهد T1 و تیمار T5 بیشتر بود. بیشترین مقدار باکتریهای انتروباکتر *Enterobacteriaceae* در روده نیز در تیمار شاهد T1 مشاهده شد و اختلاف معنی داری را در میان تیمارها نشان داد ($P < 0/05$). تعداد باکتری در تیمار شاهد T1،

جدول ۵- میانگین (میانگین \pm انحراف معیار) تعداد باکتری کل و باکتری های *Enterobacteriaceae* در روده ماهی در بین تیمارهای مختلف

تیمارها	تعداد کل باکتری / CFU	<i>Enterobacteriaceae</i> / CFU تعداد باکتری های
T1	۳۱۰ \pm ۰/۸۳ a	۲۸ \pm ۰/۸۶ b
T2	۹۳/۳۳ \pm ۰/۸۳ c	۱۶/۵ \pm ۰/۶۹ d
T3	۳۰ \pm ۰/۷۴ d	۲۴ \pm ۰/۹۵ c
T4	۱۲۲/۵ \pm ۰/۹۵ b	۵۱/۵ \pm ۰/۸۴ a
T5	۲۷۳ \pm ۰/۹۷ b	۲ \pm ۰/۴۱ e

-حروف انگلیسی غیرمشترک در بالای اعداد در هر ردیف نشان دهنده تفاوت معنی دار است ($P < 0/05$).

جدول ۶- میانگین (میانگین \pm انحراف معیار) تعداد باکتری کلی فرم در روده و عضله ماهی در میان تیمارهای مختلف

تیمارها	عضله	روده
T1	۳ \pm ۰/۰۴ b	۱۳ \pm ۰/۰۴ c
T2	۲ \pm ۰/۰۶ bc	۱۶/۵ \pm ۰/۰۳ c
T3	۰/۵ \pm ۰/۰۷ d	۱ \pm ۰/۰۵ d
T4	۳ \pm ۰/۰۴ b	۲۱/۵ \pm ۰/۰۳ b
T5	۹ \pm ۰/۰۷ a	۱۰۶/۵ \pm ۰/۰۳ a

-حروف انگلیسی غیرمشترک در بالای اعداد در هر ردیف نشان دهنده تفاوت معنی دار است ($P < 0/05$).

۴. بحث و نتیجه گیری

پژوهش های زیادی نشان داده است که بکار گیری جلبک در جیره غذایی ماهیان می تواند اثر مثبتی بر رشد ماهی و افزایش وزن انفرادی، رشد نسبی و محصول نهایی داشته باشد (Abdulrahman *et al.*, 2019). در این پژوهش، میزان ضریب تبدیل غذایی در جیره حاوی ۵ درصد جلبک کمتر از سایر جیره ها بود. کارایی پروتئین در جیره های حاوی ۱۰ درصد جلبک و ۱۰ درصد پودر جوانه جو به طور معنی داری بیشتر از سایر تیمار ها نشان داد. بررسی وزن ماهی بدون امعا و احشا، نیز وزن بیشتری را در این دو تیمار نشان داد. این داد ها با داده های به دست آمده توسط سایر پژوهش گران در ارتباط با کار برد جلبک همخوانی دارد. نشان داده شده است که کاربرد جلبک در جیره غذایی می تواند باعث افزایش شاخص های گنادو سوماتیک، هپاتوسوماتیک و افزایش سلول های کلراید شود. این آزمایش ها همچنین نشان داده است که لاشه ماهی در تیمار های حاوی جلبک بیشتر از جیره های بدون جلبک خواهد بود. این داده ها با داده های به دست آمده در این آزمایش که حاوی جلبک بودند همخوانی دارد و جیره های حاوی جلبک اثر معنی داری بر رشد ماهی کپور گذاشت (Abdulrahman *et al.*, 2019). ماهیان توانایی این را دارند که با محیط های مختلف سازگار شوند. این بدین معنی است که رشد ماهیان تحت تاثیر محیط پرورشی و مواد شیمیایی و تعداد باکتری در محیط پرورشی تغییر می کند. شمارش تعداد باکتری در آب یا در دستگاه گوارش یا بافت ماهی به عنوان یک شاخص کیفیت در گوشت ماهی می تواند مورد ارزیابی قرار گیرد. بسیاری از آزمایش ها در ارتباط با جوجه های گوشتی نشان داده است که جوجه هایی که از جیره های تخمیر شده استفاده می کنند یا غذا مدت بیشتری در دستگاه گوارش آنها باقی می ماند دارای تعداد باکتری بیشتری در مدفع دارند و این موضوع می تواند شاخصی برای ارزیابی کیفیت لاشه باشد و تعداد باکتری های کل (TBC)، بخصوص تعداد کلی فرم (TCC) در جوجه های کنترل کمتر است (Elsaidy *et al.*, 2015). با بد در نظر گرفت که تعداد باکتری کل در

یک گرم بافت مرطوب عضله نایستی به بیش از ۷۰ یا CFU/g باکتری برسد (ICMSF, 1986). این مقدار کمتر از مقداری است که در تیمار حاوی ۱۰ گرم جلبک مشاهده شد و مقدار آن ۱۹۲/۵ باکتری در گرم عضله بود. وجود باکتری یا موجودات ذره بینی در بافت ماهی باعث تخریب بافت و کیفیت شاخص های ارگانولپتیک می شود. بنا براین، به دست آوردن شاخص های پایه در ارتباط با ترکیب لاشه و نیز تعداد باکتریهای بافت از موارد مهمی است که در تعیین کیفیت بافت یا گوشت ماهی دارای اهمیت زیادی است. این داد ها به مزرعه داران کمک می کند تا کیفیت ماهیان پرورشی را در دو روش کشت مبتنی بر غذا های طبیعی و نیز پرورشی با غذای تجاری مورد ارزیابی قرار دهند. این مواد در بازار پسندی ماهیان اثر دارند (Issifu, 2018). وجود کلی فرم در گوشت ماهی نشان دهنده این است که ماهی در محیطی آلوده پرورش یافته است. زیرا، کلی فرم جزو فلور طبیعی ماهیان به حساب نمی آید. افزایش باکتری در سیستم پرورشی به علت افزایش بار مواد آلی مدفوعی در سیستم پرورشی است. بنا براین، شمارش باکتری می تواند به عنوان شاخص مناسب و کلیدی برای تعیین سلامت ماهی بکار رود (Nahid *et al.*, 2016).
 Issifu (2018) اختلاف معنی داری را در ارتباط با عوامل غذایی و تست های ارگانولپتیک بین ماهیان تازه و دودی شده پیدا کرد. نتایج کار او نشان داد که ترکیب غذایی با کیفیت زمانی مطرح می شود که بار باکتریایی در ماهی تازه و دودی شده پایین باشد و از کلی فرم نیز خبری نباشد و از این موضوع مصرف کننده نیز بایستی اطلاع داشته باشد. جدا سازی انترو باکتری ها *Enterobacteriaceae* از آبشش، پوست عضله و روده بین ۱۵۰-۸۳ (شامل ۵۳ درصد از کل) و نیز ایکولای، *Citrobacter spp*، *Enteriobacter spp*، *Klebsiella spp* توسط برخی از پژوهشگران صورت گرفته است (Yagoub, 2009). در این پژوهش، تعداد کل باکتری ها در بین تیمار ها به طور معنی داری متغییر بود. این موضوع نشان داد که تشکیل کلنی در روده ماهی کپور معمولی تحت تاثیر نوع جیره غذایی تغییر می کند و جیره های حاوی جلبک و پودر جوانه جو می توانند در این ارتباط نقش داشته باشند. جمعیت

عضلات ماهی و نیز دستگاه گوارش آن جدا سازی نشده است. ارزیابی کلی فرم نشان داده است که در یک محیط آلوده مقدار آن در روده کم است و در عضله نیز کاهش دارد (Sanyal *et al.*, 2010). بررسی باکتریهای دارای دامنه تحمل دمایی برای رشد Psychrophilic و کلی فرم و اشرشیا کولی در عضله، روده و آب محیط پرورش نشان داد که باکتری های دارای دامنه رشد بالا در طیف گسترده از سر تا گرم را نمی توان در عضله ماهی کپور رد یابی کرد و نشان داده شده است که با حضور اسپیرولینا در جیره غذایی کپور معمولی مقدار کلی فرم کاهش می یابد. این مقدار در جیره بدون اسپیرولینا به تعداد 1.2 ± 10^2 و در جیره حاوی اسپیرولینا 10^2 شمارش شده است. در این پژوهش جیره حاوی ۱۰ درصد جلبک تعداد کلی فرم 35 ± 10^2 را در روده نشان داد و جیره حاوی پودر جوانه جو 10^2 را نشان داد. در آب نشان داده است که این ارتباط نتایج بررسی باکتری های سایکرو فیلک در آب کمترین مقدار را در جیره های حاوی جلبک و به مقدار ۱۰۰ نشان داده است. در ارتباط با مقدار کلی فرم در آب با مصرف جیره های با سطوح مختلف جلبک بین 1.5 ± 10^2 تا 4 ± 10^2 متغییر بوده است (Murad *et al.*, 2016). نتایج این پژوهش نشان داد که با افزایش میزان کلرلا در جیره و تا حد ۱۰ درصد مقدار باکتریهای دستگاه گوارش افزایش می یابد و با کتربهای انترو باکتر Enterobacteriaceae بیشتری نسبت به کنترل و دیگر تیمارها مشاهده می شود. میزان باکتری های کل در جیره شاهد از سایر تیمارها بیشتر بود، ولی باکتریهای انترو باکتر Enterobacteriaceae در جیره حاوی پودر جوانه جو بیشتر از سایر تیمارها بود و در جیره حاوی ۲۰ درصد پودر جوانه جو T5 میزان کلی فرم در عضله و دستگاه گوارش بیشتر از سایر تیمارها بود و کلی فرم کمتری در جیره حاوی ۱۰ درصد جلبک کلرلا T3 در این بخشها در عضله و دستگاه گوارش دیده شد.

انترو باکتریاسه ها به عنوان باکتری های شاخص در تیمار حاوی ۲۰ درصد جو کاهش چشمگیری را نشان داد. این بدین معنی است که سایر باکتری های پروبیوتیک در کلونی سازی در روده با این باکتری در رقابت هستند. از طرف دیگر، میزان بقا در این تیمار با لا بود، با این حال، نمی توان بیان کرد که علت بقای بیشتر به حضور باکتری های پروبیوتیک ارتباط دارد. البته برخی از پژوهشها به این موضوع پرداخته است و آنرا ثابت کرده است (Bagheri *et al.*, 2008). در این پژوهش کاهش باکتری های انترو باکتر در تیمارهای حاوی جلبک و پودر جو کمتر بود. این تعداد دو باکتری در عضله بود. بهترین شاخص های رشد در تیمار چهارم و حاوی ۱۰ درصد جو به دست آمد. در پژوهش های دیگری تعداد باکتری های باسیلوس (3.8 ± 10^9 as Bacillus probiotic) در جیره غذایی بکار برده شد و رشد مطلوبی نیز به دست آمد. داده های این پژوهش تایید کننده رشد بهتر ماهی کپور با مصرف جیره ای حاوی ۱۰ درصد پودر جوانه جو است. داده های دیگری نشان داده است که تعداد باکتری زیادی می توان از پوست، آبشش و روده ماهی و به تعداد $35,35 \pm 10^3$ cfu/g در گرم بافت جدا کرد (Ibrahim *et al.*, 2013). مطالعات دیگری این مقدار را 103 ± 6 cfu/g و یا 14 ± 10^3 cfu/g تعیین کرده اند (Golas *et al.*, 2002). در این ارتباط پژوهشگران زیادی تایید کرده اند که میزان باکتری موجود در روده به بیش از 10^{13} cfu/g می رسد (Emikpe *et al.*, 2011, Roy and Barat, 2011) و تعداد باکتری هایی که روی آبشش و پوست قرار می گیرند دایمی نیستند ولی با کتری های سطح پوست بیشتر مانند گارند (Cahill, 1990). مشخص شده است که ارتباط معنی داری بین باکتری های موجود در آب و عضله و دستگاه گوارش ماهی وجود دارد. عضله ماهی در برخی از مواد حضور باکتری های کلی فرم کل (TC) و کلی فرم مدفوعی (FC) را نشان می دهد. باکتری اشرشیا کولی Escherichia Coli از

۵. منابع

References

- Abdulrahman, N.M., Abid, S.H., Koyun, M. 2019. Effect of Microalgae *Chlorella pyrenoidosa* as Feed Additive on Common Carp (*Cyprinus carpio* L.) Nutritional Performance, Proximate Composition and Organoleptic Evaluation. *Biological and applies environmental research* 3 (2), 118-126.
- Abdulrahman, N.M., Abid, S.H., Khidir, A.A., Omer, B.B., Hama Rasheed, D.B., Baha Alddin, L.H. 2018. Effect of

- Adding Microalgae *Chlorella* sp. on Some Biological Parameters and Proximate Analysis of Common Carp *Cyprinus Carpio* L., *Iranian Journal of Veterinary Medicine* 12(3), 199-205.
- Abiodun, O. A., Amanyunose, A.A., Olosunde, O.O., Adebite, J. A. 2014. Sugar and alkaloid profiles of serendipity berry. *Food Science and Quality Management* 28(-), 83-89.
- Adeosun, O., Olaifa, F.E., Akande, G.R. 2015. Chemical Composition, Microbial Content and Sensory Evaluation of Smoked Farmed Catfish *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822) Raised Under Different Culture Systems in Ibadan, Nigeria. *Food Science and Quality Management* 46, pp 11.
- Andrews, W.H., Hammack, T.S. 2001. United States Food and Drug Administration (US FDA) Bacteriological Analytical Manual. United States Food and Drug Administration; Silver Spring, Md, USA. Food sampling and preparation of sample homogenate.
- 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* 8(1), 43-48.
- Bairagi, A., Ghoch, K., Sen, S.K., Ray, A.K. 2002. Enzyme producing bacterial flora isolated from fish digestive tracts, *Aquaculture International* 10, 109-121.
- Brown, M.E. 1957. Experimental studies on growth. In: The physiology of fishes, Vol. 1. Acad. Press, New York: 361-400.
- Cahill, M.M. 1990. Bacterial flora of fishes: A review. *Microbial Ecology*, 19(3), 21-41.
- Collins, C.H., Lyne, M.P. 1984. Microbiological Methods. Fifth ed. Butterworth; London, UK.
- Delzenne, N.M., Cani, P.D. 2008. Gut microflora is a key player in host energy homeostasis, *Medical Science* 24(-), 505-510.
- Elsaidy, N., Abouelenien, F., Kirrella, G.A.K. 2015. Impact of using raw or fermented manure as fish feed on microbial quality of water and fish. *Egyptian Journal of Aquatic Research* 41(1), 93-100.
- Emikpe, B.O., Adebisi, T., Adedeji O.B. 2011. Bacteria load on the skin and stomach of *Clarias gariepinus* and *Oreochromis niloticus* from Ibadan, South West Nigeria: public health implications. *Journal of Microbiology and Biotechnology Research* 1(1), 52-59.
- FAO. 2018. The State of World Fisheries and Aquaculture 2018 - Meeting the sustainable development goals. Rome. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.: 227.
- Fjellheim, A.J., Playfoot, K. J., Skjermo, J., Vadstein, O. 2007. Vibrionaceae dominates the microflora antagonistic towards *Listonella anguillarum* in the intestine of cultured Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) larvae, *Aquaculture* 269(-), 98-106.
- Golas, I., Lewandowska, D., Zymslowska, I., Teodorowicz. 2002. Sanitary and bacteriological studies of water and European catfish (*Silurus glanis* L.) during wintering. *Archives of Polish Fisheries* 10(2), 177-186.
- Grigorakis, K. 2007. Compositional and organoleptic quality of farmed and wild gilthead sea bream (*Sparus aurata*) and sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and factors affecting it: A review. *Aquaculture* 272(1-4), 55-75.
- Ibrahim, I.A.J., Zwein, L.H., Al- Shwaikh, R.M. 2013. Bacterial and Heavy Metals Analyses in Fish at Shawaka Area of Tigris River. *Chemistry and Materials Research* 3 (7), 94-99.
- ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods). 1986. Sampling plans for fish and shellfish. 2nd ed., Microorganisms in Foods. Sampling for Microbiological Analysis: Principles and Scientific Applications. ICMSF, Vol. 2, University of Toronto Press, Toronto.
- Issifu, K. 2018. Nutritional Composition, Bacterial Load and Organoleptic Quality of Farm-Raised Catfish (*Clarias Gariepinus*, Burchell, 1822) From the Dormaa Municipality, Ghana. Master Thesis, College of Basic and Applied Sciences, University of Ghana, 78pp.
- Lagler, K.F. 1956. Freshwater fishery biology. W.C. Brown Co., Dubuque, Iowa: 131-135, 159-166.
- Mchazime, I., Kapute, F. 2018. Sensory and nutrient quality of wild captured *Oreochromis shiranus* (Boulenger, 1897) stored at ambient temperature. *International Food Research Journal* 25(1), 127 – 132.
- Murad, H.O., Al-Koye, H.J., Abdulrahman, N.M. 2016. Effect of Replacing Fishmeal with *Spirulina* on Psychrophilic Count, Coliform and *Escherichia coli* in Common Carp Intestine, Muscle and Rearing Water. *International Journal of Current Research in Biosciences and Plant Biology* 3(11), 43-48.
- Nahid, M.N., Latifa, G.A., Chakraborty, S.C., Farid, F.B., Begum, M. 2016. Shelflife quality of smokedried freshwater SIS fish; chapila (*Gudusia chapra*, Hamilton-Buchanan) kakila (*Xenentodon cancila*, Hamilton-Buchanan; 1822) stored at laboratory condition (26-310C). *Journal of Agriculture and Veterinary Science* 9(-), 23-32.
- Roy, R.P., Barat S. 2011. Influence of water quality on the bacterial contamination of resident loach, *lepidoccephalichthys guntea* (Hamilton buchanan) and on a Terai river Lotchka of Derjeeling District, West Bengal, India. *Archives of Environmental Science* 5(-), 116-123.
- Sanyal, S., Basu, A., Banerjee, S. 2010. Occurrence and Antibiotic Susceptibility among Coliform Bacteria Isolated from Sewage Exposed Fish. *Recent Research in Science and Technology* 2(3), 42-47.
- Slaby, B.M., Martin, R.E., Ramsdell, G.E. 1981. Reproducibility of microbiological counts on frozen Cod: a collaborative study. *Journal of Food Science* 46(3), 716-719.

- Svobodová, Z., Lloyd, R., Máchová, J., Vykusová, B. 1993. Water quality and fish health. EIFAC Technical Paper. No. 54. Rome, FAO, 59 p.
- Tomić, M., Lucević, Z., Tomljanović, T., Matulić, D. 2017. Wild-caught versus farmed fish – consumer perception. *Croatian Journal of Fisheries* 75(۲), 41-50.
- Uten, F. 1978. Standard methods and terminology in finfish nutrition. Pro. World Smp. *Finfish Nutrition and Technology* 11(1), 20-23.
- Yagoub, S.O. 2009. Isolation of *Enterobacteriaceae* and *Pseudomonas spp.* from raw fish sold in fish market in Khartou state. *Journal of Bacteriology Research* 1(7), 085-088.

