

تأثیر مکمل یاری سین بیوتیک با یومین ایمبو بر تغییرات آنزیم‌های دخیل در دفاع آنتی‌اکسیدانی، گوارشی و جمعیت میکروبی روده ماهی کفال خاکستری (*Mugil cephalus*)

سراج بیتا*، مهین سرحدی پور

گروه شیلات، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، سیستان و بلوچستان

تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۶/۲۱

تاریخ دریافت: ۹۸/۰۱/۳۱

چکیده

در سالیان اخیر به استفاده از مکمل‌های غذایی به خصوص سین بیوتیک‌ها در جیره غذایی ماهیان پرورشی به دلیل اثرات سودمند آنها بر سلامتی ماهیان توجه شده است. در این مطالعه اثرات سطوح مختلف سین بیوتیک با یومین ایمبو بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، گوارشی و فلور باکتریایی ماهی کفال خاکستری (*Mugil cephalus*) بررسی شد. ۱۲۰ قطعه بچه‌ماهی با میانگین وزنی $0.43 \pm 3/92$ گرم در آکواریوم‌های ۶۰ لیتری به تعداد ۱۰ قطعه در هر آکواریوم با جیره‌های حاوی ۰/۵ و ۱/۵ گرم سین بیوتیک در هر کیلوگرم غذا و گروه شاهد به مدت ۶۰ روز تغذیه شدند. تغذیه در حد سیری و به روش دستی انجام شد. در پایان دوره آزمایش، روده ماهیان خارج و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی شامل سوپراکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و گلوتاتیون اس- ترانسفراز و همچنین، آنزیم‌های گوارشی شامل لیپاز، آمیلاز، آلکالین فسفاتاز، پروتئاز، پپسین و کیموتریپسین و فلور باکتریایی بررسی شدند. طبق نتایج فعالیت سوپراکسید دیسموتاز در سطوح ۱ و ۱/۵ گرم و گلوتاتیون اس-ترانسفراز و گلوتاتیون ردوکتاز در سطح ۱ گرم سین بیوتیک در هر کیلوگرم غذا در مقایسه با تیمار شاهد افزایش معنی‌دار داشت ($p < 0.05$), در حالی که فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز تفاوت معنی‌داری را نشان نداد ($p > 0.05$). نتایج سنجش فعالیت آنزیم‌های گوارشی نشان داد استفاده از سین بیوتیک با یومین ایمبو در سطح بالاتر بر فعالیت تمام این آنزیم‌ها بجز آلکالین فسفاتاز و لیپاز تأثیر معنی‌دار داشت ($p < 0.05$). تعداد کل باکتری‌های زیست‌پذیر و لاکتیک اسید در سطوح ۱ و ۱/۵ گرم سین بیوتیک در هر کیلوگرم غذا نسبت به شاهد افزایش معنی‌دار و تعداد کلی‌فرم‌ها در این تیمارها با کاهش معنی‌دار همراه بوده است ($p < 0.05$). یافته‌های تحقیق حاضر نشان داد که جیره حاوی ۱ گرم سین بیوتیک در هر کیلوگرم غذا را می‌توان به عنوان مکمل غذایی مناسب برای ماهی کفال خاکستری استفاده کرد.

کلمات کلیدی: سین بیوتیک با یومین ایمبو، دفاع آنتی‌اکسیدانی، آنزیم‌های گوارشی، فلور میکروبی، کفال خاکستری

مقدمه

دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و گلوتاتیون اس- ترانسفراز باشد (Iswarya et al. 2018). مشخص شده است که باکتری‌های پروبیوتیک قادر به تولید آنزیم‌های گوارشی خارج سلولی از جمله آنزیم‌های پروتئاز، لیپاز و آمیلاز هستند. این آنزیم‌ها از طریق افزایش فرآیند هضم مواد غذایی، سبب افزایش رشد موجود خواهند شد (Douillet and Langdon, 1994).

بوم‌شناسی میکروبی دستگاه گوارش انواع آبزیان آب شیرین و دریایی توسط بسیاری از پژوهشگران بررسی شده است و ثابت شده است که جمعیت باکتریایی ساکن روده، استقرار ریزموجودات بیماری‌زا را تحت تأثیر قرار می‌دهد. با وجود این، نقشی که هر یک از میکروب‌های موجود در دستگاه گوارش بر سلامت یا تغذیه آبزیان ایفا می‌کنند، هنوز به درستی درک نشده و نیازمند تحقیقات بیشتر است. استفاده از مکمل غذایی از جمله پروبیوتیک و پری‌بیوتیک به منظور افزایش رشد و بهبود جمعیت باکتریایی دستگاه گوارش در رشد، بقا، ایمنی و سلامت دستگاه گوارش از نظریه‌های مطرح است (Hosseinifar et al. 2010). در سال‌های اخیر مطالعاتی در زمینه تأثیر سین‌بیوتیک‌ها بر ماهیان توسط قاسم‌پور دهقانی و همکاران (۱۳۹۲)، روحی و همکاران (۱۳۹۶)، حسینی‌فر و همکاران (۲۰۱۵)، جعفرزاده و همکاران (۲۰۱۵)، بی‌تا و همکاران (۱۳۹۶)، صفوی و همکاران (۱۳۹۷)، واعظی و همکاران (۲۰۱۶)، و چیت‌ساز و همکاران (۲۰۱۶) در ایران و Abid و همکاران (۲۰۱۳)، Mona و همکاران (۲۰۱۵)، Sewaka و همکاران (۲۰۱۹)، Singh و همکاران (۲۰۱۹) و Dawood و همکاران (۲۰۱۹) در دیگر کشورها انجام شده است. در تمام این مطالعات تعدیل دستگاه ایمنی، افزایش رشد و بازماندگی، بهبود مکانیسم دفاعی آنتی‌اکسیدانی و ارتقای سلامت ماهیان در اثر تغذیه با این مکمل‌ها گزارش شده است. بنابراین، هدف مطالعه حاضر، بررسی تغییرات آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، گوارشی و جمعیت میکروبی ماهی کفال خاکستری و نیز بهبود وضعیت سلامت و تولید نوزادان سالم و با کیفیت طی تغذیه با سین‌بیوتیک باومین ایمبو است.

بیماری‌های عفونی در ماهیان مشکل عمده‌ای برای آبزی‌پروری محسوب می‌شوند. بنابراین، یکی از اولویت‌های تحقیقاتی مهم در صنایع تولید غذاهای آبزیان، توسعه غذاهایی است که سبب ارتقای سلامت ماهیان شود. در طی چند سال گذشته، با افزایش توسعه صنعت آبزی‌پروری، روش‌های مختلفی برای غلبه بر این مشکلات به کار گرفته شده است که استفاده از اجزایی (به عنوان مواد افزودنی در جیره غذایی) همانند پروبیوتیک‌ها و پری‌بیوتیک‌ها می‌تواند نقش بسیار مهمی از این جنبه داشته باشد (Carbone and Faggio, 2016). سین‌بیوتیک‌ها به عنوان مواد افزودنی عملکردی به صورت ترکیبی از پروبیوتیک و پری‌بیوتیک هستند که استفاده از آن در آبزی‌پروری تاریخچه کوتاهی دارد (Hosseinifar et al. 2015; Dawood et al. 2018). به دلیل نگرانی‌هایی که ارتباط با مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها وجود دارد، استفاده از این مکمل‌ها به عنوان دوستدار محیط زیست، روشی پایدار برای بهبود عملکرد گونه‌های پرورشی است. زیرا آنها می‌توانند نقش مهمی در تعدیل دستگاه ایمنی و بهبود وضعیت اکسایش آنتی‌اکسیدان داشته باشند (Van Doan et al. 2019, Dawood et al. 2018). باتوجه به مشکلات موجود در پرورش مرحله نوزادی ماهی کفال، تغذیه و بکارگیری اصول مناسب غذایی و نیز بالا بردن درصد بقا در طول دوره پرورش نوزادان پس از ورود به تغذیه فعال در آنها دارای اهمیت زیاد است (Giri et al. 2002).

اولین خط دفاعی بدن در مقابل استرس اکسیداتیو، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از قبیل کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون اس- ترانسفراز هستند (Yang et al. 2014) که سبب تبدیل آنیون سوپراکسید (O_2^-) به پراکسید هیدروژن (H_2O_2) و سپس به آب و اکسیژن می‌شوند. گلوتاتیون ردوکتاز نیز گلوتاتیون اکسید شده را به فرم احیای آن تبدیل می‌کند. افزایش این آنزیم‌ها نشان دهنده حذف رادیکال‌های آزاد و غلبه بر استرس است (Jin et al. 2010)، به طوری که بهبود وضعیت آنتی‌اکسیدانی ممکن است به دلیل اثرات سین‌بیوتیک بر افزایش سطح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از قبیل کاتالاز، سوپراکسید

مواد و روش‌ها

شرایط تغذیه و آماده‌سازی تیمارها

۱۲۰ قطعه بچه‌ماهی کفال خاکستری با میانگین وزنی (میانگین \pm انحراف معیار) 0.43 ± 3.92 گرم در سال ۱۳۹۴ از ساحل رمین واقع در چابهار با استفاده از تور پره صید و بلافاصله به سالن تکثیر و پرورش آبزیان دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار منتقل شدند. قبل از شروع آزمایش، بچه‌ماهیان در مخازن ۳۰۰ لیتری به مدت ۱۴ روز با شرایط آزمایشگاهی سازگار شدند و دو بار در روز با جیره غذایی پایه فرموله شده شرکت تعاونی تولیدی ۲۱ بیضاء، شیراز (با قطر ۶/۸-۱/۱ mm با ۵۰٪ پروتئین خام، ۱۳/۵٪ چربی خام، ۱/۷٪ فیبر خام و ۱۰٪ رطوبت) تا حد سیری تغذیه شدند (Hosseinfar et al. 2015). پس از اتمام دوره سازش‌پذیری، بچه‌ماهیان در تیمارهایی با مقادیر مختلف سین‌بیوتیک با یومین ایمبو شامل تیمار ۱ (۰/۵ گرم به ازای هر کیلوگرم غذا)، تیمار ۲ (۱ گرم به ازای هر کیلوگرم غذا) و تیمار ۳ (۱/۵ گرم به ازای هر کیلوگرم غذا) و گروه شاهد حاوی جیره غذایی فاقد مکمل سین‌بیوتیک، به‌منظور بررسی اثرات آن بر تغییرات آنزیم‌های دخیل در دفاع آنتی‌اکسیدانی، گوارشی و جمعیت میکروبی روده در آکواریوم‌های ۶۰ لیتری به تعداد ۱۰ قطعه بچه ماهی در هر آکواریوم به مدت ۶۰ روز غذادهی شدند. برای تأمین اکسیژن مورد نیاز بچه ماهی‌ها، در داخل هر مخزن یک عدد سنگ هوا قرار گرفته و تعویض آب و خارج سازی فضولات و مواد دفعی، از طریق عمل سیفون کردن یک روز در میان انجام شد. در طی دوره آزمایش تا حد ممکن تمام شرایط یکسان نگهداشته شد تا تنها عامل متغیر سطوح مختلف سین‌بیوتیک باشد.

نمونه برداری و سنجش شاخص‌های آنزیمی

آنتی‌اکسیدانی و گوارشی

برای این منظور سه عدد ماهی از هر تکرار با استفاده از پودر گل میخک (۳ گرم در لیتر) بیهوش شده و سریعاً در مجاورت یخ قرار داده شدند تا با حداقل رساندن تغییر فعالیت آنزیمی، کالبدگشایی آن‌ها انجام شود. برای سنجش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و گوارشی،

روده ماهیان به روش Cahu و همکاران (۱۹۹۹) آماده‌سازی و تا زمان سنجش در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. برای تهیه عصاره بافت روده ماهی، ۰/۵ گرم از روده ماهی توزین، و با ۲/۵ میلی لیتر بافر فسفات سرد ۱۰ میلی‌مولار با $\text{pH}=7.4$ مخلوط، و سپس با دستگاه هموژنایزر با دور 14000 rpm به مدت ۲ دقیقه کاملاً همگن شد. در مرحله بعد، بافت یکنواخت‌شده با سرعت 13000 rpm به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس جداسازی مایع رویی به عنوان عصاره بافتی برای سنجش شاخص‌های آنزیمی انجام شد (Pérez-Jiménez et al. 2007). سنجش فعالیت آنزیم‌های گوارشی شامل آنزیم آلفا-آمیلاز بر اساس روش Worthington (۱۹۹۱)، تریپسین بر اساس روش Erlanger و همکاران (۱۹۶۱)، کیموتریپسین طبق روش Hummel (۱۹۵۹)، لیپاز به روش تیتراسیون بر اساس روش Worthington (۱۹۹۱) و آلکالین فسفاتاز قلیایی با استفاده از کیت تولید شده شرکت زیست شیمی (تهران، ایران) انجام شد. سنجش فعالیت آنزیم‌های مرتبط در دفاع آنتی‌اکسیدانی شامل سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، گلوکاتایون پراکسیداز (GPx) و گلوکاتایون ردوکتاز (GR) به ترتیب با استفاده از کیت‌های تجاری شرکت راندوکس (انگلستان) و گلوکاتایون اس ترانسفراز (GST) طبق روش Habig و همکاران (۱۹۷۴) انجام شد.

فلور باکتریایی

در پایان دوره آزمایش ۶ قطعه ماهی از هر تیمار به‌صورت تصادفی خارج شد. ماهیان با قطع نخاع آسان‌کشی شدند. جداسازی و شمارش تعداد کل باکتری‌ها، باکتری‌های اسید لاکتیک و کلی‌فرم‌ها از روده بچه ماهیان کفال خاکستری طبق روش Merrifeild و همکاران (۲۰۱۱) انجام شد. ۰/۵ گرم از بافت روده در ۴/۵ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی رقیق، و سپس از این نمونه، رقت‌های متوالی 10^2 تا 10^5 تهیه شد و به‌صورت سطحی در محیط کشت MRS Agar و TSA و به‌ترتیب برای شمارش باکتری‌های لاکتیک اسید، کلی‌فرم‌ها و شمارش کلی کشت داده شد. شمارش پلیت‌های کشت داده‌شده در محیط کشت TSA پس از ۴۸ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و پلیت‌های کشت

روده در جداول ۱ تا ۳ ارائه شده است. نتایج نشان داد که فعالیت اختصاصی آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در تیمارهای ۱ و ۲ در مقایسه با تیمار شاهد افزایش معنی‌دار داشت ($p < 0.05$). بیشترین سطح فعالیت این آنزیم با میزان $558/0.3 \pm 86/13$ U/mg Protein در تیمار ۳ مشاهده شد. سطح فعالیت گلوکاتیون پراکسیداز در تیمارهای مختلف سین‌بیوتیک با یومین ایمبو در مقایسه با تیمار شاهد کاهش یافت، اما این کاهش از نظر آماری معنی‌دار نبود ($p > 0.05$) و کمترین میزان فعالیت آن نیز در تیمار ۲ مشاهده شد ($1/57 \pm 0/88$ U/mg Pr). بیشترین فعالیت ویژه گلوکاتیون اس ترانسفراز و گلوکاتیون ردوکتاز در تیمار ۲ به دست آمد (جدول ۱) که نسبت به شاهد افزایش معنی‌دار داشت ($p < 0.05$). همچنین، فعالیت آنزیم گلوکاتیون اس ترانسفراز در تیمار ۳ نسبت به تیمار ۲ کاهش معنی‌دار داشت ($p < 0.05$) و نسبت به تیمار ۱ و شاهد افزایش معنی‌دار داشت ($p < 0.05$).

داده‌شده در محیط کشت MRS به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد در جاربیه‌های قرار داده شدند. پس از انکوباسیون، پرگنه‌ها شمارش و نتایج به صورت لگاریتم به ازای هر گرم ($\text{Log cfu/g} \pm \text{SD}$) ارائه شدند (Mahious et al. 2006).

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ انجام شد. از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه برای مقایسه داده‌ها، و معنی‌داری آنها با استفاده از آزمون توکی در سطح ۰/۰۵ درصد بررسی شد.

نتایج

پس از ۶۰ روز تغذیه ماهیان کفال خاکستری با سه سطح مختلف سین‌بیوتیک با یومین ایمبو (۰/۵، ۱ و ۱/۵ گرم به ازای هر کیلوگرم غذا) به همراه گروه شاهد نتایج حاصل از سنجش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، گوارشی و فلور میکروبی

جدول ۱ تأثیر سین‌بیوتیک با یومین ایمبو بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی روده ماهی کفال خاکستری (*Mugil cephalus*)

گلوکاتیون ردوکتاز (U/mg Pr)	گلوکاتیون اس ترانسفراز (U/mg Pr)	گلوکاتیون پراکسیداز (U/mg Pr)	سوپراکسید دیسموتاز (U/mg Pr)	
$11/45 \pm 3^b$	$16/24 \pm 5/0.8^c$	$1/96 \pm 0/70$	$289/90 \pm 84^b$	شاهد
$9/95 \pm 1/37^b$	$16/70 \pm 3/44^c$	$1/57 \pm 0/88$	$302/17 \pm 65/37^b$	تیمار ۱
$50/16 \pm 14/25^a$	$24/09 \pm 2/85^a$	$1/92 \pm 0/68$	$564/79 \pm 20/99^a$	تیمار ۲
$50/00 \pm 8/43^a$	$19/02 \pm 3/40^b$	$1/77 \pm 0/49$	$558/0.3 \pm 86/13^a$	تیمار ۳

حروف غیرمشترک در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی‌دار است ($p < 0.05$).

نظر آماری در مقایسه با تیمار شاهد افزایش معنی‌دار داشت ($p < 0.05$). سطح فعالیت کیموتریپسین در تیمارهای ۲ و ۳ در مقایسه با شاهد افزایش معنی‌دار داشت ($p < 0.05$) و بیشترین میزان آن در تیمار ۲ مشاهده شد. همچنین، فعالیت کیموتریپسین و آمیلاز در تیمار ۲ با تیمار ۳ اختلاف معنی‌دار نشان داد ($p < 0.05$).

نتایج سنجش فعالیت آنزیم‌های گوارشی نشان داد که فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز و لیپاز در تیمارهای تغذیه شده با سطوح مختلف سین‌بیوتیک با یومین ایمبو در مقایسه با تیمار شاهد اختلاف معنی‌دار نداشت ($p > 0.05$). بیشترین فعالیت آنزیم آمیلاز، پروتئاز و تریپسین به ترتیب با میزان $1/4 \pm 28/88$ ، $3/91 \pm 61/06$ و $1/79 \pm 13/8$ واحد بر میلی‌گرم پروتئین در تیمار ۲ مشاهده شد (جدول ۲) که از

جدول ۲ تاثیر سین بیوتیک با یومین ایمبو بر فعالیت آنزیم های گوارشی روده ماهی کفال خاکستری (*Mugil cephalus*)

آمیلاز (U/mg)	آلکالین فسفاتاز (U/mg)	لیپاز (U/mg)	پروتئاز (U/mg)	تریپسین (U/mg)	کیموتریپسین (U/mg)
۲۰/۴۵ ± ۳/۱۶ ^b	۰/۸ ± ۰/۰۰۷ ^a	۱/۵۵ ± ۰/۰۶ ^b	۳۵/۷۷ ± ۶ ^b	۸/۹۵ ± ۰/۹ ^b	۲۲۰ ± ۴۴/۵۵ ^c
۱۹/۸۹ ± ۱/۹۶ ^b	۰/۷۹ ± ۰/۱۵ ^a	۱/۸۹ ± ۰/۰۳ ^b	۳۵/۴۷ ± ۳/۰۸ ^b	۸/۶۳ ± ۲/۹۵ ^b	۲۳۴/۱۶ ± ۳۰/۷ ^c
۲۸/۸۸ ± ۱/۴ ^a	۰/۷۷ ± ۰/۳۱ ^a	۱/۵۸ ± ۰/۰۶۷ ^b	۶۱/۰۶ ± ۳/۹۱ ^a	۱۳/۸۰ ± ۱/۷۹ ^a	۴۱۶/۹۷ ± ۲۸/۵۳ ^a
۲۲/۰۱ ± ۲/۶۶ ^b	۰/۷۶ ± ۰/۱۸ ^a	۱/۶۰ ± ۰/۰۴۹ ^b	۵۸/۰۰ ± ۵/۲۵ ^a	۱۳/۷۳ ± ۴/۰۴ ^a	۳۳۱/۸۴ ± ۵۹/۲۵ ^b

حروف غیرمشترک در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی دار است (p < ۰/۰۵).

میزان آن در تیمار ۲ مشاهده شد (جدول ۳). کمترین شمارش تعداد کلی فرمها در تیمار ۲ و بالاترین میزان آن در گروه شاهد مشاهده شد (جدول ۳) که از نظر آماری کاهش معنی داری در تیمارهای ۲ و ۳ نسبت به تیمار شاهد وجود داشت (p < ۰/۰۵). همچنین، بیشترین نسبت درصد جمعیت باکتری های اسیدلاکتیک و کلی فرمها به باکتری های کل به ترتیب مربوط به تیمار ۲ و شاهد بود.

از نظر شمارش باکتریایی، بالاترین تعداد کل باکتری های زیست پذیر در ماهیان تغذیه شده با سطوح مختلف سین بیوتیک با یومین ایمبو در تیمار ۳ به میزان log cfu/g ۰/۸۱ ± ۶/۷۵ به دست آمد که بجز با تیمار ۲ با بقیه تیمارها اختلاف معنی دار نشان داد (p < ۰/۰۵). تعداد باکتری های اسید لاکتیک در تیمارهای ۲ و ۳ در مقایسه با تیمار شاهد افزایش معنی دار داشت (p < ۰/۰۵) و بالاترین

جدول ۳ تاثیر سین بیوتیک با یومین ایمبو بر جمعیت میکروبی (log cfu/g) روده ماهی کفال خاکستری (*Mugil cephalus*)

تعداد کل باکتری - های زیست پذیر	تعداد باکتری های اسید لاکتیک	تعداد کلی فرمها	درصد جمعیت باکتری های کل	درصد جمعیت باکتری های اسید لاکتیک به باکتری های کل
۴/۸۸ ± ۰/۲۹ ^b	۳/۰۰ ± ۰/۲۴ ^b	۱/۹۸ ± ۰/۱۵ ^c	۴۰/۵۷ ^c	۶۱/۴۷ ^b
۴/۸۹ ± ۰/۷۰ ^b	۳/۰۸ ± ۰/۰۷ ^b	۱/۸۰ ± ۰/۲ ^c	۳۶/۸۰ ^c	۶۲/۹۸ ^b
۶/۵۹ ± ۰/۳۵ ^a	۴/۶۵ ± ۰/۱۵ ^a	۰/۶۵ ± ۰/۱۸ ^a	۹/۸۶ ^a	۷۰/۵۶ ^a
۶/۷۵ ± ۰/۸۱ ^a	۴/۳۳ ± ۰/۳ ^a	۱/۱۴ ± ۵/۲۵ ^b	۱۶/۸۹ ^b	۶۴/۱۵ ^b

حروف غیرمشترک در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی دار است (p < ۰/۰۵).

تیمار ۳ و گلوکاتایون اس-ترانسفراز و گلوکاتایون ردوکتاز در تیمار ۲ بالاترین میزان بود که در مقایسه با شاهد افزایش معنی دار داشته است (p < ۰/۰۵). سطح فعالیت گلوکاتایون پراکسیداز در ماهیان تغذیه شده با سطوح مختلف سین بیوتیک با یومین ایمبو در مقایسه با شاهد کمتر بود و اختلاف معنی داری با هم نداشتند. معمولاً باکتری های پروبیوتیک قادرند متابولیت های مختلفی با فعالیت آنتی اکسیدانی از قبیل گلوکاتایون، بوتیرات و فولات را تولید

توسعه غذاهای فراسودمند که سبب بهبود سلامت ماهی می شود، یکی از عوامل مهم مدیریت تغذیه ای در آبی پروری است، توانایی استفاده از پروبیوتیکها و سین بیوتیک در جیره غذایی آبزیان به منظور ارتقای سلامت توسط محققان مختلف اثبات شده است (Hosseinifaer et al. 2015; Adel et al. 2017; Dawood et al., 2019). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که فعالیت سوپراکسید دیسموتاز در

بحث

ارزیابی فعالیت آنزیم‌های گوارشی، شاخص بالینی و فیزیولوژیک مهمی در تعیین سلامت دستگاه گوارش و مطالعه وضعیت تغذیه‌ای موجودات است، زیرا این آنزیم‌ها از طریق پیشبرد واکنش‌های بیوشیمیایی بر روی مواد غذایی، نقش مهمی در تأمین انرژی و متابولیت‌های حیاتی برای رشد، تکامل و دیگر فعالیت‌های زیستی ماهیان دارند (Gisbert et al. 2009). در مطالعه حاضر سطوح مختلف سین‌بیوتیک تأثیر متفاوتی بر فعالیت آنزیم‌های گوارشی داشتند، به طوری که حتی در بین تیمارهای مختلف سین‌بیوتیک نیز میزان فعالیت آنزیم‌های آمیلاز، تریپسین و کیموتریپسین با یکدیگر معنی‌دار بود. از بین آنزیم‌های گوارشی اندازه‌گیری شده بجز آنزیم آلکالین فسفاتاز و لیپاز، بقیه آنزیم‌های گوارشی در تیمار ۲ نسبت به شاهد افزایش معنی‌دار داشتند و بیشترین میزان آن مربوط به آنزیم پروتئاز بود. در مطالعه حاضر، افزایش فعالیت آنزیم‌های پروتئاز، آمیلاز، تریپسین و کیموتریپسین احتمالاً به دلیل تولید و ترشح آنزیم‌های خارج سلولی توسط سین‌بیوتیک موجود در جیره است، زیرا مشخص شده است که باکتری‌های پروبیوتیک قادر به ساختن آنزیم‌های خارج سلولی از قبیل پروتئاز و آمیلاز هستند که از این طریق، باعث افزایش فعالیت آن‌ها و فرایند هضم غذا می‌شوند (Douillet and Langdon, 1994). در مطالعه‌ای توسط دهقانی و همکاران (۲۰۱۵) افزایش معنی‌دار در فعالیت آنزیم‌های تریپسین و کیموتریپسین کپور معمولی تغذیه شده با سین‌بیوتیک بایومین ایمبو گزارش شد. در مطالعه این محققان، همسو با نتایج مطالعه حاضر، تغییر معنی‌داری در فعالیت آنزیم‌های لیپاز و آلکالین فسفاتاز مشاهده نشد. هم راستا با نتایج حاضر، Bairagi و همکاران (۲۰۰۴) افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی آمیلاز و پروتئاز را در ماهی روهو گزارش کردند. همچنین، Ghosh و همکاران (۲۰۰۴) با استفاده از جیره دستکاری شده ماهی روهو به شکل تخمیر با باسیلوس‌های پروبیوتیکی، روند افزایشی فعالیت آنزیم‌های گوارشی را گزارش کردند. Kumar و همکاران (۲۰۱۸) با بررسی تأثیر سین‌بیوتیک در جیره ماهی *Cirrhinus mrigala* تفاوت معنی‌دار در فعالیت

کنند که نقش مهمی در بهبود وضعیت اکسیداتیو دارند (Wang et al. 2017)، اما احتمالاً سین‌بیوتیک‌ها میزان کمتری از این آنزیم آنتی‌اکسیدانی را داشته باشند (Singh et al. 2019) که سبب شده در مطالعه حاضر مقدار آن در تیمارهای حاوی سطوح مختلف سین‌بیوتیک نسبت به شاهد کمتر شود. سوپر اکسید دیسموتاز و گلوٹیون اس-ترانسفراز و ردوکتاز به عنوان آنزیم‌های مهم در دستگاه دفاعی آنتی‌اکسیدانی هستند. افزایش فعالیت این آنزیم‌ها نشان دهنده مهار شدن فعالیت رادیکال‌های آزاد و بهبود وضعیت اکسیدان بدن ماهیان است (Puangkaew et al. 2005). مطابق با نتایج مطالعه حاضر، در مطالعه‌ای توسط حسینی‌فر و همکاران در سال ۲۰۱۷ در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) تغذیه شده با سین‌بیوتیک، Lee و همکاران (۲۰۱۷) در مارماهی ژاپنی (*Anguilla japonica*) تغذیه شده با مخلوط پروبیوتیک *Bacillus subtilis* و *Lactobacillus plantarum* و نیز Dawood و همکاران (۲۰۱۹) در ماهی تیلپای نیل (*Oreochromis niloticus*) تغذیه شده با سین‌بیوتیک فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی افزایش یافت. همچنین Zhang و همکاران (۲۰۱۳) گزارش کردند استفاده از ۳٪ فروکتوالیگوساکارید همراه با باکتری پروبیوتیکی *Bacillus licheniformis* در جیره غذایی ماهی سیم (*Megalobrama terminalis*) منجر به افزایش فعالیت سوپراکسیداز دیسموتاز و گلوٹیون پراکسیداز در کبد شد. محققان مختلف دریافتند که پروبیوتیک‌ها به طور معنی‌دار پراکسیداسیون لیپیدی و تشکیل نیتریک اکساید را در بافت‌ها مهار کرده و از این طریق آسیب اکسیداتیو ایجاد شده را کاهش، و مقادیر از قبیل گلوٹیون پراکسیداز، گلوٹیون ردوکتاز و سوپراکسید دیسموتاز را افزایش می‌دهند (Yadav et al., 2008). بر خلاف مطالعه حاضر در مطالعه Singh و همکاران (۲۰۱۹) تغذیه با مکمل سین‌بیوتیک در ماهی کپور هندی (*Labeo rohita*) تأثیر معنی‌داری بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز و گلوٹیون اس-ترانسفراز نداشت. این عدم همخوانی می‌تواند احتمالاً ناشی از نوع باکتری پروبیوتیکی، گونه ماهی و نیز شرایط آزمایش باشد.

همسویی ندارد. این اختلاف در نتایج احتمالاً ناشی از گونه ماهی، نوع و میزان مکمل غذایی مورد استفاده و نحوه افزودن آن است. در مطالعه واعظی و همکاران (۲۰۱۶) شمارش باکتریایی کل و نیز جمعیت باکتری اسید لاکتیک در تاس ماهیان روسی (*Acipenser gueldenstadtii*) تغذیه شده با سین بیوتیک با یومین ایمبو نسبت به گروه شاهد به طور معنی دار بیشتر بود که با نتایج مطالعه حاضر همخوانی دارد. کمترین شمارش تعداد کلی فرم ها و بیشترین نسبت درصد باکتری های اسید لاکتیک به باکتری های کل در تیمار ۲ مشاهده شد که این افزایش نسبت باکتری های اسید لاکتیک به دلیل اثرات سین بیوتیک بر القای رشد و تکثیر باکتری های مفید و محدود شدن باکتری های مضر است، زیرا باکتری های اسید لاکتیک به واسطه تولید باکتریوسین ها، مانع از رشد باکتری های بیماری زا شده و بدین ترتیب، اثرات مثبتی بر فلور میکروبی روده ماهی می گذارند (Ringo and Gatesoupe, 1998).

نتیجه گیری کلی

با توجه به افزایش معنی دار فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی و گوارشی و نیز بالا بودن تعداد و نسبت باکتری های اسید لاکتیک به تعداد کل باکتری ها در تیمار ۲، به کارگیری سطح ۱ گرم سین بیوتیک به ازای هر کیلوگرم غذا توانسته است بهترین شرایط را برای ماهی کفال خاکستری از نظر بهبود سلامت دستگاه گوارش و مکانیسم دفاعی آنتی اکسیدانی و در نتیجه، ارتقای سلامت آن فراهم کند و استفاده از سین بیوتیک با یومین ایمبو به میزان ۱ گرم در هر کیلوگرم غذا می تواند مکمل غذایی مناسبی در تغذیه ماهی کفال خاکستری باشد.

منابع

بیتا، س.، اکبری، پ.، سرحدی پور، م. ۱۳۹۶. بررسی تاثیر سین بیوتیک (*BioMin Imbo*) بر وضعیت آنتی اکسیدان و پروفایل لیپیدی بچه ماهیان کفال معمولی (*Mugil cephalus*). تحقیقات دامپزشکی و فرآورده های بیولوژیک ۳۰: ۲۳۳-۲۲۴.

آنزیم های گوارشی نسبت به گروه شاهد مشاهده کردند که با نتایج مطالعه حاضر همخوانی دارد.

با توجه به اینکه روده ماهیان جایگاه مهمی از نظر بروز بیماری های باکتریایی به شمار می آید، بنابراین، بررسی جمعیت فلور میکروبی روده آن ها طی تغذیه با مکمل های غذایی به خصوص سین بیوتیک ها از اهمیت خاصی برخوردار است، زیرا در اثر استفاده از این مکمل ها، امکان تغییر فلور باکتریایی روده به سمت باکتری های مفید وجود دارد. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که به کارگیری مکمل سین بیوتیک با یومین ایمبو اثر معنی دار بر تعداد کل باکتری های زیست پذیر و اسید لاکتیک در تیمارهای ۲ و ۳ نسبت به گروه شاهد داشته است، به طوری که با افزایش سطح سین بیوتیک در جیره، تعداد کل باکتری های زیست پذیر نیز افزایش یافته است. مشخص شده است که به کارگیری این مکمل ها در جیره غذایی باعث تحریک رشد و تکثیر یک یا تعداد محدودی از باکتری های روده شده و به این ترتیب، سلامت میزبان را بهبود می بخشد (Collin and Gibsin, 1999). بنابراین، احتمالاً افزایش جمعیت میکروبی در مطالعه حاضر، به دلیل اثر مثبت سین بیوتیک با یومین ایمبو در القای رشد و تکثیر این باکتری هاست. نتایج مشابهی در اثر به کارگیری سطوح مختلف پری بیوتیک ها بر میکروبیوتای روده های فیل ماهی (*Huso huso*) و ازون برون (*Acipenser stellatus*) به دست آمد (Mansour et al. 2012; Akrami et al. 2013). جمعیت باکتری های اسید لاکتیک در تیمار ۳ به رغم بالا بودن سطح سین بیوتیک در جیره، نسبت به تیمار ۲ اندکی کمتر بود. بر خلاف نتایج مطالعه حاضر، در مطالعه قاسم پور دهقانی و همکاران (۱۳۹۲) بر روی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) بیشترین میزان باکتری های اسید لاکتیک در ماهیان تغذیه شده با بالاترین سطح سین بیوتیک (تیمار ۳) مشاهده شد. در مطالعه حسینی فر و حسین نیا (۱۳۹۳) جمعیت باکتری های اسید لاکتیک در روده فیل ماهی جوان تغذیه شده با مکمل های فروکتوالیگوساکارید و پری بیوتیک مخمری، به موازات افزایش سطوح پری بیوتیک جیره، افزایش معنی دار داشت. همچنین، جمعیت کل باکتری های زیست پذیر، تفاوت معناداری با گروه شاهد نشان نداد که با نتایج تحقیق حاضر

صفوی، ف.، باقری، ط.، شهپازی ناصرآباد، س. ۱۳۹۷. تاثیر سین‌بیوتیک بایومین ایمبو بر شاخص‌های هماتولوژی، رشد، بهره‌وری غذا، ترکیب شیمیایی لاشه و بقای ماهی سفید خزری (*Rutilus frisii*). توسعه آبی‌پروری ۱۲: ۷۱-۸۲.

قاسم پور دهاقانی، پ.، جواهری بابلی، م.، ضیایی‌نژاد، س.، تقوی مقدم، ا.، پورفرهادی، م. ۱۳۹۲. بررسی اثر مکمل غذایی سین بیوتیک بایومین ایمبو به عنوان مکمل غذایی بر عملکرد رشد، بازماندگی و فلور باکتریایی روده ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) انگشت قد. توسعه آبی‌پروری ۷: ۴۳-۵۲.

Abid, A., Davies, S.J., Waines, P., Emery, M., Castex, M., Gioacchini, G., Merrifield, D.L. 2013. Dietary synbiotic application modulates Atlantic salmon (*Salmo salar*) intestinal microbial communities and intestinal immunity. Fish and Shellfish Immunology 35: 1948-1956.

Adel, M., Yeganeh, S., Dawood, M.A.O., Safari, R., Radhakrishnan, S. 2017. Effects of *Pediococcus pentosaceus* supplementation on growth performance, intestinal microflora and disease resistance of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. Aquaculture Nutrition 23: 1401-1409.

Akrami, R., Iri, Y., Rostami, H.K., Mansour, M.R. 2013. Effect of dietary supplementation of fructooligosaccharide (FOS) on growth performance, survival, lactobacillus bacterial population and hemato-immunological parameters of stellate sturgeon (*Acipenser stellatus*) juvenile. Fish and Shellfish Immunology 35: 1235-1239.

Bairagi, A., Sarkar Ghosh, K., Sen, S.K., Ray, A.K. 2004. Evaluation of the nutritive value of *Leucaena leucocephala* leaf meal, inoculated with fish intestinal bacteria *Bacillus subtilis* and *Bacillus circulans* in formulated diets for rohu,

حسینی‌فر، س.ح.، حسین‌نیا، ز. ۱۳۹۳. بررسی مقایسه‌ای اثرات سطوح مختلف فروکتوالیگوساکارید و پربیوتیک مخمری بر ترکیب میکروبیوتای رودهای فیل ماهی جوان (*Huso huso*). بهره‌برداری و پرورش آبزیان ۳: ۷۸-۶۷.

روحی، ز.، قاسم‌زاده، ج.، شکوه سلجوقی، ظ. ۱۳۹۶. تأثیر سطوح مختلف سینبیوتیک بایومین ایمبو بر کارایی رشد، تغذیه، ترکیب لاشه و برخی فاکتورهای ایمنی-خونی بچه ماهیان کفال خاکستری (*Mugil cephalus*). توسعه آبی‌پروری ۱۱: ۶۵-۵۳.

Labeo rohita (Hamilton) fingerlings. Aquaculture Research 35: 436-446.

Cahu, C.L., Infante, J.Z., Quazuguel, P., Le Gall, M.M. 1999. Protein hydrolysate vs. fish meal in compound diets for 10-day old sea bass *Dicentrarchus labrax* larvae. Aquaculture 171: 109-119.

Carbone, D., Faggio, C. 2016. Importance of prebiotics in aquaculture as immunostimulants. Effects on immune system of *Sparus aurata* and *Dicentrarchus labrax*. Fish and Shellfish Immunology 54: 172-178.

Cerezuela, R., Meseguer, J., Esteban, M.A. 2011. Current knowledge in symbiotic use for fish aquaculture: a review. Journal of Aquaculture Research and Developments 1: 1-7.

Chitsaz, H., Akrami, R., Arab Arkadeh, M. 2016. Effect of dietary synbiotics on growth, immune response and body composition of Caspian roach (*Rutilus rutilus*). Iranian Journal of Fisheries Sciences 15: 170-182.

Collins, M.D., Gibson, G.R. 1999. Probiotics, prebiotics and symbiotic: approaches for modulating the microbial ecology of the gut. The American Journal of Clinical Nutrition 69: 1052-1057.

Dawood, M.A., Eweedah, N.M., Moustafa, E.M., Shahin, M.G. 2019. Synbiotic effects of *Aspergillus oryzae* and β -

- glucan on growth and oxidative and immune responses of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*. Probiotics and Antimicrobial Proteins 1-12.
- Dawood, M.A., Koshio, S., Abdel-Daim, M. M., Van Doan, H. 2019. Probiotic application for sustainable aquaculture. Reviews in Aquaculture 11: 907-924.
- Douillet, P.A., Langdon, C.J. 1994. Use of a probiotic for the culture of larvae of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas* Thunberg). Aquaculture 119: 25-40.
- Erlanger, B.F., Kokowsky, N., Cohen, W. 1961. The preparation and properties of two new chromogenic substrates of trypsin. Archives of Biochemistry and Biophysics 95: 271-278.
- Ghosh, K., Sen, S.K., Ray, A.K. 2004. Growth and survival of rohu, *labeo rohita* [hamilton, 1822] spawn fed diets fermented with intestinal bacterium, *bacillus circulans*. Acta Ichthyologica et Piscatoria 34: 155-165.
- Giri, S.S., Sahoo, S.K., Sahu, B.B., Sahu, A.K., Mohanty, S.N., Mukhopadhyay, P.K., Ayyappan, S. 2002. Larval survival and growth in *Wallago attu* (Bloch and Schneider): effects of light, photoperiod and feeding regimes. Aquaculture 213: 151-161.
- Gisbert, E., Giménez, G., Fernández, I., Kotzamanis, Y., Estévez, A. 2009. Development of digestive enzymes in common dentex *Dentex dentex* during early ontogeny. Aquaculture 287: 381-387.
- Habig, W.H., Pabst, M.J., Jakoby, W.B. 1974. Glutathione S-transferases the first enzymatic step in mercapturic acid formation. Journal of Biological Chemistry 249: 7130-7139.
- Hoseinifar, S.H., Mirvaghefi, A., Amoozegar, M.A., Sharifian, M., Esteban, M.Á. 2015. Modulation of innate immune response, mucosal parameters and disease resistance in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) upon synbiotic feeding. Fish and Shellfish Immunology 45: 27-32.
- Hoseinifar, S.H., Zare, P., Merrifield, D.L. 2010. The effects of inulin on growth factors and survival of the Indian white shrimp larvae and postlarvae (*Fenneropenaeus indicus*). Aquaculture Research 41: 348-352.
- Hummel, B.C. 1959. A modified spectrophotometric determination of chymotrypsin, trypsin, and thrombin. Canadian Journal of Biochemistry and Physiology 37: 1393-1399.
- Iswarya, A., Vaseeharan, B., Anjugam, M., Gobi, N., Divya, M., Faggio, C. 2018. β -1, 3 glucan binding protein-based selenium nanowire enhances the immune status of *Cyprinus carpio* and protection against *Aeromonas hydrophila* infection. Fish and Shellfish Immunology 83: 61-75.
- Jafarzadeh, E., Khara, 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.
- Jin, Y., Zhang, X., Shu, L., Chen, L., Sun, L., Qian, H., Liu, W., Fu, Z. 2010. Oxidative stress response and gene expression with atrazine exposure in adult female zebrafish (*Danio rerio*). Chemosphere 78: 846-852.
- Kumar, P., Jain, K.K., Sardar, P., Jayant, M., Tok, N.C. 2018. Effect of dietary synbiotic on growth performance, body composition, digestive enzyme activity and gut microbiota in *Cirrhinus mrigala* (Ham.) fingerlings. Aquaculture Nutrition 24: 921-929.
- Lee, S., Katya, K., Park, Y., Won, S., Seong, M., Bai, S.C. 2017. Comparative evaluation of dietary probiotics *Bacillus subtilis* WB60 and *Lactobacillus plantarum* KCTC3928 on the growth performance, immunological parameters,

- gut morphology and disease resistance in Japanese eel, *Anguilla japonica*. *Fish and Shellfish Immunology* 61: 201-210.
- 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* (Linnaeus, C. 1758). *Aquaculture International* 14: 219.
- Mansour, M.R., Akrami, R., Ghobadi, S.H., Denji, K.A., Ezatrahimi, N., Gharaei, A. 2012. 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* 38: 829-835.
- Merrifield, D.L., Olsen, R.E., Myklebust, R., Ringø, E. 2011. Dietary effect of soybean (*Glycine max*) products on gut histology and microbiota of fish. In: El-Shemy H (ed) *Soybean and Nutrition*, INTECH Open Access Publisher 231-250.
- Mona, M.H., Rizk, E.S.T., Salama, W.M., Younis, M.L. 2015. Efficacy of probiotics, prebiotics, and immunostimulant on growth performance and immunological parameters of *Procambarus clarkii* juveniles. *The Journal of Basic and Applied Zoology* 69: 17-25.
- Pérez-Jiménez, A., Guedes, M.J., Morales, A.E., Oliva-Teles, A. 2007. Metabolic responses to short starvation and refeeding in *Dicentrarchus labrax*. Effect of dietary composition. *Aquaculture* 265: 325-335.
- Puangkaew, J., Kiron, V., Satoh, S., Watanabe, T. 2005. Antioxidant defense of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in relation to dietary n-3 highly unsaturated fatty acids and vitamin E contents. *Comparative Biochemistry and Physiology* 140C: 187-196.
- Ringø, E., Gatesoupe, F.J. 1998. Lactic acid bacteria in fish: a review. *Aquaculture* 160: 177-203.
- Sewaka, M., Trullas, C., Chotiko, A., Rodkhum, C., Chansue, N., Boonanuntanasarn, S., Pirarat, N. 2019. Efficacy of synbiotic *Jerusalem artichoke* and *Lactobacillus rhamnosus* GG-supplemented diets on growth performance, serum biochemical parameters, intestinal morphology, immune parameters and protection against *Aeromonas veronii* in juvenile red tilapia (*Oreochromis* spp.). *Fish and Shellfish Immunology* 86: 260-268.
- Singh, S.K., Tiwari, V.K., Chadha, N.K., Munilkumar, S., Prakash, C., Pawar, N.A. 2019. Effect of dietary synbiotic supplementation on growth, immune and physiological status of *Labeo rohita* juveniles exposed to low pH stress. *Fish and Shellfish Immunology* 91: 358-368.
- Vaezi, M., Khara, H., Shenavar, A. 2016. Synbiotic (*Bioimin imbo*) alters gut bacterial microflora of Russian sturgeon, *Acipenser guldenstadti* (Brandt and Ratzeburg, 1833) in a time-dependent pattern. *Journal of Parasitic Diseases* 40: 1189-1192.
- Van Doan, H., Hoseinifar, S.H., Faggio, C., Chitmanat, C., Mai, N.T., Jaturasitha, S., Ringø, E. 2018. Effects of corncob derived xylooligosaccharide on innate immune response, disease resistance, and growth performance in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings. *Aquaculture* 495: 786-793.
- Wang, Y., Wu, Y., Wang, Y., Xu, H., Mei, X., Yu, D., Wang, Y., Li, W. 2017. Antioxidant properties of probiotic bacteria. *Nutrients* 9: 5-21.
- Worthington, C.C. 1991. *Worthington Enzyme Manual*. Freehold, New Jersey, USA, 346 p.
- Yadav, H., Jain, S., Sinha, P.R. 2008. Oral administration of dahi containing probiotic *Lactobacillus acidophilus* and

Lactobacillus casei delayed the progression of streptozotocin-induced diabetes in rats. Journal of Dairy Research 75: 189-195.

Yang, T., Li, X., Zhu, W., Chen, C., Sun, Z., Tan, Z., Kang, J. 2014. Alteration of antioxidant enzymes and associated genes induced by grape seed extracts in the primary muscle cells of goats in vitro. PLoS One 9: e107670.

Zhang, C.N., Li, X.F., Xu, W.N., Jiang, G.Z., Lu, K.L., Wang, L.N., Liu, W.B. 2013. Combined effects of dietary fructooligosaccharide and *Bacillus licheniformis* on innate immunity, antioxidant capability and disease resistance of triangular bream (*Megalobrama terminalis*). Fish and Shellfish Immunology 35: 1380-1386.

The effects of symbiotic Biomin Imbo supplementation on the antioxidant activities, digestive enzymes and microbial flora of grey mullet, *Mugil cephalus* intestine

Seraj Bita*, Mahin Sarhadipour

Fisheries Department, Faculty of Marine Sciences, Chabahar Maritime University, Chabahar, Sistan and Baluchistan, Iran

Received 20 April 2019; accepted 12 September 2019

Abstract

In recent years, the use of dietary supplements, especially synbiotics, in the diet of farmed fish has been considered due to its beneficial effects on fish health. In this study, the effects of different levels of symbiotic Biomin Imbo were examined on the antioxidant activities, digestive and bacterial flora in the intestine of *Mugil cephalus*. One hundred and twenty grey mullet with a mean weight of 3.92 ± 0.43 g were reared in 60-liter aquaria for 60 days (10 fish in each aquarium) and the treatments were fed with diet containing symbiotic supplement at different levels including 0.5 (T_{0.5}), 1 (T₁), 1.5 g (T_{1.5}) synbiotic per kg of feed, while control contained no supplementation. Feeding was carried out manually. At the end of the experiment, the fish intestine was removed and antioxidant enzyme activities including superoxide dismutase, glutathione peroxidase and glutathione S-transferase as well as digestive enzyme levels including lipase, amylase, alkaline phosphatase, protease, pepsin, chymotrypsin along with microbial flora were assayed. According to the results, superoxide dismutase activity at T₁ and T_{1.5} and glutathione S-transferase and glutathione reductase at T₁ were significantly increased compared to the control ($p < 0.05$), whereas glutathione peroxidase activity did not exhibit any significant difference ($p > 0.05$). The high levels of synbiotic displayed significant effects on all the digestive enzyme activities except for alkaline phosphatase and lipase ($p < 0.05$). Total number of viable and lactic acid bacteria in T₁ and T_{1.5} significantly increased compared to the control, while the number of coliforms in these treatments was significantly decreased ($p < 0.05$). The findings of the present study exhibited that the diet containing 1 g synbiotic per kg of feed can be used as a suitable dietary supplement for grey mullet.

Keywords: Synbiotic Biomin Imbo, Antioxidant defense, Digestive enzymes, Microbial flora, *Mugil cephalus*

Corresponding author: serajbita@yahoo.com