تأثیر پروبیوتیک تجاری بیوپلاس 2B بر خصوصیات کیفی آب، میزان رشد و درصد بازماندگی ماهی*Poecilia sphenops* در سیستم بدون تعویض آب

ثنا ربیعی[1]*؛ سعید ضیایی نژاد[1]
zbsaeed@yahoo.com
۱- دانشگاه شهید چمران اهواز، دانشکده منابع طبیعی بهبهان، گروه شیلات

تاریخ دریافت : مهر ۱۳۹۱ تاریخ پذیرش :آذر ۱۳۹۱

چکیده

در آبزی پروری کیفیت آب نقش مهمی در سلامت ماهی و میزان رشد و بقاء آن ایفا می‌نماید. با افزایش تقاضا برای آبزی پروری دوستدار محیط زیست استفاده از پروبیوتیک‌ها به این منظور به طور گسترده مورد پذیرش قرار گرفته است. در مطالعه حاضر اثر پروبیوتیک بیوپلاس 2B با غلظت‌های ۰/۱ و ۰/۲ گرم بر لیتر در مقایسه با تیمار شاهد بر خصوصیات کیفی آب و میزان رشد و بازماندگی ماهی مولی (*Poecilia sphenops*) در سیستم بدون تعویض آب به مدت یک ماه مورد ارزیابی قرار گرفت. آزمایش در آزمایشگاه گروه شیلات دانشکده منابع طبیعی بهبهان در پاییز سال ۱۳۸۵ انجام پذیرفت. ۹ آکواریوم شامل۳ تکرار برای هر تیمار مورد استفاده قرار گرفت، هر مخزن با ۳۰ عدد ماهی (میانگین وزنی۱/۰۵ گرم) ذخیره سازی شد. فاکتورهای کیفی آب شامل، هدایت الکتریکی، اکسیژن محلول و pH به مدت یک ماه به صورت روزانه مورد بررسی قرار گرفتند و در پایان به منظور تعیین میزان رشد و بازماندگی، ماهیان وزن و شمارش شدند. در نهایت مشاهده شد که پروبیوتیک تأثیر معنی‌داری بر خصوصیات کیفی آب ندارد ($p>۰/۰۵$) هرچند سبب افزایش رشد و درصد بازماندگی ماهی‌ها شد ($p<۰/۰۵$). این آزمایش در آزمایشگاه گروه شیلات دانشگاه صنعتی خاتم الانبیا بهبهان در پاییز سال ۱۳۸۵ انجام پذیرفت.

کلمات کلیدی : پروبیوتیک، بیوپلاس 2B، *Poecilia sphenops* ، خصوصیات کیفی آب، درصد بازماندگی.

Arc

*نویسنده مسئول

www.SID.ir

۱.مقدمه

در سال‌های اخیر آبزی پروری با رشد ۱۰ درصدی از سریع الرشدترین بخش‌های تولید غذا بوده است، آبزی‌پروری در کنار این رشد قابل توجه همواره با مشکلاتی نیز روبرو بوده است که از آن جمله می‌توان به تغییرات کیفیت آب، شیوع بیماری‌ها و مشکلات تغذیه‌ای اشاره کرد (۶). استفاده از داروهای ضدمیکروب و ترکیبات ضدعفونی کننده به منظور مقابله با عوامل بیماری‌زا و بهبود کیفیت آب مشکلاتی همچون مقاوم شدن سویه‌های باکتریایی و مسائل زیست محیطی را به دنبال دارد از این رو در سال‌های اخیر مطالعاتی در رابطه با استفاده از پروبیوتیک‌ها به عنوان جایگزینی برای این ترکیبات انجام شده است (۵،۹). پروبیوتیک ها مکمل‌های غذایی زنده هستند و از نظر سویه میکروبی مؤثرشان به سه گروه پروبیوتیک-های باکتریایی، قارچی و مخمری تقسیم می‌شوند. پروبیوتیک-های باکتریایی عمده‌ترین پروبیوتیک‌هایی‌اند که تاکنون در آبزی پروری استفاده شده‌اند (۷). از جمله مزایای پروبیوتیک‌ها در استخرهای آبزی پروری شامل: افزایش تجزیه مواد آلی، بهبود رشد جلبکی، افزایش اکسیژن محلول، کنترل آمونیاک، نیتریت و سولفید هیدروژن، کاهش شیوع بیماری‌ها و در نهایت افزایش تولید ماهی و میگو می‌باشد (۲). پروبیوتیک‌ها با غالب شدن در کف استخرهای پرورشی و هضم ضایعات و لجن سبب محدودیت پاتوژن‌های عامل بیماری و بهبود کیفیت آب می شوند (۹،۱۱). ادعا می‌شود که پروبیوتیک‌ها با تسریع فرایندهای طبیعی همچون نیتریفیکاسیون، آمونیفیکاسیون، دنتریفیکاسیون، اکسیداسیون سولفیدها و تجزیه ترکیبات سمی سبب بهبود کیفیت آب می‌شوند. دراستخرهای حاوی فلور میکروبی چرخه تبدیل مواد ارگانیک به مواد غذایی همانند اکوسیستم‌های طبیعی می تواند صورت بپذیرد (۲). بهبود خصوصیات کیفی آب به طور کلی مربوط به باکتری‌های جنس باسیلوس می‌باشد به دلیل اینکه باکتری‌های گرم مثبت در تبدیل مواد آالی به CO_2 نسبت به باکتری‌های گرم منفی موثرترند (۳). پروبیوتیک‌ها سبب کاهش میکروب‌های بیماری‌زا در محیط و موجود زنده شده و با تقویت میکروارگانیسم‌های مفید موجود در دستگاه گوارش ماهی سبب سلامتی و افزایش رشد و درصد بازماندگی ماهی می-شوند (۴). تا کنون مطالعاتی در رابطه با تأثیر پروبیوتیک‌ها بر خصوصیات کیفی آب در استخرها و مخازن پرورش ماهی و میگو صورت گرفته و نتایج متناقضی به دست آمده است به طوری که در برخی مطالعات استفاده از پروبیوتیک سبب بهبود کیفیت آب شده و در برخی دیگر تأثیر معنی‌داری نداشته است لذا در مطالعه حاضر امکان استفاده از پروبیوتیک بیوپلاس 2B به منظور بهبود کیفیت آب و افزایش زشد و درصد بازماندگی ماهی‌ها در سیستم بدون تعویض آب مورد مطالعه قرار گرفت.

۲. مواد و روش‌ها

ماهیان: این آزمایش در آزمایشگاه گروه شیلات دانشکده منابع طبیعی بهبهان در پاییز سال ۱۳۸۵ انجام پذیرفت. ماهیان مولی *Poecilia sphenops* با میانگین وزن ۱/۰۵ گرم و طول ۴/۵ سا نتی متر از مرکز تکثیر و پرورش ماهیان زینتی شیراز خریداری شده و پس از ورود به محل آزمایش به مدت دو هفته با شرایط آدپته و در دمای ۲۸-۳۰ درجه سانتی گراد نگهداری شدند و در طول دوره آزمایش با غذای لوفاگ غذادهی گردیدند.

پروبیوتیک مصرفی: در این تحقیق از پروبیوتیک بیوپلاس 2B استفاده گردید. بیوپلاس 2B، پروبیوتیکی است حاوی سویه‌های برتر ژنتیکی دو نوع باسیل، به نام‌های *Bacillus subtilis* CH201 و *B. licheniformis* CH200 که به نسبت‌های برابر در این ترکیب وجود دارند.

مراحل آزمایش: آزمایش در سه تیمار و هر تیمار با سه تکرار انجام گرفت. به این منظور از مخازن شیشه‌ای با گنجایش ۶۰ لیتر استفاده گردید. اکواریوم‌ها ابتدا ضدعفونی و سپس آبگیری شدند و ۳۰ عدد ماهی مولی به صورت تصادفی به هر

Archive of SID

کدام از مخازن اضافه شد. پروبیوتیک مصرفی به صورت یک روز در میان به هرکدام از مخازن افزوده شد. در تیمار P_3 غلظت پروبیوتیک مصرفی ۰/۱ گرم بر لیتر و در تیمار P_6 غلظت پروبیوتیک مصرفی ۰/۲ گرم بر لیتر و تیمار شاهد C بدون پروبیوتیک بود. پروبیوتیک مصرفی ابتدا در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر حل شده و پس از هوادهی به مدت ۲ ساعت به مخازن افزوده شد.

فاکتورهای کیفی آب: در طی دوره ۳۰ روزه آزمایش سنجش خصوصیات کیفی آب شامل pH، دما، اکسیژن محلول و هدایت الکتریکی به صورت روزانه صورت گرفت. به این منظور از دستگاه‌های pH متر، اکسیژن سنج و کانداکتیویتی سنج مدل Hach DRZ استفاده شد.

رشد و بازماندگی: به منظور تعیین میزان رشد و بازماندگی بیومتری ماهی‌ها پیش از ذخیره سازی و در پایان دوره آزمایش با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت دورقم اعشار صورت گرفت. تلفات ماهیان نیز به صورت روزانه ثبت گردید. فاکتورهای رشد و درصد بازماندگی ماهی‌ها بر اساس فرمول-های زیر محاسبه شد.

درصد بازماندگی =(میزان ماهی اولیه/میزان ماهی باقی مانده)×۱۰۰

WG(وزن به دست آمد) =وزن انتهایی – وزن ابتدایی

$$SGR(\text{ضریب رشدویژه وزنی}) = \frac{\ln w1 - \ln w2}{t} \times 100$$

آنالیز آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار $spss_{13}$ صورت گرفت. پس از کنترل نرمال بودن داده‌ها توسط آزمون آماری کلموگروف اسمیرنف از تجزیه واریانس یک طرفه به منظور تعیین اختلاف معنی‌دار بین تیمارها و از آزمون دانکن برای مقایسه میانگین‌ها در سطح ۰/۰۵ استفاده شد. ترسیم اشکال با استفاده از نرم افزار Excel 2007 صورت گرفت.

۳.نتایج

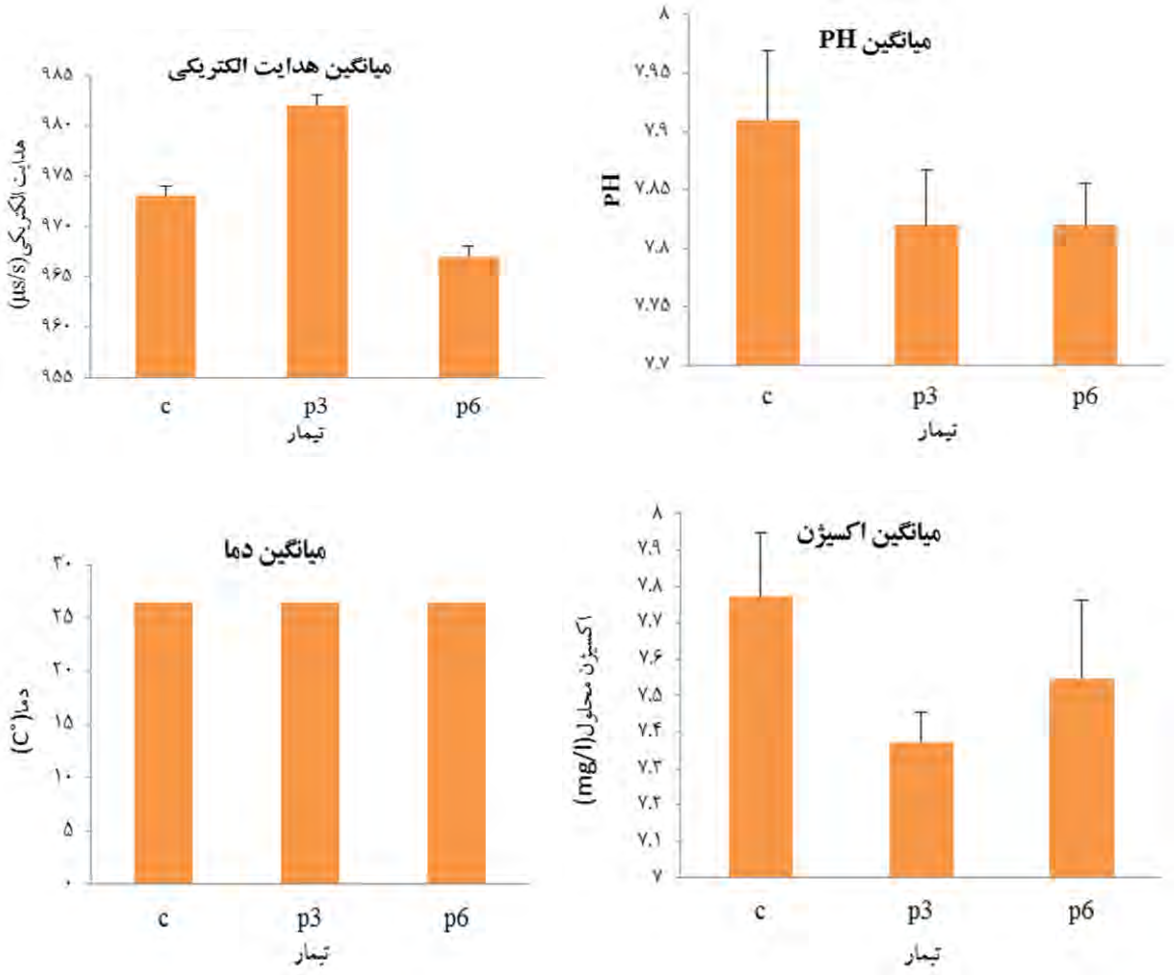
نتایج تأثیرمقادیر مختلف پروبیوتیک بر خصوصیات کیفی آب در تصویر ۱ نشان داده شده است. مطابق تصویر میانگین pH، هدایت الکتریکی، اکسیژن محلول و دما در تیمارهای پروبیوتیک و شاهد در طول دوره آزمایش تفاوت معنی‌داری نداشت ($p > ۰/۰۵$).

میانگین نرخ رشد ویژه ماهی‌ها در تیمارهای مختلف در شکل۲ نشان داده شده است، با توجه به شکل میانگین نرخ رشد ویژه در تیمارهای پروبیوتیک و شاهد تفاوت معنی‌داری نداشت ($p>۰/۰۵$) هرچند میانگین نرخ رشد ویژه در تیمارهای P_3 و P_6به ترتیب با میزان ۴۱/۸۴ و۵۷/۵۳ درصد نسبت به تیمار شاهد با میانگین ۳۷/۳۷ دارای میزان بیشتری بود. تغییرات میزان بیومس ماهی‌ها در طی دوره آزمایش در تیمارهای مختلف درشکل ۳ نشان داده شده است. بیوماس ماهی در تیمار P_6 با ۰/۸۴ گرم افزایش به طور معنی‌داری بیشتر از تیمارهای شاهد و P_3 با ۰/۵۷ و ۰/۴۷ گرم افزایش بود ($p<۰/۰۵$) . مطابق شکل۴ درصد بازماندگی ماهی‌ها در تیمارهای حاوی پروبیوتیک به طور معنی-داری بیشتر از تیمار کنترل بود ($p< ۰/۰۵$). درصد بازماندگی در تیمارهای P_3 و P_6 به ترتیب با ۵۶/۷۹ و ۶۰/۴۹ درصد به طور معنی‌داری بیشتر از تیمار شاهد با میزان ۴۸/۱۴ درصد بود. استفاده از پروبیوتیک سبب افزایش بازماندگی ماهیان به میزان ۱۳-۷ درصد شد.

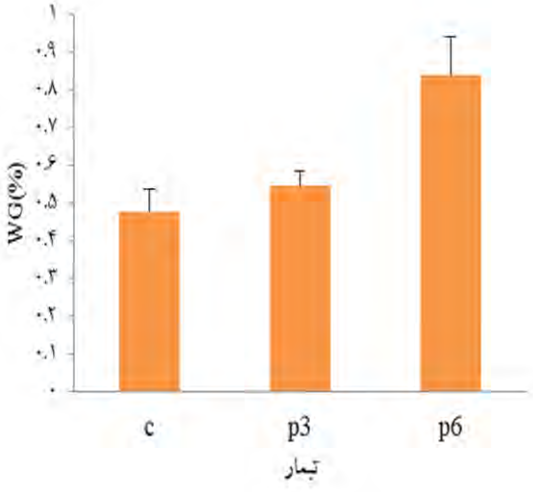
٤. بحث

تا کنون مطالعات متعددی به منظور ارزیابی تأثیر پروبیوتیک-ها بر خصوصیات کیفی آب در استخرهای پرورش ماهی و میگو و نیز سیستم‌های بدون تعویض آب انجام شده است. در استخر پرورش میگوی *Penaeus vannamei* پروبیوتیک *Bacillus coagluans* تأثیر معنی‌داری بر خصوصیات کیفی آب نداشت ولی سبب افزایش معنی‌داری در نرخ بقای میگو شد (۱۷).

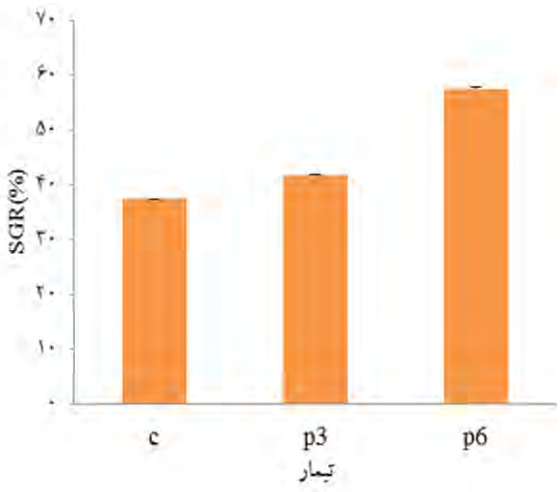
Archive of SID
www.SID.ir



شکل ۱: مقایسه میانگین خصوصیات کیفی آب در طول دوره آزمایش در تیمارهای مختلف

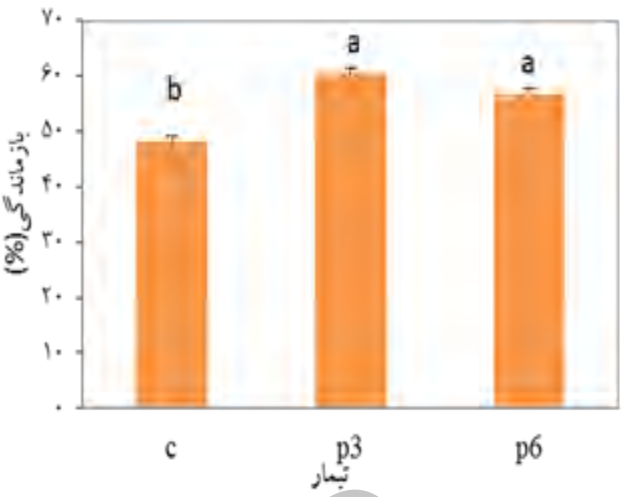


شکل۳. نمودار تغییرات بیوماس در تیمارهای مختلف در طول دوره آزمایش



شکل۲: نمودار ضریب رشد ویژه در تیمارهای مختلف در طول دوره آزمایش

SID.ir



شکل٤: نمودار درصد بازماندگی در تیمارهای مختلف در طول دوره آزمایش

در مطالعه‌ای بر روی اثر پروبیوتیک بر کیفیت آب و تولید میگو در مخازن پرورش میگوی *Litopenaeus vannamei* در سیستم بدون تعویض آب مشخص شد که پروبیوتیک تأثیر معنی‌داری بر خصوصیات کیفی آب و محصول میگو ندارد و دلیل آن را نیز به کافی بودن فلور میکروبی مخازن پرورش در حمایت از کیفیت آب مخازن و رشد میگو نسبت دادند (۱۱). در استخر گربه‌ماهی کانالی پروبیوتیک بر خصوصیات کیفی آب شامل غلظت نیتروژن غیرآلی، فسفرکل، COD، COD_5، درصد جلبک‌های سبز، میزان فیتوپلاکتون در میلی‌لیتر و همچنین میزان تولید ماهی تأثیر معنی‌داری نداشت (۱). نتایج مشابهی نیز در مطالعه بر روی تأثیر پروبیوتیک بر خصوصیات کیفی آب و میزان رشد ماهی در استخر پرورش ماهی کپور به دست آمد با این تفاوت که پروبیوتیک سبب افزایش معنی‌دار در نرخ رشد ماهی شد (۱۳). مطابق نتایج فوق در مطالعه حاضر نیز پروبیوتیک بیوپلاس تأثیر معنی‌داری بر خصوصیات کیفی آب شامل pH، اکسیژن محلول، دما، هدایت الکتریکی نداشت. در حالی که در مطالعات دیگر با استفاده از پروبیوتیک تجاری مشاهده شد که پروبیوتیک سبب کاهش معنی‌دار در میزان نیتروژن و فسفر در استخر و در نتیجه بهبود خصوصیات کیفی آب می‌شود (۱۴،۱۵،۱۶). این نتایج متناقض احتمالا به دلیل شرایط آزمایشگاهی کنترل شده در مطالعه حاضر و استفاده از مخازن دارای هیتر و سنگ هوا و در نتیجه ثابت بودن میزان دما و اکسیژن و کیفیت مناسب آب نسبت داد، در طول دوره آزمایش میانگین دما ۲۶/۶°C، میانگین اکسیژن ۷/۳-۷/۷، میانگین pH ۷/۷-۷/۹ ومیانگین هدایت الکتریکی ۹۶۷-۹۸۲ $\mu s/s$ بود که مطابق با محدوده استاندارد برای پرورش ماهیان زینتی می‌باشد. در واقع استفاده از پروبیوتیک در سیستم‌هایی می‌تواند مفید باشد که بار مواد آلی آن زیاد بوده و فلور میکروبی آن قادر به بهبود شرایط محیط نباشد. ارزیابی مطالعات مختلف با استفاده از پروبیوتیک مشکل است چون سودمندی استفاده از آن‌ها بستگی به گونه آبزی، مقدار و دفعات استفاده از پروبیوتیک و شرایط محیطی محل پرورش دارد (۸). با توجه به نتایج حاصل از تحقیق حاضر استفاده از پروبیوتیک در دو غلظت ۰/۱ و ۰/۲ گرم بر لیتر سبب افزایش درصد بازماندگی ماهی‌ها در مقایسه با تیمار شاهد شد که با یافته Lim و همکاران (۲۰۰۵) بر روی لارو ماهی تیلاپیا مطابقت داشت (۱۰). بعلاوه مشاهده شد که میزان افزایش وزن در تیمار P_6 به طور معنی‌داری بیشتر از تیمار شاهد و P_3 بود که با یافته‌های Nikoskeain و همکاران (۲۰۰۰) بر روی ماهی قزل آلای رنگین کمان مطابقت داشت (۱۲). با توجه به نتایج نرخ رشد ویژه سه تیمار اختلاف معنی‌داری نشان نداد هرچند میزان آن در تیمارهای پروبیوتیک نسبت به شاهد بالاتر بود.

منابع

1-Boyd , C . , W .Hollerman, J .Plumb and M .Saeed .1984. Effect of treatment with a commercial bacterial suspension on water quality in channel catfish ponds. Prog Fish-Cult. 46: 36-40.

2-Boyd , C . E ., A .Gross .1998. Use of probiotics for improving soil and water quality in aquaculture ponds ,In Flegel TW (ed) Advances in shrimp biotechnology. National

Archive of SID
SID.ir

Center for Genetic Engineering and Biotechnology, Bangkok.

3-Dalmin , G . , K .Kathiresan and A. Purushothaman .2001. Effect of probiotics on bacterial population and health status of shrimp in culture pond ecosystem. Indian J. Exp. Biol. 39: 939–942.

4-Douillet , P . A . and C . J . Langdon .1994. Use of a probiotic for the culture of Pacific oyster *Crassostrea gigas thunberg*. Aqua. 199: 25-40.

5-Esiobu , N . , L . Armenta, J . Ike and I .J . Environ .2002. Antibiotic resistance in soil and water environments. Health Res. 1:, 133-144.

6-Fuller , R . , 1992. History and development of probiotics. In: Fuller, R. (Ed.), Probiotics: the Scientific Basis. Chapman & Hall, New York ; pp.1-8.

7-Gatesoupe , F . J . , 1999. The use of probiotics in aquaculture. Aqua. 180: 147–165.

8-Gomez-Gil , B . , A .Roque and J . F. Turnbull .2000. The use and selection of probiotic bacteria for use in culture of larval aquatic organism. Aqua. 191: 256-275.

9-Janeo , R . L ., V . L .C. Jra and T .Sakata .2009. Water quality and phytoplankton stability in response to application frequency of bioaugmentation agent in shrimp ponds. Aqua Engin. 40: 120–125.

10-Lim , E. H . , T .J . Lam and J . L . Ding .2005. Single-cell protein diet of noval recombinant vitllogenin yeast enhances growth and survival of first feeding tilapia (*Oreochromis mossambicus*) larvae. Nutr. 135: 513- 518.

11-McIntosh , D . , T . Samocha, E . R . Jones, A . L . Lawrencea, A . McKee and A . Horowitzc .2000. The effect of a commercial bacterial supplement on the high-density culturing of *Litopenaeus vannamei* with a low-protein diet in an outdoor tank system and no water exchange. Aqua Engin. 21: 215–227.

12-Nikoskelainen , S . , A . Ouwehand, S . Salminen, G . Bylund .2000. Protection of rainbow trout *(Oncorhynchus mykiss*) form furunclpsis by *Lactobacillus hamno*. Aqua. 198: 229- 230.

13-Sharma , O . P . and S . K . S. Bhukhar .2000. Effect of Aquazyn-TM-1000, a probiotic on the water quality and growth *of Cyprinus carpio* var. communis (L.). Indian J. Fish. 47: 209-213.

14-Wang , Y . , J . R . Li and J . Lin .2008. Probiotics in aquaculture: Challenges and outlook. Aqua. 281: 1–4.

15-Wang , Y . and Z . He .2009. Effect of probiotics on alkaline phosphatase activity and nutrient level in sediment of shrimp, *Penaeus vannamei*, ponds. Aqua. 287: 94-97.

16-Wang , Y . , Z . Xu and M . S . Xia .2005. The effectiveness of commercial probiotics in Northern White Shrimp (*Penaeus vannamei*) ponds Fish. Sci 71, pp. 1034–1039.

17-Zhou , X . , Y . Wang and W . Li .2009. Effect of probiotic on larvae shrimp *(Penaeus vannamei*) based on water quality, survival rate and digestive enzyme activities. Aqua. 287: 349–353.

Archive of SID

SID.ir