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

پگاه قاسم پور دهاقانی*[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: ۶۱۵۵۵-۱۶۳

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

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

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 دریافت: ۹ اردیبهشت ۱۳۹۲ تاریخ پذیرش: ۱۳ مرداد ۱۳۹۲

چکیده

این تحقیق به منظور ارزیابی اثرات مکمل‌سازی جیره غذایی با سین بیوتیک بایومین ایمبو که ترکیبی از پروبیوتیک انتروکوکوس فاسیوم و پری‌بیوتیک فروکتوالیگوساکارید می‌باشد، 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 ماهی‌ها با میانگین وزن ۲ ± ۱۰ گرم و تراکم ۲۵ عدد در هر تانک پلی اتیلنی به مدت ۷۵ روز با جیره‌های 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 آن‌ها 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 شاخص‌های رشدی را نشان داد و اختلاف معنی دار با تیمار شاهد داشت ($P<0/05$) ولی بر میزان بقاء تاثیری نداشت و با درصد بقاء ۱۰۰٪ بین تیمارها اختلاف معنی داری مشاهده نشد($P>0/05$). ماهیان تغذیه شده با مکمل غذایی تغییرات معنی‌داری را در فلور باکتریایی روده نشان دادند و بیشترین میزان باکتری‌های اسید لاکتیک و انتروکوکوس‌ها در تیمار ۳ مشاهده شد که با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری داشت ($P<0/05$) و توانست بیشترین جایگزینی پروبیوتیکی را نشان دهد، ولی با قطع مکمل غذایی در جیره، تعداد باکتری‌ها در روز ۷۵ کاهش یافت که بازهم تیمار ۳ بیشترین تعداد پروبیوتیک را نشان داد و با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری 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.

* عهده دار مکاتبات (✉). paqua6940@gmail.com

Archive of SID

www.SID.ir

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 میکروارگانیسم‌های 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 بهره‌امند می‌باشد (Ai *et al*., 2011). *Entrococcus 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 به‌کارگیری 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 آلای رنگین کمان انگشت قد (محرابی و همکاران، ۱۳۸۹) نشان داده است. بررسی اثر سین بیوتیک ذکر شده دراین 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 آبزی‌پروری 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 ۲ ± ۱۰ گرم ذخیره‌سازی شدند. جهت تامین اکسیژن مورد نیاز بچه ماهی‌ها، در داخل هر

Archive of SID
www.SID.ir

تانک یک عدد سنگ هوا قرار گرفته و همچنین جریان آب مداوم و آهسته جهت تعویض آب و خارج‌سازی 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 سطح۰/۵ درصد از سین بیوتیک، تیمار ۳ با سطح۱ 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 سایز SFC2 تولیدی کارخانه بتا هرمزگان بود که آنالیز خوراکی آن به شرح ذیل است:

پروتیئن ۲± ۳۵ ٪ ، انرژی قابل هضم ۲۰۰±۳۳۰۰ کیلوکالری/کیلوگرم، فیبرخام ۲٪، چربی ۲±۱۱٪.

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 تاکاملاً مخلوط و همگن شود، سپس غذا به شکل پلت با سایز 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.

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 بایومین 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 (Benzalkolium 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 ضدعفونی 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 (۰/۸۷Naclw/v درصد) رقت‌های 10^{-1} تا 10^{-7} تهیه گردید. از رقت‌های تهیه شده ، تحت شرایط کاملاً ضدعفونی حجمی معادل ۱۰۰ µlit برداشته شد و بر روی محیط کشت Kanamycin Aesculinazid Agar (به منظور تعیین

Archive of SID

www.SID.ir

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

جهت بررسی وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها، نتیجه تحلیل داده‌ها 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 شاخص‌های رشد بچه ماهی کپور معمولی در جدول ۱ ارائه شده است. بررسی شاخص‌های 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 آن‌ها می‌شود (P<۰/۰۵). بچه ماهی‌های 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 معنی‌داری بین افزایش وزن بچه ماهی‌های تیمار ۱/۵ درصد و شاهد مشاهده شد (P<۰/۰۵). در روز ۳۰ آزمایش، بیشترین افزایش وزن بدن در تیمار ۱/۵ درصد مشاهده شد (۰/۳۶ ± ۱۱/۰۴ گرم) که با تیمار شاهد و تیمار ۰/۵ درصد اختلاف معنی‌داری نشان داد (P<۰/۰۵)، ولی با تیمار ۱ درصد اختلاف معنی‌داری نشان نداد (P>۰/۰۵). در روز ۶۰ نیز، بیشترین افزایش وزن مربوط به تیمار ۴ بود (۱/۲۹ ± ۱۳/۹۳ گرم)، ولی با تیمارهای ۲ و ۳ که حاوی دوزهای مختلف سین بیوتیک بودند، اختلاف معنی‌داری را نشان نداد (P>۰/۰۵).

شاخص افزایش طول در بچه ماهی‌های 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 (۰/۴۷ ±۲/۱ سانتی‌متر) ولی با تیمار شاهد و تیمار ۲ و ۳ به لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری نشان نداد (P>۰/۰۵). در روز ۶۰ نیز، بیشترین افزایش طول مربوط به تیمار ۴ بود (۰/۱۱ ± ۲/۹۱ سانتی‌متر) که با تیمار ۲ و ۳ اختلاف معنی‌داری را نشان نداد (P>۰/۰۵). ولی با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵).

نرخ رشد ویژه در بچه ماهی‌های 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>۰/۰۵). در روز ۶۰ همه گروه‌های تغذیه شده با مکمل غذایی با شاهد اختلاف معنی‌داری نشان دادند (P<۰/۰۵). یافته‌های به‌دست آمده از این تحقیق، نشان داد که افزودن ترکیب پروبیوتیک انتروکوکوس فاسیوم و پری‌بیوتیک فروکتوالیگوساکارید 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 معنی‌داری مشاهده نشد (P>۰/۰۵) (شکل ۱).

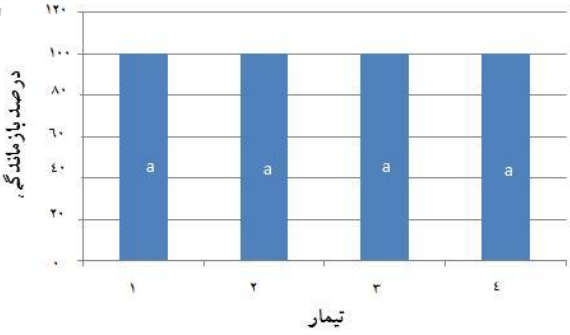
Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۱: افزایش وزن بدن (گرم)، درصد افزایش وزن، افزایش طول (سانتی 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 ± ۱/۳۳a	۶۵/۲۷± ۱۲/۵۵^{a}	۱/۲۶ ± ۰/۲۸^{a}	۰/۸۲ ± ۱/۲۹a
	۶۰	۷/۶۹ ± ۰/۹۴a	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}
٤	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 معنی‌دار (P<۰/۰۵) هستند، و همچنین برای روز ۶۰ اعداد در یک ستون با حروف متفاوت برای هر شاخص دارای اختلاف معنی‌دار (P<۰/۰۵) می‌باشد.



شکل ۱: درصد بازماندگی در تیمارهای مختلف طی دوره پرورش

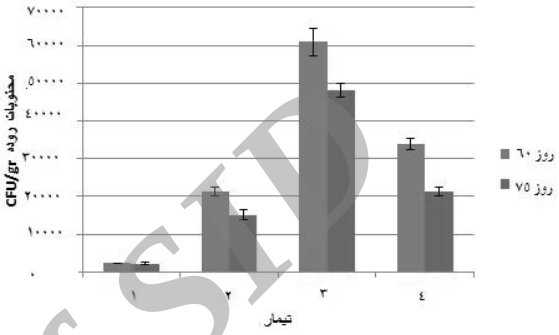
نتایج حاصل از بررسی انتروکوکوس‌های روده در انتهای دوره تغذیه با مکمل غذایی (روز ۶۰)، همانطور که در شکل ۲ دیده می‌شود، بین چهار تیمار اختلاف معنی داری را به لحاظ آماری نشان داد (P<۰/۰۵) و به طور واضح تاثیر دوزهای مختلف سین بیوتیک، بر فلور باکتریایی روده بچه ماهیان کپور مشاهده شد. در این بررسی سه تیمار تغذیه شده با سین بیوتیک اختلاف معنی دار با شاهد داشتند (P<۰/۰۵) و تیمار ۳ بیشترین جایگزینی پروبیوتیکی را نشان داد (۶/۰۸×۱۰^{۴}CFU/g).

در بررسی لاکتوباسیلوس‌ها نیز سه تیمار تغذیه شده با سین بیوتیک اختلاف معنی‌داری با شاهد داشتند (P<۰/۰۵) ولی برخلاف بررسی انتروکوکوس‌ها اختلاف معنی داری بین تیمارهای ۲، ۳ و ۴ دیده نشد (P>۰/۰۵). بیشترین رشد لاکتوباسیلوس‌ها مربوط به تیمار ۳ (۱۵/۲ × ۱۰^{۴}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 بازهم تیمار ۳ بیشترین تعداد را در باکتری‌های انتروکوکوس و باکتری‌های اسید لاکتیک نشان داد و با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵) (شکل ۳).

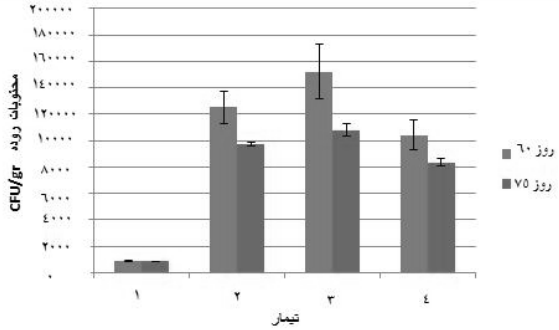
Archive of SID

www.SID.ir

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 پری‌بیوتیک‌ها همواره به دلیل داشتن مزایای فراوان به عنوان یکی از راه‌های افزایش بازده آبزی پروری مطرح بوده‌اند. از میان فواید متعدد پروبیوتیک و پری‌بیوتیک‌ها، محققین تاثیر آن‌ها را در بهبود رشد آبزیانی که در جیره غذایی آن‌ها پروبیوتیک و پری بیوتیک استفاده شده بود، گزارش کرده‌اند (Ghosh *et al.*, 2007) و دیده شده که ترکیب پروبیوتیک و پری‌بیوتیک‌ها اثرات سینرجیستی بیشتری را به دنبال خواهد داشت (Daniels *et al.*, 2010). تحقیقات انجام شده در زمینه پروبیوتیک‌ها و پری‌بیوتیک‌ها 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 معنی‌دار بود، نتایج مشابهی درباره افزایش طول و نرخ رشد ویژه نیز به‌دست آمد. ولی بین تیمارهای ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد مکمل غذایی از نظر شاخص‌های رشد به لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. نتایج مشابهی در مطالعه Mehrabi و همکاران (۲۰۱۲) به‌دست آمده است. در آن مطالعه افزودن پروبیوتیک انتروکوکوس فاسیوم و پری بیوتیک فروکتوالیگوساکارید به طور معنی‌داری سبب افزایش پارامترهای رشدی از جمله افزایش وزن و نرخ رشد ویژه در بچه ماهی قزل آلای 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 پری‌بیوتیک فروکتوالیگوساکارید تغذیه شده بودند، بهبود قابل توجهی نسبت به تیمار شاهد نشان داد (Soleimani *et al.*, 2012). این افزایش

Archive of SID
www.SID.ir

رشد در نتیجه استفاده از ترکیب پرو و پری‌بیوتیک 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 پری‌بیوتیک‌ها 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 درون گونه‌ای نسبت داد (Lara-Flores *et al*., 2003). همچنین نحوه افزودن پرو و پری‌بیوتیک به جیره نیز در نتایج به‌دست آمده اثرگذار است. در مواردی که پروبیوتیک و یا پری‌بیوتیک 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 تاثیرات استفاده از سطوح مختلف ترکیب پروبیوتیک انتروکوکوس فاسیوم و پری‌بیوتیک 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 تاثیرگذار بودن استفاده از پرو و پری‌بیوتیک‌ها را در افزایش میزان بقاء بر روی آبزیان به اثبات رسانده‌اند، 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 بایومین 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 میکروارگانیسم‌های 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

Archive of SID

www.SID.ir

انتروکوکوس‌های روده، در انتهای دوره پرورش، بین چهار تیمار اختلاف معنی‌داری به لحاظ آماری مشاهده شد (P<۰/۰۵). در این بررسی سه تیمار تغذیه شده با سین بیوتیک اختلاف معنی‌دار با شاهد داشتند (P<۰/۰۵) و تیمار ۳ بیشترین جایگزینی پروبیوتیکی را نشان داد. این افزایش ممکن است به دلیل معرفی پروبیوتیک‌ها و تغییر قابل ملاحظه در نسبت باکتری‌های موجود در فلور روده و محدود شدن سایر باکتری‌ها (به خصوص باکتری‌های مضر) توسط پروبیوتیک‌ها (Ziaei-Nejad *et al*., 2006) و تقویت پروبیوتیک‌ها توسط پری‌بیوتیک‌ها صورت گرفته است. در بررسی لاکتوباسیل‌ها نیز سه تیمار تغذیه شده با سین بیوتیک اختلاف معنی داری با شاهد داشتند (P<۰/۰۵) ولی برخلاف بررسی انتروکوکوس‌ها اختلاف معنی داری بین تیمارها ۲، ۳ و ۴ دیده نشد (P>۰/۰۵). بیشترین رشد لاکتوباسیل‌ها 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 مناسب‌ترین سطح به لحاظ جایگزینی پروبیوتیکی است و در طول روده بهترین شرایط را برای استقرار باکتری‌های مفید فراهم می‌کند. تشکیل یک کلنی غالب با ارائه باکتری‌های اسید لاکتیک در بچه ماهیان از نتایج جالب توجه آزمایشات Ringo و Gatesoupe (۱۹۹۸)بوده است. این امر می‌تواند به این دلیل باشد که باکتری‌های 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 نمونه‌برداری رسیدند (Ziaei-Nejad *et al*., 2006) در نتیجه تفاوت معنی‌داری از نظر تعداد لاکتوباسیل‌ها در روده بچه ماهیان کپور معمولی مشاهده نشد. ممکن است با افزایش بیشتر استفاده از دوزهای ترکیب پروبیوتیک انتروکوکوس فاسیوم و پری‌بیوتیک 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 باکتری‌ها گردد.

Bagheri و همکاران (۲۰۰۸) طی مطالعات خود اظهار داشتند که تراکم باکتری‌های پروبیوتیک موجود در محتویات روده با گذشت زمان مصرف آن‌ها افزایش پیدا می‌کند. 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، می‌تواند 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 می‌یابد. توکمه‌چی (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 آلای انگشت قد باسویه‌هایی از باسیلوس، میزان باکتری جدا شده از روده اختلاف معنی داری (P<۰/۰۵) 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 لاکتو باسیل‌ها و اختلاف معنی‌دار در تعداد انتروکوکوس‌ها این نکته را

Archive of SID

www.SID.ir

نشان می‌دهد که انتروکوکوس‌ها توانسته اند 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 آبزی پروری 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 آبزی پروری، تهران ، انتشارات موج سبز. ۱۲۰ صفحه .

۲. توکمه چی،ا.، ۱۳۸۶. تاثیر باکتری لاکتوباسیلوس دلبروکئی (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 پریبوتیکی مخمر *Saccharomyces cervisiae*var. *ellipsoideus* غیر 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.، فلاحی 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. صفحه های 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 fructooligosccharide 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

Archive of SID

www.SID.ir

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, *Enteroccus 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 (*Moronechrysops×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.,

Archive of SID

www.SID.ir