تاثیر مقادیر مختلف زیست یار حیاتی باکتوسل (Bactocell) در جیره غذایی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) بر فاکتورهای رشد و فلورباکتریایی

عظیم مدبری*[1]، قبادآذری تاکامی[2]، شهرام بهمنش[3]، حسین خارا[1]

۱-دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، دانشکده منابع طبیعی، گروه شیلات، لاهیجان، ایران، صندوق پستی: ۱۶۱۶

۲- دانشگاه تهران، دانشکده دامپزشکی، گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان،تهران، ایران، صندوق پستی: ۶۴۵۳-۱۴۱۵۵

۳- پژوهشکده آبزی پروری آب‌های داخلی، بندر انزلی، ایران، صندوق پستی: ۱۶

تاریخ دریافت: ۷ مرداد ۱۳۹۲ تاریخ پذیرش: ۲۵ آبان ۱۳۹۲

چکیده

پروبیوتیک‌ها مکمل‌های میکروبی هستند که با بهبود تعادل جمعیت میکروبی روده میزبان به آن سود می‌رسانند. پروبیوتیک باکتوسل حاوی یکی از انواع باکتری‌های اسید لاکتیک بنام *Pedicoccus acidlactici* می‌باشد. به همین دلیل در این تحقیق اثر این زیست یار حیاتی بر فاکتورهای رشد، و فلور باکتریایی روده ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) مورد بررسی قرار گرفت. برای این منظور در سه تیمار (۱۰۰،۲۰۰،۳۰۰ گرم پروبیوتیک به ازاء هرتن غذا) و یک شاهد آزمایش‌ها انجام پذیرفت. به‌طوری‌که ۳۶۰۰ قطعه ماهی قزل آلای رنگین کمان با میانگین وزنی۳/۵ تا ۴ گرم در ۱۲ حوضچه بتونی رهاسازی و به مدت ۲ ماه پرورش داده شدند. پس از اتمام دوره با توجه به بیومتری‌های انجام گرفته و فرمول‌های مختلف رشد و تغذیه مشخص شده که اگرچه بین تیمارها اختلاف معنی‌داری از لحاظ فاکتورهای مختلف وجودندارند، اما بیش‌ترین افزایش طول (۲۱/۱۷ سانتی متر) و وزن (۴۸/۹ گرم) مربوط به تیمار ۳۰۰ گرم به ازاء هرتن غذا بوده است و تیمار شاهد دارای کمترین مقادیر بوده است. همچنین بالاترین میزان توتال کانت باکتری‌های اسید لاکتیک (پروبیوتیک) روده ماهیان قزل آلادر تیمار ۳ (۳۰۰ گرم به ازاء هرتن غذا)(CFU/g ۳۶۳۶۶/۶۷) به‌دست آمد، در حالی‌که کم‌ترین مقدار مربوط به تیمار شاهد(CFU/g ۶۰۰۰) بود. همچنین مقادیر توتال کانت باکتری‌های اسید لاکتیک در غذاهای تحت تیمار در روز اول و هفتم نشان داد که تیمار ۳ دارای بیش‌ترین مقدار (به ترتیب CFU/g ۷۵۳۳۴ وCFU/g ۳۲۶۶۶۷) و تیمار شاهد (به مقدار صفر) کم‌ترین میزان را به خود اختصاص داده بود. براساس نتایج به‌دست آمده می‌توان گفت که پروبیوتیک باکتوسل با دوز ۳۰۰ گرم به ازاء هرتن غذا می‌تواند در افزایش وزن ماهی قزل آلا رنگین کمان موثرباشد. ضمن اینکه طبق این بررسی در غذا و روده ماهیان قزل آلای تحت تیمار نشان داد که مقدار۳۰۰ گرم به ازاء هرتن غذا بهترین اثر را در بهبود فلور باکتریایی داشته و به عنوان دوز مناسب پیشنهاد می‌گردد.

کلمات کلیدی: قزل آلای رنگین کمان، پروبیوتیک، باکتوسل، رشد، فلورباکتریایی.

* عهده دار مکاتبات (✉)، azim.modaberi@yahoo.com

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

در حال حاضر ماهی قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) سهم با ارزشی در تأمین غذای انسان دارد. در واقع قزل آلای رنگین کمان یکی از نخستین گونه‌ها از خانواده آزادماهیان است که به عنوان غذای اصلی انسان اهلی و پرورش یافت. این ماهی از اواخر قرن نوزدهم میلادی به صورت قابل مصرف و قابل عرضه به بازار پرورش ارائه داده شده است. امروزه اضافه کردن واسطه گرهای ایمنی از قبیل پروبیوتیک‌ها در جیره غذایی، سیستم ایمنی غیراختصاصی را تحریک می‌نمایند. استفاده از محرک‌های رشد یک روش نوین برای پرورش دهندگان ماهی می‌باشد. توجه به کاربرد این روش با پررنگ شدن مشکلات بیماری‌های ویروسی، باکتریایی، انگلی و قارچی و سایر فاکتورهای محدود کننده در بسیاری از مزارع پرورشی ماهی و هچری ها، افزایش یافته است (فرزانفر، ۱۳۸۴).

پروبیوتیک‌ها مکمل‌های میکروبی هستند که با بهبود تعادل جمعیت میکروبی روده میزبان به آن سود می‌رسانند. امروزه تعدادی از ترکیبات باکتریایی، به طور تجاری در دسترس بوده و در مزارع پرورش آبزیان به عنوان مکمل‌های غذایی استفاده شده، و یا در غذای ماهی زنده گنجانده می‌شوند. از اینرو، جدا از آماده سازی باکتری‌ها، برخی محققین از محصولات تجاری تولید شده نیز استفاده نموده‌اند. از این میان باکتوسل به عنوان یک پروبیوتیک یا زیست‌یار حیاتی یکی از انواع باکتری‌های اسید لاکتیک می‌باشد. باکتوسل از سویه باکتری *Pedicoccus acidlactici MA* تشکیل شده است، که حاوی تعداد 1×10^{10} Cfu/g باکتری از سویه فوق می‌باشد (Fuller, 1989). این فرآورده با پرشمارشدن دردستگاه گوارش میزبان و چسبیدن به روده سیستم ایمنی و مقاومت ماهیان را در مقابل بیماری‌ها و استرس‌های محیطی افزایش می‌دهد و در عین حال سبب افزایش فاکتورهای رشد شده و با کاهش تلفات تولید بیشتری را در زمان کوتاه‌تر به دست خواهد داد (Gatesoupe *et al.*, 1997). باکتوسل نخستین پروبیوتیک مجاز در آبزیان می‌باشد که در سال ۲۰۰۹ در اروپا به ثبت رسیده است. اولین بار در سال ۲۰۰۲ استفاده آزمایشی از Bactocell در آبزی پروری آغاز شد و Gatesoupe در سال ۲۰۰۲ مقاله‌ای در خصوص تغذیه ماهی pollack با ناپلی آرتیمیا غنی شده با پروبیوتیک Bactocell و فرمالدئید منتشر نمود. این آزمایش زمینه بررسی‌های بیشتر را در آزادماهیان و میگو به همراه داشت و نتایج آن‌ها باعث دریافت مجوز از اتحادیه اروپا به عنوان اولین پروبیوتیک دارای مجوز جهت آبزی پروری گردید. در سال ۲۰۰۹ شرکت Lallemand به طور انحصاری موفق به دریافت مجوز از کمیته دائمی زنجیره غذایی و سلامت حیوانات از اتحادیه اروپا به منظور به کار گیری پروبیوتیک Bactocell (*Pediococcus acidilactici*) در بهبود عملکرد پرورش آزاد ماهیان و میگو گردید. در آزاد ماهیان، Bactocell، قادر به بهبود کیفیت محصولات نهایی ماهی با افزایش تعداد با پیشگیری از سندرم فشرده سازی مهره شده است. این بیماری تاثیر بسزایی در میزان پرورش ماهیان قزل‌آلا داشته به نحوی که ۲۰ درصد سود اقتصادی پرورش دهندگان این گونه ماهی را با خطر مواجه می‌سازد. ضیایی نژاد و همکاران (۱۳۸۴) اثر باکتری‌های باسیلوس به عنوان پروبیوتیک برای افزایش پارامترهای رشد و تولید در استخرهای

Archive of SID
www.SID.ir

پرورش میگوی سفید هندی مورد مطالعه قراردادند. جنابی و همکاران (۱۳۹۰)، به مطالعه افزایش رشد ماهی قزل آلای رنگین کمان با استفاده از پروبیوتیک تجاری باکتوسل و پری بیوتیک مانان پرداختند. آنچه در این تحقیق مدنظر است بررسی تاثیر پروبیوتیک باکتوسل بر روی فاکتورهای رشد و فلورباکتریایی روده ماهی قزل‌آلای رنگین کمان است.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در مزرعه پرورش ماهی پارسیان واقع در شهر چابکسر استان گیلان، در فصل پاییز و از ابتدای ماه مهر تا انتهای نیمه آذر ماه ۱۳۹۰ به مدت ۸ هفته انجام گرفت. طرح کلی این تحقیق در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام گردید. بدین صورت که در این تحقیق از سطوح متفاوت پروبیوتیک باکتوسل (۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰ گرم پروبیوتیک باکتوسل در هر تن از غذا) و یک جیره غذایی بدون ترکیب باکتوسل به عنوان شاهد مورد استفاده قرار گرفت و هر یک از جیره‌های آزمایشی برای غذادهی ماهیان ۳ کانال بتونی (در مجموع ۱۲ کانال بتونی موازی به ابعاد ۳ ×۰/۶ متر و به عمق ۶۰ سانتی‌متر) به‌کار گرفته شد. به عبارت دیگر در این آزمایش در مجموع ۴ تیمار و برای هر تیمار ۳ تکرار در نظر گرفته شد. طول مدت این آزمایش نیز ۸ هفته در نظر گرفته شد. در هر استخر نیز ۳۰۰ عدد بچه ماهی با متوسط وزن ۳/۵ تا ۴ گرم رهاسازی شدند.

از غذای کنسانتره ماهی قزل آلا رنگین کمان ساخت کارخانه چینه جهت تغذیه بچه ماهیان استفاده شد. مقدار خوراک روزانه تیمارها به نسبت درجه حرارت و وزن بچه ماهی‌ها و با توجه به زیست سنجی‌های هفتگی تعیین شده و میزان دقیق باکتوسل بر حسب روزهای تعیین شده با روغن مایع مخلوط شده و به غذای تیمارها افزوده گردید. مقدار غذای روزانه بر اساس جدول استاندارد در نظر گرفته شد (فرزانفر، ۱۳۷۲).

بیومتری ماهی‌ها در طول دوره آزمایش (تعیین وزن و طول) در ۵ مرحله صورت گرفت. یک بار قبل از شروع آزمایش و سه بار در طول دوره آزمایش با فاصله ۱۵ روزه و یک بار در پایان دوره انجام شد. در انتها بررسی تلفات دوره محاسبه گردید. همچنین فاکتورهای رشد شامل ضریب رشد ویژه (SGR)، ضریب تبدیل غذایی (FCR)، شاخص وضعیت (FC)، درصد افزایش وزن بدن (PBWI) و میانگین رشد روزانه (ADG) ماهیان در تیمارهای مختلف آزمایش و شاهد بررسی گردید. به منظور ارزیابی روند رشد، علاوه بر اندازه گیری وزن و طول کل ماهیان، شاخص‌های رشد بر اساس منابع موجود از معادلات ریاضی محاسبه شدند(Samantaray and Mohanty, 1997).

شاخص وضعیت (Conditon Factor)

$$CF = \frac{W}{TL^{3}} \times ۱۰۰$$

W = وزن بر حسب گرم

TL = طول کل بر حسب سانتی‌متر

درصد افزایش وزن بدن (Percent Body Weight Increase)

$$PBWI = \frac{BW_F - BW_I}{BW_I} \times ۱۰۰$$

BW_f = وزن نهایی بر حسب گرم

Archive of SID

www.SID.ir

BW_i = وزن اولیه بدن بر حسب گرم

ضریب تبدیل غذایی (Feed Conversion Ratio)

$$FCR=\frac{F}{Wf-Wi}$$

F = مقدار غذای مصرف شده

W_f = وزن نهایی بر حسب گرم

W_I = وزن اولیه بدن بر حسب گرم

ضریب رشد ویژه (Specific Growth Rate)

$$SGR=\frac{\ln W_F-\ln W_I}{t}\times ۱۰۰$$

lnWf =لگاریتم طبیعی وزن نهایی بر حسب گرم

lnWi = لگاریتم طبیعی وزن اولیه بر حسب گرم

t = طول دوره پرورش بر حسب روز

میانگین رشد روزانه (Average Daily Growth)

$$ADG\,(g\,/fish\,/day\,)(\%)=\left[\frac{Wt-Wi}{Wi\times T}\right]\times ۱۰۰$$

Wi= وزن اولیه ماهی

Wt= وزن نهایی ماهی

T= طول مدت پرورش

در طول دوره پرورش فاکتورهای محیطی به صورت روزانه مورد اندازه‌گیری قرار می‌گرفتند. با توجه به اینکه منبع تامین آب چشمه بود این فاکتورها نوسانات کمی داشتند. به‌طوری‌که دمای آب ۱۶/۲ درجه سانتی‌گراد، اکسیژن محلول در کل دوره آزمایش معادل ۸/۵ میلی‌گرم در لیتر و pH ۷/۱ بود.

همچنین پس از افزودن پروبیوتیک به غذای تیمارها جهت اطمینان از چسبیدن آن‌ها و مدت زمان زنده مانی و رشد پروبیوتیک در روزاول و هفتم، فلور باکتریایی غذاها مورد بررسی قرارگرفت. در ضمن به منظور بررسی و مقایسه باکتری‌ها و پروبیوتیک از روده بچه ماهیان برای تعیین تراکم باکتری‌ها و پروبیوتیک‌ها در ابتدای شروع آزمایشات و انتهای دوره نمونه برداری انجام گرفت و در محیط‌های انتخابی کشت داده شد تا معلوم شود پر شمارشدن باکتری‌های "باکتوسل" تا چه اندازه ای بوده و نسبت به سایر باکتری‌های موجود در روده چه برتری هائی داشته است (Ringo and Gatesoupe,1998).

در نهایت نتایج حاصل با استفاده از نرم افزار SPSS با ویرایش ۱۶، بوسیله آزمون آنالیز واریانس یکطرفه و میانگین چند دامنه دانکن و طرح آماری بلوک‌های تصادفی مورد تجزیه و تحلیل قرارگرفت. مقایسه میانگین‌ها در سطح ۹۵ درصد (P<۰/۰۵) انجام شد.

نتایج

طبق بررسی‌های صورت گرفته حداکثر وزن در انتهای دوره آزمایشی متعلق به تیمار (۳)، دریافت کننده پروبیوتیک ۳۰۰ گرم در تن به میزان۴۸/۹ گرم و حداقل وزن متعلق به تیمار گروه شاهد به میزان۳۰/۸۲ گرم بود (جدول۱). چنین نتایجی درطول ماهیان، شاخص وضعیت (CF)، درصد افزایش وزن، حداکثر ضریب رشد ویژه (SGR) و میانگین رشد روزانه (ADG) دیده شد. به‌طوری‌که براساس مطالعات آماری انجام گرفته با آزمون واریانش یکطرفه و دانکن حاکی از وجود اختلاف معنی دار بین تیمارها در سطح ۹۵ درصد بود (P<۰/۰۵). ضمن اینکه حداقل ضریب

Archive of SID
www.SID.ir

تبدیل غذایی متعلق به تیمار ۳ (۰/۰۲۶±۰/۹۵) و بیش‌ترین آن متعلق به تیمار شاهد به میزان (۱/۵۷±۰/۵۴۷) به‌دست آمد(P<۰/۰۵). ولی از لحاظ درصد بازماندگی اختلاف معنی دار آماری دیده نشد (P>۰/۰۵) (جدول ۱).

جدول ۱: مقایسه میانگین شاخص‌های رشد بچه ماهی قزل آلای رنگین کمان تغذیه شده با پروبیوتیک باکتوسل

شاخص	تیمار۱	تیمار۲	تیمار۳	تیمار ۴ (شاهد)
میانگین وزن (گرم)	۳۵/۲۷±۴/۱۵^{a}	۴۳/۰۷±۱/۵۶^{b}	۴۸/۹±۰/۹۶^{c}	۳۰/۸۲±۲/۱۶^{a}
میانگین طول (سانتی متر)	۱۶/۳۳±۰/۶^{ab}	۱۷/۹±۱/۲۵^{b}	۲۱/۱۷±۰/۴۷^{c}	۱۴/۷۷±۰/۸^{a}
شاخص وضعیت	۰/۸۱±۰/۱۱۱^{b}	۰/۹۷±۰/۱۹۶^{b}	۱/۱۲±۰/۰۳۴^{a}	۰/۷۷±۰/۰۹۵^{b}
ضریب تبدیل غذایی	۱/۵۶±۰/۰۸۷^{b}	۱/۱۸±۰/۱۵۱^{ab}	۰/۹۵±۰/۰۲۶^{a}	۱/۵۷±۰/۵۴۷^{b}
درصد افزایش وزن	۴۶/۲۶±۱/۴۷۲^{a}	۶۹/۵±۴/۱۶۳^{a}	۷۶/۶۵±۵/۳۸۴^{b}	۳۹/۱۴±۱/۸۷۲^{a}
ضریب رشد ویژه	۱/۱۱±۰/۸۳۸^{a}	۱/۲۵±۰/۲۶۴^{a}	۱/۳۶±۰/۱۹۶^{b}	۱/۰۲±۰/۶۰۳^{a}
میانگین رشد روزانه	۳/۵۳±۰/۴۵۸^{a}	۳/۸۲±۰/۶۲۳^{b}	۴/۵۱±۰/۹۴۵^{c}	۲/۱۳±۰/۱۲۱^{ab}
درصد بقاء	۹۹/۵±۰/۴۵۸	۹۹/۴±۰/۶۲۳	۹۹/۶±۰/۹۴۵	۹۹/۳±۰/۱۲۱

حروف غیر همسان در هر ردیف نشانگر وجود اختلاف معنی دار می‌باشد (P<۰/۰۵)

با توجه به جدول۲ می‌توان گفت که بیش‌ترین مقدار باکتری *Pedicoccus acidlactici* در تیمار۳ (۳۰۰ گرم پروبیوتیک باکتوسل در هر تن از غذا) به غذا چسبیده بود. ضمن اینکه با گذشت یک هفته از افزودن پروبیوتیک به غذاهای تیماری مقادیر این باکتری روند افزایشی داشت، به‌طوری که باز در تیمار ۳ بیش‌ترین مقدار را به خود اختصاص داده بود و تیمار شاهد همچنان فاقد این باکتری بود.

جدول ۲: توتال کانت باکتری *Pedicoccus acidlactici* در غذای ماهیان قزل آلا

تیمار غذایی	روز اول cfu/g	Log-cfu	روز هفتم cfu/g	Log-cfu
۱	۳۶۰۰۰^{b}	۴/۴۷^{b}	۱۰۵۶۶۷^{b}	۵/۰۴^{b}
۲	۵۳۳۳۴^{c}	۴/۶۵^{b}	۲۳۵۳۳۴^{c}	۵/۳۷^{c}
۳	۷۵۳۳۴^{d}	۴/۸۸^{b}	۳۲۶۶۶۷^{d}	۵/۵۲^{c}
۴	۰^{a}	۰^{a}	۰^{a}	۰^{a}

حروف غیر همسان در هر ردیف نشانگر وجود اختلاف معنی دار می‌باشد (P<۰/۰۵)

Archive of SID

www.SID.ir

با توجه به نتایج جداول ۳ و ۴ مشاهده شد که فلـور کلـی باکتریـایی و بـاکتری *Pedicoccus acidlactici* در طـی دوره پـرورش در روده بچـه ماهیان رشد کرده و تداوم یافتـه اسـت. نکتـه قابـل توجـه حضـور بـاکتری باکتوسـل در روده ماهیـان شاهد بوده و ایـن موضـوع بـه گسـترش و انتشـار وسـیع بـاکتری *Pedicoccus acidlactici* در محـیط بستگی دارد که ممکـن اسـت در جریـان اخـتلاط غذا با باکتری یا موقع غذا دادن و دست‌های آلوده این نفوذ صورت گرفته باشد.

جدول ۳: شمارش کلی فلور باکتریایی و پروبیوتیک (*Pedicoccus acidlactici*) در لوله گوارش ماهیان قزل آلای رنگین کمان در پایان دوره تحقیق در محیط کشت TSA

نمونه‌های ماهی	فلور باکتریایی روده ماهی قزل آلا Cfu/g	شمار پروبیوتیک (*Pedicoccus acidlactici*) روده ماهی Cfu/g
۱	$۱۰۰۰۰=۱\times۱۰^{۴}$	$۳۰۰۰=۳\times۱۰^{۳}$
۲	$۱۰۰۰۰=۳\times۱۰^{۴}$	$۴۴۰۰=۴/۴\times۱۰^{۳}$
۳	$۳۰۰۰۰=۳\times۱۰^{۴}$	$۱۵۰۰۰=۱/۵\times۱۰^{۴}$
۴	$۱۰۰۰۰=۱۰^{۴}$	-

جـدول ۴: توتـال کانـت پروبیوتیـک (*Pedicoccus acidlactici*) در روده ماهیان قزل آلا ی رنگین کمان در پایان دوره تحقیق در محیط کشت MRS

نوع تیمار	MRS-cfu/g	Log- cfu
۱	۳۳۰۰^{b}	$۳/۴۷^{b}$
۲	۷۳۰۰^{b}	$۳/۸۴^{b}$
۳	۳۶۳۶۷^{c}	$۴/۶۴^{c}$
۴	۶۰۰^{a}	$۲/۷۴^{a}$

مهم‌ترین باکتری‌های جداسازی شده از روده ماهیان تیمار و شاهد در جدول ۵ آمده است. همچنین در آزمایش‌ها و تکرارهای دیگری باکتری‌های زیر نیز از روده ماهیان در حال بررسی جدا شده است: در تیمار۱: با سلیوس sp، لاکتوباسیل، آئروموناس، اشریشیاکلی، شیگلا، سودوموناس، کلبسیلا، در تیمار۲: اشرشیاکلی، کلبسیلا، سودوموناس، لاکتوباسیل، باسلیوس sp، در تیمار۳: باسلیوس sp، سودوموناس، لاکتوباسیل، اشریشیاکلی، کلبسیلا.

جدول ۵: درصد فراوانی باکتری‌های هوازی و بیهوازی اختیاری جداسازی شده به تفکیک در هر تیمار از روده ماهیان قزل آلای رنگین کمان در پایان دوره تحقیق در محیط کشت TSA

نام باکتری	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار۳	تیمار۴
Aerococcus	۳۳/۳۴	-	-	۳۳/۳۴
streptococcus	۶۶/۶۶	-	-	-
staphylococcus	-	۶۶/۶۶	-	۳۳//۳۳
Lactobacillus	-	۳۳/۳۴	-	-
Micrococcus	-	-	۳۳/۳۳	۳۳/۳۴
Alcaligenes	-	-	۳۳/۳۳	-
Moraxella	-		۳۳/۳۳	-

به‌طوری‌که در تیمارppm ۱۰۰: باسلیوسsp، لاکتوباسیل، آئروموناس، اشریشیاکلی، شیگلا، سودوموناس، کلبسیلا، در تیمار ppm ۲۰۰:

Archive of SID

www.SID.ir

اشرشیاکلی، کلبسیلا، سودوموناس، لاکتوباسیل، باسیلوس sp، در تیمار ppm ۳۰۰: باسیلوس sp، سودوموناس، لاکتوباسیل، اشریشیاکلی، کلبسیلا. باید توجه داشت که فلور باکتری‌های طبیعی روده ماهی با تنوع رژیم غذایی، شرایط محیطی و آب، بیماری و سن و دیگر فاکتورها می‌تواند در طول دوره پرورشی با تغییراتی توام باشد.

بحث

در این تحقیق افزودن سطوح مختلف پروبیوتیک باکتوسل (۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰ گرم پروبیوتیک باکتوسل در هر تن از غذا) به جیره غذایی ماهی قزل آلای رنگین کمان به طور معنی دار موجب افزایش فاکتورهای مختلف رشد، بالطبع تولید نهایی تیمارها در مقایسه با شاهد (تیمار ۴، بدون افزودن پروبیوتیک باکتوسل) شد. به طوری‌که تیمار ۳ (۳۰۰ گرم پروبیوتیک باکتوسل در هر تن از غذا) در بین سه سطح پروبیوتیک مصرفی، وزن بالاتری (۴۸/۹ گرم) حاصل نمودند. بالاتر بودن وزن را در تیمارهای پروبیوتیکی می‌توان در برخی تحقیقات دیگر نیزمشاهده نمود. چنین نتایجی را محققین دیگر با افزودن انواع پروبیوتیک‌ها به جیره غذایی آبزیان پرورشی به‌دست آورده‌اند. به‌طوری‌که Rengpipat و همکاران (۱۹۹۸) در آزمایش تغذیه ای که روی میگوی *Penaeus monodon* انجام دادند و از *Bacillus* S11 به عنوان پروبیوتیک در غذا استفاده نمودند، پس از پایان دوره آزمایش رشد بیشتری در میگوهای تیمارهایی که از غذای آغشته به پروبیوتیک تغذیه کردند، مشاهده کردند. Taoka و همکاران (۲۰۰۶) در آزمایشی بر روی فلاندر ژاپنی "*Paralichthys olivaceus*"، مشاهده کردند که طول و وزن نهایی در گروه‌هایی که از پروبیوتیک استفاده شد، بالاتر بود. در آزمایشی Ghosh و همکاران (۲۰۰۲) که از باکتری *Bacillus circulans* جدا شده از روده ماهی انگشت قد Rohu "*Labeo rohita*" استفاده نمودند و اثر آن را بر میزان رشد لارو ماهی Rohu بررسی کردند، رشد بهتری را در تیمارهای پروبیوتیکی به‌دست آوردند. Garriques و Arevalo (۱۹۹۵) در هچری های Penaeus vannamei در اکوادور، از *Vibrio alginolyticus* استفاده نمودند و رشد بیشتر را در گروه‌هایی که دارای پروبیوتیک بودند در مقایسه با گروه شاهد مشاهده کردند.

ثابت شده که استفاده از سویه *Pediococcus acidilactici* در ماهی قزل آلا منجر به بهبود افزایش وزن شده است (Aubin *et al*., 2005). همچنین این اثر در ماهی تیلاپیای نیل (Shelby *et al*., 2006) و Channel catfish نیز ثابت شده است (Shelby *et al*., 2007). همچنین آرتمیای غنی شده با *Pediococcus acidilactici* در افزایش وزن لارو ماهی Pollack موثر بود (Gatesoupe, 2002). Gatesupe (۱۹۹۹) بیان نمود که برخی پروبیوتیک‌ها اشتها را افزایش می‌دهند و افزایش کلی را در فاکتورهای رشد، از جمله وزن بوجود می‌آورند. Irianto و Austin در سال (۲۰۰۲) عنوان کردند که اضافه کردن پروبیوتیک‌ها به غذای ماهی باعث افزایش فعالیت‌های گوارشی و آنزیمی و تحریک اشتها و نهایتاً افزایش رشد می‌شود. جعفریان و همکاران (۱۳۸۶) نشان دادند که استفاده از آرد دافنی ماگنای مکمل شده با باسیلوس‌های پروبیوتیکی، تاثیر بسیار بالایی بر کارآیی تغذیه و رشد لاروهای ماهیان قزل آلا دارد (جعفریان و همکاران

Archive of SID

www.SID.ir

۱۳۸۶). ضیائی نژاد و همکاران (۱۳۸۳) نشان دادند که رشد و نرخ بقاء میگوی سفید هندی از ۷۱/۵ درصد در گروه شاهد به ۸۸/۳۵ درصد در میگوی سفید هندی تحت تا ثیر باسیلوسهای زیست یار ارتقاء یافت. در تحقیق ناصری (۱۳۸۷) نیز به درستی نقش مثبت پروبیوتیک‌ها در افزایش وزن لارو ماهیان قزل آلا اشاره شده است و به این نتیجه رسیدند که افزودن یک درصد پروبیوتیک BioPlus 2B به طور معنی‌داری وزن را بهبود می‌بخشد.

ضریب تبدیل غذایی به عنوان شاخصی جهت ارزیابی توانایی ماهی در تبدیل موادغذایی خورده شده به گوشت مطالعه شد. در این تحقیق کمترین ضریب تبدیل غذایی (۰/۹۵) در تیماری که حداکثر وزن را دارا بود (۳)، مشاهده گردید. علت این امر را می‌توان در این دانست که احتمالاً پروبیوتیک‌ها اشتها را تحریک می‌کنند و با تولید ویتامین‌ها و آنزیم های گوارشی نظیر پروتئازها و تجزیه ترکیبات غیر قابل هضم، شرایط تغذیه‌ای بهتری را در ماهی ایجاد می‌نماید و موجب جذب مناسب تر مواد غذایی و تولید گوشت گردد (Imada *et al*., 1985). این احتمال هم وجود دارد که افزودن پروبیوتیک به جیره غذایی، نسبت جذب مواد غذایی موجود در جیره را افزایش دهد (Ghosh *et al*., 2002). به طور کلی، ضریب تبدیل غذایی پایین نشان دهنده این است که مصرف غذا در ماهیان، به موازات استفاده از پروبیوتیک، کاهش می‌یابد (Arslan *et al*., 2004)، که از لحاظ اقتصادی برای پرورش دهندگان حائز اهمیت می‌باشد. همچنین Khattab و همکاران (۲۰۰۵) با استفاده از پروبیوتیک *Micrococcus luteus* بر روی ماهی تیلاپیا "*Oreochromis niloticus*" ضریب تبدیل غذایی پایین تری را به‌دست آوردند که با نتایج به دست آمده در این تحقیق مطابقت دارند.

با توجه به میانگین دما (۱۶/۲ درجه سانتی گراد)، اکسیژن (۸/۵ میلی گرم در لیتر) و pH (۷/۱) که در کلیه تیمارهای آزمایشی تقریبا یکسان و در محدوده شرایط استاندارد پرورش ماهی قزل آلای رنگین کمان بود، و با توجه به اینکه تاثیر محرک‌های رشد مشروط به فاکتورهای محیطی است (Wache *et al*., 2006)، و دما تأثیر بیشتری بر فعالیت پروبیوتیک های مخمری نسبت به باکتری‌ها دارند (Gatesoupe *et al*., 2005)، همچنین پروبیوتیک به عنوان یک محرک رشد در این آزمایش استفاده شد، از این رو نتایج به‌دست آمده از این آزمایش می‌تواند برای بخش‌های اجراء توصیه گردد.

در نهایت اینکه اختلاف معنی داری در درصد بقاء بین تیمارها مشاهده نشد و تمامی تیمارها دارای درصد بقاء بالای ۹۹ درصد بودند، که می‌تواند به دلیل فراهم بودن شرایط پرورش مناسب و اصولی در مراحل اجرای این تحقیق باشد. ضمن اینکه محققین دیگر هم نتوانستند به تفاوت‌های معنی داری دراثر استفاده از پروبیوتیک‌ها دست یابند. زیرا درصد بقاء در تحقیقات آن‌ها نیز بالا بود (ناصری، ۱۳۸۷ ؛ Farzanfar *et al*., 2006).

در بررسی که بر روی میکروفلور روده بچه ماهیان قبل از شروع به تغذیه فعال انجام گرفت هیچگونه باکتری باکتوسلی در میکرو فلور روده ماهیان مشاهده نشد، که نشان دهنده آنست که باکتوسل جزء میکروفلور روده قزل آلای رنگین کمان نمی‌باشد. در این تحقیق بیش‌ترین تعداد کل باکتری پروبیوتیک موجود در غذا درروز اول افزودن به غذا در تیمار ۳

Archive of SID
www.SID.ir

دیده شد. این حالت پس از یک هفته نیز مشاهده گشت. این نتایج نشان دهنده آن است که اولا برای حصول نتایج مثبت مورد انتظار، باید مقدار ۳۰۰ گرم در هرتن غذا افزوده شود تا مراحل چسبیدن به غذا و در اختیار قرارگرفتن ماهی به خوبی انجام گیرد. ضمن اینکه ما می‌توانیم غذاهای آغشته به پروبیوتیک باکتوسل را تا یک هفته نگهداری و استفاده کنیم.

ضمن اینکه با افزایش پروبیوتیک باکتوسل در غذا، میزان حضور این پروبیوتیک در روده افزایش یافت که خود تأییدی بر این واقعیت است که همزمان با افزایش سطح پروبیوتیک در غذا، نسبت این باکتری در روده تغییر می‌کند. Ringo و همکاران (۱۹۹۸)، در آزمایشی که بر روی لارو توربوت انجام داده بودند دریافتند که میکروفلور روده در لارو توربوت قویاً تحت تأثیر *Vibrio pelagius* قرار گرفته بود و بخش زیادی از فلور روده را تشکیل داده بود. در آزمایش Gildberg و همکاران (۱۹۹۵)، *Carnobacterium divergens* را به صورت فریز خشک به جیره غذایی اضافه نمودند که منجر به افزایش تعداد زیادی از این نژاد در روده آزاد ماهی اطلس شده بود. همچنین ۷۰ درصد میکروفلور روده لارو کاد را، پس از قرار گرفتن در معرض باکتری *Lactobacillus plantarum* تشکیل داده بود. در حالی که در گروه شاهد فقط یک درصد میکروفلور روده را تشکیل داده بود. ناصری نیز در سال ۱۳۸۷ به این نتیجه رسید که هرچه میزان پروبیوتیک افزوده شده به غذا بیشتر باشد، به همان نسبت مقدار آن در روده ماهی قزل آلای رنگین کمان بیشتر می‌شود. در نتیجه افزایش جمعیت باکتوسل در روده ماهی قزل‌آلای رنگین کمان می‌تواند دال بر قدرت بالای این باکتری در تشکیل کلونی در روده ماهی باشد. اما چون در این آزمایش پروبیوتیک دائماً از طریق غذا وارد دستگاه گوارش شده بود، در مورد توانایی تکثیر آن در روده نمی‌توان نظر قطعی داد، از طرف دیگر با توجه به تراکم بالای آن می‌توان نتیجه گرفت که باکتوسل ها قدرت جای‌گیری بالایی در روده بچه ماهی قزل آلا داشته باشند و همچنین توانایی پایداری آن‌ها در برابر شرایط محیطی داخلی روده بسیار بالا باشد. Bergh و همکاران (۱۹۹۴)، معتقد بودند که تشکیل کلونی روده معمولاً، همزمان با شروع تغذیه خارجی افزایش می‌یابد و مشابه غذای زنده‌ای می‌گردد که در محیط پیرامون وجود دارد.

نکته قابل توجه حضور پروبیوتیک در روده ماهیان شاهد بوده و این موضوع به گسترش و انتشار وسیع باکتری *Pedicoccus acidlactici* در محیط بستگی دارد که ممکن است در جریان اختلاط غذا با باکتری یا موقع غذا دادن و دست‌های آلوده این نفوذ صورت گرفته باشد.

در مجموع این تحقیق می‌توان گفت که پروبیوتیک باکتوسل اثر مثبتی روی فاکتورهای رشد و بهبود فلورباکتریایی روده قزل آلای رنگین کمان دارد. به‌طوری‌که با توجه به قدرت چسبندگی پروبیوتیک باکتوسل به غذا، افزایش فاکتورهای رشد، کاهش ضریب تبدیل غذایی و پرشمارشدن باکتری‌های مفید روده، به ویژه باکتری اسید لاکتیک، بهترین دوز کاربردی پروبیوتیک باکتوسل ۳۰۰ گرم در هرتن غذا می‌باشد.

سپاسگزاری

ازشرکت گلپاد به دلیل در اختیار گذاشتن نمونه پروبیوتیک و همچنین جناب آقای مهندس رقابی

Archive of SID

www.SID.ir

مدیریت این شرکت و جناب آقای مهندس نادری کمال تشکر و قدردانی را می نماییم. از مسئول محترم مزرعه پرورش قزل آلای رنگین کمان پارسیان چابکسر آقای مهندس مانی حلاج پور به دلیل اینکه شرایط انجام این تحقیق را به نحو احسن فراهم نمودند نهایت تشکر را داریم.

منابع

۱. جعفریان، ح.، آذری تاکامی، ق.، کمالی، الف.، سلطانی، م.، حبیبی رضایی، م.، ۱۳۸۶. استفاده از باسیلوس های پروبیوتیکی غنی شده با ناپلی آرتمیا ارومیانا به منظور رشد و بقاء (*Acipenser persicus*) لاروهای تاس ماهی ایرانی. مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان. جلد چهاردهم، شماره دوم، صفحات ۸۷-۷۷.

۲. جنابی حق پریت، ر.، مشکینی، س.، توکمه چی، الف.، ۱۳۹۲. اثرات پروبیوتیک باکتوسل و پری بیوتیک مانان اولیگوساکارید بر رشد و ایمنی در ماهی قزل آلای رنگین کمان. مجله تحقیقات دامپزشکی دانشگاه تهران. دوره ۶۸، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۲، صفحات ۳۸۲-۳۷۵.

۳. ضیایی نژاد، س.، آذری تاکامی، ق.، میرواقفی، ع. ر. حبیبی رضایی، م.، شکوری، م.، ۱۳۸۴. کاربرد باکتری‌های باسیلوس به عنوان پروبیوتیک برای افزایش پارامترهای رشد و تولید در استخرهای پرورش میگوی سفید هندی. مجله منابع طبیعی ایران، جلد ۵۸، شماره ۴، صفحات ۸۵۲-۸۴۳.

٤. فرزانفر، ع.، ۱۳۸۴. تکثیر وپرورش آزاد ماهیان. موسسه تحقیقات شیلات ایران، ۲۱۵ ص.

۵. ناصری، س.، ۱۳۸۷. بررسی تاثیر پروبیوتیک و آهن بر رشد و بازماندگی لارو قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum, 1792). پایان نامه کارشناسی ارشد شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، ۱۵۴ صفحه.

6. Aubin, J., Gatesoupe, F.J., Labbe, L., Lebrun, L., 2005. Trial of probiotics to prevent the vertebral column compression syndrome in Rainbow Trout (*Oncorhynchus* mykiss Walbaum). Aquacultre Research, 36(8): 758 – 767.
7. Arslan, M., Ozcan, M., Matur, E., Cotelioglu, U., Ergul, E., 2004. The effects of probiotics on leptin level, body, liver, and abdominal fat weights during the rapid growth phase of broilers. Indian Veterinary Journal, 81(4): 416-420.
8. Bergh, Ø. Naas, K.E., Harboe, T., 1994. Shift in the intestinal microflora of Atlantic Halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) larvae during first feeding. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 51(8): 1899-1903.
9. Farzanfar, A., 2006. The use of probiotics in shrimp aquaculture. FEMS Immunology and Medical Microbiology, 48(2):149-58.
10. Fuller, R., 1989. Probiotics in man and animals. Journal Applied Bacteriology, 66(5):365-78.
11. Garriques, D., Arevalo, G., 1995. An evaluation of the production and use of a live bacterial isolate to manipulate the microbial flora in the commercial production of *Penaeus Íannamei* postlarvae in Ecuador. Proceedings of the special session on Shrimp Farming. The World Aquaculture Society, San Diego, CA, USA, 53–59.
12. Gatesoupe, F.J., Zambonino Infante, J.L., Cahu, C., Quazuguel, P., 1997. Early weaning of Seabass larvae, *Dicentrarchus labrax*: the effect on microbiota, with particular attention to iron supply and exoenzymes. Aquaculture, Volume 158, Issues 1–2, pp. 117–127.
13. Gatesoupe, F.J., 1999. The use of probiotics in aquaculture: a review. Aquaculture, Volume 180, Issues 1–2, pp. 147-165.
14. Gatesoupe, F.J., 2002. Probiotic and formaldehyde treatments of Artemia nauplii as food for larval Pollack, *Pollachius pollachius*. Aquaculture, Vol. 212, N. 1-4, pp. 347–360.
15. Gatesoupe, F.J., Aubin, J., Quentel, C., Labbé, L., 2005. Ofimer probiotic study on rainbow trout. IV. The settlement of intestinal microbiota in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) fry submitted to probiotic treatment. In: Hendry, C.I., Van Stappen, G., Wille, M., Sorgeloos, P. (Eds.), Larvi 2005, 4th Fish and Shellfish Larviculture Symposium, 5–8 September 2005, Ghent University, Gent,

Archive of SID

www.SID.ir

Belgium. EAS Special Publication, vol. 36. European Aquaculture Society, Oostende, Belgium, pp. 180–183.
16. Ghosh, K., Sen, S.K., Ray, A.K., 2002. Growth and survival of Rohu, *Labeo rohita* (Hamilton) spawn fed diets supplemented with fish intestinal microflora. Acta. Icthology Piscatorial, 32(1), pp. 83-92.
17. Gildberg, A., Johansen, A., Bogwald, J., 1995. Growth and Survival of Atlantic Salmon (Salmo salar) Fry Given Diets Supplemented with Fish Protein Hydrolysate and Lactic Acid Bacteria During Challenge Trial with *Aeromonas salmonicida*. Aquaculture, Vol. 138, pp. 23-34.
18. Imada, C., Simidu, U., Taga, N., 1985a. Isolation and characterization of marine bacteria producing alkaline protease inhibitor. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries 51, 799–803.
19. Irianto, A., Austin, B., 2002. Probiotics in aquaculture: Reviews Journal of Fish Diseases, Vol. 25, No. 11, 11.2002, p. 633-642.
20. Khattab, Y.A.E., Shalaby, A.M.E., Abdel-Rhman, A.A., 2005. Use of probiotic bacteria as growth promoters, anti-bacterial and their effects on physiological parameters of Oreochromis niloticus. Aquaculture, 28, pp. 74-81.
21. Rengpipat, S., Phianphak, W., Piyatiratitivorakul, S., Menasveta, P., 1998. Effects of a probiotic bacterium on Black Tiger shrimp *Penaeus monodon* survival and growth. Aquaculture, Volume 167, Issues 3–4, pp. 301–313.
22. Ringo, E., Gatesoupe, F.J., 1998. Lactic acid bacteriain fish: a Review. Aquaculture, Volume 160, Issues 3–4, pp. 177-203.
23. Samantaray, K., and Mohanty, SS. 1997. Interactions of dietary levels of protein and energy on fingerling snakehead, Channa striata. Fish Nutrition Laboratory, College of Fisheries, Orissa University of Agriculture and Technology, Rangailunda, Berhampur 700-760.
24. Shelby, R.A., Lim, C., Yildirim-Aksoy, M., Delaney, M.A., 2006. Effects of probiotic Diet supplements on disease resistance and immune response of young Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. Journal of Applied Aquaculture, Volume 18, Issue 2 pp. 22–34.
25. Shelby, R.A., Lim, C., Yildrim-Aksoy, M., Klesius, P.H., 2007. Effects of probiotic bacteria as dietary supplements on growth and disease resistance in young Channel Catfish, *Ictalurus punctatus* (Rafinesque). Journal of Applied Aquaculture. Volume 19, Issue 1, pp. 81-91.
26. Taoka, Y., Maeda, H., Jo, J.Y., Jeon, M.J., Bai, S.C., Lee, W.J., Yuge, K., Koshio, S., 2006. Growth, Stress tolerance and non-specific immune response of Japanese Flounder *Paralichthys oliraceus* to probiotics in a closed recirculating system. Fisheries Science, Volume 72, Issue 2, pp. 310-321.
27. Wache, Y., Auffray, F., Gatesoupe, F.J., Zambonino, J., Gayet, V., Labbe, L., Quentel, C., 2006. Cross effects of the strain of dietary Saccharomyces cerevisiae and rearing conditions on the onset of intestinal microbiota and digestive enzymes in Rainbow Trout, *Onchorhynchus mykiss* fry. Aquaculture, Volume 258, Issue1-4, pp.470–478.

Archive of SID

www.SID.ir