

(Oncorhynchus mykiss)

*

تأثیر پروبیوتیک پروتکسین در مقادیر ۰/۱۵، ۰/۵، ۱ و ۱/۵g/kg غذای خشک در مقایسه با غذای شاهد (بدون پروتکسین) بر رشد و زنده مانی لارو ماهی قزل آلی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) با وزن اولیه $90\text{mg} \pm 0/2$ در مدت ۶۰ روز بررسی شد. آزمایش در چهار تکرار و به تعداد ۲۶۵ عدد لارو در هر بخش از سینی (تکرار) انجام شد. غذادهی بین ۴-۷٪ توده زنده در دوره پرورش متغیر بود. در مقادیر مختلف پروبیوتیک پروتکسین، لارو ماهیان تغذیه شده با جیره غذایی حاوی ۰/۱۵g به ازای هر کیلوگرم غذای خشک رشد بیشتری را نسبت به شاهد نشان دادند ($P < 0/05$). همچنین میزان زنده مانی لارو ماهیان تغذیه شده با مقادیر ۰/۱۵ و ۱g پروتکسین به ازای هر کیلوگرم غذای خشک در مقایسه با گروه شاهد بیشتر بود ($P < 0/05$).

: تغذیه، پروبیوتیک، پروتکسین، رشد، لارو، قزل آلی رنگین کمان.

آبزی پروری، گسترش اقتصادی این بخش را در بسیاری از کشورهای جهان تحت تأثیر قرار داده است. همواره راه‌های مختلفی نیز برای برطرف کردن این مشکلات ارائه شده است که موفقیت چندان‌ی نداشته‌اند؛ از جمله در بخش کنترل بیماریها، استفاده از داروهای پادزیست (آنتی‌بیوتیکها) مطرح شد که پس از سالها خود این داروها مشکلات عدیده‌ای از جمله مقاوم شدن عوامل بیماریزا، مسائل زیست محیطی و ... را به وجود آورده‌اند.

در سالهای اخیر استفاده از پروبیوتیکها به عنوان جایگزینی برای روشهای سابق مطرح شده است که به نظر

در سالهای اخیر آبزی‌پروری از سریع‌ترین بخشهای تولید غذا بوده است به گونه‌ای که این بخش از سال ۱۹۸۴-۱۹۹۵ سالیانه ۱۰٪ رشد داشته در حالی که نرخ رشد سالیانه تولید گوشت قرمز برابر ۳٪ و نرخ رشد سالیانه صید آبزیان برابر ۱/۶٪ بوده است [۱].

بخش 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. به گونه‌ای که شیوع بیماریها به عنوان مشکل عمده

* نویسنده مسئول مقاله: تلفن: ۰۱۲۲-۶۲۵۳۱۰۱-۳، E-mail: aabedian@modares.ac.ir

با توجه به اینکه بیشتر مشکلات مربوط به تولید بچه ماهیان قزل آلا در ایران به مرحله لاروی مربوط است، بنابراین آزمایش مذکور به منظور افزایش تولید و زنده مانی بچه ماهیان قزل آلا انجام شد.

این آزمایش در پاییز سال ۱۳۸۳ در مرکز تکثیر و پرورش ماهیان سرد آبی شهید باهنر کلاردشت انجام شد. در این تحقیق برای پرورش لاروها از سینیهای با ابعاد $42/5 \text{cm} \times 42/5$ که برای انکوباسیون تخم ماهیان قزل آلا به کار می‌روند (سینیهای کالیفرنایی)، استفاده شد. ابتدا هر یک از سینیها به وسیله یک دیواره پلاستیکی به دو قسمت مساوی تقسیم شدند؛ به طور کلی از ۵ ترفاف و ۱۰ سینی استفاده شد. پس از استقرار ترفافها و سینیها برای هر ترفاف جریان آبی با دبی ۱۰-۱۵L در دقیقه برقرار گردید. آب مورد استفاده برای پرورش لاروها مخلوطی از آب چشمه و رودخانه بود. ارتفاع آب نیز در داخل سینیها حدود ۱۲cm تنظیم شد. در این حالت در هر یک از قسمتهای سینی حدود ۱۰L آب در جریان بود.

۲۶۵ عدد لارو پس از زیست سنجی و اندازه گیری وزن و طول آنها، به طور کاملاً تصادفی در هر قسمت سینی با میانگین وزن حدود $90 \text{mg} \pm 0/2$ قرار داده شدند. با توجه به حجم مفید هر یک از مخازن (هر قسمت سینیها) که حدود ۱۰L آب بود، میزان ذخیره سازی ۲۷ عدد لارو در هر لیتر در نظر گرفته شد.

به منظور بررسی اثر پروبیوتیک پروتکسین بر رشد لاروهای قزل آلا، رنگین کمان ۴ سطح پروتکسین شامل ۰/۱۵، ۰/۵، ۱ و $1/5 \text{g/kg}$ غذای خشک و یک تیمار شاهد بدون پروتکسین در نظر گرفته شد.

می‌رسد می‌تواند بسیاری از مشکلات را مرتفع سازد. استفاده از پروبیوتیکها در واقع تکنولوژی جدید آبی پروری همگام با محیط زیست به شمار می‌روند. با استفاده از این مواد هم می‌توان تولید را افزایش داد، هم کیفیت آب را اصلاح کرد و هم اینکه می‌توان آنها را به عنوان مبارزه بیولوژیک مد نظر قرار داد. واژه پروبیوتیک واژه‌ای یونانی است که معنای تحت الفظی آن «برای زندگی» می‌باشد و از ترکیب کلمه Pro (به معنی برای) با کلمه Bio (به معنی زندگی) سرچشمه گرفته است [۲] و به فارسی آن را زیست یار نامیده‌اند. پروبیوتیکها را بر اساس معیارهای مختلفی تقسیم بندی می‌کنند؛ از جمله این معیارها می‌توان به سویه میکروبی و عملکرد آن اشاره کرد. به طور کلی پروبیوتیکها از نظر سویه میکروبی مؤثرشان به سه گروه عمده تقسیم می‌شوند: پروبیوتیکهای باکتریایی، قارچی و مخمری [۳]. پروبیوتیکهای باکتریایی عمده‌ترین پروبیوتیکهایی‌اند که تاکنون در آبی پروری استفاده شده‌اند.

استفاده از پروبیوتیکهای حاوی باکتریهای اسید لاکتیک به افزایش میزان زنده مانی میزبان در مواجهه با عوامل بیماریزا منجر می‌شوند که این عملکرد از طرق زیر صورت می‌گیرد [۴]:

- ۱- آثار آنتاگونیستی بر ضد عوامل بیماریزا از طریق ترشح مواد باکتری کش همانند باکتریوسینها؛
 - ۲- محدود کردن عوامل بیماریزا از طریق افزایش محل اتصال یا استفاده از ماده و انرژی در دسترس؛
 - ۳- افزایش سد دفاعی بدن از طریق افزایش سطوح ایمنی؛
- همچنین مشاهده شده است برخی پروبیوتیکها اشتها را افزایش می‌دهند، سلامتی را بهبود می‌بخشند و افزایش کلی را در وزن به وجود می‌آورند که احتمالاً به دلیل افزایش قابلیت هضم مواد غذایی است [۵]. همچنین در تعریفی بیان شده است: پروبیوتیکها غذاهای کمکی‌اند که آنزیمهای جانبی آنان می‌تواند باعث افزایش فرایند هضم شود [۶].
- با توجه به اینکه در زمان شروع تغذیه فعال سیستم ایمنی و هضمی لارو ماهی کامل نیست [۴ و ۷] به کار بردن پروبیوتیک در مرحله لاروی احتمالاً می‌تواند مؤثر واقع شود.

جیره‌های غذایی اسپری می‌شد و به تغذیه لارو ماهیان می‌رسید. برای تمیز کردن مخازن هر ۲ روز یکبار آبشویه کردن انجام می‌شد.

در این تحقیق از پروبیوتیکی با نام تجاری پروتکسین ساخت شرکت Probiotics International Ltd استفاده شد.

پروبیوتیک پروتکسین یک فراورده پروبیوتیکی چند سویه شامل هفت گونه باکتری و دو گونه مخمر و قارچ می‌باشد که در جدول ۱ تعداد و نوع میکروارگانیسمهای موجود در این فراورده آمده است.

طی مراحل آزمایش دمای آب هر روز صبح و میزان اکسیژن و pH هر دو روز یکبار اندازه‌گیری و ثبت شدند. نتایج ثبت عوامل فیزیکی و شیمیایی آب در جدول ۲ نشان داده شده است. به منظور حفظ کیفیت آب در ترفاها هر دو روز یکبار باقیمانده‌های غذاها در کف ترفا و زیر سینیها از طریق آبشویه کردن خارج می‌شدند.

برای اجرای عمل زیست‌سنجی، هر ۲۰ روز یکبار تمام ماهیان از مخازن خارج و با ترازویی با دقت ۰/۰۱g توزین می‌شدند. غذادهی بین ۴-۷٪ توده زنده در کل دوره پرورش متغیر بود. ماهیان در ۸ وعده غذادهی شدند. قبل از هر بار غذادهی مقادیر مختلف پروبیوتیک پروتکسین در آب حل شده (بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده)، سپس روی

تعداد و نوع میکروارگانیسمهای موجود در پروبیوتیک پروتکسین (بر اساس پروتکل شرکت تولید کننده)

<i>Lactobacillus plantarum</i>	$1/28 \times 10^8$
<i>Lactobacillus delbruecki</i>	$2/22 \times 10^8$
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	$2/14 \times 10^8$
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	$2/28 \times 10^8$
<i>Bifidobacterium bifidum</i>	$2/10 \times 10^8$
<i>Streptococcus silivarius</i>	$4/18 \times 10^8$
<i>Enterococcus faecium</i>	$5/60 \times 10^8$
<i>Aspergillus oryzae</i>	$5/60 \times 10^7$
<i>Candida pintolopesii</i>	$5/68 \times 10^7$
	تعداد کل $2/09 \times 10^9$

میانگین خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آب پرورش لارو قزل آلا

pH	(mg/L)	(°C)
$7/84 \pm 0/21$	$7/98 \pm 0/29$	$9 \pm 0/35$

بخشی استفاده شد. سینیها به صورت طرح کاملاً تصادفی^۱ توزیع شدند. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم افزار آماری SPSS و از روش آنالیز واریانس یک طرفه استفاده شد. مقایسه میانگینها با استفاده از آزمون LSD انجام و وجود یا نبود اختلاف معنادار در سطح اعتماد ۵٪ (P=۰/۰۵) تعیین گردید.

جدول ۱ نتایج اثر مقادیر مختلف پروبیوتیک پروتکسین را بر شاخصهای رشد لارو ماهیان نشان می‌دهد. همانطور که مشاهده می‌شود بیشترین درصد افزایش وزن به تیمار اول و دوم مربوط است که دارای تفاوت معناداری با شاهد بود (P<۰/۰۵). در شاخص افزایش وزن بدن مشاهده شد که تیمار اول دارای تفاوت معناداری با شاهد است (P<۰/۰۵)، اما تیمارهای دیگر تفاوت معنادار با شاهد نداشتند (P>۰/۰۵). همچنین در خصوص شاخص ضریب رشد ویژه تیمار اول و دوم دارای تفاوت معناداری بودند، اما تیمارهای دیگر دارای تفاوت معنادار با شاهد نبودند (P>۰/۰۵). از نظر ضریب تبدیل غذایی و شاخص کیفیت تفاوت معناداری در بین تیمارها مشاهده نشد (P<۰/۰۵). از طرفی بررسی نتایج اثر پروبیوتیک پروتکسین بر زنده ماننی لارو ماهیان قول آلا نشان داده که میزان زنده ماننی در تیمارهای ۱ و ۳ به طور معناداری بیشتر از شاهد بوده است (P<۰/۰۵).

برای بررسی رشد ماهیان و مقایسه بین تیمارها از شاخصهای رشد شامل درصد زنده ماننی، درصد افزایش وزن بدن، ضریب تبدیل غذایی، ضریب رشد ویژه، میزان افزایش وزن بدن و شاخص کیفیت استفاده شد.

$$[A] \times 100 = \frac{\text{وزن اولیه} - \text{وزن پایانی}}{\text{وزن اولیه}}$$

: وزن اولیه- وزن نهایی [A]

$$[9] \text{ SGR} = \left(\frac{\ln w_2 - \ln w_1}{t} \right) \times 100$$

w₂: وزن پایانی؛

w₁: وزن اولیه؛

t: طول دوره پرورش؛

$$[A] \text{ CF} = \left(\frac{w}{l^3} \right) \times 100$$

w: وزن ماهی؛

L: طول ماهی؛

$$[1] \text{ FCR} = \frac{\text{مقدار غذای مصرف شده}}{\text{افزایش وزن بدن}}$$

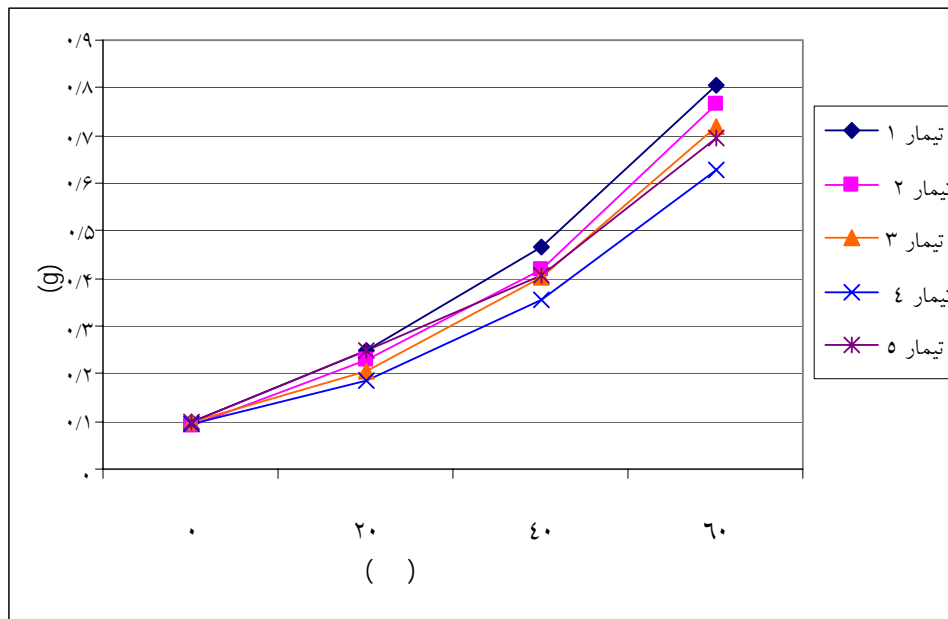
در این آزمایش ۵ تیمار وجود داشت که برای هر یک از تیمارها چهار تکرار در نظر گرفته شد. بنابراین در مجموع ۱۰ سینی دو

مقایسه میانگین شاخصهای رشد لارو ماهیان قول آلا تغذیه شده با مقادیر متفاوت پروبیوتیک پروتکسین

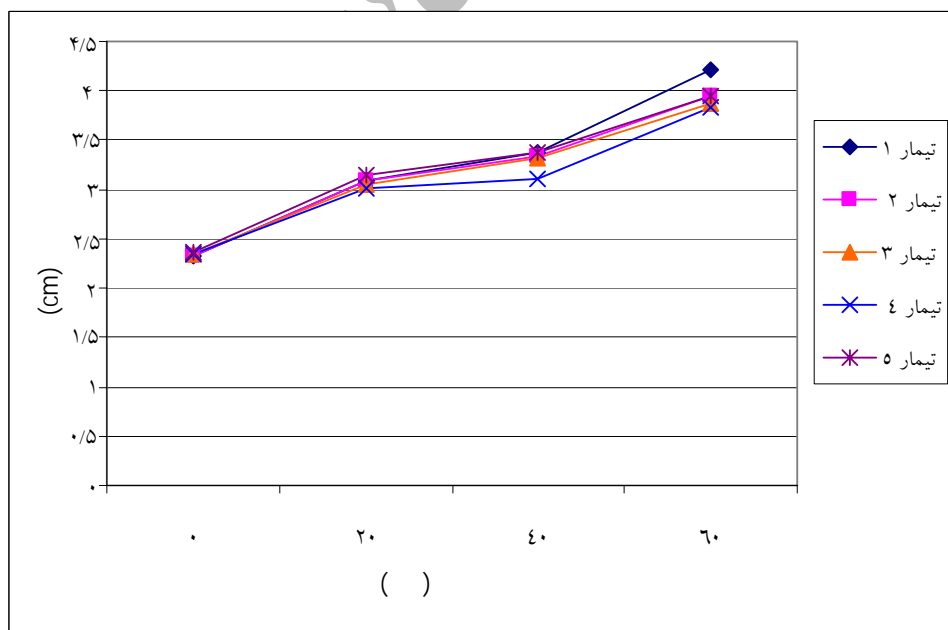
		SGR	FCR		(g)	
۹۶/۷۸±۱/۷۰ ^a	۱/۰۷±۰/۱۲ ^a	۳/۵۲±۰/۱۴ ^a	۰/۶۹±۰/۰۷ ^a	۷۳۲/۲۵±۶۹/۳۴ ^a	۰/۷۰±۰/۰۶ ^a	(/ g/kg feed)
۹۵/۱۸±۲/۵۶ ^{ab}	۱/۲۶±۰/۲۶ ^a	۳/۵۲±۰/۱۷ ^a	۰/۶۶±۰/۰۸ ^a	۷۳۰/۵۸±۸۵/۱۸ ^a	۰/۶۷±۰/۰۷ ^{ab}	(/ g/kg feed)
۹۶/۳۰±۱/۳۹ ^a	۱/۲۲±۰/۰۷ ^a	۳/۳۲±۰/۲۳ ^{ab}	۰/۶۴±۰/۱۱ ^a	۶۳۸/۳۳±۹۸/۲۷ ^{ab}	۰/۶۱±۰/۱ ^{abc}	(g/kg feed)
۹۴/۶۷±۱/۰۸ ^{ab}	۱/۱۲±۰/۱۱ ^a	۳/۱۱±۰/۱۴ ^b	۰/۷۵±۰/۰۷ ^a	۵۵۱/۶۶±۶۰/۹۱ ^b	۰/۵۳±۰/۰۶ ^c	(/ g/kg feed)
۹۲/۹۲±۰/۳۵ ^b	۱/۱۴±۰/۲۲ ^a	۳/۲۵±۰/۱۷ ^b	۰/۷۳±۰/۰۷ ^a	۶۰۸/۳۴±۷۱/۳۲ ^b	۰/۵۹±۰/۰۶ ^{bc}	()

میانگین±S.D, اعداد در یک ستون با حروف متفاوت دارای تفاوت معنادارند (P<۰/۰۵)

نمودارهای ۱ و ۲ نیز روند رشد وزنی و طولی لاروها را طی دوره‌های زیست‌سنجی نشان می‌دهد که به طور مشخص تیمار اول با میزان ۰/۱۵g پروتکسین بر کیلوگرم غذا دارای بهترین وضعیت رشد نسبت به تیمارهای دیگر بود.



روند تغییرات وزن لارو ماهیان طی دوره پرورش



روند تغییرات طول لارو ماهیان طی دوره پرورش

انواع ماهیان می‌شود که نتایج مشابه با تحقیق حاضر داشته‌اند [۱۳، ۱۴].

بر اساس نتایج حاصل از این تحقیق درصد زنده مانی در تیمارهای ۱ (۰/۱۵g) پروتکسین بر کیلوگرم غذای خشک) و ۳ (۱g) پروتکسین بر کیلوگرم غذای خشک) به طور معناداری در سطح اعتماد ۵٪ بیشتر از شاهد بوده است. دلایل این افزایش را شاید بتوان به از بین رفتن باکتریهای دیگر بویژه باکتریهای مضر به وسیله باکتریهای مفید (پروبیوتیک) دانست. این احتمال وجود دارد جمعیتهای میکروبی برخی مواد شیمیایی آزاد کنند که بر جمعیتهای میکروبی دیگر آثار ضد میکروبی داشته باشند و بتوانند روابط بین جمعیتی را از طریق تحت تأثیر قرار دادن و رقابت برای جذب مواد شیمیایی یا انرژی موجود تغییر دهند [۱۵]. بر اساس گزارشی، باکتریهای اسید لاکتیک از جمله باکتریهای اند که ترکیباتی همانند باکتریوسینها را تولید می‌کنند و بدین طریق از رشد میکروارگانیسمهای دیگر جلوگیری می‌کنند [۱۶].

با توجه به بحثهای انجام شده، نتایج کلی زیر از این تحقیق حاصل می‌شود:

- ۱- استفاده از پروبیوتیک پروتکسین سبب افزایش میزان رشد و زنده مانی لاروهای قزل‌آلای رنگین کمان شده است.
- ۲- میزان پروتکسین مؤثر برای لارو ماهیان ۰/۱۵g به ازای هر کیلو گرم از غذا به دست آمد.

در اینجا لازم می‌دانیم از ریاست و کارکنان محترم کارگاه تکثیر و پرورش آزاد ماهیان شهید باهنر کلاردشت که طی اجرای کارهای عملی ما را یاری کردند، کمال تشکر و قدردانی را داشته باشیم.

پروبیوتیکها میکروارگانیسمهای مفیدی‌اند که باعث افزایش رشد و حفظ جاندار در برابر عوامل بیماریزا می‌شوند. به صورت غذای کمکی به مصرف موجود می‌رسند و آثار مفیدی در تعادل میکروبی روده دارند [۱۰].

در تحقیق حاضر افزودن پروبیوتیک پروتکسین به جیره غذایی لارو قزل‌آلای رنگین کمان به افزایش وزن بدن و ضریب رشد ویژه لاروها منجر شد که این افزایش در سطح ۰/۱۵ پروبیوتیک پروتکسین به ازای هر کیلوگرم از غذا با تیمارهای دیگر معنادار بود.

به نظر می‌رسد که افزایش رشد به دلیل افزایش اشتها و ترشح آنزیم یا بهبود سلامتی ماهی در نتیجه کنترل عفونت و افزایش قابلیت هضم مواد غذایی باشد [۵].

اگرچه مکانیزم عملکرد این ماده هنوز بوضوح مشخص نشده است اما پاره ای از مطالعات بر نقش این ماده بر فعالتهای آنزیمی و در نتیجه افزایش فرایند هضم تأکید دارند [۶]. در مطالعه‌ای افزودن پروبیوتیک مخمیری *Debaryomyces hansenii* HFI به جیره غذایی لاروهای ۲۷ روزه ماهی باس دریایی (*Dicentrarchus labrax*)، موجب افزایش معنادار ترشح آمیلاز شده اما این مخمر تأثیر معناداری بر ترشح آنزیم تریپسین نداشته است [۱۱].

نتایج مشابهی نیز در افزایش ترشح آنزیمهای لیپاز، آمیلاز و پروتئاز و در نتیجه افزایش رشد میگوی سفید هندی (*Fenneropenaeus indicus*) گزارش شده است [۱].

شواهدی نیز در مقاوم سازی لارو ماهی توربوت (*Scophthalmus maximus*) به عامل بیماریزای ویبریو در نتیجه افزودن باکتریهای اسید لاکتیک و نهایتاً افزایش میزان رشد این ماهی وجود دارد [۱۲].

در تحقیقات متعدد دیگر نیز نشان داده شده است که افزودن پروبیوتیک سبب افزایش میزان رشد و زنده مانی در

- Microorganism-Marins-Pour-L'Industrie-Actes-Du-Colloque-Tenu-A-Brest-Du-17-Au-19-September 1997. Plouzane-France, IFREMER; 21:166-168.
- [11] Tovar D., Zambonino J., Cahu C., Gatesoupe F. J., Vazquez-Juarez R., Lesel R.; «Effect of live yeast incorporation in compound diet on digestive enzyme activity in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) Larvae». *Aquaculture*; 2002; 204: 113-123.
- [12] Gatesoupe F. J.; Lactic acid bacteria increase the resistance of turbot larvae, *Scophthalmus maximus*, against pathogenic vibrio; *Aquat. Living Resour*; 1994; 7: 227-282.
- [13] Gomez-Gill B., Rouque A., Turnbull J. F.; «The use and selection of probiotic bacteria for use in the culture of larva aquatic organisms»; *Aquaculture*; 2000; 191: 259-270.
- [14] Nikoskelainen S., Ouwehand A., Salminen S., Bylund G.; «Protection of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) from furunculosis by *Lactobacillus rhamnosus*»; *Aquaculture*; 2000; 198: 229-230.
- [15] Lemos M. L., Dopazo C.P., Toranz A.E., Barja L.; «Competitive dominance of antibiotic-producing marine bacteria in mixed cultures»; *J. Appl. Bacteriol*; 1995; 71: 228-232.
- [16] Vadstein O., Oie G., Olsen Y., Salvesen I., Skjermo J., Skjakbraek.; A strategy to obtain microbial control during larval development of marine fish, p. 69-75. In H. Reinertsen, L. A. Dahle, L. Jrgensen, and Tvinnereim., K. Proceedings of the First International Conference on Fish Farming Technology. Balkema, Rotterdam, The Netherlands; 1993.
- [1] ضیایی س.; «تأثیر باکتریهای باسیلوس به عنوان پروبیوتیک بر رشد، بازماندگی و تغییرات آنزیمهای گوارشی میگوی سفید هندی (*Fenneropenaeus indicus*)»; پایان نامه کارشناسی ارشد؛ دانشکده منابع طبیعی کرج؛ دانشگاه تهران؛ ۱۳۸۲؛ ۸۸ ص.
- [2] Zivkovic R.; Probiotics or microbes against microbes. *Acta Med. Croatica*; 1999; 53: 23-28.
- [3] Fuller R.; History and development of probiotics. In: Fuller, R. (Ed.), *Probiotics: the Scientific Basis*. Chapman & Hall, New York: 1992; pp.1-8.
- [4] Gatesoupe F. J.; «The use of probiotic in aquaculture»; *Aquaculture*; 1999; 180: 147-165.
- [5] Gatesoupe F. J., Ringo E.; «Lactic acid bacteria in fish: a review»; *Aquaculture*; 1998; 160: 177-203.
- [6] Douillet P. A., Langdon C. J.; «Use of a probiotic for the culture of pacific oyster (*Crassostrea gigas* Thunberg)»; *Aquaculture*; 1994; 199: 25-40.
- [7] De Silva Sena S., Anderson Trevor A.; Fish nutrition in aquaculture. Chapman & Hall, 2-6 Boundary Row, London, SE18HN; 1995; P. 319.
- [8] میرزاخانی م.; «آثار استفاده از آرتمیای غنی شده با اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره و آرتمیای غنی نشده، بر رشد و بازماندگی لاروهای قزل‌آلای رنگین کمان»; پایان نامه کارشناسی ارشد شیلات؛ دانشکده منابع طبیعی؛ دانشگاه تربیت مدرس؛ ۵۲ ص.
- [9] Flores M. L., Novoa M. A. O., Mendez B. E. G., Madrid W. L.; «Use of the bacteria *Streptococcus faecium* and *Lactobacillus acidophilus*, and the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as growth promoters in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)»; *Aquaculture*; 216: 193-201.
- [10] Ruiz P. C., Samain J. F., Nicolas J. L.; Antibacterial activity exhibited by marine strain Rose bacter sp. In: Le, G.Y. and Muller, F.A. (Eds). *Marine micro organisms for industry*, Proceedings of the meeting held in Breast (17-19sep., 1997).