دانشگاه گنبد کاووس
نشریه "پژوهش‌های ماهی شناسی کاربردی"
دوره سوم، شماره دوم، تابستان ۹۴
http://jair.gonbad.ac.ir

تأثیر سطوح مختلف آنزیم‌های خارج سلولی باسیلوس‌های پروبیوتیکی بر شاخص‌های رشد، تغذیه و بازماندگی در لارو ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792)

نفیسه پریچه*[۱]، حجت‌اله جعفریان[۲]، محمد هرسیج[۳] و علی‌رضا احمدی[۴]

[۱]دانش‌آموخته کارشناسی ارشد تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران

[۲]دانشیار گروه شیلات دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران

[۳]استادیار گروه شیلات دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران

[۴]استادیار گروه بیومدیکال، دانشگاه الزهرا، تهران، ایران

تاریخ ارسال: ۹۲/۱۰/۱۲ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۲/۱۱/۲۱

چکیده

مطالعه حاضر به‌منظور بررسی تأثیر آنزیم‌های تولید شده به‌وسیله پنج گونه باسیلوس پروبیوتیکی بر شاخص‌های رشد و تغذیه‌ای در لارو ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) با وزن اولیه (۰/۱۹۷±۰/۵۳۸ گرم) بعد از ۶۰ روز مطالعه انجام شد. سوسپانسیون حاوی آنزیم‌های تولید شده توسط باسیلوس‌های پروبیوتیکی حاصل از کشت باسیلوس‌ها در محیط کشت مایع با غلظت‌های باسیلوسی ۱×۱۰^{۶}، ۱×۱۰^{۷} و ۱×۱۰^{۸} واحد کلنی در ۱۰۰ گرم محیط کشت به‌ترتیب به جیره‌های لاروهای ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان افزوده شد. نتایج بدست آمده از زیست‌سنجی لاروها در انتهای دوره مطالعه نشان داد که استفاده از سوسپانسیون آنزیمی با بیشترین غلظت میکروبی (۱×۱۰^{۸} واحد کلنی در ۱۰۰ گرم) در تیمار سوم (۳/۷۷ ±۲۰/۰۲ گرم) باعث افزایش معنی‌دار رشد گردیده است. همچنین در مورد سایر شاخص‌های رشد از جمله نرخ رشد ویژه و میانگین رشد روزانه نتایج معنی‌داری مشاهده شد. استفاده از سوسپانسیون آنزیمی در هر سه تیمار آزمایشی موجب کاهش معنی‌دار ضریب تبدیل غذایی در مقایسه با تیمار شاهد شد. نتایج مربوط به شاخص‌های تغذیه‌ای نیز نشان دهنده افزایش کارآیی پروتئین، چربی، انرژی و فیبر در تیمارهای آزمایشی در مقایسه با تیمار شاهد بود. همچنین پروتئین و چربی ابقاء شده در تیمارهای آزمایشی افزایش معنی‌داری داشت. استفاده از سوسپانسیون آنزیمی در این مطالعه باعث بهبود عملکرد رشد، افزایش بقاء و بهره‌وری غذایی در لاروها شد.

***واژه‌های کلیدی*: *O. mykiss*، آنزیم، لارو، رشد، پروتئین، چربی، کارآیی.**

*نویسنده مسئول: nafiseh.paricheh@yahoo.com

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-03-19]

مقدمه

ماهیان همواره تحت تأثیر فلور میکروبی موجود در محیط زیست خود هستند که باعث کنش‌های مفید و مضر در دستگاه گوارش آن‌ها می‌شوند. مطالعات مختلفی توسط هورسلی (Horsley, 1977) و کاهیل (Cahill, 1990) در مورد شرایط اکولوژیک فلور میکروبی دستگاه گوارش صورت گرفته است. با این حال خصوصیات ظاهری و زیستی فلور میکروبی در روده ماهیان هنوز به خوبی مطالعه نشده است. عمده فعالیت پروبیوتیک‌ها در بهبود عملکرد دستگاه گوارش بوده و موجب افزایش سلامت دستگاه گوارش میزبان می‌شود (Sahandi, 2013). باکتری‌های پروبیوتیکی قادر به تولید آنزیم‌های خارج سلولی بوده که از آن جمله می‌توان به آنزیم‌های پروتئاز، لیپاز و آمیلاز اشاره کرد. این آنزیم‌ها باعث افزایش فرآیند هضم شده و افزایش رشد را به همراه خواهد داشت (Douillet and Langdon, 1994). در مهره‌داران عالی هضم غذا از دو طریق آنزیم تولید شده توسط میزبان غذایی و همچنین آنزیم مترشحه از فلور باکتریایی موجود در دستگاه گوارش موجود صورت می‌گیرد. مطالعات محدودی توسط برخی محققان در مورد باکتری‌های تولید کننده آنزیم در دستگاه گوارش صورت گرفته است (Saha *et al.*, 2006; Bairagi *et al*., 2004; Ghosh *et al*., 2002). در مطالعه‌ای جعفریان (Jafaryan, 2006) تأثیر پروبیوتیک‌های باسیلی را در ترشح آنزیم‌های گوارشی مورد بررسی قرار داد و با اندازه‌گیری آنزیم دستگاه گوارش در لارو تاس ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*)، تحت تیمار تغذیه‌ای با باسیلوس‌ها و با مقایسه میزان آنزیم تولید شده در دستگاه گوارش گروه شاهد دریافت که پروبیوتیک‌های مورد استفاده علاوه بر ترشح آنزیم موجب تحریک دستگاه گوارش شده و موجب تولید آنزیم‌های گوارشی از این طریق گردیده‌است. در برخی موارد از آنزیم‌های سنتتیک به صورت مکمل استفاده شده است (Ghobadi *et al*., 2009; Ayoleke *et al*., 2006)، ولی استفاده از سوسپانسیون آنزیم‌های خارج سلولی پروبیوتیک‌ها به‌صورت مجزا گزارشات اندکی ارائه شده‌است. اکثر مطالعات شامل بررسی آنزیمی دستگاه گوارش حاوی میکروب‌های باکتریایی پروبیوتیکی در آن‌ها بوده است. بایراجی و همکاران (Bairagi *et al*., 2004) *Bacillus subtilis* و *B. circulans* ایزوله شده از ماهی کپور و ماهی تیلاپیا را در جیره غذایی ماهی روهو (*Labeo rohita*) به‌کار بردند. نتایج نشان داد که نسبت کارآیی پروتئین، قابلیت هضم ظاهری و بهره‌برداری ظاهری پروتئین افزایش یافته و عملکرد ماهی در ارتباط با معیارهای رشد ارتقاء یافت. همچنین فعالیت ویژه آنزیم‌های گوارشی از جمله آمیلاز و پروتئاز افزایش یافت. بایراجی و همکاران (Bairagi *et al*., 2004) به‌منظور ارزیابی ارزش غذایی برگ گیاه *Leucaena leucocephala* تلقیح شده با پروبیوتیک‌های باسیلوسی ایزوله شده از روده ماهی کپورمعمولی (*Cyprinus carpio*) و ماهی تیلاپیا (*Tilapia muzambica*) که دارای فعالیت‌های سلولولتیک و آمیلولتیک خارج سلولی بودند، جهت تغذیه بچه ماهیان انگشت‌قد ماهی روهو به‌کار بردند. نتایج نشان داد که فعالیت سلولاز،

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-03-19]

پروتئاز و لیپاز در ماهیان تغذیه شده از آرد برگ درخت لوسیانا تلقیح شده با باکتری‌های پروبیوتیکی، به‌طور معنی‌دار ارتقاء یافت. با این حال استحصال آنزیم‌های تولید شده از باسیلوس‌ها و استفاده مستقیم از آن در جیره غذایی ماهی می‌تواند موجب افزایش کارآیی دستگاه گوارش گردد. به‌همین منظور این مطالعه با هدف استخراج آنزیم از پنج گونه باسیلوس پروبیوتیکی جهت استفاده در جیره غذایی لارو قزل‌آلای رنگین‌کمان و مطالعه تأثیر آن بر شاخص‌های رشد و تغذیه ماهی قزل‌آلای رنگین کمان اجرا گردید.

مواد و روش‌ها

لاروهای قزل‌آلای رنگین‌کمان با وزن اولیه ۰/۱۹ ± ۰/۵۳ گرم (SD±میانگین) در ۳ تیمار آزمایشی همراه با ۳ تکرار با تراکم ۳۵ لارو در هر مخازن پلاستیکی در قالب طرح کاملاً تصادفی تقسیم‌بندی شدند. تعداد دوازده مخزن پلاستیکی به حجم آبگیری ۱۵ لیتر جهت انجام مطالعه آماده‌سازی شد. از لوله‌های پلی‌اتیلنی به‌عنوان خروجی مخازن استفاده شد. این مخازن با تراکم ۲ قطعه لارو ماهی در هر لیتر و با جریان آب ۲ لیتر در دقیقه، هوادهی ثابت در آزمایشگاه قرار داده شد (Sahandi *et al.*, 2014). لاروها روزانه در۴ نوبت و به میزان ۸-۴ درصد وزن توده زنده ماهی تغذیه شدند (Mohammadi Azarm *et al.*, 2004). محیط کشت مورد استفاده در این مطالعه محیط کشت اختصاصی باسیلوس تولید شرکت پروتکسین (انگلستان) بود که پس از توزین با آب مقطر مخلوط گردیده و درون اتوکلاو استریل شد. پس از سرد شدن محیط کشت مخلوط پنج باکتری باسیلی (*Bacillus circulance, B. subtilis, B. polymyxa, B. licheniformis, B. laterosporus*) با غلظت‌های ۱×۱۰^{۶} (T1) ، ۱×۱۰^{۷} (T2) و ۱×۱۰^{۸} (T3) واحد کلنی در ۱۰۰ گرم از محیط کشت افزوده شد و در دمای $۳۷^{o}C$ به مدت ۲۴ ساعت انکوبه گردید. پس از مدت زمان مذکور سوسپانسیون محیط کشت و باکتری در سانتریفوژ DENLEY مدل BS400 با دور ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شده و سوسپانسیون استخراجی به جیره غذایی لاروها اسپری شد و تا زمان مصرف در یخچال نگهداری شد (Ghosh *et al.*, 2001). تغذیه لاروهای تیمار شاهد از جیره پایه بدون مکمل‌سازی با سوسپانسیون آنزیمی انجام گرفت.

پس از تهیه سوسپانسیون استخراجی، آنزیم‌های آمیلاز و لیپاز و پروتئاز اندازه‌گیری گردید که در جدول ۱ ارائه شده است. جهت بررسی وضعیت رشد ماهیان تمامی لاروهای هر مخزن صید و پس از بیهوش‌سازی در مخلوط پودر گل میخک در آب (۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر)، میانگین طول و وزن آنها با استفاده از تخته زیست‌سنجی با دقت یک میلی‌متر و ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۱ گرم اندازه‌گیری و ثبت شد. شاخص‌های رشد و تغذیه بر اساس فرمول‌های زیر محاسبه شد.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-03-19]

نرخ رشد ویژه (٪) = [(ln وزن نهایی – ln وزن اولیه) / مدت مطالعه] × ۱۰۰ (Helland *et al*., 1996)
میانگین رشد روزانه (٪) = [(وزن نهایی – وزن اولیه) / مدت مطالعه] × ۱۰۰ (De Silva and Anderson, 1995)
غذای نسبی خورده شده (٪) = [غذای خورده شده / ((مدت مطالعه × افزایش وزن) × ۰/۵)] × ۱۰۰ (Jafaryan, 2006)
نرخ وزن نسبی بدست آمده (٪) = [(وزن نهایی – وزن اولیه) / وزن اولیه] × ۱۰۰ (De Silva and Anderson, 1995)
ضریب تبدیل غذایی = (غذای خورده شده / افزایش وزن) (Helland *et al*., 1996)
نرخ کارآیی غذایی = (افزایش وزن / غذای خورده شده) (Helland *et al*., 1996)
نسبت کارآیی پروتئین = (گرم) پروتئین خام خورده شده / افزایش وزن (Jafaryan, 2006)
نسبت کارآیی چربی = (گرم) چربی خام خورده شده / افزایش وزن (Jafaryan, 2006)
نسبت کارآیی چربی = (کیلوکالری بر گرم) انرژی خام خورده شده / افزایش وزن (Jafaryan, 2006)
پروتئین ابقاء شده = [(پروتئین اولیه لاشه × وزن اولیه) – (پروتئین نهایی لاشه × وزن نهایی)] / (مدت مطالعه) × ۱۰۰ (Helland *et al*., 1996)
چربی ابقاء شده = [(چربی اولیه لاشه × وزن اولیه) – (چربی نهایی لاشه × وزن نهایی)] / (مدت مطالعه) × ۱۰۰ (Helland *et al*., 1996)
فاکتور وضعیت = وزن نهایی / (طول نهایی)^{۳} × ۱۰۰ (Douillet and Langdon, 1994)

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها و مقایسه میانگین شاخص رشد و تغذیه‌ای لاروهای ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در تیمارهای ذکر شده بر اساس طرح کاملاً تصادفی با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون دانکن در سطح معنی‌داری ۵ درصد ($p<۰/۰۵$) صورت گرفت و از بسته نرم افزارآماری SPSS و Excel در محیط ویندوز استفاده شد.

نتایج

نتایج تأثیر استفاده از سوسپانسیون حاوی آنزیم‌های تولید شده توسط باسیلوس‌های پروبیوتیکی مصرفی در مطالعه حاضر بر معیارهای رشد در جدول ۲ آورده شده است.

جدول ۱- مقادیر فعالیت ویژه آنزیم‌های گوارشی ترشح شده توسط باسیلوس‌های پروبیوتیکی در سوسپانسیون‌های باکتریایی

تیمار / آنزیم	شاهد (IU/mg protein)	۱×۱۰^{۶} CFU/ml	۱×۱۰^{۷} CFU/ml	۱×۱۰^{۸} CFU/ml
آنزیم آمیلاز کل	۰^{d}	۰/۱۱۲۳±۰/۰۲۲^{c}	۰/۲۰۲۳ ±۰/۰۴ ۰^{b}	۱/۰۱۰۲ ±۰/۲۰۲^{a}
آنزیم لیپاز کل	۰^{d}	۰/۰۰۵۳ ± ۰/۰۰۱^{c}	۰/۰۱۳۴ ± ۰/۰۲۶^{b}	۰/۰۹۴۴ ± ۰/۰۱۸^{a}
آنزیم پروتئاز کل	۰^{d}	۰/۰۰۷۱ ± ۰/۰۰۱^{c}	۰/۰۱۴۳ ± ۰/۰۰۲^{b}	۰/۰۸۶۳ ± ۰/۰۱۷^{a}

حروف غیر مشابه در هر ردیف نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار است ($p<۰/۰۵$).

در خصوص نتایج مربوط به وزن نهایی نتاج نشان دهنده اختلاف معنی‌دار تیمار آزمایشی نسبت به شاهد بود ($p<۰/۰۵$). کمترین میانگین وزنی بدست آمده مربوط به گروه شاهد به میزان ۴/۰۴±۱۴/۲۸ گرم بوده و بیشترین میزان ۳/۷۷±۲۰/۰۲ گرم مربوط به تیمار T۳ بود. ضریب تبدیل غذایی در

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-03-19]

تیمارهای آزمایشی کاهش یافت به‌طوری‌که کمترین میزان ضریب تبدیل غذایی در تیمار آزمایشی T۳ مشاهده شد. نرخ کارایی غذایی در تیمارهای آزمایشی بیشترین میزان و شاهد کمترین میزان را نشان داد (p<۰/۰۵). نرخ رشد ویژه نیز در لاروهای قزل‌آلا در تیمار آزمایشی بیشترین میزان را در مقایسه با تیمار شاهد داشت (p<۰/۰۵). درصد میانگین رشد روزانه از ۶/۷۴±۲۲/۹۱ در تیمار شاهد به ۶/۹۵±۳۱/۶۲ در تیمار T۳ رسید درحالی‌که غذای نسبی خورده شده در تیمار شاهد بیشترین میزان را در مقایسه با تیمار T۳ داشت (p<۰/۰۵).

جدول ۲- پارامترهای رشد لارو قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی مکمل-سازی شده با سوسپانسیون آنزیمی حاصل از پنج گونه باسیلوس پروبیوتیکی

شاخص‌های رشد	تیمارهای آزمایشی			
	شاهد	T۱	T۲	T۳
میانگین وزن اولیه (گرم)	۰/۵۳ ± ۰/۱۹	۰/۵۳ ± ۰/۱۹	۰/۵۳ ± ۰/۱۹	۰/۵۳ ± ۰/۱۹
میانگین وزن نهایی (گرم)	۱۴/۲۸ ± ۴/۰۴^{c}	۱۸/۵۵ ± ۳/۷۱^{b}	۱۹/۵۵ ± ۴/۶۶^{ab}	۲۰/۰۲ ± ۳/۷۷^{a}
میانگین طول نهایی (سانتیمتر)	۱۰/۸۷ ± ۰/۹۵^{c}	۱۱/۷۲ ± ۰/۸۷^{b}	۱۱/۹۹ ± ۱/۱۰^{ab}	۱۲/۰۴ ± ۰/۹۵^{a}
ضریب تبدیل غذایی	۱/۹۳ ± ۰/۷۱^{a}	۱/۳۸ ± ۰/۲۹^{b}	۱/۳۷ ± ۰/۳۷^{b}	۱/۳۳ ± ۰/۳۴^{b}
کارایی تبدیل غذایی	۰/۵۷ ± ۰/۱۶^{b}	۰/۷۵ ± ۰/۱۵^{a}	۰/۷۸ ± ۰/۱۹^{a}	۰/۷۹ ± ۰/۱۷^{a}
نرخ رشد ویژه	۵/۳۹ ± ۰/۵۲^{b}	۵/۸۶ ± ۰/۳۳^{a}	۵/۹۱ ± ۰/۴۲^{a}	۵/۹۴ ± ۰/۳۷^{a}
درصد میانگین رشد روزانه	۲۲/۹۱ ± ۶/۷۴^{b}	۳۰/۰۲ ± ۶/۱۹^{a}	۳۱/۲۸ ± ۷/۹۷^{a}	۳۱/۶۲ ± ۶/۹۵^{a}
غذای نسبی خورده شده (درصد)	۵/۲۴ ± ۱/۸۶^{a}	۴/۶۸ ± ۱/۰۶^{b}	۴/۴۱ ± ۱/۱۸^{b}	۴/۶۲ ± ۱/۳۵^{b}
نرخ وزن نسبی بدست آمده (درصد)	۳۰۹۲/۶۳ ± ۸۱۶/۶۴^{c}	۳۳۴۲/۲۹ ± ۷۷۹/۳۱^{b}	۳۵۷۸/۹۸ ± ۸۴۵/۵۵^{a}	۳۴۴۰/۹۸± ۸۲۰/۸۲^{ab}
درصد بقاء لاروها	۹۲/۱۴^{b}	۹۵/۷۱^{a}	۹۶/۴۲^{a}	۹۷/۱۴^{a}

حروف غیر مشابه در هر ردیف نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار است (p<۰/۰۵).

نتایج تأثیر استفاده از سوسپانسیون حاوی آنزیم‌های تولید شده توسط باسیلوس‌های پروبیوتیکی مصرفی در مطالعه حاضر بر معیارهای تغذیه‌ای نیز در جدول ۳ آورده شده است. بیشترین نسبت کارآیی پروتئین در تیمار آزمایشی T۲ (۰/۴۱±۱/۸۱ گرم) بود که از نظر آماری اختلاف معنی‌داری با تیمار T۳ (۰/۴۰±۱/۷۴ گرم) نداشت (p>۰/۰۵). مشابه این نتیجه در مورد نرخ وزن نسبی بدست آمده مشاهده شد. در نسبت‌های کارآیی چربی و انرژی نیز نتایج معنی‌داری وجود داشت که نشان دهنده اختلاف معنی‌دار تیمارهای آزمایشی با تیمار شاهد بود (p<۰/۰۵). استفاده از سوسپانسیون آنزیمی در جیره قزل‌آلا به عنوان گونه گوشتخوار موجب افزایش نسبت کارآیی فیبر نیز گردید. در خصوص نتایج مربوط به درصد پروتئین ابقاء شده نتایج نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار تیمار آزمایشی نسبت به شاهد بود (p<۰/۰۵) اما اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی مشاهده نشد. درصد چربی ابقاء شده در

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-03-19]

تیمار T۲ (۳/۱۴±۰/۷۴ درصد) بیشترین میزان و تیمار شاهد (۲/۱۸±۰/۵۸ درصد) کمترین میزان را داشت. درصد انرژی ابقاء شده در تیمار T۲ بیشترین میزان را داشت. همچنین اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای T۲ و T۳ مشاهده نشد (p>۰/۰۵).

جدول ۳- پارامترهای تغذیه‌ای لارو قزل‌آلای رنگین کمان (*O. mykiss*) تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی مکمل‌سازی شده با سوسپانسیون آنزیمی حاصل از پنج گونه باسیلوس پروبیوتیکی

	تیمارهای آزمایشی			
شاخص‌های تغذیه	شاهد	T۱	T۲	T۳
نسبت کارآیی پروتئین (گرم)	۱/۵۷ ± ۰/۴۰^{c}	۱/۶۹ ±۰/۳۸^{b}	۱/۸۱ ± ۰/۴۱^{a}	۱/۷۴ ± ۰/۴۰^{ab}
نسبت کارآیی چربی (گرم)	۵/۶۸ ± ۱/۴۵^{c}	۶/۱۲ ± ۱/۳۸^{b}	۶/۵۴ ± ۱/۵۰^{a}	۶/۲۹ ± ۱/۴۶^{ab}
نسبت کارآیی انرژی (کیلوکالری بر گرم)	۰/۱۶ ± ۰/۰۴^{c}	۰/۱۷ ± ۰/۰۴^{b}	۰/۱۹ ± ۰/۰۴^{a}	۰/۱۸ ± ۰/۰۴^{ab}
نسبت کارآیی فیبر (گرم)	۳۹/۷۶ ± ۱۰/۱۷^{c}	۴۲/۸۶ ± ۹/۷۰^{b}	۴۵/۸۱ ± ۱۰/۵۳^{a}	۴۴/۰۹ ± ۱۰/۲۲^{ab}
پروتئین ابقاء شده (درصد)	۱۸/۱۹ ± ۵/۲۴^{b}	۲۰/۰۶ ± ۴/۶۷^{a}	۲۱/۰۴ ± ۵/۰۲^{a}	۲۰/۵۲ ± ۴/۹۳^{a}
چربی ابقاء شده (درصد)	۲/۱۸ ± ۰/۵۸^{d}	۲/۷۵ ± ۰/۶۸^{b}	۳/۱۴ ± ۰/۷۴^{a}	۲/۴۳ ± ۰/۵۸^{c}
انرژی ابقاء شده (درصد)	۷۶۳۹/۴۲ ± ۲۰۰۳/۷۳^{c}	۸۳۶۱/۵۹ ± ۱۹۱۰/۱۴^{b}	۹۰۶۱/۹۳ ± ۲۰۷۶/۵۶^{a}	۸۴۹۲/۵۱±۱۹۶۹/۵۶^{b}
فاکتور وضعیت (درصد)	۱/۱۱ ± ۰/۱۳^{a}	۱/۱۳ ± ۰/۰۶^{a}	۱/۱۰± ۰/۰۹^{a}	۱/۰۵ ± ۰/۱۶^{b}

حروف غیر مشابه در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی‌دار است (p<۰/۰۵).

بررسی نتایج مربوط به فاکتور وضعیت نشان داد تیمار T۳ علی‌رغم افزایش وزن نهایی نسبت به سایر تیمارهای آزمایشی و تیمار شاهد، دارای کمترین میزان فاکتور وضعیت است. در واقع افزایش طول در تیمار T۳ در مقایسه با تیمارهای دیگر بیشتر بوده است و همان‌طور که در جدول ۲ نشان داده شده است تیمار T۳ (۰/۹۵ ± ۱۲/۰۴ سانتی‌متر) بیشترین رشد طولی را داشته است (p<۰/۰۵). نرخ بازماندگی تیمارهای آزمایشی در جدول ۲ نشان داده شده است. علی‌رغم وجود اختلاف آماری بین تیمارهای آزمایشی و شاهد، اختلاف آماری معنی‌دار بین تیمارهای آزمایشی وجود ندارد (p>۰/۰۵).

بحث و نتیجه‌گیری

باسیلوس‌های پروبیوتیکی قادر به تولید آنزیم‌های خارج سلولی از جمله آنزیم‌های پروتئاز، لیپاز و آمیلاز هستند. این آنزیم‌های جانبی باعث افزایش فرآیند هضم گشته و افزایش رشد را به همراه خواهند داشت (Douillet and Langdon, 1994). در همین زمینه مطالعه‌ای با هدف بررسی تأثیر پروبیوتیک‌های باسیلوسی در ترشح آنزیم‌های گوارشی با اندازه‌گیری آنزیم دستگاه گوارش در لارو تاس‌ماهی ایرانی (*A. persicus*) با مقایسه میزان آنزیم مترشحه در دستگاه گوارش توسط جعفریان (Jafaryan, 2006) انجام شد. بر این اساس ترشح آنزیم‌های خارج سلولی ضمن بهبود کارآیی غذایی

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-03-19]

موجب تسهیل در فرآیند هضم خواهد شد. مطابق به این یافته‌ها در تحقیق حاضر تهیه سوسپانسیون آنزیمی از باسیلوس‌های پروبیوتیکی و استفاده از آن جهت مکمل‌سازی جیره غذایی لارو قزل‌آلای رنگین‌کمان به افزایش وزن بدن، میانگین رشد روزانه، درصد افزایش وزن و کارآیی غذایی منجر شد. به نظر می‌رسد این افزایش رشد به علت افزایش آنزیم دستگاه گوارش و افزایش قابلیت هضم مواد غذایی جیره باشد (Gatesoupe and Ringo, 1998). نتایج مشاهده شده در این مطالعه در مورد افزایش رشد در لاروهای قزل‌آلا نشان داد که تیمارهای آزمایشی تغذیه شده با جیره حاوی آنزیم بیشترین افزایش را داشت. بیشترین رشد وزنی و درصد افزایش وزن و همچنین میانگین رشد روزانه در تیمار T۳ و کمترین میزان آن‌ها در تیمار شاهد بود. مطابق با این نتایج گوش و همکاران (Ghosh *et al*., 2001) نشان دادند بکارگیری باسیلوس سیرکولانس، باسیلوس سرئوس و باسیلوس پامیلوس جداسازی شده از روده ماهی انگشت‌قد روهو که ظرفیت تولید آنزیم‌های پروتئاز، آمیلاز و سلولاز خارج سلولی را دارند، باعث افزایش رشد شد. همچنین در مطالعه گوش و همکاران (Ghosh *et al*., 2003) نرخ رشد ویژه در تیمارهای آزمایشی افزایش یافت به‌طوری‌که این نرخ از ۱/۱۹±۰/۰۱ در تیمار شاهد به ۱/۴۷±۰/۰۲ درصد در تیمار آزمایشی رسید. مطابق با این نتایج نرخ رشد ویژه در این مطالعه از ۵/۳۹±۰/۵۲ درصد در تیمار شاهد به ۵/۹۴±۰/۳۷ درصد در تیمار T۳ افزایش یافت. افزایش رشد در لاروهای قزل‌آلا همراه با کاهش غذای نسبی خورده شده بود که عامل این افزایش رشد را می‌توان به فعالیت آنزیم‌های تولید شده توسط باسیلوس‌ها نسبت داد. در تأیید این نتایج جعفریان (Jafaryan, 2006) استفاده از باسیلوس‌ها را عامل افزایش آنزیم‌های گوارشی خواند و گزارش کرد استفاده از باسیلوس‌های پروبیوتیکی علاوه بر تعادل فلور میکروبی روده موجب افزایش آنزیم‌های گوارشی شد و این افزایش در روند هضم و جذب مؤثر بود. در مورد استفاده از پروبیوتیک‌ها کاهش ضریب تبدیل غذایی و بهبود نرخ کارایی غذایی همواره گزارش شده است. در مطالعه جعفریان و همکاران (Jafaryan *et al*, 2011) ضریب تبدیل غذایی در تیمارهای آزمایشی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان نسبت به تیمار شاهد کاهش یافت. همچنین در مطالعه سهندی و همکاران (Sahandi *et al*., 2012) استفاده از باسیلوس‌های پروبیوتیکی در پرورش لاروی کپور نقره‌ای نرخ کارآیی غذایی و ضریب تبدیل غذایی در تیماری که بیشترین غلظت پروبیوتیک را دریافت کرده بودند به‌ترتیب افزایش و کاهش یافت. همسو با این گزارشات در مطالعه حاضر میزان ضریب تبدیل غذایی در تیمارهای آزمایشی به شکل معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد کاهش یافت. هرچند اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی وجود نداشت. این کاهش ضریب تبدیل غذایی در تیمارهای آزمایشی با نتایج مربوط به درصد غذای نسبی خورده شده نیز همخوانی دارد. مطابق با کاهش ضریب تبدیل غذایی افزایش کارآیی غذایی در تیمارهای آزمایشی مشاهده شد. کارتر و همکاران (Carter *et al*., 1994) از آنزیم کربوهیدراز در جیره ماهی آزاد اطلس

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-03-19]

استفاده نمودند و شاهد افزایش رشد و افزایش کارآیی غذایی در این گونه بودند. فعالیت آنزیم آمیلاز به‌عنوان یکی از آنزیم‌های گوارشی تولید شده توسط فلور میکروبی دستگاه گوارش ماهی روهو توسط ساها و رای (Saha and Ray, 1998) و ماهی کپور علفخوار توسط داس و تری‌پاتی (Das and Tripathi, 1991) مورد بررسی قرار گرفت و تولید این آنزیم توسط فلور میکروبی دستگاه گوارش تأیید گردید. در مطالعه حاضر آنزیم‌های تولید شده توسط باسیلوس‌های پروبیوتیکی به جیره لاروهای قزل‌آلا افزوده شد و نتایج نشان داد که افزودن آنزیم‌های گوارشی موجب افزایش کارآیی ترکیبات غذایی از جمله پروتئین و چربی در تیمارهای آزمایشی شد و همچنین ابقاء این ترکیبات را در لاشه بالا می‌برد. همچنین اندازه‌گیری نسبت کارآیی فیبر افزایش معنی‌داری را نشان داد به‌طوری‌که از ۱۰/۱۷±۳۹/۷۶ گرم در تیمار شاهد به ۱۰/۵۳±۴۸/۸۱ گرم در تیمار آزمایشی T۲ رسید. نوع جیره غذایی در تغذیه ماهیان در میزان تولید آنزیم‌های گوارشی از جمله پروتئاز اثرگذار است (Kawai and Ikeda, 1972). افزودن آنزیم تریپسین گاوی در جیره غذایی لارو کپور معمولی موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های پروتئولیتیک گردید و این افزایش فعالیت آنزیمی در رشد لاروها بروز نمود. نتایج این مطالعه نیز نشان داد استفاده از آنزیم تولید شده از باسیلوس‌های پروبیوتیکی موجب ارتقاء ابقاء پروتئین در تیمارهای آزمایشی شد. همچنین چربی ابقاء شده در تیمارهای آزمایشی افزایش یافت. مطابق با این نتایج پورتز و لیورت (Portz and Liebert, 2004) در مطالعه‌ای با افزودن آنزیم فیتاز تولیدی از باکتری در جیره غذایی تیلاپیاهای جوان موجب کاهش ضریب تبدیل غذایی و همچنین افزایش کارآیی پروتئین گردید. همچنین در مطالعه‌ای دیگر تاندلر و کولکووسکی (Tandler and Kolkovski, 1992)، با افزودن آنزیم کربوهیدراز در جیره غذایی شانک دریایی موجب افزایش بهره‌وری غذایی و افزایش کارآیی جیره شد. بررسی فاکتور وضعیت و طول نهایی لاروها نشان داد بیشترین رشد طولی و کمترین نرخ فاکتور وضعیت در تیمار T۳ در مقایسه با سایر تیمارهای آزمایشی است. این رشد طولی احتمالاً عامل بالا بودن نسبت کارآیی ترکیبات مغذی از جمله پروتئین در تیمار T۲ در مقایسه با تیمار T۳ بود، هرچند اختلاف معنی‌داری بین آن‌ها مشاهده نشد. همچنین استفاده از آنزیم‌های تهیه شده می‌تواند موجب بالا رفتن جذب مواد معدنی شود که در افزایش طول و استخوان سازی مؤثر است. تغییرات فاکتور وضعیت در سایر تیمارهای آزمایشی، فاقد اختلاف معنی‌دار با یکدیگر و تیمار شاهد بود. نتایج مربوط به نرخ بقاء لاروها در طول دوره پرورش و تغذیه با جیره حاوی آنزیم باسیلوسی نشان داد که این مکمل‌سازی ارتقاء بقاء را موجب گردیده است. به‌طوری‌که تیمارهای آزمایشی بالاترین نرخ را داشتند و کمترین نرخ بقاء در تیمار شاهد مشاهده شد. افزایش آنزیم در دستگاه گوارش موجب ساده شدن ساختار ترکیبات غذایی مختلف در دستگاه گوارش است و در طی آن شرایط مساعد جهت افزایش فلور میکروبی مفید و کاهش پاتوژن‌ها بروز پیدا خواهد کرد. چراکه فعالیت آنزیمی در شرایط دستگاه گوارش تولید اسیدهای آلی از جمله

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-03-19]

لاکتیک را در پی دارد و این اسید در ساختار فلور میکروبی بیماری‌زا ورود پیدا کرده و باعث کاهش فلور آن‌ها خواهد شد (Sahandi, 2013). با این روند، علاوه بر افزایش کارآیی غذایی و افزایش رشد کاهش تلفات مشاهد شد. در تایید این نتایج گوش و همکاران (Ghosh *et al*., 2002) با استفاده از آنزیم آمیلاز میکروبی در جیره غذایی ماهی روهو به شکل مکمل‌سازی شاهد افزایش نرخ بقاء در تیمارهای آزمایشی در مقایسه با تیمار شاهد بود. همچنین گوش و همکاران (Ghosh *et al*., 2004) با استفاده از جیره دستکاری شده ماهی روهو به شکل تخمیر با باسیلوس‌های پروبیوتیکی، روند افزایش آنزیم‌های تولیدی را در جیره غذایی موجب شده و تغذیه ماهی روهو از آن جیره موجب افزایش بقاء گردید. در مورد استفاده از خود باسیلوس‌ها در جیره غذایی نیز افزایش بقاء در مطالعاتی همچون جعفریان (Jafaryan, 2006) سهندی و همکاران (Sahandi *et al*., 2012) مشاهده شد. با توجه به این نتایج و نتایج مطالعات مرتبط استفاده از آنزیم باسیلوسی در جیره غذایی لارو ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به‌عنوان شیوه‌ای نوین در صنعت آبزی‌پروری موجب ارتقاء رشد شده و همچنین موجب افزایش کارآیی غذایی در تیمارهای آزمایشی گردید. از دیگر مزایای استفاده از آنزیم‌های مکمل‌سازی شده در جیره این ماهی، افزایش بقاء بود که در جهت کاهش تلفات مؤثر واقع شد. نتایج این مطالعه می‌تواند به‌عنوان شیوه‌ای راهبردی در صنعت آبزی‌پروری کشور مورد استفاده قرار گیرد.

منابع

Ayoleke E.O., Greg I.P., Morenike A.A., Dominique P.B. 2006. Dietary incorporation of soybean meal and exogenous enzyme cocktail can affect physical characteristics of fecal material egested by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture, 254: 466-475.

Bairagi A., Sarkar-Ghosh K., Sen S.K., Ray A.K. 2004. Evaluation of nutritive value of *Leucaena leucocephala* leaf meal inoculated with fish intestinal bacteria *Bacillus subtilis* and *Bacillus circulans* in formulated diets for rohu, *Labeo rohita* (Hamilton) fingerlings. Aquaculture Research, 35: 436–446.

Cahill M.M. 1990. Bacterial flora of fishes: a review. Microbial Ecology, 19: 21-41.

Carter C.G., Houlihan D.F., Buchanan B., Mitchell A.I. 1994. Growth and feed utilization efficiencies of seawater Atlantic salmon, *Salmo salar* L., fed a diet containing supplementary enzymes. Aquaculture and Fishery Management, 25: 37-46.

Das K.M., Tripathi S.D. 1991. Studies on the digestive enzymes of grass carp, *Ctenopharyngodon idella* (Val.). Aquaculture, 92: 21-32.

De Silva S.S., Anderson T.A. 1995. Fish Nutrition in Aquaculture. Chapman & Hall, 2-6 Boundary Row, London SE1 8HN, UK, 318 p.

Douillet P.A., Langdon C.J. 1994. Use of a probiotic for the culture of larvae of the pacific oyster (*Crassostrea gigas*). Aquaculture. 119: 25-40.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-03-19]

Gatesoupe F.J., Ringo E. 1998. Lactic acid bacteria in fish: a review. Aquaculture, 199: 25-40.

Ghobadi Sh., MatinFar A., Nezami Sh.A., Soltani, M. 2009. Influence of supplementary enzymes Avizyme on fish meal replacement by soy bean meal and its effects on growth performance and survival rate of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Journal of Fisheries (Islamic Azad University, Azadshahr Branch, Iran), 2: 11-22. (In Persian).

Ghosh K., Chakraborty K., Sen S.K., Ray A.K. 2001. Effects of thermo stable bacterial α-amylase on growth and feed utilization in *rohu,labeo rohita* (Hamilton), fingerlings. Journal of Aquaculture-Bamidgeh, 53: 101-109.

Ghosh K., Sen S.K., Ray A.K. 2002. Growth and survival of Rohu, *Labeo rohita* (Hamilton) spawn fed diets supplemented with fish intestinal micro flora. Acta Icthyologica et Piscatorial, 32: 83-92.

Ghosh K., Sen S.K., Ray A.K. 2003. Supplementation of an isolated fish guts bacterium, *Bacillus circulance*, in formulated diets for rohu, *Labeo rohita* fingerling. Journal of Aquaculture- Bamidgeh, 55: 13-21.

Ghosh K., Sen S.K., Ray A.K. 2004. Growth and survival of rohu, *Labeo rohita* (Hamilton, 1822) spawn feed diets fermented with intestine bacterium, *Bacillus circulance*. Acta Ichthyologica et Piscatoria, 34(2): 155-165.

Helland S.J., Grisdale H.B., Nerland S. 1996. A simple method for the measurement of daily feed intake of groups of fish in tanks. Aquaculture, 139: 157-163.

Horsley R.W. 1977. A review of the bacterial flora of teleosts and elasmobranches, including methods for its analysis. Journal of Fish Biology, 10: 529-553.

Jafaryan H. 2006. The effect of Bacillus bacteria as the probiotic on growth, survival and intestinal enzymes in Persian Sturgeon larvae (*Acipenser persicus*) by enrichment with *Artemia urmiana.* Ph.D thesis, Faculty of Agriculture and Environmental Resources, Gorgan University, 103 p. (In Persian).

Jafaryan H., Soltani M., Taati M., Nazarpour A.R., Morrovat R. 2011. The comparison effects of isolated Bacillus bacteria from *Acipenser persicus* and *Huso huso* sturgeon fish with commercial proiotics on growth and survival of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) larvae. Journal Veterinary Research, 66(1): 39-46.

Kawai S., Ikeda S. 1972. Effect of dietary change on the activities of digestive enzymes in carp intestine. Bulletin of Japanese Society of Scientific Fisheries, 38: 265-270.

Mohammadi Azarm H., Abedian-Kenari A., Abtahi B. 2004. The effects of Protxin probiotic on growth and surviavl of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) larvae. Iranian Journal of Marine Science, 3(2,3): 69-75. (In Persian).

Portz L., Liebert F. 2004. Growth, nutrient utilization and parameters of mineral metabolism in Nile tilapia *Orechromis niloticus* (Linnaeus, 1758) fed plant

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-03-19]

based diets with graded levels of microbial phytase. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 88: 311-320.

Saha A.K., Ray A.K. 1998. Evaluation of *Chuni sp.*, a commercially available low-cost cattle fodder, in the diet for rohu, *Labeo rohita* (Hamilton), fingerlings. Aquaculture Research, 29: 761-768.

Saha S., Roy R.N., Kumar-Sen S., Ray A.K. 2006. Characterization of cellulase-producing bacteria from the digestive tract of tilapia, *Oreochromis mossambica* (Peters) and grass carp, *Ctenopharyngodon idella* (Valenciennes). Aquaculture Research, 37: 380-388.

Sahandi J. 2013. Effect of two probiotic, *Bifidobacterium animalis* and *Bifidobacterium lactis* in-feed on growth and digestibility of rainbow trout larvae (*Oncorhynchus mykiss*). M.Sc thesis, Faculty of Agriculture and Environmental Resources, Gonbad Kavous University, 109 p. (In Persian).

Sahandi J., Jafaryan H., RoozbehFar R., Babaei S., Dehestani M. 2012. The use of two enrichment forms (*Brachionus plicatilis* enrichment and rearing water enrichment) with probiotic bacilli spore on growth and survival of Silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*). Iranian Journal of Veterinary Research, 13: 289-295. (In Persian).

Sahandi J., Jafaryan H., Soltani M., Ebrahimi P. 2014. The use of probiotic bacteria, *Bifidobacterium animalis* and *Bifidobacterium lactis* on Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) larvae for improvement of growth performance and survival. Journal of Applied Ichtyological Research. (In Persian). (In Press).

Tandler A., Kolkovski S. 1992. Rates of ingestion and digestibility as limiting factors in the successful application of microdiets in gilthead seabream, *Sparus aurata*, Larvae. Journal of Aquaculture-Bamidgeh, 44: 128-129.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-03-19]

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-03-19]