دانشگاه گنبد کاووس
نشریه "پژوهش‌های ماهی شناسی کاربردی"
دوره پنجم، شماره چهارم، زمستان ۹۶
http://jair.gonbad.ac.ir

تاثیر پربیوتیک اینولین بر مقاومت در برابر استرس‌های محیطی (دما، شوری، اکسیژن و اسیدیته) و تراکم لاکتوباسیلوس‌های روده در ماهی زبرا دانیو *Danio rerio* (Hamilton, 1822)

مهدیه فدایی راینی*[۱]، طیبه عنایت غلام‌پور[۲] و احسان احمدی‌فر[۳]

[۱]مربی گروه احیا و بهره‌برداری مناطق خشک و بیابانی، مجتمع آموزش عالی سراوان، سراوان، ایران
[۲]استادیار گروه شیلات، دانشگاه پیام نور تهران، تهران، ایران
[۳]استادیار گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه زابل، زابل، ایران

تاریخ ارسال: ۹۵/۰۷/۰۴ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۰/۰۱

چکیده

تحقیق حاضر به‌منظور بررسی تأثیر مکمل غذایی اینولین بر مقاومت به استرس‌های محیطی (دما، شوری، اکسیژن و pH) و تراکم لاکتوباسیلوس روده در ماهی زبرا دانیو (*D. reri*) انجام گرفت. در این تحقیق یک جیره غذایی پایه به‌عنوان جیره شاهد (T_0) و سه جیره غذایی آزمایشی شامل سه سطح اینولین ۱ (T_1)، ۲ (T_2) و ۳ (T_3) گرم اینولین در هر کیلوگرم جیره غذایی در سه تکرار منظور شد و بچه ماهیان پس از شروع تغذیه فعال به مدت ۶۰ روز با جیره‌های آزمایشی تغذیه شدند. نتایج این تحقیق نشان داد ماهیان تغذیه شده با سطوح مختلف اینولین مقاومت بیشتری در برابر استرس‌های محیطی نسبت به تیمار شاهد داشتند و ماهیان تغذیه شده با جیره‌های T2 و T3، به‌طور معنی‌داری بیشترین مقاومت را نسبت به استرس اسیدیته در مقایسه با سایر تیمارها نشان دادند. در بین تیمارهای آزمایشی، مقاومت ماهیان در مواجهه با استرس شوری تفاوت معنی‌دار وجود داشت به‌طوریکه درصد بازماندگی و مقاومت نسبت به استرس شوری در ماهیان تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی به‌طور معنی‌داری بالاتر از تیمار شاهد بود و ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی ۳ گرم اینولین در هر کیلوگرم جیره غذایی، به‌طور معنی‌داری بیشترین مقاومت را نسبت به سایر تیمارها نشان داد. درصد بازماندگی و مقاومت نسبت به استرس دما بین تیمار شاهد و تیمارهای آزمایشی تفاوت معنی‌دار وجود

*نویسنده مسئول: fadaimahdiye@yahoo.com

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-05-13]

نداشت. در آزمایش خروج از آب، حداقل بازماندگی و مدت زنده‌مانی در تیمار شاهد (T0) مشاهده شد و در تیمار T_2 و T_3 اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشت و در تیمار T_3، تلفاتی مشاهده نشد. بر طبق نتایج بدست آمده، تعداد باکتری‌های لاکتوباسیلوس در تیمارهای تغذیه شده با سطوح مختلف اینولین با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نداشتند ولیکن با تیمار شاهد اختلاف معنی‌دار بود. در مجموع تحقیق حاضر استفاده از جیره غذایی حاوی ۳ گرم اینولین را در جیره غذایی ماهی زبرا دانیو جهت دستیابی به مقاومت بالا در برابر استرس‌های محیطی و بهبود فلور روده پیشنهاد می‌نماید.

***واژه‌های کلیدی*: *D. reri*، استرس‌های محیطی، لاکتوباسیلوس روده، پربیوتیک اینولین**

مقدمه

در سال‌های اخیر مفهومی از استرس که درباره ماهی‌ها به‌کار رفته، در بین دانشمندانی که تحقیقات خود را به بررسی تأثیرات محیط بر سلامت اختصاص داده‌اند، طرفداران زیادی یافته است (Barreto and Volpato, 2006). در تعریف استرس در بین محققان اختلاف نظر وجود دارد اما یکی از پذیرفته شده‌ترین آن‌ها استرس را عوامل فیزیکی و یا شیمیایی که سبب واکنش بدن شده و منجر به سازگاری، بیماری و یا مرگ گردد، تعریف کرده است (Martinez-Porchas *et al.,* 2009). پاسخ به استرس در ماهی با تحریک هیپوتالاموس آغاز شده و منجر به فعالیت سیستم نورواندوکرینی به و به راه افتادن یک آبشار متابولیکی پی در پی و تغییرات فیزیولوژیکی می‌گردد (Rouhani-Rankouhi *et al.,* 2002). استرس‌ها ممکن است شیمیایی (تغییرات پارامترهای بیوشیمیایی آب)، فیزیکی (دستکاری، ضربه، تغییرات نور محیط، حمل و جابجایی) یا بیولوژیک باشند. بسیاری از محققین معتقدند که جیره‌های غذایی که سبب رشد و بقاء بالاتر می‌شوند منجر به افزایش مقاومت موجود در برابر آزمایش‌های استرس نیز خواهد شد (Sodagar *et al.,* 2007). مقاومت آبزیان در برابر استرس‌های محیطی تحت تأثیر عواملی مانند میزان شوری، عوامل محیطی، گونه، دستکاری، اندازه، سن، مراحل مختلف زیستی و شرایط تغذیه‌ای قرار دارد (Clarke, 1982). ماهی زبرا دانیو (*D. rerio*) مکرراً به منظور اهداف مختلف آزمایشی مورد استفاده قرار گرفته است. این ماهی از خانواده کپور ماهیان (Cyprinidae) است که یکی از پر جمعیت‌ترین و بزرگترین خانواده‌ها در بین ماهیان می‌باشند که این امر علت ضرورت تحقیق در خصوص تعیین بهترین جیره غذایی در جهت افزایش مقاومت این ماهیان در برابر استرس‌های محیطی را بیش از پیش آشکار می‌سازد. در حال حاضر چالش عمده در آبزی پروری تجاری، بهبود جیره غذایی فرموله شده برای بهینه سازی رشد و ارتقاء سلامت ماهیان می‌باشد. استفاده از مکمل‌های غذایی که در بالا بردن سیستم ایمنی نقش دارند همراه با ایده استفاده از ارگانیزم‌های پروبیوتیک (Probiotic) به‌منظور بهبود فلور میکروبی روده و نقش بالقوه آن‌ها در ممانعت

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-05-13]

از تجمع (کلنی شدن) باکتری‌های بیماریزا در روده ماهی‌ها و نرمتنان مورد توجه قرار گرفته است و نتایج امیدوار کننده‌ای هم حاصل شده است (Akrami *et al.,* 2007). با این حال سویه‌های پروبیوتیکی فقط طی تیمارهای تغذیه‌ای در دستگاه گوارش غالب هستند و بعید به‌نظر می‌رسد که افزودن یک سویه پروبیوتیک با منشأ خارج از دستگاه گوارش در طولانی مدت در روده تجمع یابد به خصوص زمانی که سویه‌های مورد استفاده متعلق به میکروبیوتای غالب روده نباشند (Mahious *et al.,* 2005; Mahious *et al.,* 2007). بنابراین اتخاذ راهکارهای جدید برای ایجاد بهبود فلور میکروبی در دستگاه گوارش ماهی بسیار ضروری به‌نظر می‌رسد (Mahious *et al.,* 2005; Mahious *et al.,* 2007). بدین ترتیب در سال‌های اخیر تحقیقات فراوانی در توسعه استفاده از مکمل‌های غذایی که در بالابردن سلامتی موجود نقش دارند، صورت گرفته است. از جمله این مکمل‌ها پربیوتیک‌ها می‌باشند که اثرات فراوان آن‌ها در موجودات خشکی‌زی ثابت گردیده است و در آبزیان نیز احتمالاً این پتانسیل را خواهد داشت.

ایده به‌کارگیری پربیوتیک اینولین در آبزی‌پروری از آنجا ناشی شده که اینولین بصورت گزینشی توسط لاکتوباسیلوس‌ها (*Lactobacillus* spp.)، بیفیدوباکترها (*Bifidobacteria* spp.)، باسیلوس‌ها و باکتروئیدها (Bacteroides) که جزو باکتری‌های غالب فلور دستگاه گوارش هستند، تخمیر شده و سبب تحریک رشد این باکتری‌های مفید در روده انسان شده و اثرات سودمندی بر سلامتی میزبان می‌گذارند (Mahious *et al.*, 2005). در واقع پربیوتیک‌ها عناصر غذایی (کربوهیدرات‌های) غیر قابل هضمی هستند که از طریق تحریک رشد یا فعال کردن یک یا تعداد محدودی از گونه‌های باکتریایی که در روده وجود دارند، اثرات سودمندی بر میزبان داشته و سلامتی آن را بهبود می‌بخشد (Gibson and Roberfroid, 1995). تولید اسید چرب زنجیره کوتاه، نظیر استات (Acetate)، پروپیونات (Propionate)، بوتیرات (Butyrate) و اسید لاکتیک ناشی از تخمیر پربیوتیک‌ها در روده منجر به کاهش pH محیط داخلی روده می‌شود که شرایط مطلوبی را برای رشد باکتری‌های اسیدلاکتیک فراهم می‌نماید. باکتری‌های اسیدلاکتیک و گیرنده‌های دیواره روده با عوامل بیماریزا رقابت می‌کنند و افزایش تعداد آن‌ها برای جذب مواد مغذی باعث افزایش رشد و حفظ جاندار در برابر عوامل بیماریزا و استرس‌های محیطی (از قبیل درجه حرارت، اکسیژن، شوری، pH و فلزات سنگین و انواع آلاینده‌ها) می‌گردد (Schley and Field, 2002). چنین اطلاعاتی در خصوص تأثیر پربیوتیک‌ها روی موجودات آبزی بسیار محدود می‌باشد. اینولین یکی از مهمترین پربیوتیک‌های مورد استفاده در تحقیقات آبزی‌پروری می‌باشد. در خصوص تاثیر پربیوتیک‌ها بر افزایش مقاومت ماهیان در مواجهه با استرس‌های محیطی مطالعات اندکی انجام شده است. به‌عنوان مثال ابراهیم و همکاران (Ibrahem *et al.,* 2010) تاثیر اینولین را بر ایمنی داخلی و مقاومت در برابر عامل بیماریزا در ماهی تیلاپیای نیل

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-05-13]

(*Oreochromis niloticus*)، بهبود سیستم ایمنی را در این ماهی مشاهده نمودند. رهنما و همکاران (Rahnama *et al.*, 2013) به بررسی تاثیر اینولین بر مقاومت در برابر استرس‌های محیطی در ماهی قرمز (*Carassius auratus*) پرداختند و افزایش مقاومت این ماهی در برابر استرس‌های محیطی (دما، شوری و pH) را مشاهده نمودند. در تحقیقی دیگر تاثیر اینولین بر باکتری‌های دستگاه گوارش ماهی سی بریم (*Lates calcarifer*) بررسی شد و تأثیر مثبت این پربیوتیک بر فلور باکتریایی مشاهده شد (Syed Raffic Ali *et al*., 2016). از این رو تحقیق حاضر به‌منظور بررسی تأثیر پربیوتیک اینولین بر مقاومت در برابر استرس‌های محیطی (درجه حرارت، اکسیژن، شوری و pH) و بهبود فلور روده در ماهی زبرا دانیو به‌عنوان ماهی مدل طراحی شده است.

مواد و روش‌ها

آماده سازی محیط پرورش و نحوه ساخت جیره‌های آزمایشی: تحقیق حاضر در قالب ۴ تیمار با دوزهای ۰، ۱، ۲ و ۳ گرم اینولین در هر کیلوگرم جیره غذایی (آنالیز جیره غذایی؛ پروتئین: ۵۲/۴۵ درصد، چربی: ۱۸/۴۴ درصد، خاکستر: ۱۱/۳۵ درصد، رطوبت: ۸/۱۲ درصد، فیبر: ۰/۵ درصد، انرژی: ۴۵۹۸/۵۶ کالری در گرم) با ۳ تکرار انجام گرفت. بدین منظور ۶۰ عدد لارو از مرکز پرورش ماهیان تزئینی استان گلستان، در هر آکواریوم (با ابعاد ۷۰×۴۰×۳۰ سانتی‌متر) به‌طور تصادفی قرار داده شد. جهت شروع انجام آزمایش از لاروهای ۱۵ روزه استفاده گردید و ماهیان به‌مدت ۶۰ روز با جیره‌های آزمایشی تغذیه شدند. جهت ساخت جیره‌های غذایی آزمایشی، پربیوتیک اینولین در مقادیر ذکر شده در حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر آب و ۴ گرم ژلاتین که در آن حل شده بود، اضافه گردید و روی جیره‌های غذایی اسپری شد و سپس تا زمان خشک شدن جیره غذایی در معرض هوای آزاد قرار گرفت و در کیسه‌های پلاستیکی در یخچال نگهداری شد. تمام مراحل ساخت غذا در مورد جیره گروه شاهد نیز انجام شد و فقط اینولین به غذای گروه شاهد اضافه نگردید. در هر کدام از آکواریوم‌ها یک بخاری (۲۰۰ وات) جهت کنترل دمای آب نصب گردید. در طول دوره آزمایش خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آب به‌صورت روزانه اندازه‌گیری شد. میانگین این شاخص‌ها در جدول ۱ نشان داده شده است. طی ۳۰ روز اول آزمایش، بچه‌ماهیان با جیره‌های آزمایشی به‌میزان ۱۰ درصد وزن بدن تغذیه شدند. باتوجه به این نکته که با افزایش اندازه بچه‌ماهیان میزان نیاز آن‌ها به غذا به ازای درصد وزن بدن کاهش می‌یابد، در طول ۳۰ روز آخر آزمایش میزان غذادهی به ۷ درصد کاهش یافت. تغذیه ماهیان به‌صورت دستی و روزانه ۳ بار با جیره‌های آزمایشی و یک وعده غذای زنده و به میزان ۱۰-۷ درصد وزن بدن در کل دوره پرورش متغیر بود. جهت حفظ کیفیت آب، ۴۰ درصد حجم آب آکواریوم هر ۲ روز یک‌بار تعویض گردید.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-05-13]

جدول ۱- میانگین خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آب آکواریوم‌ها در طول دوره آزمایش

pH	اکسیژن محلول (mg/l)	نیتریت (mg/l)	سختی کل (mg/l)	دما (°C)
۸±۰/۳	۴/۴±۰/۲	۱/۶۲±۰/۱	۲۰۵±۵/۳	۲۴±۰/۵

نحوه انجام آزمایش‌های استرس: پس از ۶۰ روز تغذیه ماهیان با جیره‌های غذایی حاوی سطوح مختلف اینولین، به‌منظور تعیین میزان مقاومت آن‌ها در برابر استرس، ۱۲ ساعت قبل از انجام آزمایش غذادهی ماهیان قطع شد. ماهیان هر تیمار در سه تکرار در معرض آزمایش‌های استرس دمای بالا (۴۰ درجه سانتی‌گراد)، شوری بالا، خروج از آب (Aerial exposure)، pH بالا (استرس قلیایی) و pH پایین (استرس اسیدی) قرار گرفتند. لازم به ذکر می‌باشد که در این آزمایش، ماهیان به یکباره در معرض استرس قرار گرفتند و زمانی‌که آخرین ماهی به‌طور کامل در شرایط مذکور تلف شد، ثبت گردید (Rahnama *et al.,* 2013).

جهت انجام تست شوری، نمک دریا به آب اضافه گردید و این کار تا رسانیدن شوری آب به ۴۰ میلی‌گرم در لیتر ادامه یافت. از هر تکرار ۱۰ قطعه بچه‌ماهی به‌طور همزمان در تانک آزمایش رهاسازی شد و مدت زمان زنده‌مانی آن‌ها مورد بررسی قرار گرفت (Jafarian *et al.,* 2010). برای انجام تست استرس pH پایین، با استفاده از اسیدکلریدریک ۳۷ درصد، pH آب به ۲ رسانده شد و در آزمایش pH بالا آب با استفاده از کریستال‌های سود (NaOH)، pH آب به ۱۲ رسانده شد. از هر تیمار ۱۰ قطعه بچه‌ماهی به‌طور همزمان در تانک آزمایش رها سازی شد و مدت زمان زنده‌مانی آن‌ها مورد بررسی قرار گرفت (Jafarian *et al.,* 2010).

برای بررسی اثرات استرس خروج از آب (Aerial exposure) تعداد ۱۰ عدد ماهی از هر تیمار به‌طور تصادفی توسط ساچوک صید و به‌مدت‌های ۳ و ۶ دقیقه خارج از آب در شرایط فاقد اکسیژن محلول نگه‌داشته شدند و سپس مجدداً به داخل تانک‌های پرورشی با آب جاری منتقل‌گردیدند. رفتار شنای ماهیان و تلفات تا ۱۲ ساعت مشاهده و ثبت شد، تا تلفات ماهی‌ها و در نتیجه میزان مقاومت آن‌ها در هر گروه نسبت به استرس کمبود اکسیژن مورد بررسی قرار گیرد (Azari Takami, 2008).

جهت انجام تست دما، از هر تیمار تعداد ۱۰ عدد ماهی در تانک‌های آزمایشی که قبلاً دمای آب آن‌ها به وسیله بخاری برقی به ۴۰ درجه سانتیگراد رسیده بود، قرار داده شد و تلفات آن‌ها تا ۲۴ ساعت مشاهده و ثبت گردید (Azari Takami, 2008).

اندازه‌گیری لاکتوباسیلوس های روده: در پایان دوره آزمایش، از هر آکواریوم ۱۰ عدد ماهی به‌طور تصادفی انتخاب شده و محتویات روده (موکوس، مدفوع و پرزهای روده) با استفاده از سرم فیزیولوژی توسط هموژنایزر هموژن شد و سپس کشت باکتریایی تهیه گردید. تعداد باکتری‌های لاکتوباسیلوس (بر

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-05-13]

حسب واحد تشکیل کلنی در هر گرم دستگاه گوارش (CFU/g) با استفاده از محیط کشت MRS Agar (شرکت QUELAB) در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۶-۲۴ ساعت براساس روش ضیایی‌نـژاد و همکاران (Ziaei Nejad *et al.*, 2006) سنجیده شد.

آنالیز آماری داده‌ها: در ابتدا توزیع نرمال داده‌ها به‌وسیله آزمون شاپیرو-ویلک (Shapiro-Wilk) بررسی شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها از طریق آزمون تجزیه واریانس یکطرفه (One –way analysis of variance, ANOVA) و مقایسه میانگین بین تیمارها بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن (Duncans multiple-range test) انجام شد. وجود یا عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد با استفاده از نرم‌افزار SPSS-19 انجام گردید.

نتایج

تست اسیدی (pH=۲): نتایج حاصل از تست اسیدی نشان داد که در ماهیان تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی درصد بازماندگی و مقاومت نسبت به استرس اسیدی به‌طور معنی‌داری بالاتر از تیمار شاهد بود ($p<0.05$) و ماهیان تغذیه شده با جیره‌های T_2 و T_3، به‌طور معنی‌داری بیشترین مقاومت را نسبت به سایر تیمارها نشان دادند ($p<0.05$)(جدول ۲).

جدول ۲- مدت زمان‌زنده‌مانی ماهیان زبرا دانیو (*D. rerio*) در مقابله با استرس pH اسیدی پس از ۶۰ روز تغذیه با جیره حاوی پربیوتیک اینولین

منابع	شاهد	جیره حاوی ۱ گرم	جیره حاوی ۲ گرم	جیره حاوی ۳ گرم
تغییر	(T_0)	اینولین (T_1)	اینولین (T_2)	اینولین (T_3)
ثانیه	۱۲۸۷/۴±۲۴۲/۳[b]	۱۲۸۵/۳±۱۸۶/۷ [b]	۱۴۰۲/۶±۲۳۱/۳[a]	۱۵۲۶/۱±۲۴۳/۵ [a]

داده‌ها به‌صورت میانگین±انحراف معیار بیان شده‌انـد. اعداد دارای حروف غیر مشابه در هـر ردیـف، دارای اختلاف معنی‌دار هستند ($p<0.05$).

تست قلیایی (pH=۱۲): طبق نتایج بدست آمده (جدول ۳)، بین تیمارهای آزمایشی در رابطه با مقاومت ماهیان در مواجهه با استرس قلیاییت تفاوت معنی‌دار وجود داشت ($p<0.05$). به‌طوری‌که در ماهیان تغذیه‌شده با جیره‌های آزمایشی درصد بازماندگی و مقاومت نسبت به استرس قلیایی به‌طور معنی‌داری بالاتر از تیمار شاهد بود ($p<0.05$) و ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی ۳ گرم اینولین در هر کیلوگرم جیره غذایی، به‌طور معنی‌داری بیشترین مقاومت را نسبت به سایر تیمارها نشان داد ($p<0.05$).

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-05-13]

جدول ۳- مدت زمان زنده‌مانی ماهیان زبرا دانیو (*D. rerio*) در مقابله با استرس pH قلیایی پس از ۶۰ روز تغذیه با جیره حاوی پربیوتیک اینولین

منابع تغییر	شاهد (T_0)	جیره حاوی ۱ گرم اینولین (T_1)	جیره حاوی ۲ گرم اینولین (T_2)	جیره حاوی ۳ گرم اینولین (T_3)
ثانیه	۳۷۲/۳±۱۴/۳ [a]	۵۶۱/۱±۱۰/۱ [b]	۵۸۶/۵±۲۴/۲ [c]	۶۱۶/۲±۲۸/۵ [d]

داده‌ها به‌صورت میانگین±انحراف معیار بیان شده‌اند. اعداد دارای حروف غیر مشابه در هر ردیف، دارای اختلاف معنی‌دار هستند ($p<0.05$).

تست شوری (۴۰ گرم در لیتر): طبق نتایج بدست آمده (جدول ۴)، بین تیمارهای آزمایشی در رابطه با مقاومت ماهیان در مواجهه با استرس شوری تفاوت معنی‌دار وجود داشت ($p<0.05$). به‌طوری‌که درصد بازماندگی و مقاومت نسبت به استرس شوری در ماهیان تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی به‌طور معنی‌داری بالاتر از تیمار شاهد بود ($p<0.05$) و ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی ۳ گرم اینولین در هر کیلوگرم جیره غذایی، به‌طور معنی‌داری بیشترین مقاومت را نسبت به سایر تیمارها نشان داد ($p<0.05$).

جدول ۴- مدت زمان زنده‌مانی ماهیان زبرا دانیو (*D. rerio*) در مقابله با استرس شوری پس از ۶۰ روز تغذیه با جیره حاوی پربیوتیک اینولین

منابع تغییر	شاهد (T_0)	جیره حاوی ۱ گرم اینولین (T_1)	جیره حاوی ۲ گرم اینولین (T_2)	جیره حاوی ۳ گرم اینولین (T_3)
ثانیه	۳۱۵۱/۷±۱۱۹/۲۵ [c]	۳۳۵۹/۸±۱۲۸/۲۸ [b]	۳۳۲۴/۷±۱۵۶/۳۲ [b]	۳۸۲۲/۲±۱۴۲/۵ [a]

داده‌ها به‌صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده‌اند. اعداد دارای حروف غیر مشابه در هر ردیف، دارای اختلاف معنی‌دار هستند ($p<0.05$).

تست دما (۴۰ درجه سانتی‌گراد): طبق نتایج بدست آمده (جدول ۵)، درصد بازماندگی و مقاومت نسبت به استرس دما در ماهیان تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی بالاتر از تیمار شاهد بود اما بین تیمار شاهد و تیمارهای آزمایشی تفاوت معنی‌دار وجود نداشت ($p>0.05$).

جدول ۵- مدت زمان زنده‌مانی ماهیان زبرا دانیو (*D. rerio*) در مقابله با استرس دما پس از ۶۰ روز تغذیه با جیره حاوی پربیوتیک اینولین

منابع تغییر	شاهد (T0)	جیره حاوی ۱ گرم اینولین (T_1)	جیره حاوی ۲ گرم اینولین (T_2)	جیره حاوی ۳ گرم اینولین (T_3)
درصد بازماندگی	۹۹/۷/±۸/۲۵ [a]	۱۰۰±۷/۲۸ [a]	۱۰۰±۷/۳۲ [a]	۱۰۰±۷/۵ [a]

داده‌ها به‌صورت میانگین±انحراف معیار بیان شده‌اند. اعداد دارای حروف غیر مشابه در هر ردیف، دارای اختلاف معنی‌دار هستند ($p<0.05$).

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-05-13]

تست خروج از آب (Aerial exposure): ماهیان مورد آزمایش در تمامی تیمارها در برابر کمبود اکسیژن به‌مدت ۳ دقیقه مقاوم بودند و پس از این‌که به داخل تانک با آب جاری برگردانده شدند، تلفاتی مشاهده نشد ولی نگه‌داشتن آن‌ها به‌مدت ۶ دقیقه بیرون از آب باعث شد تعدادی از ماهی‌ها تلف شوند. حداقل بازماندگی و مدت زنده‌مانی در تیمار شاهد (T_0) مشاهده شد که به‌طور معنی‌داری از تیمارهای آزمایشی کمتر بود ($p<0.05$). بازماندگی و مدت زنده‌مانی در تیمار T_2 و T_3 اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشت و در تیمار T_3 (حاوی ۳ گرم اینولین)، تلفاتی مشاهده نشد ($P<0.05$) (جدول ۶).

جدول ۶- درصد بازماندگی و درصد زنده‌مانی ماهیان زبرا دانیو (*D. rerio*) در مقابله با استرس خروج از آب پس از ۶۰ روز تغذیه با جیره حاوی پربیوتیک اینولین

منابع تغییر	شاهد (T_0)	جیره حاوی ۱ گرم اینولین (T_1)	جیره حاوی ۲ گرم اینولین (T_2)	جیره حاوی ۳ گرم اینولین (T_3)
درصد بازماندگی	۶۹/۸/±۳/۲۵^{c}	۸۴/۲±۲/۲۸ ^{b}	۹۶/۲±۳/۳۲^{a}	۱۰۰±۰ ^{a}
مدت زنده‌مانی (ثانیه)	۶۸/۳±۷/۴^{c}	۹۲/۱±۸/۳^{b}	۱۳۰/۵±۱۰/۲^{a}	۱۳۸/۳±۱۱/۲^{a}

داده‌ها به‌صورت میانگین±انحراف معیار بیان شده‌اند. اعداد دارای حروف غیر مشابه در هر ردیف، دارای اختلاف معنی‌دار هستند ($p<0.05$).

بررسی باکتریایی: نتایج بررسی باکتریایی نشان داد که تعداد باکتری‌های لاکتوباسیلوس در تیمارهای تغذیه شده با سطوح مختلف اینولین با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نداشتند ($p>0.05$) ولیکن با تیمار شاهد اختلاف معنی‌دار بود ($p<0.05$)(جدول ۷).

جدول ۷- تعداد باکتری‌های لاکتوباسیلوس در روده ماهیان زبرا دانیو (*D. rerio*) تغذیه شده با جیره حاوی پربیوتیک اینولین

منابع تغییر	شاهد (T_0)	جیره حاوی ۱ گرم اینولین (T_1)	جیره حاوی ۲ گرم اینولین (T_2)	جیره حاوی ۳ گرم اینولین (T_3)
CFU/g	(۴/۰۴/±۰/۳)×۱۰^{۳} ^{b}	(۴/۸±۰/۵)×۱۰^{۴} ^{a}	(۵/۱±۰/۶)×۱۰^{۴} ^{a}	(۴/۹±۰/۵)×۱۰^{۴} ^{a}

داده‌ها به‌صورت میانگین±انحراف معیار بیان شده‌اند. اعداد دارای حروف غیر مشابه در هر ردیف، دارای اختلاف معنی‌دار هستند ($p<0.05$).

بحث و نتیجه‌گیری

در پژوهش انجام شده سعی بر آن بود تا پاسخ‌های فیزیولوژیکی ماهی زبرا دانیو در مواجهه با استرس‌های مختلف محیطی و همچنین تراکم باسیلوس‌های روده‌ای در تغذیه با سطوح مختلف

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-05-13]

پربیوتیک اینولین در شرایط آزمایشگاهی سنجیده شود. نتایج تحقیق حاضر نشان داد پربیوتیک اینولین سبب افزایش مقاومت ماهی زبرا دانیو در مواجهه با استرس خروج از آب، شوری و pH گردید. به‌طوریکه ماهیان تغذیه شده با جیره‌های غذایی آزمایشی نسبت به تیمار شاهد در مواجهه با استرس‌های مذکور مقاومت بیشتری را نشان دادند که با نتایج رهنما و همکاران (Rahnama *et al.,* 2013) همخوانی دارد. این محققین نیز بیان داشتند که استفاده از پربیوتیک اینولین سبب افزایش مقاومت ماهی قرمز (*Carasius auratus*) در برابر استرس‌های محیطی از قبیل استرس دمایی، شوری و pH می‌گردد. همچنین در تحقیقی دیگر بیان شد استفاده از پربیوتیک اینولین به‌عنوان محرک ایمنی تأثیر مثبتی در تحریک سیستم ایمنی و افزایش بقاء دارد (Sheikheslmi Amiri *et al.,* 2007). فرحی و سوداگر (Farahi and Sodagar, 2015) مشاهده نمودند که استفاده از پربیوتیک ایمونوژن در جیره غذایی ماهی انجل (*Pterophyllum scalare*) تاثیری بر مقاومت لاروها به تنش حرارتی ندارد که با نتایج تحقیق حاضر همخوانی نداشت.

شرایط استرس‌زا باعث به‌خطر افتادن سیستم ایمنی در آبزی می‌شود. یکی از معمول‌ترین روش‌های درمان عفونت‌ها، درمان توسط آنتی بیوتیک‌ها می‌باشد (Burr *et al.,* 2006). اما استفاده از این مواد در مدیریت بیماری‌های آبزیان پرورشی، به‌طور گسترده مورد انتقاد قرار گرفته است که دلایل آن افزایش پتانسیل مقاومت باکتری‌ها در برابر آنتی بیوتیک‌ها، از بین بردن فلور میکروبی محیط زیست، هزینه بالا و عوارض جانبی این داروها بر موجودات آبزی می‌باشد. افزایش نگرانی‌های ناشی از استفاده آنتی‌بیوتیک‌ها منجر به محدودیت استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در صنعت آبزی‌پروری در آمریکا و اروپا گردیده است (Burr *et al.,* 2006). این تغییر سیاست احتمالاً برای این صنعت مفید بوده چرا که سبب گردیده توجه محققین به سمت راه‌کارهای مختلف در جهت کنترل بیماری‌ها معطوف شود.

نتایج تحقیق حاضر نشان داد استفاده از پربیوتیک اینولین در جیره غذایی از طریق ارتقاء کیفیت میکروفلور سبب افزایش تراکم لاکتوباسیلوس روده گردید که با نتایج تحقیق ماهیوس و همکاران (Mahious *et al.,* 2005) در مورد تاس ماهی سیبری (*Acipenser baeri*) و گربه ماهی افریقایی (*Clarias gariepinus*)، رهنما و همکاران (Rahnama *et al.,* 2013) در مورد ماهی قرمز همخوانی دارد اما در مغایرت با نتایج کرزولا و همکاران (Cerezuela *et al.,* 2008) می‌باشد. زیرا این محققین بیان نمودند که بکارگیری پربیوتیک اینولین در ماهی سیم دریایی (*Sparus aurata*) در شرایط in vitro و in vivo سبب تقویت فلور باکتریایی روده نگردید و از این رو محرک ایمنی مناسبی برای این ماهی نیست.

استفاده از مکمل‌های غذایی پربیوتیکی در جیره آبزیان پرورشی منجر به کاهش فعالیت باکتری‌های نامطلوب و بهینه‌سازی تعادل جمعیت میکروبی دستگاه گوارش شده و تاثیر

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-05-13]

مطلوبی بر رشد و بقاء آن‌ها ایجاد می‌نماید (Akrami *et al.,* 2007). افزایش تعداد لاکتوباسیلوس‌ها در روده از طریق به‌کارگیری موادی که خاصیت پربیوتیکی دارند، اثرات سودمندی را به دنبال خواهند داشت (Pooramini and Hosseinifar, 2006). ضیایی‌نژاد و همکاران (Ziaei Nejad *et al.,* 2014) تأثیر پربیوتیک تجاری بایونیک یست سل وال (Bionic yeast Cellwal prebiotic) را بر تراکم لاکتوباسیلوس روده ماهیان انگشت‌قد قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) بررسی نمودند و مشاهده کردند که استفاده از این پربیوتیک تعداد باکتری‌های لاکتوباسیلوس روده را بطور معنی افزایش داد که با نتایج تحقیق حاضر همخوانی دارد. به‌طوری‌که در تحقیق حاضر، حضور پربیوتیک اینولین منجر به افزایش قابل توجه لاکتوباسیلوس‌ها در دستگاه گوارش بچه‌ماهیان زبرا در تیمارهای آزمایشی شد. این امر نشان می‌دهد لاکتوباسیلوس‌های موجود در روده توانسته‌اند از پربیوتیک اینولین موجود در جیره استفاده کرده و تعداد خود را در دستگاه گوارش افزایش دهند و از این طریق سبب افزایش مقاومت ماهیان در برابر تغییرات محیطی شوند. نتایج تحقیق استایکف و همکاران (Staykov *et al.,* 2007) نشان داد افزودن مانان الیگوساکارید به‌عنوان پربیوتیک سبب افزایش مقاومت ماهیان می‌گردد. عقیده کلی بر این است که پربیوتیک‌ها از طریق بهبود فلور باکتریایی روده، اثرات زیان‌بار عوامل عفونت‌زا را کاهش و میزان بازماندگی در مواجهه با عوامل بیماری‌زا را افزایش می‌دهند (Schley and Field, 2002). بالا بودن مقاومت ماهیان تغذیه شده با جیره‌های حاوی پربیوتیک اینولین در مواجهه با استرس‌های محیطی در تحقیق حاضر را می‌توان احتمالاً ناشی از تاثیر آن بر افزایش سیستم ایمنی بدن و تقویت میکروفلور روده به سمت باکتری‌های مفید از جمله لاکتوباسیل‌ها دانست که نتایج حاصل از بررسی جمعیت لاکتوباسیل‌های روده در تیمارهای پربیوتیکی این مسأله را کاملا اثبات می‌کند.

در مجموع اختلاف موجود در نتایج این تحقیق با نتایج دیگر محققین را شاید بتوان به نوع گونه پرورشی، اندازه، سن، گونه پرورشی، مرحله تولید، طول دوره آداپتاسیون و پرورش، شرایط بهداشتی محیط و سیستم پرورشی، رفتارهای تغذیه‌ای، خصوصیات فیزیولوژیک، نوع مواد اولیه بکار رفته در تهیه جیره و کمیت و کیفیت آن‌ها، فرمولاسیون جیره‌های غذایی، نوع پربیوتیک مصرفی، درجه خلوص آن و میزان مورد استفاده آن در جیره، روش‌های مختلف اضافه کردن اینولین به جیره و احتمالاً فلور میکروبی ویژه‌ای که قادر به استفاده از اینولین به‌عنوان سوبسترا هستند، مربوط دانست. به‌طورکلی برطبق نتایج تحقیق حاضر، استفاده از جیره غذایی حاوی ۳ گرم اینولین در هر کیلوگرم جیره غذایی جهت دستیابی به مقاومت بالا در برابر استرس‌های محیطی، بهبود لاکتوباسیلوس‌های روده در ماهی زبرا دانیو به‌عنوان ماهی مدل از خانواده کپور ماهیان پیشنهاد می‌گردد.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-05-13]

تشکر و قدردانی

این پژوهش با استفاده از اعتبارات مجتمع آموزش عالی سراوان انجام گردیده است.

منابع

Akrami R., Ghlichi A., Ebrahimi A. 2007. Effect of prebiotic inulin on the growth and survival of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Proceedings of the First National Conference on Fisheries and Aquaculture Sciences in Iran. pp: 10-12.

Azari Takami Gh. 2008. Propagation and breeding of Sturgeon. Tehran University Press. 401P.

Barreto R.E., Volpato G.L. 2006. Stress responses of the fish Nile tilapia subjected to electroshock and social stressors. Brazilian Journal of Medical and Biological Research, 39: 1605-612.

Burr G., Gatlin D., Ricke S. 2006. Microbial Ecology of the Gastro intestinal tract of Fish and the potential Application of prebiotics and probiotics in Finfish Aquaculture. Journal of the World Aquaculture Society, 36(4): 425-437.

Cerezuela R., Cuesta A., Meseguer J., Esteban A. 2008. Effect of inulin on Gilthead seabream (*Sparus aurata*) innate immune parameters. Aquaculture, 24: 663-668.

Clarke W. 1982. Evaluation of the seawater challenge test as an index of marine survival. Aquaculture, 28: 177-183.

Farahi A., Sodagar M. 2015. Effects of different levels of dietary prebiotic Immunogen on reproductive performance of angelfish (*Pterophyllum scalare*) breeders and larval survival resulting in a sudden increase of temperature stress. Ornamental Fish, 2(1): 1-9.

Gibson G.R., Roberfroid M.B. 1995. Dietary modulation of the colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. Journal of Nutrition, 125: 1401-1412.

Ibrahem M.A., Fathi M., Mesalhy S., Abd El-Aty A.M. 2010. Effect of dietary supplementation of Inulin and vitamin C on growth, hematology, innate immunity and resistance of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). Fish and Shelfish Immunology, 29: 241-246.

Jafarian H., Soltani M., Taati M., Nazar Poor A., Morovat R. 2010. The effect of intestinal lactobacilli extracted from sturgeon *Acipencer persicus* and *Huso huso* with commercial probiotics on the growth and survival of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Journal of Veterinary Research, 66 (1): 48-39.

Mahious A.S., Gatesoupe F.J., Hervi M., Metailler R., Ollevier F. 2005. Effect of dietary inulin and oligosaccharides as prebiotics for weaning turbot, *Psetta maxima* (Linnaeus, C. 1758). Aquaculture International, 14(3): 219-229.

Mahious A.S., Van Loo J., Lieffring F. 2007. Inulin and oligofructose in aquaculture: a review. Aquaculture Europe, 27: 326-327.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-05-13]

Martinez-Porchas M., Martinez-Cordova L.R., Ramos-Enriquez R. 2009. Cortisol and Glucose: Reliable indicators of fish stress. Pan-American Journal of Aquatic Sciences, 4(2): 158-178.

Pooramini M., Hosseinifar S.H. 2006. Probiotics and Prebiotics in Aquaculture. Publication of Green Wave, Tehran. 120P. (In Persian).

Rahnama B., Akram R., Chitsaz H. 2013. Effect of Inulin Prebiotic on carcass yield and stress resistance in goldfish (*Carassius auratus gibelio*). Journal of Reproduction and Aquaculture, 1(2): 70-55.

Rouhani-Rankouhi T., Holsteijn I., Letcher R., Giesy J.P., Berg M. 2002. Effects of primary exposure to environmental and natural estrogens on vitellogenin production in Carp (*Cyprinus carpio*) hepatocytes. Toxicological Science, 67: 75-80.

Schley P.D., Field C.J. 2002. The immune-enhancing effects of dietary fibers and prebiotics. British Journal of Nutrition, 87: 221–230.

Sheikheslmi Amiri M. 2007. Effect of inulin Prebiotic on growth, survival, microflora and immune system of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). MSc thesis, Khorramshahr University of Marine Science. (In Persian).

Sodagar M., Imanpour M.R., Hossenifar S.H. 2007. Using Vanan prebiotic in diet larvae *Huso huso* and effect on growth parameters and survival rate. Journal of Marine Science, 3(2): 17-30. (In Persian).

Staykov Y., Spring P., Denev S., Sweetman J. 2007. Effect of a mannan oligosaccharide on the growth performance and immune status of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture International, 15: 153–161.

Syed Raffic Ali S., Ambasankar, A., Nandakumar, S., Ezhil Praveena, P. 2016. Effect of dietary inulin on growth, body composition and gut microbiota on Asian sea bass (*Lates calcarifer*). Animal Feed Science and Technology, 217: 87-94.

Ziaei Nejad S., Jafari P., Javaheri Baboli M., Mohtaram M. 2014. Effect of Bionic yeast Cellwal prebiotic on growth, survival and accumulation of *intestinal Lactobacillus* fingerlings of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Journal of Aquaculture Development, 8(2): 45-54.

Ziaei Nejad S., Rezaei M.H., Takami G.A., Lovett D.L., Mirvaghefi A., Shakouri M. 2006. The effect of *Bacillus* ssp. bacteria used as probiotics on digestive enzyme activity, survival and growth in the Indian white shrimp *Fenneropenaeus indicus*. Aquaculture, 252: 516-524.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-05-13]