

بررسی تأثیر غذای غنی شده با پروبیوتیک بر فراسنجه‌های رشد ماهی پرورشی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

نسرین چوبکار^{۱*}، شاپور کاکولکی^۲، فرشته صحرایی^۳، عبدالرضا آقاجانی^۴،
محیا رضایی منش^۵، فروغ محمدی^۶

*Nchoobkar20@gmail.com

- ۱- گروه شیلات، دانشکده کشاورزی، واحد کرمانشاه، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمانشاه، ایران
 - ۲- موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران
 - ۳- گروه علوم و صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
 - ۴- گروه علوم و صنایع غذایی، واحد قزوین، دانشگاه آزاد اسلامی، قزوین، ایران
 - ۵- گروه علوم محیط زیست، دانشکده محیط زیست، دانشگاه محیط زیست، البرز، ایران
 - ۶- گروه دامپزشکی، دانشکده کشاورزی، واحد کرمانشاه، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمانشاه، ایران
- تاریخ دریافت: فروردین ۱۳۹۷
تاریخ پذیرش: مرداد ۱۳۹۷

چکیده

پروبیوتیک‌ها در بعد وسیعی در آبرزی پروری نوین استفاده می‌شوند. این تحقیق با هدف بررسی تأثیر بکارگیری باکتری *باسیلوس سوبتیلیس* بر پارامترهای رشد ماهی قزل‌آلای رنگین کمان و تعیین میزان مطلوب مصرف این باکتری انجام شد. در این پژوهش، تأثیر *باسیلوس سوبتیلیس* IS02 در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با چهار تیمار آزمایشی شامل تیمار اول فاقد مکمل پروبیوتیک، تیمار دوم حاوی 10^6 ، تیمار سوم با 10^7 و تیمار چهارم با 10^8 CFU/g از *باسیلوس سوبتیلیس* در جیره غذایی به مدت ۳۰ روز بر روی برخی از شاخص‌های رشد (میزان و درصد افزایش وزن بدن، ضریب رشد ویژه، ضریب تبدیل غذایی، نسبت بازده پروتئین، نسبت بازده چربی، ارزش تولیدی پروتئین، ارزش تولیدی چربی، ضریب چاقی، غذای دریافتی توسط ماهی، کارایی تغذیه و شاخص رشد روزانه) بررسی شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از تحلیل واریانس یکطرفه و آزمون Bonferroni صورت گرفت. نتایج نشان داد تیمار چهارم با غلظت 10^8 CFU/g تأثیر معنی داری ($p=0/001$) بر افزایش ارزش تولیدی پروتئین (PPV) داشته است اما در سایر پارامترهای رشد تأثیر آماری معنی داری مشاهده نگردید ($p>0/05$). نتایج این پژوهش می‌تواند کاربرد گسترده‌ای در بهبود تولید این گونه با ارزش و ایجاد دیدگاه‌های نوین در شرایط پرورشی و افزایش ارزش غذایی آن داشته باشد.

لغات کلیدی: پروبیوتیک، *باسیلوس سوبتیلیس*، قزل‌آلای رنگین کمان، سنجش رشد

*نویسنده مسئول

مقدمه

استفاده از پروبیوتیک‌ها تکنولوژی جدید آبی پروری همگام با محیط زیست به شمار می‌رود. با استفاده از این مواد، میتوان تولید را افزایش داد و کیفیت آب را اصلاح کرد؛ همچنین آنها را به عنوان مبارزه بیولوژیک مدنظر قرار داد (حسینی فر و پورامینی، ۱۳۸۶). تأثیر پروبیوتیک‌ها در تغذیه، مقاومت در برابر بیماری‌ها و دیگر فعالیت‌های مفید به اثبات رسیده است که از آن جمله می‌توان به اثرات مفیدی که بر روی سلامتی دارند و تأثیر بر روی سیستم ایمنی و تحریک آن اشاره کرد. از جمله این پروبیوتیک‌ها می‌توان به گونه‌های باسیلوس اشاره کرد.

گونه‌های باسیلوس کمتر از ۵۰ سال است که به عنوان پروبیوتیک مورد استفاده قرار می‌گیرند. از آنجایی که جنس باسیلوس در ارگانسیم‌های آبی به عنوان پاتوژن گزارش نشده اند، بنابراین در بعد وسیعی در آبی پروری استفاده می‌شود (Brunt et al., 2007).

باکتری باسیلوس سوبتیلیس از جمله پروبیوتیک‌هایی است که بدلیل دارا بودن قابلیت شکستن پروتئین‌ها و کربوهیدرات‌ها، تولید برخی ویتامین‌های متعلق به گروه B، همچون بیوتین و B₁₂، قادر به متابولیسم بهتر مواد غذایی می‌باشد (ساجدی و همکاران، ۱۳۸۸) و در آبی پروری نیز تحقیقات بسیاری در زمینه تأثیر این باکتری پروبیوتیک بر آبزیان صورت گرفته است و نتایج حاکی از بهبود فعالیت آنزیم‌های گوارشی (Essa et al., 2010)، افزایش پروتئین لاشه و نیز فاکتورهای رشد و ایمنی بوده است (توکمه چی و همکاران، ۱۳۹۱؛ کامگار و همکاران، ۱۳۹۱؛ صفری و یعقوب زاده، ۱۳۹۶). همچنین بر روی میگوها سبب افزایش وزن، نرخ رشد خاص، بهره‌وری و بازده پروتئین و کاهش ضریب تبدیل غذایی در نمونه‌های تغذیه شده با این پروبیوتیک، همچنین افزایش میزان اسیدآمینه، کربوهیدرات، چربی و خاکستر در لاشه بوده است و نتیجه اینکه که باسیلوس سوبتیلیس به عنوان یک پروبیوتیک، به منظور افزایش بقا، رشد و بهبود عملکرد تولید انرژي در میگوی آب شیرین می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد.

ماهی قزل‌آلای رنگین کمان که کشور ایران رتبه سوم در تولید آن را در جهان دارا می‌باشد (فراهانی و همکاران، ۱۳۹۲) جزء مهم ترین منابع غذایی جهان و نیز کشور ما محسوب می‌گردد. امروزه بدلیل تسریع رشد جمعیت، افزایش آگاهی عمومی از ارزش غذایی بالای ماهی بعنوان یک غذای کم کالری و کم چرب، ارجحیت آن بر سایر پروتئین‌های حیوانی و نهایتاً نقش آن در کاهش کلسترول خون و تکامل بافت عصبی با توجه به وجود اسیدهای چرب ضروری گروه امگا ۳، از جمله آبزیان مهم محسوب می‌گردد و مورد توجه می‌باشد. با توجه به اهمیت موضوع، همواره سعی شده است که روند تولید و پرورش این ماهی، در مدت زمان کوتاه‌تر در واحد سطح، جهت تأمین نیاز جمعیت رو به تزاید بهبود یابد. در این راستا استفاده از پروبیوتیک‌ها شرایطی را فراهم می‌کند که بتوان به این هدف دست یافت (متقی، ۱۳۸۹). با توجه به ارزش غذایی و اهمیت اقتصادی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان، هدف از این پژوهش بررسی اثر پروبیوتیک باسیلوس سوبتیلیس IS02 بعنوان مکمل جیره غذایی بر رشد ماهی قزل‌آلای رنگین کمان و تعیین میزان مطلوب این باکتری جهت افزودن به جیره ماهی مذکور بوده است.

مواد و روش کار

تعیین دز پروبیوتیک

در این طرح مقادیر ۱۰^۶، ۱۰^۷، ۱۰^۸ سلول در هر گرم از پروبیوتیک *Bacillus subtilis* IS02 تهیه شده از شرکت تک ژن زیست، جهت تعیین دز مصرفی مناسب بررسی گردید و جهت انجام این کار از ۴ تیمار T_۱ (فاقد پروبیوتیک)، T_۲ (۱۰^۶ سلول در هر گرم)، T_۳ (۱۰^۷ سلول در هر گرم)، T_۴ (۱۰^۸ سلول در هر گرم)، در تغذیه ماهیان استفاده گردید (Newaj-Fyzul et al., 2007).

میزان پودر پروبیوتیک تهیه شده ۱۰^{۱۱} سلول در هر گرم می‌باشد، در نتیجه جهت رسیدن به دز ۱۰^۸ سلول در هر گرم برای هر گرم از غذای ماهی ماده مربوطه به میزان ۳ برابر رقیق و مقدار ۰/۰۰۱ گرم از پودر و در نهایت برای یک کیلوگرم از غذا مقدار ۱ گرم از پودر در آب حل شد و روی غذا اسپری گردید و پس از خشک شدن، در هوای

نمونه برداری

زیست سنجی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان: هر هفته بصورت کاملاً تصادفی از هر یک از تیمارها (هر گروه ۳ تکرار) ۴ عدد و در مجموع ۴۸ عدد ماهی جدا شدند و با استفاده از عصاره میخک با غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر بیهوش گردیدند (صفری و بلداجی، ۱۳۸۷).

سپس زیست سنجی نمونه ها با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم و خط کش بیومتری انجام پذیرفت. به منظور بررسی رشد ماهیان و مقایسه تیمارها در پایان دوره پرورش، میزان افزایش وزن بدن (گرم)، درصد افزایش وزن (WG%)، ضریب رشد ویژه (SGR)، ضریب تبدیل غذایی (FCR)، نسبت بازده پروتئین (PER)^۱، نسبت بازده چربی (LER)^۲، ارزش تولیدی پروتئین (PPV)^۳، ارزش چربی تولیدی (LPV)^۴، ضریب چاقی (CF)^۵، غذای دریافتی توسط ماهی (VFI)^۶، کارایی تغذیه (FE)^۷، شاخص رشد روزانه (DGI)^۷ از طریق روابط زیر محاسبه گردیده شد، که در این فرمول ها W_i وزن اولیه، W_m وزن میان دوره، W_f وزن نهایی، W_{mean} میانگین وزن، L_i طول اولیه، N_i تعداد اولیه، N_f تعداد نهایی، T مدت زمان، FL طول چنگالی (Fork Length)، F = میزان غذای داده شده به ماهی (گرم) می‌باشند.

آزاد و در دمای محیط، جهت پیشگیری از حل شدن سریع پروبیوتیک در آب مقداری روغن سویا بر سطح غذا اسپری گردید. بر همین اساس جهت تهیه ۱ کیلوگرم غذا با دزهای ۱۰^۶ و ۱۰^۷ به ترتیب مقدار ۰/۰۱ و ۰/۱ گرم از پروبیوتیک در آب حل شد و به روش فوق آماده گردید و پس از آماده سازی تا زمان مصرف در یخچال نگهداری شد (سرگزی و جعفریان، ۱۳۹۲).

مشخصات غذای مصرفی

انتقال ماهیان به سالن: اجرای این تحقیق در زمستان ۱۳۹۵ در پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری وابسته به وزارت علوم انجام شد. تعداد ۴۹۰ عدد ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (با احتساب تلفات) از مزرعه‌ای واقع در فیروزکوه، به سالن مربوطه منتقل گردید و پس از هم دمایی، انتقال ماهیان انجام گرفت و نمونه‌ها در ۳ وان تقسیم شدند و پس از گذشت ۴۸ ساعت قطع غذادهی، عادت‌دهی آنها به مدت یک هفته انجام گرفت و در این مدت از غذای مورد تغذیه قبلی EXF1 فاقد پروبیوتیک، تهیه شده از شرکت کیمیاگران (جدول ۱)، تغذیه شدند، به صورت روزانه عمل سیفون کردن، غذادهی، تعویض زئولیت موجود در کیسه‌ها انجام گرفت و نیز شستن وان‌ها چند روز یکبار، در محل صورت گرفت. بعد از مرحله سازگاری، ماهیان در قالب ۴ تیمار شامل ۳ تیمار آزمایشی و یک گروه شاهد (هر تیمار ۳ تکرار) بصورت تصادفی در ۱۲ عدد وان فایبرگلاس ۱۰۰۰ لیتری توزیع شدند.

جدول ۱: مشخصات فیزیکی و ارزش غذایی خوراک مصرفی

Table 1: Physical characteristics and nutritional value of feed.

ردیف	نوع خوراک مصرفی	
	EXF1	آنالیز
۱	۴۲	پروتئین خام (%)
۲	۱۵	چربی خام (%)
۳	۲/۵	فیبر (%)
۴	۱۰	رطوبت (%)
۵	۲/۵±۰/۲	سایز خوراک (میلی‌متر)

¹ Protein Efficiency Ratio² Protein productive value³ Protein productive value⁴ Lipid productive value⁵ Voluntary feed intake⁶ Feed efficiency⁷ Daily Growth Index

(Merck) در گرمخانه با دمای 37 ± 1 درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت با شمارش پرگنه‌ها با روش کشت سطحی انجام گرفت.

روش تجزیه و تحلیل داده‌ها

نتایج حاصل با استفاده از نرم افزار SPSS با ویرایش ۲۴ و با آزمون تحلیل واریانس یک متغیره، تحلیل واریانس یکطرفه با آزمون Bonferroni و در قالب یک طرح کاملاً تصادفی مورد بررسی قرار گرفت و مقادیر ($p < 0.05$) معنی‌دار در نظر گرفته شد. در ضمن، داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف استاندارد ($\text{Mean} \pm \text{SD}$) گزارش شده است.

نتایج

مشخصات فیزیکوشیمیایی آب: نتایج بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی آب مورد مطالعه که به صورت روزانه اندازه‌گیری شد، بدین شرح گزارش گردید: میانگین دما 14°C درجه سانتی‌گراد، اکسیژن ۱۱ و کلر 0.1 میلی‌گرم در لیتر و pH ۸. میزان استاندارد پارامترهای فوق برای ماهی قزل‌آلای رنگین کمان عبارتند از دما $(9-17^\circ\text{C})$ درجه سلسیوس، اکسیژن محلول (5) میلی‌گرم در لیتر تا حد اشباع، کلر (کمتر از 0.3 ppm) و pH $(6.5-8)$ می‌باشد. بنابراین تمامی این موارد، شرایط مطلوب برای زیست ماهی قزل‌آلای رنگین کمان را فراهم نمودند.

شاخص‌های میکروبی آب مصرفی

جدول ۲: شاخص‌های میکروبی آب مصرفی

Table 2: Microbial indicators of water.

ردیف	شاخص	مقدار
۱	کل بار میکروبی	۱۲۷ CFU/ml
۲	شمارش کلیفرم	$1/8 < \text{MPN}$

درصد پروتئین و چربی بترتیب با روش‌های کج‌دال (استاندارد ملی ایران، شماره ۹۲۴) و سوکسله (استاندارد ملی ایران، شماره ۷۴۲) و تعیین کلیه شاخصهای بیولوژی نیز براساس مدل‌های ارائه شده توسط Torstensen انجام گردید (Torstensen et al., 2008).

$$\text{رابطه ۱ } WG = W_f - W_i \times 100 / W_i$$

$$\text{رابطه ۱ } WG = W_f - W_i \times 100 / W_i$$

$$\text{رابطه ۲ } SGR = [\ln W_f - \ln W_i / T] \times 100$$

$$\text{رابطه ۳ } FCR = F / (W_f - W_i)$$

$$\text{رابطه ۴ } PER = WG / \text{g protein intake in fish}$$

$$\text{رابطه ۵ } LER = WG / \text{g lipid intake in fish}$$

$$\text{رابطه ۶ } PPV = (\text{final protein content} - \text{initial protein content}) / \text{protein consumed}$$

$$\text{رابطه ۷ } PPV = (\text{final lipid content} - \text{initial lipid content}) / \text{protein consumed}$$

$$\text{رابطه ۸ } CF = [W \times FL^{-3}] \times 100$$

$$\text{رابطه ۹ } VFI = [F / W_{\text{mean}} \times T] \times 100$$

$$W_{\text{mean}} = W_f + W_i / 2$$

$$\text{رابطه ۱۰ } FE = Wg / F$$

$$\text{رابطه ۱۱ } DGI = (WG / W_{\text{mean}}) / T$$

اندازه‌گیری خصوصیات کیفی

خصوصیات کیفی آب مورد مطالعه (دما، اکسیژن محلول، کلر و pH) به صورت روزانه اندازه‌گیری شد تا از میزان مجاز توصیه شده برای قزل‌آلای رنگین کمان تجاوز ننماید. دما و اکسیژن محلول با استفاده از اکسیژن متر پرتابل آکوالیتیک آلمان مدل AL20 Oxi، میزان کلر با استفاده از قرص DPD NO.1 RAPD و مقدار pH توسط قرص PHENOL RED RAPID مشخص گردید (Mokness et al., 2004).

تعیین شاخص‌های میکروبی آب

آزمایشات لازم تعیین کلیفرم بر نمونه‌ها صورت گرفت. برای سنجش آلودگی میکروبی از تخمیر چند لوله ای استاندارد شماره ۳۷۵۹ مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران از روش ۳ MPN لوله ای برای گروه کلیفرم ها انجام گرفت. همچنین شمارش کلی میکروبها (Total count) بر اساس تهیه رقت‌های مختلف و کشت در داخل پتری دیش و با استفاده از محیط کشت Nutrient Agar

محاسبات زیست سنجی

۹/۵±۰/۸ سانتی متر بوده است. میانگین طول و وزن نمونه

هایی که به طور تصادفی انتخاب شده بودند، در جداول ۳ و ۴ مشاهده می گردد.

مقدار میانگین وزن نمونه ها در ابتدای دوره که بصورت تصادفی انتخاب شده اند ۶/۵±۱ گرم و میانگین طول آنها

جدول ۳: میانگین وزن نمونه ها بر حسب گرم در تیمارهای مختلف و زمان های مختلف نمونه برداری

Table 3: The mean weight of samples (g) in different treatments and various sampling times.

هفته ۴	هفته ۳	هفته ۲	هفته ۱	
۱۳/۴۵±۰/۵۴	۱۰/۱۵±۰/۲۲	۸/۶۷±۰/۱۵	۶/۰۹±۱/۸۱	تیمار اول (T ₁)
۱۵/۰۴±۰/۷	۱۳/۳۴±۰/۲۹	۹/۴۱±۰/۹	۷/۸۲±۰/۹	تیمار دوم (T ₂)
۱۶/۱۵±۰/۸۱	۱۵/۶۵±۰/۴۱	۹/۷۵±۰/۸	۸/۳۵±۱/۵	تیمار سوم (T ₃)
۱۸/۹۶±۱/۲	۱۵/۸۲±۰/۳	۱۰/۹۱±۱/۲	۱۰/۴۹±۱/۷۴	تیمار چهارم (T ₄)

داده ها به صورت میانگین ± انحراف معیار آورده شده است.

جدول ۴: میانگین طول نمونه ها بر حسب سانتی متر در تیمارهای مختلف و زمان های مختلف نمونه برداری

Table 4: The mean length of samples (cm) in different treatments and various sampling times.

هفته ۴	هفته ۳	هفته ۲	هفته ۱	
۱۱,۰۷±۰,۱۳	۱۰,۴±۰,۳۵	۸,۹۳±۰,۵۵	۸,۱۷±۰,۲۶	تیمار اول (T ₁)
۱۱,۳۳±۰,۲	۱۰,۶±۰,۲۱	۹,۷±۰,۷	۹,۴۷±۰,۲	تیمار دوم (T ₂)
۱۱,۴±۰,۲۳	۱۱,۸۳±۰,۵	۹,۶±۰,۳۳	۸,۸±۰,۱۵	تیمار سوم (T ₃)
۱۲,۰۷±۰,۱۱	۱۱,۶۲±۰,۱	۱۰,۱۷±۰,۷	۱۰,۰۷±۰,۲	تیمار چهارم (T ₄)

داده ها به صورت میانگین ± انحراف معیار آورده شده است.

چنین بنظر می رسد که از لحاظ آماری غلظت های متفاوت پروبیوتیک باسیلوس سوبتیلیس *IS02* نتوانسته است اثر متفاوتی نسبت به تیمار شاهد، بر ماهی قزل آلا ی رنگین کمان داشته باشد. این در حالیست که که با مقایسه نتایج بدست آمده می توان بیان داشت که استفاده از پروبیوتیک مذکور تأثیرگذار بوده است و نتوانسته است تا حدودی باعث رشد ماهی گردد، بطوریکه این تأثیر برای فاکتور WG در غلظت های ۱۰^۶، ۱۰^۷ و ۱۰^۸ سلول در هر گرم بترتیب ۲۰۲/۶۲±۴۵/۳۴، ۲۲۵/۰۲±۷۶/۳۶، ۲۱۹/۷۲±۲۶/۸۳ درصد بوده است که می تواند مثبت در نظر گرفته شود. به طوری که غلظت ۱۰^۷ سلول در هر گرم نتوانسته است منجر به بیشترین رشد در بین غلظت های مورد استفاده گردد. در بین فاکتورهای جدول تنها فاکتور PPV نشان داد که غلظت های متفاوت پروبیوتیک باسیلوس سوبتیلیس *IS02* نتوانسته است اثر متفاوتی

بیشترین مقدار مربوط به تیمار T_۴ در هفته چهارم و کمترین مقدار نیز مربوط به تیمار شاهد در هفته اول بوده است که از نظر آماری تفاوت معنی داری نداشته است (p>۰/۰۵).

باتوجه به جدول ۵ بیشترین مقدار درصد افزایش وزن تیمار مربوط به T_۳ (۲۲۵/۰۲) و کمترین مقدار آن مربوط به T_۱ با مقدار ۱۷۰/۶۲ می باشد. در مورد ضریب رشد ویژه نیز بیشترین مقدار مربوط به T_۴ (۳/۸۵) و کمترین مقدار آن مربوط به T_۱ با مقدار ۳/۱۸ می باشد. اما در ارتباط با ضریب تبدیل غذایی بیشترین مقدار مربوط به تیمار T_۱ (۲۳/۷۱) و کمترین مقدار آن به T_۴ (۱۴/۳۰) تعلق دارد. در ارتباط با نسبت بازده پروتئین و چربی به ترتیب بیشترین مقادیر T_۳ (۲/۰۳)، T_۳ (۵/۶۷) و کمترین مقادیر نیز به تیمارهای T_۱ با مقدار (۱/۳۶) و (۴/۳۶) تعلق داشته است.

نسبت به تیمار شاهد، بر روی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان طی ۳۰ روز تحقیق داشته باشد ($p=0/001$). متفاوتی نسبت به تیمار شاهد، بر ماهی قزل‌آلای رنگین کمان داشته باشد. این در حالیست که با مقایسه نتایج بدست آمده می‌توان بیان داشت که استفاده از پروبیوتیک مذکور تأثیرگذار بوده است و توانسته است تا حدودی باعث رشد ماهی گردد، بطوریکه این تأثیر برای فاکتور WG در غلظت‌های 10^6 ، 10^7 و 10^8 سلول در هر گرم بترتیب $202/62 \pm 45/34$ ، $225/02 \pm 76/36$

$219/72 \pm 26/83$ درصد بوده است که می‌تواند مثبت در نظر گرفته شود. به‌طوری‌که غلظت 10^7 سلول در هر گرم توانسته است منجر به بیشترین رشد در بین غلظت‌های مورد استفاده گردد. در بین فاکتورهای جدول تنها فاکتور PPV نشان داد که غلظت‌های متفاوت پروبیوتیک باسیلوس سوبتیلیس IS02 توانسته است اثر متفاوتی نسبت به تیمار شاهد، بر روی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان طی ۳۰ روز تحقیق داشته باشد ($p=0/001$).

جدول ۵: فاکتورهای رشد محاسبه شده برای ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در مدت ۳۰ روز تغذیه با

پروبیوتیک باسیلوس سوبتیلیس IS02 در ۳ تکرار

Table 5: Growth Factors of Rainbow trout in 30 days feeding with probiotic *Bacillus subtilis* IS02 in 3 replicates.

تیمار اول	تیمار دوم	تیمار سوم	تیمار چهارم	
$170/62 \pm 51/17$	$202/62 \pm 45/34$	$225/02 \pm 76/36$	$219/72 \pm 26/83$	درصد افزایش وزن
$3/18 \pm 0/71$	$3/61 \pm 0/55$	$3/72 \pm 0/85$	$3/85 \pm 0/28$	ضریب رشد ویژه
$23/71 \pm 9/85$	$17/89 \pm 8/91$	$18/88 \pm 7/98$	$14/30 \pm 1/74$	ضریب تبدیل غذایی
$1/36 \pm 0/66$	$1/78 \pm 0/40$	$2/03 \pm 0/69$	$2 \pm 0/24$	نسبت بازده پروتئین
$4/36 \pm 1/31$	$4/99 \pm 1/12$	$5/67 \pm 1/92$	$5/61 \pm 0/68$	نسبت بازده چربی
$98/72 \pm 15/53$	$92/81 \pm 11/76$	$89/6 \pm 17/33$	$63/13 \pm 21/71$	غذای دریافتی توسط ماهی
$0/65 \pm 0/20$	$0/75 \pm 0/17$	$0/85 \pm 0/29$	$0/84 \pm 0/18$	کارایی تغذیه
$0/58 \pm 0/12$	$0/66 \pm 0/09$	$0/66 \pm 0/13$	$0/52 \pm 0/18$	شاخص رشد روزانه
$0/01 \pm 0/01^a$	$0/09 \pm 0/01^b$	$0/04 \pm 0/01^{ab}$	$0/13 \pm 0/02^{bc}$	ارزش تولیدی پروتئین
$0/08 \pm 0/03$	$0/23 \pm 0/07$	$0/08 \pm 0/005$	$0/22 \pm 0/08$	ارزش چربی تولیدی

علائم حروف مشابه نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها است $\alpha=0/05$.

بحث

امروزه استفاده از پروبیوتیک‌ها در صنعت غذا و نیز آبی‌پروری در تمام دنیا، به سرعت رو به افزایش است و تحقیقات بسیاری در این زمینه صورت گرفته است. نتایج این تحقیقات حاکی از این است که پروبیوتیک‌ها با تولید برخی ترکیبات و ویتامین‌ها منجر به ایجاد تغییرات مثبت در آنزیم‌های گوارشی و تحریک اشتها (ناصری و همکاران، ۱۳۸۷؛ Irianto and Austin, 2002)، تحریک سیستم ایمنی و جلوگیری از بیماری‌ها (Denev et al., 2009)، افزایش رشد و میزان پروتئین موجود در گوشت ماهی

(قلجایی فرد و همکاران، ۱۳۹۳؛ Naseri et al., 2012) می‌شوند. بعلاوه، پژوهشگران دریافتند طی یک دوره ۳۰ روزه در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان با تغذیه از ناپلی (*Artemia parthenogenetica*) غنی شده در سوسپانسیون باسیلوس‌های پروبیوتیک چندگانه، بقاء و پارامترهای رشد لارو ماهی قزل‌آلای رنگین کمان به طور کلی افزایش می‌یابد. بطوریکه باسیلوس‌های پروبیوتیک تأثیرات مثبت معنی‌داری را بر نرخ رشد ویژه (SGR)، ضریب رشد حرارتی (TGC)، کارایی تبدیل غذایی (FCE) و نرخ وزن نسبی به دست آمده (RGR)، داشتند

(جمالی و همکاران، ۱۳۹۱). در تحقیق حاضر نیز سطوح مختلف پروبیوتیک باسیلوس سوبتیلیس *IS02* در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان، به طور معنی‌داری منجر به افزایش ارزش تولید پروتئین (PPV) گردیده است. نیز طی پژوهشی اثر باسیلوس‌های پروبیوتیکی را بر نوزاد ماهی قزل‌آلای رنگین کمان بررسی کردند اما درمورد سایر فاکتورهای مورد مطالعه در پژوهش حاضر، نتایج بدست آمده متفاوت با نتایج این محققین و همچنین نتایج تحقیقات صورت گرفته توسط Wang و همکاران (۲۰۰۸) که شاهد اختلاف معنی‌دار ($p < 0.05$) بین گروه شاهد و گروه‌هایی از ماهی تیلاپیا پس از چهل روز تغذیه با پروبیوتیک بودند، می‌باشد. همانطور که بیان شد، درمورد سایر فاکتورها نتایج بدست آمده متفاوت با نتایج این محققین می‌باشد؛ بطوریکه در مورد فاکتورهای دیگر مانند WG, SGR, FCR, PER, LER, VFI, FE, LPV DGI اختلاف معنی‌داری بین گروه شاهد و سایر تیمارهای تغذیه شده با سطوح مختلف پروبیوتیک باسیلوس سوبتیلیس *IS02* وجود نداشت، که احتمالاً این امر بی‌ارتباط با دوره کوتاه تغذیه (۳۰ روز) نمی‌باشد، اما از نظر عملی بیشترین و کمترین مقادیر درصد افزایش وزن، نسبت بازده پروتئین، نسبت بازده چربی و کارایی تغذیه به ترتیب مربوط به تیمارهای T_3 و شاهد بوده است. بالاترین مقادیر ضریب رشد ویژه نیز در تیمار T_4 و پایین‌ترین آن در تیمار شاهد مشاهده شد، این در حالیست که غذای دریافتی ماهی در تیمار شاهد بیشترین مقدار و در تیمار T_4 کمترین مقدار را داشته است. پایین‌ترین ضریب تبدیل غذایی نیز در تیمار T_4 و بالاترین میزان آن در گروه شاهد گزارش گردید. ارزش چربی تولیدی در تیمار T_3 کمترین میزان و در تیمار T_2 بیشترین میزان را داشته است و در نهایت DGI بیشترین مقدار را در تیمار T_3 و کمترین مقدار را در تیمار T_4 نشان داد که این نتایج به معنای وجود تفاوت بین گروه‌ها می‌باشد. نتایج مطالعات برخی محققین با نتایج مطالعه حاضر همسو بود که از آن جمله می‌توان به گزارش Bagheri و همکاران (۲۰۰۸) اشاره نمود که اثر پروبیوتیک را بر ماهی قزل‌آلای رنگین کمان بررسی کردند و شاهد اختلاف معنی‌دار برای فاکتورهای

فوق بودند (Bagheri et al., 2008) و نیز مطالعات ضیائی نژاد و همکاران (۱۳۹۳) که اثر پری بیوتیک بایونیک دیواره سلولی مخمر (Yeast cell wall) را بر قزل‌آلای رنگین کمان بررسی کردند و نتایج آنها حاکی از افزایش معنی‌دار نرخ رشد ویژه، درصد افزایش وزن بدن، شاخص وضعیت و میزان کارایی پروتئین در تیمارهای تغذیه شده با بایونیک یست سل وال بود ($p < 0.05$) (ضیائی‌نژاد و همکاران، ۱۳۹۳). Merrifield و همکاران (۲۰۱۰) نیز در راستای تحقیقات فوق نشان دادند که استفاده از باسیلوس سوبتیلیس و باسیلوس لیشنی فرمیس در تغذیه ماهی قزل‌آلای رنگین کمان بهبود قابل توجهی در ضریب تبدیل غذایی (FCR^1)، ضریب رشد ویژه (SGR^2) و نسبت بازده پروتئین (PER^3) ایجاد نمود ($p < 0.05$) (Merrifield et al., 2010). میزان افزایش در فاکتورهای رشد را می‌توان به سنتز ویتامین‌ها، کوفاکتورها و نیز افزایش فعالیت آنزیمی توسط پروبیوتیک‌ها مرتبط دانست که منجر به بهبود دستگاه گوارش و در نتیجه رشد می‌گردد (Gatesoupe, 1999; AFRC, 1989; Jory, 1998).

قلجایی فرد و همکاران (۱۳۹۵)، ضریب رشد بالاتری در تیمارهای حاوی پروبیوتیک نسبت به شاهد را بر تاس ماهی ایرانی مشاهده نمودند. Rengpipat و همکاران (۱۹۹۸)، اثر باسیلوس S11 را بر میگو بررسی کردند، پس از ۱۰۰ روز نتایج حاکی از اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های تغذیه شده با پروبیوتیک در رشد نبود ($p > 0.05$) اما این اختلاف بین این گروه‌ها با گروه شاهد معنی‌دار بود (Rengpipat et al., 1998). نتایج مثبتی را برای استفاده از پروبیوتیک Bioplus 2B در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان مشاهده کردند. در این تحقیق وزن نهایی، ضریب تبدیل غذایی، ضریب رشد ویژه و نسبت کارایی پروتئین حاکی از وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها بود ($p \leq 0.05$)، ضمناً بررسی‌های آماری حاکی از عدم وجود اختلاف معنی‌دار در طول کل و درصد بقاء بین تیمارها

¹ Food Conversion Ratio

² Specific Growth Rate

³ Protein Efficiency Ratio

می‌باشد ($p \geq 0.05$)، این در حالی است که در تحقیق مذکور تنها در ارتباط با ارزش پروتئین اختلاف معنی‌دار مشاهده شد.

با توجه به نتایج حاصل از زیست سنجی، دزی که بهترین تأثیر را بر ماهی قزل‌آلای رنگین کمان داشت، به عنوان دز مناسب پروبیوتیک باسیلوس سوبتیلیس IS02 انتخاب گردید. نتایج حاکی از آن بود که به رغم تأثیر مثبت غلظت 10^6 CFU/g این پروبیوتیک در بهبود برخی از پارامترهای رشد ماهی مورد مطالعه، تنها در ارتباط با فاکتور PPV غلظت‌های متفاوت پروبیوتیک باسیلوس سوبتیلیس IS02 توانسته است اثر متفاوتی نسبت به تیمار شاهد، بر روی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در طی ۳۰ روز تحقیق داشته باشد ($p = 0.001$). بررسی نتایج نشان داد که غلظت 10^8 CFU/g پروبیوتیک باسیلوس سوبتیلیس IS02 با تأثیر مثبت خود بر ارزش پروتئینی در تیمار T₄ دزی مناسب برای استفاده در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان می‌باشد از این‌رو می‌توان نتیجه گرفت بهترین غلظت بکارگیری باکتری باسیلوس سوبتیلیس IS02 در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان 10^8 CFU/g از این باکتری پروبیوتیک بوده است که منجر به ارزش بیشتر ماهی قزل‌آلای رنگین کمان تولیدی می‌گردد.

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از طرح پژوهشی بوده است که با حمایت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرمانشاه انجام شده است که بدینوسیله مراتب سپاس خود را از مسئولین محترم این دانشگاه اعلام می‌داریم.

منابع

توکمه چی، ا.، شمسی، ح.، مشکینی، س.، دلشاد، ر. و قاسمی مغانجوقی، ۱۳۹۱. بهبود شاخص‌های رشد و برخی از پارامترهای پاسخ ایمنی (*Oncorhynchus mykiss*) با استفاده توام از ویتامین C و پروبیوتیک *Lactobacillus rhamnosus*. مجله علمی شیلات ایران، ۲۱(۳): ۲۲-۱۳.

جمالی، ه.، جعفریان، ح.، پاتیمار، ر. و سلطانی، م.، ۱۳۹۱. به کارگیری باسیلوس‌های چندگانه در تغذیه لارو ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) از طریق غنی‌سازی با ناپلی آرتیمیا پارتنوژنتیکا (*Artemia parthenogenetica*). مجله بهره‌برداری و پرورش آبزیان، ۱۱(۳): ۸۵-۱۰۲.

حسینی فر، س. ح.، پورامینی، م.، ۱۳۸۶. کاربرد پروبیوتیک‌ها و پری‌بیوتیک‌ها در آبزی‌پروری. چاپ اول. تهران، انتشارات موج سبز، ص ۸۴-۸۵. DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110067

ساجدی راد، ا.، زمینی، ع.، ولی‌پور، ع. و حیات‌بخش، م.، ۱۳۸۸. اثر افزودن پروبیوتیک Protexin در جیره غذایی شاه‌میگوی آب‌شیرین (*Astacus leptodactylus*) بر شاخص‌های رشد و بازماندگی. مجله علمی-پژوهشی زیست‌فناوری میکروبی دانشگاه آزاد اسلامی، ۲(۴): ۳۶-۲۹.

سرگزی، ح. و جعفریان، ح.، ۱۳۹۲. تأثیر باسیلوس‌های پروبیوتیکی بر کارایی تغذیه و کیفیت لاشه نوزاد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). تغذیه و بیوشیمی آبزیان، ۱۱(۱): ۴۹-۳۷.

صفری، ا. و بلداجی، ف.، ۱۳۸۷. بررسی تأثیر جایگزینی نسبی کنجاله کانولا و کنجاله سویا با آرد ماهی در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). فصلنامه پژوهش و سازندگی در امور دام و آبزیان، ۲۱(۲): ۵۱-۴۵.

صفری، ر. و یعقوب‌زاده، ز.، ۱۳۹۶. تأثیر باکتری *Lactobacillus* بر شاخص‌های رشد، بقا و مقاومت ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در برابر باکتری *Streptococcus iniae*. مجله علمی شیلات ایران، ۲۶(۵): ۱۳۸-۱۳۱. DOI: 10.22092/ISFJ.2017.115340

ضیایی نژاد، س.، جعفری، پ.، جواهری بابلی، م. و محترم، م.، ۱۳۹۳. تأثیر پری‌بیوتیک بایونیک‌یست وال بر شاخص‌های رشد، بقا و تراکم لاکتوباسیلوس روده ماهیان انگشت‌قد قزل‌آلای رنگین‌کمان

- rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Journal of Fish Diseases, 30(10): 573-579. DOI:10.1111/j.1365-2761.2007.00836.x
- Denev, S., Staykov, Y., Moutafchieva, R. and Beev, G., 2009.** Microbial ecology of the gastrointestinal tract of fish and the potential application of probiotics and prebiotics in finfish aquaculture. International aquatic research, 1(1): 1-29.
- Essa, M.A., El-Serafy, S.S., El-Ezabi, M.M., Daboor, S.M., Esmael, N.A. and Lall, S.P., 2010.** Effect of different dietary probiotics on growth, feed utilization and digestive enzymes activities of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. Journal of the Arabian Aquaculture Society, 5(2): 143-162.
- Gatesoupe F.J., 1999.** The use of probiotics in aquaculture. Aquaculture, 180(1-2): 147-165. DOI:10.1016/S0044-8486(99)00187-8
- Irianto, A. and Austin, B., 2002.** Use of probiotics to control furunculosis in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Journal of fish diseases, 25(6): 333-342. DOI:10.1046/j.1365-2761.2002.00375.x
- Jory, D.E., 1998.** Use of probiotics in penaeid shrimp growout. AQUACULTURE MAGAZINE-ARKANSAS, 24, pp.62-67.
- Merrifield, D.L., Bradley, G., Baker, R.T.M. and Davies, S.J., 2010.** Probiotic applications for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) II. Effects on growth performance, feed utilization, and disease resistance in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). نشریه توسعه آبی (*Oncorhynchus mykiss*) پروری، ۸ (۲): ۴۵-۵۴.
- فراهانی، ر.، خوشخو، ژ. و شیرازی، غ.، ۱۳۹۲.** روش‌های نوین آبی پروری مدیریت پرورش ماهی قزل‌آلا (رنگین کمان). انتشارات نقش مهر.
- کامگار، م.، قانع، م.، پورغلام، ر. و قیاسی، م.، ۱۳۹۱.** تأثیر *Bacillus subtilis* به عنوان پروبیوتیک بر فاکتورهای هماتولوژی و بیوشیمیایی خون ماهی قزل‌آلای رنگین کمان) به دنبال عفونت تجربی با *Streptococcus iniae* مجله توسعه آبی پروری، ۶ (۱): ۹۱-۱۰۲.
- متمقی، ا.، ۱۳۸۹.** اثر پروبیوتیک، پریبیوتیک و ترکیب آنها بر عملکرد رشد، مورفولوژی و فلور باکتریایی روده در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*). پایان نامه، گروه شیلات، دانشگاه صنعتی اصفهان، دانشکده منابع طبیعی.
- ناصری، س.، نظامی بلوچی، ش.، خارا، ح.، فرزائف، ع.، لشتو آقایی، غ. و شکوری، م.، ۱۳۸۷.** بررسی عملکرد رشد لارو ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در استفاده از سطوح متفاوت پروبیوتیک و آهن مکمل شده در جیره غذایی. مجله شیلات، ۲ (۳): ۱۵-۲۶.
- AFRC, R.F., 1989.** Probiotics in man and animals. Journal of Applied Microbiology, 66(5): 365-378.
- Bagheri, T., Hedayati, S.A., Yavari, V., Alizade, M. and Farzanfar, A., 2008.** Growth, survival and gut microbial load of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fry given diet supplemented with probiotic during the two months of first feeding. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 8(1): 43-48.
- Brunt, J., Newaj-Fyzul, A. and Austin, B., 2007.** The development of probiotics for the control of multiple bacterial diseases of

- utilization, intestinal microbiota and related health criteria postantibiotic treatment. *Aquaculture nutrition*, 16(5): 496-503. DOI:10.1111/j.1365-2095.2009.00688.x
- Mokness, E., Kjorsvik, E. and Olsen, Y., 2004.** Culture of cold-water marine fish. blackwell publishing ltd, pp 546.
- Naseri, S., Khara, H. and Shakoori, M., 2012.** Effects of probiotics and Fe ion on the growth and survival and bodycomposition of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792) fry. *Journal of applied animal research*, 41(3): 318-325. DOI: 10.1080/09712119.2013.782871
- Newaj-Fyzul, A., Adesiyun, A.A., Mutani, A., Ramsubhag, A., Brunt, J. and Austin, B., 2007.** *Bacillus subtilis* AB1 controls *Aeromonas* infection in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum). *Journal of applied microbiology*, 103(5): 1699-1706. DOI:10.1111/j.1365-2672.2007.03402.x
- Rengpipat, S., Phianphak, W., Piyatiratitivorakul, S. and Menasveta, P., 1998.** Effects of a probiotic bacterium on black tiger shrimp *Penaeus monodon* survival and growth. *Aquaculture*, 167(3-4): 301-313. DOI: 10.1016/S0044-8486(98)00305-6.
- Torstensen, B.E., Espe, M., Sanden, M., Stubhaug, I., Waagbø, R., Hemre, G.I., Fontanillas, R., Nordgarden, U., Hevrøy, E.M., Olsvik, P. and Berntssen, M.H.G., 2008.** Novel production of Atlantic salmon (*Salmo salar*) protein based on combined replacement of fish meal and fish oil with plant meal and vegetable oil blends. *Aquaculture*, 285(1-4): 193-200. DOI:10.1016/j.aquaculture.2008.08.025
- Wang, Y.B., Tian, Z.Q., Yao, J.T. and Li, W.F., 2008.** Effect of probiotics, *Enterococcus faecium*, on tilapia (*Oreochromis niloticus*) growth performance and immune response. *Aquaculture*, 277(3-4): 203-207. DOI:10.1016/j.aquaculture.2008.03.007

Study of effect of probiotic enriched food on growth parameters of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*)

Choobkar N.^{1*}, Kakoolaki Sh.², Sahraeei F.³, Aghajani A.R.⁴,
Rezaeemanesh M.⁵, Mohammadi F.⁶

*Nchoobkar20@gmail.com

- 1- Department of Fisheries, College of Agriculture, Kermanshah branch, Islamic Azad University, Kermanshah, Iran
- 2- Iranian Fisheries Science Research Institute (IFSRI), Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran
- 3- Department of Food Science and Technology, Science and Research Tehran branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
- 4- Department of Food Science and Technology, Qazvin branch, Islamic Azad University, Qazvin, Iran
- 5- Department of Environment Science, Faculty of Environment, University of Environment, Karaj, Iran
- 6- Department of Veterinary, Faculty of Agriculture, Kermanshah Branch, Islamic Azad University, Kermanshah, Iran

Abstract:

Probiotics are widely used in modern aquaculture. The aims of this study were to investigate the effect of probiotic bacteria of *Bacillus subtilis* strain on growth parameters of rainbow trout and to determine the best application rate of this bacterium. The results of this research will be widely used in improving the production of this valuable species and creating new perspectives in breeding conditions and increasing its nutritional value. In this study, the effect of *Bacillus subtilis* IS02 in a completely randomized design with four different treatments including: T₁ probiotic supplementation-free, T₂ containing 10⁶, T₃ with 10⁷ and T₄ with 10⁸ CFU/g of *B. subtilis* in diet for 30 days on some growth parameters (WG, SGR, FCR, PER, LER, PPV, LPV, CF, VFI, FE, DGI) was investigated. Data analysis was performed using one-way ANOVA and Bonferroni test. The results showed that T₄ treatment with a concentration of 10⁷ CFU/g had a significant effect (p=0.001) on the increase of protein value (PPV), but no significant effect was observed in other parameters of growth (p> 0.05).

Keywords: Probiotic, *Bacillus subtilis*, Rainbow trout, Growth parameters

*Corresponding author