شیلات، مجله منابع طبیعی ایران

**دوره ۷۱، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۷**

صفحات ۲۰۷-۱۹۸

# اثر مکمل‌های تجاری اگریموس و باکتوسل بر جمعیت باکتری‌های اسیدلاکتیکی روده و مقاومت در برابر استرس‌های دما و شوری در ماهی زبرا (*Danio rerio*)

*مهرنوش شیرانی*[*1]*، نصراله محبوبی صوفیانی*[2]*، حمید فرحمند*[3]*، سید امیر حسین جلالی*[4]

*۱. دانشجوی دکتری گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران.*

*۲. استاد گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران.*

*۳. استاد گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران.*

*۴. استادیار گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران.*

**تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۶/۳ تاریخ تصویب: ۱۳۹۷/۷/۱۷**

## چکیده

به منظور مقایسه اثر دو نوع مکمل غذایی تجاری پربیوتیکی (اگریموس) و پروبیوتیکی (باکتوسل) بر مقاومت به استرس‌های دما، شوری و تغییرات جمعیت باکتری‌های اسید لاکتیکی روده در ماهی زبرا دانیو (*D. rerio*)، این تحقیق انجام شد. لذا ۶۳۰ قطعه ماهی در ۲۱ آکواریوم تقسیم شده و طی دوره آزمایش، جیره غذایی پایه به‌عنوان تیمار شاهد ($T_0$) و سه جیره غذایی $T_1$، $T_2$ و $T_3$ به ترتیب با سطوح ۲، ۴ و ۸ گرم پربیوتیک اگریموس در هر کیلوگرم غذا و نیز سه جیره $T_4$، $T_5$ و $T_6$ به‌ترتیب با ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۴ گرم پروبیوتیک باکتوسل در هر کیلوگرم جیره با ۳ تکرار به عنوان تیمارهای آزمایش در نظر گرفته شدند. بچه ماهیان ۱۵ روزه به مدت ۹۰ روز با جیره‌های آزمایشی تغذیه شدند. نتایج نشان داد ماهیان تغذیه شده با جیره‌های پروبیوتیکی به طور معنی‌داری مقاومت بیشتری نسبت به استرس دارا هستند. درصد بازماندگی و مقاومت نسبت به استرس دمایی بین تمامی تیمارها با تیمار شاهد اختلاف معنی‌دار داشت ($P<0.05$). بر اساس نتایج تعداد باکتری‌های اسید لاکتیکی در تیمارهای تغذیه شده با سطوح مختلف اگریموس و باکتوسل پس از ۹۰ روز نسبت به تیمار شاهد افزایش معنی‌دار نشان دادند. اما از نظر تعداد کل باکتری‌ها تمامی سطوح تغذیه‌ای با پروبیوتیک باکتوسل دارای اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد و تیمارهای پربیوتیک اگریموس بوده و تیمار $T_6$ با کلیه تیمارها اختلاف معنی‌دار نشان داد. همچنین مشاهده شد تمامی تیمارهای پربیوتیکی و پروبیوتیکی پس از تغذیه ۹۰ روزه افزایش معنی دار وزن را نشان دادند. از نظر افزایش شاخص طول کلیه تیمارهای پروبیوتیکی نسبت به شاهد افزایش معنی‌دار نشان دادند. نتایج حاصل از این آزمایش استفاده از جیره غذایی حاوی مکمل های غذایی تجاری فوق را در بهبود عملکرد پاسخ به استرس و فلور روده تأیید نموده و کاربرد آن‌ها را پیشنهاد می‌دهد.

**واژگان کلیدی: استرس دما و شوری، فلور باکتریایی روده، اگریموس، باکتوسل.**

* نویسنده مسئول: تلفن: ۹۸۲۱۴۴۰۹۰۹۹+ ایمیل: shiranimehrnoosh66@gmail.com

## ۱. مقدمه

لوله گوارش مهره‌داران عالی ترکیبی از دو اندام متوالی با نام‌های روده کوچک و روده بزرگ است. روده کوچک محل اصلی جذب مواد مغذی است درحالی‌که نقش اولیه روده بزرگ جذب آب و نمک است. به علاوه هر یک از این اندام‌ها نقش مهمی در ایمنی و عمل به عنوان سدی در برابر پاتوژن‌ها و دیگر سموم محیطی ایفا می‌کنند (Wallace *et al*., 2005). از آن‌جایی که حیوانات در محیط‌های غنی از میکروب زندگی می‌کنند، در طول حیات خود مجبور به تعامل ادامه‌دار با جوامع میکروبی می‌باشند که اغلب اثرات مثبتی دارند (Rolim, 2015). فلور میکروبی روده ماهی نیز در هضم مشارکت نموده و می‌تواند بر تغذیه، رشد، تولید مثل، پویایی جمعیت و بقای ماهی میزبان نسبت به بیماری‌ها اثر گذارد (Ghanbari *et al*., 2015). از آن‌جایی که ماهیان زبرا مانند پستانداران هر دو نوع سیستم ایمنی اولیه و تطبیق‌پذیر را برای تقابل با میکروب‌ها دارا هستند، مطالعات بسیاری را به خود اختصاص داده‌اند. همچنین شفافیت بافت‌های آن‌ها امکان بررسی اندام‌های داخلی را در لاروهای زنده فراهم می‌آورد (Bates *et al*., 2006). می‌توان گفت این ماهی‌ها به‌دلیل دارا بودن بسیاری ویژگی‌ها از جمله مراحل لاروی کوتاه، تکامل خارج رحمی و شفافیت لارو مدل مناسبی برای مطالعات زیستی می‌باشد (Vasquez *et al*., 2012; Bergman *et al*., 2005; Hsu *et al*., 2007; Lardelli, 2008; Ganguly *et al*., 2010; Nekoubin *et al*., 2012).

بسیاری از محققین معتقدند که جیره‌های غذایی که با هدف رشد و بقای بالاتر به کار می‌روند منجر به افزایش مقاومت موجود در برابر آزمایش‌های استرس نیز خواهند شد. 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 (FadaiRayeni *et al*., 1396).

پربیوتیک‌ها که کربوهیدرات‌هایی غیر قابل هضم می‌باشند باعث تحریک باکتری‌های روده می‌شوند و در طول فرایند هضم در بدن در بخش بالایی لوله گوارش به‌سبب فقدان میکروفلور مناسب اثرگذارند. اما هنگامی که در روده وارد فرایندهای هضم می‌شوند میکروارگانیزم های حاضر در این ناحیه با تجزیه آن‌ها انرژی مورد نیاز خود برای ادامه حیات را فراهم می‌آورند (Singla and Chakkaravarthi, 2017; Rolim, 2015). استفاده از اگریموس به‌عنوان پربیوتیک تجاری که حاوی MOS و β گلوکان می‌باشد به تازگی مورد توجه قرار گرفته است (Mohamed *et al*., 2017). مانان‌الیگوساکارید (MOS) مشتق شده از دیواره سلولی مخمر *Saccharomyces cervisiae*، به‌عنوان یک پربیوتیک منجر به رشد باکتری‌های مفید روده می‌شود و هضم و عملکرد روده را در حیوانات با تحریک سیستم ایمنی و جذب پاتوژن‌ها بهبود می‌بخشد. همچنین β گلوکان نیز از دیگر عناصر تشکیل دهنده دیواره سلولی میکروارگانیسم‌ها است که به‌عنوان محرک سیستم ایمنی عمل نموده و باعث تحریک مقاومت ماهی و سخت‌پوستان به عفونت‌های باکتریایی و ویروسی می‌شود (Torrecillas *et al*., 2014). اگریموس حاوی ۳۶٪ پروتئین، ۵۰٪ کربوهیدرات و ۳٪ فیبر خام می‌باشد.

پروبیوتیک‌ها نیز مکمل‌های غذایی هستند که اغلب حاوی باکتری‌های زنده بوده و به طور اختصاصی جنس‌های *Lactobacillus* و *Bifidobacterium* را شامل می‌شوند (Lau *et al*., 2015)، ارگانیسم‌های آن‌ها باید درون روده زنده مانده و توان ازدیاد و کلنیزه شدن را در لوله گوارش داشته، بی خطر و مؤثر باشند (Michael *et al*., 2014). باکتوسل نخستین پروبیوتیک مجاز در آبزیان می‌باشد که در سال ۲۰۰۹ در اتحادیه اروپا به ثبت رسیده است. این پروبیوتیک با ایجاد تغییرات مفید در جمعیت میکروبی روده و تولید اسید لاکتیک منجر به بهبود رشد، تولید و بازماندگی انواع ماهی و میگو می‌شود. این پروبیوتیک حاوی باکتری *Pediococcus acidilactici* می‌باشد (Kazemi *et al*., 1395).

از آن‌جایی‌که به کارگیری پربیوتیک‌ها و پروبیوتیک‌ها در جیره غذایی ماهیان و مولدین آن‌ها اغلب اثرات مثبتی را نشان داده، جدا از اثرات مستقیم بر میکروبیوتای روده، استفاده از این مکمل‌ها ممکن است سبب مقاومت به استرس‌های محیطی نیز گردد( Burr and Gatlin, 2005; Song *et al*.,

جدول ۱- **میانگین خصوصیات فیزیکوشیمیایی آب در طول دوره آزمایش**

| pH | اکسیژن محلول | دما | سختی کل |
|---|---|---|---|
| ۷/۲±۰/٤ | ۴/۶±۰/۲ | ۲۷±۰/۵ | ۲۰۲±۶/۳ |

2014)، بنابراین بر اساس تفاوت ماهیت دو مکمل غذایی مصرفی و نتایج مختلف و گاه متفاوت مشاهده شده در مرور منابع صورت گرفته هدف از این مطالعه بررسی و مقایسه اثر مصرف مکملهای تجاری اگریموس و باکتوسل بر میکروبیوتای روده و مقاومت به استرس شوری و دما در ماهیان زبرا به‌عنوان آبزی مدل پس از ۹۰ روز تغذیه با تیمارهای حاوی این مکمل‌ها می‌باشد چرا که امکان استفاده مثبت از ترکیبات غذایی که توان مقاوم نمودن آبزیان به خصوص گونه‌های پرورشی که علاوه بر استرس‌های ناشی از تراکم و دستکاری، با ضعف سیستم ایمنی می‌توانند نسبت به عوامل بیماری‌زا حساس بوده و تلفات و خسارات جبران ناپذیری را پدید آورند، را دارند مقرون به صرفه بوده و فواید بسیاری را شامل می‌گردد.

## ۲. مواد و روش‌ها

این تحقیق در قالب یک طرح کاملاً تصادفی شامل ۷ تیمار؛ تیمار شاهد ($T_0$) فاقد مکمل غذایی، $T_1$، $T_2$ و $T_3$ به‌ترتیب حاوی ۲، ۴ و ۸ گرم در کیلوگرم پربیوتیک تجاری اگریموس تولید شرکت لالماند فرانسه و تیمارهای $T_4$، $T_5$ و $T_6$ به‌ترتیب حاوی ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۴ گرم در کیلوگرم پروبیوتیک تجاری باکتوسل از همان شرکت با سه تکرار طراحی شد. بدین منظور ۲۱ آکواریوم (با ابعاد ۳۰×۳۰×۳۰ سانتی‌متر) هریک با ۳۰ لارو ۱۵ روزه ماهی زبرا تهیه شده و در محوطه کارگاهی آزمایشگاه مرکزی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران مستقر شدند. تغذیه ماهی‌ها با تیمارهای یاد شده به‌مدت ۹۰ روز ادامه یافت. برای ساخت جیره‌های آزمایش، پربیوتیک و پروبیوتیک انتخابی در مقادیر ذکر شده پس از مخلوط نمودن با روغن گیاهی روی جیره‌های غذایی اسپری شده و سپس در معرض هوای آزاد قرار داده شد. سپس غذای ساخته شده در ظروف در بسته و تا زمان مصرف در یخچال نگهداری شدند. در طول دوره آزمایش خصوصیات فیزیکوشیمیایی آب ثبت شده که میانگین آن در جدول ۱ نشان داده شده است. تغذیه ماهیان به صورت دستی ۲ بار در روز و به میزان ۱۰ تا ۷ درصد وزن بدن در طول دوره پرورش در انجام شد. هوادهی منظم با هواده فیلتردار و تعویض آب هر ۲ روز یک بار به میزان ۳۰ درصد حجم آب صورت گرفت. در این تحقیق دوره نوری پرورش ۱۴ ساعت روشنایی و ۱۰ ساعت تاریکی در نظر گرفته شد. نمونه‌برداری از ماهیان برای اندازه‌گیری فراسنجه‌های طول، وزن، باکتری‌های روده و اثر استرس‌های شوری و دما بر زنده مانی ماهیان در پایان دوره آزمایش انجام شد.

### ۱.۲. زیست‌سنجی

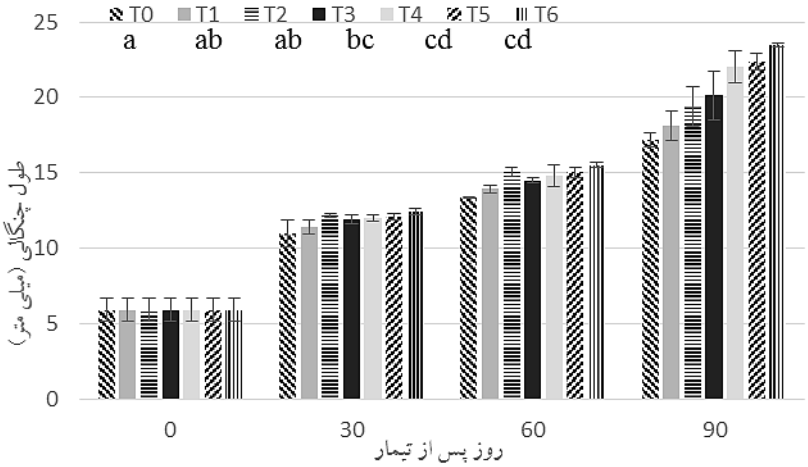
برای آگاهی از میزان اثر گذاری تغذیه بر رشد طولی و وزنی ماهیان تیمار شده با مکمل‌های اگریموس و باکتوسل سنجش طول چنگالی و وزن ماهیان در ۳ دوره ۳۰ روزه پس از شروع آزمایش با استفاده از خط‌کش و ترازوی دیجیتال انجام شد.

### ۲.۲. آزمایش‌های استرس

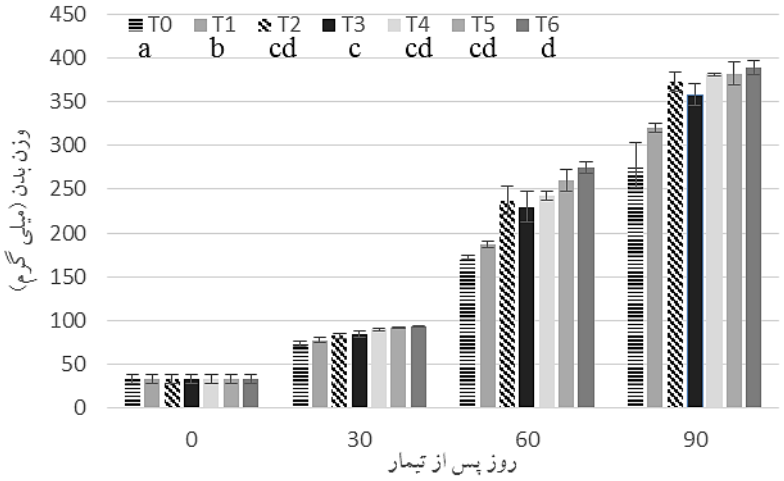
در روز ۹۰ تغذیه با جیره‌های غذایی حاوی مکمل-ها به‌منظور تعیین میزان مقاومت آن‌ها به استرس شوری و دما، از هر تکرار ۳ قطعه ماهی به وسیله ساچوک صید و درون مخزن آزمایش جدید رهاسازی شدند. برای انجام سنجش شوری نمک دریا تا رساندن شوری آب به ۴۰ میلی‌گرم در لیتر ادامه یافت و سپس ماهی‌ها در آکواریوم رها شدند و مدت زمان زنده مانی آن‌ها مورد بررسی قرار گرفت (Jafarian *et al.*, 2010). برای انجام تست دما نیز دمای آب به وسیله بخاری برقی به $40^{o}C$ رسیده و تلفات مشاهده و ثبت گردید (Azari Takami, 2008).

### ۳.۲. بررسی میکروفلور روده

جهت بررسی میکروفلور روده از روش Sneath و همکاران (۱۹۸۶) استفاده شد. بر این اساس در روز نخست و نیز ۹۰ روز پس از شروع تیمار، ۳ ماهی از هر آکواریوم (۹ ماهی از هر تیمار) به‌طور تصادفی انتخاب شده و پس از استریل نمودن سطح بدن ماهی ها، ناحیه شکمی باز شده و با استفاده از تیغ جراحی استریل،




**شکل ۱ – طول چنگالی ماهیان در طول دوره زمانی ۳۰ روزه از ابتدای شروع تیمار تا روز ۹۰ پس از آغاز (نتایج بر اساس میانگین±انحراف معیار)، اختلاف‌ها در نمونه‌برداری پایان دوره آزمایش و با حروف الفبا، در سطح معنی‌دار ۵٪ نمایش داده شده است.**




**شکل ۲ – وزن ماهیان در طول دوره زمانی ۳۰ روزه از شروع آزمایش تا روز ۹۰ پس از آغاز (نتایج بر اساس میانگین±انحراف معیار)، اختلاف‌ها در نمونه‌برداری پایان دوره آزمایش و با حروف الفبا، در سطح معنی‌دار ۵٪ نمایش داده شده است.**

روده جداسازی و به هاون چینی استریل منتقل گشته و با سرم فیزیولوژی هموژن شدند. پس از تهیه هموژن با استفاده از محلول نمکی نرمال استریل رقت‌های سریالی تهیه و در محیط کشت MRS Agar در دمای ۳۶°C به مدت ۷۲ ساعت بر اساس روش حسینی‌فر و همکاران (۲۰۱۱) انکوبه شدند. تعداد باکتری‌های اسید لاکتیکی (بر حسب واحد تشکیل کلنی در هر گرم دستگاه گوارش CFU/g) شمارش شد.

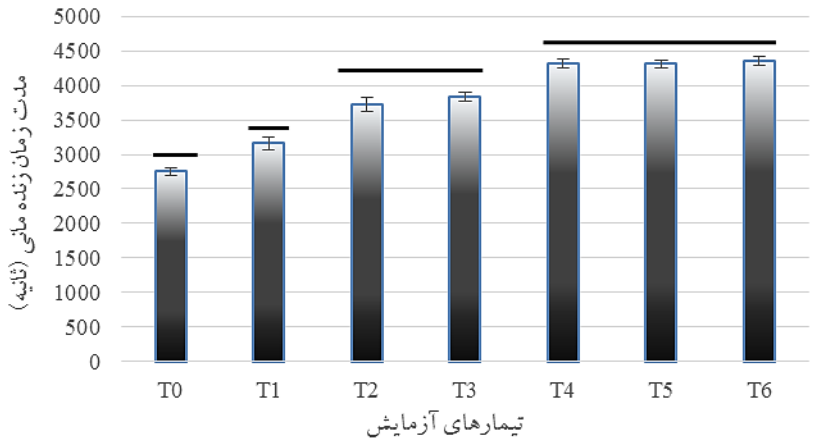
### ۴.۲. آنالیز آماری داده‌ها

پس از بررسی نرمال بودن داده‌ها، تجزیه و تحلیل از طریق آزمون آنالیز واریانس یک طرفه ( One-way analysis of variance) صورت گرفت. مقایسه میانگین بین تیمارها بر اساس آزمون دانکن انجام شد. آزمون‌های آماری توسط نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۵ انجام شده و اختلاف معنی‌دار داده‌ها در سطح ۵٪ نمایش داده شد.

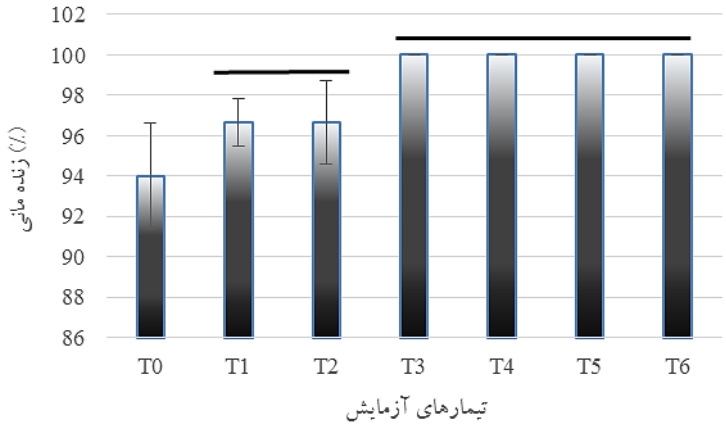
## ۳. نتایج

### ۱.۳. نتایج زیست‌سنجی

نتایج زیست سنجی طول و وزن ماهیان در روز نخست تیمار، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ روز پس از آغاز به‌ترتیب در شکل‌های ۱ و ۲ نمایش داده شده است. نتایج مربوط به طول چنگالی ماهیان نشان داد تیمارهای $T_1$ و $T_2$ اختلاف معنی‌داری با شاهد نداشت، اما تیمار پربیوتیکی $T_3$ دارای اختلاف معنی‌دار با شاهد می‌باشد. همچنین بین تیمارهای پربیوتیکی اختلافی مشاهده نشد. تمامی تیمارهای پروبیوتیکی به‌صورت معنی‌داری




**شکل ۳ – مدت زمان زنده‌مانی ماهیان زبرا (ثانیه) در مواجهه با استرس شوری پس از ۹۰ روز تغذیه با جیره حاوی اگریموس و باکتوسل (داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده $P<0.05$).**




**شکل ۴ – مدت زمان زنده‌مانی ماهیان زبرا در مقابله با استرس دما پس از ۹۰ روز تغذیه با جیره حاوی اگریموس و باکتوسل.**

با تیمار شاهد و تیمارهای $T_1$ و $T_2$ اختلاف داشته و تیمار $T_6$ با تیمار $T_3$ نیز اختلاف معنی‌دار نشان داد. اما در بین تیمارهای پروبیوتیک اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد.

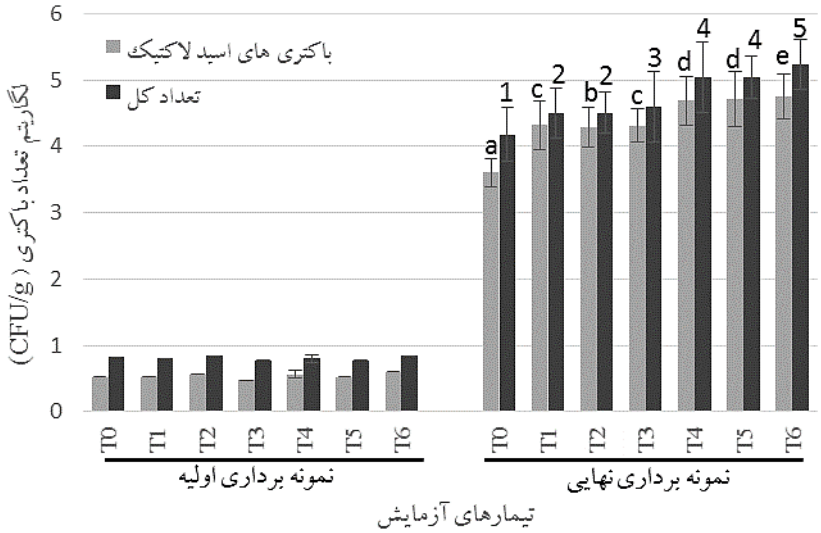
نتایج مربوط به وزن بدن پس از ۹۰ روز تغذیه با مکمل‌های غذایی نشان داد که تمامی تیمارها با تیمار شاهد دارای اختلاف معنی‌دار بوده و افزایش وزن نشان دادند. در بین تیمارهای پربیوتیکی و پروبیوتیکی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد.

## ۲.۳. سنجش اثر شوری (۴۰ گرم در لیتر)

نتایج آزمون شوری در شکل ۳ نمایش داده شده است. بر این اساس بین تیمارهای تغذیه شده با مکمل-های غذایی و تیمار شاهد تفاوت معنی‌دار مشاهده شد ($P<0.05$). همچنین بین تیمارهای پربیوتیکی $T_2$ و $T_3$ با تیمار $T_1$ اختلاف معنی‌دار وجود داشت و میزان بازماندگی و بعبارتی مقاومت ماهیان این دو تیمار نسبت به استرس حاصل از شوری بالاتر بود ($P<0.05$). البته در بین تیمارهای تغذیه شده با مکمل پروبیوتیکی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. مقایسه نتایج بدست آمده بین گروه‌های تغذیه شده با مکمل-های پروبیوتیکی و پربیوتیکی نشان‌گر وجود اختلاف معنی‌دار بین این دو گروه بود ($P<0.05$).

## ۳.۳. سنجش اثر دما (۴۰ درجه سانتی‌گراد)

بر اساس نتایج (شکل ۴)، درصد بازماندگی و مقاومت به افزایش دما در میان ماهیان تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی دارای افزایش معنی‌داری (در سطح ۵٪) نسبت به تیمار شاهد بودند. ین تیمارهای پربیوتیکی اثر تیمار $T_3$ به‌صورت معنی‌داری بیشتر از دو تیمار دیگر بود و با توجه به بازماندگی ۱۰۰٪ در طول دوره بررسی در بین تیمارهای $T_3$، $T_4$، $T_5$ و $T_6$




**شکل ۵ – تعداد باکتری‌های اسید لاکتیکی و کل باکتری‌ها در روده ماهیان زبرا تغذیه شده با جیره‌های حاوی پربیوتیک و پروبیوتیک (داده‌ها به‌صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده و حروف و اعداد مختلف نشان از اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها دارد ($P<0.05$)).**

بین آن‌ها اختلافی مشاهده نشد.

## ۴.۳. بررسی فلور میکروبی روده

در نمونه‌برداری اولیه اختلافی بین تیمارها مشاهده نشد. نتایج بررسی باکتریایی در نمونه‌برداری نهایی نشان داد تعداد باکتری‌های اسید لاکتیکی ( LAB = Lactic Acid Bacteria) در تیمارهای تغذیه شده با سطوح مختلف پربیوتیک و پروبیوتیک با تیمار شاهد دارای اختلاف معنی‌دار بودند ($P<0.05$). همچنین تعداد این باکتری‌ها در تیمارهای مختلف پروبیوتیک باکتوسل علاوه بر اختلاف معنی‌دار بین $T_6$ با سایر سطوح، همگی با تیمار شاهد و نیز تیمارهای پربیوتیکی دارای اختلاف معنی‌داری بودند. تعداد کل باکتری‌ها در تمامی تیمارهای تغذیه شده با مکمل به صورت معنی‌داری بیشتر از تیمار شاهد بوده و همه تیمارهای پروبیوتیکی دارای اختلاف معنی‌دار با تیمارهای پربیوتیکی می‌باشد. از میان تیمارهای پربیوتیک $T_3$ و پروبیوتیک $T_6$ از سایر سطوح مکمل خودشان تعداد باکتری اسید لاکتیکی بالاتری را نشان دادند (شکل ۵).

## ۴. بحث

از زمان ورود مکمل‌های پربیوتیکی و پروبیوتیکی به‌عنوان افزودنی‌های خوراکی بهبود دهنده سلامت موجودات، مباحث متعدد و متنوعی مطرح شده و موافقین و مخالفین استفاده از این ترکیبات شروع به طراحی آزمایشات گوناگون نموده و اثر این مواد را بر پاسخ‌های فیزیولوژیک گونه‌های مختلف از جمله گونه-های پرورشی دام، طیور و آبزیان مورد بررسی قرار دادند. موافقین استفاده از این مکمل‌ها در خصوص پروبیوتیک‌ها بیان داشته‌اند که باکتری‌های موجود در آن‌ها باعث بهبود عملکرد جذب در روده از طریق متعادل نمودن ترکیب میکروبی روده شده و باکتری-های مفیدی که به هضم و جذب مواد مغذی می‌پردازند را افزایش می‌دهند که در نتیجه مواد مغذی به نحو بهتری مورد استفاده قرارگرفته و درنتیجه نرخ رشد را افزایش می‌دهند ( Nekoubin *et al.*, 2012; Ghanbari *et al.*, 2015) ، در این مطالعه نیز افزایش معنی‌دار رشد طولی و وزنی نهایی نسبت به تیمار شاهد در نتیجه استفاده از مکمل غذایی پروبیوتیکی مورد استفاده حاوی باکتری *P. acidilactici* مشاهده شد که همسو با نتایج مطالعه Kazemi و همکاران (۱۳۹۵) و نیز Modaberi و همکاران (۱۳۹۲) بود. این افزایش رشد علاوه براین‌که می‌تواند نتیجه فرایند هضم مناسب باشد می‌تواند منتج از تحریک اشتها و افزایش فعالیت گوارشی و آنزیمی در لاروهای آبزیان تغذیه شده با آن‌ها باشد که موجب ارتقای سطح تغذیه و در نتیجه افزایش رشد خواهد شد ( Irianto and Austin, 2002)، چرا که عملکرد آن‌ها علاوه بر افزایش اشتها و تغذیه، با تولید ویتامین‌ها و ترکیبات سم‌زدا در جیره غذایی همراه است ( Jenabi Haghparast *et al.*, 1392). گرچه برخی مطالعات

نشان می‌دهند که استفاده از پروبیوتیک‌ها اثر خاصی بر رشد ماهیان نداشته است، آزمایش‌های بیشتری مورد نیاز است تا به بررسی فرایندهای مختلف بیولوژیک رخ داده در لوله گوارش بپردازد.

از نظر قدرت بازماندگی ماهیان، نتایج این تحقیق در مواجهه با استرس شوری و دمایی افزایش زنده مانی ماهیان را در مقایسه با تیمار شاهد در پی استفاده از پربیوتیک مذکور نشان داد. آن‌گونه که بررسی ها نشان داده با افزایش تعداد باکتری‌های مفید روده و تولید اسیدلاکتیک و کاهش pH روده، پروبیوتیک‌ها منجر به توقف رشد پاتوژن‌ها در دستگاه گوارش شده و با تحریک سیستم ایمنی آبزیان، مقاومت آن‌ها را علیه باکتری‌ها، ویروس‌ها و سایر عوامل استرس‌زا به میزان معنی‌داری افزایش می‌دهند و در نتیجه باعث افزایش ماندگاری ماهیان می‌شوند. همچنین مانع اثرات سوء استرس‌های حرارتی بر سلامت ماهیان می‌شوند. نتایج بازماندگی ماهیان در مواجهه با استرس دمایی در مطالعه حاضر مطابق با نتایج مطالعه Hoseini و همکاران (۱۳۹۲) و Dhanaraj و همکاران (۲۰۱۰) می‌باشد. بنابراین براساس نتایج حاصل از این مطالعه می‌توان گفت که با توجه به قدرت چسبندگی مکمل باکتوسل به غذا، افزایش فاکتورهای رشد، کاهش ضریب تبدیل غذایی و پرشمار شدن باکتری‌های مفید روده به ویژه باکتری‌های اسید لاکتیکی این پروبیوتیک را می توان کاربردی دانست.

پربیوتیک‌ها نیز همانند پروبیوتیک‌ها در سال-های اخیر مورد توجه و مطالعه قرار گرفته‌اند و آن‌گونه که اظهار شده به‌عنوان مواد مغذی مصرفی منجر به افزایش شمار باکتری‌های مفید روده شده و در نتیجه جوامع پاتوژن را محدود می‌نمایند. اثرات MOS خوراکی بر پارامترهای رشد و سلامت، اخیراً در آبزیان از جمله باس دریایی اروپایی (Torrecillas *et al.*, 2007)، قزل‌آلای رنگین کمان (Staykov *et al.*, 2007)، تیلاپیای رود نیل (Sado *et al.*, 2008)، آزاد ماهی اطلس (Refstie et al., 2010) و مارون نوعی سخت پوست از کری فیش‌ها (Sang *et al.*, 2011) مورد بررسی قرارگرفته و عواملی از جمله افزایش وزن، افزایش لیزوزیم و افزایش مقاومت به بیماری را نشان داده است که مطابق با نتایج بهبود عملکرد وزن و طول در ماهیان این مطالعه می‌باشد. علت این افزایش در شاخص‌های رشد مانند پروبیوتیک‌ها بیشتر شدن عملکرد باکتری‌های مفید روده و در نتیجه افزایش هضم، جذب و اشتها است.

همچنین نتایج آزمایش حاضر نشان داد که گونه‌های باکتری‌های اسیدلاکتیکی تحت تاثیر استفاده از مکمل غذایی اگریموس، جمعیت غالب فلور میکروبی روده را در برگرفته است که همسو با نتایج Dimitroglou و همکاران (۲۰۱۱) بر روی ماهی سیم دریایی می‌باشد. همچنین در مطالعاتی دیگر که بر ماهی قزل آلا صورت گرفت، هموژنیتی میکروفلور روده و کاهش غنای گونه با استفاده از مکمل MOS مشاهده شد (Dimitroglou *et al.*, 2010; Amani Denji *et al.*, 2015). این هموژنیتی ناشی از محدود شدن رشد برخی از گونه‌های باکتری‌ها بوده و در این مطالعه جمعیت به سمت باکتری‌های اسیدلاکتیکی سوق یافت. همان‌گونه که پیش‌تر نیز اشاره شد افزایش اسیدلاکتیک منجر به اسیدی شدن محیط لوله گوارش و کاهش رشد عوامل بیماری‌زا و نیز افزایش مقاومت موجود به استرس‌های محیطی می‌شود.

در مطالعه دیگری با استفاده از مکمل MOS پس از دوره ۶۰ روزه استفاده در بچه ماهی قزل آلای رنگین کمان، افزایش معنی‌داری در وزن، نرخ رشد ویژه (SGR) و ضریب تبدیل غذایی (FCR) در تیمار پربیوتیکی مشاهده شد. ماهیان تیمار شده با این مکمل بیشترین تعداد باکتری‌های اسیدلاکتیکی را نسبت به گروه کنترل نشان دادند اما اختلاف میان آن-ها معنی‌دار نبود (Amani Denji *et al.*, 2015)، در مطالعه حاضر نتایج مشابه در شاخص‌های طول، وزن و تعداد باکتری‌های اسیدلاکتیکی در پی استفاده از پربیوتیک اگریموس مشاهده شد. اما بر خلاف مطالعه حاضر نتایج بررسی اثر مکمل MOS بر رشد، سیستم ایمنی و مورفولوژی روده تیلاپیای رود نیل توسط Yuji-Sado و همکاران (۲۰۱۵) نشان داد که آن‌ها در طول ۶۰ روز تغذیه تیلاپیا با دزهای ۰، ۰/۲، ۰/۴ و ۰/۶ درصد این مکمل، اثر معنی‌داری در سطح ۵٪ روی رشد و سیستم ایمنی این ماهی مشاهده نکردند. می-توان گفت تعدد تفاوت نتایج حاصله از مرور منابع گاه به‌وسیله پیچیدگی ساختار کربوهیدراتی دیواره سلولی مخمر قابل توجیه است که مرتبط با سویه‌های مختلف و شرایط تخمیر بوده و بسته به روش‌های فرایند نمودن

غذا تحت تأثیر قرار می‌گیرد (Newman, 2007).

از آن‌جایی که استفاده از مکمل های غذایی در این مطالعه نیز مانند مطالعاتی از جمله تحقیق Mandal و همکاران (۲۰۱۵) نشانگر پایدار شدن و درصد قابل توجه باکتری های اسیدلاکتیکی نسبت به کل فلور باکتریایی روده بود، می‌توان گفت که میکروبیوتای روده در مهره‌داران عالی مختص میزبان است؛ اما شمار و تنوع آن‌ها با شرایط فیزیولوژیک و محیطی مانند ژنوتیپ میزبان، زیستگاه و تغذیه تغییر می‌کند.

## ۵. نتیجه‌گیری

از آن‌جایی که مطالعات مختلف صورت گرفته بر آبزیان تاکنون نتایج مختلفی را نشان داده و بر این اساس موافقین استفاده از این مکمل‌ها، مخالفینی را در برابر خود دارند، مطالعات بیشتر بر شاخص‌های مختلف ایمنی و رشد گونه‌های تجاری توصیه می‌شود. نتایج این مطالعه نشان داد استفاده از مکمل‌های غذایی تجاری باکتوسل و اگریموس عملکرد مؤثری در بهبود فرایند رشد و فلور باکتریایی روده به خصوص جوامع باکتری‌های اسید لاکتیکی آن داشته و مقاومت ماهیان زبرا را نسبت به استرس شوری و دمای بالا که یکی از دغدغه‌های پرورش است افزایش می‌دهد. اگرچه تعیین دز مؤثر این مکمل‌ها بسته به نوع گونه متفاوت بوده و شرایط محیطی می‌تواند بر میزان کارایی آن‌ها اثرگذار باشد اما نکته مهم دیگر این است که استفاده از مکمل های غذایی این‌چنینی برخلاف داروهای معمول نه تنها اثر مخربی بر محیط زیست نداشته بلکه در دراز مدت به علت اثر چندگانه بهبود ایمنی و رشد مقرون به صرفه نیز می باشند.

# References


Amani Denji, K., Razeghi Mansour, M., Akrami, R., Ghobadi, Sh., Jafarpour, S.A., Mirbeygi, S.K., 2015. Effects of dietary prebiotic mannan oligosaccharide (MOS) on growth performance, intestinal microflora,body composition, haematological and blood serum biochemical parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) juveniles. *Journal of Fisheries and Aquatic Science* 10(4), 255-265.

Azari Takami, Gh., 2008. Propagation and breeding of sturgeon. University press, Tehran. 401 p.

Bates, J.M., Mittage, E., Kuhlman, J., Baden, K.N., Cheesman, S.E., Guillemin, K., 2006. Distinct signals from the microbiota promote different aspects of zebrafish gut differentiation. *Developmental Biology* 297, 374-386.

Burr, G., Gatlin, D., 2005. Microbial ecology of the gastrointestinal tract of fish and the potential application of prebiotics and probiotics in finfish aquaculture. *Journal of World Aquaculture Society* 36(4), 425-436.

Dhanaraj, M., Haniffa, M.A., Arun Singh, S.V., Jesu Arockiaraj, A., Muthu, C., Seetharaman, S., Arthimanju, R., 2010. Effect of probiotics on growth performance of Koi Carp (*Cyprinuscarpio*). *Journal of Applied Aquaculture* 22(3), 202-209.6.

Dimitroglou, A., Merrifield, D.L., Spring, P., 2010. Effects of mannan oligosaccharide (MOS) supplementation on growth performance feed utilization, intestinal histology and gut microbiota of gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Aquaculture* 300, 182-188.

Dimitroglou, A., Reynolds, P., Ravnoy, B., Johnsen, F., Sweetman, J., Johansen, J., Davies, S., 2011. The effect of mannan oligosaccharide supplementation on atlantic salmon smolts (*Salmo salar* L.) fed diets with high levels of plant proteins. *Journal of Aquaculture Research and Development* 3, 1-6.

FadaiRayeni, M., Enayat, T., Ahmadifar, E., 1396. The effect of inulin prebiotic on resistance to environmental stresses (tempreture, salinity, oxygen and acidite) and intestinal Lactobacillus in zebrafish. *Researches of Practical Ichthyology* 5(4), 75-86. (In Persian)

Ganguly, S., Paul, I., Mukhopadhayay, S.K., 2010. Application and effectiveness of immunostimulants, probiotics and prebiotics in aquaculture: a review. *The Israeil Journal of Aquaculture* 62(3), 130-138.

Ghanbari, M., Kneifel, W., Domig, K.J., 2015. A new view of the fish gut microbiome: advances from next-generation sequencing. *Aquaculture* 448, 464-475.

Hoseini, E., Bazrgar, S., Dianat pour, V., Bazrgar, L., 1392. Economic effects of Bactocell on rainbow health. *Research of Agricultural Economy* 4, 181-191. (In Persian)

Hsu, C-H., Wen, Z-H., Lin, C-S., Chakraborty, C., 2007. The Zebrafish model: use in studying cellular mechanisms for a spectrum of clinical disease entities. *Current Neurovascular Research* 4, 111-120.

Irianto, A., Austine, B., 2002. Probiotics in aquaculture. *Fish Disease* 25, 1-10.

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

JenabiHaghparast, R., Meshkini, S., Toukmeh chi, A., 1392. Effects of Bactocell and mannan oligosaccharides on growth and immunity of rainbow trout. *Veterinary Research Journal* 68(4), 375-382. (In Persian)

Kazemi, E., RastianNasab, A., Gandomkar, H., Mahdavi, J., Mahmoudi, R., 1395. The effect of Bactocell probiotic on some growth factors of rainbow trout. *Journal of Animal Environment* 8(1), 215-222. (In Persian)

Lardelli, M., 2008. Using Zebrafish in human disease research: some advantages, disadvantages and ethical considerations. ANZCCART conference, Auckland, Newzealand. pp. 23-28.

Lau, E., Carvalho, D., Pina-Vaz, C., Barbosa, J.A., Freitas, P., 2015. Beyond gut microbiota: understanding obesity and type 2 diabetes. *Hormones* 14, 358-369.

Mandal, R.S., Saha, S., Das, S., 2015. Metagenomics surveys of gut microbiota. *Genomics Proteomics Bioinformatics* 13, 148-158.

Michael, E.T., Amos, S.O., Hussaini, L.T., 2014. A review on probiotics application in aquaculture. *Fisheries and Aquaculture Journal* 5(4), 1-3.

Modaberi, A., Azari Takami, Gh., Behmanesh, Sh., Khara, H., 1392. The effects of dietary Bactocell on growth factors and gut microbiota of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture Development* 7(4), 77-87. (In Persian)

Mohamed, K., Megahed, M.E., Ali, M.A.M., 2017. Effects of dietary supplementation of AgriMOS® on growth performance, feed utilization and immunological parameters of *Macrobrachium rosenbergii* juveniles. *Aquaculture International* 25, 1441-1452.

23. Nekoubin, H., Gharedaashi, E., Imanpour, M.R., Nowferesti, H., Asgharimoghadam, A., 2012. The influence of symbiotic (*Biominimbo*) on growth factors and survival rate of zebrafish (*Danio rerio*) larvae via supplementation with Biomar. *Global Vterinaria* 8(5), 503-506.

Newman, K., 2007. Form follows function in picking MOS product. *Feedstuffs* 79, 1-2.

Refstie, S., Baeverfjord, G., Seim, R.R., Elvebo, O., 2010. Effects of dietary yeast cell wall β-glucans and MOS on performance, gut health, and salmon lice resistance in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed sunflower and soybean meal. *Aquaculture* 305, 109-116.

Rolim, P.M., 2015. Development of prebiotic food products and health benefits. *Food Science and Technology* 35(1), 3-10.

Sado, R.Y., Bicudo, A.J.A., Cyrino, J.E.P., 2008. Feeding dietary mannan oligosaccharides to juvenile Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* have no effect on hematological parameters and showed decreased feed consumption. *Journal of World Aquaculture Society* 39(6), 821-826.

Sang, H.M., Fotedar, R., Filer, K., 2011. Effects of dietary mannan oligosaccharide on survival, growth, physiological condition, and immunological responses of marron, *Cherax tenuimanus* (Smith 1912). *Journal of World Aquaculture Society* 42(2), 230-241.

Singla, V., Chakkaravarthi, S., 2017. Applicattions of prebiotics in food industry: a review. *Food Science and Technology International* 23(8), 649-667.

Sneath, P.H.A., Mair, N.S., Sharpe, M.E., Holt, J.G., 1986. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. The Williams & Wilkins Co., Baltimore and London.

Song, S.K., Beck, B.R., Kim, D., 2014. Prebiotics as immunostimulants in aquaculture: a review. *Fish and Shellfish Immunology* 40, 40-48.

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

Torrecillas, S., Makol, A., Caballero, R.J., Montero, D., Robaina, L., Real, F., Sweetman, J., Tort, L., Izquierdo, M.S., 2007. Immune stimulation and improved infection resistance in European sea bass (Dicentrarchuslabrax) fed mannan oligosaccharides. *Fish and Shellfish Immunology* 23, 969-981.

Torrecillas, S., Montero, D., Izquierdo, M., 2014. Improved health and growth of fish fed mannan oligosaccharides: potential mode of action. *Fish and Shellfish Immunology* 36, 525-544.

Valcarce, D.G., Pardo, M.A., Riesco, M.F., Cruz, Z., Robles, V., 2015. Effects of diet supplementation with a commercial probiotic containing *Pediococcus acidilactici* (Linder, 1887) on the expression of five quality markers in zebrafish (*Danio rerio* (Hamilton, 1822)) testis. *Journal of Applied Ichthyology* 31, 18-21.

Vasquez, P. I., Osorio, F., Riquelme, S., Castro, S., Herzog, R., 2012. Zebrafish: A model for behavioral pharmacology. *Revista de Farmacologia de Chile* 5(1), 27-32.

Wallace, K.N., Dolan, A.C., Seiler, C., Smith, E.M., Yusuff, S., Chaille-Arnold, L., Judson, B., Sierk, R., Yengo, C., Sweeney, H.L., Pack, M., 2005. Mutation of smooth muscle Myosin causes epithelial invasion and cystic expansion of the zebrafish intestine. *Developmental Cell* 8(5), 717-726.

Yuji-Sado, R., Raulino-Domanski, F., Freitas, P.F., Baioco-Sales, F., 2015. Growth, immune status and intestinal morphology of Nile tilapia fed dietary prebiotics (mannan oligosaccharides-MOS). Lat. Am. *Journal of Aquaculture Research* 43(5), 944-952