شیلات، مجله منابع طبیعی ایران
دوره ۷۵، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۱
صفحات ۴۶۲-۴۴۹

تولید بیوسیلاژ از روده مرغ و تاثیر آن بر شاخص‌های سرمی، کیفیت عضله و فلور باکتریایی دستگاه گوارش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

رضا صفری[1*]، مریم قیاس[2]، محمد بینایی[2]، عبداله جعفری[2]، سهیل ریحانی پول[3]، مجید ابراهیم‌زاده[2]

۱.استادیار پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ساری، ایران
۲.کارشناس پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ساری، ایران

۳. دانش‌آموخته دکتری تخصصی، گروه فراوری محصولات شیلاتی، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

تاریخ ارسال: ۱۴۰۰/۰۴/۱۳ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۲/۲۹

چکیده

هدف تحقیق حاضر بررسی اثر جایگزینی بیوسیلاژ حاصل از روده مرغ با پودر ماهی در جیره بر شاخص‌های سرمی، کیفیت عضله و فلور باکتریایی دستگاه گوارش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (پرورش‌یافته در دو مزرعه؛ روستای کارکنده با آب چاه و مزرعه سد با آب رودخانه – شهرستان ساری) بود. به این منظور پس از تولید بیوسیلاژ از ضایعات، جیره غذایی حاوی مقادیر ۵۰ و ۱۰۰ درصد بیوسیلاژ تهیه و یافته‌ها در کنار شاهد (جیره تجاری) مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج شاخص‌های سرمی در هر دو مزرعه، حاکی از افزایش پروتئین کل، IgM و لیزوزیم در تیمار ۱۰۰ درصد بود و تیمارهای ۵۰ درصد و شاهد در مراتب بعد قرار داشتند ($p<۰/۰۵$). مقدار آلبومین در ماهیان روستای کارکنده در بین تیمارها فاقد اختلاف معنی‌دار بود ($p>۰/۰۵$) اما در ماهیان سد بیشترین میزان در تیمار ۱۰۰ درصد بیوسیلاژ ثبت شد ($p<۰/۰۵$). مقادیر رادیکال آزاد اکسیژن در ماهیان روستای کارکنده در تیمار شاهد بیشتر از دو تیمار حاوی بیوسیلاژ بود ($p<۰/۰۵$) اما در ماهیان مزرعه سد، بالاترین حد شاخص مذکور در تیمار ۱۰۰ درصد گزارش شد ($p<۰/۰۵$). نتایج تجزیه کیفی لاشه نشان داد که در هر دو مزرعه میزان پروتئین و خاکستر در تیمار حاوی ۵۰ درصد بیوسیلاژ بیشتر از تیمارهای دیگر است ($p<۰/۰۵$). اما میزان چربی در تیمار مذکور کمتر از بقیه بود ($p<۰/۰۵$). در بررسی فلور باکتریایی دستگاه گوارش ماهی مشخص گردید که جمعیت باکتری‌های هوازی و اسیدلاکتیک بطور معنی‌داری در تیمار ۵۰ درصد بیوسیلاژ بیشتر از دو تیمار دیگر بود و تیمارهای ۱۰۰ درصد و شاهد به ترتیب در مرتبه بعد قرار داشتند ($p<۰/۰۵$). بنابر یافته‌ها، استفاده از بیوسیلاژ به عنوان جایگزین مطلوبی برای پودر ماهی در تغذیه ماهی قزل‌آلا مطرح است و به بهبود شاخص‌های سرمی، کیفیت عضله و فلور باکتریایی دستگاه گوارش کمک می‌کند.

واژگان کلیدی: بیوسیلاژ، قزل‌آلای رنگین‌کمان، شاخص‌های سرمی، فلور میکروبی، کیفیت عضله.

* نویسنده مسئول: رضا صفری
Email: safari1351@gmail.com

Journal of Fisheries
Vol. 75, No. 3, Autumn 2022
pp. 449-462

Production of biosilage from chicken intestine and its effect on serum factors, muscle quality and bacterial flora of the gastrointestinal tract of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)

Reza Safari[1*], Maryam Ghiasi[2], Mohammad Binaei[2], Abdollah Jafari[2], Soheyl Reyhani Poul[3], Majid Ebrahimzadeh[2]

1. *Assistant Professor, Caspian Sea Ecological Research Center, Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization, Sari, Iran*

2. *Expertise, Caspian Sea Ecological Research Center, Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization, Sari, Iran*

3. *PhD Graduate, Department of Processing of Fishery Products, Faculty of Fisheries and Environment, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran*

Received: 13-Jul-2021 **Accepted: 20-Mar-2022**

Abstract

The aim of the present study was to investigate the effect of replacing biosilage from chicken intestine with fish meal in the diet on serum indices, muscle quality and digestive system bacterial flora of Rainbow trout (Raised in two farms of Karkandeh village with well water and dam farm with river water-Sari city). For this purpose, after producing biosilage from the waste, diets containing 50 and 100% biosilage were prepared and the findings were evaluated along with the control. The results of serum indices in both farms showed an increase in total protein, IgM and lysozyme in 100% treatment, and 50% and control treatments were in the next order ($p<0.05$). The amount of albumin in the fishes of Karkandeh village was not significantly different between the treatments ($p>0.05$), but in the dam fishes, the highest amount was recorded in the 100% biosilage treatment ($p<0.05$). The amount of free oxygen radicals in the fishes of Karkandeh village in the control treatment was more than the two treatments containing biosilage ($p<0.05$), but in the dam fishes, the highest level of the mentioned index was reported in the 100% treatment ($p<0.05$). The results of carcass qualitative analysis showed that in both farms the amount of protein and ash in the treatment containing 50% of biosilage was higher than other treatments ($p<0.05$). But the amount of fat in the mentioned treatment was less than the others ($p<0.05$). In the study of bacterial flora of fish gastrointestinal tract, it was found that the population of aerobic and lacticacid bacteria was significantly higher in 50% biosilage treatment than the other two treatments, and 100% and control treatments were in the next rank, respectively ($p<0.05$). According to the findings, the use of biosilage is a desirable alternative to fish meal in the Rainbow trout diet and helps to improve serum indices, muscle quality and bacterial flora of the gastrointestinal tract.

Keywords: Biosilage, Rainbow trout, Serum indices, Microbial flora, Muscle quality.

Corresponding author: Reza Safari Email: safari1351@gmail.com

۱. مقدمه

بر اساس اطلاعات مرکز آمار ایران در سال ۱۳۹۸، صنعت تولید و پرورش طیور رتبه دوم سرمایه‌گذاری کشور پس از صنعت نفت بود. این شرایط، صنعت تولید و پرورش طیور را به صنعت راهبردی تبدیل کرده است. ظرفیت اسمی ۱۸ کشتارگاه فعال طیور در استان مازندران، کشتار ۴۴۸۰۰۰ قطعه مرغ در هر شیفت کاری است که معادل تولید بیش از ۱۰۰۰ تن گوشت مرغ در روز می‌باشد. از آنجا که میزان ضایعات غیرقابل استفاده مرغ پس از کشتار، معادل ۱۶/۵ درصد است (Zaghari, 2018)، از این رو پیش‌بینی ضایعات تولیدشده، روزانه تقریبا ۲۰۰ تن خواهد بود. این ضایعات شامل سر، پر، روده و خون می‌باشند. مقدار روده، ۶ درصد از وزن کل مرغ را تشکیل می‌دهد که با بهره‌گیری از روش‌های زیست فناوری می‌توان آن را به محصولاتی با ارزش افزوده بالا تبدیل نمود. یکی از این محصولات سیلاژ است که یک محصول تخمیری بر پایه واکنش‌های اتولیز، شیمیایی و یا میکروبی می‌باشد. سیلاژ با دو روش اسیدی و بیولوژیک تولید شده که در روش اسیدی از انواع اسیدهای آلی و معدنی (اسید فرمیک و اسید سولفوریک) استفاده می‌شود. در روش بیولوژیک از دو روش اتولیز با استفاده از آنزیم‌های داخلی و تخمیر با استفاده از آغازگرهای میکروبی استفاده می‌گردد. آغازگرهای مورد استفاده جهت تلقیح عمدتا از گروه باکتری‌های لاکتیکی هستند. یکی از روش‌های تولید سیلاژ، استفاده از باکتری‌های تولیدکننده آنزیم‌های پروتئاز به عنوان استارتر است. برای تولید بیوسیلاژ نیاز به منابع کربوهیدرات (ملاس، آرد، نشاسته) می‌باشد. باکتری‌های تجزیه‌کننده، از پروتئین امعاء و احشاء، به عنوان منبع نیتروژن و از منابع کربنی به عنوان منبع کربوهیدرات استفاده کرده و باعث تبدیل ماده جامد به یک مایع هیدرولیزشده می‌شوند. به دلیل pH اسیدی محصول، زمان ماندگاری آن بالا بوده و تحت تأثیر آلودگی‌های ثانویه قرار نمی‌گیرد. محصول تولیدشده به واسطه پروتئین قابل هضم بالا، پروفیل اسیدهای آمینه کافی و قیمت مناسب، قابلیت استفاده در فرمولاسیون جیره آبزیان را داراست و می‌توان از آن به عنوان جایگزین نسبی و یا کامل پودر ماهی استفاده نمود.

گران‌ترین ماده مورد استفاده در جیره آبزیان، پودر ماهی است و در نتیجه پس از جایگزین نمودن پودر ماهی با بیوسیلاژ، قیمت تمام‌شده جیره غذایی تهیه‌شده به‌طور چشمگیری کاهش می‌یابد (Perez, 2018; Palkar *et al*., 2018). در تحقیقات مختلف، بیوسیلاژ تهیه‌شده از ضایعات به جیره ماهیان مختلف اضافه و نتایج مثبتی گزارش شده است (Gullu *et al*., 2014; Goosen *et al*., 2014; Najim *et al*., 2014; Kamei *et al*., 2018; Shabani *et al*., 2019). با توجه به اینکه تاکنون در کشور به تولید سیلاژ بیولوژیک از روده مرغ و استفاده از آن به عنوان جایگزینی برای پودر ماهی در صنعت آبزی‌پروری توجهی نشده است، لذا تحقیق حاضر قصد دارد تا در مرحله اول از روده مرغ و باکتری‌های اتوژن به منظور تولید بیوسیلاژ استفاده کرده و محصول تولیدشده را در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان وارد نماید. در مرحله بعد اثر جیره جدید بر شاخص‌های خونی، سرمی، کیفیت عضله و فلور باکتریایی دستگاه گوارش ماهی مذکور بررسی می‌شود.

۲. مواد و روش

۲،۱. تولید بیوسیلاژ

روده مرغ (۴۰۰ کیلوگرم) از مجتمع تولید گوشت در استان گلستان، شهرستان کردکوی و همچنین کشتارگاه صنعتی طیور سیمین ناز ساری تهیه و در مجاورت زنجیره سرد و در کوتاه‌ترین زمان به پایلوت فرآوری پژوهشکده اکولوژی دریای خزر انتقال داده شد و تا زمان آزمایش در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. پس از انجمادزدایی، نمونه‌ها چرخ و به فرمانتور (یک تنی استیل، ساخت شرکت طلای سفید، مشهد، ایران) انتقال داده شدند. در مرحله بعد پس از غیرفعال‌کردن آنزیم‌های

داخلی و همچنین باکتری‌های بیماری‌زای احتمالی (سالمونلا تیفی‌موریوم[1] و اشریشیاکلی[2]) با استفاده از تیمار حرارتی (۷۰ درجه به مدت ۳۰ دقیقه)، دمای فرمانتور به دمای محیط کاهش داده شد تا شرایط ثابت گردد. سپس از باکتری‌های تجزیه‌کننده پروتئین (باسیلوس سوبتیلیس[3] و باسیلوس لیکنوفورمیس[4]) و باکتری‌های تولیدکننده اسید (لاکتوباسیلوس پلانتاروم[5]، لاکتوباسیلوس بولگاریکوس[6]، لاکتوباسیلوس رامنوسوس[7]، پدیوکوکوس اسیدی لاکتیسی[8] و لاکتوباسیلوس کازئیی[9]) تحت عنوان باکتری‌های آغازگر یا استارترهای میکروبی جهت هضم ضایعات استفاده شد (لوگ ۸ به میزان ۵ درصد). به هنگام اضافه‌نمودن استارترهای میکروبی، منبع کربوهیدرات (ملاس نیشکر به مقدار ۱۰ درصد ماده اولیه) به طور توأمان نیز اضافه گردید (ملاس نیشکر از شرکت خوراک مازندران، ساری تهیه شد). در مرحله نهایی، دمای فرمانتور در محدوده ۴۵-۴۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد و نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در این شرایط قرار گرفتند. در طی انجام فرآیند، همزن فرمانتور در فواصل زمانی معین فعال و نمونه‌ها کاملا هموژن شدند. پس از اتمام فرآیند، نمونه‌ها از دستگاه جداکننده یا سپراتور (دارای ظرفیت ۵۰۰ کیلو در ساعت، شرکت سازنده عباسی، تبریز، ایران) عبور داده شد تا روغن موجود در نمونه جدا گردد. بعد از جداکردن روغن از نمونه اصلی حاوی پروتئین تجزیه‌شده، با اضافه‌نمودن کنجاله کنجد، مقدار ماده خشک در نمونه‌های تخمیرشده را افزایش داده تا در نهایت خشک‌کردن محصول با کیفیت بهتری انجام گیرد. نمونه‌ها با استفاده از خشک‌کن صنعتی (بصورت مهندسی معکوس ساخته شد) و در دمای ۶۰-۵۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۸-۶ ساعت خشک شدند. در مرحله نهایی، نمونه‌ها با استفاده از دستگاه آسیاب (گروه صنعتی صدرا پلت، کرج، ایران) به مش‌های یکسان تبدیل و بسته‌بندی و در مکان خشک و خنک نگهداری شدند (Safari *et al*., 2021). محصول تولید شده دارای ۵۹/۰۹ درصد پروتئین، ۹/۳۲ درصد رطوبت، ۲۱/۳ درصد چربی، ۶/۱۷ خاکستر، ۸۷/۴۱ درصد قابلیت هضم ظاهری، ۱/۳۶ درصد کلسیم و ۰/۶۲ درصد فسفر بود.

۲،۲. تهیه ماهی و مکان پرورش

برای ارزیابی آزمایشات فارمی و تاثیر جیره غذایی تهیه‌شده بر پایه بیوسیلاژ و مقایسه آن با جیره تجاری، دو مزرعه واقع در شهرستان ساری؛ مزرعه سردآبی در مجاورت سد شهید رجایی (استفاده از آب رودخانه جهت پرورش، دمای ۸ تا ۸/۲ درجه سانتی‌گراد، اکسیژن محلول ۷/۳۲ تا ۱۱/۵۲ میلی‌گرم بر لیتر، pH بین ۸/۳ تا ۸/۴، هدایت الکتریکی بین ۰/۵۸۱ تا ۰/۵۹۸ میلی‌زیمنس بر سانتی‌متر، مواد جامد محلول بین ۰/۲۹۱ تا ۰/۳۱۶ گرم بر لیتر، مواد جامد معلق بین ۰/۰۴۷ تا ۰/۱۱۵ گرم بر لیتر) و مزرعه واقع در روستای کارکنده (استفاده از آب چاه جهت پرورش، دمای بین ۱۴/۵ تا ۱۵ درجه سانتی-گراد، اکسیژن محلول بین ۵/۵۲ تا ۶/۹۶ میلی‌گرم بر لیتر، pH بین ۷/۴۳ تا ۷/۷۱، هدایت الکتریکی بین ۱/۲۱۴ تا ۱/۲۱۹ میلی‌زیمنس بر سانتی‌متر، مواد جامد محلول بین ۰/۶۰۸ تا ۰/۶۱ گرم بر لیتر، مواد جامد معلق بین ۰/۱ تا ۰/۵ گرم بر لیتر) انتخاب شدند. ماهی‌ها در حمام نمک ۲۰-۱۵ گرم در لیتر به مدت ۳۰ دقیقه همراه با هوادهی به منظور اطمینان از عدم حضور عوامل بیماری‌زا در کانال‌های بتونی با سیستم جریان باز آب و هوادهی مداوم نگه‌داری شدند و طی این مدت از جیره پایه (خوراک اکسترود ماهی قزل آلا مرحله پیش پرواری از نوع GFT2، شرکت پرشین فید) تغذیه شدند. برای پرورش ماهی قزل‌آلا در مزرعه واقع در سد از کانال‌های بتونی به طول ۲۰ و عرض ۳ و ارتفاع ۱ متر استفاده شد. برای هر تیمار، کانال‌های مورد نظر با استفاده از تور

[1] *Salmonella typhimurium*
[2] *Escherichia coli*
[3] *Bacillus subtilis*
[4] *Bacillus licheniformis*
[5] *lactobacillus plantarum*
[6] *Lactobacillus bulgaricus*
[7] *Lacticaseibacillus rhamnosus*
[8] *Pediococcus acidilactici*
[9] *Lactobacillus Casei*

صیادی به سه قسمت تقسیم شدند. در حقیقت یک کانال نشان‌دهنده هر تیمار با ۳ تکرار بوده است. ماهیان به مدت ۵۰ روز با جیره‌های تهیه‌شده تغذیه شدند. برای انجام آزمایشات در مزرعه کارکنده از ۶ حوضچه پرورش از جنس فایبرگلاس با ابعاد ۰/۵×۲×۲ متر با گنجایش ۲ متر مکعب استفاده شد. دوره آزمایش نیز مشابه مزرعه سد بود. آب مورد استفاده برای پرورش، آب چاه بود که پس از هوادهی وارد حوضچه‌ها می‌شد. حجم آب هر یک از حوضچه‌های پرورش ۱۸۰۰ لیتر بود. غذادهی بر اساس جدول غذادهی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (بر اساس درجه حرارت آب) و تعداد دفعات غذادهی دو بار (صبح، عصر) در روز و به صورت دستی انجام گرفت.

۲،۳. فرمولاسیون جیره

میانگین وزن ماهیان قزل‌آلا در مزرعه کارکنده ۰/۹۶±۲۱۲/۰۷ گرم با طول متوسط ۰/۰۴±۲۵/۴۲ سانتی‌متر و در مزرعه سد ۰/۳۸±۱۲۰/۵۹ گرم با طول متوسط ۰/۰۷±۲۲/۰۱ سانتی‌متر بود. جیره تعریف‌شده دارای ۴۲ تا ۴۳ درصد پروتئین است. بر این اساس ۳ تیمار شامل جیره تجاری اکسترود (۱۰۰ درصد پودر ماهی)، جیره ۵۰ درصد (حاوی ۵۰ درصد بیوسیلاژ و ۵۰ درصد پودر ماهی) و جیره ۱۰۰ درصد (فاقد پودر ماهی و دارای ۱۰۰ درصد بیوسیلاژ) تهیه شدند (جدول ۱). لازم به ذکر است که میزان پروتئین و چربی پودر ماهی کیلکا مورد استفاده به ترتیب ۵۶/۲۵ و ۲۲/۳۱ درصد بوده است. بعد از تنظیم فرمول جیره غذایی و آماده‌نمودن مواد مورد نیاز، تهیه جیره‌های غذایی به شرح زیر انجام گرفت. ابتدا پودر ماهی به منظور نرم و یکدست‌شدن نمونه، آسیاب گردید. سپس مواد اولیه مورد نیاز برای ساخت هر یک از جیره‌های غذایی، با استفاده از ترازوی دیجیتالی توزین و در ظرف به خوبی هم زده شد. در مرحله بعد روغن به مواد اولیه اضافه شد و برای چند دقیقه کاملاً با هم مخلوط شدند. نمونه‌های همگن‌شده به دستگاه پلت‌زن (ساخت شرکت دومیشا، اصفهان، ایران) منتقل و الک خروجی آن، با مش به قطر ۵-۲ میلی‌متر تنظیم گردید. نمونه‌های پلت‌شده به بسته‌های پلاستیکی زیپ‌پک شماره‌گذاری شده انتقال یافتند و در مکان خشک نگهداری شدند.

۲،۴. آزمایش های خونی و سرمی

خونگیری ۵۰ روز بعد از تغذیه از جیره‌های آزمایشی انجام شد. بدین ترتیب که پس از ۲۴ ساعت قطع غذا، تعداد ۴ قطعه ماهی از هر تکرار (جمعاً ۸ قطعه ماهی از هر تیمار از حوضچه‌های فایبرگلاس و ۱۲ قطعه ماهی از هر تیمار در استخرهای بتنی) به طور تصادفی صید شدند. برای حوضچه فایبرگلاس به لحاظ انتخاب ۲ تکرار برای هر تیمار، تعداد نمونه‌های منتخب برای آزمایشات هماتولوژی، تعداد ۸ قطعه ماهی برای هر تیمار بوده است. در مجموع برای ۶ حوضچه فایبرگلاس، ۲۴ قطعه ماهی مورد بررسی قرار گرفت. برای استخرهای بتونی، برای هر تیمار۳ تکرار در نظر گرفته شد. با توجه به تعداد ۴ نمونه برای هر تکرار و ۱۲ نمونه برای هر تیمار، تعداد کل ماهیان مورد بررسی برای استخرهای بتونی، ۳۶ قطعه بود. نمونه‌های صیدشده، با استفاده از پودر گل میخک (۰/۵ گرم در لیتر) بیهوش شدند. خونگیری از ساقه دمی ماهیان با استفاده از سرنگ استریل انجام گرفت. ۲ میلی‌لیتر خون از سیاهرگ ساقه دمی با زاویه ۴۵ درجه اخذ و نیمی از آن به میکروتیوب حاوی ماده ضد انعقاد هپارین (۰/۲ میلی‌گرم در هر لیتر خون) و بقیه آن به میکروتیوب فاقد هپارین منتقل شد. سپس نمونه‌ها در کنار یخ سریعاً به آزمایشگاه خون‌شناسی پژوهشکده اکولوژی دریای خزر انتقال داده شدند.

۲،۴،۱. اندازه‌گیری پروتئین‌های سرم و آنتی‌بادی IgM

نمونه‌های خون پس از جمع‌آوری در میکروتیوب‌های فاقد ماده ضد انعقاد، به مدت ۲ ساعت در یخچال نگهداری و سپس در ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ (شرکت KTG، آلمان) شدند. سرم جداسازی‌شده تا زمان انجام آزمایشات در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. اندازه‌گیری فاکتورهای پروتئین کل، آلبومین و آنتی‌بادی IgM کل سرم با استفاده از کیت تجاری (پارس

آزمون، تهران) و اتوآنالایزر (Eurolyser, Belgium) انجام گرفت (Binaii *et al.*, 2014).

جدول ۱- فرمول غذایی ماهی قزل‌آلا بر پایه بیوسیلاژ ضایعات مرغ

مواد (g/100g)	جیره ۵۰ درصد	جیره ۱۰۰ درصد	جیره تجاری یا شاهد
پودر ماهی	۲۷	-	
پودر بیوسیلاژ مرغ	۳۵	۵۶	
آرد گندم	۹	۱۰	
کنجاله سویا	۵	۸	
آرد ذرت	۷/۵	۷/۵	
گلوتن ذرت	۱۰	۱۱	
روغن گیاهی	۲	۲/۵	
روغن ماهی	۲	۲/۵	
املاح معدنی[1]	۱	۱	
ویتامین[2]	۱	۱	
آنتی‌اکسیدان	۰/۰۵	۰/۰۵	
بایندر	۰/۵	۰/۵	
درصد پروتئین	۴۲/۴۳	۴۲/۴۴	۴۳/۰۳
درصد چربی	۱۵/۲۱	۱۴/۰۸	۱۴/۷۵
درصد خاکستر	۱۲/۶۷	۱۲/۵۱	۱۱/۱۷
درصد رطوبت	۱۱/۱۴	۱۰/۵۵	۹/۳۵

۱. پرمیکس معدنی (mg/Kg پرمیکس): $MgSO_4.2H_2O$: ۱۲۷/۵؛ KCl: ۵۰/۰؛ NaCl: ۶۰؛ $CaHPO_4.2H_2O$: ۷۲۷/۸؛ $FeSO_4.7H_2O$: ۲۵/۰؛ $ZnSO_4.7H_2O$: ۵/۵؛ $CuSO_4.5H_2O$: ۰/۷۸۵؛ $MnSO_4.4H_2O$: ۲/۵۴؛ $CoSO_4.4H_2O$: ۰/۴۷۸؛ $Ca(IO_3)_2.6H_2O$: ۰/۲۹۵؛ $CrCl_3.6H_2O$: ۰/۱۲۸.

۲. پرمیکس ویتامینی (در هر کیلوگرم پرمیکس): ویتامین A: IU ۱۰۰۰۰؛ ویتامین D_3: IU ۲۰۰۰؛ ویتامین E: ۱۰۰mg؛ ویتامین K: ۲۰mg؛ ویتامین B_1: ۴۰۰mg؛ ویتامین B_2: ۴۰mg؛ ویتامین B_6: ۲۰mg؛ ویتامین B_{12}: ۰/۰۴mg؛ بیوتین: ۰/۲mg؛ کولین‌کلراید: ۱۲۰۰mg، فولیک‌اسید: ۱۰mg؛ اینوسیتول: ۲۰۰mg؛ نیاسین: ۲۰۰mg؛ پانتوتنیک‌کلسیم، ۱۰۰mg.

۲.۴.۲. سنجش انفجار تنفسی

۰/۵ میلی‌لیتر از خون هپارینه با محلول هنکس تا ۰/۱ حجم اولیه رقیق گردید. محلول هنکس[1] از ترکیب سدیم‌کلرید (gL^{-1} ۸۰)، پتاسیم‌کلرید (gL^{-1} ۴۰)، گلوکز (gL^{-1} ۱۰)، KH_2PO_4 (gL^{-1} ۶۰۰) و $Na_2HPO_4.H_2O$ (mgL^{-1} ۹۰۰) تولید شد. بعد از تهیه محلول هنکس، pH محلول با استفاده از محلول هیدروکسید سدیم ۰/۱ نرمال در pH=۶/۷ تنظیم شد. محلول فوق به عنوان استوک بوده و در زمان استفاده با آب مقطر استریل به میزان ۰/۱ رقیق می‌شد. محلول‌لومینول[2] با ترکیب پتاسیم هیدروکسید (gL^{-1} ۸۰)، بوریک‌اسید (gL^{-1} ۴۰)، لومینول (gL^{-1} ۱۰) و آب مقطر (۱۰ml) ساخته شد. برای انجام این آزمایش از میکروپلیت‌های ۹۶ خانه‌ای استفاده شد. در هر چاهک میکروپلیت، ۲۰۰ میکرولیتر خون رقیق‌شده، ۱۰۰ میکرولیتر محلول لومینول و ۱۰۰ میکرولیتر محلول ردامین (این محلول از ترکیب ۰/۰۰۴۷ گرم و ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر ساخته شد) ریخته شد. پس از قراردادن نمونه‌ها در چاهک میکروپلیت بلافاصله در محل خود در دستگاه Luminoscan Ascent (Thermo, Finland) قرار گرفته و دستگاه روشن گردید و سپس میزان رادیکال آزاد اکسیژن بر حسب RLU/s قرائت گردید (Binaii *et al.*, 2014). در این آزمایش برای

[1] Henex
[2] Luminol

هر نمونه ۳ تکرار در نظر گرفته شد.

۲،۴،۳. تعیین فعالیت لیزوزیم

سطح فعالیت لیزوزیم به روش کدورت سنجی و با استفاده از سوسپانسیون باکتری میکروکوکوس لیزودیکتیکوس[1] و آنزیم مورآمیداز[2] صورت گرفت. جهت تعیین غلظت لیزوزیم از منحنی استاندارد استفاده شده و برای انجام آن از غلظت‌های ۲، ۴، ۸، ۱۶، ۳۲، ۶۴، ۱۲۸ و ۲۵۶ میکروگرم در میلی‌لیتر لیزوزیم سفیده تخم مرغ (Sigma) در بافر فسفات تهیه و جذب نوری در طول ۶۰۰ نانومتر بعد از ۱۵ و ۱۸۰ ثانیه قرائت گردید. در مرحله بعد، ۲۰۰ میکرولیتر از محلول باکتری با ۲۵ میکرولیتر سرم، مخلوط شده و جذب نوری در طول موج ۶۰۰ نانومتر بعد از ۱۵ و ۱۸۰ ثانیه قرائت گردید. از بافر فسفات سدیم به عنوان بلانک یا شاهد استفاده گردید (Ellis, 1990).

۲،۵. سنجش فلور باکتریایی دستگاه گوارش ماهی

به منظور ارزیابی تاثیر تیمارهای مورد نظر بر تغییرات فلور باکتریایی دستگاه گوارش ماهی قزل‌آلا، تعداد ۴ نمونه از هر تکرار (تعداد ۱۲ نمونه برای هر تیمار برای استخرهای بتونی و ۸ نمونه برای حوضچه‌های فایبرگلاس) مورد بررسی قرار گرفت. نمونه‌گیری از روده ماهی در شرایط استریل انجام شد. ابتدا قسمت شکمی ماهی با استفاده از الکل اتانول ۷۰ درصد استریل گردید. پس از برش خط میانی شکم، محتویات روده ماهی خارج و به پلیت‌های استریل انتقال داده شد. ۱ گرم از محتویات روده به لوله حاوی ۹ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی ۰/۸۵ درصد اضافه و رقت ۰/۱ تهیه شد. بر اساس این رقت، رقت‌های متوالی[3] تهیه گردید. از رقت‌های مذکور، جهت ارزیابی شمارش کلی باکتری‌های هوازی و باکتری‌های گروه لاکتیک استفاده شد (Pollock *et al*., 2002).

۲،۵،۱. شمارش کلی باکتری‌های هوازی

بعد از تهیه محیط کشت، با میکروسمپلر، ۰/۱ میلی-لیتر از نمونه‌های رقیق‌شده، بر روی محیط کشت (TSA) به طور سطحی کشت داده شد. در صورت نیاز (بالابودن تعداد باکتری‌ها)، رقیق‌سازی نمونه‌ها (تا لوگ ۶) در محلول سرم فیزیولوژی انجام و پلیت‌های کشت داده‌شده بعد از ۴۸ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۵ درجه سانتی-گراد، شمارش شدند (Ringo *et al*., 1997; Sallam, 2007; Baurhoo *et al*., 2009; Hernández *et al*., 2009; Giannenas *et al*., 2010).

۲،۵،۲. شمارش باکتری‌های گروه لاکتیک

۰/۱ میلی‌لیتر از رقت تهیه‌شده از محتویات روده بر روی محیط کشت (MRS) به طور سطحی کشت داده شد. نمونه‌ها در جار بی‌هوازی حاوی گاز پک نوع C قرار داده شده و در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت انکوبه شدند (Ringo and Gatesoupe, 1998; Baurhoo *et al*., 2009; Giannenas *et al*., 2010; Arfat *et al*., 2015).

۲،۶. تجزیه بیوشیمیایی کیفی عضله

به منظور ارزیابی تاثیر تیمارهای مورد نظر بر کیفیت لاشه (پروتئین، چربی، رطوبت و خاکستر)، تعداد ۴ نمونه از هر تکرار (تعداد ۱۲ نمونه برای هر تیمار برای استخرهای بتونی و ۸ نمونه برای حوضچه‌های فایبرگلاس) مورد بررسی قرار گرفت. نمونه‌ها تا زمان آزمایش در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. برای تهیه نمونه‌ها، ابتدا پوست ماهی با استفاده از قیچی و اسکالپل استریل کنار زده شد و از بافت عضله به مقدار مشخص برداشت و جهت تعیین ترکیب کیفی عضله استفاده شد (AOAC, 2005).

۲،۷. تجزیه و تحلیل آماری داده ها

پژوهش حاضر در قالب طرح کاملا تصادفی اجرا و جهت آنالیز داده‌ها از نرم افزار $SPSS_{18}$ استفاده شد. بررسی ارتباط معنی‌دار بین داده‌ها از طریق آزمون تجزیه واریانس یک-

[1] *Micrococcus lysodeikticus*
[2] Muramidase
[3] Serial dilution

طرفه (One-Way ANOVA) و مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد انجام گرفت.

۳. نتایج

۳,۱. شاخص‌های سرمی (مزرعه روستای کارکنده)

نتایج ارزیابی‌های سرمی و خونی ماهیان روستای کارکنده (جدول ۲) نشان داد که میزان IgM سرم در گروه دریافت‌کننده بیوسیلاژ به طور معنی‌داری بیشتر از گروه شاهد است ($p<۰/۰۵$). همچنین در بین تیمارها میزان IgM سرم تیمار ۱۰۰ درصد بیوسیلاژ به طور معنی‌داری بیشتر از تیمار ۵۰ درصد بیوسیلاژ بود ($p<۰/۰۵$). میزان پروتئین کل سرم در تیمارهای دریافت‌کننده بیوسیلاژ ($p>۰/۰۵$) در مقایسه با شاهد افزایش معنی‌داری را نشان داد ($p<۰/۰۵$). در ارزیابی میزان آلبومین تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های شاهد و تیمار مشاهده نگردید ($p>۰/۰۵$). نتایج ارزیابی رادیکال آزاد اکسیژن نشان داد که میزان این شاخص در گروه‌های تیمار ($p>۰/۰۵$) در مقایسه با شاهد به‌طور معنی‌داری کمتر است ($p<۰/۰۵$). میزان آنزیم لیزوزیم در بین سه گروه مورد بررسی دارای اختلاف معنی‌دار و بیشترین حد آن مربوط به تیمار ۱۰۰ درصد بیوسیلاژ بود ($p<۰/۰۵$).

جدول ۲- مقادیر شاخص‌های سرمی در ماهیان قزل‌آلا تغذیه‌شده با تیمارهای حاوی بیوسیلاژ حاصل از روده مرغ در مزرعه کارکنده

تیمار/فاکتور	IgM(mg/dl)	پروتئین کل (g/dl)	آلبومین (g/dl)	رادیکال آزاد اکسیژن (RLU/S)	لیزوزیم (µg/ml)
شاهد	۹۲/۷۵±۱۷/۸۷^{c}	۵/۱±۰/۵۸^{b}	۲/۷۱±۰/۰۹^{a}	۱۷۴۹±۱۹۰/۶۴^{a}	۳/۶۹±۰/۷۹^{c}
۵۰ درصد	۱۲۶/۴۷±۱۱/۰۳^{b}	۶/۰۶±۰/۵۲^{a}	۲/۷۸±۰/۲۱^{a}	۱۲۵۲/۲±۱۰۷/۹^{b}	۴/۸۶±۰/۵۶^{b}
۱۰۰ درصد	۱۵۳/۲± ۱۸/۶۹^{a}	۵/۸۲±۰/۵^{a}	۲/۴۸±۰/۳۴^{a}	۱۲۰۸/۲۵±۱۲۲/۰۸^{b}	۵/۱۹±۱/۰۴^{a}

* حروف متفاوت لاتین در بالای اعداد در هر ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین داده‌ها ست ($p<۰/۰۵$).

۳.۲. شاخص‌های سرمی (مزرعه سد شهید رجایی)

نتایج تغییرات پارامترهای سرمی ماهیان مزرعه سد (جدول ۳) نشان داد که میزان IgM سرم در هر سه تیمار مورد بررسی دارای اختلاف معنی‌دار بوده ($p<۰/۰۵$) و بیشترین مقدار مربوط به تیمار ۱۰۰ درصد می‌باشد. مقدار پروتئین کل سرم در گروه‌های تیمار دریافت‌کننده بیوسیلاژ ($p>۰/۰۵$) در مقایسه با شاهد افزایش معنی‌داری را نشان داده است ($p<۰/۰۵$). میزان آلبومین هر سه تیمار با یکدیگر اختلاف معنی‌داری داشتند و بیشترین میزان آن مربوط به تیمار ۱۰۰ درصد بود ($p<۰/۰۵$). میزان اختلاف رادیکال‌های آزاد اکسیژن در تیمارهای مورد بررسی معنی‌دار بوده ($p<۰/۰۵$) و بیشترین مقدار آن در تیمار ۱۰۰ درصد ثبت شد.

جدول ۳- مقادیر شاخص‌های سرمی در ماهیان قزل‌آلا تغذیه‌شده با تیمارهای حاوی بیوسیلاژ حاصل از روده مرغ در مزرعه سد

تیمار/فاکتور	IgM(mg/dl)	پروتئین کل (g/dl)	آلبومین (g/dl)	رادیکال آزاد اکسیژن (RLU/S)	لیزوزیم (µg/ml)
شاهد	۱۳۵/۵۱±۳۴/۷۶^{c}	۳/۴۳±۰/۴۵^{b}	۱/۶۳±۰/۳۴^{c}	۱۷۲۰/۳۳±۳۷۳/۳۲^{c}	۳/۸۴±۰/۹۱^{c}
۵۰ درصد	۱۴۲/۷۳ ±۱۵/۵۷^{b}	۴/۴۳±۰/۵۷^{a}	۲/۴۳±۰/۴۱^{b}	۱۹۱۹/۳۳ ±۲۱۳/۹۵^{b}	۵/۱۱±۰/۷۱^{b}
۱۰۰ درصد	۱۴۷/۷۸± ۵۱/۷۲^{a}	۴/۴۵±۰/۳۶^{a}	۲/۶۳±۰/۲۱^{a}	۲۲۰۷/۸۳±۳۰۸/۴^{a}	۵/۶۹±۱^{a}

* حروف متفاوت لاتین در بالای اعداد در هر ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین داده‌ها ست ($p<۰/۰۵$).

میزان آنزیم لیزوزیم در تیمار ۱۰۰ درصد به صورت معنی‌داری بیشتر از سایر تیمارها بود ($p<0/05$). تیمارهای ۵۰ درصد و شاهد در مرحله بعد قرار داشته و تغییرات بین سه تیمار نیز معنی‌دار ثبت شده است ($p<0/05$).

۳،۳. تجزیه کیفی بافت ماهی

مطابق نتایج جدول ۴، میزان پروتئین بافت ماهی در تیمار حاوی ۵۰ درصد بیوسیلاژ (در هر دو مزرعه) بیشتر از دو تیمار دیگر است ($p<0/05$). همچنین درصد چربی بافت در تیمار شاهد و ۱۰۰ درصد ($p>0/05$) در هر دو مزرعه بیشتر از تیمار ۵۰ درصد است ($p<0/05$). در ادامه مشخص شد که میزان رطوبت بافت در تیمار شاهد بیشتر از دو تیمار دیگر است ($p>0/05$) . مقادیر خاکستر نیز در دو تیمار حاوی بیوسیلاژ فاقد اختلاف معنی‌داری است ($p>0/05$). همچنین این مقادیر از میزان خاکستر بافت شاهد به صورت معنی‌داری بیشتر هستند ($p<0/05$).

جدول ۴-تجزیه کیفی بافت ماهیان قزل‌آلا تغذیه‌شده با تیمارهای حاوی بیوسیلاژ حاصل از روده مرغ در دو مزرعه سد و روستای کارکنده

مزرعه	تیمار	پروتئین (٪)	چربی (٪)	رطوبت (٪)	خاکستر (٪)
مزرعه کارکنده	شاهد	۱۶/۱±۵۷/۰۵^{c}	۸/۰±۲۵/۳۱^{a}	۷۴/۱±۲۵/۲^{a}	۰/۰±۸۵/۱۱^{b}
	۵۰ درصد	۱۸/۰±۰۸/۹۱^{a}	۶/۰±۴۵/۳۶^{b}	۷۳/۱±۵۲/۳۶^{b}	۱/۰±۸۶/۴۱^{a}
	۱۰۰ درصد	۱۷/۱۵ ۱±/۱۱^{b}	۸/۰±۱۷/۵۷^{a}	۷۳/۳ ۱±/۶۵^{b}	۱/۰±۴۴/۳۲^{a}
مزرعه سد	شاهد	۱۶/۱±۶۵/۵۲^{c}	۸/۰±۲۶/۲۷^{a}	۷۴/۱±۲۳/۶۳^{a}	۰/۰±۹۱/۲^{b}
	۵۰ درصد	±۱۱/۱۸ ۰/۶۴^{a}	۶/۰±۳۳/۲۹^{b}	۷۳/۱±۶۱/۲۵^{b}	۱/۰±۹۵/۳۴^{a}
	۱۰۰ درصد	۱۷/۳۶ ۱±/۲۳^{b}	۸/۰±۱۱/۴۴^{a}	۷۳/۱±۲۱/۴۷^{b}	۱/۰±۳/۲۱^{a}

* حروف متفاوت لاتین در بالای اعداد در هر ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین داده‌ها ست ($p<0/05$).

۳،۴. سنجش فلور باکتریایی دستگاه گوارش

مطابق نتایج جدول ۵، شمارش کلی باکتری‌ها و باکتری‌های اسیدلاکتیک دستگاه گوارش ماهیان مورد بررسی (در نمونه‌های هر دو مزرعه) در تیمار حاوی ۵۰ درصد بیوسیلاژ به صورت معنی‌داری بیشتر از سایر تیمارها بود و بعد از آن تیمارهای ۱۰۰ درصد و شاهد قرار گرفتند ($p<0/05$). ضمن اینکه مقادیر شمارش دو گروه از باکتری‌ها در دو مزرعه تقریبا یکسان بود.

جدول ۵- فلور باکتریایی روده ماهیان قزل‌آلا تغذیه‌شده با تیمارهای حاوی بیوسیلاژ حاصل از روده مرغ در دو مزرعه سد و روستای کارکنده

مزرعه	تیمار	شمارش کلی باکتری‌ها (CFU/gr)	باکتری‌های اسیدلاکتیک (CFU/gr)
مزرعه کارکنده	شاهد	۵/۰±۳۹/۱۲^{c}	۲/۰±۱۷/۰۷^{c}
	۵۰ درصد	±۵۸/۷ ۰/۲۳^{a}	±۶۵/۵ ۰/۰۸^{a}
	۱۰۰ درصد	۶/۵۸ ۰±/۱۶^{b}	±۴۷/۴ ۰/۰۹^{b}
مزرعه سد	شاهد	۵/۰±۵۴/۱^{c}	±۱۹/۲ ۰/۰۵^{c}
	۵۰ درصد	±۶۱/۷ ۰/۱۵^{a}	۵/۰±۶۴/۲۴^{a}
	۱۰۰ درصد	۶/۹۱ ۰±/۱۷^{b}	±۴۱/۴ ۰/۱۷^{b}

* حروف متفاوت لاتین در بالای اعداد در هر ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین داده‌ها ست ($p<0/05$).

۴. بحث و نتیجه‌گیری نهایی

یکی از عوامل مهم در غلظت سرمی IgM، تغذیه است. هر چند اسید آمینه‌های مختلفی در حفظ عملکرد سیستم ایمنی در انسان و حیوانات دخالت دارند. اما مهم‌ترین اسیدهای آمینه در این زمینه آرژنین، گلوتامین و سیستئین هستند (Kiron, 2012). با مقایسه پروفیل اسیدهای آمینه بین بیوسیلاژ تهیه‌شده در تحقیق حاضر (Safari *et al*., 2021) و پودر ماهی کیلکا (Janbakhsh *et al*., 2018) مشخص گردید دو اسیدآمینه مهم در عملکرد بهبود ایمنی یعنی آرژنین (۳/۶۱۳ درصد) و گلوتامین (۱۰/۶ درصد) از مقادیر بسیار بالاتری در بیوسیلاژ در مقایسه با پودر ماهی کیلکا برخوردار هستند (به ترتیب ۰/۷۲ و ۶/۲۵ درصد). به نظر می‌رسد همین تفاوت‌ها سبب افزایش میزان IgM کل سرم در ماهیان تیمار در مقایسه با گروه شاهد شده باشد.

تحقیقات نشان داده است که هرگونه اختلال در دریافت غذا، گرسنگی طولانی مدت و عدم بالانس پروتئین جیره منجر به کاهش پروتئین کل سرم می‌شود (Ghiasi *et al*., 2016). وجود تفاوت معنی‌دار بین میزان این شاخص بین گروه‌های تیمار و شاهد نشان می‌دهد که استفاده از بیوسیلاژ به عنوان منبع پروتئین توانسته نیازمندی ماهیان به پروتئین را کاملاً تأمین و سبب افزایش این شاخص گردد. پروتئین کل سرم شامل دو بخش آلبومین و گلبولین‌ها است. میزان آلبومین کل سرم ارتباط نزدیکی به میزان تحرک طبیعی گونه، خصوصیت و مدت زمان تحرک، فصل، مرحله بلوغ غدد جنسی و تغذیه دارد. گلوبولین‌ها شامل ایمونوگلوبولین‌ها، پروتئین‌های سیستم کمپلمان، پروتئین‌های فاز حاد، سیتوکین‌ها، لیزوزیم، ترانسفرین و لکتین‌ها هستند که همه آن‌ها بخشی از سیستم ایمنی ذاتی و اکتسابی در ماهی را تشکیل می‌دهند (Biller and Takahashi *et al*.,2018). با توجه به افزایش میزان ترکیبات پروتئینی مانند میزان IgM و تغییرات جزئی در میزان آلبومین، به نظر می‌رسد این افزایش پروتئین کل سرم ناشی از افزایش بخش گلبولینی پروتئین کل سرم است و مؤید افزایش سطح عملکرد ایمنی در ماهیان دریافت‌کننده بیوسیلاژ می‌باشد.

فعالیت انفجاری تنفسی که با تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن شامل رادیکال هیدروکسیل (HO) و آنیون سوپراکسید (O_2) همراه است یک استراتژی سیستم ایمنی ذاتی برای تخریب عوامل بیماری زا است. مطالعات نشان داده است که اسیدآمینه آرژنین، اسیدهای چرب غیر اشباع حاوی امگا ۳ و ۶، ویتامین E و C از عوامل مهم تغذیه‌ای در تولید رادیکال آزاد اکسیژن هستند (Kiron, 2012). اگرچه میزان اسیدآمینه آرژنین در ترکیب بیوسیلاژ به دست‌آمده مناسب است ولی علت این که چرا میزان تولید رادیکال آزاد اکسیژن در تیمار شاهد در مزرعه کارکنده بیشتر از سایر تیمارها بوده، چندان مشخص نیست. این در حالی است که تغییرات رادیکال آزاد در مزرعه سد در تیمار ۱۰۰ درصد بطور معنی‌داری بیشتر از سایر تیمار می‌باشد.

یکی از اولین سدهای دفاعی ماهیان در برابر عوامل بیماری‌زا، ترکیبات پپتیدی موجود در سرم از جمله لیزوزیم‌ها هستند که بواسطه اثرات ضد میکروبی، مانع از تجمع میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا در ماهی می‌شوند (Alexander and Ingram, 1992). تحقیقات مختلف نشان داده که پروتئین‌های حیوانی و گیاهی (بعنوان جایگزین نسبی پودر ماهی) و پودر و عصاره انواع گیاهان (بعنوان مکمل‌های غذایی یا پریبیوتیک)، باعث افزایش فعالیت لیزوزیم می‌شوند (Anderson, 1992; Kumari *et al*., 2007). در تحقیق Dawood و همکاران (۲۰۲۰) از پودر طیور تخمیرشده با مخمر در جیره غذایی ماهی تیلاپیا استفاده شد و تاثیر آن بر سیستم ایمنی و توانایی آنتی‌اکسیدانی مورد ارزیابی قرار گرفت. میزان جایگزینی ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ درصد بود و آزمایشات در ۸ هفته انجام گرفت. نتایج نشان داد که فعالیت‌های فاگوسیتوزی در تیمارهای ۱۰ تا ۳۰ درصد

نسبت به تیمار کنترل افزایش داشته است. همچنین تولید آنزیم لیزوزیم، فعالیت فاگوسیتوزی و فعالیت باکتری‌کشی سرم در غلظت‌های بالاتر از ۳۰ درصد کاهش یافت. در مقایسه نتایج مذکور و نتایج پژوهش حاضر مشخص می‌گردد که جایگزینی با غلظت‌های مختلف بیوسیلاژ ضایعات طیور و یا پودر طیور تخمیرشده تاثیرات متفاوتی بر شاخص‌های خونی و سرمی ماهی دارد و نمی‌توان نتیجه‌گیری یکسان و مورد انتظاری از آزمایشات داشت. در تحقیق Hernandez و همکاران (۲۰۱۴)، تاثیر جایگزینی پودر ضایعات طیور بر شاخص‌های رشد، هماتولوژی، ارزش کیفی بافت ماهی Snapper[1] مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاکی از تاثیرات مثبت ۲۵ درصد جایگزینی بود و با افزایش درصد جایگزینی به ۷۵ درصد، پروتئین کل، گلوکز و ضریب هضم پروتئین نیز به پایین‌ترین حد خود کاهش یافت.

در تحقیق انجام‌شده توسط Steffens (۱۹۹۴) از پودر ضایعات طیور به عنوان جایگزین پودر ماهی در جیره ماهی قزل آلا استفاده گردید. نتایج نشان داد که پودر ضایعات طیور قابل جایگزینی با پودر ماهی است، اما با این وجود در درصدهای بالاتر، نیاز به غنی‌سازی با اسیدآمینه‌هایی نظیر لیزین و متیونین دارد. در ادامه، ماهی تغذیه‌شده با ۲۷ درصد از ضایعات طیور (ترکیبی از روده و پر) بدون غنی‌سازی با اسیدهای آمینه، دارای ضریب تبدیل معادل ۱/۱۵ بود و میزان چربی بافت ماهی نیز ۶/۱ ثبت گردید. همچنین افزایش میزان جایگزینی به مقدار ۵۰ درصد باعث افزایش تدریجی چربی بافت (۷-۸ درصد) شد. مقایسه نتایج پژوهش مذکور و نتایج تحقیق حاضر مشخص می‌کند که به هنگام جایگزینی نسبی بیوسیلاژ روده مرغ (تا ۵۰ درصد)، کیفیت لاشه در مقایسه با تیمارهای ۱۰۰ درصد و شاهد مطلوب‌تر است. به نظر می‌رسد بیوسیلاژ ضایعات طیور نسبت به پودر تهیه‌شده از ضایعات طیور دارای اثرات مطلوب‌تری اند که علت آن نیز نوع روش مورد استفاده در تولید است (روش‌های تخمیری و حرارت بالا به ترتیب برای تولید بیوسیلاژ و پودر ضایعات مرغ استفاده می‌گردد). در تحقیق Hong و همکاران (۲۰۲۰) از مخلوطی از پودر ضایعات طیور و پودر کنجاله سویای تخمیرشده به عنوان جایگزین پودر ماهی استفاده شد و تاثیر آن بر شاخص‌های کیفی سوف دریایی آسیایی یا ماهی سی باس آسیایی[2] مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که میزان جایگزینی تا ۶۰ درصد، دارای تاثیرات مثبت بر شاخص‌های مورد بررسی دارد و میزان چربی تغییراتی بین ۶/۶-۷/۱ درصد داشت. اما با افزایش درصد جایگزینی، میزان اسیدهای چرب امگا-۳ کاهش یافت. نتایج تحقیق مذکور مشابه یافته‌های پژوهش حاضر بوده و نشان از ارتقاء شاخص‌های کیفیت لاشه به هنگام استفاده از جیره حاوی ۵۰ بیوسیلاژ مرغ در جیره غذایی ماهی دارد.

در تحقیق حاضر، دلیل افزایش شمارش کلی باکتری‌ها و باکتری‌های اسیدلاکتیک در تیمارهای ۵۰ و ۱۰۰ درصد، وجود باکتری‌های جنس باسیلوس و باکتری‌های اسیدلاکتیک بود که در فرآیند تخمیر بیوسیلاژ مورد استفاده قرار گرفت و به لحاظ وجود آن‌ها در جیره و استفاده مستمر از جیره حاوی باکتری‌های پروبیوتیک، فلور دستگاه گوارش تحت تاثیر قرار گرفت و در نتیجه جمعیت کلی آن‌ها افزایش داشت. از طرفی در تیمار حاوی ۵۰ درصد بیوسیلاژ و ۵۰ درصد پودر ماهی، به لحاظ حفظ پروفیل اسیدهای آمینه، زمینه برای رشد باکتری‌های پروبیوتیک خصوصا باکتری‌های گروه لاکتیک فراهم شد؛ بطوریکه جمعیت این گروه از باکتری‌ها تا لوگ ۵ افزایش یافت. از طرفی با افزایش درصد بیوسیلاژ در جیره به ۱۰۰ درصد، به لحاظ عدم استفاده از پودر ماهی، درصد کمی برخی از اسیدهای آمینه خصوصا لیزین و میتونین کاهش یافت که خود ممکن است تاثیر جزئی بر جمعیت فلور باکتری‌های مفید روده داشته باشد. در مطالعه انجام‌شده توسط Shao و همکاران (۲۰۱۹) از بیوسیلاژ ماهی به عنوان جایگزین پودر ماهی در جیره

[1] *Latjanus guttatus*

[2] Asian seabass (*Lates calcarifer*)

میگوی وانامی استفاده شد. نتایج نشان داد که در تیمار دارای ۲۵ بیوسیلاژ، باکتری‌های جنس ویبریو و فوتوباکتریوم جزء گروه‌های غالب اند، ولی با این وجود، هیچگونه اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای مورد بررسی وجود نداشت. برخلاف مطالعه مذکور، در تحقیق حاضر تغییر در جمعیت باکتری‌های هوازی و باکتری‌های اسیدلاکتیک در تیمارهای حاوی بیوسیلاژ روده مرغ خصوصا ۵۰ درصد، بطور معنی‌داری بیشتر از سایر تیمارها بود. در پژوهش Shabani و همکاران (۲۰۲۱)، از بیوسیلاژ ماهی به منظور ارزیابی شاخص‌های رشد، میکروفلور دستگاه گوارش و مورفولوژی روده در جوجه های گوشتی استفاده گردید بیوسیلاژ ماهی با درصدهای ۳۰، ۶۰ و ۹۰ درصد جایگزین کنجاله ذرت – سویا گردید. استفاده از بیوسیلاژ باعث کاهش pH، چربی و افزایش درصد پروتئین و همچنین افزایش باکتری‌های اسیدلاکتیک در نمونه‌ها گردید. استفاده از بیوسیلاژ در غلظت‌های بالاتر باعث افزایش جمعیت باکتری‌های اسیدلاکتیک یا لاکتوباسیلوس‌ها و کاهش کلی‌فرم‌ها در روده می‌شود و به سلامت دستگاه گوارش کمک می‌کند. هر چند که تحقیق مذکور، روی جوجه‌های گوشتی انجام گرفت، اما نشان از اثرات مثبت سیلاژ تولیدشده به روش زیستی بر جمعیت باکتری‌های دستگاه گوارش جوجه خصوصا باکتری‌های اسیدلاکتیک داشت. در مطالعه Fontinha و همکاران (۲۰۲۱) تاثیر جیره حاوی روغن و پودر طیور بر شاخص‌های رشد، قابلیت هضم، میکروفلور روده ماهی شانک[1] مورد ارزیابی قرار گرفت. درصد جایگزینی پودر طیور با پودر ماهی بین صفر تا ۳۷ درصد بود. نتایج نشان داد، هیچگونه اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای مورد بررسی در خصوص شاخص‌های رشد، آنزیم‌های گوارشی و ارزش کیفی بافت وجود ندارد. به هنگامی که میزان جایگزینی پودر ضایعات طیور به مقدار ۲۲/۵ درصد رسید، تنوع و شمارش کلی باکتری‌های دستگاه گوارش افزایش یافت، اما اختلاف معنی‌داری بین فلور موکوس‌ها وجود نداشت.

نتیجه گیری نهایی

با توجه به نتایج پژوهش حاضر، بیوسیلاژ حاصل از روده مرغ، جایگزین بسیار مطلوبی برای پودر ماهی در جیره ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان است و به بهبود شاخص‌های سرمی، کیفیت عضله و فلور باکتریایی دستگاه گوارش کمک می‌کند. ضمن اینکه با انتخاب درصد بهینه بیوسیلاژ در جیره می‌توان تاثیر مثبت این فراورده را بر شاخص‌های مذکور ارتقا داد.

سپاسگزاری

محققین تحقیق حاضر بر خود لازم می‌دانند از اداره کل شیلات استان مازندران و پژوهشکده اکولوژی دریای خزر تشکر و قدردانی نمایند.

۵. منابع

References

Alexander, J.B., Ingram, G.A., 1992. Noncellular nonspecific defence mechanisms of fish. *Annual Review of Fish Diseases* 2, 249-279.

Anderson, D.P., 1992. Immunostimulants, adjuvants, and vaccine carriers in fish: applications to aquaculture. *Annual Review of Fish Diseases* 2, 281-307.

AOAC, 2005. Official method of Analysis. 17th Edition, Association of Officiating Analytical Chemists, Washington DC.

[1] *gilthead seabream (Sparus aurata)*

Arfat, Y. A., Benjakul, S., Vongkamjan, K., Sumpavapol, P., Yarnpakdee, S., 2015. Shelf-life extension of refrigerated sea bass slices wrapped with fish protein isolate/fish skin gelatin-ZnO nanocomposite film incorporated with basil leaf essential oil. *Journal of food science and technology* 52(10), 6182-6193.

Baurhoo, B., Ferket, P.R., Zhao, X., 2009. Effects of diets containing different concentrations of mannanoligosaccharide or antibiotics on growth performance, intestinal development, cecal and litter microbial populations, and carcass parameters of broilers. *Poultry science* 88(11), 2262-2272.

Binaii, M., Ghiasi, M., Farabi, S.M.V., Pourgholam, R., Fazli, H., Safari, R., Bankehsaz, Z., 2014. Biochemical and hemato-immunological parameters in juvenile beluga (Huso huso) following the diet supplemented with nettle (*Urtica dioica*). *Fish & shellfish immunology* 36(1), 46-51.

Biller, J. D., Takahashi, L. S., 2018. Oxidative stress and fish immune system: phagocytosis and leukocyte respiratory burst activity. *Anais da Academia Brasileira de Ciências* 90, 3403-3414.

Dawood, M. A., Magouz, F. I., Mansour, M., Saleh, A. A., Asely, A. M. E., Fadl, S. E., Al-Misned, F., 2020. Evaluation of yeast fermented poultry by-product meal in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) feed: Effects on growth performance, digestive enzymes activity, innate immunity, and antioxidant capacity. *Frontiers in veterinary science* 3, 516-530.

Ellis, A.E., 1990. Lysozyme Assays: In Stolen JS, Fletcher TC, Anderson DP, Roberson BS, Van Muiswinkel WB, editors. Techniques in: Fish Immunology. Fair Haven. *NJ: SOS Publications* 101, 103.

Fontinha, F.I.L.I.P.A., Magalhães, R., Moutinho, S.A.R.A., Santos, R., Campos, P., Serra, C. R., and Peres, H. E. L. E. N. A., 2021. Effect of dietary poultry meal and oil on growth, digestive capacity, and gut microbiota of gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles. *Aquaculture* 530, 735879.

Giannenas, I., Tontis, D., Tsalie, E., Chronis, E.F., Doukas, D., Kyriazakis, I., 2010. Influence of dietary mushroom Agaricus bisporus on intestinal morphology and microflora composition in broiler chickens. *Research in Veterinary Science* 89(1), 78-84.

Güllü, K., Acar, Ü. Tezel, R., Yozukmaz, A., 2014. Replacement of fish meal with fish processing by product silage in diets for the rainbow trout, Oncorhynchus mykiss. *Pakistan Journal of Zoology* 46(6), 697-1703.

Goosen, N.J., de Wet, L.F., Görgens, J.F., Jacobs, K., and de Bruyn, A., 2014. Fish silage oil from rainbow trout processing waste as alternative to conventional fish oil in formulated diets for Mozambique tilapia *Oreochromis mossambicus*. *Animal Feed Science and Technology* 188, 74-84.

Ghiasi, M., Binaii, M., Ghasemi, M., Fazli, H., Zorriehzahra, M. J., 2016. Haemato-biochemical disorders associated with nodavirus like-agent in adult leaping mullet Liza saliens (Risso, 1810) in the Caspian Sea. *VirusDisease* 27(1), 12-18.

Hernández, M. D., López, M. B., Álvarez, A., Ferrandini, E., García, B. G., and Garrido, M. D., 2009. Sensory, physical, chemical and microbiological changes in aquacultured meagre (*Argyrosomus regius*) fillets during ice storage. *Food chemistry* 114(1), 237-245.

Hernández, C., Osuna, L., Hernandez, A.B., 2014. Effect of fishmeal replacement by poultry by-product meal on growth performance, proximate composition, digestive enzyme activity, haematological parameters and gene expression of gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Aquaculture Nutrition* 42 (1), 1-12.

Hong, Y.C., Chien, A., Sheen, S.S., 2020. The effects of replacement of fish meal protein with a mixture of poultry byproduct meal, fish silage and fish protein hydrolysate on the growth performances of Asian sea bass (*Lates calcarifer*). *Journal of Marine Science and Technology* 27(6), 532-539.

Janbakhsh, S., Hosseini Shekarabi, S. P., Shamsaie Mergan, M., 2018. Nutritional value and heavy metal content of fishmeal from the Southwest Caspian Sea. *Caspian Journal of Environmental Sciences* 16(4), 307-317.

Kumari, J., Sahoo, P.K., Giri, S.S., 2007. Effects of polyherbal formulation 'ImmuPlus' on immunity and disease resistance of Indian major carp, Labeo rohita at different stages of growth. *Indian Journal Experimental Biology* 45, 291 – 298.

Kiron, V., 2012. Fish immune system and its nutritional modulation for preventive health care. *Animal Feed Science and Technology* 173(1-2), 111-133.

Kamei, M., Sahu, B., Raman, S., Nanda, S., Choudhury, D., Dorothy, M. S., 2018. Use of fish silage based blended protein source for replacement of fish meal in thai-pangas diet. Int*ernational Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 7(10), 2949-2961.

Najim, S.M., Al-Noor, S.S., Jasim, B. M., 2014. Effects of fish meal replacement with fish biosilage on some haematological and biochemical parameters in common carp Cyprinus carpio fingerlings. *International Journal of Fisheries and Aquaculture* 4(3), 112-116.

Perez, R. E. N. A., 1995. Fish silage for feeding livestock. *World animal review* 82(1), 34-42.

Palkar, N. D., Koli, J. M., Gund, D. P., Patange, S. B., Shrangdher, S. T., Sadawarte, R. K., Akhade, A. R., 2018. Preparation of co-dried fish silage by using fish market waste and its comparative study. *International journal of pure and applied bioscience* 6(2), 1567-1577.

Ringø, E., Olsen, R.E., Øverli, Ø., Løvik, F., 1997. Effect of dominance hierarchy formation on aerobic microbiota associated with epithelial mucosa of subordinate and dominant individuals of Arctic charr, *Salvelinus alpinus* (L.). *Aquaculture Research* 28(11), 901-904.

Ringø, E., Gatesoupe, F. J., 1998. Lactic acid bacteria in fish: a review. *Aquaculture*, 160(3-4), 177-203.

Steffens, W., 1994. Replacing fish meal with poultry by-product meal in diets for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture* 124(1-4), 27-34.

Sallam, K. I., 2007. Antimicrobial and antioxidant effects of sodium acetate, sodium lactate, and sodium citrate in refrigerated sliced salmon. *Food control* 18(5), 566-575.

Shabani, A., Jazi, V., Ashayerizadeh, A., Barekatain, R., 2019. Inclusion of fish waste silage in broiler diets affects gut microflora, cecal short-chain fatty acids, digestive enzyme activity, nutrient digestibility, and excreta gas emission. *Poultry science* 98(10), 4909-4918.

Shao, J., Jiang, K., Wang, L. 2019. Litopenaeus vannamei fed diets with different replacement levels of fish meal by fish silage: A molecular approach on intestinal microbiota. *Aquaculture Nutrition* 25(3), 721-728.

Shabani, A., Boldaji, F., Dastar, B., Ghoorchi, T., Zerehdaran, S., Ashayerizadeh, A., 2021. Evaluation of increasing concentrations of fish waste silage in diets on growth performance, gastrointestinal microbial population, and intestinal morphology of broiler chickens. *Animal Feed Science and Technology* 275, 114874.

Safari, R., Nasrollahzadeh, H., Farabi, M.V., Jafari, A., …, 2021. Production of biological silage from poultry waste and its effect on growth and safety indices of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Final report of the research project, General Department of Fisheries of Mazandaran Province [In Persian].

Zaghari, M., 2018. Challenges of Poultry Production and Nutrition in Iran. *Strategic Research Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources* 3(2), 169-180 [In Persian].