

## تأثیر استفاده از هیدرو آنزیم XP در جیره غذایی بر شاخص‌های رشد، بازماندگی و ایمنی ماهی اسکار مسی (*Astronotus ocellatus*)

### چکیده

تحقیق حاضر به بررسی تأثیر استفاده از مکمل غذایی هیدرو آنزیم XP بر عملکرد رشد، بازماندگی و ایمنی در ماهی اسکار مسی (*Astronotus ocellatus*) در سال ۱۳۹۹ انجام گرفت. برای این منظور تعداد ۱۵۰ قطعه ماهی اسکار مسی با میانگین وزن  $(1/20 \pm 1/50)$  گرم با جیره غذایی حاوی مقادیر ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۲۵ گرم مکمل هیدرو آنزیم XP در یک‌تن غذای مصرفی و یک نمونه شاهد به مدت دو ماه مورد تغذیه قرار گرفتند. بیومتری هر دو هفته یک‌بار انجام شد. در این مطالعه طرح آزمایشی مورد استفاده، طرح کاملاً تصادفی بود. پس از آزمون نرمالیت (Shapiro-wilk) و آزمون (ANOVA) و مقایسه میانگین‌ها در سطح اطمینان ۰/۰۵ توسط آزمون دانکن، نتایج نشان داد که ضریب تبدیل غذایی و بازدهی پروتئین در تیمارهای ۱ و ۲ دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ( $P < 0/05$ ). تیمار ۴ حاوی ۱۲۵ گرم هیدرو آنزیم XP نسبت به تیمارهای فوق و حتی گروه شاهد به‌طور معنی‌داری ضریب تبدیل غذایی را افزایش و نسبت بازدهی پروتئین را کاهش داد ( $P < 0/05$ ). همچنین تیمار ۳ از لحاظ این دو فاکتور، بالاترین رقم مربوطه را داشت. در رابطه با میزان غذای خورده شده، تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی و گروه شاهد مشاهده نگردید ( $P > 0/05$ ). بیشترین افزایش وزن بدن و نرخ رشد ویژه (SGR) مربوط به تیمار ۳ بود. تیمار ۳ حاوی ۱۰۰ گرم هیدرو آنزیم XP نسبت به گروه شاهد و سایر تیمارهای آزمایشی شامل ۱، ۲ و ۴ که به ترتیب ۲۵، ۵۰ و ۱۲۵ گرم هیدرو آنزیم XP بودند، بیشترین تأثیر را برافزایش میزان گلبول‌های سفید خون و آلبومین سرم ماهیان اسکار مسی داشت ( $P < 0/05$ )؛ اما گروه شاهد، تیمار ۴ و تیمار ۱ تأثیر معنی‌داری بر میزان گلبول‌های سفید خون و آلبومین سرم ماهیان نداشتند ( $P > 0/05$ ). در رابطه با گلبول سفید، کمترین رقم، مربوط به تیمار شاهد و از لحاظ میزان آلبومین، کمترین رقم، مربوط به تیمار ۴ بود. همچنین تیمار ۳ نسبت به گروه شاهد و تیمارهای آزمایشی ۱ و ۴ تأثیر معنی‌داری بر میزان پروتئین کل و گلوبولین سرم خون بر جای گذاشت. با توجه به داده‌های به‌دست‌آمده می‌توان پیشنهاد داد که مکمل هیدرو آنزیم XP را در سطح ۱۰۰ گرم در تن در جیره غذایی بیومار استفاده نمود.

**واژگان کلیدی:** مکمل هیدرو آنزیم XP، ماهی اسکار مسی (*Astronotus ocellatus*)، فاکتور

رشد و تغذیه، فاکتور ایمنی.

### مقدمه

از آنجایی که تغذیه یکی از عوامل اصلی پرورش ماهیان زینتی می‌باشد، دستیابی به یک جیره غذایی مناسب از نظر فیزیولوژیک و اقتصادی به‌عنوان یک پیش‌نیاز برای توسعه موفق این صنعت به شمار می‌آید (محمد پور و همکاران، ۱۳۹۸). در پرورش ماهیان زینتی حفظ کیفیت ظاهری و همچنین بهبود رشد به دنبال تغذیه بهینه و همچنین کاهش هزینه‌های جاری تأمین جیره غذایی مناسب از مسائل اصلی کارگاه‌های تکثیر و پرورش به شمار می‌رود. در تکثیر و پرورش آبزیان جهت بهبود و افزایش سرعت رشد ماهیان و همچنین بهبود کیفیت سلامت و کاهش تلفات در دوره‌های مختلف زندگی آن‌ها، به‌خصوص در مورد بچه ماهیان که حساسیت بالاتری دارند و همچنین کاهش هزینه‌های مربوط به تأمین جیره

نیکنام مرادی چهری<sup>۱</sup>

مهرداد شیرین‌آبادی<sup>۲</sup>

منصوره غلامی<sup>۳\*</sup>

مریم شاپوری<sup>۴</sup>

۱،۲. گروه منابع طبیعی، واحد سنج، دانشگاه آزاد اسلامی، سنج، ایران.

۳. گروه زیست‌شناسی دانشکده علوم پایه، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

۴. گروه منابع طبیعی، واحد سوادکوه، دانشگاه آزاد اسلامی، سوادکوه، ایران.

\*مسئول مکاتبات:

gholami62@yahoo.com

کد مقاله: ۱۴۰۱۰۲۰۹۱۹

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۱/۱۲

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۷/۳۰

این مقاله پژوهشی برگرفته از پایان‌نامه کارشناسی ارشد است.



غذایی راهبردهای مختلفی به کار گرفته شده است (Panigrahi and Azad, 2007). مطالعات در زمینه آبزیان و مکمل‌های غذایی به خوبی نشان داده‌اند که از طریق بهبود فلور میکروبی دستگاه گوارش به وسیله افزودن مکمل‌ها از جمله پروبیوتیک‌ها، پروبیوتیک‌ها و سین‌بیوتیک‌ها می‌توان باعث بهبود هضم، جذب و در نهایت بهبود رشد شود (Collado et al., 2009). در بررسی‌ها نشان داده شده استفاده از پروبیوتیک در جیره غذایی ماهیان سبب افزایش وزن نهایی بدن و ضریب رشد ویژه آن‌ها نسبت به شاهد بوده است. علاوه بر این بازماندگی لاروهای آبزیان تغذیه شده با پروبیوتیک نسبت به شاهد به طور معنی‌داری افزایش می‌یابد (کاظمی و همکاران، ۱۳۹۵). در مطالعه‌ای که بر روی پروبیوتیک *Lactobacillus acidophilus* انجام شد مشخص گردید که افزودن سطوح مختلف آن به جیره غذایی تیلاپیا باعث بهبود ضریب تبدیل غذایی و همچنین افزایش رشد می‌گردد. همچنین افزایش پروبیوتیک *Lactobacillus acidophilus* به جیره غذایی گربه‌ماهی آفریقایی باعث افزایش سطح هماتوکریت، هموگلوبین و تعداد کل گلبول‌های قرمز و سفید این آبزی شد. استفاده از این پروبیوتیک در جیره غذایی دم شمشیری باعث بهبود پارامترهای شاخص رشد روزانه و ضریب تبدیل غذایی می‌گردد (باقری و غفاری فارسانی، ۱۳۹۵).

هیدرو آنزیم xp مکمل آنزیمی مخلوط با پروبیوتیک‌هاست که به طور ویژه‌ای باهدف بهبود گوارش به منظور دستیابی به حداکثر جذب مواد مغذی در لوله گوارش جانوران فرموله شده است. هیدرو آنزیم به واسطه تأثیر هیدرولیزی خود بر مواد مغذی، بهبود دسترسی زیستی و جذب آن‌ها در مجرای گوارشی، هضم بهتری را برای جانور فراهم ساخته و منجر به ذخیره نمودن انرژی متابولیکی می‌شود که خود این امر سبب بهینه‌سازی ضریب تبدیل غذایی و وزنی‌ای شده و تأثیر مثبتی بر هزینه‌های تولید دارد. علاوه بر این، آنزیم‌های زیلاناز و لاکتاز موجود در هیدرو آنزیم به تولیدکننده اجازه می‌دهد تا از مواد اولیه کم‌ارزش نظیر ضایعات در ترکیب فرمول غذایی استفاده کند. علاوه به راین پروبیوتیک‌های موجود در هیدرو آنزیم به طور معنی‌داری سطح ماندگاری جانوران را افزایش می‌دهد (Luo et al., 2020). آنزیم‌های موجود در هیدرو آنزیم تماماً به روش تخمیر و عصاره‌گیری از قارچ *Aspergillus oryzae* به دست آمده‌اند. علاوه بر آنزیم‌های هیدرولیز کننده شامل زیلاناز، پروتاز، آمیلاز، سلولاز، پپتیداز، لیپاز، لاکتاز و فیتاز هیدرو آنزیم محتوی ۴ پروبیوتیک به نام‌های *Lactobacillus acidophilus*، *Bifidobacterium longum thermophilum*، *Streptococcus Faecium* نیز می‌باشد که هر یک حداقل به میزان  $10^{10} \times 9$  Cfu/Kg در این ترکیب موجود می‌باشند. این باکتری‌ها میکرو فلور روده را تأمین کرده و تولید اسیدلاکتیک می‌کنند که به حذف عوامل بیماری‌زا منجر می‌شود. در این بررسی اثرات آنزیم xp بر شاخص‌های رشد ماهی اسکار مسی که شامل میزان افزایش وزن بدن، نرخ رشد ویژه، ضریب رشد ویژه، ضریب بازده پروتئین و فاکتورهای ایمنی که شامل گلوبولین، پروتئین کل، آلبومین و گلوبول سفید می‌باشد، مورد بررسی و سنجش قرار گرفته شد.

## مواد و روش‌ها

بچه ماهیان اسکار مسی، در سال ۱۳۹۹ از شرکت ماهیران خریداری شدند و قبل از انجام تحقیق، با استفاده از غذای تجاری بیومار (بدون مکمل هیدرو آنزیم xp) تغذیه گردیدند. با توجه به ضرورت دوره آدآپتاسیون پیش از اجرای آزمایشات، دوره سازگاری بچه ماهیان با غذای دستی ۱۵ روز به طول انجامید. در پایان دوره سازگاری، تعداد ۱۵۰ عدد بچه ماهی، جهت زیست‌سنجی (اندازه‌گیری‌های مربوط به طول و وزن بدن) انتخاب و مورد ارزیابی قرار گرفتند. لازم به ذکر است جهت راحتی امکان اندازه‌گیری طول و وزن بدن و نیز برای جلوگیری از استرس و تلفات، ماهیان هر مخزن به وسیله عصاره گل میخک (اژنول) با غلظت ۴ قطره در یک لیتر آب، بی‌هوش گردید. پس از تعیین وزن و اندازه‌گیری طول بدن، بچه ماهیان به طور کاملاً تصادفی در ۵ آکواریوم پخش گردیدند که در هر آکواریوم، ۳۰ قطعه جای گرفت. میانگین وزن بدن بچه ماهیان انتخاب شده  $1/5 \pm 0/2$  گرم بود. در این تحقیق که بیومار به عنوان جیره پایه جهت تغذیه ماهی اسکار مسی در نظر گرفته شد، در آزمایشگاه، از لحاظ ترکیبات مواد مغذی، آنالیز گردید (جدول ۱). البته با توجه به وضعیت خشکی جیره تهیه شده و به منظور توزیع یکنواخت آن و در نتیجه صحت آزمایش، ابتدا ماده مورد نظر آسیاب گردیده و از الک ۶۰ میکرون عبور داده شد، در ادامه به منظور ایجاد چسبندگی ذرات به گرانول‌ها، از

ژلاتین استفاده شد، بدین صورت که ابتدا هیدرو آنزیم xp را به غذا اضافه و کاملاً مخلوط نموده، سپس ژلاتین را در آب گرم حل کرده و بر روی غذا اسپری شد. پس از خشک شدن، خوراک در همان روز مورد مصرف قرار گرفت.

**جدول ۱: تجزیه تقریبی جیره تجاری بیومار مورد استفاده برای تغذیه بچه ماهیان اسکار مسی (*Astronotus ocellatus*) (سال ۱۳۹۹).**

نوع ترکیب	درصد
پروتئین	۵۲
چربی	۱۶
رطوبت	۱۴
خاکستر	۱۰
فیبر خام	۸

در این آزمایش ۴ تیمار همراه با گروه شاهد استفاده گردید. گروه شاهد (بدون هیدرو آنزیم xp)، تیمار اول (۲۵ گرم در تن xp)، تیمار دوم (۵۰ گرم در تن xp)، تیمار سوم (۱۰۰ گرم در تن xp)، تیمار چهارم (۱۲۵ گرم در تن xp) معرفی گردید، طوری که هر تیمار حاوی ۳۰ تکرار (ماهی اسکار مسی) بود. در طول ۶۰ روز آزمایش، مکمل هیدرو آنزیم xp در سطوح، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۲۵ گرم به ازای هر تن خوراک، به جیره پایه بیومار اضافه شد. در طول دوره آزمایش، غذادهی به بچه ماهیان بر اساس مشاهدات و رفتار تغذیه‌ای آن‌ها تا حد سیری در ۳ نوبت (ساعات ۸، ۱۲ و ۱۶) به میزان ۵ درصد وزن توده بدن انجام گرفت. همچنین در زمان اجرای آزمایش بچه ماهیان از نظر ظاهری مورد بررسی قرار گرفتند. با توجه به اهمیت پارامترهای محیطی در پرورش بچه ماهیان عوامل مختلف از جمله درجه حرارت، pH، اکسیژن هر هفته مورد سنجش قرار گرفت. برای آگاهی از عملکرد جیره‌های غذایی و چگونگی رشد بچه ماهیان، در طول دوره تحقیق، هر ۱۴ روز یکبار تمام ماهیان با ترازویی با دقت ۰/۰۰۱ گرم توزین شده و با خطکش دقت یک میلی‌متر، طول استاندارد آن‌ها اندازه‌گیری شد. پس از پایان دوره آزمایش، جهت کاهش تنش ماهیان، تغذیه آن‌ها ۲۴ ساعت قبل از خون‌گیری قطع گردید و از هر مخزن ۳ قطعه ماهی به‌طور تصادفی انتخاب شد. کلیه ماهیان پس از صید جهت کاهش استرس صید و خون‌گیری، در وان‌های حاوی عصاره گل میخک به میزان ۱۵۰ قسمت در میلیون بی‌هوش شدند. در حالت بی‌هوشی از عروق ساقه دمی آن‌ها با زاویه ۴۵ درجه، با استفاده از سرنگ‌های ۲/۵ میلی‌لیتری، خون‌گیری انجام شد. خون همراهی وارد ۲ لوله آزمایش گردید: یک لوله حاوی ماده ضد انعقاد EDTA و لوله دیگر فاقد ماده ضد انعقاد. به‌منظور تعیین میزان پروتئین جیره غذایی از روش کج‌لدال با استفاده از دستگاه میکروکج‌لدال ساخت کشور سوئد (kjeltec Auto Analyser, 2300 Tecator, sweden) و بر اساس فرمول محاسباتی  $CP = \%N \text{ Crude Protein} \times 6.25$  استفاده گردید. برای سنجش میزان چربی از روش سوکسله با استفاده از دستگاه سوکسله اتوماتیک ساخت کشور سوئد، برای تعیین خاکستر از طریق قرار دادن نمونه‌ها در کوره الکتریکی (در دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ ساعت) و جهت سنجش رطوبت از طریق خشک‌کردن نمونه‌ها در آون (دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت) استفاده شد. طول ماهیان با کولیس با دقت ۰/۱ میلی‌متر و وزن با ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۱ گرم اندازه‌گیری شد. در این مطالعه فاکتورهای تغذیه‌ای (ضریب تبدیل غذایی: FCR) و فاکتورهای رشد (افزایش وزن بدن: BWI، درصد افزایش وزن بدن: PBWI و نرخ رشد ویژه: SGR) اندازه‌گیری گردید.

$$BM = W_2 - W_1 \quad \text{رابطه ۱:}$$

$$PBM(\%) = \left[ \frac{W_2 - W_1}{W_1} \right] \times 100 \quad \text{رابطه ۲:}$$

$$SGR(\%/day) = \left[ \frac{\log(W_2) - \log(W_1)}{t_2 - t_1} \right] \times 100 \quad \text{رابطه ۳:}$$

$$CF = [W/L] \times 100 \quad \text{رابطه ۴:}$$

$$BWG = (W_2 - W_1) \times N \quad \text{رابطه ۵:}$$

$$Survival\ rate = (N_t \times N_0) \times 100 \quad \text{رابطه ۶:}$$

تمامی داده‌های به‌دست‌آمده پس از بررسی نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون Shapiro-wilk برای تعیین معنی‌دار بودن اختلاف بین پارامترها از آزمون چند دامنه دانکن از طریق آنالیز واریانس یک‌طرفه (one-way ANOVA) استفاده گردید. نتایج به‌صورت میانگین ارائه و زمانی که ( $P < 0.05$ ) بود تفاوت‌ها معنی‌دار در نظر گرفته شدند.

### نتایج

نتایج حاصل از این بررسی بر اساس جدول ۲ نشان داد که بیشترین میزان غذای خورده شده مربوط به تیمار دوم (۵۰ گرم در تن xp) بوده که البته تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد و دیگر تیمارها نداشته است ( $P > 0.05$ ). شایان‌ذکر است که کمترین میزان غذای خورده شده، در تیمار شاهد گزارش گردیده، هرچند با سایر تیمارها، تفاوت معنی‌داری نداشت ( $P > 0.05$ ). همچنین میزان غذای خورده شده، بدون هیچ اختلاف و تأثیر معنی‌داری ( $P > 0.05$ )، به ترتیب در تیمار ۱ بیشتر از تیمار ۳، و در تیمار ۳ بیشتر از تیمار ۴ بود.

### جدول ۲: فاکتورهای تغذیه‌ای ماهی اسکار مسی (*Astronotus ocellatus*) تغذیه‌شده با دوزهای مختلف

مکمل غذایی هیدرو آنزیم xp (سال ۱۳۹۹).

تیمار	ضریب رشد ویژه	میزان غذای خورده شده	ضریب بازده پروتئین
	FCR	DFI	PER
شاهد	$0.07 \pm 0.01$ c	$2.0 \pm 0.07$ a	$0.09 \pm 0.01$ c
تیمار ۱ (25xp)	$0.04 \pm 0.01$ b	$0.72 \pm 0.03$ a	$0.07 \pm 0.01$ b
تیمار ۲ (50xp)	$0.02 \pm 0.01$ a	$0.05 \pm 0.03$ a	$0.04 \pm 0.01$ a
تیمار ۳ (100xp)	$0.04 \pm 0.01$ a	$0.11 \pm 0.01$ a	$0.08 \pm 0.01$ a
تیمار ۴ (125xp)	$0.04 \pm 0.01$ d	$0.03 \pm 0.02$ a	$0.04 \pm 0.01$ d

با توجه به جدول ۳ تیمار سوم (۱۰۰ گرم در تن xp) به‌عنوان مطلوب‌ترین تیمار، به‌طور معنی‌داری درصد افزایش وزن بدن را نسبت به گروه شاهد، تیمار اول و تیمار چهارم افزایش داد ( $P < 0.05$ )، اما با تیمار دوم اختلاف معنی‌داری نداشت ( $P > 0.05$ ). گروه شاهد نیز در مقایسه با تیمار ۱ و ۲ و ۳ کمترین تأثیر را بر درصد افزایش وزن بدن گذاشت ( $P < 0.05$ ) ولی از این لحاظ با تیمار چهارم تفاوت معنی‌داری نداشت ( $P > 0.05$ ). ضمناً تیمار اول گرچه نسبت به گروه شاهد تأثیر معنی‌داری از خود نشان داد، اما با تیمار چهارم اختلاف معنی‌داری نداشت ( $P > 0.05$ ).

جدول ۳: فاکتورهای رشد در ماهی اسکار مسی (*Astronotus ocellatus*) تغذیه شده با دوز های مختلف مکمل هیدرو آنزیم xp (سال ۱۳۹۹).

تیمار	نرخ رشد ویژه	افزایش وزن بدن	درصد افزایش وزن بدن
	SGR	BWI	PBWI
شاهد	۱/۹۸ ± ۰/۰۵ d	۴/۲۶ ± ۰/۲۰ d	۲۲۸/۱۱ ± ۶۵/۲۷ c
تیمار ۱ (25xp)	۲/۱۵ ± ۰/۱۱ c	± ۱۰/۵ - ۰/۱۷ c	۲۶۴/۲۵ ± ۸۱/۶۵ b
تیمار ۲ (50xp)	۲/۲۹ ± ۰/۰۸ a	± ۵۳/۵ - ۰/۰۵ b	۲۹۷/۱۹ ± ۲۲/۴۴ a
تیمار ۳ (100xp)	۲/۴۰ ± ۰/۰۱ a	± ۳۶/۶ - ۰/۱۵ a	± ۷۷/۳۲۳ ۳/۳۳ a
تیمار ۴ (125xp)	۲/۱۰ ± ۰/۰۲ cd	± ۱۶/۵ - ۰/۰۵ c	± ۲۰/۲۵۴ ۶/۲۲ cb

در بررسی فاکتورهای ایمنی نتایج حاصله از گلبول های سفید نشان داد که تیمار سوم نسبت به گروه شاهد و سایر تیمارهای آزمایشی، بیشترین تأثیر را (معنی دار) برافزایش میزان گلبول های سفید خون ماهیان اسکار مسی داشته است ( $P < 0/05$ ). گروه شاهد با کمترین تأثیر برافزایش گلبول های سفید، از لحاظ تغییر میزان این فاکتور خونی، اختلاف معنی داری با اول تیمار چهارم نداشت ( $P > 0/05$ ); اما تیمار دوم به طور معنی داری نسبت به گروه شاهد (و نیز تیمار چهارم) میزان گلبول های خون را افزایش داد ( $P < 0/05$ ), گرچه تیمار دوم از این لحاظ اختلاف معنی داری با تیمار ۱ نداشت ( $P > 0/05$ ). در بررسی آلبومین، تیمار سوم نسبت به گروه شاهد و سایر تیمارهای آزمایشی، بیشترین تأثیر را برافزایش میزان آلبومین سرم خون ماهیان اسکار مسی داشته است ( $P < 0/05$ ). تیمار چهارم با کمترین تأثیر برافزایش میزان آلبومین سرم خون، از لحاظ تغییر میزان آلبومین، اختلاف معنی داری با گروه شاهد و تیمار اول نداشت ( $P > 0/05$ ). تیمار دوم به طور معنی داری نسبت به گروه شاهد و تیمار چهارم، آلبومین سرم خون را افزایش داد ( $P < 0/05$ ), گرچه تیمار دوم از این لحاظ اختلاف معنی داری با تیمار اول نداشت ( $P > 0/05$ ). نتایج حاصله از گلوبین سرم خون نشان داد که تیمار سوم نسبت به گروه شاهد، تیمار اول و تیمار چهارم بیشترین تأثیر را، به طور معنی داری، برافزایش میزان گلوبولین سرم خون ماهیان اسکار مسی داشت ( $P < 0/05$ ), ولی با تیمار دوم از این لحاظ تفاوت معنی داری نداشت ( $P > 0/05$ ). تیمار چهارم نیز با کمترین تأثیر برافزایش میزان گلوبولین سرم خون، از لحاظ تغییر میزان گلوبولین، اختلاف معنی داری با گروه شاهد و تیمار یک نداشت ( $P > 0/05$ ). در بررسی داده های به دست آمده از میزان پروتئین کل سرم خون نشان گر آن است که تیمار سوم نسبت به گروه شاهد، تیمار اول و چهارم، به طور معنی داری بیشترین تأثیر را برافزایش میزان پروتئین کل سرم خون ماهیان اسکار مسی داشت ( $P < 0/05$ ), ولی با تیمار دوم از این لحاظ تفاوت معنی داری نداشت ( $P > 0/05$ ). تیمار چهارم نیز با کمترین تأثیر برافزایش میزان پروتئین کل سرم خون، از لحاظ تغییر میزان این فاکتور، اختلاف معنی داری با گروه شاهد و تیمار اول نداشت ( $P > 0/05$ ).

### بحث و نتیجه گیری

در بررسی حاضر تیمارهای ۱، ۲ و ۳ که به ترتیب حاوی ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ گرم هیدرو آنزیم xp به ازای هر تن جیره پایه بیومار بودند، به طور معنی داری موجب کاهش ضریب تبدیل غذایی (FCR) و افزایش نسبت بازدهی پروتئین (PER) شدند ( $P < 0/05$ ), ولی تیمار ۴ حاوی ۱۲۵ گرم هیدرو آنزیم xp نسبت به تیمارهای فوق و حتی گروه شاهد به طور معنی داری ضریب تبدیل غذایی را افزایش و نسبت بازدهی پروتئین را کاهش داد ( $P < 0/05$ ). تیمار ۳ از لحاظ این دو فاکتور، بالاترین رقم مربوطه را داشت.

جدول ۴: فاکتورهای ایمنی ماهی اسکار مسی (*Astronotus ocellatus*) تغذیه شده با دوز های مختلف هیدرو آنزیم xp.

تیمارها	پروتئین کل	گلوبولین	آلبومین	گلوبولین های سفید (WBC)
شاهد	±۸۶/۳۰/۱۷ c	۲/۰±۵۴/۲۰ c	±۳۳/۱۰/۰۳ c	±۱۹۸۱۰۵۵/۶۷ c
تیمار ۱ (25xp)	±۳۱/۴۰/۰۵ bc	±۹۵/۲۰/۰۳ bc	±۳۶/۱۰/۰۲ bc	±۲۰۳۳۶۶۳/۲۵ bc
تیمار ۲ (50xp)	۵/۱۷±۰/۰۹ a	±۶۴/۳۰/۰۵ a	±۵۳/۱۰/۰۴ b	±۲۰۹۲۱۵۹/۶۵ b
تیمار ۳ (100xp)	±۷۲/۵۰/۲۰ a	۳/۹۴±۰/۱۳ a	±۸۰/۱۰/۰۹ a	±۲۱۵۰۰۶۶/۲۳ a
تیمار ۴ (125xp)	±۸۰/۳۰/۰۴ c	±۵۰/۲۰/۰۴ c	±۳۰/۱۰/۰۱ c	۷۸±۲۰۰۰۰/۲۵ c

در رابطه با میزان غذای خورده شده، تفاوت معنی داری بین تیمارهای آزمایشی و گروه شاهد مشاهده نگردید ( $P > 0.05$ )، در طی این بررسی هر چه سطح مصرف هیدرو آنزیم xp در جیره غذایی افزایش یافته بود، میزان غذای مصرفی کاهش پیدا کرده است. بیشترین افزایش وزن بدن و نرخ رشد ویژه (SGR) مربوط به تیمار ۳ بود ( $P < 0.05$ ). تأثیر مثبت مکمل هیدرو آنزیم xp بر روی فاکتورهای تغذیه و رشد و افزایش میزان غذای خورده شده، نسبت کار آبی پروتئین، افزایش وزن بدن و نرخ رشد ویژه و نیز کاهش ضریب تبدیل غذایی، به دلیل نقش پروبیوتیک های حاوی آنزیم و باکتری در بهبود فلور طبیعی میکروبی روده می باشد که با افزایش ترشح آنزیم های آمیلاز، لیپاز و پروتئاز گوارشی، تولید آنزیم های ویژه باکتریایی و حجم باکتری های مفید روده، باعث افزایش قابلیت هضم مواد غذایی، تحریک اشتها، افزایش متابولیسم میکروبی و هضم و جذب مواد مغذی، کارایی و میزان مصرف غذا و نسبت کارایی پروتئین، بهبود تغذیه میزبان، افزایش وزن بدن و نرخ رشد ویژه و نیز کاهش ضریب تبدیل مواد غذایی ویژه می گردند (Zhou et al., 2010). میکروارگانیزم های موجود در پروبیوتیک ها باعث افزایش میکرو ویلی های روده که موجب افزایش سطح و کاهش مقاومت غشاء سلولی و در نتیجه تبادل ایده آل مواد مغذی در روده لاروها را سبب می گردد. این گونه مکمل ها طی فرایند تخمیر، متابولیت هایی مانند انواع ویتامین ها، استات و لاکتات را تولید می کنند که این مواد از طریق جریان خون به کبد رفته و با مصرف شدن به عنوان مواد غذایی، باعث بهبود پارامترهای تغذیه ای و رشد می گردند (Zhou et al., 2010). با توجه به تأثیر منفی تیمار ۴ (حاوی بیشترین میزان هیدرو آنزیم xp) بر ضریب تبدیل غذایی و نسبت پروتئین و عدم تأثیر معنی دار آن بر نرخ رشد ویژه و همچنین کاهش میزان غذای مصرفی با افزایش سطح مصرف پروبیوتیک، لازم به ذکر است که مصرف مقادیر زیاد و استفاده بیش از حد مکمل های حاوی پروبیوتیک و آنزیم، منجر به تداخل در متابولیسم طبیعی بدن و در نتیجه کاهش رشد و عدم بهبود فاکتورهای تغذیه ای می شود، بنابراین غلظت زیاد پروبیوتیک، همیشه نمی تواند مطلوب باشد، پس میزان استفاده از مکمل پروبیوتیک تا یک مقدار مشخصی، باعث افزایش فاکتورهای رشد و تغذیه می شود، به شرط آنکه تعادل فلور میکروبی طبیعی روده را به هم نزند (Amara and Shible, 2015). در بررسی اثر پروبیوتیک پروتکسین بر عملکرد رشد و ماندگاری ماهی زینتی اسکار توسط Noofi و همکاران (۲۰۱۰) نشان داده شد که توانایی این پروبیوتیک برافزایش عملکرد رشد و بقا در ماهی اسکار قابل توجه بوده و مؤثرترین مقدار آن ۰/۱۵ گرم پروبیوتیک به ازای هر کیلوگرم غذای خشک بوده است. در بررسی اثر پروبیوتیک بر وضعیت سلامتی و عملکرد رشد ماهی قزل آلا، نتایج حاصله نشان داد پروبیوتیک های *L. acidophilus* و *L. bulgaricus* عملکرد رشد ماهی قزل آلا را بهبود بخشیده و می تواند آنزیم های گوارشی و میکرو فلور روده ماهی را افزایش دهد (Mohammadian et al., 2019). در نتایج به دست آمده از اثر لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در خوراک ماهی تیلپیا، می توان نتیجه گرفت استفاده از این پروبیوتیک علاوه بر اثرات ضد میکروبی و تأثیر مثبت بر فعالیت های آنزیم های آنتی اکسیدانی اثرات خوب بر روی رشد ماهی داشته است (Mousa et al., 2021). اثرات مفید در بررسی تأثیر پروبیوتیک *B. firmus* و *B. coagulans* بر رشد و بقا میگوهای دریایی نیز به اثبات رسیده است. در مطالعاتی که Hasaninia و همکاران (۲۰۲۱) بر روی شاخص های رشد و آنزیم های کبدی ماهی اسکار ببری انجام گرفت نتایج نشان داد وجود باکتری های *Lactococcus* و *Bacillus subtilis* بر کارایی رشد، افزایش وزن، نرخ رشد ویژه و ضریب کارایی و پروتئین ماهی تأثیر افزایشی داشته است. در مطالعه

دیگر به منظور تأثیر اسید استیک و پروبیوتیک پروتکسین بر روی آنزیم‌های گوارشی و سیستم ایمنی ماهی خاویاری سیبری صورت گرفت، نشان داد ترکیب رژیم غذایی اسید استیک به همراه مکمل پروبیوتیک پروتکسین نتایج امیدوارکننده‌ای بر روی شاخص‌های رشد ماهی داشته است (Zare et al., 2021).

در آزمایشی دیگر بر روی ماهی زینتی *Andinocara rivulatus* که تأثیر کاربرد سطوح  $10^8$  و  $10^9$  پروبیوتیک *Pediococcus acidilactici* مورد بررسی قرار گرفت، نتایج نشان داد که ماهیان تغذیه شده با تیمار غذایی حاوی  $10^8$  cfu/kg مکمل، به طور معنی‌داری از افزایش وزن، درصد افزایش وزن بدن، افزایش طول بدن و نرخ رشد ویژه وزنی و در نتیجه وزن نهایی بالاتر و ضریب تبدیل غذایی کمتر برخوردار بودند (Hosseini madani et al., 2015). در مطالعه دیگر نشان داده شد که مصرف مخمر *Saccharomyces cerevisiae* (سطوح ۱، ۲، ۳ و ۶ میلی‌گرم در کیلوگرم) در ماهیان زینتی *Oreochromis niloticus* (استفاده از ۳ میلی‌گرم در کیلوگرم مکمل)، بیشترین تأثیر را بر روی، وزن نهایی، افزایش وزن، نرخ رشد ویژه و فاکتور وضعیت داشته است (Osman et al., 2010). در تحقیقی دیگر بر روی باکتری‌های *Lactobacillus acidophilus*، *Streptococcus faecium* و مخمر *saccharomyces cerevisiae* به عنوان مکمل در جیره غذایی ماهی تیلاپیا افزایش نسبت کارایی پروتئین و قابلیت هضم ظاهری پروتئین و کاهش ضریب تبدیل مشاهده گردید (Lara- et al., 2003). آزمایشات مؤید این نکته بودند که استفاده از باکتری‌های *Bacillus subtilis* و *Bacillus circulans* جدا شده از ماهی زینتی تیلاپیا و کپور ماهی، در جیره غذایی این ماهیان موجب افزایش نسبت کارایی پروتئین، قابلیت هضم ظاهری پروتئین شده است (Bairagi et al., 2002). همچنین در مطالعات Neissi و همکاران (۲۰۱۵) بر روی ۶۰ قطعه بچه ماهی ماهی زینتی *Aequidens rivulatus* از خانواده Cichlidae در یک دوره تغذیه‌ای هشت هفته‌ای، نشان داده شد که استفاده از پروبیوتیک باکتریایی *Pediococcus acidilactici* تأثیر معنی‌داری بر روی وزن انتهایی، درصد افزایش وزن زنده، نرخ رشد ویژه، نرخ کارایی غذا و نرخ کارایی پروتئین داشته است. برخی مطالعات نیز با نتایج حاصله همخوانی نداشته برای مثال Ferguson و همکاران (۲۰۱۰) با بررسی استفاده از پروبیوتیک *Pediococcus acidilactici* در ماهیان زینتی *Oreochromis niloticus*، متوجه شدند که فاکتور رشد و ضریب تبدیل غذایی در تیمارهای آزمایشی، نسبت به گروه شاهد، تغییر معنی‌داری پیدا نکرد. دلیل تفاوت نتایج این مطالعات با تحقیق حاصله، می‌تواند مربوط به گونه ماهی زینتی، نوع پروبیوتیک مصرفی و میزان مورد استفاده از آن در جیره غذایی، نوع مواد اولیه به کاررفته در تهیه جیره، رفتارهای تغذیه‌ای، درجه خلوص مکمل باشد، در مطالعات انجام شده، ضریب تبدیل غذایی و میزان هضم در هنگام استفاده از پروبیوتیک، تغییر معنی‌داری پیدا نکرد و باکتری‌های موجود در مکمل، تأثیر بر میزان ترشح آنزیم‌های گوارشی ماهی زینتی نداشتند، طوری که در نتیجه کاهش هضم و جذب مواد مغذی، وزن بدن، میزان رشد، نرخ رشد ویژه و نسبت کارایی پروتئین، نسبت به گروه شاهد تغییر معنی‌داری پیدا نکرد. در نتایج حاصله از فاکتورهای ایمنی، تیمار ۳ (حاوی ۱۰۰ گرم هیدرو آنزیم XP)، نسبت به گروه شاهد و سایر تیمارهای آزمایشی شامل ۱، ۲ و ۴ که به ترتیب حاوی ۲۵، ۵۰ و ۱۲۵ گرم هیدرو آنزیم XP بودند، بیشترین تأثیر را بر افزایش میزان گلبول‌های سفید خون و آلبومین سرم ماهیان اسکار مسی داشت ( $P < 0.05$ )، اما گروه شاهد، تیمار ۴ و تیمار ۱ تأثیر معنی‌داری بر میزان گلبول‌های سفید خون و آلبومین سرم ماهیان نداشتند ( $P > 0.05$ ). تیمار ۳ نسبت به گروه شاهد و تیمارهای آزمایشی ۱ و ۴ تأثیر معنی‌داری در میزان پروتئین کل و گلوبولین سرم خون داشته است ( $P < 0.05$ ). تیمار ۴، ۱ و گروه شاهد تأثیر معنی‌داری بر میزان پروتئین کل و گلوبولین سرم خون نداشتند ( $P > 0.05$ )، هرچند در این میان کمترین رقم، مربوط به تیمار ۴ بوده است. در نتایج حاصله از مطالعه Shabanzade و همکاران (۲۰۱۵) نشان داده شد، تأثیر باکتری کشته شده *Gordonia bronchialis* به عنوان یک پروبیوتیک در ماهی قزل‌آلا توانسته بر کارایی رشد، فاکتورهای بیوشیمیایی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل سرم ماهی تأثیر مثبتی داشته باشد. همچنین در بررسی دیگری که بر روی ماهی زینتی گرین ترور انجام شده، نتایج حاصله نشان داده که پارامترهای خونی شامل گلبول قرمز، هموگلوبین، هماتوکریت و گلبول سفید در گروه تغذیه شده با جیره غذایی حاوی پروبیوتیک اختلاف معنی‌داری را با گروه شاهد نشان داده است. به طوری که ماهیان تغذیه شده با جیره غذایی حاوی پروبیوتیک *Pediococcus acidilactici* از میزان بقا و پارامترهای خونی مناسبی برخوردار بوده‌اند (حسینی مدنی و همکاران، ۱۳۹۳).

مکمل‌های غذایی حاوی پروبیوتیک‌ها و آنزیم‌ها که دارای طیفی از انواع باکتری‌ها هستند، به دلیل تحریک دستگاه ایمنی، موجب فعال شدن سلول‌های مؤثر در ایمنی می‌شوند که از جمله اثرات آن‌ها می‌توان به افزایش فعالیت سلول‌های ماکروفاژی، سلول‌های فاگوسیتوز کننده مثل برخی از انواع گلبول‌های سفید و کمک به تولید آنتی‌بادی‌ها، آلبومین، تعداد لنفوسیت و ایمونوگلوبولین‌های سرم اشاره نمود، بنابراین تأثیر تغذیه و مکمل‌های حاوی آنزیم و پروبیوتیک بر روی فاکتورهای خونی را می‌بایست در نظر داشت. افزایش گلبول‌های سفید می‌تواند به‌عنوان یک واکنش سیستم ایمنی غیراختصاصی مطرح باشد که ناشی از مصرف پروبیوتیک‌های حاوی میکروارگانیسم‌ها و آنزیم‌ها است (Buentello *et al.*, 2007). از این مطالعه می‌توان این‌گونه نتیجه گرفت که استفاده از هیדרو آنزیم xp در سطح ۱۰۰ گرم در تن جیره غذایی ماهیان اسکار، سبب کاهش ضریب تبدیل غذایی، افزایش نسبت بازدهی پروتئین و بیشترین وزن بدن ماهی شده است. همچنین این پروبیوتیک سبب بهبود پارامترهای خون‌شناسی شامل گلبول‌های سفید و آلبومین سرم خون نسبت به سایر تیمارها گردیده است.

## منابع

- باقری، ط. و غفاری فارسانی، ح.، ۱۳۹۵. اثر پروبیوتیک *Lactobacillus acidophilus* بر شاخص‌های رشد و کارایی تغذیه خون‌شناسی و فعالیت آنزیم‌های گوارشی ماهی سورم طلایی. مجله پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی، ۴، صفحات ۹۳-۱۰۵.
- حسینی مدنی، ن.، مورکی، ن.، انوار، ا. و قربانی، م.، ۱۳۹۳. اثر کاربرد پروبیوتیک *Pediococcus acidilactici* بر شاخص‌های خونی ماهی زینتی گرین ترور (*Andinocara rivulatus*). مجله پاتوبیولوژی مقایسه‌ای، ۱۱، صفحات ۱۳۰۲-۱۲۹۱.
- کاظمی، ا.، راستیان نسب، ا.، گندمکار، ح.، مهدوی، ج. و محمودی، ر.، ۱۳۹۵. تأثیر پروبیوتیک باکتوسل بر برخی فاکتورهای رشد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). فصلنامه محیط‌زیست جانوری، ۸، صفحات ۲۲۲-۲۱۵.
- محمد پور، ی.، شاپوری، م.، صادقی، م. و غلامی، ش.، ۱۳۹۸. مقایسه اثر جیره غذایی بیومار و کرم خاکی بر روی شاخص‌های رشد و بازماندگی ماهی اسکار (*Asteronotus Ocellatus*). مجله علمی شیلات ایران، ۲۸، صفحات ۳۹-۴۸.
- Amara, A. A. and Shibl, A., 2015. Role of Probiotics in health improvement, infection control and disease treatment and management. Saudi pharmaceutical journal, 23(2):107-114.
- Bairagi, A., Ghosh, K. S., Sen, S. K. and Ray, A. K., 2002. Enzyme producing bacterial flora isolated from fish digestive tracts. Aquaculture International, 10(2):109-121.
- Buentello, J. A., Reyes-Becerril, M., de Jesús Romero-Geraldo, M. and de Jesús Ascencio-Valle, F., 2007. Effects of dietary arginine on hematological parameters and innate immune function of channel catfish. Journal of Aquatic Animal Health, 19(3):195-203.
- Collado, M. C., Isolauri, E., Salminen, S. and Sanz, Y., 2009. The impact of probiotic on gut health. Current drug metabolism, 10(1): 68-78.
- Ferguson, R. M. W., Merrifield, D. L., Harper, G. M., Rawling, M. D., Mustafa, S., Picchietti, S. and Davies, S. J., 2010. The effect of *Pediococcus acidilactici* on the gut microbiota and immune status of on-growing red tilapia (*Oreochromis niloticus*). Journal of applied microbiology, 109(3): 851-862.
- Hasaninia, A., Vahabzadeh, H., Khara, H., Shenavar-e-Masouleh, A. and Ahmadnezhad, M., 2021. Effects of diets containing *Lactococcus lactis* and *Bacillus subtilis* on growth indices and hepatic enzymes of tiger oscar (*Astronotus ocellatus*). Aquatics Physiology and Biotechnology, 9(2): 39-58.
- Hosseini madani, N., Mooraki, N., Anvar, A. and Manuchehri, H., 2015. Empirical feed formulations for the ornamental fish Green terror (*Andinocara rivulatus*) (Gunther, 1860) by evaluation the optimum level of protein. Journal of Animal Environment, 6(4): 77-84.
- Lara-Flores, M., Olvera-Novoa, M. A., Guzmán-Méndez, B. E. and López-Madrid, W., 2003. Use of the bacteria *Streptococcus faecium* and *Lactobacillus acidophilus*, and the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as growth promoters in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Aquaculture, 216(1-4):193-201.

**Luo, L., Xu, Q., Xu, W., Li, J., Wang, C. A., Wang, L. and Zhao, Z., 2020.** Effect of *Bacillus megaterium*-coated diets on the growth, digestive enzyme activity, and intestinal microbial diversity of *Songpu* Mirror Carp *Cyprinus specularis* *Songpu*. *BioMed Research International*.

**Mohammadian, T., Nasirpour, M., Tabandeh, M. R., Heidary, A. A., Ghanei-Motlagh, R. and Hosseini, S. S., 2019.** Administrations of autochthonous probiotics altered juvenile rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* health status, growth performance and resistance to *Lactococcus garvieae*, an experimental infection. *Fish and shellfish immunology*, 86: 269-279.

**Mousa, H. M., Abeer, E. K. and Rashed, M. A., 2021.** Using *Lactobacillus acidophilus* in Fish Feed to Improve Disease Resistance and Immune Status of Cultured Nile Tilapia. *Alexandria Journal for Veterinary Sciences*, 70(2).

**Neissi, A., GholamReza, R., Mohammad Ali, N. and Seyyed Hadi, R., 2015.** Probiotic effects of *Pediococcus acidilactici* to enhance growth indices, gastric enzymes activity and chemical analyzed of whole body (%dry matter basis) in Green Terror fish (*Aequidens rivulatus*). *Journal of Fisheries*, 68(4), 635-648. doi: 10.22059/jfisheries.2015.57256

**Noori, F., Firouzbakhsh, F. and Soltani, M., 2010.** Effect of probiotic on the growth performance and survival of ornamental fish of Oscar. *Natural resources*, 1(1): 31-40.

**Osman, H. A. M., Ibrahim, T. B., Soliman, W. and Aboud, O. M. I. M. A., 2010.** Improvement growth and immune status using a potential probiotic bacteria *Micrococcus* species among cultured *Oreochromis niloticus*. *New York Science Journal*, 3(10): 5-11.

**Panigrahi, A. and Azad, I. S., 2007.** Microbial intervention for better fish health in aquaculture: the Indian scenario. *Fish physiology and biochemistry*, 33(4): 429-440.

**Shabanzadeh, S., Shapoori, M., Sheikhzadeh, N., Nofouzi, K., Khani Oushani, A., Najafi Enferadi, M. H. and Shahbazfar, A. A., 2016.** Growth performance, intestinal histology, and biochemical parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in response to dietary inclusion of heat-killed *Gordonia bronchialis*. *Fish physiology and biochemistry*, 42(1): 65-71.

**Zare, R., Kenari, A. A. and Sadati, M. Y., 2021.** Influence of dietary acetic acid, protexin (probiotic), and their combination on growth performance, intestinal microbiota, digestive enzymes, immunological parameters, and fatty acids composition in Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*, Brandt, 1869). *Aquaculture International*, 29(3): 891-910.

**Zhou, X., Tian, Z., Wang, Y. and Li, W., 2010.** Effect of treatment with probiotics as water additives on tilapia (*Oreochromis niloticus*) growth performance and immune response. *Fish physiology and biochemistry*, 36(3): 501-509.

