فصلنامه علمی پژوهشی فیزیولوژی و تکوین جانوری
شماره پیاپی ۳۱، جلد ۸، شماره ۴، پائیز۹۴، صفحه ۳۷تا ۴۷

بررسی فعالیت آنزیم های گوارشی، ترکیب بیوشیمیایی لاشه و فلور باکتریایی روده بچه ماهی صبیتی(*Sparidentex hasta*) در پاسخ به سطوح مختلف زایلواولیگوساکارید جیره

وحید مرشدی[۱]، **ناصر آق**[۲]، جاسم مرمضی[۳]، فرزانه نوری[۴]، تکاور محمدیان[۵]

۱-دانشجوی دکتری پژوهشکده مطالعات دریاچه ارومیه، دانشگاه ارومیه و کارشناس پژوهشی، پژوهشکده خلیج فارس دانشگاه خلیج فارس، بوشهر. ایران.

۲-دانشیار گروه شیلات پژوهشکده مطالعات دریاچه ارومیه، دانشگاه ارومیه. ایران. **agh1960@yahoo.com**

۳-دانشیار پژوهشی پژوهشکده آبزی پروری جنوب کشور. اهواز. ایران.

٤-استادیار گروه شیلات پژوهشکده مطالعات دریاچه ارومیه، دانشگاه ارومیه. ارومیه. ایران.

۵-استادیار گروه بهداشت آبزیان دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران. اهواز. ایران.

تاریخ دریافت: ۹۳/۸/۲ تاریخ پذیرش:۹٤/۸/۲۵

چکیده

زمینه و هدف: پربیوتیک ها به عنوان اجزاء غذایی غیرقابل هضم، سلامتی میزبان را از طریق رشد یا فعال نمودن گزینشی تعداد محدودی از باکتری های مفید دستگاه گوارش تحریک و فعالیت باکتری های بیماری زا را کاهش می دهند. این مطالعه اثرات سطوح مختلف لاکتوفرین جیره بر فعالیت آنزیم های گوارشی، ترکیبات بیوشیمیایی لاشه و فلور باکتریایی روده بچه ماهی صبیتی (*Sparidentex hasta*) را مورد بررسی قرار می دهد.

روش کار: برای این منظور تعداد ٤۰۵ قطعه ماهی با میانگین وزنی ۰/۳ ± ۷/٦٤ گرم(٤۵ قطعه در هر تکرار) از پژوهشکده آبزی-پروری جنوب کشور تهیه شد. این مطالعه در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با ۳ تیمار و ۳ تکرار در داخل تانک های فایبرگلاس ۳۰۰ لیتری انجام گردید. بچه ماهیان به مدت ٤۲ روز با جیره های حاوی ۰، ۰/۵ و ۱ درصد زایلواولیگوساکارید تغذیه شدند. در پایان آزمایش نمونه های لاشه و روده برای بررسی ترکیب بیوشیمیایی بدن، فعالیت آنزیم های گوارشی و فلور باکتریایی روده جمع آوری شدند.

یافته ها: نتایج حاصل نشان داد که زایلواولیگوساکارید جیره، فعالیت آنزیم های گوارشی شامل آلکالین پروتئاز، آمیلاز و لیپاز ماهی صبیتی را تغییر نداد($P>۰/۰۵$). در این آزمایش رابطه همبستگی ضعیف، مثبت و غیر معنی داری بین پربیوتیک جیره و فعالیت آنزیم آلکالین پروتئاز، آمیلاز و لیپاز مشاهده شد($P>۰/۰۵$). نتایج این مطالعه نشان داد که سطوح مختلف پربیوتیک تاثیری بر روی ترکیب بیوشیمیایی بدن شامل پروتئین، چربی، خاکستر و رطوبت و فلور باکتریایی روده ندارد($P>۰/۰۵$).

نتیجه گیری: به طور کلی، این مطالعه نشان داد که فعالیت آنزیم های گوارشی به وسیله پربیوتیک جیره تحت تاثیر قرار نگرفت. علاوه بر این، افزودن ۰/۵ و ۱ درصد زایلواولیگوساکارید به جیره اثرات معنی داری بر ترکیب بیوشیمیایی بدن و فلور باکتریایی روده ماهی صبیتی نیز ندارد.

واژه های کلیدی: پربیوتیک، آنزیم های گوارشی، ترکیب بیوشیمیایی لاشه، فلور باکتریایی روده، ماهی صبیتی (*Sparidentex hasta*).

مقدمه

پرورش آبزیان به عنوان یکی از فعالیت های مهم تولیدی در بسیاری از کشورهای جهان محسوب شود. چراکه با توجه به افزایش روز افزون جمعیت جهان، این صنعت سهم به سزایی در تامین نیازهای غذایی مردم به عهده دارد. در این ارتباط کمبود منابع آبی سبب شده که اولاً پرورش ماهیان دریایی به یکی از شاخه های بسیار مهم و در حال گسترش صنعت آبزی پروری تبدیل شود و ثانیاً در اکثر کشورها، پرورش نیمه متراکم و سنتی جای خود را به روش های انبوه و متراکم دهد. در کنار پیشرفت های سریع صنعت آبزی‌پروری و تولید متراکم، موجودات آبزی همواره در معرض شرایط استرس زا از قبیل تراکم، نامناسب بودن فاکتورهای فیزیکوشیمیایی آب و بیماری قرار گرفته و این مسئله موجب ایجاد بیماری و متعاقب آن ضررهای اقتصادی می گردد(۷).

برای مصونیت در برابر بیماری ها، از درمان دارویی و واکسیناسیون ماهیان استفاده می کنند که هیچ کدام از این روش ها به طور کامل موثر واقع نشده است. بنابر این نیاز به روش های جایگزین به شدت احساس می شود. یکی از روش های ایده آل برای کنترل بیماری در آبزی-پروری استفاده از مکمل های غذایی برای تقویت و تحریک سیستم ایمنی می باشد(۳۳). انواع گسترده‌ای از ترکیبات برای این منظور استفاده می شوند که از آن جمله می توان به پریبیوتیک ها اشاره نمود. تحقیقات نشان داده است که کربوهیدرات‌ها مواد غذایی مهم و ضروری برای باکتری‌های مفید روده هستند؛ به همین دلیل در تغذیه انسان ها و جانوران کربوهیدرات‌ها بیشترین موادی هستند که به عنوان پریبیوتیک مورد ارزیابی قرار گرفته-اند(۱۶). در بین کربوهیدارت‌ها، عمدتاً اولیگو ساکاریدهای غیر قابل هضم به عنوان پریبیوتیک در نظر گرفته می‌شوند(۴۶). اولیگوساکاریدهای غیرقابل هضم کربوهیدرات‌هایی با وزن مولکولی کم بوده که استفاده از آن ها در جیره غذایی کاهش حضور عوامل بیماری‌زا در فلور روده‌ای و افزایش جمعیت بیفیدو باکتری‌ها و نیز افزایش جذب مواد معدنی در دسترس را به دنبال دارد(۴). پریبیوتیک‌ها از طریق اپی‌تلیوم روده جذب می-شوند و به‌عنوان یک منبع انرژی مهم برای میزبان تلقی شده و سبب بهبود جذب مواد غذایی می‌گردند. تولید اسیدهای چرب زنجیره کوتاه نظیر استات، پروپیونات، بوتیرات و اسیدلاکتیک ناشی از تخمیر پریبیوتیک، منجر به کاهش pH روده می‌شود که شرایط مناسب برای رشد باکتری‌های اسید لاکتیک را فراهم می‌کند (۳۴). ازدیاد باکتری های مفید روده باعث می‌شود که فعالیت آمیلاز، پروتئاز و لیپاز در دستگاه گوارش افزایش یابد(۲۵). این باکتری‌ها به دلیل ترشح آنزیم‌های خارج سلولی نظیر برخی از آنزیم های گوارشی ازجمله آمیلاز، پروتئاز و لیپاز، نقش بسیار مهمی در افزایش فعالیت ویژه این آنزیم‌ها در روده ماهیان دارند. لذا این باکتری‌ها موجب افزایش قابلیت هضم‌پذیری پروتئین، چربی و کربوهیدارت ها شده و در نتیجه کارآیی تغذیه و رشد بهتری را در آبزیان موجب می‌گردند(۱۰). در مورد تاثیر افزودن پریبیوتیک به جیره بر فعالیت آنزیم های گوارشی، ترکیبات بیوشیمیایی لاشه و فلور باکتریایی مطالعات زیادی صورت گرفته که برخی از آن ها افزایش فعالیت آنزیم های گوارشی و بهبود کیفیت لاشه و فلور روده را مشاهده کرده اند(۴۴، ۳۲، ۲۷). در مقابل، نتایج مطالعات دیگر حاکی از بی‌تاثیر بودن پریبیوتیک ها بر پارامترهای مذکور می باشد(۴۱، ۱۵، ۳). در بین ماهیان پرورشی دریایی، ماهی صبیتی از اهمیت خاصی برخوردار است و در برنامه توسعه صنعت تکثیر و پرورش ماهیان دریایی شیلات ایران قرار گرفته است. چراکه یکی از گونه های بومی شانک ماهیان می‌باشد که دارای استعداد بالای پرورشی بوده و رشد خیلی سریعی دارند. این ماهیان به شرایط کمبود اکسیژن و شوری کم نیز کاملاً مقاوم هستند(۴۰). با توجه به اهمیت ماهی صبیتی و این مهم که نقش مکمل های غذایی مانند پریبیوتیک بر میزان فعالیت آنزیم های گوارشی کمتر بر روی ماهیان دریایی مورد مطالعه قرار گرفته است، تحقیق حاضر تاثیر سطوح مختلف پریبیوتیک جیره بچه ماهیان صبیتی را به منظور تعیین اثرات احتمالی آن بر فعالیت آنزیم های گوارشی، ترکیب بیوشیمیایی لاشه و فلور باکتریایی روده مورد بررسی قرار می دهد.

مواد و روش کار

این تحقیق با همکاری پژوهشکده آبزی پروری جنوب کشور و در بخش تکثیر و پرورش ماهیان دریایی بندر امام خمینی انجام شد. بچه ماهیان با وزن ۰/۳ ± ۷/۶۴ گرم از تکثیر بهار مولدین پرورشی مرکز مذکور تامین و در تانک های فایبرگلاس ۴۰۰۰ لیتری در بخش تکثیر و پرورش این مرکز در دمای ۲۸ تا ۳۰ درجه

سانتی‌گراد نگهداری شدند. جهت انجام این آزمایش ۳ تیمار مختلف غذایی با ۳ تکرار در نظر گرفته شد. برای هر تکرار ۴۵ قطعه بچه ماهی صبیتی انتخاب به صورت کاملاً تصادفی در بین تانک های فایبرگلاسی با ظرفیت ۳۰۰ لیتر(آبگیری تا ۲۵۰ لیتر) محتوی آب دریای فیلتر و تیمار شده با اشعه فرابنفش توزیع و سپس ماهیان به مدت ۶ هفته با تیمارهای غذایی به شرح زیر تغذیه گردیدند.

۱. غذای کنسانتره فاقد پریبیوتیک(گروه شاهد)

۲.غذای کنسانتره حاوی ۰/۵ درصد زایلو اولیگو ساکارید(تیمار ۱)

۳.غذای کنسانتره حاوی ۱ درصد زایلو اولیگو ساکارید(تیمار ۲)

از جیره غذایی تجاری(شرکت ۲۱ بیضاء، شیراز) با اندازه ۲ میلی متر استفاده شد(پروتئین ۴۷/۸±۰/۴۱، چربی ۱۳/۹۲±۰/۲۲، رطوبت ۱۰±۰/۱۷، خاکستر ۹/۲۳±۰/۱۲). پریبیوتیک مورد نیاز از شرکت Longlive Bio-Technology کشور چین خریداری شد و پس از توزین مقدار ۰/۵ و ۱ درصد زایلواولیگوساکارید روی غذا (۴۴)، سپس غلظت ۳ درصد ژلاتین نیز برای پوشش-دار کردن غذا و جلوگیری از هدر رفتن افزودنی ها روی آن اسپری شد. پس از آماده سازی، غذا درون یخچال با دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شد تا از فسادآن جلوگیری گردد. غذادهی ماهیان روزانه در دو نوبت با فاصله زمانی مناسب در حد ۴/۵ درصد وزن بدن انجام شد. شرایط محیطی شامل دما(۲۷/۱±۰/۹ درجه سانتی گراد)، اکسیژن محلول(۰/۵۵ ± ۶/۳)، شوری (۰/۵ ± ۴۸) و pH (۷/۵±۰/۱۵) در طول آزمایش برای تانک ها یکسان بود. آنالیزهای تقریبی ترکیب بیوشیمیایی جیره غذایی آزمایشی و لاشه با استفاده از روش های استاندارد AOAC(۹) و حداقل با سه تکرار انجام گردید. میزان رطوبت به وسیله خشک کردن نمونه ها در آون در دمای ۱۰۵ ^{o}C به مدت ۲۴ ساعت تا رسیدن به وزن ثابت تعیین گردید. خاکستر با سوزاندن نمونه ها در کوره در دمای ۵۵۰ ^{o}C به مدت ۱۲ ساعت محاسبه گردید. میزان پروتئین خام با ضرب محتوای نیتروژن نمونه در ضریب ۶/۲۵ و به روش کجلدال اندازه گیری و میزان چربی به روش سوکسله تعیین شد(۹). برای سنجش فعالیت آنزیم-های گوارشی در پایان آزمایش از هر تکرار تعداد ۳ قطعه ماهی به طور تصادفی انتخاب و در روی یخ و تحت شرایط استریل روده این ماهیان جدا و به فریزر ۸۰- درجه سانتی گراد منتقل و در ادامه از آن ها عصاره آنزیمی تهیه شد. عصاره های تهیه شده در محلول نمکی فیزیولوژی هموژنیزه شدند. نمونه های هموژن شده به مدت ۵ دقیقه در ۵۰۰۰ ×g سانتریفیوژ شدند. در انتها فاز بالایی نمونه های جدا شده و برای سنجش فعالیت آنزیمی مورد استفاده قرار گرفت(۲۹). مقدار پروتئین محلول عصاره های آنزیمی با روش Bradford(۱۳)، سنجش گردید. سنجش فعالیت آنزیم پروتئاز با استفاده از محلول سوبسترا آزوکازئین ۱/۵٪ در ۵۰ میلی مولار بافر Tris/Hcl در۷/۵ = pH صورت پذیرفت(۱۷). فعالیت آنزیم لیپاز با استفاده از هیدرولیز p-nitrophenylemyristate و به طریق اسپکتروفتومتری اندازه گیری گردید(۲۴). فعالیت آنزیم آمیلاز بر اساس روش Bernfeld(۱۲) و با استفاده از سوبسترای نشاسته سنجش گردید(۴۳). برای بررسی وضعیت میکروبی روده ماهیان، در پایان دوره از هر تیمار به طور مجزا نمونه-برداری صورت گرفت. برای این منظور بعد از حذف باکتری های سطحی بدن با الکل ۷۰ درصد، روده ماهیان جدا هموژن شدند(۳۰). بعد از تهیه رقت های مورد نظر با استفاده از سرم فیزیولوژی(۰/۹ درصد نمک)، ۰/۱ میلی لیتر از هر رقت برروی پلیت حاوی محیط کشت اختصاصی باکتری های اسید لاکتیک(MRS Agar) کشت داده شد. سپس پلیت های تهیه شده برای هر تیمار در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد به مدت ۷۲-۴۸ ساعت در

انکوباتور قرارداده شدند. در نهایت باکتری های کشت شده بر اساس واحدCFU شمارش گردیدند(۳۱). تجزیه و تحلیل های آماری با استفاده از نرم افزار SPSS(version 15.1) تحت سیستم عامل Windows انجام گرفت. از آزمون Kolmogrove-Smirnove به منظور بررسی نرمال بودن داده ها، از آزمون لیون برای تعیین برابری واریانس ها و از آزمون همبستگی پیرسون برای بررسی رابطه بین متغیرها استفاده شد. تفاوت های احتمالی بین تیمارها با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه(ANOVA) و آزمون Tukey و Duncan بررسی و در همه آزمون های آماری سطح معنی داری ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

نتایج

نتایج مربوط به بررسی میزان فعالیت آنزیم های گوارشی در پایان آزمایش در جدول ۱ ارائه شده است. فعالیت آلکالین پروتئاز، آمیلاز و لیپاز هیچ اختلاف‌معنی-داری در پایان آزمایش نشان ندادند($P>0/05$). بیشترین میزان فعالیت آلکالین پروتئاز در گروه شاهد و بیشترین میزان فعالیت آمیلاز و لیپاز به ترتیب در تیمار ۲ و ۱ گزارش شد. کم ترین میزان فعالیت آمیلاز در تیمار ۱ و کم ترین میزان فعالیت آلکالین پروتئاز و لیپاز در تیمار ۲ مشاهده شد. هم چنین نتایج آزمون همبستگی پیرسون در نمودار ۱ تا ۳ نشان داد که بین میزان فعالیت آلکالین پروتئاز($R^2= 0.229$)، آمیلاز($R^2= 0.245$) و لیپاز($R^2= 0.027$) و مقدار پریبوتیک جیره همبستگی ضعیف و مثبت وجود داشت، اما این همبستگی معنی دار نبود($P>0/05$). اثرات سطوح مختلف پریبوتیک بر پارامترهای بیوشیمیایی لاشه در جدول ۲ آورده شده است. میزان پروتئین، چربی، رطوبت و خاکستر لاشه اختلاف معنی داری را بین گروه شاهد و تیمارهای ۰/۵ و ۱ درصد پریبوتیک نشان ندادند($P>0/05$). بیشترین میزان پروتئین و رطوبت لاشه در گروه شاهد و کم ترین میزان آن ها به ترتیب در تیمار ۱ و ۲ مشاهده شد. بیشترین میزان چربی و خاکستر لاشه به ترتیب در تیمار ۲ و ۱ و کمترین میزان آن ها در گروه شاهد مشاهده گردید. هم چنین با افزایش میزان زایلواولیگوساکارید جیره در پایان آزمایش یک روند افزایشی در میزان چربی لاشه مشاهده شد.

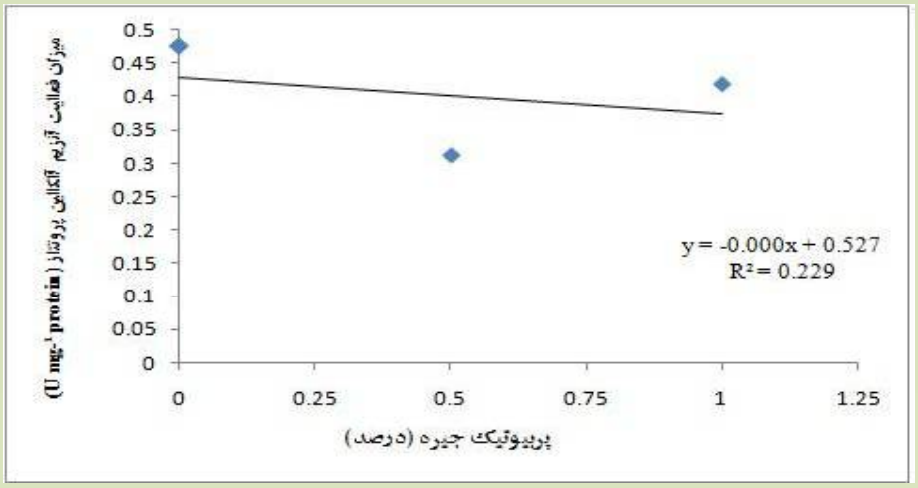
جدول ۱- اثر تیمارهای مختلف بر فعالیت آنزیم های گوارشی بچه ماهیان صبیتی (میانگین ± خطای استاندارد)

	شاهد	تیمار ۱	تیمار ۲
آلکالین پروتئاز (U mg/protein)	۰/۴۷±۰/۰۵	۰/۳۱±۰/۱۴	۰/۴۱±۰/۰۶
آمیلاز (U mg/protein)	۱۷/۹۹±۱/۰۷	۱۷/۲۳±۱/۲۷	۱۸/۷۳±۱/۲۰
لیپاز (µmole/g/h)	۰/۰۱۷±۰/۰۰	۰/۰۱۸±۰/۰۰	۰/۱۷±۰/۰۰

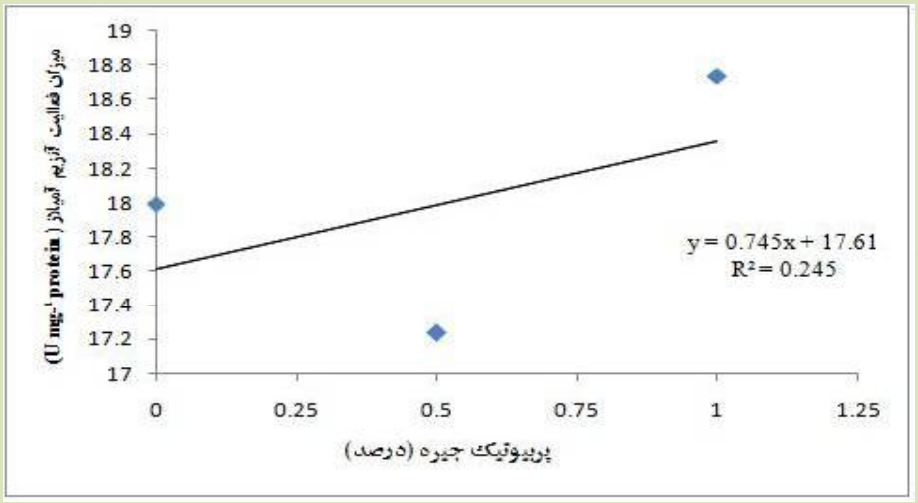
جدول ۲- اثر تیمارهای مختلف بر ترکیب بیوشیمیایی لاشه بچه ماهیان صبیتی

	شاهد	تیمار ۱	تیمار ۲
پروتئین (٪)	۱۹/۹۹±۰/۱۷	۱۹/۶۸±۰/۰۲	۱۹/۸۳±۰/۰۸
چربی (٪)	۷±۰/۰۹	۷/۴۳±۰/۳۹	۷/۶۵±۰/۲۳
خاکستر (٪)	۱۳/۱۵±۱/۱۳	۱۶/۹۱±۰/۵۲	۱۳/۴۷±۰/۸۵
رطوبت (٪)	۶۶/۸۳±۰/۳۷	۶۶/۸۰±۰/۶۳	۶۷/۷۶±۰/۱۷

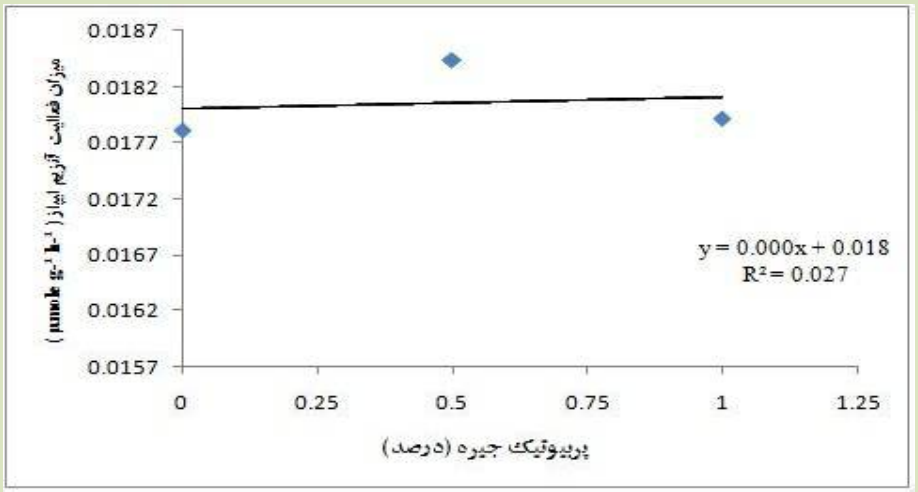
نبود حروف در هر ردیف نشانه عدم وجود اختلاف معنی دار می‌باشد



نمودار ۱- رابطه همبستگی بین میزان لاکتوفرین جیره و فعالیت آنزیم آلکالین پروتئاز بچه ماهیان صبیتی



نمودار ۲- رابطه همبستگی بین میزان لاکتوفرین جیره و فعالیت آنزیم آمیلاز بچه ماهیان صبیتی



نمودار ۳- رابطه همبستگی بین میزان لاکتوفرین جیره و فعالیت آنزیم لیپاز بچه ماهیان صبیتی

نتایج مربوط به فلور باکتریایی روده تیمارهای مختلف در جدول ۳ آمده است. تعداد باکتری های اسید لاکتیک و تعداد باکتری های کل اختلاف معنی داری را بین گروه شاهد و تیمارهای ۰/۵ و ۱ درصد پریبیوتیک نشان ندادند($p > ۰/۰۵$). بیشترین تعداد باکتری های اسید لاکتیک و باکتری های کل در گروه شاهد و کمترین تعداد آن ها به ترتیب در تیمار ۱ و ۲ مشاهده شد.

جدول ۳- اثر تیمارهای مختلف تعداد کلونی های باکتری(Log CFU/g) بچه ماهیان صبیتی

	شاهد	تیمار ۱	تیمار ۲
تعداد باکتری های اسید لاکتیک	۳/۰۵±۰/۱۹	۲/۵۷±۰/۲۱	۲/۶۷±۰/۱۰
تعداد باکتری های کل	۲/۹۴±۰/۲۳	۲/۴۹±۰/۶۳	۲/۶۰±۰/۲۸

*نبود حروف در هر ردیف نشانه عدم وجود اختلاف معنی دار می‌باشد

بحث و نتیجه گیری

در مطالعه حاضر نتایج حاصل از استفاده پریبیوتیک زایلواولیگوساکارید بر فعالیت آنزیم آلکالین پروتئاز، آلفاآمیلاز و لیپاز نشان دهنده وجود عدم اختلاف معنی‌دار در تیمارهای تغذیه شده با پریبیوتیک و تیمار شاهد بود. تعدادی از محققین مطالعاتی را در مورد تأثیر سین بیوتیک‌ها و پریبیوتیک ها بر فعالیت آنزیم های گوارشی گونه‌های مختلف آبزی انجام داده‌اند از جمله مطالعه بهرام بیگی(۳)، نشان داد که استفاده هم‌زمان و جدا از پروبیوتیک(*L. plantarum*) و پریبیوتیک زایلواولیگوساکارید(۰/۵، ۱ و ۲ درصد) اختلاف معنی-داری را در فعالیت آنزیم های گوارشی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به وجود نیاورد که با یافته های تحقیق حاضر هم‌خوانی دارد. در تضاد با مطالعه حاضر، افزایش فعالیت آنزیم های گوارشی به دنبال مصرف خوراکی پروبیوتیک و پریبیوتیک در تحقیقات مختلف گزارش شده است. Wang و Xu(۴۲)، Ye و همکاران(۴۵)، به ترتیب با افزودن پروبیوتیک(*Bacillus* sp.) و سطوح ترکیبی پروبیوتیک(*Bacillus clausii*) و فروکتو و مانان اولیگوساکارید به جیره ماهی کپور و کفشک ماهی ژاپنی افزایش فعالیت آنزیم های گوارشی(پروتئاز، لیپاز و آمیلاز) را مشاهده کردند. اضافه کردن پریبیوتیک زایلواولیگوساکارید(۰/۵، ۱ و ۲ درصد) و فروکتو اولیگوساکارید(۱، ۲ و ۳ درصد) به جیره غذایی ماهی حوض(*Carassius auratus gibelio*) و ماهی کلمه افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی را در مقایسه با گروه شاهد موجب شد(۴۴، ۳۶). تصور می‌شود که پروبیوتیک‌ها و پریبیوتیک ها فرآیندهای گوارشی را از طریق افزایش جمعیت میکروارگانیسم‌های مفید، فعالیت آنزیمی باکتری‌ها، بهبود تعادل میکروبی روده و در نتیجه بهبود هضم، جذب و شاخص‌های رشد را موجب می-شوند(۳۹، ۳۶). موارد مشابهی از توانایی تولید آنزیم‌های گوارشی خارج سلولی توسط باکتری‌های موجود در دستگاه گوارش ماهی آزاد اقیانوس اطلس(۳۵)، هامور(۳۷) و شانک(۳۹) گزارش شده است. با توجه به عدم وجود همبستگی معنی دار بین میزان فعالیت آلکالین پروتئاز، آمیلاز و لیپاز و مقدار پریبیوتیک جیره، در مطالعه حاضر عدم وجود اختلاف معنی دار را می توان به کم بودن سطوح انتخابی پریبیوتیک جیره و متعاقب آن عدم توانایی ممانعت از تشکیل کلونی های باکتری های بیماری زا توسط پرزهای گوارشی روده نسبت داد. تغییرات غذا و مکمل‌های غذایی می‌تواند بر تولید آنزیم‌های گوارشی درون‌زاد و برون‌زاد موثر باشد(۳۸). البته عوامل زیادی بر نتایج متضاد به دست آمده از تحقیقات مختلف موثر می‌باشند که می‌توان به مواردی چون میزان انباشتگی روده، وضعیت تغذیه، پیچیدگی ساختار سوبسترا و ریتم‌های فیزیولوژیکی اشاره

کرد(۲۶). علاوه بر این، شرایط آزمایشی متفاوت، روش-های مختلف جمع‌آوری نمونه و سنجش آنزیم‌های گوارشی باعث اختلال در مقادیر آنزیم‌های مورد بررسی و مقایسه گونه‌های مختلف با هم می‌شود(۲۳). در مورد تاثیر افزودن پربیوتیک به جیره بر کیفیت لاشه آبزیان مطالعات زیادی صورت گرفته است. در مطالعه حاضر مشاهده شد که سطوح پربیوتیک زایلواولیگوساکارید تاثیری بر کیفیت لاشه ماهیان نداشت. در همین راستا، Dimitroglou و همکاران(۱۵)، Gultepe و همکاران(۱۹)، Torrecillas و همکاران(۴۱) و اکرمی و همکاران(۲) با به کارگیری مانان اولیگوساکارید در جیره غذایی ماهی سیم دریایی(*Sparus aurata*)، باس دریایی(*Dicentrarchus labrax*) و بچه ماهی سفید دریای خزر(*Rutilus frisii kutum*) نتیجه گرفتند این پربیوتیک تاثیری بر ترکیب لاشه ندارد. در دو مطالعه اخیر، با وجود عدم تفاوت معنی دار بین تیمارها، بیشترین میزان پروتئین لاشه در تیمار شاهد مشاهده شد. نتایج این مطالعات با نتایج تحقیق حاضر هم‌خوانی دارد. در همین راستا طاعتی و همکاران(۶) با تغذیه فیل‌ماهی جوان(*Huso huso*) با پربیوتیک ایمنواستر، Rodriguez-Estrada و همکاران(۳۲) در قزل آلای رنگین کمان، Ye و همکاران(۴۵) در کفشک ماهی ژاپنی (*Paralichthys olivaceus*) و Mehrabi و همکاران(۲۸) در قزل آلای رنگین کمان با افزودن سین بیوتیک نتایجی متضاد با تحقیق حاضر گزارش کردند. هم چنین Genc و همکاران (۱۸) در میگوی ببری سبز(*Penaeus semisulcatus*)، Grisdle-Helland و همکاران(۲۰) در ماهی آزاد اقیانوس اطلس(*Salmo Salar*) و آفتابگرد و همکاران(۱) در بچه ماهیان سفید بیان کردند که جیره-های حاوی پربیوتیک میزان پروتئین لاشه را در تیمارها نسبت به گروه شاهد کاهش می دهد. این محققین در توجیه نتایج به دست آمده عنوان کردند که این مسئله ممکن است به بهره برداری کمتر اسیدآمینه و قابلیت هضم جیره مرتبط باشد. این محققین کاهش قابلیت هضم جیره را به کوتاه بودن طول دوره و عدم توانایی میکروفلور مفید روده در ممانعت از تشکیل کلونی های باکتری های بیماری زا نسبت دادند. در مطالعه حاضر با وجود عدم تفاوت معنی دار بین تیمارها، میزان پروتئین لاشه در تیمارها نسبت به گروه شاهد کاهش پیدا کرد. برخی محققین بر این باورند که تغییرات در ترکیبات بیوشیمیایی لاشه ماهیان مانند محتوی پروتئین و چربی را می‌توان به تغییرات در سنتز پروتئین و چربی در بدن، میزان ذخیره شان در بافت های بدن و نرخ رشد متفاوت نسبت داد(۲۲، ۸). تضادی که بین مطالعات صورت گرفته در زمینه ترکیب بیوشیمیایی لاشه ماهیان وجود دارد ممکن است به عواملی از جمله تفاوت در سن، جنس، شرایط محیطی و فصل وابسته باشد اما بدون شک اختلاف اصلی در ترکیب شیمیایی ماهی را باید در ارتباط با غذای دریافتی یا تغذیه ماهی و حتی درصد و مقدار غذادهی روزانه دانست(۵). فلور میکروبی ماهیان شامل مجموعه‌ای از باکتری‌ها می‌باشد که نقش مهمی را در هضم غذا و کنترل بیماری‌ها بر عهده دارند. فلور باکتریایی دستگاه گوارش ماهیان شامل باکتری‌های دائم، موقت و در حال عبور(که جزء فلور ثابت نیستند) می-باشد. حضور باکتری های اسید لاکتیک به عنوان باکتری‌های دائم در اکوسیستم روده ماهیان از جمله ماهی کاد اقیانوسی اطلس، قزل‌آلای رنگین کمان و چار قطبی ثابت شده است اما جزء فلور غالب نیستند. همچنین در جداسازی باکتری‌های اسید لاکتیک فاکتورهایی نظیر نوع محیط کشت، دمای انکوباسیون و طول مدت انکوباسیون بسیار مهم هستند (۲۱). باکتری‌های اسید لاکتیک به واسطه تولید باکتریوسین‌ها مانع از رشد باکتری‌های بیماریزا می‌شوند و بدین ترتیب اثرات مثبتی بر میکرو فلور روده ماهی می‌گذارند(۳۱). از آنجا که

pH معده در ماهی بین ۳ تا ۴/۵ می‌باشد، و زمان بازماندگی غذا نسبتاً کوتاه است، این نکته عموماً پذیرفته شده است که باکتری‌هایی نظیر LAB می‌توانند در دستگاه گوارش زنده بمانند(۱۱) و افزایش تعداد لاکتوباسیلوس‌ها در روده از طریق به کارگیری موادی که خاصیت پری‌بیوتیکی دارند، اثرات سودمندی را به دنبال خواهند داشت(۴). در مطالعه حاضر فلور باکتریایی روده تیمارهای تغذیه شده با پربیوتیک اختلاف معنی-داری را نسبت به گروه شاهد نشان نداد. Mahious و همکاران(۲۷) تاثیر اینولین، اولیگوفروکتوز و لاکتوسوکروز(۲ درصد) به عنوان پربیوتیک را روی رشد و فلور باکتریایی روده در لارو ماهی دریایی توربوت(*Psetta maxima*) مورد بررسی قرار دادند. این محققین مشاهده کردند در گروه تغذیه شده با اولیگوفروکتوز، حدود ۱۴٪ کل فلور باکتریایی جدا شده از روده به سویه باسیلوس تعلق داشت. این سویه توانسته بود اولیگوفروکتوز را به عنوان تنها منبع کربن مصرف کند و آن ها نتیجه گرفتند این پربیوتیک می‌تواند نقش مفیدی در رشد ماهی توربوت داشته باشد. Burr و همکاران(۱۴) اثرات ترکیبی از مخمر آبجو، فروکتو اولیگوساکارید(پربیوتیک) و محصول تجاری پربیوتیکی Grobiotic-A(ترکیب ایمونوژن با پربیوتیک Grobiotic-A ومخمر آبجو تقریبا مشابه است) را بر جمعیت میکروبی دستگاه گوارش ماهی شوریده (*Sciaenops ocellatus*) مورد مطالعه قرار دادند. جمعیت میکروبی ماهیان تغذیه شده با Grobiotic-A و مخمر آبجو به طور معنی داری با گروه شاهد اختلاف معنی دار نشان دادند. نتایج مطالعات مذکور با نتایج تحقیق حاضر مطابقت ندارد. یافته های مطالعه حاضر نشان داد که پربیوتیک زایلواولیگوساکارید نتوانسته مورد استفاده و تخمیر باکتری‌های اسیدلاکتیک قرارگیرد و تعداد آن ها را افزایش و در نهایت فلور روده را به سمت افزایش این باکتری‌ها سوق دهد، که ماحصل آن به‌شکل افزایش تعداد لاکتوباسیلوس‌ها خود را نشان دهد. به طور کلی از مطالعه حاضر می توان نتیجه گرفت که فعالیت آنزیم های گوارشی به وسیله پربیوتیک جیره تحت تاثیر قرار نگرفت. به نظر می رسد که به علت کم بودن سطوح انتخابی پربیوتیک جیره یا کوتاه بودن طول دوره آزمایش، افزودن ۰/۵ و ۱ درصد زایلواولیگوساکارید به جیره اثرات معنی داری بر روی ترکیب بیوشیمیایی بدن و فلور باکتریایی روده ماهی صبیتی ندارد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان بر خود لازم می دانند از جناب آقای مهندس نجف آبادی رئیس ایستگاه تکثیر و پرورش ماهیان دریایی بندر امام خمینی و سایر پرسنل محترم این مجموعه به جهت همکاری در مراحل عملی و آزمایشگاهی نهایت تشکر و قدردانی را داشته باشند.

منابع

۱–آفتابگرد، م.، زمینی، ع.ع.، ارشاد لنگرودی، ه. ۱۳۹۰. تأثیر پربیوتیک ایمنواستر بر شاخص های رشد، نرخ بازماندگی و ترکیب بدن بچه ماهیان انگشت قد ماهی سفید دریای خزر(*Rutilus frisii kutum*). مجله علوم و فنون دریایی، دوره ۱۰، شماره ۱، صفحات ۱۱۲–۱۰۰.

۲–اکرمی، ر.، کریم آبادی، ع.، محمدزاده، ح.، احمدی فر، ا. ۱۳۸۸. تأثیر پربیوتیک مانان اولیگوساکارید بر رشد، بازماندگی، ترکیب بدن و مقاومت به تنش شوری در بچه ماهی سفید دریای خزر(*Rutilus frisii kutum*). مجله علوم و فنون دریایی ایران، دوره ۸، شماره ۳ و ۴، صفحات ۵۷–۴۷.

۳–بهرام بیگی، م. ۱۳۹۲. مطالعه‌ی اثرات استفاده‌ی هم‌زمان پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلانتاروم(*Lactobacillus plantarum*) و پربیوتیک زایلواولیگوساکارید(Xylooligo saccharides) بر پارامترهای رشد، فعالیت آنزیم‌های گوارشی، پاسخ‌های ایمنی، ترکیب شیمیایی عضله و مقاومت در برابر شوک‌های محیطی در ماهی قزل‌آلای رنگین‌ک

مان(*Oncorhynchus mykiss*). پایان نامه کارشناسی ارشد دانشگاه ارومیه در رشته تکثیر و پرورش آبزیان. ۱۰۷ صفحه.

٤–پورامینی، م.، حسینی فر، ح. ۱۳۸۶. کاربرد پروبیوتیک ها و پربیوتیک ها در آبزی پروری. انتشارات موج سبز. ۱۰۴صفحه.

٥–رضوی شیرازی، ح. ۱۳۸۰. تکنولوژی فرآورده های دریایی. انتشارات نقش مهر. ۲۹۲ صفحه.

٦–طاعتی، ر.، تاتینا، م.، بهمنی، م. ۱۳۹۲. تأثیر محرک‌های ایمنی ایمنواستر و ایمنووال بر شاخص‌های خونی، بیوشیمیایی و ایمنی فیل ماهیان جوان پرورشی(*Huso huso*). مجله تحقیقات دامپزشکی. دوره ۶۸. شماره ۲، ۱۸۲–۱۷۵.

۷–فاطمی، س. ا.، میرزرگر، سیدس. س. ۱۳۸۶. فارماکولوژی کاربردی ماهیان (ترجمه). انتشارات دانشگاه تهران. چاپ اول، ص ۱۲۳.

8.Abdel-Tawwab, M., Abdel-Rahman, M.A., Nahla-Ismael, E.M. (2008). Evaluation of commercial live bakers'yeast, *Saccharomyces cerevisiae* as a growth and immunity promoter for Fry Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) challenged in situ with Aeromonas hydrophila. Aquaculture, 280; 185–189.

9.AOAC. (2000). Association of Official Analytical Chemists, 16th (end), Procedure 984. 25.

10. Bairagi, A., Sarkar Ghosh, K., Sen, S.K., Ray, A.K. (2002). Enzyme producing bacterial flora isolated from fish digestive tracts. Aquaculture, 10; 109-121.

11. Bahmani, M., Askarian, F., Matinfar, A., Kousha, A., Khorshidi, K., Shenavar, A. (2008). Diversity of Lactic acid bacteria in the gastro intestinal tracts of reared Beluga (*Huso Huso*) and Persian sturgeon (*Asipenser persicus*). Journal of Fisheries and Aquatic Science, 3(5); 302-311.

12. Bernfeld, P. (1955). Amylase. In: Colowick, S.P., Kaplan, N.O (Eds), Methods in Enzymology. Academic Press, New York. 149-158.

13. Bradford, M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical biochemistry, 72; 248-254.

14. Burr, G., Hume, R., Gatlin, D. (2006). Evaluation of grobiotic-a, brewer yeast and fructo- oligosaccharide as prebiotic for the red drum (*Sciaenops ocellatus*). Aquaculture America, Meeting Abstract.

15. Dimitroglou, A., Merrifield, D.L., Spring, P., Sweetman, J., Moate, R., Davies, S.J. (2010). Effects of mannan oligosaccharide (MOS) supplementation on growth performance, feed utilisation, intestinal histology and gut microbiota of gilthead sea bream (*Sparus aurata*). Aquaculture, 300; 182-188.

16. Fooks, L. J., Fuller, R., Gibson G.R. (1999). Prebiotics, probiotics and human gut microbiology. International Dairy Journal, 9; 53-61.

17. Garcia-Carreno, F.L., Haard, N.F. (1993). Characterization of proteinase classes in Langostilla *Pleuroncodes planipes* and Crayfish *Pacifastacus astacus* extracts. Journal of Food Biochemistry, 17; 97-113.

18. Genc, M.A., Aktas, M., Genc, E., Yilmaz, E. (2007). Effects of dietary mannan oligosaccharide on growth, body composition and hepatopancreas histology of *Penaeus semisulcatus* (de Haan, 1844). Aquaculture Nutrition, 13; 156-161.

19. Gultepe, N., Salnur, S., Hossu, B., Hisar, O. (2010). Dietary supplementation with Mannan oligosaccharides (MOS) from Bio-Mos enhances growth parameters and digestive capacity of gilthead sea bream (*Sparus aurata*). Aquaculture Nutrition, 17; 482-487.

20. Grisdle-Helland, B.G., Helland, S.J., Gatlin, D.M. (2008). The effect of dietary supplementation with mannan oligosacchare, fructo oligosaccharide or galacto oligo saccharide on the growth atlantic salmon (*Salmo salar*). Aquaculture, 283; 163-167.

21. Hagi, T., Tanaka, D., Iwamura, Y., Hoshino, T. (2004). Diversity and seasonal changes in lactic acid bacteria in intestinal tract of cultured fish. Aquaculture, 234; 335-346.

22. Heidarieh, M., Mirvaghefi, A. R., Akbari, M.,
Farahmand, H., Sheikhzadeh, N., Shahbazfar, A. A., Behgar, M. (2012). Effect of dietary ergosan on growth performance, digestive enzymes, intestinal histology, hematological parameters and body composition of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Fish Physiology and Biochemistry, 38; 1169–1174.

23. Hidalgo, M.C., Urea, A., Sanz, A. (1999). Comparative study of digestive enzymes in fish with different nutritional habits. Proteolytic and amylase activities. Aquaculture, 170; 267-283.

24. Iijima, N., Tanaka, S., Ota, Y. (1998). Purification and characterization of bile salt-activated lipase from hepatopancrease of red

sea bream *Pagarus major*. Fish Physiology and Biochemistry, 18; 59-69.
25. Lee, S.Y., Lee, B.H. (1990). Esterlytic and lipolytic activities of *Lactobacillus casei subscasei* L129. Food science, 55; 1-19.
26. Lopez-Vasquez, K., Castro-Perez, C.A., Val, A.L. (2009). Digestive enzymes of eight amazonian teleosts with different feeding habits. Journal of Fish Biology, 74; 1620-1628.
27. Mahious, A.S., Gatesoupe, F.J., Hervi, M., Metailler, R., Ollevier, F. (2005). Effect of dietary inulin and oligosaccharides as prebiotics for weaning Turbot (*Psetta maxima*). Aquaculture International, 14; 219-229.
28. Mehrabi, Z., Firouzbakhsh, F., Jafarpour, A. (2012). Effects of dietary supplimantation on growth, serum biochemical parameters and carcass composition in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fingerlings. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 96; 474-81.
29. Moraiti-Ioannidou, M., Castritsi-Catharios, J., Miliou, H. (2008). Biochemical composition and digestive enzyme activity during naupliar development of *Artemia* spp. from three solar saltworks in Greece. Aquaculture, 286; 259-265.
30. Pollock, R. A., Finlay, L., Mondscein, W., Modesto, R.R. (2002). Laboratory exercises in microbiology .John Wiley & Sons., INC.232p.
31. Ringo, E., Gatesoupe, F.J. (1998). Lactic acid bacteria in fish: a review. Aquaculture, 160; 177-203.
32. Rodriguez-Estrada, U., Satoh, S., Haga, Y., Fushimi, H., Sweetman, J. (2009). Effects of single and combined supplementation of *Enterococcus faecalis*, mannan oligosaccharide and poly hydro butyric acid on growth performance and immune response of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. Aquaculture Science, 57; 609-617.
33. Sakai, M. (1999). Current research status of fish immunostimulants. Aquaculture, 172; 63-92.
34. Schley, P.D., Field, C.J. (2002). The immune-enhancing effects of dietary fibres and prebitics. British Journal Nutrition, 87; 221-230.
35. Skrodenyte-Arbaciauskiene, V., Sruoga, A., Butkauskas, D., Skrupskelis, K. (2008). Phylogenetic analysis of intestinal bacteria of freshwater salmon *Salmo salar* and sea trout *Salmo trutta trutta* and diet. Fisheries Science, 74; 1307–1314.
36. Soleimani, N., Hoseinifar, S. H., Merrifield, D. L., Barati, M., Hassan Abadi, Z. (2012). Dietary supplementation of fructo oligosaccharide (FOS) improves the innate immune response, stress resistance, digestive enzyme activities and growth performance of Caspian roach(*Rutilus rutilus*) fry. Fish and Shellfish Immunology, 32; 316-321.
37. Sun, Y-Z ., Yang, H-L ., Ma , R-L. , Song, K. , Li , J-S. (2011). Effect of *Lactococcus lactis* and *Enterococcus faecium* on growth performance, digestive enzymes and immune response of grouper *Epinephelus coioides*. Aquaculture Nutrition, 165; 1-9.
38. Sunde, J., Taranger, G., Rungruangsak-Torrissen, K. (2001). Digestive protease activities and free amino acids in white muscle as indicators for feed conversion efficiency and growth rate in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). Fish Physiology and Biochemistry, 25; 335-345.
39. Suzer, C., Çoban, D., Kamaci, HO., Saka, S., Firat, K., Otgucuo lu, Ö. (2008). *Lacto bacillus* spp. Bacteria as probiotics in gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) larvae: effects on growth performance and digestive enzyme activities. Aquaculture, 280; 140-145.
40. Teng, S. K., El-Zahr, C., Al-Abdul-Elah, Kh., Almatar, S. (1999). Pilot-scale spawning and fry production of blue-fin porgy, *Sparidentex hasta*, Valenciennes in Kuwait. Aquaculture, 178; 27–41.
41. Torrecillas, S., Makol, A., Caballero, M.J., Montero, D., Robaina, L., Freal, F. (2007). Immune stimulation and improved infection resistance in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed mannan oligosaccharides. Fish and Shellfish Immunology, 23; 969-981.
42. Wang, Y.B., Xu, Z. (2006). Effect of probiotics for common carp (*Cyprinus carpio*) based on growth performance and digestive enzyme activities. Animal Feed Science and Technology, 127; 283-292.
43. Worthington, C.C. (1991). Worthington enzyme manual related Biochemical.3th Edition. Freehold, New jersey, 212-215.
44. Xu, B., Wang, Y., Li, J., Lin, Q. (2009). Effect of prebiotic xylo oligo saccharides on growth performances and digestive enzyme activities of allogynogenetic crucian carp (*Carassius auratus gibelio*). Fish Physiology and Biochemistry, 35; 351–357.
45. Ye, J.D., Wang, K., Li, F.D., Sun, Y.Z. (2011). Single or combined effects of fructo- and mannan oligosaccharide supplements and Bacillus clausii on the growth, feed utilization, body composition, digestive enzyme activity, innate immune response and lipid metabolism of the Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. Aquaculture Nutrition, 17; 902-911.

46. Ziemer, C.J., Gibson, G.R. (1998). An overview of probiotcs, prebiotics and synbiotics in the functional food concept: Perspectives and future strategies. International Dairy Journal, 8; 473–479.