تاثیر پری‌بیوتیک سانیار بر کاهش آلودگی ترکیبات نیتروژنی آب و بهبود عملکرد فیزیولوژیکی ماهی کپور معمولی در سیستم بیوفلاک

سیمرا جعفریان[۱*]، حسین آدینه[۱]، محمد فرهنگی[۱]، محمد هرسیج[۱]، ضیاء کردجزی[۱]

[۱] گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۱/۱۵ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۳/۹

چکیده

در این پژوهش اثرات استفاده از پری‌بیوتیک پودری و مایع سانیار بر کیفیت ترکیبات نیترونی آب و عملکرد فیزیولوژیکی ماهی کپور معمولی در سیستم بیوفلاک مورد بررسی قرار گرفت. ماهی کپور معمولی (۰/۴۵± ۱۰/۰۹ گرم) در ۱۸ مخزن (۳۵ لیتر) در ۶ تیمار به مدت ۶۰ روز ذخیره شد که شامل موارد زیر است: تیمار شاهد بدون افزودنی با آب تمیز (C)، تیمار شاهد بدون افزودنی با فلاک (FC)، تیمارهای فلاک با ۰/۱ گرم و ۰/۲ گرم پری‌بیوتیک پودری (FP1 and FP2) و تیمارهای فلاک با ۱ میلی‌لیتر و ۲ میلی‌لیتر پری‌بیوتیک مایع (FL1 and FL2) در ۱۰۰ گرم غذای پایه بود. پارامترهای آب در حد استاندارد برای این گونه حفظ شد. غلظت آمونیاک کل (TAN) بین تیمارهای آزمایشی اختلاف آماری معنی‌داری داشت. در تیمار FP1 عملکرد رشد ماهی به‌طور معنی‌داری بیشتر و ضریب تبدیل غذایی کمتر بدست آمد. بیشترین فعالیت پروتئاز روده (۰/۰۵± ۸/۴۲) در تیمار FP1 بدست آمد. سرم ایمونوگلوبولین و لیزوزیم در تیمارهای FP2 و FL1 به‌طور معنی‌داری بیشتر از سایر تیمارها بود. نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که استفاده از ۰/۱ گرم پودر پری‌بیوتیک سانیار در ۱۰۰ گرم غذا در سیستم بیوفلاک می‌تواند باعث بهبود کیفیت آب و عملکرد رشد و ایمنی ماهی کپور معمولی شود.

واژه‌های کلیدی: بیوفلاک، پری‌بیوتیک سانیار، ماهی کپور، رشد، ایمنی، کیفیت آب

مقدمه

تکنولوژی بیوفلاک نوع جدید از فناوری تصفیه آب است که با حفظ کیفیت آب، کاهش مصرف آب، بازیافت منابع غذایی و توسعه سیستم‌های آبزی‌پروری پایدار برای افزایش تولید در واحد سطح گسترش یافته است (Crab و همکاران، ۲۰۱۲؛ Avnimelech و همکاران، ۲۰۰۹). بیوفلاک مجموعه‌ای از میکروارگانیسم های مختلف از جمله باکتری ها، فیتوپلانکتون ها، روتیفرها، نماتدها، تک یاختگان و همچنین غذاهای خورده نشده، سلول‌های مرده، دیتریتوس و مدفوع می‌باشد (Emerenciano و همکاران، ۲۰۱۱) که به‌عنوان یک محیط ضداسترس برای آبزیان همچون ماهی کپور معمولی نقش ایفا می‌نماید (Adineh و همکاران، ۲۰۱۹). ماهی کپور معمولی بدلیل دارا بودن عادت غذایی همه‌چیزخواری، فیلترکنندگی، کفزی‌خواری و قابلیت جذب ذرات معلق میکروبی کاندیدای مناسبی برای پرورش در سیستم بیوفلاک می‌باشد. از آنجائی که این گونه در برابر نوسانات دمایی، اکسیژن، تراکم پرورش و بیماری‌ها نسبت به دیگر گونه‌های پرورشی مقاوم‌تر است بنابراین یکی از گونه‌های مهم پرورشی در ایران و جهان محسوب می‌شود.

یکی از منابع کربوهیدرات غیر قابل هضم که به‌طور انتخابی سبب تحریک رشد و فعالیت تعدادی

*نویسنده مسئول: adineh.h@gmail.com

از باکتری‌ها بخصوص در دستگاه گوارش میزبان می‌شود پری‌بیوتیک‌ها هستند. انواع پری‌بیوتیک‌های استفاده شده در صنعت آبزی‌پروری شامل بتاگلوکان‌ها، منان‌الیگوساکاریدها، لاکتوز، فروکتوالیگوساکارید و اینولین هستند که اثر آن‌ها در آبزیان به اثبات رسیده است (Hoseinifar و همکاران، ۲۰۱۶ و ۲۰۱۷؛ Dimitroglou و همکاران، ۲۰۱۰). در خصوص استفاده از انواع پری‌بیوتیک‌ها در جیره غذایی ماهی کپور معمولی می‌توان به بررسی اثر مکمل غذایی سین‌بیوتیک بایومین ایمبو بر عملکرد رشد، بازماندگی و فلور باکتریایی روده ماهی‌کپور معمولی انگشت‌قد (Qasempour Dehaghani و همکاران، ۲۰۱۳)، اثر پری‌بیوتیک آلفامیون و پروبیوتیک پروتکسین به صورت انفرادی و ترکیبی بر رشد بچه ماهیان کپور معمولی (Mahmuodian و همکاران، ۲۰۱۵)، اثر مکمل های گیاهی و اینولین بر فعالیت آنزیم های آنتی‌اکسیدانی ماهی کپور معمولی جوان (Vaez و همکاران، ۲۰۱۷)، تاثیر پری‌بیوتیک ایمکس بر عملکرد رشد، کارایی تغذیه و برخی از فاکتورهای بیوشیمیایی سرم خون بچه ماهیان انگشت قد کپور معمولی (Bivareh و Jafaryan، ۲۰۱۷)، تاثیر پری‌بیوتیک سلماناکس و پنج گونه از پروبیوتیک‌های باسیلی بر کاهش استرس حمل‌و نقل کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در شوری‌های مختلف (Ranjdoust و همکاران، ۲۰۱۹)، تاثیر دو پری‌بیوتیک تجاری ایمکس، سلماناکس مایع و مخلوط آن‌ها با هم در جیره غذایی بچه‌ماهیان نورس کپور معمولی بر عملکرد رشد، کارایی تغذیه و میزان مقاومت در برابر استرس‌های محیطی (Bivareh و Jafaryan، ۲۰۱۷)، تاثیر پری‌بیوتیک مانان الیگوساکارید بر عملکرد رشد، بازماندگی و مقاومت به تنش شوری در بچه ماهی کپور معمولی (Farhangi و Kor، ۲۰۲۰)، اشاره کرد. تحقیقاتی در ارتباط با اثرات بکارگیری پری‌بیوتیک‌های تجاری در سیستم بیوفلاک منتشر شده است که از جمله آن موارد ذیل می‌باشد. استفاده از دو پری‌بیوتیک تجاری ایمکس اولترا و سلماناکس مایع در تلقیح به سیستم بیوفلاک (Khosravi و همکاران، ۲۰۲۰)، بکارگیری مکمل خوراکی پربیوتیکی (Poly-β-hydroxybutyrate) در جیره غذایی به‌عنوان ترکیب تقویت‌کننده سیستم ماهی کپور (*Carassius auratus gibelio*) در سیستم بیوفلاک (Qiao و همکاران، ۲۰۲۰)، تغییرات نیتروژن و میکروبیوتای روده ماهی تیلاپیا نیل (*Oreochromis niloticus*) با استفاده از پلی (β-هیدروکسی بوتیرات-β-هیدروکسیوالرات) به‌عنوان منبع کربن در سیستم‌های بیوفلاک (Liu و همکاران، ۲۰۱۹)، استفاده از مانان الیگوساکاریدهای به‌عنوان منبع کربن در سیستم بیوفلوک برای پرورش ماهی تیلاپیا نیل (Kishawy و همکاران، ۲۰۲۰)، اثرات استفاده از سین‌بیوتیک (پرو بیوتیک و پری‌بیوتیک) در سیستم پرورش ماهی تیلاپیا نیل مبتنی بر بیوفلاک (BFT) مورد بررسی قرار گرفت (Laice و همکاران، ۲۰۲۱) از نمونه تحقیقات گزارش شده می‌باشد. هدف از این مطالعه بررسی تاثیر بکارگیری پری‌بیوتیک سانیار (پودری و مایع) در دو سطح مختلف بر عملکرد رشد، بهره‌وری تغذیه، ترشح آنزیم‌های گوارشی و ایمنی غیر اختصاصی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) پرورش یافته در سیستم بیوفلاک بود.

مواد و روش‌ها

شرایط تولید فلاک میکروبی و نگهداری ماهی کپور معمولی: برای تهیه استوک اولیه فلاک میکروبی، دو مخزن مدور و هر یک با حجم آبگیری ۵۰ لیتر تهیه و در هر یک از آنها برای تامین ازت از غذای ماهی و اوره و برای تامین کربن از ملاس چغندر قند استفاده شد (Avnimelech، ۲۰۰۹). استوک تشکیل شده

بیوفلاک از توری با چشـــمه ۱۰ میکرومتر عبور داده شـد و به هر مخزن در گروه آزمایشـی بیوفلاک مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر در لیتر از اســـتوک اولیه بیوفلاک افزوده شـــد (Xu و Pan، ۲۰۱۳). برای حفظ مقادیر بیوفلاک در تیمارهای آزمایشـــی بررســـی حجم فلاک توســـط ظروف مخروطی مدرج ایمهوف در طول دوره پرورش انجام شد.

۱۸ مخزن (۶ تیمار و هر یک با ۳ تکرار) با حجم آبگیری ۳۵ لیتر آماده که تعداد ۳۲۴ قطعه در آن‌ها رهاسـازی شـد. تعداد ۱۸ قطعه ماهی با میانگین وزنی ۰/۴۵± ۱۰/۰۹ گرم در هر مخزن برای ۶۰ روز پرورش نگهداری گردید. غذادهی به‌میزان ۳ درصـــد وزن بدن اجرا شد. تعویض آب کمتر از ۵ در صد در تیمارهای بیوفلاک و ۲۰ درصـــد در تیمار شـــاهد با آب تمیز بصورت روزانه برای جلوگیری از تجمع فلاک اضافی انجام شد.

تهیه جیره غذای حاوی پری‌بیوتیک ســـانیار: پری‌بیوتیک سانیار از شرکت کاوشگر سپهر جوان (به شـــماره ثبت ۳۷۴۸۱، دزفول- ایران) تهیه شـــد. این پری‌بیوتیک برگرفته از مخمر ساکارومایسیس سرویزیه (*Saccharomyces cerevisiae*) حـــاوی مـــانـــان الیگو ساکارید و بتاگلوکان است. پری بیوتیک سانیار به‌صـــورت مایع و پودری طبق دســـتورالعمل شـــرکت تولید کننده اســـتفاده شـــد. بدین‌منظور از پری‌بیوتیک سـانیار مایع بصـورت مجزا به‌میزان ۱ و ۲ میلی‌لیتر در هر ۱۰۰ گرم جیره غذایی و از پری‌بیوتیک پودری بصـــورت مجزا به‌میزان ۰/۱ و ۰/۲ گرم در ۱۰۰ گرم جیره غذایی اسـتفاده گردید. غذای آغازین ماهی کپور با کد SFC (در محدوده‌ی وزنی ۱ تا ۲۰ گرم) از شرکت فرادانه حاوی حداقل ۳۸٪ پروتئین، ۴٪ چربی، ۳٪ فیبر، ۷٪ خاکستر، ۵٪ رطوبت، ۱٪ فسفر با قطر ۲ میلی‌متر تهیه گردید. آماده‌ســـازی غذا در دو مرحله برای ۳۰ روز انجام شد. بدین منظور غذای هر تیمار با آسـیاب برقی خرد و از الک عبور داده شـد. سـپس به ازای هر ۱۰۰ گرم غذا بصـــورت مجزا از پری‌بیوتیک سـانیار مایع بترتیب به‌میزان ۱ میلی‌لیتر و ۲ میلی‌لیتر و از پری‌بیوتیک ســـانیار پودری به‌میزان ۰/۱ و ۰/۲ گرم افزوده و توســـط آب مقطر به حالت خمیری و بعد از عبور از چرخ گوشت و تهیه رشته در مجاورت هوا با استفاده از پنکه خشک گردید. غذا خورد شده از الک عبور داده شد و سپس غذای آماده در پلاستیک زیپبدار در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد یخچال نگهداری شد. برای تیمارهای شاهد آب تمیز و فلاک از غذای بدون افزودنی پری‌بیوتیک اســـتفاده شـــد که تنها غذا پودر، توسط آب مقطر خمیری و پس از خشک و سایزبندی شدن در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد یخچال نگهداری شـد. تیمارهای آزمایشـی در این تحقیق به شـرح ذیل بودند؛ تیمار شـــاهد بدون افزودنی با آب تمیز (C)، تیمار شـــاهد بدون افزودنی با فلاک (FC)، تیمارهای فلاک حـاوی مقـادیر پری‌بیوتیـک پودری ۰/۱ گرم (FP1) و ۰/۲ گرم (FP2) در ۱۰۰ گرم غذای پایه و همچنین تیمارهای فلاک حاوی مقادیر پری‌بیوتیک مایع یک میلی‌لیتر (FL1) و ۲ میلی‌لیتر (FL2) در ۱۰۰ گرم غذای پایه بودند.

شـــاخص‌های رشـــد و تغذیه: پایان دوره آزمایش فاکتورهای رشد و تغذیه ماهی کپور معمولی سنجش شد. وزن کل با ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۱ و طول کل با اسـتفاده از تخته بیومتری با دقت ۰/۱ سـانتی‌متر اندازه گیری شـد. فرمول‌های بکار رفته در این تحقیق به شرح ذیل می‌باشد:

افزایش وزن (WG, g)= میانگین وزن نهایی (گرم)- میانگین وزن اولیه (گرم)

درصد افزایش وزن (WGR, %)= [(وزن نهایی (گرم)- وزن اولیه (گرم)/ (وزن اولیه)]× ۱۰۰

ضریب رشد ویژه (SGR, ٪day^{-1})= ((ln وزن نهایی (گرم)- ln وزن اولیه (گرم))/ مدت‌زمان پرورش (روز))× ۱۰۰

ضریب تبدیل غذایی (FCR)= [مقدار غذای مصرف‌شده (گرم)/ (وزن نهایی (گرم)- وزن اولیه (گرم))]

کارایی تبدیل غذا (FCE, %)= (وزن بدست آمده/ مقدار غذای مصرف شده (گرم))× ۱۰۰

سنجش کیفیت آب: قلیائیت به روش تیتراسیون و غلظت نیتروژن غیر آلی محلول شامل آمونیاک کل (TAN)، نیترات ($NO3^-$) و فسفات با استفاده از اسپکتروفتومتر بر اساس استاندارد آزمایشگاه (APHA, 1998) سنجش شد.

نمونه‌برداری روده و سرم خون ماهی: بعد از ۶۰ روز دوره پرورش، برای سنجش آنزیم‌های گوارشی و برخی از فاکتورهای ایمنی نیز ۲۴ ساعت قبل از نمونه‌برداری غذادهی قطع گردید و بطور تصادفی تعداد ۳ قطعه ماهی از هر تکرار صید گردید. نمونه‌های خون از ۳ ماهی از هر تانک (۹ ماهی از هر تیمار) و با استفاده از سرنگ از سیاهرگ ساقه دمی گرفته شد. محوطه شکمی نمونه‌ها با الکل ضدعفونی سپس کل روده از بدن جدا و توسط سرم فیزیولوژی شست‌وشو شد.

سنجش ترشحات آنزیم‌های گوارشی و ایمنی سرم خون: نمونه‌ها با ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ گرم وزن شدند و سپس به نسبت وزنی- حجمی (۱ به ۹) با محلول بافر همگن شدند (Cahu و همکاران، ۱۹۹۹). جهت تهیه عصاره آنزیمی ابتدا بافر ساخته شد که بدین منظور ۱۰۰ میلی‌مولار Tris-Hcl، ۰/۱ میلی‌مولار EDTA و ۰/۱ درصد Triton در پی‌اچ ۷/۸ همگن شدند. نمونه‌ها در دستگاه سانتریفیوژ یخچال‌دار با دمای ۴ درجه‌سانتی‌گراد قرار داده شد که در نهایت مایع رویی بدست آمده به‌عنوان عصاره آنزیمی برای سنجش جدا گردید (Rungruangsak-Torrissen و همکاران، ۲۰۰۲). میزان فعالیت آنزیم‌های گوارشی بر مبنای واحد/میلی‌گرم پروتین محاسبه شد. برای سنجش میزان پروتئین کل نمونه از روش Bradford (۱۹۷۶) استفاده شد. آمیلاز و پروتئاز بر اساس روش ورتینگتون انجام شد (Worthington، ۱۹۹۳). سنجش آنزیم لیپاز با استفاده از هیدرولیز p-Nitropheny1 myristate به‌عنوان سوبسترا در متوکسی اتانول ۰/۲۵ میلی‌مولار، Sodium Cholate ۵ میلی‌مولار و Tris-HCL ۰/۲۵ مولار در پی‌اچ ۹ انجام شد. فعالیت اختصاصی لیپاز برابر است با آزادسازی یک میکرومول پارا-نیتروفنل در یک دقیقه در دمای ۳۰ درجه سانتیگراد که در ۴۰۵ نانومتر خوانده شد (Iijima و همکاران، ۱۹۹۸). غلظت ایمنوگلوبولین توسط کیت مخصوص به روش کدورت‌سنجی و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر انجام شد. برای تعیین میزان فعالیت لیزوزیم سرم از روش ارائه‌شده توسط Ellis (۱۹۹۰) استفاده شد.

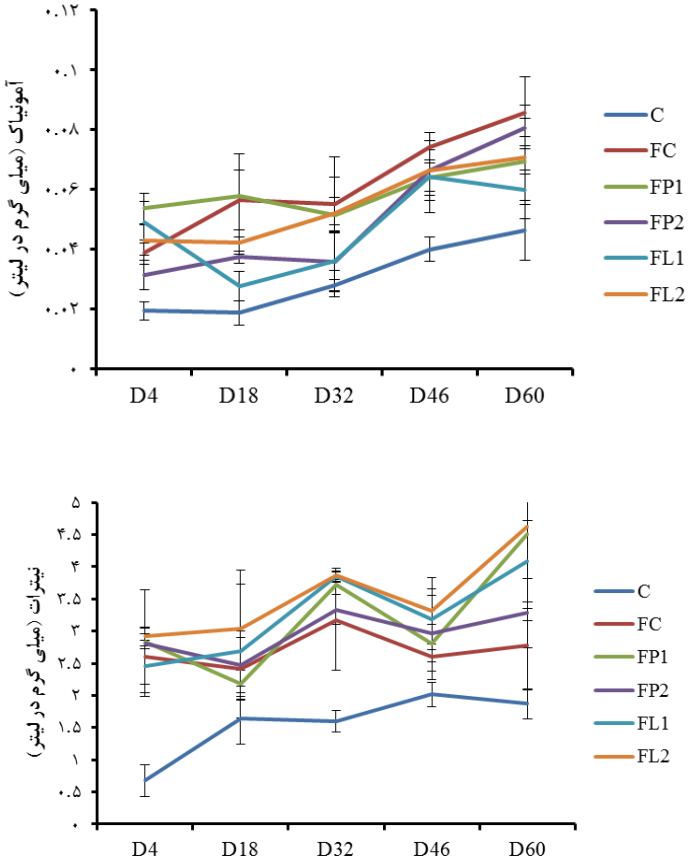
تجزیه و تحلیل آماری

این طرح در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۶ تیمار آزمایشی و هر یک با ۳ تکرار به‌مدت ۶۰ روز اجرا شد. قبل از آنالیز نرمال بودن داده‌ها توسط آزمون Shapiro-Wilk بررسی شد. مقایسه میانگین داده‌های تیمارهای آزمایشی (انحراف معیار ± میانگین) با استفاده از آنالیز واریانس یکطرفه (One-Way ANOVA) و توسط آزمون چند دامنه دانکن انجام شد. از آنالیز واریانس دوطرفه (Two-Way ANOVA) برای بررسی اثر متقابل (اثر پری‌بیوتیک پودری و مایع و اثر دو سطح از دوز مصرفی) استفاده شد. تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم افزار IBM SPSS Statistics نسخه ۱۶ انجام گردید و سطح معنی‌داری قابل قبول در کلیه آزمون‌های آماری به‌صورت ($P < ۰/۰۵$) در

نظر گرفته شـــد. برای رســـم نمودارها از نرم افزار Microsoft Office Excel نسخه ۲۰۱۶ استفاده شد.

نتایج

تغییرات آمونیـــاک و نیـــترات در حوضچه‌هـــای آزمایشی تیمارهای مختلف در شکل ۱ نشان داده شده اســـت. با توجه به نتایج کمترین میزان آمونیاک و تیترات در تیمار شـــاهد (آب تمیز) و بیشـــترین میزان آمونیاک در تیمار شاهد بدون افزودنی مشاهده شد.



شکل ۱- تغییرات آمونیاک و نیترات در حوضچه‌های پرورشی ماهی کپور معمولی شاهد و تغذیه شده با مکمل پری‌بیوتیک سانیار در سیستم بیوفلاک

C: تیمار شاهد بدون افزودنی با آب تمیز، FC: تیمار شاهد بدون افزودنی با فلاک،

FP1 و FP2: به ترتیب تیمارهای فلاک حاوی مقادیر پری‌بیوتیک پودری ۰/۱ و ۰/۲ گرم در ۱۰۰ گرم غذای پایه،

FL1 و FL2: به ترتیب تیمارهای فلاک حاوی مقادیر پری‌بیوتیک مایع ۱ و ۲ میلی‌لیتر در ۱۰۰ گرم غذای پایه.

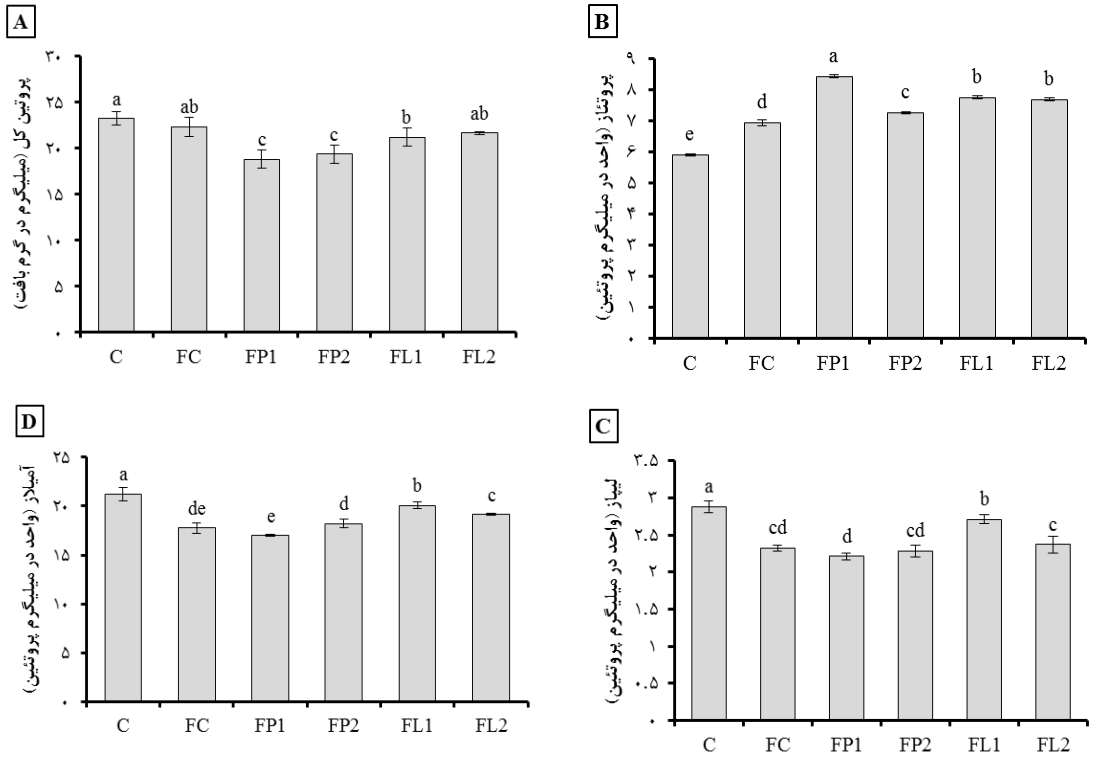
عملکرد رشـــد و تغذیه ماهی کپور معمولی تغذیه شده با پری‌بیوتیک پودری سانیار در تیمار فلاک ۰/۱ گرم (FP1) در مقایســـه با دیگر تیمارهای آزمایشـــی افزایش معنی‌داری داشـــت بطوریکه بیشـــترین وزن نهایی، درصد افزایش وزن و نرخ رشد ویژه و همچنین کمترین ضریب تبدیل غذایی در این تیمار بدست آمد (جدول ۱).

جدول ۱- عملکرد رشد و بهره‌وری تغذیه ماهی کپور معمولی تغذیه شده با مکمل پری‌بیوتیک سانیار در سیستم بیوفلاک

	وزن نهایی (گرم)	افزایش وزن (گرم)	ضریب رشد ویژه (درصد در روز)	ضریب تبدیل غذایی	کارایی تبدیل غذا (درصد)
C	۱۶/۳۲ ± ۱/۱۹cd	۶/۱۲ ± ۱/۳۴c	۰/۷۸ ± ۰/۱۵c	۱/۹۱ ± ۰/۰۹a	۵۳/۸۶ ± ۲/۴۶c
FC	۱۶/۰۳ ± ۱/۰۶d	۵/۹۹ ± ۱/۱۳c	۰/۷۷ ± ۰/۱۲c	۱/۷۸ ± ۰/۱۹ab	۵۸/۱۴ ± ۵/۲۷bc
FP1	۱۸/۱۰ ± ۱/۶۱a	۸/۱۶ ± ۱/۵۹a	۰/۹۹ ± ۰/۱۶a	۱/۴۹ ± ۰/۰۹b	۶۹/۵۴ ± ۲/۹۳a
FP2	۱۶/۹۱ ± ۱/۳۸bc	۶/۶۳ ± ۱/۵۴bc	۰/۸۲ ± ۰/۱۶bc	۱/۷۴ ± ۰/۲۳ab	۶۰/۲۸ ± ۷/۹۰abc
FL1	۱۷/۵۶ ± ۱/۵۸Aab	۷/۳۶ ± ۱/۸۹ab	۰/۹۰ ± ۰/۲۰ab	۱/۵۸ ± ۰/۲۰b	۶۶/۵۳ ± ۷/۱۶ab
FL2	۱۷/۳۱ ± ۱/۳۵ab	۷/۳۸ ± ۱/۴۷ab	۰/۹۲ ± ۰/۱۵ab	۱/۷۳ ± ۰/۱۰ab	۵۹/۸۷ ± ۳/۴۴abc
اثر پری‌بیوتیک	NS	NS	NS	NS	NS
اثر دوز مصرفی	P=۰/۰۰۵	P=۰/۰۰۶	P=۰/۰۱۰	P=۰/۰۴۱	P=۰/۰۴۴
اثر متقابل	P=۰/۰۰۸	P=۰/۰۰۷	P=۰/۰۰۹	NS	NS

در هر ردیف ستون وجود حروف غیرمشابه نشان دهنده تفاوت آماری معنی‌دار می‌باشد ($P <$ ۰/۰۵). (NS: Not Significant) به‌معنای عدم وجود اختلاف معنی‌دار آماری است.

C: تیمار شاهد بدون افزودنی با آب تمیز، FC: تیمار شاهد بدون افزودنی با فلاک، FP1 و FP2: به ترتیب تیمارهای فلاک حاوی مقادیر پری‌بیوتیک پودری ۰/۱ و ۰/۲ گرم در ۱۰۰ گرم غذای پایه، FL1 و FL2: به ترتیب تیمارهای فلاک حاوی مقادیر پری‌بیوتیک مایع ۱ و ۲ میلی‌لیتر در ۱۰۰ گرم غذای پایه.



شکل ۲- سطوح پروتئین کل (A)، پروتئاز (B)، لیپاز (C) و آمیلاز (D) ماهی کپور معمولی تغذیه شده با دو سطح پری‌بیوتیک سانیار پودری و مایع در سیستم بیوفلاک

C: تیمار شاهد بدون افزودنی با آب تمیز، FC: تیمار شاهد بدون افزودنی با فلاک، FP1 و FP2: به ترتیب تیمارهای فلاک حاوی مقادیر پری‌بیوتیک پودری ۰/۱ و ۰/۲ گرم در ۱۰۰ گرم غذای پایه، FL1 و FL2: به ترتیب تیمارهای فلاک حاوی مقادیر پری‌بیوتیک مایع ۱ و ۲ میلی‌لیتر در ۱۰۰ گرم غذای پایه.

در مطالعه حا ضر آنالیز آنزیم‌های گوار شی ن شان داد که بیشـــترین مقدار پروتئاز ۰/۰۵± ۸/۴۲ واحد در میلی‌گرم پروتئین در تیمـار فلاک حـاوی ۰/۱ گرم پری‌بیوتیک پودری در ۱۰۰ گرم غذای پایه (FP1) و کمترین آن در تیمار شـــاهد آب تمیز به‌میزان ۰/۰۴± ۵/۹۱ واحد در میلی‌گرم پروتئین بدســـت آمد (شـــکل ۲). در این پژوهش، غلظـت لیزوزیم و ایمنوگلوبین ســـرم خون در تیمارهای FP2 و FL1 در مقایســـه با دیگر تیمارهای آزمایشـــی افزایش معنی‌داری داشـــتند (جدول ۲).

جدول ۲- فاکتورهای ایمنی ماهی کپور معمولی تغذیه شده با دو سطح از مکمل پری‌بیوتیک (پودری و مایع) در سیستم بیوفلاک

	ایمنوگلوبین (mg/dl)	لیزوزیم (u/ml/min)
C	۴۸/۳۰ ۳±/۴۳b	۳۸/۹۴ ۲±/۹۴c
FC	۴۹/۹۴ ۳±/۰۱b	۳۹/۹۷ ۲±/۰۰c
FP1	۴۶/۹۹ ۱±/۷۸b	۴۵/۵۰ ۱±/۴۱b
FP2	۶۰/۴۴ ۲±/۲۲a	۵۲/۳۰ ۴±/۰۸a
FL1	۶۰/۴۱ ۴±/۳۵a	۵۵/۴۴ ۱±/۳۷a
FL2	۴۶/۰۵ ۲±/۶۷b	۴۰/۱۰ ۱±/۶۵c
اثر پری‌بیوتیک	NS	NS
اثر دوز مصرفی	NS	P=۰/۰۱۵
اثر متقابل	P <۰/۰۰۱	P <۰/۰۰۱

در هر ردیف عمودی وجود حروف غیرمشابه نشان دهنده تفاوت آماری معنی‌داری می‌باشد (P<۰/۰۵). (NS: Not Significant) به‌معنای عدم وجود اختلاف معنی‌دار آماری است.

C: تیمار شاهد بدون افزودنی با آب تمیز، FC: تیمار شاهد بدون افزودنی با فلاک، FP1 و FP2: به ترتیب تیمارهای فلاک حاوی مقادیر پری‌بیوتیک پودری ۰/۱ و ۰/۲ گرم در ۱۰۰ گرم غذای پایه، FL1 و FL2: به ترتیب تیمارهای فلاک حاوی مقادیر پری‌بیوتیک مایع ۱ و ۲ میلی‌لیتر در ۱۰۰ گرم غذای پایه.

بحث و نتیجه‌گیری

اســـاس کار تکنولوژی بیوفلاک تبدیل ضـــایعات نیتروژنی و تولـید زیســـت توده میکروبی اســـت (Avnimelech، ۲۰۰۹؛ De Schryver و هـمکـاران، ۲۰۰۸). در محیط‌های پرورش با کمک تکنولوژی‌های مدرن همچون تکنولوژی بیوفلاک می‌توان کیفیت آب را کنترل و در شرایط منا سب برای آبزی‌پروری حفظ نمود. اگر چه بین تیمار شـــاهد (بدون پری‌بیوتیک در آب تمیز) با دیگر تیمارهای آزمایشـــی اختلاف وجود داشت، اما بطور کلی سیستم فلاک حاوی پری‌بیوتیک توانســـت با کمترین میزان تعویض آب مقدار آمونیاک را در حد اســـتاندارد برای پرورش ماهی کپور معمولی حفظ نماید.

پری‌بیوتیک‌ها مواد غیر قابل هـ ضمی هـ ستند که از طریق فعال کردن مجموعه‌ای از باکتری‌های مفید در د ستگاه گوارش باعث تحریک ر شد و بهبود سلامت میز بان می‌شـــو ند (Gibson و Roberfroid، ۲۰۰۸). علاوه بر اینکه پری‌بیوتیک‌ها به‌عنوان یک منبع غذایی محســـوب می‌شـــود، اســـتفاده از فلاک میکروبی بدلیل دارای بودن پروتئین (اســـید های آمینه ضـــروری)، اسیدهای چرب اشباع نشده، ویتامین‌ها و مواد معدنی (Azim و Little، ۲۰۰۸؛ De Schryver و هم کاران، ۲۰۰۸) می‌تواند در افزایش پایدار و راندمان تولید به صـــنعت آبزی‌پروری کمک نماید. عملکرد رشـــد و تغذیه ماهی کپور معمولی تغذیه شـــده با پری‌بیوتیک پودری ســـانیار در تیمار فلاک ۰/۱ گرم (FP1) در مقایسه با دیگر تیمارهای آزمایشی افزایش معنی‌داری

داشت به‌طوری‌که بیشترین وزن نهایی، درصد افزایش وزن و نرخ رشد ویژه و همچنین کمترین ضریب تبدیل غذایی در این تیمار بدست آمد.

در خصوص استفاده از پری‌بیتیک در جیره غذایی ماهی کپور و اثرات مثبت بر عملکرد رشد و تغذیه می‌توان به تاثیر پری‌بیوتیک مانان الیگوساکارید (Farhangi و Kor، ۲۰۲۰)، تاثیر دو پربیوتیک تجاری ایمکس، سلماناکس مایع و مخلوط در جیره غذایی (Bivareh و Jafaryan، ۲۰۱۷)، بررسی اثر پری‌بیوتیک آلفامیون و پروبیوتیک پروتکسین (Mahmoudian و همکاران، ۲۰۱۵) و مکمل غذایی سین‌بیوتیک بایومن ایمبو (ترکیب پری‌بیوتیک فروکتوالیگوساکارید و پروبیوتیک انتروکوکوس فاسیوم) (Qasempour و Dehaghani و همکاران، ۲۰۱۳) اشاره کرد.

استفاده از دو پربیوتیک تجاری ایمکس اولترا و سلماناکس مایع به‌میزان ۰/۲ میلی‌لیتر در لیتر در تلقیح به سیستم بیوفلاک باعث بهبود پارامترهای رشد و کارایی تغذیه بچه ماهیان کپور معمولی شد (Khosravi و همکاران، ۲۰۲۰). به‌نظر می‌رسد این پربیوتیک‌ها از طریق تغییر در ویژگی های موفولوژیکی روده مانند افزایش ارتفاع میکروویلی‌ها و همچنین اصلاح جمعیت میکروبی دستگاه گوارش می‌توانند کارایی روده را افزایش و بهبود جذب مواد مغذی و ارتقای پارامترهای رشد را داشته باشند (Dimitroglou و همکاران، ۲۰۱۰).

در مطالعه حاضر آنالیز آنزیم‌های گوارشی نشان داد که بیشترین مقدار پروتئاز در تیمار فلاک حاوی ۰/۱ گرم پری‌بیوتیک پودری در ۱۰۰ گرم غذای پایه (FP1) و کمترین آن در تیمار شاهد آب تمیز بدست آمد. نتایج عملکرد رشد و ترشحات آنزی‌های گوارشی تحقیق حاضر نشان می‌دهد که بکارگیری پری‌بیوتیک بصورت پودری در جیره غذایی در مقایسه با استفاده از پری‌بیوتیک بصورت مایع در آب محیط پرورش بهتر بوده که می‌توان علت آن را ورود مستقیم پری‌بیوتیک به‌عنوان مکمل غذایی برای ازدیاد باکتری های در دستگاه گوارش در جهت بهبود گوارش و سوخت و ساز بدن دانست. مهمترین محصول حاصل از متابولیسم پری‌بیوتیک‌ها اسیدهای چرب زنجیره کوتاه است که از طریق ای‌تلیوم روده جذب و به‌عنوان یک منبع انرژی مهم برای میزبان تلقی شده و باعث بهبود جذب مواد غذایی می‌شوند. تولید اسیدهای چرب زنجیره کوتاه مانند استات، پروپیونات، بوتیرات و اسید لاکتیک ناشی از تخمیر پری‌بیوتیک ها منجر به کاهش پ‌اچ روده می شود که شرایط مناسب برای رشد باکتری‌ها فراهم می‌کند (Wang و همکاران، ۲۰۱۷)، از اینرو بهبود فعالیت‌های آنزیم‌های گوارشی می‌تواند اتفاق بیافتد، اما برخی مطالعات نشان از عدم تاثیرپذیری آنزیم‌های گوارشی نسبت به استفاده از انواع پری‌بیوتیک‌ها همچون مانان‌الیگوساکارید می‌باشد (Salze و همکاران، ۲۰۰۸؛ Torrecillas و همکاران، ۲۰۰۷؛ Hoseinifer و همکاران، ۲۰۱۶)، بنابراین شرایط زیستی ماهی، وزن و گونه آبزی، دوز و روش مصرف پری‌بیوتیک می‌تواند بر ترشحات آنزیمی تاثرگذار باشند.

سیستم ایمنی غیراختصاصی یا ذاتی یک مکانیسم دفاعی در برابر عوامل بیماریزا محسوب می‌شود. بنابراین می‌توان با تقویت این سیستم آبزی را در برابر عوامل باکتریایی فرصت طلب ایمن کرد (Dixon و Stet، ۲۰۰۱). یکی از راه‌های بهبود و تقویت سیستم ایمنی استفاده از محرک‌ها و مواد سودمند در جیره غذایی می‌باشد. پری‌بیوتیک‌ها به‌عنوان محرک سودمند به‌طور انتخابی با تحریک رشد برخی از باکتری‌ها می‌توانند بر سلامت میزبان از طریق تقویت سیستم ایمنی کمک نمایند (Zhang و همکاران، ۲۰۱۲).

در این پژوهش، غلظت لیزوزیم و ایمنوگلوبین سرم خون در تیمارهای FP2 و FL1 در مقایسه با دیگر تیمارهای آزمایشی افزایش معنی‌داری داشتند که

نشـــان از بهبود ایمنی غیر اختصـــاصـــی ماهی کپور معمولی در این آزمایش اســـت. محققین گزارش دادند که بکارگیری پری‌بیوتیک ها در جیره غذایی آبزیان باعث کاهش شـــاخص‌های اســـترس و تقویت ایمنی می‌گردد (حسینی‌فر و همکاران، ۱۳۹۰؛ Hoseinifar و همکاران، ۲۰۱۷، Mohammadian و همکاران، ۲۰۲۱؛ Ghafarifar Sani و همکاران، ۲۰۲۱). علاوه بر این محیط بیوفلاک به‌عنوان یک محیط ضد استرس برای پرورش ماهی کپور معمولی معرفی شـــده اســـت (Adineh و همکاران، ۲۰۱۹).

بطورکلی نتایج بدست آمده از تحقیق حاضر نشان داد که، بکارگیری پری‌بیوتیک سانیار به‌صورت پودری و مایع (به‌ترتیب در غذا و آب) در محیط بیوفلاک می‌تواند بر کیفیت آب، عملکرد رشـــد، ترشـــحات آنزیم‌های گوارشـــی و ایمنی ماهی کپور تاثیر مثبت معنی‌داری داشته باشد.

منابع

Adineh, H., Naderi, M., Hamidi, M.K., Harsij, M., 2019. Biofloc technology improves growth, innate immune responses, oxidative status, and resistance to acute stress in common carp (*Cyprinus carpio*) under high stocking density. Fish & Shellfish Immunology 95, 440-448.

APHA, 1998. Standard Methods for the Examination of the Water and Wastewater, 22nd ed. American Public Health Association, Washington, DC.

Avnimelech, Y., 1999. Carbon/nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems. Aquaculture 176 (3), 227-235.

Avnimelech, Y., Kochba, M., 2009. Evaluation of nitrogen uptake and excretion by tilapia in biofloc tanks, using N-15 tracing. Aquaculture 287, 163–168.

Azim, M.E., Little, D. C. 2008. The biofloc technology (BFT) in indoor tanks: water quality, biofloc composition, and growth and welfare of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Aquaculture 283(1-4), 29-35.

Bivareh, M., Jafaryan, H., 2017. The effect of A-Max prebiotic on growth performence, feed efficiency and some biochemical factors of serum of common carp (*Cyprinus carpio*) fingerling. Journal of Animal Physiology and Development 11(1), 13-27. (In Persian)

Bivareh, M., Jafaryan, H., 2019. Effect of Two Commercial prebiotics A-Max concentrate, Celmanax liquid and their combination on some differential Growth parameter, feed performance and Resistance to Environmental Stresses in common carp (*Cyprinus carpio*) fry. Journal of Aquaculture Development 12(4), 1-16. (In Persian)

Borges, A., Scotti, L.V., Siqueira, D.R., Jurinitz, D.F., Wassermann, G.F., 2004. Hematologic and serum biochemical values for jundia (*Rhamdia quelen*). Fish Physiology and Biochemistry 30, 21-25.

Bradford, M.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(1-2), 248-254.

Cahu, C.L., Zambonino-Infante, J.L., Quazuguel, P., Le Gall, M.M., 1999. Protein *hydrolysate* vs. fish meal in compound diets for 10-day old sea bass *Dicentrarchus labrax* larvae. Aquaculture 171, 109- 119.

Crab, R., Defoirdt, T., Bossier, P., Verstraete, W., 2012. Biofloc technology in aquaculture: beneficial effects and future challenges. *Aquaculture*, 356-357, 351-356.

De Schryver, P., Crab, R., Defoirdt, T., Boon, N., Verstraete, W., 2008. The basics of bio-flocs technology: the added value for aquaculture. Aquaculture 277(3-4), 125-137.

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(1-4), 182-188.

Dixon, B., Stet, R. J. M. 2001. The relationship between major histocompatibility receptors and innate immunity in teleost fish. *Developmental & Comparative Immunology*, *25*(8-9): 683-699.

Ellis, A.E. 1990. Lysozyme assays. In: Stolen, J.S., Fletcher, T.C., Anderson, D.P., Robertson, B.S., Van Muiswinkel, publication. pp. 101-103.

Emerenciano, M., Ballester, E. L. C., Cavalli, R. O., Wasielesky, W. 2011 Effect of biofloc technology (BFT) on the early postlarval stage of pink shrimp *Farfantepenaeus paulensis*: growth performance, floc composition and salinity stress tolerance. *Aquaculture International*, 19: 891-901.

Farhangi, M., Kor, A. 2020. The effect of oligosaccharide prebiotics on growth performance, survival and salinity stress resistance in common carp (*Cyprinus carpio*). *Journal of Aquatic Ecology*, 10 (2), 75-81. (In Persian)

Ghafarifarsani, H., Rashidian, G., Bagheri, T., Hoseinifar, S. H., Van Doan, H. 2021. Study on growth enhancement and the protective effects of dietary prebiotic inulin on immunity responses of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fry infected with *Aeromonas hydrophila*. Annals of Animal Science 21(2), 543-559.

Gibson, G.R., Roberfroid, M.B., 2008. Hand book of prebiotics. CRC press, NemYork, 506P.

Hoseinifar, S.H., Ahmadi, A., Raeisi, M., Hoseini, S. M., Khalili, M., Behnampour, N., 2017. Comparative study on immunomodulatory and growth enhancing effects of three prebiotics (galactooligosaccharide, fructooligosaccharide and inulin) in common carp (*Cyprinus carpio*). Aquaculture Research *48*(7), 3298-3307.

Hoseinifar, S.H., Eshaghzadeh, H., Vahabzadeh, H., Peykaran Mana, N., 2016. Modulation of growth performances, survival, digestive enzyme activities and intestinal microbiota in common carp (*Cyprinus carpio*) larvae using short chain fructooligosaccharide. Aquaculture Research 47(10), 3246-3253.

Hoseinifar, S., Mirvaghefi, A., Mojazi Amiri, B., Khoshbavar Rostami, H., Darvish Bastami, K., 2011. The effects of prebiotic oligofructose on hematological, serum biochemical parameters and liver enzymes of juvenile beluga (*Huso huso*). Iranian Scientific Fisheries Journal 20(2), 27-36. (In Persian)

Iijima, N., Tanaka, S., Ota, Y., 1998. Purfication and characterization of bile salt activated Lipase from the hepatopancreas of red sea bream (*Pagrus major*). Journal of Fish Physiology and Biochemistry 18, 59-69.

Khosravi, A., Jafarian, H., Adineh, H., Harsij, M. 2020. The effect of two prebiotics of A-Max and Ultra and Salmanax liquid as inoculation on water quality, growth performance and body composition of common carp (*Cyprinus carpio*). Journal of Animal Environment 12(2), 177-188. (In Persian)

Kishawy, A.T., Sewid, A.H., Nada, H.S., Kamel, M.A., El-Mandrawy, S.A., Abdelhakim, T., Ibrahim, D., 2020. Mannanoligosaccharides as a carbon source in Biofloc boost dietary plant protein and water quality, growth, immunity and Aeromonas hydrophila resistance in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Animals 10(10), 1724.

Laice, L.M., Corrêa Filho, R.A.C., Ventura, A.S., Farias, K.N.N., do Nascimento Silva, A.L., Fernandes, C.E., Povh, J.A., 2021. Use of symbiotics in biofloc (BFT)-based Nile tilapia culture: Production performance, intestinal morphometry and hematological parameters. Aquaculture 530, 735715.

Liu, G., Deng, Y., Verdegem, M., Ye, Z., Zhu, S., 2019. Using poly (β-hydroxybutyrate-β-hydroxyvalerate) as carbon source in biofloc-systems: Nitrogen dynamics and shift of *Oreochromis niloticus* gut microbiota. Science of the Total Environment 694, 133664.

Mahmuodian, A., Keramat Amirkolaei, A., Akrami, R., Bahalkeh, A., 2015. Investigating the effect of prebiotic alphamune and probiotic protexin in separation and/or in combinationon growth performance of juvenile common carp (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758). Journal of Applied Ichthyological Research 3(1), 93-104. (In Persian)

Mohammadian, T., Ghanei-Motlagh, R., Molayemraftar, T., Mesbah, M., Zarea, M., Mohtashamipour, H., Nejad, A.J., 2021. Modulation of growth performance, gut microflora, non-specific immunity and gene expression of proinflammatory cytokines in shabout (Tor grypus) upon dietary prebiotic supplementation. Fish & Shellfish Immunology 112, 38-45.

Qasempour Dehaghani, P., Javaheri Baboli, M., Ziaeinejad, S., Taghavi Moghadam, A., Pourhadi, M., 2013. Evaluation of the effect of Cynbiotic dietary supplement Biomin Imbo as a dietary supplement on the growth performance, survival and bacterial flora of the gut of the common carp (*Cyprinus carpio*). Journal of Aquaculture Development 7(3), 43-52.

Qiao, G., Chen, P., Sun, Q., Zhang, M., Zhang, J., Li, Z., Li, Q., 2020. Poly-β-hydroxybutyrate (PHB) in bioflocs alters intestinal microbial community structure, immune-related gene expression and early Cyprinid herpesvirus 2 replication in gibel carp (*Carassius auratus gibelio*). Fish & Shellfish Immunology 97, 72-82.

Ranjdoust, M., Jafaryan, H., Harsij, M., Gholipour Kaanany, H., 2019. The effect of Celmanax prebiotic and five probiotic Bacilli species on the decreasing of stress of common carp (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758) during transportation with different salinity. Aquaculture Sciences 6(2), 39-50. (In Persian)

Rungruangsak- Torrissen, K., Rustad, A., Sunde, J., Eiane, S.A., Jensen, H.B., Opstvedt, J., Nygard, E., Samuelsen, T.A., Mundheim, H., Luzzana, U., 2002. In vitro digestibility based on fish crude enzyme extract for prediction of feed quality in growth trials. Journal of the Science of Food and Agriculture 82, 644-654.

Salze, G., McLean, E., Schwarz, M.H., Craig, S.R., 2008. Dietary mannan oligosaccharide enhances salinity tolerance and gut development of larval cobia. Aquaculture 274(1), 148-152.

Torrecillas, S., Makol, A., Caballero, M.J., Montero, D., Robaina, L., Real, F., Izquierdo, M.S. 2007. Immune stimulation and improved infection resistance in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed mannan oligosaccharides. Fish & Shellfish Immunology 23(5), 969-981.

Vaez, R., Mohammadiazarm, H., Mousavi, S., Rajabzadeh, E., 2017. Effects of herbal supplements and inulin on activity of antioxidant enzymes in juveniles of Common Carp (*Cyprinus carpio*). Iranian Veterinary Journal 13(3), 115-121.

Wang, T., Cheng, Y., Chen, X., Liu, Z,. Long, X. 2017. Effects of small peptides, probiotics, prebiotics, and synbiotics on growth performance, digestive enzymes, and oxidative stress in orange-spotted grouper, *Epinephelus coioides*, juveniles reared in artificial seawater. Chinese Journal of Oceanology and Limnology 35, 89–97.

Worthington, C.C., 1993. Worthington Enzyme Manual. Enzymes and related Biochemicals Worthington Chemical. New Jersey. USA. 730 P.

Xu, W.J., Pan, L.Q., 2013. Enhancement of immune response and antioxidant status of *Litopenaeus vannamei* juvenile in biofloc-based culture tanks manipulating high C/N ratio of feed input. Aquaculture 412, 117-124.

Zhang, J., Liu, Y., Tian, L., Yang, H., Liang, G., Xu, D., 2012. Effects of dietary mannan oligosaccharide on growth performance, gut morphology and stress tolerance of juvenile Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. Fish & Shellfish Immunology 33(4), 1027-1032.

Journal of New Technologies in Aquaculture Development
Azadshahr Branch, Islamic Azad University, Vol. 17, No. 2, Summer 2023

The effect of Sanyar prebiotic on reducing the pollution of nitrogen compounds in water and improving the physiological performance of Common carp in Biofloc system

S. Jafaryan[1], H. Adineh[1]*, M. Farhangi[1], M. Harsij[1], Z. Kordjazi[1]

[1] Department of Fisheries, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Gonbad Kavous University, Gonbad Kavous, Iran.

Abstract

In this research, the effects of using powder and liquid of Sanyar prebiotic on the water nitrogen compounds and the physiological performance of Common carp in biofloc system were investigated. Common carp (10.09 ± 0.45 g) were stocked into 18 tanks (35 L) in six treatments for 60 days, including: Control treatment without additive with clean water (C), Control treatments without additive with Floc (FC), Floc treatments with 0.1 and 0.2 g (FP1 and FP2) powder prebiotic and Floc treatments with 1 and 2 ml (FL1 and FL2) liquid prebiotic per 100 g of basic diet. Water parameters are maintained at the standard level for this species. Total ammonia concentration (TAN) was statistically significant between experimental treatments. The growth of fish was obtained significantly higher and the feed conversion ratio was lower in FP1. The highest intestinal protease activity (8.42± 0.05) was obtained in FP1 treatment. The immunoglobulin and lysozyme serum in FP2 and FL1 were significantly higher than in the other treatments. The results of this study show that the use of 0.1 g of Sanyar prebiotic powder per 100 g of basic diet in the biofloc system could improve growth performance, and the immune status of *C. carpio*.

Keywords: Biofloc, Sanyar prebiotics, Common carp, Growth, Immune, Water quality

*Corresponding author: adineh.h@gmail.com