اثر مولتی آنزیم ناتوزیم و پروبیوتیک پدیوکوکوس اسیدی لاکتیکی در جیره غذایی بر شاخص‌های رشد و خون‌شناسی در فیل‌ماهی (*Huso huso*)

- **مریم موسوی***: گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
- **محمدرضا ایمانپور**: گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
- **رقیه صفری**: گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

تاریخ دریافت: دی ۱۳۹۷ تاریخ پذیرش: فروردین ۱۳۹۸

چکیده

این تحقیق به‌منظور تعیین اثر استفاده پروبیوتیک پدیوکوکوس اسیدی لاکتیکی و مولتی آنزیم ناتوزیم در جیره غذایی بر شاخص‌های رشد و خون‌شناسی در بچه فیل‌ماهی به‌صورت طرح کاملاً تصادفی در پنج تیمار و یک شاهد (هر یک با سه تکرار) انجام شد. پروبیوتیک و مولتی‌آنزیم در پنج سطح، ۰/۱ درصد پروبیوتیک، ۰/۰۲۵ درصد مولتی‌آنزیم، ۰/۰۵ درصد مولتی‌آنزیم، ترکیب پروبیوتیک (۰/۱ درصد) و مولتی‌آنزیم (۰/۰۲۵)، ترکیب پروبیوتیک (۰/۱ درصد) و مولتی‌آنزیم (۰/۰۵ درصد) و گروه شاهد، به جیره غذایی ماهیان افزوده و به‌مدت ۸ هفته تغذیه شد. شاخص‌های رشد (افزایش وزن، نرخ رشد ویژه، ضریب تبدیل غذایی و نسبت کارایی غذا) و فاکتورهای خون‌شناسی نظیر هموگلوبین، هماتوکریت، WBC، RBC، MCV، MCH، MCHC اندازه‌گیری شد. براساس نتایج حاصل، سطح پروبیوتیک صفر و مولتی‌آنزیم ۰/۰۵ درصد و همین‌طور پروبیوتیک سطح ۰/۱ درصد و مولتی‌آنزیم سطح ۰/۰۵ درصد برمقدار وزن نهایی، افزایش وزن، SGR و همین‌طور نسبت کارایی بیش‌ترین اثر را داشتند و نسبت به گروه شاهد تاثیر معنی‌داری نشان داد (P<۰/۰۵). میزان FCR درسطح پروبیوتیک ۱ و مولتی‌آنزیم ۳ کم‌ترین میزان را نشان داد و نسبت به گروه شاهد تاثیر معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵). سطوح پروبیوتیکی و آنزیمی مختلف بر شاخص‌های خونی اثر معنی‌داری نداشتند (P>۰/۰۵). نتایج این آزمایش نشان داد که استفاده از مولتی‌آنزیم و پروبیوتیک می‌تواند بر فاکتورهای رشد ماهی تاثیر گذاشته و باعث بهبود وضعیت رشد و تغذیه فیل‌ماهی خاویاری گردد.

کلمات کلیدی: پدیوکوکوس اسیدی لاکتیکی، مولتی آنزیم ناتوزیم، رشد، شاخص‌های خون‌شناسی، فیل‌ماهی

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: Maryam.Moosavi1711@yahoo.com

مقدمه

در سال‌های اخیر، آبزی‌پروری یکی از سریع‌الرشدترین بخش‌های تولید غذا بوده است. صنعت آبزی‌پروری علی‌رغم این رشد قابل توجه، همواره با مشکلاتی روبرو بوده است که از آن جمله می‌توان به کنترل کیفیت آب و شیوع بیماری‌ها اشاره نمود. در زمینه کنترل بیماری‌ها، استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها مطرح گردید که پس از سال‌ها این داروها خود مشکلات عدیده‌ای از جمله مقاوم‌شدن پاتوژن‌ها و مسائل زیست محیطی را ایجاد نمود. در سال‌های اخیر استفاده از پروبیوتیک‌ها به‌عنوان جایگزینی برای روش‌های درمانی قبلی مطرح گردیده که به‌نظر می‌رسد می‌تواند بسیاری از مشکلات را مرتفع سازد (Vazquez و همکاران، ۲۰۰۵). استفاده از پروبیوتیک‌ها در واقع تکنولوژی جدید آبزی‌پروری همگام با محیط‌زیست به‌شمار می‌روند. با استفاده از این مواد هم‌می‌توان تولید را افزایش داد، هم کیفیت آب را اصلاح کرد و هم این‌که می‌توان آن‌ها را به‌عنوان مبارز بیولوژیک با میکروارگانیسم‌های آبزی مدنظر قرارداد. Gatesoupe (۱۹۹۹) تعریف جامعی از پروبیوتیک را ارائه کرد: سلول‌های تک یاخته‌ای که از طریق ورود به روده گوارشی میزبان و دارا بودن قابلیت زنده‌مانی در روده، با هدف بهبود سلامتی میزبان مورد استفاده قرار می‌گیرند. استفاده از یک نوع محصول تجاری حاوی باکتری و مخمر به‌عنوان پروبیوتیک، از طریق افزودن به غذا به‌صورت موفقیت‌آمیزی منجر به افزایش وزن بدن و درصد بقاء در ماهی کپور هندی گونه کاتلا شد (Mohanty و همکاران، ۱۹۹۶). Kennedy و همکاران (۱۹۹۹) از باکتری‌های پروبیوتیک در پرورش لارو ماهیان دریایی استفاده کردند. آن‌ها از پروبیوتیک‌ها در پرورش ماهی قزل‌آلای دریایی خال‌دار، کفال مخطط استفاده نمودند و مشاهده کردند که استفاده از باکتری‌های پروبیوتیک در استخرهای پرورش لارو ماهی سبب افزایش بقاء، هم‌گونی در اندازه نرخ رشد می‌شود. از طرفی افزودن دوره‌ای باکتری‌ها به استخرهای پرورشی، تغییر در جوامع باکتریایی استخر و ماهی را به‌دنبال داشت. ناصری و همکاران (۱۳۸۷) نشان دادند که باکتری‌های پروبیوتیکی در سطوح مختلف می‌توانند به‌طور معنی‌داری شاخص‌های رشد ماهی قزل‌آلای رنگین کمان مانند وزن نهایی، ضریب تبدیل غذایی و ضریب رشد ویژه را افزایش می‌دهد. داده‌های به‌دست آمده از ماهیان نشان می‌دهد اگرچه آنزیم‌های گوارشی مورد مطالعه، از نظر کیفی شبیه به سایر مهره‌داران است، اما فرآیندهای گوارشی در ماهیان کم‌تر از پستانداران است (Hidalgo و همکاران، ۱۹۹۹). با گسترش محصولات آنزیمی حاوی اجزاء اختصاصی، استفاده از آنزیم‌ها برای بهبود وضعیت تغذیه که نیاز به توجه بیش‌تری دارد، ضروری به‌نظر می‌رسد. استفاده از آنزیم می‌تواند ویسکوزیته را کاهش داده و قابلیت هضم مواد خوراکی را بالا ببرد. در واقع هدف از افزودن آنزیم به جیره افزایش بهره‌وری خوراک، چه از طریق افزایش قابلیت هضم اجزای جیره و چه از طریق حذف عوامل ضدتغذیه‌ای می‌باشد. شتابی که مکانیسم عمل آنزیم‌ها به واکنش‌های شیمیایی می‌دهند تا ۱۰۲۰ برابر زمانی است که واکنش در آب بدون کاتالیزگر انجام شود (Ringe و Petsko، ۲۰۰۸). مطالعات مختلفی در زمینه آنزیم و مولتی آنزیم و اثرات آن بر فاکتورهای رشد در ماهی‌ها صورت گرفته است، کپورماهیان انگشت‌قد (*Cyprinus carpio*) (Bogut و همکاران، ۱۹۹۵) و ماهی آزادخزر (*Salmo trutta caspius*) (Zamini و همکاران، ۲۰۱۲). هم‌چنین مطالعات مختلفی در زمینه آنزیم و جیره غذایی اثرات آن بر خصوصیات خون وجود دارد، کیفیت و کمیت جیره غذایی می‌تواند بر خصوصیات خون تاثیرگذار باشد (Hoseinifar و همکاران، ۲۰۱۱). Ghomi و همکاران (۲۰۱۲) اثرات مولتی‌آنزیم کمین بر پارامترهای بیوشیمیایی خون فیل‌ماهی (*Huso huso*) را مورد بررسی قرار دادند. Mohammadbeygi و همکاران (۲۰۱۳) اثرات آنزیم اندوبتاگلوکاناز بر فاکتورهای خونی ماهی کپورمعمولی (*Cyprinus carpio*) را بررسی کردند. در تحقیقاتی که در گذشته انجام گرفته‌اند، ثابت‌شده است که آنزیم‌ها و پروبیوتیک‌ها دارای آثار مثبتی بر عملکرد ماهی‌ها می‌باشند. اما سوال این‌جاست که آیا استفاده هم‌زمان از آنزیم و پروبیوتیک در جیره ماهیان می‌تواند آثار سودمند مضاعفی را به‌همراه داشته باشد یا خیر؟ هدف اصلی از انجام این آزمایش، بررسی اثر مولتی‌آنزیم ناتوزیم و پروبیوتیک پدیوکوکوس اسیدی لاکتیکی در جیره غذایی بر شاخص‌های رشد و خون‌شناسی بچه فیل‌ماهی (*Huso huso*) بود. تا بدین‌وسیله اطلاعات دقیق‌تر و جامع‌تری در این زمینه، در اختیار پرورش‌دهندگان و دست‌اندرکاران صنعت آبزی‌پروری قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در بهار ۱۳۹۷ به‌صورت طرح کاملاً تصادفی در پنج تیمار و یک شاهد (هر یک با سه تکرار) در سالن تحقیقات آبزی‌پروری شهیدناصرفضلی‌برآبادی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع‌طبیعی گرگان انجام شد. فیل‌ماهی پس از مواجهه با حمام آب نمک ۲٪ در ۱۸ مخزن ونیرو توزیع شدند. در هر مخزن ونیرو ۱۲ ماهی با میانگین وزنی ۱±۵ گرم قرار داده شدند. هر مخزن ونیرو تا حجم ۱۵۰ لیتر پر شد و دما در ۱±۲۲ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. جهت سازگاری ماهی‌ها، همه آن‌ها به‌مدت یک هفته با جیره غذایی بدون پروبیوتیک و مولتی‌آنزیم تغذیه شدند و بعد از آن به ماهی‌ها به‌مدت ۸ هفته به میزان ۳٪ وزن بدن و روزی ۳ بار تغذیه شدند. ماهی‌ها هر دو هفته یک‌بار توزین شدند و میزان غذا، مطابق با افزایش وزن تنظیم شد. در طی‌دوره آزمایش بیماری و یا تلفاتی در هیچ‌یک از گروه‌های

آزمایشی مشاهده نشد. برای انجام این آزمایش از غذای تجاری کوپنز، آلمان استفاده شد. پروبیوتیک پدیوکوکوس اسیدی لاکتیکی (باکتوسل) از شرکت لاملند فرانسه (در سطح ۰ و ۰/۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم غذا) و مولتی آنزیم ناتوزیم®، بیوپروتون، استرالیا (در سه سطح ۰، ۰/۰۲۵ و ۰/۰۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم غذا) به جیره غذایی اضافه شد. برای این کار، پروبیوتیک و مولتی‌آنزیم با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت یک ده هزارم گرم توزین شد و بعد از آن هرگروه توزین شده، به‌صورت جداگانه در محلول ژلاتین ۲٪ حل شد و سپس با استفاده از افشانه بر روی غذا اسپری شد. محلول ژلاتین در همه گروه‌ها به‌میزان برابر استفاده شد و همین مقدار به گروه شاهد نیز اضافه گردید.

جدول ۱: ترکیب و درصد اجزاء جیره تجاری کوپنز (مخصوص ماهیان خاویاری) مورد استفاده در تغذیه ماهیان

اجزای جیره	پروتئین خام	چربی	فیبر	خاکستر	فسفر
درصد اجزاء جیره (٪)	۵۴	۱۵	۰/۵	۹/۱	۱/۲۵

در انتهای آزمایش، در هر گروه، وزن اولیه و وزن نهایی ماهی‌ها اندازه‌گیری شد. افزایش‌وزن بدن، نرخ رشد ویژه (SGR)، ضریب تبدیل غذایی (FCR) و نسبت کارایی به‌صورت زیر محاسبه شد (Ghosh و همکاران، ۲۰۰۷):

(وزن اولیه(گرم) - وزن نهایی(گرم)) = افزایش وزن(گرم)

= نرخ رشد ویژه

۱۰۰×[طول دوره آزمایش÷ [(لگاریتم طبیعی وزن اولیه – لگاریتم طبیعی وزن نهایی)]

= ضریب تبدیل غذا

۱۰۰× [میزان افزایش وزن(گرم)÷ میزان غذای مصرف شده(گرم)]

= نسبت کارایی غذا

۱۰۰× [میزان غذای مصرف شده(گرم)÷ میزان افزایش وزن(گرم)]

در انتهای دوره آزمایش ماهیان در محلول پودر میخک (با غلظت ۰/۵ گرم بر لیتر) بی‌هوش و نمونه خون با استفاده ازسرنگ از ساقه دمی گرفته و در ظرف‌های پلاستیکی هپارینه ریخته شدند. شمارش گلبول‌های سفیدو گلبول‌های‌قرمز به‌روش هموسیتومتری انجام گرفت. مقدار هماتوکریت و غلظت هموگلوبین نیز به‌روش میکروهماتوکریت و سیانومت هموگلوبین سنجش گردید (اسدی و همکاران، ۲۰۱۶).

تجزیه و تحلیل آماری: داده‌های مربوط به شاخص‌های رشد و خون‌شناسی جهت بررسی نرمالیتی با استفاده از آزمون کولوموگروف اسمیرنوف تست و داده‌های حاصل با استفاده از آزمون آنالیز واریانس دوطرفه (Two-way ANOVA) به‌وسیله نرم‌افزار SPSS 16، مورد بررسی قرار گرفتند. جهت مقایسه میانگین تیمارها، از آزمون دانکن استفاده شد ($P<0/05$).

نتایج

شاخص‌های رشد در ماهیان تغذیه شده با مولتی‌آنزیم و پروبیوتیک تفاوت معنی‌داری با گروه شاهد داشتند به گونه‌ای که بیش‌ترین میزان وزن نهایی و افزایش وزن در تیمار ترکیبی پروبیوتیک سطح ۱ و مولتی آنزیم سطح ۳ و همین‌طور در تیمار ترکیبی پروبیوتیک سطح ۲ و مولتی آنزیم سطح ۳ بود. بیش‌ترین میزان FCR در گروه شاهد مشاهده شد که به‌لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری با سایر گروه‌ها داشت. پایین‌ترین میزان ضریب تبدیل غذایی در پروبیوتیک سطح ۱ و مولتی آنزیم سطح ۳ مشاهده شد. به‌علاوه، نسبت کارایی غذا در سطح پروبیوتیک ۱ و مولتی‌آنزیم ۳ بیش‌ترین مقدار را نشان داد و کم‌ترین مقدار نسبت کارایی غذا مربوط به گروه شاهد بود(جدول ۲). اثر سطوح مختلف پروبیوتیک پدیوکوکوس اسیدی‌لاکتیکی و مولتی‌آنزیم ناتوزیم بر شاخص‌های خونی در جدول ۳ نشان داده شده است. نتایج به‌دست آمده نشان داد که استفاده از پروبیوتیک پدیوکوکوس اسیدی‌لاکتیکی و مولتی‌آنزیم ناتوزیم در جیره غذایی اثر معنی‌داری بر هموگلوبین، هماتوکریت، گلبول‌های‌قرمز، گلبول‌های‌سفید، MCV، MCHC و MCH ندارد ($P>0/05$).

بحث

در این بررسی مشخص شد با افزایش میزان پروبیوتیک و مولتی آنزیم در جیره غذایی رشد افزایش یافت. بیش‌ترین میزان افزایش رشد در تیمار با سطح پروبیوتیک ۱و سطح مولتی‌آنزیم ۳ و همین‌طور در تیمار با سطح پروبیوتیک ۲ و سطح مولتی‌آنزیم ۳ مشاهده شد. نتایج حاضر هم‌راستا با مطالعه قاسم‌زاده و همکاران (۱۳۹۶) در استفاده از مولتی‌آنزیم کمبو بر شاخص‌های رشد در تاس‌ماهی سیبری (*Acipenser baerii*) می‌باشد که بهبود فاکتورهای عملکردی رشد را مشاهده کردند. نتایج مشابهی هم در استفاده از پروبیوتیک اسیدی‌لاکتیکی در میگو گزارش شده است (ضیایی‌نژاد، ۱۳۸۲). به‌علاوه Mildi و همکاران (۲۰۰۱) نیز گزارش کردند که استفاده از آنزیم به تنهایی و استفاده‌ی هم‌زمان آنزیم و پروبیوتیک در جیره جوجه‌ای گوشتی، سبب افزایش عملکرد این دو گروه، نسبت به گروه شاهد و گروهی که پروبیوتیک را به تنهایی دریافت کرده بودند، شد. مکانیزم عملکرد این ماده (پدیپوکوکوس اسیدی لاکتیکی) بر مبنای افزایش تعداد باکتری‌های مفید روده، تولید اسید لاکتیک و کاهش pH روده، موجب توقف رشد عوامل بیماری‌زا در دستگاه گوارش شده و با تحریک سیستم ایمنی آبزیان مقاومت آن‌ها را علیه باکتری‌ها، ویروس‌ها و سایر عوامل استرس‌زا به‌میزان معنی‌داری افزایش می‌دهد.

جدول ۲: اثر سطوح مختلف پروبیوتیک پدیوکوکوس اسیدی لاکتیکی و مولتی آنزیم ناتوزیم بر شاخص‌های رشد

متغیر	مولتی آنزیم	(۰) سطح آنزیمی (۱)	(۰/۰۲۵) سطح آنزیمی (۲)	(۰/۰۵) سطح آنزیمی (۳)
وزن اولیه (گرم)	سطح پروبیوتیک ۱ (۰)	۱۲۵/۰۰±۴/۵۸^{a}	۱۲۳/۰۰ ±۲/۶۴^{a}	۱۲۸/۶۷ ±۱/۵۲^{a}
	سطح پروبیوتیک۲ (۰/۱)	۱۲۶/۶۷±۷/۰۲^{a}	۱۲۶/۰۰±۷/۲۱^{a}	۱۲۴/۳۳±۸/۰۲^{a}
وزن نهایی (گرم)	سطح پروبیوتیک۱ (۰)	۷۳۱/۳۳±۹/۰۷^{c}	۸۱۳/۳۳±۸۸/۱۴^{bc}	۹۸۸/۰۰±۱۴۵/۷۰^{a}
	سطح پروبیوتیک۲ (۰/۱)	۸۱۱/۰۰±۱۷/۶۹^{bc}	۹۱۷/۶۷±۴۸/۸۸^{ab}	۹۲۲/۰۰±۱۹/۹۲^{ab}
افزایش وزن (گرم)	سطح پروبیوتیک۱ (۰)	۶۰۶/۳۳±۱۳/۲۰^{c}	۶۹۰/۳۳±۸۶/۳۹^{bc}	۸/۵۹±۱۵۸/۲۵^{a}
	سطح پروبیوتیک۲ (۰/۱)	۶۸۶/۶۷±۲۵/۶۹^{bc}	۷۹۱/۶۷±۵۲/۵۴^{ab}	۷۹۵/۳۳±۲۶/۵۰^{ab}
نرخ رشد ویژه (درصد در روز)	سطح پروبیوتیک۱ (۰)	۲/۹۹±۰/۰۷^{b}	۳/۱۴±۰/۱۵^{ab}	۳/۳۸±۰/۲۶^{a}
	سطح پروبیوتیک۲ (۰/۱)	۳/۳۰±۰/۱۲^{a}	۳/۳۰±۰/۱۵^{a}	۳/۱۲±۰/۱۴^{ab}
ضریب تبدیل غذایی	سطح پروبیوتیک۱ (۰)	۰/۹۸±۰/۰۲^{a}	۰/۸۷±۰/۱۰^{abc}	۰/۷۱±۰/۱۴^{c}
	سطح پروبیوتیک۲ (۰/۱)	۰/۷۵±۰/۰۲^{bc}	۰/۷۶±۰/۰۴^{bc}	۰/۸۷±۰/۰۳^{ab}
نسبت کارایی غذا	سطح پروبیوتیک۱ (۰)	۱۰۱/۰۶±۲/۲۰^{c}	۱۱۵/۰۶±۱۴/۳۹^{ba}	۱۴۳/۲۲±۲۶/۳۷^{a}
	سطح پروبیوتیک۲ (۰/۱)	۱۳۲/۵۶±۴/۴۱^{ab}	۱۳۱/۹۴±۸/۷۵^{ab}	۱۱۴/۴۴±۴/۲۸^{bc}

حروف انگلیسی غیرمشترک در هر ردیف، نشانه تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ می‌باشد. داده‌ها به صورت میانگین±انحراف معیار می‌باشد.

جدول ۳: اثر سطوح مختلف پروبیوتیک پدیوکوکوس اسیدی لاکتیکی و مولتی آنزیم ناتوزیم بر شاخص‌های خونی

متغیر	مولتی آنزیم	(۰) سطح آنزیمی (۱)	(۰/۰۲۵) سطح آنزیمی (۲)	(۰/۰۵) سطح آنزیمی (۳)
Hemoglobin (گرم در دسی‌لیتر)	سطح پروبیوتیک۱(۰)	۴/۳۳±۰/۶۰	۳/۸۷±۰/۴۹	۴/۰۲±۰/۸۰
	سطح پروبیوتیک۲(۰/۱)	۴/۴۶±۰/۴۲	۴/۱۶±۰/۸۴	۳/۷۲±۰/۱۵
HC (%)	سطح پروبیوتیک۱(۰)	۲۴/۱۶±۰/۷۶	۲۴/۳۳±۱/۰۴	۲۳/۰۰±۱/۳۲
	سطح پروبیوتیک۲(۰/۱)	۲۲/۰۰±۲/۱۷	۲۱/۸۳±۲/۵۱	۲۲/۶۶±۱/۲۵
RBC (۱۰^{۶}*میکرولیتر)	سطح پروبیوتیک۱(۰)	۰/۷۶±۰/۰۰	۰/۷۵±۰/۱۱	۰/۸۱±۰/۱۵
	سطح پروبیوتیک۲(۰/۱)	۰/۶۸±۰/۰۴	۰/۸۰±۰/۰۸	۰/۶۸±۰/۰۹
WBC (۱۰^{۳}*میکرولیتر)	سطح پروبیوتیک۱(۰)	۳۲/۴۰±۳/۲۰	۳۱/۸۰±۷/۵۶	۳۵/۷۰±۴/۴۴
	سطح پروبیوتیک۲(۰/۱)	۳۲/۲۶±۷/۶۱	۲۹/۹۶±۴/۶۱	۳۲/۰۳±۶/۴۲
MCV (فمتولیتر)	سطح پروبیوتیک۱(۰)	۳۱۵/۲±۹/۷۵	۳۲۷/۸۰±۳۴/۲۲	۲۸۴/۳۶±۴۹/۳۱
	سطح پروبیوتیک۲(۰/۱)	۳۱۹/۸۷±۱۳/۶۱	۲۷۱/۱۹±۲۳/۸۵	۳۳۶/۴۱±۳۸/۹۹
MCH (پیکوگرم)	سطح پروبیوتیک۱(۰)	۵۶/۴۵±۷/۶۲	۵۳/۶۹±۷/۳۸	۵۵/۶۷±۷/۲۳
	سطح پروبیوتیک۲(۰/۱)	۵۶/۳۳±۴/۶۹	۵۵/۷۰±۱/۹۶	۵۵/۵۲±۷/۹۳
MCHC (%)	سطح پروبیوتیک۱(۰)	۳/۵۷±۰/۱۱	۳/۴۸±۰/۱۶	۳/۶۷±۰/۰۵
	سطح پروبیوتیک۲(۰/۱)	۳/۵۶±۰/۰۵	۳/۷۱±۰/۱۱	۳/۴۹±۰/۰۹

دلایل این افزایش را می‌توان به از بین رفتن باکتری‌های دیگر به‌ویژه‌باکتری‌های مضر به‌وسیله‌باکتری‌های مفید(پروبیوتیک) دانست (Gatesoupe، ۱۹۹۹). هم‌چنین این پژوهشگر بیان نمود که برخی از پروبیوتیک‌ها موجب افزایش اشتهای میزبان می‌شوند و در نتیجه آن شاخص‌های رشد ازجمله وزن نهایی بهبود پیدا می‌کند. پژوهش‌های Ghomi و همکاران(۲۰۱۱) نشان داد که استفاده از مولتی‌آنزیم کمین درجیره‌غذایی‌فیل‌ماهی (*Huso huso*) در سطح آنزیمی ۲۵۰ میلی‌گرم برکیلوگرم‌جیره غذایی بهترین میزان رشد را نشان می‌دهد. Farhangi و Carter (۲۰۰۷) نشان داد که استفاده از مولتی‌آنزیم در جیره غذایی ماهی قزل‌آلا(*Oncorhynchus mykiss*)به‌طورمعنی‌داری‌سبب افزایش رشد می‌شود. بیش‌ترین نرخ رشد ویژه در تیمار با سطح پروبیوتیک۱ و سطح مولتی آنزیم ۳ مشاهده شد که نشان داد افزودن آنزیم به جیره غذایی سبب افزایش نرخ رشد ویژه می‌گردد. که با پژوهش Lin و همکاران(۲۰۰۷) هم‌خوانی‌داشت.مطابق نتایج حاضرکم‌ترین ضریب

تبدیل غذایی در تیمار با سطح پروبیوتیک ۱ و سطح مولتی آنزیم ۳ مشاهده شد و بالاترین ضریب تبدیل غذایی در تیمار شاهد (سطح پروبیوتیک ۱ و سطح مولتی آنزیم ۱) مشاهده شد. Mildi و همکاران (۲۰۰۱) نشان دادند که افزودن آنزیم در جیره، می‌تواند موجب بهبود ضریب تبدیل غذایی در جوجه‌های گوشتی شود. به احتمال زیاد این بهبود ضریب تبدیل غذایی، در ارتباط با حضور آنزیم و استفاده‌ی بهینه از انرژی موجود در جیره، در جهت افزایش قابلیت هضم مواد غذایی می‌باشد. هم‌چنین آنزیم‌ها با اثراتی که بر ویسکوزیته محتویات گوارشی می‌گذارند، می‌توانند موجب بهبود مصرف خوراک و در نتیجه بهبود ضریب تبدیل غذایی شوند. پروبیوتیک‌ها نیز با اثرات مفید خود بر دستگاه گوارش و تحریک تولید و فعالیت آنزیم‌های گوارشی، قابلیت دسترسی به مواد مغذی و هضم آن‌ها را بهبود بخشیده ودر نهایت باعث افزایش آزادسازی انرژی قابل متابولیسم و بهبود ضریب تبدیل غذایی می‌شود. خون، به‌عنوان یک بافت سیال و سهل‌الوصول یکی از مهم‌ترین مایعات بیولوژیک بدن بوده که تحت تأثیر حالات مختلف فیزیولوژیک و پاتولوژیک، ترکیبات آن دستخوش نوسان و تغییر می‌گردند. لذا در اختیار داشتن مقادیر طبیعی شاخص‌های خونی و بررسی چگونگی تغییرات آن‌ها در بیماری‌های مختلف همواره از ابزارهای مهم تشخیص در بسیاری از بیماری‌های آبزیان بوده است. شاخص‌های خونی در ماهیان می‌تواند متاثر از مواردی از قبیل گونه پرورشی، اندازه، سن، وضعیت فیزیولوژیکی، شرایط محیطی و رژیم غذایی باشد (Burt و همکاران، ۲۰۰۵). فرمولاسیون جیره‌های غذایی، نوع پروبیوتیک مصرفی، درجه خلوص پروبیوتیک مصرفی، روش‌های مختلف اضافه کردن به جیره به‌طور قابل ملاحظه‌ای بر خصوصیات ریخت‌شناسی خون اثر می‌گذارند. نتایج این مطالعه نشان داد که افزودن سطوح مختلف پروبیوتیک پدیوکوکوس اسیدی‌لاکتیکی و مولتی‌آنزیم ناتوزیم به جیره غذایی فیل‌ماهی از نظر فاکتورهای هماتولوژی خون بین تیمارهای آزمـایشی با گروه شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. در مطالعه‌ای اثر پروبیوتیک پدیوکوکوس اسیدی‌لاکتیکی بر پارامترهای خونی فیل ماهی جوان پرورشی که توسط حمیدیان (۱۳۹۲) انجام شد به این نتیجه رسیدند که سطوح مختلف پروبیوتیک پدیوکوکوس اسیدی‌لاکتیکی تاثیری بر پارامترهای خونی ندارد، حمیدیان (۱۳۹۲) نشان دادند با افزودن پروبیوتیک به جیره بعد از ۲ هفته تعداد اریتروسیت‌ها و ماکروفاژها افزایش می‌یابد، با این‌حال این روند افزایش در مقایسه با گروه شاهد معنی‌دار نبود. هم‌چنین سهندی (۱۳۹۲) به مطالعه تاثیر استفاده از ۲ گونه باکتری پروبیوتیکی *Bifidobacterium animalis* و *Bifidobacterium lactic* بر پارامترهای خونی در لارو ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان نشان دادند که مقدار هموگلوبین MCV، MCH، بین تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی‌داری وجود ندارد. براساس یافته‌های به‌دست آمده می‌توان نتیجه گرفت که افزودن پروبیوتیک پدیوکوکوس اسیدی لاکتیکی و مولتی‌آنزیم ناتوزیم درجیره‌غذایی فیل‌ماهی می‌تواند سبب بهبود شاخص‌های رشد گردد.

منابع

۱. **حمیدیان، ن.، ۱۳۹۲.** ارزیابی اثر *Pediococcusacidilactici* بر شاخص‌های رشد و پارامترهای خونی فیل‌ماهی (*Huso huso*). همایش ملی علوم جانوران آبزی، رشت، دانشگاه گیلان، صفحات ۲۳۱ تا ۲۴۵.

۲. **سهندی، ج.، ۱۳۹۲.** ارزیابی تاثیر لاکتوباسیلوس‌های پروبیوتیکی (*Bifidobacterium animalis* و *Bifidobacterium lactic*) **بر** عملکرد رشد لارو قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در برابر استرس‌های محیطی. همایش ملی علوم جانوران آبزی. رشت، دانشگاه گیلان. صفحات ۲۳ تا ۳۱.

۳. **ضیایی‌نژاد، س.، ۱۳۸۲.** بررسی تاثیر باکتری‌های باسیلوس به عنوان پروبیوتیک بر رشد، بازماندگی و تغییرات آنزیم‌های گوارشی در مراحل لاروی و پست لاروی میگوی سفید هندی (*Fenneropeaneus indicus*). پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد شیلات، دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران. صفحات ۵۴ تا ۷۸.

۴. **قاسم‌زاده، پ.؛ زمینی، ع.ع. و وهابزاده، ح.، ۱۳۹۶.** بررسی اثرات سطوح مختلف مولتی‌آنزیم combo بر کارایی تغذیه، عملکرد رشد و آنزیم‌های کبدی بچه تاسماهیان سیبری پرورشی (*Acipenser baerii*). پنجمین کنفرانس ملی ماهی‌شناسی ایران. صفحات ۲۳۱ تا ۲۳۸.

۵. **ناصری، س.؛ نظامی‌بلوچی، ش.؛ خارا، ح.؛ فرزانفر، ع.؛ لشتو آقایی، غ. و شکوری، م.، ۱۳۸۷.** بررسی عملکر رشدلارو ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در استفاده از سطوح متفاوت پروبیوتیک و آهن مکمل شده در جیره غذایی. مجله علمی شیلات. سال ۲، شماره ۳، صفحات ۱ تا ۷.

۶. **Asadi, M.; Mirvaghefei, A.; Nematollahi, M.; Banaee, M. and Ahmadi, K., 2016**. Effects of Watercress (*Nasturtium nasturtium*) extract on selected immunological parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Open Veterinary Journal. Vol. 2, pp: 32-39.

۷. **Bogut, I.; Opacak, A. and Stevic, I., 1995.** The Influence of Polyzymes Added to the Food on the Growth of Carp Fingerlings (*Cyprinus Carpio L.*). Aquaculture. Vol. 129, No. 1, pp: 252.

۸. **Brunt, J. and Austin B., 2005**. Use of a probiotic to control lactococcosis and streptococosis in rainbow trout, (*Oncorhynchus mykiss*). Journal of Fish Disease. Vol. 28, pp: 693-70.

۹. **Castell, J.D. and Tiews, K., 1980**. Report of the EIFAC, IUNS and ICES Working Group on Standardization of Methodology in Fish Nutrition research (Hamburg, Germany, 21-23 March1979). 417 p.

۱۰. **Farhangi, M. and Carter, C.G., 2007**. Effect of Enzyme Supplementation to Dehulled Lupin based Diets on Growth, Feed Efficiency, Nutrient Digestibility and Carcass Composition of Rainbow Trout, *Oncorhynchus Mykiss* (Walbaum). Aquaculture Research. Vol. 38, No. 12, pp: 1274-1282.

۱۱. **Gatesoupe, F.J., 1999**. Review: The use of probiotics in aquaculture. Aquaculture. Vol. 180, pp: 147-165.

۱۲. **Ghomi, M.R.; Shahriari, R.; Faghani Langroudi, H. and Nikoo, M., 2012**. The Effects of Dietary Enzyme on Some Blood Biochemical Parameters of the Cultured Great Sturgeon *Huso Huso* Juveniles. Comparative Clin. Path. Vol. 21, pp: 201-204.

۱۳. **Ghosh, S.; Sinha, A. and Sahu, C., 2007**. Effect of probiotic on performance in female live bearing ornamental fish. Aquaculture Research. Vol. 38, pp: 518-526.

۱۴. **Hidalgo, M.C.; Urea, E. and Sanz, A., 1999.** Comparative study of digestive enzymes in fish with different nutritional habits. Proteolytic and amylase activities. Aquaculture. Vol. 170, No. 3, pp: 267-283.

۱۵. **Hoseinifar, S.H.; Mirvaghefi, A.; Merrifield, D.L.; Mojazi Amiri, B.; Yelghi, S. and Darvish Bastami, K., 2011**. The Study of Some Haematological and Serum Biochemical Parameters of Juvenile Beluga (*Huso Huso*) Fed Oligofructose. Fish Physiology and Biochemistry. Vol. 37, No. 1, pp: 91-96.

۱۶. **Kennedy, S.B.; Tucker, J.W.; Thoresen, M. and Sennett, D.G., 1998. C**urrent methodology for the use of probiotic bacteria in the culture of marine fish larvae. Aquaculture 98. World Aquaculture Society, Baton Rouge. 286 P.

۱۷. **Lin, S.; Mai, K. and Tan, B., 2007.** Effects of exogenous enzyme supplementation in diets on growth and feed utilization in tilapia, *Oreochromis niloticus* × *O. aureus*. Aquaculture research. Vol. 38, No. 15, pp: 1645-1653.

۱۸. **Midilli, M., 2001**. The effects of enzyme and probiotic supplementation to diets on broiler performance, Turk. J. Vet. Anim. Sci. Vol. 25, pp: 895-903.

۱۹. **Mohammadbeygi, M.; Imanpour, M.R.; Taghizadeh, V. and Shabani, A., 2013**. Endo 1-3 (4) Betaglucanase supplementation of Barley Based Diet and Its Effect on Some Hematological Parameters of Common Carp. Global Veterinaria. Vol. 1, No. 3, pp: 4-13.

۲۰. **Mohanty, S.N.; Swain S.K. and Tripathi S.D., 1996.** Rearing of catle *(Catlacatla ham*.) Spawn on formulated diets. Journal of Aquaculture in the Tropics. Vol. 11, pp: 253-258.

۲۱. **Ringe, D. and Petsko, G.A., 2008**. How enzymes work. Science. New York Then Washington. Vol. 320, 5882 p.

۲۲. **Vazquez, J.A.; Gonzalez M.P. and Murado, 2005**. Effects of lactic acid bacteria cultures on pathogenic microbiota from fish. Aquaculture. Vol. 245, pp: 149-161.

۲۳. **Zamini, A.; Kanani, H.; Esmaeili, A.; Ramezani, S. and Zorie Zahara, S.J., 2012**. Effects of Two Dietary Exogenous Multi-Enzyme Supplementation, Natuzyme® and Beta-mannanase (Hemicell®), on Growth and Blood Parameters of Caspian Salmon (*Salmo trutta Caspius*). Comparative Clinical Pathology. Vol. 23, pp: 187-192.