اثر افزودنی خوراکی فایتوژنیک دایجستروم پی.ای.پی. بر عملکرد رشد و برخی صفات دستگاه گوارش گورامی بزرگ‌جثه (*Osphronemus goramy*)

- **بهنام کریمی‌فر**: گروه شیلات، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
- **حسین عبدالحی***: موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران
- **فلورا محمدی‌زاده**: گروه شیلات، واحد بندرعباس، دانشگاه آزاد اسلامی، بندرعباس، ایران
- **مهدی شمسایی‌مهرجان**: گروه شیلات، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
- **سیدپژمان حسینی‌شکرابی**: گروه شیلات، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: اسفند ۱۳۹۷ تاریخ پذیرش: خرداد ۱۳۹۸

چکیده

دایجسترم پی.ای.پی. یک مخلوط تجاری استانداردسازی شده از ترکیبات فایتوژنیک (شامل کارواکرول، آنتول و لیمونن) و ترکیبات پری‌بیوتیکی (شامل فروکتوالیگوساکاریدها) بوده که عملکرد اصلی آن تثبیت فلور میکروبی مفید دستگاه گوارش آبزیان می‌باشد. مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر سطوح مختلف افزودنی خوراکی دایجستروم پی.ای.پی. بر برخی خصوصیات رشد مورفولوژی روده و فلور میکروبی روده ماهی گورامی بزرگ‌جثه انجام گردید. برای این تحقیق، سه تیمار آزمایشی با سه تکرار حاوی مقادیر ۵، ۱۰ و ۱۵ میلی‌گرم دایجستروم پی.ای.پی. در کیلوگرم خوراک طراحی شدند و جیرهٔ فاقد افزودنی، به‌عنوان تیمار شاهد درنظر گرفته شد. بچه‌ماهی‌ها (میانگین وزن اولیه ۰/۲±۳/۱ گرم) طی یک‌دوره ۶۰ روزه توسط جیره‌های آزمایشی، مورد تغذیه قرار گرفتند. در پایان دوره نیز برخی صفات دستگاه گوارش (شاخص امعاء و احشاء، جمعیت باکتری‌های لاکتوباسیل روده، طول و عرض میکروپرزهای روده) سنجیده شد. نتایج نشان دادند که افزودن دایجستروم، سبب افزایش وزن نهایی، نرخ رشد ویژه و کاهش ضریب تبدیل غذا در بچه‌ماهیان نسبت به تیمار شاهد گردید (P<۰/۰۵)، به‌طوری‌که که بیش‌ترین وزن نهایی بدن (۲۲/۶۷ گرم) مربوط به تیمار ۱۵ درصد فایتوژنیک دایجستروم و کم‌ترین مقدار (۱۰/۱۳ گرم) مربوط به تیمار شاهد بود (P<۰/۰۵). مقایسه میانگین شاخص امعاء و احشا، بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار میان تیمارهای مختلف بود (P>۰/۰۵). هم‌چنین، بیش‌ترین تعداد باکتری‌های لاکتوباسیل در تیمار ۱۵ درصد و کم‌ترین مقدار در تیمار شاهد مشاهده گردید. بالاترین نتایج افزایش طول میکروپرزهای روده در تیمارهای ۱۰ (۹۶۳ میکرومتر) و ۱۵ (۹۶۲ میکرومتر) درصد مکمل دایجستروم به‌دست آمد (P<۰/۰۵). نتایج این تحقیق نشان داد که افزودن خوراکی دایجستروم پی.ای.پی. به‌مقدار ۱۵ درصد در جیره غذایی تأثیر مثبت معنی‌داری بر فاکتورهای رشد و فلور میکروبی دستگاه گوارش ماهی گورامی بزرگ‌جثه خواهد داشت.

کلمات کلیدی: گورامی بزرگ جثه، رشد، فایتوژنیک، دایجستروم پی. ای. پی، مورفولوژی روده

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: Hossein_abdolhay@yahoo.com

مقدمه

توسعه سریع آبزی‌پروری در سراسر دنیا و تبدیل شدن این صنعت به یکی از سریع‌الرشدترین بخش‌های تولید غذا، سبب گشت تا تقریباً نیمی از تولیدات ماهی جهان توسط بخش آبزی‌پروری تأمین شود و این امر بیانگر نقش مهم این صنعت در تأمین امنیت غذایی در جهان است. متاسفانه استفاده بی‌رویه از آنتی‌بیوتیک‌ها و محصولات شیمیایی سبب توسعه مقاومت دارویی در باکتری‌ها، تجمع مواد شیمیایی در محیط زیست و بافت ماهی و میگو می‌شود (Borgeson، ۲۰۰۵). بنابراین، محققین در صنعت آبزی‌پروری همواره به‌دنبال روشی بی‌خطر و مؤثر بوده که یکی از راه‌های بالقوه جهت کاهش هزینه خوراک مصرفی، استفاده از مکمل‌های غذایی شامل مواد محرک ایمنی، پروبیوتیک، پری‌بیوتیک و مواد افزودنی با پایه گیاهی یا فایتوژنیک است (Peterson و همکاران، ۲۰۱۴). دایجسترم پی.ای.پی. یک مخلوط استانداردسازی شده از ترکیبات فایتوژنیک شامل کارواکرول، آنتول و لیمونن و ترکیب پری‌بیوتیکی ازجمله فروکتوالیگوساکاریدها است. دایجسترم پی.ای.پی. از طریق تعدیل جمعیت باکتریایی سبب بهبود در شاخص‌های سلامتی و هضم و جذب مواد مغذی می‌شود. در حقیقت، ترکیبات گیاهی ذکر شده عملکردهای بیولوژیکی مختلف مانند خواص ضدمیکروبی، ضدقارچی و آنتی‌اکسیدانی داشته که سبب کاهش جمعیت باکتری‌های مضر و تثبیت فلور میکروبی مفید در روده می‌شوند (Reisinger و همکاران، ۲۰۱۱). از طرف دیگر، فروکتوالیگوساکاریدها سبب تحریک رشد یا فعال شدن باکتری‌های مفید روده‌ای شده که از این طریق آثار سودمندی بر میزبان می‌گذارند (Kroismayr و همکاران، ۲۰۰۸؛ Ortiz و همکاران، ۲۰۱۳). همان‌طورکه ذکر شد، عصاره‌های گیاهی به‌عنوان محرک‌های رشد عمل کرده و در ضمن، اثرات آنتی بیوتیکی نیز دارند (Peterson و همکاران، ۲۰۱۴؛ Mountzouris و همکاران، ۲۰۱۱؛ Kim و همکاران، ۱۹۹۵). در حقیقت ترکیبات زیست فعال طبیعی استخراج شده از گیاهان دارای اثرات مثبت روی سلامت و رشد جانوران هدف هستند و مهم‌ترین ترکیبات فایتوژنیک شامل اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی، اسیدهای آلی، الکل‌ها، ترکیبات حاوی سولفور و آلدهیدها می‌باشد (Papageorgiou و همکاران، ۲۰۰۳؛ Pattnaik و همکاران، ۱۹۹۵؛ Kim و همکاران، ۱۹۹۵). از دیرباز اثرات ترکیبات فایتوژنیک به‌عنوان محرک رشد به‌صورت گسترده در خوراک دام، طیور و آبزیان بررسی شده است. در این‌خصوص بیشه‌بان و همکاران (۱۳۹۵)، اثرات سطوح مختلف افزودنی گیاهی کارواکرول، آنتول و لیمونن را بر تعیین برخی شاخص‌های خونی وایمنی ماهی استرلیاد (*Acipenser ruthenus*)، طاعتی و نوعی‌تعادلی (۱۳۹۴)، اثرات سطوح مختلف افزودنی گیاهی کارواکرول، آنتول و لیمونن بر عملکرد رشد، بازماندگی، شاخص‌های خونی و ایمنی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)، Peterson و همکاران (۲۰۱۴) اثر دایجستروم پی.ای.پی. روی خصوصیات رشد، ترکیبات تقریبی فیله و بقاء گربه‌ماهی کانال و Taghavi و همکاران (۲۰۱۵)، تأثیر افزودنی فایتوژنیک (بایومین پی.ای.پی.) بر فاکتورهای خونی و ایمنی ماهیان بستر (*Huso huso×Acipenser ruthenus*) را مورد آزمایش قرار دادند. ماهی گورامی بزرگ‌جثه (*Osphronemus goramy*) از راسته سوف‌ماهی‌شکلان و خانواده گورامی‌ها بوده و یک ماهی همه‌چیزخوار با سازگاری بالا به غذای دستی شناخته می‌شود (فریدپاک، ۱۳۶۵). ماهی گورامی بزرگ جثه به‌عنوان یک گونه اقتصادی جهت مصارف انسانی در دنیا در شرایط اسارت پرورش داده می‌شود، اما در ایران فقط به‌عنوان یک گونه زینتی شناخته شده است. کنترل جمعیت میکروبی روده، مهم‌ترین عامل برای جلوگیری از بروز مشکلات گوارشی و حفظ سلامت ماهیان است (Kroismayr و همکاران، ۲۰۰۸). عوامل تنش‌زا مانند تغییر در جیره غذایی و تغییر شرایط محیطی منجر به تغییر در تعادل جمعیت میکروبی دستگاه گوارش آبزیان شده و در نتیجه سبب کاهش عملکرد رشد، کاهش مصرف خوراک و کاهش هضم و جذب مواد مغذی می‌گردد (Ringø و همکاران، ۲۰۱۴). با توجه به مزایای استفاده از پری‌بیوتیک‌ها و افزودنی‌های خوراکی گیاهی مثل اسانس‌ها و یا عصاره‌های گیاه (ترکیبات فایتوژنیک)، این مطالعه با هدف بررسی اثرات استفاده از سطوح مختلف افزودنی خوراکی فایتوژنیک دایجستروم پی.ای.پی. در جیره غذایی بچه‌ماهی گورامی بزرگ‌جثه، بر برخی شاخص‌های رشد، فلور میکروبی دستگاه گوارش و مورفولوژی میکروپرزهای روده انجام شده است.

مواد و روش‌ها

شرایط پرورش و تهیه جیره‌ها: این آزمایش در پاییز سال ۱۳۹۷ در آزمایشگاه شیلات دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات (تهران، ایران) انجام شد. تعداد کل ۱۸۰ قطعه بچه ماهی گورامی بزرگ‌جثه ظاهراً سالم (با میانگین وزن ۰/۲±۳/۱ گرم) از یک مرکز واردات ماهی‌های زینتی تهران خریداری شد و با شرایط استاندارد و هوادهی به آزمایشگاه منتقل شدند. قبل از تخلیه ماهی‌ها به‌مدت ۴-۵ ساعت عمل هم‌دمایی انجام شد و سپس ماهیان در ۴ تیمار (۰، ۵، ۱۰ و ۱۵ گرم دایجستروم پی.ای.پی. در کیلوگرم خوراک) و ۳ تکرار در ۱۲ عدد آکواریوم به ابعاد ۱۰۰×۵۰×۳۰ سانتی‌متر ذخیره سازی شدند (در هر آکواریوم ۱۵ عدد ماهی). بچه‌ماهیان با شرایط محیطی جدید به‌مدت یک هفته آداپته و با جیره پایه (شرکت بیومار، فرانسه) تغذیه شدند. جیره پایه شامل ۰/۵±۵۸ درصد

پروتئین،۰/۳±۱۵ درصد چربی، ۰/۱±۱/۶ درصد خاکستر، ۰/۴±۱۱/۵ درصد رطوبت و ۰/۱±۰/۵ درصد فیبر بود. سپس ماهیان به‌مدت ۶۰ روز با جیره‌های آزمایشی در ۴ نوبت در روز در زمان‌های مشخص (۲۲:۰۰، ۱۷:۰۰، ۱۲:۰۰، ۰۷:۰۰) طبق دمای آب به‌میزان ۳-۵ درصد از وزن بدن تغذیه شدند. مکمل غذایی دایجستروم ساخت کمپانی بایومین‌در اتریش از نمایندگی آن در تهران (شرکت ایتوک فردا) تهیه شدو در چهارسطح ۰ (شاهد)، ۵، ۱۰ و ۱۵ گرم در کیلوگرم به خوراک تجاری شرکت بیومار افزوده شد. به‌منظور تأثیر بیش‌تر و توزیع یکنواخت ابتدا ماده فایتوژنیک و غذا را آسیاب نموده و از الک ۶۰ میکرون عبور داده و به‌منظور ایجاد چسبندگی ذرات به گرانول‌ها از ژلاتین ۵ درصد به‌عنوان همبند استفاده شد. سپس توسط پلت‌ساز دستی به شکل پلت تهیه شدند. خوراک‌ها به‌صورت هفتگی آماده و تا قبل از مصرف در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شد.

عملکرد رشد: هر ۱۵ روز یک‌بار ماهیان توسط پودر گل میخک (۱۲۵ میلی‌گرم در لیتر)، بی‌هوش شدند. سپس با ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم وزن شده و خط‌کش مورد سنجش قرار گرفتند. در ادامه فاکتورهای رشد طبق روابط زیر محاسبه گردید.

(Kestemont و همکاران، ۲۰۰۷):

$$\text{وزن بدن (BWG)} = \frac{\text{وزن اولیه(گرم)} - \text{وزن نهایی(گرم)}}{\text{وزن اولیه(گرم)}}$$

(Wootan، ۱۹۹۰):

$$\text{نرخ رشد ویژه (SGR)} = \frac{\ln W2 - \ln W1}{\text{طول دوره پرورش(روز)}} \times ۱۰۰$$

(Hevory و همکاران، ۲۰۰۵):

$$\text{ضریب تبدیل غذایی (FCR)} = \frac{\text{مقدار غذای خورده شده(گرم)}}{\text{افزایش وزن بدن(گرم)}} \times ۱۰۰$$

(Qinghui و همکاران، ۲۰۰۴):

$$\text{درصد بازماندگی} = \frac{\text{تعداد نهایی} - \text{تعداد اولیه}}{\text{تعداد اولیه}} \times ۱۰۰$$

(Kestemont و همکاران، ۲۰۰۷):

$$\text{شاخص وضعیت (CF)} = \text{وزن} / \text{طول}^3 \times ۱۰۰$$

W_2: وزن نهایی، W1: وزن اولیه (گرم)

هم‌چنین به‌منظور ارزیابی شاخص امعاء و احشاء در پایان دوره پس از برداشت ۳ نمونه تصادفی از هر تیمار، ماهی‌ها با اسانس گل میخک با غلظت ۱۲۵ میلی‌گرم در لیتر بی‌هوش شده و سپس محوطه شکمی ماهی باز و محتویات امعاء و احشاء جدا شده و وزن گردیدند. در پایان هریک از پارامترهای مورد نظر طبق فرمول مربوطه محاسبه گردید (جانمحمدی و همکاران، ۱۳۸۸):

$$\text{شاخص امعا و احشا} = \frac{\text{وزن امعا و احشا}}{\text{وزن لاشه}} \times ۱۰۰$$

مورفولوژی میکروپرزهای روده: پس از دوره پرورش، جهت ارزیابی تأثیر ماده فایتوژنیک دایجستروم پی.ای.پی. بر طول، عرض و عمق کریپت میکروپرزهای بافت روده پس از تشریح لوله گوارشی آن‌ها به‌صورت کامل از سایر اندام‌های درونی جدا گردید و از سه قسمت لوله گوارشی (قسمت قدامی، میانی و خلفی روده) نمونه‌برداری به‌عمل آمد. نمونه‌ها بلافاصله در فرمالین بافر ۱۰ درصد جهت تثبیت غوطه‌ور گردیدند و سپس عملیات بافت‌شناسی به‌روش پارافینه کردن بافت صورت‌گرفت. سپس مقاطع ۵ میکرونی‌از بافت‌هاتهیه گردیده و مقاطع بافتی رنگ‌آمیزی گردیده(هماتوکسیلین و ائوزین) و زیر میکروسکوپ نوری مجهز به لنز مدرج و دوربین مورد مطالعه قرار گرفتند (عبدی و همکاران، ۱۳۹۰). به‌منظور اندازه‌گیری صحیح تغییرات طول، عرض و عمق سلول‌های کریپت روده، در هر اسلاید ۳ میدان دید یکسان انتخاب شده و یک میانگین در هر اسلاید محاسبه گردید.

شمارش لاکتوباسیل های روده: پس‌ازدوره‌پرورش،ازهرمخزن سه ماهی به‌طور تصادفی انتخاب و روده هر ماهی در شرایط استریل، در کنار شعله، خارج و در جهت طولی برش داده شد. روده با سرم فیزیولوژیک استریل شستشو داده شد. مقدار ۱ گرم از بافت هموژن شده روده به ۹ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی اضافه شد تا سوسپانسیون ۱:۱۰ آن به‌دست آید. به‌همین ترتیب رقت‌های بر مبنای ده از نمونه اولیه تهیه گردید. بعد از مشخص شدن بهترین رقت، نمونه‌ها در محیط کشتام آراس آگار (MRS agar) مرک آلمان، کشت داده شدند. پلیت‌ها به‌مدت ۲۴ تا ۷۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در شرایط بی‌هوازی گرمخانه‌گذاری‌شده و سپس از کلنی‌های‌مشکوک‌ساب‌کالچر تهیه شده و مراحل خالص‌سازی و شناسایی اولیه رنگ‌آمیزی گرم، آزمایش‌های اکسیداز و کاتالاز انجام گرفت. در پایان، شمارش کلنی باکتری‌های لاکتوباسیلی انجام گرفت (Zhao و همکاران، ۲۰۱۵).

روش آنالیز آماری: در این تحقیق تمام آزمایشات با سه تکرار انجام شد. نحوه گزارش نتایج به‌صورت میانگین± خطای استاندارد بود. بعد از تست نرمال بودن داده‌ها، برای تجزیه و تحلیل آماری از روش آنالیزواریانس یک‌طرفه (ANOVA) استفاده شد. مقایسه میانگین داده‌ها با کمک آزمون چنددامنه‌ای دانکن و در سطح خطای مجاز ۵ درصد با استفاده‌ازنرم‌افزار تجزیه‌وتحلیل‌آماری SPSSنسخه ۲۱صورت‌گرفت. برای رسم نمودارها نیز از نرم‌افزار Excel نسخه ۲۰۱۳ استفاده شد.

نتایج

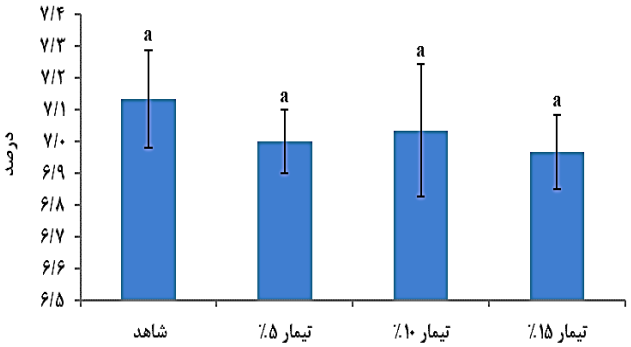
شاخص‌های رشد و بازماندگی: باتوجه به جدول ۱، تفاوت معنی‌داری در میزان وزن نهایی بدن در ماهیان گورامی بزرگ‌جثه تغذیه شده با سطوح مختلف ماده فایتوژنیک دایجستروم پی.ای.پی.

مشاهده گردید. به‌طوری‌که بیش‌ترین وزن نهایی بدن مربوط به تیمار ۱۵ درصد افزودنی فایتوژنیک (۲۲/۰±۶۷/۸۵) و کم‌ترین هم مربوط به نیمار شاهد(۱۰/۰±۱۳/۴۵)بود(p<۰/۰۵).هم‌چنین تیمار ۱۵ درصد افزودنی فایتوژنیک دایجستروم پی.ای.پی. بیش‌ترین نرخ رشد ویژه در ماهی‌ها را ایجاد کرده بود. درحالی‌که کم‌ترین نرخ رشد ویژه مربوط به تیمار شاهد بود. بررسی انجام شده درخصوص ضریب تبدیل غذایی تیمار شاهد بالاترین (۱/۰۷±۰/۰۴a) و در تیمارهای ۵ و ۱۰ و ۱۵ درصدفایتوژنیک‌دایجستروم‌پی.ای.پی. کم‌ترین (۰/۹۴، ۰/۹۶ و ۰/۹۹) ضریب تبدیل غذایی مشاهده شد. هم‌چنین بین تیمارهای ۵ و ۱۰ و ۱۵ درصد تفاوت معنی‌داری در خصوص ضریب تبدیل غذایی مشخص نگردید(P>۰/۰۵).هیچ‌گونه تفاوت‌معنی‌داری‌بین‌ضریب‌بقاء‌بچه‌ماهیان تا پایان دوره آزمایش نشان نداد (P>۰/۰۵). نتایج حاصل از تغییرات شاخص وضعیت ماهیان گورامی جثه‌بزرگ بیانگر آن است که تفاوت معنی‌داری بین تیمارها از نظر فاکتور وضعیت وجود داشت (P<۰/۰۵). که حداکثر مقدار این شاخص در تیمار شاهد (۴/۷۷±۰/۲۳a) مشاهده شد.

جدول ۱: میانگین شاخص‌های رشد و بازماندگی در ماهیان گورامی بزرگ‌جثه تغذیه شده با سطوح مختلف فایتوژنیک دایجستروم پی.ای.پی

	شاهد	۵ درصد	۱۰ درصد	۱۵ درصد
وزن اولیه	۳/۰±۱/۲^{a}	۳/۰±۱/۲^{a}	۳/۰±۱/۲^{a}	۳/۰±۱/۲^{a}
وزن نهایی	۱۰/۰±۱۳/۴۵^{d}	۱۳/۰±۲۷/۵۷^{c}	۱۴/۰±۴۳/۲۵^{b}	۲۲/۰±۶۷/۸۵^{a}
نرخ رشد ویژه	۳/۰±۰۳/۲۱^{d}	۳/۰±۶۷/۰۷^{c}	۴/۰±۱۰/۲۶^{b}	۵/۰±۲۳/۱۲^{a}
ضریب تبدیل غذایی	۱/۰±۰۷/۰۴^{a}	۰/۰±۹۴/۰۴^{b}	۰/۰±۹۶/۰۴^{b}	۰/۰±۹۹/۰۴^{b}
درصد بازماندگی	۹۶/۳±۳۳/۷۹^{a}	۹۶/۲±۰۰/۰۰^{a}	۹۷/۲±۶۷/۰۸^{a}	۹۸/۲±۰۰/۰۰^{a}
شاخص وضعیت	۴/۰±۷۷/۲۳^{a}	۴/۰±۲۷/۱۲^{b}	۴/۰±۰۳/۲۱^{bc}	۳/۰±۸۷/۲۱^{c}

مقایسه درون گروهی بوده و حروف غیرهمسان در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد و داده‌ها به‌صورت میانگین± انحراف معیار می‌باشد. داده‌های به‌دست آمده از شاخص امعاء و احشا، بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار میان تیمارهای مختلف بود (P>۰/۰۵).

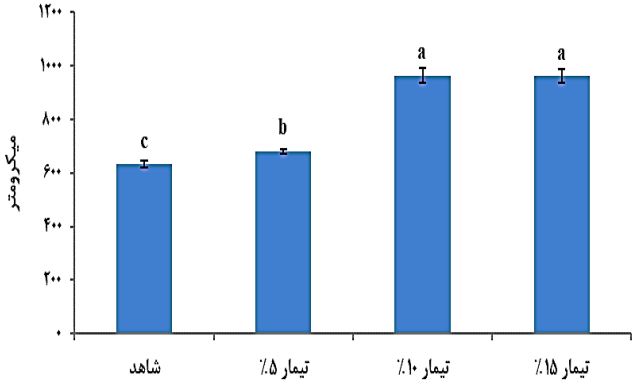


شکل ۱: مقایسه میزان شاخص امعاء و احشاء ماهیان گورامی بزرگ‌جثه تغذیه شده با سطوح مختلف فایتوژنیک دایجستروم پی.ای.پی. در پایان دوره آزمایش
حروف غیرمشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشد.

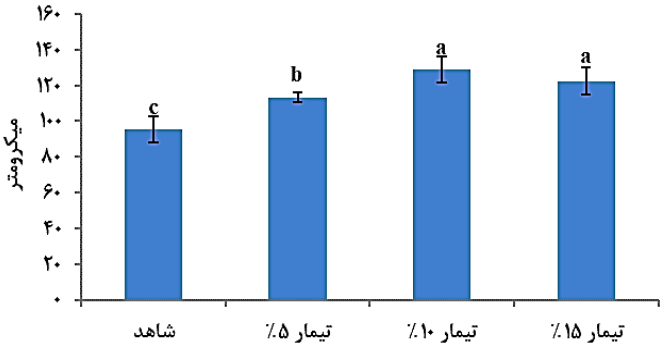
مورفولوژی میکروپرزهای روده: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها و آزمون دانکن مقایسه میانگین طول میکروپرزهای روده، بیانگر وجود اختلاف معنی‌داری میان تیمارهای مختلف بود (P<۰/۰۵). تیمارهای ۱۰ و ۱۵ درصد بیش‌ترین مقدار طول میکروپرزهای روده را دارا بوده و تیمار شاهد نیز دارای کم‌ترین میزان بودند. هم‌چنین بین تیمارهای ۱۰ و ۱۵ درصد افزودنی فایتوژنیک اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ۲).

عرض میکروپرزهای روده: نتایج نشان داد که میانگین عرض میکروپرزهای روده واجد اختلاف معنی‌دار میان تیمارهای تغذیه شده با ماده فایتوژنیک دایجستروم پی.ای.پی. با گروه شاهد بود (P<۰/۰۵). به‌طوری‌که تیمارهای ۱۰ و ۱۵٪ بیش‌ترین مقدار عرض میکروپرزهای روده را دارا بوده‌و تیمارشاهد نیز دارای کم‌ترین میزان بودند. هم‌چنین بین تیمارهای ۱۰ و ۱۵ درصد افزودنی فایتوژنیک اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ۳).

عمق کریپت میکروپرزهای روده: نتایج تجزیه‌واریانس داده‌ها و آزمون دانکن مقایسه میانگین داده‌های عمق کریپت میکروپرزهای روده فاقد اختلاف معنی‌داری میان تیمارها بود (P>۰/۰۵) (شکل ۴).

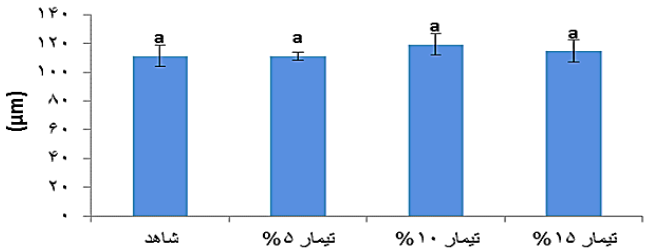


شکل ۲: نمودار مقایسه طول میکروپرزهای روده ماهیان گورامی بزرگ‌جثه تغذیه شده با سطوح مختلف فایتوژنیک دایجستروم پی.ای.پی.در پایان دوره آزمایش
حروف غیر مشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشد.



شکل ۳: نمودار مقایسه عرض میکروپرزهای روده ماهیان گورامی بزرگ‌جثه تغذیه شده با سطوح مختلف فایتوژنیک دایجستروم پی.ای.پی. در پایان دوره آزمایش

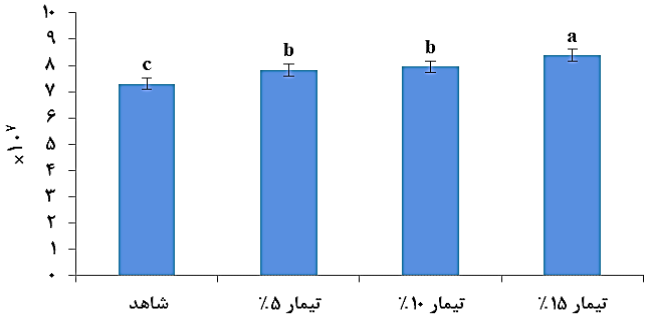
حروف غیر مشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشد.



شکل ۴: مقایسه عمق کریپت میکروپرزهای روده ماهیان گورامی بزرگ‌جثه تغذیه شده با سطوح مختلف فایتوژنیک دایجستروم پی.ای.پی. در پایان دوره آزمایش

حروف غیرمشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشد.

جمعیت لاکتوباسیل‌های روده: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها و آزمون دانکن مقایسه میانگین شمارش باکتری‌های لاکتوباسیل‌های روده در محیط کشت MRS، بیانگر وجود اختلاف معنی‌داری میان تیمارهای تغذیه شده با ماده فایتوژنیک دایجستروم پی.ای.پی. و گروه شاهد بود (P<۰/۰۵). به‌طوری‌که تیمار ۱۵ درصد بیش‌ترین تعداد (۸/۰±۱۲/۳۵) باکتری را دارا بوده و تیمار شاهد نیز دارای کم‌ترین (۷/۰±۷۶/۶۰) تعداد بودند. هم‌چنین بین تیمارهای ۵ و ۱۰ درصد افزودنی فایتوژنیک اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ۵).



شکل ۵: نمودار مقایسه شمار باکتری‌های لاکتوباسیل روده ماهیان گورامی بزرگ جثه در محیط کشت MRS در پایان دوره آزمایش

حروف غیرمشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشد.

بحث

در سال‌های اخیر در صنعت آبزی‌پروری جهت افزایش رشد و ایمنی و هم‌چنین پیشگیری یا کنترل بیماری به گیاهان دارویی توجه بیش‌تری شده است. افزودنی گیاهی مورد استفاده در این تحقیق حاوی عصاره‌های کارواکرول، آنتول و لیموتن بوده که به‌عنوان محرک رشد و اشتهاآور در ماهیان محسوب شده (Kroismayr و همکاران، ۲۰۰۸)، که در این تحقیق نیز سبب رشد بیش‌تر ماهیان گورامی شده است. درحقیقت محرک‌های رشد گیاهی مزیت‌های متعددی نسبت به محرک‌های رشد مصنوعی دارند. از این مزیت‌ها می‌توان به در دسترس بودن، آسیب کم‌تر برای محیط زیست و جانور و امکان تولید در سطح وسیع با قیمت پایین اشاره نمود. نقش سودمند و تأثیرگذار محرک‌های گیاهی روی رشد، شاخص‌های خونی و ایمنی ماهیان به‌طور گسترده‌ای توسط محققین مختلف گزارش شده است (Ashraf و Goda، ۲۰۰۸). نتایج این مطالعه نشان دادند که افزودن مکمل خوراکی فایتوژنیک (دایجستروم پی.ای.پی.) به خوراک، بدون تأثیر منفی سبب افزایش وزن نهایی، نرخ رشد ویژه و کاهش ضریب تبدیل غذایی و در نتیجه عملکرد بهتر رشد در ماهیان گورامی بزرگ‌جثه نسبت به تیمار شاهد(فاقد افزودنی خوراکی فایتوژنیک) گردد. در رابطه با افزایش وزن، یافته‌ها حاکی از تأثیر بهتر دایجستروم پی.ای.پی. در سطح ۱۵ گرم در کیلوگرم است. به‌نظر می‌رسد پریبیوتیک فروکتوالیگو ساکارید موجود در دایجستروم به‌واسطه تحریک رشد یـا فعال کردن باکتری‌های مفید روده‌ای ازجمله بیفیدوباکترها و لاکتوباسیلوس‌ها توانسته ترشح آنزیم‌های هضمی در دستگاه گوارش را تحریک و کمک به هضم و جذب مواد مغذی نماید (Akhter و همکاران، ۲۰۱۵؛ Ortiz و همکاران، ۲۰۱۳) و درنهایت باعث افزایش رشد بچه‌ماهی گورامی بزرگ‌جثه شود. علاوه بر این، افزایش عملکرد رشد بچه‌ماهیان گورامی تغذیه شده با افزودنی فایتوژنیک دایجستروم پی.ای.پی. را می‌توان به وجود عصاره‌های کارواکرول، آنتول و لیمونن موجود در این مکمل مرتبط دانست. به‌طور مشابه بیشه‌بان و همکاران (۱۳۹۴) گزارش کردند که افزودن ۱/۵ گرم در کیلوگرم دایجسترم سبب افزایش فاکتورهای رشد ماهی استرلیاد (*Acipenser ruthenus*) می‌شود. علاوه براین، تأثیر مطلوب استفاده از مکمل‌های با منشاء گیاهی در تحریک رشد و بهبود سیستم ایمنی جیره‌های غذایی ماهی اسکار (علیشاهی و همکاران، ۱۳۹۱)، ماهی کپورعلفخوار (علیشاهی، ۱۳۸۸) و ماهی کپور معمولی (عبدی، ۱۳۸۸) گزارش شده است. نتایج تحقیق Peterson و همکاران (۲۰۱۴) نیز نشان داده است که افزودن ۲۰۰ گرم دایجستروم پی.ای.پی. در یک تن خوراک گربه‌ماهی کانالی (*Ictalurus punctatus*)، علاوه بر افزایش اشتهاء سبب بهبود ضریب تبدیل غذا گردید.

(Ayokanmi، ۲۰۱۲). نتایج حاضر با تحقیقات طاعتی و تعادلی (۱۳۹۴)، اثرات سطوح مختلف افزودنی گیاهی کارواکرول، آنتول و لیمونن بر عملکرد رشد، بازماندگی، شاخص‌های خونی وایمنی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) و هم‌چنین بیشه‌بان و همکاران (۱۳۹۵)، اثرات سطوح مختلف افزودنی گیاهی کارواکرول، آنتول و لیمونن را بر تعیین برخی شاخص‌های خونی وایمنی ماهی استرلیاد (*Acipenser ruthenus*) مطابقت دارد که با افزایش درصد ماده گیاهی افزودنی شاخص‌های رشد، بازماندگی و نرخ رشد ویژه افزایش یافته و ضریب تبدیل غذایی نیز کاهش یافته است. هم‌چنین هیچ تفاوت معنی‌داری را درخصوص ضریب بازماندگی ماهیان تغذیه شده با تیمارهای آزمایشی با سطوح مختلف افزودنی فایتوژنیک (دایجستروم پی.ای.پی)، نشان ندادند که البته شاید دلیل عدم وجود تفاوت معنی‌دار در ضریب بازماندگی ماهیان، مقاوم بودن گونه گورامی بزرگ‌جثه باشد. افزودن ماده خوراکی دایجستروم تفاوت معنی‌داری در صفات لاشه (شاخص امعاء و احشاء) میان تیمارهای مختلف ایجاد نکرده است. به‌علاوه بررسی شاخص امعا و احشا تیمارهای آزمایش نیز نشان داد که مقدار این شاخص در سایر تیمارها نسبت به تیمار شاهد کاهش‌داشته است که به‌نظر می‌رسد ماده افزودنی خوراکی فایتوژنیک (دایجستروم پی.ای.پی.) توانسته با بهبود جذب مواد مغذی به‌ویژه پروتئین، به بهبود شاخص‌های امعا و احشا کمک نماید (Zhao و همکاران، ۲۰۱۵). کنترل جمعیت میکروبی روده مهم‌ترین عامل برای جلوگیری از بروز مشکلات گوارشی و حفظ سلامت عمومی ماهیان پرورشی است. نتایج حاصل از شمارش تعداد کلنی باکتری‌های لاکتوباسیل این مطالعه حاکی از وجود اختلاف معنی‌دار تعداد کلنی باکتری‌های لاکتوباسیل ماهیان تغذیه شده با افزودنی فایتوژنیک دایجستروم پی.ای.پی. نسبت به تیمار شاهد بوده که حداکثر این تعداد در تیمار ۱۵ درصد مشاهده شد. دلیل این افزایش احتمالاً به سبب تأثیر مثبت بخش پریبیوتیکی (ترکیبات فروکتوالیگوساکاریدی) این ماده فایتوژنیک است (دفاعی و همکاران، ۱۳۹۵). به‌طوری‌که این مواد پریبیوتیکی غیر قابل هضم بوده و به‌وسیله باکتری‌های مفید روده ازجمله لاکتوباسیلوس‌ها تخمیر شده و سبب تحریک رشد آن‌ها می‌شوند (Kroismayr و همکاران، ۲۰۰۸؛ Ortiz و همکاران، ۲۰۱۳). البته گزارش شده که کارواکرول موجود در ماده فایتوژنیک دایجستروم پی.ای.پی. نیز باعث تحریک رشد و تکثیر لاکتوباسیلوس‌ها می‌شوند (Hernandez و همکاران، ۲۰۰۴). Taghavi و همکاران (۲۰۱۵) نیز در تحقیقی که درباره تأثیر افزودنی فایتوژنیک (بایومین پی.ای.پی.) در جیره غذایی ماهیان خاویاری بستر انجام دادند، به نتایجی مشابه در این زمینه دست یافتند. از نقش‌های ترکیبات فایتوژنیک می‌توان به بهبود فلور میکروبی دستگاه گوارش، افزایش جذب و هضم‌پذیری غذا از طریق افزایش گرفتن اشتهاء و بهبود مطلوبیت جیره (حفظ کیفیت جیره)، تحریک ترشحات دستگاه گوارش و کیسه صفرا اشاره نمود (Hundal و همکاران، ۲۰۰۹). Lara و همکاران (۲۰۰۳)، استفاده از رژیم غذایی دارای کارواکرول و تیمول سبب افزایش جمعیت باکتری‌های لاکتوباسیل و کاهش جمعیت باکتری اشریشاکلی می‌شوند. بررسی طول، عرض و عمق کریپت میکروپرزهای روده ماهیان در این آزمایش نشان داد که افزودن ماده افزودنی خوراکی دایجستروم پی.ای.پی. تفاوت معنی‌داری در عرض و عمق کریپت میکروپرزهای روده میان تیمارهای مختلف ایجاد کرده است. اما طول و عرض میکروپرزهای روده ماهیان در تیمارهای ۱۰ و ۱۵ در سطح معنی‌داری افزایش یافته است ولی عمق کریپت میکروپرزها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. یافته‌های Tahmasebi و همکاران (۲۰۰۸) درخصوص تأثیر مثبت نوکلئوتیدها بر طول پرزهای روده ماهی قزل‌آلای رنگین کمان انگشت‌قد و بهبود پارامترهای رشد ماهی، Olad و همکاران (۲۰۱۰) درخصوص تأثیر نوکلئوتیدها بر ساختار روده و افزایش طول پرزهای روده ماهی آزاد دریای خزر و Bello و همکاران (۲۰۱۲) در خصوص ترکیبات گیاهی بر افزایش سطح جذب پرزهای روده از طریق تأثیر بر طول و عرض این پرزها با یافته‌های تحقیق حاضر مطابقت دارد. نتایج این تحقیق نشان داد که افزودن خوراکی فایتوژنیک دایجستروم پی.ای.پی به‌مقدار ۱۵٪ در جیره غذایی تأثیر به‌سزایی بر فاکتورهای رشد و فلور میکروبی دستگاه گوارش ماهی گورامی جثه بزرگ خواهد داشت و می‌تواند نقش مثبتی در بهبود عملکرد رشد و تغذیه ایفا کند.

منابع

۱. **بیشه‌بان، م.ع.؛ زمینی، ع. و نصری‌تجن، م.، ۱۳۹۴.** تعیین شاخص‌های رشد وایمنی بچه‌ماهی استرلیاد (*Acipenser ruthenus*) تغذیه شده با مکمل غذایی دایجستروم. مجله بهره‌برداری و پرورش آبزیان دانشگاه گرگان. دوره ۴. شماره ۲، صفحات ۴۱ تا ۵۱.

۲. **بیشه‌بان، م.ع.؛ زمینی، ع. و نصری‌تجن، م.، ۱۳۹۵.** تعیین برخی شاخص‌های خونی و ایمنی ماهی استرلیاد (*Acipenser ruthenus*) تغذیه شده با سطوح مختلف افزودنی گیاهی کارواکرول، آنتول و لیمونن. مجله زیست شناسی دریا واحد دانشگاه آزاد اهواز ایران. دوره ۸، شماره ۳۰، صفحات ۱۵ تا ۲۶.

۳. **جانمحمدی، ح.؛ تقی‌زاده، ا. و مالکی‌مقدم، م.، ۱۳۸۸.** تأثیر جایگزینی آرد ماهی با پودر ضایعات کشتارگاهی طیور بر رشد و صفات لاشه در تغذیه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان. مجله پژوهش‌های علوم دامی. جلد ۱، شماره ۲، صفحات ۱۲۵ تا ۱۳۶.

۴. **دفاعی، س.؛ فلاحتکار، ب. و عفت‌پناه، ا.، ۱۳۹۵.** تأثیر دایجستروم P.E.P بر رشد و برخی شاخص‌های خونی در بچه

فیل‌ماهی (*Huso huso*). علوم و فنون شیلات. دوره ۵، شماره ۱، صفحات ۸۳ تا ۹۵.

۵. **طاعتی، ر. و تعادلی، ح.، ۱۳۹۴.** تعیین عملکرد رشد و برخی پارامترهای خونی و ایمنی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) تغذیه شده با سطوح مختلف افزودنی گیاهی کارواکرول، آنتول و لیمونن. مجله زیست شناسی دریا واحد دانشگاه آزاد اهواز ایران. دوره ۶، شماره ۲۵، صفحات ۳۵ تا ۴۴.

۶. **علیشاهی، م.؛ مصباح، م.؛ نامجویان، ف.؛ سبزواری‌زاده، م. و راضی‌جلالی، م.، ۱۳۹۱.** مقایسه اثر برخی محرک‌های ایمنی شیمیایی و گیاهی در ماهی اسکار (*Astronotus ocellatus*). مجله دامپزشکی ایران. دوره ۸، شماره ۲، صفحات ۵۸ تا ۶۸.

۷. **علیشاهی، م.؛ سلطانی، م.؛ مصباح، م. و زرگر، ا.، ۱۳۹۱.** تأثیر تحریک ایمنی و رشد عصاره‌های گیاهی سرخارگل، کندر و آویشن در ماهی کپورمعمولی، مجله تحقیقات دامپزشکی. دوره ۶۷، صفحات ۱۲۷ تا ۱۳۳.

۸. **فریدپاک، ف.، ۱۳۶۵.** تکثیر مصنوعی و پرورش ماهیان گرمابی. انتشارات وزارت جهاد کشاورزی، تهران. ۳۷۰ صفحه.

۹. **Ashraf, M.A. and Goda, S., 2008.** Effect of dietary ginseng herb (Ginsana-g115) supplementation on growth, feed utilization, and hematological indices of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), fingerlings. Journal of the World Aquaculture Society. Vol. 39, pp: 205-214.

۱۰. **Akhter, N.; Wu, B.; Memon, A.M. and Mohsin, M., 2015.** Probiotics and prebiotics associated with aquaculture: a review. Fish and shellfish immunology. Vol. 45, No. 2, pp: 733-741.

۱۱. **Ayokanmi dada, A., 2012.** Effects of herbal growth promoter feed additive in fish meal on the perfor-mance of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). The Egyptian Academic Journal of Biological Sciences. Vol. 4, No.1, pp: 111-117.

۱۲. **Bello, O.S.; Emikpe, B.O. and Olaifa, F.E., 2012.** The body weight changes and gut morphometry of clariasgariepinus juveniles on feeds supple-mented with walnut (*Tetracarpidium conophorum*) leaf and onion (*Allium cepa*) bulb residues. International Journal of Morphology. Vol. 30, No. 4, pp: 253-257.

۱۳. **Borgeson, T.L.; Racz, V.J.; Wilkie, D.C.; White, L.J. and Drew, M.D., 2006.** Effect of replacing fishmeal and oil with simple or complex mixtures of vegetable ingredients in diets fed to Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Aquaculture Nutrition. Vol. 12, No. 2, pp: 141-149.

۱۴. **Hernandez, F.; Madrid, J.; Garcia, V.; Orengo, J. and Megias, M.D., 2004.** Influence of two plant extracts on broilers performance, digestibility, and digestive organ size. Poultry Science. Vol. 83, No. 2, pp: 169-174.

۱۵. **Hevroy, E.M.; Espe, M.; Waagbø, R.; Sandnes, K.; Ruud, M. and Hemre, G.I., 2005**. Nutrient utilization in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fed increased levels of fish protein hydrolysate during a period of fast growth. Aquaculture Nutrition. Vol. 11, No.4, pp: 301-313.

۱۶. **Hundal, H.S. and Taylor, P.M., 2009.** Amino acid transceptors: gate keepers of nutrient exchange and regulators of nutrient signaling. American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism. Vol. 29, No.4, pp: 603-613.

۱۷. **Kestemont, P.; Xueliang, X.; Hamza, N.; Maboudou, J. and Toko, I.I., 2007.** Effect of weaning age and diet on pikeperch larviculture. Aquaculture. Vol. 264, No. 4, pp: 197-204.

۱۸. **Kim, J.M.; Marshall, M.R.; Cornell, J.A. and Wei, C.I., 1995.** Antibacterial activity of carvacrol, citral, and geraniol against *Salmonella typhimurium* in culture medium and on fish cubes. Journal of Food Science. Vol. 60, No. 6, pp: 1364-1368.

۱۹. **Kroismayr, A.; Schedle, K.; Sehm, J.; Pfaffl, M.W.; Plitzner, C.; Foissy, H. and Windisch, W., 2008.** Effects of antimicrobial feed additives on gut microbiology and blood parameters of weaned piglets. Bodenkultur. Vol. 59, No. 59, pp: 111-120.

۲۰. **Ringø, E.; Zhou, Z.; He, S. and Olsen, R.E., 2014.** Effect of stress on intestinal microbiota of Arctic charr, Atlantic salmon, rainbow trout and Atlantic cod: a review. African journal of Microbiology Research. Vol. 8, No. 7, pp: 609-618.

۲۱. **Reisinger, N.; Steiner, T.; Nitsch, S.; Schatzmayr, G. and Applegate, T.J., 2011.** Effects of a blend of essential oils on broiler performance and intestinal morphology during coccidial vaccine exposure. Journal of Applied Poultry Research. Vol. 20, No. 3, pp: 272-283.

۲۲. **Mountzouris, K.C.; Paraskevas, V.; Tsirtsikos, P.; Palamidi, I.; Steiner, T.; Schatzmayr, G. and Fegeros, K., 2011.** Assessment of a phytogenic feed additive effect on broiler growth performance, nutrient digestibility and caecal microflora composition. Animal Feed Science and Technology. Vol. 168, No. 3, pp: 223-231.

۲۳. **Ortiz, L.T.; Rebolé, A.; Velasco, S.; Rodríguez, M.L.; Treviño, J.; Tejedor, J.L. and Alzueta, C., 2013.** Effects of inulin and fructooligosaccharides on growth performance, body chemical composition and intestinal microbiota of farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture Nutrition, Vol. 19, No. 4, pp: 475-482.

۲۴. **Oulad, S.D.E.; Khodabandeh, S.R.; Abediyan, A.H. and Mahmoudi, N.T., 2012.** Investigation on *Salmo trutta caspius* intestinal variations on different levels of dietary nucleotide. Journal of Marine Science and Technology. Vol. 10, No. 2, pp: 37-49.

۲۵. **Papageorgiou, G.; Botsoglou, N.; Govaris, A.; Giannenas, I.; Iliadis, S. and Botsoglou, E., 2003.** Effect of dietary oregano oil and α-tocopheryl acetate supplementation on iron-induced lipid oxidation of turkey breast, thigh, liver and

heart tissues. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition. Vol. 87, No. 9-10, pp: 324-335.

۲۶. **Pattnaik, S.; Subramanyam, V.R.; Kole, C.R. and Sahoo, S., 1995.** Antibacterial activity of essential oils from Cymbopogon: inter and intra specific differences. Microbiology. Vol. 84, No. 341, pp: 239-245.

۲۷. **Peterson**, **B.C.; Bosworth, B.G.; Li, M.H.; Beltran, R. and Santos, G.A., 2014.** Assessment of a phytogenic feed additive (Digestarom P.E.P) on growth performance, processing yield, fillet composition, and survival of channel catfish. Journal of the World Aquaculture Society. Vol. 45, No. 2, pp: 206-212.

۲۸. **Qinghui, A.; Kangsen, M.; Chunxiao, Z.; Qingyuan, D.; Beiping, T. and Zhiguo, L., 2004.** Effect of dietary vitamin C on growth immune response of Japanese Seabass (*Lateolabrax japonicas*). Aquaculture. Vol. 242, No. 1-4, pp: 489-500.

۲۹. **Taghavi, F.; Tajan, M.N. and Zamini, A.A., 2015.** Determination on Growth indices, Blood parameters, Immune responses and Intestine bacterial flora of Bester juvenile fish (*Huso huso*× *Acipenser ruthenus*) Fed by Biomin Nutritional supplements. Advances in Bioresearch. Vol. 6, No. 3, pp: 136-143.

۳۰. **Tahmasebi-Kohyani, A.; Keyvanshokooh, S.; Nematollahi, A.; Mahmoudi, N. and Pasha-Zanoosi, H., 2008.** Effects of dietary nucleotide on growth indices and intestinalmorphology of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Journal of Marine Science and Technology. Vol. 1, No. 2, pp: 45-54

۳۱. **Wootan, R.J., 1990.** Ecology of teleost fish. Chapman & Hall, London. 458 p.

۳۲. **Zhao, Y.; Hu, Y.; Zhou, X.Q.; Zeng, X.Y.; Feng, L.; Liu, Y. and Wu, C.M., 2015.** Effects of dietary glutamate supplementation on growth performance, digestive enzyme activities and antioxidant capacity in intestine of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). Aquaculture Nutrition. Vol. 21, No. 6, pp: 935-941.