

## بررسی تأثیر جیره غذایی بر شمارش تام باکتری‌های روده و مشخصات هیستومتریک روده ماهی کپور علفخوار (*Ctenopharyngodon idella*)

- **لفته محسنی‌نژاد\***: گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز، صندوق پستی: ۱۹۱۵
- **رحیم پیغان**: گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران، اهواز، صندوق پستی: ۱۳۹ تاریخ دریافت: اسفند ۱۳۹۳ تاریخ پذیرش: خرداد ۱۳۹۴

### چکیده

در این مطالعه اثر مصرف یونجه و جو بر تعداد کل باکتری‌ها و تغییرات بافتی در روده ماهی کپور علفخوار مورد ارزیابی قرار گرفت. به این منظور تعداد ۶۰ قطعه ماهی از ۲ کارگاه پرورش ماهی با وزن (میانگین وزن  $\pm$  انحراف معیار)  $319 \pm 1280/67$  گرم به صورت کاملاً تصادفی به دو گروه که از یونجه و جو تغذیه می‌کردند تقسیم و مورد بررسی قرار گرفتند. این ماهیان به مدت یک دوره پرورشی مورد تغذیه قرار گرفتند در انتهای دوره از هر مزرعه ۳۰ ماهی انتخاب گردید. پس از کالبدگشایی ماهی‌ها از بافت روده جهت شمارش تام باکتریایی و بافت‌شناسی به روش متداول آزمایشگاهی نمونه برداری صورت گرفت. نتایج نشان داد که میانگین تعداد باکتری (Colony Forming Unit) در ۲ گروه تفاوت معنی‌داری دارد ( $p < 0/05$ ). در مطالعه بافتی روده طبق بررسی آماری در قطر لایه‌ها و تعداد سلول‌های موکوسی اختلاف معنی‌داری بین گروه‌ها وجود داشت ( $p < 0/05$ ). به نحوی که در گروهی که با جو تغذیه شده بودند قطر لایه مخاطی افزایش یافته بود ولی قطر لایه عضلانی کم‌تر بوده است.

**کلمات کلیدی:** کپور علفخوار، بافت روده، یونجه، جو، باکتری



## مقدمه

از اهمیت خاصی برخوردار است (کریمی، ۱۳۸۱). آن دسته‌ای که به‌طور گسترده مطالعه شده‌اند گلوکان‌ها، پلی‌پیتیدهای خاص، لوامیزول و ویتامین C هستند (فاطمی و میرزرگر، ۱۳۸۶). عمده غذای مورد استفاده در پرورش کپور علفخوار یونجه تازه (*alfalfa*) می‌باشد (فریدپاک، ۱۳۸۹). برخی از مزارع به‌دلایل مختلفی قادر به تغذیه ماهی کپور علفخوار با یونجه نیستند و فقط از جو و دانه‌های گیاهی در استخر استفاده می‌کنند. از آن جایی که این نوع جیره که مناسب ماهی کپور علفخوار نیست احتمالاً باعث اختلالات تغذیه‌ای شده و تأثیر منفی بر فلور باکتریایی و بافت روده ماهی خواهد گذاشت. تاکنون در ارتباط با تأثیر جیره غذایی بر ساختار روده و فلور باکتریایی روده این ماهی خصوصاً در شرایط خوزستان بررسی صورت نگرفته است. هدف از این تحقیق، بررسی تأثیر جیره بر تعداد کلی باکتری‌ها و بافت روده در ماهی کپور علفخوار بود.

## مواد و روش‌ها

**تهیه نمونه برداری و تهیه ماهی:** در تابستان سال ۱۳۹۳ از دو مزرعه پرورش ماهی (از هر مزرعه ۳ استخر) در ناحیه شوشتر (شمال استان خوزستان) انتخاب شدند. ماهیان کپور علفخوار در یکی از مزارع حداقل ۳ ماه به‌طور مداوم با یونجه و در دیگری با جو تغذیه شدند. ماهیان مورد مطالعه در محدوده وزنی (میانگین  $\pm$  انحراف معیار)  $319 \pm 128.067$  گرم انتخاب گردیدند. برای عملیات نمونه برداری در تابستان ۱۳۹۳ به‌طور اتفاقی و با استفاده از تور پرتابی اقدام به صید ماهی گردید. ماهیان به‌طور زنده به آزمایشگاه بخش بهداشت و بیماری‌های آبزیان پژوهشکده آبی‌پروری جنوب کشور منتقل شدند. برای بررسی ماهیان ابتدا نخاعی شده زیست‌سنجی اولیه شامل اندازه‌گیری وزن و طول کل بدن انجام گردید. برای اندازه‌گیری طول از زیست‌سنجی و برای اندازه‌گیری وزن از ترازوی دیجیتال (A&D با دقت ۰/۰۰۱ گرم) استفاده شد.

**شمارش کلی باکتریایی:** برای مطالعه باکتریایی یک گرم از بافت روده را درون یک هاون چینی استریل هم‌زن کرده و از آن رقت‌های مختلف تهیه شد. بدین‌صورت که یک گرم بافت را در ۹ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی حل کرده و یک میلی‌لیتر از این محلول درون لوله دیگر حاوی ۹ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی ریخته می‌شود و به‌همین ترتیب رقت‌های مختلف تهیه شد. ۰/۱ میلی‌لیتر از هر رقت در سطح پلیت حاوی محیط TSA ریخته و با استفاده از میله شیشه‌ای خمیده پخش گردید. پس از

پرورش آبزیان به‌منظور تولید و تامین بخشی از پروتئین موردنیاز انسان‌ها هست و ۴۴ درصد مردم در طول سال از ماهی استفاده می‌کنند (Salehi, ۲۰۰۶). هم‌چنین در امر پرورش ماهی ۵۰ تا ۶۰ درصد هزینه پرورش مربوط به تهیه و تولید غذا است که یکی از فاکتورهای مهم در رشد و تولید است (سوداگر و همکاران، ۱۳۸۶؛ FAO, ۲۰۰۶). تغذیه مناسب، در سلامت تمامی حیوانات نقش اساسی دارد و ماهیان نیز از این امر مستثنی نیستند، در بین ماهیان، بیماری‌هایی وجود دارد که مستقیماً وابسته به کمبود یا زیادی مواد غذایی است (ستاری و فرامرزی، ۱۳۷۸) عوارض و بیماری‌های تغذیه‌ای از جمله بیماری‌های متداول در پرورش ماهی هستند با این حال کم‌تر مورد توجه قرار می‌گیرند. این موضوع بیش‌تر به‌دلیل پیچیدگی و عدم امکان تشخیص قطعی بسیاری از این بیماری‌ها است (پیغان و مشایی، ۱۳۸۴). ماهی کپور علفخوار با توجه به محیط پیچیده و شرایط خاص اکولوژیکی خود مستعد ابتلاء به انواع آلودگی‌های ویروسی، باکتریایی، قارچی و انگلی می‌باشد. قابل مشاهده‌ترین تفاوت در بین ماهیان طول روده (از اسفنکتر باب المعده تا مخرج) است در ماهیان گوشت‌خوار طول روده حدود ۲۰٪ طول بدن بوده و روده مستقیماً از معده تا مخرج کشیده می‌شود و در ماهیان علفخوار طول روده تا بیش از ۲۰ برابر طول بدن می‌رسد (ستاری، ۱۳۸۱؛ Kasumyan و همکاران، ۲۰۰۲). اثرات جیره غذاهای پلت و گیاهی بر شاخص‌های رشد و برخی خصوصیات ریختی دستگاه گوارش بچه‌ماهی انگشت قد کپور علفخوار (*Ctenopharyngodon idella*) به اثبات رسیده است (امیرکلایی و همکاران، ۱۳۸۹؛ خارا و همکاران، ۱۳۸۱). هم‌چنین جهت تعیین ارجحیت غذایی ماهی کپور علفخوار تغذیه شده با گیاهان آبی نیز در کشور تحقیقاتی صورت گرفته است (حسینی و همکاران، ۱۳۹۰؛ فیلی‌زاده، ۱۳۷۹). گزارش‌هایی نیز در مورد تأثیر یونجه بر بهبود زخم وجود دارد (یوسفی و همکاران، ۱۳۸۹) هضم و جذب کربوهیدرات‌ها، توسط ماهی شبیه به پستانداران است. با این تفاوت که ماهی‌ها قادر نیستند مقادیر زیادی کربوهیدرات‌ها را هضم و جذب و متابولیزه کنند (Statoskopf, ۱۹۹۳). گیاه جو دارای مقادیر زیادی ویتامین به‌خصوص از نوع  $B_{12}$ ،  $B_2$ ،  $B_1$ ، A، E بوده که علاوه بر آن از نظر مواد معدنی مانند کلسیم، فسفر، مس، سدیم، منگنز، منیزیم و کبالت غنی است (خدابنده، ۱۳۸۹). یونجه نیز با دارا بودن ذخایر غذایی از جمله مواد معدنی مختلف مانند کلسیم، مواد پروتئینی و حتی انواع ویتامین‌های گوناگون بخصوص ویتامین‌های A و C

جدول ۱: مقایسه شمارش کلی باکتری ماهیان  
تغذیه شده با یونجه و جو (CFU/gr)

ماهی	تعداد ماهی	میانگین $\pm$ انحراف معیار
تغذیه با یونجه	۳۰	$6/36 \pm 4/2 \times 10^6$
تغذیه شده با جو	۳۰	$2/75 \pm 1/9 \times 10^7$



شکل ۱: یک نمونه پلیت قابل شمارش باکتری



شکل ۲: کلونی های باکتریایی در بافت تازه روده به ترتیب در رقت های ۰/۱ و ۰/۰۱ در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد

طی ۲۴-۴۸ ساعت زمان انکوباسیون با دمای ۳۷ درجه سانتی گراد، پلت هایی که دارای ۳۰-۳۰۰ کلنی بودند شمارش شدند و تعداد کلنی ها در عکس ضریب رقت ضرب شده و تعداد تقریبی باکتری های موجود در ۱ گرم نمونه محاسبه گردید (Karim, ۲۰۰۳). (CFU یا Colony Forming Unit).

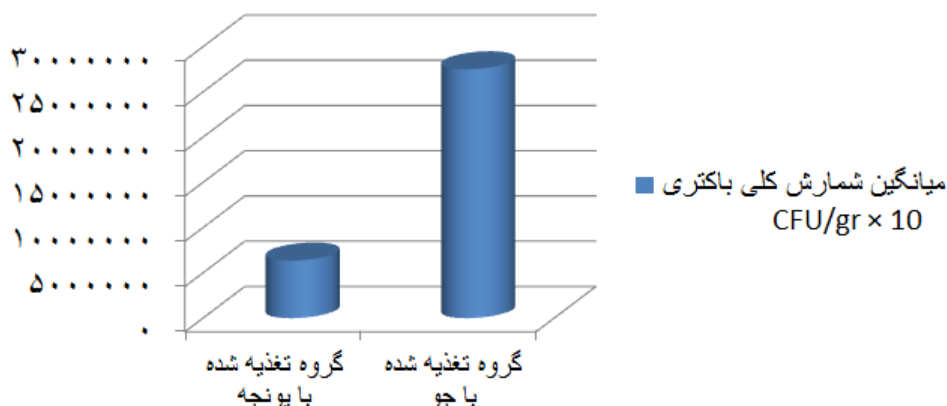
**بافت شناسی:** برای بررسی بافتی پس از برش محوطه شکمی روده هر ماهی خارج و قطعه ای به طول یک سانتی متر از وسط و انتهای روده جدا گردید، برای انجام پایدارسازی، نمونه ها در فرمالین ۱۰٪ قرار داده شدند. پس از مدت زمان ۴۸ ساعت، فرمالین نمونه ها با الکل ۷۰ درصد تعویض گردید. بعد از طی شدن دوره تثبیت، نمونه ها از الکل خارج شده و پس از برش با تیغ اسکالپل، نمونه های با اندازه نیم سانتی در قالب های مخصوص قرار داده شدند سپس سایر مراحل طبق روش های معمول برای تهیه مقاطع انجام شد. مراحل تهیه مقطع بافت به ترتیب شامل پایدارسازی (ثبوت)، شست و شو، آب گیری، شفاف کردن، آغشتگی با پارافین، قالب گیری و برش دادن مقاطع بود. پس از طی مراحل فوق مقاطع مناسب روی لام قرار داده شدند و سپس با روش هماتوکسیلین-ائوزین رنگ آمیزی صورت گرفت (Noga, ۱۹۹۵). برای اندازه گیری میکرومتری بافت روده از میکروسکوپ دوربین دار صایران و نرم افزار Axiovision استفاده شد و تصویرهایی با بزرگنمایی ۱۰۰،۴۰۰ و ۱۰۰۰ برابر گرفته شد. برای بررسی آماری میانگین ها، از نرم افزار spss ۱۷ و برنامه آنالیز واریانس یک طرفه و تست توکی استفاده گردید. در ضمن تمامی داده ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار ارائه شده اند.

## نتایج

**نتایج شمارش کلی باکتری:** نتایج بررسی نشان داد میانگین تعداد باکتری در گروه تغذیه شده با یونجه (CFU/gr)  $6/36 \pm 4/2 \times 10^6$  و در گروه تغذیه شده با جو میانگین تعداد باکتری (CFU/gr)  $2/75 \pm 1/9 \times 10^7$  بود (جدول ۱). بررسی آماری نشان داد، تعداد باکتری در گروه دوم بیش تر از گروه اول بوده که این اختلاف معنی دار بود ( $P < 0/01$ ).



## دو گروه مورد مطالعه



شکل ۳: نمودار ستونی مقایسه میانگین (M±SD) تعداد کل باکتری‌ها (CFU/gr) در یک گرم بافت تازه روده ماهیان کپور علفخوار تغذیه شده با جو و گروه تغذیه شده با یونجه

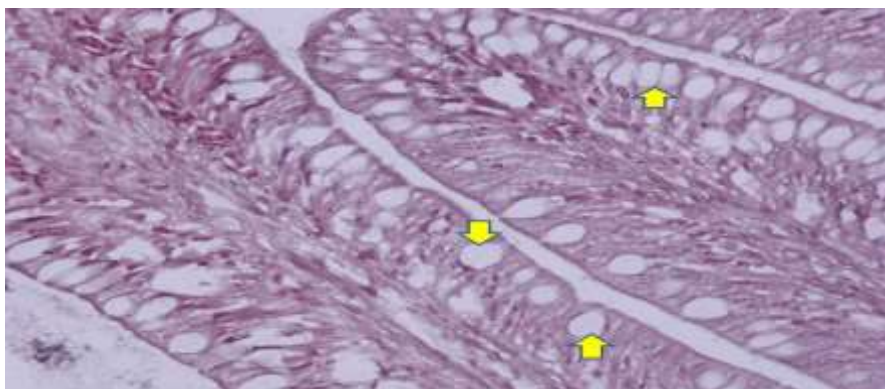
در گروهی که جو مصرف می‌کرد، با وجود کاهش قطر لایه عضلانی، قطر لایه مخاطی (شکل ۵) روده افزایش یافته بود. در هر دو گروه انتهای روده نسبت به وسط روده، تعداد سلول‌های موکوسی بیشتری مشاهده گردید. در بقیه موارد اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ( $p > 0.05$ ).

**نتایج بررسی بافت‌شناسی:** در بررسی بافتی روده در دو گروه مورد مطالعه، میانگین قطر لایه‌ها و تغییرات سلول‌های موکوسی مورد توجه قرار گرفت و باهم مقایسه گردید. نتایج این مقایسه در جدول ۲ نشان داده شده است. طبق بررسی آماری در قطر لایه‌ها و تعداد سلول‌های موکوسی (شکل ۴) اختلاف معنی‌داری بین گروه‌ها وجود داشت ( $p < 0.05$ ).

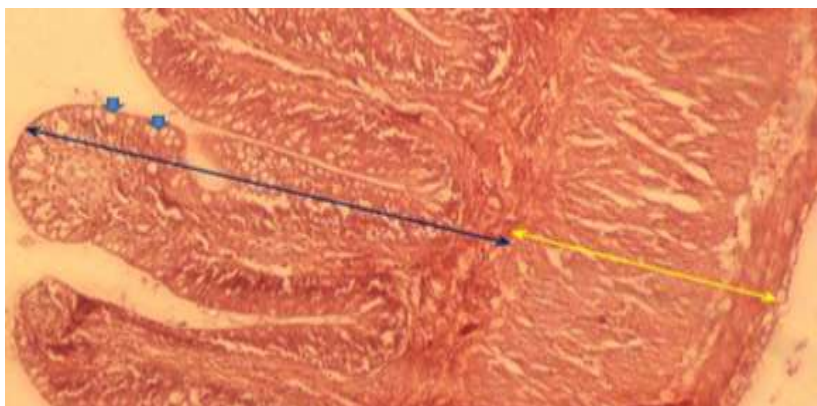
جدول ۲: مقایسه اثرات رژیم غذایی بر قطر لایه‌های بافتی روده ماهیان کپور علفخوار (میانگین ± انحراف معیار)

گروه	قطر مخاط	قطر لایه عضلانی	قطر کل لایه‌ها	تعداد سلول موکوسی (در ۱۰۰۰۰ میکرومتر مربع)
گروه تغذیه شده با یونجه (ناحیه وسط روده)	715 ± 146 <sup>b</sup>	281 ± 98 <sup>b</sup>	996 ± 191 <sup>b</sup>	27 ± 10 <sup>b</sup>
گروه تغذیه شده با یونجه (ناحیه انتهای روده)	757 ± 177 <sup>b</sup>	601 ± 185 <sup>a</sup>	1358 ± 189 <sup>a</sup>	44 ± 17 <sup>a</sup>
گروه تغذیه شده با جو (ناحیه وسط روده)	790 ± 113 <sup>a</sup>	241 ± 56 <sup>b</sup>	1031 ± 147 <sup>b</sup>	23 ± 6 <sup>b</sup>
گروه تغذیه شده با جو (ناحیه انتهای روده)	743 ± 135 <sup>b</sup>	249 ± 99 <sup>b</sup>	993 ± 173 <sup>b</sup>	40 ± 33 <sup>a</sup>

حروف متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین اندازه‌ها در هر ستون است.



شکل ۴: مقطع عرضی ناحیه وسط روده ماهی کپور علفخوار تغذیه شده با جو: لایه مخاطی حاوی تعداد زیادی سلول‌های موکوسی (پیکان‌ها) است. (رنگ آمیزی H&E، بزرگ‌نمایی ×۱۰۰۰)



شکل ۵: مقطع عرضی ناحیه انتهای روده ماهی کپور علفخوار تغذیه شده با یونجه: لایه عضلانی (پیکان زرد رنگ)، لایه مخاطی (پیکان سیاه) و سلول های موکوسی (پیکان های کوچک) (رنگ آمیزی H&E، بزرگ نمایی  $\times 400$ )

بیش تری از نیاز به مطالعه باکتری ها در ارتباط با شرایط محیطی آن ها و نیز فیزیولوژی میزبانان به وجود آمده است و نتیجه حاصل این بوده است که بیماری های باکتریایی ماهی عمدتاً با تغذیه ارتباط دارند. محیط های آبی دارای فلور طبیعی باکتریایی می باشند، باکتری ها متنوع ترین و بزرگ ترین جوامع میکروارگانیسم ها هستند (Hurst، ۱۹۹۷).

در چندین پژوهش ثابت شده که کمبودهای غذایی، ضایعات ناشی از عفونت های باکتریایی، ویروسی و انگلی و عوامل مختلف و استرس زا به عنوان عوامل مستعدکننده بیماری به شمار می آیند (Post، ۱۹۸۷). باکتری ها پس از ورود به دستگاه گوارش همراه آب و مواد غذایی یا در مجاری گوارشی استقرار یافته و به عنوان بخشی از فلور طبیعی روده درآمده و یا توسط عوامل ضد میکروبی، ترشحات گوارشی و شرایط نامناسب دستگاه گوارش از بین می روند و یا همراه مدفوع مستقیماً دفع می شوند. هم چنین باکتری ها پس از استقرار در سطوح خارجی و مجاری گوارشی به عنوان پاتوژن اولیه عمل کرده و موجب بروز بیماری می شوند (Austin و همکاران، ۱۹۹۳).

در مطالعه دیگری توسط Ringo و همکاران (۱۹۹۴) ثابت شد که جیره غذایی در میکرو فلور روده ماهیان آب شیرین و شور پرورشی تأثیر دارد. بررسی حاضر نشان داد که شاخص های باکتریایی در دو کارگاه مورد مطالعه از نظر آماری اختلاف معنی داری دارد که این نشان دهنده شرایط مختلف تغذیه ای کارگاه های مذکور است. با توجه به یافته های فوق می توان نتیجه گیری نمود که تغذیه ماهی کپور علفخوار بر فلور باکتریایی تأثیر به سزایی گذاشته است تفاوت در تعداد باکتری ها علاوه بر شرایط فیزیکیوشیمیایی، فصل و نوع تغذیه می تواند به روش نمونه برداری، دستگاه گوارش تازه یا منجمد، روش های کشت،

## بحث

در ایران، تکثیر و پرورش کپور علفخوار به علت مرغوبیت گوشت از نظر اقتصادی توجیه پذیر است و ارزش اقتصادی بالایی دارد. ماهی کپور علفخوار از جمله ماهیان بدون معده است که در محیط طبیعی از گیاهان عالی و علوفه ای مانند نی، علف مرغ، شبدر، یونجه و گیاهان آبی استفاده می کند. به دلیل امکان تکثیر مصنوعی و تغذیه با علوفه دستی ماهی کپور علفخوار از جمله ماهیان پرورشی با ارزش اقتصادی بالا محسوب می شود و سهم زیادی از تولید کپور ماهیان در دنیا را به خود اختصاص می دهد (چمن آرا، ۱۳۹۲).

نتایج به دست آمده از بررسی های آماری در این پژوهش نشان داد که بین ۲ گروه مورد تحقیق از نظر میانگین وزن اختلاف معنی داری وجود نداشت ( $P > 0.05$ ). در پژوهش حاضر از روش شمارش کلی باکتریایی برای بررسی وضعیت روده ماهی کپور علفخوار استفاده گردید طبق نتایج و در بررسی بین ۲ گروه مورد مطالعه از نظر میزان تعداد باکتری در هر گرم از بافت تازه روده اختلاف معنی داری وجود داشت ( $P < 0.01$ ). در مطالعه حاضر در گروه تغذیه شده با جو با میانگین  $2/75 \pm 1/9 \times 10^7$  (CFU/gr) تعداد کلی باکتری بالاتری نسبت به گروه تغذیه شده با یونجه با میانگین  $6/36 \pm 4/2 \times 10^6$  (CFU/gr) در هر گرم از بافت تازه روده مشاهده گردید.

اطلاعات علمی موجود در زمینه مراحل همه گیری شناسی، مکانیسم های ایمنی و آسیب شناسی مربوط به باکتری ها از طریق اطلاعات مربوط به جانوران خونگرم به دست آمده است و کم تر در مورد جانوران خون سرد کار شده است. (Karim، ۲۰۰۳؛ Pollock و همکاران، ۲۰۰۲؛ Robert، ۱۹۸۹، Ringo و همکاران، ۱۹۹۸). امروزه درک



به‌خصوص یونجه برای این ماهی ضروری است. ساختارهای بافتی در ماهی‌ها اساساً مشابه مهره‌داران عالی‌تر است اما از آن‌جاکه این موجودات آبی می‌باشند ویژگی‌های خاص فیزیولوژی و بافت‌شناسی به تخصصی شدن برخی ارگان‌ها و بروز تفاوت با حیوانات خشکی‌زی منجر شده است (مینوش و همکاران، ۱۳۸۹).

در پژوهش حاضر بررسی بافتی روده در دو گروه مورد مطالعه نشان‌دهنده بروز تغییراتی قابل‌توجه در میانگین قطر لایه‌ها و تغییرات سلول‌های موکوسی بوده است. نوع ماده موکوسی ترشح‌شده براساس گونه ماهیان و نیز مسیرهای مختلف دستگاه گوارش متفاوت است و کیفیت مواد مخاطی روده به‌طور کامل ارتباط مستقیمی با شرایط محیطی و هم‌چنین نوع عملکرد کانال تغذیه دارد (Goff و همکاران، ۱۹۹۶؛ Cinar و همکاران، ۲۰۰۶). وجود لنفوسیت‌ها در بین بافت پوششی دستگاه گوارشی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان گزارش شده است (Banan و همکاران، ۲۰۰۹). وظیفه اصلی این سلول‌ها محافظت از اندام‌های بدن در برابر ورود عوامل میکروبی و بیماری‌زا است (پوستی و همکاران ۱۳۸۷) مهم‌ترین یافته‌ای که در این تحقیق به‌دست آمد این است که در گروهی که جو مصرف کرده‌اند قطر لایه مخاطی افزایش یافته است ولی قطر لایه عضلانی کم‌تر بوده است. شکل‌های میکروسکوپی نوری نشان می‌دهد که در هر دو گروه انتهای روده نسبت به وسط روده، تعداد سلول‌های موکوسی بیش‌تری داشته است، بنابراین بررسی بافت‌شناسی یک پارامتر جامع است که به‌صورت کامل وضعیت سلامت ماهی را مشخص می‌کند.

*Van der Oost* و همکاران (۲۰۰۳) عنوان کردند که شناخت رفتارهای تغذیه‌ای در امر پرورش نیز حائز اهمیت است. تاکنون مطالعه‌ای روی اثر یونجه بر بافت روده ماهی کپور علفخوار صورت نگرفته است. لذا با توجه به نتایج به‌دست‌آمده و مطالب اشاره‌شده در این مطالعه از مقایسه دو روش جیره غذایی به‌نظر می‌رسد که افزایش قطر لایه مخاطی احتمالاً به‌دلیل تحریک مخاط و هایپرپلازی آن بوده است. به‌طوری‌که استفاده زیاد از جو معمولی در ترکیب تغذیه سبب کاهش قابلیت هضم خوراک، کندی سرعت عبور مواد غذایی در مجرای گوارشی، کاهش هضم چربی و چسبندگی در مدفوع می‌گردد. این موضوع می‌تواند جذب مواد غذایی را کاهش دهد. ساختار بافتی و هیستوشیمیایی لایه مخاطی نیز در بعضی از ماهیان مطالعه شده است (Voronina, ۱۹۹۷). این مطالعات تأیید می‌کنند که بیش‌تر مخاط مسیر لوله گوارشی توسط سلول‌های جامی واقع در قسمت سطحی بافت پوششی روده و در صورت وجود، توسط بعضی از سلول‌های غدد روده‌ای ترشح می‌شود (Cinar و همکاران، ۲۰۰۶).

هموزنیزه کردن محتویات روده و ... بستگی داشته باشد (سفلائی، ۱۳۷۸). برخی از گونه‌های باکتریایی با این‌که جزء فلور طبیعی آب و یا بدن موجودات آبی هستند ممکن است شرایط نامساعد محیطی و تغذیه‌ای منجر به ازدیاد آن‌ها شود و این امر زمینه را برای بروز بیماری فراهم خواهد کرد (Hurst, ۱۹۹۷).

Birkbeck و همکاران (۲۰۰۵)، گزارش دادند که جمعیت باکتریایی در روده ماهیان دارای ثبات خاصی است و این امر از نقطه نظر بروز عفونت‌های میکروبی و بیماری ماهیان دارای اهمیت بالایی می‌باشد. Huss (۱۹۸۸) عنوان کرد که هنگام صید ماهی تعداد باکتری‌ها در هر سانتی‌متر مربع پوست  $10^7-10^3$  و در هر گرم بافت آبشش  $10^9-10^3$  و در هر گرم بافت روده  $10^9-10^3$  عدد هست این میزان وسیع منعکس‌کننده اثرات محیط بر روی ماهی‌ها است. به‌طوری‌که در آب‌های سرد و تمیز که ماهی صید شود این تعداد به میزان  $10^4-10^2$  باکتری در هر سانتی‌متر مربع پوست می‌رسد ولی در آب‌های گرم و مناطق آلوده این میزان افزایش فوق‌العاده‌ای می‌یابد.

میزان حضور باکتری‌ها در روده ماهی بازتابی از محل زندگی ماهی و نوع غذای مصرفی آن است محدوده تعداد باکتری‌ها در کل دستگاه گوارش لارو با کیسه زرده و لارو پیشرفته از صفر تا  $10^4$  کلنی در گرم است، درحالی‌که در انگشت قدها از  $10^3$  تا  $10^7$  باکتری در گرم است (پورصفرطبالوندانی، ۱۳۸۸؛ Cahill, ۱۹۹۰). چندین مطالعه ثابت کرده که دست‌یابی به نتایج مطلوب در پرورش آبزیان از جمله ماهیان گرم‌آبی، مستلزم وقوف کامل به نیازهای محیطی و تغذیه‌ای و نیز عوامل زمینه‌ساز ایجاد بیماری در این ماهیان است افزایش بار آلی استخر ناشی از کود دهی می‌تواند باعث افزایش ناگهانی تعداد کل باکتری و زخم در بافت‌های داخلی ماهیان پرورشی شود (سید مرتضایی و همکاران، ۱۳۹۰؛ پیغان و مشایی، ۱۳۸۴).

Hansen و همکاران (۱۹۹۹) نیز عنوان کرده‌اند که میکروفلور و pH روده‌های ماهیان همانند مهره‌داران عالی‌تر به شرایط متفاوتی از قبیل ترکیبات غذایی شرایط بی‌هوازی، غلظت نمک‌های صفراوی و آنزیم‌های گوارشی و تأثیرات متقابل جمعیت باکتریایی روده بستگی دارد. Ringo و همکاران (۱۹۹۴) گزارش کردند که تعداد طبیعی جمعیت باکتری در روده ماهیان  $10^8$  باکتری هتروترفیک هوازی در گرم و تقریباً  $10^5$  باکتری غیر هوازی در گرم است. جستجوی صورت گرفته نشان داد که تحقیق مشابهی که بتوان نتایج آن را با یافته ذکرشده مقایسه کرد وجود ندارد، در آبزیان به‌علت خونسرد بودن و تبعیت دمای بدن از دمای آب محیط اطراف، فلور میکروبی دائماً در حال تغییر است (Lesel, ۱۹۹۰). پس می‌توان نتیجه گرفت که با توجه به بیولوژی و نوع تغذیه‌ای این ماهی احتمالاً مصرف گیاهان و



۳. پیغان، ر. و عبدالله‌مشائی، م.، ۱۳۸۴. مدیریت مزارع پرورشی ماهی گرم آبی، انتشارات دریا سر. ۱۷ صفحه.
۴. چمن‌آرا، و. و فرهودی، آ.، ۱۳۹۲. تغییرات آنتوژنی آنزیم‌های گوارشی پانکراسی و اسیدهای چرب در تخم و لارو کپور علفخوار *Ctenopharyngodon idella*) نشریه شیلات مجله منابع طبیعی ایران. دوره ۶۶، شماره ۴، ۴۲۴ صفحه.
۵. حسینی، آ.؛ فیلی‌زاده، م. و نظامی، ش.، ۱۳۹۰. بررسی ارجحیت غذایی و میزان رشد ماهی *Ctenopharyngodon idella* (Val) تغذیه شده با ۶ گیاه آبی. مجله تحقیقات منابع طبیعی تجدید شونده. سال ۲، شماره ۲، صفحات ۱۴۶ تا ۱۵۲.
۶. خارا، ح.؛ کیوان، آ.؛ نظامی‌بلوچی، ش.؛ مهدی‌نژاد، ک. و محمدجانی، ط.، ۱۳۸۱. بررسی رژیم غذایی دورگه ماهی سفید ماده و آمو نر. مجله علمی شیلات ایران. دوره ۱۱، شماره ۲، صفحات ۲۵ تا ۳۱ صفحه.
۷. خداپنده، ن.، ۱۳۸۹. غلات. مرکز نشر دانشگاهی. تهران. ۱۹۷ صفحه.
۸. ستاری، م. و فرامرز، ن.، ۱۳۷۸. بهداشت ماهی. انتشارات دانشگاه گیلان. ۱۷۴ صفحه.
۹. ستاری، م.، ۱۳۸۱. ماهی‌شناسی (۱). تشریح و فیزیولوژی. چاپ اول. انتشارات نقش مهر تهران. ۲۱۹ صفحه.
۱۰. سفلی، ن.، ۱۳۷۸. بررسی باکتری‌های گرم منفی غالب در تاس ماهیان کارگاه شهیدبهشتی سدسنگر. پایان‌نامه دوره کارشناسی ارشد شیلات دانشگاه تربیت مدرس. دانشکده علوم دریایی نور. ۸۵ صفحه.
۱۱. سوداگر، م.؛ جعفری‌شموشکی، م.؛ حسینی، س.ع.؛ گرگین، س. و عقیلی، ک.، ۱۳۸۶. اثر اسیدآمینو اسپارتیک و آلانین به‌عنوان ماده جاذب غذایی بر شاخص‌های رشد و بقاء بچه فیل‌ماهیان (*Huso huso*). مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی. جلد ۱۵، شماره ۱، صفحات ۳۸ تا ۴۴.
۱۲. سیدمرتضایی، س.ر.؛ هوشمند، ح.؛ آهنگرزاده، م.؛ جرفی، آ.؛ دهقان‌مدیسه، س.؛ کیان‌ارثی، ف.؛ توسلی، م.؛ سلیمانی، ج.؛ محسنی‌نژاد، ل. و سنجری، م.، ۱۳۹۰. طرح مطالعاتی پایش مزارع گرمابی به‌منظور تشخیص علل تلفات کپور نقره‌ای. ۳۳ صفحه.
۱۳. عسکری، ص.؛ مشتاقیان، س.؛ حسینی، م. و نادری، غ.، ۱۳۸۶. بررسی اثرات مصرف یونجه بر لیپوپروتئین‌ها و ایجاد رگه‌های چربی در خرگوش‌های هیپرکلسترولمیک. مجله دانشگاه علوم پزشکی بیرجند. دوره ۱۴، شماره ۲، صفحات ۱۳ تا ۲۷.
۱۴. فاطمی، س.آ. و میرزرگر، س.س.، ۱۳۸۶. فارماکولوژی کاربردی ماهیان. انتشارات دانشگاه تهران. چاپ اول. ۱۲۳ صفحه.
۱۵. فریدپاک، ف.، ۱۳۸۹. تکثیر و پرورش ماهیان گرمابی (دستورالعمل اجرایی) معاونت تکثیر و پرورش. انتشارات علمی آذربان. ۱۵ صفحه.
۱۶. فیلی‌زاده، م.، ۱۳۷۹. بررسی ارجحیت غذایی ماهی *Ctenopharyngodon idella* (Val) با استفاده از سه گیاه آبی
- AL Abdulhadi (۲۰۰۵) و Goff و همکاران (۱۹۹۶) ثابت کردند که چین‌های مخاط روده قابلیت جذب مواد غذایی را افزایش می‌دهند. متأسفانه گزارش‌های محدودی از تغییرات در بافت‌های ماهیان که تأثیر آسیب‌های بافتی نوع استرس‌ها و آلودگی‌ها و این‌که چه چیزی باعث این تغییرات بافتی شده است را نشان می‌دهد به همین خاطر مطالعه بافت ماهی را حائز اهمیت می‌دانند (Jordanoska و همکاران، ۲۰۰۵). Ruyter و همکاران (۲۰۰۶) اثر تغذیه را به‌عنوان یکی از شاخص‌های سلامت بچه‌ماهیان آزاد عنوان کرده و گفته است نوع تغذیه روی بافت‌های کبد و روده تأثیر دارد و هم‌چنین تغذیه روی مقدار چربی ذخیره‌شده در بافت کبد مؤثر است. لوله گوارش عمل بسیار مهم و حیاتی در هضم و جذب مواد غذایی دارد و در بیماری‌های متعددی دچار آسیب می‌شود و هم‌چنین تغییرات بافت روده وضعیت تغذیه‌ای و سلامتی ماهی را نشان می‌دهد.
- تحقیق مشابهی که تأثیر تغذیه با یونجه و اثر آن بر بافت روده ماهی کپور علفخوار باشد صورت نگرفته است و مطالعه حاضر برای اولین بار در ایران برای تعیین جیره مناسب کپور علفخوار با استفاده از یونجه و جو می‌باشد. در مجموع مطالعه حاضر مشخص کرد که با وجود این‌که دو کارگاه از نظر شرایط محیطی یکسان بودند و مدیریت مشابهی داشتند و بچه‌ماهی‌ها نیز از یک کارگاه تکثیر خریداری کرده بودند ولی نتایج حاصل از این تحقیق نشان می‌دهد نوع ماده غذایی مصرفی در ماهی کپور علفخوار بایستی مورد توجه خاص قرار گیرد و از جایگزینی یونجه با جو خودداری گردد. براساس نتایج چنین برمی‌آید که استفاده از جو نه تنها بر فلور میکروبی و بافت روده ماهی تأثیر دارد بلکه باعث تغییرات ساختاری روده نیز می‌شود.

## تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله مراتب تشکر و قدردانی از جناب آقای دکتر مرمضی، جناب آقای دکتر سیدمرتضایی، جناب آقای دکتر هوشمند و سرکار خانم دکتر آهنگر زاده و مهندس جمال سلیمانی که در انجام این تحقیق یاری نمودند اعلام می‌گردد.

## منابع

۱. پورصفرطبالوندانی، م.، ۱۳۸۸. بررسی آلودگی باکتریایی محصولات شیلاتی. پایان‌نامه کارشناسی مرکز آموزش عالی علمی کاربردی علوم و صنایع شیلاتی میرزا کوچک خان رشت. ۶۹ صفحه.
۲. پوستی، آ.؛ ادیب‌مرادی، م. و فضیلی، آ.، ۱۳۸۷. بافت‌شناسی مقایسه‌ای. انتشارات دانشگاه تهران. ۲۳۲ صفحه.

۳۴. Kasumyan, A.O. and Nikolaeva, E.V., ۲۰۰۲. Comparative analysis of taste preferences in fishes with different ecology and feeding. *Ichthyology*. Vol. ۴۲, pp: ۲۰۳-۲۱۴.
۳۵. Lesel, R., ۱۹۹۰. Thermal effect on bacterial flora in the gut of rainbow trout and african catfish. In: Lesel, R. (Ed.) *Microbiology in Poeciliotherms*. Elsevier, Amsterdam. pp: ۳۳-۳۸.
۳۶. Noga, E.J., ۱۹۹۵. *Fish Diseases: Diagnosis and Treatment*. Mosby Electronic and Walsworth publishing Co. pp: ۹۴-۱۹۹.
۳۷. Pollock, R.A.; Finlay, L.; Mondschein, W. and Modesto, R.R., ۲۰۰۲. *Laboratory exercises in microbiology*. John Wiley & Sons, INC. ۲۳۲ p.
۳۸. Post, G., ۱۹۸۷. *Text book of fish health*. T.F.H. Publication. ۱۹۷ p.
۳۹. Ringo, E. and Gatesoupe, F.J., ۱۹۹۸. Lactic acid bacteria in fish, a review. *Aquaculture*. Vol. ۱۶۰, pp: ۱۷۷-۲۰۳.
۴۰. Ringo, E. and Strom, E., ۱۹۹۴. Intestinal microflora of Arctic charr. *Salvelinus alpinus* (L.I.). The gastrointestinal microflora of free-living fish, and the effect of diet and salinity on Intestinal microflora. *Aquaculture and Fisheries Management*. Vol. ۲۵, pp: ۶۲۳-۶۲۹.
۴۱. Roberts, R.J., ۱۹۸۹. The pathophysiology and systematic pathology of teleosts. In *Fish pathology* (Ed. by R.J. Roberts), Bailliere Tindall. London. pp: ۵۶-۱۳۶.
۴۲. Ruyter, B.; Moya, C.; Falcon, G.; Rosenlund, A. and Vegusdal, M., ۲۰۰۶. Fat content and morphology of liver and intestine of Atlantic salmon (*Salmo salar*) Effects of temperature and dietary soybean oil. *Aquaculture*. Vol. ۲۵۲, pp: ۴۴۱-۴۵۲.
۴۳. Salehi, H., ۲۰۰۶. An analysis of the consumer: market for carp and carp products in Iran; *Iranian Journal of Fisheries Sciences*. IFRO; Tehran, Iran. Vol. ۵, No. ۲, pp: ۸۳-۱۱۰.
۴۴. Stoskopf, M.K., ۱۹۹۳. *Fish medicine*. W.B. Saunders. ۸۸۲ p.
۴۵. Van der Oost, R.J.; Beyer, J. and Vermeulen, N., ۲۰۰۲. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environmental Toxicology and pharmacology*. Vol. ۱۳, pp: ۵۷-۱۴۹.
۴۶. Voronina, E.P., ۱۹۹۷. Anatomical and histological traits of the digestive tract of the salmonoidei. *Journal of Ichthyology*. Vol. ۳۷, pp: ۶۴۱-۶۵۳.
- گوپهور و تغذیه مصنوعی. مجله علمی شیلات ایران. جلد ۹، شماره ۴، صفحات ۴۷ تا ۵۳.
۱۷. کرامت‌امیرکلایی، ع.؛ لشکرلوکی، م. و میرزایی‌عبدلی، س.، ۱۳۸۹. تأثیر غذاهای پلت و گیاهی بر شاخص‌های رشد و برخی خصوصیات ریختی دستگاه گوارش بچه‌ماهی انگشت‌قد آمور (*Ctenopharyngodon idella*) نشریه شیلات (مجله منابع طبیعی ایران). دوره ۶۳، صفحات ۱۹۵ تا ۲۰۹.
۱۸. کریمی، س.، ۱۳۸۱. یونجه. مرکز نشر دانشگاهی. تهران. ۱۰۱ صفحه.
۱۹. مینوش، ز.؛ حقیقی، س.؛ مصطفی‌اخلاقی، م. و منصور، س.، ۱۳۸۹. مطالعه بافت‌شناسی طحال، کبد و روده ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) مجله علوم آبزیان سال ۱، شماره ۳، صفحات ۷۱ تا ۸۲.
۲۰. یوسفی، م.؛ شیرزاد، س.؛ یوسفی، ح.، ۱۳۸۹. بررسی تأثیر گیاه یونجه (*Medicago sativa*) بر بهبود زخم در موش‌های آزمایشگاهی، مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی ایلام. دوره ۱۸، شماره ۴، صفحات ۵۰ تا ۶۲.
۲۱. AL Abdulhadi, H.A., ۲۰۰۵. Some comparative histological studies on alimentary tract of Tilapia fish (*Tilapia spilurus*) and Sea Bream (*Mylio cuvieri*). *Egyptian Journal of Aquatic research*. Vol. ۳۱, No. ۱, pp: ۳۸۷-۳۹۶.
۲۲. Austin, B. and Austin, D.A., ۱۹۹۳. *Bacterial fish pathogens: Disease infarmed and wild fish 2nd Ed*. Ellis Horwood Ltd., Chichester. ۳۷۶ p.
۲۳. Banan Khojasteh, S.M.; Sheikhzadeh, M. and Azami, A., ۲۰۰۹. Histological, histochemical and ultrastructural study of the intestine of rainbow trout. *Sciences Journal*. Vol. ۶, No. ۱۱, pp: ۱۵۳۱-۱۵۲۵.
۲۴. Birkbeck, T.H. and Ringo, E., ۲۰۰۵. Pathogenesis and gastrointestinal tract of growing fish. In: Holzapfel, W.; Naughton, P (Eds.): *Microbial Ecology in Growing Animals*. Elsevier, Edinburgh, UK, pp: ۲۰۸-۲۳۴.
۲۵. Cahill, M.M., ۱۹۹۰. *Bacterial flora of fishes: A review*. Microbial Ecology Springer-verlag. New York inc. Vol. ۱۹, pp: ۲۱-۴۱.
۲۶. Cinar, K. and Senol, N., ۲۰۰۶. Histological and histochemical characterization of the Mucosa of the digestive tract in flower fish (*Pseudophoxinus antalyae*). *Anatomia histologia embryologia*. *Journal of Veterinary Medicine*. Vol. ۳۵, No. ۳, pp: ۱۴۷-۱۵۱.
۲۷. FAO (FOOD & Agriculture Organization), ۲۰۰۶. *AquaCulture production in Iran*. FAO Fisheries statistics and information. (www.FAO.org). ۳۸۷ p.
۲۸. Goff, G.P.; Murray, H.M. and Wright, G.M., ۱۹۹۶. A comparative histological and histochemical study of the post-gastric alimentary canal from three species of pleuronectid, the Atlantic halibut, the yellowtail flounder and the winter flounder. *Journal of Fish Biology*. Vol. ۴۸, pp: ۱۸۷-۲۰۶.
۲۹. Hansen, G.H. and Olafsen, J.A., ۱۹۹۹. Bacterial Interactions in early life stages of marine Cold water Fish, *microbial ecology*. Vol. ۳۸, No. ۱, pp: ۱-۲۶.
۳۰. Hurst, C.J., ۱۹۹۷. *Manual of Environmental Microbiology*. American Society for Microbiology. Washington, D.C. ۸۹۴ p.
۳۱. Huss, H.H., ۱۹۸۸. *Fresh Fish quality and quality changes* FAO. Fisheries. Vol. ۲۹, pp: ۲۰-۶۷.
۳۲. Jor danoska, L.V. and Kostoski, G., ۲۰۰۵. *Histopathological Analysis of liver in fish in Reservoir Trebenista Natura Croatica*. Vol. ۱۴, No. ۲, pp: ۱۴۷-۱۵۳.
۳۳. Karim, G., ۲۰۰۳. *Microbial tests in Foods*. Univ. of Tehran. ۴ th edit. ۵۱۷ p.

