فصلنامه علمی ـ پژوهشی دورهٔ ٤، شمارهٔ ١، بهار ١٣٩٤، صفحه ٣٣- ٤١

تأثیر پروبیوآنزیم جیره بر فعالیت آنزیم‌های هضمی میگوی وانامی (*Litopenaeus vannamei*)

محمد حسین پور[١]*، ولی اله جعفری[٢]، عباسعلی زنده بودی[٣]، عبدالمجید حاجی مرادلو[٤]

١- کارشناسی ارشد، گروه شیلات،دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان
٢- استادیار، گروه شیلات،دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان
٣-کارشناسی ارشد، گروه شیلات، پژوهشکده میگوی کشور، بوشهر
٤- استاد، گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان

تاریخ دریافت: ٩٣/٤/٢٤ تاریخ پذیرش:٩٤/١/١٨

*نویسنده مسئول مقاله: mohammad.hosseinpour64@gmail.com

چکیده:

تأثیر یک مکمل پروبیوآنزیمی شامل ٦ نوع آنزیم هضمی و ٤ نوع باکتری پروبیوتیکی در چهار سطح صفر (شاهد)، ٠/٢٥، ٠/٥، و ١گرم در کیلوگرم جیره میگوی جوان وانامی ودر سه تکرار، باهدف سنجش استفاده همزمان باکتری‌های پروبیوتیکی و آنزیم‌های هضمی جیره بر فعالیت آنزیم‌های گوارشی (روده) بررسی شد. در هر آکواریوم ١٥ قطعه میگو با میانگین وزنی (٠/٣٩±٥/٠٤) گرم به‌طور تصادفی توزیع و به مدت ٣٠ روز تغذیه شدند. نتایج در پایان دوره بیانگر تفاوترشد معنی‌دار (p ٠/٠٥ >میگوی تغذیه‌شده با ٠/٥گرم مکمل نسبت به سایر تیمارها بود. همچنین، فعالیت آمیلاز و لیپاز بیشتری در تیمار٠/٥گرم مکمل نسبت به سایر گروه‌ها مشاهده شد. از لحاظ فعالیت ویژه پروتئاز، تفاوت معنی‌داری (p <٠/٠٥) در تیمار ١گرم مکمل نسبت به سایر تیمارها مشاهده شد. نتایج نشان داد لزوماً با افزایش غلظت باکتری‌های پروبیوتیکی و آنزیم‌های هضمی مکمل، فعالیت همه آنزیم‌های هضمی افزایش نمی‌یابد. بنابر این، پروبیوتیک و آنزیم در غلظت‌های معینی دارای تأثیر مثبت بر عملکرد رشد و فعالیت آنزیم‌های هضمی میگو می‌باشد.

کلید واژگان: پروتئاز، لیپاز، آمیلاز، پروبیوآنزیم، میگوی وانامی

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-09]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1394.4.1.9.7]

Fisheries Science & Technology
TMU
Scientific - Research Journal
Vol. 4, No. 1, Spring 2015

مقدمه

یکی از مشکلات بزرگ آبزی‌پروری هزینه بالای تهیه غـذا و همچنین نگرانی از بازده کم غذا در برابر این هزینـه سـنگین است. درواقع هدف مـا بـالاترین اسـتفاده از تمـامی اجـزای موجود در جیره غذایی بـرای رسـیدن بـه بهتـرین بـازده در برابر هزینه صرف شده و درنهایت تولیـد بالاسـت. افـزایش قابلیت هضم غذا نه‌تنها سبب کـاهش هزینـه‌هـا بـه‌ازای هـر واحد تولیدشده، بلکه سبب کاهش آلودگی محـیط پرورشـی آبـزی و جلـوگیری از ایجـاد بیمـاری مـی‌شـود. اسـتفاده از مکمل‌های آنزیمی سـبب افـزایش قابلیـت هضـمی و بـازده بـالای مـواد غـذایی جیـره در حیوانـات خشـکی و آبزیـان می‌گردد(wenk, 1992).آنزیم‌های هضمی گروهی از آنزیم‌هـا هسـتند کـه بـا شکسـتن مولکـول‌هـای پلیمـری بـه اجـزای کوچک‌تر سبب تسهیل در جذب آنها توسط دستگاه گوارش موجـود زنـده مـی‌شـوند. در مطالعـات اخیـر نقـش مثبـت آنزیم‌های پروتئاز وآمیلاز در استفاده بیشتر از مواد غذایی در جیـره آبزیـان بـه اثبـات رسـیده اسـت (Deshimaru, 1981).برخی از تحقیقات نشان دادند که با توجه به کمبود و یا نبود برخی از آنـزیم‌هـای هضـمی در مراحلـی از زنـدگی موجود زنده مانند مراحل لاروی، استفاده از آنزیم‌های مکمل هضمی در جیره غذایی در این مراحل باعـث جبـران کمبـود این آنزیم‌ها و همچنین افزایش ظرفیـت هضـمی در مراحـل جوانی مـی‌شـوند (Dabrowska et al.,1979; Kolkovski et al. 1993). همچنـین Maugle و همکـاران (a ۱۹۸۳) نشـان دادند که اسـتفاده از آنـزیم‌هـای پروتئـاز و آمـیلاز در جیـره غذایی میگوی *P. japonicas* سبب اصـلاح کـارایی هضـمی می‌شود.برخی مطالعات نشان داده‌انـد کـه اسـتفاده از مکمـل آنزیمی آلفا آمیلاز در جیره غذایی ماهی و میگـو، مـی‌توانـد باعث بهبود عملکرد رشد و افزایش ضـریب تبـدیل غـذایی شـود (Ghosh et al., 2001; Stone et al., 2003; Kumar et al., 2006).همچنـین مطالعـات (carter, 1992) نشـان داد استفاده از مکمل تک آنزیمی آلفا آمیلاز باعث عملکرد رشـد ضـعیف در مـاهی آزاد اقیـانوس اطلـس (salmon parr) می‌گردد؛ درحالی‌که در مطالعات بعدی (carter, 1994) نشان داد که استفاده از مکمل‌های مـولتی آنـزیم در جیـره حـاوی پودر سویا سبب بهبود عملکرد رشد و FCR در ایـن مـاهی می‌شود.

باکتری های پروبیـوتیکی مکمـل هـای غـذایی میکـروب زنده‌ای هستندکه با بهبود تعاد لمیکروبی روده میزبان تأثیرات سودمندی برای آن ایجاد می‌کند (fuller, 1989).از آنجـا کـه باکتری‌های باسیلوسی طیف گسترده‌ای از آنزیم‌هـا را ترشـح مـی‌کننـد، ایـن بـاکتری‌هـا بـا نـام معـروف پروبیوتیـک بـه‌طورگسـترده‌ای اسـتفاده مـی‌شـوند (Moriarty, 1996). بیشترین فعالیت آنزیم‌های هضمی در میگـو در زمـان لاروی است که پریبیوتیک‌ها می‌توانند بیشترین تأثیر را داشـته باشـند (Lovett and Felder, 1990; Kamarudin et al., 1994). مطالعات گذشته نشان دادند زمانی که باکتری‌های باسیلوسـی به‌عنوان پروبیوتیک در پرورش میگو استفاده مـی‌شـود، ایـن باکتری‌ها سبب افـزایش رشـد و بقـا و فعالیـت آنـزیم‌هـای هضمی شده و قابلیت هضـم مـواد غـذایی را بـالا مـی‌برنـد (Rengpipat et al., 1998; Lin et al,. 2004 and Ziaei-Nejad et al., 2006). همچنـین Ahmadnia و همکـاران (۲۰۱۳) گـزارش کردنـد کـه اسـتفاده از سـطوح مختلـف بـاکتری‌هـای *Bacillus subtilis* و *Bacillus licheniformis* سبب افزایش فعالیـت آنـزیم‌هـای هضـمی و افـزایش رشـد می‌شود.

باکتری‌های پروبیوتیکی و آنزیم‌های هضمی مکمل‌های غذایی هستند که در جیره غذایی آبزیـان پرورشـی بـه‌کـار می‌روند. با توجه به اینکه تاکنون مطالعه‌ای بر روی استفاده

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-09]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1394.4.1.9.7]

ترکیبی از باکتری‌های پروبیوتیکی و آنزیم‌های هضمی در جیره غذایی آبزیان به‌ویژه میگوی پرورشی انجام نشده است، در این مطالعه ترکیبی به نام پروبیوآنزیم، که مخلوطی از ٦ نوع آنزیم هضمی و ٤ نوع باکتری پروبیوتیکی است، آزمایش شدتا روشن شود که آیا غلظت‌های مختلفی از این ترکیب می‌تواندتأثیری بر فعالیت آنزیم‌های هضمی در میگوی وانامی جوان داشته باشدودرنهایت سبب رشد بیشتر گردد.

مواد و روش‌ها

ترکیب باکتری و آنزیم

در این مطالعه مکمل تجاری پروبیوآنزیم حاوی ٤ سویه از باکتری‌های پروبیوتیکی *(b.subtilis, b.licheniformis, enterococcus faecium, lactobacillus acidophiluc)* و ٦ نوع آنزیم هضمی به‌صورت پتانسیل مشترک در تغذیه میگوی وانامی جوان مطالعه شد. این مکمل از شرکت xvet آلمان خریداری و در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد تا زمان مصرف نگهداری شد. محتوای پروبیوتیکی و آنزیمی این مکمل به‌صورت ١ $g\ kg^{-1}$ از پروبیوآنزیم در جدول ١ نشان داده شده است.

جدول ١ ترکیبات تشکیل‌دهنده پروبیوآنزیم (به ازای یک گرم).

Bacteria strains	$CFU^{*}\ g^{-1}$
Bacillus Licheniformis + Bacillus subtillis	٢×١٠^{٧}
Enteroccusfaecium	٢×١٠^{٧}
Lactobacilus acidophilus	٢/٥×١٠^{٧}
enzymes	$U^{**}\ g^{-1}$
β-Glucanase EC 3.2.1.4	٨٠٠
β-Glucanase EC 3.2.1.6	٤٥٠
β-Xylanase EC 3.2.1.8	٤٠٠٠
α-Amylase EC 3.2.1.1	١٤٨/٥
Protease	٢٤٧٤
Cellulase	٨٠٠

* واحد تشکیل‌دهندهٔ کلونی که برآورد تقریبی از تعداد باکتری‌های زنده موجود در سلول نمونه است.

** واحد گزارش آنزیم، که ١ واحد آن برابر است با ١/٦ میکروکاتال.

طراحی آزمایش و آماده‌سازی تیمارها

این آزمایش در پژوهشکده میگوی کشور (بوشهر) انجام شد. برای انجام آزمایش، میگوهای جوان وانامی با میانگین وزن اولیه (٥/٠٤±٠/٣٩g) از مرکز تحقیقات بندرگاه هله استان بوشهر تهیه شدند. پس از انتقال میگوها به سوله، آزمایش سازگاری دمایی و شوری به مدت ٥ ساعت انجام گرفت. سپس برای سازگاری با شرایط جدید، میگوها در مخازن فایبرگلاسبه مدت یک هفته در دمای ٣١ درجه سانتی‌گراد در آب فیلتر شده با شوری‌$٣٠g\ l^{-1}$ همراه با هوادهی مناسب ذخیره‌سازی و با غذای پایه کنسانتره تغذیه شدند. پس از دوره سازگاری، میگوهای جوان را به‌صورت تصادفی انتخاب و در ١٢ آکواریوم به تعداد ١٥ عدد در هر آکواریوم با حجم ٢٠٠ لیتر آب ذخیره‌سازیشدند. مواد زائد حاصل از فضولات میگو و غذای اضافی خورده نشده به‌صورت هر ٢ روز یک بار از آکواریوم‌ها تخلیه می‌شد.

در طول آزمایش هوادهی آکواریوم‌هابه‌صورت یکنواخت و مداوم به‌وسیله هواده مرکزی و سنگ هوا انجام می‌گرفت. طراحی آزمایش به‌صورت ٤ تیمار با ٣ تکرار برای هر تیمار انجام شد و همه گروه‌های آزمایشی به مدت یک هفته با جیره‌های غذایی تهیه شده مخصوص هر تیمار غذادهی شدند. غذادهی به میزان ٧ درصد وزن بدن میگوها و ٣ بار در روز انجام گرفت و برای محاسبه میزان غذای مورد نیاز میگوها هر هفته از ٣٥ درصد میگوهای هر تکرار زیست سنجی به عمل آمد.

برای کنترل شرایط مناسب آزمایش، دما به‌صورت روزانه اندازه‌گیری و با بالا رفتن شوری براثر تبخیر آب، به‌طور مدام شوری به‌وسیله آب شیرین به $٣٠g\ l^{-1}$ کاهش

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-09]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1394.4.1.9.7]

داده شد. علاوه بر این، pH و اکسیژن هر دو روز یک بار در ساعت ۷:۳۰ صبح اندازه‌گیری می‌شد که طی این مدت متوسط اکسیژن محلول حدود $mg\ l^{-1}$ ۷/٦، pH: ۸/۱-۸/٤ و تغییرات دمایی در حدود ۳۲-۳۱ درجه سانتی‌گراد ثبت گردید. همه این فاکتورها به‌وسیله دستگاه HQ30d HACH kits (HACH Co., Loveland, CO, USA) اندازه‌گیری شد.

برای تهیه تیمارهای آزمایشی از جیره تولیدی شرکت هوواراش بوشهر به‌عنوان جیره پایه استفاده شد. آنالیز تقریبی جیره (جدول ۲) شامل (پروتئین خام، چربی، رطوبت و خاکستر) به‌وسیله روش استاندارد (AOAC, 1995) انجام گرفت. بر این اساس، میزان پروتئین خام جیره با استفاده از روش اندازه‌گیری نیتروژن به‌وسیله روش میکروکجلدال انجام شد. همچنین اندازه‌گیریمحتوای چربیبا دستگاه سوکسله با روش استخراج (حلال اتر) صورت گرفت. برای محاسبه میزان خاکستر لاشه نیز از آون مخصوص با دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گرادبه مدت ٢٤ ساعت استفاده شد.

به‌منظور تهیه تیمارهای آزمایشی از ترکیب پروبیوآنزیم، بر اساس غلظت‌هاپیشنهادی درج شده بر روی این محصول از سه غلظت مختلف ($g\ kg^{-1}$;T-1, 1/0 T-2 0/5 $g\ kg^{-1}$;T-3 0/25 $g\ kg^{-1}$) در جیره پایه و گروه شاهد فاقد هرگونه ماده پروبیوآنزیم استفاده شد. جیره غذایی برای تیمارهای آزمایشی به‌صورت هر ۲ روز یک بار تهیه می‌شد تا کیفیت آنزیم‌ها و باکتری‌های موجود در جیره حفظ شود. پلت‌های غذایی با دستگاه آسیاب پودر شده سپس در ۱۰۰ml آب مقطر گرم مخلوط کرده تا خمیر سفتی حاصل شود و با عبور دادن خمیر به‌دست آمده از توری با چشمه ۱/۵ mm جیره به‌صورت رشته‌ای حاصل شد. در مرحله بعد برای خشک‌کردن جیره و کاهش رطوبت آن از دستگاه آون در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد استفاده و رطوبت جیره به ۱۰درصد کاهش یافت. در پایان جیره‌های تهیه شده را در یخچال در دمای ٤- درجه سانتی‌گراد تا زمان مصرف ذخیره‌سازی شدند.

جدول ۲ آنالیز تقریبی جیره آزمایشی (درصد)

آنالیز تقریبی	درصد
پروتئین خام	۳۸/۲
چربی	۹/۲
خاکستر	١٤/٢
رطوبت	۱۰/۱

محاسبه نرخ رشد و بقا و میزان بهره‌وری از غذا

در پایان آزمایش عملکرد رشد و بقا و میزان بهره‌وری از جیره بر طبق روش (Felix and Sudharsan, 2004) و Venkat و همکاران (2004) مطابق معادلات زیر انجام گرفت:

نرخ رشد ویژه (SGR) = طول دوره پرورش/ (لگاریتم طبیعی وزن اولیه – لگاریتم طبیعی وزن نهایی) × ۱۰۰

وزن به‌دست‌آمده (گرم)= (وزن نهایی (گرم) – وزن اولیه (گرم))

نرخ بقا (درصد) = (تعداد نهایی / تعداد اولیه) × ۱۰۰

ضریب تبدیل غذایی = (غذای خورده شده (گرم) / وزن به‌دست‌آمده (گرم))

آماده‌سازی نمونه‌ها برای بررسی‌های آنزیمی

برای محاسبه میزان فعالیت ویژه آنزیم‌های هضمی، ٤٨ ساعت پیش از نمونه‌برداری تغذیه میگوها متوقف شد. سپس ٦ عدد میگو از هر آکواریوم به‌صورت تصادفی انتخاب (بین ساعت ۸ تا ۱۰ صبح) و روده میگوها روی یخ (برای به حداقل رساندن فعالیت آنزیمی در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد) به‌دقت جدا و پس از تخلیه مواد

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-09]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1394.4.1.9.7]

غذایی باقی‌مانده در روده، با آب مقطر خنک شستشو داده شد. نمونه‌های به‌دست‌آمده را به‌دقت توزین و سپس با نسبت وزنی به حجمی w/v ۱ به ۵ با Nacl ۲/ مولار مخلوط و در داخل ویالml ۱ قرار داده و در حضور یخ عمل یکنواخت‌سازی با هموژنایزر (اکوسندر مدل UP200H) انجام شد. سوسپانسیون به‌دست آمده در دورg ۵۰۰۰ و با دمای ٤ درجه سانتی‌گرادبه مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. پس از انجام سانتریفیوژ مایع سوپرناتانت (مایع بالای ویال) را به‌دقت با سمپلر جدا کرده داخل ویال‌های تمیز ریخته و نمونه‌ها به سرعت در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند Ding). et al, 2004)

محاسبه فعالیتآنزیم‌های هضمی

فعالیت آنزیم لیپاز به‌وسیله روش Lorentz (۱۹۹۸) و با استفاده از روش رنگ سنجی آنزیم با دستگاه اسپکتوفتومتر (طول موج ۵۸۰ نانومتر)، در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گرادو با استفاده از نیتروفنیل به‌عنوان سوبسترا توسط اختلاف جذب نوری محاسبه گردید. فعالیت آنزیم آمیلاز با به‌کارگیری روشBernfeld (۱۹۵۵) به‌وسیله نشاسته محلول به‌عنوان سوبسترا با ۳و۵ دی نیتروسالیسیلیک اسید انجام شد. فعالیت آنزیم پروتئاز با روش Anson (۱۹۳۸) با استفاده از کازئین به‌عنوان سوبسترا با معرف فولین انجام گرفت. فعالیت آنزیم‌های هضمی به‌وسیله اسپکتوفتومتر مدل spectra max 190 و پروتئین کل نیز با استفاده از آلبومین سرم گاو به عنوان استاندارد با روش Bradford (۱۹۷٦) انجام شد.

تجزیه و تحلیل آماری

در این آزمایش داده‌های به‌دست آمده از فعالیت آنزیم‌های هضمی با نرم افزارSpss, version 17 و از طریق آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و آزمون دانکن و در سطح معناداری ۵ درصد مقایسه شدند.

نتایج

عملکرد رشد و بقا

در این آزمایش تأثیر تیمارهای حاوی پروبیوآنزیم بر عملکرد رشد و بقا نیز در میگوی وانامی جوان بررسی شد. شاخص‌های رشد شامل (وزن اولیه، وزن نهایی، افزایش وزن ,FCR, SGR, طول کاراپاس، طول کل و درصد بقا) در جدول۳ نشان داده‌شده است. در پایان آزمایش مشاهده شد که هیچ تفاوت معناداری (p>۰/۰۵) در نرخ بقا در هیچ یک از تیمارهای آزمایشی حاصل نشده است؛ هرچند تیمارهای T-2 و T-3 هیچ تلفانی نداشتند. همچنین تفاوت معناداری در وزن نهایی به‌دست‌آمده از تیمار شاهد و T-1 مشاهده نشد و در مقابل میگوهای جوان تغذیه شده با تیمار T-2 وT-3 بیشترین وزن نهایی را داشته و بهترین عملکرد رشد مربوط به تیمار T-2 است (جدول۳). افزایش وزن نیز به‌طور معناداری (p <۰/۰۵) در تیمار T-2 نسبت به سایر گروه‌هابالاتر بودهو تفاوت معناداری در افزایش وزن بین سایر تیمارهای آزمایشی مشاهده نشد (جدول ۲). دربارهٔ شاخص SGR، همه تیمارهای آزمایشی تفاوت معنادار و عملکرد بهتری نسبت به گروه شاهد داشتند، اما تفاوت معناداری دربارهٔ این شاخص در بین تیمارهای تغذیه‌شده با پروبیوآنزیم مشاهده نشد. شاخص FCR نیز در تیمارهای آزمایشی T-2 و T-3 عملکرد بهتر و تفاوت معناداری (p <۰/۰۵) نسبت به

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-09]
[DOR: 20.1001.1.23225513.1394.4.1.9.7]

گروه شاهد و تیمار T-1 داشت. همچنین هیچ تفاوت معناداری در طول کاراپاس و طول کل در بین تیمارهای آزمایشی مشاهده نشد (جدول ٣).

جدول ٣ عملکرد رشد و بقا در میگوی جوان وانامی تغذیه‌شده با سطوح متفاوت از پروبیوآنزیم.

تیمارها	درصد بقاء	وزن اولیه	وزن نهایی	افزایش وزن	SGR	FCR	طول کاراپاس	طول کل
شاهد	٩٥/٥٣±٣/٨٦	٥/١٢±٠/١٣^{a}	٦/٨٥±٠/٠٤٦^{c}	١/٧٣±٠/١٧^{b}	/٩٧±٠/١^{c}	٤/٣٥±٠/٤١^{a}	٣/٣٩±٠/٠١^{a}	٩/٨٠±٠/٠٢^{a}
T-1	٩٧/٧٦±٣/٨٨	٤/٨٢±٠/٥٩^{a}	٦/٦٧±٠/١٥^{c}	١/٨٤±٠/٤٤^{b}	١/٠٩±٠/٣٤^{ab}	٤/٢٠±٠/٩^{a}	٣/٣٦±٠/١٨^{a}	٩/٦٥±٠/٣٨^{a}
T-2	١٠٠/٠٠	٤/٩٠±٠/٤٦^{a}	٧/٧٢±٠/٢٨^{a}	٢/٨٢±٠/٤١^{a}	١/٥٢±٠/٢٨^{a}	٢/٦٩±٠/٤٢^{b}	٣/٤١±٠/٠٥^{a}	٩/٧٧±٠/٢٥^{a}
T-3	١٠٠/٠٠	٥/٣٠±٠/٢٧^{a}	٧/٣٥±٠/٠٧^{b}	٢/٠٣±٠/١٩^{b}	١/٠٨±٠/١٣^{ab}	٣/٧٠±٠/٣٦^{b}	٣/٤٠±٠/٠٨^{a}	٩/٨٦±٠/١^{a}

فعالیت آنزیم های گوارشی

فعالیت ویژه آنزیم‌های گوارشی و همچنین کل پروتئین محلول در بین تیمارهای آزمایشی در جدول ٤ نشان داده‌شده است. فعالیت ویژه آنزیم پروتئاز در میگوهای تغذیه شده با تیمارهای T-1و T-2 بیشتر بود و نسبت به سایر تیمارهای آزمایشی تفاوت معناداری($p< ٠/٠٥$) داشت(جدول ٤). درواقع تیمار آزمایشی T-1 بیشترین فعالیت ویژه آنزیم پروتئاز را نشان داد. بیشترین فعالیت ویژه آنزیم آمیلاز و لیپاز در تیمار T-2 مشاهده شد. همچنین فعالیت این دو آنزیم در تیمارهای T-1 و T-3 تفاوت معناداری ($p >٠/٠٥$) با یکدیگر نداشت، هرچند این دو تیمار فعالیت ویژه آمیلاز و لیپاز بالاتری نسبت به گروه شاهد داشتند (جدول ٤).

جدول ٤ تأثیر جیره آزمایشی مکمل‌سازی شده با سه غلظت متفاوت پروبیوآنزیم بر فعالیت آنزیم‌های هضمی میگوی جوان وانامی

فعالیت آنزیم (واحد گرم بر پروتئین)

	تیمارها			
	شاهد	T-1	T-2	T-3
کل پروتئین محلول	١/٧٩±٠/٠٨^{c}	٢/٣٧±٠/٠٧^{a}	٢/٢٠±٠/١٤^{ab}	٢/٠٥±٠/٠٩^{b}
پروتئاز	١/١٧±٠/١٤^{c}	١/٩٦±٠/٠٢^{a}	١/٥٩±٠/٠٦^{b}	١/١٨±٠/٠٣^{c}
آمیلاز	٠/٧٨±٠/٠٣^{c}	٠/٨٩±٠/٠٢^{b}	٠/٩٨±٠/٠٣^{a}	٠/٨٥±٠/٠٠٥^{b}
لیپاز	٠/٥٥±٠/١٢^{c}	٠/٩٩±٠/٠٤^{b}	١/١٨±٠/٠١^{a}	٠/٨٦±٠/١٣^{b}

بحث

نتایج این مطالعه نشان داد آنزیم‌های هضمی لیپاز و آمیلاز در میگوهای جوان تغذیه شده با تیمار T-2، بیشترین میزان فعالیت را داشته و تفاوت معناداری ($p<٠/٠٥$) نسبت به سایر تیمارهای آزمایشی و گروه شاهد دارد (جدول ٤). بیشترین فعالیت ویژه آنزیم پروتئاز در مقایسه با سایر گروه‌ها در تیمار T-1 مشاهده شد(جدول ٤). به‌طورکلی افزایش فعالیت ویژه آنزیم‌های هضمی روده میگو با استفاده از گونه‌های پروبیوتیک جیره محدودیت خاصی دارد و این باکتری‌ها تا حدیمی‌توانند از خود آنزیم‌های گوارشی ترشح و یا دستگاه گوارشی را تحریک به ترشح آن کنند، و از غلظت‌های بالاتر تأثیر معناداری بر افزایش فعالیت آنزیم

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-09]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1394.4.1.9.7]

هضمی ندارند (wang, 2007). بنابراین بر اساس نتایج این آزمایش، غلظت‌های بالاتر پروبیوتیک‌ها تأثیرات بیشتری در افزایش فعالیت آنزیم‌های هضمی ندارند. مشابه نتایج آزمایش حاضر، تحقیقات Wang (۲۰۰۷) نشان داد که با افزایش سطوح باکتری‌های پروبیوتیکیباسیلوسی در جیره میگوی وانامی، تفاوت معناداری در فعالیت آنزیم‌های هضمی ایجاد شده و از غلظتی بیشتر هیچ تأثیرمعناداری در افزایش فعالیت ویژه آنزیم‌های هضمی نداشته است. همچنین مطالعات Zhou و همکاران (۲۰۰۹) نشان داد که افزودن باکتری *B.coagulans SC8168* در محیط آبی پرورش لاروهای میگوی وانامی سبب افزایش نرخ رشد و بقا در غلظت خاصی از پروبیوتیک‌ها می‌شود.

فعالیت ویژه آنزیم پروتئاز در تیمار T-1، بیشترین مقدار را داشته و تفاوت معناداری (p<۰/۰۵) با سایر گروه‌های آزمایشی داشته است (جدول ٤). همچنین بهترین عملکرد رشد و افزایش وزن در میگوهای تغذیه شده با تیمار (T-2 0/5 g kg^{-1}) است. درواقع افزودن مکمل‌های آنزیمی با غلظت‌های خاص به جیره میگو سبب افزایش عملکرد رشد و فعالیت ویژه آنزیم‌های هضمی شده که این نتایج هم‌راستا با نتایج تحقیقات Maugle و همکاران (۱۹۸۳b) است که گزارش کردند افزودن آنزیم‌های تریپسین و آمیلاز به جیره شاهد باعث بهبود عملکرد رشد و افزایش فعالیت آنزیم‌های هضمی در میگوی *P. japonicas* می‌گردد. همچنین Buchnan و همکاران (۱۹۹۷) گزارش کردند که استفاده از آنزیم‌های هضمی در غلظت‌های متفاوت در جیره میگوی آب شیرین سبب افزایش نرخ تغذیه، افزایش وزن و ارزش غذایی جیره می‌شود. این مطالعه نشان داد که سطوح بالایی از مکمل‌های آنزیمی در جیره میگو تأثیر منفی بر فعالیت برخی آنزیم‌های هضمی (آمیلاز و لیپاز) و درنتیجه قابلیت هضم دارد که این نتایج هم‌راستا با برخی مطالعات قبلی است (Farhangi and Carter, 2007).

درمجموع نتایج مطالعه حاضر نشان داد که سطوح متفاوت از پروبیوآنزیم، تأثیرات متفاوتی بر عملکرد رشد و فعالیت آنزیم‌های هضمی در میگوی وانامی جوان دارد. همچنین در این مطالعه مشخص شد،لزوماً با افزایش غلظت پروبیوتیک و آنزیم‌های مکمل درجیره فعالیت همه آنزیم‌های هضمی در روده میگوی وانامی افزایش نمی‌یابد. در آزمایش مشابهی که هم‌زمان با آزمایش حاضر بر روی پست لارو میگوی وانامی انجام داده‌ایم و هنوز اطلاعات آن منتشرنشده است، نتایج تقریباً یکسانی دربارهٔتأثیر استفاده از مکمل پروبیوتیک و آنزیم (پروبیوآنزیم) در جیره بر عملکرد رشد و فعالیت آنزیم‌های هضمی به‌دست آمده است.

نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهدکه ترکیبی از باکتری‌های پروبیوتیکی و آنزیم‌های هضمی با غلظتی مشخص تأثیرات مثبتی در عملکرد رشد و افزایش فعالیت آنزیم‌های هضمی دارد که این تأثیراتمی‌تواند با کاهش غلظت سبب اثر مثبت کمتر و با افزایش غلظت تأثیر منفی بر رشد و فعالیت آنزیم‌های هضمی و درنهایت قابلیت هضم مواد غذایی شود. در نتیجه پیشنهاد ما با توجه به نتایج آزمایش حاضر استفاده از غلظت 0.5 g kg^{-1} مکمل پروبیوآنزیم برای افزایش فعالیت آنزیم‌های هضمی و عملکرد رشد بهتراست. بنابراین در مطالعات آینده می‌توان علت کاهش فعالیت آنزیم‌های هضمی در غلظت‌های بالا و افزایش این فعالیت در غلظت‌های مشخص و مکانیسم آن را در دستگاه گوارش میگو بررسی کرد.

تشکر و قدردانی

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-09]
[DOR: 20.1001.1.23225513.1394.4.1.9.7]

بدین‌وسیله از زحمات بی‌دریغ دکتر بابک قائدنیا و دکتر مریم میربخش مسئولان محترم بخش بهداشت و بیماری‌های میگو از پژوهشکده میگوی کشور و تمامی محققان این پژوهشکده و همچنین کارکنان محترم بخش تحقیقات بندرگاه کمال تشکر و قدردانی راداریم.

منابع

AhmadniaMotlagh, H. R., Farhangi, M., Rafiee, G. And Noori, F. 2012. Effects of different level administration of *Bacillus subtilis* and *Bacillus licheniformis* on growth performance and survival rate of *Artemiaurmiana*,*Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 65: 364-353.(Abstarct in English)

Anson, M L. 1938. The estimation of pepsin, trypsin, papain and cathepsin with hemoglobin,*The Journal of General Physiology*, 22: 79–89.

AOAC. 1995.Official Methods of Analysis (ed. by K. Helrich), Association of Official Analytical Chemists, Virginia, Washington DC, 1094 pp.

Bernfeld, P. 1955. Amylases, α And β. p149–158,*In Methods of Enzymology*, *Academic Press*, New York.

Bradford, M M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgramquantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding, *Analytical Biochemistry*, 72: 248–254.

Carter, C. G., Houlihan, D. F., Buchanan, B. I., Mitchell, A. 1992. Feed utilization efficiencies of Atlantic salmon (*Salmosalar*L.) parr: Effect of a single supplementary enzyme, *Comparative Biochemistry andPhysiology*, part A, 101: 369-374.

Carter, C. G., Houlihan, D.F., Buchanan, B. I., Mitchell, A. 1994. Growth and feed utilization efficiencies of seawater Atlantic salmon, (*Salmosalar*L.).fed a diet containing supplementary enzymes, *Aquaculture and Fisheries Management*, 25: 37-46.

Dabrowska, H., Grudniewski, C. and Dabrowski, K. 1979.Artificial diets for common carp: effect of the addition of enzyme extracts,*Journal of progressive fish culture*,41: 196-200.

Deshimaru, O. 1981. Studies on nutrition and diet for prawn, *Penaeusjaponicas*,Mem.Kagoshima Pref,*Journal ofish Experiment Station*, 12: 1-118.

Ding, X., Li, Z. J., Chen, Y. Q., Lin, H. Z., Yang, Y.Y., Yang, K. 2004.Effects of probiotics on growth and activities of digestive enzymes of Pennausvannamei.*Journal of Fishery of Sciences of China*, 11: 580-584.

Farhangi, M. and Carter, C.G. 2007. Effect of enzyme supplementation to dehulledlupinbased diets on growth, feed efficiency, nutrient digestibility and carcass composition of rainbow trout, *Oncorhynchusmykiss*(Walbaum), *Aquaculture Research*,38: 1274–1282.

Felix, N., Sudharsan, M. 2004. Effect of glycine betaine, feed attractant affecting growth and feed conversion of juvenile freshwater prawn *Macrobrachiumrosenbergii*, *Aquaculture Nutrition*, 10: 193-198

Fuller, R. 1989. Probiotics in man and animal,*Journal of Applied Bacteriology*, 66: 305-378.

Ghosh, k., Chakraborty, k., sen, s. k., ray, A. k. 2001. Effects of thermostable bacterial α-Amylase on growth and feed utilization rohu, *labeorohita* (Hamilton), fingerlings, *Aquaculture*, 53: 101-109.

Hughes, K. P. and Scares J. H. jr. 1998. Efficacy of phytase on phosphorus utilization in practical diets fed to striped bass *Maronesaxatilis*, *Aquaculture Nutrition*, 4: 133-140.

Kamarudin, M. S., Jones, D. A., Vay, L. andAbidin, A. Z. 1994. Ontogenetic changes in digestive enzyme activity during larval development of *Macrobrachiumrosenbergii*,*Aquaculture*, 123: 323–333.

Kolkovski, S., Tandler, A., Kissel, G. and Gertler, A. 1993.Theeffect of dietary exogenous digestive enzymes on ingestion, assimilationgrowth survival of gilthead sea bream (*Sparusaurata*,Sparidaelinnaeus) larvae, *Journal of Fish Physiology and Biochemistry*, 12: 203–209.

Kumar, S., SahuNarottam, P., Pal Asim, K., Choudhury, Dharitri., Mukherjee Subhas, C. 2006. Nongelatinized corn supplemented with α-amylase at sub optimum protein level enhances the growth of *Labeorohita* (Hamilton) fingerlings, *Aquaculture Research*, 37: 284-292.

Lin, H. Z.,Guo, Z. X., Yang, Y. Y., Zheng, W. H. and Li, Z. J. 2004. Effect of dietary probiotics on apparent digestibility coefficients of nutrients of white shrimp *Litopenaeusvannamei* Boone, *Aquaculture Research*, 35: 1441–1447.

Lorentz, K. 1998. Clinical laboratory diagnostics.Publishing society, Frankfurt, pp 95-97.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-09]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1394.4.1.9.7]

based on water quality, survival rate and digestive enzyme activities,*Aquaculture*, 287: 349–353.

Ziaei-Nejad, S., Rezaei, M. H., Takami, G. A., Lovett, D. L., Mirvaghefi, A. R. andShakouri, M. 2006. The effect of *Bacillus spp.* bacteria used as probiotics on digestive enzyme activity, survival and growth in the Indian white shrimp, *Fenneropenaeusindicus*,*Aquaculture*,252: 516-524.

Lovett, D. L. and Felder, D. L. 1990.Ontogenetic change in digestive enzyme activity of larval and postlarval white shrimp *Penaeussetiferus* (Crustacea, Decapoda, Penaeidae), *Journal of Biological Bulletin*, 178: 144–159.

Maugle, P. D., Deshimaru, O., Katayama, T., Nagatani, T. and Simpson, K. L. 1983a. Effect of microencapsulated amylase and bovine trypsin dietary supplements on growth and metabolism of shrimp,*Journal of Bulletin of the Japanese Society for the Science of Fish*,49: 1421–1427.

Maugle, P. D., Deshimaru, O., Katayama, T. and Simpson, K. L. 1983b.The use of amylase supplements in shrimp diets,*Journalof World MaricultureSociety*, 14: 25-37.

Pan, L. Q. and Wang, K. X. 1997. The experimental studies on activities of digestive enzyme in the larvae*penaeuschinensis*, *Journal of Fisheries of China*,21: 26–31.

Raida, M. K., Larsen, J. L., Nielsen, M. E. andBuchmann, K. 2003. Enhanced resistance of rainbow trout, *Oncorhynchusmykiss* (Walbaum), against *Yersinia ruckeri* challenge following oral administration of *Bacillus subtilis*and *B. licheniformis* (BioPlus2B), *Journal of Fish Diseases*,26: 495–498.

Rengpipat, S., Phianphak, W., Piyatiratitivorakul, S. and Menasveta, P. 1998a. Effects of a probiotic bacterium on black tiger shrimp *Penaeusmonodon* survival and growth, *Aquaculture*, 167: 301–313.

Stone, D. A. J., Allan, G. L., Anderson, A. J. 2003. Carbohydrate utilization by juvenile silver perch, *Bidyanusbidyanus* (Mitchell). IV. Can dietary enzymes increase digestible energy from wheat starch, wheat and dehulledlupin, *Aquaculture Research***,** 34: 135-147.

Venkat, H. K., Narottam, P. S., Kamal, K. J. 2004. Effect of feeding *Lactobacillus* based probiotics on the gut microflora, growth and survival of postlarvae of *Macrobrachiumrosenbergii*(De Man), *Aquaculture Research***,** 35: 501-507.

Wang, YB. 2007. Effect of probiotics on growth performance and digestive enzyme activity of the shrimp *Penaeusvannamei*,*Aquaculture*, 269: 259-264.

Wenk, c. 1992. Enzymes in the nutrition of monogastric farm animals. P 205-218, InBiotechnology in the feed industry.*Proceedings of Alitech's eighth annual symposium*,AlltechTechnical Publications, Nicholasville, Kentucky, USA.

Zhou, X., Wang, Y. and Li, W. 2009. Effect of probiotic on larvae shrimp (*Penaeusvannamei*)

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-09]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1394.4.1.9.7]

Fisheries Science & Technology
TMU
Scientific - Research Journal Vol. 4, No. 1, Spring 2015

The effect of probio-enzyme on digestive enzyme activity of whiteleg shrimp, *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931)

Mohammad Hosseinpour[1*], Valiollah Jafari[2], Abbasali Zendeboudi[3], Abdolmajid Hajimoradloo[4]

1- MSc. student, Department of Fisheries, University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.

2- Assistant Professor. Department of Fisheries, University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.

3- Shrimp Culture Department, Iran Shrimp Research Center, Bushehr, Iran.

4- Professor, Department of Fisheries, University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.

Received: 15.07.2014 Accepted: 07.04.2015

*****Corresponding author: mohammad.hosseinpour64@gmail.com

Abstract

The effect of simultaneous application of probiotic and digestive enzyme on the intestinal digestive activity of the whiteleg shrimp, *Litopenaeus vannamei*, was evaluated. For this purpose, the juvenile shrimps were fed for 30 days with a dietary probio-enzyme (containing a combination of six exogenous enzymes and four probiotic bacterial strains) at four concentrations of 0, 0.25, 0.5, and 1 g kg^{-1} feed. Shrimps (5.04±0.39 g ind^{-1}) were randomly distributed in 12 aquaria (4 treatments × 3 replications); each aquarium contained 15 individual shrimps. Results indicated significantly ($p \leq 0.05$) higher growth performance, amylase and lipase activity at 0.5 g kg^{-1} treatment as compared to other treatments. Protease activity was, however, significantly ($p \leq 0.05$) higher at 1.0 g kg^{-1}treatment as compared to other groups. Results also indicated that increase in the concentration of probiotic and enzymes supplementation was not associated with increase in all the digestive enzyme activity. In other words, probiotics and enzymes onlywithin specific range can have positive effect on growth performance and digestive enzyme activity of *L. vannamei*, above or below.

Keywords: Protease, Lipase, Amylase, Probio-enzyme, *Litopenaeus vannamei*

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-09]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1394.4.1.9.7]