



## تأثیر مخمر ساکارومایسس سرویزیا و آسپرژیلوس نایجر جداسازی شده از دستگاه گوارش فیل ماهی بالغ بر کارایی تغذیه و آنزیم‌های سرم خون فیل ماهیان جوان (*Huso huso*)

احمد حسن پور فتاحی<sup>۱\*</sup>، حجت الله جعفریان<sup>۲</sup>، علیرضا خسروی<sup>۳</sup>، حسنی قلی پور کنعانی<sup>۴</sup>

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبدکاووس

۲- دانشیار، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبدکاووس

۳- استاد، گروه قارچ شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران

۴- استادیار، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبدکاووس

پذیرش: ۹۳/۳/۳

دریافت: ۹۲/۱۱/۱۵

\* نویسنده مسئول مقاله: a.hasanpourf@gmail.com

### چکیده:

تأثیر پروبیوتیکی مخمرهای *Saccharomyces cerevisiae* و *Aspergillus niger* بر کارایی تغذیه، ترکیب شیمیایی لاشه، نرخ ترشح آمونیاک، آنزیم‌های سرم خون و میکروبیوتای روده فیل ماهی جوان در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با ۴ تیمار و ۳ تکرار شامل جیره‌های غذایی حاوی  $2 \times 10^6$ ،  $4 \times 10^6$  و  $6 \times 10^6$  (سلول در گرم غذا) و شاهد (جیره پایه بدون پروبیوتیک) بررسی شد. ماهی با میانگین وزنی  $31/8 \pm 2/81$  گرم به صورت تصادفی در ۱۲ حوضچه فایبرگلاس با تراکم ۳۰ قطعه در هر تانک توزیع و به مدت ۸ هفته با جیره‌های آزمایشی تغذیه شدند. نتایج نشان داد که جیره غذایی حاوی  $6 \times 10^6$  پروبیوتیک، بر ضریب تبدیل غذایی و دیگر شاخص‌های تغذیه‌ای اثرات مثبت و معناداری نسبت به گروه شاهد داشت ( $p < 0/05$ ). همچنین بهبود معناداری در میزان فعالیت آنزیم‌های سرم خون و نرخ ترشح آمونیاک در تیمارهای آزمایشی حاوی سطوح مختلف پروبیوتیک در مقایسه با گروه شاهد مشاهده شد ( $p < 0/05$ ). بررسی تراکم کل قارچ‌ها و لاکتوباسیلوس‌های روده نیز مؤید افزایش معنادار سطوح این زیست‌یارها در تیمارهای آزمایشی بود ( $p < 0/05$ ). این مطالعه نشان می‌دهد که استفاده از پروبیوتیک‌های قارچی می‌تواند دارای اثرهای مثبتی بر کارایی تغذیه و آنزیم‌های سرم خون فیل ماهی جوان باشد.

**کلید واژگان:** کارایی تغذیه، آنزیم‌های سرم خون، فیل ماهی، ساکارومایسس سرویزیا، آسپرژیلوس نایجر

## مقدمه

فیل ماهی (*Huso huso*) یکی از مهم‌ترین گونه‌های ماهیان خاویاری است که در سال‌های اخیر به دلایل مختلفی از جمله صید بی‌رویه و غیر مجاز، آلودگی‌های زیست محیطی، از بین رفتن مناطق مناسب تخم‌ریزی، سدسازی بر روی رودخانه‌ها و محدود شدن آب‌های جاری، از طرف سازمان جهانی حفاظت از طبیعت و منابع طبیعی (IUCN) به‌عنوان گونه در معرض خطر انقراض معرفی شده است (IUCN, 1996). در چنین شرایطی برای حمایت از ماهیان خاویاری حوضه دریای خزر، توجه به پرورش تجاری آن از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است و با توجه به اینکه بخش عمده‌ای از هزینه‌های پرورشی مربوط به غذاست، بهبود وضعیت تغذیه‌ای منتج به سودمند شدن پرورش ماهیان خواهد گردید (Sudagar et al., 2004). استفاده از مکمل‌های غذایی مانند پروبیوتیک‌ها برای افزایش کارایی تغذیه یکی از ایده‌های مطرح است (Hoseinifar et al., 2010). مخمر ساکارومایسس سررویزیا (*Saccharomyces cerevisiae*) فراورده طبیعی صنایع آبجوسازی است که به‌عنوان مکمل غذایی برای جانوران مختلفی استفاده شده است (Li and Gatlin, 2003; 2005). محققان مختلفی اثرهای سودمند مخمر ساکارومایسس سررویزیا را بر گونه‌های مختلف ماهی و میگو گزارش کرده‌اند (Li and Gatlin, 2003). مطالعات انجام شده در زمینه به کارگیری ساکارومایسس سررویزیا در جیره غذایی، حاکی از بهبود تولید و وضعیت سلامت فیل ماهیان پرورشی است (Hoseinifar et al., 2011). گونه دیگر پروبیوتیک مورد استفاده در این تحقیق آسپرژیلوس نایجر (*Aspergillus niger*) است که

ظرفیت تولید آنزیم‌هایی مانند همی سلولاز، هیدرولاز، پکتیناز، پروتئاز، آمیلاز، لیپاز و تانناز را دارد (Mathivanan et al., 2006). آسپرژیلوس نایجر یکی از عمده پروبیوتیک‌های مورد استفاده در پرورش موجودات خشکی‌زی از جمله جوجه‌های گوشتی است (Tannock, 2001). مطالعات متعددی نشان می‌دهد که مخمر ساکارومایسس سررویزیا می‌تواند فاکتورهای خونی را تحت تأثیر قرار دهد که جزء شاخص‌های سلامتی ماهی به حساب می‌آیند (Andrews et al., 2008; Abdel-Tawwab et al., 2010). همکاران (Saleh و همکاران (2008) و همکاران (2010) نیز این عملکرد را در مورد آسپرژیلوس نایجر به اثبات رسانده‌اند. با این وجود، هنوز اثرهای پروبیوتیک‌ها بر بسیاری از جنبه‌های فیزیولوژیکی و شاخص‌های خونی ماهی مشخص نشده است و مستلزم انجام مطالعات بیشتری است. محققان ثابت کرده‌اند که آسپرژیلوس نایجر به‌عنوان یک محرک رشد عمل می‌کند و سبب افزایش تولید آنزیم‌های هضم کربوهیدرات و پروتئین در بدن می‌شود (Gracia et al., 2003). مخمر ساکارومایسس سررویزیا منبع غنی از آنزیم‌ها، نوکلئوتیدهای آزاد، ویتامین‌های گروه ب و آمینواسیدها بوده و می‌تواند نیازهای غذایی لاکتوباسیلوس‌ها را فراهم کند و سبب رشد و افزایش تعداد آن‌ها در میکروبیوتای بومی روده ماهی شود (Hoseinifar et al., 2010). با این حال اطلاعات محدودی در زمینه اثرهای مخمر ساکارومایسس سررویزیا و آسپرژیلوس نایجر به‌عنوان پروبیوتیک بر میکروبیوتای روده‌ای ماهی وجود دارد و تاکنون مطالعات بسیار اندکی در مورد استفاده از گونه قارچی آسپرژیلوس نایجر به‌عنوان پروبیوتیک و

کاربرد آن در صنعت آبی‌پروری صورت گرفته است، بنابراین تحقیق حاضر، برای ارزیابی پتانسیل‌های مخلوط قارچ‌های پروبیوتیکی ساکارومایسس سرویزیا و اسپرژیلوس نایجر در سطوح متفاوت، بر کارایی تغذیه، ترکیب بدن، نرخ ترشح آمونیاک، آنزیم‌های سرم خون و تراکم قارچی و سطوح لاکتوباسیلوس‌های روده فیل ماهیان جوان طراحی شد.

#### مواد و روشها

**جداسازی قارچ‌های پروبیوتیکی:** به این منظور از مرکز تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید مرجانی گرگان (استان گلستان) مولد فیل ماهی با ظاهری سالم به‌طور تصادفی انتخاب شد و سپس نمونه دستگاه گوارش فیل ماهی در کنار یخ و در شرایط استریل به آزمایشگاه قارچ‌شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران انتقال یافت. در آزمایشگاه، پس از باز کردن روده با استفاده از اسکالپل، از مخاط روده نمونه اخذ و در محیط سابورو دکستروز آگار حاوی و بدون سیکلوهمگزامید به روش خطی کشت داده شد و در انکوباتور با دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت هفت روز گرم‌خانه‌گذاری گردید. پس از آن، با بررسی خصوصیات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی کلنی‌های قارچی رشد کرده و مشاهده مستقیم میکروسکوپی و کیت تشخیص و شناسایی مخمر Rapid™ گونه‌های پروبیوتیکی شامل مخمر ساکارومایسس سرویزیا و اسپرژیلوس نایجر شناسایی شدند (Khosravi, 2003).

**تهیه سوسپانسیون قارچ‌های پروبیوتیکی:** پس از جداسازی قارچ‌های پروبیوتیکی و انتقال به آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشگاه گنبد کاووس، روی محیط کشت

سابورو دکستروز آگار ( Sabouraud Dextrose Agar: SDA) حاوی کلرامفنیکل به‌صورت جداگانه کشت داده شد و به مدت ۷۲ ساعت در انکوباتور با دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. پس از طی شدن زمان انکوباسیون و رشد سلول‌های قارچی، از آن‌ها به‌صورت جداگانه سوسپانسیون تهیه شد. بدین ترتیب که ابتدا در یک میکروتیوب یک میلی‌لیتری مقدار ۵۰۰ میکرولیتر بافر فسفات سالیین (Phosphate Buffered saline: PBS) با pH= ۷/۲ استریل ریخته شد. سپس با آنس استریل شده مقدار کمی از کلنی‌های رشد یافته به PBS اضافه گردید. پس از مخلوط شدن هر کدام از قارچ‌ها در بافر، با استفاده از لام نئوبار<sup>۱</sup> تعداد سلول‌ها در زیر میکروسکوپ نوری شمارش شد و از آن‌ها سوسپانسیون سلولی با تراکم‌های  $2 \times 10^6$ ،  $4 \times 10^6$  و  $6 \times 10^6$  (سلول در میلی‌لیتر) به‌صورت ترکیبی از هر دو گونه قارچ پروبیوتیکی با نسبت یکسان، به‌ترتیب برای تیمار اول، دوم و سوم تهیه شد (Zhang et al., 2006; 2012).

**پرورش:** این تحقیق در کارگاه تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید مرجانی در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تیمار و ۳ تکرار به مدت ۸ هفته انجام شد. فیل ماهیان جوان از همین کارگاه تأمین و پس از سازگاری اولیه، تعداد ۳۰ عدد ماهی به ازای هر تکرار، در حوضچه‌های فایبر گلاس ۱۰۰۰ لیتری با میانگین وزنی  $31/8 \pm 2/81$  گرم و طولی  $19/20 \pm 0/21$  ذخیره‌سازی شدند. سوسپانسیون‌های پروبیوتیکی آماده‌سازی شده در سطوح مختلف، مطابق روش مورد استفاده توسط Chang and Liu (2002)، روی غذا اسپری شدند. در طول دوره آزمایش، فیل ماهیان روزانه به میزان ۵ درصد وزن بدن تغذیه شدند (Sudagar et al., 2004).

جدول ۱ تجزیه تقریبی جیره پایه (درصد از ماده خشک)

انرژی (cal g <sup>-1</sup> )	رطوبت	خاکستر	فیبر	چربی	پروتئین
۴۳۰۰	۱۰	۱۲	۲/۵	۱۷	۴۳

**زیست‌سنجی:** زیست‌سنجی فیل ماهیان جوان هر ۱۰ روز یکبار صورت پذیرفت. اندازه‌گیری وزن ماهیان و وزن جیره غذایی با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم و اندازه‌گیری طول با ریزسنج دیجیتال با دقت ۰/۰۱ میلی‌متر انجام شد. برای اندازه‌گیری آمونیاک ترش‌گی ماهیان، ابتدا تانک‌های فایبرگلاس ۲۰۰ لیتری به مدت ۲۴ ساعت هوادهی شدند. سپس ۹ عدد ماهی از هر تیمار آزمایشی (۳ عدد ماهی از هر تکرار) پس از زیست‌سنجی، به تانک‌ها انتقال داده شدند. نمونه آب برای برآورد آمونیاک اولیه پیش و پس از انتقال فیل ماهیان به تانک‌ها، برداشته شده و به آزمایشگاه آب دانشگاه گنبد کاووس انتقال یافت. براساس داده‌های به‌دست آمده شاخص‌های تغذیه‌ای و نرخ ترشح آمونیاک به‌صورت زیر تعیین شد: (De silva and Anderson., 1995; Hevroy et al., 2005; Tacon, 1990).

غذای خورده شده به گرم = ضریب تبدیل غذایی میزان  
زیتوده تولید شده به گرم / مقدار  
(مقدار غذای خورده شده به گرم / افزایش وزن بدن  
به گرم) × ۱۰۰ = کارایی تبدیل غذا (درصد)  
طول دوره پرورش / (لگاریتم طبیعی وزن اولیه -  
لگاریتم طبیعی وزن ثانویه) × ۱۰۰ = نرخ رشد ویژه  
پروتئین خورده شده به گرم / پروتئین ابقا شده به گرم  
= ارزش تولید پروتئین  
چربی خورده شده به گرم / چربی ابقا شده به گرم =  
ارزش تولید چربی

انرژی خورده شده (کالری در گرم) / انرژی ابقا شده  
(کالری در گرم) = ارزش تولید انرژی  
پروتئین خورده شده به گرم / وزن به‌دست آمده به گرم  
= نسبت کارایی پروتئین  
چربی خورده شده به گرم / وزن به‌دست آمده به گرم  
= نسبت کارایی چربی  
زمان / {انرژی اولیه لاشه (کالری در گرم) × میانگین  
وزن اولیه به گرم} - (انرژی نهایی لاشه (کالری در گرم) ×  
میانگین وزن نهایی به گرم) = انرژی به‌دست آمده  
زمان / {پروتئین اولیه لاشه (درصد) × میانگین وزن  
اولیه به گرم} - (پروتئین نهایی لاشه (درصد) × میانگین  
وزن نهایی به گرم) = پروتئین به‌دست آمده  
زمان / {چربی اولیه لاشه (درصد) × میانگین وزن  
اولیه به گرم} - (چربی نهایی لاشه (درصد) × میانگین وزن  
نهایی به گرم) = چربی به‌دست آمده  
{زمان × ۲ / میانگین وزن نهایی ماهی به گرم +  
میانگین وزن اولیه ماهی به گرم} / غذای خورده شده ×  
۱۰۰ = غذای خورده شده روزانه  
۶/۲۵ / زمان × ۱۰۰ × {پروتئین اولیه لاشه (درصد) ×  
میانگین وزن اولیه به گرم} - (پروتئین نهایی لاشه (درصد)  
× میانگین وزن نهایی به گرم) = ذخیره نیتروژن لاشه  
۱۰۰ × (نیتروژن خورده شده / ذخیره نیتروژن لاشه) =  
میزان بهره‌برداری ظاهری از نیتروژن  
۶/۲۵ / (درصد پروتئین × درصد ماده خشک × غذای  
خورده شده) = نیتروژن دریافت شده (میلی‌گرم به کیلوگرم)  
انرژی × ماده خشک × وزن غذای خورده شده =  
انرژی دریافت شده (کیلوژول بر کیلوگرم در روز)  
(وزن ماهی موجود در هر تانک / حجم آب) ×  
(آمونیاک اولیه - آمونیاک نهایی) = آمونیاک مترشحه  
(میلی‌گرم بر کیلوگرم در روز)

آمونیاک مترشحه  $\times$  (گرم / کیلوژول)  $24/08 =$  انرژی تلف شده بر اساس آمونیاک مترشحه (کیلوژول بر کیلوگرم در روز)  
(انرژی خورده شده / مجموع انرژی تلف شده بر اساس آمونیاک)  $\times 100 =$  انرژی کل تلف شده به دریافت شده (درصد)

**برآورد تجزیه تقریبی ترکیبات شیمیایی لاشه: ۱۰**  
نمونه در ابتدای آزمایش و ۳ نمونه از هر تکرار در انتهای دوره آزمایش به‌طور تصادفی انتخاب و برای تعیین ترکیب تقریبی لاشه ماهیان با روش‌های استاندارد آزمایشگاهی آنالیز شدند. پروتئین کل با استفاده از دستگاه کجلدال، انرژی با استفاده از دستگاه بمب کالری‌متر، چربی با استفاده از روش سوکسوله، رطوبت با استفاده از آون در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت و مقدار خاکستر با استفاده از کوره الکتریکی در دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۴ ساعت اندازه‌گیری شد (AOAC, 1990).

**خون‌گیری:** نمونه‌گیری از فیل ماهیان جوان در انتهای دوره پرورش صورت پذیرفت. ۲۴ ساعت پیش از خون‌گیری، تغذیه ماهیان قطع و سپس با عصاره گل میخک به میزان ۳۰ میلی‌گرم در لیتر ماهیان را بیهوش کرده (Velisek et al., 2005) و ۳۶ عدد ماهی (۳ ماهی به ازای هر تکرار) به ظاهر سالم به‌طور تصادفی انتخاب شدند و از رگ ساقه دمی آن‌ها خون‌گیری به عمل آمد. از نمونه‌های خون جمع‌آوری شده از هر تکرار مقدار ۱ سی‌سی به ظروف حاوی ماده ضد انعقاد هپارین منتقل گردید. سپس با استفاده از سانتریفیوژ به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد با دور ۵۰۰۰ دور در دقیقه سرم جدا (Jalali et al., 2009) و با سمپلر در لوله‌های کوچک تخلیه و در مجاورت یخ به آزمایشگاه انتقال داده شدند.

**روش اندازه‌گیری:** برای سنجش آنزیم آلانین آمینو ترانسفراز (ALT) و آسپاراتات آمینو ترانسفراز (AST) از روش IFCC (Bergmeyer et al., 1986) و برای اندازه‌گیری میزان آنزیم آلکالین فسفاتاز (ALP) از روش DGKC استفاده گردید (Thomas, 1998). اندازه‌گیری آنزیم آمیلاز و لیپاز سرم خون، با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر (Eppendorf, EPOS) ساخت کشور آلمان، طبق دستورالعمل شرکت سازنده و با استفاده از کیت‌های آزمایشگاهی انجام شد (Hoseinifar et al., 2011).

**میکروبیوتای روده:** برای بررسی تعداد قارچ‌های پروبیوتیکی و باکتری‌های اسید لاکتیک موجود در میکروبیوتای بومی روده فیل ماهیان، در انتهای دوره به‌طور تصادفی نمونه‌برداری از ماهیان (تعداد ۳ عدد ماهی از هر تکرار) انجام شد. پس از انتقال ماهیان به آزمایشگاه، فیل ماهیان با آب استریل شستشو داده شدند. برای از بین بردن کامل باکتری‌های موجود در سطح خارجی بدن فیل ماهیان، به مدت ۶۰ ثانیه در محلول نمکی بنزالکونیوم کلراید (Benzalkonium Chloride) ۰/۱ درصد شسته شده و سپس آب نمونه‌ها پس از مدتی گرفته شد (Olsen et al., 2001). پس از ضدعفونی کردن و شستشو با آب مقطر، نمونه‌ها با تیغ اسکالپل استریل، کالبد گشایی شده و روده آن‌ها خارج شد. نمونه‌های روده پس از تخلیه کامل محتویات، توزین و برای هموزن کردن به هاون‌های چینی استریل منتقل گردید. پس از هموزن نمودن نمونه‌های روده با استفاده از محلول نمکی استریل ۰/۸۷ NaCl w/v درصد، رقت‌های  $10^{-1}$  تا  $10^{-7}$  تهیه شد. از رقت‌های تهیه شده، تحت شرایط کاملاً ضد عفونی (Aspetic) حجمی معادل ۰/۱ میلی‌لیتر برداشته شد و به محیط‌های کشت ساپورو دکستروز آگار یا SDA (برای تعیین تعداد کل قارچ‌های موجود در میکروبیوتای روده) و MRS (برای

نظر وزن و طول وجود نداشت ( $p > 0.05$ ). بررسی داده‌های به‌دست آمده در انتهای دوره نشان داد افزودن سطوح مختلف قارچ‌های پروبیوتیکی به جیره فیل ماهیان سبب افزایش وزن و طول آن‌ها و ارتقای نرخ رشد ویژه در تیمارهای آزمایشی شده است ( $p < 0.05$ ). با به‌کارگیری قارچ‌های پروبیوتیکی ضریب تبدیل غذایی به‌طور قابل توجهی در تیمارهای آزمایشی کاهش یافته و اختلاف معناداری با گروه شاهد نشان داد و کمترین آن معادل  $1/42$  برای تیمار آزمایشی سوم به‌دست آمد ( $p < 0.05$ ). همچنین بررسی شاخص‌های تغذیه‌ای، حاکی از بهبود این معیارها در فیل ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی سطوح مختلف پروبیوتیک بود، به‌طوری‌که افزایش معناداری را نسبت به گروه شاهد نشان دادند ( $p < 0.05$ ). نتایج به‌دست آمده از تجزیه لاشه فیل ماهیان جوان نیز بیانگر افزایش معنادار درصد پروتئین و ماده خشک لاشه در تیمارهای آزمایشی نسبت به گروه شاهد بود ( $p < 0.05$ ). همچنین قارچ‌های پروبیوتیکی باعث کاهش سطح انرژی خام لاشه در تیمارهای آزمایشی شدند، به‌طوری‌که سطح انرژی خام در تیمارهای آزمایشی نسبت به گروه شاهد در حد معناداری کاهش نشان داد ( $p < 0.05$ ).

تعیین تعداد باکتری‌های اسید لاکتیک منتقل و در سطح پلیت‌ها پخش شدند (Mahious et al., 2006). پس از انجام عمل کشت، انکوباسیون به مدت ۳ روز در انکوباتور و در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد صورت پذیرفت. پس از سپری شدن زمان انکوباسیون، قارچ‌ها و باکتری‌های موجود در هر پلیت بر حسب لگاریتم واحد کلنی در گرم وزن روده براساس مشخصات فنوتیپی شناسایی و شمارش شدند (Peter and Sneath., 1986).

**تجزیه و تحلیل داده‌ها:** داده‌های مربوط به تغییرات معیارهای تغذیه، ترکیبات مغذی لاشه، نرخ ترشح آمونیاک، آنزیم‌های سرم خون و میکروبیوتای روده در انتهای دوره جمع‌آوری شد و از طریق واریانس یک طرفه و بر اساس آزمون LSD در سطح خطای ۰/۰۵، با استفاده از نرم‌افزار SPSS, 16.0 آنالیز گردید.

### نتایج

اثرهای سطوح مختلف قارچ‌های پروبیوتیکی ساکارومایسس سرویزیا و آسپرژیلوس نایجر بر برخی شاخص‌های تغذیه‌ای و سطوح تقریبی مواد مغذی لاشه فیل ماهیان جوان در ابتدا و انتهای دوره آزمایشی در جدول‌های ۲ و ۳ ارائه شده است. در ابتدای دوره اختلاف معناداری بین تیمارها از

جدول ۲ مقایسه میانگین ترکیبات شیمیایی لاشه فیل ماهیان تغذیه شده با قارچ‌های پروبیوتیکی (درصد از ماده خشک)

تیمار	پروتئین خام	چربی خام	خاکستر	ماده خشک	انرژی خام ( $\text{cal g}^{-1}$ )
ترکیب اولیه لاشه	۶۰/۲۵	۲۲/۴۱	۲/۷۵	۲۰/۶	۴۱۷۵/۳
شاهد	<sup>b</sup> ۶۲/۷۰±۰/۳۵	۳۲/۰۳±۲/۳۳	۴/۰۱±۰/۵۴	<sup>b</sup> ۲۴/۵۰±۰/۸۱	<sup>a</sup> ۴۷۶۷/۳۶±۵۵/۶۶
تیمار ۱	<sup>a</sup> ۶۵/۱۱±۱/۰۴	۳۱/۰۸±۱/۹۳	۳/۵۴±۰/۱۷	<sup>a</sup> ۲۸/۷۱±۰/۷۷	<sup>ab</sup> ۴۷۱۶/۳۵±۱۷/۷۰
تیمار ۲	<sup>a</sup> ۶۴/۷۷±۰/۵۴	۳۱/۷۰±۰/۸۸	۴/۱۳±۰/۶۵	<sup>a</sup> ۲۸/۴۹±۰/۵۸	<sup>ab</sup> ۴۷۲۳/۹۲±۳۰/۳۹
تیمار ۳	<sup>a</sup> ۶۵/۱۹±۰/۲۰	۲۷/۹۰±۰/۶۴	۳/۳۸±۰/۴۵	<sup>a</sup> ۲۸/۸۴±۰/۵۶	<sup>b</sup> ۴۶۵۳/۳۰±۱۲/۷۶

حروف لاتین نامشابه نشان‌دهنده اختلاف معنادار بین میانگین‌ها ( $\pm$  میانگین) است ( $p < 0.05$ ).

جدول ۳ مقایسه میانگین ( $\pm$  خطای استاندارد) شاخص‌های تغذیه‌ای فیل ماهیان جوان تغذیه شده با سطوح مختلف قارچ‌های پروبیوتیکی

شاخص‌های تغذیه‌ای	شاهد	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳
وزن اولیه (گرم)	۳۱/۸۲±۲/۸۱	۳۱/۸۲±۲/۸۱	۳۱/۸۲±۲/۸۱	۳۱/۸۲±۲/۸۱
طول اولیه (سانتی‌متر)	۱۹/۲۰±۰/۲۱	۱۹/۲۰±۰/۲۱	۱۹/۲۰±۰/۲۱	۱۹/۲۰±۰/۲۱
وزن نهایی (گرم)	۱۷۱/۵۹±۳/۵۹ <sup>c</sup>	۱۹۴/۱۱±۱/۸۶ <sup>b</sup>	۱۹۲/۲۲±۰/۶۶ <sup>b</sup>	۲۱۳/۲۵±۰/۸۴ <sup>a</sup>
طول نهایی (سانتی‌متر)	۳۴/۹±۲/۴۱ <sup>c</sup>	۳۷/۲۱±۱/۶۳ <sup>b</sup>	۳۶/۲۴±۱/۴۹ <sup>b</sup>	۳۶/۹۲±۱/۴۸ <sup>a</sup>
نرخ رشد ویژه	۲/۵۶±۰/۳۳ <sup>c</sup>	۲/۷۷±۰/۲۰ <sup>b</sup>	۲/۷۵±۰/۲۱ <sup>b</sup>	۲/۹۱±۰/۲۱ <sup>a</sup>
ضریب تبدیل غذایی	۱/۸۲±۰/۰۵ <sup>a</sup>	۱/۵۶±۰/۰۲ <sup>b</sup>	۱/۵۸±۰/۰۲ <sup>b</sup>	۱/۴۲±۰/۰۲ <sup>c</sup>
کارایی تبدیل غذا (درصد)	۵۷/۵۸±۱/۱۶ <sup>c</sup>	۶۵/۱۳±۰/۸۹ <sup>b</sup>	۶۴/۵۰±۰/۹۴ <sup>b</sup>	۷۱/۵۶±۱/۰۳ <sup>a</sup>
غذای خورده شده روزانه (درصد در روز)	۳/۶۷±۰/۰۶ <sup>a</sup>	۳/۳۳±۰/۰۲ <sup>b</sup>	۳/۳۶±۰/۰۱ <sup>b</sup>	۳/۰۷±۰/۰۱ <sup>c</sup>
ارزش تولید پروتئین (گرم/گرم)	۰/۸۳±۰/۰۱ <sup>c</sup>	۰/۹۸±۰/۰۱ <sup>b</sup>	۰/۹۷±۰/۰۱ <sup>b</sup>	۱/۰۸±۰/۰۱ <sup>a</sup>
ارزش تولید چربی (گرم/گرم)	۱/۰۸±۰/۰۲ <sup>b</sup>	۱/۱۹±۰/۰۲ <sup>a</sup>	۱/۲۰±۰/۰۱ <sup>a</sup>	۱/۱۷±۰/۰۱ <sup>a</sup>
ارزش تولید انرژی (گرم/گرم)	۰/۹۰±۰/۰۱ <sup>c</sup>	۰/۹۱±۰/۰۲ <sup>b</sup>	۰/۹۱±۰/۰۱ <sup>b</sup>	۰/۹۲±۰/۰۱ <sup>a</sup>
نسبت کارایی پروتئین (گرم/گرم)	۱/۳۳±۰/۰۳ <sup>c</sup>	۱/۵۱±۰/۰۲ <sup>b</sup>	۱/۵۰±۰/۰۲ <sup>b</sup>	۱/۶۶±۰/۰۲ <sup>a</sup>
نسبت کارایی چربی (گرم/گرم)	۳/۳۸±۰/۰۶ <sup>c</sup>	۳/۸۳±۰/۰۵ <sup>b</sup>	۳/۷۹±۰/۰۵ <sup>b</sup>	۴/۲۰±۰/۰۶ <sup>a</sup>
پروتئین به دست آمده (گرم در روز)	۱/۳۶±۰/۰۳ <sup>c</sup>	۱/۶۴±۰/۰۲ <sup>b</sup>	۱/۶۲±۰/۰۲ <sup>b</sup>	۱/۸۴±۰/۰۳ <sup>a</sup>
چربی به دست آمده (گرم در روز)	۰/۷۳±۰/۰۲ <sup>b</sup>	۰/۸۲±۰/۰۱ <sup>a</sup>	۰/۸۲±۰/۰۱ <sup>a</sup>	۰/۸۰±۰/۰۱ <sup>a</sup>
انرژی به دست آمده (کیلو کالری در روز)	۱۰/۵۳±۰/۲۵ <sup>c</sup>	۱۲/۰۴±۰/۱۹ <sup>b</sup>	۱۱/۹۲±۰/۲۰ <sup>b</sup>	۱۳/۲۲±۰/۲۲ <sup>a</sup>
ذخیره نیتروژن لاشه (روز/ میلی‌گرم)	۲۲/۰۱±۰/۴۵ <sup>c</sup>	۲۶/۳۹±۰/۸۰ <sup>b</sup>	۲۵/۹۲±۰/۳۳ <sup>b</sup>	۲۹/۵۰±۰/۱۶ <sup>a</sup>
میزان بهره‌برداری از نیتروژن (درصد)	۵۱/۱۹±۱/۰۶ <sup>c</sup>	۶۱/۳۷±۱/۸۷ <sup>b</sup>	۶۰/۲۹±۰/۷۶ <sup>b</sup>	۶۸/۶۰±۰/۳۷ <sup>a</sup>

حروف لاتین نامشابه نشان‌دهنده اختلاف معنادار بین میانگین‌ها ( $\pm$  SE میانگین) است ( $p < 0.05$ ).

جدول ۴ مقایسه میانگین ( $\pm$  خطای استاندارد) نرخ ترشح آمونیاک فیل ماهیان تغذیه شده با سطوح مختلف قارچ‌های پروبیوتیکی

پارامتر	شاهد	تیمار اول	تیمار دوم	تیمار سوم
نیتروژن دریافت شده (mg/kg)	۵۴۳۹	۵۴۳۹	۵۴۳۹	۵۴۳۹
انرژی دریافت شده (kj/kg/day)	۱۴۲۲	۱۴۲۲	۱۴۲۲	۱۴۲۲
آمونیاک مترشحه (mg/kg/day)	۷۸/۶۶±۰/۴۱ <sup>a</sup>	۷۴/۵۷±۰/۸۱ <sup>bc</sup>	۷۵/۹۱±۰/۵۲ <sup>b</sup>	۷۳/۶۴±۰/۶۹ <sup>c</sup>
انرژی تلف شده بر اساس آمونیاک مترشحه (kj/kg/day)	۱/۸۹±۰/۰۱ <sup>a</sup>	۱/۷۹±۰/۰۱ <sup>bc</sup>	۱/۸۲±۰/۰۱ <sup>b</sup>	۱/۷۷±۰/۰۱ <sup>c</sup>
انرژی کل تلف شده به دریافت شده (درصد)	۴/۴۰±۰/۰۲ <sup>a</sup>	۴/۱۷±۰/۰۴ <sup>bc</sup>	۴/۲۵±۰/۰۲ <sup>b</sup>	۴/۱۲±۰/۰۳ <sup>c</sup>

حروف لاتین نامشابه نشان‌دهنده اختلاف معنادار بین میانگین‌ها ( $\pm$  SE میانگین) است ( $p < 0.05$ ).

کمترین میزان انرژی تلف شده بر اساس آمونیاک مترشحه و انرژی کل تلف شده به دریافت شده نیز در تیمار آزمایشی سوم مشاهده گردید که کاهش معناداری را نسبت به گروه شاهد نشان دادند ( $p < 0.05$ ).

میزان نیتروژن (که بر اساس پروتئین خام جیره به دست آمده است) و میزان انرژی دریافت شده در همه تیمارهای آزمایشی برابر بود. در این مطالعه مشخص شد بیشترین مقدار آمونیاک مترشحه در گروه شاهد و کمترین آن در تیمار آزمایشی سوم بوده است ( $p < 0.05$ ). همچنین

جدول ۵ آنزیم‌های سرم خون فیل ماهیان جوان تغذیه شده با جیره غذایی حاوی قارچ‌های پروبیوتیکی

Lipase (U L <sup>-1</sup> )	Amylase (U L <sup>-1</sup> )	ALP (IU L <sup>-1</sup> )	ALT (IU L <sup>-1</sup> )	AST (IU L <sup>-1</sup> )	آنزیم‌های سرم
۳۷/۲۳±۱/۴ <sup>b</sup>	۱۲۲/۰۱±۱/۰۴ <sup>c</sup>	۸۷۲/۳۳±۱۰/۶۸ <sup>a</sup>	۷/۶۶±۰/۳۳ <sup>a</sup>	۴۱۸/۰۱±۱/۷۳	شاهد
۴۴/۶۶±۱/۸۷ <sup>b</sup>	۱۳۳/۷۳±۰/۷۸ <sup>b</sup>	۷۶۳/۳۳±۱۹/۲۲ <sup>c</sup>	۵/۶۶±۰/۶۶ <sup>b</sup>	۴۰۳/۶۷±۸/۸۳	تیمار ۱
۴۰/۹۶±۱/۷۵ <sup>b</sup>	۱۳۳/۰۳±۱/۰۷ <sup>b</sup>	۸۲۱/۶۷±۷/۴۲ <sup>b</sup>	۶/۰±۰/۵۷ <sup>b</sup>	۴۰۶/۰۱±۴/۱۶	تیمار ۲
۶۸/۴۰±۳/۳۳ <sup>a</sup>	۱۴۳/۹۳±۰/۹۲ <sup>a</sup>	۷۰۵/۶۷±۱۹/۶۷ <sup>d</sup>	۵/۳۳±۰/۳۳ <sup>b</sup>	۳۸۹/۳۳±۱۶/۱۸	تیمار ۳

حروف لاتین نامشابه نشان‌دهنده اختلاف معنادار بین میانگین‌ها (SE ± میانگین) است (p<۰/۰۵).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌های مربوط به آنزیم‌های سرم خون نشان‌دهنده اختلاف معناداری بین تیمارهای آزمایشی بود (p<۰/۰۵). در میزان آنزیم آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و آلکالین فسفاتاز (ALP) کاهش معناداری در تیمارهای آزمایشی مشاهده شد (p<۰/۰۵) و کمترین مقدار این آنزیم‌ها در تیمار آزمایشی سوم به دست آمد، در حالی که میزان آنزیم‌های آمیلاز و لیپاز سرم خون افزایش معناداری در تیمارهای آزمایشی نشان دادند (p<۰/۰۵) و بیشترین مقدار این آنزیم‌ها در تیمار آزمایشی سوم مشاهده گردید.

جدول ۶ تعداد کل قارچ‌های پروبیوتیکی و سطوح لاکتوباسیلوس‌های شمارش شده در میکروبیوتای روده فیل ماهیان (CFU Log g<sup>-1</sup>)

پارامتر	شاهد	تیمار اول	تیمار دوم	تیمار سوم
تعداد کل قارچ‌های پروبیوتیکی	۳/۰۳±۰/۱۵ <sup>c</sup>	۵/۹۸±۰/۳۴ <sup>b</sup>	۵/۹۵±۰/۵۴ <sup>b</sup>	۶/۹۲±۰/۰۳ <sup>a</sup>
تعداد لاکتوباسیلوس‌ها	۳/۹۱±۰/۰۹ <sup>c</sup>	۴/۸۳±۰/۱۱ <sup>a</sup>	۴/۳۵±۰/۰۵ <sup>b</sup>	۵/۱۸±۰/۱۸ <sup>a</sup>

حروف لاتین نامشابه نشان‌دهنده اختلاف معنادار بین میانگین‌ها (SE ± میانگین) است (p<۰/۰۵).

### بحث

نتایج این مطالعه نشان داد که افزودن سطوح مختلف قارچ‌های پروبیوتیکی به جیره غذایی فیل ماهیان آثار معناداری بر شاخص‌های تغذیه‌ای دارد. ضریب تبدیل غذایی نشان از بهبود این شاخص در تیمارهای تحت تأثیر قارچ‌های پروبیوتیکی دارد (p<۰/۰۵). این بدان معنی است که استفاده از پروبیوتیک، کاهش مقدار غذای لازم برای رشد حیوان را به دنبال داشته که می‌تواند منجر به کاهش هزینه‌های پرورشی شود (Lara-Flores et al., 2003). در تأیید نتایج این تحقیق، حسینی فر و همکاران (۲۰۱۱) مشاهده نمودند که مخمر ساکارومایسس سرویزیا در جیره غذایی فیل ماهیان جوان (*Huso huso*) سبب کاهش مقدار ضریب تبدیل غذایی گردید. نتایج مشابهی را Vijayakumar و همکاران (۲۰۰۹) در پست لاروهای

در تمامی تیمارها تعداد کل قارچ‌های پروبیوتیکی و لاکتوباسیلوس‌های میکروبیوتای بومی روده، طی دوره پرورش افزایش یافته و اختلاف معناداری بین تیمارها و گروه شاهد مشاهده شد (p<۰/۰۵) و بیشترین تعداد پروبیوتیک‌های قارچی و لاکتوباسیلوس‌های شمارش شده در تیمار آزمایشی سوم نمایان بود.

با توجه به یکسان بودن شرایط در تمامی ونیروها و جریان دائم آب ورودی، تفاوت چندانی بین واحدهای آزمایشی از نظر عوامل کیفی آب وجود نداشت. میانگین (± خطای استاندارد) اکسیژن محلول به‌طور متوسط در طول دوره پرورش ۶/۱۱±۰/۰۳ میلی‌گرم در لیتر، دمای آب ۲۷/۸۴±۰/۱۶ درجه سانتی‌گراد، pH آب ۸/۰۸±۰/۰۲ و شوری آب ۱/۱۳±۰/۰۲ گرم در لیتر بود.



میگوی ببری سیاه (*Penaeus monodon*) تغذیه شده با جیره غذایی حاوی اسپرژیلوس نایجر مشاهده کردند.

شاخص‌های تغذیه‌ای فیل ماهیان تحت تأثیر پروبیوتیک، با افزایش غلظت پروبیوتیک‌ها در جیره غذایی افزایش معناداری پیدا کردند، به طوری که در تیمار آزمایشی سوم که بالاترین غلظت پروبیوتیک در آن به کار رفته است، بهترین مقادیر این شاخص‌ها مشاهده شد. پروبیوتیک‌ها ممکن است از طریق تحریک اشتها در آبزیان و یا با افزایش متابولیسم میکروبی موجب ارتقای سطح تغذیه به وسیله میزبان شوند (Irianto and Austin, 2002).

پروبیوتیک‌های به کار رفته در این آزمایش توانستند به خوبی عوامل تغذیه‌ای از جمله ارزش تولید پروتئین، ارزش تولید چربی، ارزش تولید انرژی، ذخیره نیتروژن لاشه و درصد بهره‌برداری ظاهری از نیتروژن را در فیل ماهیان جوان ارتقا بخشند. در همین راستا، نتایج مشابهی در استفاده از مخمر ساکارومایسس سرویزیا با ترکیبی از لاکتوباسیلوس‌ها در تغذیه ماهی تیلاپیای نیل به دست آمده است (Lara-Flores et al., 2003). ارتقا نسبت کارایی پروتئین و چربی در فیل ماهیان تحت تأثیر پروبیوتیک در این تحقیق، نشان از عملکرد مناسب آن‌ها در افزایش کارایی تغذیه فیل ماهیان دارد تا ماهیان بتوانند از منابع پروتئین و چربی جیره غذایی خورده شده به خوبی بهره‌برداری کنند که در خصوص ماهیان خاویاری افزایش این توان، از اهمیت بالایی برخوردار است. میزان انرژی، پروتئین و چربی به دست آمده نیز در تیمار آزمایشی سوم افزایش معناداری را نسبت به گروه شاهد و دیگر تیمارها نشان داد. نتایج مشابهی را جعفریان و همکاران (۲۰۰۷) در به کارگیری دافنی ماگنای غنی شده با مخمر و باسیلوس‌های پروبیوتیکی و تغذیه آن به وسیله لارو ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) گزارش کردند.

کیفیت گوشت آبزیان پرورشی عامل بسیار مهمی است که به طور مستقیم تحت تأثیر طبیعت و تعادل عناصر غذایی تشکیل دهنده جیره قرار دارد (Cowey, 1991). نتایج حاصل از آنالیز لاشه در تحقیق حاضر با نتایج حسینی فر و همکاران (۲۰۱۱) مطابقت دارد؛ بدین ترتیب که این محققان با افزودن سطوح مختلف مخمر ساکارومایسس سرویزیا به جیره غذایی فیل ماهیان جوان، افزایش معنادار سطوح پروتئین لاشه را در تیمارهای آزمایشی نسبت به گروه شاهد مشاهده کردند. در بررسی حاضر افزایش معنادار درصد پروتئین لاشه می‌تواند به علت بالاتر بودن بازده پروتئینی و ابقای پروتئین در این گروه باشد.

ماهیان نیتروژن دفعی را به شکل‌های مختلف از جمله آمونیاک، اوره، آمین‌ها و آمینواسیدها دفع می‌کنند که سهم زیادی از این نیتروژن دفعی را آمونیاک تشکیل می‌دهد (Wood, 1958). آمونیاک برای ماهیان سمی بوده و به عنوان مهم‌ترین عامل محدودکننده تراکم در پرورش ماهیان محسوب می‌شود (Cai and Summerfelt, 1992). اندازه‌گیری آمونیاک ترش‌حی به عنوان شاخصی برای سنجش میزان اثر عوامل مختلف محیطی و تغذیه‌ای در متابولیسم پروتئین به کار گرفته می‌شود (Beamish and Thomas, 1984). بنابراین کمیت آمونیاک ترش‌حی ماهیان، برای پرورش متراکم با اهمیت است چرا که متابولیسم پروتئین شاخصی برای موفقیت یک رژیم غذایی محسوب می‌شود (Dosdat et al., 1995). دفع آمونیاک پس از خوردن غذا افزایش می‌یابد که این در واقع عکس‌العملی برای ورود غذاست (Jobling, 1981). در مطالعه حاضر کاهش معنادار میزان آمونیاک مترشحه و انرژی تلف شده بر اساس آمونیاک مترشحه در تیمارهای آزمایشی نسبت به گروه شاهد مشاهده گردید. نتایج مشابهی پس از افزودن ترکیبی از پروبیوتیک‌های باسیلی

فراهم شود، آن‌ها به سرعت رشد یافته و تعدادشان افزایش می‌یابد (Hoseinifar et al., 2011) که چنین روندی در مطالعه حاضر احتمال داده می‌شود. همسوی با نتایج این تحقیق، در مطالعه حسینی‌فر و همکاران (۲۰۱۱) بررسی میکروبیوتای روده فیل ماهیان تغذیه شده با مخمر ساکارومایسس سرویزیا، نشان داد که سطح باکتری‌های اسید لاکتیک روده به‌طور قابل توجهی در اثر تغذیه با ساکارومایسس سرویزیا افزایش یافته بود.

در مجموع نتایج مطالعه حاضر حاکی از آن است که استفاده از قارچ‌های پروبیوتیکی ساکارومایسس سرویزیا و اسپرژیلوس نایجر در سطوح مورد مطالعه، قابلیت تأثیرگذاری بالایی بر ارتقای عملکرد تغذیه و افزایش برخی از سطوح ترکیبات مغذی لاشه و آنزیم‌های سرم خون در فیل ماهیان جوان پرورشی را دارند. این پروبیوتیک‌ها می‌توانند به‌صورت ترکیبی، مکمل مناسبی برای جیره غذایی فیل ماهیان باشند. همچنین برای حصول اطمینان از تأثیر قارچ پروبیوتیکی اسپرژیلوس نایجر پیشنهاد می‌شود مطالعه‌ای در خصوص تأثیر این قارچ بر سطوح شاخص‌های ایمنی در شرایط آزمایشگاهی و پرورشی صورت پذیرد تا بتوان با قطعیت بیشتری درباره پتانسیل پروبیوتیکی اسپرژیلوس نایجر در فیل ماهی و دیگر آبزیان اظهار نظر کرد.

#### منابع

Abdel-Tawwab, M., Abdel-Rahman, A. M. and Ismael, N. E. M. 2008. Evaluation of commercial live baker's yeast, *Saccharomyces cerevisiae* as a growth and immunity promoter for Fry Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) challenged in situ with *Aeromonas hydrophila*. *Aquaculture*, 280: 185-189.

Akrami, R., Ghelichi, A. and Ahmadifar, E. 2011. Effect of dietary prebiotic inulin on hematological and biochemical parameters of cultured juvenile

به جیره غذایی لارو تاس ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) به‌دست آمده است (Faramrazi et al., 2012). آنزیم‌های آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST)، آلانین آمینو ترانسفراز (ALT) و آلکالین فسفاتاز (ALP) در اپی تلیوم مجاری صفراوی، سلول‌های کبدی و نیز در مخاط روده و کلیه‌ها یافت می‌شوند. این آنزیم‌ها اغلب در داخل میتوکندری سلول‌ها، به‌ویژه در سلول‌های کبدی قرار دارند. بنابراین هر گونه آسیب خفیف، التهاب یا نکروز سلول‌های کبد موجب آزاد شدن این آنزیم‌ها و افزایش سطح آن‌ها در پلاسما می‌شود (Banaee et al., 2008). همچنین این آنزیم‌ها جزء آنزیم‌های با اهمیت در بررسی وضعیت سلامتی ماهیان هستند (Racicot et al., 1975)، از این‌رو کاهش سطح فعالیت این آنزیم‌ها در پلاسما ماهیان تحت تأثیر پروبیوتیک در این مطالعه، می‌تواند حاکی از سلامتی بافت‌های فیل ماهیان و دلیلی بر عملکرد مناسب کبد و شرایط مناسب تغذیه‌ای باشد (Akrami et al., 2011). در مطالعه حاضر قارچ‌های پروبیوتیکی سبب افزایش معناداری در میزان آنزیم‌های آمیلاز و لیپاز سرم خون فیل ماهیان شدند که این افزایش می‌تواند نشانگر افزایش قابلیت هضم در ماهیان باشد.

نتایج به‌دست آمده از بررسی میکروبیوتای روده‌ای فیل ماهیان در این تحقیق، حاکی از افزایش معنادار تعداد کل قارچ‌های پروبیوتیکی و لاکتوباسیلوس‌های بومی روده‌ای به موازات افزایش سطح به‌کارگیری پروبیوتیک‌ها در جیره غذایی تیمارهای آزمایشی بود. احتمالاً یکی از دلایل بهبود کارایی تغذیه در فیل ماهیان می‌تواند افزایش تعداد لاکتوباسیلوس‌های روده‌ای به موازات افزایش سطح مخمر در نتیجه تأمین مواد غذایی مورد نیاز این باکتری‌های مفید روده‌ای به‌وسیله مخمر در ماهیان تیمارهای آزمایشی باشد. در صورتی که مواد غذایی مورد نیاز برای لاکتوباسیلوس‌ها

- Cowey, C. B. 1991.** Some effects of nutrition on flesh quality of cultured fish. In Fish Nutrition in Practice (Kaushik, S. J. & Luquet, P., eds). pp. 227-236.
- De Silva, S. S. and Anderson, T. A. 1995.** In: Fish Nutrition in Aquaculture. Chapman and Hall, London. 319 p.
- Dosdat, A., Metailler, R., Tetu, N., Servais, F., Chartois, H., Huelvan, C. and Desbruyeres, E. 1995.** Nitrogenous excretion in juvenile turbot, *Scophthalmus maximus* L. under controlled conditions. *Aquaculture Research*, 26: 639-650.
- Faramarzi, M., Jafaryan, H., Roozbehfar, R., Jafari, M. and Biria, M. 2012.** Influences of Probiotic Bacilli on Ammonia and Urea Excretion in Two Conditions of Starvation and Satiation in Persian Sturgeon (*Acipenser persicus*) Larvae. *Global Veterinaria*, 8(2): 185-189.
- Gracia, M. I., Aranibar, M. J., Lazaro, R., Medel, P. and Mateos, G. G. 2003.** A-Amylase supplementation of broiler diets based on corn. *Poultry Science*, 82: 436-442.
- Hevroy, E. M., Espe, M., Waagbo, R., Sandness, K., Rund, M. and Hemre, G. I. 2005.** Nutrition utilization in atlantic salmon (*Salmo salar*) fed increased level of fish protein hydrolysate during aperiod of fast growth. *Aquaculture Nutrition*, 11:301-313.
- Hoseinifar, S. H., Mirvaghefi, A., Mojazi Amiri, B., Khoshbavar Rostami, H. and Merrifield, D. 2010.** The effects of Oligofructose on growth performance, survival, intestinal microbiota and liver histology of endangered great sturgeon (*Huso huso*) juvenile. *Aquaculture Nutrition*, 17(5): 498-504.
- Hoseinifar, S. H., Mirvaghefi, A. R., Mojazi Amiri, B., Khoshbavar Rostami, H. A., Poor Amini, M. and Darvish Bastami, K. 2011.** The probiotic effects of dietary inactive yeast *Saccharomyces cerevisiae* var. ellipsoideus on growth factors, survival, body composition and intestinal microbiota of Beluga juvenile (*Huso huso*), *Iranian Scientific Fisheries Journal*, 19(4): 55-66. (Abstract in English)
- Irianto, A. and Austin, B. 2002.** Probiotic in aquaculture, *Journal Fish Disease*. 25: 1-10.
- beluga (*Huso huso*). *Journal of Veterinary Research*, 66(2): 131-136. (Abstract in English)
- Al-Kassie, G. A. M., Al-jumaa, Y. M. F. and Jameel, Y. J. 2008.** Effect of Probiotic (*Aspergillus niger*) and Prebiotic (*Taraxacum officinale*) on blood Picture and Biochemical Properties of Broiler Chickens. *International Journal of Poultry Science*, 7(12): 1182-1184.
- Andrews, S. R., Sahu, N. P., Pal, A. K., Mukherjee, S. C. and Kumar, S. 2010.** Yeast extract, brewer's yeast and spirulina in diets for *Labeo rohita* fingerlings affect haemato immunological responses and survival following *Aeromonas hydrophila* challenge. *Research Veterinary Science*, 91(1): 103-109.
- AOAC. 1990.** In: W.Horwitz (ed). Official Methods of Analysis of Association of Official Analytical Chemists (AOAC).Vol. 1, 15th ed. Assoc. Official Analytical Chemists, Washington DC, USA. 1263 p.
- Banaee, M., Mirvaghefi, A. R., Ahmadi, K. and Banaee, S. 2008.** Acute toxic effects of diazinon on hematology and biochemical parameters in common carp (*Cyprinus carpio*). *Journal of Marine Science and Technology*, Azad University, Tehran North Unit, 3(2): 1-10. (Abstract in English).
- Beamish, F. W. H., and Thomas, E. 1984.** Effects of dietary protein and lipid on nitrogen losses in rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *Aquaculture*, 41: 359-371.
- Bergmeyer, H. U., Horder, M. and Rej. R. 1986.** International federation of clinical chemistry (IFCC) Scientific Commite. Analytical section: approved recommendation on IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 2: IFCC method for aspartat aminotransferase (L-aspartat: 2- oxoglutarat aminotransferase, EC 2.6.1.1.). *Journal of Clinical Chemistry and Clinical Biochemistry*, 24: 497-510.
- Cai, Y. J. and Summerfelt, R. C. 1992.** Effects of temperature and size on oxygen consumption and ammonia excretion in walleye. *Aquaculture*, 104: 127-138.
- Chang, C. I. W. and Liu, W. Y. 2002.** Anevaluation of two probiotic bacterial strains, *Enterococcus faecium* SF68 and *Bacillu stoyoi*, for reducing edwardsiellosis incultured European eel, *Anguilla anguilla* L. *Journal of Fish Diseases*, 25: 311-315.

- Mathivanan, R., Selvaraj, P. and Nanjappan, K. 2006.** Feeding of fermented soybean meal on broiler performance. *International Journal Poultry Science*, 5: 868-872.
- Olsen, R. E., Myklebust, R., Kryvi, H., Mayhew, T. M. and Ringo, E. 2001.** Damaging effect of dietary inulin on intestinal enterocytes in Arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.). *Aquaculture Research*, 32: 931-934.
- Peter, H. and Sneath, A. 1986.** Bergeys manual of systematic Bacteriology, 2: 1104-1154.
- Racicot, J. G., Gaudet M. and leray, C. 1975.** Blood and liver enzymes in rainbow trout (*oncorhynchus mykiss*) with emphasis on their diagnostic use: study of CCl<sub>4</sub> toxicity and a case of Aeromonas infection. *Journal of Fish Biology*, 7: 825-835.
- Saleh, A. A., Eid, Y. Z., Ebeid, T. A., Amber, k., Badawi, N. and Hayashi, K. 2010.** Effect of *Aspergillus niger* on broilers performance. *Egypt Poultry Science*, 30: 1017-1029.
- Sudagar, M., Imanpoor, M. and Hoseinifar, S. H. 2004.** Effect of optimum (Ascogen or Vannagen) growth stimulant supplementation on the growth and survival rate of grand beluga juvenile (*Huso huso*). *Iranian Journal of Marine Science*, 3: 33-38. (Abstract in English)
- Tacon, A. G. J. 1990.** Standard methods for the nutrition and feeding of farmed fish and shrimp, Washington DC, Argent Laboratories Press, 454 pp.
- Tannock, G. W. 2001.** Molecular assessment of intestinal microflora. *Journal of Clinical Nutrition*, 73: 410-414.
- Thomas, L. 1998.** Alanin aminotransferase (ALT), Aspartat aminotransferase (AST). In: Thomas, L. (editor), Clinical laboratory diagnostics. 1<sup>st</sup> ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft, pp: 46-136 and 794-836.
- Velisek, J., Svobodova, Z. and Piaakova, V. 2005.** Effects of clove oil anaesthesia on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Acta Veterinaria Brno*, 74: 139-146.
- Vijayakumar, M., Hoseph, I. and Paul raj, R. 2009.** Efficacy of a fungal fermented product as fishmeal replacement in the diet of *Penaeus monodon* Fabricius post-larvae. *Indian Journal of Fisheries*, 56(2): 115-121.
- IUCN, 1996.** IUCN Red List of Threatened Animals. IUCN, Gland, Switzerland and Cambridge, UK.
- Jafaryan, H., Chamanara, V., Papii, S. h. and Khojamlii, S. 2007.** The effects of *Saccharomyces cerevisiae*, *B.licheniformis* and *B.laterosporus* on the growth parameters in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) larvae International training course and workshop. Islamic Azad university of Ghaemshahr. 5 september 2007. Ghaemshahr-Iran. P: 38.
- Jalali hajiabadi, M. A., Sadeghi, A. A., Mahbobi sofiyani, N., Chamani, M. and Riyazi, Gh. 2009.** The effect of dietary L-carnitine supplementation on blood factors and growth of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Agriculture Science and Natural resource*, 47: 105-115. (Abstract in English)
- Jobling, M. 1981.** Some effects of temperature, feeding and body weight on nitrogenous excretion in young plaice *Pleuronectes platessa* L. *Journal of Fish Biology*, 18: 87-96.
- Khosravi, A. 2003.** Medical Mycology, University Jihad Organization Publications of Tehran, 400 p. (In Persian)
- Lara-Flores, M., Olvera-Novoa, M. A., Guzman-Méndez, B. E. and Lopez-Madrid, W. 2003.** Use of the bacteria *Streptococcus faecium* and *Lactobacillus acidophilus*, and the yeast *Saccharomyce scerevisiae* as growth promoters in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 216: 193-201.
- Li, P. and Gatlin, D. M. 2005.** Evaluation of the prebiotic Grobiotic-A and brewer's yeast dietary supplements for sub-adult hybrid striped bass (*Morone chrysops* × *M. saxatilis*). *Aquaculture*, 248: 197-205.
- Li, P. and Gatlin, D. M. 2003.** Evaluation of brewer's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) as a feed supplement for hybrid striped bass (*Moronechrysops* × *M. saxatilis*). *Aquaculture*, 219: 681- 692.
- Mahious, A. S., Gatesoupe, F. J., Hervi, M., Metailler, R. and Ollevier, F. 2006.** Effect of dietary inulin and oligosaccharides as prebiotics for weaning turbot, *Psetta maxima*. *Aquaculture International*, 14: 219-229.

identification of its antioxidant constituents. *Food Research*, 39(8): 833-9.

**Zhang, X., Cao, F., Sun, Zh., Yu, W., Zhao, L., Wang, G. and Wang, T. 2012.** Effect of feeding *Aspergillus niger*-fermented Ginkgo biloba-leaves on growth, small intestinal structure and function of broiler chicks. *Livestock Science*, 147: 170-180.

**Wood, J. D. 1958.** Nitrogen excretion in some marine teleosts. *Canadian Journal of Biochemical Physiology*, 36: 1237-1242.

**Zhang, H., Chen, F., Wang, X. and Yao, H. Y. 2006.** Evaluation of antioxidant activity of parsley (*Petroselinum crispum*) essential oil and



---

## Effects of *Saccharomyces cerevisiae* and *Aspergillus niger* Isolated from Beluga Adult Digestive Tract on the Feeding Efficiency and Blood Serum Enzymes of Beluga Juvenile Sturgeon (*Huso huso*)

Ahmad Hassanpour Fatahi<sup>1\*</sup>, Hojatollah Jafarian<sup>2</sup>, Alireza Khosravi<sup>3</sup>, Hosna Gholipour Kanani<sup>4</sup>

1- M. Sc. Student, Fisheries Department, Faculty of Natural Resources, Gonbad Kavous University, Gonbad kavous

2- Associated Prof., Fisheries Department, Faculty of Natural Resources, Gonbad Kavous University, Gonbad Kavous

3- Professor, Mycology Department, Veterinary Faculty, Tehran University, Tehran

4- Assistant Prof., Fisheries Department, Faculty of Natural Resources, Gonbad Kavous University, Gonbad Kavous

Received: 4.2.2014

Accepted: 24.5.2014

\*Corresponding author: a.hasanpourf@gmail.com

---

### Abstract:

The probiotic effects of *Saccharomyces cerevisiae* and *Aspergillus niger* on the feeding efficiency, body composition, ammonia excretion, blood serum enzymes and the intestinal microbiota of juvenile beluga, *Huso huso* was investigated. The fish (31.8±2.81g) were randomly allocated into 12 oval tanks at a density of 30 individuals per tank with three replicates for each treatment. The fish were fed either a basal diet (as control) or the diet supplemented with *S. cerevisiae* and *A. niger* ( $2 \times 10^6$ ,  $4 \times 10^6$  and  $6 \times 10^6$  cells  $g^{-1}$ ) for 8 weeks. The results indicated that the probiotic supplemented diet at  $6 \times 10^6$  (cells  $g^{-1}$ ) significantly improved FCR and other nutritional indicators compared to the control treatment ( $p < 0.05$ ). Significant improvements ( $p < 0.05$ ) were also observed in ammonia excretion and blood serum enzymes between treatments. Total viable fungus and *Lactobacillus* spp. count were significantly improved in treatment compared to control ( $p < 0.05$ ). These results indicated that *S. cerevisiae* and *A. niger* improved feeding performance and blood serum enzymes of beluga.

**Keywords:** Feeding Efficiency, blood serum enzymes, *Huso huso*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Aspergillus niger*