



بهره‌برداری و پرورش آبزیان

جلد دوازدهم، شماره دوم، تابستان ۱۴۰۲

نسخه آنلاین: ۲۳۴۵-۴۲۷۸
شاپا نسخه چاپی: ۲۳۴۵-۴۲۸۸

فهرست مطالب

- تأثیر استفاده از سین‌بیوتیک پکتین و لاکتوباسیلوس پلاتاروم (*Lactobacillus plantarum*) بر عملکرد رشد و بیان ژن‌های مرتبط با رشد بچه‌فیل ماهی (*Huso huso*)
اسماعیل جباری، ولی‌اله جعفری، رقیه صفری، سید حسین حسینی‌فر، محمدرضا ایمان‌پور..... ۲
- اثرات مکمل‌سازی پودر قارچ صدفی (*Pleurotus ostreatus*) در جیره غذایی بچه‌ماهی تیلایسای نیل (*Oreochromis niloticus*) بر عملکرد رشد، ایمنی موکوس پوست و سرم خون و الگوی پروتئینی موکوس
حسین عرب، حامد پاک‌نژاد، سید حسین حسینی‌فر، محمدرضا ایمان‌پور، علی جعفرنوده، محسن تجری..... ۱۴
- بررسی میزان قلب در تولید کنسرو ماهی تن با استفاده از روش DNA بارکدینگ در ایران
مونا ایوز، مهدی ذوالفقاری، مجتبی نصراصفهانی، حامد پاک‌نژاد..... ۳۶
- ارزیابی اثرات محیطی پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792) در قفس‌های جنوب دریای خزر (مطالعه موردی: قفس‌های پرورش ماهی کلارآباد)
علینقی مقصدلو، سید عباس حسینی، رسول قربانی، عبدالعظیم فاضل، سعید اسماعیل‌پور..... ۵۰
- اثر غنی‌سازی جیره غذایی با اسید لاکتیک بر غلظت یون‌ها و پروتئین‌های پلاسما خون در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، *Oncorhynchus mykiss*
سید مرتضی حسینی..... ۶۸
- خصوصیات جمعیتی ماهی حلوا سیاه *Parastromateus niger* (Bloch, 1795) در آب‌های شمالی دریای عمان (استان سیستان و بلوچستان)
علی ندیمی اشکان کماچایی، علی طاهری، سیداحمدرضا هاشمی..... ۷۸
- مطالعه اکولوژی زیستگاه‌های شاه میگو صخره‌ای *Panulirus homarus* (Linnaeus, 1758) در سواحل استان سیستان و بلوچستان به منظور استقرار سازه‌های زیستگاه مصنوعی جهت احیاء ذخایر
محمدرضا میرزائی، اشکان اژدری..... ۹۰
- مناسب‌ترین سن و وزن بچه‌ماهی آزون‌برون (*Acipenser stellatus*) برای رهاسازی به دریای خزر
علیرضا عاشوری، ذبیح‌اله پژند، ایوب یوسفی جوردهی، اسماعیل حسینی‌نیا، جواد صیادفر، جلیل جلیل‌پور..... ۱۰۵
- تأثیر استفاده هم‌زمان اسید لاکتیک و پروبیوتیک (*Lactobacillus acidophilus*) بر برخی معیارهای رشد، کیفیت لاشه و پارامترهای خونی در ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)
محسن سلیمانی ایرانی، حسین اورجی، سکینه یگانه، فرید فیروزبخش، عبدالصمد کرامت..... ۱۱۸
- مقایسه خواص عملکردی پروتئین استخراج‌شده از ریزجلبک اسپیرولینا (*Spirulina Platensis*) با روش‌های مختلف
ساناز اورجه، پرستو پورعاشوری، بهاره شعبانپور، سید ولی حسینی..... ۱۳۴
- بررسی میزان شیوع لیستریا مونوسیتروژنز و سالمونلا در ماهی، میگو و تخم‌مرغ ارائه شده در شهرستان شهرکرد، ایران (شیوع لیستریا و سالمونلا در ماهی، میگو و تخم‌مرغ)
ابراهیم رحیمی، محمد امین حیدرزادی، نجمه واحد دهمکردی..... ۱۴۶
- مقایسه اثر مشتق هیدرازون ۲- فنیل تیو بنزوئیک اسید به عنوان یک ضد التهاب جدید با مقنایمیک اسید بر هیستولوژی بافت کبد و آنزیم‌های کبدی در ماهی گورامی سه خال (*Trichogaster trichopterus*)
یاسمن خانی، طاهره ناجی، علی‌الماسی راد، همایون حسین‌زاده صحافی..... ۱۵۸
- اثر افزودن جلبک اسپیرولینا (*Spirulina platensis*) و مولتی آنزیم ناتوزیم بر عملکرد رشد، بازماندگی و شاخص‌های خونی بچه‌ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)
محمدتقی فرهادی، محمدرضا ایمان‌پور، رقیه صفری..... ۱۷۲

فهرست مطالب

- تأثیر استفاده از سین بیوتیک پکتین و لاکتوباسیلوس پلانٹاروم (*Lactobacillus plantarum*) بر عملکرد رشد و بیان ژن‌های مرتبط با رشد بچه‌فیل ماهی (*Huso huso*) ۲
- اسماعیل جباری، ولی‌اله جعفری، رقیه صفری، سید حسین حسینی فر، محمدرضا ایمان‌پور.....
- اثرات مکمل‌سازی پودر فارچ صدفی (*Pleurotus ostreatus*) در جیره غذایی بچه‌ماهی تیلایای نیل (*Oreochromis niloticus*) بر عملکرد رشد، ایمنی موکوس پوست و سرم خون و الگوی پروتئینی موکوس حسین عرب، حامد پاک‌نژاد، سید حسین حسینی فر، محمدرضا ایمان‌پور، علی جعفرنوده، محسن تجری..... ۱۴
- بررسی میزان تقلب در تولید کنسرو ماهی تن با استفاده از روش DNA بارکدینگ در ایران مونا ایوز، مهدی ذوالفقاری، مجتبی نصرصفهانی، حامد پاک‌نژاد..... ۳۶
- ارزیابی اثرات محیطی پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792) در قفس‌های جنوب دریای خزر (مطالعه موردی: قفس‌های پرورش ماهی کلارآباد) علینقی مقصدلو، سید عباس حسینی، رسول قربانی، عبدالعظیم فاضل، سعید اسماعیل پور ۵۰
- اثر غنی‌سازی جیره غذایی با اسید لاکتیک بر غلظت یون‌ها و پروتئین‌های پلاسما خون در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، *Oncorhynchus mykiss* سید مرتضی حسینی ۶۸
- خصوصیات جمعیتی ماهی حلوا سیاه (*Parastromateus niger* (Bloch, 1795) در آب‌های شمالی دریای عمان (استان سیستان و بلوچستان) علی ندیمی اشکان کماچایی، علی طاهری، سیداحمد رضا هاشمی..... ۷۸
- مطالعه اکولوژی زیستگاه‌های شاه میگو صخره‌ای (*Panulirus homarus* (Linnaeus, 1758) در سواحل استان سیستان و بلوچستان به منظور استقرار سازه‌های زیستگاه مصنوعی جهت احیاء ذخایر محمدرضا میرزائی، اشکان اژدری..... ۹۰
- مناسب‌ترین سن و وزن بچه‌ماهی ازون‌برون (*Acipenser stellatus*) برای رهاسازی به دریای خزر علیرضا عاشوری، ذبیح‌اله پژند، ایوب یوسفی جوردهی، اسماعیل حسین‌نیا، جواد صیادفر، جلیل جلیل‌پور..... ۱۰۵
- تأثیر استفاده هم‌زمان اسید لاکتیک و پروبیوتیک (*Lactobacillus acidophilus*) بر برخی معیارهای رشد، کیفیت لاشه و پارامترهای خونی در ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) محسن سلیمانی ایرانی، حسین اورجی، سکینه یگانه، فرید فیروزبخش، عبدالصمد کرامت..... ۱۱۸
- مقایسه خواص عملکردی پروتئین استخراج‌شده از ریزجلبک اسپیرولینا (*Spirulina Platensis*) با روش‌های مختلف ساناز اورجی، پرستو پورعاشوری، بهاره شعبانپور، سید ولی حسینی ۱۳۴
- بررسی میزان شیوع لیستریا مونوسایتوژنز و سالمونلا در ماهی، میگو و تخم‌مرغ ارائه شده در شهرستان شهرکرد، ایران (شیوع لیستریا و سالمونلا در ماهی، میگو و تخم‌مرغ) ابراهیم رحیمی، محمد امین حیدرزادی، نجمه واحد دهکردی ۱۴۶
- مقایسه اثر مشتق هیدرازون ۲- فیل تیو بنزوئیک اسید به عنوان یک ضد التهاب جدید با مفاصمیک اسید بر هیستولوژی بافت کبد و آنزیم‌های کبدی در ماهی گورامی سه خال (*Trichogaster trichopterus*) یاسمن خانی، طاهره ناجی، علی الماسی راد، همایون حسین‌زاده صحافی..... ۱۵۸
- اثر افزودن جلبک اسپیرولینا (*Spirulina platensis*) و مولتی آنزیم ناتوزیم بر عملکرد رشد، بازماندگی و شاخص‌های خونی بچه‌ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) محمدمتقی فرهادی، محمدرضا ایمان‌پور، رقیه صفری ۱۷۲

The effect of using synbiotic pectin and *Lactobacillus plantarum* on growth performance and expression of genes related to growth in beluga sturgeon (*Huso huso*)

Esmail Jabbari¹, Valiollah Jafari^{*2}, Roghieh Safari³, Seyed Hossein Hoseinifar⁴,
Mohammadreza Imanpour⁵

1. Ph.D. Student, Dept. of Aquaculture, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: arti.deh@gmail.com
2. Corresponding Author, Associate Prof., Dept. of Aquaculture, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: v.jafari.sh110@gmail.com
3. Associate Prof., Dept. of Aquaculture, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: fisheriessafari@yahoo.com
4. Associate Prof., Dept. of Aquaculture, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: hossein.hoseinifar@gmail.com
5. Professor, Dept. of Aquaculture, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: imanpoor53@yahoo.com

Article Info

ABSTRACT

Article type:

Full Length Research Paper

Article history:

Received: 02.20.2022

Revised: 05.28.2022

Accepted: 06.07.2022

Keywords:

Gene expression,
Growth performance,
Prebiotib,
Probiotic

Increasing the growth and immune system of beluga sturgeon (*Huso huso*) which is a valuable species is an important aim for aquaculture so The purpose of this study was to investigate the effect of pectin and *L. plantarum* on growth performance and growth genes of juvenile beluga sturgeon (*Huso huso*). Triplicate groups of beluga juveniles each (15 ± 3 g) were placed in 9 oval tanks (400) and fed with the 10^7 cfu g⁻¹, 10^8 cfu g⁻¹, pectin (1%), pectin (2%), 10^7 cfu g⁻¹ and 1% pectin, 10^7 cfu g⁻¹ and 2% pectin, 10^8 cfu g⁻¹ and 1% pectin, 10^8 cfu g⁻¹ and 2% pectin and control group. The trial lasted 8 weeks. At the end of experiment biometry was done and brain and liver tissue were separataed. Results showed that although pectin and *L. plantarum* could enhance growth factors separately, the highest FW, GW and SGR was observed in fish fed 10^8 cfu g⁻¹ and 2% pectin which had significant differences with others treatments and control ($P < 0.05$). Also the highest genes expression was in this treatment and the lowest in control. In general, pectin and *L. plantarum* could significantly affect growth performance in juvenile blugae.

Cite this article: Jabbari, Esmail, Jafari, Valiollah, Safari, Roghieh, Hoseinifar, Seyed Hossein, Imanpour, Mohammadreza. 2023. The effect of using synbiotic pectin and *Lactobacillus plantarum* on growth performance and expression of genes related to growth in beluga sturgeon (*Huso huso*). *Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics*, 12 (2), 1-12.



© The Author(s).

DOI: 10.22069/japu.2022.19976.1633

Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

تأثیر استفاده از سین‌بیوتیک پکتین و لاکتوباسیلوس پلانتروم (*Lactobacillus plantarum*) بر عملکرد رشد و بیان ژن‌های مرتبط با رشد بچه‌فیل ماهی (*Huso huso*)

اسماعیل جباری^۱، ولی‌اله جعفری^{۲*}، رقیه صفری^۲، سید حسین حسینی‌فر^۱، محمدرضا ایمان‌پور^۵

۱. دانشجوی دکتری گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: arti.deh@gmail.com
۲. نویسنده مسئول، دانشیار گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: v.jafari.sh110@gmail.com
۳. دانشیار گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: fisheriessafari@yahoo.com
۴. دانشیار گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: hossein.hoseinifar@gmail.com
۵. استاد گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: imanpoor53@yahoo.com

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: مقاله کامل علمی- پژوهشی	فیل ماهی از گونه‌های ارزشمند است که بهبود تغذیه آن‌ها جهت رسیدن به رشد بیش‌تر و افزایش سیستم ایمنی از اهداف مهم آبی‌پروری می‌باشد. به همین منظور هدف از این مطالعه بررسی اثر پکتین و لاکتوباسیلوس پلانتروم بر فاکتورهای رشد و بیان ژن‌های GH و IGF فیل ماهی می‌باشد. به همین منظور تعداد ۱۲۰ قطعه بچه‌فیل ماهی با میانگین وزنی 15 ± 3 گرم به صورت کاملاً تصادفی در تانک‌های ۴۰۰ لیتری توزیع شدند. تیمارها شامل شاهد، جیره حاوی پکتین (۱ درصد)، پکتین (۲ درصد)، پروبیوتیک <i>L. plantarum</i> (10^7 cfu g ⁻¹)، پروبیوتیک <i>L. plantarum</i> (10^8 cfu g ⁻¹)، ترکیب پروبیوتیک <i>L. plantarum</i> (10^7 cfu g ⁻¹) و پکتین (۱ درصد)، ترکیب پروبیوتیک <i>L. plantarum</i> (10^8 cfu g ⁻¹) و پکتین (۱ درصد)، ترکیب پروبیوتیک <i>L. plantarum</i> (10^7 cfu g ⁻¹) و پکتین (۲ درصد) و ترکیب پروبیوتیک <i>L. plantarum</i> (10^8 cfu g ⁻¹) و پکتین (۲ درصد) بودند. پس از ۸ هفته تغذیه زیست‌سنجی به منظور ارزیابی فاکتورهای رشد انجام شد و جهت ارزیابی بیان ژن نمونه‌برداری از مغز و کبد انجام شد. در پایان دوره آزمایش نتایج نشان داد که اگرچه استفاده از پکتین و لاکتوباسیلوس پلانتروم به صورت منفرد در جیره باعث افزایش عملکرد رشد شد اما بالاترین میزان وزن
تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۲/۰۱	
تاریخ ویرایش: ۱۴۰۱/۰۳/۰۷	
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۳/۱۷	
واژه‌های کلیدی: بیان ژن، پروبیوتیک، پروبیوتیک، عملکرد رشد	

نهایی، افزایش وزن و نرخ رشد ویژه و کم‌ترین میزان ضریب تبدیل غذایی در ماهیان تغذیه شده با سطح ۲ درصد پکتین و 10^8 cfu g^{-1} بود که اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها و گروه شاهد داشت ($P < 0/05$). هم‌چنین بیش‌ترین سطح بیان ژن‌های GH و IGF نیز در این تیمار مشاهده شد و کم‌ترین سطح بیان در گروه شاهد بود. به‌طورکلی ترکیب پکتین و لاکتوباسیلوس پلانتاروم به‌ترتیب ۲ درصد و 10^8 cfu g^{-1} در جیره دارای اثرات مثبت و معنی‌داری روی عملکرد رشد بچه‌فیل ماهی می‌باشد.

استناد: جباری، اسماعیل، جعفری، ولی‌اله، صفری، رقیه، حسینی‌فر، سید حسین، ایمان‌پور، محمدرضا (۱۴۰۲). تأثیر استفاده از سین‌بیوتیک پکتین و لاکتوباسیلوس پلانتاروم (*Lactobacillus plantarum*) بر عملکرد رشد و بیان ژن‌های مرتبط با رشد بچه‌فیل ماهی (*Huso huso*). نشریه بهره‌برداری و پرورش آبزیان، ۱۲ (۲)، ۱-۱۲.

DOI: 10.22069/japu.2022.19976.1633



© نویسندگان.

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

مقدمه

فیل ماهی یکی از مهم‌ترین گونه‌های ماهیان خاویار در قسمت جنوبی دریای خزر می‌باشد که به دلیل تولید خاویار با کیفیت و ارزشمندی گوشت از اهمیت به‌سزایی برخوردار است. این گونه از جهت رشد سریع، امکان تولیدمثل در شرایط اسارت، تامین لارو و بچه‌ماهی با هزینه کم‌تر گزینه بسیار مناسبی برای پرورش نسبت به سایر گونه‌های ماهیان خاویار به‌شمار می‌آید. امروزه به دلیل صید بی‌رویه جهت استحصال گوشت خاویار، تخریب زیستگاه‌ها و مکان‌های طبیعی تخم‌ریزی و وجود بیماری‌ها و عفونت‌ها در معرض خطر انقراض قرار گرفته است از این‌رو این گونه جهت تکثیر مصنوعی به صنعت آبزی‌پروری معرفی شده است (۱).

در صنعت آبزی‌پروری بهبود عملکرد رشد و افزایش مقاومت آبزیان از مهم‌ترین دغدغه‌های فعالان این صنعت می‌باشد بدین منظور مطالعات گسترده‌ای در خصوص یافتن ترکیبات مناسب جهت افزایش رشد و مقاومت آبزیان صورت گرفته است (۲). از جمله ترکیبات افزودنی به جیره که در سال‌های اخیر مورد توجه بسیاری از پژوهش‌گران قرار گرفته است. استفاده از پروبیوتیک‌ها و پربیوتیک‌ها در جیره آبزیان است. پروبیوتیک‌ها میکروارگانیسم‌های زنده‌ای هستند که اگر به‌اندازه کافی مصرف شوند از طریق حفظ تعادل جمعیت میکروبی روده می‌توانند به میزان سود برسانند همچنین با تولید ویتامین‌هایی مانند B2 و تجزیه ترکیبات غیر قابل هضم، اشتها را تحریک می‌کنند و شرایط تغذیه‌ای بهتری را در ماهی ایجاد می‌کنند (۳). میکروارگانیسم‌هایی به‌عنوان پروبیوتیک شناخته می‌شوند که بتوانند از جداره معده و روده عبور کرده و تکثیر یابند همچنین با تولید متابولیت‌های آنتاگونیستی با میکروفلور ساپروفیت به رقابت بپردازند این توانایی در گروه بزرگی از

باکتری‌های اسید لاکتیک (باکتوسل‌ها) مشاهده می‌شود (۴).

پربیوتیک‌ها نوع بسیار خاصی از مواد غذایی غیرقابل هضم در بدن هستند که به طور انتخابی سبب تحریک رشد و یا فعالیت یک یا تعداد محدودی از باکتری‌های روده بزرگ شده و با تغییرات سودمند خود منجر به بهبود سلامت میزبان می‌گردند (۵). مهم‌ترین محصول تولید شده از متابولیسم پربیوتیک‌ها اسیدهای چرب کوتاه زنجیر می‌باشند که می‌توانند از روده عبور کنند و به‌عنوان منبع انرژی مورد استفاده قرار گیرند و باعث بهبود جذب مواد غذایی شوند. تولید اسیدهای چرب کوتاه زنجیر منجر به کاهش pH روده شده که محیط مناسبی را برای رشد باکتری‌های اسیدلاکتیک فراهم می‌کند (۶).

اخیراً استفاده ترکیبی از این دو ماده تحت عنوان سین‌بیوتیک مطرح شده است که به‌عنوان مکمل در جیره آبزیان استفاده می‌شود. سین‌بیوتیک ترکیبی از پروبیوتیک و پربیوتیک است که از طریق حفظ غالبیت باکتری‌های پروبیوتیکی موجود در میکروبیوتای روده به‌واسطه مصرف پربیوتیک‌ها یا الیگوساکاریدهای غیرقابل هضم اثرات سودمندی بر میزبان دارد (۷). مطالعات متعددی در ارتباط با استفاده از پروبیوتیک، پربیوتیک و سین‌بیوتیک در جیره آبزیان و اثرات معنادار آن‌ها بر فاکتورهای رشد، اشتها، فاکتورهای بیوشیمیایی خون، افزایش بازده غذا، بهبود عملکرد دستگاه گوارش از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی و ساختار روده و بهبود پاسخ‌های ایمنی انجام شده است (۸، ۹، ۱۰، ۱۱).

مواد و روش‌ها

تهیه ماهی و شرایط آزمایشگاهی: تعداد ۱۲۰ قطعه بچه‌ماهی بامیانگین وزنی 15 ± 3 گرم از بخش خصوصی تهیه و به آزمایشگاه شهید ناصر فضلی

حاوی پکتین ۱ درصد (تیمار ۲)، پکتین ۲ درصد (تیمار ۳)، تیمار ۴ پروبیوتیک *L. plantarum* (10^7 cfu g⁻¹)، تیمار ۵ پروبیوتیک *L. plantarum* (10^8 cfu g⁻¹)، تیمار ۶ ترکیب پروبیوتیک *L. plantarum* (10^7 cfu g⁻¹) و پکتین ۱ درصد، تیمار ۷ ترکیب پروبیوتیک *L. plantarum* (10^8 cfu g⁻¹) و پکتین ۱ درصد، تیمار ۸ ترکیب پروبیوتیک *L. plantarum* (10^7 cfu g⁻¹) و پکتین ۲ درصد و تیمار ۹ ترکیب پروبیوتیک *L. plantarum* (10^8 cfu g⁻¹) و پکتین ۲ درصد تهیه شد (۱۲). مواد افزودنی با استفاده از محلول ژلاتین ۵ درصد به جیره پایه اسپری شدند. جیره شاهد تنها دارای محلول ژلاتین بود. غذاها پس از خشک شدن به کیسه‌های پلاستیکی منتقل و در یخچال نگهداری شدند.

برآبادی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان منتقل شدند. ماهیان پس از دو هفته سازگاری با محیط آزمایشگاه به صورت تصادفی در ۹ گروه با ۳ تکرار با تراکم ۱۳ عدد در هر تانک ۴۰۰ لیتری توزیع شدند و روزانه به میزان ۳ درصد وزن بدن به مدت ۸ هفته غذایی شدند. همه فاکتورهای فیزیوشیمیایی آب روزانه اندازه‌گیری و ۵۰ درصد آب تانک‌ها تعویض می‌شد.

تهیه غذا و تیماربندی: غذا از شرکت آبزیان مازندران ساری تهیه شد. پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلانناروم و پروبیوتیک پکتین پوست پرتغال مورد استفاده در این تحقیق به ترتیب از مرکز ارزیابی ذخایر زیستی ایران (IBRC-M 10917) و دانشگاه چیانگ مای تایلند تهیه شدند. هشت جیره شامل شاهد (تیمار ۱)، جیره

جدول ۱- تجزیه تقریبی جیره پایه (درصد ماده خشک).

۴۳	پروتئین
۱۷	چربی
۲/۵	فیبر
۱۲	خاکستر
۱۰	رطوبت
۴۳۰۰	انرژی (کالری در گرم)

ضریب تبدیل غذایی = مقدار کل غذای خورده شده / مقدار کل وزن اضافه شده
 کارایی پروتئین = مقدار وزن اضافه شده / درصد پروتئین جیره
 بقا = تعداد ماهیان بعد از دوره پرورش - تعداد ماهیان ابتدای دوره پرورش

نمونه‌برداری: در پایان ۸ هفته تغذیه ماهیان جهت نمونه‌برداری از مغز و کبد با محلول گل میخک بیهوش شدند و در شرایط کاملاً استریل بافت‌های مغز

اندازه‌گیری فاکتورهای رشد: ماهیان هر ۱۴ روز جهت تصحیح میزان غذا زیست‌سنجی می‌شدند. در پایان دوره آزمایش (۸ هفته) زیست‌سنجی نهایی به منظور سنجش پارامترهای رشد انجام شد و عملکرد رشد با استفاده از رابطه‌های زیر محاسبه شد (۱۲، ۱۳).

افزایش وزن بدن = وزن نهایی - وزن اولیه
 نرخ رشد ویژه = لگاریتم (وزن نهایی) - لگاریتم وزن اولیه / طول دوره پرورش (۱۰۰×)

صورت گرفت که محتویات هر تیوپ ۲۰ میکرولیتر بود. برای ساخت مستر ۱۰ میکرولیتر بافر سایبر گرین، ۱ میکرولیتر آغازگر پیش‌رونده ژن هدف، ۱ میکرولیتر آغازگر پس‌رونده ژن هدف، ۰/۲ میکرولیتر آنزیم تگ پلیمرز و ۶/۴ میکرولیتر آب عاری از نوکلئاز استفاده شد. هر ویال مخصوص PCR، محتوی ۲ میکرولیتر cDNA و ۱۸ میکرولیتر مستر بود.

طراحی پرایمر: جهت مطالعه بیان ژن از پرایمرهای اختصاصی ژن‌های هدف و رفرنس که بر اساس توالی‌های موجود در بانک ژن NCBI طراحی شدند استفاده گردید.

و کبد جدا شدند و پس از انتقال به میکروتیوپ‌های استریل بلافاصله به نیتروژن مایع منتقل شدند. سپس تا زمان استخراج RNA در فریزر ۸۰- نگهداری شدند.

استخراج RNA و سنتز cDNA: در این آزمایش استخراج RNA بر اساس پروتوکل استخراج RNA توسط ماده هضم‌کننده RNX-Plus انجام شد. هم‌چنین سنتز cDNA با استفاده از مسترمیکس سنتز cDNA شرکت جینت بایو محصول کشور کره و طبق دستورالعمل آن انجام شد.

انجام Real time PCR: در تیوپ‌های مخصوص آن و در ۴ تکرار تکنیکی برای هر تیمار

جدول ۲- توالی پرایمرهای (GH و IGF) و ژن رفرنس (B-Actine).

نام پرایمر	توالی	طول قطعه (جفت باز)	شماره دسترسی
GH-F	TGTGGCTCTCATGAGGGAT	200	AB517597.1
GH-R	CTGCATTTTCATCACTTTCAGG		
IGF-F	GACACGCTTTGTGTGTGGAG	190	AB512770.1
IGF-R	ACTCGTTCACGATGCCCTGTGGTG		
Beta-Actine-F	TTGCCATCCAGGCTGTGCT	215	AY878120.1
Beta-Actine-R	TCTCGGCTGTGGTGAA		

وزن نهایی، افزایش وزن و نرخ رشد ویژه در تیمار سین‌بیوتیک یعنی گروه ماهیان تغذیه شده با ترکیبی از ۲ درصد پکتین و 10^8 cfu g⁻¹ لاکتوباسیلوس پلانتاروم بود که اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد و تیمارهایی که تنها پرپیوتیک و پرپیوتیک در جیره آنها بود داشت ($P < 0/05$). بین سطوح مختلف پرپیوتیک با هم و پرپیوتیک با هم در این فاکتورها اختلاف معناداری مشاهده نشد هر چند این تیمارها با شاهد اختلافشان معنی‌دار بود ($P < 0/05$). کم‌ترین میزان ضریب تبدیل غذایی در تیمار ۸ (۲ درصد پکتین و 10^8 cfu g⁻¹)

تجزیه و تحلیل داده‌ها: بیان نسبی ژن‌های IGF و GH با استفاده از فرمول $2^{-\Delta\Delta ct}$ توسط نرم‌افزار اکسل انجام شد. هم‌چنین تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس دوطرفه با استفاده از نرم‌افزار Spss۲۲ انجام شد. آزمون دانکن جهت مقایسه میانگین داده‌ها مورد استفاده قرار گرفت.

نتایج

نتایج حاصل از ارزیابی عملکرد رشد در جدول ۳ خلاصه شده است. نتایج نشان داد که بالاترین میزان

تأثیر استفاده از سین بیوتیک پکتین و لاکتوباسیلوس پلانناروم ... / اسماعیل جباری و همکاران

مشاهده شد که اختلاف معنی داری با گروه شاهد و تیمارهای پریبیوتیکی و پروبیوتیکی داشت ($P < 0/05$). بالاترین ضریب تبدیل غذایی هم در گروه شاهد بود. عملکرد رشد در گروه ماهیان تغذیه شده با سطوح مختلف پروبیوتیک *L. plantarum* بهتر از تیمارهایی بود که در جیره آن‌ها از پریبیوتیک پکتین استفاده شده بود و این اختلافات در سطح معنی داری مشاهده شد ($P < 0/05$).

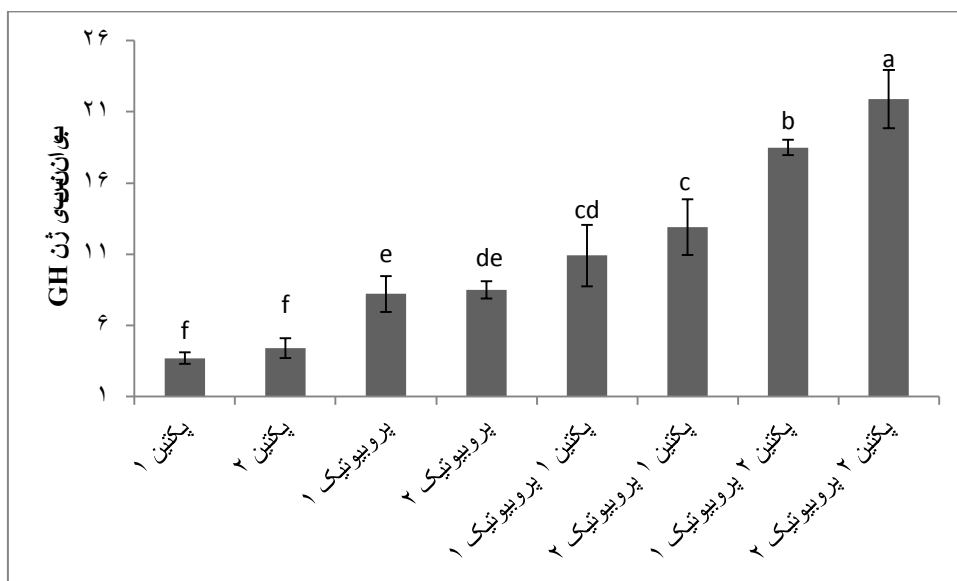
جدول ۳- نتایج حاصل از ارزیابی عملکرد رشد در تیمارهای مختلف.

عملکرد رشد	شاهد (۰)	تیمار ۱ (۱ درصد پکتین)	تیمار ۲ (۲ درصد پکتین)	تیمار ۳ (۱۰ ^۷ پروبیوتیک)	تیمار ۴ (۱۰ ^۸ پروبیوتیک)	تیمار ۵ (۱ درصد پکتین و ۱۰ ^۷ پروبیوتیک)	تیمار ۶ (۱ درصد پکتین و ۱۰ ^۸ پروبیوتیک)	تیمار ۷ (۲ درصد پکتین و ۱۰ ^۷ پروبیوتیک)	تیمار ۸ (۲ درصد پکتین و ۱۰ ^۸ پروبیوتیک)
وزن اولیه (g)	۹۱/۵۶±۱۵/۸۷	۹۱/۳۶±۱۵/۹۹	۹۲/۱۲±۱۵/۹۴	۹۲/۳±۱۵/۹۳	۹۱/۵۱±۱۵/۸۲	۹۱/۳۰±۱۵/۹۹	۹۱/۷۰±۱۵/۱۴	۹۲/۱۰±۱۵/۹۰	۹۲/۱۳±۱۵/۹۱
وزن نهایی (g)	۵/۱۴±۹۳/۶۸	۹/۰۳±۱۰۶/۹۳	۹/۷۵±۱۲۵/۳۶	۹/۱۷±۱۶۳/۱۳	۹/۱۳±۱۸۱/۱۸	۹/۶۴±۱۸۸/۹۲	۹/۲۱±۱۹۰/۸۲	۹/۶۳±۱۹۳/۵۴	۹/۵۵±۲۰۱/۱۶
افزایش وزن (g)	۴/۸۷±۷۷/۸۱	۵/۸۳±۱۰۲/۰۰	۵/۳۵±۱۰۰/۹۴	۷/۹۱±۱۴۳/۲۳	۷/۶۲±۱۴۶/۹۶	۷/۴۷±۱۶۷/۹۹	۷/۶۳±۱۷۵/۵۸	۷/۶۸±۱۷۷/۳۳	۷/۶۸±۱۸۵/۲۵
نرخ رشد ویژه (درصد)	۵۰/۱۰±۳/۱۷	۶۰/۱۲±۳/۶۲	۶۰/۳۲±۳/۶۸	۸۰/۴۱±۴/۱	۸۰/۲۳±۴/۱۶	۸۰/۰۲±۴/۳۶	۸۰/۲۴±۴/۵۳	۸۰/۲۲±۴/۴۷	۸۰/۲۸±۴/۵۴
ضریب تبدیل غذایی	۹۰/۱۴±۱/۸۳	۸۰/۱۱±۱/۴۲	۸۰/۰۵±۱/۴۱	۷۰/۰۷±۱/۱۴	۷۰/۱۴±۱/۲۱	۷۰/۰۹±۱/۰۹	۷۰/۰۸±۱/۰۲	۷۰/۰۶±۱/۰۴	۷۰/۰۳±۱/۰۱
بازماندگی (درصد)	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰

حروف مختلف در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی دار می باشد

کرده است. بین سطوح مختلف تیمارهای پریبیوتیکی با هم و همچنین تیمارهایی که در جیره آن‌ها از پروبیوتیک استفاده شده بود اختلاف معنی داری مشاهده نشد ($P > 0/05$) هر چند میزان بیان در گروه‌های پروبیوتیکی بالاتر بود و اختلاف معنی داری را با گروه‌های پریبیوتیکی نشان دادند ($P < 0/05$).

نتایج به دست آمده از ارزیابی بیان ژن رشد در شکل ۱ خلاصه شده است. نتایج نشان داد که بالاترین سطح افزایش بیان ژن رشد در تیمار سین بیوتیک (۲ درصد پکتین و 10^8 cfu g⁻¹) بود که اختلاف معنی داری با سایر تیمارها و گروه شاهد داشت ($P < 0/05$). به طور کلی با افزایش سطح مصرف پکتین و *L. plantarum* میزان بیان ژن رشد نیز افزایش پیدا

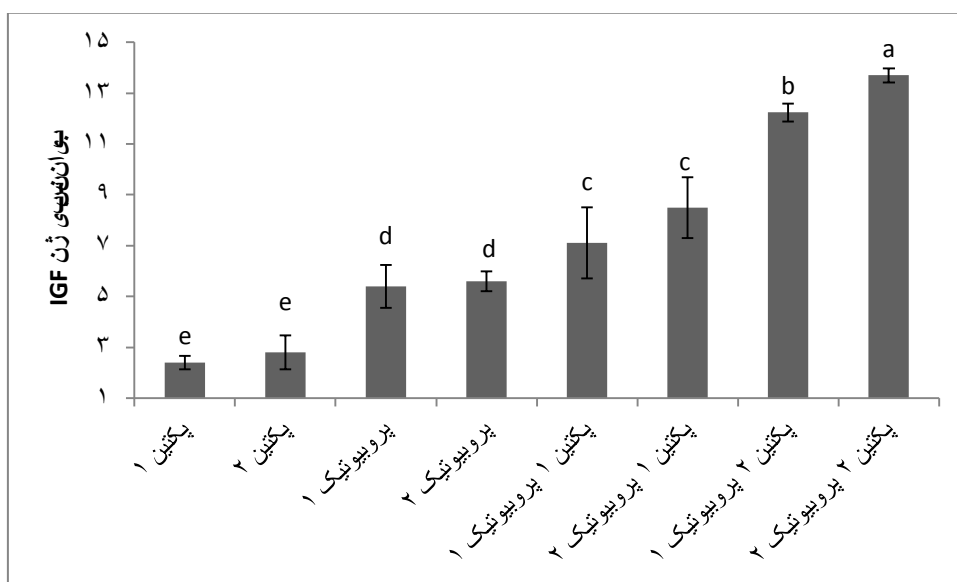


شکل ۱- نتایج حاصل از ارزیابی بیان ژن رشد در تیمارهای مختلف.

حروف مختلف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار می‌باشد

سطح بیان در گروه شاهد بود و تیمارهای مختلف اختلافشان در سطح معنی‌داری با شاهد مشاهده شد ($P < 0.05$). با افزایش سطح استفاده از سینبیوتیک، پروبیوتیک و پریبیوتیک در جیره به ترتیب افزایش سطح بیان در ژن IGF مشاهده شد.

شکل ۲ بیانگر نتایج به‌دست آمده از بیان نسبی ژن IGF تحت تأثیر سطوح مختلف پریبیوتیک، پروبیوتیک و سینبیوتیک در جیره می‌باشد. بیان ژن IGF نیز الگویی مشابه ژن رشد را تیمارهای مختلف نشان داد. بالاترین سطح بیان این ژن در تیمار ۸ و کم‌ترین



شکل ۲- نتایج حاصل از ارزیابی بیان ژن IGF.

حروف مختلف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌داری می‌باشد

بحث و نتیجه‌گیری

در این پژوهش تغییرات مشاهده شده بین تیمارهای مختلف در شاخص‌های رشد نشان داد که اضافه کردن ترکیب ۲ درصد پکتین و 10^8 cfu g⁻¹ *L. plantarum* به جیره غذایی فیل‌ماهی منجر به افزایش معنی‌دار در برخی پارامترهای رشد و بهبود ضریب تبدیل غذایی شد. اگرچه استفاده از پکتین و *L. plantarum* به صورت منفرد نیز بهبود عملکرد رشد را به دنبال داشت اما مطلوب‌ترین نتیجه در تیمار سین‌بیوتیک مشاهده شد.

هدف نهایی آبی‌پروری رسیدن به رشد سریع و کاهش ضریب تبدیل غذایی می‌باشد. از این رو برای رسیدن به این هدف استفاده از پروبیوتیک‌ها و پریبیوتیک‌ها در رژیم غذایی آبزیان مورد توجه بسیاری از پرورش‌دهندگان قرار گرفته است. در مطالعه‌ای که از پکتین پوست پرتغال در جیره ماهی تیلاپای نیل استفاده گردید اثر مثبت این ماد بر فاکتورهای رشد گزارش شد (۱۴). هم‌چنین پژوهش‌گران دیگری نیز اثرات سودمند استفاده از پکتین را در جیره آبزیان تأیید کردند (۱۵).

افزایش رشد قابل‌ملاحظه در نتیجه استفاده از پریبیوتیک‌ها در جیره گونه‌های مختلف ماهی در مطالعات متعددی بررسی شده است. طی گزارشی استفاده از پریبیوتیک گالاکتوالیگوساکارید باعث افزایش فاکتورهای رشد در ماهی سی‌باس شد (۱۶) در مطالعه‌ای دیگر که بر روی هیبرید بایری و اسپچنکی انجام شد، نتایج نشان دادند که استفاده از پریبیوتیک رافینوز در جیره باعث بهبود عملکرد رشد می‌شود (۱۷) که همگی هم‌راستا با نتایج این پژوهش می‌باشند. بهبود عملکرد رشد حاصل از مصرف پکتین می‌تواند باعث افزایش جمعیت باکتری‌های مفید روده شود و در نتیجه بهبود عملکرد هضم را به دنبال داشته باشد (۱۸). باکتری‌های موجود در روده قادرند از طریق تخمیر پکتین خواص پریبیوتیکی آن را آزاد کنند

که منجر به افزایش فعالیت آنزیم‌های هضمی از جمله آمیلاز، لیپاز و پروتئاز شده (۱۹) و این امر افزایش اشتها، تولید ویتامین‌ها، حذف ترکیبات غیرقابل هضم و بهبود ساختار روده و افزایش جذب را به دنبال دارد (۲۰). هم‌چنین پکتین سرشار از ترکیبات زیست‌فعال می‌باشد که می‌تواند رشد را افزایش دهد (۲۱).

پروبیوتیک‌ها از طریق فعالیت‌های متابولیکی خود می‌توانند تأثیرات مثبتی را بر عملکرد رشد ماهیان داشته باشند. گزارش‌های متعددی بیانگر عملکرد مثبت باکتری‌های اسیدلاکتیک بر رشد است. استفاده از 10^8 cfu g⁻¹ لاکتوباسیلوس پلانناروم در جیره ماهی تیلاپای نیل باعث بهبود عملکرد رشد شد (۲۲) که هم‌راستا با نتایج به دست آمده از این پژوهش می‌باشد هم‌چنین افزایش فاکتورهای رشد در نتیجه استفاده از پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلانناروم در جیره ماهی هامور گزارش شد (۲۳). طی گزارشی مشخص شد که افزودن سطوح مختلف ساکارومایسس سرویزیا به جیره بچه‌فیل‌ماهیان اثرات معنی‌داری بر شاخص‌های رشد بود و موجب افزایش معنی‌داری در وزن ماهیان گردید (۲۴). نتایج این مطالعه نیز افزایش مثبت و معنی‌دار استفاده از لاکتوباسیلوس پلانناروم را بر فاکتورهای رشد فیل‌ماهی نشان می‌دهد. پروبیوتیک‌ها هنگام ورود به روده میزبان به سطح روده متصل می‌شوند و از کربوهیدرات‌های موجود در محیط روده برای رشد و تولید آنزیم‌های هضم‌کننده استفاده می‌کنند این آنزیم‌ها از طریق هضم مواد آلی و پروتئین‌ها سبب افزایش رشد در میزبان می‌شوند هم‌چنین پروبیوتیک‌ها از طریق افزایش فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز باعث تحریک، توسعه و رشد پرزهای سطح غشای انتروسیت روده می‌شوند که این امر منجر به افزایش جذب کربوهیدرات‌ها و لیپیدها شده و افزایش وزن بیش‌تر را به دنبال دارد (۲۵).

است (۳۱). در این پژوهش سطح بیان GH و IGF تحت تأثیر غذای حاوی پکتین و لاکتوباسیلوس پلانناروم به مقدار قابل ملاحظه‌ای افزایش یافت. ارتباط بین سیستم عصبی مرکزی و باکتری‌هایی که در روده زیست می‌کنند هنوز مشخص نیست. اگر باکتری‌ها قادر به کنترل بیان IGF و رسپتور I-GHR باشند، هورمون‌های رشد و هورمون‌های استروئیدی می‌توانند از طریق میانجیگری دسته‌ای از سیگنال‌ها افزایش یابند. هم‌چنین مطالعات نشان دادند که افزایش سطح گلیکولیز در سلول که از طریق دهیدروژنه شدن گلوکز ۶ فسفات (G6PD) به وجود می‌آید، نشان‌دهنده مصرف انرژی توسط ماهی جهت افزایش رشد می‌باشد که میزان G6PD در بافت‌های کبد و ماهیچه تیمارهایی که از جیره حاوی پروبیوتیک و پروبیوتیک استفاده کرده بودند افزایش معنی‌داری را نشان داد (۳۲). نتایج مشابه با این پژوهش را روی ماهی تیلاپیا که با لاکتوباسیلوس پلانناروم و بتاگلوکان تغذیه شده بود گزارش شد (۳۳).

از این پژوهش می‌توان چنین نتیجه گرفت که لاکتوباسیلوس پلانناروم همراه با پکتین توانسته جمعیت غالب فلور باکتریایی روده فیل ماهی را تشکیل دهد و از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی و افزایش هضم و جذب بهبود عملکرد رشد را به دنبال داشته باشد هم‌چنین با تحت تأثیر قرار دادن قابل ملاحظه میزان بیان ژن‌های GH و IGF تأثیر ۲ درصد پکتین و 10^8 cfu g^{-1} لاکتوباسیلوس پلانناروم به صورت ترکیبی، در سطح ملکولی نیز تأیید می‌شود.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله نهایت تشکر و قدردانی خود را از همه اساتید و پرسنل دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان دارند.

اگرچه استفاده از پروبیوتیک و پروبیوتیک به صورت مجزا دارای اثرات سودمندی بر رشد ماهی می‌باشد، اخیراً استفاده از مجموع این دو مکمل در جیره تحت عنوان سین‌بیوتیک بیش‌تر مورد توجه قرار گرفته و می‌تواند به مراتب اثرات مطلوب‌تری را بر عملکرد رشد ماهی داشته باشد. در این پژوهش نیز بیش‌ترین افزایش رشد و کم‌ترین ضریب تبدیل غذایی در ماهیان تغذیه شده با ترکیب پکتین و لاکتوباسیلوس پلانناروم بود که با سایر تیمارها و گروه شاهد اختلاف معنی‌داری داشت. با توجه به مطالب گفته شده می‌توان چنین استنباط کرد که باکتری‌های موجود در سین‌بیوتیک تحت تأثیر استفاده از پکتین در رقابت با میکروفلور روده پیروز شده و موفق به تشکیل کلنی مؤثر می‌شوند و از این طریق باعث افزایش بازده استفاده از پروتئین‌های موجود در جیره غذایی فیل ماهی شده و فعالیت آنزیم‌های پروتئاز و تریپسین را افزایش می‌دهند که در نهایت رشد نیز افزایش می‌یابد. هم‌راستا با این نتایج گزارش‌های متعدد دیگری نیز، تأثیر مثبت استفاده از سین‌بیوتیک را به ترتیب در جیره ماهیان تیلاپیا قرمز، میگو و تیلاپیا قرم و خاویارز به اثبات رساندند (۲۶، ۲۷، ۲۸).

ارتباط پیچیده‌ای بین GH و IGF وجود دارد که می‌تواند نقش مهمی را در تحریک رشد ایفا کند. سطوح GH موجود در پلاسما باعث افزایش ترشح IGF در کبد می‌شود که این امر ارتباط مثبتی با میزان نرخ رشد دارد (۲۹). IGF هورمونی مهم با عملکردهای بیولوژیک متفاوت از جمله تنظیم متابولیسم سلولی، تسریع رشد سلول، تقسیم و تمایز سلول، توسعه جنین، تنظیم رشد و فشار اسمزی می‌باشد (۳۰). میزان بیان IGF تحت تأثیر عواملی هم‌چون نوع بافت، تغذیه و استرس‌های محیطی متغیر

منابع

1. Mohseni, M., Pourali, H. R., Kazrmi, R., & Bai, S. C. (2013). Evaluation of the optimum dietary protein level for the maximum growth of juvenile beluga: *Huso huso* L. 1758. *Aquaculture research*. 45, 1832-1841.
2. Harikrishnan, R., Kim, M. C., Kim, J. S., Balasundaram, C., & Heo, M. S. (2011). Probiotics and herbal mixtures enhance the growth, blood constituents, and nonspecific immune response in *Paralichthys olivaceus* against *Streptococcus parauberis*. *Fish Shellfish Immunol*. 31, 310-317.
3. Gatesoupe, F. J. (1999). The use of probiotics in aquaculture: a review. *Aquaculture*. 180, 147-165.
4. Mahious, A. S., & Ollevier, F. (2005). Probiotics and prebiotics in aquaculture: review. 1st regional workshop on techniques for enrichment of live food for use in larviculture. AAARC. Pp: 17-26.
5. Manning, T. S., & Gibson, G. R. (2004). Prebiotics. *Best Practice and Research Clinical Gastroenterology*. 18, 287-298.
6. Wang, T., Cheng, Y., Chen, X., Liu, Z., & Long, X. (2017). Effects of small peptides, probiotics, prebiotics, and synbiotics on growth performance, digestive enzymes, and oxidative stress in orange-spotted grouper, *Epinephelus coioides*, juveniles reared in artificial seawater. *Chin. J. Oceanol. Limno*. 35, 89-97.
7. Azevedo, R. V. J. C., Fosse-Filho, S. L., Pereira, D. R., & Vidal-Júnior, M. V. (2016). Prebiotic, probiotic and synbiotic to *Trichogaster leeri* larvae. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec*. 68, 795-804.
8. Nguyen, N., Onoda, S., Khanh, T. V., Hai, P. D., Trung, N. T., & Koshio, S. (2011). Evaluation of dietary heat-killed *Lactobacillus plantarum* strain L-137 supplementation on growth performance, immunity and stress resistance of Nile tilapia: *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture*. 498, 371-379.
9. Li, Y., Liu, H., Dai, X., Li, J., & Ding, F. (2018). Effects of dietary inulin and mannan oligosaccharide on immune related genes expression and disease resistance of Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Fish and Shellfish Immunology*. 76, 78-92.
10. Soares, M. P., Oliviera, F. C., Cardoso, I. L., Urbianty, E. C., Campos, C. M., & Hisano, H. (2018). Glucan-MOS® improved growth and innate immunity in pacu stressed and experimentally infected with *Aeromonas hydrophila*. *Fish & Shellfish Immunology*. 73, 133-140.
11. Nan, B., Min, Gu., Xiaojie, Xu., Bingying, Xu., & Ashild, K. (2017). Protective effects of mannan oligosaccharides on turbot *Scophthalmus maximus* suffering from soy enteropathy. *Aquaculture*. 476, 141-151.
12. Bekcan, S., Dogankaya, L., & Cakirogullari, G. C. (2006). Growth and body composition of European catfish *Silurus glanis*. fed diets containing different percentages of protein. *The Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh*. 58, 137-142.
13. Hevroy, E., Espe, M., Waagbo, R., Sandnes, K., Ruud, M., & HEMR, G. I. (2005). Nutrient utilization in Atlantic salmon: *Salmo salar* L. fed increased levels of fish protein hydrolysate during a period of fast growth. *Aquaculture Nutrition*. 11, 301-313.
14. Van Doan, H., Hoseinifar, S. H., Naraballoh, W., Jaturasitha, S., Tongsiri, S., Chitmanat, C., et al. (2019). Dietary inclusion of Orange peels derived pectin and *Lactobacillus plantarum* for Nile tilapia: *Oreochromis niloticus* cultured under indoor biofloc systems. *Aquaculture*. 508, 98-105.
15. Ho, Y. Y., Lin, C. M., & Wu, M. C. (2017). Evaluation of the prebiotic effects of citrus pectin hydrolysate, *Journal of Food and Drug Analysis*. 25, 550-558.
16. Rahimnejad, S., Guardiola, F. A., Leclercq, E., Angeles Esteban, M., Castex, M., Sotoudeh, E., & Lee, S. M. (2018). Effects of dietary supplementation with *Pediococcus acidilactici* MA18/5M, galactooligosaccharide and their synbiotic on growth, innate immunity and disease resistance of rockfish: *Sebastes schlegeli*. *Aquaculture*. 482, 36-44.
17. Xu, G., Xing, W., Li, T., Ma, Z., Liu, C., Jiang, N., & Luo, L. (2018). Effects of 570 dietary raffinose on growth, non-specific immunity, intestinal morphology and microbiome of juvenile

- hybrid sturgeon (*Acipenser baeri* Brandt ♀ × *A. schrenckii* Brandt ♂), *Fish & Shellfish Immunology*. 72, 237-246.
18. Wang, An. R., Ran, C., Ringø, E., & Zhou Zhi, G. (2017). Progress in fish gastrointestinal microbiota research, *Reviews in Aquaculture*. 32, 235-247.
 19. Dawood, M. A. O., & Koshio, S. (2016). Recent advances in the role of probiotics and prebiotics in carp aquaculture: A review. *Aquaculture*. 454, 243-251.
 20. Irianto, A., & Austin, B. (2002). Probiotics in aquaculture. *Journal of Fish Diseases*. 25, 649-654.
 21. Oluremi, O., Ngi, J., & Andrew, I. (2007). Phytonutrients in citrus fruit peel meal and nutritional implication for livestock production. *Livestock Research for Rural Development*. 19, 1-5.
 22. Van Doan, H., Hoseinifar, S. H., Dawood, M. A. O., Chitmanat, C., & Tayyamat, K. (2017). Effects of *Cordyceps militaris* spent mushroom substrate and *Lactobacillus plantarum* on mucosal, serum immunology and growth performance of Nile tilapia: *Oreochromis niloticus*. *Fish & Shellfish Immunology*. 70, 87-94.
 23. Son, V. M., Chang, C. C., Wu, M. C., Guu, Y. K., Chiu, C. H., & Cheng, W. (2009). Dietary administration of the probiotic, *Lactobacillus plantarum*, enhanced the growth, innate immune responses, and disease resistance of the grouper *Epinephelus coioides*. *Fish & Shellfish Immunology*. 26, 691-698.
 24. Hoseinifar, S. H., Mirvaghefi, A. R., Mojazi Amiri, B., Khoshbavar Rostami, H. A., Poor Amini, M., & 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 juvenile Beluga *Huso huso*. *Iranian Scientific Fisheries Journal*. 19, 55-66.
 25. Lara-Flores, M. (2011). The use of probiotic in aquaculture: an overview. *International Research Journal of Microbiology*. 2, 471-478.
 26. Sewaka, M., Trullas, C., Chotiko, A., Rodkhum, C., Chansue, N., Boonanuntanasarn, S., & Pirarat, N. (2019). Efficacy of synbiotic Jerusalem artichoke and *Lactobacillus rhamnosus* GG-supplemented diets on growth performance, serum biochemical parameters, intestinal morphology, immune parameters and protection against *Aeromonas veronii* in juvenile red tilapia: *Oreochromis spp.* *Fish & Shellfish Immunology*. 86, 260-268.
 27. Hu, X., Cao, Y., Wen, G., Zhang, X., Xu, Y., Xu, W., Xu, Y., & Li, Z. (2017). Effect of combined use of *Bacillus* and molasses on microbial communities in shrimp cultural enclosure systems. *Aquaculture Research*. 48, 2691-2705.
 28. Hoseinifar, S. H., Ringø, E., Shenavar Masouleh, A., & Esteban, M. Á. (2016). Probiotic, prebiotic and synbiotic supplements in sturgeon aquaculture: a review. *Reviews in Aquaculture*. 8, 89-102.
 29. Duan, C., Duguay, S. J., & Plisetskaya, E. M. (1993). Insulin-like growth factor I (IGF-I) mRNA expression in Coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*: tissue distribution and effects of growth hormone/prolactin family proteins. *Fish Physiol. Biochem.* 11, 371-379.
 30. Zheng, K. D., Chen, X. C., & Li, Y. W. (2007). Molecular cloning, sequence analysis and tissue expression of insulin-like growth factor-I in Chinese Sucker, *Myxocyprinus asiaticus*. *Chin. J. Zool.* 42, 39-45. [In China, with English abstract]
 31. Deng, L., Zhang, W. M., Lin, H. R., & Cheng, C. H. K. (2004). Effects of food deprivation on expression of growth hormone receptor and proximate composition in liver of black seabream *Acanthopagrus schlegeli*. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part B: Biochemistry and Molecular Biology*. 137, 421-432.
 32. Azaza, M. S., Assad, A., Maghrbi, W., & El-Cafsi, M. (2013). The effects of rearing density on growth, size heterogeneity and inter-individual variation of feed intake in monosex male Nile tilapia *Oreochromis niloticus* L. *Animal*. 7, 1865-1874.
 33. Dawood, M.A.O., Eweedah, N.M., Moustafa, E.M., & Shahin, M.G. (2019). Synbiotic Effects of *Aspergillus oryzae* and β -Glucan on Growth and Oxidative and Immune Responses of Nile Tilapia., *Oreochromis niloticus*. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*. Pp: 1-12.

The effects of dietary supplemented oyster mushroom powder (*Pleurotus ostreatus*) on growth performance, immunity of skin mucus and blood serum and mucus protein pattern of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings

Hossein Arab¹, Hamed Pakenjad^{*2}, Seyed Hossein Hoseinifar³,
Mohammad Reza Imanpour⁴, Ali Jafarnoudeh⁵, Mohsen Tajari⁶

1. Dept. of Aquaculture, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: hossein.arab03@gmail.com
2. Corresponding Author, Dept. of Aquaculture, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: hkolangi@gmail.com
3. Dept. of Aquaculture, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: hossein.hoseinifar@gmail.com
4. Dept. of Aquaculture, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: imanpoor@gau.ac.ir
5. Dept. of Aquaculture, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: a.jafar55@gmail.com
6. Dept. of Fisheries, Bandargaz Branch, Islamic Azad University, Bandargaz, Iran. E-mail: m.tajari1356@gmail.com

Article Info

Article type:
Full Length Research Paper

Article history:
Received: 07.08.2022
Revised: 08.03.2022
Accepted: 12.24.2022

Keywords:
Growth,
Immune index,
Mucus protein pattern,
Nile tilapia,
Oyster mushroom

ABSTRACT

Mushrooms have a large amount of biologically active compounds such as prebiotics. In the present study, we tested the effect of supplementing oyster mushroom powder in the diet on growth performance, survival, serum and mucus immune parameters and mucus protein pattern of Nile tilapia fingerlings. Therefore, 200 pieces of Nile tilapia fingerlings with an average weight of 9.15 ± 0.09 g were prepared and then, they were fed with oyster mushroom powder at four levels including 0, 0.5, 1 and 2 g kg⁻¹ diet by 3% of their body weight per day (three replications). At the end of the experiment, biometry was performed to measure the growth performance. Also, some serum and mucus immune parameters such as total immunoglobulin and lysozyme were investigated. The protein pattern of skin mucus was evaluated by sodium dodecyl-sulfate polyacrylamide gel electrophoresis method. The results showed that the best growth performance and the highest levels of lysozyme and mucus immunoglobulin were significantly in the group fed with a diet containing 2 g oyster mushroom powder compared to the control group ($P < 0.05$). The amount of lysozyme and total serum immunoglobulin was significantly higher in the treatments fed with 0.5 and 1 g of oyster mushroom powder, respectively, compared to the control group ($P < 0.05$). The protein bands ranged from 11 to 100 kilo Daltons. The density of bands in the treatment of oyster mushroom powder was higher compared to the control group. In general, the results showed that the diet containing 2 g of oyster mushroom powder had more positive effects on growth performance, protein pattern and some immune parameters of mucus and serum of Nile tilapia fingerlings.

Cite this article: Arab, Hossein, Pakenjad, Hamed, Hoseinifar, Seyed Hossein, Imanpour, Mohammad Reza, Jafarnoudeh, Ali, Tajari, Mohsen. 2023. The effects of dietary supplemented oyster mushroom powder (*Pleurotus ostreatus*) on growth performance, immunity of skin mucus and blood serum and mucus protein pattern of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings. *Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics*, 12 (2), 13-33.



اثرات مکمل‌سازی پودر قارچ صدفی (*Pleurotus ostreatus*) در جیره غذایی بچه‌ماهی تیلاپای نیل (*Oreochromis niloticus*) بر عملکرد رشد، ایمنی موکوس پوست و سرم خون و الگوی پروتئینی موکوس

حسین عرب^۱، حامد پاک‌نژاد^{۲*}، سید حسین حسینی‌فر^۳، محمدرضا ایمانپور^۴، علی جعفرنوده^۵، محسن تجری^۶

۱. گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: hossein.arab03@gmail.com
۲. نویسنده مسئول، گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: hkolangi@gmail.com
۳. گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: hossein.hoseinifar@gmail.com
۴. گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: imanpoor@gau.ac.ir
۵. گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: a.jafar55@gmail.com
۶. گروه شیلات، واحد بندرگز، دانشگاه آزاد اسلامی، بندرگز، ایران. رایانامه: m.tajari1356@gmail.com

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: مقاله کامل علمی- پژوهشی	قارچ‌ها دارای شمار زیادی از ترکیبات فعال بیولوژیکی مانند پری‌بیوتیک‌ها هستند. در پژوهش حاضر، اثر مکمل‌سازی پودر قارچ صدفی در جیره بر عملکرد رشد، بازماندگی، شاخص‌های ایمنی سرم، موکوس و الگوی پروتئینی موکوس بچه‌ماهیان تیلاپای نیل بررسی شد. از این رو، تعداد ۲۰۰ قطعه بچه‌ماهی تیلاپای نیل با میانگین وزنی 0.09 ± 0.15 گرم تهیه و با پودر قارچ صدفی در چهار سطح ۰ (گروه شاهد)، ۰/۵، ۱ و ۲ گرم به ازای کیلوگرم جیره با میزان ۳ درصد وزن بدن به مدت ۶۰ روز تغذیه شدند. در انتهای آزمایش برای بررسی عملکرد رشد زیست‌سنجی به‌طور تصادفی از تمام گروه‌ها انجام شد. همچنین، برخی از شاخص‌های ایمنی سرم خون و موکوس پوست شامل ایمنوگلوبولین کل و فعالیت لیزوزیم بررسی شدند. الگوی پروتئینی موکوس پوست به روش الکتروفورز ژل سدیم دو سولفات پلی‌آکریل امید ارزیابی شد. نتایج نشان داد که بهترین عملکرد رشد و بیش‌ترین میزان لیزوزیم و ایمنوگلوبولین موکوس به‌طور معناداری در مقایسه با گروه شاهد مربوط به گروه تغذیه شده با جیره حاوی ۲ گرم پودر قارچ صدفی می‌شد ($P > 0.05$). میزان لیزوزیم و ایمنوگلوبولین کل سرم به ترتیب در تیمارهای تغذیه شده با ۰/۵ و ۱ گرم پودر قارچ صدفی در
تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۴/۱۷	
تاریخ ویرایش: ۱۴۰۱/۰۵/۱۲	
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۰/۰۳	
واژه‌های کلیدی: الگوی پروتئینی موکوس، تیلاپای نیل، رشد، شاخص ایمنی، قارچ صدفی	

مقایسه با گروه شاهد به‌طور معناداری بالاتر بود ($P > 0.05$). باندهای پروتئینی محدوده‌ای از ۱۱ تا ۱۰۰ کیلو دالتون داشتند. تراکم باندها در تیمارهای تغذیه شده با پودر فارچ صدفی در مقایسه با گروه شاهد بیش‌تر بود. به‌طور کلی نتایج نشان داد که جیره مکمل شده با ۲ گرم پودر فارچ صدفی اثرات مثبتی بر شاخص‌های رشد، الگوی پروتئینی و برخی از شاخص‌های ایمنی موکوس و سرم بچه‌ماهی تیلاپپای نیل داشت.

استناد: عرب، حسین، پاک‌نژاد، حامد، حسینی‌فر، سید حسین، ایمانی‌پور، محمدرضا، جعفرنوده، علی، تجری، محسن (۱۴۰۲). اثرات مکمل‌سازی پودر فارچ صدفی (*Pleurotus ostreatus*) در جیره غذایی بچه‌ماهی تیلاپپای نیل (*Oreochromis niloticus*) بر عملکرد رشد، ایمنی موکوس پوست و سرم خون و الگوی پروتئینی موکوس. نشریه بهره‌برداری و پرورش آبزیان، ۱۲ (۲)، ۳۳-۱۳.

DOI: 10.22069/japu.2022.20406.1685



© نویسندگان.

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

مقدمه

در طی سالیان گذشته استفاده پیشگیرانه و درمانی از آنتی‌بیوتیک‌ها مرسوم بود. به طوری که استفاده بیش از حد از آنتی‌بیوتیک‌ها پیامدهایی مانند: ظهور باکتری‌های مقاوم، باقی ماندن بقایای آنتی‌بیوتیکی در گوشت ماهیان و خطر انتقال آن به انسان از طریق زنجیره غذایی و نیز آلودگی‌های زیست‌محیطی را به دنبال داشته است (۱). بنابراین، استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در بسیاری از کشورها به واسطه وضع قوانین، محدود و یا ممنوع شده است (۲). از این رو، در دهه‌های اخیر از محرک‌های ایمنی به عنوان یک راهکار و جایگزینی مناسب برای آنتی‌بیوتیک‌ها به منظور تحریک سیستم ایمنی میزبان در برابر عوامل بیماری‌زا استفاده می‌گردد (۳). پروبیوتیک‌ها، پریبیوتیک‌ها، سین‌بیوتیک‌ها، گیاهان دارویی، عصاره‌های گیاهی، رنگدانه‌ها و اسیدهای آلی نمونه‌های بارزی از محرک‌های ایمنی و رشد می‌باشند که به خصوص در سال‌های اخیر در آبی‌پروری مورد استفاده قرار می‌گیرند (۴، ۵، ۶، ۷، ۸، ۹، ۱۰، ۱۱، ۱۲، ۱۳).

پریبیوتیک‌ها، اجزای غذایی غیر قابل هضم بوده که با تحریک رشد فلور میکروبی روده میزبان، سلامت میزبان را تأمین می‌نمایند (۱۴). یکی از این اجزای غذایی مهم، الیگوساکاریدهای غیر قابل هضم می‌باشند (۱۵). اولیگوساکاریدهای غیر قابل هضم کربوهیدرات‌هایی با وزن مولکولی کم و حد واسط بین قندهای ساده و پلی‌ساکاریدها می‌باشند (۱۶). از جمله مواد غذایی که دارای ترکیبات پریبیوتیکی است قارچ خوراکی صدفی با نام علمی *Pleurotus ostreatus* می‌باشد (۱۷). در حدود ۱۲۰۰۰ گونه قارچ در جهان وجود دارد که تنها کم‌تر از ۲۰۰۰ هزار گونه آن خوراکی است (۱۸). قارچ‌ها دارای شمار زیادی از ترکیبات فعال بیولوژیکی مانند: پلی‌ساکاریدها، گلیکوپروتئین‌ها،

تری‌ترین‌ها و آنتی‌بیوتیک‌ها هستند (۱۹). در همین راستا، خصوصیت آنتی‌اکسیدانی قارچ صدفی توسط Jayakumar و همکاران (۲۰۰۹) مورد مطالعه قرار گرفته است (۲۰). Kamilya و همکاران، (۲۰۰۶) اثرات بتاگلوکان موجود در یکی از گونه‌های قارچ صدفی (*Pleurotus florida*) را روی سیستم ایمنی ماهی کپورهندی *Catla catla* مورد بررسی قرار دادند و گزارش کردند که افزودن این قارچ باعث افزایش میزان بازماندگی و کاهش تلفات گردید (۲۱). Din و همکاران (۲۰۱۲) پس از استفاده از پودر قارچ صدفی در جیره غذایی بچه‌ماهیان تیلایپای قرمز (*Oreochromis sp.*) بیان کردند که این مکمل غذایی سبب افزایش معنی‌دار رشد و بازماندگی در گروه تیمار شد (۲۲).

ماهی تیلایپا از راسته سوف ماهی‌شکلان و متعلق به خانواده Cichlidae می‌باشد. این ماهی به‌طور معمول در آب‌های داخلی شیرین و لب شور پرورش داده می‌شود. ولی، به‌علت تحمل محدوده گسترده‌ای از شوری، در محیط آب شور دریا نیز و در شرایط قفس قابل پرورش است (۱۷). این ماهی به علت سازگاری بالا و رشد خوب در مزارع پرورش آبزیان تولید می‌گردد. بر اساس پژوهش‌ها مشخص گردید که آبی‌پروری پایدار به معیارهای مختلفی بستگی دارد که از جمله این معیارها تغذیه آبزیان و جیره غذایی مناسب می‌باشد (۱۸ و ۱۹). از سویی دیگر، با توجه به پتانسیل‌های بالقوه در خصوص پرورش ماهی تیلایپا در نواحی مرکزی کشور و نیز شرایط اقتصادی و اجتماعی به‌خصوص ارزآوری و اشتغال‌زایی صنعت تکثیر و پرورش، لازم است که پژوهش‌گران صنعت شیلات در کشور، با به‌کارگیری تکنیک‌ها و فناوری‌های مناسب، پیشنهادات مؤثری را در جهت بالا رفتن میزان تولید ارائه نمایند که بتواند منجر به تأمین بخشی از مواد پروتئینی داخل، صدور این محصول و هم‌چنین

مواد و روش‌ها

تهیه مخازن پرورش و ذخیره‌سازی بچه‌ماهی‌ها: برای انجام این آزمایش تعداد ۲۰۰ قطعه بچه‌ماهی تیلاپای نیل با میانگین وزنی $0/09 \pm 9/15$ گرم از یک کارگاه بخش خصوصی واقع در استان کرمان تهیه و به سالن آبرزی‌پروری شهید ناصر فضلی در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انتقال داده شد. بچه‌ماهی‌ها پس از گذشت مدت زمان ۲ هفته جهت سازگاری با شرایط آزمایش، در ۱۲ مخزن فایبرگلاس ۳۰۰ لیتری به ارتفاع ۵۰ سانتی‌متر و حجم آبرزی حدود ۶۰ لیتر با تراکم ۱۶ قطعه در هر تانک (سه تیمار و یک گروه شاهد هر کدام با سه تکرار) تقسیم شدند.

تهیه پودر قارچ صدفی: قارچ صدفی از یک گلخانه بخش خصوصی واقع در استان مازندران تهیه و پس از شست و شو به صورت ورقه‌ای درآورده شد، سپس، ورقه‌های نازک قارچ در آون با دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت قرار داده شد تا به صورت کامل خشک گردد. محتویات خشک شده به وسیله آسیاب برقی به صورت پودر درآورده شد (۲۸).

تهیه جیره و تیمار بندی: در این آزمایش جیره ماهی تیلاپای نیل با استفاده از اقلام ارائه شده در جدول ۱ ساخته؛ سپس پودر قارچ صدفی در سه سطح ۰/۵، ۱ و ۲ گرم به ازای کیلوگرم جیره به مواد اضافه (۲۹) و ترکیب نهایی به‌طور جداگانه به صورت کامل مخلوط گردیدند تا سه جیره همگن به دست آید. جیره فاقد پودر قارچ صدفی به عنوان جیره پایه در نظر گرفته شد. پس از تهیه جیره‌های حاوی سطوح متفاوت پودر قارچ صدفی، از چرخ‌گوشت با سوراخ‌هایی به قطر ۲ میلی‌متر برای پلت‌زنی استفاده گردید. پلت‌های ایجادشده در فضایی تاریک و در دمای اتاق روی سینی به مدت ۴۸ ساعت قرار داده شدند تا رطوبت

ارزآوری برای کشور شود (۲۳ و ۲۴). برآورد بازده اقتصادی نقش بسیار مهمی در تصمیم‌مزرعه‌داران بر انتخاب فن‌آوری‌های نوین دارد و در نتیجه بر مدیریت منابع آن‌ها تأثیر می‌گذارد. (۲۵). از آنجایی‌که هزینه خوراک در آبرزی‌پروری بیش‌ترین بخش هزینه‌ها را شامل می‌شود و با توجه به شرایط اقتصادی هر کشوری بر میزان تولید تأثیر می‌گذارد، هزینه‌های نیروی انسانی، خوراک و مواد شیمیایی مورد استفاده در آبرزی‌پروری در حال افزایش است و به‌کارگیری تکنولوژی‌های نوین در جهت کاهش هزینه‌ها ضروری می‌باشد (۲۶). بنابراین در مدیریت مزرعه علاوه بر توجه به فرآیندهای بیولوژیکی نیاز است به عوامل اقتصادی و تجزیه و تحلیل هزینه‌ها و سودآوری پرداخت که برای موفقیت در فعالیت آبرزی‌پروری ضروری است (۲۷). قارچ‌ها نیز به دلیل دلشتن خاصیت پریبیوتیکی می‌توانند کارایی جیره را افزایش دهند. اگرچه قیمت قارچ‌ها در چند سال اخیر افزایش یافت، اما، مقدار افزوده شده به جیره غذایی ماهیان در مقایسه با بازدهی خوراک قابل اغماض است. چرا که پژوهش‌ها نشان داده است که این ماده غذایی قادر است کارایی جیره را به طور چشمگیری افزایش دهد. از طرف دیگر، تعداد قارچ‌ها در هر بار رویش بسیار زیاد است. در هنگام بسته‌بندی قارچ‌ها پایه‌های آن‌ها قطع شده و به عنوان ضایعات بخش اعظمی از این ماده غذایی با ارزش دور ریخته می‌شود. بنابراین، با توجه به ارزش غذایی و قیمت قارچ‌ها می‌توان از این بخش در صنعت دام، طیو و آبزیان استفاده کرد. با این‌حال، طبق بررسی‌های انجام شده، تاکنون مطالعه‌ای در زمینه اثر استفاده از پودر قارچ صدفی بر عملکرد رشد، بازماندگی و شاخص‌های ایمنی سرم خون و موکوس پوست و الگوی پروتئینی موکوس بچه‌ماهیان تیلاپای نیل صورت نگرفته است، بنابراین مطالعه حاضر با هدف ارزیابی شاخص‌های مذکور انجام شد.

اضافی آن‌ها از بین برود و رطوبت به زیر ۱۰ درصد در صد کاهش یابد. پلت‌های خشک شده جمع‌آوری و در کیسه‌های پلاستیکی زیپ‌دار برای جلوگیری از فساد جیره در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در داخل یخچال قرار گرفتند. غذادهی به بچه ماهی‌ها به صورت دستی به میزان ۳ درصد وزن بدن و ۳ وعده در روز صورت پذیرفت (۳۰). آنالیز تقریبی جیره بر اساس روش آزمایشگاهی AOAC (۱۹۹۰) انجام شد (۳۱).

جدول ۱- فرمولاسیون و ترکیب تقریبی جیره پایه.

ترکیبات	مقدار (گرم بر کیلوگرم)
پودر ماهی ^۱	۴۰/۰
آرد گندم	۲۱/۰
آرد سویا ^۲	۱۳/۵
گلوتن	۵/۵
روغن سویا	۶/۰
روغن ماهی	۶/۰
مواد معدنی ^۳	۳/۰
ویتامین ^۴	۲/۰
بایندر ^۵	۲/۰
ضد قارچ ^۶	۰/۵
آنتی‌اکسیدان ^۷	۰/۵
آنالیز جیره (بر اساس درصد مواد خشک)	
پروتئین خام	۲۹/۷۰
لیپید خام	۱۱/۱۳
خاکستر	۹/۴۸

^۱ پودر کیلکا: کارخانه نگین پودر (پروتئین ۶۹±۱ درصد، چربی ۱۰±۰/۵ درصد، خاکستر ۱۴±۲ درصد، TVN: < ۱۲ میلی‌گرم نیتروژن در ۱۰۰ گرم).

^۲ آرد سویا: کارخانه سویا (پروتئین ۴۵ درصد، چربی ۱/۵ درصد، خاکستر ۵ درصد).

^۳ مکمل معدنی شامل: روی (۳۳۸۸۰ میلی‌گرم در کیلوگرم)، منگنز (۳۹۶۸۰ میلی‌گرم در کیلوگرم)، مس (۴۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم)، آهن (۲۰۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم)، سلنیوم (۸۰ میلی‌گرم در کیلوگرم)، ید (۳۹۷ میلی‌گرم در کیلوگرم)، کولین کلرید (۱۰۰۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم)، کلسیم پنتونوات (۳۹۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم).

^۴ مکمل ویتامینی شامل: A (۳۶۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی در کیلوگرم)، ویتامین D3 (۸۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی در کیلوگرم)، E (۱۴۴۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم)، K3 (۸۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم)، B1 (۷۱۰ میلی‌گرم در کیلوگرم)، B2 (۲۶۴۰ میلی‌گرم در کیلوگرم)، B3 (۱۱۸۸۰ میلی‌گرم در کیلوگرم)، B6 (۱۱۷۶ میلی‌گرم در کیلوگرم)، B9 (۴۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم)، B12 (۶ میلی‌گرم در کیلوگرم)، بیوتین (۴۰ میلی‌گرم در کیلوگرم)، خلوص ویتامین ث ۵۰ درصد بود (۰/۸ تا ۱ میلی‌گرم در کیلوگرم).

^۵ بایندر: بتونیت (برند هاتف)

^۶ ضدقارچ: برند بایومین

^۷ آنتی‌اکسیدان: برند میاویت

برای انجام این پژوهش آب شهری بود که جهت کلرزدایی به مدت ۲۴ ساعت درون حوضچه‌های ذخیره هوادهی می‌شد.

زیست‌سنجی و بررسی شاخص‌های رشد: برای آگاهی از عملکرد جیره غذایی، چگونگی رشد بچه‌ماهیان و تعیین میزان غذای مورد نیاز، بچه‌ماهیان در فواصل زمانی ۱۵ روزه زیست‌سنجی شدند. بدین منظور پس از پایین آوردن سطح آب کلیه ماهیان هر تیمار با استفاده از ساچوک صید می‌شدند. بچه‌ماهیان با ترازویی با دقت ۰/۰۱ گرم و خط‌کش با دقت ۱ میلی‌متر مورد زیست‌سنجی قرار گرفتند. لازم به ذکر است که به دلیل تحت استرس بودن و امکان وقوع تلفات، غذادهی قبل و بعد از زیست‌سنجی صورت نمی‌گرفت. شاخص‌های رشد شامل میزان نرخ رشد ویژه (SGR)، افزایش وزن (BWG)، فاکتور وضعیت (CF)، و ضریب تبدیل غذایی (FCR) در ماهی تیلاپیای نیل براساس فرمول‌های گرفته شده از پژوهش Zakariaee و همکاران (۲۰۲۱) محاسبه گردید (۲۸).

بررسی شاخص‌های فیزیوشیمیایی آب: در طی دوره پرورش، فاکتورهای فیزیوشیمیایی محیط آب پرورش مانند: درجه حرارت (با استفاده از دماسنج جیوه‌ای)، pH و اکسیژن (با استفاده از پی‌اچ متر و اکسی‌متر) محلول اندازه‌گیری شد. در طول مدت آزمایش دما بین ۲۶-۲۲ درجه سانتی‌گراد (دماسنج، RX-C008)، pH بین ۸-۸/۲ (پی‌اچ متر، PCE-PH20)، اکسیژن بین ۶-۷ میلی‌گرم بر لیتر (اکسی‌متر، DO600)، سختی آب بین ۲۶۰-۲۶۲ میلی‌گرم بر لیتر کربنات کلسیم (سختی سنج TDS) و شرایط نوری در طول دوره آزمایش به صورت ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی (لامپ متصل به تایمر) حفظ گردد. هوادهی آب از طریق سنگ هوای متصل به کمپرسور مرکزی (Hailea-ACO-208) انجام شد. برای جلوگیری از آلودگی و خارج کردن غذای باقی‌مانده و فضولات، آب و نیروها هر ۵ روز سیفون می‌شد. در صورت مشاهده تلفات در حوضچه‌ها بلافاصله ماهی‌های تلف‌شده خارج شد و تعداد تلفات و شماره و نیروها ثبت می‌گردید. لازم به ذکر است آب مورد استفاده

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

$100 \times [\text{وزن اولیه (گرم)} / \text{افزایش وزن (گرم)}] = \text{درصد افزایش وزن (درصد)}$

$100 \times [\text{طول دوره پرورش (روز)} / (\text{لگاریتم طبیعی وزن اولیه} - \text{لگاریتم طبیعی وزن نهایی})] = \text{نرخ رشد ویژه (درصد در روز)}$

$[\text{افزایش وزن (گرم)} / \text{مقدار غذای مصرفی (گرم)}] = \text{ضریب تبدیل غذایی}$

وزن نهایی (گرم) = فاکتور وضعیت \times طول نهایی^۳ (سانتی‌متر) / ۱۰۰

درون کیسه‌های پلی‌اتیلنی (زیپ پلاست) حاوی ۱۰ میلی‌لیتر سدیم کلرید ۵۰ میلی‌مولار قرار گرفتند و پس از ۲ دقیقه ماهی‌ها از کیسه‌ها خارج شدند. موکوس جمع‌آوری شده در فالكون‌های ۱۵ میلی‌لیتری به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و در ۱۵۰۰ g

جمع‌آوری موکوس: جمع‌آوری موکوس بر اساس روش Ross و همکاران (۲۰۰۰) و Subramanian و همکاران (۲۰۰۷a) انجام شد (۳۲ و ۳۳). تعداد ۳ قطعه ماهی از هر تانک برداشته و پس از بیهوشی با ۵ میلی‌گرم در لیتر پودر گل میخک به صورت جداگانه

سانتریفیوژ (digital 5810, R eppendorfcentrifuge) شد و سوپرناتانت به میکروتیوپ ۱/۵ سی‌سی انتقال داده شده و تا زمان انجام آزمایش‌های مربوطه در فریزر در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (۳۴).

جمع‌آوری سرم: تعداد ۳ قطعه ماهی از هر تیمار به‌طور کاملاً تصادفی برداشته و پس از بیهوشی با ۵ میلی‌گرم در لیتر پودر گل میخک، با استفاده از سرنگ ۲ سی‌سی از قسمت ساقه دمی خون گرفته شد. خون هر ماهی به‌طور جداگانه در داخل ویال‌های استریل ریخته و سپس ویال‌های حاوی خون در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با دور ۳۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ گردیدند و مایع رویی به ویال‌های جدید انتقال یافت و تا زمان انجام آزمایش‌های مربوطه در فریزر در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (۳۵).

سنجش فعالیت آنزیم لیزوزیم موکوس و سرم: سنجش آنزیم لیزوزیم به روش کدورت‌سنجی و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر انجام شد (۳۳). برای سنجش این آنزیم از باکتری میکروکوکوس لوتئوس (ATCC 4698) به عنوان سویسترا استفاده گردید. برای تهیه این سوسپانسیون، باکتری لیوفیلیزه میکروکوکوس لوتئوس در بافر فسفات پتاسیم (پی‌اچ ۷)، ۰/۰۴ مولار حل‌شده و جذب این محلول در مقابل شاهد (کووت حاوی بافر فسفات سدیم)، در طول موج ۴۵۰ نانومتر، برابر ۰/۶-۰/۷ تنظیم شد؛ سپس ۲/۵ میلی‌لیتر سوسپانسیون باکتری به کووت اضافه شد، بعد از ۵-۴ دقیقه به دمای تعادل رسید، سپس به کووت شاهد ۰/۵ میلی‌لیتر بافر و به کووت نمونه ۰/۵ میلی‌لیتر نمونه موکوس و یا سرم اضافه شد. محتویات کووت به‌خوبی مخلوط گردید و کاهش جذب به مدت ۱۰ دقیقه در طول موج ۴۵۰ نانومتر ثبت گردید. یک واحد فعالیت آنزیم، به‌صورت

مقدار آنزیمی که در طول موج ۴۵۰ نانومتر و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد کاهشی معادل ۰/۰۰۱ در دقیقه در جذب سلول‌های میکروکوکوس لوتئوس ایجاد می‌کند، بیان گردید (۳۶).

اندازه‌گیری ایمنوگلوبولین کل موکوس و سرم: جهت اندازه‌گیری ایمنوگلوبولین کل از روش Siwicki و Anderson (۱۹۹۳) استفاده شد (۳۷). میزان پروتئین سرم و موکوس به صورت جداگانه تعیین‌شده و سپس به نمونه‌ها پلی‌اتیلن گلیکول ۱۲ درصد اضافه شد. پس از ۲ ساعت در دمای اتاق نمونه‌ها سانتریفیوژ شدند و غلظت پروتئین در قسمت بالایی محلول مجدداً توسط روش Bradford (۱۹۷۶) اندازه‌گیری گردید (۳۸). میزان ایمنوگلوبولین کل از تفریق غلظت پروتئین در نمونه اولیه و غلظت پروتئین پس از افزودن پلی‌اتیلن گلیکول محاسبه شد.

بررسی الگوی پروتئینی موکوس: به‌منظور بررسی الگوی پروتئینی موکوس بچه‌ماهیان تیلایابی نیل تغذیه شده با سطوح متفاوت پودر قارچ صدفی از روش Laemmli (۱۹۷۰) و ژل الکتروفورز پلی‌آکریل آمید- سدیم دودسیل سولفات (SDS-PAGE) استفاده شد (۳۹). از این رو، نمونه‌های موکوس به‌دست آمده به مدت ۷۲ ساعت در فریزدرایر کاملاً خشک شدند. سپس مقدار ۱۰ میلی‌گرم از هر یک از نمونه‌ها با ۰/۰۱ مولار بافر تریس-گلیسین (با پی‌اچ ۶/۸)، SDS ۰/۱ درصد، مرکاپتواتانول ۱ درصد و گلیسرول ۲۰ درصد مخلوط شدند. حلال‌ها به مدت ۵ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شدند و سپس با دور ۱۰۰۰ g به مدت ۳ دقیقه سانتریفیوژ شدند. در مرحله بعد، از مایع رویی یا همان سوپرناتانت برای اجرای ژل تحت جریان ثابت (۳۰ میلی‌ولت (۷ درصد) و ۵۰ میلی‌ولت (۱۵ درصد)) استفاده گردید. پس از ران کردن ژل، نمونه‌ها با Coomassie Brilliant Blue رنگ‌آمیزی شدند.

داد که میانگین وزن انتهای دوره، بین تیمارهای تغذیه شده با جیره‌های حاوی پودر قارچ صدفی با گروه شاهد دارای اختلاف معنی‌داری بودند ($P > 0/05$). در بین تیمارهای تغذیه‌شده با پودر قارچ صدفی بیش‌ترین افزایش وزن برای تیمار حاوی ۲ گرم پودر قارچ صدفی و کم‌ترین افزایش وزن مربوط به گروه شاهد بود. هم‌چنین نرخ رشد روزانه بین تیمارهای تغذیه‌شده با پودر قارچ صدفی با گروه شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده گردید ($P > 0/05$)، هم‌چنین، کم‌ترین ضریب تبدیل غذایی در تیمار حاوی ۲ گرم پودر قارچ صدفی و بیش‌ترین آن در گروه شاهد مشاهده گردید که با یکدیگر اختلاف معنادار داشتند ($P > 0/05$). در تمام تیمارها و گروه شاهد هیچ‌گونه تلفاتی در طول دوره پرورش مشاهده نشد؛ بنابراین، میزان بازماندگی در تمامی گروه‌ها اختلاف معناداری با یکدیگر مشاهده نشد ($P < 0/05$).

مارکرهای وزنی مورد استفاده شامل مارکرهایی با وزن ۱۱ تا ۱۰۰ کیلو دالتون با پروفایل بانندی ایجاد شده با لدر به‌عنوان نشانگر وزن مولکولی مقایسه شدند (۴۰).
تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها: آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ انجام شد. جهت بررسی نرمالیتی داده‌ها از آزمون کولموگروف اسمیرنوف استفاده شد. سپس، داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه در سطح اطمینان ۹۵ درصد مورد سنجش قرار گرفتند. جهت مقایسه میانگین‌ها از آزمون چنددامنه‌ای دانکن استفاده شد. نتایج به‌صورت میانگین \pm انحراف معیار ثبت گردید.

نتایج

بررسی شاخص‌های رشد و بازماندگی: نتایج به‌دست آمده از بررسی شاخص‌های رشد و بازماندگی بچه تیلایپای نیل تغذیه شده با سطوح متفاوت پودر قارچ صدفی در جدول ۲ آورده شده است. نتایج نشان

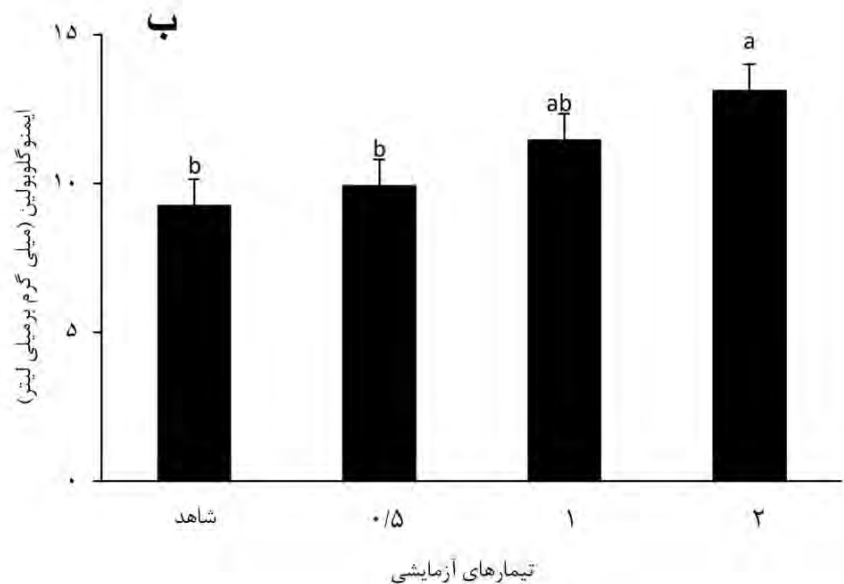
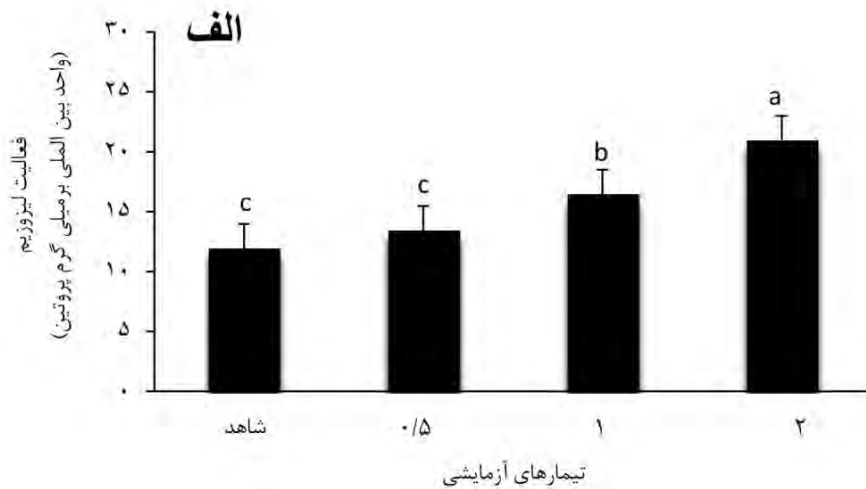
جدول ۲- مقایسه برخی از شاخص‌های رشد بچه‌ماهی تیلایپای نیل تغذیه‌شده با سطوح مختلف پودر قارچ صدفی.

جیره حاوی پودر قارچ (گرم در کیلوگرم جیره)				
شاهد (بدون مکمل)	۰/۵	۱	۲	
۸/۷۷ \pm ۰/۱ ^a	۸/۷۸ \pm ۰/۰۶ ^a	۸/۸۳ \pm ۰/۰۷ ^a	۸/۶۸ \pm ۰/۰۵ ^a	میانگین طول اولیه
۹/۱۶ \pm ۰/۰۸ ^a	۹/۱۶ \pm ۰/۰۵ ^a	۹/۱۶ \pm ۰/۰۵ ^a	۹/۱۶ \pm ۰/۱۱ ^a	میانگین وزن اولیه
۹/۸۷ \pm ۰/۱۶ ^a	۹/۷۸ \pm ۰/۳۶ ^a	۹/۸ \pm ۰/۳۱ ^a	۹/۸۷ \pm ۰/۱۸ ^a	میانگین طول ثانویه
۱۵/۴۴ \pm ۰/۴۴ ^b	۱۷/۳ \pm ۰/۲۴ ^a	۱۶/۹۱ \pm ۰/۱۲ ^a	۱۷/۶۵ \pm ۰/۴۴ ^a	میانگین وزن ثانویه
۶/۲۹ \pm ۰/۳۶ ^b	۸/۱۲ \pm ۰/۲۷ ^a	۷/۸ \pm ۰/۱۴ ^a	۸/۴۹ \pm ۰/۳۵ ^a	افزایش وزن
۰/۹۳ \pm ۰/۰۱ ^b	۱/۱۳ \pm ۰/۰۶ ^a	۱/۱۰ \pm ۰/۱۲ ^a	۱/۱۷ \pm ۰/۰۳ ^a	نرخ رشد ویژه (درصد)
۲/۶ \pm ۰/۱۱ ^a	۲/۰۰ \pm ۰/۴۵ ^b	۲/۱ \pm ۰/۲۶ ^b	۱/۹۳ \pm ۰/۰۴ ^b	ضریب تبدیل غذایی
۸۱/۵۷ \pm ۱/۱۴ ^b	۸۱/۵۹ \pm ۲/۳۹ ^b	۷۷/۸۱ \pm ۱/۶۳ ^b	۸۶/۲۱ \pm ۳/۲۱ ^a	درصد افزایش وزن
۱۰۰ \pm ۰	۱۰۰ \pm ۰	۱۰۰ \pm ۰	۱۰۰ \pm ۰	بازماندگی

حروف لاتین غیرهمنام در هر ردیف تفاوت معنی‌دار را نشان می‌دهد ($P > 0/05$)

گروه شاهد کم‌ترین میزان فعالیت مشاهده گردید ($P > 0/05$) (شکل ۱، الف). بر اساس نتایج، بیش‌ترین مقدار ایمنوگلوبولین در تیمار حاوی ۲ گرم پودر قارچ صدفی و کم‌ترین مقدار آن در گروه شاهد مشاهده شد ($P > 0/05$) (شکل ۱، ب).

بررسی شاخص‌های ایمنی موکوس پوست: بررسی شاخص‌های ایمنی موکوس در شکل ۱ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که فعالیت لیزوزیم موکوس در انتهای دوره بین تیمارها با گروه شاهد اختلاف معنی‌داری داشت ($P > 0/05$). در تیمار حاوی ۲ گرم پودر قارچ صدفی بیش‌ترین فعالیت لیزوزیم و در

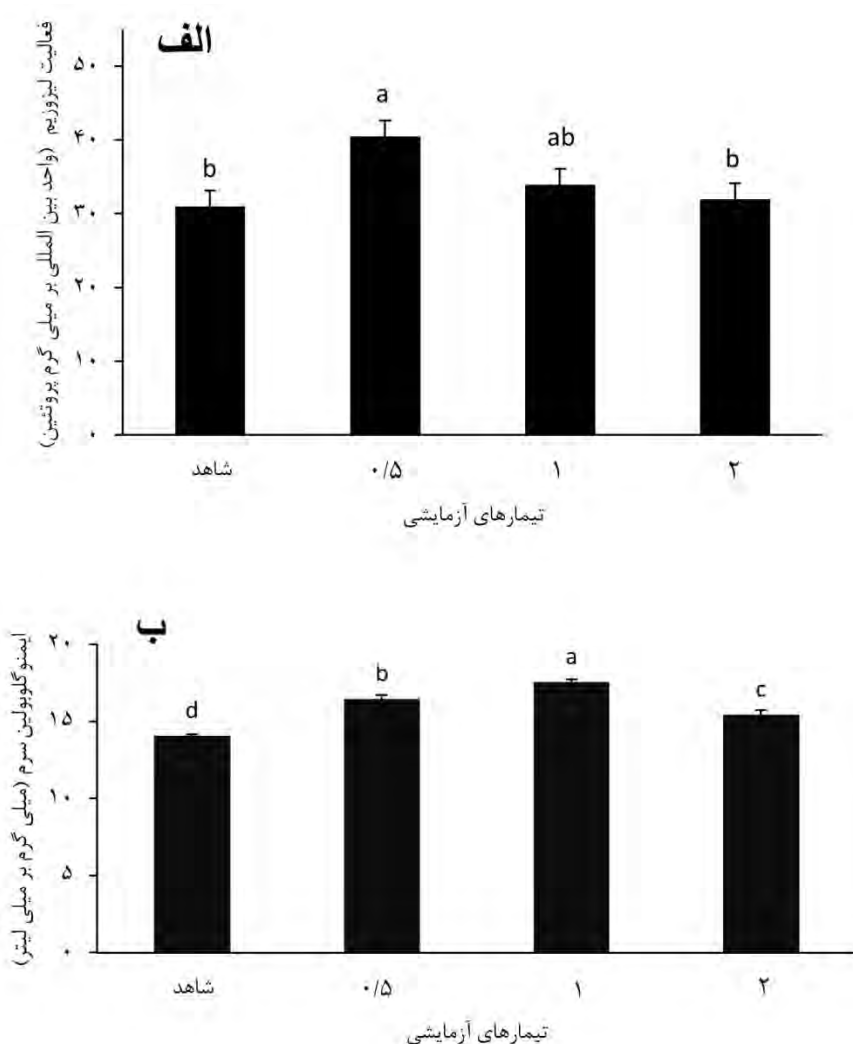


شکل ۱- شاخص‌های ایمنی موکوس بچه تیلاپای نیل تغذیه شده با سطوح متفاوت پودر قارچ صدفی: الف) فعالیت لیزوزیم و ب) ایمنوگلوبولین موکوس.

حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها در سطح $P > 0/05$ می‌باشد (میانگین \pm انحراف استاندارد).

صدفی نسبت به گروه شاهد بیش‌تر بود ولی اختلاف معنی‌داری بین آن‌ها مشاهده نگردید ($P < 0/05$). مقدار ایمنوگلوبولین سرم در تیمارهای حاوی پودر قارچ صدفی نسبت به گروه شاهد دارای اختلاف معنی‌داری می‌باشد ($P > 0/05$) به طوری که تیمار تغذیه شده با جیره حاوی ۱ درصد پودر قارچ دارای بیش‌ترین و گروه شاهد دارای کم‌ترین میزان ایمنوگلوبولین بود ($P > 0/05$).

بررسی شاخص‌های ایمنی سرم خون: نتایج حاصل از بررسی شاخص‌های ایمنی سرم خون ماهیان تغذیه شده با سطوح متفاوت پودر قارچ صدفی در شکل ۲ آورده شده است. نتایج نشان داد که بین تیمار ۰/۵ گرم پودر قارچ صدفی با گروه شاهد اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($P > 0/05$) ولی، بین تیمارهای ۱ و ۲ گرم پودر قارچ صدفی با تیمار شاهد هیچ اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید هر چند فعالیت لیزوزیم در تیمارهای ۱ و ۲ گرم پودر قارچ



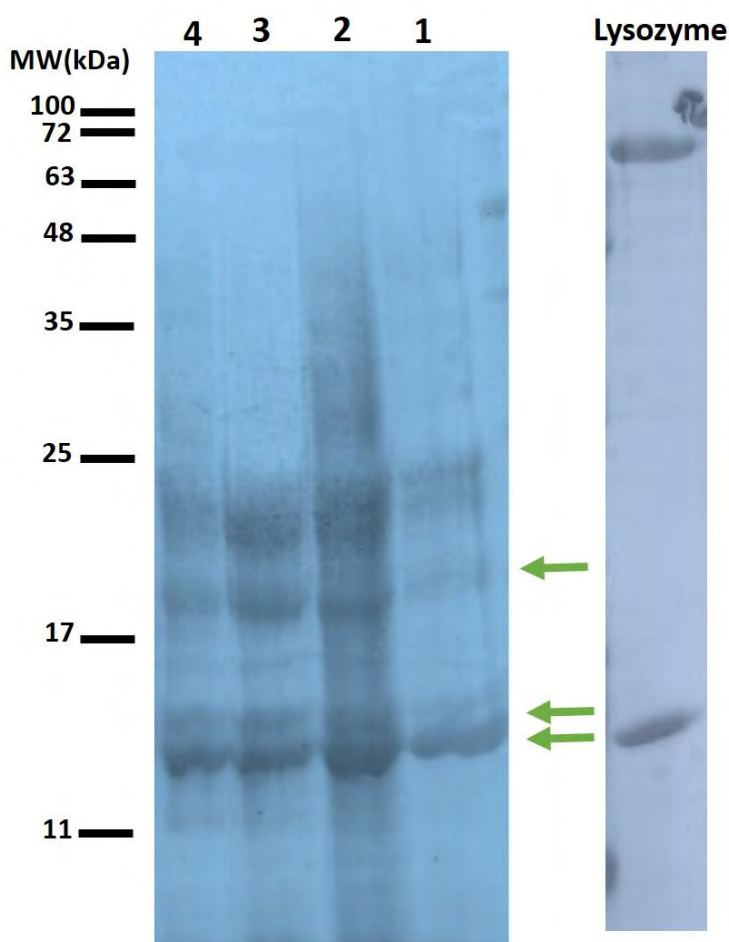
شکل ۲- شاخص‌های ایمنی سرم بچه تیلاپای نیل تغذیه شده با سطوح متفاوت پودر قارچ صدفی:

الف) فعالیت لیزوزیم و ب) ایمنوگلوبولین سرم.

حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها در سطح $P > 0/05$ می‌باشد (میانگین \pm انحراف استاندارد).

بر اساس تخمین وزن مولکولی، کاهش تراکم باندها در مناطق کم‌تر از ۱۱ و بیش‌تر از ۲۵ کیلو دالتون قابل مشاهده بود. تراکم باندها در تیمار ۲ (شماره ۳ تصویر) در محدوده ۱۷ تا ۲۵ کیلودالتون از سایر تیمارها و گروه شاهد بیش‌تر است که افزایش بیان پروتئینی را نشان می‌دهد و کم‌ترین تراکم باندی در گروه شاهد دیده شد. لیزوزیم نیز به صورت سنتتیک روی ژل برده شده است.

بررسی الگوی پروتئینی موکوس: نتایج حاصل از بررسی مقایسه الگوی پروتئینی موکوس بین تیمارهای مختلف در ماهیان تغذیه شده با سطوح متفاوت پودر قارچ صدفی در شکل ۳ آورده شده است. نتایج نشان داد که تفاوت قابل توجهی در تراکم باندها بین الگوی پروتئینی گروه شاهد و تیمارهای مختلف قابل مشاهده است. باندهایی که تراکم آن‌ها در تیمارها با یکدیگر متفاوت است با رنگ سبز مشخص شده‌اند. باندهای پروتئینی محدوده‌ای از ۱۱ تا ۱۰۰ کیلودالتون داشتند.



شکل ۳- نتایج الگوی پروتئینی موکوس حاصل از الکتروفورز ژل اس دی اس پیج در بچه تیلاپای نیل تغذیه شده با سطوح متفاوت پودر قارچ صدفی: ۱: گروه شاهد، ۲: ۰/۵ گرم پودر قارچ صدفی به‌ازای کیلوگرم جیره، ۳: ۱ گرم پودر قارچ صدفی به‌ازای کیلوگرم جیره، ۴: ۲ گرم پودر قارچ صدفی به‌ازای کیلوگرم جیره.

بحث و نتیجه‌گیری

صنعت آبی‌پروری در پاسخ به نیاز جوامع بشری به منابع پروتئینی سالم و ارزان‌قیمت، رشد روزافزونی داشته است. در نتیجه توسعه این صنعت هر ساله نسبت تولیدات آبی‌پروری به تولیدات صیادی در حال افزایش است. شیوع بیماری‌ها، مشکلات تغذیه‌ای و مقاوم شدن باکتری‌ها به آنتی‌بیوتیک در اثر استفاده بیش از حد از آن‌ها، از چالش‌های عمده پیش روی توسعه این صنعت می‌باشد. بهبود جیره‌های فرموله شده از طریق افزودن مکمل‌های خاصی که علاوه بر افزایش رشد سبب بهبود عملکرد دستگاه ایمنی و در نتیجه مقاومت در برابر بیماری‌ها می‌شوند، از جمله راهکارهای ارائه شده برای حل این مشکل می‌باشد. استفاده از پریبیوتیک‌ها در جیره غذایی باعث افزایش سلامتی میزبان می‌شود. استفاده از این استراتژی، راه‌حل خوبی برای بهبود کیفیت جیره می‌باشد. پریبیوتیک‌ها پلی‌ساکاریدهای غیرقابل‌هضمی هستند که باعث تحریک رشد و بهبود فلور میکروبی روده می‌گردند (۴۱). از جمله پریبیوتیک‌های طبیعی می‌توان به قارچ صدفی اشاره کرد که به‌عنوان جایگزین خوبی برای مواد دارویی شناخته شده است (۴۲). خواص دارویی قارچ‌ها توسط بسیاری از پژوهش‌گران مورد تأیید قرار گرفته (۴۲، ۴۳، ۴۴ و ۴۵). بتاگلوکان، کتین و هتروپلی‌ساکاریدهای موجود در قارچ‌ها که ۱۰ تا ۵۰ درصد از ماده خشک را تشکیل می‌دهند، باعث ایجاد خواص پریبیوتیکی آن‌ها می‌گردد. (۱۹ و ۴۶).

نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که افزودن پودر قارچ صدفی (۰/۵، ۱ و ۲ گرم به‌ازای هر کیلوگرم غذای خشک) تأثیر معنی‌داری بر عملکرد رشد گروه‌های تیمار در مقایسه با گروه شاهد داشت. از آن‌جایی که قارچ صدفی به‌عنوان یک پریبیوتیک طبیعی شناخته شده است؛ به‌دلیل داشتن پلی‌ساکاریدهای

غیرقابل‌هضم، توانست مواد مغذی لازم را برای جمعیت میکروبی روده فراهم آورد و میکرو فلور روده را به سمت باکتری‌های مفید مانند باکتری‌های اسیدلاکتیک سوق دهد که احتمال می‌رود این باکتری‌ها توانستند با اسیدی کردن محیط روده باعث کاهش رشد باکتری‌های مضر در روده شده باشند. همچنین، پژوهش‌ها ثابت کرد با ترشح آنزیم‌های خارج‌سلولی توسط باکتری‌های مفید، فرآیند هضم و جذب مواد غذایی بهبود می‌یابد (۴۷، ۴۸ و ۴۹). بنابراین، ممکن است بهبود فرآیند رشد در پژوهش حاضر به دلیل وجود همین آنزیم‌های گوارشی باشد، با این‌حال، چون در پژوهش حاضر، سنجش آنزیم‌های گوارشی صورت نگرفت، اظهارنظر دقیق در ارتباط با آن به پژوهش‌های بیشتری نیاز دارد. از سویی دیگر، تاکنون مشخص نشده که کدام یک از مواد موجود در قارچ‌ها بیش‌ترین تأثیر را روی رشد آبزیان می‌گذارند، ولی احتمال می‌رود که این تأثیر مربوط به بیش‌ترین پلی‌ساکارید موجود در قارچ یعنی گلوکان‌ها باشد (۲۸). پژوهش‌ها تأثیرات مثبت گلوکان‌ها را بر رشد و ایمنی آبزیان ثابت کرده‌اند (۵۰، ۵۱، ۵۲ و ۵۳). هر چند که نمی‌توان تأثیر دیگر پلی‌ساکاریدها و مواد دیگر قارچ را نادیده گرفت و این احتمال وجود دارد که هنگامی که این مواد در کنار یکدیگر قرار می‌گیرند، می‌توانند بر یکدیگر اثر گذاشته و باعث افزایش یا کاهش تأثیر هر یک از ترکیبات در رشد شوند. به‌عبارت دیگر، الیگوساکاریدهای غیرقابل‌هضم به‌دلیل ویژگی‌های فیزیکی‌شیمیایی خاص و فقدان آنزیم‌های هیدرولیزکننده اتصالات نوع β بین واحدهای منوساکاریدی توسط بسیاری از موجودات از جمله ماهی‌ها قابل‌جذب نمی‌باشند بنابراین، در برابر فرآیند گوارش مقاومت کرده و تنها توسط برخی باکتری‌های بی‌هوازی موجود در دستگاه گوارش قابلیت تجزیه شدن را دارند. این باکتری‌ها

این آنزیم تحت تأثیر شرایط مختلف محیطی مانند: تغییرات دمایی، نوسانات پی‌اچ و شوری، جنس و گونه ماهی تغییر می‌کند. در واقع، لیزوزیم یک آنزیم ضد باکتریایی قوی در سیستم ایمنی غیراختصاصی می‌باشد که در موکوس پوست و سرم خون وجود دارد. اگرچه این آنزیم بر باکتری‌های گرم مثبت مؤثر می‌باشد اما باکتری‌های گرم منفی نیز می‌توانند توسط این آنزیم لیز شوند (۶۰). نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که استفاده از پودر قارچ صدفی در سطح ۱ و ۲ گرم به‌ازای کیلوگرم جیره بچه‌ماهیان تیلایپای نیل، به‌طور معناداری سبب افزایش فعالیت لیزوزیم موکوس پوست نسبت به گروه شاهد شد. هم‌چنین علی‌رغم وجود اختلاف معنادار در فعالیت لیزوزیم سرم خون تیمارهای تغذیه شده با جیره‌های حاوی ۱ و ۲ گرم پودر قارچ صدفی، تیمار تغذیه شده با جیره حاوی ۰/۵ گرم پودر قارچ صدفی به‌ازای کیلوگرم جیره به‌طور معناداری دارای فعالیت لیزوزیم بیش‌تری در مقایسه با گروه شاهد بود. پژوهش‌های بسیاری وجود آنزیم لیزوزیم را در گونه‌های متفاوت ماهی‌ها و به دنبال آن اثرات مفید آن در افزایش پاسخ سیستم ایمنی ذاتی ماهی ثابت کرده است (۶۱، ۶۲ و ۶۳). در همین راستا، Harikrishnan و همکاران (۲۰۱۱) گزارش کردند که استفاده از عصاره قارچ *Phellinus linteus* به‌عنوان محرک ایمنی باعث افزایش فعالیت آنزیم لیزوزیم موکوس در ماهی هامور شد (۵۶). هم‌چنین، در مطالعات دیگر که توسط Harikrishnan و همکاران (۲۰۱۲ a,b) انجام گرفت ثابت شد که استفاده از قارچ *Inonotus obliquus* به‌عنوان یک محرک ایمنی سبب افزایش فعالیت آنزیم لیزوزیم سرم در ماهی هامور و کفشک ماهی زیتونی شد (۶۴ و ۶۵). در تطابق با نتایج حاصل از مطالعه حاضر می‌توان به پژوهش‌های انجام‌شده توسط Chang و همکاران (۲۰۱۳) در ارتباط با استفاده از بتاگلوکان

بیش‌تر شامل: بایفیدوباکترها، لاکتوباسیلوس‌ها و بسیاری از باکتری‌های اسیدلاکتیک می‌باشند که قادرند از طریق تخمیر الیگوساکاریدها تغذیه نموده و در نهایت اثرات مفیدی در میزبان ایجاد نمایند. بنابراین، تغذیه ماهیان با این نوع کربوهیدرات‌ها می‌تواند سبب افزایش جمعیت باکتری‌های مفید روده، کاهش pH روده و جلوگیری از فعالیت باکتری‌های بیماری‌زا و افزایش جذب مواد معدنی گردد (۵۴ و ۵۵). نتایج حاصل از این پژوهش با نتایج پژوهش انجام‌شده توسط Harikrishnan و همکاران (۲۰۱۱) مبنی بر افزایش رشد پس از افزودن قارچ *Phellinus linteus* در ماهی هامور (*Epinephelus bruneus*) هم‌خوانی دارد (۵۶). هم‌چنین Din و همکاران (۲۰۱۲) در پژوهشی نشان دادند که افزودن قارچ به جیره غذایی باعث افزایش رشد تیلایپای قرمز گردید (۲۲). به‌علاوه، اضافه کردن بتاگلوکان به جیره کپور معمولی سبب افزایش معنی‌دار رشد نسبت به گروه شاهد شد (۵۷). هم‌چنین، استفاده از قارچ *Pleurotus eryngii* در جیره گربه‌ماهی *Pangasius bocourti* باعث افزایش نرخ رشد ویژه و کاهش ضریب تبدیل غذایی شد. (۵۸). با این حال، در تضاد با نتایج مطالعه حاضر، Muin و همکاران (۲۰۱۵)، انجام شد بیان گردید که جایگزین کردن پودر قارچ صدفی *Pleurotus sajor caju* در جیره ماهی تیلایپای نیل هیچ‌گونه تأثیری روی رشد نداشت؛ که البته این اختلاف ممکن است به‌خاطر اختلاف در گونه قارچ استفاده شده مربوط گردد (۵۹).

بررسی شاخص‌های ایمنی سرم و موکوس شاخص مناسبی برای بررسی وضعیت سلامتی ماهیان می‌باشد. بررسی این شاخص‌ها هم‌چنین می‌تواند برای بررسی اثرات احتمالی برخی از مواد ضد‌مغذی دارای اهمیت باشند. در این میان، لیزوزیم اهمیت زیادی در ایمنی ذاتی موکوس پوست و سرم خون دارد. فعالیت

پلی‌ساکاریدهای موجود در قارچ صدفی باشد. هم‌چنین، از آن‌جایی که قارچ صدفی یک پربیوتیک طبیعی است، می‌تواند فلور میکروبی روده را به سمت باکتری‌های مفید همانند: لاکتیک اسید سوق دهد (۲۸). علاوه بر این، بتاگلوکان موجود در قارچ می‌تواند باعث تحریک ماکروفاژها شود. پژوهش‌ها نشان داده است که دیگر ترکیبات موجود در قارچ مانند لنتینان (Lentinan) و شیزوفیلان (Schizophyllan) باعث تحریک تکثیر لنفوسیت‌های T و پارامترهای ایمنی همورال می‌شوند (۱۹ و ۷۴).

اس دی اس پیج به‌طور گسترده در مطالعات زیادی برای شناسایی تفاوت الگوی پروتئینی بسیاری از گونه‌ها استفاده شده است (۷۵، ۷۶ و ۷۷) در مطالعه حاضر با استفاده از تکنیک الکتروفورز الگوی پروتئینی موکوس پوست بچه‌ماهی تیلاپای نیل از طریق ژل دو دوسیل سولفات پلی‌اکریل امید مورد مطالعه قرار گرفت. در این بررسی جداسازی و شناسایی وزن مولکول پپتیدهای مختلف موجود در موکوس پوست بچه‌ماهی تیلاپای نیل با کمک اس دی اس پیج روی ژل ۱۸ درصد نشان داده شد. اس دی اس پیج باندهای پروتئینی (با وزن مولکولی حدود ۱۱ تا ۲۵ کیلو دالتون) موکوس بچه‌ماهی تیلاپای نیل را نشان داد. این باندها می‌توانند مربوط به پروتئین‌های موکوس پوست باشند. افزایش تراکم باند لیزوزیم می‌تواند مربوط به فراوانی مقدار لیزوزیم باشد (۷۸). تفاوت در الگوی پروتئینی یک موجود زنده را می‌توان به شرایط داخلی و خارجی، انواع بافت‌ها و مراحل مختلف تکامل نسبت داد (۷۹). باندهای حدود ۲۵ کیلودالتون می‌توانند مربوط به پروتئین‌های پروتئازوم سوپیت آلفا و پروتئازها باشد (۷۸ و ۸۰). باندهای بالاتر یعنی محدوده ۴۵-۶۷ کیلودالتون می‌توانند مربوط به آلبومین باشند؛ اگرچه

قارچ در افزایش فعالیت آنزیم لیزوزیم و فعالیت کمپلمان در ماهی هامور (۴۴)، Sirimanapong و همکاران (۲۰۱۵) در ارتباط با استفاده از بتاگلوکان استخراج شده از دیواره سلولی مخمر در افزایش فعالیت لیزوزیم سرم ماهی پنگوسی (۶۶) و Katya و همکاران (۲۰۱۴) در افزایش سطوح لیزوزیم سرم و موکوس گربه‌ماهی‌های تغذیه شده با پودر قارچ (۶۷) اشاره کرد.

پژوهش‌گران گزارش کردند که ایمنوگلوبولین‌ها جزء آنتی‌بادی‌های طبیعی می‌باشند. این دسته از آنتی‌بادی‌ها به صورت کاملاً تنظیم شده در غیاب محرک آنتی‌ژنیک خارجی تولید می‌گردند و میزبان را در برابر عوامل بیماری‌زا محافظت می‌کنند. ایمنوگلوبولین‌ها به عنوان یکی از بخش‌های حیاتی سیستم ایمنی ذاتی ماهی می‌باشند. در واقع، ایمنوگلوبولین‌ها در ماهیان از سلول‌های B ترشح می‌شوند. تغییر در سطوح ایمنوگلوبولین سرم خون و موکوس پوست در مطالعات بسیاری از پژوهش‌گران در نتیجه استفاده از محرک‌های ایمنی گزارش شده است (۱۸، ۶۸ و ۶۹). در پژوهش حاضر، افزودن پودر قارچ صدفی در جیره ماهی تیلاپای نیل باعث افزایش ایمنوگلوبولین موکوس و سرم گردید. اگرچه افزایش ایمنوگلوبولین موکوس تنها در تیمار تغذیه شده با جیره حاوی ۲ گرم پودر قارچ صدفی در کیلوگرم جیره با گروه شاهد دارای اختلاف معنادار بود. افزایش سطح ایمنوگلوبولین سرم و موکوس ماهیان تغذیه شده با جیره‌های مکمل‌سازی شده با قارچ توسط بسیاری از پژوهش‌گران به اثبات رسیده است (۷۰، ۷۱، ۷۲ و ۷۳) که با نتایج حاصل از پژوهش حاضر همخوانی دارند. در پژوهش حاضر، افزایش ایمنی ذاتی و بهبود پاسخ‌های ایمنی ذاتی ممکن است متأثر از بتاگلوکان و دیگر

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این پژوهش نشان داد که مکمل‌سازی جیره بچه‌ماهی تیلاپای نیل با پودر قارچ صدفی باعث بهبود عملکرد رشد و افزایش ایمنی سرم و موکوس شد. با این نتایج به‌دست آمده ممکن است بتوان نتیجه گرفت که پودر قارچ صدفی تأثیر مثبتی بر سیستم ایمنی و شاخص‌های رشد بچه‌ماهیان تیلاپای نیل دارد؛ چرا که، قارچ صدفی به‌عنوان یک منبع پریبیوتیکی مهم مورد تأیید شناخته شده است. با توجه به نتایج حاصل از این پژوهش، افزودن پودر قارچ صدفی به میزان ۲ گرم در کیلوگرم جیره برای بهبود شاخص‌های رشد و ایمنی موکوسی و سرم بچه‌ماهیان تیلاپای نیل توصیه می‌گردد.

در پژوهش حاضر، در تصویر الگوی پروتئینی موکوس بچه‌ماهیان تیلاپای نیل مشاهده نشد (۸۱). احتمالاً افزایش تراکم باندها در تیمارهای تغذیه شده با پودر قارچ صدفی در پژوهش حاضر، نشان‌دهنده افزایش بیان پروتئین‌های ایمنی موکوس پوست مانند لیزوزیم است. از آنجایی که در گروه‌های تیمار میزان پروتئین‌های ایمنی موکوس در مقایسه با گروه شاهد بیش‌تر بود، شاید بتوان افزایش تراکم باندها را در گروه‌های تیمار در مقایسه با گروه شاهد توجیه کرد. بنابراین، این امر نشان‌دهنده آن است که پودر قارچ صدفی باعث افزایش پروتئین‌ها در موکوس پوست می‌شود و توانسته به عنوان محرک ایمنی عمل کند.

منابع

1. Tangestani, R., Doughikollae, E., Ebrahimi, E., & Zare, P. (2011). Effects of garlic essential oil as an immunostimulant on hematological indices of juvenile beluga (*Huso huso*). *Journal of Veterinary Research*, 66 (209-216), 279.
2. Cabello, F. C. (2006). Heavy use of prophylactic antibiotics in aquaculture: a growing problem for human and animal health and for the environment. *Environmental Microbiology*, 8, 1137-1144.
3. Pohlenz, C., & Gatlin III, D. M. (2014). Interrelationships between fish nutrition and health. *Aquaculture*, 431, 111-117.
4. Kuebutornye, F. K., Abarike, E. D., Lu, Y., Hlordzi, V., Sakyi, M. E., Afriyie, G., Wang, Z., Li, Y., & Xie, C. X. (2020). Mechanisms and the role of probiotic Bacillus in mitigating fish pathogens in aquaculture. *Fish physiology and biochemistry*, 46 (3), 819-841.
5. Cámara-Ruiz, M., Balebona, M. C., Moriñigo, M. Á., & Esteban, M. Á. (2020). Probiotic *Shewanella putrefaciens* (SpPdp11) as a fish health modulator: a review. *Microorganisms*, 8 (12), 1990.
6. Mohammadian, T., Ghanei-Motlagh, R., Molayemraftar, T., Mesbah, M., Zarea, M., Mohtashampour, H., & Nejad, A. J. (2021). Modulation of growth performance, gut microflora, non-specific immunity and gene expression of proinflammatory cytokines in shabout (*Tor grypus*) upon dietary prebiotic supplementation. *Fish & Shellfish Immunology*, 112, 38-45.
7. Ghafarifarsani, H., Rashidian, G., Bagheri, T., Hoseinifar, S. H., & Van Doan, H. (2021). Study on growth enhancement and the protective effects of dietary prebiotic inulin on immunity responses of rainbow trout fry infected with. *Annals of Animal Science*, 21 (2), 543-559.
8. Gewaily, M. S., Abdo, S. E., Moustafa, E. M., AbdEl-Kader, M. F., Abd El-Razek, I. M., El-Sharnouby, M., Alkafafy, M., Raza, S. H. A., El Basuini, M. F., Van Doan, H., & Dawood, M. A. (2021). Dietary synbiotics can help relieve the impacts of deltamethrin toxicity of Nile tilapia reared at low temperatures. *Animals*, 11 (6), 1790.
9. Yilmaz, S., Yilmaz, E., Dawood, M. A., Ringø, E., Ahmadifar, E., & Abdel-Latif, H. M. (2022). Probiotics, prebiotics, and synbiotics used to control vibriosis in fish: A review. *Aquaculture*, 547, 737514.

10. Rey, M. S., García-Soto, B., Fuertes-Gamundi, J. R., Aubourg, S., & Barros-Velázquez, J. (2012). Effect of a natural organic acid-icing system on the microbiological quality of commercially relevant chilled fish species. *LWT-Food Science and Technology*, 46 (1), 217-223.
11. Xia, Y. T., Hu, W. H., Wu, Q. Y., Dong, T. T. X., Duan, R., Xiao, J., Li, S. P., Qin, Q. W., Wang, W. X., & Tsim, K. W. K. (2020). The herbal extract deriving from aerial parts of *Scutellaria baicalensis* shows anti-inflammation and anti-hypoxia responses in cultured fin cells from rabbit fish. *Fish & shellfish immunology*, 106, 71-78.
12. Dada, A. (2019). Effects of herbal growth promoter feed additive in fish meal on the performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* (L.)). *Egypt. Acad. J. Biol. Sci.* 4 (1), 111-117.
13. Choubert, G., Mendes-Pinto, M. M., & Morais, R. (2006). Pigmenting efficacy of astaxanthin fed to rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*: Effect of dietary astaxanthin and lipid sources. *Aquaculture*, 257 (1-4), 429-436.
14. Sepehrfar, D., Hoseinifar, S.H., & Jafar-nodeh, A. (2018). The effects of singular or combined administration of *Pediococcus acidilactii* and Rafinose as prebiotic on mucosal immune parameters and intestinal histomorphology of Common Carp (*Carassius auratus*). *Journal of Physiology and Animal Development*. 12 (1), 25-34. [In Persian]
15. Qobadi, S., Rezaghi Mansour, M., Akrami, R., Amani Danji, K., & Ismaili Mola, A. (2018). The effect of different levels of prebiotic mannan oligosaccharide on growth indicators, survival, carcass composition and intestinal lactobacillus density in juvenile beluga. *Marine Science and Technology*, 10 (4), 67-77. [In Persian]
16. Pouramini, M., & Hosseinifar, S.H. (2016). Application of probiotics and prebiotics in aquaculture. Moj Sabz Publications. P. 29-31, 120p. [In Persian]
17. Iri, A., Hedayati, S. A., Pakenjad, H., Bagheri, T., & Khaleghi, R. (2018). The effect of different levels of prebiotic congeners of oyster mushroom on the mucus immunity parameters of Nile tilapia fish (*Oreochromis niloticus*) exposed to chlorpyrifos poison in laboratory conditions. *Aquatic Nutrition*, 5 (2), 61-70.
18. Chang, S. T. (1999). Global impact of edible and medicinal mushrooms on human welfare in the 21st century: non-green revolution. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 1, 1e7.
19. Wasser, S.P. (2002). Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides. *Applied microbiology and biotechnology*, 60 (3), 258-274.
20. Jayakumar, T., Thomas, P. A., & Geraldine, P. (2009). In-vitro antioxidant activities of an ethanolic extract of the oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*). *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 10, 228e234.
21. Kamilya, D., Ghosh, D., Bandyopadhyay, S., Mal, B. C., & Maiti, T. K. (2006). In vitro effects of bovine lactoferrin, mushroom glucan and *Abrus agglutinin* on Indian major carp, catla (*Catla catla*) head kidney leukocytes. *Aquaculture*, 253, 130-139.
22. Din, A. R. J. M., Razak, S. A., & Sabaratnam, V. (2012). Effect of mushroom supplementation as a prebiotic compound in super worm based diet on growth performance of red tilapia fingerlings. *Sains Malaysiana*. 41, 1197-1203.
23. Zakariaee, H., Sodagar, M., Hosseini, S., Paknejad, H., & Baroah, K. (2019). The effect of using a synbiotic produced from button mushroom extract in combination with two species of lactic acid bacteria on the activity of digestive enzymes, carcass composition, growth and intestinal microbial flora in zebra fish (*Danio rerio*). *Marine science and technology*. In press, **10.22113/jmst.2020.233183.237**. [In Persian]
24. Sodagar, M., Khalsa, M., Mazandarani, M., Hosseini, A., & Zakariaee, H. (2016). The effect of *Spirulina sp* on the growth, survival and pigmentation of

- Pseudotropheus demasoni*. Journal of Fisheries, *Journal of Natural Resources of Iran*, 69 (1), 21-27. [In Persian]
25. Nyekanyeka, T. (2011). Analysis of profitability and efficiency of improved and local smallholder dairy production: A case of Lilongwe milk shed area. M.Sc. Thesis. University of Malawi, Bunda College.
 26. Liping, L., Zongfeng, Z., Wenbo, Z., Murray, F., & Little, D. (2012). Tilapia aquaculture in China: Low market prices, other issues challenge as sector seeks sustainability. *Global Seafood Alliance*, 2, 1-7.
 27. Khanjani, M.H., & Alizadeh, M. (2021). Biological and economic performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in two conventional and limited water exchange systems. *J. Aqu. Eco.* 11 (3), 12-21. [In Persian]
 28. Zakariaee, H., Sudagar, M., Hosseini, S. S., Paknejad, H., & Baruah, K. (2021). In vitro Selection of Synbiotics and in vivo Investigation of Growth Indices, Reproduction Performance, Survival, and Ovarian Cyp19 α Gene Expression in Zebrafish *Danio rerio*. *Frontiers in Microbiology*, 12, 758758.
 29. Amiri, O., Miandare, H. K., Hoseinifar, S. H., Shabni, A., & Safari, R. (2018). Skin mucus protein profile, immune parameters, immune-related gene expression, and growth performance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed white button mushroom (*Agaricus bisporus*) powder. *International journal of medicinal mushrooms*, 20 (4).
 30. Jafarnoude, A. (2015). Investigating the synergistic properties of some organic acids with *Lactobacillus casei* bacteria in rearing rainbow trout fingerlings (*Oncorhynchus mykiss*). Doctoral dissertation, Urmia University, 100p. [In Persian]
 31. AOAC (Association of official Analytical chemists), (1990). Official Methods of Analysis AOAC. Washington, DC. 1263p.
 32. Ross, N. W., Firth, K. J., Wang, A., Burka, J. F., & Johnson, S. C. (2000). Changes in hydrolytic enzyme activities of naive Atlantic salmon *Salmo salar* skin mucus due to infection with the salmon louse *Lepeophtheirus salmonis* and cortisol implantation. *Diseases of aquatic organisms*, 41, 43.
 33. Subramanian, S., MacKinnon, S. L., & Ross, N. W. (2007a). A comparative study on innate immune parameters in the epidermal mucus of various fish species. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 148, 256-263.
 34. Mehri, A., Jafar, A., & Abarghuei, S. (2022). Study on liver lesions and mucosal indices of common carp (*Cyprinus carpio*) in exposure to different concentrations of nanoplastic. *Utilization and Cultivation of Aquatics*, 10 (4), 15-26. [In Persian]
 35. Cho, J. H., Park, I. Y., Kim, M. S., & Kim, S. C. (2002). Matrix metalloproteinase 2 is involved in the regulation of the antimicrobial peptide parasin I production in catfish skin mucosa. *FEBS letters*, 531 (3), 459-463.
 36. Subramanian, S., Mackinnon, S. L., & Ross, N. W. (2007b). A comparative study on innate immune parameters in the epidermal mucus of various fish species. 148, 256-263.
 37. Siwicki, A., & Anderson, D. (1993). Nonspecific defence mechanisms assay in fish II; Potential killing activity of neutrophils and manocytes, lysozyme activity in serum and organs and total immunoglobulin (Ig) level in serum.
 38. Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analyt. Biochem.* 72, 248-254.
 39. Laemmli, U.K. (1970). SDS-page Laemmli method. *Nature*, 227, 680-685.
 40. Hoseinifar, S. H., Zou, H. K., Paknejad, H., Hajimoradloo, A., & Van Doan, H. (2019). Effects of dietary white-button mushroom powder on mucosal immunity, antioxidant defence, and growth of common carp (*Cyprinus carpio*). *Aquaculture*, 501, 448-454.
 41. Ringø, E., Dimitroglou, A., & Hossein, S. (2014). 14 Prebiotics in Finfish: An

- Update. Aquaculture nutrition: gut health, *probiotics and prebiotics*. 360.
42. Mohan, K., Karthick Rajan, D., Muralisankar, T., Ramu Ganesan, A., Marimuthu, K., & Sathishkumar, P. (2022). The potential role of medicinal mushrooms as prebiotics in aquaculture: A review. *Reviews in Aquaculture*.
43. Van Doan, H., Hoseinifar, S. H., Esteban, M. Á., Dadar, M., & Thu, T. T. N. (2019). Mushrooms, seaweed, and their derivatives as functional feed additives for aquaculture: an updated view. *Studies in natural products chemistry*, 62, 41-90.
44. Chang, C. S., Huang, S. L., Chen, S., & Chen, S. N. (2013). Innate immune responses and efficacy of using mushroom beta-glucan mixture (MBG) on orange-spotted grouper, *Epinephelus coioides*, quaculture. *Fish & shellfish immunology*. 35, 115-125.
45. Chong, V., Al-Azad, S., & Shapawi, R. (2016). Comparison of two edible mushroom extract as aquaculture feed additive to enhance immune response of Asian Seabass. *Trans. Sci. Technol*. 3, 427-432.
46. Mizuno, T., Saito, H., Nishitoba, T., & KaWagishi, H. (1995). Antitumor-active substances from mushrooms. *Food Reviews International*. 11, 23-61.
47. Assan, D., Kuebutornye, F.K.A., Hlordzi, V., Chen, H., Mraz, J., Mustapha, U.F., & Abarike, E.D. (2022). Effects of probiotics on digestive enzymes of fish (finfish and shellfish); status and prospects: a mini review. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 257, 110653.
48. Mirghaed, A. T., Yarahmadi, P., Hosseinifar, S. H., Tahmasebi, D., Gheisvandi, N., & Ghaedi, A. (2018). The effects singular or combined administration of fermentable fiber and probiotic on mucosal immune parameters, digestive enzyme activity, gut microbiota and growth performance of Caspian white fish (*Rutilus frisii kutum*) fingerlings. *Fish & shellfish immunology*, 77, 194-199.
49. Allameh, S. K., Noaman, V., & Nahavandi, R. (2017). Effects of probiotic bacteria on fish performance. *Advanced Techniques in Clinical Microbiology*, 1(2), 11.
50. Rodrigues, M. V., Zanuzzo, F. S., Koch, J. F. A., de Oliveira, C. A. F., Sima, P., & Vetvicka, V. (2020). Development of fish immunity and the role of β -glucan in immune responses. *Molecules*, 25 (22), 5378.
51. Do Huu, H., Sang, H. M., & Thuy, N. T. T. (2016). Dietary β -glucan improved growth performance, *Vibrio counts*, haematological parameters and stress resistance of pompano fish, *Trachinotus ovatus* Linnaeus, 1758. *Fish & shellfish immunology*, 54, 402-410.
52. Dawood, M. A., Metwally, A. E. S., El-Sharawy, M. E., Atta, A. M., Elbially, Z. I., Abdel-Latif, H. M., & Paray, B. A. (2020). The role of β -glucan in the growth, intestinal morphometry, and immune-related gene and heat shock protein expressions of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) under different stocking densities. *Aquaculture*, 523, 735205.
53. Aramli, M.S., Kamangar, B., & Nazari, R.M. (2015). Effects of dietary β -glucan on the growth and innate immune response of juvenile Persian sturgeon, *Acipenser persicus*. *Fish & shellfish immunology*, 47 (1), 606-610.
54. Ringø, E., Bendiksen, H. R., Gausen, S. J., Sundsfjord, A., & Olsen, R. E. (1998). The effect of dietary fatty acids on lactic acid bacteria associated with the epithelial mucosa and from faecalia of Arctic charr, *Salvelinus alpinus* (L.). *Journal of Applied Microbiology*, 85(5), 855-864.
55. Vázquez, G.A., & Leitherer, C. (2005). Optimization of Starburst99 for intermediate-age and old stellar populations. *The Astrophysical Journal*, 621 (2), 695.
56. Harikrishnan, R., Balasundaram, C., & Heo, M.S. (2011). Fish & Shell fish Immunology Diet enriched with mushroom *Phellinus linteus* extract enhances the growth, innate immune

- response, and disease resistance of kelp grouper, *Epinephelus bruneus* against vibriosis. *Fish and Shellfish Immunology*. 30, 128-134.
57. Kühlwein, H., Merrifield, D., Rawling, M., Foey, A., & Davies, S. (2014). Effects of dietary β -(1, 3)(1, 6)-D-glucan supplementation on growth performance, intestinal morphology and haemato-immunological profile of mirror carp (*Cyprinus carpio* L.). *Journal of animal physiology and animal nutrition*. 98, 279-289.
58. Van Loo, J., & Gibson, G. (2006). Inulin-type fructans as prebiotics. *Prebiotics: Development & Application*. 57-100.
59. Muin, H., Taufek, N. M., Abiodun, R. A., Yusuf, H. M., & Razak, S. A. (2015). Effect of partial and complete replacement of fishmeal with mushroom stalk meal and soy bean meal on growth performance of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* fingerlings. *Sains Malaysiana*, 44 (4), 511-516.
60. Saurabh, S., & Sahoo, P. K. (2008). Lysozyme: an important defence molecule of fish innate immune system. *Aquaculture research*, 39 (3), 223-239.
61. Song, Q., Xiao, Y., Xiao, Z., Liu, T., Li, J., Li, P., & Han, F. (2021). Lysozymes in Fish. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 69 (50), 15039-15051.
62. Hikima, J. I., Hirono, I., & Aoki, T. (2003). The lysozyme gene in fish. In *Aquatic genomics* (pp. 301-309). Springer, Tokyo.
63. Bower, C. K., Avena-Bustillos, R. J., Olsen, C. W., McHugh, T. H., & Bechtel, P. J. (2006). Characterization of fish-skin gelatin gels and films containing the antimicrobial enzyme lysozyme. *Journal of food science*, 71 (5), M141-M145.
64. Harikrishnan, R., Balasundaram, C., & Heo, M.S. (2012a). Effect of *Inonotus obliquus* enriched diet on hematology, immune response and disease protection in kelp grouper, *Epinephelus bruneus* against *Vibrio harveyi*. *Aquaculture*. 344-349, 48-53.
65. Harikrishnan, R., Balasundaram, C., & Heo, M.S. (2012b). *Inonotus obliquus* containing diet enhances the innate immune mechanism and disease resistance in olive flounder *Paralichthys olivaceus* against *Uronema marinum*. *Fish & shellfish immunology*, 32(6), 1148-1154.
66. Sirimanapong, W., Adams, A., Ooi, E. L., Green, D. M., Nguyen, D. K., Browdy, C. L., Collet, B., & Thompson, K. D. (2015). The effects of feeding immunostimulant β -glucan on the immune response of *Pangasianodon hypophthalmus*. *Fish & shellfish immunology*. 45, 357-366.
67. Katya, K., Yun, Y. H., Yun, H., Lee, J. Y., & Bai, S. C. (2014a). Effects of dietary fermented by-product of mushroom, *Pleurotus ostreatus*, as an additive on growth, serological characteristics and nonspecific immune responses in juvenile Amur catfish, *Silurus asotus*: 1-9.
68. Baba, E., Uluköy, G., & Öntaş, C. (2015). Effects of feed supplemented with *Lentinula edodes* mushroom extract on the immune response of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, and disease resistance against *Lactococcus garvieae*. *Aquaculture*, 448, 476-482.
69. Manayi, A., Vazirian, M., Zade, F. H., & Tehranifard, A. (2016). Immunomodulation effect of aqueous extract of the artist's conk medicinal mushroom, *Ganoderma applanatum* (Agaricomycetes), on the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 18 (10).
70. Adams, S., Che, D., Hailong, J., Zhao, B., Rui, H., Danquah, K., & Qin, G., (2019). Effects of pulverized oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) on diarrhea incidence, growth performance, immunity, and microbial composition in piglets. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99 (7), 3616-3627.
71. Uluköy, G., & Öntaş, C. (2015). Effects of feed supplemented with *Lentinula edodes* mushroom extract on the immune response of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* and disease

- resistance against *Lactococcus garvieae*. *Aquaculture*, 448.
72. Hoseinifar, S. H., Shakouri, M., Van Doan, H., Shafiei, S., Yousefi, M., Raeisi, M., Yousefi, S., Harikrishnan, R., & Reverter, M. (2020). Dietary supplementation of lemon verbena (*Aloysia citrodora*) improved immunity, immune-related genes expression and antioxidant enzymes in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish & Shellfish Immunology*, 99, 379-385.
73. Safari, O., & Sarkheil, M. (2018). Dietary administration of eryngii mushroom (*Pleurotus eryngii*) powder on haemato-immunological responses, bactericidal activity of skin mucus and growth performance of koi carp fingerlings (*Cyprinus carpio koi*). *Fish & shellfish immunology*, 80, 505-513.
74. El Enshasy, H.A., & Hatti-Kaul, R. (2013). Mushroom immunomodulators: unique molecules with unlimited applications. *Trends in biotechnology*, 31 (12), 668-677.
75. Abu-Almaaty, A. H., Bahgat, I. M., & Al-Tahr, Z. M. (2020a). Using SDS-PAGE and ISSR as biochemical markers for assessment the genetic similarity and protein analysis of some Cyprinid fish species. *Genetika*, 52 (1), 161-175.
76. Abu Almaaty, A., E Abd-Alaty, H., & A Abbas, O. (2020b). Molecular Discrimination among Three Fish Species of Family Sparidae Using ISSR and SDS-PAGE Techniques. *Egyptian Journal of Aquatic Biology and Fisheries*, 24 (7-Special issue), 619-628.
77. Al-Ghanim, K. A., Mahboob, S., Vijayaraghavan, P., Al-Misned, F. A., Kim, Y. O., & Kim, H. J. (2020). Sub-lethal effect of synthetic pyrethroid pesticide on metabolic enzymes and protein profile of non-target Zebra fish, *Danio rerio*. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 27 (1), 441-447.
78. Fagan, M. S., O'Byrne-Ring, N., Ryan, R., Cotter, D., Whelan, K., & Mac Evilly, U. (2003). A biochemical study of mucus lysozyme, proteins and plasma thyroxine of Atlantic salmon (*Salmo salar*) during smoltification. *Aquaculture*, 222 (1-4), 287-300.
79. Shepherd, R., Robertson, A., & Ofman, D. (2000). Dairy glycoconjugate emulsifiers: casein-maltodextrins. *Food Hydrocolloids*, 14 (4), 281-286.
80. Guardiola, F. A., Dioguardi, M., Parisi, M. G., Trapani, M. R., Meseguer, J., Cuesta, A., Cammarata, M., & Esteban, M. A. (2015). Evaluation of waterborne exposure to heavy metals in innate immune defences present on skin mucus of gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Fish & shellfish immunology*, 45 (1), 112-123.
81. Abraham, S. N., Sharon, N., & Ofek, I. (1999). Adhesion of bacteria to mucosal surfaces. *Mucosal immunology*, 3, 35-48.

Investigating the amount of fraud in the production of canned tuna using the DNA barcoding method in Iran

Mona Eyvaz¹, Mehdi Zolfaghari^{*2}, Mojtaba Nasr Esfahani³, Hamed Paknejad⁴

1. Ph.D. Student, Dept. of Food Science and Technology, Najafabad Branch, Islamic Azad University, Najafabad, Iran. E-mail: mona.aivaz@yahoo.com
2. Corresponding Author, Dept. of Fishery Products Processing, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: zolfaghari.mz@gmail.com
3. Associate Prof., Dept. of Chemistry, Najafabad Branch, Islamic Azad University, Najafabad, Iran. E-mail: m-nasresfahani@iaun.ac.ir
4. Associate Prof., Dept. of Aquaculture, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: hkolangi@gmail.com

Article Info

Article type:
Full Length Research Paper

Article history:
Received: 07.03.2022
Revised: 07.06.2022
Accepted: 07.11.2022

Keywords:
Adulteration detection,
Canned tuna,
Cytochrome oxidase 1
marker,
DNA barcoding

ABSTRACT

Nowadays, the mixing of low-quality species in canned products, especially in fishery products, is considered as one of the most important problems of monitoring some food industry production units. Among the new methods of detecting counterfeits, genetic methods such as DNA barcoding have high accuracy and precision. Therefore, the purpose of this research is to investigate the fraud in canned Iranian tuna fish produced using DNA barcoding, by cytochrome oxidase 1 detector. In this research, canned tuna stuffed with one piece of meat and canned tuna stuffed with chopped meat from different brands available in the market were collected from different regions of the country. The samples after DNA extraction and optimizing its process, were subjected to PCR by cytochrome oxidase 1 gene and then sequenced. The results of the sequencing showed that out of 100 canned samples examined, 80 samples have 97% genetic similarity to the fish listed on the can label, 18 samples have 90% genetic similarity to short fish. (Sillaginidae), and 3 samples belonged to 3 different fish species. Among these, only 3 samples were related to canned tuna prepared from one piece of meat. The results showed that this method is very useful due to its high speed and accuracy, for canned fish, where DNA parts may be lost during the canning process and it can be used to check the amounts of fraud in processed foods are recommended.

Cite this article: Eyvaz, Mona, Zolfaghari, Mehdi, Nasr Esfahani, Mojtaba, Paknejad, Hamed. 2023. Investigating the amount of fraud in the production of canned tuna using the DNA barcoding method in Iran. *Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics*, 12 (2), 35-47.



© The Author(s).

DOI: 10.22069/japu.2022.20391.1684

Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

بررسی میزان تقلب در تولید کنسرو ماهی تن با استفاده از روش DNA بارکدینگ در ایران

مونا ایوز^۱، مهدی ذوالفقاری^{۲*}، مجتبی نصراصفحانی^۳، حامد پاک‌نژاد^۴

۱. دانشجوی دکتری گروه علوم صنایع غذایی و فناوری، واحد نجف‌آباد، دانشگاه آزاد اسلامی، نجف‌آباد، ایران. رایانامه: mona.aivaz@yahoo.com

۲. نویسنده مسئول، گروه عمل‌آوری فرآورده‌های شیلاتی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: zolfaghari.mz@gmail.com

۳. دانشیار گروه شیمی، واحد نجف‌آباد، دانشگاه آزاد اسلامی، نجف‌آباد، ایران. رایانامه: m-nasresfahani@iaun.ac.ir

۴. دانشیار گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: hkolangi@gmail.com

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: مقاله کامل علمی- پژوهشی	امروزه اختلاط گونه‌های با کیفیت پایین در فرآورده‌های کنسروی به ویژه در محصولات شیلاتی به عنوان یکی از مهم‌ترین معضلات نظارت بر برخی واحدهای تولیدی صنایع غذایی دریایی به شمار می‌رود. از میان روش‌های نوین تشخیص از تقلبات، روش‌های ژنتیکی مانند DNA بارکدینگ از صحت و دقت بالایی برخوردار است. از این رو، هدف از پژوهش حاضر، بررسی تقلب در کنسرو تن ماهیان ایران تولیدشده با استفاده از DNA بارکدینگ، به‌وسیله شناساگر سیتوکروم اکسیداز ۱ می‌باشد. در پژوهش حاضر کنسروهای ماهی تن پرشده با گوشت یک تکه و کنسروهای تن پرشده با گوشت خردشده از برندهای مختلف موجود در بازار از مناطق مختلف کشور جمع‌آوری گردید. نمونه‌ها پس از استخراج DNA و بهینه‌سازی فرآیندهای آن، برای ژن سیتوکروم اکسیداز ۱ با استفاده از پرایمرهای بهینه PCR شده و سپس مورد توالی‌یابی قرار گرفتند. نتایج حاصل از توالی‌یابی نشان داد از ۱۰۰ نمونه کنسرو مورد بررسی، ۸۰ نمونه دارای ۹۷ درصد شباهت ژنتیکی به ماهیان تن درج شده روی برچسب قوطی کنسرو، ۱۷ نمونه دارای ۹۰ درصد شباهت ژنتیکی به شورت ماهیان (Sillaginidae) و ۳ نمونه مربوط به ۳ گونه ماهی دیگر بود. از این میان تنها ۳ نمونه مربوط به کنسروهای تن ماهی تهیه شده از گوشت یک تکه بود. نتایج نشان داد که این روش به دلیل دقت بالا و اختصاصی بودن، برای کنسروهای ماهی که ممکن است قطعات DNA طی فرآیندهای تهیه کنسرو از بین برود، بسیار کاربردی است و استفاده از آن برای بررسی میزان تقلبات غذاهای فرآوری شده پیشنهاد می‌گردد.
تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۴/۱۲	
تاریخ ویرایش: ۱۴۰۱/۰۴/۱۵	
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۴/۲۰	
واژه‌های کلیدی: تشخیص تقلب، شناساگر سیتوکروم اکسیداز ۱، کنسرو تن ماهیان، DNA بارکدینگ	

استناد: ایوز، مونا، ذوالفقاری، مهدی، نصراصفحانی، مجتبی، پاک‌نژاد، حامد (۱۴۰۲). بررسی میزان تقلب در تولید کنسرو ماهی تن با استفاده از روش DNA بارکدینگ در ایران. نشریه بهره‌برداری و پرورش آبزیان، ۱۲ (۲)، ۳۵-۴۷.

DOI: 10.22069/japu.2022.20391.1684



© نویسندگان

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

مقدمه

از ابتدای تاریخ بشر، از ماهی و محصولات شیلاتی برای تأمین معاش، تفریح و بسیاری از جنبه‌های دیگر استفاده می‌شد. امروزه، ماهی و صنایع مرتبط با آن، تقریباً یک بخش مهم اقتصادی در هر فرهنگ و جامعه‌ای محسوب می‌گردد. بر اساس شواهد مشخص گردید که تقریباً در هر توده بزرگی از آب سالم، چه شیرین و چه شور صدها گونه ماهی وجود دارد که برای تولید محصولات شیلاتی از اهمیت تجاری بالایی برخوردار است (۱).

مصرف ماهی در بیش‌تر کشورها از جمله ایران بسیار کم‌تر از سطح توصیه شده می‌باشد، که معمولاً باید حدود دو وعده در هفته باشد و این مقدار فقط بخش کمی از کل پروتئین حیوانی مصرفی را در بر می‌گیرد (۲، ۳، ۴).

در ایران نیز، مانند بسیاری از کشورهای دیگر، مصرف کنسرو ماهی به خصوص کنسرو ماهی تن به‌علت استفاده راحت و آسان به جای ماهی تازه ترجیح داده می‌شود (۵). مدیران مشاغل غذایی موظفند اطمینان حاصل کنند که همه مراحل تولید، فرآوری و توزیع مواد غذایی تحت کنترل آن‌ها بوده و از نظر ایمنی غذایی، بهداشت و فرآوری مورد نیاز با قوانین تعیین شده بین‌المللی مطابقت دارد؛ سپس، می‌توانند محصولاتشان را با اطمینان خاطر به بازار عرضه کنند. همچنین، متصدیان تجارت مواد غذایی که مراحل مختلف تولید، فرآوری و یا توزیع مواد غذایی را انجام می‌دهند؛ باید از استانداردهای بهداشتی عمومی پیروی کنند (۶، ۷).

ظرفیت صنعت کنسروسازی ماهی ایران ۱۳۴ واحد بوده که حدود ۷۱۷ میلیون قوطی در سال ظرفیت دارند. که ظرفیت عملیاتی این صنعت ۵۶۴ میلیون قوطی در سال می‌باشد. توسعه این صنعت به‌نحوی است که از ۳۳ محصول فرآوری‌شده شیلاتی، ۱۲ محصول آن کنسروی بوده است (۸).

تن ماهیان مورد استفاده در کنسرو در ایران به‌طور عمده شامل ماهیان ارزشمندی مانند گیدر (تن زردباله) با نام علمی *Thunnus albacares* (Yellowfin tuna)، ماهی هوور با نام علمی *Thunnus tonggol*، هوور مسقطی (*Katsuwonus pelamis*)، ماهی زرده (*Euthynnus affinis*) (Kawakawa)، می‌باشد. طبق استانداردهای غذا و دارو تولیدکنندگان موظف به درج نوع ماهی مورد استفاده در برچسب کنسرو هستند. با توجه به ارزش اقتصادی بالای ماهیان تن مذکور و علاقه‌مندی بیش‌تر مصرف‌کنندگان به خرید کنسرو این ماهیان، این کنسروها جایگاه بهتری در سبد خرید مصرف‌کنندگان دارند. متأسفانه در صنعت تولید کنسرو تن ماهیان نیز هم‌چون بسیاری از صنایع غذایی دیگر موضوع تقلب مواد غذایی هر چند اندک مطرح است (۹).

در تهیه این نوع کنسروها از دو نوع گوشت استفاده می‌شود. به این صورت که کنسروهایی که وجود دارند یا به صورت گوشت‌های یک تکه هستند. به طوری که گوشت ماهیان پس از پخت، قالبگیری می‌شود و در قوطی‌های کنسرو که از جنس فلز است، قرار می‌گیرد. در مورد کنسروهایی تهیه شده از خرده گوشت‌ها، بدین صورت عمل می‌شود که تکه‌های گوشت اضافه آمده از گوشت‌ها پس از قالبگیری برای کنسروهایی یک تکه روی یک سینی جمع می‌شود و سپس توسط دستگاه به صورت اتوماتیک یا توسط نیروی انسانی و درون قوطی‌های فلزی قرار می‌گیرد (۱۰).

به‌طور کلی، در بحث فرآوری محصولات شیلاتی در برخی موارد مشاهده می‌شود که تولیدکنندگان، ماهی‌های بی‌کیفیت را با ماهی‌های با کیفیت بالاتر مخلوط می‌کنند تا سود بالاتری را برای گونه‌های تجاری با ارزش کم‌تر دریافت کنند (۱۱). این اقدامات متقلبانه بر بازار ماهی تأثیر منفی می‌گذارند. ابتکارات

قطعات کوچک با اختلاف کافی در توالی امکان تمایز و شناسایی حتی گونه‌های بسیار نزدیک را نیز دارد. در یک سلول DNA هسته‌ای و میتوکندریایی به طور بالقوه برای اهداف شناسایی گونه در دسترس می‌باشند؛ اما با این حال، DNA میتوکندریایی ترجیح داده می‌شود. هدف اصلی این مطالعه، توسعه روش تشخیص دقیق گونه‌های رایج ماهی تن کنسروی با استفاده از تکنیک DNA barcoding برای دو نوع کنسرو در آب نمک و روغن بود.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری نمونه: بدین منظور از برندهای موجود در بازار کنسروهای ماهی تن جمع‌آوری شد. پس از بررسی مشخصات موجود روی قوطی‌های تن، این اطلاعات اعم از نوع گونه ماهی مورد استفاده و نوع گوشت یک تکه یا خردشده ثبت گردید. از هر برند حداقل سه نمونه و دو زیر نمونه تهیه شد، که یک زیرنمونه برای انجام تشخیص استفاده و زیرنمونه دیگر برای تکرارپذیری احتمالی لازم، در فریزر ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شد (۱۹).

سنتز پرایمر: عمده مطالعات صورت گرفته در حوزه تقلب در محصولات آبزیان به کمک ژن‌های موجود میتوکندریایی صورت می‌گیرد. بر همین اساس، در مطالعه حاضر از ژن سیتوکروم اکسیداز ۱ که ناحیه بسیار کلیدی در شناسایی افراد می‌باشد و اصطلاحاً در بارکدینگ به کار گرفته می‌شود، استفاده شد. سنتز پرایمرها بر اساس اطلاعات موجود در منابع مختلف صورت پذیرفت. لازم به ذکر است توالی پرایمر این ژن در تمام آبزیان تقریباً یونیورسال می‌باشد. این پرایمرها شامل: VF2_t1, FishF2_t1, FishR2_t1, FR1d_t1, L5956, H6558 و MiniBarcode بود که از مطالعات قبلی گرفته شد (۲۰، ۲۱).

لازم برای افزایش آگاهی عمومی و ایجاد ابزارهای مؤثر برای احراز هویت محصولات می‌تواند نوع گونه ماهی را شناسایی و از ایجاد تقلب جلوگیری کند. شناسایی قابل اعتماد ماهی برای جلوگیری از برچسب‌گذاری اشتباه در بازارهای ماهی امری است که ضروری به نظر می‌رسد (۱۲). امروزه استفاده از رویکردهای مولکولی برای شناسایی گونه‌های ماهی به دلیل کاهش محدودیت‌های مرتبط با سیستم‌های شناسایی مبتنی بر مورفولوژیک و فقدان تخصص در شناسایی گونه‌های ماهی پیشنهاد شده است (۱۳). در سال‌های اخیر، بارکدگذاری مولکولی به عنوان بهترین روش در علم پزشکی قانونی برای شناسایی گونه‌ها مطرح شده است (۱۴). بارکدگذاری DNA روشی است که توالی‌های متغیر ژنتیکی DNA را با تنوع درون گونه‌ای کم اما بین گونه‌ای بالا برای تمایز بین گونه‌ها اعمال می‌کند و به عنوان یک روش عملی در ردیابی مواد غذایی استفاده می‌شود. از این‌رو، از نشانگرهای زیستی مختلفی برای شناسایی ماهی استفاده می‌گردد (۱۵).

یکی از آشناترین و هدفمندترین نشانگرهای DNA سیتوکروم میتوکندری است که در زمینه‌های پزشکی قانونی، طبقه‌بندی و اکولوژیکی کاربردهای مشترکی دارد (۱۶). استفاده از ژن سیتوکروم یک انتخاب عاقلانه برای شناسایی انواع گونه‌های مختلف ماهی، جوجه‌ها و دام می‌باشد و بسیاری از پژوهش‌گران آن را در طبقه‌بندی سیستماتیک و زیست‌محیطی مولکولی گزارش نمودند (۱۷). در مقایسه با ژن‌های هسته‌ای، DNA میتوکندریایی (mtDNA) به دلیل تعداد تقسیم زیاد، اینترون کم‌تر، ترکیب مجدد کم و وراثت مادرنه برای بارکدگذاری DNA مناسب‌تر است (۱۸).

اگرچه DNA در مرحله استریلیزاسیون حرارتی فرآیند کنسرو نیز تخریب می‌شود؛ اما، به دست آوردن

جدول ۱- پرایمرهای مورد استفاده در آزمایش DNA بارکدینگ برای تشخیص تقلب در کنسروهای ماهی تن.

Code	Primer	Sequence
VT	VF2_t1	TGTA AAAACGACGGCCAGTCAACCAACCACAAAGACATTGGCAC
FFT	FishF2_t1	TGTA AAAACGACGGCCAGTCGACTAATCATAAAAGATATCGGCAC
FRT	FishR2_t1	CAGGAAACAGCTATGACACTTCAGGGTGACCGAAGAATCAGAA
FT	FR1d_t1	CAGGAAACAGCTATGACACCTCAGGGTGTCCGAARAAYCARAA
LC	L5956-COI	ACAAAGACATTGGCACCT
HC	H6558-COI	CCTCCTGCAGGGTCAAAGAA
MB	MiniBarcode	ATCACAAAGACATTGGCACCT

ارزیابی کمیت DNA: به این منظور از روش اسپکتروفتومتری استفاده شد. مقدار جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۲۶۰-۲۸۰ نانومتر و نسبت DNA ۲۶۰/۲۸۰ به وسیله دستگاه اندازه‌گیری و ثبت گردید. اگر نسبت رقت $A_{1}/A_{2} = 1/8$ باشد، DNA استخراجی دارای کیفیت مناسب است و اگر این نسبت بزرگ‌تر از ۱/۸ باشد، DNA دارای ناخالصی RNA بوده و اگر کم‌تر از این مقدار باشد نشانه ناخالصی فنول و پروتئین است. پروتئین معمولاً در ۲۸۰ نانومتر و پلی‌ساکاریدها در ۲۳۰ نانومتر جذب زیادی دارند. بنابراین، میزان آلودگی محصول به پروتئین و هیدرات‌های کربن از طریق میانگین این جذب‌ها تشخیص داده شد (۲۵).

فرآیند PCR: پس از اطمینان از کیفیت و کمیت DNA استخراج شده با کمک پرایمرهای سنتز شده نمونه‌ها PCR شدند. به منظور انجام عملیات PCR از کیت مستر میکس PCR استفاده شد. آماده‌سازی نمونه‌ها برای انجام PCR بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده به ترتیب زیر صورت گرفت. پرمیکس پرایم تک، DNA الگو، مخلوط پرایمر Forward و Reverse با استفاده از آب دیونیزه استریل به حجم نهایی رسید. مخلوط به مدت ۱۰ ثانیه میکس شده، سپس میکروتیوب حاوی مواد در دستگاه PCR قرار

استخراج DNA: پس از تهیه کنسروهای موجود در بازار، نمونه‌برداری لازم به منظور صحت‌سنجی اطلاعات موجود روی برچسب کنسرو، ثبت شده و نمونه‌ها برای استخراج DNA به آزمایشگاه منتقل شدند. به منظور استخراج DNA، به میزان ۲۵ میلی‌گرم از نمونه گوشت کنسرو توسط ازت مایع و هاون چینی کاملاً پودر و در ادامه با استفاده از کیت DNA xPLuS ساخت شرکت سیناکلون و بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده استخراج گردید (۲۲).

ارزیابی کیفیت DNA: به این منظور از دستگاه الکتروفورز افقی استفاده شد. برای ارزیابی کیفی DNA استخراج شده از ژل آگاروز ۱ درصد استفاده گردید. برای این منظور بر اساس سینی ژل، آگارز تهیه شد؛ از آنجایی که اغلب سینی‌های الکتروفورز ۴۰ میلی‌لیتر می‌باشند، میزان ۰/۴ گرم آگارز با ۴۰ میلی‌لیتر بافر TAE^۱ مخلوط و با کمک مایکروبیو، ژل آماده و پس از کاهش دما ژل در سینی ریخته شد. برای ارزیابی DNA استخراج شده، نمونه آماده شده از DNA به چاهک‌های موجود روی ژل منتقل شده و براساس بار الکتریکی DNA، از سمت منفی به سمت مثبت حرکت آن مورد بررسی قرار گرفته شد. جهت رویت DNA بر روی ژل از رنگ DNA Safe Stain استفاده گردید (۲۳، ۲۴).

1- Tris-Acetate-EDTA

داده‌ها مقایسه شده و گونه ماهی مورد استفاده در نمونه کنسرو مشخص شد (۲۳).

نتایج و بحث

برای انجام تکثیر قطعات DNA و انجام آزمایش‌های مربوط به PCR از پرایمرهای موجود در مطالعات قبلی استفاده شد و آن‌ها مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که زمانی که اندازه قطعات DNA به حجم ۷۰۰ bp بود، تکثیر قطعات به درستی صورت نمی‌گرفت، از این‌رو، DNA به قطعات کوچک‌تر با طول ۲۶۰-۲۸۰ برش داده شدند. در این مرحله، با استفاده از پرایمرهای مذکور و شرایط بیان شده در جدول ۲ تکثیر موفقیت‌آمیزی صورت گرفت و نتایج به دست آمده برای توالی‌یابی مستقیم ارسال شدند. مشخص گردید که از بین پرایمرهای مورد استفاده پرایمر کد MB به عنوان پرایمر اختصاصی عمل کرده و تمام تکثیرها بر اساس این پرایمر صورت گرفت (جدول ۲). بررسی‌ها نشان داد که قطعات DNA تکثیر شده برای بررسی، قطعات مناسبی بودند که هیچ‌گونه شکستگی و یا بی‌نظمی در آن‌ها مشاهده نشد و قطعات به‌دست آمده از این تکثیر از کیفیت خوبی برخوردار بودند. پس از بررسی و تأیید DNA های موجود، نمونه‌ها برای توالی‌یابی مورد استفاده قرار گرفتند.

گرفت. واکنش زنجیره‌ای پلیمرز بر اساس پروتکل عمومی به شرح زیر اجرا گردید: ۵ دقیقه فاز Denaturation اولیه و سپس ۳۵ چرخه تکراری از ۶۰ ثانیه Denaturation در دمای ۹۴°C، ۴۰ ثانیه Annealing در ۵۴°C تا ۶۴°C به صورت شیب دمایی (این دما بستگی به دمای ذوب پرایمر دارد) و ۳۰ ثانیه Extension در دمای ۷۲°C، سپس یک دوره پایانی Extension در دمای ۷۲°C انجام شد. در پایان محصول PCR روی ژل آگارز که با رنگ DNA safe stain رنگ‌آمیزی و الکتروفورز شده و تصاویر بررسی شدند. در نهایت دما و غلظت مناسب برای اتصال پرایمرها به DNA و عدم تشکیل پرایمر دایمر، برای هر پرایمر تعیین گردید. پس از انجام PCR و اطمینان از حصول باندهای مورد نظر نمونه‌ها جهت ارزیابی و صحت برای توالی‌یابی بر اساس پروتکل شرکت توالی‌یابی‌کننده آماده‌سازی شد.

تجزیه و تحلیل اطلاعات: روش نمونه‌برداری براساس نمونه‌برداری تصادفی بود. تجزیه و تحلیل اطلاعات براساس تعیین درصد عدم تطابق برچسب‌گذاری صورت گرفت. پس از توالی‌یابی نمونه با کمک برنامه‌های هم‌چون Bioedit و MEGA توالی‌ها مورد ارزیابی قرار گرفتند. هم‌چنین، جهت صحت نتیجه توالی ابتدا توالی‌های در بانک ژن با کمک ابزار BLAST ارزیابی و در نهایت بر اساس BOLD

جدول ۲- پرایمر مورد استفاده در آزمایش DNA بارکدینگ برای تشخیص تقلب در کنسروهای ماهی تن.

Code	Primer	Sequence	Reference
MB	MiniBarcode	F:ATCACAAAGACATTGGCACCCCT R: AATGAAGGGGGGAGGAGTCAGAA	Inoue et al. 2001

نمونه کنسرو تنها ۲۰ نمونه با آنچه که روی آن برچسب‌گذاری شده بود، تفاوت داشت و این اختلاف در ۸۵ درصد موارد به کنسروهای پر شده با گوشت خرد شده مشاهده گردید. و تنها ۱۵ درصد (در سه

برای انجام توالی‌یابی، ابتدا بررسی‌هایی که انجام شد مشخص گردید زمانی که طول قطعات از حداقل ۲۶۱ تا حداکثر ۲۷۱bp متغیر بود، نمونه‌ها قابل توالی‌یابی بودند. نتایج حاصل نشان داد که از ۱۰۰

(ماهیان گورامی) است و این گروه را گاهی به عنوان زیرگروه خانواده آنابانتیده می‌شناسند. همچنین، ۱ نمونه از ۲۰ مورد تقلب دارای شباهت ۷۵ درصد به راس مرمری بود. این گونه با نام علمی *Halichoeres hortulanus* متعلق به آب‌های اقیانوس هند است که گاهی به صورت اتفاقی به دریای عمان و خلیج فارس وارد می‌شود. به طور کلی، در این راستی آزمایشی، برچسب روی قوطی کنسروها به میزان ۸۰ درصد درست بود و میزان ۲۰ درصد خلاف آنچه که ذکر شده بود، مشاهده شد. همچنین، بر اساس شکل ۲ مشاهده شد که بیشترین درصد عدم تطابق مربوط به شورت ماهیان می‌شد. این ماهیان چون در مناطق کم‌عمق زندگی می‌کنند، صید آن‌ها همراه با ماهیان تن طبیعی است.

مورد در کنسروهای تهیه شده از گوشت یک تکه مشاهده شد. بر اساس نتایج حاصل از توالی‌یابی، از ۱۰۰ کنسرو مورد بررسی، ۸۰ نمونه دارای ۹۷ درصد شباهت ژنتیکی به تن ماهیان بودند. با این وجود در ۱۸ نمونه ۹۰ درصد شباهت ژنتیکی به شورت ماهیان با نام علمی *Sillago sihama* مشاهده گردید. این ماهی در مناطق کم‌عمق خلیج‌ها و دریاها زندگی می‌کند، اگرچه ارزش غذایی قابل‌توجهی دارد، اما چون محتویات درون قوطی کنسرو با برچسب روی آن تفاوت داشت، این مورد نیز به عنوان تقلب در نظر گرفته شد. همچنین، ۱ نمونه دارای ۸۳ درصد شباهت به ماهی *Pristolepis rubripinnis* است. این ماهی در سال ۲۰۱۲ توسط Britz در آب‌های بخش جنوبی اقیانوس هند شناسایی شد و نام فارسی آن برگ ماهی است. این گروه نزدیک‌ترین خانواده به آنابانتیده

جدول ۳- عدم تطابق گونه‌های شناسایی شده در نمونه‌های کنسرو با نوع گوشت خردشده تن ماهی.

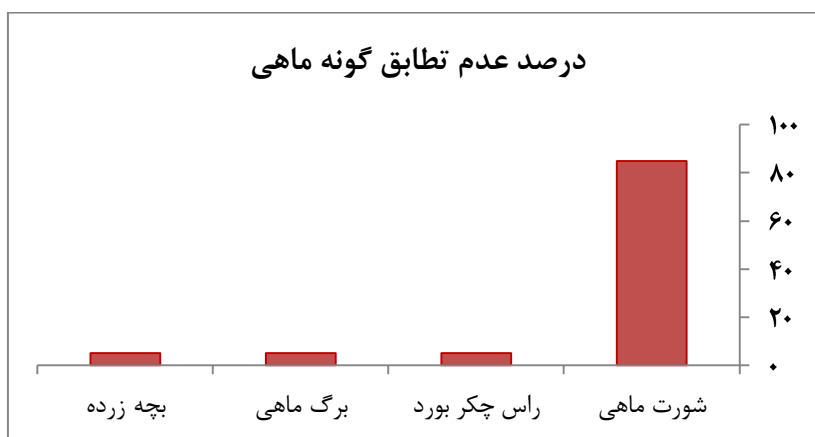
کد دسترسی بانک ژن	گونه تشخیص داده شده	میزان شباهت (درصد)	طول قطعه	مشخصات نمونه	نوع گوشت	کد نمونه
JF434990.1	<i>Halichoeres hortulanus</i>	٪۷۵	۲۶۶	ماهی تن	خردشده	89-141686-1-R
JF494530.1	<i>Sillago sihama</i>	٪۹۴/۷۸	۲۶۹	ماهی تن	خردشده	90-141687-2-R
MN512097.1	<i>Sillago sihama</i>	٪۹۵/۳۲	۲۶۶	ماهی تن	خردشده	91-141688-3-R
92-141689-4-R	<i>Sillago sihama</i>	٪۹۶/۹۴	۲۶۸	ماهی تن	خردشده	92-141689-4-R
JF494530.1	<i>Sillago sihama</i>	٪۹۷/۹۵	۲۶۶	ماهی تن	خردشده	42-144989-5-R
JF494530.1	<i>Sillago sihama</i>	٪۹۹/۱۸	۲۶۳	ماهی تن	خردشده	29-143150-16-R
JF494530.1	<i>Sillago sihama</i>	٪۹۸/۳۵	۲۶۲	ماهی تن	خردشده	30-143151-17-R
JF494530.1	<i>Sillago sihama</i>	٪۹۹/۱۸	۲۶۳	ماهی تن	خردشده	20-143155-18-R
MG923398.1	<i>Pristolepis rubripinnis</i>	٪۸۳/۱۳	۲۶۱	ماهی تن	خردشده	21-1413156-19-R
JF494530.1	<i>Sillago sihama</i>	٪۹۷	۲۶۷	ماهی تن	خردشده	22-143157-20-R
JF494530.1	<i>Sillago sihama</i>	٪۹۹/۵۷	۲۶۳	ماهی تن	خردشده	24-143159-22-R
JF494530.1	<i>Sillago sihama</i>	٪۹۹/۵۷	۲۶۷	ماهی تن	خردشده	93-141690-5-R
EF609617.1	<i>Sillago sihama</i>	٪۹۸/۷۲	۲۶۷	ماهی تن	خردشده	32-143066-6-R
EF609617.1	<i>Sillago sihama</i>	٪۹۶/۱۷	۲۶۶	ماهی تن	خردشده	31-143070-8-R
EF609617.1	<i>Sillago sihama</i>	٪۹۶/۱۷	۲۶۶	ماهی تن	خردشده	26-143147-13-R
EF609617.1	<i>Sillago sihama</i>	٪۹۵	۲۶۵	ماهی تن	خردشده	28-143149-15-R

توجه: در این جدول مشاهده می‌گردد که از ۱۶ مورد عدم تطابق صورت گرفته در برچسب کنسرو ماهی تن، ۱۴ مورد به خانواده شورت ماهیان، ۱ مورد به خانواده برگ ماهی و ۱ مورد متعلق به گونه راس مرمری بود. این موارد نشان می‌دهد که عدم تطابق صورت گرفته می‌تواند مورد انتظار باشد چرا که میزان ماهی شورت که به طور عمد در مناطق صید ماهی تن فراوان است، بیش‌تر از سایر گونه‌هاست

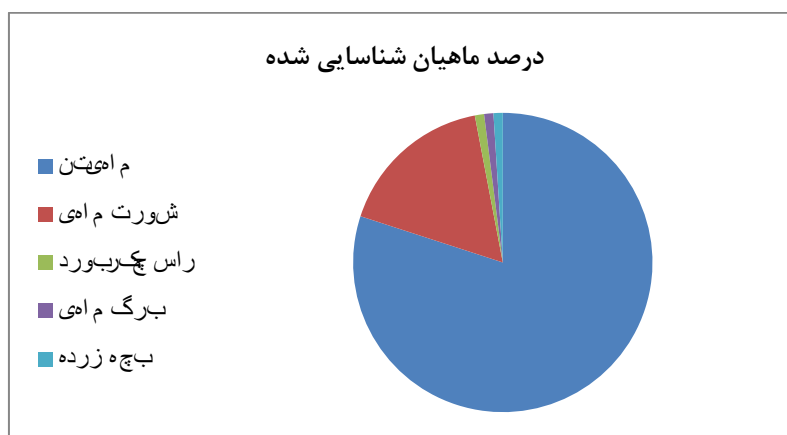
جدول ۴- گونه‌های ماهی در تقلب شده شناسایی شده در نمونه‌های کنسرو با نوع گوشت یک تکه تن ماهی.

کد دسترسی بانک ژن	گونه تشخیص داده شده	میزان شباهت (درصد)	طول قطعه	مشخصات نمونه	نوع گوشت	کد نمونه
JF494530.1	<i>Sillago sihama</i>	٪۹۹/۹۵	۲۷۱	ماهی تن	یک تکه	43-144990-20-R
EF504530.1	<i>Sillago sihama</i>	٪۹۹/۵۷	۲۶۳	ماهی تن	یک تکه	23-143158-21-R
JF494530.1	<i>Sillago sihama</i>	٪۹۹/۵۷	۲۶۳	ماهی تن	یک تکه	25-143160-23-R
JF494530.1	<i>Auxis thazard</i>	٪۹۹/۶	۲۶۳	ماهی تن	یک تکه	27-143160-23-R

توجه: در این جدول مشاهده می‌گردد که از ۴ مورد تقلب صورت گرفته در کنسرو ماهی تن تهیه شده از گوشت یک تکه ۳ مورد به خانواده شورت ماهی تعلق دارند



شکل ۱- میزان تنوع ماهیان استفاده شده در کنسروهای ماهی تن با عدم تطابق گونه.



شکل ۲- درصد گونه‌های شناسایی شده در نمونه‌های برندهای مختلف کنسرو تن ماهی‌های ایران.

به مصرف‌کنندگان در انتخاب انواع مناسب محصولات غذایی مورد نیاز است. طی سال‌های گذشته، روش‌های مختلف برای تشخیص کیفیت مواد غذایی عمدتاً براساس تجزیه و تحلیل‌های هدفمند یا بدون هدف ابداع شده است. از زمان‌های بسیار قدیم

اصالت و قابلیت ردیابی محصولات غذایی در همه سطوح فرآیند تولید از مواد اولیه گرفته تا محصولات نهایی از اهمیت اساسی برخوردار است. احراز هویت هم‌چنین یک جنبه اصلی برای برچسب‌گذاری دقیق مواد غذایی است که برای کمک

و b متمرکز شده است. از آنجا که چندین نسخه از DNA میتوکندری در داخل سلول وجود دارد، به احتمال زیاد قطعه داخل این ژنوم را بیش تر از ژنوم هسته‌ای تقویت می‌کند. DNA میتوکندری به طور کلی بسیار سریع تر از DNA هسته‌ای تکامل می‌یابد؛ بنابراین، امکان جدا شدن و شناسایی حتی گونه‌های نزدیک به یکدیگر را فراهم می‌کند. DNA میتوکندری از مادر به ارث می‌رسد، هاپلوئید می‌باشد و تحت ترکیب مجددی قرار نمی‌گیرد بنابراین مطالعه آن را آسان تر و ساده تر می‌کند. به همین دلایل، بیش تر مطالعات به جای DNA هسته‌ای بر روی ژنوم DNA میتوکندری (mtDNA) متمرکز شده‌اند (۳۷، ۳۸).

در پژوهش حاضر مشخص گردید که از بین ۱۰۰ نمونه ۲۰ نمونه با آنچه که روی قوطی کنسرو نوشته شده بود، مطابقت نداشت. یعنی، ۱۷ نمونه شباهت ژنتیکی به شورت ماهیان داشتند، هم چنین، ۳ نمونه دارای دارای بیش ترین قرابت ژنتیکی به گونه‌های راس چکربورد، برگ ماهی و بچه زرده بود. به این معنا که در این راستی‌آزمایی، برچسب روی قوطی کنسروها به میزان ۸۰ درصد درست بود و میزان ۲۰ درصد خلاف آنچه که ذکر شده بود، مشاهده شد. در تطابق با نتایج این پژوهش، میرخانی و همکاران (۱۳۹۲) به بررسی وجود ماهی تن هورر معمولی در ۴۸ نمونه کنسرو موجود در بازار تهران با استفاده از روش DNA بارکدینگ پرداختند. نتایج آن‌ها بیانگر وجود گونه *Auxis thazard* و *Coryphaena hippurus* و *Platypterus Istiphorus* بود و نمونه اصلی که باید در کنسروها باشد، ۲۳ درصد بوده است (۳۹). البته در پژوهش حاضر، بیش ترین میزان تقلب در کنسروهای تهیه شده از گوشت خرد شده مشاهده شد. زیرا، در این روش پر کردن قوطی‌های کنسرو که یا به صورت اتوماتیک یا به صورت دستی توسط نیروی انسانی انجام می‌گیرد، ممکن است گوشت‌های به جا مانده از

تاکنون، مواد غذایی توسط انسان دستکاری و تغییر می‌شود تا خواص کیفی آن‌ها بهبود یابد. تعداد فرآورده‌های غذایی پس از اصلاح برای بهبود خواص ارگانولپتیک و طولانی شدن ماندگاری در بازار، در دو قرن اخیر به طور قابل توجهی افزایش یافته است. متأسفانه دستکاری مواد غذایی برای اهداف غیرقانونی (به عنوان مثال استفاده از مواد اولیه ارزان تر در تولید فرآورده‌هایی که به عنوان محصولات غذایی تولید شده با موارد اولیه گران تر معرفی می‌شوند) نیز به روشی گسترده تبدیل شده است (۲۶). تقلب در مواد غذایی هنگامی اتفاق می‌افتد که ماده‌ای به طور جزئی یا کامل با سایر اجزای غذایی غیرمجاز جایگزین شود و وجود آن در برچسب مواد غذایی مشخص نباشد. تقلب در مواد غذایی نه تنها برای مصرف‌کنندگان، بلکه برای تولیدکنندگان و توزیع‌کنندگان در سطح جهانی به یک نگرانی تبدیل شده است (۲۷، ۲۸).

این نگرانی‌ها موجب تدوین قانون برای ایجاد روش‌های قابل اعتماد برای ارزیابی کیفیت و الزامات ایمنی کل زنجیره تأمین مواد غذایی گردید (۲۹). قوانین برچسب‌گذاری مواد غذایی اتحادیه اروپا از اساسنامه‌های مختلف تهیه شده و برای اطمینان از اصل عملکرد صحیح بازار داخلی، اطلاع‌رسانی و محافظت از مصرف‌کننده و حمایت از بازارهای کشاورزی و اطمینان از ثبات بازار اتحادیه اروپا طراحی شده است (۳۰، ۳۱).

تاکنون، شناسایی گونه‌های موجود در غذا از طریق روش بارکدگذاری DNA در چندین پژوهش در مورد محصولات دریایی از برندهای مختلف به بازار و نمونه‌های خریداری شده در بازارهای ماهی با موفقیت انجام شده است (۳۲، ۳۳، ۳۴، ۳۵، ۳۶).

از میان ۹ نشانگر اصلی DNA که مشخص شده است به نظر می‌رسد که بیش ترین مطالعات روی ژن‌های میتوکندری به ویژه ژن سیتوکروم اکسیداز ۱

به صورت اختصاصی عمل کند، در تطابق با نتایج حاصل از پژوهش حاضر، کلنگی و همکاران (۲۰۱۲) به بررسی تشخیص تقلب در انواع ماهیان خاویاری پرداختند. برای این منظور، DNA استخراج شده از نمونه‌ها با استفاده از سه عدد پرایمر (F1a، R1) و (F2a)، طراحی شده بر اساس ژن سیتوکروم b، طی واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز تکثیر شدند. نتایج نشان داد که F1a، R1 و F2a گونه‌های ماهیان خاویاری معرفی شدند. همچنین در آن پژوهش پرایمرهای R1 و F2a به‌عنوان یک پرایمر اختصاصی برای گونه ازون‌برون معرفی شدند (۴۳). در مطالعه حاضر نتایج نشان داد که استفاده از روش DNA بارکدینگ برای تشخیص گونه در کنسروهای تهیه شده در آب و نمک نیز مؤثر است. تفاوتی که کنسرو تهیه شده با آب و نمک نسبت به کنسرو تهیه شده در روغن دارد در این است که شرایط یونی و الکترولیتی متفاوت و شدیدتری دارد. مولکول DNA از دو زنجیره پلی‌نوکلئوتید درست شده است که به صورت مارپیچ آرایش گرفته‌اند. هر نوکلئوتیدی در مولکول DNA از سه بخش اصلی گروه فسفات، قند پنج کربنی و یک جزء آلی نیتروژن‌دار تشکیل شده است. هنگامی که مولکول DNA در معرض حرارت و pH شدید و یا موادی مانند اوره و آمین قرار می‌گیرد، ساختار مارپیچ دوگانه آن دچار تغییراتی می‌شود و به یک ساختار تک رشته تبدیل می‌گردد. هنگامی که تغییر ساختار مولکول DNA اتفاق می‌افتد، برهمکنش‌ها بین دو پایه پیوندی قطع می‌شود و تغییرات مهمی در خواص فیزیکی آن رخ می‌دهد. اما ازجمله مزایای ژنوم میتوکندریایی می‌توان به وراثت مادری، تعداد کپی‌های بال از هر سلول، سرعت بالای جهش و نوترکیبی اندک و مقاومت حرارتی بال اشاره نمود. تعداد کپی‌های فراوان DNA میتوکندریایی تضمین‌کننده

سایر گونه‌ها که قابلیت تولید کنسرو را دارند، نیز با تکه‌های گوشت ماهی تن مخلوط شود و چون قابلیت تشخیص گوشت پس از پخت به دلیل تغییر ظاهر آن کاهش می‌یابد (۱۰)، که پیشنهاد می‌گردد که برای بررسی محصولات کارخانه‌های تولید کنسرو بررسی‌های صحت‌سنجی بیش‌تر بر بر کنسروهای حاوی خرده گوشت متمرکز گردد.

در پژوهش حاضر، اگرچه، قطعات DNA ممکن بود به خاطر درجه حرارت بالای ناشی از اتوکلاو کنسروها شکسته شده باشد، ولی DNA میتوکندریایی (سیتوکروم اکسیداز ۱) بسیار پایدارتر از DNA سلولی بوده و در پژوهش حاضر استفاده از ژن سیتوکروم اکسیداز ۱ که یک قطعه DNA میتوکندریایی نتایج مناسبی را نشان داد. یک نشانگر DNA برای شناسایی در سطح گونه‌ها باید به اندازه کافی بین گونه‌ها (به ویژه نزدیک‌ترین گونه‌ها) متغیر باشد و تغییرات کم درون‌گونه‌ای را نشان دهد. این نشانگر باید برای تعداد زیادی از گونه‌ها به طور گسترده مورد بررسی قرار گیرد تا مقایسه توالی نوکلئوتیدی را از یک نمونه ناشناخته با توالی‌های مرجع در یک پایگاه داده امکان‌پذیر سازد. ژن رمزگذار سیتوکروم اکثر این معیارها را برآورده می‌کند و تا حد زیادی بیش‌ترین ژن مورد مطالعه است (۴۰). به دلیل ویژگی‌های مناسب DNA میتوکندری، این ژنوم کاربرد گسترده‌ای در مطالعات شناسایی فیلوژنتیک و گونه‌ها دارد (۴۱). پژوهش‌های مولکولی بر اساس بارکد DNA یکی از قدرتمندترین ابزارها برای ارزیابی هویت گونه‌ها، ایمنی مواد غذایی، حفاظت از جانوران حیات وحش و شیلات می‌باشد (۴۲). در این بررسی نیز، از میان پرایمرهای مورد استفاده یکی از پرایمرها به صورت اختصاصی عمل کرد. این پرایمر با ایجاد تنها یک قله در منحنی ذوب توانست برای گونه‌های مورد بررسی

بر اساس مشخصات منحصر به فرد SNP^۱ (پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی) شناسایی نمود (۴۴).

نتیجه گیری کلی

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که ۸۰ درصد از نمونه‌های کنسرو تون ماهیان ایران که مورد آزمایش قرار گرفته بود، مطابقت داشته و کماکان ۲۰ درصد کنسروهای تولیدی فاقد رعایت صحت مندرجات در برچسب محصول می‌باشند که لازم است بازرسی‌ها و نظارت‌ها بر این صنعت با روش‌های نوین بهبود یابد. همچنین استفاده از روش DNA barcoding برای تشخیص گونه ماهی مورد استفاده در تولید کنسرو ماهی با وجود اعمال شرایط حرارتی و فشار بالا طی فرآیند تولید کنسرو، قابل استفاده و معتبر می‌باشد.

کمیت زیاد و کافی محصول PCR حتی در زمان وجود مقدار کمی از نمونه‌های گوشت خام یا پخته شده می‌باشد، چراکه تعداد کپی‌های بالای DNA میتوکندریایی، کوچک، دورشته‌ای و حلقوی بودنشان در سلول، شانس بقای آن‌ها تحت شرایط مختلف حرارتی را افزایش می‌دهد (۳۱). همچنین، Ghouri و همکاران (۲۰۲۰) از ژن سیتوکروم b میتوکندری برای بارکدگذاری DNA و احراز هویت دقیق‌تر ۱۱ گونه آب شیرین و ۶ گونه ماهی دریایی استفاده کردند. سیتوکروم b با استفاده از PCR تکثیر و طول متوسط خوانش آن ۱۱۶۱ جفت باز بود. تجزیه و تحلیل فیلوژنتیک نشان داد که بسیاری از گونه‌های ماهیان آب شیرین به دلیل اینکه در یک خانواده بودند در یک رده و جایگاه بودند. در حالی که، گونه‌های ماهی دریایی در فاصله‌های دور از هم جمع می‌شدند. بر اساس این روش، همه گونه‌های ماهی را می‌توان

منابع

1. Smith, M., & Hiemstra, C. (eds.). (1986). *Smith's Sea Fishes*. Grahamstown, South Africa: JLB Smith Institute of Ichthyology.
2. Lane, I. W., & Comac, I. (1996). *Sharks Still Don't Get Cancer*. New York: Avery.
3. FAO. (2018). *The State of World Fisheries and Aquaculture-Meeting the sustainable development goals*. Rome. FAOSTAT Internet information at www.fao.org.
4. Hosseini, M., Dabagh Moghadam, A., & Adeli, A. (2019). Evaluation of barriers to consumption and purchase of fish among different consumer groups (Case: AJA personnel). *Utilization and Cultivation of aquatics*. 9 (3), 55-71. [In Persian]
5. Ganjavi, M., Ezzatpanah, H., Givianrad, M. H., & Shams, A. (2010). Effect of canned tuna fish processing steps on lead and cadmium contents of Iranian tuna fish. *Food chemistry*, 118 (3), 525-528.
6. Ghouri, M., Ismail, M., Javed, M., Khan, S.H., Munawar, N., Umar, A. B., Nisa, M., Aftab, S. O., Amin, S., Khan, Z., & Ahmad, A. (2020). Identification of Edible Fish Species of Pakistan through DNA Barcoding. *Frontiers Marine Science*. November, 7, 554183.
7. Armani, A., Guardone, L., Castigliogio, L., D' Amico, P., Messina, A., Malandra, R., Gianfaldoni, D., & Guidi, A. (2015). DNA and Mini-DNA barcoding for the identification of Porgies species (family Sparidae) of commercial interest on the international market. *Food Control*, 50, 589-596.
8. Iranian Fisheries Statistical Yearbook, (2018). 33p.
9. Pecoraro, C., Crobe, V., Ferrari, A., Piattoni, F., Sandionigi, A., Andrews, A.J., Cariani, A., & Tinti, F. (2020). Canning processes reduce the DNA-based traceability of commercial tropical tunas. *Foods*, 9 (10), 1372.

1- Single nucleotide polymorphism

10. Razavai Shirazi, H. (2018). Technology of marine products: principles of preservation and processing. *Naghsh Mehr*, 390p.
11. Cawthorn, D. M., Steinman, H. A., & Witthuhn, R. C. (2012). DNA barcoding reveals a high incidence of fish species misrepresentation and substitution on the South African market. *Food Research International*, 46 (10), 30-40.
12. Peivasteh-Roudsari, L., Rahmani, A., Shariatifar, N., Tajdar-Oranj, B., Mazaheri, M., Sadighara, P., & Khaneghah, A. M. (2020). Occurrence of histamine in canned fish samples (Tuna, Sardine, Kilka and Mackerel) from markets in Tehran. *Journal of food protection*, 83 (1), 136-141.
13. Zhang, J. B., & Hanner, R. (2011). DNA barcoding is a useful tool for the identification of marine fishes from Japan. *Biochemical Systematics and Ecology*, 39 (1), 31-42.
14. Dawnay, N., Ogden, R., McEwing, R., Carvalho, G. R., & Thorpe, R. S. (2007). Validation of the barcoding gene COI for use in forensic genetic species identification. *Forensic science international*, 173 (1), 1-6.
15. Galimberti, A., De Mattia, F., Losa, A., Bruni, I., Federici, S., Casiraghi, M., ... & Labra, M. (2013). DNA barcoding as a new tool for food traceability. *Food research international*, 50 (1), 55-63.
16. Beamish, R. J., & Rothschild, B. J. (eds.). (2009). *The Future of Fisheries Science in North America*. Berlin: Springer Science & Business Media.
17. Fernandes, T. J., Costa, J., Oliveira, M. B., & Mafra, I. (2017). DNA barcoding coupled to HRM analysis as a new and simple tool for the authentication of Gadidae fish species. *Food Chem.* 230, 49-57. doi: 10.1016/j.foodchem. 2017.03.015.
18. Nicolè, S., Barcaccia, G., Erickson, D. L., Kress, J. W., & Lucchin, M. (2013). The coding region of the UFGT gene is a source of diagnostic SNP markers that allow single-locus DNA genotyping for the assessment of cultivar identity and ancestry in grapevine (*Vitis vinifera* L.). *BMC research notes*, 6 (1), 1-13.
19. Maleki, A., Ghorbani, M., Hamid, M., Sadeghi Mahonek, A. R., & Khameri, M. (2017). Detecting the presence of pig derivatives in meat samples and suspicious highly processed foods using real-time polymerase chain reaction method. *Food Science and Technology*, 75 (15), 13-22. [In Persian]
20. Ward, R. D., Zemlak, T. S., Innes, B. H., Last, P. R., & Hebert, P. D. (2005). DNA barcoding Australia's fish species. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 360 (1462), 1847-1857.
21. Inoue, J. G., Miya, M., Tsukamoto, K., & Nishida, M. (2001). Complete mitochondrial DNA sequence of Conger myriaster (Teleostei: Anguilliformes): novel gene order for vertebrate mitochondrial genomes and the phylogenetic implications for anguilliform families. *Journal of Molecular Evolution*, 52 (4), 311-320.
22. Aryainejad, Sh., Kavousi, K., Fatuhi, L., & Mousavi Movahedi, A. A. (2017). Detection of adulteration in meat products based on DNA sequence. *Science Cultivation*, 8 (2), 143-147. [In Persian]
23. Miandare, H. K., Farahmand, H., Akbarzadeh, A., Ramezanzpour, S., Kaiya, H., Miyazato, M., ... & Nikinmaa, M. (2013). Developmental transcription of genes putatively associated with growth in two sturgeon species of different growth rate. *General and Comparative Endocrinology*, 182, 41-47.
24. Kitpipit, T., Sittichan, K., & Thanakiatkrai, P. (2014). Direct-multiplex PCR assay for meat species identification in food products. *Food Chemistry*, 163, 77-82.
25. Parkhemi-Nejad, F., Hosseini, S.A., Tawafi, F., Tajabadi Ebrahimi, M., & Sharifan, A. (2013). Identification of adulterations in coldcuts and sausages made from beef based on the identification of mitochondrial genes of animal species in Tehran province. *Food Hygiene*, 4 (1), 81-97. [In Persian]

26. Fiorino, G. M., Garino, C., Arlorio, M., Logrieco, A. F., Losito, I., & Monaci, L. (2018). Overview on untargeted methods to combat food frauds: a focus on fishery products. *Journal of food quality*, 2018. Article ID 1581746, 13p.
27. López-López, P., García-Ripollés, C., & Urios, V. (2014). Food predictability determines space use of endangered vultures: implications for management of supplementary feeding. *Ecological Applications*, 24 (5), 938-949.
28. Spink, J., & Moyer, D. C. (2011). Defining the public health threat of food fraud. *Journal of food science*, 76 (9), 157-163.
29. Wulff, T., Nielsen, M. E., Deelder, A. M., Jessen, F., & Palmblad, M. (2013). Authentication of fish products by large-scale comparison of tandem mass spectra. *Journal of proteome research*, 12 (11), 5253-5259.
30. Gao, Z., Liu, Y., Wang, X., Wei, X., & Han, J. (2019). DNA mini-barcoding: a derived barcoding method for herbal molecular identification. *Frontiers in plant science*, 10, 987.
31. FAO (Rome) FishStats database, (2004).
32. Barcaccia, G., Lucchin, M., & Cassandro, M. (2015). DNA barcoding as a molecular tool to track down mislabeling and food piracy. *Diversity*, 8 (1), 2.
33. Moosavi-Movahedi, A. A., Ariaeenejad, S., Kavousi, K., & Fotuhi, L. (2018). DNA primer method for detecting fraud in meat products. *Science Cultivation*, 8 (2), 143-147.
34. Pardo, M. Á., & Jiménez, E. (2020). DNA barcoding revealing seafood mislabeling in food services from Spain. *Journal of Food Composition and Analysis*, 91, 103521.
35. Baez Rodriguez, N. M. (2022). Using DNA barcoding to identify seafood fraud in Puerto Rico. [Doctoral dissertation]
36. Fernandes, T. J., Amaral, J. S., & Mafra, I. (2021). DNA barcode markers applied to seafood authentication: An updated review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 61 (22), 3904-3935.
37. Riley, J. S., & Tait, S. W. (2020). Mitochondrial DNA in inflammation and immunity. *EMBO reports*, 21, 4. p.e49799.
38. Pazhenkova, E. A., & Lukhtanov, V. A. (2019). Nuclear genes (but not mitochondrial DNA barcodes) reveal real species: Evidence from the *Brenthis fritillaria* butterflies (Lepidoptera, Nymphalidae). *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 57 (2), 298-313.
39. Mirkhani, Sh., Chengizi, R., & Shujaei, L. (2012). Investigation and verification of some samples of canned Hoover tuna (unnus tonggol) available in the Iranian market using the method. DNA Barcoding. The second national conference on food security, Sawad Kouh. <https://civilica.com/doc/303484>.
40. Casper, R. M., Jarman, S. N., Deagle, B. E., Gales, N. J., & Hindell, M. A. (2007). Detecting prey from DNA in predator scats: a comparison with morphological analysis, using *Arctocephalus* seals fed a known diet. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 347 (1-2). 144-154.
41. Bravi, C. M., Lirón, J. P., Mirol, P. M., Ripoli, M. V., Peral-García, P., & Giovambattista, G. (2004). A simple method for domestic animal identification in Argentina using PCR-RFLP analysis of cytochrome b gene. *Legal Medicine*, 6 (4), 246-251.
42. Wan, Q. H., & Fang, S. G. (2003). Application of species-specific polymerase chain reaction in the forensic identification of tiger species. *Forensic science international*, 131 (1), 75-78.
43. Kalengi, M. H., Farahmand, H., Aghilinejad, S. M., & Akbarzadeh, A. (2012). Introduction of cytochrome b gene as a suitable gene to identify the identity of caviar and sturgeon fish of the Caspian Sea. *Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics*, 1 (2), 51-62.
44. Ghouri, M. Z., Ismail, M., Javed, M. A., Khan, S. H., Munawar, N., Umar, A. B., Aftab, S. O., Amin, S., Khan, Z., & Ahmad, A. (2020). Identification of edible fish species of Pakistan through DNA barcoding. *Frontiers in Marine Science*, 7, 554183.

Environmental impact assessment of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792) cage culture in southern part of Caspian Sea (Case study: Kelar Abad city)

Ali Naghi Maghsoudlou^{*1}, Seyed Abbas Hosseini², Rasoul Ghorbani³,
Abdolazim Fazel⁴, Saeid Esmaeilpoor⁵

1. Corresponding Author, Ph.D. Student in Aquatics Production and Exploitation, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: alinaghimaghsoudlou@gmail.com
2. Professor, Dept. of Aquatics Production and Exploitation, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: seyedabbas_hosseini@yahoo.com
3. Professor, Dept. of Aquatics Production and Exploitation, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: rasulghorbani@gau.ac.ir
4. Research Assistant Prof., Golestan Inland Waters Research Center, Gorgan, Iran. E-mail: a.fazel58@gmail.com
5. Ph.D. Graduate in Aquatic Ecology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: esmaeilpoorsaeid@yahoo.com

Article Info

Article type:
Full Length Research Paper

Article history:
Received: 03.06.2022
Revised: 06.03.2022
Accepted: 07.19.2022

Keywords:
Cage culture,
Dynamic Energy Budget
(DEB),
Iranian Matrix,
Aquaculture

ABSTRACT

The reduction of water resources in Iran and the increasing need for food and protein have increased the importance of fish farming in cages. However, cage culture, like other development projects, requires environmental assessments. The aim of this study was to evaluate the environmental effects of growing rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* culture in cages. In this research, in order to evaluate the effects of fish farming in cages, Iranian Matrix methods, Dynamic Energy Budget theory, and estimation of phosphorus and nitrogen levels caused by cages were used. Data analysis was performed using information related to the storage of rainbow trout in floating cages located in the southern part of the Caspian Sea. The results showed that according to estimating the amount of nitrogen and phosphorus output of the studied cages and their concentration at a depth of 25 meters sea level, the maximum fish farming capacity in the cage is about 100 tons of produced biomass. Evaluation of the average effects using the Iranian Leopold method also showed that cultivation of 100 tons of rainbow trout in sea cages has insignificant and weak destructive effects.

Cite this article: Maghsoudlou, Ali Naghi, Hosseini, Seyed Abbas, Ghorbani, Rasoul, Fazel, Abdolazim, Esmaeilpoor, Saeid. 2023. Environmental impact assessment of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792) cage culture in southern part of Caspian Sea (Case study: Kelar Abad city). *Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics*, 12 (2), 49-66.



© The Author(s).

DOI: 10.22069/japu.2022.20018.1636

Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

ارزیابی اثرات محیطی پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792) در قفس‌های جنوب دریای خزر (مطالعه موردی؛ قفس‌های پرورش ماهی کلارآباد)

علینقی مقصدلو^{۱*}، سید عباس حسینی^۲، رسول قربانی^۳، عبدالعظیم فاضل^۴، سعید اسماعیل‌پور^۵

۱. نویسنده مسئول، دانشجوی دکتری تولید و بهره‌برداری آبزیان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: alinaghimagsoudlou@gmail.com
۲. استاد گروه تولید و بهره‌برداری آبزیان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: seyedabbas_hosseini@yahoo.com
۳. استاد گروه تولید و بهره‌برداری آبزیان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: rasulghorbani@gau.ac.ir
۴. استادیار پژوهشی، مرکز تحقیقات آب‌های داخلی استان گلستان، گرگان، ایران. رایانامه: a.fazel58@gmail.com
۵. دانش‌آموخته دکتری بوم‌شناسی آبزیان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: esmaeilpoorsaeid@yahoo.com

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: مقاله کامل علمی- پژوهشی	با کاهش منابع آبی در ایران و هم‌چنین نیاز روزافزون به مواد غذایی و پروتئین، پرورش ماهیان در قفس از اهمیت بالایی برخوردار شده است. با این حال، پرورش در قفس همانند سایر طرح‌های توسعه نیازمند ارزیابی‌های محیطی است. هدف از این پژوهش، بررسی اثرات محیطی ناشی از پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان <i>Oncorhynchus mykiss</i> در قفس در جنوب دریای خزر بود. در این پژوهش، به‌منظور ارزیابی اثرات پرورش ماهی در قفس از روش‌های ماتریس ایرانی، نظریه تخصیص انرژی پویا و هم‌چنین برآورد میزان فسفر و نیتروژن ناشی از قفس‌ها استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از اطلاعات مربوط به ذخیره‌سازی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در قفس‌های شناور مستقر در آب‌های ساحلی شهر کلارآباد، واقع در بخش جنوبی دریای خزر انجام شد. نتایج نشان داد که با توجه به برآورد میزان نیتروژن و فسفر خروجی قفس‌های مورد مطالعه و غلظت آن‌ها در عمق ۲۵ متری از سطح دریا، حداکثر ظرفیت پرورش ماهی در قفس حدود ۱۰۰ تن بیوماس تولیدی می‌باشد. در بررسی میانگین اثرات با روش لئوپلد ایرانی نیز پرورش ۱۰۰ تن ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در قفس‌های دریایی دارای اثرات تخریبی ناچیز و ضعیف است.
تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۲/۱۵ تاریخ ویرایش: ۱۴۰۱/۰۳/۱۳ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۴/۲۸	
واژه‌های کلیدی: آبزی‌پروری، پرورش در قفس، تخصیص انرژی پویا (DEB)، ماتریس ایرانی	

استاد: مقصدلو، علینقی، حسینی، سید عباس، قربانی، رسول، فاضل، عبدالعظیم، اسماعیل‌پور، سعید (۱۴۰۲). ارزیابی اثرات محیطی پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792) در قفس‌های جنوب دریای خزر (مطالعه موردی؛ قفس‌های پرورش ماهی کلارآباد). نشریه بهره‌برداری و پرورش آبزیان، ۱۲ (۲)، ۴۹-۶۶.

DOI: 10.22069/japu.2022.20018.1636



© نویسندگان

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

مقدمه

با توجه به روند کاهش صید در دریاها، توسعه آبی‌پروری در آب‌های داخلی و دریاها به دلیل کمبود آب شیرین به‌طور روزافزون اهمیت پیدا می‌کند (۱). یکی از شیوه‌های نوین در این زمینه، استفاده بهینه از منابع آبی کشور به منظور پرورش ماهیان در قفس است (۲). پرورش ماهی در قفس به دلایل مختلف مانند وجود فن‌آوری لازم در کشور برای پرورش ماهیان در قفس، سهولت ساخت و نصب آن، امکان جابه‌جایی مزارع، نیاز به سرمایه‌گذاری اولیه و ثابت کم‌تر نسبت به استخرهای مصنوعی و بازگشت سریع سرمایه و امکان ایجاد اشتغال برای بخش وسیعی از مردم می‌تواند نقش مهمی در افزایش تولید آبیان در سطح ملی داشته باشد (۳). پرورش ماهی در قفس نسبت به پرورش ماهی در استخر مزایای دیگری نیز دارد که از آن جمله می‌توان به بهبود ضریب تبدیل غذایی، پرورش و برداشت آسان ماهی و افزایش مدیریت بهداشتی اشاره کرد (۴). یکی از مهم‌ترین عوامل در پرورش ماهی در قفس استفاده از گونه مناسب به لحاظ سازگاری با شرایط زیستی منطقه و ارزش اقتصادی آن است. در شرایط کنونی، گونه اقتصادی و بومی پرورشی برای معرفی به قفس‌های شناور مستقر در منطقه جنوبی دریای خزر به دلیل شرایط و عوامل محیطی مانند عوامل فیزیکی‌وشیمیایی آب، نوع قفس و ویژگی‌های زیستی وجود ندارد. انتخاب گونه و ذخیره‌سازی به قابلیت دسترسی گونه و دمای آب مورد استفاده بستگی دارد. هم‌چنین تعداد ذخیره‌سازی در قفس به حجم قفس، نوع گونه مورد پرورش، اندازه قفس، تک‌گونه‌ای یا چندگونه‌ای بودن سیستم پرورش، غذایی و میزان غذای مورد مصرف، دوره تعویض یا تمیز کردن شبکه توری، پالایش و حفظ بهبود کیفیت آب و زمان صید بستگی دارد (۲).

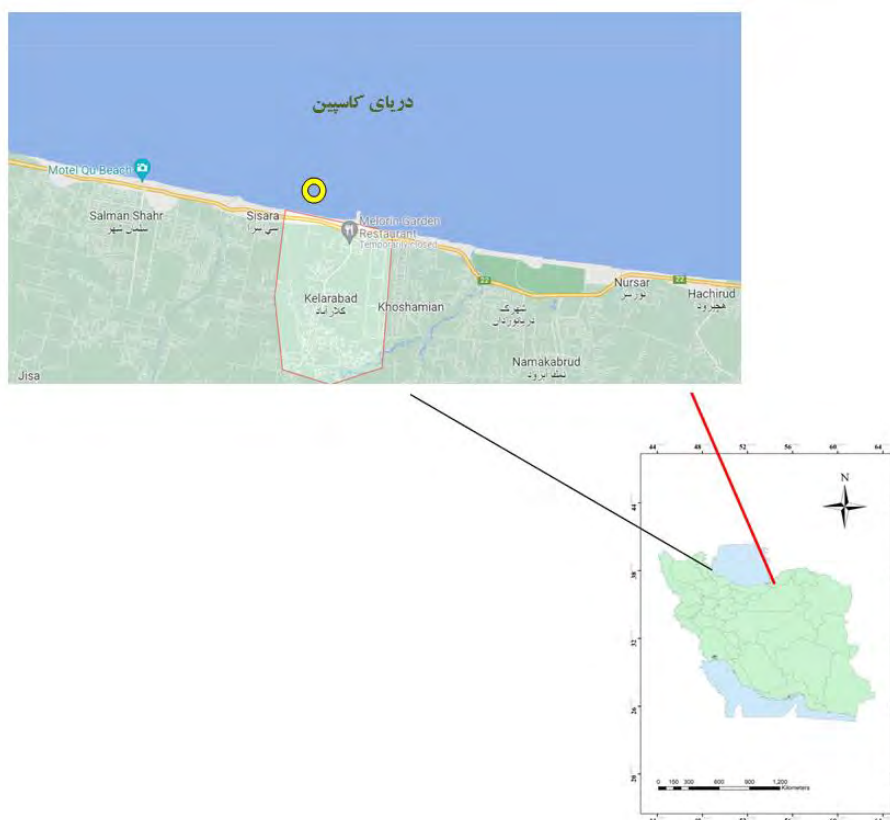
ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان *Oncorhynchus mykiss* از نوع ماهیان سردابی و از مهم‌ترین گونه‌های خانواده آزادماهیان محسوب می‌گردد. این ماهی بومی آمریکای شمالی است. این گونه در انتخاب غذا زیاد سخت‌گیر نیست و از سرعت رشد خوبی نیز برخوردار است. قزل‌آلای رنگین‌کمان در مقابل تغییرات درجه حرارت آب و اکسیژن محلول در آب به مانند سایر آزاد ماهیان زیاد حساس نیست. دمای مناسب آب برای پرورش آن بین ۱۲/۵-۱۸/۵ درجه سانتی‌گراد است و در محدوده دمایی ۲۰-۱۰ درجه سانتی‌گراد به‌خوبی رشد می‌کند. یکی دیگر از خصوصیات مهم این ماهی، سازش خوب آن با شرایط پرورش متراکم است و شرایط پرورش در محیط قفس را به‌خوبی تحمل می‌کند. تراکم ذخیره‌سازی این ماهی در قفس‌ها ۳۰ تا ۶۰ قطعه در هر مترمکعب بسته به وزن زمان برداشت، بین ۵۰۰ تا ۱۰۰۰ گرم است (۵). نگرانی اولیه در ارتباط با قفس‌های پرورش ماهی این است که ماهی در مقابل شرایط کیفی آب مانند شکوفایی جلبکی و غلظت پائین اکسیژن محلول آسیب‌پذیر می‌گردد (۶). آبی‌پروری در قفس به‌خصوص گونه‌های گوشت‌خوار اثرات گوناگونی بر روی کیفیت آب در زیست‌بوم‌های آبی در پی خواهد داشت (۷) که می‌تواند شرایط بوم‌شناختی، تنوع زیستی و عملکرد زیست‌بوم را تغییر دهد (۸). پساب حاصل از پرورش ماهی در قفس عمدتاً شامل، غذای خورده نشده، مواد دفعی و سایر ترکیبات اوره است که به صورت مستقیم وارد محیط پیرامون قفس شده و باعث به‌وجود آمدن مشکلات زیست‌محیطی مانند پرغذایی، تأخیر در رشد ماهی و تغییر در جوامع بنتوزی می‌گردد (۹). مطالعه اثرات پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در قفس نشان داده است که بسیاری از عوامل فیزیکی و شیمیایی آب شامل ازت کل، فسفر کل، نیتريت و آمونیاک،

اثرات سوء پروژه‌های آبی‌پروری از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. در این پژوهش تلاش شد تا با استفاده از تلفیق روش‌های نوین و سنتی به برآورد اثرات محیطی مجتمع پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در قفس‌های مستقر در آب‌های ساحلی شهر کلارآباد در بخش جنوبی دریای خزر پردازیم.

مواد و روش‌ها

منطقه مورد مطالعه و ویژگی‌های قفس‌ها: تجزیه و تحلیل اثر پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در قفس در بخش جنوبی دریای خزر (استان مازندران، منطقه کلارآباد) به مدت ۵ ماه از دوره پرورش یعنی از اوائل دی ماه تا اوایل خردادماه ۱۳۹۳ انجام پذیرفت. شهر ساحلی کلارآباد در شهرستان عباس‌آباد و در غرب استان مازندران قرار دارد (شکل ۱). تعداد چهار قفس در هر مرکز در محدوده عمقی ۳۰ متری و در فاصله ۳۲۰۰ متری از ساحل در قفس‌های با قطر ۱۶ متر و با ذخیره‌سازی ماهیان پیش‌پروری قزل‌آلای رنگین‌کمان (حدود وزنی ۲۵۰-۲۰۰ گرم) با تعداد ۱۲۰۰۰ قطعه قرار داشتند. میزان برداشت نهایی از هر قفس با دامنه وزنی ۹۰۰-۷۰۰ گرم با زی‌توده انتهایی برداشت معادل حدود ۱۰ تن بوده است. غذادهی روزانه با غذای اکستروود مخصوص قزل‌آلای رنگین‌کمان به صورت دستی در دو نوبت در ساعات ۰۹:۰۰ صبح و ۱۶:۰۰ بعد از ظهر به اندازه ۳ درصد از وزن بدن ماهیان انجام شد. میزان ضریب تبدیل غذایی (FCR) با هدررفت غذا، حدود ۱/۲ در نظر گرفته شد.

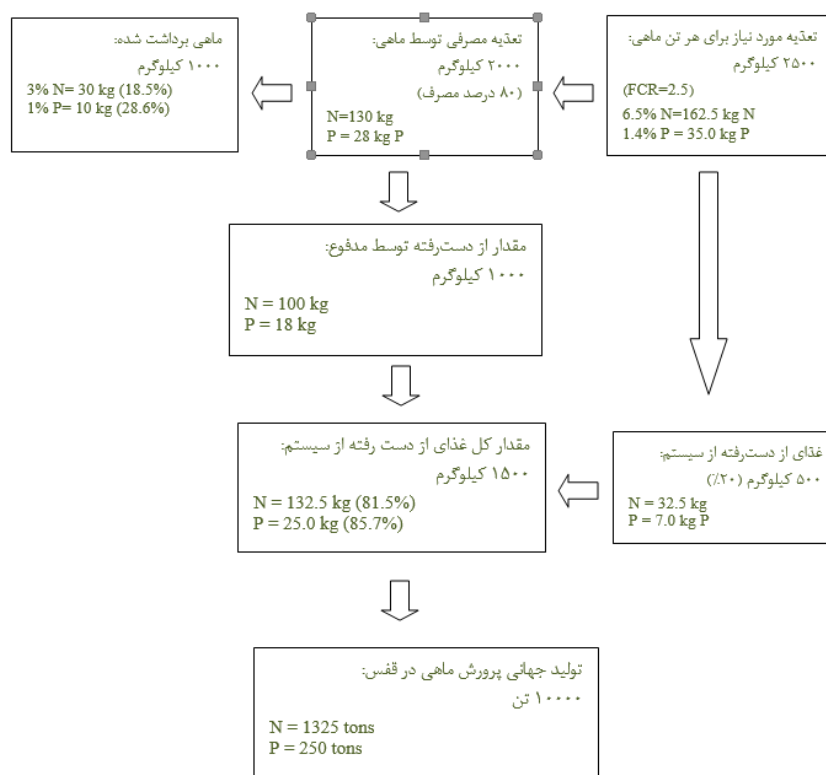
مصرف اکسیژن و کربن آلی تحت‌تأثیر ورود پسماندهای غذایی ناشی از پرورش ماهیان بوده‌اند (۱۰). مطالعات Diaz و همکاران (۲۰۰۱) روی تأثیرات محیطی پرورش ماهی قزل‌آلا در قفس در دریاچه آلیکورا آرژانتین، یک افزایش در غلظت مواد مغذی، فراوانی زی‌توده و تغییر در ترکیب گونه‌ای فیتوپلانکتونی به‌خصوص در پیرامون و مناطق بسیار نزدیک به قفس‌های پرورشی را نشان داد (۱۱). در پژوهشی دیگر، اثرات پرورش ماهی سالمون بر شیمی رسوبات پیرامون قفس در شرق ایسلند مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این مطالعه تأثیر ناچیز آبی‌پروری در قفس را نشان داد که عمق آب و سرعت متوسط جریان آب در منطقه مورد مطالعه از عوامل اصلی این مسأله عنوان شد (۱۲). هم‌چنین، در سال ۲۰۱۵ پژوهشی بر روی امکان پرورش ماهی در دریاچه ویکتوریا در تانزانیا انجام شد. پژوهش‌گران هیچ تغییر ثابت و چشمگیری در محیط اطراف قفس‌ها مشاهده نکردند و اعلام کردند که اجرای طرح پرورش در قفس در دریاچه ویکتوریا با اعمال سیاست‌های نظارتی مجاز است (۱۳). علاوه بر این، در پژوهش‌گرانی در سال ۲۰۲۱ به بررسی اثرات پرورش در قفس قزل‌آلای رنگین‌کمان بر روی جمعیت زئوپلانکتون و فیتوپلانکتون‌های اطراف قفس پرداختند. آن‌ها گزارش کردند که پرورش در قفس، تأثیر چشمگیری بر جوامع پلانکتونی اطراف قفس‌ها دارد (۱۴). بدیهی است که پرورش ماهی، علی‌رغم اهمیت بسیار بالایش در تامین پروتئین و نیز اشتغال‌زایی، آثار منفی نیز برای محیط زیست به همراه دارد. بنابراین، اجرای طرح‌های ارزیابی اثرات محیط زیستی به منظور شناسایی خطرات و هم‌چنین کاهش



شکل ۱- محل استقرار قفس‌های پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در منطقه مرکزی جنوب دریای خزر (استان مازندران).

می‌باشد. این مدل برای برآورد سطح تقریبی N و P اضافه‌شده به محیط زیست برای هر تن ماهی تولیدشده، بر اساس فرضیات مختلف در مورد از دست دادن خوراک، مقدار FCR، میزان N و P خوراک و ماهی و پویایی‌های مختلف مواد مغذی در سیستم پرورش قفس در نظر گرفته شده است.

برآورد میزان نیتروژن و فسفر ناشی از قفس‌ها: یک مدل مفهومی ساده (شکل ۲) برای بودجه مقادیر مواد مغذی (نیتروژن و فسفر) تخلیه شده از یک سیستم پرورش در قفس فرضی بر اساس هر تن ماهی تولید شده (FCR) ارائه شده است که در آن N در غذا معادل ۶/۵ درصد، P در غذا معادل ۱/۴ درصد، N در ماهی معادل ۳ درصد و P در ماهی معادل ۱ درصد



شکل ۲- مدل ساده و مفهومی برای بودجه توده نوترینت برای یک سیستم قفس فرضی به ازای هر تن ماهی تولید شده.

اجتماعی و فرهنگی" به روش بازدید میدانی و جمع‌آوری اطلاعات از منابع مختلف استفاده شد. در این مطالعه، دو گزینه پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در قفس با ظرفیت تولید ۱۰۰ تن (گزینه اول)؛ تولید ۵۰۰ تن (گزینه دوم) با استفاده از روش ماتریس ایرانی مورد بررسی قرار گرفت. مزیت استفاده از روش ماتریس ایرانی یا ماتریس لئوپولد اصلاح‌شده این است که در صورت کم‌تجربه بودن ارزیاب و ارزش‌دهی نادرست یک پارامتر، به خاطر میانگین‌گیری از تمام پارامترها، آن اشتباه تا حدی تعدیل می‌شود و در روند کلی نتیجه‌گیری خلی ایجاد نمی‌کند (۱۶). در جدول ۱ ارزش‌های کمی در ماتریس ایرانی ارائه شده که برای اغلب ارزیابان قابل درک است (۱۷).

آن مقیاس مکانی که قادر به پراکنده‌سازی پساب است، تابعی از عوامل زیر می‌باشد: مساحت سطح مزرعه، سرعت ته‌نشینی غذای خورده‌نشده و مدفوع ماهیان، سرعت حرکت آب و عمق آب زیر مزرعه. این عوامل را با معادله $D=DV/v$ مرتبط شد؛ که در آن D فاصله افقی پسابی است که پراکنده می‌شود، d عمق آب، V سرعت جریان و v سرعت ته‌نشینی پساب. هم‌چنین، سرعت ته‌نشینی پلت‌های خوراک را از $0/09$ متر بر ثانیه تا $0/15$ متر بر ثانیه و پلت‌های مدفوع از $0/017$ تا $0/06$ متر بر ثانیه در نظر گرفته شد (۱۵).

ارزیابی اثرات به روش ماتریس لئوپولد ایرانی: در این پژوهش از فرایند ارزیابی اثرات محیط زیستی (EIA) در ۳ دسته کلی شامل "محیط فیزیکی و شیمیایی"، "محیط بیولوژیکی" و "محیط اقتصادی،

جدول ۱- ارزش‌های کمی در ماتریس لئوپولد ایرانی (۱۷).

اثرات منفی		اثرات مثبت	
ارزش	اثر	ارزش	اثر
-۵	تخریب بسیار زیاد	۵	سودمندی بسیار زیاد
-۴	تخریب زیاد	۴	سودمندی زیاد
-۳	تخریب متوسط	۳	سودمندی متوسط
-۲	تخریب کم	۲	سودمندی کم
-۱	تخریب بسیار کم	۱	سودمندی بسیار کم

زیستی است. برای هر یک از محیط‌های فیزیکی و شیمیایی، بیولوژیک و اقتصادی، اجتماعی و فرهنگی در هر یک از مراحل ساختمانی و بهره‌برداری برای هر یک از گزینه‌ها، رقمی به دست می‌آید که رهنمونی برای انتخاب گزینه مناسب خواهد بود (۱۹).

مدل تخصیص انرژی پویا (DEB): از تئوری و مدل DEB برای پیش‌بینی وضعیت رشد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان استفاده گردید. به طور کلی، این تئوری روند تغییرات رشد را بر مبنای فعالیت‌های انرژی‌تیک ماهیان توصیف می‌کند. در این تئوری، تخصیص انرژی از محل ذخیره به سوی اندام‌ها و بافت‌های مختلف بدن از قاعده K پیروی می‌کند. در حقیقت، هر جاندار کسر ثابتی (K) از انرژی ذخیره را برای رشد و نگهداری از بدن گسیل می‌کند. آنچه که باقی می‌ماند ($1-K$) صرف هزینه‌های مربوط به بلوغ و تولیدمثل جاندار می‌شود (۲۰).

همانند بسیاری از نظریه‌های زیستی، نظریه DEB نیز به منظور سهولت در استفاده و کاربرد بیشتر به صورت مدل‌هایی طراحی شد. مدل استاندارد DEB یکی از مدل‌های محبوب برای نظریه تخصیص انرژی پویا است که قابلیت اجرا در دو نرم‌افزار متلب^۲ و اکتاو^۳ را دارد. روش‌ها متفاوتی برای اجرای این مدل

در این روش، فعالیت‌های پروژه شامل فاز عملیاتی با پارامترهای خاکریزی و خاکبرداری برای ایجاد کمپ کارگران، پاک‌تراشی برای ایجاد کمپ کارگران، تامین مواد اولیه و حمل آن به دریا، تامین برق و سوخت، نصب قفس‌ها در مناطق مورد نظر و در فاز بهره‌برداری شامل پارامترهای؛ استخدام کارگران، احداث تاسیسات بهداشتی برای کارگران، تردد خودروهای حمل خوراک و ماهی، زنگ‌زدگی مواد اولیه قفس‌ها، دفع مواد خوراکی اضافی به دریا و رهاسازی مدفوع حاصل از ماهیان به دریا هستند. این پارامترها در (۱) محیط فیزیکی شامل کیفیت هوا، آب‌های سطحی، آب‌های ساحلی، کیفیت ماسه سواحل، انتشار بوی نامطبوع و توپوگرافی و سیمای زمین؛ (۲) محیط زیستی شامل تنوع و تراکم گیاهی در خشکی و در آب و تنوع و تراکم جانوری در خشکی و آب، تخریب زیستگاه بستر و (۳) محیط اجتماعی، اقتصادی و فرهنگی شامل ارزش زیباشناختی، جوامع انسانی منطقه، بهداشت عمومی، قیمت زمین‌های اطراف، ایجاد اشتغال، ایجاد درآمد، گردشگری، چشم‌انداز مناظر و طرح‌های توسعه آینده هستند (۱۷، ۱۸). با توجه به شدت اثر مثبت و منفی بودن آن عددی از دامنه -۵ تا +۵ به آن اختصاص داده می‌شود. مهم‌ترین مرحله در ارزیابی اثرات محیط زیستی یک پروژه به روش ماتریس، جمع‌بندی آثار مثبت و منفی پروژه بر حسب فاکتورهای محیط

1- Dynamic Energy Budget
2- MatLab
3- Octave

مدل پس از اجرا و تجزیه و تحلیل داده‌های وارد شده، پیش‌بینی‌هایی از وضعیت رشد و انرژی گونه مورد نظر ارائه می‌نماید. این پیش‌بینی‌ها در نهایت در قالب ۱۱ پارامتر، همانند آن چیزی که در جدول ۲ می‌بینید- ارائه می‌شود. هر یک از این پارامترها تعریف و دامنه‌ای دارند که در بخش نتایج به آن پرداخته شده است (۲۲، ۲۳).

طراحی شده است. در سال‌های اخیر، روش Covariation یا کوواریاسیون به‌منظور برآورد پارامترهای مدل استاندارد DEB به خوبی توسعه یافته است. این روش بر اساس کوچک‌سازی هم‌زمان مجموع وزن انحراف مربع بین داده‌های واقعی و داده‌های پیش‌بینی شده عمل می‌نماید (۲۱). به این صورت که پژوهش‌گران و دانشمندان، داده‌های واقعی و مشاهده‌شده خود را در این مدل وارد می‌کنند و

جدول ۲- پارامترهای اولیه DEB که به وسیله روش Covariation برای ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان برآورد شد.

تعریف	نماد	واحد	تعریف	نماد	واحد
زوم فاکتور	α	-	هزینه ویژه برای ساختار بدن	$[E_G]$	$J cm^{-3}$
ماکزیم نرخ ویژه جذب در واحد سطح	$\{p_{Am}\}$	$J cm^{-2} d^{-1}$	اندازه در زمان تولد	E_H^b	J
ماکزیم تراکم ذخیره انرژی	$[E_m]$	$J cm^{-3}$	اندازه در زمان بلوغ	E_H^p	J
هدایت انرژی	θ	$cm d^{-1}$	شتاب افزایش سن Weibull	\dot{h}_a	d^{-2}
اختصاص انرژی برای فرایندهای سوماتیک	κ	-	ضریب شکلی	δ_m	-
نگهداری از بدن بر مبنای حجم بدن	$[p_M]$	$J cm^{-3} d^{-1}$			

نتایج

برآورد نیتروژن و فسفر ناشی از پرورش قزل‌آلا در قفس: نتایج به‌دست آمده از پرورش ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان در قفس در بخش مرکزی جنوب دریای خزر در منطقه کلارآباد (استان مازندران) در سال ۱۳۹۳، در طول بیش از ۵ ماه دوره پرورش (از اوایل دی‌ماه تا اوایل خردادماه) به شرح زیر بود (جدول ۳). بر اساس جدول ۳، با در نظر گرفتن درصد بازماندگی ۹۸ درصد در طول دوره پرورش ماهی، وزن نهایی برداشت حدود ۹۰۰ گرم در پایان دوره و ضریب تبدیل غذایی ۱/۲، در کل ۹/۷۶ تن ماهی صید و حدود ۱۱/۷۱ تن غذا مصرف گردید. در این پژوهش مطابق با منابع موجود، میزان غذای خورده نشده به‌طور متوسط ۱۰ درصد در نظر گرفته شد. بنابراین در پایان دوره پرورش می‌توان انتظار داشت

که میزان کل نیتروژن و فسفر (غیر آلی) به‌ترتیب ۰/۷۶ و ۰/۱۶۴ تن و کل نیتروژن و فسفر رها شده به محیط ۰/۴۷ و ۰/۰۶۶ به ازای هر قفس ورودی به دریا باشد (جدول ۴). با در نظر گرفتن سرعت جریان آب معادل ۰/۰۳-۰/۰۲ متر بر ثانیه؛ سرعت ته‌نشینی پلت معادل ۰/۱۵-۰/۰۳ متر بر ثانیه (در این پژوهش، ۰/۱) و سرعت ته‌نشینی مدفوع ۰/۰۶-۰/۰۱۷ (در این پژوهش، ۰/۰۴)، میزان غلظت رها شده نیتروژن و فسفر به محیط در هر قفس با تراکم ۱۲۰۰۰ و با در نظر گرفتن عمق ترموکلاین ۲۵ متر نتایج به‌شرح زیر محاسبه گردید. با بزرگ‌تر شدن وزن متوسط ماهیان و افزایش بیوماس در طول زمان در قفس، غلظت رها شده نیتروژن و فسفر به محیط افزایش می‌یابد (جدول‌های ۴ و ۵).

ارزیابی اثرات محیطی پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان ... / علی‌نقی مقصدلو و همکاران

جدول ۳- پارامترهای اندازه‌گیری شده در ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان پرورش یافته در قفس در کلارآباد (۹۴-۱۳۹۳).

خرداد	اردیبهشت	فروردین	اسفند	بهمن	دی	خصوصیت / ماه
۱۰۸۴۷/۰۵	۱۱۰۶۸/۴	۱۱۲۹۴/۳	۱۱۵۲۴/۸	۱۱۷۶۰	۱۲۰۰۰	تعداد ماهی ذخیره‌سازی شده
۹۸	۹۸	۹۸	۹۸	۹۸	۱۰۰	درصد بازماندگی
۰/۹	۰/۷۸	۰/۶۷	۰/۴۶	۰/۳۱	۰/۲	وزن متوسط ماهی (کیلوگرم)
۹/۷۶	۸/۶۳	۷/۵۷	۵/۳	۳/۶۵	۲/۴	بیوماس (تن)
۱۱/۷۱	۱۰/۳۶	۹/۰۸	۶/۳۶	۴/۳۷	۲/۸۸	غذای مصرفی (FCR = ۱/۲)
۰/۷۶	۰/۶۷	۰/۵۹	۰/۴۱	۰/۲۸	۰/۱۹	میزان کل نیتروژن غذا (تن)
۰/۱۶۴	۰/۱۴۵	۰/۱۲۷	۰/۰۸۹	۰/۰۶۱	۰/۰۴	میزان کل فسفر غذا (تن)
۱/۱۷۱	۱/۰۳۶	۰/۹۰۸	۰/۶۳۶	۰/۴۳۷	۰/۲۸۸	میزان غذای خورده نشده (تن) = ۱۰٪
۰/۰۷۶	۰/۰۶۷	۰/۰۵۹	۰/۰۴۱	۰/۰۲۸۴	۰/۰۱۸۷	میزان نیتروژن خورده نشده (تن)
۰/۰۱۶۴	۰/۰۱۴۵	۰/۰۱۲۷	۰/۰۰۸۹	۰/۰۰۶۱	۰/۰۰۴	میزان فسفر خورده نشده (تن)
۱۰/۵۴	۹/۳۲	۸/۱۷	۵/۷۲	۲/۹۴	۲/۵۹	میزان غذای مصرفی توسط ماهی (۹۰ درصد)
۰/۶۸۵	۰/۶۰۶	۰/۵۳۱	۰/۳۷۲	۰/۲۵۶	۰/۱۶۸	میزان کل نیتروژن غذای خورده شده (تن)
۰/۱۴۸	۰/۱۳۱	۰/۱۱۴	۰/۰۸	۰/۰۵۵	۰/۰۳۶	میزان کل فسفر غذای خورده شده (تن)
۹/۷۶	۸/۶۳	۷/۵۷	۵/۳	۳/۶۵	۲/۴	بیوماس ماهی تولیدی (تن)
۰/۲۹۳	۰/۲۵۹	۰/۲۲۷	۰/۱۵۹	۰/۱۰۹	۰/۰۷۲	نیتروژن گوشت ماهی (تن)
۰/۰۹۸	۰/۰۸۶	۰/۰۷۶	۰/۰۵۳	۰/۰۳۶	۰/۰۲۴	فسفر گوشت ماهی (تن)
۰/۷۸۱	۰/۶۹۱	۰/۶۰۵	۰/۴۲۴	۰/۲۹۲	۰/۱۹۲	غذای هدر رفته (تن)
۰/۳۹۲	۰/۳۴۷	۰/۳۰۴	۰/۲۱۳	۰/۱۴۷	۰/۰۹۶	نیتروژن دفع شده مدفوع و ادرار (تن)
۰/۰۵	۰/۰۴۴۲	۰/۰۳۸۷	۰/۰۲۷۱	۰/۰۱۸۷	۰/۰۱۲۳	فسفر دفع شده مدفوع و ادرار (تن)
۰/۴۶۹	۰/۴۱۴	۰/۳۶۳	۰/۲۵۴	۰/۱۷۵	۰/۱۱۵	کل نیتروژن رها شده به محیط از ۱ قفس (تن)
۰/۰۶۶۴	۰/۰۵۸۷	۰/۰۵۱۵	۰/۰۳۶	۰/۰۲۴۸	۰/۰۱۶	کل فسفر رها شده به محیط از ۱ قفس (تن)
۱/۸۷	۱/۶۶	۱/۴۵	۱/۰۱۸	۰/۷	۰/۴۶	کل نیتروژن رها شده به محیط از ۴ قفس (تن)
۰/۲۶۶	۰/۲۳۵	۰/۲۰۶	۰/۱۴۴	۰/۰۹۹	۰/۰۶۵	کل فسفر رها شده به محیط از ۴ قفس (تن)

نشریه بهره‌برداری و پرورش آبزیان، دوره ۱۲، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۲

جدول ۴- غلظت رها شده نیتروژن (میکروگرم بر لیتر) به محیط در قفس با تراکم ۱۲۰۰۰ عدد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان.

شعاع	تعداد قفس	دی	بهمن	اسفند	فروردین	اردیبهشت	خرداد
	۴	۷۸/۲۷	۱۱۸/۸۹	۱۷۲/۸۹	۲۴۶/۷۸	۲۸۱/۵۵	۳۱۸/۳۶
۵۰	۱۰	۱۹۵/۶۷	۲۹۷/۲۲	۴۳۲/۲۲	۶۱۶/۹۴	۷۰۳/۸۷	۷۹۵/۹۱
	۲۸	۵۴۷/۸۷	۸۳۲/۲۲	۱۲۱۰/۲۱	۱۷۲۷/۴۴	۱۹۷۰/۸۳	۲۲۲۸/۵۵
	۴	۱۹/۵۷	۲۹/۷۲	۴۳/۲۲	۶۱/۶۹	۷۰/۳۹	۷۹/۵۹
۱۰۰	۱۰	۴۸/۹۲	۷۴/۳۱	۱۰۸/۰۵	۱۵۴/۲۴	۱۷۵/۹۷	۱۹۸/۹۸
	۲۸	۱۳۶/۹۷	۲۰۸/۰۵	۳۰۲/۵۵	۴۳۱/۸۶	۴۹۲/۷۱	۵۵۷/۱۴
	۴	۴/۸۹	۷/۴۳	۱۰/۸۱	۱۵/۴۲	۱۷/۶	۱۹/۹
۲۰۰	۱۰	۱۲/۲۳	۱۸/۵۸	۲۷	۳۸/۵۶	۴۳/۹۹	۴۹/۷۴
	۲۸	۳۴/۲۴	۵۲	۷۵/۶۴	۱۰۷/۹۶	۱۲۳/۱۸	۱۳۹/۲۸
	۴	۰/۱۹۶	۰/۲۹۷	۰/۴۳۲	۰/۶۱۷	۰/۷۰۴	۰/۷۹۶
۱۰۰۰	۱۰	۰/۴۸۹	۰/۷۴۳	۱/۰۸۱	۱/۵۴۲	۱/۷۶	۱/۹۹
	۲۸	۱/۳۷	۲/۰۸	۳/۰۳	۴/۳۲	۴/۹۳	۵/۵۷

جدول ۵- غلظت رها شده فسفر معدنی به محیط (میکروگرم بر لیتر) در تراکم ۱۲۰۰۰ عدد ماهی در پرورش ماهی قزل‌آلا در قفس.

شعاع	تعداد قفس	دی	بهمن	اسفند	فروردین	اردیبهشت	خرداد
	۴	۱۱/۰۹	۱۶/۸۴	۲۴/۴۹	۳۴/۹۶	۳۹/۸۹	۴۵/۱
۵۰	۱۰	۲۷/۷۲	۴۲/۱۱	۶۱/۲۳	۸۷/۴	۹۹/۷۱	۱۱۲/۷۵
	۲۸	۷۷/۶۲	۱۱۷/۹	۱۷۱/۴۵	۲۴۴/۷۲	۲۷۹/۲	۳۱۵/۷۱
	۴	۲/۷۷	۴/۲۱	۶/۱۲	۸/۷۴	۹/۹۷	۱۱/۲۸
۱۰۰	۱۰	۶/۹۳	۱۰/۵۳	۱۵/۳۱	۲۱/۸۵	۲۴/۹۳	۲۸/۱۹
	۲۸	۱۹/۴	۲۹/۴۷	۴۲/۸۶	۶۱/۱۸	۶۹/۸	۷۸/۹۳
	۴	۰/۶۹	۱/۰۵	۱/۵۳	۲/۱۸	۲/۴۹	۲/۸۱
۲۰۰	۱۰	۱/۸۳	۲/۶۳	۳/۸۳	۵/۴۶	۶/۲۳	۷/۰۴
	۲۸	۴/۸۵	۷/۳۷	۱۰/۷۱	۱۵/۳	۱۷/۴۵	۱۹/۷۳
	۴	۰/۰۲۸	۰/۰۴۲	۰/۰۶۱	۰/۰۸۷	۰/۱	۰/۱۱۳
۱۰۰۰	۱۰	۰/۰۶۹	۰/۱۰۵	۰/۱۵۳	۰/۲۱۹	۰/۲۴۹	۰/۲۸۲
	۲۸	۰/۱۹۴	۰/۲۹۵	۰/۴۲۹	۰/۶۱۲	۰/۶۹۸	۰/۷۸۹

رنگین‌کمان در قفس نشان داد که رده‌بندی اثرات در محیط‌های فیزیکی - شیمیایی دارای تخریب ضعیف؛ اما در محیط بیولوژیکی بیانگر اثرات تخریبی متوسط و در محیط اقتصادی و اجتماعی دارای اثرات تخریبی ناچیز است. هم‌چنین به تفکیک فازهای اجرایی در فاز ساختمانی نتایجی به مانند گزینه اول نشان داد با این تفاوت که در این گزینه شدت اثرات منفی بیش‌تر از گزینه یک بود و هم‌چنین آثار مثبت پروژه بر محیط اقتصادی اجتماعی بیش‌تر بود.

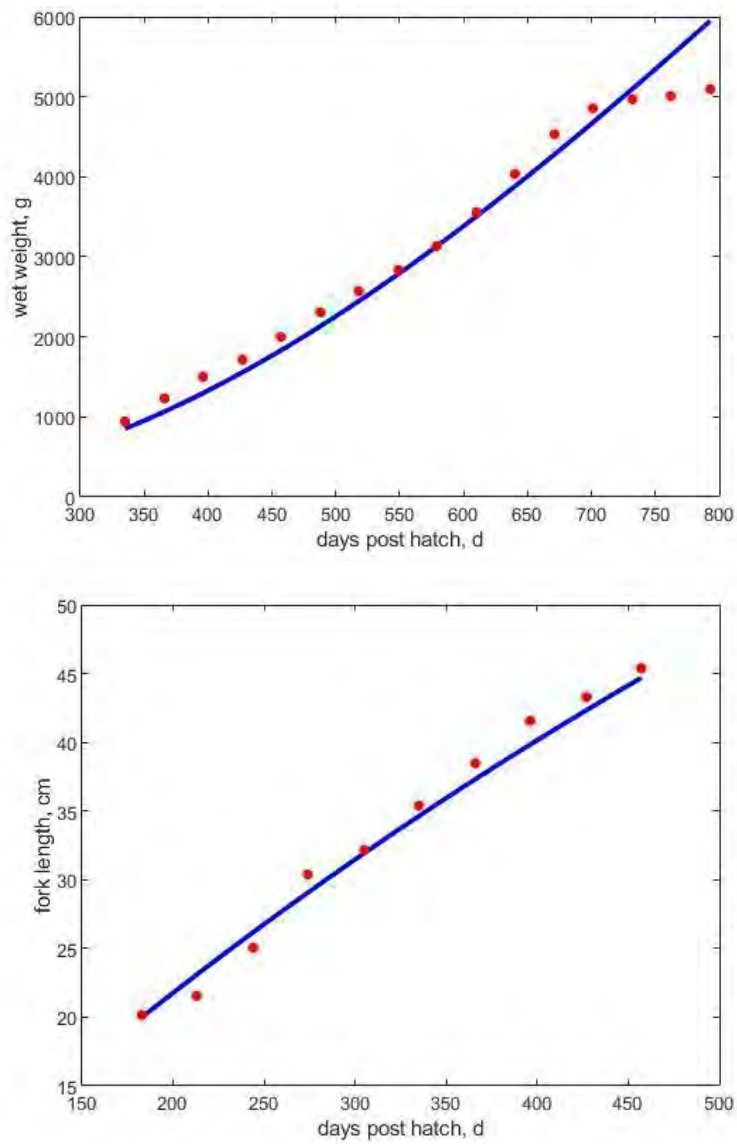
مدل تخصیص انرژی پویا (DEB): وضعیت رشد طولی و رشد وزنی قزل‌آلای رنگین‌کمان در روزهای پس از تفریخ در شکل ۳ نشان داده شده که از طریق اجرای مدل استاندارد DEB به‌دست آمد.

مقدار زوم فاکتور (به عنوان برآیندی از طول بیشینه) در این گونه که معادل $4/522$ بود، و هم‌چنین پارامتر بیشینه نرخ ویژه جذب در واحد سطح $\{p_{Am}\}$ که معادل 2511 ژول (بیانگر ذخیره انرژی بالا و میزان افزایش وزن مناسب) و نیز مقدار فاکتور جذب ویژه $\{p_{Am}\}$ که در مقایسه با سایر ماهیان در یک حد مناسب قرار داشت، نشان‌دهنده این امر بود که قزل‌آلای رنگین‌کمان دارای قابلیت خوبی برای جذب انرژی (در قالب غذا) است و گزینه مناسبی برای پرورش خواهد بود.

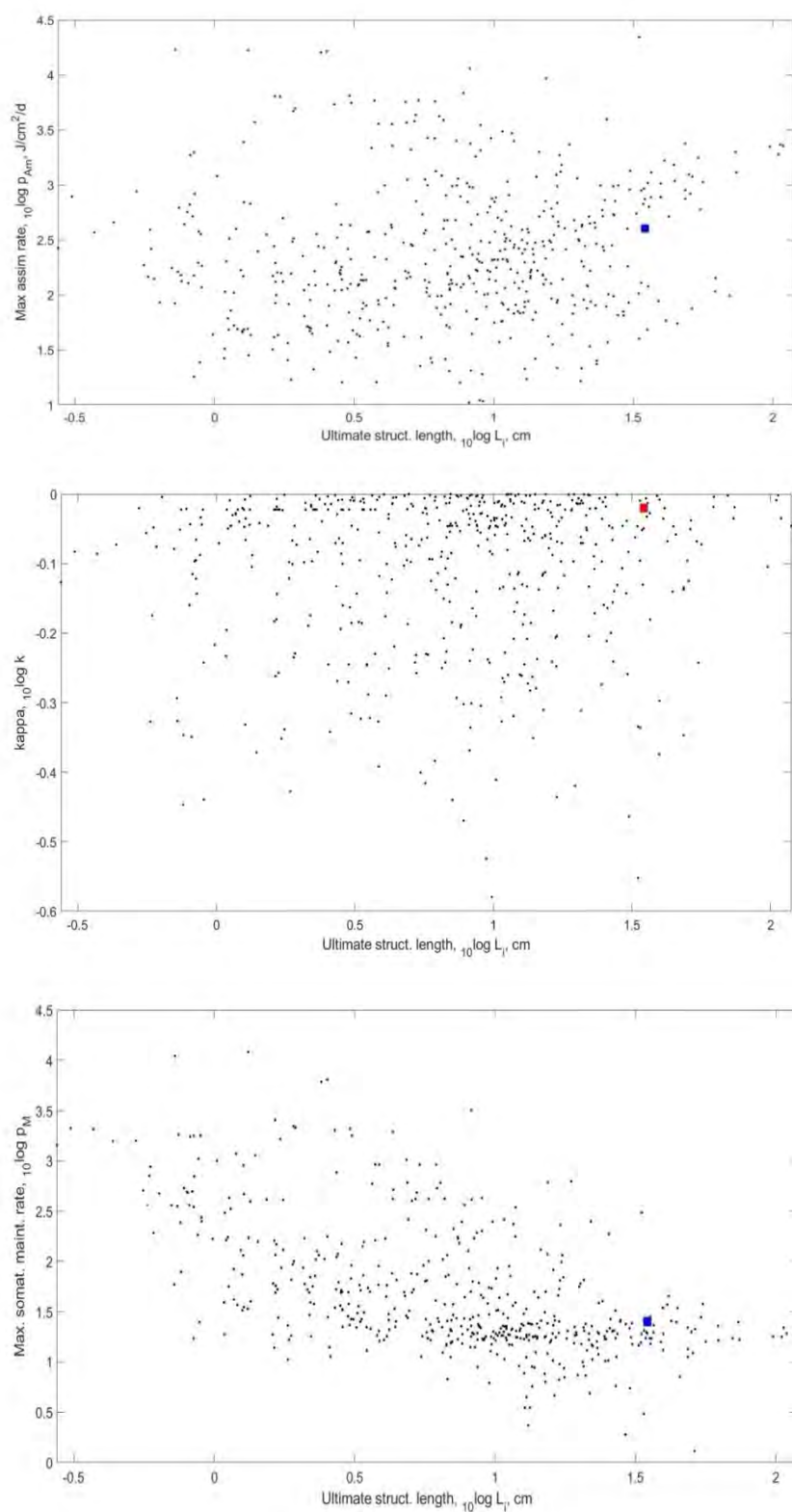
ارزیابی اثرات به روش ماتریس ایرانی: در مطالعه ارزیابی اثرات برای هر یک از مراحل ساختمانی و بهره‌برداری و هم‌چنین برای محیط‌های فیزیکی - شیمیایی، بیولوژیکی و نیز اقتصادی - اجتماعی، در فرآیند امتیازدهی، در هر دو مرحله ساختمانی و بهره‌برداری، اثرات مثبت و منفی همه فعالیت‌ها بر اجزای محیط زیست در نظر گرفته شد. میزان میانگین اثرات منفی، حاصل برآیند اثرات مثبت و منفی ارزیابی هر گزینه است. در ادامه به جزئیات این نظرسنجی خواهیم پرداخت و داده‌ها در قالب جدول و نمودار ارائه خواهد شد؛

گزینه ۱: بررسی و تحلیل داده‌های به دست آمده از روش ماتریس لئوپولد اصلاح‌شده در مورد گزینه شماره ۱ یعنی تولید ۱۰۰ تن ماهی قزل‌آلا در قفس در سواحل دریای خزر بدین شکل بود که اجرای این گزینه به تفکیک محیط‌ها نشان داد در محیط فیزیکی - شیمیایی و محیط بیولوژیکی دارای اثرات تخریبی ضعیف و محیط اقتصادی، اجتماعی و فرهنگی دارای اثرات تخریبی ناچیز بود. از این رو، با توجه به مطالب فوق گزینه ۱ دارای کم‌ترین اثرات سوء بر محیط زیست می‌باشد و نسبت به سایر گزینه در اولویت قرار دارد.

گزینه ۲: بررسی میانگین رده‌بندی اثرات در گزینه شماره دو یعنی پرورش ۵۰۰ تن ماهی قزل‌آلای



شکل ۳- رشد طولی و رشد وزنی (وزن تر) ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در روزهای پس از تفریح.



شکل ۴- مقایسه فاکتورهای DEB در ماهی قزل‌آلا (مربع رنگی) با سایر ماهیان.

انرژی اختصاص داده شده برای رشد سوماتیک یا ضریب کاپا (K) در ماهی قزل‌آلا ۰/۶۱۹۲ به دست آمد که در حد متوسط قرار دارد. میزان نگهداری از بدن بر مبنای حجم بدن $[P_M]$ در ماهی قزل‌آلا ۳۴۳/۹ به دست آمد که در مقایسه با سایر ماهیان در حد متعادلی قرار دارد. هدایت انرژی یا θ برای ماهی قزل‌آلا ۰/۳۲۴۵ به دست آمد که از میزان معمول آن بیش‌تر است. شتاب افزایش سن Weibull (\dot{h}_a) در حد نرمالی قرار دارد و از این رو این گونه طول عمر مناسبی داشته و احتمال زنده ماندن آن‌ها در زمان تولد و یا بلوغ در حد مطلوبی خواهد بود. بنابراین، این گونه می‌تواند شرایط اسارات (در شکل‌های گوناگون) را تحمل نماید و از این رو گونه مناسبی برای آبی‌پروری خواهد بود. پارامتر بعدی، اندازه در زمان بلوغ یا E_H^P در ماهی قزل‌آلا ۳۸۸۱۰۰۰ به دست آمد که به نسبت عدد بزرگی است. این پارامتر در ماهی قزل‌آلا نسبت به سایر ماهیان عدد بزرگ‌تری دارد که نشان از اندازه بزرگ‌تر این گونه نسبت به سایر ماهیانی که تاکنون مدل شده‌اند، در زمان بلوغ است. اندازه بزرگ‌تر در زمان بلوغ، خود عاملی است که باعث حفظ گونه‌ها در شرایط نامساعد خواهد بود. شکل ۴ به بررسی پارامترهای DEB به دست آمده برای قزل‌آلای رنگین‌کمان و مقایسه آن با سایر ماهیان پرداخته است.

بحث و نتیجه‌گیری

پرورش ماهیان در قفس‌های دریایی به دلیل نیاز به حداقل امکانات، عمدتاً در نوار ساحلی صورت می‌گیرد، اما این مناطق به شدت تحت تأثیر خشکی قرار دارند و مشکلات زیادی برای پرورش دهندگان ایجاد می‌کند (۲۴). از طرفی فعالیت‌های آبی‌پروری در مناطق ساحلی نیز اثرات نامطلوبی روی منطقه به جا می‌گذارد. بنابراین در کشورهای مختلف مقررات

سخت‌گیرانه‌ای را برای این مناطق جهت جلوگیری از خسران زیست‌محیطی وضع می‌نمایند. در سال‌های اخیر برای کاهش اثرات نامطلوب آبی‌پروری در قفس در دریا، پرورش‌دهندگان ماهی را به مناطق دور از ساحل سوق می‌دهند (۲۵). در این صنعت، فعالیت‌های مربوط به تغذیه، خوراک ماهیان و انتشار N و P به دلیل متابولیسم ماهیان، عواملی هستند که بیش‌ترین سهم را بر محیط زیست اطراف قفس‌ها دارند. ایجاد پروتکل‌های مناسب برای تغذیه ماهی قزل‌آلا (برنامه جیره بندی بهینه، تعداد دفعات غذایی و زمان عرضه غذا) و همچنین توزیع متمرکز و خودکار غذا می‌تواند به کاهش آثار محیط زیستی در مقیاس محلی و جهانی کمک نماید. این اقدامات نه تنها آثار محیطی صنعت آبی‌پروری را بهبود می‌بخشد بلکه به کاهش هزینه‌های تولید نیز کمک می‌کند (۲۶).

در مطالعه Goralach-Lira (۲۰۰۳) افزایش معنی‌دار غلظت فسفر کل فقط در داخل قفس مشاهده شد و تغییرات آن به فاصله ۵۰ متری محدود بود (۲۷). باید توجه داشت که افزایش مواد مغذی در محیط پیرامون قفس‌های پرورش ماهی همیشه ناشی از فعالیت آبی‌پروری نبوده، بلکه می‌تواند تحت تأثیر ویژگی‌های فیزیکی منطقه مانند شرایط تعویض آب و پویایی بستر و یا در نتیجه یوتریفیکاسیون محلی صورت گیرد (۲۸، ۲۹). به طوری که این احتمال وجود دارد که به‌هنگام شکست لایه‌بندی حرارتی، مواد مغذی و سایر ترکیباتی که از قفس‌های پرورشی به رسوبات یا لایه‌های عمیق‌تر رسیدند و دوباره به داخل ستون آبی برگشت داده شوند (۳۰، ۳۱).

معمولاً در آبی‌پروری دریایی به‌خصوص پرورش ماهی، انتظار می‌رود که ضایعات مشخصی را با سهم زیادی از نیتروژن و فسفر رها شده به شکل محلول به ستون آبی وارد نماید (۳۲). به ترتیب ۸۰ درصد و

کند، زیرا بعضی از ضایعات ته‌نشین شده در رسوبات بدون تجزیه برای همیشه دفن می‌گردند و یا با گذشت مدت طولانی در معرض تجزیه قرار می‌گیرند (۳۹). به طوری که برخی پژوهش‌گران معتقد بودند که اگرچه میزان رهاسازی مواد مغذی خارج از زیست‌بوم در بعضی مناطق کاهش یافته است، اما ادامه رهاسازی آن از رسوبات بستر می‌تواند یک مشکل جدی به حساب آید (۴۰). بنابراین لازم است که مطالعات فیزیکوشیمیایی پیرامون پرورش ماهی در قفس در منطقه جنوب دریای خزر علاوه بر مطالعات دوره‌ای و مستمر، روی مواد مغذی رسوبات نیز صورت گیرد.

هم‌چنین با توجه به میانگین غلظت فسفر معدنی گزارش شده از دریای خزر، معادل حدود ۳۵ میکروگرم بر لیتر، حداکثر غلظت افزایشی ۱۰ درصدی در یک فاصله ۲۰۰ متری از قفس، به‌طور متوسط حدود ۳/۵ میکروگرم بر لیتر، بنظر می‌رسد اکوسیستم با توان حداکثر ۱۰۰ تن در یک مجتمع با میزان حدود ۳/۸ میکروگرم بر لیتر را داشته باشد. با این‌حال، باید توجه داشت که بقیه ترکیبات به دلیل پرورش ماهی در قفس در رسوبات نهشته شده که عملاً در زمان فراچاهندگی دوباره در چرخه قرار می‌گیرد. هم‌چنین، بررسی میانگین رده‌بندی اثرات در گزینه شماره یک، یعنی پرورش ۱۰۰ تن ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در قفس‌های دریایی با حفظ فاصله هر مزرعه در هر منطقه نشان داد این روش دارای اثرات تخریبی ناچیز و ضعیف است که بیانگر حداکثر ظرفیت تولید ۱۰۰ تن در هر مجتمع پرورش قفس در دریای خزر با حفظ فاصله حداقل ۵۰۰ متری از مجتمع دیگر است (۴۱).

مطالعه حاضر تلاشی در راستای تلفیق روش‌های سنتی و مدل‌های جدید برای ارزیابی اثرات پرورش ماهی بود. پرورش ماهیان در قفس‌ها در بخش‌های ساحلی از راهکارهای مورد توجه سیاست‌گذاران در

۷۸ درصد رها شدن نیتروژن به محیط به شکل محلول بوده است که عمده نیتروژن رها شده به محیط به‌راحتی در دسترس فیتوپلانکتون است. هم‌چنین باید توجه داشت که ۶۴ درصد، ۶۶ درصد، ۵۷ درصد و ۳۸ درصد (۱۰، ۳۳، ۳۴) از کل فسفر رها شده به محیط در رسوب تجمع یافته است. شواهد نشان داد که فسفر محلول از منابع آلی می‌تواند در شکل‌گیری شکوفایی فیتوپلانکتون سمی تأثیر بگذارد (۳۵). این پارامترها در زیست‌بوم آبی سبب تغییرات عمده‌ای در زنجیره و شبکه غذایی منطقه می‌گردند. در پژوهشی گزارش گردید که فسفر کل با میزان کم‌تر از ۱۰۰ میکروگرم در لیتر اختلالی در زیست‌بوم ایجاد نخواهد کرد (۲۶). به‌هرحال، یکی از دلایل اصلی بروز شکوفایی جلبکی، افزایش و تغییر بالا در مقادیر نیتروژن و فسفر آب است. میزان غلظت نیتروژن کل مورد نیاز جهت شکوفایی جلبکی ۵۰۰ میکروگرم در لیتر است. در سیستم‌های دریاچه‌ای فلوریدا این آستانه ۷۰۰ میکروگرم در لیتر و در موارد محدود بین ۱۱۰۰-۱۰۰۰ میکروگرم در لیتر به‌عنوان یک حد بالاتر توصیه شده است (۳۶). سطوح نیتروژن کل برای رشد جلبک‌های مفید در مقابل جلبک‌های مزاحم (۰/۱-۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر) است (۳۷). میزان فسفر کل در هر دو سایت کلارآباد و عباس‌آباد کم‌تر از ۰/۰۵ میلی‌گرم در لیتر در دوره نمونه‌برداری اندازه‌گیری شد (۳۸). به‌هرحال، در صورت افزایش ناگهانی فسفر به‌واسطه ریزش سیلاب به محدوده پرورش ماهی، احتمال تغییر در تروفیکی منطقه وجود خواهد داشت. بنابراین توصیه می‌گردد محل استقرار قفس‌ها در فاصله‌های دور از ساحل و ورودی رودخانه‌ها قرار گیرد.

پژوهش‌ها نشان داد که نرخ رهاسازی میزان فسفر در رسوبات زیر قفس‌های پرورش ماهی طی سال‌های متممادی پرورش، می‌تواند تا ده‌ها برابر افزایش پیدا

پرورشی، نشت آلودگی‌های شیمیایی به محیط و هم‌چنین رسوب مواد غذایی و غیره از مهم‌ترین مواردی است که محیط اطراف قفس‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهد. این مطالعه، با بررسی همه جوانب و با استفاده از روش‌های مورد اعتماد، اطلاعات مناسب و گسترده‌ای را در اختیار پژوهش‌گران و سیاست‌گذاران قرار می‌دهد.

کشورهایی با کمبود منابع آبی است. کشور ایران، به‌عنوان یک کشور گرم و خشک، نیز با بحران آب روبرو است و بنابراین منطقی است که از سیستم پرورس در قفس استقبال نماید. اما با توجه به حساسیت بالای پرورش ماهیان در محیط‌های دریایی، ارزیابی اثرات محیطی این طرح‌ها از اهمیت بسیار زیادی برخوردار است. خطر تهاجم بیولوژیک گونه‌ها

منابع

1. FAO (Food and Agriculture Organization), (2016). The State of World Fisheries and Aquaculture. Rome, Italy. 204p.
2. Shamseddini, S., & Jazayeri, S. (2012). Economic study of rainbow trout culture in cages (case study: Bidkan Dam). The 2nd national conference on cold-water fish farming development. Shahrekord, Iran. [In Persian]
3. Reza Nejad, R., Rafiei, G., & Bahramian, M. (2012). Cultivation of rainbow trout in a cage to increase the national production of aquatic animals. The 2nd national conference on cold-water fish farming development. Shahrekord, Iran. [In Persian]
4. Rowland, S. J., & Allan, G. L. (2006). Development of techniques and evaluation of the potential of cage culture of silver perch for cotton farms. 13th Australian Cotton Conference, Pp: 661-668.
5. Masser, M. (1988). What is Cage Culture? Southern Regional Aquaculture Center, Publication No. 160p.
6. Podemski, C. L., & Blanchfield, P. J. (2006). Overview of the environmental impacts of Canadian freshwater aquaculture. A Scientific Review of the Potential Environmental Effects of Aquaculture in Aquatic Ecosystems-5: Canadian Technical Report of Fisheries and Aquatic Sciences. Ontario, Department of Fisheries and Oceans Canada.
7. Gale, P. (1999). Addressing Concerns for Water Quality Impacts from Large-Scale Great Lakes Aquaculture. Roundtable Discussion Habitat Advisory Board of the Great Lakes Fishery Commission and Great Lakes Water Quality Board of the International Joint Commission. Toronto, Ontario Ministry of the Environment, Canada.
8. Loya, Y. (2007). How to influence environmental decision makers? The case of Eilat (Red Sea) coral reefs. *Experimental Marine Biology and Ecology*, 73, 35-53.
9. Yücel-Gier, G., Küçüksezgin, F., & Koçak, F. (2007). Effects of fish farming on nutrients and benthic community structure in the Eastern Aegean (Turkey). *Aquaculture Research*, 38 (3), 256-267.
10. Phillips, M. J., Beveridge, M. C. M., & Ross, L. G. (1985). The environmental impact of salmonids Cage culture on Inland fisheries: present status and future trends. *Journal Fish Biology*, 27, 123-137.
11. Diaz, M. M., Temporetti, P. F., & Pedrozo, F. L. (2001). Response of phytoplankton to enrichment from cage fish farm waste in Alicura Reservoir (Patagonia, Argentina). *Lakes Reservoirs. Research and Management*, 6, 151-158.
12. Shakouri, M. (2003). Impact of cage culture on sediment chemistry. A case study in Mjoifjordur (Doctoral dissertation, Dissertation (SHILAT). Tehran, Iran.
13. Kashindye, B. B., Nishda, P., Kayanda, R., Ngupula, G. W., Mashafi, C. A., & Ezekiel, C. N. (2015). Environmental impacts of cage culture in Lake Victoria: the case of Shirati Bay-Sota, Tanzania. *SpringerPlus*. 4 (1), 475.

14. Imanpour Namin, J., Safarbidi, K., Allaf Noveiriam, H., & Amini, K. (2021). Effects of cage culture of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* on phytoplankton and zooplankton communities (Case study: Golestan Reservoir 1, Gorgan, Iran). *Caspian Journal of Environmental Sciences*. 20, 1-20.
15. Gowen, R. J., & Bradbury, N. B. (1987). The ecological impact of salmonid farming in coastal waters: a review. *Oceanography and Marine Biology Annual Review*. 25, 563-575.
16. Valizadeh, S., & Shekari, Z. (2015). Evaluation of Iranian Leopold Matrix application in the Environmental Impact Assessment (EIA) of solid waste management options in Birjand city. *Iranian Journal of Health & Environ*. 8 (2), 249-262. [In Persian]
17. Makhdoum, M. (2008). Four points in evaluating the effects of development. *Journal of Environment and Development*, 2 (3), 9-12. [In Persian]
18. Alborzimanesh, M. (2011). A critique on common methods of summarizing and drawing conclusions from environmental impact assessment matrices. *Journal of Environment and Development*, 2 (3), 45-52. [In Persian]
19. Piri, H. (2011). Environmental Impact Assessment of the construction of Chah-Nime Dam in Zabul. *Town and Country Planning*, 3 (5), 145-163. [In Persian]
20. Esmailpour-Poodeh, S., & Van der Meer, J. (2021). An Introduction to Dynamic Energy Budget (DEB) Theory (1); Philosophy and Concepts. *Basin Science Letter*, 3, 195-203. [In Persian]
21. Lika, K., Kearney, M.R., Freitas, V., van der Veer, H. W., van der Meer, J., Wijsman, J. W. M., Pecquerie, L., & Kooijman, S. A. L. M. (2011). The "covariation method" for estimating the parameters of the standard Dynamic Energy Budget model I: Philosophy and approach. *Journal of Sea Research*. 66, 270-277.
22. Marques, G. M., Augustine, S., Lika, K., Pecquerie, L., Domingos, T., & Kooijman, S. (2018). The AmP project: Comparing species on the basis of dynamic energy budget parameters. *Journal of Plos Computational Biology*. 14 (5), 1-23.
23. Van der Meer, J. (2006). An introduction to Dynamic Energy Budget (DEB) models with special emphasis on parameter estimation. *Journal of Sea Research*. 56, 85-102.
24. Miki, K., Sano, M., & Bailly, D. (1992). The role and problems of coastal fish culture in Japan. *Oceanography*, 18, 385-395.
25. Esmailpour-Poodeh, S., Ghorbani, R., Salmanmahiny, A., Rezaei, H., & Kamyab, H. (2019). PhD Thesis: Environmental Impact Assessment of Suitable Sites for Sturgeon Farming in the Coasts of the Caspian Sea (Case Study: Golestan Province Coastal Area). Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources. 106p. [In Persian]
26. Islam, M. S. (2005). Nitrogen and phosphorus budget in coastal and marine cage aquaculture and impacts of effluent loading on ecosystem: review and analysis towards model development. *Mar. Pollut. Bull*. 50, 48-61.
27. Gorlach-Lira, K., Pacheco, C., Carvalho, L. C. T., Melo Júnior, H. N., & Crispim, M. C. (2013). The influence of fish culture in floating net cages on microbial indicators of water quality. *Brazilian Journal of Biology*, 73 (3), 457-463.
28. Ola, H., & Hall, O. J. (1994). Chemical fluxes and mass balances in a marine fish cage farm. III. Silicon. *Aquaculture*, 120, 305-318.
29. Hakanson, L. (1986). Environmental impact of fish cage farms. In: *Aquaculture - an Industry for the Future*. The Royal Swed. Acad. Eng. Sci., Stockholm, IVA Report, 308, 179-199.
30. Venturoti, G. P., Veronez, A. C., Salla, R. V., & Gomes, L. C. (2014). Phosphorus, total ammonia nitrogen and chlorophyll a from fish cages in a tropical lake (Lake Palminhas, Espírito Santo, Brazil). *Aquaculture Research*, 47 (2), 409-423.

31. Gondwe, M. J. S., Guildford, S. J., & Hecky, R. E. (2011). Carbon, nitrogen and phosphorus loadings from tilapia fish cages in Lake Malawi and factors influencing their magnitude. *Journal of Great Lakes Research*, 37, 93-101.
32. Tiziana, L. R., Simone, M., Eugenia, F., Benedetto, S., Gianluca, S., Roberto, D., & Antonio, M. (2002). Impact on the water column biogeochemistry of a Mediterranean mussel and fish farm. *Water Research*, 36, 713-721.
33. Stigebrandt, A. (1986). Modellberäkningar av en fiskodlings miljöbelastning. Report O-86004. Norwegian Institute of Water Research, Oslo. 28p.
34. Holby, O., & Hall, P. O. J. (1991). Chemical fluxes and mass balances in a marine fish cage farm. II. Phosphorus. *Marine Ecology Progress Series*, 70, 263-272.
35. Kato, S., Hirobe, H., & Maegawo, T. (1985). On the essential sea water parameters to discriminate between red tide and non red tide by discriminate analysis. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 51, 7-12.
36. Florida Department of Environmental Protection. (2003). Development of Florida Lake Nutrient Criteria: Summary and Synthesis. Tallahassee, USA.
37. ANZECC & ARMCANZ. (2000). Australian and New Zealand Guidelines for Fresh and Marine Water Quality. National Water Quality Management Strategy Paper No 4. Canberra, Australian and New Zealand Environment and Conservation Council & Agriculture and Resource Management Council of Australia and New Zealand.
38. Farabi, S. M. V., Sharif Rouhani, M., Matinfar, A., Abdolhay, H., Negarestan, H., Pourang, N., Pourgholam, R., Fazli, H., Afraei, M., Nasrollah Zadeh, H., Behmanesh, S., Mohseni, M., Azari, A., Daryanabard, G., Najafpour, S., & Abedian, A. (2017). A comprehensive study of the southern Caspian Sea ecosystem with aim of establishing marine cage fish culture and aquaculture development. *Iranian Fisheries Science Institute*. 140p. [In Persian]
39. Kelly, L. A. (1992). Dissolved reactive phosphorus release from sediments beneath a freshwater cage aquaculture development in West Scotland. *Hydrobiologia*. 235/236, 567-572.
40. Meyer-Reil, L. A., & Koster, M. (2000). Eutrophication of marine waters: effects on benthic microbial communities. *Marine Pollution Bulletin*, 41 (1-6), 255-263.
41. Farabi, S. M. V. (2014). A comprehensive study on the southern part of the Caspian Sea with the aim of establishing cages and developing marine aquaculture (first phase). *Iran Fisheries Organization*. 318p. [In Persian]

Effects of dietary lactic acid supplementation on plasma ions and proteins levels in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*

Seyyed Morteza Hoseini*

Corresponding Author, Research Assistant Prof., Inland Waters Aquatics Resources Research Center, Iranian Fisheries Sciences Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Gorgan, Iran.
E-mail: seyyedmorteza.hoseini@gmail.com

Article Info

Article type:
Full Length Research Paper

Article history:
Received: 05.28.2022
Revised: 06.12.2022
Accepted: 06.18.2022

Keywords:
Blood,
Diet,
Lactic acid,
Rainbow trout

ABSTRACT

The aim of this study was to investigate the effect of adding lactic acid to the diet of rainbow trout on the plasma concentration of minerals and plasma proteins. For this purpose, 4 diets containing 0, 5, 10 and 20 g of lactic acid per kg of diet were prepared. 180 rainbow trout with an average weight of about 100 g were stored in 12 plastic tanks (150 L) and fed with each of the above diets (three tanks for each diet) for 8 weeks. The results showed that the addition of lactic acid to the diet had significant effects on the plasma concentrations of calcium, phosphorus, iron, copper, zinc, total protein and globulin ($P < 0.05$). However, plasma total immunoglobulin and albumin were not affected by the addition of lactic acid to the diet ($P > 0.05$). All lactic acid concentrations significantly increased plasma calcium concentrations. Plasma phosphorus in 5 and 10 g of lactic acid treatments was higher than the control treatment. Plasma concentrations of iron in 10 and 20 g of lactic acid treatment, copper in 20 g of lactic acid treatment and zinc in 10 g of lactic acid treatment were significantly higher than the control treatment. Plasma total protein and globulin in 10 g of lactic acid treatment were higher than the control treatment. The results of this study show that the addition of lactic acid to the diet of rainbow trout has an effective role in increasing the concentration of plasma minerals and proteins. Accordingly, concentrations of 10-20 g / kg of lactic acid had the best results.

Cite this article: Hoseini, Seyyed Morteza. 2023. Effects of dietary lactic acid supplementation on plasma ions and proteins levels in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics*, 12 (2), 67-75.



© The Author(s).

DOI: 10.22069/japu.2023.20255.1666

Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

اثر غنی‌سازی جیره غذایی با اسید لاکتیک بر غلظت یون‌ها و پروتئین‌های پلاسما خون در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، *Oncorhynchus mykiss*

سید مرتضی حسینی*

نویسنده مسئول، استادیار پژوهشی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، مرکز تحقیقات ذخایر آبزیان آب‌های داخلی، گرگان، رایانامه: seyyedmorteza.hoseini@gmail.com

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: مقاله کامل علمی- پژوهشی	هدف از این پژوهش بررسی اثر افزودن اسید لاکتیک به جیره غذایی قزل‌آلای رنگین‌کمان بر غلظت مواد معدنی و پروتئین‌های پلاسما خون ماهی بود. به این منظور ۴ جیره غذایی حاوی ۰، ۵، ۱۰ و ۲۰ گرم اسید لاکتیک در کیلوگرم جیره ساخته شد. ۱۸۰ قطعه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (حدود ۱۰۰ گرم) در ۱۲ مخزن پلاستیکی ۱۵۰ لیتری ذخیره‌سازی شده و به مدت ۸ هفته با هر یک از جیره‌های فوق تغذیه شدند (سه مخزن برای هر جیره). نتایج نشان داد که افزودن اسید لاکتیک به جیره غذایی اثر معنی‌داری روی غلظت کلسیم، فسفر، آهن، مس، روی، پروتئین کل و گلبولین پلاسما داشت ($P < 0/05$). ولی ایمنوگلوبولین کل و آلبومین پلاسما تحت تأثیر افزودن اسید لاکتیک به جیره غذایی نبودند ($P > 0/05$). همه غلظت‌های اسید لاکتیک به‌طور معنی‌داری غلظت کلسیم پلاسما را افزایش دادند. فسفر پلاسما در تیمارهای ۵ و ۱۰ گرم اسید لاکتیک بالاتر از تیمار شاهد بودند. غلظت پلاسمایی آهن در تیمار ۱۰ و ۲۰ گرم اسید لاکتیک، مس در تیمار ۲۰ گرم اسید لاکتیک و روی در تیمار ۱۰ گرم اسیدی لاکتیک به‌طور معنی‌داری بالاتر از تیمار شاهد بودند. پروتئین کل و گلبولین پلاسما در تیمار ۱۰ گرم اسید لاکتیک بالاتر از تیمار شاهد بودند. نتایج این پژوهش نشان می‌دهند که افزودن اسید لاکتیک به جیره غذایی قزل‌آلای رنگین‌کمان نقش مؤثری در افزایش غلظت مواد معدنی و پروتئین‌های پلاسما دارد. بر این اساس، غلظت ۱۰-۲۰ گرم در کیلوگرم اسید لاکتیک بهترین نتایج را داشته‌اند.
تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۳/۰۷	
تاریخ ویرایش: ۱۴۰۱/۰۳/۲۲	
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۳/۲۸	
واژه‌های کلیدی: اسید لاکتیک، جیره غذایی، خون، قزل‌آلای رنگین‌کمان	

استناد: حسینی، سید مرتضی (۱۴۰۲). اثر غنی‌سازی جیره غذایی با اسید لاکتیک بر غلظت یون‌ها و پروتئین‌های پلاسما خون در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، *Oncorhynchus mykiss*. نشریه بهره‌برداری و پرورش آبزیان، ۱۲ (۲)، ۶۷-۷۵.

DOI: 10.22069/japu.2023.20255.1666



© نویسندگان

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

مقدمه

صنعت آبی‌پروری رشد سریعی داشته و راه‌حلی مناسب جهت افزایش تولید پروتئین، استفاده بهینه از منابع و کاهش فشار صید بر منابع طبیعی می‌باشد. قزل‌آلای رنگین‌کمان، *Oncorhynchus mykiss*، یکی از مهم‌ترین گونه‌های آبی‌پروری دنیا بوده که دلیل آن سرعت رشد بالا، مقاومت در برابر شرایط نامناسب محیطی و قابلیت تغذیه از منابع غذایی گوناگون می‌باشد. پرورش قزل‌آلای رنگین‌کمان در کشور یکی از مهم‌ترین صنایعی است که نقش مهمی در درآمدزایی و اشتغال دارد، زیرا در حال حاضر سالانه بیش از ۱۸۰ هزار تن ماهی قزل‌آلا در کشور تولید می‌شود (۱). به همین دلیل، پژوهش روی پرورش این گونه ارزش زیادی دارد. همچنین، راهکارهای افزایش رشد این گونه می‌تواند منجر به افزایش تولید گوشت و درآمد پرورش‌دهندگان شود. اسیدیفایرها گروهی از افزودنی‌های غذایی هستند که با تأثیر بر اسیدیته خوراک در شرایط نگهداری نامناسب خوراک مانند رطوبت و دمای بالا از رشد عوامل میکروبی و قارچی جلوگیری به عمل می‌آورند و در نهایت ریسک تولید سموم ناشی از رشد عوامل باکتریایی و قارچی کاهش می‌یابد که به دنبال این موضوع کیفیت و بهره‌وری خوراک در سطح مطلوب حفظ خواهد شد (۲). همچنین، مشخص شده است که آنیون‌های اسیدی با عناصر معدنی ترکیب شده و باعث افزایش قابلیت هضم این عناصر می‌گردند (۳). اهمیت این موضوع به دلیل نقش‌های متنوع مواد معدنی در رشد، ایمنی و سیستم آنتی‌اکسیدانی ماهی می‌باشد (۴). به عنوان مثال، در ماهی روهو، *Labeo rohita* (۵) و فیل‌ماهی، *Huso huso* (۶) و گربه‌ماهی دم زرد، *Pelteobagrus fulvidraco* (۷)، افزودن اسید سیتریک به جیره باعث افزایش هضم عناصر معدنی مانند فسفر، کلسیم و منگنز شده

است. مطالعات انجام شده روی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان نشان داده‌اند که افزودن اسید فرمیک (۸) و اسید سیتریک (۹) به جیره قزل‌آلای رنگین‌کمان باعث افزایش هضم فسفر و منیزیوم و کلسیم می‌شود. همچنین، اسیدیفایرها باعث افزایش ایمنی در ماهی می‌شوند. به عنوان مثال، افزودن اسید فرمیک + پروپیونات کلسیم به جیره غذایی کپور مریگال، *Cirrhinus mrigala*، باعث افزایش غلظت پروتئین‌های خون و فعالیت لیزوزیم و انفجار تنفسی در خون ماهی شده است (۱۰). افزودن اسید پروپیونیک به جیره غذای تیلاپیای نیل، *Oreochromis niloticus*، باعث افزایش پروتئین‌های پلاسما، ایموگلوبولین، لیزوزیم و فاگوسیتوز شده است (۱۱). همچنین، افزودن سدیم دی فرمات و اسید فرمیک به جیره غذایی فیل‌ماهی منجر به افزایش فعالیت لیزوزیم، کمپلمان، فعالیت باکتری‌کشی و غلظت گلوبولین در خون شده است (۱۲). این مطالعات نشان می‌دهند که اسیدیفایرها نقش مهمی در جذب مواد معدنی و بهبود ایمنی ماهی بازی می‌کنند. با این حال، مطالعات انجام شده در این خصوص محدود به گونه‌های ماهی خاص و اسیدهای آلی خاص بوده است و مطالعات بیش‌تری در این زمینه لازم است.

اسید لاکتیک محصول تخمیر بی‌هوازی کربوهیدرات‌ها است که توسط باکتری‌های اسید لاکتیک در روده تولید می‌شود. تولید اسید لاکتیک در روده ضمن کاهش pH روده و بهبود فعالیت آنزیم‌های گوارشی، باعث رشد باکتری‌های تولیدکننده بوتیرات نیز می‌شود که این باکتری‌ها به نوبه خود اثرات مثبتی بر سلامت ساختار روده و تامین انرژی مورد نیاز سلول‌های آنروسیت دارند (۱۳). مطالعات مختلفی روی اثرات اسید لاکتیک یا نمک آن در جیره آبزیان انجام شده است که تمرکز آن‌ها روی رشد، آنزیم‌های گوارشی و فلور باکتریایی روده بوده است (۱۴، ۱۵ و ۱۶).

بنابراین، هدف از مطالعه حاضر ارزیابی اثر افزودن اسید لاکتیک به جیره غذایی در غلظت برخی مواد معدنی و پروتئین‌های پلاسمای خون در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بود.

مواد و روش‌ها

تهیه جیره‌های غذایی: اسید لاکتیک از شرکت مبتکران شیمی خریداری شد که دارای گرید غذایی با خلوص ۸۵ درصد بود. اسید لاکتیک به جیره ماهی در غلظت ۰ (شاهد)، ۵، ۱۰ و ۲۰ گرم بر کیلوگرم

وارد شد (جدول ۱). مواد غذایی الک شده (۵۰۰ میکرون) و به مدت ۲۰ دقیقه مخلوط شدند. سپس روغن ماهی و روغن سویا را به آن‌ها اضافه کرده و به مدت ۲۰ دقیقه مخلوط می‌کنیم. به این مخلوط، ۳۵۰ میلی‌لیتر آب اضافه شد تا مخلوط خمیری شود (اسید لاکتیک در این مرحله به آب اضافه شد). خمیر حاصله توسط چرخ گوشت به پلت تبدیل شد و در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد و وزش باد پنکه خشک شد. سپس پلت‌ها در کیسه‌های پلاستیکی در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

جدول ۱- مقدار اقلام جیره غذایی و ترکیب بیوشیمیایی هر یک از جیره‌های استفاده شده.

سطح اسید لاکتیک جیره (گرم در کیلوگرم)				اقلام جیره غذایی
۲۰	۱۰	۵	۰	
۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	پودر ماهی کیلکا ^۱
۲۹۰	۲۹۰	۲۹۰	۲۹۰	پودر ضایعات کنسروسازی ^۲
۱۸۹/۵	۱۸۹/۵	۱۸۹/۵	۱۸۹/۵	آرد گندم
۱۵۰	۱۵۰	۱۵۰	۱۵۰	آرد سویا
۱۹۰	۱۹۰	۱۹۰	۱۹۰	پودر گوشت ^۳
۲۰	۲۰	۲۰	۲۰	روغن ماهی
۵۰	۵۰	۵۰	۵۰	روغن سویا
۵	۵	۵	۵	مکمل معدنی ^۴
۵	۵	۵	۵	مکمل ویتامینی ^۴
۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	فیتاز ^۵
۲۰	۱۰	۵	۰	اسید لاکتیک ^۶
ترکیب تقریبی جیره (درصد)				
۶/۵۶	۶/۴۴	۶/۹۲	۶/۵۳	رطوبت
۴۰/۴	۴۰/۶	۴۰/۳	۴۰/۵	پروتئین خام
۱۵/۷	۱۶/۱	۱۶/۰	۱۵/۹	چربی خام
۷/۷۷	۷/۵۱	۷/۶۹	۷/۵۵	خاکستر خام

^۱ پودر ماهی کیلکا: ۶۲/۲ درصد پروتئین، ۷/۶ درصد چربی

^۲ ضایعات کنسروسازی: ۵۶/۱ درصد پروتئین، ۱۵/۲ درصد چربی

^۳ پودر گوشت: ۵۲/۶ درصد پروتئین، ۱۸/۳ درصد چربی

^۴ مکمل معدنی و ویتامینی: شرکت آمینه گستر (تهران)

^۵ فیتاز: شرکت Huvepharma (سوفیه، بلغارستان)؛ ۵۰۰۰ واحد

^۶ اسید لاکتیک: گرید غذایی، خلوص ۸۵ درصد؛ تهیه شده از شرکت مبتکران شیمی (تهران)

اندازه‌گیری فسفر، کلسیم، پروتئین کل و آلبومین با استفاده از کیت‌های تجاری شرکت پارس آزمون و دستگاه اتوآنالایزر انجام شد. اندازه‌گیری آهن، مس و روی توسط کیت‌های تجاری شرکت وندیداز انجام شد. اندازه‌گیری ایمنوگلوبولین کل به روش ترسیب توسط پلی‌ایتلن گلیکول انجام شد (۱۷).

تجزیه و تحلیل آماری: داده‌ها ابتدا با استفاده از آزمون‌های شاپیروویلک و لون از نظر پراکنش نرمال و همگن بودن واریانس‌ها بررسی و تأیید شدند. مقایسه بین تیمارهای مختلف توسط آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه و دانکن انجام شد. معنی‌داری در سطح ۰/۰۵ بررسی شد و داده‌ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار ارائه شدند. آنالیزهای آماری در نرم‌افزار SPSS v.22 انجام شد.

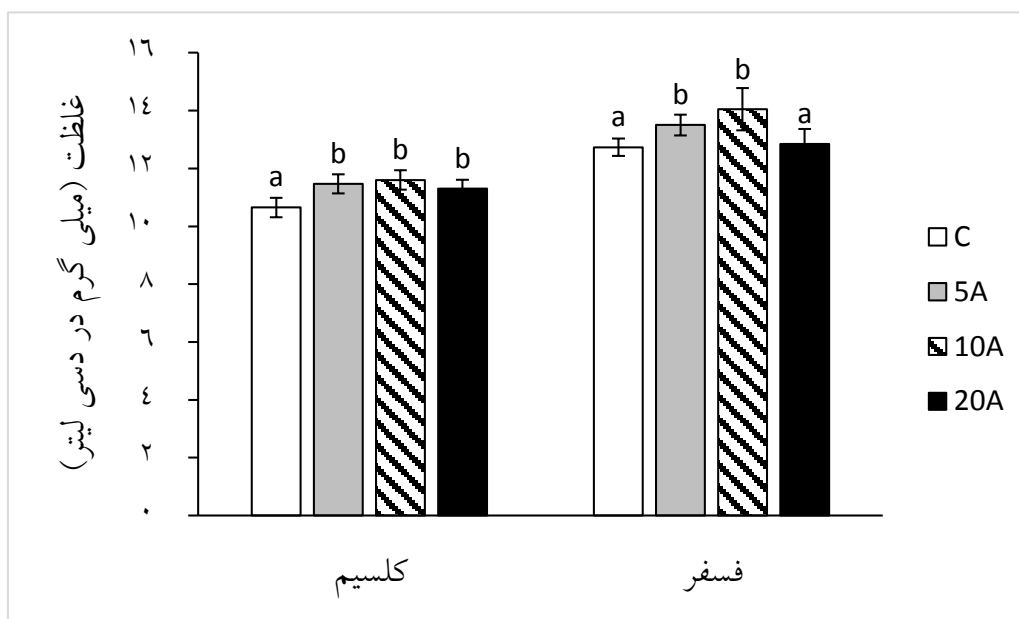
نتایج

افزودن اسید لاکتیک به جیره غذایی اثر معنی‌داری در غلظت کلسیم و فسفر پلاسما داشت (P<۰/۰۵). تیمارهای اسید لاکتیک غلظت کلسیم مشابه و به‌طور معنی‌داری بالاتر از تیمار شاهد داشتند (شکل ۱). هم‌چنین، تیمار ۵ و ۱۰ گرم اسید لاکتیک فسفر پلاسما بالاتری نسبت به تیمار شاهد و ۲۰ گرم اسید لاکتیک داشتند (شکل ۱).

غلظت آهن، مس و روی پلاسما خون به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر مقدار اسید لاکتیک جیره قرار گرفت (P<۰/۰۵). آهن در تیمار ۱۰ و ۲۰ گرم اسید لاکتیک، مس در تیمار ۲۰ گرم اسید لاکتیک و روی در تیمار ۱۰ گرم اسید لاکتیک به‌طور معنی‌داری بالاتر از تیمار شاهد بودند (شکل ۲).

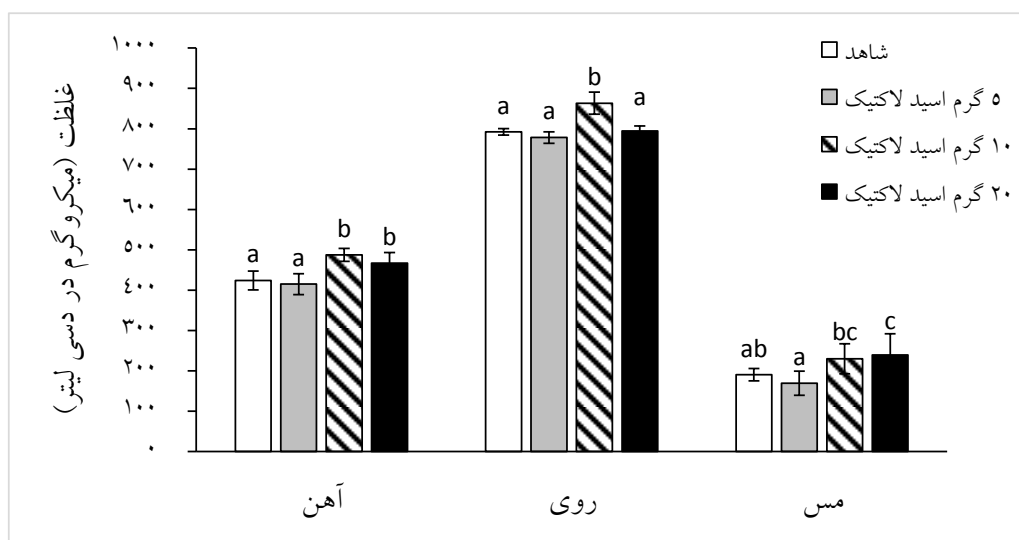
تهیه ماهی و پرورش: دویست قزل‌آلای رنگین‌کمان (۲/۶۵ \pm ۶۲/۴ گرم) از یک مزرعه بخش خصوصی خریداری و به آزمایشگاه منتقل شد. ماهی‌ها به مدت ۳۰ روز در یک مخزن ۱۲۰۰ لیتری نگهداری شدند و در طی آن دو بار در روز با جیره شاهد تغذیه شدند. سپس ۱۸۰ ماهی با اندازه مشابه در ۱۲ تانک ۱۵۰ لیتری با تراکم ۱۵ ماهی در هر تانک (\sim ۱۰ گرم در لیتر) توزیع شدند. مخازن به صورت مداوم هوادهی شده و نرخ جریان آب ۰/۵ لیتر در دقیقه به ازای هر کیلوگرم ماهی بود. هر جیره به سه تانک به مدت ۷۰ روز با نرخ ۲ درصد زیست‌توده در روز داده شد. زیست‌توده مخازن هر دو هفته یک‌بار به‌منظور تنظیم مقدار خوراک ثبت می‌شد. مخازن روزانه تمیز و سیفون می‌شدند تا ضایعات ماهی‌ها خارج شود و کیفیت آب حفظ شود. دمای آب (۱۱-۱۵/۳ درجه سانتی‌گراد)، اکسیژن محلول (۶/۴-۷/۹ میلی‌گرم در لیتر) و pH (۷/۲-۸/۱) روزانه اندازه‌گیری شد و آمونیاک کل آب (۰/۱۲-۰/۲۱ میلی‌گرم در لیتر) به‌صورت هفتگی با استفاده از دستگاه‌های دیجیتال اندازه‌گیری شد.

نمونه‌گیری: ۶ ماهی در هر تیمار صید و با ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر اوژنول بیهوش شدند. بلافاصله پس از بیهوشی، نمونه خون از ورید دمی با استفاده از سرنگ‌های هپارینه گرفته و سانتریفیوژ شد (۳۰۰۰ گرم؛ ۷ دقیقه؛ ۴ درجه سانتی‌گراد) تا پلاسما برای سنجش‌های بیوشیمیایی به‌دست آید. نمونه‌های پلاسما به دست آمده در فریزر با دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.



شکل ۱- اثر افزودن اسید لاکتیک به جیره غذایی قزل‌آلای رنگین‌کمان بر غلظت کلسیم و فسفر پلاسمای خون. حروف متفاوت روی میله‌ها نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.

C: شاهد؛ 5A: ۵ گرم اسید لاکتیک در کیلوگرم؛ 10A: ۱۰ گرم اسید لاکتیک در کیلوگرم؛ 20A: ۲۰ گرم اسید لاکتیک در کیلوگرم.

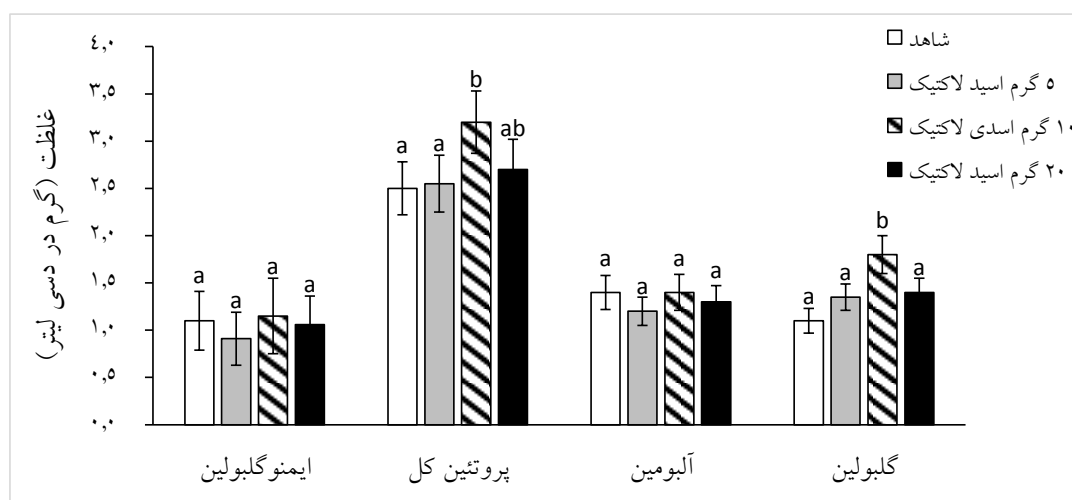


شکل ۲- اثر افزودن اسید لاکتیک به جیره غذایی قزل‌آلای رنگین‌کمان بر غلظت آهن، مس و روی پلاسمای خون. حروف متفاوت روی میله‌ها نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.

C: شاهد؛ 5A: ۵ گرم اسید لاکتیک در کیلوگرم؛ 10A: ۱۰ گرم اسید لاکتیک در کیلوگرم؛ 20A: ۲۰ گرم اسید لاکتیک در کیلوگرم.

مقدار پروتئین کل و گلبولین پلاسما در تیمار ۱۰ گرم اسید لاکتیک به‌طور معنی‌داری بالاتر از تیمار شاهد بود (شکل ۳). ($P < 0.05$)

مقدار اسید لاکتیک جیره اثر معنی‌داری روی غلظت ایمنوگلوبولین و آلبومین پلاسمای خون نداشت ($P > 0.05$) ولی مقدار پروتئین کل و گلبولین پلاسما به‌طور معنی‌داری تحت‌تأثیر اسید لاکتیک جیره بود



شکل ۳- اثر افزودن اسید لاکتیک به جیره غذایی قزل‌آلای رنگین‌کمان بر غلظت ایمونوگلوبولین، پروتئین کل، آلبومین و گلوبولین پلاسمای خون.

حروف متفاوت روی میله‌ها نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.

C: شاهد؛ 5A: ۵ گرم اسید لاکتیک در کیلوگرم؛ 10A: ۱۰ گرم اسید لاکتیک در کیلوگرم؛ 20A: ۲۰ گرم اسید لاکتیک در کیلوگرم.

باشد. با این حال، اثر اسید لاکتیک معنی‌دار بوده است که می‌تواند به دلیل تأثیر احتمالی آن بر مقدار فیتات موجود در جیره و همچنین، کاهش اسیدیته دستگاه گوارش و افزایش هضم‌پذیری مواد معدنی باشد. مطالعات پیشین روی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان نشان داده‌اند که افزودن اسید آلی (اسید فرمیک یا اسید سیتریک) به جیره قابلیت هضم مواد معدنی جیره را افزایش می‌دهد (۸ و ۹). چنین نتایجی در مطالعات پیشین روی ماهی روهو، فیل‌ماهی و گربه‌ماهی زرد که جیره‌های حاوی اسید سیتریک دریافت کرده بودند نیز مشاهده شده است (۵، ۶ و ۷). بنابراین می‌توان گفت که افزایش مقدار مواد معدنی در خون قزل‌آلای رنگین‌کمان تحت تأثیر اسید لاکتیک جیره به دلیل افزایش هضم آن‌ها در دستگاه گوارش بوده است.

اسیدهای آلی نقش مهمی در ایمنی ماهی دارند که دلیل آن می‌تواند بهبود فلور میکروبی روده و ایمنی روده‌ای باشد (۱۹). مطالعات متعددی نشان داده‌اند که اسیدهای آلی باعث افزایش جمعیت باکتری‌های مفید مانند لاکتوباسیلوس‌ها در دستگاه گوارش ماهی

بحث

امروزه بخش زیادی از پروتئین جیره غذایی ماهیان پرورشی را منابع گیاهی تامین می‌کنند که حاوی مواد ضدتغذیه‌ای متنوعی هستند. این مواد ضدتغذیه‌ای در هضم و جذب مواد مغذی اختلال ایجاد می‌کنند. برخی از این مواد ضد تغذیه‌ای در هضم و جذب مواد معدنی نقش دارند که می‌تواند به فیتات، گلوکوزینولات و کربوهیدرات‌های غیرنشاسته‌ای اشاره نمود (۱۸). اسیدهای آلی می‌توانند باعث افزایش هضم و جذب مواد معدنی در چنین جیره‌هایی شوند. در این پژوهش، افزودن سطوح مختلف اسید لاکتیک به جیره منجر به تغییرات اندک ولی معنی‌دار در غلظت مواد معدنی در پلاسمای خون شد. علت تغییرات اندک می‌تواند سهم نسبتاً پایین پروتئین گیاهی نسبت به پروتئین حیوانی باشد. پروتئین‌های حیوانی از قابلیت هضم بالایی برخوردار هستند و مواد ضد تغذیه‌ای خیلی کم‌تری دارند و به همین دلیل، شاید ماده زمینه‌ای (مثلاً فیتات) در جیره آن‌قدر بالا نبوده که اثر اسید لاکتیک خیلی شدید

احتمالی باشد. مطالعات قبلی روی کپور مریگال (۱۰)، تیلایپای نیل (۱۱) و فیل ماهی (۱۲) نیز نشان داده است که اسیدهای آلی در جیره غذایی می‌توانند باعث بهبود شاخص‌های ایمنی خون از جمله پروتئین‌های پلاسما شوند.

در نهایت، نتایج این پژوهش نشان می‌دهند که افزودن اسید لاکتیک به جیره غذایی قزل‌آلای رنگین‌کمان نقش مؤثری در افزایش غلظت مواد معدنی و پروتئین‌های پلاسما دارد. بر این اساس، غلظت ۱۰-۲۰ گرم در کیلوگرم اسید لاکتیک بهترین نتایج را داشته‌اند.

می‌شوند (۲۰). این باکتری‌ها یکی از عوامل افزایش ایمنی غیراختصاصی در ماهی هستند به طوری که افزودن آن‌ها به جیره باعث افزایش شاخص‌های ایمنی خونی در ماهی شده است (۲۱). در این پژوهش نیز مقدار پروتئین کل و گلبولین پلاسما در تیمار ۱۰ گرم اسید لاکتیک به طور معنی‌داری افزایش یافته است. گلبولین پلاسما متشکل از پروتئین‌های متنوعی است که در سلامت ماهی نقش مهمی دارند. مشخص شده است که در شرایط بیماری، مقدار گلبولین‌ها افزایش می‌یابد که نشان‌دهنده نقش آن‌ها در ایمنی می‌باشد. بنابراین افزایش غلظت گلبولین‌ها در این پژوهش می‌تواند نشانه افزایش آمادگی ماهی برای بیماری‌های

منابع

1. Statistical yearbook of Iranian fisheries, (2019). Statistical Yearbook of Iranian Fisheries 2014-2019. P. 64.
2. Huang, Z., Ye, Y., Xu, A., Li, Z., & Wang, Z. (2022). Dietary supplementation with an acidifier blend (citric, lactic, and phosphoric acids) influences growth, digestive enzymes, and blood chemistry of juvenile Japanese sea-bass (*Lateolabrax japonicus*). *Aquaculture international*, 30, 19-32.
3. Hellweg, P., Tats, D., Manner, K., Vahjen, W., & Zentek, J. (2006). Impact of potassium diformate on the gut flora of weaned piglets, *Proceedings of the society of nutrition physiology*, 18, 15-63.
4. Hoseini, S. M. (2018). Nutrient, additives and fish health. *IFSR publication*. P. 528.
5. Baruah, K., Pal, A. K., Sahu, N. P., Jain, K. K., Mukherjee, S. C., & Debnath, D. (2005). Dietary protein level, microbial phytase, citric acid and their interactions on bone mineralization of *Labeo rohita* (Hamilton) juveniles. *Aquaculture research*, 36, 803-812.
6. Khajepour, F., & Hosseini, S. A. (2012). Calcium and phosphorus status in juvenile Beluga (*Huso huso*) fed citric acid-supplemented diets. *Aquaculture research*, 43, 407-411.
7. Sarker, M. S. A., Satoh, S., Kamata, K., Haga, Y., & Yamamoto, Y. (2012). Partial replacement of fish meal with plant protein sources using organic acids to practical diets for juvenile yellowtail, *Seriola quinqueradiata*. *Aquaculture nutrition*, 18, 81-89.
8. Vielma, J., & Lall, S. P. (1997). Dietary formic acid enhances apparent digestibility of minerals in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture nutrition*, 3, 265-268.
9. Sugiura, S. H., Dong, F. M., & Hardy, R. W. (1998). Effects of dietary supplements on the availability of minerals in fish meal; preliminary observations. *Aquaculture*, 160, 283-303.
10. Kumar, P., Jain, K. K., Sardar, P., Sahu, N. P., & Gupta, S. (2017). Dietary supplementation of acidifier: effect on growth performance and haemato-biochemical parameters in the diet of *Cirrhinus mrigala* juvenile. *Aquaculture international*, 25, 2101-2116.
11. El-Adawy, M., El-Aziz, M. A., El-Shazly, K., Ali, N. G., & El-Magd, M. A. (2018). Dietary propionic acid enhances antibacterial and immunomodulatory effects of oxytetracycline on Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Environmental*

- science and pollution research*, 25, 34200-34211.
12. Jedi Mostafaloo, A., Hedayatifard, M., Keshavarz, M., & Mohammadian, T. (2021). Effects of different levels of sodium diformate and formic acid salt on growth performance, digestive enzymes, and innate immunological parameters of Beluga (*Huso huso*) juveniles. *Iranian journal of fisheries sciences*, 20, 879-900.
 13. Detman, A., Mielecki, D., Chojnacka, A., Salamon, A., Błaszczuk, M. K., & Sikora, A. (2019). Cell factories converting lactate and acetate to butyrate: *Clostridium butyricum* and microbial communities from dark fermentation bioreactors. *Microbial cell factories*, 18, 1-12.
 14. Matani Bour, H. A., Esmaili, M., & Abedian Kenari, A. (2018). Growth performance, muscle and liver composition, blood traits, digestibility and gut bacteria of beluga (*Huso huso*) juvenile fed different levels of soybean meal and lactic acid. *Aquaculture nutrition*, 24, 1361-1368.
 15. Safari, O., Paolucci, M., & Ahmadniaye Motlagh, H. (2021). Effect of dietary encapsulated organic salts (Na-acetate, Na-butyrate, Na-lactate and Na-propionate) on growth performance, haemolymph, antioxidant and digestive enzyme activities and gut microbiota of juvenile narrow clawed crayfish, *Astacus leptodactylus leptodactylus* Eschscholtz, 1823. *Aquaculture nutrition*, 27, 91-104.
 16. Hossain, M. A., Pandey, A., & Satoh, S. (2007). Effects of organic acids on growth and phosphorus utilization in red sea bream *Pagrus major*. *Fisheries science*, 73, 1309-1317.
 17. Karimi, M., Kolangimiandare, H., Hosseinifar, S. H., & Shabany, A. (2019). The effects of different levels of raffinose on growth index and antioxidant defense in common carp fingerling (*Cyprinus carpio*). *Journal of utilization and cultivation of aquatics*, 1, 31-39.
 18. Francis, G., Makkar, H. P., & Becker, K. (2001). Antinutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. *Aquaculture*, 199, 197-227.
 19. Hoseini, S. M., Rajabiesterabadi, H., Abbasi, M., Khosraviani, K., Hoseinifar, S. H., & Van Doan, H. (2022). Modulation of humoral immunological and antioxidant responses and gut bacterial community and gene expression in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, by dietary lactic acid supplementation. *Fish & shellfish immunology*, 125, 26-34.
 20. Hoseinifar, S. H., Sun, Y. Z., & Caipang, C. M. (2017). Short-chain fatty acids as feed supplements for sustainable aquaculture: An updated view. *Aquaculture research*, 48, 1380-1391.
 21. Ringø, E., Hoseinifar, S. H., Ghosh, K., Doan, H. V., Beck, B. R., & Song, S. K. (2018). Lactic acid bacteria in finfish- An update. *Frontiers in microbiology*, 1818.

Demographic characteristics of Black pomfret fish (*Parastromateus niger*, Bloch, 1795) in the northern waters of Oman Sea (Sistan and Baluchestan)

Ali Nadimi Ashkan Kamachaei¹, Ali Taheri^{*2}, Seyed Ahmad Reza Hashemi^{*3}

1. M.Sc. Student in Aquatics Production and Exploitation, Faculty of Marine Sciences, Chabahar Maritime University, Chabahar, Iran. E-mail: nadimi@cmu.ac.ir
2. Corresponding Author, Associate Prof. in Fishery Products Processing, Faculty of Marine Sciences, Chabahar Maritime University, Chabahar, Iran. E-mail: taherientator@gmail.com
3. Corresponding Author, Offshore Fisheries Research Center, Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Chabahar, Iran. E-mail: seyedahmad91@gmail.com

Article Info

Article type:
Full Length Research Paper

Article history:
Received: 07.19.2022
Revised: 08.03.2022
Accepted: 09.05.2022

Keywords:
Exploitation coefficient,
Growth coefficient,
Oman Sea,
Parastromateus niger

ABSTRACT

The Persian Gulf and the Oman Sea contain a variety of aquatic species. Among which, *Parastromateus niger* (Bloch, 1795), Black pomfret fishes are very important and, one of the tuna fish that has increased its catch in recent years. In this research during April to March 2020, trend catch and demographic characteristics and demographic characteristics of Black pomfret were estimated by collecting information from 4 catchment areas in the southern waters of Oman Sea (Sistan and Baluchestan) including Pozem, Konark, Beries and Pasabandar. In this study, more than 14,000 fish at the research stations were biometric and the growth parameters were infinite length of $L_{\infty}=54$ cm, growth factor $K=0.36$ (yr^{-1}), natural mortality $M=0.52$ (yr^{-1}), mortality and mortality (yr^{-1}), $F=1.27$, total mortality (yr^{-1}), $Z=1.79$ and exploitation coefficient (yr^{-1}), $E=0.71$, and the time zero was -0.39 for the years. This study shows that the annual harvest of Black pomfret stock has reached its maximum and any increase in fishing effort will affect this stock and will reduce the amount of exploitation in the long run.

Cite this article: Nadimi Ashkan Kamachaei, Ali, Taheri, Ali, Hashemi, Seyed Ahmad Reza. 2023. Demographic characteristics of Black pomfret fish (*Parastromateus niger*, Bloch, 1795) in the northern waters of Oman Sea (Sistan and Baluchestan). *Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics*, 12 (2), 77-88.



© The Author(s).

DOI: 10.22069/japu.2023.20433.1687

Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

خصوصیات جمعیتی ماهی حلوا سیاه (*Parastromateus niger* (Bloch, 1795) در آب‌های شمالی دریای عمان (استان سیستان و بلوچستان)

علی ندیمی اشکان کماچایی^۱، علی طاهری^{۲*}، سیداحمدرضا هاشمی^{۳*}

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد تولید و بهره‌برداری آبزیان، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، ایران. رایانامه: nadimi@cmu.ac.ir
۲. نویسنده مسئول، دانشیار فرآوری محصولات شیلاتی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، ایران. رایانامه: taherienator@gmail.com
۳. نویسنده مسئول، مرکز تحقیقات شیلاتی آب‌های دور، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، چابهار، ایران. رایانامه: seyedahmad91@gmail.com

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: مقاله کامل علمی- پژوهشی	خلیج فارس و دریای عمان در برگرفته گونه‌های مختلفی از آبزیان می‌باشد، که در این میان حلوا سیاه دارای اهمیت بسیار زیادی بوده و از جمله ماهیانی است که در سال‌های گذشته میزان صید آن افزایش نشان می‌دهد. در این پژوهش روند صید و خصوصیات جمعیتی ماهی حلوا سیاه با جمع‌آوری اطلاعات از ۴ منطقه تخلیه صید در سواحل استان سیستان و بلوچستان (دریای عمان) شامل پزم، کنارک، بریس و پسابندر طی فروردین تا اسفند ۱۳۹۹ تخمین زده شد. در مجموع بیش از چهارده هزار ماهی در ایستگاه‌های پژوهش، مورد بیومتری قرار گرفت. شاخص‌های رشد شامل طول بی‌نهایت $L_{\infty}=54$ cm، ضریب رشد $K=0.36$ (yr^{-1})، مرگ و میر طبیعی $M=0.52$ (yr^{-1})، مرگ و میر صیادی $F=1.27$ (yr^{-1})، مرگ و میر کل $Z=1.79$ (yr^{-1}) و ضریب بهره‌برداری $E=0.71$ (yr^{-1}) و زمان طول صفر $t_0=-0.39$ محاسبه شد. نتایج بررسی نشان داد که میزان برداشت سالانه از ذخیره ماهی حلوا سیاه به حداکثر خود رسیده و هر گونه افزایش صید و تلاش صیادی ذخیره این گونه را تحت تأثیر قرار داده و میزان بهره‌برداری از آن را در درازمدت با مشکل مواجه خواهد کرد.
واژه‌های کلیدی: دریای عمان، ضریب بهره‌برداری، ضریب رشد، ماهی حلوا سیاه	

استناد: ندیمی اشکان کماچایی، علی، طاهری، علی، هاشمی، سیداحمدرضا (۱۴۰۲). خصوصیات جمعیتی ماهی حلوا سیاه *Parastromateus niger* (Bloch, 1795) در آب‌های شمالی دریای عمان (استان سیستان و بلوچستان). نشریه بهره‌برداری

و پرورش آبزیان، ۱۲ (۲)، ۷۷-۸۸.

DOI: 10.22069/japu.2023.20433.1687



© نویسندگان.

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

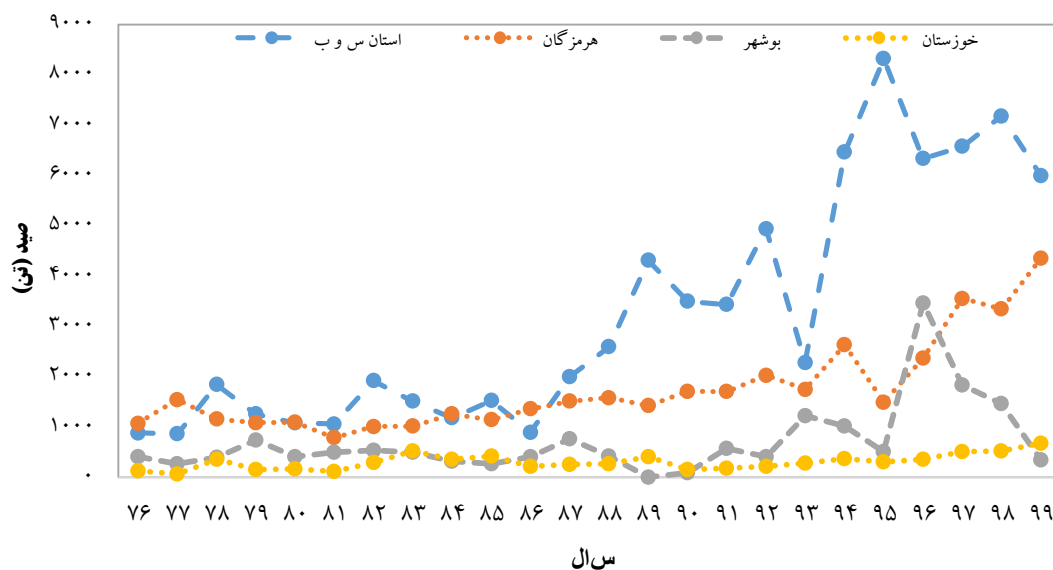
مقدمه

حفظ ذخایر یک اصل مورد تاکید جهانی و یک معیار کلیدی در پایداری بهره‌برداری از تمام منابع آبی است. تلاش تمام مدیران شیلاتی دسترسی به تامین غذای کافی و مطمئن از منابع طبیعی و تامین نیاز جوامع بشری با در نظر گرفتن بهره‌برداری صحیح از آن متمرکز شده است (۱). میزان صید جهانی در سال ۲۰۱۸ حدود ۹۶ میلیون تن بوده که ۸۷ درصد آن در آب‌های دریایی (۸۴ میلیون تن) و ۱۳ درصد در آب‌های داخلی (۱۲ میلیون تن) قرار داشته است (۲). بیش از ۷۴ درصد منابع ماهی‌گیری اصلی جهان یا در بالاترین سطوح قابل برداشت خود می‌باشد و یا در حال کاهش بوده و حدود ۲۵ درصد بقیه هنوز در حال توسعه هستند. بر اساس مطالعات انجام شده، ۵۷ درصد منابع ماهی‌گیری شدیداً تحت بهره‌برداری، ۱۷ درصد در معرض صید بی‌رویه، حدود ۲ درصد دچار فروپاشی شده و ۶ درصد نیز در حال بازسازی هستند (۳).

ماهی حلوا سیاه از خانواده گیش ماهیان (Carangidae) با نام علمی *Parastromateus niger*

می‌باشد. این ماهی که در اقیانوس هند و دریای عمان و خلیج فارس به خوبی یافت می‌شود در ناحیه فلات قاره تا عمق ۱۰۵ متر گزارش شده است. این گونه ژئوپلانکتون‌خوار است و شب به سطح آب آمده و در روز در بستر به سر می‌برد. ماهی حلوا سیاه دریازی است اما مهاجرت به نواحی مصبی نیز گزارش شده است (۴). این گونه دارای صید جهانی حدود ۷۵ هزار تن بوده و بیش‌ترین صید آن یعنی ۴۵ درصد صید جهانی در کشور اندونزی گزارش شده است (۲).

میزان صید این گونه در آب‌های جنوبی کشور از حدود ۲۵۰۰ تن در سال ۱۳۷۶، به میزان نزدیک به ۱۲۵۰۰ تن در سال ۱۳۹۹ رسیده است (شکل ۱) و استان سیستان و بلوچستان دارای بیش‌ترین روند افزایشی ماهی حلوا سیاه در آب‌های جنوبی کشور بوده و میزان صید آن حدود ۹۰۰ تن (۳۵ درصد از کل صید این گونه) در سال ۱۳۷۶، به میزان نزدیک به ۶۰۰۰ تن (۵۳ درصد از کل صید) در سال ۱۳۹۹ رسیده است (۵).



شکل ۱- روند صید ماهی حلوا سیاه در آب‌های جنوب کشور طی سال‌های ۱۳۷۶-۱۳۹۹ (شیلات ایران).

(CMSY)، نرم‌افزار R، رویکرد وضعیت بیزی (حل) مسأله براساس اطلاعات اولیه) و شبیه‌سازی روش مونت کارلو پرداختند. بنابراین هدف این پژوهش بررسی وضعیت صید ماهی حلوا سیاه و خصوصیات جمعیتی ماهی حلوا سیاه در آب‌های شمالی دریای عمان در زمان مورد مطالعه می‌باشد. هم‌چنین میانگین صید ماهی حلوا سیاه در آب‌های جنوب کشور (Yi) برای این دوره مورد مطالعه ۵۵۷۰ تن با ۹۵ درصد فاصله اطمینان ۶۹۹۴-۴۱۴۵ تن گزارش نمودند. در گزارش آن‌ها آمده است با در نظر گرفتن میزان صید بی‌رویه (وزن) کل صید ماهی حلوا سیاه در آب‌های جنوب کشور، وضعیت صید این گونه از حالت کم (رنگ سبز) میزان صید بی‌رویه در سال ۱۳۸۷ به حالت متوسط (رنگ زرد) در سال ۱۳۹۷ تغییر حالت داده است و در استان بوشهر در وضعیت قرمز قرار دارد. به‌نظر می‌رسد به‌منظور رعایت صید پایدار، باید میزان تلاش صیادی و میزان صید این گونه در آب‌های جنوب کشور به ویژه استان‌های خوزستان و بوشهر کاهش یابد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه از اول فروردین الی ۲۹ اسفند ۱۳۹۹ در استان سیستان و بلوچستان انجام شد. چهار منطقه تخلیه صید در بندر پزم با طول جغرافیایی $28^{\circ} 60'$ و عرض جغرافیایی $14^{\circ} 25'$ ، بندر کنارک با طول جغرافیایی $60^{\circ} 26'$ و عرض جغرافیایی $25^{\circ} 60'$ ، بندر بریس با طول جغرافیایی $15^{\circ} 61'$ و عرض جغرافیایی $16^{\circ} 25'$ ، بندر پسابندر با طول جغرافیایی $20^{\circ} 61'$ و عرض جغرافیایی $12^{\circ} 25'$ به عنوان ایستگاه‌های نمونه‌برداری ماهی حلوا سیاه انتخاب گردید (شکل ۲).

مطالعات چندی روی ماهی حلوا سیاه انجام شده است. بررسی عادات غذایی (کویت)، بررسی تولید مثل و هم‌آوری (کویت)، بررسی ویژگی‌های رشدی و پویایی‌شناسی جمعیت (تایلند)، میزان رشد و بهره‌برداری (هند) و پارامترهای رشد و مرگ و میر (اندونزی) گزارش شده است (۶، ۷، ۸، ۹، ۱۰). Mazumdar و همکاران (۹) میزان رشد و سطح بهره‌برداری از این گونه در خلیج بنگال (هند) مطالعه نمودند. میزان طول بی‌نهایت، ضریب رشد این گونه را 0.72 سانتی‌متر به ازای سال و نیز مرگ و میر طبیعی، مرگ و میر صیادی، مرگ و میر کل و ضریب بهره‌برداری به‌صورت سالانه 1.39 ، 1.09 ، 2.48 و 0.43 تخمین زدند. Damora و همکاران (۱۰) پارامترهای رشد و مرگ و میر ماهی این گونه را در آب‌های اندونزی مورد ارزیابی قرار دادند. 42 سانتی‌متر و 0.26 سالانه میزان میزان طول بی‌نهایت، ضریب رشد و 0.29 ، 0.64 ، 0.93 و 0.68 مرگ و میر طبیعی، مرگ و میر کل، مرگ و میر صیادی و ضریب بهره‌برداری به‌صورت سالانه بیان شد. صید بی‌رویه ماهی حلوا سیاه در آب‌های اندونزی را گزارش نمودند.

در ایران نیز رشد ماهی حلوا سیاه با استفاده از اطلاعات فراوانی طولی در دریای عمان در سال ۱۳۸۰ مورد بررسی قرار گرفت (۱۱). هم‌چنین خصوصیات زیستی این ماهی در دوره زمانی بین ۱۳۸۲ تا ۱۳۹۳ در استان سیستان و بلوچستان بررسی گردید (۱۲). در سال ۱۳۹۲ میزان صید غیراستاندارد گونه حلوا سیاه در توره‌های ترال میگو در بوشهر بررسی شد (۱۳). آخرین پژوهش نیز مربوط به هاشمی و دوستدار (۱۴) است که به تعیین میزان صید بی‌رویه ماهی حلوا سیاه در آب‌های جنوب کشور (طی سال‌های ۹۷-۱۳۷۶) براساس مدل صید- محصول حداکثر پایدار



شکل ۲- موقعیت مناطق جمع‌آوری اطلاعات ماهی حلوا سیاه در آب‌های شمالی دریای عمان (استان سیستان و بلوچستان).

آر استدیو (RStudio) به‌دست آمد (۱۸). میزان بهینه t_0 از طریق فرمول تجربی پائولی ($\text{Log}(-t_0) = -0.3922 - 0.2752 \text{Log}L_{\infty} - 1.038 \text{Log}K$) محاسبه شد (۱۹). مقایسه شاخص رشد چون طول بی‌نهایت (L_{∞}) و ضریب رشد (K) از آزمون مونرو (Φ') و رابطه $\Phi' = \text{Log}(K) + 2 \text{Log}(L_{\infty})$ استفاده شد (لگاریتم در پایه ده) (۱۵). ضریب مرگ و میر طبیعی (M) با استفاده از فرمول تجربی محاسبه شد (۲۰، ۲۱):

$$-0.33^M = 4.118 * K^{0.73} * L_{\infty}$$

که در آن، L_{∞} طول بی‌نهایت گونه بر حسب سانتی‌متر، K پارامتر انحناء رشد وان برتالنفی است. مرگ و میر کل (Z) بر اساس اطلاعات گروه‌های طولی صید^۵ محاسبه شد و با تفاضل مرگ و میر کل از مرگ و میر طبیعی، میزان مرگ و میر صیادی به‌دست آمد. ضریب بهره‌برداری^۶ که نسبت مرگ و میر صیادی به مرگ و میر کل است، از رابطه $E = F/Z$ محاسبه گردید (۱۵). در تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از برنامه اکسل (Excel)، نرم‌افزار آر استریو (RStudio) و نرم‌افزار فایست (FiSAT II) کمک گرفته شد.

نمونه‌های ماهی از اسکله‌های صیادی در مناطق مذکور و نیز بازار ماهی‌فروشان شهرستان چابهار تهیه گردید. اندازه‌گیری طول چنگالی با تخته زیست‌سنجی (دقت ۱ میلی‌متر) و اندازه‌گیری وزن کل بدن با ترازوی با دقت ۰/۰۱ گرم انجام شد. داده‌ها بر اساس قاعده استورگس^۱ طبقه‌بندی شدند (واین، ۱۳۸۱). تعیین رابطه طول چنگالی و وزن از رابطه $(W = a \times L^b)$ استفاده شد و در این رابطه W وزن کل به گرم، L طول چنگالی کل به سانتی‌متر و a و b ثابت‌های رگرسیون هستند (۱۵). برای سنجش اختلاف معنی‌داری بین b محاسباتی و B مورد انتظار برای یک ماهی با رشد همسان از فرمول $t = b - B/S_b$ استفاده گردید (۱۶). برآورد L_{∞} نمودار پاول-ودرال^۲ می‌باشد و در مطالعه حاضر، L_{∞} از این روش محاسبه گردید (۱۷). معادله رگرسیون پاول-ودرال به صورت $L' - L = a + b L'$ - $L = -a / b$ می‌باشد (۱۷). ضریب L' میانگین گروه‌های طولی، L' کمینه هر گروه طولی، a و b عرض از مبدا و شیب معادله (۱۷). ضریب رشد با به‌کارگیری روش الفان^۳ (مدل بهینه‌سازی^۴) موجود در بسته تروپ فیش آر (TropFishR) نرم‌افزار

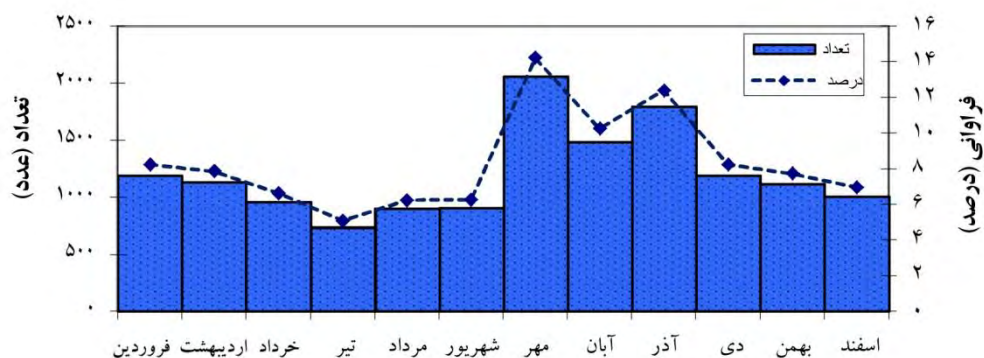
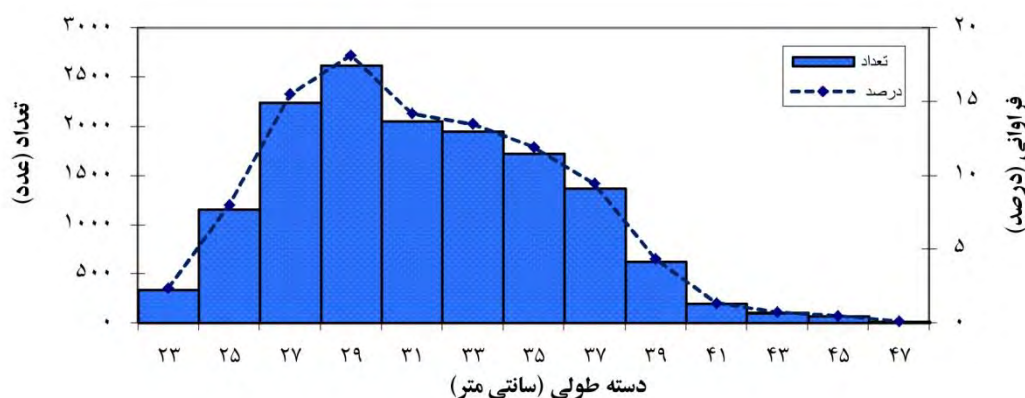
- 1- Sturgess
- 2- Powell-Wetherall plot
- 3- Electronic Length Frequency Analysis = ELEFAN
- 4- Method = "optimise"

- 5- Catch Curve Converted Length
- 6- Exploitation ratio

نتایج

بوده است. بیش‌ترین ماهی بیومتری شده در مهرماه سال ۱۳۹۹ (حدود ۱۴ درصد نمونه‌های بیومتری شده) و کم‌ترین آن در تیرماه سال ۱۳۹۹ (حدود ۵ درصد نمونه‌های بیومتری شده) بوده و بیش‌ترین گروه طولی ۲۹-۳۱ سانتی‌متر (حدود ۱۸ درصد نمونه‌های بیومتری شده) و کم‌ترین آن ۴۵-۴۷ (کم‌تر از یک درصد نمونه‌های بیومتری شده) مشاهده شد (شکل ۳).

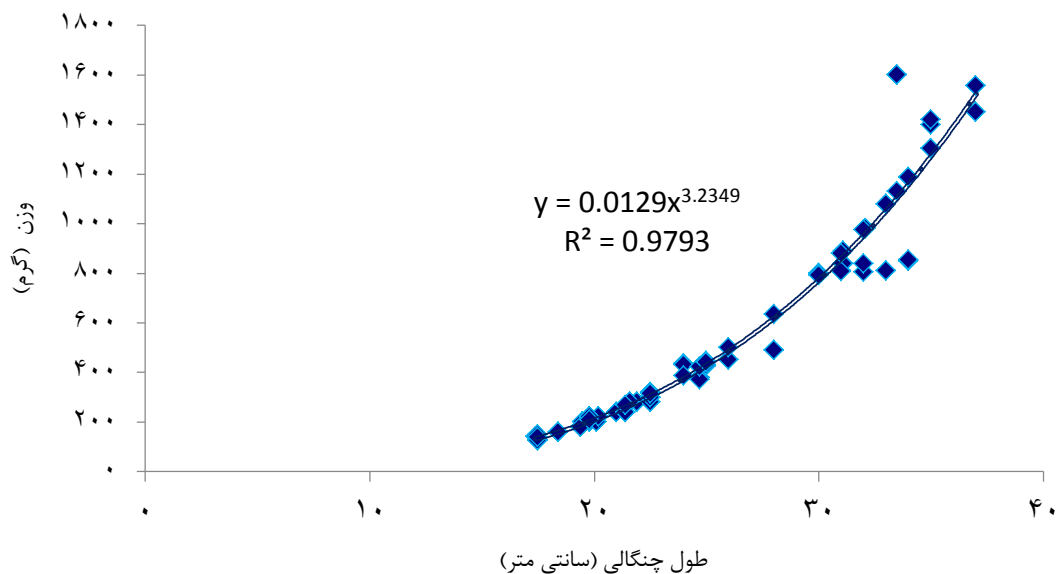
در طی یک سال نمونه‌برداری که به‌صورت ماهیانه انجام گرفته، در مجموع بیش از ۱۴ هزار ماهی مورد زیست‌سنجی قرار گرفت. در هر ماه با توجه به میزان و تعداد صید و تحلیه شده، تعدادی از ماهیان به‌طور تصادفی انتخاب و بیومتری شد. میانگین کل طول چنگالی ماهی حلوا سیاه در ۳۰/۳۱ سانتی‌متر، انحراف معیار کل $\pm 4/32$ مشاهده شد. بزرگ‌ترین ماهی صید شده، ۴۷ سانتی‌متر و کوچک‌ترین آن ۲۳ سانتی‌متر



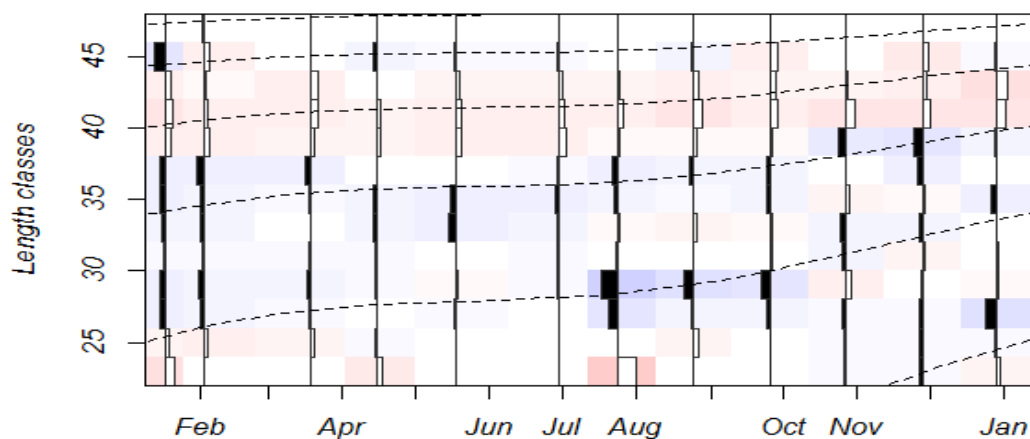
شکل ۳- هستیوگرام فراوانی طولی و فراوانی ماهی حلوا سیاه در آب‌های شمالی دریای عمان (استان سیستان و بلوچستان).

(شکل ۴) و با تعداد ۱۶۱ و ضریب تعیین $0/97$ حاصل شد (L طول چنگالی ماهی حلوا سیاه و W وزن بدن به گرم می‌باشد).

رابطه طول چنگالی و وزن بدن برای تعیین رابطه طول چنگالی و وزن بدن، ماهی حلوا سیاه در هر فصل در سال ۱۳۹۹ مورد زیست‌سنجی قرار گرفت. بین طول چنگالی و وزن بدن رابطه $W = 0.0129 L^{3.24}$



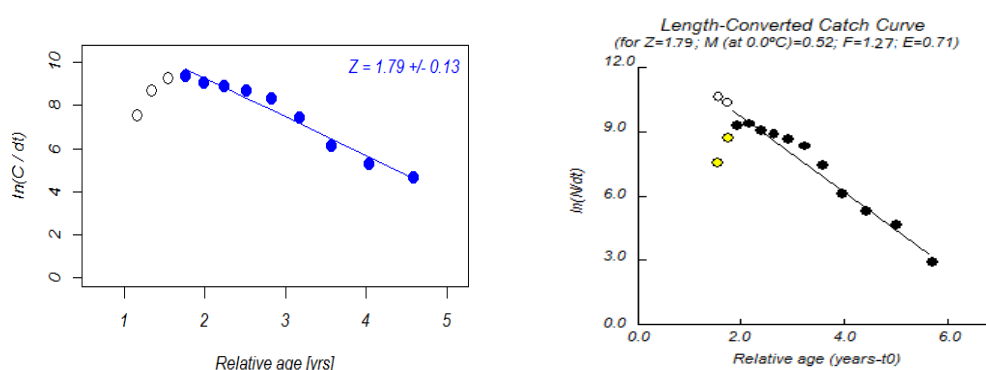
شکل ۴- رابطه طول و وزن ماهی حلوا سیاه در آب‌های شمالی دریای عمان (استان سیستان و بلوچستان).



شکل ۵- منحنی رشد ماهی حلوا سیاه در آب‌های شمالی دریای عمان (استان سیستان و بلوچستان).

میزان فایم پریم مونرو $3/03$ به دست آمد (شکل ۵). مقدار تئوریک t_0 به صورت بهینه محاسبه گردید ($-0/39$ به ازای سال). ضریب مرگ و میر کل با استفاده از منحنی صید با به کارگیری فراوانی طولی، $Z=1/79 \pm 0/13$ (سال ۱۳۹۹) محاسبه شد (شکل ۶).

پس از رسم منحنی صید کاذب و به دست آوردن معادله رگرسیونی خط فراوانی طولی بیومتری شده، L_{∞} محاسبه و میزان طول بی نهایت برابر ۵۴ سانتی متر محاسبه گردید و سپس مقدار K سالیانه برای این منحنی مشخص شد ($0/36$ به ازای سال). هم چنین و



شکل ۶- نمودار تبدیل فراوانی طولی به منحنی صید ماهی حلوا سیاه در آب‌های شمالی دریای عمان (استان سیستان و بلوچستان).

شده و ذخیره از ماهیان با طول بالا، کم‌تر می‌گردد و کاهش ماهیان با طول بالا، نشانه بیش از حد بودن فشار صیادی است (۱۵).

با توجه به رابطه طول-وزن و ضریب b ، طول می‌توان گفت: رشد ماهی حلوا سیاه به سمت آلومتریک مثبت می‌باشد، که در پژوهش محمدخانی (۲۷) میزان مقادیر $a=0/04$ ، $b=2/81$ و آژیر (۲۸) میزان مقادیر $a=0/05$ ، $b=2/81$ برای ماهی حلوا سیاه در استان سیستان و بلوچستان به‌دست آمده است و در مطالعه تائو و همکاران (۸) میزان $a=0/00004$ ، $b=2/98$ در کشور تایلند حاصل گردید. مقادیر a و b نه تنها در گونه‌های مختلف بلکه در گونه‌های یکسان نیز متفاوت است، دلایلی را که برای این اختلاف ذکر می‌نماید ناشی از نوسانات فصلی به همراه پارامترهای زیست‌محیطی، شرایط فیزیولوژیک ماهی، پیشرفت گنادها و شرایط تغذیه ماهی عنوان کرد (۲۳). از آن‌جا که رشد ماهیان به‌شدت وابسته به شرایط محیطی است (۲۲)، تفاوت اعداد به‌دست آمده می‌تواند تحت‌تأثیر تغییر شرایط اکولوژیک و محیطی در منطقه باشد.

مقایسه برخی از کارهای پویایی جمعیت انجام شده بروی ماهی حلوا سیاه در جدول ۱ نمایش داده شده است. هم‌چنین روند طول بی‌نهایت این گونه در دریای عمان طی دو دهه گذشته نشان‌دهنده آن است

میزان مرگ و میر طبیعی در سال $M = 0/52$ برآورد گردید و میزان مرگ و میر صیادی $F = 1/27$ محاسبه شد (شکل ۶). ضریب بهره‌برداری ($0/71$ به‌زای سال) جمعیت ماهی حلوا سیاه در سواحل استان سیستان و بلوچستان برای این گونه محاسبه گردید.

بحث و نتیجه‌گیری

با توجه به این نکته که ماهی حلوا سیاه مهاجر کرانه‌ای می‌باشد و نیز ضریب گزینش تور گوشگیر که ماهیان خاصی را صید و گزینش می‌نماید، در نتیجه ما شاهد یک محدوده مشخص از فراوانی طولی و در نتیجه وزنی را خواهیم بود (۱۵). تعداد ماهی حلوا سیاه بیومتری شده در ماه‌های مختلف دارای نوسان بوده و معمولاً کم‌ترین مقدار موجود در بازار را در ماه‌های مانسون (تابستان) به‌علت عدم دریاوری شناورها دارد. میانگین کل طول چنگالی ماهی حلوا سیاه حدود ۳۰ سانتی‌متر در ماه‌های مختلف سال ۱۳۹۹ به‌دست آمد، که علت آن نوع و ضریب گزینش تور صیادی و فراوانی حضور ماهی یا حجم نمونه باشد. به‌طور کلی می‌توان گفت: فراوانی طولی ماهی حلوا سیاه متناسب با شرایط غذایی و محیطی فرق می‌نماید (۲۲) و از جهت دیگر افزایش فشار صیادی باعث می‌گردد که ماهیان با طول بالاتر بیش‌تر صید

اگر ذخیره دارای بهره‌برداری بیش از حد باشد، در طولانی ذخیره می‌تواند خودش را ترمیم نماید. میزان ضریب رشد حلوا سیاه به نسبه کم بوده (۰/۲ - ۰/۷) و نشان‌دهنده این است که استراتژی زندگی‌شان متمایل با انتخاب k با طول عمر متوسط می‌باشد و احتیاج به مدیریت شیلاتی بیش‌تری دارند (۲۶). اختلاف در شرایط اکولوژیکی و تغییر عرض جغرافیایی، می‌تواند بر میزان L_{∞} و K تأثیر داشته و این تغییرات میزان متفاوتی از Φ را شامل می‌گردد و حتی در یک منطقه در دوره‌های زمانی مختلف می‌توانند میزان متفاوتی به علت تغییر شرایط محیطی می‌توانند داشته باشد (۱۵).

که این گونه با کاهش طول بی‌نهایت مواجه بوده است که این تغییرات می‌تواند دلایل متعددی داشته باشد و از جمله دلایل آن افزایش صید و فشار صیادی (۲۴) طی دوره یاد شده باشد. براساس منحنی رشد، صید از این ذخیره از ۶ گروه سنی جدا از هم (کوهورت) می‌باشد (۲۵). همان‌طور که از منحنی رشد رسم شده از روی مناسب‌ترین نقاط هستیوگرام مشخص شده است، سرعت رشد ماهی حلوا سیاه در سنین بالا کند شده و فاصله منحنی از یکدیگر کم‌تر شده است. میزان سن طول صفر در سال ۱۳۹۹، $t_0 = -0.39$ محاسبه شد. میزان سن طول صفر، با افزایش ضریب رشد و کاهش طول بی‌نهایت افزایش می‌یابد (۱۵).

جدول ۱- مقایسه برخی از مطالعات پویایی جمعیت انجام شده روی ماهی حلوا سیاه.

محقق	منطقه	طول بی‌نهایت (cm)	ضریب رشد ($gear^{-1}$)	زمان طول صفر	شاخص مورنو	مرگ و میر طبیعی	مرگ و میر صیادی	مرگ و میر کل	ضریب بهره‌برداری
محمدخانی و همکاران (۲۷)	سیستان و بلوچستان	۵۸	۰/۵۱	-	-	-	-	-	-
تقوی مطلق و همکاران (۱۱)	سیستان و بلوچستان	۵۷	۰/۳	۰/۰۰۳	-	-	-	-	-
آزیر (۲۸)	سیستان و بلوچستان	۶۹	۰/۲۶	-۰/۱۷	۳/۰۹	۰/۵۷	۰/۹۳	۱/۷۲	۰/۵۴
دادزیه و همکاران (۶)	کویت	۶۵	۰/۳۴	-	-	۰/۶۸	۰/۵۲	۱/۲	۰/۴۳
تائو و همکاران (۸)	تایلند	۳۴	۰/۳۱	۱/۷	-	۰/۷۴	۱/۰۹	۱/۸۳	۰/۶
مازومدار و همکاران (۹)	هند	۶۳	۰/۷۲	-	-	۱/۳۹	۱/۰۹	۲/۴۸	۰/۴۳
دامورا و همکاران (۱۰)	اندونزی	۴۲	۰/۲۶	-	-	۰/۲۹	۰/۶۴	۰/۹۳	۰/۶۸
مطالعه حاضر	سیستان و بلوچستان	۵۴	۰/۳۶	-۰/۳۹	۳/۰۳	۰/۵۲	۱/۲۷	۱/۷۹	۰/۷۱

صیادی و کاهش مجوز صید است، یعنی کاهش ورودی به مجموعه صیادی است، تا خروجی آن، کنترل شود (۳۰).

نتایج بررسی نشان داد که میزان برداشت سالانه از ذخیره ماهی حلوا سیاه به حداکثر خود رسیده و هر گونه افزایش صید و تلاش صیادی ذخیره این گونه را تحت تأثیر قرار می‌دهد و میزان بهره‌برداری از آن را در طولانی‌مدت با مشکل جدی مواجه خواهد کرد.

سپاسگزاری

نویسندگان از دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار به جهت حمایت مادی و معنوی از پژوهش حاضر و مرکز تحقیقات شیلاتی آب های دور چابهار به جهت همکاری در فراهم نمودن داده‌های پژوهش تشکر می‌نمایند.

طول بلوغ ماهی حلوا سیاه در مطالعات انجام گرفته در این منطقه ۳۹ سانتی‌متر (۱۲) گزارش شده است (بیش از ۹۰ درصد زیر طول بلوغ هستند). می‌توان به این نتیجه رسید که میزان بالایی از صید ماهی حلوا سیاه قبل از رسیدن به سن بلوغ می‌باشد و نشان‌دهنده صید بی‌رویه بازگشت شیلاتی^۱ می‌باشد (۲۵، ۲۹) وجود تخلیه ماهیان با طول زیر حد مجاز دلالت بر صید بی‌رویه رشدی^۲ دارد، یعنی ماهیان با طول بالا کم شده و برای سود بیش‌تر و صید بیش‌تر، صیادان از تور با چشمه کوچک‌تر استفاده کرده و ماهیان کوچک‌تر نسب به قبل را صید می‌نمایند (۲۵) و باید توجه شود که سن بلوغ تحت تأثیر حرارت برای هر منطقه و عرض جغرافیایی متفاوت می‌باشد (۲۴).

پس از محاسبه ضرایب مرگ و میر صیادی و کل، ضریب بهره‌برداری^۳ ۰/۷۱ در سال ۱۳۹۹ نتیجه گردید. با تور به چشمه تور گوشگیر، باید این نکته مدنظر باشد، که ضریب انتخاب این تور شامل ماهیان خیلی بزرگ و خیلی کوچک نمی‌گردد و دامنه انتخاب معین و مشخص داشته و می‌توان گفت تا اندازه‌ای انتخابی صید می‌نماید (۱۵).

میزان ضریب بهره‌برداری در جمعیت نباید بیش از ۰/۵ و یا مرگ و میر صیادی بیش از مرگ و میر طبیعی باشد، زیرا نشان‌دهنده صید بی‌رویه است (۱۵، ۲۴)، از عوامل مؤثر بر تحت فشار بودن ذخیره می‌توان به ۱- میزان صید و برداشت از ذخیره و ۲- عوامل محیطی که بر بقاء و بازماندگی و دسترسی به ذخیره مؤثر است (۲۵) و بهترین راه برای کاهش میزان بهره‌برداری و نرخ بهره‌برداری، کاهش میزان فعالیت

- 1- Recuriment Overfishing
- 2- Growth Overfishing
- 3- Ratio Exploitation

منابع

1. Ganga, U., & Pillai, N. (2000). Field identification of Scombroids from Indian sea. In: Pillai, N.G.K., Menon, N.G., Pillai, P.P. and Ganga, U. (Eds.) Management Scombroids Fisheries, Central Marine Fishery Research Institute, Kochin. Pp: 1-13.
2. FAO. (2018). The State of World Fisheries and Aquaculture 2018. Meeting the sustainable development goals. Rome. Licenses: CC BY-NC-SA 3.0 IGO. 227p.
3. Pauly, D., & Zeller, D. (Editors). (2015). Sea around Us Concepts, Design and Data. [www.seararoundus.org]
4. Froese, R., & Pauly, D. (eds.) (2020). FishBase. World Wide Web electronic publication. www.fishbase.org, version. accessed at www.fishbase.org in November/ December 2020.
5. Iranian Fisheries Organization. (2021). Statistical Yearbook of Fisheries Organization of Iran. 65p.
6. Dadzie, S. (2007). Food and feeding habits of the black pomfret, *Parastromateus niger* (Carangidae) in the Kuwaiti waters of the Arabian Gulf. *Cybiurn*, 31 (1), 77-84.
7. Dadzie, S., & Abou-Seedo, F. (2008). Reproductive guilds (maturation, spawning frequency and fecundity) in the black pomfret, *Parastromateus niger* (Carangidae) in the Kuwaiti waters of the Arabian Gulf. *Journal of Applied Ichthyology*, 24, 562-568.
8. Tao, Y. U., Mingru, Ch., Jianguo, D., Zhenbin, L., & Shengyun, Y. (2012). Age and growth changes and population dynamics of the black pomfret (*Parastromateus niger*) and the frigate tuna (*Auxis thazard*), in the Taiwan Strait Latin American. *Journal of Aquatic Research*, 40 (3), 649-656.
9. Mazumdar, B., Nagesh, T. S., & Talwar, N. A. (2012). Growth and Exploitation Level of Black Pomfret, *Parastromateus niger* (Bloch, 1795) off West Bengal Coast. *Fishery Technology*, 49, 99-102.
10. Damora, A., Ariyogagautama, D., Wahju, R., Susanto, H., & Wang, J. (2018). Growth and mortality rate of Black Pomfret *Parastromateus niger* (Bloch, 1795) and Silver Pomfret *Pampus argenteus* (Euphrasen, 1788) in Paloh Waters, West Kalimantan, Indonesia. *Biodiversitas*, 19 (6), 2247-2251.
11. Taghavi Motlagh, S. A., Nouri Dafrazi, R., Bagheri, Z., Ashja Ardalan, A., & Vosoughi A. (2005). Estimation Growth Parameters of *Parastromateus niger* in the Coastal Waters of Sistan and Baluchestan, Oman Sea. *Iranian Scientific Fisheries Journal*, 13 (4), 29-40.
12. Azhir, M. T., Valinasab, T., & Jamalzadeh, H. (2012). Investigation on some of Biological aspects of Black Pomfret, *Parastromateus niger* in Oman Sea along Sistan-Baluchistan Province for Optimizing Fishing Season. *Journal of Marine Biology*, 4 (14), 57-66.
13. Khodadoost, A., Peyghambari, Y., & Deliri, M. (2013). The effect of shrimp trawl nets on storage of black pomfret and white pomfret fish in the waters of Bushehr province. Second national Conference of Fisheries Sciences and Aquatics.
14. Hashemi, S. A., & Doustdar, M. (2020). Investigation of Black Pomfret *Parastromateus niger* (Bloch, 1795) Catch Status in the Southern Waters of Iran (Persian Gulf and Oman Sea). *Iranian Scientific Fisheries Journal*, 29 (5), 123-131.
15. Sparre, P., & Venema, S. C. (1998). Introduction to tropical fish stock assessment, Part I: Manual. FAO Fisheries Technical Paper, 306, 1.
16. Zar, J. H. (1996). Biostatistical analysis. 3rd edition. Prentice-Hall Inc., New Jersey, USA. 662p.
17. Gayanilo, F. C., Pauly, D., & Parre, P. (2003). The FAO-ICLARM Stock Assessment Tool (FISAT) users guide. Rome, Italy.
18. Mildenerger, T. K., Taylor, M. H., & Wolff, M. (2017). TropFishR: An R package for fisheries analysis with length-frequency data. *Methods in Ecology and Evolution*, 8, 1520-1527.
19. Froese, R., & Binohlan, C. (2000). Empirical relationships to estimate asymptotic length, length at first maturity and length at maximum

- yield per recruit in fishes, with a simple method to evaluate length frequency data. *Journal of Fish Biology*, 56, 758-773.
20. Hoenig, J. M. (1983). Empirical use of longevity data to estimate mortality rates. *Fish. Bull.* 82, 898-902.
 21. Then, A., Hoenig, J., Hall, N., Hewitt, D., Editor, H., & Jardim, E. (2015). Evaluating the predictive performance of empirical estimators of natural mortality rate using information on over 200 fish species, *ICES Journal of Marine Science*, 72 (1), 82-92.
 22. Nasser, A., Pillai, P., & Kunhikoya, V. (2002). Status of exploitation tunas at Agatii Island Lashadweep, Ln. Pillai, N.G.K., Menon, N.G., Pillai, P.P. and Ganga, U. (Eds.) Management Scombroids Fisheries, Central Marine Fishery Research Institute, Kochin. Pp: 69-73.
 23. Biswas, S. P. (1993). Manual of methods in fish biology. Asian Publishers. Pvt. Ltd. 157p.
 24. King, M. G. (2007). Fisheries biology assessment and management. Second edition published by Blackwell Publishing Ltd., ISBN. 978-1-4051-5831-2, Pp: 189-194.
 25. Mateus, A., & Estupina, B. (2002). Fish stock assessment of Piraputanga (*Brycon microlepis*) in the Cuiaba Basin. *Brazilian Journal of Biology*, Pp: 165-170.
 26. Pillai, A. S., Joshi, A., & Rao, K. S. (2002). Performance measurement of R&D projects in a multiproject, concurrent engineering environment. *International Journal of Project Management*, 20, 165-177.
 27. Mohammadkhani, H., & Khoushbavar Rostami, H. A. (2010). Stock Assessment of Black Pomfret (*Parastromateus niger*) in the Sea of Oman (Coastal Waters of Sistan and Baluchistan Province). *Journal of Fisheries*, 3 (4), 79-88.
 28. Azhir, M. (2005). Study of some biological characteristics of Tigertooth croaker fish, Silver Grunt and Black Pomfret in the waters of Sistan and Baluchestan province. *Iranian Fisheries Research Organization*. 140p.
 29. Zhou, S., Punt, A. E., Smith, A. D. M., Ye, Y., Haddon, M., Dichmont, C. M., & Smith, D. C. (2017). An optimized catch-only assessment method for data poor fisheries. – *ICES Journal of Marine Science*.
 30. Jennings, S., Kasier, M., & Reynold, J. (2000). Marine Fisheries Ecology. *Blackwell Science*. 391p.

Study of the ecology of spiny lobster *Panulirus homarus* (Linnaeus, 1758) habitats on the coasts of Sistan and Baluchestan province in order to establish artificial reef structures to stock enhancement resource

Mohammad Reza Mirzaei^{*1}, Ashkan Ajdari²

1. Corresponding Author, Research Assistant Prof., Offshore Fisheries Research Center, Iranian Fisheries Science Research Institute (IFSRI), Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Chabahar, Iran. E-mail: mirzaei.mr@gmail.com
2. Ph.D. in Aquatic Animal Health, Offshore Fisheries Research Center, Iranian Fisheries Science Research Institute (IFSRI), Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Chabahar, Iran. E-mail: a_arzhan@yahoo.com

Article Info

Article type:

Full Length Research Paper

Article history:

Received: 08.07.2022

Revised: 08.23.2022

Accepted: 09.22.2022

Keywords:

Artificial reef,
Gulf of Oman,
Lobster,
Macrobenthos,
Physical and chemical
parameters

ABSTRACT

Spiny lobster is one of the most valuable crustaceans in the Gulf of Oman. Overfishing in recent decades has reduced the stocks of this aquatic resource. Therefore, accurate knowledge and study of ecological parameters of lobster habitats are very important because the seabed structure and ecological parameters in these habitats are widely associated with the presence, absence and distribution of lobsters. The current study was conducted to investigate the relationship between the classification of sediments, the abundance of macrobenthos and environmental factors on a seasonal basis along seven transects and 28 stations. It was carried out in the rocky areas of the coast of Ramin in the east of Chabahar port. The mean values of temperature, salinity, turbidity, acidity and chlorophyll a in the study area were 26.38 °C, 36.65 PSU, 2.59 FTU, 8.1, 86 µg / L, 0.86, respectively. Almost similar environmental parameters were observed between similar points between the depth of 5 and 15 meters. The macrobenthos results in the studied stations showed that foraminifera and Polychaeta are the most prevalent macrobenthos groups and in the deepest stations in transect T3. Percentages of sand, silt and clay for the sediment samples were 93%, 5% and 2%, respectively. The sedimentary texture of the bed plays an important role in the movement of the lobster in the habitat, and the rocky and sandy bed is a suitable habitat for the lobster. According to the results of this study, the highest percentage of sediment sand was observed in the eastern part of Ramin port. There were similar environmental parameters for equal depths of water. Furthermore, Macrobenthos were most abundant in the eastern region of Ramin port in spring and autumn and agreed with pre-Manson and post-Manson conditions. Therefore, the stations in the eastern part of Ramin port are suitable places for the establishment of artificial reefs.

Cite this article: Mirzaei, Mohammad Reza, Ajdari, Ashkan. 2023. Study of the ecology of spiny lobster *Panulirus homarus* (Linnaeus, 1758) habitats on the coasts of Sistan and Baluchestan province in order to establish artificial reef structures to stock enhancement resource. *Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics*, 12 (2), 89-102.



© The Author(s).

DOI: 10.22069/japu.2023.20492.1695

Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

مطالعه اکولوژی زیستگاه‌های شاه میگو صخره‌ای (*Panulirus homarus* (Linnaeus, 1758) در سواحل استان سیستان و بلوچستان به منظور استقرار سازه‌های زیستگاه مصنوعی جهت احیاء ذخایر

محمد رضا میرزائی^{۱*}، اشکان اژدری^۲

۱. نویسنده مسئول، استادیار پژوهشی، مرکز تحقیقات شیلاتی آب‌های دور، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، چابهار، ایران. رایانامه: mirzaei.mr@gmail.com
۲. دکتری بهداشت و بیماری‌های آبزیان، مرکز تحقیقات شیلاتی آب‌های دور، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، چابهار، ایران. رایانامه: a_arzhan@yahoo.com

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: مقاله کامل علمی- پژوهشی	لابستر خاردار صخره‌ای یکی از انواع سخت‌پوستان با ارزش اقتصادی دریای عمان می‌باشد و به دلیل صید بیش از حد در طی ده‌های اخیر ذخایر این آبزی کاهش یافته است. لزوم شناخت و مطالعه دقیق ویژگی‌های اکولوژیک زیستگاه‌های شاه میگو به علت ارتباط آن با حضور یا عدم حضور لابستر و نیز با نحوه پراکنش آن ضروری به نظر می‌رسد. در این مطالعه رابطه دانه‌بندی رسوبات بستر و بررسی فراوانی ماکروبتوزها و فاکتورهای زیست‌محیطی به صورت فصلی در ۷ ترانسکت و ۲۸ ایستگاه در مناطق صخره‌ای سواحل رمین در شرق چابهار به منظور تعیین محل‌های مناسب جهت استقرار زیستگاه‌های مصنوعی انجام گرفت. میانگین سالانه پارامترهای دما، شوری، کدورت، اسیدیته و کلروفیل منطقه مورد بررسی به ترتیب $26/38^{\circ}\text{C}$ ، $36/65\text{ psu}$ ، $2/59\text{ FTU}$ ، $8/1\text{ }\mu\text{g/L}$ و $0/86$ ثبت و در نقاط هم عمق بین ۵ تا ۱۵ متر توزیع یکسانی را نشان داد. نتایج به دست آمده از جداسازی ماکروبتوزها در دریای عمان زیستگاه مصنوعی، لابستر، ماکروبتوز
تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۵/۱۶	
تاریخ ویرایش: ۱۴۰۱/۰۶/۰۱	
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۶/۳۱	
واژه‌های کلیدی: پارامترهای فیزیکی و شیمیایی، دریای عمان زیستگاه مصنوعی، لابستر، ماکروبتوز	به ترتیب $26/38^{\circ}\text{C}$ ، $36/65\text{ psu}$ ، $2/59\text{ FTU}$ ، $8/1\text{ }\mu\text{g/L}$ و $0/86$ ثبت و در نقاط هم عمق بین ۵ تا ۱۵ متر توزیع یکسانی را نشان داد. نتایج به دست آمده از جداسازی ماکروبتوزها در ایستگاه‌های مورد مطالعه نشان داد که گروه‌های غالب ماکروبتوزی روزنه‌داران و پُرتاران در ایستگاه‌های عمیق (۲۰ متر) ترانسکت T3 می‌باشند. درصد دانه‌بندی رسوبات طی فصول مختلف نمونه‌برداری شامل ۹۳ درصد رسوبات از نوع شنی و ماسه‌ای ۵ درصد رسوبات از نوع گل و لای و ۲ درصد رسوبات از نوع رس محاسبه گردید. بافت رسوبی بستر نقش مهمی در حرکت لابستر در زیستگاه دارد و بستر سنگی و شنی زیستگاه مناسبی برای لابستر می‌باشد. با توجه به نتایج این پژوهش، بالاترین میزان درصد شن و ماسه رسوبات در ناحیه شرقی اسکله رمین می‌باشد و خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آب در آن منطقه برای عمق‌های مساوی نسبت

به مکان ثابت می‌باشند و هم‌چنین حداکثر فراوانی ماکرو بنتوزهای رسوبات زیستگاه در منطقه شرقی بندر رمین در فصل بهار و پاییز مشاهده گردید که عامل مناسبی جهت استقرار زیستگاه در منطقه می‌باشد.

استناد: میرزائی، محمدرضا، اژدری، اشکان (۱۴۰۲). مطالعه اکولوژی زیستگاه‌های شاه میگو صخره‌ای (*Panulirus homarus* (Linnaeus, 1758) در سواحل استان سیستان و بلوچستان به منظور استقرار سازه‌های زیستگاه مصنوعی جهت احیاء ذخایر. نشریه بهره‌برداری و پرورش آبزیان، ۱۲ (۲)، ۸۹-۱۰۲.

DOI: 10.22069/japu.2023.20492.1695



© نویسندگان.

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

مقدمه

زیستگاه‌های مصنوعی در تمام دوران زندگی انسان‌ها به عنوان ابزاری کارآمد برای بازسازی و ترمیم زیستگاه‌های طبیعی و راهکاری در پاسخ به مشکلات و نگرانی‌های موجود در خصوص کاهش ذخایر آبزیان می‌باشد. امروزه با وجود روند رو به افزایش تخریب زیستگاه‌های طبیعی در دریا و مناطق ساحلی، احداث زیستگاه‌های مصنوعی، به عنوان ابزاری در جهت احیاء زیستگاه‌های تخریب شده در محیط‌های دریایی و ساحلی بسیار مورد توجه قرار گرفته است (۱).

با توجه به روند کاهشی آبزیان در آب‌های استان سیستان و بلوچستان و لزوم حفاظت از برخی گونه‌های منحصر به فرد در دریای عمان، بازسازی ذخایر شاه میگوی صخره‌ای یکی از اولویت‌های اساسی محسوب می‌گردد. شاه میگو با نام عمومی لابستر یکی از ارزشمندترین آبزیان نواحی حاره و نیمه حاره می‌باشد. در سواحل جنوبی ایران به‌خصوص سواحل جنوب شرقی سه گونه از شاه میگو خاردار وجود دارد (۲). در سال‌های اخیر به دلیل صید بی‌رویه و تخریب زیستگاه‌های این آبی میزان صید آن به‌طور چشمگیری کاهش یافته است (۳). در میان روش‌های متفاوتی که برای احیاء و بازسازی ذخایر آبزیان وجود دارد زیستگاه مصنوعی به‌علت نداشتن هزینه پرسنلی و نگهداری پس از نصب از اولویت خاصی برخوردار می‌باشد. زیرا یکی از روش‌های بسیار مهم در بازسازی ذخایر و برداشت قانونمند و پایدار و هم‌چنین یکی از راه‌هایی است که در بازسازی و احیاء مجدد آبزیان در دریا نقش به‌سزایی دارد. زیستگاه‌های مصنوعی به‌طور طبیعی در دریاها وجود ندارد و توسط بشر ساخته شده و به‌صورت عمدی یا غیرعمدی در زیر آب قرار داده می‌شوند، و برای افزایش رشد و تولید در اکوسیستم آبی مفید می‌باشند و در مدیریت شیلاتی معمولاً

به‌منظور موارد مختلف مانند، فراهم کردن زیستگاه جدید برای افزایش تعداد و وزن توده زنده منابع شیلاتی آسیب‌دیده، احیا زیستگاه‌های طبیعی، باعث ایجاد کاهش فشار صیادی، کند کردن تخریب زیستگاه‌های طبیعی، افزایش تنوع، تشویق جهانگردی و بهبود کیفیت آب می‌گردد (۴). در کشورهایی که ذخایر آن‌ها در اثر فشار صیادی آسیب زیادی دیده است، ایجاد زیستگاه‌های مصنوعی می‌تواند به بازسازی این ذخایر کمک کند. با توجه به این‌که زیستگاه مصنوعی شامل قرار دادن اشیاء مجاز در داخل دریا جهت بهره‌برداری و احیاء محیط دریایی می‌باشد توجه نکردن به اصول ساخت و مدیریت آن، باعث برهم خوردن تعادل اکولوژیک می‌شود. با در نظر گرفتن این موضوع یکی از راه‌های ترمیم بسترهای زیست‌محیطی در آب‌های ساحلی که به‌علل گوناگون مانند صید بیش از حد و یا آلودگی‌ها دچار مشکل شده، ساخت زیستگاه‌های مصنوعی است و ایجاد این زیستگاه‌ها یکی از راه‌های جذب آبزیان و دسترسی به صید متمرکز است.

اگرچه زیستگاه‌های مصنوعی معمولاً در سراسر جهان به عنوان ابزاری برای جبران تغییرات ایجاد شده در زیستگاه‌های طبیعی موجودات مورد استفاده قرار می‌گیرد ولی استقرار آن به ندرت تحت یک فرآیند دقیق انتخاب مکان انجام می‌گیرد. در حالی‌که اثربخشی زیستگاه‌ها پس از استقرار می‌تواند در ارائه جزئیات لازم برای تصمیم‌گیری آگاهانه جهت بازسازی مستقیم و غیرمستقیم ذخایر آبزیان باشد. زیرا احداث زیستگاه‌های مصنوعی نقش مهمی در تقویت و بالا بردن تولید در مناطق کم تولید و شرایط مساعدی را برای رشد و نمو لارو آبزیان مختلف مناطق ساحلی را فراهم نماید.

به دلیل اهمیت تجاری ذخایر شاه میگوی استان سیستان و بلوچستان و ارزش اقتصادی این آبی، ذخایر شاه میگو در سال‌های اخیر کاهش یافته است.

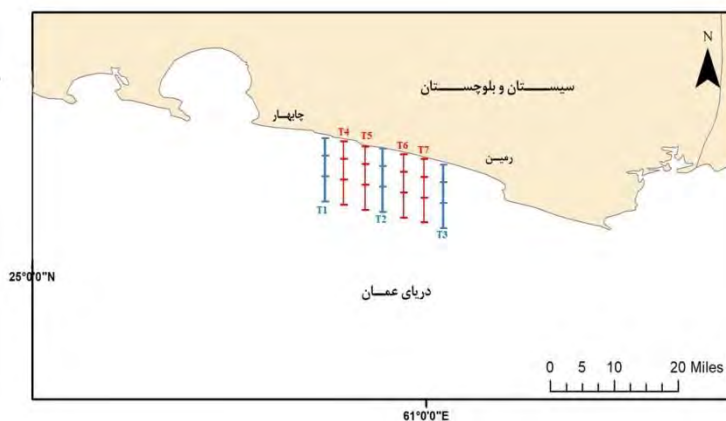
فواصل یک کیلومتری از یکدیگر انتخاب گردید، و بر روی هر یک از ترانسکت‌ها ۴ ایستگاه نمونه‌برداری در اعماق ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ متری تعیین شد. ترانسکت‌های T1، T2 و T3 با ایستگاه‌های ۱ تا ۱۲ ایستگاه‌های اصلی و ثابتی بودند که نمونه‌برداری به‌طور فصلی در آن‌ها انجام گردید و نمونه‌برداری در ترانسکت‌های T4، T5، T6، T7، با ایستگاه‌های فرعی ۱۳ تا ۲۸ برای پوشش بیش‌تر و دقیق‌تر تنها در یک فصل انجام گردید (شکل ۱).

اندازه‌گیری برخی از پارامترهای فیزیکی و شیمیایی آب دریا شامل دما، شوری، کدورت، کلروفیل a، pH در فصول پاییز، زمستان، و بهار (ماه‌های آبان و بهمن سال ۱۴۰۰ و اردیبهشت ۱۴۰۱) انجام گردید. اندازه‌گیری پارامترها با استفاده از دستگاه CTD در ستون آب تا لایه نزدیک بستر در ۱۲ ایستگاه اصلی انجام گرفت. اندازه‌گیری کلروفیل a با توجه به روش Parson و همکاران (۱۹۹۲) انجام شد (۵). شفافیت به وسیله disk Secchi تعیین گردید و در لایه‌های سطحی پارامترهای دما به وسیله دماسنج جیوه‌ای و pH با دستگاه پرتابل (Oakton PH Tester 30) در محل نمونه‌برداری و ثبت بلافاصله پس از برداشت نمونه اندازه‌گیری و ثبت شدند. نمونه‌برداری در فصل تابستان به علت وجود جریان‌های شدید دریایی و مونسون انجام نگردید.

به همین دلیل لازم است برنامه‌ریزی جهت بازسازی ذخایر آن و نیز ایجاد زیستگاه‌های مصنوعی صورت گیرد. جهت برنامه‌ریزی‌های بازسازی ذخایر ابتدا لازم است ویژگی‌های اکولوژیک زیستگاه‌های این گونه بررسی گردد و ضمن تطبیق شرایط اکولوژیک زیستگاه‌های شاه میگو با مکان‌های مناسب استقرار زیستگاه (شرایط اصلی و لازم برای انتخاب محل مناسب) مکان‌های مناسب استقرار سازه‌های زیستگاه‌های مصنوعی انتخاب گردند. بنابراین این مطالعه با هدف ارزیابی فاکتورهای فیزیکوشیمیایی مطلوب در زیستگاه شاه میگو خاردار صخره‌ای و تعیین عوامل مطلوب جهت استقرار زیستگاه مصنوعی در سواحل دریای عمان و در منطقه اسکله رمین انجام شد.

مواد و روش‌ها

منطقه مورد مطالعه، سواحل استان سیستان و بلوچستان در دریای عمان در شعاع ۳ کیلومتری از اسکله صیادی رمین از عمق ۵ متر تا عمق ۲۰ متری در دریا تعیین شد. نمونه‌برداری به مدت یکسال و به‌صورت فصلی در ۷ ترانسکت عمود بر ساحل (۳ ترانسکت اصلی و ۴ ترانسکت فرعی) و ۲۸ ایستگاه (۱۲ ایستگاه ثابت و ۱۶ ایستگاه فرعی) انجام گرفت. برای اجرای عملیات میدانی در محدوده تعیین شده تعداد ۷ مقطع عرضی عمود بر ساحل (ترانسکت) به



شکل ۱- موقعیت ایستگاه‌های نمونه‌برداری در سواحل دریای عمان، اسکله رمین - چابهار.

ماکرونتوزهای رسوبات سطحی بستر با استفاده از منابع و کلیدهای شناسایی موجود برای هر دوره نمونه‌برداری به‌طور مجزا در هر یک از ۱۲ ایستگاه اصلی انجام گردید.

همبستگی پیرسون برای آزمایش رابطه بین پارامترهای محیطی و صید لابستر انجام شد. آنالیز و تحلیل داده‌ها با استفاده از برنامه‌های نرم‌افزاری Excel و GIS انجام گردید. با استفاده از برنامه نرم‌افزاری Excel مقادیر میانگین، پیشینه و کمینه هر دوره نمونه‌برداری برای ۱۲ ایستگاه ثابت، با یکدیگر مقایسه گردید و همچنین با استفاده از نرم‌افزار GIS منحنی‌های هم‌مقادیر (Contour) در دو لایه سطحی و لایه به نزدیک بستر ترسیم و با یکدیگر مقایسه گردید.

نتایج و بحث

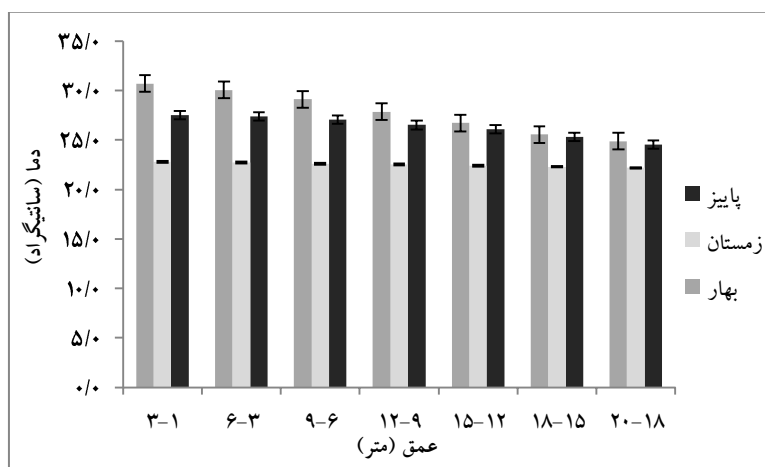
طی فصول اندازه‌گیری‌شده، دمای آب با ۸/۹۷ واحد تغییرات از ۲۲/۱۶ تا ۳۱/۱۴ درجه سانتی‌گراد در نوسان بوده و میانگین آن 26.38 ± 1.2 درجه سانتی‌گراد ثبت گردید. با مقایسه مقادیر میانگین دما در لایه‌های سطحی و نزدیک بستر مشاهده می‌شود که دمای لایه بستر از لایه سطحی کم‌تر است ($P < 0.05$). یعنی با افزایش عمق دما کاهش می‌یابد. همچنین مقادیر اسیدیته آب در محدوده اندازه‌گیری شده از سطح تا بستر با ۰/۹۳ واحد تغییرات از ۷/۳۹ تا ۸/۳۲ در نوسان بود و میانگین آن 8.1 ± 0.11 محاسبه گردید. با افزایش عمق مقادیر اسیدیته افزایش جزئی یافت و مقادیر اسیدیته تقریباً در لایه‌های سطحی و نزدیک بستر توزیع یکسانی را نشان داد ($P > 0.05$) (شکل ۲). تغییرات شدید pH به‌طور قابل‌توجهی سرعت رشد و زمان رسیدن به مرحله پوست‌اندازی متوالی را در لارو لابستر را تغییر می‌دهد و همچنین باعث کاهش محتوای مواد معدنی در کاراپاس پس از

نمونه‌برداری رسوبات سطحی بستر برای تعیین دانه‌بندی و جنس بستر با استفاده از دستگاه نمونه‌برداری سطحی گرب با سطح پوشش ۱ مترمربع به صورت فصلی انجام گردید و نمونه‌ها در ظروف مخصوص جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل گردید. دانه‌بندی رسوبات بستر با استفاده از روش هیدرومتری تعیین گردید، دانه‌بندی با تعیین میزان در صد شن و ماسه (Sand) گل و لای (Silt) و رس (Clay) در رسوبات انجام شد. نتایج به‌طور مجزا برای هر ۳ دوره نمونه‌برداری به‌صورت مقادیر عددی ترسیم و مقایسه فصلی انجام گردید. همچنین درصد مواد آلی (TOM) در رسوبات نیز تعیین شد. نحوه نمونه‌برداری، نگهداری و همچنین روش آنالیز دانه‌بندی و اندازه‌گیری رسوبات بر اساس دستورالعمل مطالعه مواد آلی کل (TOM) بود و مطالعه میزان کربن آلی در رسوبات به روش سوزاندن نمونه‌ها در کوره الکتریکی با دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد و محاسبه براساس درصد وزن خشک صورت گرفت (۶). جهت امتیازدهی به هر یک از ترانسکت‌ها براساس شاخص استحکام بستر و دامنه ۰/۶۳-۰/۸۴ درصد کربن آلی برای اولویت خوب و دامنه ۰/۸۴-۱/۶ درصد برای اولویت متوسط استفاده شد و سرانجام اولویت هر ترانسکت جهت استقرار زیستگاه مصنوعی براساس تولید با توجه به دو شاخص استحکام و کربن آلی بستر برآورد گردید (۷). برداشت نمونه رسوب برای تعیین و شناسایی ماکروپنتوزهای بستر با استفاده از دستگاه نمونه‌برداری رسوب سطحی کرب برداشت گردید. نمونه‌برداری رسوبات بستر از هر ایستگاه با ۳ تکرار انجام شد پس از برداشت نمونه‌ها و انتقال آن‌ها به آزمایشگاه بلافاصله محتویات هر گرب با استفاده از الک با چشمه نیم میلی‌متر شستشو داده شد. سپس محتویات باقی‌مانده با الکل ۹۵ درصد فیکس و شناسایی

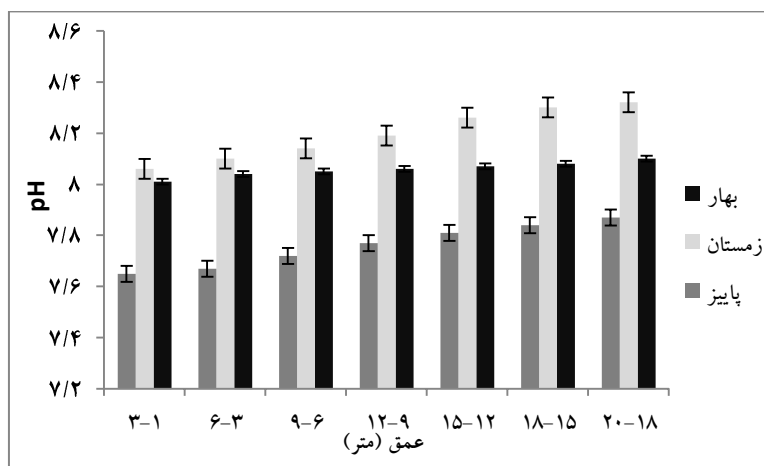
پناهگاه مناسب و یا عدم استقرار در زیستگاه‌هایی که لابسترهای بیمار وجود دارند دریافت می‌گردد (۱۱). با تغییر شدید شرایط محیطی لابسترها توانایی تجمع با هم‌نوعان و اجتناب از هم‌نوعان بیمار را از دست می‌دهند. بنابراین، تغییرات شدید فصلی رفتار لابسترها را در خصوص دریافت پیام‌های شیمیایی را تغییر می‌دهد و ممکن است به دلیل اختلال در انتخاب پناهگاه یا سایر رفتارها منجر به کاهش بقا شوند (۸). هم‌چنین تغییرات گسترده در عوامل محیطی ممکن است باعث تغییر در سیستم ایمنی در *P. homarus* شود که غالباً باعث اختلال در سیستم ایمنی می‌گردد و در نتیجه موجب کاهش تعداد کل هموسیت‌ها و فعالیت فاگوسیتی می‌شود (۱۲). پارامترهای فوق در محل ایستگاه‌های نمونه‌برداری در نقاط هم‌عمق توزیع یکسانی دارند. مقادیر این پارامترها در لایه سطحی به‌طور یکسان توزیع شده و در لایه بستر مقادیرشان فقط نسبت به عمق تغییرات اندکی را نشان می‌دهد. بنابراین خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آب برای عمق‌های مساوی نسبت به مکان ثابت می‌باشند که عامل مناسبی جهت استقرار زیستگاه در منطقه می‌باشد.

مرحله پوست‌اندازی نهایی می‌شود (۸). علاوه بر این، بیان کردند که pH بهینه برای رشد لابستر در محدوده ۶ تا ۸ است (۹). در طی فصول نمونه‌برداری، تغییرات دما در لایه سطحی ناچیز بوده و دما تقریباً در سطح برای محدوده مورد مطالعه در همه ایستگاه‌ها یکسان مشاهده گردید و در لایه نزدیک بستر تغییرات اندک دما مشاهده گردید، ولی از نظر مکانی برای ایستگاه‌های با عمق مشابه مقادیر دمای یکسانی ثبت گردید (شکل ۳). از آن‌جا که افزایش دما تأثیر مستقیم بر افزایش تولید اولیه و ثانویه دارد (۱۰) افزایش معنی‌دار فراوانی ماکروبتوزها متناسب با بالاترین دمای ماهانه آب در فصل بهار مورد انتظار است. در عین حال گرچه انتظار ادامه روند افزایش دمای آب بر اثر تغییرات فصلی وجود دارد، اما با شروع فصل مانسون در تابستان و وزش بادهای شدید، دمای آب تعدیل می‌گردد.

بسیاری از فعالیت‌های بیولوژیکی و زیست‌محیطی لابسترها در دمای زیر ۲۵ درجه و pH زیر ۷ مختل می‌شود. از جمله این موارد می‌توان به وابستگی لابسترها به پیام‌های شیمیایی بین گونه‌های هم نوع اشاره نمود. در شرایط عادی، نشانه‌های شیمیایی از هم‌نوعان توسط لابسترهای خاردار برای شناسایی



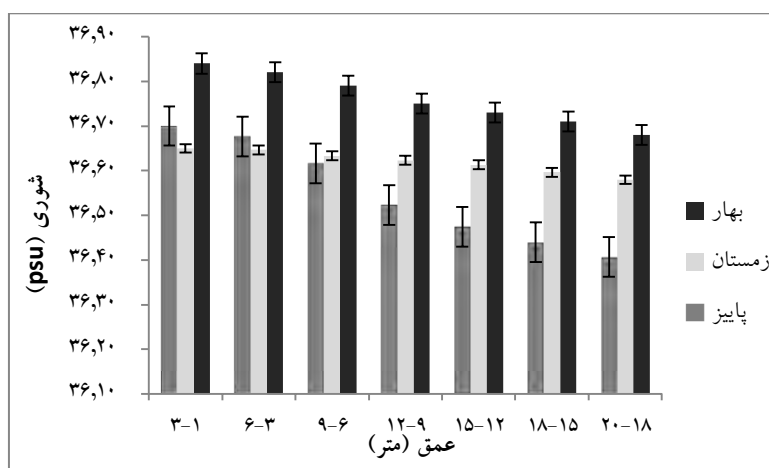
شکل ۲- میانگین روند تغییرات دما و عمق در کل منطقه.



شکل ۳- میانگین روند تغییرات pH و عمق در فصول مختلف در کل منطقه.

چند دامنه تغییرات شوری در منطقه مورد بررسی زیاد نمی‌باشد اما افزایش اندک شوری آب در فصل بهار نیز بر اثر وزش بادهای شدید و افزایش تبخیر در ابتدای فصل مانسون می‌باشد. در بررسی انجام شده توسط پژوهش‌گران دیگر (۱۳) نیز نتایج مشابهی در مورد تأثیر مانسون بر تغییرات شوری آب خلیج چابهار به‌دست آمده است. از طرفی De Bruin در سال ۱۹۶۹ بیان داشت که همه گونه‌های لابستر خاردار موجودات کاملاً دریایی هستند و به آب شیرین و یا آب‌هایی با شوری کم بسیار حساس هستند که در عرض چند دقیقه باعث از بین رفتن آنها می‌شود (۱۴). به همین دلیل تغییرات شدید شوری را تحمل نمی‌توانند تحمل کنند. در این پژوهش بالاترین میانگین دما در فصل بهار مشاهده گردید.

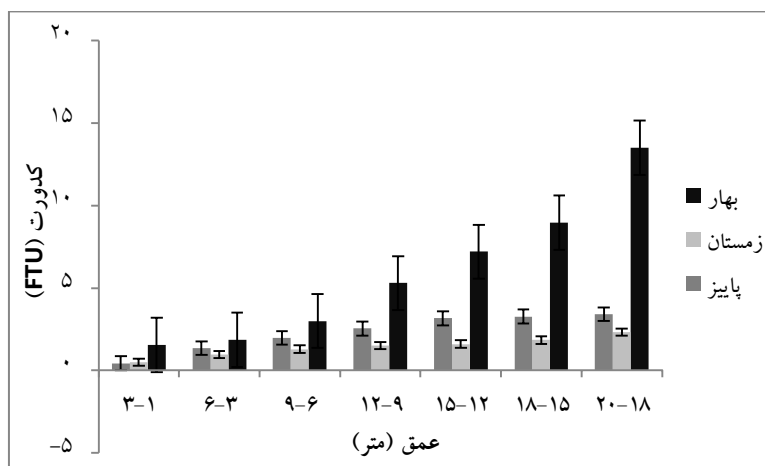
مقادیر شوری آب در محدوده اندازه‌گیری شده با ۰/۵۴ واحد تغییرات از ۳۶/۳۲ psu تا ۳۶/۸۶ psu در نوسان بوده و میانگین آن $36/65 \pm 0/6$ psu ثبت گردید. با توجه به واقع شدن اسکله زمین در مجاورت آب‌های آزاد اقیانوس هنده تغییرات ناچیز شوری در فصول مختلف مطابق خصوصیات آب‌های آزاد است شوری آب با افزایش دما، افزایش می‌یابد، بیش‌ترین مقادیر شوری در بهار و کم‌ترین مقادیر در زمستان مشاهده گردید ($P < 0/05$). میانگین مقادیر شوری در لایه نزدیک بستر از لایه سطحی بیش‌تر است. به‌طور کلی تغییرات عمودی شوری ناچیز بوده و لایه همگنی مشاهده گردید. در محدوده مورد بررسی شوری در لایه سطحی، تقریباً در تمامی فصول اندازه‌گیری شده به‌طور همگن توزیع شده بود و برای لایه نزدیک بستر مقادیر شوری با فاصله گرفتن از ساحل و افزایش عمق کاهش یافت (شکل ۴). هر



شکل ۴- میانگین روند تغییرات شوری و عمق در فصول مختلف در کل منطقه.

مناطق جنوب شرقی ایران نفوذ می‌کنند. با این حال، هیچ سابقه شناخته‌شده‌ای از مهاجرت لابسترها در طول فصل مونسون وجود ندارد و تنها گونه‌هایی که در شکاف سنگ‌ها زندگی می‌کنند در هنگام حرکت انبوه ماسه بر روی صخره‌ها، از شکاف سنگ‌ها خارج می‌شوند و آن را ترک می‌کنند. اگرچه صید لابستر در طول مونسون تقریباً غیرممکن و بسیار دشوار می‌باشد. آنچه مسلم است این است که لابستر در طول سال در منطقه مورد بررسی در دسترس است. این مشاهدات نشان می‌دهد که در بین عوامل مورد بررسی، کدورت از بقیه موارد از اهمیت کمتری برخوردار است، زیرا گونه‌های لابستر مشاهده شده در منطقه تاکنون طیف وسیعی از کدورت و شفافیت آب را برای مدت زمان بسیار طولانی تحمل کرده‌اند.

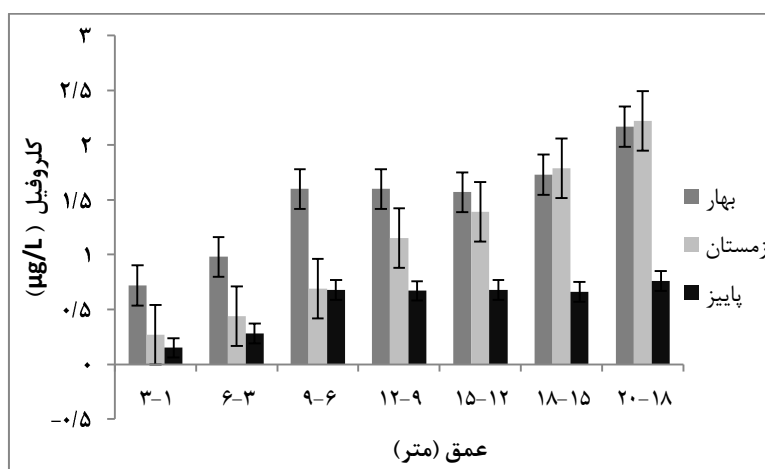
مقادیر کدورت آب در محدوده اندازه‌گیری شده با $17/37$ واحد تغییرات از $0/13$ FTU تا $17/5$ FTU در نوسان بود و میانگین آن $2/59 \pm 0/69$ FTU محاسبه گردید. مقادیر کدورت در لایه نزدیک بستر از لایه سطحی آب بیش‌تر ($P < 0/05$) و به‌طور کلی میزان کدورت به عواملی هم‌چون جریان‌ات دریایی، موج بودن دریا در مناطق کم‌عمق، غلظت ذرات معلق در آب، نوع و جنس بستر، پساب، غلظت پلانکتون‌ها، آلودگی و ... بستگی دارد. کدورت در فصول پاییز و زمستان در لایه‌های سطحی و نزدیک بستر توزیع یکسانی داشته و مقادیر آن پایین ولی در بهار کدورت در مناطق کم‌عمق غربی در لایه سطحی و نزدیک بستر مقادیر بیش‌تری را نشان داد (شکل ۵). کدورت آب‌های ساحلی در نتیجه وزش بادهای فصلی مونسون اقیانوس هند می‌باشد که به‌طور متناوب به



شکل ۵- میانگین روند تغییرات کدورت و عمق در فصول مختلف در کل منطقه.

سطح بیش‌تر ($P < 0.05$) و توزیع کلروفیل a- در لایه سطحی یکسان و برای لایه نزدیک بستر در اعماق، مقادیر بیش‌تری را نشان داد ($P < 0.05$) (شکل ۶).

مقادیر کلروفیل- در محدوده اندازه‌گیری شده با $4/24$ واحد تغییرات از $0/09 \mu\text{g/L}$ تا $4/33 \mu\text{g/L}$ در نوسان و میانگین آن $0/86 \pm 0/3 \mu\text{g/L}$ محاسبه گردید. به‌طورکلی مقادیر کلروفیل a در ستون آب از



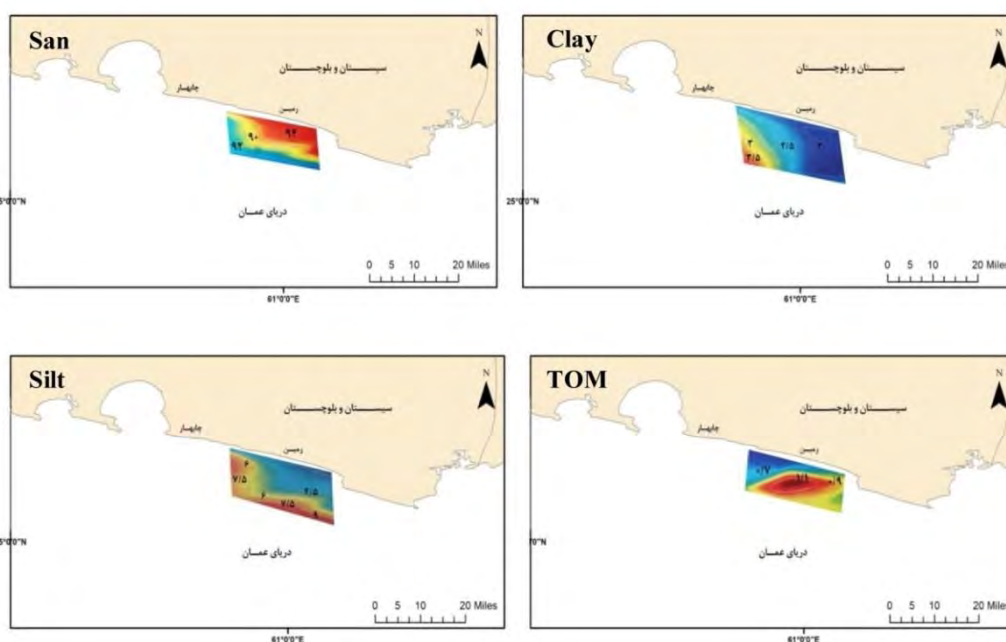
شکل ۶- میانگین روند تغییرات کلروفیل a- و عمق در فصول مختلف در کل منطقه.

اولویت مناسب جهت استقرار زیستگاه مصنوعی براساس تولید با توجه به دو شاخص استحکام و کربن آلی بستر برآورد گردید. با میانگیری از مقادیر فصلی نحوه توزیع دانه‌بندی رسوبات و مواد آلی (بر حسب درصد) مشاهده گردید که بالاترین میزان درصد شن و ماسه رسوبات در ناحیه شرقی اسکله رمین و بالاترین مقدار مواد آلی در قسمت میانی

بر اساس نتایج به دست آمده درصد میانگین درصد دانه‌بندی رسوبات طی فصول مختلف نمونه‌برداری شامل ۹۳ درصد رسوبات از نوع شنی و ماسه‌ای (sand)، ۵ درصد رسوبات از نوع گل و لای (Silt) و ۲ درصد رسوبات از نوع رس (Clay) محاسبه گردید. همچنین میانگین درصد مواد آلی (TOM) برابر با $0/81$ ثبت گردید که در دامنه

است، که برای استقرار زیستگاه‌های مصنوعی مکان مناسبی می‌باشد. در اعماق ۱۰ تا ۱۵ متری به‌خصوص در قسمت غربی اسکله رمین (از ایستگاه شماره ۳ تا ۶)، به‌طور پراکنده و گسسته صخره‌های سنگی و مرجانی مشاهده می‌شود.

اسکله رمین می‌باشد (شکل ۷). با تعیین درصد دانه‌بندی رسوبات بستر مشاهده گردید که ۹۳ درصد رسوبات بستر از جنس ماسه‌ای و شنی بوده، ۵ درصد آن گل و لای و ۲ درصد رسوبات حاوی رس است. در قسمت شرقی اسکله رمین درصد شنی و ماسه‌ای رسوبات بستر بیشتر از قسمت میانی و غربی آن



شکل ۷- توزیع دانه‌بندی رسوبات شنی و ماسه‌ای (Sand)، گل و لای (Clay)، رس (Silt) و مواد آلی (TOM) در ایستگاه‌های نمونه‌برداری.

می‌باشد (جدول ۱). حداکثر فراوانی ماکرو بنتوزهای رسوبات زیستگاه در منطقه شرقی بندر رمین و در ایستگاه‌های ۱۰، ۱۱ و ۱۲ و در فصل بهار و پاییز و منطبق با زمان پیش مانسون و پس مانسون مشاهده گردید. نتایج این پژوهش در راستای مشاهدات سایر پژوهش‌گران می‌باشد که بیش‌ترین فراوانی دو کفه‌ای‌های منطقه زیر جزر و مدی خلیج چابهار را در فصل بهار و هم‌چنین بالاترین تنوع ماکرو بنتوزها در دوره پس از مانسون و در پاییز و کاهش تنوع ماکرو بنتوزها پس از پایان دوره پس مانسونی در اواخر

نتایج به دست آمده از جداسازی ماکرو بنتوزها در ایستگاه‌های مورد مطالعه نشان داد که گروه‌های غالب ماکرو بنتوزی به‌ترتیب روزنه‌داران (Foraminifora)، پُر تاران (Polychaeta)، نرم‌زهیان (Malacostraca)، گونه از زره‌داران (Ostracoda)، پاروپایان (Copepoda)، ناوپایان (Scaphopoda)، دوکفه‌ای‌ها (Bivalve)، ده‌پایان (Decapoda)، شکم‌پایان (Gastropoda)، کرم‌های لوله‌ای (Nematoda)، مارسانان (Ophiuroidea) می‌باشند. هم‌چنین بیش‌ترین فراوانی در ایستگاه‌های عمیق ترانسکت T3 و در فصل پاییز و زمستان

زمستان نشان داد (۱۵). مطالعه عادات غذایی اکثر سخت‌پوستان به دلیل داشتن یک ساختار آسیاب مانند در معده دشوار می‌باشد. زیرا غذای آن‌ها به صورت یک توده غیرقابل شناسایی تبدیل می‌شود. با این حال، بررسی محتویات معده *P. homarous* بقایای کرم‌های پلی‌کت، پوسته‌های دوکفه‌ای و خارپوستان را نشان داده است. علاوه بر این، مشاهدات تغذیه شاه میگو خاردار صخره‌ای در شب نشان می‌دهد که از لوله‌های کرم‌های پلی‌کت تغذیه می‌کنند (۱۶). همچنین تنوع فراوانی دوکفه‌ای‌ها، گاستروپودها در رسوبات زیستگاه لایسترها اغلب با فراوانی آن‌ها در رژیم غذایی لایسترها متناسب است (۱۷) که در راستای نتایج حاصل از تنوع و فراوانی ماکروبتوزها در پژوهش حاضر می‌باشد.

جدول ۱- فراوانی ماکروبتوزهای شناسایی شده در ایستگاه‌ها و فصول مختلف.

تعداد گونه‌های مربوط	فصل		نام ایستگاه
	بهار	زمستان	
Foraminifora (۲۵)			✓
Foraminifora (۳۰), Polychaeta (۱)		✓	۱
Malacostraca (۱)	✓		
Ostracoda (۶۱), Malacostraca (۵), Polychaeta (۵), Bivalve (۱), Foraminifora (۶)			✓
Ostracoda (۶۱), Malacostraca (۱۳), Polychaeta (۱۸), Bivalve (۷), Foraminifora (۴۸), Scaphopoda (۱), Gastropoda (۱), Ophiuroidea (۱)		✓	۲
Malacostraca (۱۰), Polychaeta (۱), Bivalve (۲), Scaphopoda (۱)	✓		
Ostracoda (۳۲), Malacostraca (۴), Polychaeta (۲), Bivalve (۱)			✓
Copepoda (۱), Nematoda (۱), Scaphopoda (۱), Decapoda (۲)		✓	۳
Polychaeta (۲), Scaphopoda (۳), Decapoda (۱), Gastropoda (۳)	✓		
Foraminifora (۱۰), Nematoda (۷)			✓
Malacostraca (۳۷), Polychaeta (۳), Foraminifora (۱)		✓	۴
Malacostraca (۳), Polychaeta (۴)	✓		
Foraminifora (۳), Nematoda (۴)			✓
Ostracoda (۶۱), Malacostraca (۱۳), Polychaeta (۱۸), Bivalve (۷)		✓	۵
Malacostraca (۶), Polychaeta (۲), Bivalve (۱), Copepoda (۱), Decapoda (۱)	✓		
Polychaeta (۲), Bivalve (۱)			✓
Scaphopoda (۳), Decapoda (۲), Gastropoda (۱), Ophiuroidea (۱)		✓	۶
Malacostraca (۵), Polychaeta (۳), Bivalve (۱), Decapoda (۱)	✓		
Ostracoda (۳), Malacostraca (۲), Polychaeta (۵), Bivalve (۳), Decapoda (۱), Gastropoda (۱)			✓
Malacostraca (۱۴), Polychaeta (۱۶), Scaphopoda (۲)		✓	۷
Malacostraca (۷), Polychaeta (۳), Bivalve (۱), Scaphopoda (۱), Gastropoda (۱)	✓		
Polychaeta (۵), Scaphopoda (۲)			✓
Ostracoda (۴), Polychaeta (۵)		✓	۸
Ostracoda (۲), Malacostraca (۲), Polychaeta (۱۱), Bivalve (۲), Gastropoda (۳)	✓		
Ostracoda (۱), Gastropoda (۱)			✓
Gastropoda (۱), Malacostraca (۱), Polychaeta (۲)		✓	۹
Malacostraca (۱), Polychaeta (۱), Decapoda (۲)	✓		

ادامه جدول ۱-

تعداد گونه‌های مربوط	فصل		نام ایستگاه
	بهار	زمستان	
Foraminifora (۳۲), Gastropoda (۱)			✓
Ostracoda (۱), Malacostraca (۵), Polychaeta (۲), Copepoda (۱)		✓	۱۰
Malacostraca (۵), Polychaeta (۶), Bivalve (۶)	✓		
Ostracoda (۱), Foraminifora (۳۲), Decapoda (۱), Gastropoda (۲)			✓
Ostracoda (۴), Malacostraca (۹), Polychaeta (۷), Bivalve (۶), Foraminifora (۱۰۹), Decapoda (۱), Gastropoda (۲)		✓	۱۱
Ostracoda (۵), Malacostraca (۱۳), Polychaeta (۱۷), Bivalve (۲)	✓		
Ostracoda (۴), Malacostraca (۱), Polychaeta (۳), Bivalve (۳), Foraminifora (۴۴), Nematoda (۴), Scaphopoda (۲)			✓
Ostracoda (۱۱), Malacostraca (۱), Polychaeta (۲), Foraminifora (۴۹۵), Scaphopoda (۳)		✓	۱۲
Ostracoda (۵), Malacostraca (۳), Polychaeta (۴), Bivalve (۱), Foraminifora (۱۴۵), Copepoda (۱), Nematoda (۲), Scaphopoda (۳), Decapoda (۱), Gastropoda (۳)	✓		

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که لابسترهای بالغ نسبتاً مقاوم هستند و می‌توانند در طیف وسیعی از شرایط محیطی در زیستگاه‌های مختلف زنده بمانند. زیستگاه ترجیحی آن‌ها به چندین عامل از جمله دما، شوری و ساختار بستر وابسته است. مطالعه فعلی بینشی را در مورد الگوهای توزیع ویژگی‌های زیستگاه انتخاب شده برای *P. homarus* با استفاده از شرایط محیطی و ساختار بستر می‌باشد. نتایج نشان می‌دهد که *P. homarus* زیستگاه‌های متنوعی را در منطقه بندر رمین انتخاب کرده است. در این مطالعه در فاصله ۳ کیلومتری از غرب و شرق اسکله بندر رمین تا عمق ۲۰ متری دریا، مناسب‌ترین مکان برای استقرار و توسعه زیستگاه‌های مصنوعی دریایی قسمت شرقی تا بخش میانی اسکله زمین می‌باشد. به‌طور کلی قسمت شرقی و غربی اسکله رمین مستعد ایجاد زیستگاه‌های

مصنوعی دریایی می‌باشد اما در قسمت شرقی به دلیل وجود بستر سخت و صخره‌ای امکان زندگی را برای بنتوزهای چسبنده به بستر که نیاز به مکان سخت دارند فراهم آورده و به همین دلیل به‌طور طبیعی شاه میگوهای بیش‌تری در آن منطقه دیده شدند و بستری مناسب برای نشستن بعد از مراحل لاروی را برای لابسترها نوجوان نیز فراهم آورده است. هم‌چنین با توجه به فراوانی لابسترهای مشاهده شده و تغییرات پارامترهای محیطی در عمق ۵ تا ۲۰ متر در ناحیه شرقی اسکله رمین دمای بهینه ۲۷/۴ تا ۲۴/۶ درجه سانتی‌گراد، شوری بالاتر از ۳۵ psu و کدورت بین ۱/۸۶ FTU تا ۸/۹۷ FTU و میزان کلروفیل بیش‌تر از ۰/۹۸ µg/L در تعیین زیستگاه مطلوب لابستر نقش دارند که در نتیجه آن این منطقه دارای اهمیت فراوانی در توسعه زیستگاه‌های مصنوعی دریایی دارد.

منابع

1. Abelson, A. (2006). Artificial reefs vs coral transplantation as restoration tools for mitigating coral reef deterioration: benefits, concerns, and proposed guidelines. *Bulletin of Marine Science*, 78 (1), 151-159.
2. Ezhdehapor, A. (2016). Lobster in Southern waters of Iran. *Shrimp and Crustacean Journal*, 1 (2), 42-45.
3. Mirzaei, M. R., Ajdari, A., & Chakeri, A. (2021). Review on aquaculture of different spiny lobster species. *Advanced Aquaculture Sciences Journal*, 4 (4), 25-38.
4. Clark, S., & Edwards, A. (1999). An evaluation of artificial reef structures as tools for marine habitat rehabilitation in the Maldives. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 9 (1), 5-21.
5. Parsons, G. J., & Dadswell, M. J. (1992). Effect of stocking density on growth, production, and survival of the giant scallop, *Placopecten magellanicus*, held in intermediate suspension culture in Passamaquoddy Bay, New Brunswick. *Aquaculture*, 103 (3-4), 291-309.
6. Salehi, M., Beni, O. H., Harchegani, H. B., Borujeni, I. E., & Motaghian, H. (2011). Refining soil organic matter determination by loss-on-ignition. *Pedosphere*, 21 (4), 473-482.
7. Barber, A., Brandes, J., Leri, A., Lalonde, K., Balind, K., Wirick, S., Wang, J., & Gélinas, Y. (2017). Preservation of organic matter in marine sediments by inner-sphere interactions with reactive iron. *Scientific Reports*, 7 (1), 1-10.
8. Ross, E., & Behringer, D. (2019). Changes in temperature, pH, and salinity affect the sheltering responses of Caribbean spiny lobsters to chemosensory cues. *Scientific Reports*, 9 (1), 1-11.
9. Subhan, R. Y., Supriyono, E., Widanarni, W., & Djokosetiyanto, D. (2018). Grow-out of spiny lobster *Panulirus* sp. with high stocking density in controlled tanks. *Journal akuakultur indonesia*, 17 (1), 53-60.
10. Constable, A. J., Melbourne-Thomas, J., Corney, S. P., Arrigo, K. R., Barbraud, C., Barnes, D. K., Bindoff, N. L., Boyd, P. W., Brandt, A., & Costa, D. P. (2014). Climate change and Southern Ocean ecosystems I: how changes in physical habitats directly affect marine biota. *Global change biology*, 20 (10), 3004-3025.
11. Katoh, E., Sbragaglia, V., Aguzzi, J., & Breithaupt, T. (2013). Sensory biology and behaviour of *Nephrops norvegicus*. *Advances in marine biology*, 64 (1), 65-106.
12. Verghese, B., Radhakrishnan, E., & Padhi, A. (2007). Effect of environmental parameters on immune response of the Indian spiny lobster, *Panulirus homarus* (Linnaeus, 1758). *Fish & Shellfish Immunology*, 23 (5), 928-936.
13. Komijani, F., Chegini, V., Banazade Mahani, M. R., & Sanjani, M. S. (2008). Study of changes physical parameters in Chahbahar Bay water in winter monsoon (2006-2007). *Journal of Earth and Space Physics*, 37 (4), 195-216.
14. De Bruin, G. (1969). The ecology of spiny lobsters, *Panulirus* spp., of Ceylon waters.
15. Eksiri, S. F., Emadi, H., Nabavi, S. M. B., & Vosoughi, G. H. (2007). Studies on diversity of hara's Laft-Khamir polychaetes. *Animal science (research and development)*, 19 (4), 155-161.
16. Kizhakudan, J. K., & Patel, S. (2011). Effect of diet on growth of the mud spiny lobster *Panulirus polyphagus* (Herbst, 1793) and the sand lobster *Thenus orientalis* (Lund, 1793) held in captivity. *Journal of the Marine Biological Association of India*, 53 (2), 167-171.
17. Mashaii, N., Rajabipour, F., & Shakouri, A. (2011). Feeding Habits of the Scalloped Spiny Lobster, *Panulirus homarus* (Linnaeus, 1758) (Decapoda: Palinuridae) from the South East Coast of Iran. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 11p.

Determining the most suitable age and weight of fingerlings stellate fish (*Acipenser stellatus*) for release into the Caspian Sea

Alireza Ashouri^{*1}, Zabihollah Pajhand², Ayoub Yousefi Jourdehi³,
Esmael Hoseinnia⁴, Javad Sayadfar⁵, Jalil Jalilpour⁶

1. Corresponding Author, International Sturgeon Research Institute, National Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Rasht, Iran. E-mail: alireza.ashouri52@gmail.com
2. International Sturgeon Research Institute, National Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Rasht, Iran. E-mail: zpajand@gmail.com
3. International Sturgeon Research Institute, National Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Rasht, Iran. E-mail: ayoub2222002@yahoo.com
4. International Sturgeon Research Institute, National Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Rasht, Iran. E-mail: esmaillhosseinnia@gmail.com
5. International Sturgeon Research Institute, National Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Rasht, Iran. E-mail: j.saiadfar4959@gmail.com
6. International Sturgeon Research Institute, National Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Rasht, Iran. E-mail: jalilpoorj@gmail.com

Article Info

Article type:
Full Length Research Paper

Article history:
Received: 07.31.2022
Revised: 09.02.2022
Accepted: 11.03.2022

Keywords:
Age,
A. stellatus,
Caspian Sea,
Releasing time,
Weight

ABSTRACT

Nowadays, the artificial reproduction of sturgeon fish is the only method to restore the stocks of these valuable species. 1200 stellate (*A. stellatus*) fingerlings at different ages of 55, 69, 77 and 85 days – old were stored at a density of 100 per square meter in 12 tanks 2-ton with sea water, hole water and their mixture and treated in four rearing treatments including A: 55 days (0.5-1 g), B: 69 days (1-3 g), C: 77 days (3-5 g) and D: 85 days (5-10 g) and also 4 treatments in different salinities (0.5, 0.5-4, 4-9 and 9-13 g/thousand). Each treatment was designed with 3 repetitions. Each experiment was carried out in a period of approximately one month along with feeding with live food, preferably gamarus, nereis worm, shironomide at the saturation level of 6 meals a day, and siphoning and changing water continuously. Biometry was done every 10 days. According to the study, *A. stellatus* fish fingerlings reached a growth of about 1 gram after 15 days of rearing in the 55-day rearing period (0.5-1 g). In the breeding period of 69 days (1-3 grams), after 24 days of rearing, the fingerlings reached an average weight of 5 grams. In the breeding period of 77 days (3-5 grams), after 24 days of rearing, the fingerlings reached an average weight of 7 grams. In the breeding period of 85 days (5-10 grams), after 26 days of rearing, the fingerlings reached an average weight of 14 grams. When the fingerlings of *A. stellatus* were placed in different salinities, they showed a lower percentage of mortality compared to other treatments, 65 and 70 (0.5 to 1 and 1 to 3 grams) of treatments A and B. The highest percentage of losses was related to breeding periods of 55 and 69 days with average weight (0.5 to 1 and 1 to 3 grams) in treatments A and B. The highest percentage of losses in high salinities (9-4 and 9-13 g/thousand) was related to the age group 0.5 to 3 g. The results of the

present research showed that the best rearing period for releasing the fingerlings into the sea (salinity 9-13 g/thousand) was in the period of 77 and 85 days (3-5 and 5-10 g), which had the lowest mortality.

Cite this article: Ashouri, Alireza, Pajhand, Zabihollah, Yousefi Jourdehi, Ayoub, Hoseinnia, Esmael, Sayadfar, Javad, Jalilpour, Jalil. 2023. Determining the most suitable age and weight of fingerlings stellate fish (*Acipenser stellatus*) for release into the Caspian Sea. *Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics*, 12 (2), 103-116.



© The Author(s).

DOI: 10.22069/japu.2022.20471.1692

Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

مناسب‌ترین سن و وزن بچه‌ماهی ازون‌برون (*Acipenser stellatus*) برای رهاسازی به دریای خزر

علیرضا عاشوری^{۱*}، ذبیح‌اله پژند^۲، ایوب یوسفی جوردهی^۳، اسماعیل حسین‌نیا^۴، جواد صیادفر^۵، جلیل جلیل‌پور^۶

۱. نویسنده مسئول، انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی (ARRO)، رشت، ایران. رایانامه: alireza.ashouri52@gmail.com
۲. انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی (ARRO)، رشت، ایران. رایانامه: zpajand@gmail.com
۳. انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی (ARRO)، رشت، ایران. رایانامه: ayoub2222002@yahoo.com
۴. انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی (ARRO)، رشت، ایران. رایانامه: esmaeilhosseinnia@gmail.com
۵. انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی (ARRO)، رشت، ایران. رایانامه: j.saiadfar4959@gmail.com
۶. انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی (ARRO)، رشت، ایران. رایانامه: jalilpoorj@gmail.com

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله:	امروزه تکثیر مصنوعی ماهیان خاویاری، تنها روش جهت بازسازی ذخایر، این گونه‌های با
مقاله کامل علمی- پژوهشی	ارزش می‌باشد. در این پژوهش، ۱۲۰۰ بچه‌ماهی ازون‌برون در چهار تیمار سنی و وزنی مختلف
تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۵/۰۹	شامل تیمار A ۵۵ روزه (۱-۰/۵ گرم)، تیمار B ۶۹ روزه (۳-۱ گرم)، تیمار C ۷۷ روزه (۵-۳
تاریخ ویرایش: ۱۴۰۱/۰۶/۱۱	گرم)، و تیمار D ۸۵ روزه (۱۰-۵ گرم) در ۱۲ مخزن ۲ تنی با آب دریا، چاه و مخلوط آن‌ها به
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۸/۱۲	همراه هواده با تراکم ۱۰۰ عدد در هر مترمربع ذخیره‌سازی شدند. ۴ آزمایش در شوری‌های
واژه‌های کلیدی:	مختلف (۰/۵-۰، ۴-۰/۵، ۹-۴ و ۱۳-۹ گرم در هزار) و هرآزمایش در ۴ تیمار و هر تیمار با ۳
بچه‌ماهی ازون‌برون،	تکرار طراحی و در مدت زمانی تقریباً یک ماه به همراه غذادهی با غذای زنده ترجیحاً
دریای خزر،	گاماروس، کرم نرئیس، شیرونومیده در حد اشباع ۶ وعده در روز و سیفون و تعویض آب
زمان رهاسازی،	مداوم و جاری نیز انجام پذیرفت. زیست‌سنجی هر ۱۰ روز یکبار انجام شد. بر اساس نتایج،
سن،	بچه‌ماهی ازون‌برون در دوره پرورشی ۵۵ روزه (۱-۰/۵ گرم) بعد از ۱۵ روز پرورش به رشدی
وزن	در حدود ۱ گرم رسید. در دوره پرورش ۶۹ روزه (۳-۱ گرم) بچه‌ماهیان به میانگین وزنی ۵
	گرم بعد از ۲۴ روز پرورش رسیدند. در دوره پرورش ۷۷ روزه (۵-۳ گرم)، بعد از ۲۴ روز
	پرورش بچه‌ماهیان به میانگین وزنی ۷ گرم رسیدند. در دوره پرورش ۸۵ روزه (۱۰-۵ گرم)،

بچه ماهیان به میانگین وزنی ۱۴ گرم بعد از ۲۶ روز پرورش رسیدند. زمانی که بچه ماهیان ازون برون در شوری های مختلف قرار گرفتند، درصد تلفات کمتری را نسبت به تیمارهای دیگر ۶۵ و ۷۰ (۰/۵ تا ۱ و ۱ تا ۳ گرم) نشان دادند. بیشترین درصد تلفات مربوط به دوره های پرورش ۵۵ و ۶۹ روز با میانگین وزنی (۰/۵ تا ۱ و ۱ تا ۳ گرم) در تیمارهای A و B بود. بیشترین درصد تلفات در شوری های بالا (۴-۹ و ۱۳-۹ گرم در هزار) مربوط به گروه سنی (۰/۵ تا ۳ گرم) بود. نتایج پژوهش حاضر نشان داد بهترین دوره پرورش جهت رهاسازی بچه ماهی ازون برون به دریا (شوری ۱۳-۹ گرم در هزار) در مدت زمان های ۷۷ و ۸۵ روز (۳ تا ۵ و ۵ تا ۱۰ گرم) بود که کمترین میزان تلفات را داشت.

استناد: عاشوری، علیرضا، پژند، ذبیح‌اله، یوسفی جوردھی، ایوب، حسین‌نیا، اسماعیل، صیادفر، جواد، جلیل‌پور، جلیل (۱۴۰۲). مناسب‌ترین سن و وزن بچه ماهی ازون برون (*Acipenser stellatus*) برای رهاسازی به دریای خزر. نشریه بهره‌برداری و پرورش آبزیان، ۱۲ (۲)، ۱۱۶-۱۰۳.

DOI: 10.22069/japu.2022.20471.1692



© نویسندگان.

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

مقدمه

روند رو به رشد صید ماهیان خاویاری که از باارزش‌ترین آبزیان دریای خزر می‌باشند، باعث شده است تا ذخایر این ماهیان به شدت کاهش یابد. براساس آخرین آمار FAO که در سال ۲۰۱۹ منتشر شده است، میزان صید این ماهیان در دریای خزر از ۱۶/۳ هزار تن در سال ۱۹۹۰ با ۹۷/۷ درصد کاهش به ۳۸۰ تن در سال‌های ۲۰۰۹ و ۲۰۱۷ معادل ۱۶۹ تن رسیده است (۱). هر چند اتخاذ تدابیر لازم در زمینه اجرای نظام مدیریت هدفمند و صید مسئولانه طراحی شده، زمینه و فرصت لازم برای ترمیم این ذخایر را به عنوان منابع تجدیدشونده تا حدودی در گذشته فراهم آورده است، اما طی سال‌های گذشته، سرمایه‌گذاری انجام شده در زمینه تکثیر مصنوعی، تولید انبوه و رهاسازی چند صد میلیونی بچه‌ماهیانی مانند انواع ماهیان خاویاری، سفید، سوف و سیم از سوی مراکز بازسازی ذخایر وابسته به شیلات ایران در راستای حفظ و ازدیاد توده زنده و استمرار صید سالانه و اثرگذار بوده است (۲).

ماهیان خاویاری از گونه‌های ارزشمندی هستند که ذخایر آن‌ها به دلایل متعدد از جمله صید بی‌رویه و غیرقانونی، تخریب زیستگاه، آلودگی و تغییرات آب و هوا به مرز نابودی رسیده است و تقریباً تمام گونه‌های ماهیان خاویاری در لیست گونه‌های در معرض خطر انقراض قرار گرفته‌اند. با توجه به اهمیت زیستی، اقتصادی و تاریخی ماهیان خاویاری، انجام بررسی‌های دقیق درخصوص استفاده بهینه از فرصت‌های موجود در حفاظت و بهره‌برداری بلندمدت از ذخایر آن‌ها و هم‌چنین کنترل و مقابله با تهدیدها ضروری به نظر می‌رسد. پویایی جمعیت به فرآیند مداوم جایگزینی نسل‌ها در طول زمان، زاد و ولد، رشد و مرگ و میر مربوط می‌شود.

کاظمی و همکاران (۲۰۰۶)، فشار اسمزی، مقادیر یون‌های سدیم، پتاسیم، کلسیم و منیزیم در سرم خون مولدین تاس‌ماهی ایرانی در محیط‌های دریا، مصب، شرایط کارگاهی و مخازن پرورشی و نمونه‌های آب را مورد اندازه‌گیری قرار دادند. نتایج بیانگر عدم اختلاف فاکتورهای مذکور در مولدین ماهیان خاویاری صید شده در دریا و مصب بود (۳).

فدایی و همکاران (۲۰۱۱)، با مقایسه آماری بین شاخص بازماندگی در گروه‌های مختلف وزنی تاس‌ماهی ایرانی ملاحظه نمودند که شاخص بازماندگی در وزن‌های ۶ تا ۱۰ گرم تقریباً ۲ برابر گروه ۳ تا ۵ گرم و ۲۰ برابر گروه زیر ۳ گرم بوده است. با توجه به نتایج احتمال می‌رود که با افزایش وزن در زمان رهاسازی، شانس بازماندگی آن‌ها افزایش یابد (۴).

نتایج مطالعات بهمنی و یوسفی (۲۰۱۱)، قابلیت سازگاری لاروهای ۲۰ روزه تاس‌ماهی ایرانی پرورش‌یافته در مخازن فایبرگلاس بدون تعویض آب در شوری‌های مختلف نشان داد درصد بقاء در بین تیمارهای مختلف در شوری‌های ۱، ۳، ۵ و ۷ گرم در هزار تقریباً مشابه تیمار شاهد آب شیرین بود. درصد بقاء در شوری ۸ گرم در هزار معادل ۹۹/۹۲ و در شوری ۱۲ گرم در هزار (آب لب شور دریای خزر) معادل ۹۹/۸ بود. عنوان گردید می‌توان لاروهای ۲۰ روزه (۱۰ تا ۱۵۰ میلی‌گرمی) تاس‌ماهی ایرانی را در اندازه وزنی مذکور در صورت فراهم بودن شرایط مطلوب تغذیه‌ای، بستر زندگی مناسب و کنترل عوامل آلاینده، به رودخانه‌ها، مصب‌ها و دریا رهاسازی نمود (۵).

هم‌چنین در آزمایش تعیین LC50 شوری آب بر روی بچه‌تاس‌ماهیان ایرانی در مدت ۱۲۰ ساعت در

مواد و روش‌ها

مراحل اجرای این پروژه در ایستگاه تحقیقات تاس‌ماهیان گیلان (چابکسر) انجام شد. بچه‌ماهیان از مرکز تکثیر و بازسازی ذخایر مجتمع شهید دکتر بهشتی بارگیری و در داخل ۱۲ مخزن ۲ تنی با برقراری آب دریا، آب چاه و مخلوط آن‌ها به همراه هواده مورد آزمایش قرار گرفتند. تعداد ۱۲۰۰ بچه‌ماهی از هر گونه با اوزان مختلف (جدول ۱) تیمار بندی شده در پروژه با تراکم ۱۰۰ عدد در هر مترمربع ذخیره‌سازی شدند. عادت‌دهی بچه‌ماهیان ازون‌برون در چهار آزمایش شامل ۵۵ روزه (۱-۵/۵ گرم) به عنوان تیمار A، ۶۹ روزه (۳-۱ گرم) به عنوان تیمار B، ۷۷ روزه (۵-۳ گرم) به عنوان تیمار C و ۸۵ روزه (۱۰-۵ گرم) به عنوان تیمار D و هر آزمایش در ۴ تیمار و هر تیمار دارای ۳ تکرار انجام شد. هر آزمایش در مدت زمانی تقریباً یک ماه به همراه غذادهی با غذای زنده ترجیحاً گاماروس، کرم نرئیس، لارو شیرونومیده در حد اشباع (۶ وعده در روز) و سیفون و تعویض آب مداوم و جاری نیز انجام شد. دمای آب حوضچه‌ها به همراه دمای آب دریا ۲۳ درجه سانتی‌گراد، چاه ۲۰ درجه سانتی‌گراد، میزان اکسیژن محلول روزانه ۷/۲ میلی‌گرم در لیتر و میزان pH ۷/۳ به‌طور هفتگی اندازه‌گیری گردید. زیست‌سنجی هر ۱۰ روز یک‌بار انجام شد.

وزن‌های ۱۵۰ میلی‌گرم تا حداکثر ۲/۱ گرم و شوری‌های ۰/۵، ۷ و ۹ گرم در هزار ساخته شده براساس مقادیر ترکیبات شیمیایی اعلام شده توسط کرایوشکینا (۱۹۹۹) مشخص گردید که درصد بازماندگی بچه‌تاس‌ماهیان ۲ گرمی در شوری‌های ۰/۵ و ۹ گرم در هزار، به ترتیب ۱۰۰ و بالای ۹۰ درصد بود و در شوری ۱۲ گرم در هزار نتایجی یافت نگردید (۶).

رودریگز و همکاران (۲۰۰۳)، در بررسی بر روی تنظیم اسمزی در ماهیان خاویاری سیبری جوان (*Acipenser baerii*) دریافتند که در محیط‌های طبیعی، این ماهیان در جمعیت‌های مهاجر می‌تواند با موفقیت به زمین‌های لب شور مصب رود با شوری تا ۹ گرم در هزار مهاجرت کند. این محقق هم‌چنین در سال ۱۹۷۴ عنوان نموده بود به ازای هر گرم وزن بچه‌ماهیان در زمان رهاسازی، ضریب بازگشت شیلاتی تا ۱ درصد افزایش می‌یابد (۷).

کشتکار لنگرودی و همکاران (۲۰۲۰)، در بررسی مناسب‌ترین وزن بچه‌تاس‌ماهی ازون‌برون جهت رها کرد به آب لب شور، از نظر الکترولیت‌های پلاسما و بافت‌شناسی و هیستولوژی نشان داد که سیستم تنظیم اسمزی در بچه‌ماهیان با وزن کم در آب شور، ناتوان از نگه‌داشتن غلظت هموستاتیک پلاسمای الکترولیت‌ها (سدیم، کلسیم و منیزیم) می‌باشد (۸).

جدول ۱- آزمایش‌های طراحی شده در گونه ازون‌برون در شوری‌ها و اوزان مختلف در مدت زمان یک ماه.

تیمار	شوری (گرم در لیتر)	وزن (گرم)			
		آزمایش اول	آزمایش دوم	آزمایش سوم	آزمایش چهارم
۱	۰-۰/۵	۰/۱-۵	۳-۱	۵-۳	۱۰-۵
۲	۰/۴-۵	۰/۱-۵	۳-۱	۵-۳	۱۰-۵
۳	۹-۴	۰/۱-۵	۳-۱	۵-۳	۱۰-۵
۴	۱۳-۹	۰/۱-۵	۳-۱	۵-۳	۱۰-۵

پس از اتمام دوره پرورش در هر گروه بر اساس طول کل و وزن کل میزان افزایش وزن (WG)، درصد افزایش وزن روزانه (ADG)، ضریب رشد ویژه (SGR)، رشد روزانه (GR)، شاخص وضعیت (CF)، ضریب تبدیل غذا (FCR) و درصد بازماندگی

(Survival rate) با استفاده از فرمول‌های زیر مورد محاسبه و سنجش قرار گرفت (۹، ۱۰).

Wt = وزن نهایی
W0 = وزن اولیه

درصد افزایش وزن بدن

$$BWI = \frac{(\text{وزن اولیه بدن (گرم)} - \text{وزن نهایی (گرم)})}{\text{وزن اولیه بدن (گرم)}} \times 100 \quad (11)$$

افزایش وزن روزانه

$$DWG = \frac{(\text{طول دوره پرورش (روز)} - \text{میانگین وزن اولیه (گرم)} - \text{میانگین وزن نهایی (گرم)})}{\text{طول دوره پرورش (روز)}} \times 100 \quad (11)$$

ضریب رشد ویژه

$$SGR = \frac{(\text{طول دوره پرورش (روز)} - \text{لگاریتم وزن اولیه بدن (گرم)} - \text{لگاریتم وزن نهایی بدن (گرم)})}{\text{طول دوره پرورش (روز)}} \times 100 \quad (11)$$

ضریب تبدیل غذایی

$$FCR = \frac{\text{میزان غذای داده شده (گرم)}}{\text{میانگین افزایش وزن خشک بدن (گرم)}} \quad (11)$$

ضریب چاقی

$$CF = \left[\frac{\text{طول ماهی (گرم)}}{\text{وزن ماهی (گرم)}} \right] \times 100$$

نتایج و بحث

آزمون‌های آماری مقاومت به شوری، اختلاف‌های وابسته به سن را مشخص نمود. طبق آزمون تجزیه واریانس یکطرفه (ANOVA Oneway) مقایسه میانگین وزن اولیه و نهایی بچه‌ماهیان در دستجات وزنی در روزهای پرورش تعیین شده در درجات

داده‌های اولیه در نرم‌افزار Excel به‌عنوان بانک اطلاعاتی ذخیره شدند، همه اطلاعات و داده‌ها پس از ثبت در بانک اطلاعاتی با آنالیز واریانس یکطرفه و آزمون دانکن با استفاده از نرم‌افزار SPSS در سطح احتمال ۹۵ درصد مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند.

پرورش ۸۷ روزه (۱۰-۵ گرم)، تیمار D در درجات مختلف شوری اختلاف معنی‌داری نشان نداد ($P>0/05$). اما در سایر روزهای پرورش تعیین شده (۱-۳، ۰/۵-۱) در درجات شوری مختلف بین درصد بازماندگی اختلاف معنی‌داری مشاهده شد ($P<0/05$). نتایج حاصل از آزمون دانکن در محدوده روزهای پرورش ۶۵ (۱-۰/۵ گرم) نشان داد که درصد بازماندگی در شوری‌های ۰/۵-۰ و ۰/۵-۴ گرم در لیتر به طور معنی‌داری بیش‌تر از درجات شوری‌های ۹-۹ و ۱۳-۹ گرم در لیتر بود ($P=0/000$ ، $F=68/800$ ، $df=3$). اساس آزمون دانکن درصد بازماندگی در دامنه دوره‌های پرورش ۸۷ روزه (۱۰-۵ گرم) به طور معنی‌داری بیش‌تر از سایر دامنه‌های روزهای پرورش بود (جدول ۲).

شوری مختلف اختلاف معنی‌داری نشان نداد ($P>0/05$). مقایسه میانگین طول اولیه و ضریب چاقی بچه‌ماهیان در هیچ‌یک از دستجات وزنی تعیین شده در درجات شوری مختلف اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P>0/05$). مقایسه میانگین بیومس اولیه و بیومس نهایی بچه‌ماهیان در هیچ‌یک از دستجات وزنی تعیین شده در درجات شوری مختلف اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید ($P>0/05$). میانگین درصد افزایش وزن و نرخ رشد ویژه بچه‌ماهیان در دستجات وزنی تعیین شده در درجات شوری مختلف اختلاف معنی‌داری نشان نداد ($P>0/05$). مقایسه میانگین نرخ رشد روزانه و افزایش وزن بچه‌ماهیان در هیچ‌یک از دستجات وزنی تعیین شده در درجات شوری مختلف اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P>0/05$). مقایسه میزان بازماندگی بچه‌ماهیان فقط در محدوده روزهای

جدول ۲- شاخص‌های رشد بچه‌ماهی ازون‌برون در اوزان مختلف.

شاخص‌های رشد	طول دوره پرورش ۵۵ روز (وزن ۰/۵-۱ گرم)	طول دوره پرورش ۶۹ روز (وزن ۱-۳ گرم)	طول دوره پرورش ۷۷ روز (وزن ۳-۵ گرم)	طول دوره پرورش ۸۵ روز (وزن ۵-۱۰ گرم)
وزن اولیه (گرم)	۱/۰۱±۰/۰۴	۲/۰۱±۰/۰۵	۱/۰۱±۰/۰۴	۹/۰۷±۰/۳۸
وزن نهایی (گرم)	۱/۵±۰/۰۹	۴/۱±۰/۰۱	۱/۵±۰/۰۹	۱۶/۳±۰/۰۹
طول اولیه (سانتی‌متر)	۱/۱±۰/۰۵	۲/۲±۰/۰۹	۱/۱±۰/۰۵	۱۰/۵±۰/۵۳
طول نهایی (سانتی‌متر)	۱/۷±۰/۰۹	۴/۹±۰/۰۳	۱/۷±۰/۰۹	۱۸/۵±۰/۱
ضریب چاقی	۳۰/۰۴±۳/۷	۳/۴۷±۰/۰۷	۳۰/۰۴±۳/۷	۰/۲۵±۰/۰۰۲
بیوماس اولیه (گرم)	۱۵/۲±۰/۶۸	۳۰/۱±۰/۸۴	۱۵/۲±۰/۶۸	۱۳۶/۰±۵/۷۵
بیوماس نهایی (گرم)	۲۲/۸±۱/۴۸	۶۲/۴±۰/۲۵	۲۲/۸±۱/۴۸	۲۴۵/۹±۱/۴۲
درصد افزایش وزن بدن	۷/۵±۰/۹۳	۳۲/۲±۰/۹۴	۷/۵±۰/۹۳	۱۰۹/۸±۴/۹۰
ضریب رشد ویژه (درصد)	۳/۲۳±۰/۳۱	۶/۰۹±۰/۲۳	۳/۲۳±۰/۳۱	۵/۰۱±۰/۳۲۴
رشد روزانه (گرم)	۴/۰۴±۰/۴۵	۹/۰۵±۰/۴۸	۴/۰۴±۰/۴۵	۷/۰±۰/۵۹
درصد بازماندگی	۸۸/۵±۲/۰۴	۸۳/۶۱±۲/۴۲	۸۸/۵±۲/۰۴	۹۷/۲۲±۰/۴۶۳

نگه داشتن غلظت هموستاتیک پلاسمای الکترولیت‌ها (سدیم، کلسیم و منیزیم) می‌باشد (۸). فدایی و همکاران (۲۰۱۱)، با مقایسه آماری بین شاخص بازماندگی در گروه‌های مختلف وزنی تاس‌ماهی ایرانی ملاحظه نمودند که شاخص بازماندگی در اوزان ۶ تا ۱۰ گرم تقریباً ۲ برابر گروه ۳ تا ۵ گرم و ۲۰ برابر گروه زیر ۳ گرم بوده است. با توجه به نتایج احتمال می‌رود که با افزایش وزن در زمان رهاسازی، شانس بازماندگی آن‌ها افزایش یابد که نتایج حاصل از آن با نتایج به دست آمده در این پروژه مطابقت داشته است (۴).

کرایوشکینا و همکاران (۱۹۹۱)، مشاهده نمودند که مقاومت به شوری در پاروپوزه‌های جوان (*Polyodon spathula*) ۴/۵ ماهه نسبت به ۳ ماهه بیشتر بود. علاوه بر این، مقاومت به شوری در پاروپوزه‌های جوان ۱۳/۵ ماهه نسبت به ۴/۵ ماهه بیشتر بود که نتایج حاصل از آن با نتایج به دست آمده در این پروژه مطابقت داشته است (۶). ویلیوت و همکاران (۱۹۹۸)، دریافتند که این بچه‌تاس‌ماهی سبیری در مرحله انگشت‌قادی (۵-۳ گرمی) قابلیت تحمل شوری‌های مختلف را دارد (۱۴). کلیف و فرانک (۱۹۹۳) نتیجه گرفتند لاروها تا حدی توان سازگاری با آب لب شور را پیدا می‌کنند. این سازگاری فیزیولوژیک ممکن است حاصل الگوهای وراثتی از مولدین طبیعی (وحشی) آن‌ها باشد (۱۵). نتایج والانس و همکاران (۱۹۹۳)، روی تاس‌ماهیان پاروپوزه کوتاه (*Acipenser brevirostrum*) جوان نشان دادند که حد آستانه شوری در این ماهیان ۹ گرم در هزار است که در این شوری مرگ و میر عمده‌ای به‌ویژه در میان جوان‌ترین ماهیان رخ می‌دهد. هم‌چنین آن‌ها بیان نمودند که درصد تلفات با افزایش سن ماهیان کاهش می‌یابد. به طوری که، ماهیان ۲۲ روزه پس از ۴۸ ساعت استقرار در شوری ۹ گرم در هزار،

یکی از مسایل مهم در زمینه رهاسازی بچه‌ماهیان خاویاری موضوع اندازه، سن و روزهای پرورش (وزن) آن‌ها است. تولید بچه‌ماهیان خاویاری و رهاسازی آن‌ها در دریا در برگیرنده هزینه‌های سنگین همراه با مشکلات دیگری مانند تلفات در انتقال بچه‌ماهیان و نامساعد بودن شرایط رودخانه بوده است (۱۲). از طرف دیگر، با توجه به خشکسالی و کمبود آب رودخانه‌های حوضه جنوبی دریای خزر، به‌خصوص در زمان رهاسازی این ماهیان و هم‌چنین صید بچه‌ماهیان در رودخانه، برای بالا بردن درصد بازماندگی بهتر است این ماهیان در دریا رهاسازی شود. طبق بررسی‌های به عمل آمده، به دست آوردن اطلاعات در ارتباط با بازماندگی بچه‌ماهیان خاویاری در زمان رهاسازی دشوار بوده و دقیق نمی‌باشد. ناکافی بودن پژوهش‌ها و اطلاعات در خصوص رهاسازی بچه‌ماهیان خاویاری در مصب رودخانه و دریا و تغییر فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب مانند شوری در حوضچه‌های پرورشی می‌تواند زمینه حذف یا ایجاد شرایط مناسب برای برخی از عوامل بیماری‌زا را فراهم نماید (۱۲). نتایج آزمایش تعیین LC_{50} شوری آب بر روی بچه‌تاس‌ماهیان ایرانی در مدت ۱۲۰ ساعت در اوزان ۱۵۰ میلی‌گرم تا حداکثر ۲/۱ گرم و شوری‌های ۰/۵، ۷ و ۹ گرم در هزار ساخته شده بر اساس مقادیر ترکیبات شیمیایی اعلام شده توسط کرایوشکینا (۱۹۹۹) نشان داد که درصد بازماندگی بچه‌تاس‌ماهیان ۲ گرمی در شوری‌های ۰/۵ و ۹ گرم در هزار بالای ۹۰ درصد بود که نتایج حاصل از آن با نتایج به‌دست آمده در این پروژه مطابقت داشته است (۶). کشتکار لنگرودی و همکاران (۲۰۲۰)، در بررسی مناسب‌ترین وزن بچه‌ماهی ازون‌برون جهت رها کردن به آب لب شور، از نظر الکترولیت‌های پلازما و بافت‌شناسی نشان داد که سیستم تنظیم اسمزی در بچه‌ماهیان با وزن کم در آب شور ناتوان از

اسمولاریته سرم و غلظت یون‌های سدیم، پتاسیم و کلسیم بلافاصله پس از انتقال به آب لب شور افزایش یافته و پس از ۲۴ ساعت به حداکثر مقدار خود رسیدند (۲۰). فارابی و همکاران (۲۰۰۹)، دریافتند که بچه‌تاس‌ماهی ماهی روس در مرحله انگشت‌قدی (۳-۵ گرمی) قابلیت تحمل شوری‌های مختلف را دارد (۲۱).

آزمون‌های آماری مقاومت به شوری، اختلاف‌های وابسته به سن را مشخص نمود. به طوری‌که، با افزایش سن و وزن، مقاومت و سازگاری بچه‌ماهیان به شوری افزایش یافت. بررسی‌های افزایش مقاومت در برابر شوری ماهی ازون‌برون نشان داد که مقاومت در برابر شوری می‌تواند تنها به عنوان عاملی جهت کمک به تعیین زمان رهاسازی این گونه در رودخانه یا سواحل باشد. اما نمی‌تواند برای سایر گونه‌ها با این گونه در مکان‌های جغرافیایی دیگر به طور یقین مناسب باشد. زیرا درجه قابلیت تنظیم اسمزی مورد نیاز برای انتقال موفق ماهی به محیط طبیعی ممکن است در بین گونه‌های مختلف وابسته به عوامل یک مکان معین، مانند آبدهی و شرایط زیستی رودخانه رهاسازی، بزرگی مصب، مقدار غذای طبیعی و غیره که بچه‌ماهیان وارد آن می‌شوند، و نیز ویژگی‌های فیزیولوژیک و ژنتیک گونه متفاوت باشد. نتایج این پژوهش بیانگر این حقیقت است که شاخص شوری نمی‌تواند به طور قطع عامل تعیین‌کننده‌ای برای رهاسازی بچه‌تاس‌ماهیان باشد. زیرا سهم سایر مراحل تطابقی که هم‌زمان با توسعه مکانیزم‌های تنظیم اسمزی ظاهر می‌شوند، را نمی‌توان مستثنی نمود. به‌طورکلی، داده‌ها در ارتباط با مرگ و میر نشان داد کاهش وزن وابسته با بیش‌ترین و کم‌ترین درصد مرگ و میر برای ماهی به ترتیب با دوره‌های پرورش ۵۵ و ۶۹ روزه (۰/۵ گرم و ۳ گرم) می‌باشد. اندام‌های سیستم تنظیم اسمزی ناتوان از ماهی در وزن‌های

۶۰ درصد ولی در ماهیان ۷۶ روزه در شوری ۱۱ گرم در هزار میزان تلفات ۳۳ درصد بود (۱۶). کنت (۱۹۹۵)، نشان داد که اندازه ماهیان در زمان رهاسازی تأثیر قابل‌توجهی در موفقیت رهاسازی بچه‌ماهیان خاویاری دارد. بنابراین باید به‌عنوان اولین فاکتور در برنامه‌های احیاء ذخایر، مدنظر قرار گیرد. در خصوص بهترین اندازه رهاسازی می‌توان گفت که اندازه‌ای از ماهی که بیش‌ترین بازماندگی و در نهایت بیش‌ترین بازگشت شیلاتی را داشته باشد، به عنوان بهترین اندازه رهاسازی قلمداد می‌گردد (۱۷). نتایج حاصل از این پژوهش با یافته‌های کرایوشکینا و همکاران (۱۹۹۶) دریافتند که پاروپوزه‌های جوان با افزایش سن مقاومت بیش‌تری در برابر شوری پیدا می‌کنند (۱۸). ویلیوت و همکاران (۱۹۹۸)، گزارش نمودند که تاس‌ماهیان جوان سبیری قادر به سازگاری تا شوری‌های ۱۲ گرم در هزار می‌باشند (۱۴). کاظمی و همکاران (۲۰۰۲)، در مطالعه روی تنظیم اسمزی و یونی سرم خون تاس‌ماهی ایرانی بالغ و جوان پرورشی در سه محیط مختلف شامل دریای خزر، استخرهای کورانسکی و مخازن پرورشی دریافتند که حداکثر میانگین اسمولاریته سرم خون ماهیان مربوط به دریای خزر و حداقل آن مربوط به مخازن پرورشی بود که خود می‌تواند دلیلی بر قابلیت تنظیم اسمزی این لاروها باشد (۱۳). فارابی و همکاران (۲۰۰۷)، عنوان نمودند غلظت یون سدیم در آب میان بافتی ماهیان آب شور به طور معنی‌داری بیش‌تر از آب میان بافتی ماهیان آب شیرین بود. هم‌چنین ثابت کردند که میزان اسمولاریته بچه‌فیل‌ماهیان نگهداری شده در آب با شوری ۵/۱۲ گرم در هزار بیش‌تر از بچه‌ماهیانی بود که در شوری ۵/۹ گرم در هزار قرار داشتند (۱۹). ژانگ و همکاران (۲۰۰۸)، در مطالعه روی تنظیم اسمزی تاس‌ماهی جوان چینی (*Acipenser sinensis*) طی سازگاری با آب لب شور دریافتند که میزان

ضریب بازگشت شیلاتی را تا یک درصد افزایش دهد. یا این‌که رهاسازی بچه‌ماهیان با وزن‌های بالا سبب در امان ماندن آن‌ها در مقابل شکارچیان طبیعی می‌گردد (۲۴).

کلارک (۱۹۸۲)، بر این باور است که بدون داشتن مکانیزم مرگ و میر بچه‌ماهیان در دریا، هر گونه همبستگی را فقط می‌توان به عنوان شاخص وضعیت ماهی در هنگام رها کرد به حساب آورد. ولی نمی‌توان آن را به عنوان عامل تعیین‌کننده بازگشت ماهیان بالغ در نظر گرفت (۲۵). اگرچه مطالعه حاضر رهاسازی ماهی ازون‌برون در وزن‌های مختلف را تأیید می‌کند، با توجه به شرایط تکثیر مصنوعی، طول دوره پرورش، غذادهی آن‌ها پس از تغذیه فعال، نحوی بارگیری و مکان رهاسازی، وزن و طول رهاسازی باید بیش از حد اعلام شده (بیش از میانگین وزن ۳ گرم و میانگین طول ۸ سانتی‌متر) باشد. زیرا ماهیانی که در هنگام ورود به آب دریا دارای قابلیت تنظیم اسمزی بیش‌تری برخوردار باشند، به همان نسبت دوره سازش با شوری (تنظیم اسمزی خون) را در مدت و محدوده زمانی کم‌تری انجام خواهند داد. بنابراین، این ماهیان بیش‌تر انرژی که باید صرف مبارزه با آب دریا کنند را ذخیره نموده و نسبت به ماهیان کوچک‌تر نیروی کم‌تری را مصرف خواهند نمود. در نتیجه در برابر شکار شدن کم‌تر دچار آسیب می‌شوند و می‌توانند از شکارچیان بگریزند (۲۵). از سوی دیگر، عامل مهم دیگری بر بقاء ماهی در دریا تأثیر داشته که ارتباطی با قابلیت تنظیم اسمزی ندارند که از آن جمله می‌توان به مقدار غذای محیط ماهی و قدرت شنای ماهی اشاره نمود که عامل دوم ارتباط مستقیم با اندازه بدن ماهی دارد. آزمون‌های شاخص شوری در این پژوهش نشان داد که با افزایش سن و اندازه بدن ماهی مقاومت به شوری افزایش می‌یابد. در روزهای نخست بعد از تفریخ، سن و سپس وزن و طول عامل مهم

پایین‌تر و دوره‌های کوتاه پرورش برای نگه داشتن غلظت هموستاتیک پلاسما الکترولیت‌ها (مانند سدیم، کلسیم، و منیزیم) می‌باشد (۸). به طور کلی، می‌توان گفت بهترین دوره پرورش جهت رها کرد بچه‌ماهی ازون‌برون به دریا ۷۷ و ۸۵ (۳ تا ۵ و ۵ تا ۱۰ گرم) می‌باشد که کم‌ترین میزان تلفات از نظر سازگاری با آب لب شور دریای خزر و شوری‌های مختلف (۰-۰/۵، ۰/۵-۴، ۴-۹، ۹-۱۳) را دارد. چرا که وقتی در شوری‌های مختلف قرار گرفتند، مشاهده گردید که درصد تلفات کم‌تری را نسبت به دوره‌های پرورش دیگر ۵۵ و ۶۹ روزه (۰/۵ تا ۱ و ۱ تا ۳ گرم) داشتند. بیش‌ترین درصد تلفات مربوط به دوره‌های پرورش ۵۵ و ۶۹ روزه (۰/۵ تا ۱ گرم و ۱ تا ۳ گرم) می‌باشد که وقتی در شوری‌های مختلف (۰-۰/۵، ۰/۵-۴، ۴-۹ و ۹-۱۳) قرار گرفتند، بیش‌ترین درصد تلفات در شوری‌های بالا (۴-۹ و ۹-۱۳ گرم در هزار) بود. بچه‌ماهی ازون‌برون با دوره پرورش کم‌تر از نظر آنتورنی اندام‌های تنظیم اسمزی توسعه نیافته (آبشش، روده، کلیه و ادرار) و به نوبه خود فراوانی کم‌تری دارد (۸). این معیار، زمانی قابل اجرا خواهد بود که شرایط زیستی، تغذیه‌ای و محیط رها کرد در حد استاندارد باشد. اصلاان پرویز (۱۹۹۸)، بر اساس مطالعات درزاوین و چالیکوف (۱۹۳۲)، چنین گزارش داد که آن‌ها بر پایه اطلاعات مربوط به رشد پتانسیل بچه‌ماهیان خاویاری وزن استاندارد بچه‌ماهیان روس و ازون‌برون با ۳ گرم پیشنهاد داده، متذکر می‌شوند بچه‌ماهیان پرورشی وزن یاد شده باید در طول مدت یک ماه کسب نمایند (۲۲). هم‌چنین منبع فوق از قول سادلف و کبیر (۱۹۶۴)، گزارش کرد که وزن استاندارد بچه‌تاس‌ماهیان رها شده، معادل ۳ گرم فاقد استدلال علمی است که با نتایج حاصل از این پژوهش کاملاً مطابقت دارد (۲۳). برخی از دانشمندان بر این باورند که به‌ازای هر گرم وزن بچه‌ماهیان در زمان رهاسازی

پژوهش‌ها در زمینه میزان زنده ماندن بچه‌ماهیان خاویاری در برابر عوامل اکولوژیک، بهترین زمان برای رهاسازی بچه‌ماهیان ازون برون، گروه سنی ۴۵ روزه، برای بچه‌فیل‌ماهی گروه سنی ۴۵-۳۵ روزه برای بچه‌تاس‌ماهیان روسی، گروه سنی ۵۰-۳۰ روزه می‌باشد (۲۶). با بررسی اطلاعات چندین ساله در زمینه پرورش بچه‌ماهیان خاویاری در شرایط کارگاهی، این نتیجه حاصل شد که استاندارد وزن آن‌ها در کارگاه‌های مختلف متفاوت می‌باشد. به‌طور کلی، هرچه مواد غذایی و شرایط اکولوژیک استخرها نامساعد باشد، در آن صورت مدت زمان پرورش بچه‌ماهیان تا رسیدن به وزن استاندارد طولانی‌تر و در نتیجه شاخص‌های فیزیولوژیک که عامل زنده ماندن آن‌ها در آب‌های طبیعی می‌باشد، آسیب می‌بینند (۲۷، ۲۸). بدین ترتیب، نتایج بررسی‌های هر یک از پژوهش‌گران در زمینه استاندارد سن بچه‌ماهیان خاویاری (ازون‌برون) با نتایج بررسی‌های عملی ما مطابقت داشت.

مقاومت به شوری در بچه‌ماهی ازون‌برون است. این بررسی نشان داد که تکامل و توسعه اندام‌های مؤثر در تنظیم اسمزی سرم خون ماهی ازون‌برون در روزهای ابتدایی پس از تفریخ آغاز و تا ۴۰ تا ۴۲ روز پس از تفریخ تکمیل می‌گردند. با توجه به نتایج به دست آمده از این پژوهش و به شرط مساعد بودن شرایط زیستی، تغذیه‌ای، بارگیری و محیط رهاسازی، به نظر می‌رسد میانگین بهترین دوره پرورش بچه‌تاس‌ماهی ازون‌برون در سواحل استان گیلان به منظور رها کرد به ترتیب ۷۷ و ۸۵ روزه (۳ تا ۵ گرمی) می‌باشد. زیرا زمانی که بچه‌ماهیان به داخل آب لب شور دریای خزر ریخته شدند، بیش‌ترین تلفات در شوری‌های بالا مشاهده گردید و هرچه دوره پرورش بچه‌ماهیان (سن) بالاتر رفت و به دوره‌های پرورش ۷۷ و ۸۵ روزه رسید، درصد تلفات کم‌تر و کم‌تر گردید که این خود دلیل بر تکمیل سیستم اسمزی بچه‌ماهیان در دوره‌های پرورش بالاتر (آبشش، روده و کلیه) می‌باشد و قابلیت سازگاری بچه‌ماهی در دوره‌های پرورش بالاتر بهتر و راحت‌تر شکل می‌گیرد. نتایج

منابع

1. FAO. (2019). The state of world fisheries and aquaculture food and agriculture organization of the United Nations, fisheries and aquaculture department, ROME. 214p.
2. Abdolmaleki, Sh., Jamalzadeh, F., Tavakoli, M., Shakourian, M., Mohseni, M., Jalilpour, J., Bahmani, M., & Sohrabi, T. (2015). Investigating and presenting solutions for sustainable management of sturgeon stocks in the Caspian Sea. The first phase of the International Sturgeon Research Institute. Pp: 145-144. [In Persian]
3. Kazemi, R., Bahmani, M., Hallajian, A., & Yarmohammadi, M. (2006). Blood serum osmotic and ionic regulation of wild adults and reared juvenile Persian sturgeon, *Acipenser persicus*. *IJFS*, 6 (1), 43-56. URL: <http://jifro.ir/article-1-3127-en.html>.
4. Fadaei, B., Pour Kazemi, M., Nezami, Sh., Bahmani, M., Kind, M. R., Parand Avar, H., Imanpour, C., & Joshideh, H. (2011). Investigating the possibility of natural reproduction of sturgeon in the southern basin of the Caspian Sea in Sefidrod River, Iran Fisheries Science Magazine, 8th year. 2, 69-82. [In Persian]
5. Bahmani, M., & Yousefi Jourdehi, A. (2011). The adaptability of 20-day-old larvae of Iranian sturgeon in different salinities. *Iran biology magazine*. 5, 670. [In Persian]
6. Krayushkina, L. S. (1999). Level of development of osmoregulatory system of young sturgeons depends on size and age, In: Biological principles of sturgeon fish farming. Pp: 158-166.

7. Rodríguez, A. M., Gallardo, A., Gisbert, E., Santilari, A., Ibarz, Sánchez, J., & Castell Orvay, F. (2003). Osmoregulation in juvenile Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 26 (4), 345-354. DOI: [10.1023/b:fish.0000009263.83075.68](https://doi.org/10.1023/b:fish.0000009263.83075.68).
8. Keshtkar Langerudi, E., Jamili, S., Ramezani-Fard, E., & Khoshnood, Z. (2020). Research Article: Optimum weight of stellate sturgeon (*Acipenser stellatus*) fingerling to release into brackish water: plasma electrolytes, plasma hormones and histological observation. *IJFS*, 20 (2), 449-462. URL: <http://jifro.ir/article-1-4153-en.html>.
9. Li, P., Wang, X., & Gatlin, D. (2008). RRR- α -Tocopheryl succinate is a less bioavailable source of vitamin E than all-rac- α -tocopheryl acetate for red drum, *Sciaenops ocellatus*. *Aquaculture*, 280, 165-169.
10. Arredondo Figueroa, J. L., Matsumoto Soulé, J. J., & Ponce-Palafox, J. T. (2012). Effects of Protein and Lipids on Growth Performance, Feed Efficiency and Survival Rate in Fingerlings of Bay Snook (*Petenia splendida*). *International Journal of Animal and Veterinary Advances*. 4, 204-213.
11. Ronyai, A., Peteri, A., & Radics, F. (1990). Cross breeding of Sterlet and Lena River's sturgeon. *Aquacult. Hungrica* (Szarwas). 6, 13-18.
12. Abdelghany, A. E., & Ahmad, H. M. (2002). Effects of feeding rate on growth and production of Nile tilapia, common carp and silver carp polyculture in fertilized ponds. *Aquaculture Research*. 33, 415-423.
13. Kazemi, R., Bahmani, M., Halajian, A., & Yarmohammadi, M. (2002). Determining the most appropriate age and weight based on salinity performances for releasing of young Persian sturgeon (*A. persicus*) in the south of Caspian Sea. The Second National and Regional Congress on Sturgeon. 183p. [In Persian]
14. Krayushkina, L. S. (1991). Level of development of osmoregulatory system of young sturgeons depends on size and age. In: Biological principles of sturgeon fish farming. Moscow: Science. Pp: 158-166. [In Russia]
15. Williot, P., Rouault, T., Burn, R., Miossec, G., & Rooryck, O. (1988). Osmoregulation system of Siberian sturgeon. *Aquaculture Review*, 17, 29-32.
16. Cliff, J., & Frank, B. (1993). Fish ecophysiology. Institute of biology, Odens University, Denmark. 421p.
17. Wallace, E. J., Theodore, I. J. S., Louis, D. H., & David, M. K. (1993). The resistance of juvenile *Acipenser brevirostrum* to different salinity and dissolved oxygen concentrations. Proc. Ann. Conf. Southeast. Assoc. Fish and Wildl. 47, 476-484.
18. Kenneth, M. L. (1995). Significance of fish size-at-release on enhancement of striped Mullet fisheries in Hawaii. *Journal of the World Agriculture Society*. 26 (2), 143-145.
19. Krayushkina, L. S., Semenova, O. G., Panova, A. A., & Gerasimove, A. A. (1996). Practical characteristics of osmoregulation system in juvenile. *Paddle fish journal of ichthyology*. 36, 787-793.
20. Farabi, S. M. V., Hajimoradloo, A., & Bahmani, M. (2007). Study on salinity tolerance and some physiological indicators of ion-osmoregulatory system in juvenile beluga, *Huso huso* (Linnaeus, 1758) in the south of Caspian Sea. Effect of age and size. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*. 6, 15-32.
21. Xuguang, H., Zuang, P., Zhang, L., & Xie, C. (2008). Osmoregulation in juvenile Chinensis sturgeon (*Acipenser sinensis*) during brackish water adaptation. *Journal of Fish Physiology and Biochemistry*. 5, 7.
22. Farabi, S. M., Hajimoradloo, A., Bahmani, M., & Ghiasi, M. (2009). Salinity tolerance and ionic/osmotic regulation in juvenile Russian sturgeon, (*Acipenser gueldenstaedti*). 6th International Symposium on Sturgeon. Pp: 15-18.
23. Aslan Parviz, H. (1998). Basics of physiology, ecology and adaptation of sturgeon. Aquatic magazine, seventh issue. Pp: 46-52. [In Persian]

24. Sadlife, K. A., & Parr, Z. M. K. (1964). Current state of artificial reproduction of sturgeon and new technical principles. (in the book *Sturgeon of the Soviet South Seas*). Pp: 176-178.
25. Fadaei, B., Bahmani, M., Parandavar, H., Yasuh, M. R., & Imanpour, Joshideh, H. (2000). Study of the releasing of fingerling sturgeon to Sefidrod river. Final report of project, *Iranian Fisheries Research Institute*. 166p. [In Persian]
26. Clark, W. C. (1982). Evaluation of the seawater challenge test as an index of marine survival. *Journal of Aquaculture*. 28, 177-183.
27. Lukyanenko, V. A., & Popf, A. (1973). Blood serum protein composition of hatchery fish reared in ponds for a long time period. *Handbook of sturgeon reproduction*. Pp: 70-83.
28. Markarov, A. (1964). Evaluation of survival rate of sturgeon fry raised in breeding and rearing workshops of Dan River. *Book of sturgeon of the South Seas of the Soviet Union*. Pp: 140-172.

The effect of simultaneous use of lactic acid and probiotic (*Lactobacillus acidophilus*) on some parameters of growth, carcass quality, and blood parameters in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)

Mohsen Soleymani Iraee¹, Hosein Oraj^{*2}, Sakineh Yeganeh³,
Farid Firouzbakhsh⁴, Abdolsamad Keramat⁵

1. Dept. of Fisheries, Faculty of Animal Sciences and Fisheries, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran. E-mail: keyvan6262@gmail.com
2. Corresponding Author, Dept. of Fisheries, Faculty of Animal Sciences and Fisheries, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran. E-mail: h.oraji@sanru.ac.ir
3. Dept. of Fisheries, Faculty of Animal Sciences and Fisheries, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran. E-mail: s.yeganeh@sanru.ac.ir
4. Dept. of Fisheries, Faculty of Animal Sciences and Fisheries, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran. E-mail: f.firouzbakhsh@sanru.ac.ir
5. Dept. of Fisheries, Faculty of Animal Sciences and Fisheries, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran. E-mail: a.keramat@sanru.ac.ir

Article Info

Article type:
Full Length Research Paper

Article history:

Received: 08.01.2022
Revised: 08.25.2022
Accepted: 11.11.2022

Keywords:

Growth,
Lactic acid,
Probiotic (*Lactobacillus acidophilus*),
Rainbow trout

ABSTRACT

Growth is a very important factor in economic efficiency of fish breeding farms, so its increasing can improve the fish ponds conditions. For this purpose and for studying the synergistic effects of different amounts of lactic Acid and probiotic *Lactobacillus acidophilus* on growth function, corpse quality and some blood factors of *Oncorhynchus mykiss*; 540 fishes with average weight of 15.4 ± 1.2 gr in 9 treatments with 3 repetitions were feed by trial food ration in 8 weeks including Experimental diets include treatment D1 (commercial food without additives), treatment D2 and D3 (diet containing 10^7 and 10^9 CFU/g of probiotics respectively), treatment D4 and D5 (diet containing 0.5% and 1% of feed lactic acid, respectively) treatment D6 and D7 (diet containing respectively 10^7 and 10^9 CFU/g of probiotics along with 0.5% of feed lactic acid), treatment D8 and D9 (diet containing respectively 10^7 and 10^9 CFU/g of probiotics along with 1% of feed acid lactic) were placed. The results showed that the most final weight; weight growth percentage, specific growth, protein efficiency and qualification factor was existed meaning fully in D8, D9 treatment and specially in D9. Conversion factor in D9, treatment was recorded lower than other treatments ($P < 0.05$). No significant difference was recorded in fat, protein, ash and humidity amounts between treatments ($P > 0.05$). The hematocrit level and white blood numbers in D8 and D9 treatments were more than other treatments ($P > 0.05$) but there was no significant difference in red blood and hemoglobin numbers ($P > 0.05$). In total, the results showed that due to the synergistic efficiency of lactic acid and probiotic (*Lactobacillus acidophilus*) together, the use of a ration containing 109 CFU/g of probiotic along with 1% of lactic acid feed in the diet of rainbow trout improved the Growth conditions, carcass composition, and some blood parameters of fish.

Cite this article: Soleymani Iraee, Mohsen, Oraj, Hosein, Yeganeh, Sakineh, Firouzbakhsh, Farid, Keramat, Abdolsamad. 2023. The effect of simultaneous use of lactic acid and probiotic (*Lactobacillus acidophilus*) on some parameters of growth, carcass quality, and blood parameters in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics*, 12 (2), 117-131.



تأثیر استفاده هم‌زمان اسید لاکتیک و پروبیوتیک (*Lactobacillus acidophilus*) بر برخی معیارهای رشد، کیفیت لاشه و پارامترهای خونی در ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

محسن سلیمانی ایرانی^۱، حسین اورجی^{۲*}، سکینه یگانه^۳، فرید فیروزبخش^۴، عبدالصمد کرامت^۵

۱. گروه شیلات، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران. رایانامه: keyvan6262@gmail.com
۲. نویسنده مسئول، گروه شیلات، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران. رایانامه: h.oraji@sanru.ac.ir
۳. گروه شیلات، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران. رایانامه: s.yeganeh@sanru.ac.ir
۴. گروه شیلات، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران. رایانامه: f.firouzbaksh@sanru.ac.ir
۵. گروه شیلات، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران. رایانامه: a.keramat@sanru.ac.ir

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: مقاله کامل علمی- پژوهشی	رشد یک عامل بسیار مهم در بازدهی اقتصادی مزارع پرورش ماهی می‌باشد که افزایش آن می‌تواند به بهبود شرایط در استخرها بیانجامد. برای این منظور و در جهت بررسی اثرات هم‌افزایی سطوح مختلف اسید لاکتیک و پروبیوتیک (<i>Lactobacillus acidophilus</i>) بر عملکرد رشد، کیفیت لاشه و برخی فاکتورهای خونی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) تعداد ۵۴۰ قطعه ماهی با متوسط وزن $1/2 \pm 15/4$ گرم در ۹ تیمار با سه تکرار به مدت هشت هفته تحت تغذیه با جیره‌های آزمایشی شامل تیمار D1 (غذای تجاری فاقد افزودنی)، تیمار D2 و D3 (جیره حاوی به ترتیب 10^9 و 10^7 CFU/g پروبیوتیک)، تیمار D4 و D5 (جیره حاوی به ترتیب ۰/۵ و ۱ درصد خوراک اسید لاکتیک)، تیمار D6 و D7 (جیره حاوی به ترتیب 10^7 و 10^9 CFU/g پروبیوتیک به همراه ۰/۵ درصد خوراک اسید لاکتیک)، تیمار D8 و D9 (جیره حاوی به ترتیب 10^7 و 10^9 CFU/g پروبیوتیک به همراه ۱ درصد خوراک اسید لاکتیک) قرار گرفتند. نتایج نشان داد که بیش‌ترین میزان وزن نهایی، درصد رشد وزنی و رشد ویژه به‌صورت معنی‌داری در تیمارهای D8 و D9 و به‌خصوص در تیمار D9 و تحت تأثیر متقابل اسید لاکتیک و پروبیوتیک بود ($P < 0/05$). ضریب تبدیل در تیمار D9 کم‌تر از سایر تیمارها ثبت گردید ($P < 0/05$). هم‌چنین نتایج نشان داد که اثر متقابل اسید آلی و پروبیوتیک هیچ اختلاف بر مقادیر چربی، پروتئین، خاکستر و رطوبت
تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۵/۱۰ تاریخ ویرایش: ۱۴۰۱/۰۶/۰۳ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۸/۲۰	
واژه‌های کلیدی: اسید لاکتیک، پروبیوتیک (<i>Lactobacillus acidophilus</i>) رشد، قزل‌آلای رنگین‌کمان	

معنی‌دار نبود ($P > 0/05$). اما به‌طور معنی‌داری موجب افزایش مقادیر هماتوکریت و تعداد گلبول‌های سفید در تیمار D8 و D9 گردید ($P < 0/05$) ولی در مقادیر گلبول قرمز و هموگلوبین هیچ تفاوت معنی‌داری مشاهده نگردید ($P > 0/05$). در مجموع نتایج نشان داد که با توجه به بازدهی هم‌افزایی اسید لاکتیک و پروبیوتیک (*Lactobacillus acidophilus*) در کنار هم، استفاده از جیره حاوی 10^9 CFU/g پروبیوتیک به همراه ۱ درصد خوراک اسید لاکتیک در جیره غذایی ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان موجب بهبود شرایط رشد، ترکیب لاشه و برخی پارامترهای خونی ماهی می‌گردد.

استناد: سلیمانی ایرانی، محسن، اورجی، حسین، یگانه، سکینه، فیروزبخش، فرید، کرامت، عبدالصمد (۱۴۰۲). تأثیر استفاده هم‌زمان اسید لاکتیک و پروبیوتیک (*Lactobacillus acidophilus*) بر برخی معیارهای رشد، کیفیت لاشه و پارامترهای خونی در ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). نشریه بهره‌برداری و پرورش آبزیان، ۱۲ (۲)، ۱۳۱-۱۱۷.

DOI: 10.22069/japu.2022.20480.1694



© نویسندگان.

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

مقدمه

امروزه با توجه به روند روزافزون افزایش جمعیت نیاز به منابع پروتئینی بیش‌تر شده است که در میان آبزیان و آبی‌پروری نقش به‌سزایی دارند (۱). با توجه به این افزایش نیاز، فعالیت‌های بخش آبی‌پروری محتاج به افزایش تولید و بهره‌وری در جهت سوددهی بیش‌تر است (۲). بیش از ۷۰ درصد هزینه مزارع پرورش ماهی را جیره‌های غذایی تشکیل می‌دهند. هر گونه بهبود کارایی جیره غذایی می‌تواند در هزینه‌های نهایی و سودآوری مزارع اثربخش باشد (۳). یکی از روش‌های افزایش بهره‌وری در مزارع استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها طی دوره پرورش است که استفاده از آن معایب بسیاری چون مقاومت گونه بیماری‌زا در انسان و ماهی و نیز آلودگی محیط را به‌دنبال دارد (۴، ۵). امروزه راهکارهای فراوانی برای جایگزینی آنتی‌بیوتیک‌ها در مزارع پیشنهاد شده است که یکی از آنها استفاده از مکمل‌های تقویت‌کننده سیستم ایمنی و فراهم‌کننده رشد که سبب مقاومت ماهی در برابر شرایط استرس‌زا نیز می‌شوند در ماهیان می‌باشد (۶). از جمله این مکمل‌های جایگزین می‌توان به پروبیوتیک‌ها و اسیدهای آلی اشاره کرد (۷). اسیدهای آلی ترکیباتی حاوی یک یا چند ساختار کربوکسیلیک (-COOH) هستند که به‌عنوان بهبوددهنده سلامت ماهی و عملکرد ماهی از طریق اثرگذاری بر مدولاسیون میکروفلور روده، فعال شدن پپسین، ترشح پانکراس و افزایش قابلیت هضم پروتئین در جیره غذایی ماهیان به‌کار می‌روند (۸، ۹). مطالعات فراوانی از اثربخشی استفاده از اسیدهای آلی در پرورش Nile tilapia (۱۰)، *Acanthopagrus latus* (۱۱) و *Labeo rohita* (۱۲) گزارش داده‌اند.

از نظر لغوی ریشه کلمه پروبیوتیک یونانی است، اما در واقع این کلمه متشکل از پیشوند لاتین "پرو" و کلمه یونانی باستانی "بایوس" است، ترکیبی لفظی که به معنای "برای زندگی" است. سازمان جهانی بهداشت، این اصطلاح را به ارگانسیم‌های زنده‌ای اطلاق می‌کند که در صورت مصرف به میزان لازم، اثرات سلامت‌بخشی برای میزبان خود فراهم آورند (۱۳). استفاده از پروبیوتیک‌ها در جیره غذایی ماهیان می‌تواند اثرات مفیدی هم‌چون افزایش عملکرد رشد، افزایش کارایی خوراک از طریق بهبود فرایند جذب، افزایش سنتز پروتئین، بهبود مورفولوژی روده، بهبود میکروبیوتای روده، افزایش آنزیم‌های گوارشی، محدود کردن باکتری‌های بیماری‌زا توسط مواد بازدارنده تولیدی و تقویت پاسخ ایمنی و القای سایتوکین‌های پیش التهابی به دنبال داشته باشد (۱۴، ۱۵، ۱۶). طیف وسیعی از باکتری‌ها در فرآورده‌های پروبیوتیکی مورد استفاده قرار می‌گیرند که در این بین لاکتوباسیلوس‌ها از مهم‌ترین گروه‌ها محسوب می‌شوند (۱۷). اما با این وجود باکتری‌ها در محیط گوارش به دلیل توانایی پایین مقاومت در برابر شرایط و ماندگاری کم، کارایی خود را تا حد زیادی از دست می‌دهند (۱۸). اسیدهای آلی با تغییر در شرایط اسیدیته روده محیط را برای فعالیت باکتری‌های پروبیوتیک فراهم نموده و سبب بهبود عملکرد آنها در سلامت و رشد ماهی می‌گردند (۱۹) که این مسأله در بررسی‌های مختلف مانند اسیدیفر و پروبیوتیک در ماهی *Salmotrutta caspius* (۲۰)، بوتریات و پروبیوتیک بر بقای میگوی سفید (۲۱)، اسیدهای آلی میکروکپسوله در بر فاکتورهای زیستی میگوی سفید (۲۲)، افزایش مقاومت و امینی ماهی روهو با استفاده از پروبیوتیک *Lactobacillus plantarum* (۲۳) مورد تأکید قرار گرفته است. با توجه

۰/۱۱ ± ۸/۷۳ میلی‌گرم در لیتر، دما ۱ ± ۱۳/۲۲ درجه سانتی‌گراد و اسیدیته ۰/۲۱ ± ۷/۵۵ با دستگاه مانیتورینگ قابل حمل اندازه‌گیری شد.

تهیه پروبیوتیک: پروبیوتیک مورد استفاده در این پژوهش پروبیوتیک *Lactobacillus acidophilus* از خانواده لاکتوباسیلوس‌ها از شرکت پیشگامان ایرانیان تهیه گردید. به منظور فعالسازی باکتری‌های موردنظر، ترکیب پروبیوتیک تهیه شده را به محیط کشت MRS broth اضافه کرده و به مدت ۲۴ ساعت در دستگاه آن (ساخت کمپانی BINDER آلمان) قرارداد شد. دمای آن در این مدت ۳۷ درجه سانتی‌گراد تثبیت گردید. پس از توسعه و رشد باکتری‌های محیط کشت با استفاده از ساتریفیوژ یخچالدار (CFP-15000، کره جنوبی) با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و در ۵۰۰۰ دور و با شستشو حذف گردید. سپس در انتها با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر سوسپانسیون باکتریایی با غلظت 10^7 و 10^9 جهت استفاده در جیره‌های آزمایشی تیمارهای مختلف آماده گردید (۲۳).

تهیه اسید آلی: اسید آلی مورد استفاده در این پژوهش اسید لاکتیک با نام شیمیایی اسید ۲-هیدروکسی پروپانوئیک با درجه خلوص ۹۵ درصد از شرکت سیگا تهیه گردید.

تهیه جیره‌های آزمایشی: برای تهیه جیره‌های آزمایشی از خوراک پایه قزل‌آلای رنگین‌کمان به کار برده شد. جیره‌های آزمایشی مورد استفاده در این مطالعه در جدول ۱ آورده شده است.

به مطالعات انجام شده و عدم وجود گزارش‌های مطالعاتی کافی مبنی بر تأثیر هم‌افزایی سطوح مختلف اسید لاکتیک و پروبیوتیک (*Lactobacillus acidophilus*)، پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر استفاده توأم این دو ترکیب بر عملکرد رشد، ترکیب لاشه و برخی فاکتورهای خونی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

تیمارهای مورد آزمایش: مطالعه حاضر از تاریخ ۱۳۹۸/۲/۱۵ لغایت ۱۳۹۸/۴/۱۵ به مدت دو ماه انجام گرفت. برای این منظور تعداد ۵۴۰ قطعه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) با میانگین وزن $10 \pm 1/05$ گرم تهیه و در مرکز پرورش ماهیان سردآبی قزل‌کوهپایه واقع در جاده هراز آمل منتقل شدند. ماهیان خریداری شده از نظر بیماری‌های احتمالی و عدم وجود ضایعات مورد ارزیابی بالینی قرار گرفتند و سپس به مدت ۲ هفته اجازه داده شد تا با شرایط آب و محیطی تأسیسات سازگار شوند و طی آن ماهی‌ها با ۲ درصد وزن بدن با جیره غذایی تجاری (کارخانه فرادانه) حاوی ۱۳ درصد چربی، ۲۸ درصد کربوهیدرات، ۳۸ درصد پروتئین، ۱۲ درصد خاکستر، ۲ درصد فیبر و ۱ درصد فسفر تغذیه شدند. سپس ماهی‌ها ($1/2 \pm 15/4$ گرم) به‌طور تصادفی در ۲۷ حوضچه بتنی مستطیلی (۱ مترمکعب) با ورودی آب ۲ لیتر در ثانیه و ۲۰ ماهی در هر استخر (۶۰ ماهی در هر تیمار) توزیع شدند. خواص فیزیکی‌شیمیایی آب، یعنی مقادیر متوسط اکسیژن

جدول ۱- جیره‌های مختلف غذایی مورد استفاده در طول دوره آزمایشی.

نام تیمار	مشخصات
D1	جیره غذایی استاندارد بدون اسید آلی و پروبیوتیک
D2	جیره غذایی استاندارد همراه پروبیوتیک با غلظت 10^7 CFU/g
D3	جیره غذایی استاندارد همراه پروبیوتیک با غلظت 10^9 CFU/g
D4	جیره غذایی استاندارد همراه اسید لاکتیک به میزان ۰/۵ درصد خوراک
D5	جیره غذایی استاندارد همراه اسید لاکتیک به میزان ۱ درصد خوراک
D6	جیره غذایی استاندارد همراه پروبیوتیک با غلظت 10^7 CFU/g و اسید لاکتیک به میزان ۰/۵ درصد خوراک
D7	جیره غذایی استاندارد همراه پروبیوتیک با غلظت 10^9 CFU/g و اسید لاکتیک به میزان ۰/۵ درصد خوراک
D8	جیره غذایی استاندارد همراه پروبیوتیک با غلظت 10^7 CFU/g و اسید لاکتیک به میزان ۱ درصد خوراک
D9	جیره غذایی استاندارد همراه پروبیوتیک با غلظت 10^9 CFU/g و اسید لاکتیک به میزان ۱ درصد خوراک

جهت افزودن اسید آلی و پروبیوتیک به جیره‌های آزمایشی از اسپری روغن به میزان ۲۰ میلی‌گرم/کیلوگرم خوراک استفاده گردید (۶). به جیره شاهد تنها روغن خالی اسپری شد. ماهیان در تیمارهای مختلف به میزان ۲ درصد و سه مرتبه در شبانه‌روز (ساعات ۷، ۱۲ و ۱۶) تغذیه گردیدند. حوضچه‌های نگهداری جهت حفظ سلامت و بهداشت ماهیان به‌طور مداوم سیفون و نظافت شدند.

بررسی پارامترهای رشد: در ابتدا و انتهای دوره طول و وزن ماهیان به دقت اندازه‌گیری و ثبت گردید. پارامترهای رشد و تغذیه با استفاده از روابط زیر به‌دست آمد (۱۷، ۲۴).

افزایش وزن بدن (درصد) (WG %) = ((متوسط وزن نهایی به گرم - متوسط وزن ابتدایی به گرم) / وزن ابتدایی به گرم) × ۱۰۰

ضریب رشد ویژه (SGR) = ((لگاریتم طبیعی متوسط وزن نهایی به گرم - لگاریتم طبیعی متوسط وزن ابتدایی به گرم) / طول دوره به روز) × ۱۰۰

ضریب تبدیل غذایی (FCR) = غذای مصرف شده به گرم / افزایش وزن به دست آمده به گرم

شاخص وضعیت (CF %) = ((افزایش وزن به گرم / طول به سانتی متر^۳) × ۱۰۰

ترکیبات تقریبی لاشه: بدین منظور در انتهای آزمایش از هر تانک سه ماهی به‌طور تصادفی انتخاب و پس از حذف باله و دم و چرخ کردن عضله، میزان پروتئین به روش کلدال، چربی از طریق حل کردن آن در اتر و به روش سوکسله، خاکستر از طریق قرار دادن قرار دادن نمونه‌ها در کوره الکتریکی و رطوبت لاشه به

شاخص‌های وزن نهایی، SGR و درصد افزایش وزن بین تیمارهای آزمایشی دارای اختلاف معنی‌داری بودند ($P < 0/05$). این مقادیر در تیمار D9 بیش‌تر بود. در این تیمار FCR دارای اختلاف معنی‌داری با سایر جیره‌ها و کم‌تر از آن‌ها ثبت گردید. در میزان ثبت شده برای CF هیچ اختلاف معنی‌داری بین تیمارها ثبت نگردید ($P > 0/05$) اما در این بین مقدار فاکتور وضعیت در تیمار D9 بیش‌تر از سایر تیمارها بود.

همان‌طور که در جدول ۳ نیز مشاهده می‌گردد هیچ اختلاف معنی‌داری در آنالیز واریانس دوطرفه نتایج اثر اصلی اسید آلی، اثر اصلی پروبیوتیک *L. acidophilus* و اثر متقابل آن‌ها در بین تیمارها در مقادیر چربی، پروتئین، خاکستر و رطوبت ثبت نگردید ($P > 0/05$).

پارامترهای خونی: همان‌طور که در بررسی برخی پارامترهای خونی مشاهده می‌گردد (جدول ۴) آنالیز واریانس دوطرفه نتایج نشان داد که اثر اصلی اسید آلی، اثر اصلی پروبیوتیک *L. acidophilus* و اثر متقابل آن‌ها بر شاخص‌های WBC و هماتوکریت بین تیمارهای آزمایشی دارای اختلاف معنی‌داری بودند ($P < 0/05$). میزان هماتوکریت در تیمارهای تغذیه شده با جیره غذایی استاندارد همراه پروبیوتیک با غلظت 10^9 CFU/g و اسید لاکتیک به میزان ۱ درصد خوراک به‌صورت معنی‌داری بیش از سایر تیمارها ثبت گردید. تیمارهای تغذیه شده با پروبیوتیک و اسید آلی به‌صورت هم‌زمان از تیمارهای شاهد و D2-D5 مقدار بیش‌تری از WBC را به ثبت رسانیدند که در این میان تیمار D9 دارای بالاترین میزان بود. اما در پارامترهای گلبول قرمز و هموگلوبین هیچ تفاوت معنی‌داری بین جیره‌های مختلف ثبت نگردید ($P > 0/05$).

روش خشک کردن نمونه‌ها در آون در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت با استفاده از روش‌های استاندارد (AOAC, 2000) انجام می‌گیرد (۲۵).

سنجش فاکتورهای خونی: در انتهای دوره تحقیقاتی با استفاده از گل میخک ماهیان بیهوش و از هر تکرار ۷ ماهی برداشت و از ساقه دمی آن‌ها اقدام به خونگیری گردید. جهت تعیین شاخص‌های خونی از روش‌های ارائه شده توسط هوستون به شرح زیر استفاده گردید (۲۶).

تعداد گلبول‌های قرمز و سفید (WB) با استفاده از لام نئوبار، هماتوکریت با استفاده از دستگاه میکروسانتریفیوژ، هموگلوبین با استفاده از کیت هموگلوبین و دستگاه اسپکتروفوتومتر تعیین شدند.

روش‌های آماری: با توجه به این‌که در این مطالعه سه سطح اسید آلی (۰، ۰/۵ و ۱ درصد خوراک) و سه سطح پروبیوتیک (۰، 10^7 و 10^9 در واحد CFU/g) به‌کار برده شدند تجزیه تحلیل آماری داده‌ها به روش آنالیز واریانس دوطرفه (Two Way ANOVA) و در قالب طرح فاکتوریل (3×3) انجام گرفت. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون آماری دانکن و در سطح معنی‌داری ۵ درصد ($P < 0/05$) از طریق نرم‌افزارهای SPSS و EXCEL استفاده شد. تمامی داده‌ها به‌صورت میانگین \pm انحراف معیار بیان شدند.

نتایج

پارامترهای رشد: نتایج مقایسه میانگین پارامترهای رشد تیمارهای مختلف در جدول ۲ آورده شده است. همان‌گونه که مشاهده می‌گردد آنالیز واریانس دوطرفه نتایج نشان داد که اثر اصلی اسید آلی، اثر اصلی پروبیوتیک *L. acidophilus* و اثر متقابل آن‌ها بر

جدول ۲- مقایسه میانگین برخی پارامترهای رشد در ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان تغذیه شده با جیره‌های غذایی آزمایشی.

CF%	FCR	SGR	WG% (g)	وزن نهایی (گرم)	وزن اولیه (گرم)	اسید آلی (درصد در خوراک)	باکتری CFU/g	تیمارها
۱/۲۷ ± ۰/۱۸	۱/۴۱ ± ۰/۱ ^c	۲/۲۶ ± ۰/۲۷ ^a	۲۹۰/۱ ± ۱۶/۲۲ ^a	۶۱/۲۳ ± ۲/۱ ^a	۱۵/۷ ± ۰/۹۲	۰	۰	D1
۱/۲۸ ± ۰/۳۵	۱/۳۵ ± ۰/۱ ^{bc}	۲/۲۸ ± ۰/۱۸ ^a	۲۹۴/۱۶ ± ۱۹/۳۶ ^b	۶۳/۵ ± ۲/۱۸ ^b	۱۶/۱۱ ± ۱/۱۰۲	۰	۱۰ ^v	D2
۱/۳۲ ± ۰/۲۹	۱/۲۹ ± ۰/۱۲ ^b	۲/۳۵ ± ۰/۲۲ ^{ab}	۳۱۰/۹۸ ± ۲۲/۱ ^c	۶۵/۸۴ ± ۲/۶۸ ^c	۱۶/۰۲ ± ۱/۱۲	۰	۱۰ ^g	D3
۱/۲۸ ± ۰/۱	۱/۳۷ ± ۰/۰۸ ^{bc}	۲/۲۸ ± ۰/۱۹ ^a	۲۹۴/۹۵ ± ۱۸/۹ ^{bc}	۶۲/۶ ± ۲/۴۵ ^{ab}	۱۵/۸۵ ± ۰/۷۵	۰/۵	۰	D4
۱/۳۱ ± ۰/۳۴	۱/۳۳ ± ۰/۰۷ ^{bc}	۲/۲۹ ± ۰/۳۸ ^a	۲۹۶/۹۱ ± ۱۷/۴۵ ^c	۶۳/۱۱ ± ۲/۸ ^{ab}	۱۵/۹ ± ۱/۱	۱	۰	D5
۱/۳۳ ± ۰/۳۱	۱/۲۴ ± ۰/۱۲ ^b	۲/۳۹ ± ۰/۰۸ ^{ab}	۳۲۱/۲۸ ± ۱۸/۶۲ ^d	۶۸/۲۹ ± ۳/۱۲ ^d	۱۶/۲۱ ± ۰/۶۷	۰/۵	۱۰ ^v	D6
۱/۳۴ ± ۰/۲۵	۱/۱۷ ± ۰/۰۶ ^{ab}	۲/۴۶ ± ۰/۱۵ ^{ab}	۳۳۷/۶۸ ± ۲۱/۳ ^c	۷۱/۷۸ ± ۲/۷۵ ^c	۱۶/۴ ± ۰/۹۵	۰/۵	۱۰ ^g	D7
۱/۳۶ ± ۰/۲۱	۱/۱۳ ± ۰/۰۷ ^{ab}	۲/۵۸ ± ۰/۱۲ ^b	۳۷۰/۵۳ ± ۲۱/۷ ^f	۷۳/۴۵ ± ۳/۳۲ ^c	۱۵/۶۲ ± ۱/۱	۱	۱۰ ^v	D8
۱/۳۸ ± ۰/۲۲	۱/۰۹ ± ۰/۰۴ ^a	۲/۶۱ ± ۰/۲ ^b	۳۸۱/۵ ± ۲۴/۲۵ ^e	۷۷/۰۳ ± ۳/۰۲ ^f	۱۵/۷۹ ± ۱/۱۱۵	۱	۱۰ ^g	D9
آنالیز واریانس دوطرفه								
Ns	*	*	*	*	اثر اصلی اسید آلی			
Ns	*	*	*	*	اثر اصلی پروبیوتیک <i>L. acidophilus</i>			
Ns	*	*	*	*	اثر متقابل پروبیوتیک و اسید لاکتیک			

همه داده‌ها به صورت میانگین ± خطای استاندارد میانگین (sd) بیان شده‌اند. نتایج با حروف انگلیسی متفاوت در ستون‌های یکسان نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار آماری در بین تیمارها می‌باشند ($P < 0/05$). در قسمت آنالیز واریانس دوطرفه Ns: عدم اختلاف معنی‌داری و *: اختلاف معنی‌داری در سطح ۰/۵

جدول ۳- مقایسه میانگین ترکیبات تقریبی لاشه در ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان تغذیه شده با جیره‌های غذایی آزمایشی.

خاکستر	رطوبت	پروتئین	چربی	اسید آلی (درصد در خوراک)	باکتری CFU/g	تیمارها
۳/۱۳ ± ۰/۲۱	۷۲/۱۱ ± ۵/۱	۱۵/۹۸ ± ۱/۷۵	۷/۰۳ ± ۰/۵۳	۰	۰	D1
۳/۱۸ ± ۰/۱۲	۷۱/۵۸ ± ۴/۱	۱۶/۲۵ ± ۱/۶۷	۶/۸۳ ± ۰/۴۴	۰	۱۰ ^v	D2
۳/۴۸ ± ۰/۲	۷۲/۰۱ ± ۴/۶	۱۶/۸۲ ± ۱/۰۱	۶/۱۴ ± ۰/۴۴	۰	۱۰ ^g	D3
۳/۱۴ ± ۰/۳	۷۱/۴۱ ± ۵/۴	۱۷/۰۱ ± ۱/۵	۶/۶۲ ± ۰/۵۶	۰/۵	۰	D4
۳/۷۴ ± ۰/۳۱	۷۱/۱ ± ۳/۸	۱۷/۱۳ ± ۱/۱	۶/۸۵ ± ۰/۴۱	۱	۰	D5
۳/۱۵ ± ۰/۴	۷۲/۲۲ ± ۴/۷۵	۱۷/۳۴ ± ۱/۷۵	۶/۳۸ ± ۰/۵۲	۰/۵	۱۰ ^v	D6
۳/۶۳ ± ۰/۱۳	۷۲/۶۵ ± ۵/۷۴	۱۶/۳۵ ± ۰/۸۱	۶/۸۳ ± ۰/۶۴	۰/۵	۱۰ ^g	D7
۳/۸۶ ± ۰/۴۵	۷۱/۹۴ ± ۵/۶۷	۱۷/۶۱ ± ۱/۶۵	۶/۸۷ ± ۰/۳۲	۱	۱۰ ^v	D8
۳/۶۴ ± ۰/۵۸	۷۱/۸۴ ± ۳/۸۱	۱۷/۹۷ ± ۱/۸۶	۶/۰۳ ± ۰/۵۵	۱	۱۰ ^g	D9
آنالیز واریانس دوطرفه						
Ns	Ns	Ns	Ns	اثر اصلی اسید آلی		
Ns	Ns	Ns	Ns	اثر اصلی پروبیوتیک <i>L. acidophilus</i>		
Ns	Ns	Ns	Ns	اثر متقابل پروبیوتیک و اسید لاکتیک		

همه داده‌ها به صورت میانگین ± خطای استاندارد میانگین (sd) بیان شده‌اند. نتایج با حروف انگلیسی متفاوت در ستون‌های یکسان نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار آماری در بین تیمارها می‌باشند ($P < 0/05$). در قسمت آنالیز واریانس دوطرفه Ns: عدم اختلاف معنی‌داری و *: اختلاف معنی‌داری در سطح ۰/۵

تأثیر استفاده هم‌زمان اسید لاکتیک و پروبیوتیک ... / محسن سلیمانی ایرانی و همکاران

جدول ۴- مقایسه میانگین برخی پارامترهای خونی در ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با جیره‌های غذایی آزمایشی.

تیماها	باکتری CFU/g	اسید آلی (درصد در خوراک)	گلبول قرمز	هموگلوبین	هماتوکریت	WBC
D1	۰	۰	۱/۳ ± ۰/۰۵	۹/۱ ± ۱/۱	۳۴/۱ ± ۲/۸ ^a	۲۰/۴۵ ± ۱,۳۸ ^a
D2	۱۰ ^۷	۰	۱/۳۲ ± ۰/۰۵	۹/۴۳ ± ۰/۹۸	۳۵/۳۴ ± ۱/۷ ^{ab}	۲۴/۸۲ ± ۱,۳۵ ^c
D3	۱۰ ^۹	۰	۱/۳۵ ± ۰/۰۶	۹/۴۸ ± ۰/۹	۳۵/۰۹ ± ۲/۱ ^{ab}	۲۶/۳۱ ± ۱,۳۹ ^{cd}
D4	۰	۰/۵	۱/۳۱ ± ۰/۰۷	۹/۸۱ ± ۱/۱۴	۳۵/۶۴ ± ۱/۸ ^b	۲۲/۸۷ ± ۱/۴۷ ^b
D5	۰	۱	۱/۳۱ ± ۰/۰۶	۹/۷۴ ± ۱/۲	۳۵/۰۴ ± ۱/۴۵ ^{ab}	۲۲/۳۸ ± ۱/۴۲ ^b
D6	۱۰ ^۷	۰/۵	۱/۳۳ ± ۰/۰۴	۹/۷۳ ± ۰/۹۶	۳۵/۹۴ ± ۱/۲۲ ^{bc}	۲۶/۸۵ ± ۱/۵۶ ^d
D7	۱۰ ^۹	۰/۵	۱/۳۵ ± ۰/۰۷	۹/۵۷ ± ۰/۷۵	۳۵/۸۹ ± ۲/۹ ^{bc}	۲۷/۳۴ ± ۱/۵۵ ^d
D8	۱۰ ^۷	۱	۱/۳۵ ± ۰/۰۸	۹/۷۲ ± ۰/۰۶	۳۷/۰۳ ± ۱/۵ ^{bc}	۲۷/۱۲ ± ۱/۴۵ ^d
D9	۱۰ ^۹	۱	۱/۴ ± ۰/۰۸	۹/۹۵ ± ۰/۰۲	۳۷/۴۲ ± ۱/۵ ^c	۲۷/۸۱ ± ۱/۵۳ ^d
آنالیز واریانس دو طرفه						
اثر اصلی اسید آلی						
*	*	Ns	Ns			
اثر اصلی پروبیوتیک <i>L. acidophilus</i>						
*	*	Ns	Ns			
اثر متقابل پروبیوتیک و اسید لاکتیک						
*	*	Ns	Ns			

همه داده‌ها به صورت میانگین \pm خطای استاندارد میانگین (sd) بیان شده‌اند. نتایج با حروف انگلیسی متفاوت در ستون‌های یکسان نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار آماری در بین تیمارها می‌باشند ($P < 0/05$). در قسمت آنالیز واریانس دو طرفه Ns: عدم اختلاف معنی‌داری و * : اختلاف معنی‌داری در سطح ۰/۵

بحث

در جیره غذایی ماهیان قزل‌آلای انگشت‌قد موجب بهبود معنی‌دار برخی پارامترهای رشد و خونی در آن‌ها می‌گردد که این بهبود و افزایش در ماهیان تغذیه شده با جیره غذایی حاوی پروبیوتیک با غلظت 10^9 CFU/g و اسید لاکتیک به میزان ۱ درصد خوراک بیش‌تر از سایر تیمارها ثبت گردید. در مطالعات مختلف بر اهمیت استفاده از پروبیوتیک در رشد و سلامت ماهیان تاکید شده است. چوبکار و همکاران در سال ۱۳۹۷ طی مطالعه‌ای دریافتند که استفاده از جیره غذایی حاوی چهار با 10^8 CFU/g تأثیر معنی‌داری بر سطح پروتئین لاشه ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان خواهد داشت (۲۸). در مطالعه‌ای دیگر توسط نرگسی و همکاران (۱۳۹۶) بیان شد که افزودن ۲ گرم در کیلوگرم جیره پروبیوتیک بیواکوا در خوراک ماهی قزل‌آلا موجب افزایش وزن نهایی،

پرورش‌دهندگان آبی با معضلات و مشکلات فراوانی در مزارع خود مواجه هستند که در اکثر مواقع برای مقابله با تلفات ناشی از این معضلات اقدام به مصرف آنتی‌بیوتیک‌های شیمیایی می‌نمایند که در نهایت این امر موجب پیامدهای بهداشتی متعدد در ماهی و انسان می‌گردد. امروزه جهت مقابله با این پیامدها، حذف آنتی‌بیوتیک‌های شیمیایی از مزارع پرورش ماهی، مقابله با عوامل بیماری‌زا، تقویت ایمنی، حذف استرس و بهبود رشد و سلامت ماهی روش‌های مختلفی هم‌چون استفاده از اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی، پروبیوتیک‌ها، اسیدهای آلی و ... به‌کار برده می‌شود (۲۷). همان‌گونه که در مطالعه حاضر مشاهده گردید استفاده هم‌زمان از پروبیوتیک *Lactobacillus acidophilus* و اسید آلی لاکتیک

مرتبط با افزایش ساخت و ساز ویتامین‌ها، کوفاکتورها و بهبود فرایند هضم و جذب دانست. در کنار استفاده از پروبیوتیک در جیره غذایی آبزیان استفاده از اسیدهای آلی نیز در مطالعات مختلف موجب بهبود پارامترهای رشد گردیده است (۳۷، ۳۸). در یک آزمایش ۸ هفته‌ای ماهیان *Acanthopagrus schlegelii* در معرض مقادیر ۰/۱ و ۰/۸ درصد جیره اسید آلی lauric قرار گرفتند (۳۹). نتایج نشان داد که استفاده از LA در جیره ماهیان با توجه به یافته‌های این مطالعه، رژیم غذایی مکمل LA به وسیله قابلیت آنتی‌اکسیدانی، میکروبیوتای روده و سلامت روده رشد ماهی را بهبود می‌بخشد. در مطالعه‌ای مشابه ماهیان *Clarias garipenus* به مدت هشت هفته با جیره‌های حاوی ۰، ۲، ۴ و ۶ میلی‌لیتر اسید آلی مرکب از اسید فرمیک و اسید فسفریک در هر کیلوگرم خوراک تغذیه گردیدند (۴۰). در داده‌های به دست آمده مشاهده گردید که گروه ماهی تغذیه شده با ۰/۶ درصد اسیدهای آلی بیش‌ترین افزایش وزن کل، نرخ رشد ویژه، بهترین ضریب تبدیل خوراک، نسبت راندمان خوراک و بالاترین راندمان پروتئین را نسبت به بقیه گروه‌های آزمایشی نشان داده‌اند. اسیدهای آلی دارای جایگاه ویژه‌ای در صنعت آبزی‌پروری هستند زیرا با تأثیر بر تعادل باکتریایی روده و بهبود شرایط آنزیمی و هضم موجب افزایش رشد ماهی می‌گردد (۴۱). اسیدهای آلی می‌توانند با کاهش pH روده و تأثیر بر سیتوپلاسم میکروبی شده و محدود کردن عوامل بیماری‌زای روده سبب افزایش جمعیت مفید باکتری‌های روده میزبان و افزایش کارایی سیستم ایمنی و عملکرد تغذیه‌ای گردند (۴۲). هم‌چنین در اوزان پایین‌تر ماهی به دلیل مصرف بالای خوراک و دریافت فراوان پروتئین میزان غلظت اسید هیدروکلریک معده کاهش یافته که این امر موجب اختلال در

ضریب رشد ویژه و کاهش ضریب تبدیل در آن‌ها می‌گردد (۲۹). نتایج مطالعه‌ای دیگر نشان داد ماهیان قزل‌آلایی که با ۷ درصد وزن غذا لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس باعث افزایش نرخ رشد ویژه و درصد افزایش وزن در بچه‌ماهیان کپور معمولی شد که اختلاف معنی‌داری با شاهد داشت و در پایان دوره پرورش، پروبیوتیک به میزان ۷ درصد وزن غذا باعث افزایش نرخ بازماندگی شد (۳۰). Aisyah و همکاران (۲۰۲۰) در نتایج بررسی خود بیان داشتند که استفاده از سویه‌های باکتری *Enterobacter*، *Saccharomyces*، *Lactococcus* و *Aeromonas* در جیره غذایی ماهیان *Nilasa strain* موجب بهبود فاکتورهای رشد در آن‌ها می‌گردد (۳۱). نتایج مشابهی برای بهبود عملکرد رشد در ماهیان *Red Hybrid Tilapia* با *Oreochromis niloticus* و *Labeo rohita* استفاده از سویه‌های مختلف باکتری به دست آمده است (۳۲، ۳۳، ۳۴). باکتری‌های پروبیوتیک می‌توانند با ساکن شدن در روده و اتصال به آن اثرات مفید و متعدد خود را اعمال کنند (۳۵). آن‌ها می‌توانند تعادل باکتریایی روده را بهبود ببخشند تولید شمار زیادی از آنزیم‌های هضم‌کننده، از جمله آمیلازها، پروتئازها و لیپازها می‌توانند سبب افزایش فرایند هضم گردد (۳۶). پروبیوتیک‌ها از طریق مکانیسم‌های خاصی مانند تولید ترکیبات مهارکننده، رقابت برای مواد شیمیایی و انرژی موجود و بهبود و افزایش پاسخ ایمنی باعث کاهش عوامل بیماری‌زا و افزایش نرخ بقا در ماهیان می‌شوند (۳۶). یکی دیگر از عملکردهای اثرگذار مطلوب پروبیوتیک‌ها تولید و ترشح انواع ویتامین‌ها، استات و لاکتات بوده که این مواد از طریق جریان خون به کبد منتقل شده و به عنوان مواد غذایی باعث بهبود رشد در میزبان می‌شوند (۳۶). در کل افزایش رشد ماهی در نتیجه استفاده از پروبیوتیک را می‌توان

نشان داد که میزان همانوکریت و WBC ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی ترکیبی از اسید آلی و پروبیوتیک به‌صورت معنی‌داری بیش‌تر از سایر تیمارها ثبت گردید. اما در نتایج به‌دست آمده برای گلبول قرمز و هموگلوبین هیچ تفاوت معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نگردید. شاخص‌های خونی در ماهیان می‌تواند تحت‌تأثیر عوامل مختلفی مانند سن، نژاد، گونه، تغذیه، شرایط محیطی، شرایط فیزیولوژیکی، کیفیت جیره غذایی، ترکیبات و میزان پروتئین جیره و ویتامین‌ها و بسیاری عوامل دیگر قرار گیرد (۳۱) و این عوامل می‌توانند موجب تفاوت در مقادیر این پارامترها باشند. در مطالعات مختلفی نتایج نشان داد که استفاده از اسیدهای آلی و پروبیوتیک موجب بهبود پارامترهای خونی و افزایش گلبول سفید در آن‌ها می‌گردد (۲۳، ۳۲، ۳۵).

نتیجه‌گیری

مطالعه حاضر نشان داد که استفاده هم‌زمان از سطوح مختلف اسید آلی لاکتیک و پروبیوتیک *Lactobacillus acidophilus* موجب بهبود پارامترهای رشد و برخی پارامترهای خونی و مقدار WBC در خون ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌گردد. در صنعت آبزی‌پروری بازدهی اقتصادی مزارع و پایین آوردن ضریب تبدیل و بهبود عملکرد رشد از اهمیت بالایی برخوردار است که در نتایج مطالعه حاضر مشاهده گردید افزودن ترکیب مذکور به جیره ماهیان می‌تواند در این امر دخیل باشد. البته نتایج قطعی‌تر برای این مسأله نیازمند مطالعات بیش‌تر و گسترده‌تری می‌باشد.

کارکرد آنزیم‌های پپسین و پانکراتیک و در نهایت کاهش هضم غذا و رشد می‌گردد که می‌توان با افزودن اسیدهای آلی به جیره غذایی این معضلات را برطرف نمود (۴۳). لازم به ذکر است سلول‌های اپتلیال روده می‌توانند از انرژی اسیدهای آلی بهره‌برده و با افزایش رشد بیش‌تر سلول‌های انتروسیت و اندازه ریزپررها روده سطح جذب و کارایی هضم افزایش پیدا کند (۴۴). در مطالعاتی بیان شده است که اسیدهای آلی می‌توانند عملکرد پروبیوتیک را در بدن موجود زنده بهبود ببخشند (۴۵، ۴۶، ۴۷). در مطالعه حاضر نیز بیش‌ترین میزان رشد در نمونه‌های تغذیه شده با جیره غذایی حاوی اسید آلی و پروبیوتیک مشاهده گردید که این امر می‌تواند به دلیل فراهم کردن شرایط متعادل برای فعالیت پروبیوتیک‌ها در روده ماهی توسط اسیدهای آلی باشد. ترکیب شیمیایی بدن ماهی به عوامل مختلفی بستگی دارد مانند گونه ماهی، نوع خوراک، مقدار خوراک، درصد تغذیه، فرمولاسیون خوراک و دمای آب (۴۸). در مطالعه ما نیز مقادیر چربی، پروتئین، خاکستر و رطوبت هیچ تفاوت معنی‌داری را بین تیمارها به ثبت نرساندند اما همان‌طور که در نتایج مشاهده گردید تیمار تغذیه شده با پروبیوتیک با غلظت 10^9 CFU/g و اسید لاکتیک به میزان ۱ درصد خوراک کم‌ترین میزان چربی و بیش‌ترین میزان پروتئین عضله را داشت که نشان از کیفیت بهتر آن نسبت به سایر گروه‌ها خواهد بود. پارامترهای خون و تغییرات در مقادیر Hc، RBC، Hb و WBC شاخص‌های مناسب برای ارزیابی سلامت ماهی و ایمنی و بررسی سطح انتقال اکسیژن خون در پاسخ به جایگزینی ترکیبات درمانی شیمیایی با ترکیبات طبیعی می‌باشند (۴۹). نتایج این مطالعه

منابع

1. Henriksson, P. J. G., Troell, M., Banks, L. K., Belton, B., Beveridge, M. C., Klinger, D. H., Pelletier, N., Phillips, M. J., & Tran, J. (2021). Interventions for improving the productivity and environmental performance of global aquaculture for future food security. *One Earth*. 4 (9), 1220-1232.
2. Arechavala-Lopez, P., Cabrera-Álvarez, M. J., Maia, C. M., & Saraiva, J. L. (2021). Environmental enrichment in fish aquaculture: A review of fundamental and practical aspects. *Reviews in Aquaculture*. 14 (2), 704-728.
3. Munguti, J., Obiero, K., Odame, H., Kirimi, J., Kyule, D., Ani, N., & Liti, D. (2021). Key limitations of fish feeds, feed management practices, and opportunities in Kenya's aquaculture enterprise. *African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development*. 21 (2), 17416-17434.
4. Okeke, E. S., Chukwudozie, K. I., Nyaruaba, R., Ita, R. E., Oladipo, A., Ejeromedoghene, O., Atakpa, E. O., Agu, C. V., & Okoye, C. O. (2022). Antibiotic resistance in aquaculture and aquatic organisms: a review of current nanotechnology applications for sustainable management. *Environmental Science and Pollution Research*. 29, 69241-69274.
5. Baba, E., Acar, Ü., Yılmaz, S., Zemheri, F., & Ergün, S. (2018). Dietary olive leaf (*Olea europaea* L.) extract alters some immune gene expression levels and disease resistance to *Yersinia ruckeri* infection in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Fish & shellfish immunology*. 79, 28-33.
6. Farsani, M. N., Hoseinifar, S. H., Rashidian, G., Farsani, H. G., Ashouri, G., & Van Doan, H. (2019). Dietary effects of *Coriandrum sativum* extract on growth performance, physiological and innate immune responses and resistance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) against *Yersinia ruckeri*. *Fish & shellfish immunology*. 91, 233-240.
7. Addam, K. G. S., Pereira, S. A., Jesus, G. F. A., Cardoso, L., Syracuse, N., Lopes, G. R., Lehmann, N. B., da Silva, B. C., de Sá, L. S., & Chaves, F. C. M. (2019). Dietary organic acids blend alone or in combination with an essential oil on the survival, growth, gut/liver structure and de hemato-immunological in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture Research*. 50 (10), 2960-2971.
8. Koh, C. B., Romano, N., Zahrah, A. S., & Ng, W. K. (2016). Effects of a dietary organic acids blend and oxytetracycline on the growth, nutrient utilization and total cultivable gut microbiota of the red hybrid tilapia, *O. reochromis* sp., and resistance to *S. treptococcus agalactiae*. *Aquaculture Research*. 47 (2), 357-369.
9. Mustafa, S. A., & Al Faragi, J. K. Supplementation of Feed Additives on Aquaculture Feeds: A Review. *International Journal of Pharmaceutical Research*. 13 (1), 561-567.
10. Libanori, M. C. M., Santos, G. G., Pereira, S. A., Lopes, G. R., Owatari, M. S., Soligo, T. A., Yamashita, E., Pereira, U. P., Martins, M. L., & Mouriño, J. L. P. (2021). Dietary supplementation with benzoic organic acid improves the growth performance and survival of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) after challenge with *Streptococcus agalactiae* (Group B). *Aquaculture*. 545, 737204.
11. Baruah, K., Sahu, N. P., Pal, A. K., Jain, K. K., Debnath, D., & Mukherjee, S. C. (2007). Dietary microbial phytase and citric acid synergistically enhances nutrient digestibility and growth performance of *Labeo rohita* (Hamilton) juveniles at sub-optimal protein level. *Aquaculture Research*. 38 (2), 109-120.
12. Sangari, M., Sotoudeh, E., Bagheri, D., Morammazi, S., & Torfi Mozanzadeh, M. (2020). Growth, body composition, and hematology of yellowfin seabream (*Acanthopagrus latus*) given feeds supplemented with organic acid salts (sodium acetate and sodium propionate). *Aquaculture International*. 29, 261-273.
13. Wuertz, S., Schroeder, A., & Wanka, K. M. (2021). Probiotics in Fish Nutrition-Long-Standing Household Remedy or Native Nutraceuticals. *Water, Agriculture and Aquaculture*. 13 (10), 1348.

14. Selim, K. M., & Reda, R. M. (2015). Improvement of immunity and disease resistance in the Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, by dietary supplementation with *Bacillus amyloliquefaciens*. *Fish & shellfish immunology*. 44 (2), 496-503.
15. Bidhan, C. D., Meena, D. K., Behera, B. K., Pronob, D., Das Mohapatra, P. K., & Sharma, A. P. (2014). Probiotics in fish and shellfish culture: immunomodulatory and ecophysiological responses. *Fish Physiology and Biochemistry*. 40, 921-971.
16. Abudurasak Ige, B. (2014). Probiotics use in intensive fish farming. *African Journal of Microbiology Research*. 7 (22), 2701-2711.
17. Omosowone, O., Dada, A., & Adeparusi, E. (2018). Comparison of dietary butyric acid supplementation effect on growth performance and body composition of *Clarias gariepinus* and *Oreochromis niloticus* fingerlings. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*. 17 (2), 403-412.
18. Martín, M. J., Lara-Villoslad, F., Adolfin Ruiz, M., & Morales, M. E. (2015). Microencapsulation of bacteria: A review of different technologies and their impact on the probiotic effects. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 27, 15-25.
19. Ghanbary, K., Firouzbakhsh, F., Arkan, E., & Mojarrab, M. (2022). The effect of *Thymbra spicata* hydroalcoholic extract loaded on chitosan polymeric nanoparticles on some growth performances, hematology, immunity, and response to acute stress in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*. 548, 737568.
20. Da Cunha, J., Heinzmann, B., & Baldisserotto, B. (2018). The effects of essential oils and their major compounds on fish bacterial pathogens—a review. *Journal of applied microbiology*. 125 (2), 328-344.
21. Liu, L., Wang, Y., Ren, J., Zou, H., & Wang, C. (2022). Effect of dietary supplementation with sodium butyrate and tributyrin on the growth performance and intestinal microbiota of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Aquaculture International*. 30, 2477-2489.
22. Romano, N., Koh, C.B., & Ng, W.K. (2015). Dietary microencapsulated organic acids blend enhances growth, phosphorus utilization, immune response, hepatopancreatic integrity and resistance against *Vibrio harveyi* in white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*. 435, 228-236.
23. Tukmechi, A., Najd Grami, E., Hajimoradlo, A., & Noori, F. (2017). Study of Synergistic Effect of Potassium-Sorbate and *Lactobacillus casei* on the Growth Performance, Hematological Parameters, Body Composition and Intestinal flora of Rainbow Trout Fry (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Aquaculture Development*. 11 (1), 25-37.
24. Asriqah, L., Nugroho, R.A., & Aryani, R. (2018). Effect of various organic acid supplementation diets on *Clarias gariepinus* BURCHELL, 1822. Evaluation of growth, survival and feed utilization. *F1000Research*:7.
25. Turner, A. D., Tarnovius, S., Hatfield, R. G., Teixeira Alves, M., Broadwater, M., Van Dolah, F., Garcia-Mendoza, E., Medina, D., Salhi, M., & Goya, A. B. (2020). Application of six detection methods for analysis of paralytic shellfish toxins in shellfish from four regions within Latin America. *Marine drugs*. 18 (12), 616.
26. Ahmed, I. B., & Al-Hamdani, A. (2022). Effect of Garlic on Blood Parameters in Thermal Stressed Common Carp Fish (*Cyprinus Carpio* L.). *Egyptian Journal of Veterinary Sciences*. 53 (4), 85-97.
27. Karataş, T., Korkmaz, F., Karataş, A., & Yildirim, S. (2020). Effects of Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) extract on growth, blood biochemistry, immunity, antioxidant, digestive enzymes and liver histopathology of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture Nutrition*. 26 (5), 1533-1541.

28. Choobkar, N., Kakulki, Sh., Sahraei, F., Aghajani, A., Rezaeimanesh, M., & Mohammadi, F. (2019). Investigating the effect of probiotic-enriched food on growth parameters of farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Scientific Journal of Iranian Fisheries*. 27 (5), 115-124.
29. Nargesi Akbari, A., Falahatkar, B., & Sajjadi, M. (2018). Effect of probiotics on growth performance and blood parameters of male rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Scientific Journal of Aquatic Ecology*. 8 (2), 51-60.
30. Jafari, A., Kamali, A., & Shamsaei, M. (2017). The effect of adding Lactobacillus acidophilus probiotic in the diet as a supplement on some growth indicators of common carp (*Cyprinus carpio*). *Renewable natural resources research*. 4 (26), 69-76.
31. Koshinski, R., Velichkova, K., Sirakov, I., & Stoyanova, S. (2020). Effect of *Angelica archangelica* L. extract on growth performance, meat quality and biochemical blood parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* W.), cultivated in a recirculating system. *Bulg. J. Agric. Sci.* 26, 232-237.
32. Zabidi, A., Yusoff, F. M., Amin, N., Yaminudin, N. J. M., Puvanasundram, P., & Karim, M. M. A. (2021). Effects of probiotics on growth, survival, water quality and disease resistance of red hybrid tilapia (*Oreochromis* spp.) fingerlings in a biofloc system. *Animals*. 11 (12), 3514.
33. Munirasu, S., Ramasubramanian, V., & Arunkumar, P. (2017). Effect of Probiotics diet on growth and biochemical performance of freshwater fish Labeo rohita fingerlings. *Journal of Entomology and Zoology Studies*. 5 (3), 1374-1379.
34. Bahnasawy, M. H., El-Ghobashy, A. E., El-Ebiary, E. S. H., Helal, A. M., & El-Sisy, D. M. (2020). Effect of probiotic on water quality, growth performance and body composition of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). 8 (1), 86-91.
35. Mroz, Z., Jongbloed, A., Partanen, K., Vreman, K., Kemme, P., & Kogut, J. (2000). The effects of calcium benzoate in diets with or without organic acids on dietary buffering capacity, apparent digestibility, retention of nutrients, and manure characteristics in swine. *Journal of animal science*. 78 (10), 2622-2632.
36. Gunal, M., Yayli, G., Kaya, O., Karahan, N., & Sulak, O. (2006). The effects of antibiotic growth promoter, probiotic or organic acid supplementation on performance, intestinal microflora and tissue of broilers. *International Journal of Poultry Science*. 5 (2), 149-155.
37. Busti, S., Rossi, B., Volpe, E., Ciulli, S., Piva, A., D'Amico, F., Soverini, M., Candela, M., Gatta, P. P., & Bonaldo, A. (2020). Effects of dietary organic acids and nature identical compounds on growth, immune parameters and gut microbiota of European sea bass. *Scientific reports*. 10 (1), 1-14.
38. Huyben, D., Chiasson, M., Lumsden, J. S., Pham, P. H., & Chowdhury, M. A. K. (2021). Dietary microencapsulated blend of organic acids and plant essential oils affects intestinal morphology and microbiome of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Microorganisms*. 9 (10), 2063.
39. Ullah, S., Zhang, J., Xu, B., Tegomo, A. F., Sagada, G., Zheng, L., Wang, L., & Shao, Q. (2022). Effect of dietary supplementation of lauric acid on growth performance, antioxidative capacity, intestinal development and gut microbiota on black sea bream (*Acanthopagrus schlegelii*). *Plos one*. 17, 1. e0262427.
40. Saleh, M., Amer, M., & Osman, M. (2018). Effect of Dietary Blended Organic Acid on Growth, Digestibility and Immunity of African Catfish (*Clarias garipenus*). *Arab Universities Journal of Agricultural Sciences*. 26(Special issue (2D)), 2335-2346.
41. Chowdhury, M. A. K., Song, H., Liu, Y., Bunod, J. D., & Dong, X. H. (2021). Effects of Microencapsulated Organic Acid and Their Salts on Growth Performance, Immunity, and Disease Resistance of Pacific White Shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Sustainability*. 13 (14), 77-91.

42. Hosseini Shekarabi, P., Seyedalikhani, S., Shamsaie Mehrgan, M., Seyedalhosseini, S., & Manouchehri, H. (2019). Effect of different levels of organic acids mixture on some growth parameters and carcass composition of common carp (*Cyprinus carpio*) juveniles. 28 (4), 35-43.
43. Safari, O., Paolucci, M., & Ahmadniaye Motlagh, H. (2021). Effect of dietary encapsulated organic salts (Na-acetate, Na-butyrate, Na-lactate and Na-propionate) on growth performance, haemolymph, antioxidant and digestive enzyme activities and gut microbiota of juvenile narrow clawed crayfish, *Astacus leptodactylus leptodactylus* Eschscholtz, 1823. *Aquaculture Nutrition*. 27 (1), 91-104.
44. Rombenso, A. N., Truong, H., & Simon, C. (2020). Dietary butyrate alone or in combination with succinate and fumarate improved survival, feed intake, growth and nutrient retention efficiency of juvenile *Penaeus monodon*. *Aquaculture*. 528, 735492.
45. Dasneves, S. C. V., Da silva, S. M. B. C., Costa, G. K. A., Correria, E. S., Santos, A. L., Da silva, L. C. R., & Bicudo, A. J. A. (2021). Dietary Supplementation with Fumaric Acid Improves Growth Performance in Nile Tilapia Juveniles. *Animals*. 12 (1), 8.
46. Wang, Y. B. (2007). Effect of probiotics on growth performance and digestive enzyme activity of the shrimp *Penaeus vannamei*. *Aquaculture*. 269 (1-4), 259-264.
47. Bolívar Ramírez, N. C., Rodrigues, M. S., Guimarães, A. M., Guertler, C., Rosa, J. R., Seiffert, W. Q., Andreatta, E. R., & Vieira, F. d. N. (2017). Effect of dietary supplementation with butyrate and probiotic on the survival of Pacific white shrimp after challenge with *Vibrio alginolyticus*. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 46, 471-477.
48. Pérez-Jiménez, A., Peres, H., Rubio, V. C., & Oliva-Teles, A. (2012). The effect of hypoxia on intermediary metabolism and oxidative status in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) fed on diets supplemented with methionine and white tea. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*. 155 (3), 506-516.
49. Hoseinifar, S. H., Mirvaghefi, A., Merrifield, D. L., Amiri, B. M., Yelghi, S., & Bastami, K. D. (2011). The study of some haematological and serum biochemical parameters of juvenile beluga (*Huso huso*) fed oligofructose. *Fish physiology and biochemistry*. 37 (1), 91-96.

Comparison of functional properties of protein extracted from (*Spirulina Platensis*) by different methods

Sanaz Urajeh^{*1}, Parastoo Pourashouri², Bahareh Shabanpour³,
Seyed Vali Hoseini⁴

1. Corresponding Author, M.Sc. Student in Dept. of Seafood Processing, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: urajeh.s72@gmail.com
2. Associate Prof., Dept. of Seafood Processing, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: pourashouri.p@gmail.com
3. Professor, Dept. of Seafood Processing, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: b-shabanpour@yahoo.com
4. Associate Prof., Dept. of Fisheries, University of Tehran, Karaj, Iran. E-mail: hosseini.seyedvali@gmail.com

Article Info

Article type:
Full Length Research Paper

Article history:

Received: 05.30.2022
Revised: 07.01.2022
Accepted: 08.20.2022

Keywords:

Freeze-Thawing,
Functional properties,
Protein extraction,
Spirulina,
Ultrasonic waves

ABSTRACT

The purpose of this research was to investigate different methods of protein extraction and compare and choose the best method for the functional properties of protein from spirulina microalgae. Microalgae are one of the most important sources of protein. Proteins play a very important role in human health and are widely used in various industries. In this research, different methods (freezing-thawing, homogenization, ultrasonic waves and soaking in ethanol and water solutions) were investigated to extract and isolate protein from spirulina microalgae. The functional properties of extracted proteins (water retention capacity, foam production and stability, and emulsifying capacity of the samples) were investigated. According to the results, the extraction method had an effect on the functional properties of the protein ($P < 0.05$). According to the obtained results, the use of mechanical methods for protein extraction resulted in better preservation of functional properties. The functional properties of protein (Water holding capacity, emulsion stability index, foam stability, foam ability, samples extracted with the help of homogenization, ultrasound, freezing and thawing methods were more than other treatments ($P < 0.05$). The index of emulsification capacity and water holding capacity in samples extracted with 4 freeze-thaw cycles was higher than all treatments. The highest level of emulsion stability and foam production was in the samples extracted with ultrasonic waves. According to the results, the use of ultrasonic waves and freeze-thawing cycle is suggested for protein extraction from spirulina microalgae.

Cite this article: Urajeh, Sanaz, Pourashouri, Parastoo, Shabanpour, Bahareh, Hoseini, Seyed Vali. 2023. Comparison of functional properties of protein extracted from (*Spirulina Platensis*) by different methods. *Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics*, 12 (2), 133-144.



© The Author(s).

DOI: 10.22069/japu.2023.20252.1669

Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

مقایسه خواص عملکردی پروتئین استخراج شده از ریز جلبک اسپیرولینا (*Spirulina Platensis*) با روش‌های مختلف

ساناز اورجه^{۱*}، پرستو پورعاشوری^۲، بهاره شعبانپور^۳، سید ولی حسینی^۴

۱. نویسنده مسئول، دانشجوی کارشناسی ارشد فرآوری محصولات شیلاتی، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: urajeh.s72@gmail.com
۲. دانشیار گروه فرآوری محصولات شیلاتی، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: pourashouri.p@gmail.com
۳. استاد گروه فرآوری محصولات شیلاتی، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: b-shabanpour@yahoo.com
۴. دانشیار گروه شیلات، دانشگاه تهران، کرج، ایران. رایانامه: hosseini.seyedvali@gmail.com

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: مقاله کامل علمی- پژوهشی	هدف از این پژوهش بررسی روش‌های مختلف استخراج پروتئین و مقایسه و انتخاب بهترین روش برای خواص کاربردی پروتئین از ریزجلبک اسپیرولینا بود. یکی از منابع بسیار مهم پروتئین، ریزجلبک‌ها هستند. پروتئین‌ها نقش بسیار مهمی در سلامت انسان‌ها و در صنایع مختلف کاربرد فراوانی دارند. در این پژوهش روش‌های مختلف (انجماد-انجمادزدایی، هموژنیزاسیون، امواج فراصوت و خیساندن در حلال‌های اتانول و آب) برای استخراج و جداسازی پروتئین از ریزجلبک اسپیرولینا مورد بررسی قرار گرفت. خواص کاربردی پروتئین‌های استخراجی (ظرفیت نگهداری آب، میزان تولید و پایداری کف و میزان ظرفیت امولسیون‌کنندگی نمونه‌ها) مورد آزمایش قرار گرفت. طبق نتایج روش استخراج بر خواص کاربردی پروتئین تأثیرگذار بود ($P > 0/05$). با توجه به نتایج به دست آمده، استفاده از روش‌های مکانیکی برای استخراج پروتئین سبب حفظ بهتر خواص کاربردی گردید. خواص عملکردی پروتئین (ظرفیت نگهداری آب، شاخص پایداری امولسیون، میزان پایداری کف، میزان توانایی کف)، نمونه‌های استخراج شده با کمک روش‌های هموژنیزاسیون و امواج فراصوت و انجماد و انجمادزدایی بیش‌تر از سایر تیمارها بود ($P > 0/05$). میزان شاخص ظرفیت امولسیون‌کنندگی و ظرفیت نگهداری آب در نمونه‌های استخراج شده با ۴ چرخه انجماد-انجمادزدایی بیش‌تر از همه تیمارها بود. بیش‌ترین میزان پایداری امولسیون و تولید کف در نمونه‌های استخراج شده
واژه‌های کلیدی: اسپیرولینا، استخراج پروتئین، امواج فراصوت، انجماد- انجمادزدایی، خواص کاربردی	

با امواج فراصوت بود. طبق نتایج استفاده از امواج فراصوت و چرخه انجماد-انجمادزدایی برای استخراج پروتئین از ریزجلبک اسپیرولینا پیشنهاد می‌گردد.

استناد: اورجه، ساناز، پورعاشوری، پرستو، شعبانپور، بهاره، حسینی، سید ولی (۱۴۰۲). مقایسه خواص عملکردی پروتئین استخراج‌شده از ریزجلبک اسپیرولینا (*Spirulina Platensis*) با روش‌های مختلف. نشریه بهره‌برداري و پرورش آبزیان، ۱۲ (۲)، ۱۴۴-۱۳۳.

DOI: 10.22069/japu.2023.20252.1669



© نویسندگان.

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

مقدمه

پرورش و تولید ریزجلبک‌ها منبع درآمدی برای انسان‌ها شده است. امروزه ریزجلبک‌ها به صورت تجاری مورد بهره‌برداری قرار می‌گیرند. جنس‌های *Dunaliella*, *Chlorella*, *Arthrospira* برای تولید غذاهای فراسودمند و استخراج پروتئین و کلروفیل مورد استفاده قرار گرفته‌اند. پروتئین ۵۰ تا ۷۰ درصد از وزن خشک اسپیرولینا، ۳۸-۵۸ درصد کلرلا و ۴۵-۵۰ درصد هماتوکوکوس را تشکیل می‌دهد (۱). *Spirulina platensis* که به عنوان اسپیرولینا شناخته می‌شود، شناخته‌شده‌ترین گونه ریزجلبکی به دلیل میزان بالای پروتئین و منبع عالی از رنگدانه‌های خوراکی مانند فیکوبیلی‌پروتئین‌ها، کلروفیل و کاروتنوئید بوده و دارای ارزش تغذیه‌ای بالایی می‌باشد (۲). اسپیرولینا یک سیانوباکتری خوراکی، فتوسنتزی و ماریپیچی شکل است. این جلبک‌های سبز-آبی منبع غنی از پروتئین‌ها و ویتامین‌ها به ویژه ویتامین (B12)، مواد معدنی، کاروتنوئیدها و اسیدهای چرب امگا ۳ هستند و بنابراین در سال‌های اخیر توجه بیشتری را به خود جلب کرده‌اند. مکمل‌های غذایی یکی دیگر از ویژگی‌های بارز اسپیرولینا هضم آسان آن به دلیل عدم وجود سلولز در دیواره سلولی است (۳).

با توجه به مزایای ریزجلبک‌ها و ترکیبات زیست‌فعال آن‌ها، توسعه روش‌های مؤثر برای استخراج و بازیابی آن‌ها از اسپیرولینا ضروری است. فرایند شکست دیواره سلولی در سلول‌های ریزجلبکی برای آزادسازی و استخراج ترکیبات مرتبط ضروری است، که می‌تواند با روش‌های فیزیکی یا شیمیایی به دست آید. روش‌های گزارش شده برای استخراج پروتئین شامل استفاده از امواج فراصوت و آسیاب کردن است (۴). پروتئین در دیواره سلولی، سیتوپلاسم، کلروپلاست و به علاوه در اندامک‌های درونی جلبک وجود دارد. شکست دیواره سلولی و استخراج ترکیبات با استفاده

از روش‌های سخت مانند فشار بالا یا استفاده از دمای بالا، می‌تواند اثرات نامطلوبی بر کیفیت و خلوص پروتئین داشته باشد. از این رو برای حفظ عملکرد پروتئین‌ها، شکست دیواره سلولی باید تحت شرایط ملایم انجام شود اما استفاده از این روش‌ها نیز سبب کاهش بازده می‌شود (۵، ۶). اغلب روش‌ها با توجه به بازده، اثرات نامطلوب بر محصول، هزینه بالا، استفاده از انرژی و دمای بالا بر میزان و کیفیت استخراج پروتئین، کلروفیل و سایر ترکیبات دارند و این موارد سبب مطالعات بیشتر بر یافتن روش‌های با هزینه معقول، کیفیت و بازده بالاتر را ادامه‌دار نموده است (۶). جهت استخراج ترکیبات موردنظر، روش‌های بسیاری برای شکست دیواره سلولی ریزجلبک‌ها مانند تیمار اسید و قلیا، مایکروویو، میدان الکتریکی پالسی، هموژنایزر فشار بالا، فناوری‌های فراصوت، استخراج با سیال فوق بحرانی استفاده شده است (۱، ۷، ۸). مطالعات مختلفی در زمینه استخراج ترکیبات مختلف موجود در ریزجلبک‌ها انجام شده است. ترکیباتی مانند فیکوسیانین (۹)، پروتئین (۱، ۱۰) استخراج و بررسی شده‌اند. طبق نتایج سافی و همکاران (۵) استفاده از هموژنایزر فشار بالا روشی با هزینه و انرژی پایین جهت استخراج پروتئین از ریزجلبک نانوکلوپسیس است. در مطالعه دیگر روش پیش‌خیساندن و فراصوت در استخراج پروتئین از ریزجلبک‌ها (کلرولا) تأثیرگذار بوده است (۱۰). مطالعه ژانگ و همکاران (۶) نشان داد که استفاده هم‌زمان هیدرولیز آنزیمی، فراصوت و فشار بالا بازده استخراج پروتئین را به‌طور چشم‌گیری افزایش خواهد داد. در مطالعه گارسیا-وکورو و همکاران (۱۱) خواص عملکردی عصاره‌های پروتئینی تولید شده از جلبک قهوه‌ای *Himantalia elongate* (Linnaeus) *S.F. Gray* ارزیابی شد. طبق مطالعات پروتئین استخراج شده از جلبک‌ها در فرمولاسیون طیف گسترده‌ای از محصولات غذایی از جمله سوسیس،

خواص کاربردی روی نمونه‌های پروتئین استخراج شده اندازه‌گیری ظرفیت نگهداری آب: اندازه‌گیری ظرفیت نگهداری آب طبق روش (۱۳) تعیین شد. پروتئین استخراج شده و آب مقطر به نسبت ۱ به ۱۰ مخلوط و به مدت ۲۰ دقیقه در g ۱۸۰۰ سانتریفیوژ شد. و از رابطه تفاوت بین حجم اولیه آب و مایع رویی بعد از سانتریفیوژ به‌عنوان یک میلی‌لیتر از آب جذب شده در هر گرم پروتئین به‌عنوان ظرفیت نگهداری آب با استفاده از رابطه زیر محاسبه گردید.

(۱)

(حجم سوپرناتانت ثانویه بعد از سانتریفیوژ - حجم آب اولیه قبل از سانتریفیوژ) = (درصد) جذب آب در گرم پروتئین

اندازه‌گیری شاخص‌های امولسیون‌کنندگی: شاخص ظرفیت امولسیون‌کنندگی و شاخص پایداری امولسیون طبق روش (۱۴) تعیین شد. ۱۰ میلی‌لیتر از روغن با ۳۰ میلی‌لیتر محلول پروتئین (۱ درصد وزنی / حجمی) اضافه شد و مخلوط در rpm ۲۰۰۰۰ برای یک دقیقه هم‌وزن شد. سپس ۵۰ میکرولیتر محلول با استفاده از ۳ میکرولیتر ۱ درصد SDS رقیق شد (۱۰۰ برابر). جذب در دو زمان ابتدا و ۱۰ دقیقه تشکیل امولسیون و در ۵۰۰ نانومتر اندازه‌گیری شد و با استفاده از رابطه ۲ برای تعیین شاخص ظرفیت امولسیون‌کنندگی و شاخص پایداری امولسیون استفاده شد.

(۲)

غلظت پروتئین (۱ درصد) $\times (0/25) / (2 \times 2/30 \times A_{500})$
 = (میلی‌گرم) شاخص ظرفیت امولسیون‌کنندگی

$((A_0) \times (t/A))$ = (دقیقه) شاخص پایداری امولسیون

$$A = A_0 - A_{10} \quad t = 10 \text{ دقیقه}$$

نان، کیک، سوپ و سالاد می‌تواند استفاده شود (۱۲). با توجه مطالب بیان شده هدف از این پژوهش بررسی خواص عملکردی پروتئین استخراج شده از ریزجلبک اسپیرولینا با روش‌های مختلف می‌باشد.

مواد و روش‌ها

روش استخراج پروتئین: برای استخراج پروتئین در تیمار حمام آبی (WB) پودر ریزجلبک اسپیرولینا با نسبت ۱:۱۰ در آب مقطر (گرم/میلی‌لیتر) خیسانده شد و به دور از نور قرار داده شد و مخلوط آب و ریزجلبک روی هم‌زن به مدت دو ساعت، ۱۰۰۰ دور در دقیقه گذاشته تا به خوبی عمل آگیری انجام شود. سپس به مدت ۲۴ ساعت در حمام آبی با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. پس از این مدت نمونه‌ها جهت جداسازی به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد (g ۱۱/۲۰۰، ۴ درجه سانتی‌گراد). برای اطمینان از استخراج پروتئین شستشوی نمونه‌ها سه بار تکرار شد. سپس سوپرناتانت را جمع‌آوری و در پتری‌دیش ریخته شد. برای خشک شدن نمونه‌ها در فریزدرایر قرار گرفتند. در تیمار استخراج با اتانول (Eth) ریزجلبک در اتانول ۶۰ درصد خیسانده شد و به دور از نور قرار گرفتند و مخلوط اتانول و ریزجلبک روی هم‌زن به مدت دو ساعت گذاشته تا به خوبی حل شوند انجام شود. سایر مراحل طبق تیمار قبلی انجام شد. در تیمار انجماد-انجمادزدایی (FD) نمونه‌ها در فریزر ۲۰- به مدت ۴ ساعت منجمد و ۲ ساعت انجمادزدایی شدند. این سیکل برای ۴ دفعه انجام شد. در استخراج با کمک امواج فراصوت (UL) پس از آگیری کامل، به مدت ۱۰ دقیقه با ۴۰۰ وات (۲ ثانیه روشن، ۲ ثانیه خاموش) در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد، تیمار شد. در استخراج به کمک هم‌وزن‌ایزر دور بالا (HO) به مدت ۱۰ دقیقه هم‌وزن شدند (۲۴۰۰۰ دور، دمای اتاق). برای خشک شدن نمونه‌ها از فریزدرایر استفاده شد (۶).

واریانس یک‌طرفه انجام شد. جهت مقایسات میانگین از آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد استفاده شد. نتایج به کمک نرم‌افزار IBM SPSS Statistics 22 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

نتایج و بحث

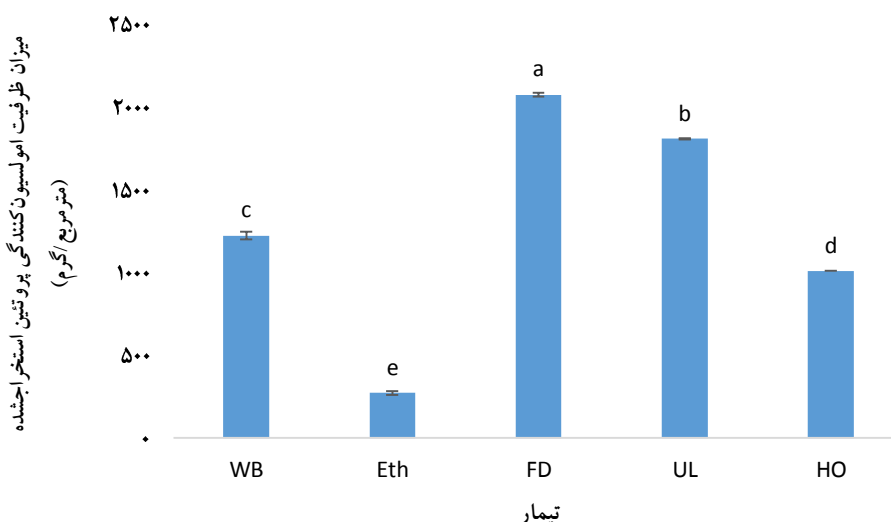
شاخص ظرفیت امولسیون‌کنندگی (EAI): مقدار شاخص ظرفیت امولسیون‌کنندگی پروتئین استخراج شده از ریزجلبک اسپیرولینا بررسی شد (شکل ۱). طبق شکل ۱ میزان شاخص ظرفیت امولسیون‌کنندگی^۳ (EAI) در پروتئین استخراجی بین تیمارها اختلاف معنی‌داری داشت ($P < 0/05$). بیش‌ترین مقدار شاخص ظرفیت امولسیون‌کنندگی (EAI) در نمونه‌های استخراج‌شده در تیمار (FD) و کم‌ترین مقدار در تیمار (Eth) بود.

میزان تشکیل و پایداری کف: میزان توانایی تشکیل کف^۱ (FA) و پایداری^۲ (FS) به روش (۱۴) اندازه‌گیری شد. ۲۰ میلی‌لیتر از محلول نمونه (۱ درصد وزنی/حجمی) هموژن شد (۱۶۰۰ دور در ۱ دقیقه). بعد از هموژن کل حجم اندازه‌گیری شد (۰/۵، ۱، ۴، ۶۰ دقیقه). میزان توانایی تشکیل کف در ۰ دقیقه و پایداری کف در طول زمان (۶۰-۰ دقیقه) و با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد.

(۳)

$$100 \times (\text{حجم بعد از هموژن کردن}) \div (\text{حجم قبل از هموژن کردن} - \text{حجم بعد از هموژن کردن}) = (\text{درصد}) \text{ میزان پایداری کف}$$

آنالیز آماری: نتایج به‌دست آمده از آزمایش‌های انجام شده در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از آنالیز



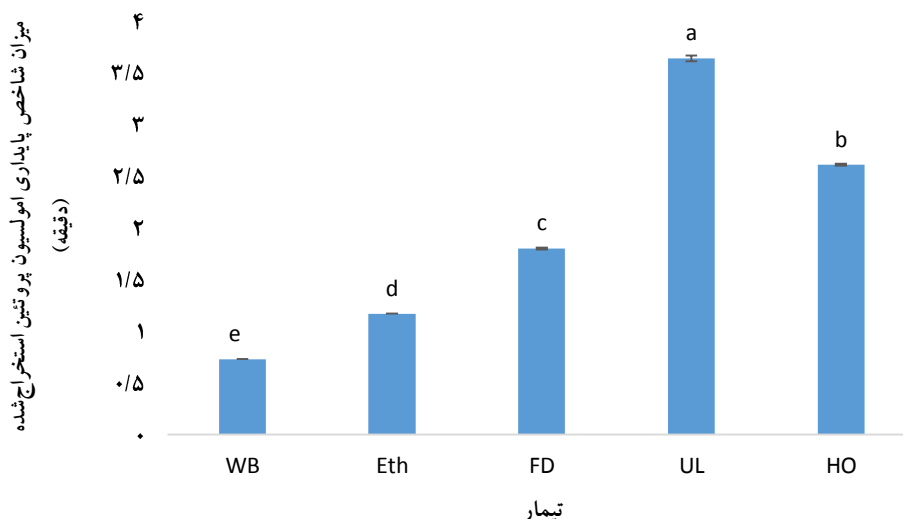
شکل ۱- میزان ظرفیت امولسیون‌کنندگی پروتئین استخراج‌شده.

WB تیمار حمام آبی، Eth تیمار اتانول، FD انجماد-انجمادزدایی، UL تیمار فراصوت، HO تیمار هموژنیزاسیون (a-b-c-d-e) حروف متفاوت بیانگر تفاوت معنی‌دار در بین تیمارها می‌باشد.

- 1- Foaming Ability
- 2- Foaming Stability
- 3- Emulsion Acumen Index

۵۶/۳۲ (درصد) بیان کردند. در بین تیمارهای مکانیکی و شیمیایی، تیمار مکانیکی (FD، UL) عملکرد بهتری داشتند، به دلیل این که تیمارهای مکانیکی، بهتر دیواره سلولی را شکسته و پروتئین بیش تری استخراج شده و ظرفیت امولسیون کنندگی بهتری را نشان دادند. شاخص پایداری امولسیون (ESI): شاخص پایداری امولسیون^۱ (ESI) پروتئین ریزجلبک اسپیرولینا در شکل ۲ نشان داده شده است.

پروتئین دارای خواص آبریز و آب دوست است که بر اتصال روغن و آب در غذاهای مختلف تأثیر می گذارد. خواص اتصال آب و روغن یک ارزیابی برهمکنش فیزیکوشیمیایی پروتئین ها با سایر اجزای موجود در غذا است. آبریزی سطحی، شاخصی از برهمکنش ظرفیت پروتئین با سایر مولکول ها در محیط آبی قطبی و به شدت با فعالیت امولسیونی در ارتباط است (۱۵). در مطالعه بشیر و همکاران (۱۵) از ریزجلبک اسپیرولینا میزان ظرفیت امولسیون کنندگی



شکل ۲- میزان شاخص پایداری امولسیون پروتئین استخراج شده با روش های مختلف.

WB تیمار حمام آبی، Eth تیمار اتانول، FD انجماد-انجمادزایی، UL تیمار فراصوت، HO تیمار هموژنیزاسیون (a-b-c-d-e) حروف متفاوت بیانگر تفاوت معنی دار در بین تیمارها می باشد.

لوسیون ها، شامپوها، صابون ها، کف مو، کف اصلاح به کار روند. این خواص با پروتئین های آن ها مرتبط است (۱۶). تیمارهای مکانیکی نتایج بهتری در میزان پایداری امولسیون داشتند و امولسیون تولیدی در زمان بیش تری پایدار بودند. در مطالعه بلیکلی و همکاران (۱۲) خواص عملکردی و زیست فعال عصاره های پروتئینی تولید شده از *Spirulina platensis* و

بین تیمارها اختلاف معنی داری وجود داشت ($P < 0.05$). در مقایسه بین تیمارها بیش ترین مقدار شاخص پایداری امولسیون (ESI) به ترتیب در تیمار (UL)، (HO)، (FD) بود.

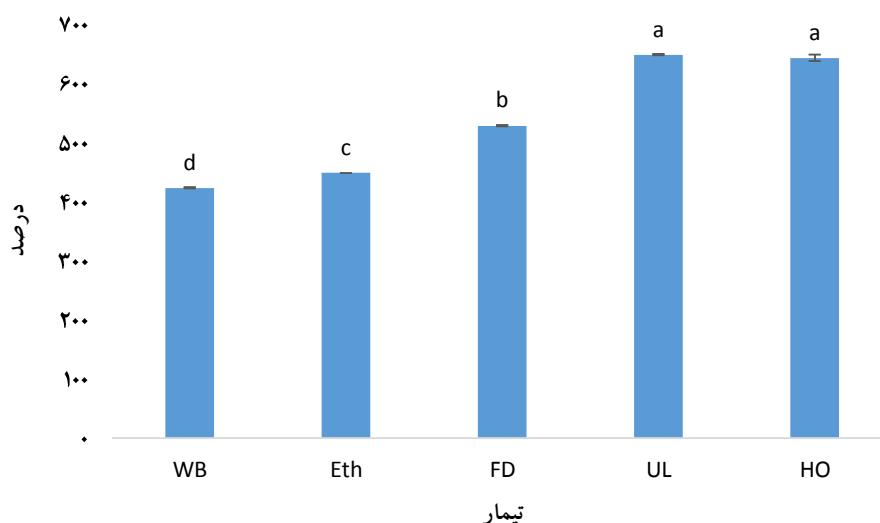
پروتئین های ریزجلبک و مشتقات آن ها می توانند به عنوان جایگزین های بیولوژیکی برای امولسیفایرهای شیمیایی تجاری و عوامل کف کننده در محصولات مراقبت شخصی مانند کرم های مرطوب کننده،

1- Emulsion Stability Index

پایداری کف (FS) در تیمار (UL) و کم‌ترین مقدار در تیمار (WB) بود. در تیمارهای UL و HO بیش‌ترین میزان پایداری کف بود به دلیل تعامل بیش‌تر در هوا و آب در این تیمارها بود. مقایسه بین تیمارهای فیزیکی و شیمیایی نشان می‌دهد که تیمارهای فیزیکی میزان پایداری کف بیش‌تری را دارند و به دلیل تعامل بیش‌تر هوا و آب در این تیمارها بود. خاصیت تشکیل کف‌های پایدار پروتئین برای غذاهای کاربردی متنوع حیاتی است. کف یک سیستم دو فاز که از سلول‌های هوا که توسط یک لایه مایع پیوسته نازک جدا شده‌اند و فاز لایه‌ای است. پایداری کف به تشکیل یک لایه چسب ضخیم اطراف حباب‌های هوا بستگی دارد (۱۵).

Isochrysis galbana T-Iso میزان شاخص امولسیون و میزان شاخص پایداری امولسیون ریزجلبک اسپیرولینا با روش فراصوت در مقایسه با پروتئین بذر کتان بدون چربی ایزوله و پروتئین آب پنیر را ضعیف نشان دادند. عصاره پروتئین *Spirulina sp.* شاخص پایداری امولسیون (۸۵/۹۱ درصد) را هنگام ارزیابی در روغن زیتون نشان داد. پایداری امولسیون می‌تواند تحت تأثیر عوامل متعددی از جمله pH، اندازه قطرات، بار خالص، کشش سطحی، ویسکوزیته و ترکیب پروتئین باشد (۱۲).

پایداری کف (FS): پایداری کف (FS) پروتئین ریزجلبک اسپیرولینا در شکل ۳ نشان داده شده است. در بین تیمارها جز تیمارهای (UL، HO)، اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($P < 0/05$). بیش‌ترین مقدار



شکل ۳- میزان پایداری کف پروتئین استخراج‌شده با روش‌های مختلف.

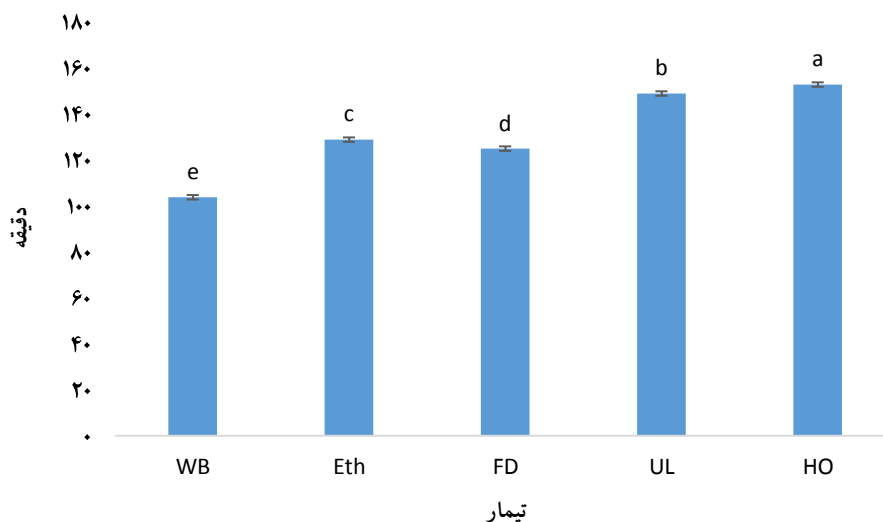
WB تیمار حمام آبی، Eth تیمار اتانول، FD انجماد-انجمادزایی، UL تیمار فراصوت، HO تیمار هموژنیزاسیون (a-b-c-d-e) حروف متفاوت بیانگر تفاوت معنی‌دار در بین تیمارها می‌باشد.

بستگی به انتشار پروتئین در هوا و آب و باز شدن ساختار آن در حین کف کردن دارد (۱۵).

میزان توانایی تشکیل کف (FA) پروتئین ریزجلبک اسپیرولینا در بین تیمارها اختلاف معنی داری وجود داشت ($P < 0/05$). بیشترین مقدار میزان توانایی تشکیل کف (FA) به ترتیب در تیمارهای (HO)، (UL) و کمترین مقدار در تیمارهای (WB) بود.

پروتئین‌های ریزجلبک و مشتقات آن‌ها دارای خواص حفظ رطوبت هستند و مواد مغذی را برای پوست و مو فراهم می‌کنند و آن‌ها را کاندیدای خوبی برای لوازم آرایشی کاربردی می‌کند (۱۶).

میزان توانایی تشکیل کف (FA): میزان توانایی و پایداری کف پروتئین‌ها می‌تواند بر خواص حسی، طعم و فرمولاسیون مواد غذایی اثر داشته باشد و می‌تواند نرمی، سبکی و خوش طعم بودن محصول غذایی را بهبود بخشد (۱۲). میزان توانایی کف کردن



شکل ۴- میزان توانایی تشکیل کف پروتئین استخراج شده با روش‌های مختلف.

WB تیمار حمام آبی، Eth تیمار اتانول، FD انجماد-انجمادزدایی، UL تیمار فراصوت، HO تیمار هموژنیزاسیون

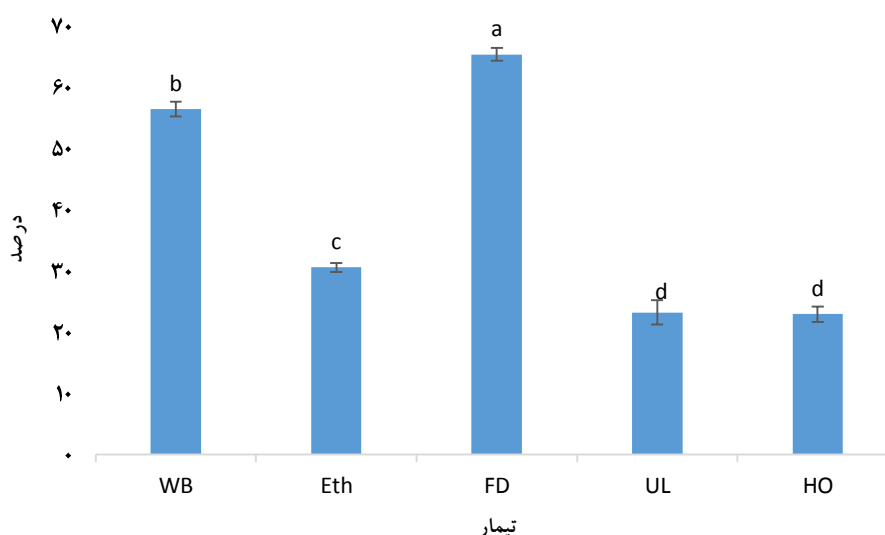
(a-b-c-d-e) حروف متفاوت بیانگر تفاوت معنی دار در بین تیمارها می‌باشد.

نقاط ایزوالکتریک خود محلول باقی می‌مانند عموماً خواص کف‌کنندگی خوبی از خود نشان می‌دهند (۱۷). طبق برخی منابع اسپیرولینا دارای توانایی تشکیل کف و پایداری کف ۲۷ درصد است (۱۸). بالا بودن میزان توانایی تشکیل کف و پایداری کف به دلیل محتوای چربی و پروتئین اسپیرولینا است که به تشکیل و تثبیت گاز پراکنده یعنی هوای موجود کمک می‌کند (۱۸).

مقدار توانایی تشکیل کف برای تیمارها محاسبه شد شکل ۴ بیشترین مقدار برای توانایی تشکیل کف برای تیمارهای (UL) و (HO) بود. توانایی تشکیل کف در زمان صفر بعد از همزدن محاسبه می‌شود که برای تیمارهای (UL) و (HO) بیشترین مقدار بودند. پروتئین‌ها با باز شدن در سطح مشترک و سپس ایجاد لایه‌های منسجم در اطراف سلول‌های هوا، کف‌ها را تولید و پایدار می‌کنند پروتئین‌هایی که در

ظرفیت نگهداری آب در تیمارهای (UL) و (HO) بود و بیش‌ترین مقدار در تیمار (FD) بود.

ظرفیت نگهداری آب: ظرفیت نگهداری آب پروتئین در بین تیمارها جز (UL) و (HO) اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($P < 0/05$). کم‌ترین مقدار



شکل ۵- میزان ظرفیت نگهداری آب پروتئین استخراج‌شده با روش‌های مختلف.

WB تیمار حمام آبی، Eth تیمار اتانول، FD انجماد-انجمادزایی، UL تیمار فراصوت، HO تیمار هموزنیزاسیون (a-b-c-d-e) حروف متفاوت بیانگر تفاوت معنی‌دار در بین تیمارها می‌باشد.

تیمار مکانیکی انجماد-انجمادزایی نسبت به استفاده از حلال ظرفیت جذب آب بهتری داشت.

نتیجه‌گیری کلی

در بررسی خواص پروتئین استخراج‌شده، ظرفیت نگهداری آب، میزان تشکیل و پایداری کف، میزان ظرفیت امولسیون‌کنندگی و شاخص پایداری امولسیون نشان داد که ظرفیت نگهداری آب و میزان تشکیل و پایداری کف به ترتیب در تیمارهای مکانیکی بهتر بود. طبق نتایج استفاده از روش‌های مکانیکی چرخه انجماد-انجمادزایی به عنوان روشی با هزینه پایین استخراج و استفاده از امواج فراصوت جهت استخراج پروتئین از ریزجلبک اسپیرولینا پیشنهاد می‌گردد.

ظرفیت نگهداری آب در غذا را به‌عنوان توانایی نگه داشتن آب و آب اضافه‌شده در حین اعمال نیرو، فشار و سانتریفیوژ می‌توان دانست. WHC^۱ نقش مهمی در فرمولاسیون اکثر مواد غذایی دارد و نقش عمده‌ای در بافت غذا و خمیرهای پخته‌شده و فرآورده‌های گوشتی دارد (۱۹). اسپیرولینا دارای ظرفیت اتصال به آب ۱/۴۵ گرم آب در گرم پروتئین است (۱۸). کم‌ترین مقدار ظرفیت نگهداری آب در تیمار (UL) و (HO) و این مقدار به ترتیب: ۲۳/۱۷ و ۲۲/۸۹ (درصد) بود. این نتایج مخالف مطالعه بوخاری و همکاران (۱۹) بود که نشان دادند تیمار (UL) تأثیر قابل‌توجهی بر خواص و مقدار استخراج پروتئین از اسپیرولینا داشت و ظرفیت نگهداری آب ۴/۹۷ (WHC) (آب/گرم) اسپیرولینا بود (۱۹).

1- Water holding Capacity

منابع

1. Safi, C., Charton, M., Ursu, A. V., Laroche, C., Zebib, B., Pontalier, P. Y., & Vaca-Garcia, C. (2014). Release of hydro-soluble microalgal proteins using mechanical and chemical treatments. *Algal Research*, 3, 55-60.
2. Beheshtipour, H., Mortazavian, A.M., Haratian, P., & Darani, K.K. (2012). Effects of *Chlorella vulgaris* and *Arthrospira platensis* addition on viability of probiotic bacteria in yogurt and its biochemical properties. *European Food Research and Technology*, 235 (4), 719-728.
3. Mohammadi, M., Soltanzadeh, M., Ebrahimi, A. R., & Hamishehkar, H. (2022). *Spirulina platensis* protein hydrolysates: Techno-functional, nutritional and antioxidant properties. *Algal Research*, 65, 102739.
4. Rajakumar, M. S., & Muthukumar, K. (2018). Influence of pre-soaking conditions on ultrasonic extraction of *Spirulina platensis* proteins and its recovery using aqueous biphasic system. *Separation Science and Technology*, 53 (13), 2034-2043.
5. Safi, C., Cabas Rodriguez, L., Mulder, W. J., Engelen-Smit, N., Spekking, W., van den Broek, L. A. M., Olivieri, G., & Sijtsma, L. (2017). Energy consumption and water-soluble protein release by cell wall disruption of *Nannochloropsis gaditana*. *Bioresource Technology*, 239, 204-210.
6. Zhang, R., Chen, J., & Zhang, X. (2018). Extraction of intracellular protein from *Chlorella pyrenoidosa* using a combination of ethanol soaking, enzyme digest, ultrasonication and homogenization techniques. *Bioresource Technology*, 247, 267-272.
7. Grimi, N., Dubois, A., Marchal, L., Jubeau, S., Lebovka, N. I., & Vorobiev, E. (2014). Selective extraction from microalgae *Nannochloropsis sp.* using different methods of cell disruption. *Bioresource Technology*, 153, 254-259.
8. Garcia, C. (2014). Release of hydro-soluble microalgal proteins using mechanical and chemical treatments. *Algal Reaserach*, 3, 55-60.
9. Tavanandi, H. A., & Raghavarao, K. (2019). Recovery of chlorophylls from spent biomass of *Arthrospira platensis* obtained after extraction of phycobiliproteins. *Bioresource technology*, 271, 391-401.
10. Sujatha, M., & Muthukumar, K. (2018). Influence of pre-soaking conditions on ultrasonic extraction of *Spirulina platensis* proteins and its recovery using aqueous biphasic system. *Separation Science and Technology*. 53, 1-10. **10.1080/01496395.2018.1442860.**
11. Garcia-Vaquero, M., Lopez-Alonso, M., & Hayes, M. (2017). Assessment of the functional properties of protein extracted from the brown seaweed *Himanthalia elongata* (Linnaeus) S. F. Gray. *Food Res. Int.* 99, 971-978.
12. Bleakley, S., & Hayes, M. (2021). Functional and Bioactive Properties of Protein Extracts Generated from *Spirulina platensis* and *Isochrysis galbana T-Iso*. *Applied Sciences*, 11 (9), 3964.
13. Taheri, A., Anvar, S. A. A., Ahari, H., & Fogliano, V. (2013). Comparison the functional properties of protein Hydrolysates from poultry byproducts and rainbow trout. *IFRO*, 12 (1), 154-169.
14. Rajabzadeh, M., Pourashouri, P., Shabanpour, B., & Alishahi, A. (2018). Amino acid composition, antioxidant and functional properties of protein hydrolysates from the roe of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *International Journal of Food Science & Technology*, 53 (2), 313-319.
15. Bashir, Shahid, Sharif, Mian Kamran Butt, & Masood Sadiq Shahid, Muhammad, (2016). Functional properties and amino acid profile of *Spirulina platensis* protein isolates. *Biological Sciences-PJSIR*, 59 (1), 12-19.
16. Matos, Á. P. (2019). Microalgae as a potential source of proteins in Proteins: sustainable source, processing and applications. *Elsevier*. Pp: 63-96.
17. Poole, S., West, S. I., & Walters, C. L. (1984). Protein-protein interactions: Their importance in the foaming of

- heterogeneous protein systems. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 35 (6), 701-711.
18. Malik, P., Kempanna, C., & Poul, A. (2013). Quality characteristics of ice cream enriched with *Spirulina* powder. *International Journal of Food and Nutrition Science*, 2 (1), 44-50.
19. Boukhari, N., Doumandji, A., & Ferradji, A. (2018). Effect of ultrasound treatment on protein content and functional properties of *Spirulina* powder grown in Algeria. *Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism*, 11 (3), 235-249.

Investigation of the prevalence of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* in fish, shrimp and eggs presented in Shahrekord city, Iran (Prevalence of *Listeria* and *Salmonella* in fish, shrimp and eggs)

Ebrahim Rahimi^{*1}, Mohammad Amin Heidarzadi², Najme Vahed Dehkordi³

1. Corresponding Author, Professor, Dept. of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran. E-mail: ebrahimrahimi55@yahoo.com
2. Ph.D. Student in Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran. E-mail: heidarzadi1373@gmail.com
3. Dept. of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran. E-mail: starunic66@gmail.com

Article Info

Article type:

Full Length Research Paper

Article history:

Received: 09.20.2022

Revised: 10.05.2022

Accepted: 11.11.2022

Keywords:

Eggs,

Fish,

Listeria monocytogenes,

Shahrekord,

Shrimp

ABSTRACT

Microbiological control of food is important to prevent food poisoning in humans. Pathogenic microorganisms are gram-positive or gram-negative pathogens found in food that cause gastroenteritis. The purpose of this study is to investigate the amount of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* in fish, shrimp and eggs presented in Shahrekord city. Material and method: In this study, 300 samples, including 100 fish samples, 100 shrimp samples, and 100 egg samples, were randomly collected from retail stores in Shahrekord city and transferred to the specialized food hygiene laboratory of Shahrekord Islamic Azad University. The samples were enriched in *Listeria* enrichment culture medium for 48 hours and then on the selected culture medium and the suspected *Listeria* isolates from Palcam agar culture medium were counted after biochemical confirmation tests and for confirmation *Salmonella* was used from SS agar, BS agar and then TSI and LIA culture media. Research findings: The results showed that 2 out of 100 fish samples (2 percent), 4 out of 100 shrimp samples (4 percent), and 5 out of 100 egg samples (5 percent) were contaminated. It was *Listeria monocytogenes*. The amount of *Salmonella* contamination for fish, shrimp and eggs was 9, 11 and 18 respectively. Due to the prevalence of *Listeria*, it is recommended to avoid consumption of undercooked seafood by at-risk populations. Strict implementation of sanitary conditions of food contact surfaces and handling areas, and good personal hygiene practices should reduce possible contamination of seafood products by *L. monocytogenes*.

Cite this article: Rahimi, Ebrahim, Heidarzadi, Mohammad Amin, Vahed Dehkordi, Najme. 2023. Investigation of the prevalence of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* in fish, shrimp and eggs presented in Shahrekord city, Iran (Prevalence of *Listeria* and *Salmonella* in fish, shrimp and eggs). *Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics*, 12 (2), 145-156.



© The Author(s).

DOI: 10.22069/japu.2022.20600.1707

Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

بررسی میزان شیوع لیستریا مونوسایتوژنز و سالمونلا در ماهی، میگو و تخم‌مرغ ارائه شده در شهرستان شهرکرد، ایران (شیوع لیستریا و سالمونلا در ماهی، میگو و تخم‌مرغ)

ابراهیم رحیمی*^۱، محمد امین حیدرزادی^۲، نجمه واحد دهکردی^۳

۱. نویسنده مسئول، استاد گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران. رایانامه: ebrahimrahimi55@yahoo.com
۲. دانشجوی دکتری تخصصی بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران. رایانامه: heidarzadi1373@gmail.com
۳. گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران. رایانامه: starunic66@gmail.com

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: مقاله کامل علمی- پژوهشی	امروزه کنترل میکروبیولوژیکی مواد غذایی به منظور جلوگیری از مسمومیت غذایی در انسان دارای اهمیت است. میکروارگانیسم‌های پاتوژن اعم از گرم مثبت و یا گرم منفی‌های بیماری‌زای موجود در مواد غذایی است سبب گاستروآنتریت می‌شوند؛ بنابراین هدف از این مطالعه بررسی میزان آلودگی لیستریا مونوسایتوژنز و سالمونلا در ماهی، میگو و تخم‌مرغ‌های عرضه شده در شهرستان شهرکرد است. در این مطالعه تعداد ۳۰۰ نمونه شامل ۱۰۰ نمونه ماهی، ۱۰۰ نمونه میگو و ۱۰۰ نمونه تخم‌مرغ به صورت تصادفی از خرده‌فروشی‌های شهرستان شهرکرد اخذ گردید و به آزمایشگاه انتقال داده شد. نمونه‌ها در محیط کشت غنی‌کننده لیستریا به مدت ۴۸ ساعت غنی‌سازی شده و سپس بر روی محیط انتخابی کشت و پرگنه‌های مشکوک به لیستریا جداسازی از محیط کشت Palcam agar پس از تست‌های تأییدی بیوشیمیایی شمارش شدند و برای تأیید سالمونلا از محیط‌های کشت SS agar، BS agar و سپس TSI و LIA استفاده شد. نتایج به‌دست آمده نشان داد که از تعداد ۱۰۰ نمونه ماهی ۲ مورد (۲ درصد)، از ۱۰۰ نمونه میگو ۴ مورد (۴ درصد) و در ۱۰۰ نمونه تخم‌مرغ تعداد ۵ مورد (۵ درصد) دارای آلودگی به لیستریا مونوسایتوژنز بود. میزان آلودگی به سالمونلا برای ماهی، میگو و تخم‌مرغ به ترتیب ۹، ۱۱ و ۱۸ مورد آلودگی جداسازی شد. با توجه به شیوع لیستریا، پرهیز از مصرف غذاهای دریایی با پخت ناکافی توسط جمعیت‌های در معرض خطر توصیه می‌شود. اجرای دقیق شرایط بهداشتی سطوح در تماس
تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۶/۲۹ تاریخ ویرایش: ۱۴۰۱/۰۷/۱۳ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۸/۲۰	
واژه‌های کلیدی: تخم‌مرغ، شهرکرد، لیستریا مونوسایتوژنز، ماهی، میگو	

با مواد غذایی و نواحی جابجایی و شیوه‌های بهداشت فردی خوب باید آلودگی احتمالی
محصولات شیلاتی توسط *L. monocytogenes* را کاهش داد.

استناد: رحیمی، ابراهیم، حیدرزادی، محمد امین، واحد دهکردی، نجمه (۱۴۰۲). بررسی میزان شیوع لیستریا مونوسایتوژنز و سالمونلا در ماهی، میگو و تخم‌مرغ ارائه شده در شهرستان شهرکرد، ایران (شیوع لیستریا و سالمونلا در ماهی، میگو و تخم‌مرغ). نشریه بهره‌برداری و پرورش آبزیان، ۱۲ (۲)، ۱۴۵-۱۵۶.

DOI: 10.22069/japu.2022.20600.1707



© نویسندگان.

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

مقدمه

لیستریاها از باکتری‌های گرم‌مثبت غیراسپورزا، از خانواده لاکتوباسیلاسه و راسته یوباکتریها می‌باشند که در سال ۱۸۹۱ توسط یک پزشک فرانسوی کشف شد و از منشأهای مختلفی از جمله خاک، آب، گیاهان، مدفوع، سبزیجات در حال پوسیدگی، گوشت، غذاهای دریایی، محصولات لبنی و ناقلان بدون علامت انسانی و حیوانی یافت می‌شوند. لیستریاها هوازی و بی‌هوازی اختیاری هستند که شامل ده گونه متفاوت با نام‌های لیستریا مونوسایتوژنز (*Listeria smonocytogene*)، اینوکوا (*L. innocua*)، ایوانوئی (*L. ivanovii*)، ولشیمیری (*L. Velshimeri*)، گرائی (*L. Gerayi*)، مارتئی (*L. Marthii*)، روکورتیه (*L. Rocuortiae*)، فلیش‌مانی (*L. Fleischmannii*)، ویهن استفانسیس (*L. Wiehenstephanensis*) و سیلیگری (*L. Seeligeri*) هستند (۱، ۲، ۳) از میان این ده گونه متفاوت، لیستریا مونوسایتوژنز و لیستریا ایوانوئی بیماری‌زا هستند (۲).

لیستریوز که توسط لیستریا مونوسایتوژنز ایجاد می‌شود، یک بیماری در انسان است که به دلیل نرخ بالای مرگ و میر آن یکی از نگرانی‌های اصلی سلامت عمومی است. این باکتری در دمای پاستوریزاسیون از بین می‌رود و حداکثر دمای مناسب رشد در ۳۷ درجه سلسیوس می‌باشد و برخلاف سایر میکروارگانسیم‌های پاتوژن، نگهداری در دمای ۴ درجه سلسیوس نیز ریسک مسمومیت‌زایی با این باکتری را بالا می‌برد و نگهداری در یخچال نمی‌تواند مانعی برای رشد میکروارگانسیم باشد (۴).

از سال ۲۰۰۹ روند افزایش آماری قابل توجهی در موارد ابتلا به عفونت لیستریایی در اتحادیه اروپا (EU) مشاهده شده است (۵). گزارش شده است که لیستریا مونوسایتوژنز بعد از سالمونلا پرهزینه‌ترین باکتری در کودکان کم‌تر از ده سال در آمریکا می‌باشد (۶).

گوشت و فرآورده‌های طیور، ماهی و میگو از حامل‌های اصلی سویه‌های بیماری‌زا *L. monocytogenes* برای انسان هستند که یکی بیماری‌های مشترک بین انسان و حیوانات می‌باشد. این باکتری در بزرگسالان مننژیت، انسفالیت، یا سپتی سمی و گاستروانتریت ایجاد می‌کند (۷). بیماران مسن‌تر یا افرادی که مستعد هستند و ایمنی سلولی آن‌ها پایین است، مانند گیرندگان پیوند اعضا، مبتلایان به لنفوم و ایدز افرادی هستند که مشخصاً مستعد بیماری هستند. تمایل لیستریا مونوسایتوژنز به سیستم عصبی مرکزی منجر به بیماری حاد می‌شود که معمولاً میزان کشندگی آن بالاست به گونه‌ای که در موارد اپیدمیکی مواد غذایی میزان مرگ و میر ۴۰-۳۰ درصد و در افراد مستعد تا ۷۵ درصد هم گزارش شده است (۸). لیستریا قادر به تحمل شرایط نامطلوب هم‌چون درجه حرارات پایین، توانایی رشد در غلظت بالای نمک تا ۱۰ درصد، pH محدوده ۴/۳ تا ۹/۶ و توانایی برای زنده ماندن و تکثیر تحت شرایطی که معمولاً مواد غذایی در آن نگهداری می‌شوند؛ این باکتری را به یک مشکل اساسی در بهداشت مواد غذایی تبدیل کرده است لیستریا کاتالاز مثبت، اکسیداز منفی است (۹، ۱۰).

یکی از اقلام غذایی که می‌تواند در برگیرنده اکثر نیازهای بدن باشد، ماهی و به طور کلی آبزیان هستند. روغن ماهی منبع غنی از اسیدهای چرب امگا ۳ مانند ایکوزاپنتانونیک اسید (EPA) و دوکوزاهگزانوئیک اسید (DHA) است. ماهی یکی از مهم‌ترین منابع تأمین پروتئین‌های حیوانی مورد نیاز انسان را در تمام جهان را تشکیل می‌دهد. ماهی به‌عنوان منبع مهمی از ریزمغذی‌ها، مواد معدنی، پروتئین‌ها و اسیدهای چرب چند غیراشباعی می‌باشد. پروتئین ماهی دارای ارزش بیولوژیکی بالایی است و حاوی طیف گسترده‌ای از اسیدهای آمینه ضروری مانند لیزین، متیونین، ترئونین

در یک مطالعه که توسط عبداللهزاده و همکاران در سال ۲۰۱۶ انجام شد، مشخص شد که از ۲۰۱ نمونه ماهی نمونه‌گیری شده ۸/۸۶ درصد آلوده به لیستریا بود (۱۶). در مطالعه رحیمی و همکاران در سال ۲۰۱۲ بر روی شیوع لیستریا در نمونه‌های غذایی دریایی، در مجموع ۲۶۴ نمونه ماهی و میگو تازه و منجمد از فروشگاه‌های خرده‌فروشی اصفهان و شهرکرد به‌طور تصادفی انتخاب شد، نتایج پژوهش‌گران نشان داد که ۲۰ نمونه (۷/۶ درصد) آلوده به لیستریا مونوسایتوژنز بود، به این ترتیب گونه لیستریا به ترتیب در ۷/۵، ۴/۲، ۱۱/۷ و ۶/۶ درصد از نمونه‌های ماهی تازه، ماهی منجمد، میگو تازه و میگو منجمد جداسازی شد. در نتایج PCR نشان داده شد که لیستریا مونوسیتوژنز و *L. innocua* به ترتیب در ۱/۹ درصد و ۵/۷ درصد از نمونه‌های مورد بررسی شناسایی شدند (۱۷). شیوع لیستریا در برخی از نقاط جهان به‌خصوص کشورهایی که دارای آب و هوای سرد هستند، شیوع بالایی دارد که مطالعه هرتمینک و همکاران در سال ۱۹۹۱ گویای این حقیقت است. مطالعه این پژوهش‌گران نشان داد که ۵۶ درصد از ماهی‌های نمونه‌گیری شده از مجموع ۱۲۶ نمونه، به لیستریا مونوسایتوژنز آلوده بودند (۱۸).

اصولاً پاتوژن‌های غذایی مانند لیستریا در مواد غذایی در مقادیر بسیار پایینی شیوع دارند اما علی‌رغم شیوع کم، بیش‌ترین آمار مرگ و میر در ایالات متحده توسط این باکتری گزارش شده است. در سراسر کشور آمریکا، ۱۶۵۱ مورد لیستریوز در طی سال‌های ۲۰۰۹-۲۰۱۱ گزارش شده است که میزان مرگ و میر ۲۱ درصد گزارش شده است. بیش‌تر موارد در بزرگسالان بالای ۶۵ سال ۵۸ درصد و ۱۴ درصد مربوط به زنان باردار بود (۱۹)؛ بنابراین پیشگیری از شیوع لیستریا می‌تواند کمک بزرگی به ایمنی جوامع مختلف کند؛ با این حال هدف از این مطالعه بررسی

و غیره می‌باشد؛ از این رو ضریب هضم‌پذیری نسبتاً بالایی دارد که برای همه گروه‌های سنی مناسب است (۱۱، ۱۲). به‌طورکلی اهمیت غذایی گوشت انواع ماهی، به لحاظ دارا بودن پروتئین و چربی با کیفیت بالا و فراوانی انواع مواد معدنی و ویتامین‌هایی که در آن موجود است به‌عنوان یک غذای کامل محسوب می‌شود (۱۲، ۱۳).

میگو یکی از مهم‌ترین محصولات شیلاتی واقع در آب‌های شور بوده که خلیج فارس، دریای عمان و حوزه‌های آبی جنوب کشور، یکی از مهم‌ترین قطب‌های پرورش این آبزی هستند و سهم عمده‌ای در تامین پروتئین حیوانی دارد که این امر به واسطه دارا بودن مواد لازم برای یک رژیم غذایی کامل اعم از پروتئین‌ها به ویژه اسیدهای آمینه ضروری، چربی‌ها به خصوص اسیدهای چرب غیراشباع، انواع گوناگونی از ویتامین‌ها، مواد معدنی و املاح است که از ارزش خاصی برخوردارند. این ویژگی‌ها به همراه طعم مطلوب و دلپذیر گوشت آن باعث شده که امروزه میگو به عنوان یکی از کالاهای لوکس تجاری از اهمیت ویژه‌ای برخوردار باشد (۱۴).

تخم‌مرغ حاوی پروتئین با کیفیت بالا است که ارزش بیولوژیکی آن ۱۰۰ بوده و نسبت ۲ به ۱ چربی غیراشباع به چربی‌های اشباع شده منبع عالی آهن، فسفر و غیره است، مواد معدنی و حاوی تمام ویتامین‌ها به استثنای ویتامین C است با وجود تمام مزایا، کلسترول بالای موجود در تخم‌مرغ می‌تواند برای افراد با بیماری‌های زمینه‌ای خطرناک باشد (۱۵)؛ با تمام مزایای ذکر شده در خصوص ماهی و تخم‌مرغ و ارزش غذایی آن‌ها این نکته دارای اهمیت است که باکتری لیستریا مونوسایتوژنز استعداد بالایی در ایجاد بیماری‌زایی در مواد غذایی داشته که تخم‌مرغ و ماهی از این قاعده مستثنی نیستند.

آلودگی به لیستریا مونوسایتوژنز در ماهی میگو و تخم‌مرغ‌های عرضه شده در خرده‌فروشی‌های شهرستان شهرکرد می‌باشد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌گیری: تعداد ۳۰۰ نمونه ماهی، میگو و تخم‌مرغ شامل ۱۰۰ نمونه گوشت ماهی خام، ۱۰۰ نمونه میگوی خام و ۱۰۰ نمونه تخم‌مرغ را از خرده‌فروشی‌های شهرستان شهرکرد جمع‌آوری شد و به آزمایشگاه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد انتقال داده شد.

جداسازی لیستریا مونوسایتوژنز: نمونه‌ها در هر کدام از محیط‌های مغذی به مدت ۲۹ ساعت در دمای ۳۵ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری شدند. به منظور رشد پرگنه‌های لیستریا، باکتری‌ها از محیط مغذی ثانویه به محیط آگار انتخابی لیستریا *Palcam agar* (Merck, Germany) انتقال داده شدند و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۵ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری شدند. پرگنه‌های رشد کرده در هر پلیت از نظر ریخت‌شناسی مورد بررسی قرار گرفت. پرگنه‌های رشد کرده، سبز زیتونی به قطر ۱/۵ میلی‌متر که مرکز آن‌ها سیاه یا خاکستری رنگ و اطراف همه آن‌ها هاله سیاه رنگ بود. پرگنه‌های مشکوک به لیستریا را مورد آزمون رنگ‌آمیزی گرم قرار داده تا گرم مثبت یا منفی بودن آن‌ها تشخیص داده شود. سپس روی پرگنه‌های گرم مثبت، آزمایش کاتالاز انجام شد. آزمایش حرکت در ۲۵ درجه سانتی‌گراد روی نمونه‌هایی که کاتالاز مثبت بودند انجام گرفت و نمونه‌های مثبت مشخص و شمارش شد. انجام آزمایش با استفاده از پروتکل

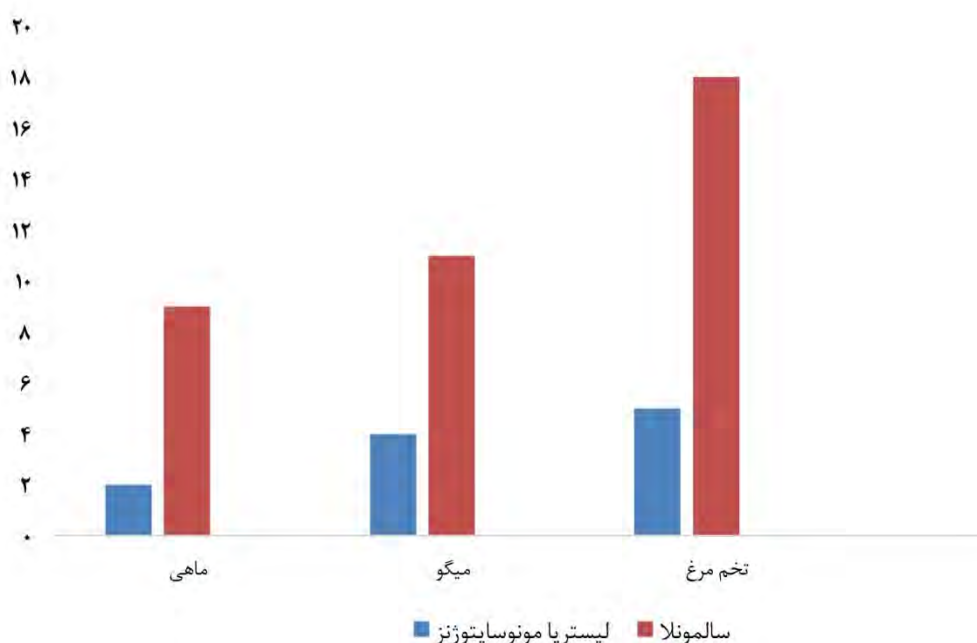
غنی‌سازی و جداسازی انتخابی توصیه شده توسط وزارت کشاورزی ایالات متحده انجام گرفت و تنها ایزوله‌هایی که در آزمایش به وسیله محیط کشت پالکام آگار مثبت شدند، جزو نمونه‌های مورد بررسی در این مطالعه قرار گرفتند (۳، ۱۷، ۲۰).

جداسازی سالمونلا: ابتدا ۲۵ گرم از هر کدام از نمونه‌های گوشت ماهی، میگو و تخم‌مرغ را با ۲۲۵ سی‌سی لاکتوز برات مخلوط کردیم و به مدت ۲۴ تا ۴۳ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری گردید. مقدار یک سی‌سی از نمونه غنی شده به ۱۰ سی‌سی سلنیت سیستمی (Italy, liofilchem) و یک سی‌سی از نمونه غنی شده به ۱۰ سی‌سی تتراتیونات برات (Italy, liofilchem) منتقل شد. پس از ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری، از محیط سلنیت سیستمی روی سالمونلا- شینگلا آگار، بیسموت سولفیت آگار و بریلیانت گرین آگار (Italy, liofilchem) به صورت خطی کشت داده شد. به همین ترتیب از تتراتیونات، روی محیط‌های مذکور کشت انجام گرفت. بعد از ۲۴ ساعت تعداد دو یا بیشتر از پرگنه‌های تپیک به محیط TSI و LIA منتقل شد و نتایج بر اساس دستورالعمل استاندارد مورد تفسیر قرار گرفت (۲۱).

یافته‌های پژوهش: نتایج نشان داد که از مجموع ۳۰۰ نمونه ماهی، میگو و تخم‌مرغ نمونه‌گیری شده در شهرستان شهرکرد، تعداد ۱۱ نمونه از ۳۰۰ نمونه به لیستریا مونوسایتوژنز آلوده بودند و هم‌چنین ۳۸ درصد به سالمونلا آلودگی داشتند.

جدول ۱- میزان آلودگی به لیستریا مونوسایتوژنز و سالمونلا در ماهی، میگو و تخم مرغ.

تعداد نمونه‌ها	موارد مثبت لیستریا مونوسایتوژنز	موارد مثبت سالمونلا	مجموع آلودگی
۱۰۰ نمونه تخم مرغ	۵	۱۸	۲۳ درصد
۱۰۰ نمونه ماهی خام	۲	۹	۱۱ درصد
۱۰۰ نمونه میگو خام	۴	۱۱	۱۵ درصد



شکل ۱- میزان آلودگی به لیستریا مونوسایتوژنز در ماهی، میگو و تخم مرغ.

تخم مرغ به ترتیب ۹، ۱۱ و ۱۸ مورد آلودگی جداسازی شد.

بحث و نتیجه گیری

عوامل بسیار زیادی می‌توانند بر میزان فراوانی و شیوع لیستریا مونوسایتوژنز در مرغ، تخم مرغ و محصولات گوشتی و فرآورده‌های حاصل از آنها تأثیر بگذارند و مطالعات مختلف میزان متفاوتی از شیوع لیستریا را در مواد غذایی مختلف گزارش داده‌اند (۳، ۲۲).

آنالیزهای آماری نشان می‌دهد ارتباط معنی‌داری بین میزان آلودگی به ماهی، مرغ و میگوهای عرضه شده در شهرستان شهرکرد به لیستریا مونوسایتوژنز وجود دارد. هم‌چنین نتایج نشان داد بین میزان آلودگی به سالمونلا و لیستریا مونوسایتوژنز ارتباط معنی‌داری وجود ندارد ($P < 0/05$). نتایج به‌دست آمده از آنالیزهای این مطالعه نشان داد که از تعداد ۱۰۰ نمونه ماهی ۲ مورد (۲ درصد)، از ۱۰۰ نمونه میگو ۴ مورد (۴ درصد) و در ۱۰۰ نمونه تخم مرغ تعداد ۵ مورد (۵ درصد) دارای آلودگی به لیستریا مونوسایتوژنز بود. میزان آلودگی به سالمونلا برای ماهی، میگو و

۴۳ مورد (۱۸/۶۴ درصد) به لیستریا مونوسایتوزنر آلوده بودند (۲۸). که نتایج این پژوهش آلودگی باکتریایی لیستریا مونوسایتوزنر در ۲ نمونه (۲ درصد) مثبت اعلام شد. جمالی و همکاران در سال ۲۰۱۵ بر روی آلودگی ماهی‌های تازه صید شده قزل‌آلا در کشور مالزی گزارش دادند که از مجموع ۴۸۸ نمونه ماهی که به صورت تصادفی جمع‌آوری شده بود، تعداد ۳۷ ماهی خام معادل ۷/۶ درصد به لیستریا مونوسایتوزنر آلوده بودند (۲۹). که با نتایج حاصل از این پژوهش تا حدودی هم‌خوانی دارد. نتیجه مطالعات دیگری در کشور هلند در سال ۲۰۱۷ نشان داد که از مجموع ۳۰۱ نمونه ماهی دودی شده، تعداد ۵۷ مورد (۱۸/۹ درصد) به لیستریا مونوسایتوزنر آلوده بودند (۳۰). که بیش‌تر از مطالعه حاضر به لیستریا مونوسایتوزنر آلودگی گزارش شده است. هم‌چنین در یک پژوهش مشابه در استان خوزستان توسط مکتبی و همکاران بر روی نمونه‌های ماهی کپور، از تعداد ۱۰۰ نمونه، ۱۸ مورد آلوده به لیستریا مونوسایتوزنر بودند (۳۱) که با نتایج این پژوهش مطابقتی ندارد.

مطالعه الجادرو و همکاران در سال ۲۰۱۹ بر روی میزان آلودگی تخم‌مرغ به لیستریا مونوسایتوزنر، سالمونلا و اشرشیاکلائی نشان دادند که هیچ‌گونه آلودگی به لیستریا در تخم‌مرغ‌های آزمایش شده مشاهده نشده است (۳۲) که نتایج حاصل از این پژوهش دارای آلودگی ۵ درصدی به لیستریا مونوسایتوزنر است. در این مطالعه میزان آلودگی تخم‌مرغ به سالمونلا ۱۸ درصد بود. نتایج مطالعه ننا و همکاران در سال ۲۰۱۹ در نیجریه بر روی ۵۰ نمونه تخم‌مرغ آزمایش شده به سالمونلا، لیستریا و شمارش کلی باکتری‌ها، میزان آلودگی به لیستریا در نمونه‌ها را صفر و میزان آلودگی تخم‌مرغ را ۸۰ درصد گزارش دادند (۳۳) که با نتایج حاصل از پژوهش حاضر متفاوت است.

در مطالعه‌ای که توسط پارپهار و همکاران در سال ۲۰۰۸ بر روی آلودگی ماهی به لیستریا انجام گرفت مشخص شد که از مجموع ۱۱۵ نمونه ماهی اخذ شده، ۱۰ نمونه (۱۱/۵ درصد) به لیستریا مونوسایتوزنر آلوده بودند (۲۳). که با نتایج حاصل از این پژوهش با توجه به آلودگی ۲ درصدی، متفاوت است.

مطالعه جلالی و عابدی در سال ۲۰۰۸ در مورد شیوع گونه لیستریا در محصولات غذایی نشان داد که از ۸۵ نمونه ماهی تازه و منجمد و میگوی تازه مورد مطالعه، ۲ مورد (۲/۳ درصد) به *L. innocua* و ۱ مورد (۱/۶ درصد) به *L. monocytogenes* آلوده بودند که با نتایج حاصل از پژوهش حاضر در خصوص میگو و ماهی تا حدودی همسو می‌باشد (۲۴). هم‌چنین در پژوهش دیگری که توسط بستی و همکاران در سال ۲۰۰۶ انجام شد، نشان دادند که ۲/۶ درصد از نمونه‌های ماهی تازه آلوده به *L. monocytogenes* هستند که با نتایج این پژوهش مطابقت دارند (۲۵).

مطالعات هانسن و همکاران در سال ۲۰۰۶ نشان داد که از مجموع ۴۰۰ نمونه ماهی ۱۶ درصد به لیستریا مونوسایتوزنر آلوده بودند (۲۶)؛ که با نتایج حاصل از این پژوهش متفاوت است و نشان‌دهنده سطح بهداشتی بالا در پژوهش حاضر می‌باشد. مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۸ در کشور هلند بر روی جداسازی لیستریا مونوسایتوزنر از ماهی خام انجام گرفت مشخص شد که از مجموع ۶۱۴ نمونه ماهی، ۲۳۷ نمونه (۳۸/۶ درصد) دارای آلودگی به پاتوزن لیستریا بوده است (۲۷) که نشان‌دهنده بالا بودن آلودگی به لیستریا مونوسایتوزنر در مطالعه نامبرده می‌باشد.

مطالعات باشا و همکاران در سال ۲۰۱۹ در کشور هندوستان بر روی آلودگی ماهی و غذاهای دریایی به لیستریا نشان داده شده که از مجموع ۲۲۷ نمونه ماهی،

با نتایج حاصل از این پژوهش با میزان آلودگی ۵ درصد در ۱۰۰ عدد مطابقتی ندارد. در مطالعه‌ای مشابه توسط ریوال و همکاران در سال ۲۰۱۳ بر روی آلودگی تخم‌مرغ خام به لیستریا نشان داد که از مجموع ۲۹۳ مورد ۲۵ نمونه (۸/۵ درصد) به آلودگی داشته است (۴۱)، که با این مطالعه همسو می‌باشد. در مطالعه‌ای مشابه در ژاپن، بر روی آلودگی مواد غذایی آماده و خام عرضه شده در هایپرمارکت‌ها به لیستریا گزارش دادند که از مجموع ۲۹۶ نمونه تخم‌مرغ، ۹/۵ درصد به لیستریا آلودگی داشته‌اند (۴۲) که با نتایج این پژوهش همخوانی دارد.

طبق نتایج به دست آمده از مطالعه، شیوع لیستریا مونوسایتوژنز در ماهی و تخم‌مرغ شهرستان شهرکرد پائین‌تر از میانگین جهانی بوده، اما همچنان رعایت اصول بهداشتی الزامی و مهم می‌باشد. لیستریا مونوسایتوژنز عامل اصلی لیستریوز ناشی از غذا در انسان است. به ندرت، عفونت‌های ناشی از غذا توسط *L. seeligeri* و *L. ivanovii* گزارش شده است (۴۳). سویه‌های *L. monocytogenes* دارای پتانسیل بیماری‌زایی متفاوتی هستند، زیرا برخی از سویه‌ها بسیار خطرناک هستند، در حالی که برخی از آنها عوامل غیرعفونی هستند. به همین دلیل تعیین پتانسیل بیماری‌زایی *L. monocytogenes* از نظر ایمنی غذا و سلامت عمومی مهم است؛ پژوهش‌های گسترده در دهه‌های اخیر بینش‌های قابل توجهی را در مورد مکانیسم‌های مولکولی عفونت *L. monocytogenes* نشان داده است. این به نوبه خود توسعه روش‌های آزمایشگاهی برای تشخیص و شناسایی پیشرفته *L. monocytogenes* را تسهیل کرده است و هم‌چنین به اجرای استراتژی‌های کنترل و پیشگیری بهبود یافته در برابر لیستریوز کمک کرده است (۴۴).

با توجه به موقعیت ناشناخته بودن بیماری‌زایی لیستریوزیس در ایران و عدم گزارش این بیماری و

مطالعه دیگر ریوال و همکاران در سال ۲۰۱۰ بر روی آلودگی تخم‌مرغ به لیستریا مونوسایتوژنز در کشور فرانسه از مجموع ۱۴۴ نمونه مورد آزمایش تعداد ۴ نمونه (۲/۷۸ درصد) به لیستریا مونوسایتوژنز آلوده بود (۳۴) که با نتایج حاصل از پژوهش حاضر مطابقت دارد. Jamali و همکاران در پژوهشی در سال ۲۰۱۳ در کشور مالزی بر روی آلودگی به لیستریا مونوسایتوژنز در مواد غذایی عرضه شده در خرده‌فروشی‌ها گزارش داد که میزان آلودگی در تخم‌مرغ‌های مورد آزمایش در این مطالعه از مجموع ۳۹۶ نمونه، ۹/۵ درصد است (۳۵). که تا حدودی با مطالعه حاضر همسو می‌باشد.

در یک مطالعه که توسط زارعی و همکاران در سال ۲۰۱۲ انجام شد مشخص شد که *L. monocytogenes* در نمونه‌های میگو ۷/۱ درصد از ۱۰۰ مورد بود (۳۶) که با نتایج حاصل از پژوهش حاضر تا حدودی متناسب است. مطالعه یاسمین و همکاران در سال ۲۰۰۷ بر روی آلودگی لیستریایی میگو و سایر غذاهای دریایی مشخص شد که از ۱۰۰ نمونه میگو ۱ نمونه (۱ درصد) به لیستریا آلوده بود (۳۷) که با نتایج حاصل از این پژوهش مطابقت دارد. مطالعه Guo و همکاران در سال ۲۰۱۳ بر روی آلودگی‌ها غذایی دریایی به میکروارگانیزم‌های پاتوژن مشخص شد که ۲۱/۹ درصد آلودگی به لیستریا در میگو رخ داده است (۳۸)، که با نتایج این پژوهش تفاوت بالایی دارد. در مطالعه‌ای در برزیل، آدسیون و همکاران در ۱۹۹۳ گونه‌های لیستریا را در ۸/۸ درصد نمونه‌های میگوی منجمد صادراتی را شناسایی کردند (۳۹) که در این مطالعه ۴ نمونه از میگوها به لیستریا آلوده بودند.

در پژوهشی که در استان اصفهان در سال ۲۰۱۲ بر روی ۵۲۵ نمونه مواد غذایی انجام شد، گزارش شد که هیچ آلودگی به لیستریا مونوسایتوژنز در تخم‌مرغ‌های مورد آزمایش یافت نشده است (۴۰) که

عدم توجه به بهداشت مواد اولیه این محصولات و آلوده شدن گوشت در حین تهیه، فرآوری و توزیع می‌تواند بهداشت و سلامت عموم را تهدید کند. با توجه به رشد لیستریا مونوسی‌توژنز در دمای یخچال و از آنجایی که اکثر این محصولات در هنگام مصرف به اندازه کافی حرارت نمی‌بینند، خطری بالقوه برای سلامت افراد می‌باشند (۴۴).

عدم وجود برنامه کنترلی برای آن در برنامه بهداشت کشور، در خصوص شیوع لیستریا مونوسی‌توژنز، در غذاهای مصرفی در کشور اطلاعات محدودی وجود دارد. شیوع گونه‌های لیستریایی در انواع مختلف گوشت قرمز، مرغ و غذاهای دریایی نشان داده شده است. همچنین با توجه به مصرف روزافزون غذاهای آماده از جمله سوسیس و کالباس در بین افراد جامعه،

منابع

- Naseri, A. B., & Dallal, M. M. S. (2019). Frequency, antimicrobial susceptibility and serotyping of *Listeria monocytogenes* isolated from food samples in Tehran, Iran. *J. Gorgan Univ. Med. Sci.* 21, 101-7.
- Rossi, M. d. S. C., Stedefeldt, E., da Cunha, D. T., & de Rosso, V. V. (2017). Food safety knowledge, optimistic bias and risk perception among food handlers in institutional food services. *Food control.* 73, 681-8.
- Khalili Borujeni, F., Moshtaghi, H., & Bonyadian, M. (2013). Study on contamination of sheep meat in Shahrekord area with *Listeria ivanovii* and determination its antibiotic resistance pattern. *Iranian Journal of Medical Microbiology.* 7 (1), 15-21.
- CS, N., E, P., & CS, B. (2011). Thermal destruction of *Listeria monocytogenes* in liquid egg products with heat treatment at lower temperature and longer than pasteurization. *African Journal of Food Science.* 5 (3), 161-7.
- EFSA, E. (2019). European Food Safety Authority, European Centre for Disease Prevention and Control: The European Union summary report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2017. *EFSA J.* 17 (2), 5598.
- Ferreira, V., Wiedmann, M., Teixeira, P., & Stasiewicz, M. (2014). *Listeria monocytogenes* persistence in food-associated environments: epidemiology, strain characteristics, and implications for public health. *Journal of food protection.* 77 (1), 150-70.
- Maurella, C., Gallina, S., Ru, G., Adriano, D., Bellio, A., & Bianchi, D. M., et al. (2018). Outbreak of febrile gastroenteritis caused by *Listeria monocytogenes* 1/2a in sliced cold beef ham, Italy, May 2016. *Eurosurveillance.* 23 (10), 17-00155.
- Belias, A., Sullivan, G., Wiedmann, M., & Ivanek, R. (2022). Factors that contribute to persistent *Listeria* in food processing facilities and relevant interventions: A rapid review. *Food Control.* 133, 108579.
- Townsend, A., Strawn, L. K., Chapman, B. J., & Dunn, L. L. (2021). A systematic review of *Listeria* species and *Listeria monocytogenes* prevalence, persistence, and diversity throughout the fresh produce supply chain. *Foods.* 10 (6), 1427.
- McLauchlin, J., & Rees, C. E. (2015). *Listeria*. *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria.* Pp: 1-29.
- Byrd, K. A., Thilsted, S. H., & Fiorella, K. J. (2021). Fish nutrient composition: A review of global data from poorly assessed inland and marine species. *Public Health Nutrition.* 24 (3), 476-86.
- Stoneham, T. R., Kuhn, D. D., Taylor, D. P., Neilson, A. P., Smith, S. A., & Gatlin, D. M., et al. (2018). Production of omega-3 enriched tilapia through the dietary use of algae meal or fish oil: Improved nutrient value of fillet and offal. *PLoS One.* 13, 4. e0194241.
- Kandyliari, A., Mallouchos, A., Papandroulakis, N., Golla, J. P., Lam, T. T., & Sakellari, A., et al. (2020). Nutrient composition and fatty acid and

- protein profiles of selected fish by-products. *Foods*. 9 (2), 190.
14. Ravanipour, M., Bagherzadeh, R., & Mahvi, A. H. (2021). Fish and shrimp waste management at household and market in Bushehr, Iran. *Journal of material cycles and waste management*. 23 (4), 1394-403.
 15. Puglisi, M. J., & Fernandez, M. L. (2022). The Health Benefits of Egg Protein. *Nutrients*. 14 (14), 2904.
 16. Abdollahzadeh, E., Ojagh, S. M., Hosseini, H., Irajian, G., & Ghaemi, E. A. (2016). Prevalence and molecular characterization of *Listeria* spp. and *Listeria* monocytogenes isolated from fish, shrimp, and cooked ready-to-eat (RTE) aquatic products in Iran. *LWT*. 73, 205-11.
 17. Rahimi, E., Shakerian, A., & Raissy, M. (2012). Prevalence of *Listeria* species in fresh and frozen fish and shrimp in Iran. *Annals of Microbiology*. 62 (1), 37-40.
 18. Hartemink, R., & Georgsson, F. (1991). Incidence of *Listeria* species in seafood and seafood salads. *International journal of food microbiology*. 12 (2-3), 189-95.
 19. Silk, B. J., Mahon, B. E., Griffin, P. M., Gould, L. H., Tauxe, R. V., & Crim, S. M., et al. (2013). Vital signs: *Listeria* illnesses, deaths, and outbreaks-United States, 2009-2011. *Morbidity and Mortality Weekly Report*. 62 (22), 448.
 20. Smith, A. M., Tau, N. P., Smouse, S. L., Allam, M., Ismail, A., & Ramalwa, N. R., et al. (2019). Outbreak of *Listeria* monocytogenes in South Africa, 2017-2018: Laboratory activities and experiences associated with whole-genome sequencing analysis of isolates. *Foodborne pathogens and disease*. 16 (7), 524-30.
 21. Heidarzadi, M. A., Rahnama, M., Alipoureskandani, M., Saadati, D., & Afsharimoghadam, A. (2021). Salmonella and *Escherichia coli* contamination in samosas presented in Sistan and Baluchestan province and antibiotic resistance of isolates. *Food Hygiene*. 11 (2 (42)), 81-90.
 22. Baek, S. Y., Lim, S. Y., Lee, D. H., Min, K. H., & Kim, C. M. (2000). Incidence and characterization of *Listeria* monocytogenes from domestic and imported foods in Korea. *Journal of food protection*. 63 (2), 186-9.
 23. Parihar, V. S., Barbuddhe, S., Danielsson-Tham, M. L., & Tham, W. (2008). Isolation and characterization of *Listeria* species from tropical seafoods. *Food control*. 19 (6), 566-9.
 24. Jalali, M., & Abedi, D. (2008). Prevalence of *Listeria* species in food products in Isfahan, Iran. *International journal of food microbiology*. 122 (3), 336-40.
 25. Basti, A. A., Misaghi, A., Salehi, T. Z., & Kamkar, A. (2006). Bacterial pathogens in fresh, smoked and salted Iranian fish. *Food control*. 17 (3), 183-8.
 26. Hansen, C. H., Vogel, B. F., & Gram, L. (2006). Prevalence and survival of *Listeria* monocytogenes in Danish aquatic and fish-processing environments. *Journal of food protection*. 69 (9), 2113-22.
 27. Skowron, K., Kwiecińska-Piróg, J., Grudlewska, K., Świeca, A., Paluszak, Z., & Bauza-Kaszewska, J., et al. (2018). The occurrence, transmission, virulence and antibiotic resistance of *Listeria* monocytogenes in fish processing plant. *International journal of food microbiology*. 282, 71-83.
 28. Basha, K. A., Kumar, N. R., Das, V., Reshmi, K., Rao, B. M., & Lalitha, K., et al. (2019). Prevalence, molecular characterization, genetic heterogeneity and antimicrobial resistance of *Listeria* monocytogenes associated with fish and fishery environment in Kerala, India. *Letters in applied microbiology*. 69 (4), 286-93.
 29. Jamali, H., Paydar, M., Ismail, S., Looi, C. Y., Wong, W. F., & Radmehr, B., et al. (2015). Prevalence, antimicrobial susceptibility and virulotyping of *Listeria* species and *Listeria* monocytogenes isolated from open-air fish markets. *BMC microbiology*. 15 (1), 1-7.

30. Wiczorek, K., & Osek, J. (2017). Prevalence, genetic diversity and antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes* isolated from fresh and smoked fish in Poland. *Food Microbiology*. 64, 164-71.
31. Maktabi, S., Fazlara, A., & Ebrahimian, S. (2011). Incidence of *Listeria* species in farmed tropical fish in Khuzestan, Iran. *World Journal of Fish and Marine Sciences*. 3 (3), 206-9.
32. Fenollar, A., Domenech, E., Ferrus, M.A., & Jimenez-Belenguer, A. (2019). Risk characterization of antibiotic resistance in bacteria isolated from Backyard, Organic, and Regular commercial Eggs. *Journal of food protection*. 82 (3), 422-8.
33. Nnenna, O., & Ngozi, O. (2019). Bacteriological screening and physiochemical analysis of conventional and organic egg. *Int j. innov. res. adv. stud.* 6 (9), 12-8.
34. Rivoal, K., Quéguiner, S., Boscher, E., Bougeard, S., Ermel, G., & Salvat, G., et al. (2010). Detection of *Listeria monocytogenes* in raw and pasteurized liquid whole eggs and characterization by PFGE. *International Journal of Food Microbiology*. 138 (1-2), 56-62.
35. Jamali, H., & Chai, L. C. (2013). Thong, K.L. Detection and isolation of *Listeria* spp. and *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods with various selective culture media. *Food control*. 32 (1), 19-24.
36. Zarei, M., Maktabi, S., & Ghorbanpour, M. (2012). Prevalence of *Listeria monocytogenes*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Staphylococcus aureus*, and *Salmonella* spp. in seafood products using multiplex polymerase chain reaction. *Foodborne Pathogens and Disease*. 9 (2), 108-12.
37. Yasmin, M., Kawasaki, S., & Kawamoto, S. (2007). Evaluation of multiplex PCR system for simultaneous detection of *Escherichia coli* O157: H7, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella enteritidis* in shrimp samples. *Bangladesh Journal of Microbiology*. 24 (1), 42-6.
38. Fallah, A. A., Saei-Dehkordi, S. S., & Mahzounieh, M. (2013). Occurrence and antibiotic resistance profiles of *Listeria monocytogenes* isolated from seafood products and market and processing environments in Iran. *Food control*. 34 (2), 630-6.
39. Adesiyun, A. (1993). Prevalence of *Listeria* spp., *Campylobacter* spp. *Salmonella* spp. *Yersinia* spp. and toxigenic *Escherichia coli* meat and seafoods in Trinidad. *Food microbiology*. 10 (5), 395-403.
40. Mahdavi, M., Jalali, M., Safaei, H. G., & Shamloo, E. (2012). Microbial quality and prevalence of *Salmonella* and *Listeria* in eggs. *International Journal of Environmental Health Engineering*. 1 (1), 48.
41. Rivoal, K., Fablet, A., Courtilon, C., Bougeard, S., Chemaly, M., & Protais, J. (2013). Detection of *Listeria* spp. in liquid egg products and in the egg breaking plants environment and tracking of *Listeria monocytogenes* by PFGE. *International journal of food microbiology*. 166 (1), 109-16.
42. Ohkochi, M., Nakazawa, M., & Sashihara, N. (2009). Detection of *Listeria monocytogenes* in commercially broken unpasteurized liquid egg in Japan. *Journal of food protection*. 72 (1), 178-81.
43. Jamshidi, A., & Zeinali, T. (2019). Significance and characteristics of *Listeria monocytogenes* in poultry products. *International journal of food science*.
44. Denny, J., & McLauchlin, J. (2008). Human *Listeria monocytogenes* infections in Europe an opportunity for improved European surveillance. *Eurosurveillance*. 13 (13), 9-10.

Comparing the effect of hydrazone derivative 2-phenylthiobenzoic acid as a new anti-inflammatory with mefenamic acid on liver tissue histology and liver enzymes in *Trichogaster trichopterus*

Yasaman Khani¹, Tahereh Naji^{*2}, Ali Almasi Rad³, Homayoun Hosseinzadeh Sahafi⁴

1. Ph.D. Student in Pharmacy, Dept. of Basic Sciences, Faculty of Pharmacy and Pharmaceutical Science, Tehran Medical Science, Islamic Azad University, Tehran, Iran. E-mail: yasamankhani2@gmail.com
2. Corresponding Author, Associate Prof., Dept. of Basic Sciences, Faculty of Pharmacy and Pharmaceutical Science, Tehran Medical Science, Islamic Azad University, Tehran, Iran. E-mail: tnaji2002@gmail.com
3. Associate Prof., Dept. of Medicinal Chemistry, Faculty of Pharmacy and Pharmaceutical Science, Tehran Medical Science, Islamic Azad University, Tehran, Iran. E-mail: almasirad.a@iaups.ac.ir
4. Professor, Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research, Education and Promotion Organization, Tehran, Iran. E-mail: h_hosseinzadeh@yahoo.com

Article Info

Article type:

Full Length Research Paper

Article history:

Received: 11.01.2022

Revised: 11.18.2022

Accepted: 12.16.2022

Keywords:

2- (Phenylthio) benzoic acid
Enzyme,
Liver,
Trichogaster trichopterus

ABSTRACT

Background and Objectives: The effect of liver ultrastructure and changes of liver enzymes with hydrazone derivative 2-phenylthiobenzoic acid as a new anti-inflammatory and its comparison with mefenamic acid was investigated in three spotted gourami fish.

Materials and Methods: 120 pieces of *Trichogaster trichopterus* female fish with an average weight of 1.93 ± 0.43 g were purchased from from ornamental fish farm and divided into eight groups of 15 including the intact control group, DMSO solvent control, six treatment groups receiving mefenamic acid and hydrazone derivative with a dose of 10, 20 and 30 mg/kg. Data analysis was done using SPSS₂₆ software with one-way analysis of variance (ANOVA) and Tukey's test at $P \geq 0.05$.

Results: The results showed that in the highest dose of mefenamic acid and hydrazone derivative, the hepatosomatic index decreased significantly compared to the control treatments ($P < 0.05$). ALP and ALT increased significantly in all mefenamic acid and hydrazone derivative treatments compared to control treatments ($P < 0.05$). The highest ALT was measured in medium dose of mefenamic acid and hydrazone derivative and the highest AST was measured in low dose of mefenamic acid and hydrazone derivative ($P < 0.05$). Liver histology with optical microscope showed that in the control treatments, liver sinusoids had a normal shape and a normal trend, while in the treatments of mefenamic acid and hydrazone derivative, expansion and disorder of the sinusoids occurred. In the examination of the electron microscope, dissociation was observed in the cell membrane and cytoplasm in the treatments of mefenamic acid and hydrazone derivative.

Conclusion: both Mefenamic acid and hydrazone derivative cause liver damage. In all three doses, mefenamic acid has more tissue and cell damage than the hydrazone derivative, and the hydrazone derivative is more favorable in terms of toxic profile.

Cite this article: Khani, Yasaman, Naji, Tahereh, Almasi Rad, Ali, Hosseinzadeh Sahafi, Homayoun. 2023. Comparing the effect of hydrazone derivative 2-phenylthiobenzoic acid as a new anti-inflammatory with mefenamic acid on liver tissue histology and liver enzymes in *Trichogaster trichopterus*. *Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics*, 12 (2), 157-169.



مقایسه اثر مشتق هیدرازون ۲- فنیل تیو بنزویک اسید به عنوان یک ضد التهاب جدید با مفنامیک اسید بر هیستولوژی بافت کبد و آنزیم‌های کبدی در ماهی گورامی سه خال (*Trichogaster trichopterus*)

یاسمن خانی^۱، طاهره ناجی^{۲*}، علی الماسی راد^۳، همایون حسین‌زاده صحافی^۴

۱. دانشجوی دکتری داروسازی، گروه علوم پایه، دانشکده داروسازی و علوم دارویی، علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران. رایانامه: yasamankhani2@gmail.com
۲. نویسنده مسئول، دانشیار گروه علوم پایه، دانشکده داروسازی و علوم دارویی، علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران. رایانامه: tnaji2002@gmail.com
۳. دانشیار گروه شیمی دارویی، دانشکده داروسازی و علوم دارویی، علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران. رایانامه: almasirad.a@iaups.ac.ir
۴. استاد تمام، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران. رایانامه: h_hosseinzadeh@yahoo.com

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: مقاله کامل علمی- پژوهشی	سابقه و هدف: تأثیر فراساختار کبد و تغییرات آنزیم‌های کبدی با مشتق هیدرازون ۲- فنیل تیو بنزویک اسید به عنوان یک ضد التهاب جدید و مقایسه آن با مفنامیک اسید در ماهی گورامی سه خال بررسی گردید.
تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۸/۱۰	مواد و روش‌ها: تعداد ۱۲۰ قطعه ماهی گورامی سه خال ماده با میانگین وزنی $1/93 \pm 0/43$ گرم از مرکز پرورش ماهیان زینتی خریداری و به هشت گروه ۱۵ تایی شامل گروه کنترل‌های دست‌نخورده و حلال DMSO، شش گروه تیماری دریافت‌کننده مفنامیک اسید و مشتق هیدرازون با دوز ۱۰، ۲۰ و ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تقسیم شدند. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS ورژن ۲۶ با آزمون تجزیه واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و توکی در سطح $P \geq 0/05$ انجام شد.
تاریخ ویرایش: ۱۴۰۱/۰۸/۲۷	یافته‌ها: نتایج نشان داد در بیش‌ترین دوز مفنامیک اسید و مشتق هیدرازون شاخص هپاتوسوماتیک نسبت به تیمارهای کنترل به‌طور معنی‌داری کاهش یافت ($P > 0/05$). آنزیم ALT و ALP در همه تیمارهای مفنامیک اسید و مشتق هیدرازون نسبت به تیمارهای کنترل به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ($P > 0/05$). بافت‌شناسی کبد با میکروسکوپ نوری نشان داد در تیمارهای کنترل، سینوزوئیدهای کبدی به شکل طبیعی و از یک روند نرمال برخوردار بودند در حالی‌که در
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۹/۲۵	واژه‌های کلیدی: آنزیم، کبد، ماهی گورامی سه خال، مشتق هیدرازون ۲- فنیل تیو بنزویک اسید

تیمارهای مفنمیک اسید و مشتق هیدرازون اتساع و برهم‌ریختگی سینوزوئیدها رخ داد. در بررسی میکروسکوپ الکترونی نیز گسستگی در غشا و سیتوپلاسم سلول در تیمارهای مفنمیک اسید و مشتق هیدرازون مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: مفنمیک اسید و مشتق هیدرازون موجب آسیب کبدی می‌گردند. در تیمارهای مفنمیک اسید هر سه دوز، آسیب بافتی و سلولی بیش‌تر از مشتق هیدرازون بود و مشتق هیدرازون از لحاظ پروفایل سمیت کبدی مطلوب‌تر است.

استناد: خانی، یاسمن، ناجی، طاهره، الماسی راد، علی، حسین‌زاده صحافی، همایون (۱۴۰۲). مقایسه اثر مشتق هیدرازون ۲- فنیل تیو بنزویک اسید به عنوان یک ضد التهاب جدید با مفنمیک اسید بر هیستولوژی بافت کبد و آنزیم‌های کبدی در ماهی گورامی سه خال (*Trichogaster trichopterus*). نشریه بهره‌برداری و پرورش آبزیان، ۱۲ (۲)، ۱۶۹-۱۵۷.

DOI: 10.22069/japu.2022.20744.1721



© نویسندگان.

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

مقدمه

داروهای ضدالتهابی غیراستروئیدی (Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) از پرمصرف‌ترین ترکیبات در درمان درد و التهاب می‌باشند (۱). مهار آنزیم سیکلواکسیژناز توسط داروهای ضدالتهاب غیراستروئیدی، علاوه بر این‌که سنتز پروستاگلاندین‌های محافظ (محصولات COX-1) را مهار می‌نماید، افزایش متابولیسم آراشیدونیک اسید در مسیر لیپواکسیژناز را نیز به همراه دارد؛ بنابراین داروهایی که بتوانند هم‌زمان هر دو مسیر سیکلواکسیژناز و لیپواکسیژناز را مهار کنند، اثرات درمانی قوی‌تر و عوارض جانبی کم‌تری خواهند داشت (۲، ۳) هدف اصلی درمانی داروهای NSAID فعالیت سیکلواکسیژنازی آنزیم سیکلواکسیژناز می‌باشد. با توجه به عملکرد فیزیولوژیک پروستاگلوئیدهای حاصل از مسیر سیکلواکسیژناز، عوارض جانبی ایجاد شده در مصرف NSAID هایی را که مهارکننده غیرانتخابی آنزیم سیکلواکسیژناز می‌باشند، توجه می‌نماید. عوارض کبدی از جمله شایع‌ترین عوارض می‌باشند (۴، ۵).

از جمله داروهایی که می‌توانند هم‌زمان COX و LOX را مهار کنند می‌توان مشتقات جدید آریل هیدرازون ۲-فنیل تیو بنزوئیک اسید را نام برد (۶، ۷). هیدرازون‌ها به تازگی به دلیل خواص بیولوژیکی مختلف مانند ضد باکتری، ضد قارچی (۸)، ضد تشنج (۹)، ضد مالاریا و آنتی‌اکسیدانت (۱۰)، شلاتورکننده آهن (۱۱)، وازودیلاتور (۱۲)، ضد تومور (۱۳) و ضدالتهاب اهمیت زیادی پیدا کرده‌اند. فنیل تیو بنزوئیک اسید ۴- نیترو بنزیلیدن هیدرازون از مشتقات هیدرازون ۲- فنیل تیو بنزوئیک اسید است که در آزمایشگاه شیمی دارویی دانشگاه آزاد واحد علوم دارویی تهران سنتز شده است. در سال ۲۰۱۲، شاه‌قلی و همکاران اثرات ضد التهابی مشتق سنتز شده 2-(phenylthio) benzoic acid (4-nitrobenzylidene)hydrazide را روی موش

صحرائی بررسی کردند. این مشتق اثرات ضد التهابی معنی‌دار بالاتری نسبت به گروه کنترل داشت ولی نسبت به مفنامیک اسید اثرات معنی‌دار ضد التهابی بالاتری نداشت (۱۴).

سلول‌های کبدی بسیاری از متابولیسم‌ها را انجام می‌دهند و دارای تعداد زیادی آنزیم هستند. آمینوترانسفرازها حساس‌ترین و پرمصرف‌ترین آنزیم‌های تشخیصی کبد و شامل آسپارات آمینوترانسفراز (AST) و آلانین آمینوترانسفراز (ALT) هستند (۱۵، ۱۶) ارزیابی سطح پلاسمایی آمینوترانسفرازها نشان‌دهنده آسیب سلولی در ارگانی است که این آنزیم داخل آن بالا رفته است (۱۷). تغییرات نسبت وزن ارگان به بدن ممکن است نشانه‌ای از انقباض یا التهاب سلولی باشد (۱۸).

ماهی‌ها بزرگ‌ترین و متنوع‌ترین گروه مهره‌داران است. موقعیت تکاملی آن‌ها نسبت به دیگر مهره‌داران و توانایی ماهی‌ها برای انطباق با محیط‌های متنوع، این موجود را برای مطالعه تکامل مولکولی ایده‌آل می‌کند (۱۹). کبد ماهی ارگان‌ساز اصلی مربوط به دفع سموم آلی و غیرآلی می‌باشد و می‌تواند آن‌ها را در مقادیر بالاتری نسبت به سایر ارگان‌ها جمع و دفع کند (۱۹، ۲۰). ماهی گورامی سه خال (*tricopterus Tricogaster*) متعلق به خانواده *Anabantidae* بوده که به‌عنوان یک مدل اندوکراینی در پژوهش حاضر در نظر گرفته شده است. اگرچه برخی تفاوت‌های معنی‌دار در سیستم اندوکراینی ماهی‌ها در مقایسه با پستانداران وجود دارد، اما اساس زیربنایی سیستم اندوکراینی آن‌ها بسیار مشابه پستانداران است و به‌عنوان مدل‌های آزمایشگاهی کاربردهای زیادی دارند (۲۱).

در این مطالعه با فرض این‌که هیدرازون‌ها در مقایسه با NSAID ها اثرات ضدالتهابی و ضد درد قوی‌تر و عوارض کم‌تری دارند، اثر مشتق هیدرازونی بر بافت کبد و آنزیم‌های کبدی ماهی گورامی سه خال و مقایسه آن با داروی مفنامیک اسید بررسی شد.

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر در آزمایشگاه آبریان دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم دارویی در تیرماه سال ۱۴۰۱ انجام گرفت و با کد اخلاق IR.IAU.PS.REC.1400.421 تصویب شد. تعداد ۱۲۰ قطعه ماهی گورامی سه خال ماده با میانگین وزنی $1/93 \pm 0/43$ گرم و طول کل $5/8 \pm 0/6$ سانتی‌متر از مرکز پرورش ماهیان زیتتی در همدان تهیه شدند. ۴۸ ساعت قبل از ورود ماهیان تمامی آکواریوم‌ها با ابعاد $30 \times 40 \times 60$ سانتی‌متر مکعب) با کاغذ سمباده همراه نمک شست و شو داده شد و به منظور کلرزدایی و بالا بردن اکسیژن پر شدند. سپس فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی شامل سختی آب، pH و دمای آب سنجیده شد. مدت زمان سازگاری ماهی‌ها با محیط ۴۸ ساعت بود. ماهی‌ها به صورت یک روز در میان از غذای استاندارد به میزان کافی تغذیه شدند.

ماهی‌ها به‌طور تصادفی در ۸ گروه شامل کنترل دست نخورده (بدون تزریق)، کنترل حلال (دی متیل سولفوکساید (DMSO))، سه گروه تیماری دریافت‌کننده مگنمیک اسید با دوز ۱۰، ۲۰ و ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و سه گروه تیماری دریافت‌کننده مشتق هیدرازون با دوز ۱۰، ۲۰ و ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تقسیم‌بندی شدند (۲۲، ۲۳). دوزهای تزریقی براساس میانگین وزنی ماهی‌ها در هر گروه انجام شد تا میزان مورد نیاز داروها به دست آید. مقدار محاسبه شده توزین و در DMSO حل گردید و داخل ظروف شیشه‌ای تیره که درب آن‌ها با پارافیلیم بسته شده بود، نگهداری شد.

داروی مگنمیک اسید و مشتق 2-(phenylthio) benzoic acid (4-nitrobenzylidene) hydrazid به صورت سنتز شده از آزمایشگاه شیمی دارویی واحد علوم پزشکی تهران تهیه شدند. حلال مورد استفاده DMSO بود که داروی مگنمیک اسید و مشتق هیدرازون در آن قابل حل بودند (۲۳، ۳۰).

تزریق ماهی‌ها تا ۱۰ نوبت و به صورت یک روز در میان انجام شد (۲۴، ۲۵). برای تزریق ابتدا ماهی‌ها در هر گروه با استفاده از محلول عصاره میخک رقیق شده با آب مقطر بیهوش شدند و سپس مقدار $0/2$ میلی‌لیتر از محلول ماده مورد نظر بین باله پشتی و خط جانبی درون عضله با زاویه ۳۰ درجه با سرنگ BD نیم سی‌سی تزریق شد. بعد اتمام تزریق‌ها به مدت ۴۸ ساعت مداخله‌ای روی ماهی‌ها انجام نگرفت و نهایتاً ماهیان پس از یوتانازی با عصاره میخک غلیظ تشریح شدند.

اندام‌های داخلی شامل کبد و سایر احشا تخلیه و کبد جداسازی شد. تعدادی کبد از هر گروه جهت مطالعه با میکروسکوپ نوری انتخاب شد و در محلول فرمالین ۱۰ درصد (۲۶) قرار گرفت. هم‌چنین جهت مطالعه با میکروسکوپ الکترونی، تعدادی کبدی از هر گروه در محلول گلو تار آلدهید $2/5$ درصد قرار داده شد. سطح آنزیم‌های کبدی شامل AST، ALT، ALP پس از هموژنیزاسیون بافت ماهیان اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری آنزیم ALP بر اساس DGKC (استاندارد انجمن بیوشیمی آلمان)، آنزیم ALT و AST بر اساس IFCC (فدراسیون بین‌المللی شیمی بالینی و طب آزمایشگاهی) با استفاده از کیت‌های اندازه‌گیری مخصوص شرکت پارس آزمون انجام شد. درصد شاخص هپاتوسوماتیک بر اساس نسبت وزن کبد ماهی بر وزن ماهی و به صورت درصد تعیین شد.

جهت مطالعه با میکروسکوپ الکترونی، بافت تخمدان در گلو تار آلدهید $2/5$ درصد، تتراکسید اسمیم $1/5$ درصد و بافر کاکودیلات سدیم $0/1$ مولار، فیکس گردید. سپس نمونه‌ها در سری الکل صعودی (۵۰، ۷۰، ۹۵ و ۱۰۰ درصد) آبیگری و در رزین پلیمریزه شدند. پس از انجام برش‌گیری، برش‌ها روی شبکه مسی (گرید) مش 200 قرار گرفت و رنگ‌آمیزی شد. سپس، گریدها با میکروسکوپ

شاخص هپاتوسوماتیک در دوز ۱۰ mg/kg مفنامیک اسید و مشتق هیدرازونی نسبت به گروه‌های کنترل افزایش یافت که احتمالاً به علت آسیب و التهاب سلولی می‌باشد. در همه گروه‌های مفنامیک اسید و مشتق هیدرازونی با افزایش دوز، شاخص هپاتوسوماتیک روند کاهشی داشت که می‌تواند به علت افزایش بافت چربی و کاهش مایعات سلولی باشد. هم‌چنین در گروه دوز ۳۰ mg/kg مفنامیک اسید آسیب بیش‌تری نسبت به گروه مشتق هیدرازونی در دوز ۳۰ mg/kg مشاهده شد. مشابه با یافته‌های مطالعه حاضر، Somchit و همکاران (۲۰۰۴) در بررسی آسیب کبدی ناشی از مفنامیک اسید در موش گزارش کردند که این دارو موجب سمیت کبدی و آسیب به هپاتوسیت‌ها شد و به‌طور واضحی آنزیم‌های کبدی در موش افزایش پیدا کرد. در این مطالعه فقط موش‌هایی که ۱۰۰ mg/kg/day مفنامیک اسید به‌مدت ۱۴ روز گرفته بودند افزایش وزن کبد داشتند (۲۸). در تأیید این مطالعه، مفنامیک در مطالعه حاضر نیز موجب سمیت کبدی و آسیب بافتی شد و میزان آنزیم‌های کبدی در ماهی گورامی سه‌خال افزایش پیدا کرد.

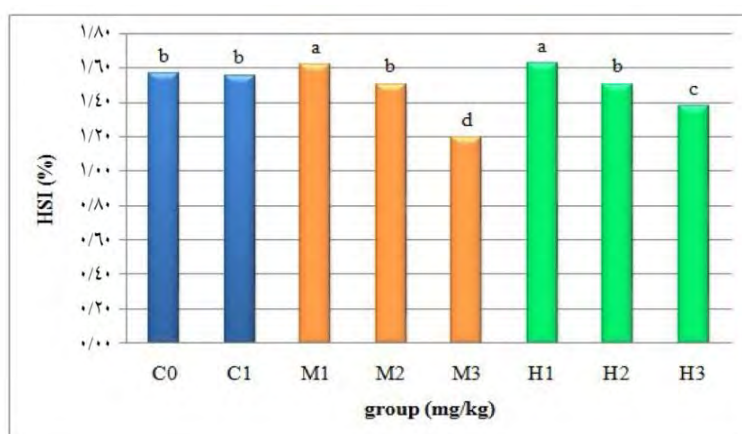
الکترونی مدل (PHILIPS EM208S) در ولتاژ ۷۰ کیلوولت مورد بررسی قرار گرفتند (۲۶).

جهت انجام مطالعات آماری و بررسی معنی‌دار بودن اختلافات در گروه‌های مورد بررسی از آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون توکی و نرم‌افزار SPSS (ورژن ۲۶) استفاده شد. در همه آزمون‌ها $P \geq 0/05$ معنی‌دار بود.

نتایج و بحث

شاخص هپاتوسوماتیک: شاخص کبدی نسبت وزن کبد به وزن ماهی تعریف می‌شود. تغییرات نسبت وزن ارگان به بدن ممکن است نشانه‌ای از انقباض یا التهاب سلولی باشد. انقباض در ارگان می‌تواند به علت از دست دادن مایع از ارگان به علت آسیب رخ دهد، در حالی که افزایش وزن ارگان نسبت به بدن می‌تواند بیانگر التهاب باشد (۲۷).

بررسی شاخص هپاتوسوماتیک در شکل ۱ بیانگر آن است که شاخص هپاتوسوماتیک در گروه کنترل دست نخورده، گروه کنترل حلال، مشتق هیدرازونی ۲۰ mg/kg و مفنامیک اسید ۲۰ mg/kg نسبت به هم اختلاف معنی‌داری ندارد ($P < 0/05$). در مطالعه حاضر



شکل ۱- مقایسه میانگین شاخص هپاتوسوماتیک در گروه‌های مختلف.

C0: کنترل دست نخورده؛ C1: کنترل حلال؛ M1، M2 و M3: به ترتیب مفنامیک اسید در دوزهای ۱۰ mg/kg، ۲۰ mg/kg و

و H1، H2 و H3: به ترتیب مشتق هیدرازونی در دوزهای ۱۰ mg/kg، ۲۰ mg/kg و ۳۰ mg/kg.

حروف متفاوت نشان‌دهنده معنی‌دار بودن اختلاف در سطح $P \geq 0/05$ می‌باشد.

($P > 0/05$). بیشترین افزایش آنزیم ALT و احتمالاً بیشترین آسیب کبدی در دوز متوسط هر دو ماده مشتق هیدرازونی و مفنمیک اسید اتفاق افتاد و آسیب کبدی ناشی از مفنمیک اسید نسبت به مشتق هیدرازونی بیش تر بود (شکل ۴).

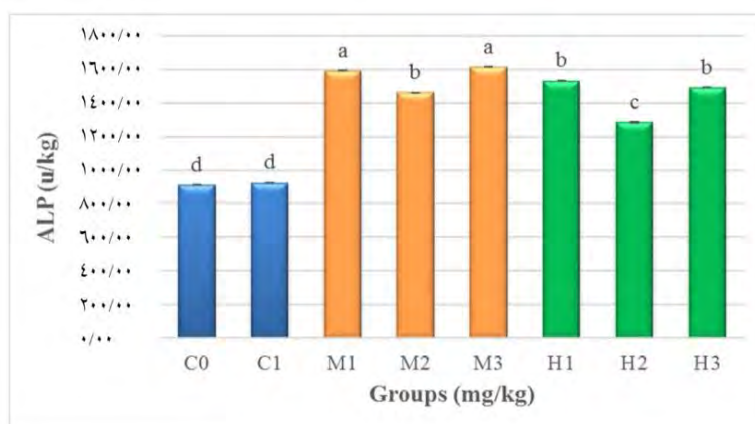
بر خلاف مطالعه حاضر، در سال ۲۰۱۴، Zuo و همکاران، اثرات Phloretin Isonycotinyl (PIH) را روی کبد نوعی موش بررسی و مشاهده کردند PIH به صورت معنی داری مانع افزایش آنزیم کبدی ALT، AST، Y-GT، ALP شد (۲۹). همسو با یافته‌های مطالعه حاضر Mokhnache و همکاران (۲۰۲۰) در بررسی اثرات کبدی مشتق هیدرازونی جدید سنتز شده از ایزونیزاید بر کبد نوعی موش نر (swiss albino) گزارش کردند مشتق هیدرازونی به طور معنی داری منجر به آنزیم‌های ALT و AST گردید (۳۰). به طور مشابه Naslunal و همکاران (۲۰۲۰) نشان دادند ناپروکسن در دوزهای بالا بر بیان ژن کبدی و بافت کبدی ماهی wild three-spined stickleback اثرات مخرب دارد (۳۱). Germaine و همکاران (۲۰۲۰) نیز آسیب کبدی ناشی از ایوپروفن را در ماهی‌های *Clarias gariepinus* یا African sharptooth catfish گزارش کردند (۳۲). در یک مطالعه انسانی نیز گزارش شد مصرف داروی ناپروکسن که از دسته NSAID هاست موجب افزایش آنزیم‌های ALT، AST، ALP در یک بیمار زن شده است (۳۳) که با یافته‌های مطالعه این پژوهش همخوانی دارد.

آنزیم‌های کبدی: نتایج آزمون تجزیه واریانس تفاوت معنی داری را در آنزیم‌های کبدی ALT، ALP و AST در گروه‌های مختلف نشان داد ($P > 0/05$) (شکل‌های ۲ تا ۴).

نتایج این مطالعه نشان داد (شکل ۲) مشتق هیدرازون ۲- فنیل تیو بنزوئیک اسید و مفنمیک اسید دارای اثرات هپاتوتوکسیک بوده و بدون وابستگی به دوز موجب افزایش معنی دار سطح آنزیم‌های ALP، ALT و AST گردیدند. بررسی سطح آنزیمی ALP نشان داد که هم مفنمیک اسید و هم مشتق هیدرازونی موجب آسیب کبدی در هر سه دوز گردیدند ($P > 0/05$). سطوح ALP در گروه‌های مشتق هیدرازونی نسبت به گروه‌های مفنمیک اسید در دوز معادل به طور معنی داری پایین تر بود که نشان می‌دهد آسیب کبدی ناشی از مشتق هیدرازونی نسبت به مفنمیک اسید کم تر است.

نتایج این پژوهش نشان داد (شکل ۳) همه دوزهای مفنمیک اسید و دوزهای ۱۰ mg/kg و ۲۰ mg/kg مشتق هیدرازولی منجر به افزایش معنی دار آنزیم کبدی ALT در ماهی‌ها در مقایسه با تیمارهای کنترل گردید ($P > 0/05$). بیشترین میزان آنزیم ALT در ماهی‌های گروه ۲۰ mg/kg مفنمیک اسید اندازه‌گیری شد و مشتق هیدرازونی آسیب کبدی کمتری نسبت به مفنمیک اسید ایجاد کرد.

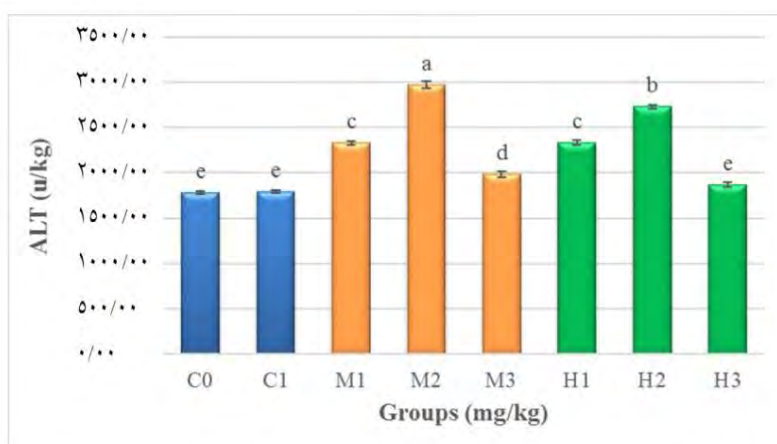
در ارزیابی سطح ALT مشخص گردید هم مفنمیک اسید و هم مشتق هیدرازونی بدون وابستگی به دوز باعث افزایش ALT و آسیب کبدی شدند



شکل ۲- مقایسه میانگین آنزیم ALP در گروه‌های مختلف.

C0: کنترل دست نخورده؛ C1: کنترل حلال؛ M1، M2 و M3: به ترتیب مفنمیک اسید در دوزهای ۱۰ mg/kg، ۲۰ mg/kg و ۳۰ mg/kg؛ H1، H2 و H3: به ترتیب مشتق هیدرازونی در دوزهای ۱۰ mg/kg، ۲۰ mg/kg و ۳۰ mg/kg

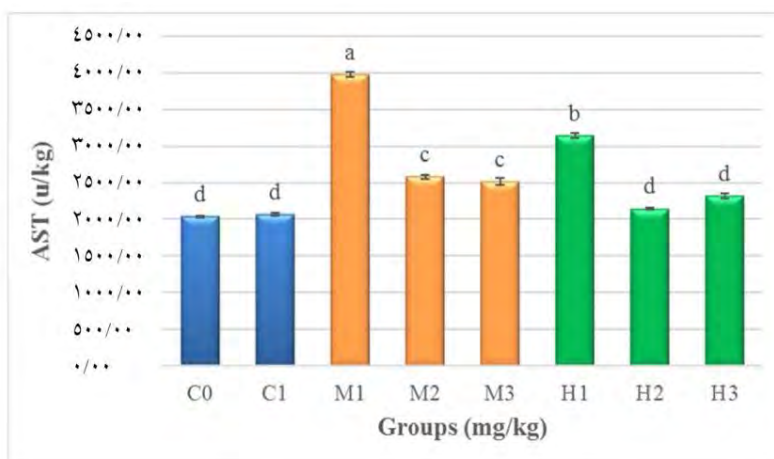
حروف متفاوت نشان‌دهنده معنی‌دار بودن اختلاف در سطح $P \geq 0.05$ می‌باشد.



شکل ۳- مقایسه میانگین آنزیم ALT در گروه‌های مختلف.

C0: کنترل دست نخورده؛ C1: کنترل حلال؛ M1، M2 و M3: به ترتیب مفنمیک اسید در دوزهای ۱۰ mg/kg، ۲۰ mg/kg و ۳۰ mg/kg؛ H1، H2 و H3: به ترتیب مشتق هیدرازونی در دوزهای ۱۰ mg/kg، ۲۰ mg/kg و ۳۰ mg/kg

حروف متفاوت نشان‌دهنده معنی‌دار بودن اختلاف در سطح $P \geq 0.05$ می‌باشد.



شکل ۴- مقایسه میانگین آنزیم AST در گروه‌های مختلف.

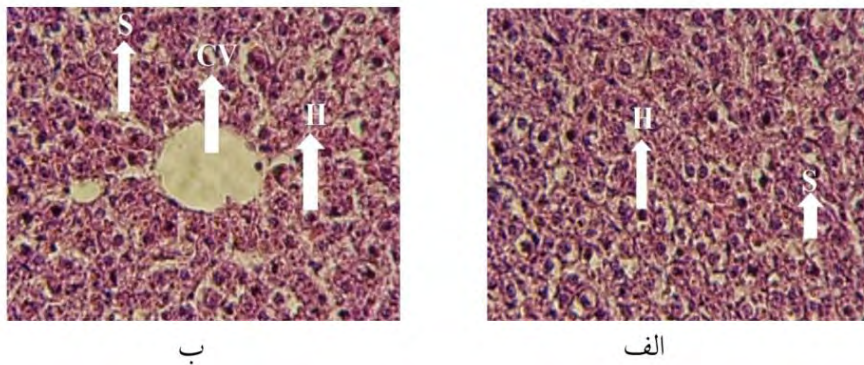
C0: کنترل دست نخورده؛ C1: کنترل حلال؛ M1، M2 و M3: به ترتیب مفنامیک اسید در دوزهای ۱۰ mg/kg، ۲۰ mg/kg و ۳۰ mg/kg؛ H1، H2 و H3: به ترتیب مشتق هیدرازونی در دوزهای ۱۰ mg/kg، ۲۰ mg/kg و ۳۰ mg/kg

حروف متفاوت نشان‌دهنده معنی دار بودن اختلاف در سطح $P \geq 0.05$ می‌باشد.

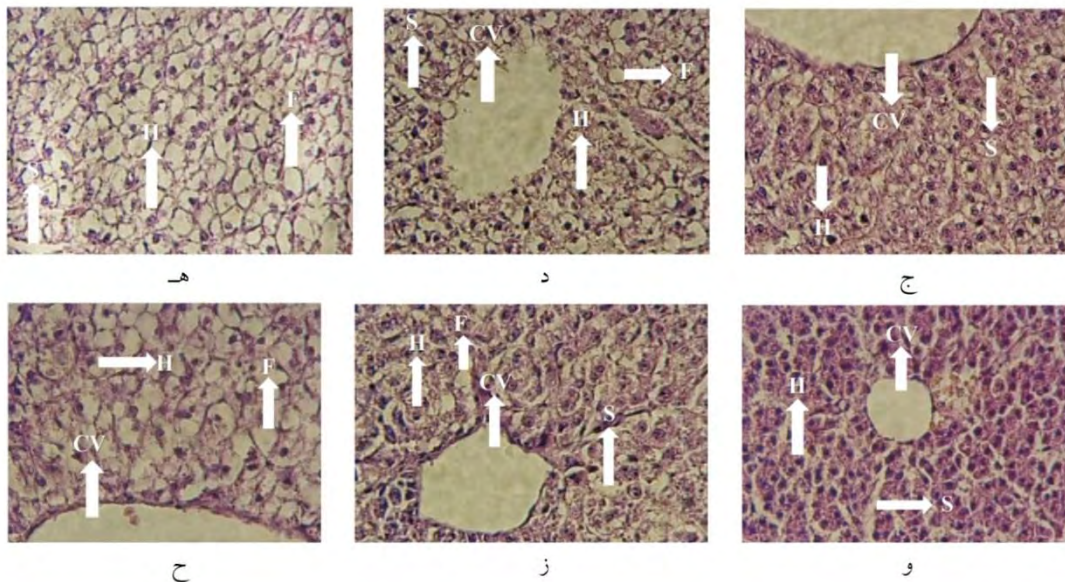
به‌سختی قابل تشخیص بودند (شکل ۶- ج، و). در دوز ۲۰ mg/kg نیز ورید مرکزی در گروه مفنامیک اسید دچار نامنظمی و گسستگی شده بود در حالی که در گروه مشتق هیدرازونی در حالت نرمالی قرار داشت. سینوزوئیدها در گروه مفنامیک اسید مقدار زیادی از بین رفته بودند و هپاتوسیت‌ها روند منظمی نداشتند اما در گروه مشتق هیدرازونی سینوزوئیدها تا حدودی قابل تشخیص بودند (شکل ۶- د، ز). در دوز ۳ mg/kg مفنامیک اسید و مشتق هیدرازونی بافت کبد دچار گسستگی شده بود و مقدار زیادی بافت چربی تشکیل شده بود (شکل ۶- ه ح). با در نظر گرفتن نتایج آنزیم‌های کبدی و میکروسکوپ الکترونی احتمالاً آسیب ناشی از مفنامیک اسید بیش‌تر بوده است.

مشاهده بافت کبد با میکروسکوپ نوری: ارزیابی مقاطع بافت تخمدان ماهی‌ها در گروه شاهد و گروه کنترل حلال DMSO نشان داد هپاتوسیت‌ها دارای هسته مرکزی و سیتوپلاسم مشخص بوده و از شکل نرمالی برخوردار هستند. سینوزوئیدهای کبدی به شکل طبیعی در فاصله صفحات سلول‌های کبدی قرار گرفته و از یک روند نرمال برخوردارند. (شکل ۵- الف، ب).

به‌طورکلی مشاهده شد آسیب بافتی مفنامیک اسید نسبت به مشتق هیدرازونی بیش‌تر است. در گروه مشتق هیدرازونی با دوز ۱۰ mg/kg سینوزوئیدها دچار اتساع شده بودند اما هپاتوسیت‌ها تا حدودی در حالت نرمالی قرار داشتند؛ اما در گروه مفنامیک اسید با دوز ۱۰ mg/kg اتساع و برهم ریختگی سینوزوئیدها به‌طور کامل رخ داد و هپاتوسیت‌ها



شکل ۵- مقطع بافت کبد. الف: گروه کنترل دست نخورده (شاهد)، ب: گروه کنترل حلال. S (Sinusoid): سینوزوئید، (hepatocyte) H: هپاتوسیت، CV (Central vein): ورید مرکزی. رنگ آمیزی H&E، بزرگنمایی ۴۰×.



شکل ۶- مقطع بافت کبد. ج: گروه ۱۰ mg/kg مفنامیک اسید، د: گروه ۲۰ mg/kg مفنامیک اسید، ه: گروه ۳۰ mg/kg مفنامیک اسید، و: گروه ۱۰ mg/kg مشتق هیدرازونی، ز: گروه ۲۰ mg/kg مشتق هیدرازونی، ح: گروه ۳۰ mg/kg مشتق هیدرازونی. S (Sinusoid): سینوزوئید، H (hepatocyte): هپاتوسیت، F (Fat): سلول چربی، CV (Central vein): ورید مرکزی. رنگ آمیزی H&E، بزرگنمایی ۴۰×.

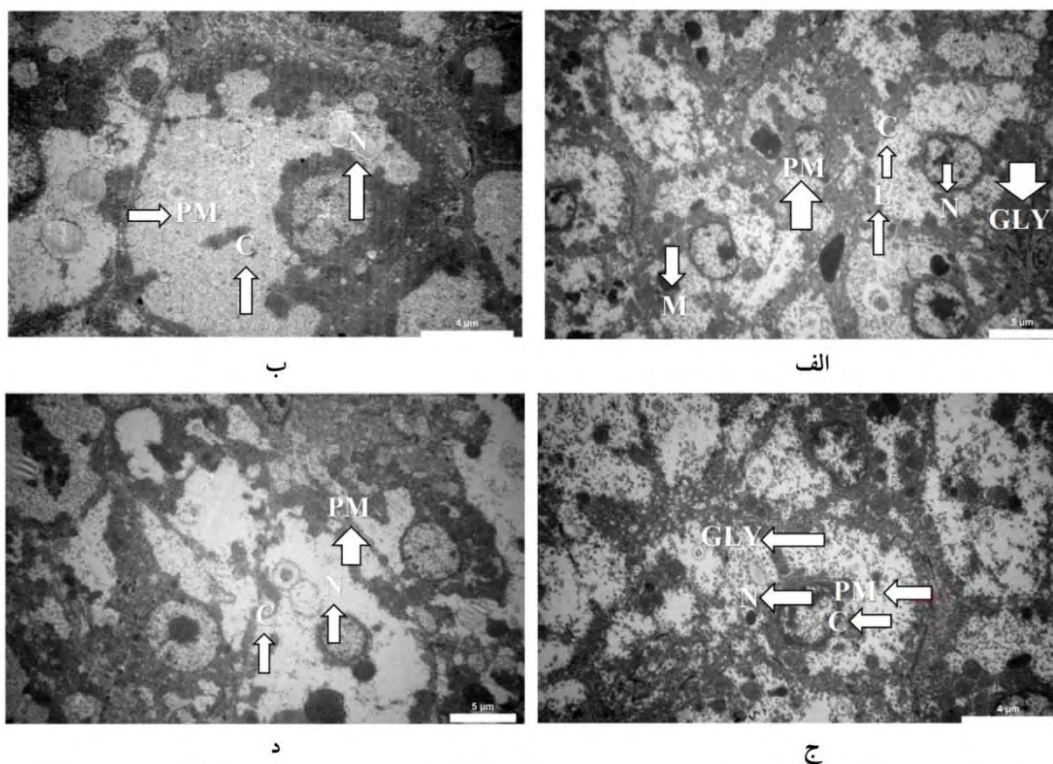
بسیار با داروی NSAID مفنامیک اسید برخورد داشتند. اثرات مفنامیک اسید روی دو گونه ماهی *Danio rerio* و *Oryzias latipes* از لحاظ مورفولوژی و ظاهر کبد بررسی شد و سمیت این دارو روی کبد آن‌ها مشخص شد (۳۴). این مطالعه تأییدی بر مطالعه حاضر است که در آن تزریق مفنامیک اسید

Świacka و همکاران (۲۰۲۰) در مورد مصرف گسترده و هم‌چنین ورود NSAIDها به محیط زیست به‌خصوص چرخه زندگی موجودات آبی ابراز نگرانی کردند. جدا از بحث سمیت‌های حاد برای این موجودات، دوز کم و طولانی مدت این دسته از داروها نیز ایجاد سمیت می‌کند. در بین موجودات آبی ماهی

اسید با دوز 30 mg/kg ، هسته و سیتوپلاسم و غشای پلاسمایی به سختی قابل تشخیص بود. غشا و سیتوپلاسم گسسته و ذخایر گلیکوژنی پراکنده شده بودند. سلول‌ها حالت نرمالی نداشتند. در گروه مشتق هیدرازونی در دوز 30 mg/kg ، هسته، غشاء و سیتوپلاسم به سختی قابل تشخیص بودند. غشای پلاسمایی و سیتوپلاسم گسسته شده و سلول‌ها غیرنرمال بودند. مفنمیک اسید (۲۸) و مشتق هیدرازونی (۲۹) موجب تخریب بافت کبدی و نکروز شده و با آسیب رساندن به هپاتوسیت‌ها موجب افزایش آنزیم‌های کبدی می‌شوند.

و مشتق هیدرازونی به صورت یک روز در میان موجب سمیت کبدی و تغییرات بافت کبدی و افزایش چربی در این بافت شد.

مشاهده بافت کبد با میکروسکوپ الکترونی: بافت کبد به ترتیب در گروه‌های کنترل دست نخورده، حلال DMSO، مفنمیک اسید و مشتق هیدرازونی در شکل ۷ نشان داده شده است. در گروه کنترل دست نخورده و در گروه حلال DMSO هپاتوسیت‌ها در حالت نرمال بودند و اجزای سلولی شامل هسته، سیتوپلاسم، غشای پلاسمایی، میتوکندری و لیزوزوم‌ها و ذخایر گلیکوژنی مشاهده شدند. در گروه مفنمیک



شکل ۷- مقطع سلول کبد در الف: گروه کنترل دست نخورده، ب: گروه حلال DMSO، ج: گروه مفنمیک اسید با دوز بالا (30 mg/kg) و د: گروه مشتق هیدرازونی. PM (Plasma membrane): غشای پلاسمایی، N (Nucleus): هسته هپاتوسیت، C (Cytoplasm): سیتوپلاسم، GLY (Glycogen): ذخایر گلیکوژنی، L (Lysosome): لیزوزوم‌ها، M (Mitochondria): میتوکندری (Scale Bar $4 \mu\text{m}$).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج حاصل از میکروسکوپ الکترونی و نوری و تغییرات آنزیم‌های کبدی مطالعه حاضر نشان داد هر دو ماده مفنمیک اسید و مشتق هیدرازون ۲-فنیل تیو بنزوئیک اسید در دوزهای ۱۰ تا ۳۰ mg/kg موجب

آسیب کبدی می‌شوند اما آسیب کبدی ناشی از مشتق هیدرازون ۲-فنیل تیو بنزوئیک اسید از مفنمیک اسید در هر سه دوز کم‌تر و از لحاظ پروفایل سیمت مطلوب‌تر است.

منابع

1. Fiorucci, S., Meli, R., Bucci, M., & Cirino, G. (2006). Dual inhibitors of cyclooxygenase and 5-lipoxygenase. A new avenue in anti-inflammatory therapy?. *Biochem. Pharmacol.* 2001, 1433-1438.
2. Celotti, F., & Laufer, S. (2001). Anti-inflammatory drugs: new multitarget compounds to face an old problem. The dual inhibition concept. *Pharmacol. Res.* 43 (5), 429-436.
3. Funk, C. D. (2001). Prostaglandins and leukotrienes: advances in eicosanoid biology. *Sci.* 294 (5548), 1871-1875.
4. Azizian, H., Mousavi, Z., Faraji, H., Tajik, M., Bagherzadeh, K., Bayat, P., Shafiee, A., & Almasirad, A. (2016). Arylhydrazone derivatives of naproxen as new analgesic and anti-inflammatory agents: Design, synthesis and molecular docking studies. *J. Mol. Graph. Model.* 67, 127-136.
5. Stork, G. (1977). Monoalkylation of alpha, beta-unsaturated ketones via metalloenamines: 1-butyl-10-methyl-delta** (1 (9))-2-octalone. *Pascal and Francis Bibliographic Databases.* 6, 242.
6. Day, A. C., & Whiting, M. C. (1988). Acetone hydrazone. *Org. Synth.* 50, 10-12.
7. Singh, N., Ranjana, R., Kumari, M., & Kumar, B. (2016). A review on biological activities of hydrazone derivatives. *Int. J. Pharm. Clin. Res.* 8 (3), 162-166.
8. Kandile, N. G., Mohamed, M. I., Zaky, H., & Mohamed, H. M. (2009). Novel pyridazine derivatives: Synthesis and antimicrobial activity evaluation. *Eur. J. Med. Chem.* 44 (5), 1989-1996.
9. Mamolo, M. G., Falagiani, V., Zampieri, D., Vio, L., & Banfi, E. (2001). Synthesis and antimycobacterial activity of [5-(pyridin-2-yl)-1, 3, 4-thiadiazol-2-ylthio] acetic acid arylidene-hydrazone derivatives. *Il Farmaco.* 56 (8), 587-592.
10. Randhawa, H., Kamboj, A., & Saluja, A. K. (2014). Synthesis, pharmacological evaluation and computational studies of some novel hydrazone derivatives of thiophene chalcone as antimicrobial and antioxidant agents. *World J. Pharm. Res.* 3, 3146-3159.
11. Lima, P. C., Lima, L. M., Da Silva, K. C., Léda, P. H., Miranda, A. L P., Fraga, C. A. M., & Barreiro, E. J. (2000). *Eur. J. Med. Chem.* 35, 187.
12. Kümmerle, A. E., Raimundo, J. M., Leal, C. M., da Silva, G. S., Balliano, T. L., Pereira, M. A., de Simone, C. A., Sudo, R. T., Zapata-Sudo, G., Fraga, C. A., & Barreiro, E. J. (2009). Studies towards the identification of putative bioactive conformation of potent vasodilator arylidene N-acylhydrazone derivatives. *Eur. J. Med. Chem.* 44 (10), 4004-4009.
13. Nasr, T., Bondock, S., & Youns, M. (2014). Anticancer activity of new coumarin substituted hydrazone-hydrazone derivatives. *Eur. J. Med. Chem.* 76, 539-548.
14. Shahgholi, K. (2011. 2012). Investigating the anti-inflammatory effects of new 2-phenylthio benzoic acid derivatives. pharma D thesis. Faculty of pharmacy. Islamic azad university of medical science.
15. Limdi, J. K., & Hyde, G. M. (2003). Evaluation of abnormal liver function tests. *Postgrad. Med. J.* 79 (932), 307-12.
16. Giannini, E. G., Testa, R., & Savarino, V. (2005). Liver enzyme alteration: a guide for clinicians. *Cmaj.* 172 (3), 367-379.

17. Harvey, R. A., & Ferrier, D. R. (2012). Lippincott's illustrated reviews. *Pharmacology*. 201, 250-288.
18. Adebayo, J. O., Yakubu, M. T., Egwim, E. C., Owoyele, V. B., & Enaibe, B. U. (2003). Effect of ethanolic extract of *Khaya senegalensis* on some biochemical parameters of rat kidney. *J. Ethnopharmacol.* 88 (1), 69-72.
19. Govind, P. (2011). A review of fish model in experimental pharmacology. *Int. Res. J. Pharm.* 2 (9), 33-36.
20. Hart, P. J., & Reynolds, J. D. (2008). Handbook of fish biology and fisheries: fisheries.
21. Takatsuki, A., & Yamaguchi, I. (2001). Fish reproduction as an indicator of endocrine disruption by chemical compounds, *Ricken Review*. 42, 43-44.
22. Cimolai, N. (2013). The potential and promise of mefenamic acid. *Expert review of clinical pharmacology*. 6 (3), 289-3052.
23. Kim, J. W., Ishibashi, H., Yamauchi, R., Ichikawa, N., Takao, Y., Hirano, M., Koga, M., & Arizono, K. (2009). Acute toxicity of pharmaceutical and personal care products on freshwater crustacean (*Thamnocephalus platyurus*) and fish (*Oryzias latipes*). *The Journal of toxicological sciences*. 2009 Apr 1; 34 (2), 227-32.
24. Mokhnache, K., Karbab, A., Soltani, E. K., Bououden, W., Ouhida, S., Arrar, L., Esteban, M. A., Charef, N., & Mubarak, M. S. (2020). Synthesis, characterization, toxic substructure prediction, hepatotoxicity evaluation, marine pathogenic bacteria inhibition, and DFT calculations of a new hydrazone derived from isoniazid. *J. Mol. Struct.* 1221, 128817.
25. Näslund, J., Asker, N., Fick, J., Larsson, D. J., & Norrgren, L. (2020). Naproxen affects multiple organs in fish but is still an environmentally better alternative to diclofenac. *Aquat Toxicol.* 227, 105583.
26. Wang, H. Y., Weng, C. F., Tu, M. C., & Lee, S. C. (2001). Synchronization of plasma sexual steroid concentrations and gonadal cycles in the sleeper, *Eleotris acanthopoma*. *Zool Stud.* 40 (1), 14-20.
27. Adebayo, J. O., Yakubu, M. T., Egwim, E. C., Owoyele, V. B., & Enaibe, B. U. (2003). Effect of ethanolic extract of *Khaya senegalensis* on some biochemical parameters of rat kidney. *J. Ethnopharmacol.* 88 (1), 69-72.
28. Somchit, N., Sanat, F., Gan, E. H., Shahrin, I. A., & Zuraini, A. (2004). Liver injury induced by the non-steroidal anti-inflammatory drug mefenamic acid. *SMJ.* 45 (11), 530.
29. Zuo, A. R., Yu, Y. Y., Shu, Q. L., Zheng, L. X., Wang, X. M., Peng, S. H., Xie, Y. F., & Cao, S. W. (2014). Hepatoprotective effects and antioxidant, antityrosinase activities of phloretin and phloretin isonicotinyl hydrazone. *J. Chin. Med. Assoc.* 77 (6), 290-301.
30. Mokhnache, K., Karbab, A., Soltani, E. K., Bououden, W., Ouhida, S., Arrar, L., Esteban, M. A., Charef, N., & Mubarak, M. S. (2020). Synthesis, characterization, toxic substructure prediction, hepatotoxicity evaluation, marine pathogenic bacteria inhibition, and DFT calculations of a new hydrazone derived from isoniazid. *Journal of Molecular Structure.* 1221, 128817.
31. Näslund, J., Asker, N., Fick, J., Larsson, D. J., & Norrgren, L. (2020). Naproxen affects multiple organs in fish but is still an environmentally better alternative to diclofenac. *Aquat. Toxicol.* 227, 105583.
32. Ogunwole, G. A., Saliu, J. K., Osuala, F. I., & Odunjo, F. O. (2021). Chronic levels of ibuprofen induces haematotoxic and histopathology damage in the gills, liver, and kidney of the African sharptooth catfish (*Clarias gariepinus*). *Environmental Science and Pollution Research.* 28 (20), 25603-25613.
33. Ali, S., Pimentel, J. D., & Ma, C. (2011). Naproxen-induced liver injury. *Hepatobiliary & Pancreatic Diseases International.* 10 (5), 552-556.
34. Świacka, K., Michnowska, A., Maculewicz, J., Caban, M., & Smolarz, K. (2021). Toxic effects of NSAIDs in non-target species: a review from the perspective of the aquatic environment. *Environmental Pollution.* 273, 115891.

Effect of dietary *Spirulina platensis* and Natuzyme multi-enzyme on growth performance, survival and hematological parameters in common carp (*Cyprinus carpio*)

Mohammad Taghi Farhadi¹, Mohammadreza Imanpour^{*2}, Roghieh Safari³

1. Ph.D. Student in Aquaculture, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: mtfarhadi1361@gmail.com
2. Corresponding Author, Professor, Dept. of Aquaculture, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: imanpoor@gau.ac.ir
3. Associate Prof., Dept. of Aquaculture, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: fisheriessafari@yahoo.com

Article Info

Article type:
Full Length Research Paper

Article history:
Received: 06.21.2022
Revised: 07.10.2022
Accepted: 08.01.2022

Keywords:
Common carp,
Growth,
Hematological parameters,
Natosyme Multi-Enzyme,
Spirulina algae

ABSTRACT

The aim of this study was to investigate the effect of using spirulina algae and Natuzyme Multi-Enzyme in the diet of common carp on growth performance, survival and hematological parameter for 60 days. For this, 540 pieces of common carp fry with an average weight of 102 ± 0.2 g were prepared and under 8 treatments including: 1% spirulina algae powder, 2% spirulina algae powder, 0.05% Natuzyme Multi-Enzyme, 0.1% Natuzyme Multi-Enzyme, combination of spirulina powder (1 and 2%) and Natuzyme Multi-Enzyme (0.05%), combination of spirulina powder (1 and 2%) and Natuzyme Multi-Enzyme (0.1%) and control group (each with 3 replicates) were fed daily 3% of body weight. At the end of the experiment, bioassays were performed on all fish to examine growth indices. In order to perform hematological examinations, blood sampling of all treatments were completely randomly performed. The results of this study showed that the treatments fed a diet containing a combination of 2% algae powder and 0.1% Natuzyme Multi-Enzyme had a higher rate of weight gain, specific growth rate and feed conversion ratio compared to other experimental treatments ($P < 0.05$). However, the survival percentage was not significantly different between the treatments and the control group ($P < 0.05$). Also, the results showed that there was no significant difference in hematological parameters between treatments fed with spirulina powder and Natuzyme Multi-Enzyme single and in combination from the control group ($P > 0.05$). In addition, the number of white blood cells, red blood cells, hemoglobin and hematocrit in all treatments were not statistically different from each other ($P > 0.05$). In general, due to the positive effects of combining spirulina algae powder at 2% of the diet and Natuzyme Multi-Enzyme at 0.1% of the diet, adding them is recommended to the diet of common carp.

Cite this article: Farhadi, Mohammad Taghi, Imanpour, Mohammadreza, Safari, Roghieh. 2023. Effect of dietary *Spirulina platensis* and Natuzyme multi-enzyme on growth performance, survival and hematological parameters in common carp (*Cyprinus carpio*). *Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics*, 12 (2), 171-186.



© The Author(s).

DOI: 10.22069/japu.2023.20352.1680

Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

اثر افزودن جلبک اسپیرولینا (*Spirulina platensis*) و مولتی آنزیم ناتوزیم بر عملکرد رشد، بازماندگی و شاخص‌های خونی بچه‌ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

محمدتقی فرهادی^۱، محمدرضا ایمانپور^{۲*}، رقیه صفری^۳

۱. دانشجوی دکتری تکثیر و پرورش آبزیان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: mtfarhadi1361@gmail.com
۲. نویسنده مسئول، استاد گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: imanpoor@gau.ac.ir
۳. دانشیار گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: fisheriessafari@yahoo.com

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: مقاله کامل علمی- پژوهشی	این پژوهش با هدف بررسی تأثیر استفاده جلبک اسپیرولینا و مولتی آنزیم ناتوزیم در جیره غذایی ماهی کپور معمولی روی شاخص‌های رشد، بازماندگی و شاخص‌های خونی به مدت ۶۰ روز انجام شد. بدین منظور تعداد ۵۴۰ قطعه بچه‌ماهی کپور معمولی با میانگین وزنی 100 ± 0.2 گرم تهیه و تحت ۸ تیمار شامل: ۱ درصد جلبک اسپیرولینا، ۲ درصد جلبک اسپیرولینا، ۰/۵ درصد مولتی آنزیم ناتوزیم، ۰/۱ درصد مولتی آنزیم ناتوزیم، تلفیق جلبک اسپیرولینا (۱ و ۲ درصد) و مولتی آنزیم ناتوزیم (۰/۵ درصد)، تلفیق جلبک اسپیرولینا (۱ و ۲ درصد) و مولتی آنزیم ناتوزیم (۰/۱ درصد) و گروه شاهد (هر کدام با ۳ تکرار) روزانه به میزان ۳ درصد وزن بدن مورد تغذیه قرار گرفتند. در انتهای آزمایش، جهت بررسی شاخص‌های رشد، زیست‌سنجی از تمام ماهیان صورت گرفت. به منظور بررسی‌های خون‌شناسی عملیات خون‌گیری از ساقه دمی تیمارها به صورت کاملاً تصادفی انجام گردید. نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که تیمارهای تغذیه شده با جیره حاوی تلفیق ۲ درصد جلبک و ۰/۱ درصد مولتی آنزیم دارای میزان افزایش وزن، نرخ رشد ویژه و ضریب تبدیل غذایی بهتری در مقایسه با سایر تیمارهای آزمایشی بود ($P > 0.05$). با این حال، درصد بازماندگی بین تیمارها و گروه شاهد تفاوت معناداری نداشت ($P < 0.05$). هم‌چنین، نتایج نشان داد که بین شاخص‌های خونی تیمارهای تغذیه شده با جلبک اسپیرولینا و مولتی آنزیم ناتوزیم به صورت جداگانه و تلفیقی تفاوت معناداری با گروه شاهد وجود نداشت ($P < 0.05$)، به علاوه، تعداد گلبول‌های سفید، قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت در تمامی تیمارها با یکدیگر تفاوتی از
واژه‌های کلیدی: جلبک اسپیرولینا، رشد، شاخص‌های خونی، کپور معمولی، مولتی آنزیم ناتوزیم	

لحاظ آماری نداشتند ($P < 0/05$). به‌طورکلی، با توجه به اثرات مثبت استفاده توأم جلبک اسپیرولینا به میزان ۲ درصد جیره و مولتی‌آنزیم ناتوزیم به میزان ۰/۱ درصد جیره، افزودن این دو ماده به صورت تلفیقی به جیره غذایی بچه‌ماهی کپور معمولی توصیه می‌گردد.

استناد: فرهادی، محمدتقی، ایمانیپور، محمدرضا، صفری، رقیه (۱۴۰۲). اثر افزودن جلبک اسپیرولینا (*Spirulina platensis*) و مولتی‌آنزیم ناتوزیم بر عملکرد رشد، بازماندگی و شاخص‌های خونی بچه‌ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). نشریه بهره‌برداری و پرورش آبزیان، ۱۲ (۲)، ۱۸۶-۱۷۱.

DOI: 10.22069/japu.2023.20352.1680



© نویسندگان.

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

مقدمه

موفقیت در آبی‌پروری پایدار با به حداقل رساندن هزینه خوراک ارتباط نزدیکی دارد؛ زیرا میزان ۵۰-۶۰ درصد از کل هزینه در آبی‌پروری مربوط به تهیه غذا می‌باشد (۱). بنا بر برآوردهای انجام شده توسط سازمان خواربار کشاورزی (FAO) تا سال ۲۰۵۰ جمعیت جهان به حدود ۱۰ میلیارد نفر خواهد رسید و در پی افزایش جمعیت کره زمین، تقاضا برای گوشت و دیگر مواد غذایی افزایش خواهد یافت که در صورت نبود و عدم مدیریت صحیح، تشدید گرسنگی و فقر در جهان را در بر می‌گیرد. در حالی که تولید گوشت قرمز و دیگر محصولات کشاورزی به علت تغییرات اقلیمی با محدودیت رو به رو خواهد بود (۲)، با اعمال مدیریت صحیح در عرصه آبی‌پروری این فقدان جبران می‌گردد. آبی‌پروری شامل سه هدف اصلی توسعه و تولید محصولات غذایی با کم‌ترین و بهینه‌ترین میزان استفاده از منابع طبیعی آب و زمین (۳)، توسعه سیستم‌های پایدار با حداقل اثرات زیان‌آور روی محیط زیست (۴) و ایجاد سیستم‌هایی در جهت حمایت اقتصادی جامعه و پایداری تولید می‌باشد (۲).

یکی از محدودیت‌های اصلی در استفاده از مواد گیاهی در جیره غذایی آبزیان، وجود کربوهیدرات‌های هضم‌ناپذیر است (۵). مطالعات انجام شده نشان داده‌اند که استفاده از آنزیم‌ها در جیره‌های غذایی حیوانات می‌تواند اثرات منفی ناشی از الیگوساکاریدهای غیرقابل هضم را به میزان قابل‌ملاحظه‌ای کاهش دهد (۶، ۷). بررسی آنزیم‌ها و مولتی‌آنزیم‌های مؤثر در هیدرولیز الیگوساکاریدهای غیرقابل هضم بر عملکرد آبزیانی که با جیره‌های حاوی مقادیری از غلات تغذیه می‌شوند تأثیر مثبتی را در رشد و بهبود قابلیت هضم‌پذیری مواد غذایی نشان داده است (۸). مولتی‌آنزیم‌ها ترکیبی متشکل از چندین نوع آنزیم

می‌باشند که بر انواع مختلفی از ترکیبات غذایی مؤثر هستند و باعث افزایش جذب آن‌ها می‌گردند (۹، ۱۰، ۱۱). مولتی‌آنزیم ناتوزیم یکی از مکمل‌های آنزیمی است که حاوی فیتاز، بتاگلوکاناز، آلفاآمیلاز، سلولاز، همیسلولاز، پکتیناز، آمیوگلیکوزیداز، لیپاز، زایلاناز، پروتئاز، اسیدفیتاز، اسیدفسفاتاز و پنتوزاناز می‌باشد. نقش مولتی‌آنزیم‌ها در جیره غذایی اثرگذاری و تأثیر روی اجزای غذایی غیرقابل هضم از جمله الیگوساکاریدهای غیرقابل هضم موجود در جیره غذایی می‌باشد که باعث شکسته شدن این اجزا می‌گردند. هم‌چنین، پژوهش‌ها نشان داد که این دسته از الیگوساکاریدهای غیرقابل هضم ویسکوزیته یا چسبناکی محتویات دستگاه گوارش را افزایش می‌دهند و مانع از اختلاط فیزیکی کامل و آسان مواد وارد شده به دستگاه گوارش و انتشار مناسب آنزیم‌ها و اختلاط آن‌ها با مواد غذایی موجود در دستگاه گوارش می‌گردند. در نتیجه، جمعیت میکروبی در روده کوچک و هضم و جذب مواد مغذی نیز کاهش می‌یابد (۵، ۱۲). از این‌رو، با افزودن مولتی‌آنزیم‌ها میزان هضم و جذب مواد غذایی و در نهایت کارایی تغذیه افزایش می‌یابد (۱۳، ۱۴).

میکروجلبک‌ها، تولیدکنندگان مهم مواد آلی پیچیده از انرژی خورشیدی و دی‌اکسید کربن بوده و به عنوان ارگانسیم‌های غذایی برای زئوپلانکتون و گیاه‌خواران بزرگ‌تر، تولید پایه آبزیان را پشتیبانی می‌کنند. اثر مکمل‌های غذایی میکروجلبکی بر مقاومت به بیماری، کیفیت لاشه، رشد و زنده‌مانی در گونه‌های مختلف آبزیان گزارش شده است که از آن جمله می‌توان به مطالعه اثرات جلبک اسپرولینا بر شاخص‌های بیوشیمیایی خون کپور هندی (*Catla catla*) (۱۵) و شاخص‌های رشد و ایمنی ماهی گورامی کوتوله (*Trichogaster lalius*) (۱۶) اشاره کرد. در واقع، جلبک اسپرولینا یک سیانوباکتر و

تصادفی در ۸ تیمار و یک گروه شاهد با ۳ تکرار در ۲۷ مخزن فایبرگلاس ۳۰۰ لیتری با حجم آبگیری ۶۰ لیتر با تراکم ۲۰ قطعه بچه ماهی در هر مخزن) به مدت ۶۰ روز با جیره‌های آزمایشی مورد تغذیه قرار گرفتند. در این آزمایش روزانه ۷۵ درصد آب مخازن با استفاده از شیلینگ و به روش سیفون، تعویض می‌شد. داخل هر مخزن یک عدد سنگ هوای متصل به یک هواده مرکزی کار گذاشته شده بود تا اکسیژن مورد نیاز تأمین گردد.

تیمارهای آزمایشی شامل گروه‌های تغذیه شده با جیره پایه (بدون افزودنی‌های آزمایشی) و ۸ جیره آزمایشی شامل تیمار ۱: ۱ درصد جلبک اسپیرولینا، تیمار ۲: ۲ درصد جلبک اسپیرولینا، تیمار ۳: ۰/۰۵ درصد مولتی‌آنزیم ناتوزیم، تیمار ۴: ۰/۱ درصد مولتی‌آنزیم ناتوزیم، تیمار ۵: تلفیق جلبک اسپیرولینا ۱ درصد و مولتی‌آنزیم ناتوزیم ۰/۰۵ درصد، تیمار ۶: تلفیق جلبک اسپیرولینا ۲ درصد و مولتی‌آنزیم ناتوزیم ۰/۰۵ درصد، تیمار ۷: تلفیق جلبک اسپیرولینا ۱ درصد و مولتی‌آنزیم ناتوزیم ۰/۱ درصد و تیمار ۸: تلفیق جلبک اسپیرولینا ۲ درصد و مولتی‌آنزیم ناتوزیم ۰/۱ درصد بود (۲۲). غذادهی روزانه به میزان ۳ درصد وزن بدن و سه نوبت در روز انجام می‌شد.

در این آزمایش، پودر جلبک اسپیرولینا و مولتی‌آنزیم ناتوزیم از شرکت لیوپروتن استرالیا تهیه و به ترتیب به صورت پودر شده و محلول به جیره‌های آزمایشی افزوده شد (۲۲). پودر جلبک اسپیرولینا و مولتی‌آنزیم ناتوزیم مربوط به هر تیمار به جیره‌های غذایی اسپری شد. پلت‌های مرطوب در دمای محیط به مدت ۴۸ ساعت در معرض هوای آزاد قرار داده شد (۲۳). در پایان پلت‌ها بسته‌بندی و برچسب‌گذاری شده و در یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. غذا دهی به میزان ۳ درصد وزن بدن و در ۳ مرحله در طول شبانه‌روز طی دو ماه به ماهی‌ها انجام شد.

از جلبک‌های سبز- آبی ماریچی با قطر ۱۲ میکرون می‌باشد که به دلیل غنی بودن از پروتئین‌ها، ویتامین‌ها، آمینواسیدهای ضروری، مواد معدنی، اسید چرب ضروری و کاراتنوئیدها مانند زاکزانترین، بتاکاروتن، کریپتوگزانتین و گزانتوفیل در اغلب موارد به‌عنوان اولین ریز جلبک پیشنهادی جهت استفاده به صورت مکمل غذایی پیشنهاد می‌گردد (۱۷). امروزه اسپیرولینا بیش‌تر به عنوان مکمل غذایی در صنعت داروسازی به شکل قرص یا پودر و همچنین در صنایع آبزی‌پروری، آکواریوم و ماکیان نیز از آن استفاده می‌شود (۱۸).

ماهی کپور معمولی یکی از قدیمی‌ترین گونه‌های پرورشی در جهان است که از گذشته دور به علت سازگاری بالا و رشد خوب در مزارع پرورش آبیان نگهداری و تولید می‌گردد (۱۹). بر اساس پژوهش‌ها مشخص گردید که آبزی‌پروری پایدار به معیارهای مختلفی بستگی دارد که از جمله این معیارها تغذیه آبیان و جیره غذایی مناسب می‌باشد (۲۰، ۲۱). طبق بررسی‌های انجام شده، تاکنون مطالعه‌ای در زمینه اثر استفاده از جلبک اسپیرولینا و مولتی‌آنزیم ناتوزیم به صورت انفرادی و تلفیقی بر عملکرد رشد، بازماندگی و شاخص‌های خون‌شناسی در ماهی کپور معمولی صورت نگرفته است. بنابراین مطالعه حاضر با هدف ارزیابی شاخص‌های مذکور صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

تیماربندی و تهیه ماهی: در این پژوهش، تعداد ۵۴۰ قطعه بچه‌ماهی کپور معمولی با میانگین وزن تقریبی $0/2 \pm 100$ گرم از یکی از مراکز تکثیر و پرورش ماهیان گرمابی واقع در استان گلستان تهیه و به سالن آبزی‌پروری شهید ناصر فضلی‌برآبادی انتقال یافت. پس از گذشت مدت زمان دو هفته جهت سازگاری با شرایط محیطی، بچه‌ماهیان در قالب یک طرح کاملاً

شد (۲۴) به همین منظور کل بچه‌ماهیان مورد پرورش به‌صورت جداگانه از هر تکرار صید و پس از خشک کردن آب همراه آن‌ها، طول کل و وزن کل اندازه‌گیری گردید و شاخص‌های مربوط به رشد نیز با کمک فرمول‌های ذیل محاسبه گردید (۲۵، ۲۶، ۲۷، ۲۸):

بررسی شاخص‌های رشد و بازماندگی: به‌منظور بررسی عملکرد جیره‌های غذایی و چگونگی رشد ماهیان، در پایان دوره و پس از گذشت ۲۴ ساعت از زمان آخرین غذادهی و اطمینان از دفع کامل محتویات لوله گوارش، شاخص‌های رشد و تغذیه اندازه‌گیری (وزن اولیه (گرم) - وزن نهایی (گرم)) = افزایش وزن (گرم)

$100 \times [\text{طول دوره آزمایش} \div (\text{لگاریتم طبیعی وزن اولیه} - \text{لگاریتم طبیعی وزن نهایی})] = (\text{درصد در روز}) \text{ نرخ رشد ویژه}$

[میزان افزایش وزن (گرم) ÷ میزان غذای مصرف شده (گرم)] = ضریب تبدیل غذا

$100 \times (\text{تعداد ماهیان در انتهای دوره آزمایش} - \text{تعداد ماهیان در ابتدای دوره آزمایش}) = \text{میزان بقاء}$

سی‌سی انتقال یافتند (۲۹، ۳۰). تعداد گلبول‌های سفید، قرمز، سطح هموگلوبین و درصد هماتوکریت با استفاده از روش ذکر شده در پژوهش‌های فرهنگ و همکاران (۲۰۱۷) مورد سنجش قرار گرفت (۳۱).
به‌منظور شمارش تعداد گلبول‌های سفید خون، نمونه خونی با غلظت ۱:۵۰ توسط محلول دایس رقیق شد و در مرحله بعد توسط لام نئوبار و میکروسکوپ شمارش شدند. تعداد گلبول‌های سفید در واحد میلی‌مترمکعب بر اساس رابطه زیر محاسبه گردید:

بررسی شاخص‌های خون‌شناسی: به‌منظور بررسی چگونگی تأثیر جیره‌های آزمایشی بر شاخص‌های خونی، ۲۴ ساعت پس از آخرین غذادهی تعداد ۵ قطعه ماهی از هر تکرار به‌صورت تصادفی صید گردید سپس نمونه‌های صید شده با استفاده از پودر گل میخک (۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر) بی‌هوش شدند. پس از بی‌هوشی کامل ماهیان، از هر ماهی نمونه خون از سیاهرگ دمی با استفاده از سرنگ دو سی‌سی خون‌گیری شدند. سپس، نمونه‌های خون به دست آمده به لوله‌های حاوی EDTA با حجم تقریبی یک

تعداد گلبول‌های سفید موجود در هر میلی‌مترمکعب = تعداد سلول‌های شمارش شده در ۰/۱ میلی‌مترمکعب × ۱۰ (منطقه مورد شمارش) × ۵۰ (رقت محلول)

قرار گرفت و تعداد گلبول‌های قرمز خون شمارش شد. تعداد گلبول‌های قرمز در واحد میلی‌مترمکعب طبق فرمول زیر محاسبه گردید:

به‌منظور شمارش تعداد گلبول‌های قرمز خون، نمونه خون پس از رقیق‌سازی با غلظت ۱:۵۰ در شوری ۰/۹ درصد (w/v) و با استفاده از محلول Hayem توسط لام نئوبار در زیر میکروسکوپ مورد بررسی

تعداد گلبول‌های قرمز موجود در هر میلی‌مترمکعب = تعداد گلبول قرمز شمارش شده در ۰/۰۲ میلی‌مترمکعب × ۵۰ (منطقه مورد شمارش) × ۵۰ (رقت محلول)

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها: آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ انجام شد. داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس دوطرفه در سطح اطمینان ۹۵ درصد مورد سنجش قرار گرفتند. جهت مقایسه میانگین‌ها از آزمون چنددامنه‌ای دانکن استفاده شد. نتایج به صورت میانگین \pm انحراف معیار ثبت گردید.

سطح هموگلوبین نیز پس از مخلوط شدن نمونه‌های خونی با محلول Drabkin مورد سنجش قرار گرفت. از این رو، نمونه‌های مخلوط شده به مدت ۲۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شدند. سپس میزان جذب نوری نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۵۴۰ نانومتر قرائت شد. برای سنجش هماتوکریت نمونه‌های خونی به مدت ۵ دقیقه و با سرعت ۱۰۵۰۰ rpm سانتریفیوژ شد. حجم هماتوکریت توسط میکروهماتوکریت خوانده شد.

جدول ۱- فرمولاسیون و ترکیب شیمیایی جیره پایه (درصد در ماده خشک).

ترکیبات	درصد	ترکیب شیمیایی	درصد
پودر ماهی کیلکا ^۱	۲۵	رطوبت	۹/۲۵
آرد گندم	۳۰	پروتئین خام	۳۷/۰۴
کنجاله سویا ^۲	۳۲/۳	چربی خام	۱۱/۲۱
روغن ماهی کیلکا	۳	فیبر خام	۶/۱۸
روغن سویا	۳	خاکستر	۱۲/۳۰
دی کلسیم فسفات	۱/۵	عصاره عاری از ازت ^۷	۲۴/۰۲
مکمل ویتامینی ^۳	۰/۵	انرژی خام ^۸	۱۷/۳
مکمل معدنی ^۳	۰/۵		
ویتامین سی ^۵	۰/۲		
کولین کلراید	۰/۱		
دی ال متیونین	۰/۲۳		
ضد قارچ ^۶	۰/۱		
ملاس	۰/۲		
صمغ سلولزی (پرکننده)	۳		
جمع	۱۰۰		

^۱ شرکت نگین پودر (پروتئین خام: ۶۹±۱ درصد، چربی: ۱۰±۰/۵ درصد، خاکستر: ۱۴±۲ درصد، نیتروژن کل فرار < ۱۲ میلی‌گرم N در ۱۰۰ گرم)

^۲ شرکت سویابین (پروتئین خام: ۴۵ درصد، چربی: ۱/۵ درصد، خاکستر: ۵ درصد)

^۳ یک کیلوگرم مکمل ویتامینی شامل: ۱۸۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A، ۱۲۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D3، ۱۲۰ میلی‌گرم ویتامین E، ۲۴ میلی‌گرم ویتامین B12، ۱۵ میلی‌گرم B2، ۹۰ میلی‌گرم ویتامین B3، ۲۷ میلی‌گرم ویتامین B5، ۳ میلی‌گرم K3، ۴/۸ میلی‌گرم ویتامین B9، ۹ میلی‌گرم ویتامین B6، ۹ میلی‌گرم ویتامین B1، ۰/۴۸ میلی‌گرم بیوتین، ۳۶۰ میلی‌گرم کولین کلراید، ۱۵۶ میلی‌گرم ویتامین C، ۷۲ میلی‌گرم اینوزیتول، ۱۵ میلی‌گرم آنتی‌اکسیدان

نتایج و بحث

شاخص‌های رشد و بازماندگی: بررسی تأثیر تغذیه با جیره‌های حاوی جلبک اسپیرولینا و مولتی‌آنزیم ناتوزیم بر عملکرد رشد بچه‌ماهیان کپور معمولی در جدول ۲ ارائه شده است. براساس این نتایج، افزایش معناداری در عملکرد رشد بین تیمارهای مختلف با گروه شاهد در بیش‌تر شاخص‌ها مشاهده شد ($P > 0/05$). به طوری که بیش‌ترین میزان افزایش وزن و نرخ رشد ویژه در تیمار ۸ (تغذیه شده با تلفیق

جلبک اسپیرولینا ۲ درصد و مولتی‌آنزیم ناتوزیم ۰/۱ درصد) مشاهده گردید که به‌طور معناداری با گروه شاهد تفاوت معناداری داشت ($P > 0/05$)، همچنین، بیش‌ترین میزان ضریب تبدیل غذایی در گروه شاهد ($0/50 \pm 3/16$) به ثبت رسید که با تمام تیمارها دارای اختلاف معنادار بود ($P > 0/05$). با این‌حال، در میزان بازماندگی تمامی تیمارها و گروه شاهد تفاوت معناداری مشاهده نشد ($P < 0/05$).

جدول ۲- مقایسه میانگین (\pm انحراف معیار) شاخص‌های رشد و بازماندگی ماهیان کپور معمولی تغذیه شده با سطوح مختلف جلبک اسپیرولینا و مولتی‌آنزیم ناتوزیم.

تیمارهای آزمایشی									شاخص‌های رشد
تیمار ۸	تیمار ۷	تیمار ۶	تیمار ۵	تیمار ۴	تیمار ۳	تیمار ۲	تیمار ۱	گروه شاهد	
$\pm 18/21^a$	$\pm 10/76^a$	$\pm 20/81^a$	$\pm 50/2^a$	$\pm 9/52^a$	$\pm 8/08^a$	$\pm 11/09^a$	$\pm 5/77^a$	$\pm 20/27^a$	وزن اولیه (گرم)
۱۰۰/۷۳	۱۰۰/۹۳	۱۰۲/۱۰	۹۸/۴۳	۱۰۲/۵۷	۱۰۱/۳۷	۱۰۴/۸۰	۹۹/۲۸	۱۰۲/۶۳	
$\pm 1/536^a$	$\pm 1/77^{ab}$	$\pm 4/04^{ab}$	$\pm 5/17^{ab}$	$\pm 2/89^{bc}$	$\pm 6/561^{cd}$	$\pm 3/00^{cd}$	$\pm 4/16^c$	$\pm 9/29^f$	وزن نهایی (گرم)
۲۴۸/۰۰	۲۳۹/۳۳	۲۴۲/۰۰	۲۳۵/۶۷	۲۳۱/۰۰	۲۱۳/۳۳	۲۱۷/۰۰	۲۰۱/۰۰	۱۸۰/۰۰	
$\pm 1/55^a$	$\pm 2/34^{ab}$	$\pm 4/24^{ab}$	$\pm 5/18^{ab}$	$\pm 1/93^b$	$\pm 5/78^c$	$\pm 3/00^c$	$\pm 3/78^c$	$\pm 9/45^d$	افزایش وزن بدن (گرم)
۱۴۷/۲۷	۱۳۸/۴۰	۱۳۹/۹۰	۱۳۷/۲۳	۱۲۸/۳۷	۱۱۱/۹۷	۱۱۲/۲۰	۱۰۲/۰۰	۷۷/۳۷	
$\pm 0/02^b$	$\pm 0/02^b$	$\pm 0/05^b$	$\pm 0/06^b$	$\pm 0/00^b$	$\pm 0/05^b$	$\pm 0/05^b$	$\pm 0/08^b$	$\pm 0/50^a$	ضریب تبدیل غذایی
۱/۶۲	۱/۷۰	۱/۷۴	۱/۷۴	۱/۹۱	۲/۱۳	۲/۱۷	۲/۱۶	۳/۱۶	
$\pm 0/01^a$	$\pm 0/03^{ab}$	$\pm 0/03^{ab}$	$0/04^{ab}$	$\pm 0/00^{bc}$	$\pm 0/04^{cd}$	$\pm 0/02^d$	$\pm 0/03^d$	$\pm 0/09^c$	نرخ رشد ویژه
۱/۵۰	۱/۴۴	۱/۴۴	۱/۴۵	۱/۳۵	۱/۲۴	۱/۲۱	۱/۱۸	۰/۹۳	
$\pm 0/00$	$\pm 0/00$	$\pm 0/00$	$\pm 0/00$	$\pm 0/00$	$\pm 0/00$	$\pm 0/00$	$\pm 0/00$	$\pm 0/00$	بقا (درصد)
۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	

- حروف لاتین غیرهمنام در هر ردیف تفاوت معنی‌دار را نشان می‌دهد ($P > 0/05$)
- گروه شاهد: جیره پایه (بدون افزودنی‌های آزمایشی)، تیمار ۱: ۱ درصد جلبک اسپیرولینا، تیمار ۲: ۲ درصد جلبک اسپیرولینا، تیمار ۳: ۰/۰۵ درصد مولتی‌آنزیم ناتوزیم، تیمار ۴: ۰/۱ درصد مولتی‌آنزیم ناتوزیم، تیمار ۵: تلفیق جلبک اسپیرولینا ۱ درصد و مولتی‌آنزیم ناتوزیم ۰/۰۵ درصد، تیمار ۶: تلفیق جلبک اسپیرولینا ۲ درصد و مولتی‌آنزیم ناتوزیم ۰/۰۵ درصد، تیمار ۷: تلفیق جلبک اسپیرولینا ۱ درصد و مولتی‌آنزیم ناتوزیم ۰/۱ درصد و تیمار ۸: تلفیق جلبک اسپیرولینا ۲ درصد و مولتی‌آنزیم ناتوزیم ۰/۱ درصد

متفاوت مولتی‌آنزیم ناتوزیم و جلبک اسپیرولینا به‌صورت جداگانه و تلفیقی تفاوت معناداری با گروه شاهد وجود نداشت ($P < 0/05$) (جدول ۳).

شاخص‌های خونی: نتایج به‌دست آمده از آنالیز شاخص‌های خونی (گلبول سفید، گلبول قرمز، هماتوکریت و هموگلوبین) نشان داد که بین شاخص‌های خونی کپورماهیان تغذیه شده با سطوح

جدول ۳- مقایسه میانگین (± انحراف معیار) شاخص‌های خونی ماهیان کپور معمولی تغذیه شده با سطوح مختلف جلبک اسپیرولینا و مولتی آنزیم ناتوزیم.

شاخص‌های خونی	تیمارهای آزمایشی								
	گروه شاهد	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ۴	تیمار ۵	تیمار ۶	تیمار ۷	تیمار ۸
گلبول سفید (میلی متر مکعب)	± ۲۶۸/۲۳	± ۸۳/۳۳	± ۱۷۶/۳۸	± ۱۷۶/۳۸	± ۴۶۱/۸۸	± ۲۸۰/۳۸	± ۲۰۲/۰۷	± ۳۰۳/۲۲	± ۲۹۲/۹۷
گلبول قرمز (میلی متر مکعب)	± ۲۴۹۸۰/۰	± ۲۹۰۵/۹	± ۱۷۶۳/۸	± ۷۵۱۲/۹	± ۱۳۳۸۳/۰	± ۸۷۱۷/۸	± ۸۱۹۲/۱	± ۲۵۹۸۲/۰	± ۲۱۶۱۲/۰
هماتوکریت (درصد)	± ۰/۸۸	± ۰/۴۴	± ۰/۳۳	± ۰/۱۰	± ۰/۳۳	± ۰/۵۰	± ۰/۲۹	± ۰/۷۶	± ۰/۴۴
هموگلوبین (میلی گرم در دسی لیتر)	± ۰/۷۴	± ۰/۹۶	± ۱/۶۶	± ۱/۱۳	± ۱/۲۶	± ۰/۸۵	± ۰/۴۳	± ۰/۳۵	± ۰/۶۹

- حروف لاتین غیرهمنام در هر ردیف تفاوت معنی‌دار را نشان می‌دهد ($P > 0.05$)
- گروه شاهد: جیره پایه (بدون افزودنی‌های آزمایشی)، تیمار ۱: ۱ درصد جلبک اسپیرولینا، تیمار ۲: ۲ درصد جلبک اسپیرولینا، تیمار ۳: ۰/۰۵ درصد مولتی آنزیم ناتوزیم، تیمار ۴: ۰/۱ درصد مولتی آنزیم ناتوزیم، تیمار ۵: تلفیق جلبک اسپیرولینا ۱ درصد و مولتی آنزیم ناتوزیم ۰/۰۵ درصد، تیمار ۶: تلفیق جلبک اسپیرولینا ۲ درصد و مولتی آنزیم ناتوزیم ۰/۰۵ درصد، تیمار ۷: تلفیق جلبک اسپیرولینا ۱ درصد و مولتی آنزیم ناتوزیم ۰/۱ درصد و تیمار ۸: تلفیق جلبک اسپیرولینا ۲ درصد و مولتی آنزیم ناتوزیم ۰/۱ درصد

بیش‌ترین میزان افزایش وزن و نرخ رشد ویژه در تیمار ۸ یعنی تیمار تغذیه شده با جیره حاوی تلفیق جلبک اسپیرولینا و مولتی آنزیم ناتوزیم به ترتیب به میزان ۲ و ۰/۱ درصد و کم‌ترین میزان رشد نیز در گروه شاهد مشاهده گردید. اسپیرولینا به علت داشتن مقادیر بالای پروتئین، ویتامین زیاد و سایر مواد مغذی سودمند به‌عنوان یک مکمل غذایی ارزشمند در تغذیه ماهیان پرورشی برشمرده می‌شود (۳۵). در آزمایش‌های متعددی ثابت شد که استفاده از اسپیرولینا تأثیر مثبتی بر شاخص‌های رشد طیور، خوک‌ها و خرگوش‌ها داشته است (۳۶، ۳۷، ۳۸، ۳۹). هم‌چنین مطالعات زیادی در رابطه با تأثیر مثبت تغذیه با جلبک اسپیرولینا روی رشد و ایمنی آبزیان انجام شده است (۴۰، ۴۱). در همین راستا Gogoi و همکاران (۲۰۱۸) در مطالعه‌ای نشان دادند که استفاده از جلبک اسپیرولینا به عنوان جایگزین پروتئین در جیره غذایی

در چند دهه اخیر، جمعیت بشر افزایش یافته و رویکرد عمومی مصرف غذاهای سالم، مصرف آبزیان را در سطح جهانی در حال افزایش است (۳۲). از این‌رو، بهره‌برداری و صید از ذخائر آبزیان از دریاها و آب‌های داخلی بدر سال‌های اخیر به صورت چشمگیری افزایش یافته است که نتیجه آن نابودی بسیاری از گونه‌ها را به دنبال داشت. بر این اساس، آبی‌پروری نقش به‌سزایی را در تأمین غذای بشر و کاهش فقر جهانی ایفاء خواهد کرد (۳۳). از آنجایی‌که بخش عمده‌ای از هزینه‌های یک واحد تولیدی مربوط به تأمین خوراک می‌گردد، بنابراین، برای دستیابی به تولید بیش‌تر در یک واحد پرورشی لازم است توجه بیش‌تری به این موضوع گردد (۳۴). در پژوهش حاضر، بررسی تأثیر تغذیه با جیره‌های حاوی جلبک اسپیرولینا و مولتی آنزیم ناتوزیم بر عملکرد رشد بچه‌ماهیان کپور معمولی نشان داد که

(۴۹). از طرفی در مطالعه حاضر استفاده از تلفیق جلبک اسپیرولینا و مولتی‌آنزیم ناتوزیم در مقایسه با سایر تیمارهای آزمایشی بیش‌ترین میزان رشد و افزایش وزن را نشان دادند این امر را می‌توان این گونه توجیه نمود که آنزیم‌ها می‌توانند اثرات عوامل ضدتغذیه‌ای را از بین ببرند و سبب بهبود عملکرد در رشد ماهی شوند (۵۰). یکی از عوامل ضدتغذیه‌ای موجود در جیره غذایی، ترکیبات فیتاتی می‌باشد که در آرد سویا وجود دارد و با یون‌های معدنی مثبت (مانند پتاسیم و کلسیم)، پروتئین‌ها و اسیدهای آمینه ترکیب شده و مانع از جذب آن‌ها می‌گردند (۵۱). از طرفی فیتاز موجود در این مولتی‌آنزیم یک آنزیم ویژه برای هیدرولیز کردن فیتات است (۵۲). که البته در مقادیر بسیار کم در دستگاه گوارش حیوانات (به استثنای برخی حیوانات تک معده‌ای) نیز وجود دارد (۵۳). که این امر می‌تواند از عوامل توجیه‌کننده بهبود عملکرد رشد ماهیان کپور تغذیه شده با تلفیق این دو ماده باشد. علاوه بر این، ممکن است وجود مقادیر بالای پروتئین در اسپیرولینا از یک سو و آنزیم فیتاز موجود در مولتی‌آنزیم ناتوزیم از سویی دیگر در جیره‌های ترکیبی سبب افزایش معنادار رشد در این تیمارهای تغذیه شده با این جیره‌ها در مقایسه با سایر گروه‌های آزمایشی هم‌چنین گروه شاهد باشد. خراسانی‌نژاد و همکاران (۲۰۱۸) در پژوهشی به‌منظور مقایسه سطوح مجزا و توأم مولتی‌آنزیم‌های تجاری بر کارایی تغذیه و ترکیب شیمیایی لاشه ماهی کپور معمولی نشان داده بودند که شاخص‌های رشد و ضریب تبدیل غذایی در ماهیان تغذیه شده با ناتوزیم پلاس نسبت افزایش معناداری داشته است (۵۴). در مطالعه دیگری Monier (۲۰۲۰) با بررسی تأثیر اثر مکمل آنزیمی هاستانزم ایکس بر عملکرد رشد بچه‌ماهی کپور معمولی نشان داد که استفاده از این آنزیم سبب افزایش شاخص‌های رشد در این ماهی شده است

ماهی لوچ (*Botia dario*) سبب افزایش معناداری رشد این ماهی در مقایسه با گروه شاهد شده است (۴۲). گزارش شده است که الگوی اسیدهای آمینه ریزجلبک‌های اسپیرولینا از سایر خوراک‌های گیاهی (مانند کنجاله سویا) بهتر بوده و اسید آمینه موجود در آن قابلیت هضم بالاتری نسبت به سایر خوراک‌های گیاهی دارد (۳۵، ۴۳، ۴۴). Alofa و همکاران (۲۰۲۰) در مطالعه‌ای نشان دادند که استفاده از ضایعات جلبک اسپیرولینا در رژیم غذایی ماهی تیلاپیا سبب افزایش معنادار رشد در این ماهی شده است (۴۵). در مطالعه حاضر استفاده جداگانه و تلفیقی از جلبک اسپیرولینا با مولتی‌آنزیم ناتوزیم در جیره ماهی کپور معمولی سبب افزایش وزن این ماهی شد که نتیجه حاصل با مطالعات بیان شده هم‌راستا می‌باشد. علاوه بر این، آنزیم ناتوزیم یکی از مکمل‌های آنزیمی است که حاوی فیتاز، بتاگلوکاناز، آلفاآمیلاز، سلولاز، همیسلولاز، پکتیناز، آمیوگلیکوزیداز، لیپاز، زایلاناز، پروتئاز، اسیدفیتاز، اسیدفسفاتاز و پنتوزاناز می‌باشد (۴۶). از آنجایی که بهبود کارایی جیره‌های غذایی با افزودن مکمل‌های خاصی و تحریک رشد و جذب بهتر غذا باعث مقاومت میزبان در برابر استرس‌های محیطی می‌شود (۴۷)، استفاده از آنزیم‌ها در جیره غذایی آبزیان کارایی تغذیه و قابلیت هضم و جذب را نیز افزایش می‌دهد. در همین راستا عادلین و همکاران (۲۰۱۸) در مطالعه‌ای نشان دادند استفاده از مولتی‌آنزیم ناتوزیم در جیره غذایی ماهی قرمز (*Carassius auratus gibelio*) سبب افزایش معنادار شاخص‌های رشد در این ماهی شده است (۴۸). موسوی و همکاران (۲۰۱۹) با بررسی اثر مولتی‌آنزیم ناتوزیم و پروبیوتیک پدیوکوکوس اسیدی لاکتیکی در جیره غذایی فیل‌ماهی (*Huso huso*) نشان دادند که استفاده از این مولتی‌آنزیم سبب افزایش معناداری شاخص‌های رشد در فیل‌ماهی شده است

در صورت عدم افزایش تعداد گلبول‌های قرمز، نیاز زیادی به جزء اصلی و مؤثر آن‌ها، یعنی هموگلوبین احساس نشد. هم‌چنین، با توجه به این‌که میزان هماتوکریت وابسته به تعداد و اندازه گلبول‌های قرمز خونی است، تغییر در اندازه و تعداد آن‌ها موجب تغییر در میزان هماتوکریت می‌شود؛ به عبارت دیگر، هرچه تعداد و اندازه گلبول‌های قرمز بیش‌تر شود، میزان هماتوکریت بیش‌تر می‌شود (۵۹). بنابراین، ممکن است بتوان چنین استنباط کرد که با وجود شرایط مناسب پرورشی و کیفیت آب، استرس محیطی موجود به حداقل ممکن رسید و نیاز اکسیژنی تمامی تیمارها در حد طبیعی و مشابه با گروه شاهد مشاهده شد. در تطابق با نتایج حاصل از پژوهش حاضر در ارتباط با عدم تأثیر مکمل‌های مولتی‌آنزیم ناتوزیم و جلبک اسپیرولینا به‌صورت جداگانه و تلفیقی در جیره غذایی روی شاخص‌های خونی، همایونی و همکاران (۲۰۱۹) گزارش کردند که استفاده از مولتی‌آنزیم آپسوزایم و بتائین به صورت توأم و جداگانه تأثیری بر شاخص‌های خونی (تعداد گلبول سفید و قرمز، درصد هموگلوبین و درصد هماتوکریت، حجم میانگین سلولی، میانگین غلظت هموگلوبین سلولی، هموگلوبین میانگین سلولی) بچه‌فیل ماهیان نداشت (۶۰). در همین راستا، موسوی و همکاران (۲۰۱۹) ثابت کردند که استفاده از مولتی‌آنزیم ناتوزیم و پروبیوتیک پدیوکوکوس اسیدلاکتیکی علی‌رغم ایجاد اثرات مثبت روی عملکرد رشد بچه فیل ماهیان، اثری روی شاخص‌های خونی (تعداد گلبول سفید و قرمز، درصد هموگلوبین و درصد هماتوکریت) نداشت (۴۹). هم‌چنین، Zamini و همکاران (۲۰۱۲) اعلام کردند که استفاده از مکمل‌های آنزیمی ناتوزایم و همیسل به صورت مجزا و توأم در میزان هموگلوبین ماهی آزاد دریای خزر تأثیری نداشت (۶۱). با این‌حال، در مطالعات متفاوت به اثرات مثبت

(۵۵) که نتایج تمامی پژوهش‌ها بیان شده با نتایج به‌دست آمده از مطالعه حاضر همسو می‌باشد.

تغییرات شاخص‌های خونی در زمان‌های مختلف در ماهیان تحت تأثیر عوامل مختلفی از جمله: نوسانات دمایی، تغییرات فصلی، استرس ناشی از صید و نمونه‌برداری، رژیم غذایی، تفاوت‌های ژنتیکی، سن، رسیدگی جنسی، جنسیت و غیره می‌باشد که بررسی هر کدام از این عوامل ضروری به نظر می‌رسد (۵۶). نتایج آزمایش حاضر نشان داد که شاخص‌های خونی در بین ماهیان تغذیه شده با جیره‌های حاوی مولتی‌آنزیم ناتوزیم و جلبک اسپیرولینا به صورت تلفیقی و جداگانه و گروه شاهد اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. حضور فعال گلبول‌های سفید در خون نشان‌دهنده وجود عفونت در بدن ماهیان است که می‌تواند باعث تحریک ایمنی اختصاصی و غیراختصاصی شود (۵۷). احتمال می‌رود در مطالعه حاضر، به دلیل عدم وجود عفونت در تمامی گروه‌ها تفاوت معناداری در میزان گلبول‌های سفید مشاهده نشد.

نیازهای اکسیژنی ماهیان با توجه به سن و شرایط محیطی تغییر می‌کند. پژوهش‌ها ثابت کرد که تعداد گلبول‌های قرمز در هر میلی‌لیتر از خون با توجه به الزام ایجاد توازن بین مصرف انرژی برای تولید گلبول قرمز و انرژی لازم برای انتقال خون به بافت‌ها متغیر است. به طوری که، زمانی که به حجم زیادی از اکسیژن نیاز باشد، خونی که تعداد گلبول‌های قرمز پایین‌تری دارد در مقایسه با خونی که میزان گلبول‌های قرمز آن بیش‌تر است، باید به میزان زیادتری در سراسر بدن پمپ شود تا بتواند تامین‌کننده نیاز اکسیژنی موجود باشد (۵۸). در پژوهش حاضر، عدم افزایش تعداد گلبول‌های قرمز و درصد هماتوکریت را شاید بتوان به عدم وجود شرایطی نسبت داد که سبب افزایش نیاز اکسیژنی ماهی نشده بود. از سویی دیگر،

در جیره غذایی بچه‌ماهیان کپور معمولی علی‌رغم اثر مثبت روی رشد، بر شاخص‌های خونی این ماهی اثر معنی‌داری نداشت. با این‌حال، شاید بتوان بیان نمود که ممکن است با افزودن مقادیر بالاتر از مولتی‌آنزیم ناتوزیم و جلبک اسپیرولینا در یک کیلوگرم غذا بتوان باعث بهبود شاخص‌های خونی بچه کپورماهیان در محیط‌های پرورشی شد. اگرچه اظهار نظر دقیق در ارتباط با این موضوع به مطالعات پیش‌تر و پیشرفته‌تر و در سطح مولکولی نیاز می‌باشد. با این وجود، براساس نتایج افزودن میزان ۲ درصد جلبک اسپیرولینا و ۰/۱ درصد مولتی‌آنزیم ناتوزیم به ازای درصد جیره برای بهبود عملکرد رشد در مراکز پرورشی کپورماهیان برای افزایش راندمان تولید پیشنهاد می‌گردد.

مولتی‌آنزیم‌ها و جلبک اسپیرولینا در جیره غذایی روی شاخص‌های خونی در گونه‌های متفاوت به اثبات رسیده است؛ به عنوان مثال، می‌توان به اثر پروتئین سویا و مکمل آنزیمی اویزایم در ماهی قرل‌آلای رنگین‌کمان (۶۲)، اثر سطوح مجزا و توأم مولتی‌آنزیم‌های تجاری در ماهی کپور معمولی (۶۳)، اثرات بتاگلوکاناز خالص در ماهی کپور معمولی (۶۴)، مکمل آنزیمی آندو ۱-۳ (۴) بتاگلوکاناز در ماهی کپور معمولی (۶۵)، تأثیر محرک ایمنی ماکروگارد و جلبک اسپیرولینا در ماهی ازون‌برون (۶۶) و اثرات پودر جلبک اسپیرولینا در فیل‌ماهی (۶۷) اشاره کرد.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان داد که استفاده توأم و مجزا از مولتی‌آنزیم ناتوزیم و جلبک اسپیرولینا

منابع

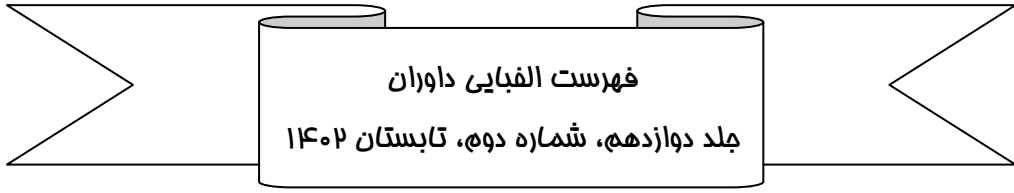
- Gabriel, U. U., Akinrotimi, O. A., Bekibele, D. O., Onunkwo, D. N., & Anyanwu, P. E. (2007). Locally produced fish feed: potentials for aquaculture development in subsaharan Africa. *African Journal of Agricultural Research*, 2 (7), 287-295.
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). (2017). How to feed the world in 2050 (FAO, Rome). http://www.fao.org/fileadmin/templates/wfs/docs/expert_paper/How_to_Feed_the_World_in_2050.pdf. Accessed 17 April 2017.
- Luo, G. Z., Avnimelech, Y., Pan, Y. F., & Tan, H. X. (2013). Inorganic nitrogen dynamics in sequencing batch reactors using biofloc technology to treat aquaculture sludge. *Aquacultural engineering*, 52, 73-79.
- Naylor, R. L., Goldburg, R. J., Primavera, J. H., Kautsky, N., Beveridge, M. C., Clay, J., Folke, C., Lubchenco, J., Mooney, H., & Troell, M. (2000). Effect of aquaculture on world fish supplies. *Nature*, 405 (6790), 1017-1024.
- Sinha, A. K., Kumar, V., Makkar, H. P., De Boeck, G., & Becker, K. (2011). Non-starch polysaccharides and their role in fish nutrition—A review. *Food Chemistry*, 127 (4), 1409-1426.
- Gracia, M. I., Aranibar, M., Lazaro, R., Medel, P., & Mateos, G. G. (2003). Alpha-amylase supplementation of broiler diets based on corn. *Poultry science*, 82 (3), 436-442.
- Maas, R. M., Verdegem, M. C., & Schrama, J. W. (2019). Effect of non-starch polysaccharide composition and enzyme supplementation on growth performance and nutrient digestibility in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture Nutrition*, 25 (3), 622-632.
- Hlophe-Ginindza, S. N., Moyo, N. A., Ngambi, J. W., & Ncube, I. (2016). The effect of exogenous enzyme supplementation on growth performance and digestive enzyme activities in *Oreochromis mossambicus* fed kikuyu-based diets. *Aquaculture Research*, 47 (12), 3777-3787.

9. Rosadi, E., Yuli, E. H., Setyohadi, D., & Bintoro, G. (2014). Distribution, composition, and abiotic environment of Silver Rasbora (*Rasbora argyrotaenia Blkr*) fish in upstream areas of Barito watershed, South Kalimantan. *Journal of Environment and Ecology*, 5 (1), 117.
10. Zutshi, B., & Prasad, S. R. (2008). Impact of pollution on fresh-and marine water resources-A review. *Pollution Research*, 27 (3), 461-466.
11. Bogut, I., Opacak, A., & Stevic, I. (1995). The influence of polyzymes added to the food on the growth of carp fingerlings (*Cyprinus carpio* L.). *Aquaculture*, 129 (1-4), 252-252.
12. Prabu, E., Rajagopalsamy, C. B. T., Ahilan, B., Santhakumar, R., Jeevagan, I. J. M. A., & Renuhadevi, M. (2017). An overview of anti-nutritional factors in fish feed ingredients and their effects in fish. *Journal of Aquaculture in the Tropics*, 32 (1/2), 149.
13. Brufau, J., Francesch, M., & Pérez-Vendrell, A. M. (2006). The use of enzymes to improve cereal diets for animal feeding. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86 (11), 1705-1713.
14. Walk, C. L., & Bedford, M. R. (2020). Application of exogenous enzymes: is digestibility an appropriate response variable?. *Animal Production Science*, 60 (8), 993-998.
15. Subramanian, A., & Balasubramanian, U. (2014). Effect of spirulina on growth and biochemical performance in common carp *Catla catla* and *Labeo rohita*. *International Journal of Research in Fisheries and Aquaculture*. 1, 1-10.
16. Biabani, M., Soudager, M., Mazandarani, M., & Yusefi, S. (2016). The effect of spirulina powder on the growth, survival, total carotenoid of pre-moldo fish in the larval stage of dwarf gourami fish (*Trichogaster lalius*). *Fisheries Science and Technology*, 6 (1), 21-35. [In Persian]
17. Ovando, C. A., Carvalho, J. C. D., Vinicius de Melo Pereira, G., Jacques, P., Soccol, V. T., & Soccol, C. R. (2018). Functional properties and health benefits of bioactive peptides derived from Spirulina: A review. *Food reviews international*, 34 (1), 34-51.
18. Nege, A. S., Masithah, E. D., & Khotib, J. (2020). Trends in the Uses of Spirulina Microalga: A mini-review. *Journal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*, 12 (1), 149-166.
19. Balon, E. K. (1995). Origin and domestication of the wild carp, *Cyprinus carpio*: from Roman gourmets to the swimming flowers. *Aquaculture*, 129 (1-4), 3-48.
20. Zakariaee, H., Sodagar, M., Hosseini, S., Paknejad, H., & Baroah, K. (2019). The effect of using a synbiotic produced from button mushroom extract in combination with two species of lactic acid bacteria on the activity of digestive enzymes, carcass composition, growth and intestinal microbial flora in zebra fish (*Danio rerio*). *Marine science and technology*. [In press]. **10.22113/jmst.2020.233183.237**. [In Persian]
21. Sodagar, M., Khalsa, M., Mazandarani, M., Hosseini, A., & Zakariaee, H. (2016). The effect of Spirulina sp on the growth, survival and pigmentation of *Pseudotropheus demasoni*. *Journal of Fisheries, Journal of Natural Resources of Iran*, 69 (1), 21-27. [In Persian]
22. Adelian, M., Imanpour, M., Taghizadeh, V., & Mazandarani, M. (2015). The use of natozyme multi-enzyme in the diet of common carp (*Cyprinus carpio*) and its effects on growth indices and some blood biochemical factors. *Animal Environment*, 8 (2), 207-214. [In Persian]
23. Moustafa, E. S., Alsanie, W. F., Gaber, A., Kamel, N. N., Alaqil, A. A., & Abbas, A. O. (2021). Blue-green algae (*Spirulina platensis*) alleviates the negative impact of heat stress on broiler production performance and redox status. *Animals*, 11 (5), 1243.
24. De Almeida Bicudo, A. J., Sado, R. Y., & Cyrino, J. E. P. (2009). Growth and haematology of pacu (*Piaractus mesopotamicus*) fed diets with varying protein to energy ratio. *Aquaculture Research*. 40, 486-495.
25. Tacon, A. G. J. (2001). Effect of brood-stock nutrition on reproductive performance of fish. *Aquaculture*. 197, 25-42.

26. Bekcan, S., Dogankaya, L., & Cakirogullari, G. C. (2006). Growth and body composition of European catfish (*Silurus glanis* L.) fed diets containing different percentages of protein. *Israeli journal of aquaculture = Bamidgeh*. 58 (2), 137-142.
27. Hevrøy, E., Espe, M., Waagbø, R., Sandnes, K., Ruud, M., & Hemre, G. I. (2005). Nutrient utilization in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fed increased levels of fish protein hydrolyte during a period of fast growth. *Aquaculture Nutrition*. 11, 301-313.
28. Ai, Q., Mai, K., Tan, B., Xu, W., Duan, Q., Ma, H., & Zhang, L. (2006). Replacement of fish meal by meat and bone meal in diets for large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea*. *Aquaculture*. 260, 255-263.
29. Adegoke, A. M., Gbadegesin, M. A., Otitoju, A. P., & Odunola, O. A. (2015). Hepatotoxicity and Genotoxicity of Sodium Arsenite and Cyclophosphamide in Rats: Protective Effects of Aqueous Extract of *Adansonia digitata* L. Fruit Palp. *British Journal of Medicine & Medical Research*, 8 (11), 963-974.
30. Ross, N. W., Firth, K. J., Wang, A., Burka, J. F., & Johnson, S. C. (2000). Changes in hydrolytic enzyme activities of naive Atlantic salmon *Salmo salar* skin mucus due to infection with the salmon louse *Lepeophtheirus salmonis* and cortisol implantation. *Diseases of aquatic organisms*, 41 (1), 43-51.
31. Farhang, P., Mirvaqfi, A. R., & Majaji Amiri, B. (2017). The effect of oxytetracycline antibiotic on the blood parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) suffering from aeromoniasis and the effect of using butyl hydroxytoluene in improving the side effects of antibiotic treatment. *Fisheries, Journal of Natural Resources of Iran*, 71 (3), 216-224. (In Persian)
32. Mohammad Rezaei, D. (2019). Investigating the effect of spirulina algae powder and cloves on the growth performance and carcass composition of common carp fingerlings. *Animal Environment*, 12 (2), 189-194. [In Persian]
33. Sabrian Joybari, M., Ghobadi, Sh., & Watan-doost, P. (2016). The effect of different levels of prebiotic A-MAX on growth indices, survival and carcass composition in common carp fry. *Aquaculture Development*, 11 (1), 63-75. [In Persian]
34. Tokur, S., Ozkütük, E., Atici, G., Ozyurt, C. E., & Ozyur, E. (2006). The effects of frozen storage at -18 °C on the chemical and sensory qualities of fish fingers produced from unwashed and washed mirror carp (*Cyprinus carpio*) mince were investigated. The amounts of moisture, crude protein, lipid, crude ash, ω3 polyunsaturated. *Food Chemistry*. 151, 55-70.
35. Park, J. H., Lee, S. I., & Kim, I. H. (2018). Effect of dietary Spirulina (*Arthrospira platensis*) on the growth performance, antioxidant enzyme activity, nutrient digestibility, cecal microflora, excreta noxious gas emission, and breast meat quality of broiler chickens. *Poultry science*, 97 (7), 2451-2459.
36. Al-Batshan, H. A., Al-Mufarrej, S. I., Al-Homaidan, A. A., & Qureshi, M. A. (2001). Enhancement of chicken macrophage phagocytic function and nitrite production by dietary *Spirulina platensis*. *Immunopharmacology and immunotoxicology*, 23 (2), 281-289.
37. Meineri, G., Ingravalle, F., Radice, E., & Aragno, M. (2009). Effects of high fat diets and Spirulina Platensis supplementation in New Zealand White rabbit.
38. Sujatha, T., & Narahari, D. (2011). Effect of designer diets on egg yolk composition of 'White Leghorn' hens. *Journal of food science and technology*, 48 (4), 494-497.
39. Evans, A. M., Smith, D. L., & Moritz, J. S. (2015). Effects of algae incorporation into broiler starter diet formulations on nutrient digestibility and 3 to 21 d bird performance. *Journal of applied poultry research*, 24 (2), 206-214.
40. Jaime-Ceballos, B. J., Hernández-Llamas, A., Garcia-Galano, T., & Villarreal, H. (2006). Substitution of Chaetoceros muelleri by Spirulina platensis meal in diets for Litopenaeus schmitti larvae. *Aquaculture*, 260 (1-4), 215-220.

41. Lu, J., Yoshizaki, G., Sakai, K., & Takeuchi, T. (2002). Acceptability of raw *Spirulina platensis* by larval tilapia *Oreochromis niloticus*. *Fisheries Science*, 68 (1), 51-58.
42. Gogoi, S., Mandal, S. C., & Patel, A. B. (2018). Effect of dietary *Wolffia arrhiza* and *Spirulina platensis* on growth performance and pigmentation of Queen loach *Botia dario* (Hamilton, 1822). *Aquaculture Nutrition*, 24 (1), 285-291.
43. Alvarenga, R. R., Rodrigues, P. B., Cantarelli, V. D. S., Zangeronimo, M. G., Silva Júnior, J. W. D., Silva, L. R. D., Santos, L. M. D., & Pereira, L. J. (2011). Energy values and chemical composition of spirulina (*Spirulina platensis*) evaluated with broilers. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 40 (5), 992-996.
44. Evans, A. M., Smith, D. L., & Moritz, J. S. (2015). Effects of algae incorporation into broiler starter diet formulations on nutrient digestibility and 3 to 21 d bird performance. *Journal of applied poultry research*, 24 (2), 206-214.
45. Alofa, C. S., Adite, A., & Abou, Y. (2020). Evaluation of *Spirulina (Spirulina platensis)* wastes and live housefly (*Musca domestica*) larvae as dietary protein sources in diets of *Oreochromis niloticus* (Linnaeus 1758) fingerlings. *Aquatic Research*, 3 (1), 24-35.
46. Homayoni, M., Imanpour, M. R., & Safari, R. (2019). The effects of betaine and nattozyme multienzyme in the diet on growth performance and expression of the growth hormone (GH) gene in common carp. *Animal Physiology Research*, 14 (3), 85-96. [In Persian]
47. Razeghi, M., Akrami, R., Ghobadi, S. H., Amani Denji, K., Ezatrahimi, N., & Gharaei, A. (2012). Effects of dietary manna oligosaccharide (MOS) on growth performance, survival, body composition, and some hematological parameters in giant sturgeon juvenile (*Huso huso*). *Fish Physiology and Biochemistry*. 38 (3), 829-835.
48. Adelian, M., Imanpour, M. R., & Jafari, V. (2018). The effects of nattozyme multi-enzyme in the diet on the growth, survival and reproductive performance of goldfish. *Animal Environment*, 11 (2), 215-224. [In Persian]
49. Mousavi, M., Imanpour, M. R., & Safari, R. (2019). Effect of nattozyme multi-enzyme and lactic acid pediococcus probiotic in diet on growth and hematological parameters in beluga (*Huso huso*). *Animal Environment*, 12 (1), 223-228. [In Persian]
50. Farhangi, M., & Carter, C. G. (2007). Effect of enzyme supplementation to dehulled lupin-based diets on growth, feed efficiency, nutrient digestibility and carcass composition of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture Research*, 38 (12), 1274-1282.
51. Sardar, P., Randhawa, H. S., Abid, M., & Prabhakar, S. K. (2007). Effect of dietary microbial phytase supplementation on growth performance, nutrient utilization, body compositions and haemato-biochemical profiles of *Cyprinus carpio* (L.) fingerlings fed soyprotein based diet. *Aquaculture Nutrition*, 13 (6), 444-456.
52. Li, X. Q., Zhang, X. Q., Kabir Chowdhury, M. A., Zhang, Y., & Leng, X. J. (2019). Dietary phytase and protease improved growth and nutrient utilization in tilapia (*Oreochromis niloticus* × *Oreochromis aureus*) fed low phosphorus and fishmeal-free diets. *Aquaculture nutrition*, 25 (1), 46-55.
53. Vielma, J., Ruohonen, K., Gabaudan, J., & Vogel, K. (2004). Top spraying soybean meal based diets with phytase improves protein and mineral digestibilities but not lysine utilization in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture Research*, 35 (10), 955-964.
54. Khorasani-Nejad, M., Taati, R., & Abdulahpour Biria, H. (2018). Comparison of individual and combined levels of commercial enzymes on feeding efficiency and chemical composition of common carp (*Cyprinus carpio*) carcass. *Journal of Veterinary Research*, 74 (1), 35-43.
55. Monier, M. N. (2020). Efficacy of dietary exogenous enzyme supplementation on growth performance, antioxidant

- activity, and digestive enzymes of common carp (*Cyprinus carpio*) fry. *Fish Physiology and Biochemistry*, 46 (2), 713-723.
56. Knowles, S., Hrubec, T. C., Smith, S. A., & Bakal, R.S. (2006). Hematology and plasma chemistry reference intervals for cultured shortnose (*Acipenser brevirostrum*). *Veterinary Clinical Pathology*. 35 (4), 434-440.
57. Kazemi, R., Pourdehghani, M., Yousefi Jourdehi, A., Yarmohammadi, M., & Nasri Tajan, M. (2010). Cardiovascular system physiology of aquatic animals and applied techniques of fish hematology Bazargan Press, Rasht. 194p.
58. Sattari, M. (2002). Ichthyology (1): Anatomy and Physiology. Naghshe Mehr Press, Tehran, Iran. 862p. [In Persian]
59. Siwicki, A. K., Anderson, D. P., & Rumsey, G. L. (1994). Dietary intake of immunostimulants by rainbow trout affects non-specific immunity and protection against furunculosis. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 41 (1-2), 125-139.
60. Homayoni, M., Safari, R., Imanpour, M. R., Kiapour, F., Sancholi, H., & Shokohian, B. (2019). Effects of using multi-enzyme apsozyme and betaine in diet on some blood parameters and carcass composition in beluga (*Huso huso*). *Animal Environment*, 12 (2), 117-122.
61. Zamini, A., Kanani, H., Esmaeili, A., Ramezani, S., & Zorie Zahara, S. J. (2012). Effects of Two Dietary Exogenous Multi-Enzyme Supplementation, Natuzyme® and Beta-mannanase (Hemicell®), on Growth and Blood Parameters of Caspian Salmon (*Salmo trutta Caspius*). *Comparative Clinical Pathology*. 23, 187-192.
62. Hosseinfard, S. M., Ghobadi, S. H., Khodabakhsh, E., & Razeghi Mansour, M. (2013). The effect of different levels of soybean meals and avizyme enzyme supplement on hematological and biochemical parameters of serum in rainbow trout. *Iranian Veterinary Journal*. 9 (3), 43-53.
63. Taati, R., & Salehi, M. (2017). Comparison of blood and biochemical indices of common carp (*Cyprinus carpio*) fed with single and combined levels of commercial multi-enzymes. *Journal of Applied Fisheries Research*, 6 (2), 119-134.
64. Oguz, M. N., & Goncuolu, F. K. O. E. (2011). Kavuzu Al nm þ Arpan n B ld rc nlarda Performants ve Baz Kan Parametreleri Uzerine Etkisi.
65. Mohammadbeygi, M., Imanpour, M. R., Taghizadeh, V., & Shabani, A. (2013). Endo 1- 3(4) Beta-glucanase supplementation of Barley Based Diet and Its Effect on Some Hematological Parameters of Common Carp (*Cyprinus carpio*). *Global Veterinaria*. 10 (1), 39-45.
66. Salehi Farsani, A., Soltani, M., Kamali, A., & Shamsaei Mahdana, M. (2018). The effect of macroguard immune stimulant and spirulina algae (*Arthrospira platensis*) on some blood parameters of ozone fish (*Acipenser stellatus*). *Animal Environment*, 11 (4), 171-176.
67. Adel, M., Yeganeh, S., Dadar, M., Sakai, M., & Dawood, M. A. (2016). Effects of dietary *Spirulina platensis* on growth performance, humoral and mucosal immune responses and disease resistance in juvenile great sturgeon (*Huso huso* Linnaeus, 1754). *Fish & Shellfish Immunology*, 56, 436-444.



دکتر پرویز زارع	دکتر سیدمهدی اجاق
دکتر عباس زمانی	دکتر حسین آدینه
دکتر امیر پرویز سلاطی	دکتر محمدرضا انتصاریان
دکتر سعید شربتی	دکتر زینب انصاری
دکتر رقیه صفری	دکتر طاهره باقری
دکتر افشین عادل	دکتر پرستو پورعاشوری
دکتر علیرضا عالیشاهی	دکتر احمدرضا جبله
دکتر رسول قربانی	دکتر ولی‌اله جعفری
دکتر محسن کاظمی	دکتر سید مرتضی حسینی
دکتر معظمه کردجزی	دکتر سیدحسین حسینی‌فر
دکتر سیدعلی اکبر هدایتی	دکتر آی ناز خدانظری

شرایط پذیرش و راهنمای تهیه مقاله

نشریه علمی بهره‌برداري و پرورش آبزبان مقالات در زمينه‌های آبزبان و صنايع وابسته به آن را می‌پذیرد. مقاله‌ای برای چاپ پذیرفته خواهد شد که متن کامل آن قبلاً در هیچ نشریه‌ای منتشر و نیز برای چاپ به سایر نشریات ارائه نگردیده باشد. مقالات ارسالی باید به زبان فارسی باشد، ولی چکیده باید به هر دو زبان تهیه شود. در مقالاتی که دارای چند مؤلف هستند، ترتیب اسامی و حقوق مؤلفین بر عهده ارسال‌کننده مقاله خواهد بود. مسئولیت هر مقاله از نظر علمی بر عهده نویسنده (گان) خواهد بود. نشریه در رد یا قبول و حک و اصلاح مقالات آزاد است.

هر مقاله تحقیقی باید دارای عنوان، چکیده فارسی، واژه‌های کلیدی به فارسی، مقدمه، مواد و روش‌ها، نتایج و بحث، منابع، چکیده انگلیسی و واژه‌های کلیدی به انگلیسی باشد و اصول زیر در آن رعایت شود:

- ۱) عنوان مقاله باید کوتاه و گویا باشد و از ۱۵ واژه تجاوز نکند.
 - ۲) هر مقاله باید دارای یک برگ مشخصات مقاله شامل نام و نام‌خانوادگی نویسنده (گان)، مرتبه علمی و نشانی به هر دو زبان فارسی و انگلیسی، شماره تلفن و فاکس و پست الکترونیکی باشد.
 - ۳) چکیده باید محتوای مقاله را بازگو نماید و با تاکید بر روش‌ها، نتایج و اهمیت کاربرد نتایج بوده و تمام آن در یک پاراگراف و حداکثر در ۱۵ سطر (حدود ۲۵۰ واژه) نوشته شود، چکیده انگلیسی باید ترجمه کامل چکیده فارسی باشد.
 - ۴) واژه‌های کلیدی در ۳ تا ۵ واژه بلافاصله بعد از چکیده‌های فارسی و انگلیسی آورد شود.
 - ۵) مقدمه باید شامل طرح مسئله، سوابق کار و توجه اهمیت تحقیق باشد. اهداف مطالعه به‌طور شفاف در انتهای مقدمه ذکر گردد.
 - ۶) مواد و روش‌ها شامل مسائل کار، طرح آماری، نحوه داده‌سازی و شیوه اجرای پژوهش باید مشخص و روش بیان شود.
 - ۷) نتایج و بحث شامل درج یافته‌های تحقیق، بحث مستدل (با مرجع) و نتیجه‌گیری خواهد بود. نتایج و بحث را می‌توان با هم یا جداگانه تدوین کرد. شکل‌ها و جدول‌ها در نتایج و بحث نباید دارای اطلاعات مشابه یا تکراری باشند. داده‌های جدول نباید به‌صورت منحنی یا نمودار (به‌استثنای نقشه) تکرار شوند.
 - ۸) در صورت ضرورت، تشکر و قدردانی از موسسات و افراد زیر عنوان "سپاسگزاری" قبل از منابع آورده شود.
 - ۹) کل منابع به زبان انگلیسی و به ترتیب حروف الفبا نام‌خانوادگی نویسندگان و نام سازمان‌ها است. از ارجاع منابع با عنوان "بی‌نام" خودداری شود.
 - ۱۰) منبع مورد استفاده ممکن است کتاب، مقاله و یا نشریه باشد. در مورد کتاب باید نام نویسنده (گان)، سال انتشار، عنوان کتاب، ناشر و محل انتشار و تعداد کل صفحات آورده شود.
- الف) کتاب تالیف شده در ایران:

1. Parsapajouh, D. 1994. Wood technology. Tehran Univ. Press, 404p. (In Persian)

ب) کتاب به لاتین (رجوع به کل صفحه)

1. Holik, H. 2006. Handbook of paper and board. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, Germany, 506p.

ج) کتاب به لاتین (صفحه‌های مورد استفاده)

1. Nyland, R.D. 1996. Silviculture, Concepts and applications. Mc Graw-Hill international edition, New York, Pp: 501-553.

۱۱) برای مقالاتی که فصلی از یک کتاب با نویسنده (گان) مجزا هستند (مانند مقاله در همایش‌ها)، این موارد شامل نام نویسنده (گان)، سال انتشار، عنوان مقاله، شماره صفحات، نام نویسنده (گان) (ادیتورها) کتاب، نام کتاب، ناشر و محل انتشار است.

1. Yang, C. and Tao, V. 2005. Distributed geospatial information service. P 113-130, In: S. Rana and J. Sharma (eds), Frontiers of geographic information technology, Springer, London.

۱۲) طرز نگارش منابع فارسی مقاله به انگلیسی باید شامل نام نویسنده(گان)، سال انتشار، عنوان مقاله، نام نشریه کامل یا به اختصار، جلد (شماره) نشریه و شماره صفحات مقاله باشد. مثال:

1. Mohamadi, J. and Shataee, Sh. 2009. Sensitivity Evaluation of spectral vegetation indices using sensitivity functions for stand volume estimation. *Gorgan, J. of Wood & Forest Science and Technology*. 16: 2. 101-120. (In Persian)

مقاله لاتین:

2. Pere, J., Siika-aho, M., Viikari, L. 1995. Effects of purified *Trichoderma ressi* cellulose on the fiber properties of kraft pulp. *Tappi J.* 78:6. 71-78.

۱۳) اگر منبع نشریه چاپ شده با نام یک موسسه است، باید شامل نام موسسه، سال انتشار، عنوان نشریه و محل انتشار باشد. برای سایر موارد به آخرین شماره رجوع شود.

۱۴) برای ارجاع به منابع در متن تنها نام خانوادگی نویسنده و سال انتشار منبع برحسب میلادی نوشته شود. اگر تعداد نویسندگان بیش از دو نفر باشد، فقط به ذکر نام خانوادگی نویسنده اول و سپس "همکاران" اکتفا شود.

۱۵) منابع فارسی ترجمه شده از زبان‌های خارجی باید با نام مترجم ارجاع گردد و بعد از عنوان کتاب، یا مقاله، واژه "ترجمه" داخل پرانتز درج می‌گردد. مثال:

1. Farabi, H. 2000. Manual on acute forest damage. Gorgan Univ. of Agricultural Sciences and Natural Resources Press. 140p. (Translated in Persian)

۱۶) همه منابع مندرج در فهرست منابع قبلاً در مقدمه و مواد روش‌ها به‌عنوان سابقه تحقیق با ذکر نتایج مرور شده باشد تا در بحث مستدل و نتیجه‌گیری، امکان استناد به آنها فراهم شود.

۱۷) از به‌کاربردن کلمات خارجی غیر از اسامی علمی در متن خودداری و در صورت نبودن معادل فارسی فراگیر، آنها را به فارسی نوشته و اصل کلمه با ذکر شماره‌های بدون پرانتز در قسمت بالا و در سمت چپ کلمه، به زیرنویس در همان صفحه ارجاع داده شود.

۱۸) اسامی علمی (جنس و گونه، گیاهان، جانوران) در تمام مقاله با حروف ایتالیک یا مورب تایپ شوند و نام مصنف برای اولین بار و در جلوی آن در داخل پرانتز نوشته شود.

۱۹) عناوین جدول‌ها در بالا و عناوین شکل‌ها در زیر آنها نوشته شود. از به‌کار بردن عنوان‌هایی مانند نمودار، عکس و نقشه، خودداری و آنها با عنوان "شکل" درج شوند. همه اعداد، واحدها و مقیاس‌ها در جدول‌ها و شکل‌ها و سایر قسمت‌های مقاله باید به فارسی باشند. واحدهای استفاده شده در مقاله باید در سیستم متریک باشد.

۲۰) متن مقاله باید به‌صورت یک خط در میان و با رعایت حاشیه ۲/۵ سانتی‌متر از لبه‌ها، تایپ شده باشد و حداکثر در ۱۲ صفحه (با فونت B lotus و با اندازه ۱۲) و از طریق پورتال نشریه ارسال شود. تایپ مقالات در نرم‌افزار Word 97 یا نسخه‌های بالاتر میکروسافت توصیه می‌شود.

۲۱) ممکن است برای چاپ، شکل‌ها کوچکتر شوند، بنابراین نوشته‌ها و اعداد روی شکل‌ها باید درشت و کاملاً خوانا باشد.

۲۲) عکس‌ها باید دارای مقیاس باشند و در صورت اقتباس از منبع دیگر باید ذکر گردد.

۲۳) مسئول مکاتبه هر مقاله لازم است توسط نویسندگان مقاله قبل از ارسال مشخص گردد. لذا هر گونه مسئولیتی در رابطه با مقاله مربوط به شخص مکاتبه‌کننده است.

۲۴) دانشجویان دوره کارشناسی ارشد و دکترا لازم است قبل از ارسال مقاله هماهنگی و مشاوره لازم در خصوص مقاله را با استاد راهنما حتماً به عمل آورند.

۲۵) این نشریه همچنین گزارش‌های کوتاه علمی و فنی که تاکنون چاپ نشده را پس از اعلام نظر داور تخصصی و تایید هیات تحریریه به‌عنوان Technical report و یادداشت‌های کوتاه علمی جهت چاپ پذیرش می‌نماید. این قبیل گزارش‌ها حداکثر در دو صفحه قابل چاپ خواهد بود (به‌همراه عنوان چکیده و منابع علمی)، در ضمن ساختار کلی گزارش‌های کوتاه علمی همانند یک مقاله کامل می‌باشد.

Contents

The effect of using synbiotic pectin and <i>Lactobacillus plantarum</i> on growth performance and expression of genes related to growth in beluga sturgeon (<i>Huso huso</i>) Esmail Jabbari, Valiollah Jafari, Roghieh Safari, Seyed Hossein Hoseinifar, Mohammadreza Imanpour	1
The effects of dietary supplemented oyster mushroom powder (<i>Pleurotus ostreatus</i>) on growth performance, immunity of skin mucus and blood serum and mucus protein pattern of Nile tilapia (<i>Oreochromis niloticus</i>) fingerlings Hossein Arab, Hamed Pakenjad, Seyed Hossein Hoseinifar, Mohammad Reza Imanpour, Ali Jafarnoudeh, Mohsen Tajari	13
Investigating the amount of fraud in the production of canned tuna using the DNA barcoding method in Iran Mona Eyvaz, Mehdi Zolfaghari, Mojtaba Nasr Esfahani, Hamed Paknejad.....	35
Environmental impact assessment of rainbow trout <i>Oncorhynchus mykiss</i> (Walbaum, 1792) cage culture in southern part of Caspian Sea (Case study: Kelar Abad city) Ali Naghi Maghsoudlou, Seyed Abbas Hosseini, Rasoul Ghorbani, Abdolazim Fazel, Saeid Esmailpour.....	49
Effects of dietary lactic acid supplementation on plasma ions and proteins levels in rainbow trout, <i>Oncorhynchus mykiss</i> Seyyed Morteza Hoseini.....	67
Demographic characteristics of Black pomfret fish (<i>Parastromateus niger</i>, Bloch, 1795) in the northern waters of Oman Sea (Sistan and Baluchestan) Ali Nadimi Ashkan Kamachaei, Ali Taheri, Seyed Ahmad Reza Hashemi	77
Study of the ecology of spiny lobster <i>Panulirus homarus</i> (Linnaeus, 1758) habitats on the coasts of Sistan and Baluchestan province in order to establish artificial reef structures to stock enhancement resource Mohammad Reza Mirzaei, Ashkan Ajdari.....	89
Determining the most suitable age and weight of fingerlings stellate fish (<i>Acipenser stellatus</i>) for release into the Caspian Sea Alireza Ashouri, Zabihollah Pajhand, Ayoub Yousefi Jourdehi, Esmael Hoseinnia, Javad Sayadfar, Jalil Jalilpour	103
The effect of simultaneous use of lactic acid and probiotic (<i>Lactobacillus acidophilus</i>) on some parameters of growth, carcass quality, and blood parameters in rainbow trout (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) Mohsen Soleymani Iraee, Hosein Oraji, Sakineh Yeganeh, Farid Firouzbakhsh, Abdolsamad Keramat	117
Comparison of functional properties of protein extracted from (<i>Spirulina Platensis</i>) by different methods Sanaz Urajeh, Parastoo Pourashouri, Bahareh Shabanpour, Seyed Vali Hoseini	133
Investigation of the prevalence of <i>Listeria monocytogenes</i> and <i>Salmonella</i> in fish, shrimp and eggs presented in Shahrekord city, Iran (Prevalence of <i>Listeria</i> and <i>Salmonella</i> in fish, shrimp and eggs) Ebrahim Rahimi, Mohammad Amin Heidarzadi, Najme Vahed Dehkordi	145
Comparing the effect of hydrazone derivative 2-phenylthiobenzoic acid as a new anti-inflammatory with mefenamic acid on liver tissue histology and liver enzymes in <i>Trichogaster trichopterus</i> Yasaman Khani, Tahereh Naji, Ali Almasi Rad, Homayoun Hosseinzadeh Sahafi.....	157
Effect of dietary <i>Spirulina platensis</i> and Natuzyme multi-enzyme on growth performance, survival and hematological parameters in common carp (<i>Cyprinus carpio</i>) Mohammad Taghi Farhadi, Mohammadreza Imanpour, Roghieh Safari	171



The effect of using synbiotic pectin and <i>Lactobacillus plantarum</i> on growth performance and expression of genes related to growth in beluga sturgeon (<i>Huso huso</i>) Esmaeil Jabbari, Valiollah Jafari, Roghieh Safari, Seyed Hossein Hoseinifar, Mohammadreza Imanpour	1
The effects of dietary supplemented oyster mushroom powder (<i>Pleurotus ostreatus</i>) on growth performance, immunity of skin mucus and blood serum and mucus protein pattern of Nile tilapia (<i>Oreochromis niloticus</i>) fingerlings Hossein Arab, Hamed Pakenjad, Seyed Hossein Hoseinifar, Mohammad Reza Imanpour, Ali Jafarnoudeh, Mohsen Tajari	13
Investigating the amount of fraud in the production of canned tuna using the DNA barcoding method in Iran Mona Eyvaz, Mehdi Zolfaghari, Mojtaba Nasr Esfahani, Hamed Paknejad.....	35
Environmental impact assessment of rainbow trout <i>Oncorhynchus mykiss</i> (Walbaum, 1792) cage culture in southern part of Caspian Sea (Case study: Kelar Abad city) Ali Naghi Maghsoudlou, Seyed Abbas Hosseini, Rasoul Ghorbani, Abdolazim Fazel, Saeid Esmaeilpoor.....	49
Effects of dietary lactic acid supplementation on plasma ions and proteins levels in rainbow trout, <i>Oncorhynchus mykiss</i> Seyyed Morteza Hoseini.....	67
Demographic characteristics of Black pomfret fish (<i>Parastromateus niger</i>, Bloch, 1795) in the northern waters of Oman Sea (Sistan and Baluchestan) Ali Nadimi Ashkan Kamachaei, Ali Taheri, Seyed Ahmad Reza Hashemi	77
Study of the ecology of spiny lobster <i>Panulirus homarus</i> (Linnaeus, 1758) habitats on the coasts of Sistan and Baluchestan province in order to establish artificial reef structures to stock enhancement resource Mohammad Reza Mirzaei, Ashkan Ajdari.....	89
Determining the most suitable age and weight of fingerlings stellate fish (<i>Acipenser stellatus</i>) for release into the Caspian Sea Alireza Ashouri, Zabihollah Pajhand, Ayoub Yousefi Jourdehi, Esmael Hoseinnia, Javad Sayadfar, Jalil Jalilpour	103
The effect of simultaneous use of lactic acid and probiotic (<i>Lactobacillus acidophilus</i>) on some parameters of growth, carcass quality, and blood parameters in rainbow trout (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) Mohsen Soleymani Iraee, Hosein Oraji, Sakineh Yeganeh, Farid Firouzbakhsh, Abdolsamad Keramat.....	117
Comparison of functional properties of protein extracted from (<i>Spirulina Platensis</i>) by different methods Sanaz Urjeh, Parastoo Pourashouri, Bahareh Shabanpour, Seyed Vali Hoseini	133
Investigation of the prevalence of <i>Listeria monocytogenes</i> and Salmonella in fish, shrimp and eggs presented in Shahrekord city, Iran (Prevalence of Listeria and Salmonella in fish, shrimp and eggs) Ebrahim Rahimi, Mohammad Amin Heidarzadi, Najme Vahed Dehkordi	145
Comparing the effect of hydrazone derivative 2-phenylthiobenzoic acid as a new anti-inflammatory with mefenamic acid on liver tissue histology and liver enzymes in <i>Trichogaster trichopterus</i> Yasaman Khani, Tahereh Naji, Ali Almasi Rad, Homayoun Hosseinzadeh Sahafi.....	157
Effect of dietary <i>Spirulina platensis</i> and Natuzyme multi-enzyme on growth performance, survival and hematological parameters in common carp (<i>Cyprinus carpio</i>) Mohammad Taghi Farhadi, Mohammadreza Imanpour, Roghieh Safari.....	171