استفاده از روغن ریزپوشانی شده در جیره غذایی ماهی قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) و تاثیر آن روی فاکتورهای رشد، ترکیبات لاشه و فساد چربی لاشه ماهی طی نگه داری در فریزر

مسعوداصغری[1]*، محمد رضا ایمانپور[1]، بهاره شعبانپور[1]

۱- گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۲/۲۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۵/۳۰

چکیده

این مطالعه به منظور بررسی تاثیر روغن ریزپوشانی شده در جیره غذایی ماهی قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) روی برخی شاخص های رشد و ترکیبات لاشه این ماهی و همچنین تاثیر آن در مدت ماندگاری آن در فریزر انجام شده است. بدین منظور ماهیان با میانگین وزن ۱/۵±۲۰ گرم به مدت دو ماه با جیره های آزمایشی تغذیه شدند. ماهیان روزانه در دو نوبت و بر اساس ۲/۵ درصد وزن بدن تغذیه می شدند. عمل زیست سنجی هر دو هفته انجام میشد. پس از پایان آزمایش شاخص های رشد و ترکیب لاشه ماهیان مورد مطالعه قرار گرفت. سپس ماهیان به مدت ۳ ماه در فریزر در دمای ۱۸- درجه سانتی گراد نگه داری شدند و شاخص های TBA و FFA طی این مدت بررسی شدند. نتایج بدست آمده از این تحقیق نشان داد که جیره هایی که در آنها از روغن ریزپوشانی شده استفاده شده است عملکرد بهتری داشته و از شاخص های رشد مناسب تری برخوردار بودند و شاخص های رشد در آنها به طور معنی داری بالاتر از جیره های بدون روغن ریزپوشانی شده بود ($P<۰/۰۵$). تاثیر روغن ریزپوشانی شده روی ترکیبات لاشه ماهیان و همچنین نگه داری آن در فریزر معنی دار نبود ($P>۰/۰۵$). بر اساس نتایج این تحقیق ریزپوشانی روغن می تواند باعث افزایش شاخص های رشد ماهی قزل آلای رنگین کمان شود.

کلمات کلیدی: ریزپوشانی، جیره غذایی، ترکیبات لاشه و قزل آلای رنگین کمان.

* عهده‌دار مکاتبات (✉). masoudasghari_14@yahoo.com

مقدمه

قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) از خانواده آزادماهیان محسوب می‌شود که در دسته ماهیان سردآبی قرار دارد. در صورت شرایط مساعد و مناسب برای رشد، این ماهی را در ۷ ماهگی می توان به بازار عرضه کرد. کیفیت گوشت ماهی قزل آلا بستگی زیادی به آب محیط زیست آن، موادی که در تغذیه این ماهی استفاده شده است و مدت زمان رشد این ماهی دارد.

افزایش روز افزون آبزی پروری در دنیا، افزایش نیاز به غذای آبزیان را به دنبال داشته است. تقاضا برای انواع خوراک آبزیان ۴۱ میلیون تن در سال ۲۰۱۴ تخمین زده شده است و پیش‌بینی می‌شود این میزان با رشد و توسعه آبزی‌پروری افزایش یابد (. بر اساس گزارشات فائو در سال ۲۰۱۵، از سال ۱۹۹۵ تولید خوراک انواع آبزیان بطور میانگین ۱۰/۹ درصد رشد داشته است (FAO, 2015). مطالعات زیادی روی جنبه‌های مختلف تغذیه آبزیان انجام می‌گیرد از جمله آزمایش سطوح مختلف پروتئین، چربی و کربوهیدرات جیره، جایگزینی منابع پروتئین گیاهی با پودر ماهی و غیره را می‌توان نام برد (Goda, 2008; DU and Niu, 2003). اما مطالعات کمی روی جلوگیری از فساد روغن جیره غذایی و تاثیر آن روی رشد ماهی انجام شده است. یکی از روش هایی که می تواند از فساد روغن جیره غذایی جلوگیری کند ریزپوشانی است.

ریزپوشانی فن‌آوری است که استفاده از آن به‌طور گسترده در حال گسترش است و پتانسیل بالایی برای استفاده در زمینه‌های مختلف از جمله صنایع داروسازی و غذایی دارد. ریزپوشانی را می‌توان به عنوان فرآیندی که در آن یک ماده توسط ماده‌ی دیگر محصور می‌شود تعریف کرد (Christiaan *et al*., 2010). در فرآیند ریزپوشانی هسته به معنای هر ترکیب یا ماده فعال می باشد که در این فرآیند توسط دیواره احاطه می شود مانند چربی ها، مواد معطر و ترکیبات مغذی. دیواره به معنای ساختار تشکیل شده بوسیله عامل ریزپوشان در اطراف ذرات یک ترکیب فعال هسته‌ای می باشد. دیواره، هسته را در برابر فساد اکسایشی، رطوبت، نور و اثر سایر ترکیبات یا فاکتورها حفظ کرده و آنها تحت شرایط مطلوب آزاد می‌سازد (Young *et al*., 1993).

نوع فرآیند مورد استفاده برای ریزپوشانی بستگی به ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی هسته و پوشش و نوع کاربرد آن در مواد غذایی دارد. در بین تکنیک‌های مختلف، خشک‌کردن پاششی[1]، سرد کردن پاششی[2]، اکستروژن[3]، پوشش از طریق تعلیق در هوا[4]، اکستروژن گریز از مرکز[5] و خشک کردن انجمادی[6] کاربرد بیشتری دارند (Zarkarian, 1979).

ریزپوشانی در صنایع غذایی فواید بسیاری دارد مانند عدم تحرک عامل فعال در سیستم‌های فرآوری غذایی، افزایش پایداری در طول فرآوری و ساخت غذا و همچنین در محصول نهایی (برای مثال: تبخیر کمتر مواد فعال فرار یا فاسد نشدن و واکنش ندادن با سایر ترکیبات غذا مانند اکسیژن و آب) و بهبود امنیت غذا (برای مثال کاهش واکنش مواد فرار مانند بو و رایحه) و همچنین عدم تغییر در مزه به خاطر پوشش ایجاد شده (Christiaan *et al*., 2010). همچنین از دیگر مزایای ریزپوشانی کردن، آزاد شدن چربی ریزپوشانی شده

[1]- Spray drying
[2]- Spray cooling / Chilling
[3]- Extrusion
[4]- Air suspension coating
[5]- Centrifugal extrusion
[6]- Freeze - drying

بصورت تدریجی است و از طرفی از چربی‌ها در برابر فاسد شدن محافظت می‌کند (Young *et al*., 1993) در نتیجه می‌توان احتمال داد که ریزپوشانی کردن چربی جیره، می‌تواند نقش موثری بر حفظ چربی و جذب راحت‌تر آن داشته باشد.

اضافه کردن روغن به جیره غذایی چه بصورت افزودن به مواد اولیه و یا بصورت اسپری کردن روی پلت سبب کاهش استحکام پلت خواهد شد و ممکن است مقداری از روغن پلت قبل از مصرف در آب حل شود و از دسترس خارج شود. در نتیجه ریزپوشانی کردن روغن جیره می‌تواند به استحکام پلت کمک کند و از شسته شدن روغن به داخل آب جلوگیری بعمل آورد. هرچه که میزان چربی اجزاء جیره کمتر باشد استحکام پلت بالاتر خواهد بود. در صنعت ساخت خوراک آبزیان روغن جیره در آخرین مرحله از ساخت خوراک روی پلت اسپری می‌شود (یوسفی، ۱۳۷۹). قسمت روغن‌زنی خوراک پلت یکی از حساس‌ترین و زمان‌برترین مرحله تولید خوراک است زیرا در این مرحله لازم است که روغن بطور یکنواخت به تمامی سطح پلت‌ها اسپری شود تا میزان چربی تمامی خوراک تولید شده برابر باشد همچنین اسپری کردن روغن در سطح پلت ممکن است در آب سبب شسته شدن روغن از سطح پلت شود، خصوصا در پلت‌هایی که دارای قوام کمی هستند (Bæverfjord *et al*., 2006).

روغن ماهی دارای چندین نوع از اسیدهای چرب غیر اشباع است که به دلیل وجود این اسیدهای چرب غیر اشباع پتانسیل بالایی برای فساد دارد (Aubourg, 1999). برای پیشگیری یا کاهش سرعت اکسیداسیون چربی چند راهکار وجود دارد از آن جمله می توان به کاهش تماس اکسیژن با روغن، افزودن آنتی اکسیدانت، کاهش دمای نگهداری محصول وکاهش نور اشاره کرد.

روغن ماهی ریزپوشانی شده می‌تواند از طریق جلوگیری از تماس روغن با اکسیژن، جلوگیری از تماس بین یونهای فلزی و روغن ماهی، جلوگیری از تماس مستقیم نور و همچنین تبدیل حالت روغن از مایع به جامد و پودر از بوی نامطبوع جلوگیری کند (Christiaan *et al*., 2010). که همه این عومل همچنین می تواند روی رشد ماهی اثر بگذارد. از این رو این آزمایش به منظور بررسی تاثیر روغن ریزپوشانی شده روی رشد و ترکیبات لاشه ماهی قزل آلای رنگین کمان انجام گرفته است.

مواد و روش ها

برای انجام این آزمایش ۶ جیره غذایی تهیه شد. آنالیز شیمیایی جیره‌های آزمایشی در جدول ۱ آورده شده است. میزان پروتئین و انرژی جیره‌های غذایی یکسان بود. ۳جیره غذایی با سطح مختلف روغن تهیه گردید که روغن در این جیره‌ها توسط ترکیبی از سلولز و آرد بلغور سویا پوشانده شد. در ۳ جیره دیگر از همان سطوح روغن اما بدون پوشش استفاده گردید.

از پودر ماهی، آرد بلغور سویا و ژلاتین در این جیره‌ها به عنوان منابع پروتیینی استفاده شد. برای تامین چربی در جیره غذایی از نسبت مساوی روغن ماهی و روغن کلزا استفاده گردید. به منظور تهیه روغن ریزپوشانی شده از دستگاه خشک کن انجمادی استفاده شد.

این آزمایش در کانال های سیمانی مستطیل شکل به ابعاد ۲/۵×۰/۷ متر با عمق ۳۰ سانتی متر واقع در روستای ماهیان دهانه فاضل آباد استان گلستان انجام

شـــد. . جریـان دایمی آب در این کانال ها برقرار بود و همزمان کانال ها توســـط پمپ هوا، هوادهی میشـــدند. شکل ۱ این کانال ها را نشان می دهد.

شکل۱: کانال های پرورشی بچه ماهیان قزل آلای رنگین کمان مورد استفاده در این تحقیق

هر تیمـار با ۳ تکرار انجام شـــد. و در هر تکرار ۱۰ قطعـه بچـه ماهی قزل‌الای رنگین کمان با وزن متوســـط ۱/۵±۲۰ گرم ذخیره گردیـد. بچـه مـاهی‌ها به مدت دو هفته برای سـازگاری با شـرایط غذادهی شـدند. قبل از شـروع آزمایش همگی ماهیان مورد زیسـت سنجی قرار گرفتند. غذادهی ۲ بار در روز برحسب ۲/۵ درصد وزن بـدن و بـه صـــورت دســـتی انجام گردید و گروه های آزمایشی هر دو هفته یک بار برای ارزیابی شاخص های رشـد بیومتری شـدند. ماهیان به مدت ۲ ماه با جیره‌های غذایی آزمایشـی تغذیه شـده و بعد از آن شـاخص های رشـــد و فیله ماهیان مورد آزمایش قرار گرفت. در طول دوره آزمـایش، میـانگین دمـا، اکســـیژن و pH به‌ترتیب ۱/۴± ۱۶/۱ درجه ســـانتی گراد، ۰/۵ ± ۸ میلی‌گرم در لیتر و ۰/۵ ± ۷/۷۳ بود. ترکیبات لاشـــه برای هر تیمار براسـاس روش اسـتاندارد AOAC (1990) به شرح زیر اندازه‌گیری شـد: پروتئین خام به روش کلدال با استفاده از دســـتگـاه هضـــم و تقطیر کلـدال (Gerhardt,type VAP.40 Germany)، چربی خام با استفاده از پترولیوم اتر و دسـتگاه سـوکسـله (Gerhardt, type SE-416, Germany)، رطوبـت بـا اســـتفـاده از دســـتگـاه آون (Binder, USA) در دمای ۱۰۵°C به مدت ۲۴ سـاعت، خاکسـتر با اسـتفاده از کوره الکتریکی (Nabertherm, Germany) در دمای ۵۵۰ °C به مدت ۸ ساعت.

– برای انـدازه‌گیری افزایش وزن بـدن[1] از معـادلـه ۱ استفاده می‌شود (Hu *et al*., 2007).

معادله ۱ $BWI = Wt_2 - Wt_1$

کـه در آن Wt_1 وزن اولیـه مـاهی (گرم) و Wt_2 وزن نهایی ماهی (گرم) می‌باشد.

– برای اندازه‌گیری نرخ رشـد ویژه[2] از معادله ۲ اسـتفاده می‌شود (Hu *et al*., 2007).

معادله ۲ $(\%\ /day) = [(LnWt_2 - LnWt_1) / t_2 - t_1] \times 100$ نرخ رشـد ویژه

کـه در آن $LnWt_1$ لگـاریتم طبیعی وزن اولیـه ماهی، $LnWt_2$ لگـاریتم طبیعی نهـایی مـاهی و t_2-t_1 طول دوره آزمایش می‌باشد.

– برای انـدازه‌گیری ضـــریب تبدیل غذایی[3] از معادله ۳ استفاده می‌شود (Hu *et al*., 2007).

ضریب تبدیل غذایی معادله ۳ = (وزن گرفته شـــده (گرم)[4] / غذای خورده شـــده (گرم)[5])

– برای اندازه‌گیری نســـبت کارایی پروتئین[6] از معادله ۴ استفاده می‌شود (Helland *et al*., 2006).

معـادله ۴ وزن بدســـت آمده (گرم)[7] / پروتئین خورده شده (گرم)[8] = نسبت کارایی پروتئین

جدول ۱: مشخصات اجزای جیره غذایی و ترکیبات تقریبی جیره آزمایشی

[1]- BWI, Body weight increase
[2]- SGR, Specific growth rate
[3]- FCR, Feed conversion ratio
[4]- Dry feed eaten
[5] - Live weight gain
[6]- PER, Protein efficiency ratio
[7] - Live weight gain
[8] - Protein intake in fish

	جیره های آزمایشی					
اجزای جیره (درصد)	۱	۲	۳	۴	۵	۶
پودرماهی	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰
آرد سویا	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰
ژلاتین	۸	۸	۸	۸	۸	۸
نشاسته	۰	۰	۱۵	۱۵	۲۷	۲۷
سلولز	۱۹	۱۹	۱۰	۱۰	۴	۴
روغن	۱۹	۱۹	۱۳	۱۳	۸	۸
مکمل معدنی	۱	۱	۱	۱	۱	۱
مکمل ویتامینه	۱	۱	۱	۱	۱	۱
لیزین و متیونین	۲	۲	۲	۲	۲	۲
ترکیب شیمیایی (درصد)						
پروتئین	۳۸/۲	۳۸/۲	۳۸/۲	۳۸/۲	۳۸/۲	۳۸/۲
چربی	۲۲	۲۲	۱۶	۱۶	۱۱	۱۱
کربوهیدرات	۵/۸	۵/۸	۱۹	۱۹	۳۰	۳۰
انرژی (Kcal)	۳۷۴	۳۷۴	۳۷۴	۳۷۴	۳۷۲/۲	۳۷۲/۲

در جیره های ۱، ۳ و ۵ از روغن ریزپوشانی شده استفاده گردید و در جیره ۲، ۴ و ۶ از روغن بدون پوشش استفاده شده است.

برای مطالعه اکسایش چربی فیله ماهی در طول دوره نگهداری، فیله ماهیان به مدت ۳ماه در فریزر در دمای ۱۸- درجه سانتی گراد نگه‌داری شدند و در این مدت در بازه‌های زمانی ۱ماه مورد آزمایش قرار گرفتند.

TBA به روش رنگ‌سنجی اندازه گیری شد و جذب در مقابل شاهد در طول موج ۵۳۸ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد (Kirk and Sawyer, 1991).

مقدار عدد جذب خوانده شده ×۷/۸ =TBA

(میلی‌گرم مالونالدهید در کیلوگرم نمونه)

برای محاسبه اسیدهای چرب آزاد از روش Egan و همکاران (۱۹۹۷) استفاده گردید و مقدار اسیدهای چرب آزاد بر حسب درصد اولئیک اسید به دست آمد.

تجزیه و تحلیل آماری تمامی داده‌ها به استثنای آنالیز تقریبی لاشه فیل‌ماهیان، با استفاده از نرم‌آفزار آماری SAS در قالب طرح آزمایشی اسپیلت پلات انجام شد. برای بررسی وجود یا عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد بین مقادیر حاصل از هر شاخص در زمان‌های مختلف از آزمون LSD استفاده شد. آنالیز آماری ترکیب تقریبی لاشه فیل‌ماهیان توسط آنالیز واریانس یک‌طرفه با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS در سطح ۵ درصد انجام شد. تمامی داده‌ها به‌صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شدند.

نتایج

مقایسه میانگین شاخص های رشد ماهی قزل آلای رنگین کمان در جدول ۲ آورده شده است. با توجه به این جدول تیمارهایی که در آنها از روغن ریزپوشانی شده استفاده شده است نسبت به تیمار ریزپوشانی نشده در سطح چربی یکسان به طور معنی داری ($P<0/05$) از شاخص های رشد بهتری برخوردار بودند.

جدول ۲: مقایسه میانگین برخی شاخص های رشد ماهیان تغذیه شده با جیره های مختلف آزمایشی

شاخص/تیمار	*۱	۲	*۳	۴	*۵	۶
وزن بدست آمده	۴۹/۵۵±۱/۸۱^{c}	۴۵/۱±۱/۸۳^{b}	۴۷/۵۵±۲/۰۱^{c}	۴۱/۹۷±۱/۴۷^{a}	۴۶/۵۱±۰/۳۷^{b}	۳۹/۹۸±۱/۱۱^{a}
میزان رشد روزانه (گرم)	۰/۸۲±۰/۰۳^{c}	۰/۷۵±۰/۰۳^{b}	۰/۸۳±۰/۰۲^{c}	۰/۶۹±۰/۰۱^{a}	۰/۷۷±۰/۰۲^{b}	۰/۶۶±۰/۰۱^{a}
طول پایانی	۱۸/۱±۰/۱۷^{bc}	۱۷/۹۶±۰/۰۵^{bc}	۱۷/۸۰±۰/۳۶^{abc}	۱۷/۳۶±۰/۳۲^{a}	۱۸/۳±۰/۳^{c}	۱۷/۵±۰/۴۵^{ab}
نرخ رشد ویژه	۲/۲۳±۰/۰۵^{d}	۲/۰۷±۰/۰۸^{bc}	۲/۲۱±۰/۰۳^{d}	۱/۹۸±۰/۰۷^{ab}	۲/۱۲±۰/۰۲^{cd}	۱/۹۲±۰/۱۱^{a}
ضریب تبدیل غذایی	۱/۰۷±۰/۰۴^{a}	۱/۱۴±۰/۰۵^{ab}	۱/۰۹±۰/۰۱^{ab}	۱/۱۳±۰/۰۶^{ab}	۱/۱۷±۰/۰۳^{b}	۱/۱۶±۰/۲۳^{b}
کارایی پروتیین	۲/۳۶±۰/۰۴^{d}	۲/۲۳±۰/۰۷^{bc}	۲/۳۴±۰/۰۳^{d}	۲/۱۵±۰/۰۶^{ab}	۲/۲۷±۰/۱۱^{cd}	۲/۱±۰/۰۶^{a}
ضریب چاقی	۱/۱۸±۰/۰۳^{abc}	۱/۱۴±۰/۰۲^{ab}	۱/۲۴±۰/۰۳^{c}	۱/۲۰±۰/۰۴^{bc}	۱/۱۰±۰/۰۵^{a}	۱/۱۳±۰/۰۸^{ab}
درصدبازماندگی	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰

* تیمارهایی که در آنها از روغن ریزپوشانی شده استفاده شده است.

مقادیر به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده‌اند. حروف مشابه نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار می‌باشد.

جدول ۳ مقایسه میانگین ترکیبات فیله ماهی قزل آلای رنگین کمان را نشان می دهد. داده های این جدول تغییرات معنی داری در مقدار پروتیین و خاکستر بین تیمارهای مختلف نشان نداد ($P>0/05$). میزان رطوبت و چربی بین تیمارهای مختلف با یکدیگر اختلاف معنی داری داشتند ($P<0/05$).

جدول۳: مقایسه میانگین ترکیبات لاشه قزل آلای رنگین کمان تغذیه شده با جیره های آزمایشی

شاخص/تیمار	*۱	۲	*۳	۴	*۵	۶
رطوبت	۷۱/۸۳±۰/۴۴^{a}	۷۲/۳±۱/۵۲^{a}	۷۲/۶۶±۲/۵۱^{a}	۷۴/۳۵±۱/۱۵^{a}	۷۷±۱^{b}	۷۹/۲±۱/۱^{b}
پروتیین	۷۵/۲۴±۰/۵۷	۷۶±۱/۲۵	۷۵/۳±۱/۵۲	۷۵/۶۵±۰/۳۷	۷۴/۶۱±۳/۲۱	۷۵/۳۸±۰/۵۵
چربی	۲۰/۰۶±۰/۸۱^{b}	۱۹/۲۳±۰/۶۸^{b}	۱۷/۸۱±/۷۵^{a}	۱۷/۶۰±۰/۲۶^{a}	۱۷/۳۵±۰/۳^{a}	۱۶/۸۶±۰/۳۲^{a}
خاکستر	۴/۸۸±۰/۱۲	۴/۹۱±۰/۸	۴/۷۳±۰/۷۵	۴/۸۶±۰/۴	۵,۰۳±۰/۹	۵,۱±۰/۴

* تیمارهایی که در آنها از روغن ریزپوشانی شده استفاده شده است.

مقادیر به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده‌اند. حروف مشابه نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار می‌باشد.

اطلاعات مربوط به TBA در جدول ۴ آورده شده است. نتایج نشان داد که مقادیر TBA نمونه‌ها در طول مدت زمان نگه‌داری به‌طور معنی‌داری ($P<0/05$) افزایش یافت. در بین تیمارهای ریزپوشانی شده و بدون ریزپوشانی مقدار TBA فیله ماهیان اختلاف معنی داری را نشان نداد.

جدول ۴: تغییرات میانگین مقادیر TBA (بر اساس میلی گرم مالون آلدهید در یک کیلوگرم گوشت) عضله ماهیان تغذیه شده با جیره های مختلف غذایی طی نگه‌داری در فریزر(اعداد میانگین ۳ تکرار می‌باشند ± انحراف معیار).

تیمار	زمان نگه‌داری (ماه)			
	۰	۱	۲	۳
*۱	۰/۳۸±۰/۰۳^{Aa}	۰/۶۳±۰/۰۲^{Ab}	۱/۱۳±۰/۱^{Ac}	۱/۸۸±۰/۰۷^{Ad}
۲	۰/۴±۰/۰۳^{Aa}	۰/۶۳±۰/۰۷^{Ab}	۱/۱۵±۰/۰۵^{Ac}	۱/۹۶±۰/۰۶^{ABd}
*۳	۰/۴۷±۰۰/۰۳^{Ba}	۰/۶۶±۰/۰۳ ^{ABa}	۱/۲۹±۰/۰۳^{Bc}	۲/۰۱±۰/۰۳^{BCd}
۴	۰/۴۶±۰/۰۲^{Ba}	۰/۶۶±۰/۰۸^{ABb}	۱/۳۰±۰/۰۱^{Bc}	۲/۰۴±۰/۰۸^{Cd}
*۵	۰/۵۰±۰/۰۱^{Ba}	۰/۷۱±۰/۰۳^{Bb}	۱/۳۸±۰/۰۳^{Cc}	۱/۹۹±۰/۰۳^{Cd}
۶	۰/۵۵±۰/۰۲^{Ba}	۰/۷۲±۰/۰۶^{Bb}	۱/۳۶±۰/۱۱^{Cc}	۲/۲۲±۰/۰۹^{Dd}

* تیمارهایی که در آنها از روغن ریزپوشانی شده استفاده شده است.

حروف بزرگ غیرمشترک در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در بین تیمارهای مختلف در هر زمان است و حروف کوچک غیرمشترک در هرردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی دار در هر تیمار در زمان‌های مختلف می‌باشد.

جدول ۵ میانگین مقادیر FFA را برای تیمارهای مختلف در طول مدت زمان نگه‌داری در فریزر نشان می‌دهد. میزان FFA در طول زمان نگه‌داری به طور معنی‌داری (P<۰/۰۵) افزایش یافت. آنالیزهای آماری اختلاف معنی داری را بین تیمارهای مختلف نشان نداد.

جدول ۵: تغییرات میانگین مقادیر FFAعضله ماهیان تغذیه شده با جیره های مختلف غذایی طی ۶ ماه نگه‌داری در فریزر (اعداد میانگین ۳ تکرار می‌باشند ± انحراف معیار).

تیمار	زمان نگه‌داری (ماه)			
	۰	۱	۲	۳
*۱	۰/۲۱±۰/۰۱^{Aa}	۰/۲۲±۰/۰۳^{Aa}	۰/۹۵±۰/۰۵^{Ab}	۱/۸۱±۰/۰۷^{Ac}
۲	۰/۲۱±۰/۰۳^{Aa}	۰/۲۳±۰/۰۱^{Aa}	۰/۹۶±۰/۰۸^{Ab}	۱/۸۶±۰/۱۳^{Ac}
*۳	۰/۲۲±۰۰/۰۳^{Aa}	۰/۲۳±۰/۰۲ ^{Aa}	۱/۰۲±۰/۰۲^{ABb}	۲/۱±۰/۱^{BCc}
۴	۰/۲۴±۰/۰۴^{Aa}	۰/۲۳±۰/۰۴^{Aa}	۰/۹۹±۰/۰۱^{ABb}	۲/۱۴±۰/۳^{Cc}
*۵	۰/۲۳±۰/۰۵^{Aa}	۰/۲۸±۰/۰۱^{Aa}	۱/۰۷±۰/۰۴^{ABCb}	۲/۲۴±۰/۱۲^{Cc}
۶	۰/۲۶±۰/۰۱^{Aa}	۰/۲۶±۰/۰۳^{Aa}	۱/۱۵±۰/۰۸^{Cb}	۲/۳۱±۰/۱۹^{Dc}

* تیمارهایی که در آنها از روغن ریزپوشانی شده استفاده شده است.

حروف بزرگ غیرمشترک در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در بین تیمارهای مختلف در هر زمان است و حروف کوچک غیرمشترک در هرردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی دار در هر تیمار در زمان‌های مختلف می‌باشد

بحث

مطالعات زیادی روی میزان روغن استفاده شده در جیره های مختلف آبزیان انجام شده است. اما مطالعه ایی که در آن از روغن ریزپوشانی شده در جیره های آبزیان استفاده شده باشد بسیار محدود می باشد. با توجه به تکنیک های جدیدی که روزانه به دنیای علم معرفی می شود، لازم است تا این تکنیک ها در بخش های مختلف علم شیلات مورد مطالعه قرار بگیرد تا در صورت گرفتن نتیجه مطلوب از آن در بخش های مختلف استفاده شود. یکی از این تکنیک ها که هنوز

استفاده از آن در علم شیلات نوپا است ریزپوشانی است. از این رو در این مطالعه از این تکنیک در بخش پرورش ماهی قزل آلای رنگین کمان استفاده شده است. نتایجی که از این مطالعه روی ترکیبات لاشه ماهی قزل آلای رنگین کمان بدست آمد نشان داد که روغن ریزپوشانی شده تاثیر معنی داری در میزان ترکیبات لاشه نداشته است. میزان پروتیین و خاکستر در تیمارهای مختلف با هم اختلاف معنی داری را نشان ندادند. اما میزان رطوبت و چربی بین تیمارهای مختلف با هم اختلاف معنی داری را نشان دادند که این اختلاف معنی دار بین تیمارهای ریزپوشانی شده و ریزپوشانی نشده دیده نشد. البته میزان چربی بین تیماری که ریزپوشانی شده است در مقایسه با تیماری که ریزپوشانی نشده است در سطح چربی یکسان، از میزان بالاتری برخوردار بود که این نشان می دهد که ریزپوشانی تا حدودی باعث شده است تجمع چربی توسط ماهی افزایش یابد اما این افزایش معنی دار نبود. روند تغییرات رطوبت بین تیمارهای مختلف متاثر از میزان چربی لاشه است به این صورت که وقتی چربی لاشه افزایش یابد برخلاف آن میزان رطوبت لاشه کاهش می یابد. این نتایج با نتایج Hu و همکاران (2007) روی ماهی شانک زردباله[1] و Gao و همکاران (2009) روی ماهی آمور[2] و همچنین Li و همکاران (2015) روی ماهی آزاد اقیانوس اطلس مطابقت دارد. افزایش رطوبت لاشه به نظر می‌رسد انعکاسی از کاهش چربی لاشه باشد. این نتیجه با نتیجه آزمایشGonzalez و همکاران (2016) بر روی ماهی شوریده هم خوانی دارد.

نتایج شاخص های رشد بخوبی تاثیر ریزپوشانی روغن را در تیمارهای مختلف آزمایشی نشان می دهد. بالاترین میزان وزن بدست آمده، نرخ رشد ویژه و کارایی پروتیین و همچنین کمترین میزان ضریب تبدیل غذایی در تیمارهایی مشاهده شد که از روغن ریزپوشانی شده در جیره غذایی آن ها استفاده شده است. گزارش شده که آزاد شدن سریع روغن جیره باعث سندرم انبساط معده در ماهی قزل آلای رنگین کمان شده است که این سندرم باعث طویل‌تر شدن طول معده و نازک شدن دیواره آن می‌شود گنجایش معده ممکن است تا ۶ برابر حالت معمول افزایش یابد و جذب چربی غذا را دچار مشکل کند (Staurnes *et al*., 1990). همچنین Staurnes و همکاران، (1990) اعلام کردند که آزاد شدن سریع روغن پلت‌های دارای استحکام پایین در معده قزل‌آلا احتمالا سبب بلعیدن بیشتر آب در ماهی و در نتیجه اختلال در تنظیم اسمزی این ماهی می‌شود. همچنین ریزپوشانی روغن می تواند باعث جلوگیری از اکسیداسیون آن شود (Dey *et al*, 2015). تولیدات حاصل از اکسیداسیون روغن ها ممکن است با سایر مواد مغذی مانند اسیدهای آمینه و ویتامین ها واکنش داده و ارزش غذایی آنها را کاهش دهد که این عمل می تواند روی رشد جاندار تاثیر بگذارد (یوسفی، ۱۳۷۹). از این رو به نظر می رسد در جیره هایی که از روغن ریزپوشانی شده استفاده شده است استفاده از سایر ترکیبات مغذی نیز عملکرد بهتری داشته است. با توجه به نتایج بدست آمده از این تحقیق مشخص شد که ریزپوشانی روغن می تواند باعث افزایش رشد ماهی شود که این امر می تواند به دلیل استفاده بهتر از منابع موجود در جیره غذایی و همچنین

[1]- Yellow fin Sea bream

[2]- Grass carp

کاهش هدررفت روغن و جلوگیری از اکسیداسیون آن باشد. نتایج بدست آمده از اکسایش لاشه ماهی قزل آلای رنگین کمان اختلاف معنی داری را بین تیمارهای مختلف نشان نداد. بنظر می رسد روغن ریزپوشانی شده در میزان فساد این ماهی طی دوره نگهداری در فریزر تاثیر معنی داری نداشته است. میزان TBA و FFA در بین تیمارهای ریزپوشانی شده با سایر تیمارها اختلاف معنی داری نداشت. در مطالعه‌ایی که روی ریزپوشانی روغن بذر کتان و مقایسه آن با روغن ماهی ریزپوشانی نشده انجام شده است، نتایج بیانگر آن است که ریزپوشانی روغن باعث افزایش پایداری در برابر اکسیداسیون در فیله ماهی قزل آلای رنگین کمان شده است (Collins, *et al* 2011). در مطالعه‌ی دیگر تاثیر عصاره ریزپوشانی شده و استفاده آن در جیره آزمایشی ماهی تیلاپیا مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که شاخص TBA در فیله ماهیان تغذیه شده با عصاره ریزپوشانی شده در طول نگه‌داری در یخچال مقدار کمتری را نشان داد (Kulthanaparamee, *et al*, 2011). نتایج این مطالعات با نتایج بدست آمده از مطالعه ما مطابقت ندارد. بنظر می رسد برای اینکه به یک نتیجه گیری دقیق تر و کامل تری در این زمینه برسیم لازم است مطالعات زیادی در این زمینه روی ماهیان مختلف انجام شود.

با توجه به نتایج این مطالعه استفاده از روغن ریزپوشانی شده در جیره غذایی ماهی قزل آلای رنگین کمان تا حدودی باعث یهبود رشد این ماه شده است، اما در میزان فساد پذیری لاشه این ماهیان تاثیر چندانی نداشته است. با توجه به اینکه مطالعات کمی در این زمینه انجام شده است بنظر می رسد با انجام مطالعات بیشتر روی ماهیان مختلف می توان با مقایسه نتایج مطالعات انجام شده به نتیجه خوبی در زمینه استفاده از روغن ریزپوشانی شده در جیره غذایی آبزیان دست یافت.

سپاسگزاری

در اینجا لازم است از آقای دکتر حاجی بگلو که این تحقیق در استخر پرورش ماهی ایشان انجام شد تشکر و قدر دانی به عمل آید. همچنین از همه دوستانی که مرا در انجام این تحقیق یاری رساندند سپاسگزاری می گردد.

منابع

۱. یوسفی، م. س.، ۱۳۷۹. تغذیه آبزیان پرورشی. انتشارات اصلانی. تهران. ۳۲۰ ص.

2. AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 1995. Official Methods of Analysis, 16th edition. AOAC, Arlington, Virginia, 1141 pp.
3. Aubourg, S.P., and Medina, I., 1999. Influence of storage time and temperature on lipid deterioration during cod (*Gadus morhua*) and haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) frozen storage. Journal of the Science of Food and Agriculture. 94, 1973-1948.
4. Bæverfjord, G., Refstie, S., Krogedal, P. andAsg_ard, T., 2006. Low feed pellet water stability and fluctuating water salinity cause separation and accumulation of dietary oil in the stomach of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture, 261, 1335–1345.
5. Collins, S.A., Shand, P.J. and Drew, M.D., 2011. Stabilization of linseed oil with vitamin E, and lipid encapsulation affects

6. Christiaan, M., Beindorff, S. and Jan Zuidam, N., 2010. Encapsulation technologies for active food ingredients 400 PP.
7. Dey, A., Ghosh, K., Hazra., 2015. An Overview on Bioencapsulation of Live Food Organisms with Probiotics for Better Growth and Survival of Freshwater Fish Juveniles, 5(2): 74-
8. DU, L and Niu, C.J., 2003. Effects of dietary substitution of soya bean meal for fish meal on consumption, growth, and metabolism of juvenile giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. Aquaculture Nutrition, 9:139–43.
9. Egan, H. and Krik, R.S., and Sawyer, R., 1997. Pearsons chemical analysis of foods (9th ed.). pp, 609-634.
10. FAO., 2015. Aquaculture development. 5. Use of wild fish as feed in aquaculture. FAO Technical Guidelines for Responsible Fisheries. No.5, Suppl. 5. FAO, Rome, p. 79.
11. Gao, W., Liu, Y. J., Tian, L.-X., Mai, K.-S., Liang, G.-Y., Yang, H.-J., Huai, M,-Y. and Luo, W.-J., 2009. Effect of dietary carbohydrate-to-lipid ratios on growth performance, body composition, nutrient utilization and hepatic enzymes activities of herbivorous grass carp (*Ctenopharyngdon idella)*. Aquaculture Nutrition, 16: 327-333.
12. Goda, A.M. A-S. 2008. Effect of dietary protein and lipid levels and protein-energy ratio on growth indices, feed utilization and body composition of freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* (de Man 1879) post larvae. Aquaculture Research, 39:891–901.
13. Gonzalez, M. Maladona, C., Perez, M., 2016. Effect of dietary lipid level and replacement of fish oil by soybean oil in compound feeds for the shortfin corvina (*Cynoscion parvipinnis*). Aquaculture, 454, 217–228.
14. Helland, S. J., Grisdale, B. and Nerland, S. 1996. A simple method for the Measurement of daily feed intake of groups of fish in tanks. Aquaculture, 139: 157-163.
15. Hu, Y. H., Liu, Y. J., Tian, L. X., Yang, G. Y. and Liang W. Gao., 2007. Optimal dietary carbohydrate to lipid ratio for juvenile yellowfin seabream (*Sparus latus)*. Aquaculture Nutrition, 13: 291-297.
16. Kirk, S., Sawyer, R., 1991. Pearson's composition and analysis of foods (9th ed.). London: Longman scientific and technical
17. Kulthanaparamee, P., Jintasataporn, O. and Tabthipwon, P., 2011. Effect of encapsulated oregano extracts on growth performance of red tilapia (*Oreochromis niloticus*) and TBA values changing during chilling. Aquaculture production and management, 49: 335-340.
18. Li, j. ma, l. cheng, z., bai, D. Qiao, X. and Sun, j., 2015. The Effects of Growth Performance and Organosomatic Indices of Atlantic salmon Juvenile by Using Different Carbohydrate-to-Lipid Ratios in Feeds. World Journal of Engineering and Technology, 3, 24-29.
19. Staurnes, M., Andorsdottir, G., Sundby, A., 1990. Distended, waterfilled stomach in sea farmed rainbow trout. Aquaculture, 90, 333–343.
20. Young, S. L., Sarda X. and Rosenberg M., 1993. Microencapsulating properties of whey proteins. Journal of Dairy Science, 76: 2868-2877.
21. Zarkarian, J. A., 1979. Volatile loss in the nozzle zone during spray drying of fillet lipid composition and sensory characteristics when fed to rainbow trout. Animal Feed Science and Technology, 170: 53– 62.

emulsions. Ph.D. Thesis, University of California, Berkeley. pp. 127.

اثرات پودر پوست انار بر ترکیب لاشه، شاخص‌های هماتولوژیک و بیوشیمیایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان *(Oncorhynchus mykiss)*

امین آوازه [۱*]، حسین عمادی [۲]، عمار صالحی فارسانی [۳]، سید پژمان حسینی شکرابی [۴]، حسین نگارستان [۲]، میثم باورصاد [۱]

۱- گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، تهران، ایران.

۲- گروه شیلات، دانشکده علوم و فنون دریایی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۳- شرکت آبزی اکسیر کوثر، سازمان اقتصادی کوثر، تهران، ایران

۴- گروه شیلات، واحد علوم تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۱/۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۳/۱۵

چکیده

هدف از اجرای این پروژه، بررسی اثرات پودر پوست انار بر ترکیب لاشه، شاخص های هماتولوژیک و بیوشیمیایی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) بود. جیره‌های آزمایشی با سه تکرار شامل ۱، ۲، ۳ و ۴ درصد پودر پوست انار و جیره شاهد فاقد پودر پوست انار بود. در قالب طرح کاملا تصادفی، تعداد ۴۵۰ قطعه ماهی قزل‌آلای رنگین کمان با میانگین وزنی ۵±۴۵ گرم در ۱۵ حوضچه سیمانی به مدت ۶۰ روز پرورش یافتند. اضافه نمودن پودر پوست انار به غذای ماهی‌ها، اثر معنی داری بر ترکیب لاشه، پارامترهای هماتولوژیک و بیوشیمیایی آن‌ها داشت ($P<0/05$). هم‌چنین نتایج نشان دادند که درخاکستر لاشه با افزودن پودر پوست انار، اختلاف معنی داری مشاهده نشد ($P>0/05$)، ولی سایر پارامترها نظیر رطوبت، پروتئن و چربی دارای اختلاف معنی دار بودند ($P<0/05$). همچنین بیشترین تعداد گلبول قرمز در تیمار شاهد مشاهده شد ولی تفاوت معنی‌داری در مقایسه با سایر تیمارها نداشت ($P>0/05$). از نظر تعداد گلبول سفید، بیشترین تعداد در تیمار ۴ درصد پودر پوست انار و کمترین در تیمار شاهد مشاهده شد. همچنین اضافه نمودن پودر پوست انار تاثیر معنی داری برمیزان شاخص‌های بیوشیمیایی (گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسرید، پروتئین و آلبومین) داشت ($P<0/05$). نتایج این تحقیق نشان داد که افزودن پودر پوست انار به مقدار ۴ درصد در جیره غذایی تأثیر بسزایی در فاکتورهای خونی مرتبط با سیستم ایمنی نظیر گلبول سفید ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان خواهد داشت.

کلمات کلیدی: پودر پوست انار، شاخص‌های خونی، شاخص های بیوشیمیایی، قزل‌آلای رنگین کمان

* عهده‌دار مکاتبات (✉). Amin.Avazeh@ut.ac.ir

مقدمه

خون‌شناسی یکی از شاخه‌های مهم پزشکی و دامپزشکی است که نقش آن در تشخیص اختلالات و بیماری‌ها دارای اهمیت فراوانی می‌باشد (شاهسونی و همکاران، ۱۳۷۹). خون بعنوان یک بافت سیال و سهل الوصول، یکی از مهمترین مایعات بیولوژیکی بدن بوده که تحت تاثیر حالات مختلف فیزیولوژیک و پاتولوژیک ترکیبات آن دستخوش نوسان و تغییر می‌گردد (جمال‌زاده و همکاران، ۱۳۸۷).

خون، بافتی هم‌بند سیال، شامل پلاسما و عناصر سلولی از قبیل گلبول‌های سفید، قرمز و ترمبوسیت‌هاست (شاهسونی و همکاران، ۱۳۷۹) و حامل موادی از قبیل یون ها ، هورمون ها، ویتامین‌ها و پروتئین‌های پلاسما می‌باشد. اهمیت شناخت فاکتورهای خونی نه تنها در تشخیص گونه مهم است، بلکه از نظر اقتصادی نیز می‌تواند در شناسایی بیماری‌ها و تعیین شرایط بهداشتی و سلامت ماهی مفید باشد (جمیلی، ۱۳۷۸). بافت خون شاخص مهمی در بررسی وضعیت فیزیولوژیک اندام‌های بدن در تشخیص بیماری‌ها و کنترل زیستی موجودات زنده از جمله آبزیان است (سعیدی و همکاران، ۱۳۸۲). عملکردهای متفاوت خون، یکی از بافت‌های واکنشی متمایز شده، آن را یکی از شاخص‌های با ارزش منحصر به فرد ساخته است. محققان بسیاری ثابت کرده‌اند خون و سیستم قلبی- عروقی ماهیان در معرض بیماری و تغییرات آسیب شناختی حاصل از تأثیر سموم مختلف قرار می‌گیرد (Krylov, 1974). پارامترهای هماتولوژیک و بیوشیمیایی، شاخص‌های ارزشمندی برای پایش سلامتی ماهی و پاسخ‌های فیزیولوژیک، وضعیت تغذیه و شرایط محیطی موثر بر سلامت ماهی است(Cnaani و همکاران، ۲۰۰۴؛ Hoseininfar و همکاران، ۲۰۱۱).

از این رو، باید مطالعات بیشتری در ارتباط با پارامترهای خونی، چگونگی آنها در شرایط مختلف فیزیولوژیک و پاتوبیولوژیک صورت گیرد تا به موازات گسترش آنها بتوان پاسخگوی نیازهای علمی در پیشگیری، تشخیص و درمان بیماری بود. Ji و همکاران (۲۰۰۷)، در طی ۸ هفته پرورش، اثر مخلوط گیاهان (*Massa medicata, fermentata, Crataegi fructus, Artemisia capillaries, Cnidium officinale*) را بر میزان رشد، اسید چرب، فاکتورهای خونی و مقاومت به استرس در ماهی فلاندر ژاپنی مورد مطالعه قرار دادند. نتایج نشان داد که استفاده از این مخلوط گیاهی سبب بهبود فاکتورهای رشد، اسید چرب، مقاومت نسبت به استرس و فاکتورهای خونی (هموگلوبین، هماتوکریت و کلسترول) می‌شود. تاکنون پژوهش‌های زیادی در مورد استفاده از پودر پوست انار در جیره ماهیان پرورشی انجام نگردیده است، این بررسی در نظر دارد که استفاده از پودر پوست انار را به عنوان یک مکمل غذایی برتغییرات ترکیب لاشه، شاخص‌های هماتولوژیک و بیوشیمیایی خون در جیره ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بررسی نماید.

انار با نام علمی *Punica granatum* از خانواده Punicaceae است. انار درخت یا درختچه ای است که در اقلیم های نیمه گرمسیری و مدیترانه ای پراکنش دارد و به عنوان یک میوه، ارزش غذایی زیادی دارد. پوست انار حاوی ترکیبات متعددی ازجمله پلی فنول ها

است که این ترکیبات دارای خواص آنتی اکسیدانی هستند و همچنین حاوی تانن وآلکالوییدهای فراوان است. پوست انار دارای اسید های پلی فنولیک فلانوییدها و آنتی سیانین می باشد (Zhang *et al*., 2007 ; Parmar and Kar, 2007). در میان آنتی سیانین های موجود در پوست انار، دلفینیدین به عنوان قوی‌ترین بازدارنده‌ی اکسیداسیون شناخته می شود و دارای ویژگی آنتی آنژیوژنیک مهم است که می تواند برای پیشگیری ودرمان بیماری ها وسرطان مفید باشد.کاروتنوئیدها علاوه بر افزایش رنگ ماهی، می توانند موجب بهبود عملکرد سیستم ایمنی و همچنین افزایش رشد شوند (Kop and Durmaz, 2008). امروزه به خوبی مشخص شده که اشکال آزاد اکسیژن و سایر مشتقات آن موجب آسیب به بافت‌ها می‌شود، بنابراین علاقه زیادی برای استفاده از مکمل‌های غذایی آنتی اکسیدان به وجود آمده است. کاروتنوئیدها به عنوان یک آنتی اکسیدان عمل می کنند که موجب می شوند سلول‌ها و بافت‌ها از آسیب ناشی از رادیکال‌های آزاد حفظ شوند (Kuang *et al*., 2009).

کاروتنوئیدها رنگدانه‌های زرد، نارنجی و قرمز هستند که در سطح وسیعی وجود دارند. این ترکیبات به عنوان فرونشاننده اکسیژن عمل می‌کنند و در نقش آنتی اکسیدان با جلوگیری از تشکیل هیدروپراکسید مصرف می‌شوند و خاصیت آنتی اکسیدانی این ترکیبات بستگی به میزان فشار اکسیژن داشته و اگر فشار اکسیژن کمتر از ۱۵۰torr باشد، بتاکاروتن خاصیت آنتی اکسیدانی داشته و اگر بیش‌تر از ۱۵۰torr باشد، بتاکاروتن در نقش پراکسیدان ظاهر می‌گردد (Mahdavi *et al*., 1995). هدف اصلی این پژوهش بررسی اثر استفاده از پودر پوست انار بر شاخص‌های هماتولوژیک و بیوشیمیایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان می باشد.

مواد و روش ها

تحقیق حاضر در مرکز تحقیقات خجیر واقع در تهران و با خرید ۴۵۰ قطعه ماهی قزل‌آلای رنگین کمان با میانگین وزن ۵ ± ۴۵ گرم آغاز شد. ماهیان در پنج تیمار و هر تیمار در سه تکرار در پانزده حوضچه سیمانی با ابعاد ۷۰×۱۰۰×۲۵۰ سانتی‌متر (۳۰ ماهی در هر حوضچه) به صورت کاملا تصادفی تقسیم شدند. ماهی‌ها به مدت یک هفته با غذای معمولی قزل‌آلا غذا دهی و سپس با ۵ جیره آزمایشی در یک دوره ۶۰ روزه تغذیه شدند، ماهی‌ها ۳ بار در روز (ساعت‌های۹، ۱۲و ۱۷) و ۷ روز هفته به طور دستی غذادهی شدند. میزان پودر پوست انار مورد نیاز برای هرکیلوگرم غذا در تیمارهای مشخص شده ۱، ۲ ، ۳ و ۴ درصد و شاهد بدون پوست انار بود، لذا در هر کیلوگرم مواد اولیه غذا به ترتیب ۱۰، ۲۰، ۳۰و ۴۰ گرم پودر پوست انار با انجام مطالعات قبلی جایگزین آرد سویا گردید باشد (Zhang *et al*., 2007; Parmar and Kar, 2007). پودر پوست انار مورد نیاز تحقیق، پس از تهیه انار منطقه‌ی شیراز، خشک و آسیاب شد. با استفاده از دستگاه های موجود در محل انجام پروژه تیمارهای غذایی مختلف ساخته شدند. در این مرحله به منظور نمونه برداری از خون ماهی ها در پایان کار به طور تصادفی ۵ عدد ماهی از هر تیمار انتخاب گردید. ابتدا ماهیان توسط پودر گل میخک (۱۲۵ میلی گرم در لیتر)، بیهوش شدند و از طریق قطع ساقه‌ی دمی خون‌گیری صورت گرفت. نمونه های خون در لوله های آزمایش هپارین شده و غیره هپارین شده و با قرار دادن ماهی ها در ورقه های

آلومینیومی و سپس در کیسه های پلی اتیلنی علامت‌گذاری شدند و پس از قرار گرفتن در یخ خشک، به آزمایشگاه دانشکده شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری منتقل گردیدند.

تجزیه شیمیایی لاشه ماهیان

در انتهای آزمایش، مواد اصلی موجود در جیره‌های ساخته شده شامل پروتئین خام، چربی خام، رطوبت و خاکستر از طریق روش استاندارد AOAC (۱۹۹۰) اندازه گیری و تعیین شدند.

روشهای اندازه گیری پارامترهای هماتولوژیک و بیوشیمیایی

برای شمارش گلبول قرمز و سفید، خون هپارینه با استفاده از پی پت ملانژور در محلول (Natt and Herrick, 1952) رقیق شده و با استفاده از لام نئوبار و میکروسکوپ نوری شمارش شدند (Stoskopf, 1993).

گلبول سفید

خون هپارینه با استفاده از پی پت ملانژور سفید به نسبت ۱/۵۰ در محلول (Natt and Herrick, 1952) ترقیق شدند و با استفاده از لام نئوبار و میکروسکوپ نوری شمارش شدند (Baker *et al*., 2005).

شاخص‌های گلبول قرمز

میانگین حجم گلبول قرمز (MCV)، میانگین هموگلوبین (MCH) و میانگین غلظت هموگلوبین (MCHC) با استفاده از فرمول زیر محاسبه شدند (Lee *et al* ., 1998; Campbell and Ellis, 2007).

MCV= (مقدار هماتوکریت/ گلبول قرمز در میلیون) ×۱۰

MCH= (مقدار هموگلوبین/ گلبول قرمز در میلیون) ×۱۰

MCHC= (مقدار هموگلوبین/ مقدار هماتوکریت) ×۱۰۰

برای اندازه گیری هموگلوبین از روش سیانومت هموگلوبین (Blaxhall and Daisley, 1973) و کیت تشخیصی زیست شیمی استفاده شد و همچنین برای اندازه گیری هماتوکریت از روش میکروهماتوکریت استفاده شد (Baker *et al*., 2005).

شاخص های سرمی

مقدار پروتئین کل به روش بیورت (Kumar *et al*., 2005)، گلوکز به روش روش آنزیمی- کالریمتری (GOD-PAP)، تری گلیسرید (Borges *et al*., 2004) و کلسترول به روش آنزیمی- کالریمتری و آلبومین با روش برومو‌کرزول (Kumar *et al*., 2005) اندازه گیری شدند.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار *SPSS* 21 صورت گرفت و برای ترسیم نمودارها از نرم افزار Excel و برای مقایسه میانگین‌ها از آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و آزمون چند دامنه‌ای دانکن و با خطای ۵ درصد استفاده گردید.

نتایج

بیشترین میزان رطوبت در تیمار ۴ درصد و کمترین در تیمار ۱درصد پودر پوست انار مشاهده شد. نتایج نشان دادند که با افزایش درصد پوست انار در جیره، رطوبت کل بدن افزایش می‌یابد ($p>۰/۰۵$). میزان پروتئین کل بدن در تیمار شاهد بیش‌ترین بود. کم‌ترین پروتئین کل بدن در تیمار ۱ درصد پودر پوست انار مشاهده شد. بیشترین میزان چربی کل بدن در تیمار ۱ درصد پودر پوست انار مشاهده شد که با تیمار ۲، ۳ و ۴ درصد پوست انار و تیمار شاهد تفاوت معنی‌داری را نشان داد ($P<۰/۰۵$). کمترین میزان چربی هم در تیمار

شـــاهد مشـــاهده گردید.همچنین تفاوت معنی داری با افزایش سطوح پوست انار جیره در ترکیب خاکستر کل بدن ماهیان مشاهده نشد (P>۰/۰۵) (جدول ۱).

جدول ۱: ترکیب شیمیایی لاشه در انتهای آزمایش

فاکتور	شاهد	۱ درصد	۲ درصد	۳ درصد	۴ درصد
رطوبت	72/86±۰/۶۲^{c}	72/03±۰/۶۱^{d}	۷۳/۶۴±۰/۶۹^{b}	۷۳/۶۴±۰/۷۰^{b}	۷۴/۲۵±۰/۶۲^{a}
پروتئین خام	۱۹/۰۷±۰/۴۵^{a}	۱۷/۰۹±۰/۵۷^{e}	۱۷/۶۷±۰/۲۵^{b}	۱۷/۴۸±۰/۰۳^{c}	۱۷/۳۳±۰/۲۵^{d}
چربی	۶/۴۲±۰/۲۱^{e}	۸/۹۸±۰/۰۷^{a}	۶/۹۴±۰/۲۶^{c}	۷/۳۰±۰/۱۲^{b}	۶/۵۸±۰/۱۲^{d}
خاکستر	۱/۶۵±۰/۰۴^{cd}	۱/۹۰±۰/۰۴^{a}	۱/۷۵±۰/۰۴^{bc}	۱/۵۸±۰/۰۴^{d}	۱/۸۴±۰/۰۴^{ab}

حروف غیرهمسان در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی داری در سطح ۵ درصد و داده ها بصورت میانگین± انحراف معیار می باشد

جدول ۲- پارامترهای هماتولوژیک ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان تغذیه شده با جیره های آزمایشی پودر پوست انار وشاهد

فاکتور	شاهد	۱ درصد	۲ درصد	۳ درصد	۴ درصد
گلبول قرمز	1/20±۰/۱۶^{a}	1/17±۰/۷^{a}	۱/۱۵±۰/۵^{a}	۱/۰۷±۰/۰۳^{a}	۱/۰۷±۰/۲^{a}
هموگلوبین (g/dl)	۸/۰۶±۰/۰۹^{a}	۷/۲۰±۰/۱۳^{b}	۶/۵۴±۰/۱۳^{c}	۶/۰۴±۰/۲۱^{d}	۶/۳۴±۰/۵^{c}
هماتوکریت	۴۷/۶۶±۱/۱۵^{a}	۴۲/۹۸±۱/۰۷^{b}	۳۸/۰۱±۱/۲۶^{c}	۳۲/۰۲±۲/۱۲^{d}	۲۹/۳۳±۲/۱۲^{d}
(MCV)	۴۰۱/۲±۴۶/۵^{a}	۳۵۹/۹۰±۲۸/۴^{ab}	۳۳۱/۷۵±۲۳/۱^{bc}	۲۹۸/۵۸±۱۵/۴^{cd}	۲۷۴/۲±۲۱/۴^{d}
(MCH)	۶۸/۰۱±۹/۹^{a}	۶۱/۵±۴/۳^{ab}	۵۶/۹±۱/۴^{b}	۵۶/۳±۱/۵^{b}	۵۹/۳±۱/۴^{ab}
(MCHC)	۱۶/۹±۰/۵^{b}	۱۷/۱±۰/۳^{b}	۱۷/۰۲±۰/۸^{b}	۱۸/۹±۱/۵^{b}	۲۱/۶±۱/۴^{a}
گلبول سفید	۱۴/۷۰±۰/۳^{d}	۱۹/۲۰±۱/۸^{c}	۲۰/۸۵±۰/۵^{c}	۲۷/۹۰±۱/۵^{b}	۳۱/۲±۲/۱^{a}

حروف غیرهمسان در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی داری در سطح ۵ درصد و داده ها بصورت میانگین± انحراف معیار می باشد.

بیشترین تعداد گلبول قرمز در تیمار شاهد مشاهده شـد ولی تفاوت معنی‌داری در مقایسـه با سـایر تیمارها نداشـت (P>۰/۰۵). با افزایش درصـد پودر پوسـت انار در جیره، میزان گلبول قرمز کاهش یافت اگرچه تفاوت معنی داری مشاهده نشد (P>۰/۰۵).

تجزیه و تحلیل داده‌های آماری هماتولوژیک نشان دهنـده وجود تفـاوت معنی‌دار در تعـداد گلبول سـفید (لکوسـیـت‌هـا) در تیمـارهـای مختلف بود (P<۰/۰۵). همـان طور کـه در جـدول ۲ نشـان می‌دهد، تعداد کل لکوسیت ها از تیمار شاهد تا ۴درصد پوست انار به طور منظم و تدریجی افزایش یافته است (P<۰/۰۵).

از نظر تعداد گلبول سـفید همان طور که در جدول نشـان داده شـده است، بیشترین تعداد در تیمار ۴ درصد پودر پوسـت انار و کمترین در تیمار شـاهد مشاهده شد. بیشـترین میزان هماتوکریت در تیمار شـاهد مشاهده شد کـه از نظر آماری تفاوت معنی‌داری را با سـایر تیمارها داشـت (P<۰/۰۵) و کمترین درصد آن مربوط به تیمار های ۳ و ۴ درصـد پوسـت انار بود (P>۰/۰۵). از نظر میزان هموگلوبین بین تیمـارهـای آزمـایشـی تفـاوت

معنی‌داری را نشان داد (P<۰/۰۵). بیشترین مقدار آن در تیمار شاهد و کم‌ترین آن در تیمار ۳ درصد پودر پوست انار مشاهده شد همچنین تفاوت معنی داری در تیمار ۲ و ۴ درصد پوست انار مشاهده نشد. محدوده مقدار هموگلوبین در خون ماهیان مورد بررسی در این تحقیق گرم در دسی لیتر بود.

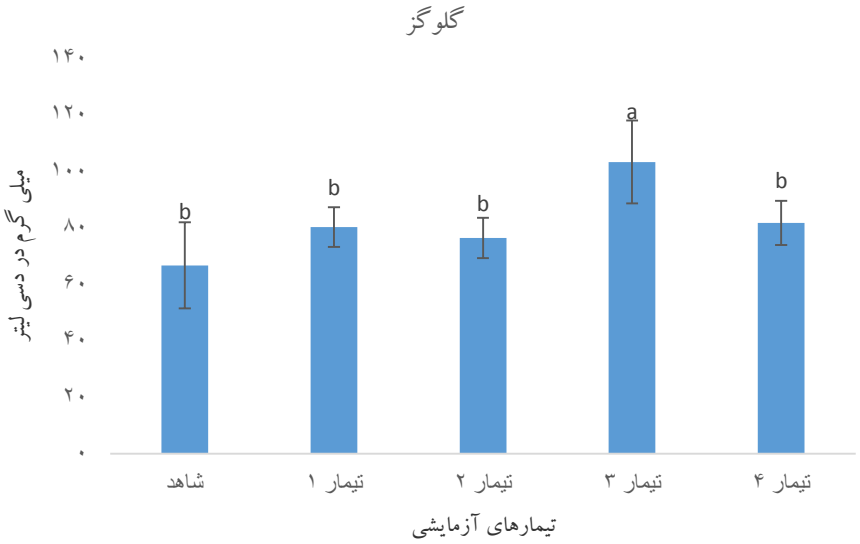
از نظر میانگین حجم هر گلبول قرمز (MCV) بین همه تیمارهای آزمایشی در مقایسه با شاهد تفاوت معنی‌داری مشاهده نگردید (P>۰/۰۵). تیمار شاهد بیشترین و تیمار ۴ درصد پوست انار کمترین مقادیر را نشان داد (P>۰/۰۵). میانگین هموگلوبین هر گلبول قرمز (MCH) بین تیمارهای آزمایشی تفاوت معنی‌داری با گروه شاهد مشاهده نشد (P>۰/۰۵).

میانگین غلظت هموگلوبین در هر گلبول قرمز (MCHC) تفاوت معنی‌داری را در تیمارهای مختلف نداشت (P>۰/۰۵)، اما بالاترین میزان آن در تیمار ۴ درصد پودر پوست انار ملاحظه شد.

شاخص‌های بیوشیمیایی

گلوکز

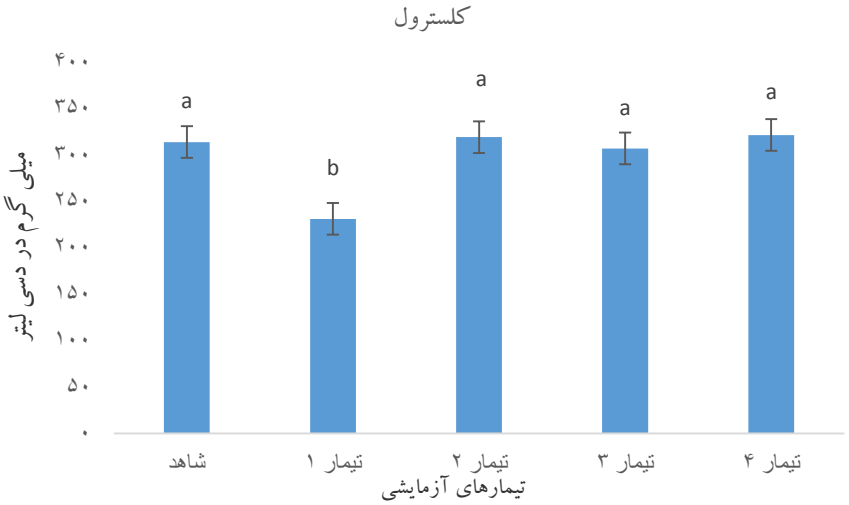
پودر پوست انار اثر معنی‌داری را روی میزان گلوکز سرم خون نشان داد (P<۰/۰۵). به طوری که بیشترین میزان گلوکز در تیمار ۳ درصد مشاهده شد و همچنین در تیمارهای ۱، ۲و۴ درصد پودر پوست انار و تیمار شاهد اختلاف معنی داری نشان داده نشد (P>۰/۰۵) (شکل ۱).



شکل۱: میزان گلوگز سرم (میلی گرم در دسی لیتر) در ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان تغذیه شده با جیره های آزمایشی پودر پوست انار وشاهد. حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد می باشد.

کلسترول

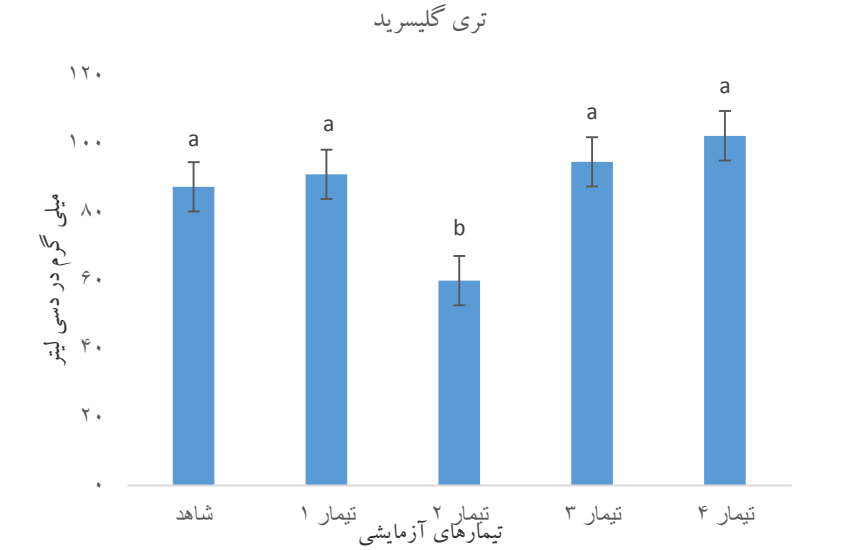
همان طور که درشکل۲ نشان داده شده، بیشترین میزان کلسترول در تیمارهای ۲، ۳ و ۴ درصد پودر پوست انار و تیمار شاهد و کمترین آن در تیمار ۱ درصد پودر پوست انار مشاهده شد. میزان کلسترول پلاسما با کاهش پودر پوست انار کاهش یافت، ولی این تفاوت معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵).



شکل۲ :میزان کلسترول سرم (میلی گرم در دسی لیتر) در ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان تغذیه شده با جیره های آزمایشی پودر پوست انار وشاهد. حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد می باشد

تری گلیسیرید

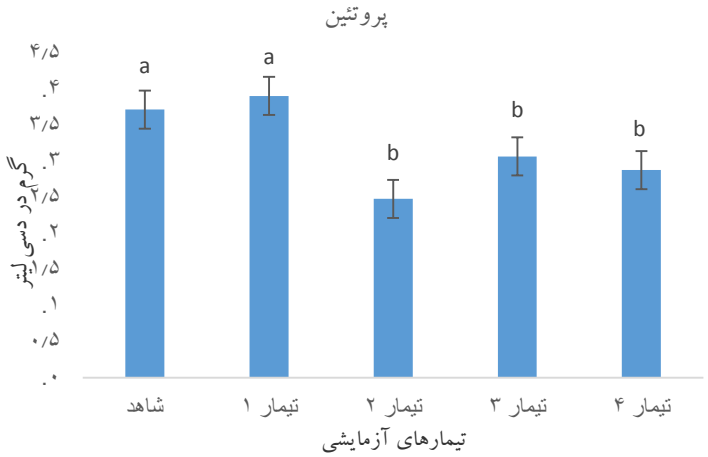
نتایج حاصل از تغییرات تری گلیسیرید سرم خون در شکل ۳ نشان داده شده است که تفاوت معنی‌داری بین تیمارها از نظر تری گلیسیرید سرم خون وجود نداشت (P>۰/۰۵). بیشترین میزان تری گلیسیرید در تیمارهای ۱، ۳ و ۴ درصد پودر پوست انار و تیمار شاهد و کمترین آن در تیمار ۲ درصد پودر پوست انار مشاهده شد.



شکل۳: میزان تری گلیسرید سرم (میلی گرم در دسی لیتر) در ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان تغذیه شده با جیره های آزمایشی پودر پوست انار وشاهد. حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد می باشد

پروتئین کل

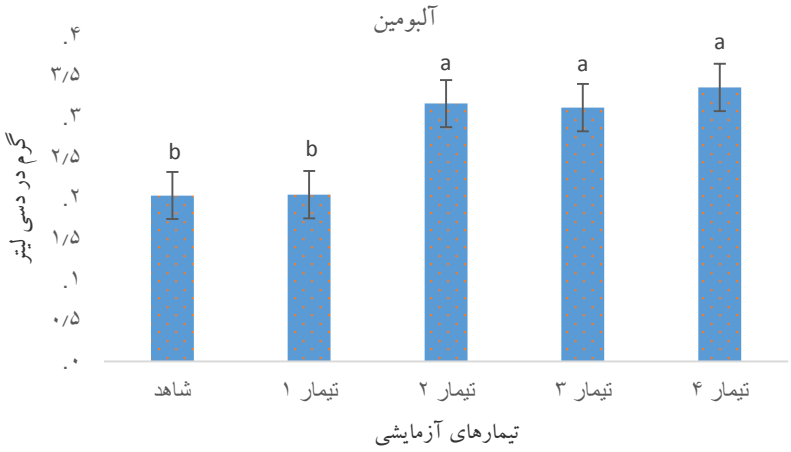
بیشترین میزان پروتئین کل در تیمار ۱ درصد پودر پوست انار و تیمار شاهد مشاهده شد اگرچه تفاوت معنی‌داری درسایر تیمارها وجود نداشت (P>۰/۰۵) (شکل۴).



شکل۴: میزان پروتئین سرم (گرم در دسی لیتر) در ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان تغذیه شده با جیره های آزمایشی پودر پوست انار وشاهد. حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد می باشد

آلبومین

میزان آلبومین در تیمارهای آزمایشی تفاوت معنی‌داری را با تیمار شاهد نشان دادند (P<۰/۰۵) (شکل۵).



شکل۵: میزان آلبومین سرم (گرم در دسی لیتر) در ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان تغذیه شده با جیره های آزمایشی پودر پوست انار وشاهد. حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد می باشد

بحث

در مطالعه حاضر با افزایش درصد پودر پوست انار در جیره، میزان رطوبت بدن به طور معنی‌داری افزایش یافت که در توافق با یافته‌های Gaber (۲۰۰۶)، Azaza و همکاران، (۲۰۰۹)،Adamido و همکاران (۲۰۰۹) در جایگزینی پودر باقلا در به ترتیب در جیره تیلاپیا (*O. niloticus*)، تیلاپیا (*O. niloticus*) و باس دریایی(*D. labrax*) و تقی زاده و همکاران (۱۳۸۹) در جایگزینی پودر سویا در جیره فیل‌ماهی(*H. huso*) می‌باشد، اگرچه Farhangi و Carter (۲۰۰۱) در جایگزنی لوپین در جیره قزل‌آلا (*O. mykiss*) تفاوت معنی‌داری مشاهده نکردند.

همچنین چربی لاشه ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان به طور معنی‌داری کاهش یافت که مطابق با یافته‌های Becker and Siddhuraju (۲۰۰۱)، Gaber (۲۰۰۶)، Azaza و همکاران (۲۰۰۹) و Adamido و همکاران (۲۰۰۹) و تقی‌زاده و همکاران(۱۳۸۹) می‌باشد که گزارش کردند با افزایش سطح پروتئین‌های گیاهی (پودر باقلا و سویا) در جیره، محتوای لیپید بدن و انرژی بدن به ترتیب در گونه‌های کپور معمولی(*C. carpio*) ، تیلاپیا (*O. niloticus*) ، تیلاپیا (*O. niloticus*) و باس دریایی(*D. labrax*) و فیل‌ماهی (*H. huso*) کاهش می‌یابد.

اما خاکستر لاشه تفاوت معنی‌داری را نشان ندادند که مطابق با یافته های تقی‌زاده و همکاران (۱۳۸۹)، Gaber (۲۰۰۶)، Azaza و همکاران (۲۰۰۹) بود، اگرچه با یافته‌های Farhangi and Carter (۲۰۰۱) تطابق نداشت.

هم چنین Borquez and Alarc´on (۲۰۰۲) و Borquez و همکاران (۲۰۱۱) گزارش کردند که ترکیب کل بدن با افزایش گنجاندن لوپین در جیره غذایی تغییر نمی‌کند.

با افزایش درصد پودر پوست انار در جیره، میزان پروتئین لاشه کاهش و میزان رطوبت افزایش یافت که می‌تواند نشان دهنده وضعیت نامطلوب لاشه ماهیان باشد.

اثر پودر پوست انار بر شاخص‌های هماتولوژیک و بیوشیمیایی

بسته به سیستم پرورش، جیره غذایی می‌بایست تمام یا قسمتی از احتیاجات تغذیه‌ای موجود را برآورده نماید. برای رسیدن به این هدف، گونه مورد پرورش، مرحله زندگی آن، سلامت، درجه حرارت و شرایط محیطی پرورش نیز در نظر گرفته می‌شود . تمام این فاکتورها احتیاجات تغذیه‌ای ماهی را تحت تأثیر قرار می‌دهند (احتشامی، ۱۳۸۶).

میزان گلبول قرمز در تیمارهای مختلف آزمایشی تغییر معنی‌داری را نشان نداد، اگرچه با افزایش سطح پودر پوست انار میزان آن کاهش یافت. این نتایج مطابق با مطالعات Jahanbakhshi و همکاران (۲۰۱۲) و Hosseini و Khajepour (۲۰۱۳) در جایگزینی پروتئین گیاهی سویا در جیره فیل‌ماهی (*H. huso*) است، همچنین (Yue and Zhou, 2008) در جایگزینی پروتئین‌های گیاهی در جیره تیلاپیای نیل (*O. niloticus*) و رحیمی و همکاران (۱۳۹۹) اثر کرم‌خاکی (*Eisenia fetida*) بر رشد و شاخص‌های خون‌شناسی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) روند کاهشی در میزان گلبول‌های قرمز خون گزارش کردند.

نتایج حاضر نشان می‌دهند که سطوح مختلف پودر پوست انار تاثیر معنی‌داری بر گلبول سفید خون دارد و

روند افزایشی، با افزایش درصد پوست انار نشان داده شد که با تحقیق نجات صنعتی و زمینی (۱۳۹۶)، اثرات عصاره هیدرو الکلی بابونه (*Matricaria recutita*) و رازیانه (*Foeniculum vulgare*) بر شاخص‌های خونی و ایمنی بچه ماهیان کپور معمولی (*C. carpio*) مطابقت دارد. در جایگزینی‌ها، گلبول‌های سفید نقش مهمی را در ایمنی غیر اختصاصی ایفا می‌کنند و شمارش آن‌ها می‌تواند به عنوان شاخصی از وضعیت سلامتی ماهی قابل توجه باشد (Khajepour and Hosseini, 2013). به طور کلی اتفاق نظرمحققین بر آن است که فاکتورهای خونی و سرمی ماهیان در گونه‌های مختلف با هم تفاوت دارند و ارتباط و وابستگی زیادی با شرایط محیطی، تغذیه‌ای، سن و غیره دارند. بنابراین باید برای هر گونه ماهی در شرایط اقلیمی هر منطقه مقادیر طبیعی این فاکتورها وجود داشته باشد (شاهسونی و همکاران، ۱۳۸۶).

دلیل افزایش جمعیت لکوسیت‌ها در سطوح بالای پوست انار را می توان احتمالا به فاکتورهای آنتی اکسیدانی پوست انار و تاثیر آن بر سیستم ایمنی ارتباط داد. از بررسی حاضر می‌توان چنین استنتاج کرد که با افزایش پوست انار در جیره، تعداد لکوسیت‌ها افزوده شده که به عنوان یک واکنش دفاعی از جانب بدن ماهی و تاثیر در سطوح بالای پوست انار می‌باشد.

همچنین مشخص شده که تعداد گلبول قرمز و هموگلوبین خون در ماهی با تغییرات فصلی، چرخه جنسی یا سایر مواد فیزیولوژیک دچار تغییرات معنی‌داری می‌شود (Krajnovic-qzretic, 1991). با توجه به ثابت بودن شرایط محیطی و ماهی مورد آزمایش می توان، از تاثیر این عوامل بر تغییرات این شاخص‌ها در تیمارهای مختلف چشم‌پوشی کرد.

علاوه بر این، میزان هموگلوبین و هماتوکریت نیز تابعی از تغییرات گلبول قرمز بوده و رابطه مستقیم با آن دارند. با افزایش درصد پوست انار در جیره، میزان هموگلوبین و هماتوکریت کاهش یافت. Jahanbakhshi و همکاران (۲۰۱۲) با افزایش درصد جایگزینی پروتئین‌های گیاهی در جیره فیل‌ماهی پرورشی کاهش معنی‌داری در میزان هموگلوبین و هماتوکریت مشاهده کردند که با نتایج بررسی حاضر مطابقت دارد. Khajepour و Hosseini (۲۰۱۲) دریافتند که افزودن اسید سیتریک (۳ درصد) به جیره شاهد(شامل ۴۱/۵ درصد پودر سویا و ۳۰ درصد پودر ماهی) فیل‌ماهی پرورشی(*H. huso*) ، میزان هموگلوبین و هماتوکریت در مقایسه با تیمار شاهد به طور معنی‌داری بالاتر بود، اما گلوکز سرم و پروتئین کل بدون تاثیر باقی ماند.

دراین بررسی هم‌چنین تفاوت معنی‌داری در میزان MCV، MCHC و MCHC مشاهده نشد که با نتایج مطالعه Jahanbakhshi و همکاران (۲۰۱۲) در جایگزینی پروتئین‌های گیاهی در جیره فیل‌ماهی پرورشی(*H. huso*) مطابقت داشت.

سطوح مختلف اجزای پلاسما به عنوان شاخصی در ارزیابی سلامت و وضعیت فیزیولوژیک ماهی مورد استفاده قرار می گیرند، هم‌چنین، سنجش پارامترهای خونی برای تعیین احتیاجات غذایی، اجزای غذایی جدید و سایر افزودنی‌های می توانند مفید واقع شوند.

نوسان فاکتورهای بیوشیمیایی خون از جمله تغییر سطوح گلوکز بعنوان شاخص‌های بیولوژیک که تحت تأثیر عوامل محیطی نظیر صید، دستکاری، حمل و نقل، نگهداری، تراکم بالا، خواص فیزیکی و شیمیایی آب و غیره قرار می گیرند، دارای اهمیت بسزایی

می‌باشد (بهمنی، ۱۳۷۸). اغلب شاخص‌های بیوشیمیایی در برابر عوامل استرس‌زا بسیار حساس بوده و بزرگنمایی آنها معمولا وابسته بشدت این عوامل می‌باشد (Webb *et al*., 2002). جنسیت تاثیری بر فاکتورهای بیوشیمیایی خون ندارد (هدایتی و همکاران، ۱۳۷۸).

بیشترین مقدارگلوگز، با تفاوت معنی‌داری در تیمار ۳ درصد پودر پوست انار مشاهده شد، اگرچه تفاوت معنی داری در تیمارهای ۱، ۲ و ۴درصد پودر پوست انار و تیمار شاهد مشاهده نشد. گلوکز خون متغیرترین پارامتری است که به میزان بسیار زیادی تحت تاثیر استرس، دستکاری و حمل، استرس محیطی، تغییرات فصلی و وضعیت تغذیه‌ای و بلوغ می‌باشد (حسینی فرد و همکاران، ۱۳۹۲). سطح گلوکز به عنوان علامت مرسوم استرس تحت جایگزینی جیره غذایی اندازه گیری می‌شود . گلوکز کربوهیدراتی است که نقش مهمی را در تامین انرژی زیستی حیوانات دارد (Jahanbakhshi *et al*., 212).

گلوکز ممکن است اهمیت اولیه‌ای به عنوان یک سوبسترای اکسیداتیو (بستر اکسیداتیو) برای برخی از سلول‌ها و بافت‌های ماهی داشته باشد. در این بررسی، با افزودن پودر پوست انار در جیره غذایی، میزان کلسترول و تری‌گلیسیرید پلاسما دارای تفاوت معنی‌دار نبود. کاهش در چربی کل بدن سبب کاهش کلسترول و تری‌گلیسیرید پلاسما می‌شود که متابولیسم قابل توجه لیپید احتمالا در ارائه نرخ رشد کمتر موثر می‌باشد. مشاهده شده است که منابع پروتئینی گیاهی می‌توانند میزان کلسترول را تحت تاثیر قرار دهند (Jahanbakhshi *et al*., 212).

کاهش کلسترول به کاهش سنتز اسیدچرب در کبد به واسطه جلوگیری از فعالیت‌های لیپوژنیک مربوط می‌شود (اکرمی و همکاران، ۱۳۹۰). باید توجه داشت که تری‌گلیسیرید و کلسترول از اجزای عمده سندرم متابولیک‌اند و ممکن است مستقیما با چربی کبد مرتبط باشند (Schindhelm *et al*., 2006).

میزان غلظت پروتئین کل سرم، به عنوان شاخصی برای وضعیت سلامتی ماهی (Blaxhall and Daislev, 1973) استفاده می‌شود که نقش قابل توجهی را در پاسخ به ایمنی دارد، اگرچه با افزودن پودر پوست انار میزان پروتئین کل سرم به طور معنی‌داری کاهش یافته است. اگرچه Ye و همکاران (۲۰۱۱) نیز روند کاهشی معناداری در میزان پروتئین کل در جایگزینی سویا به جای پودر ماهی جیره کفشک ماهی (*Paralichthys olivaceus*) یافتند.

همچنین (Farhangi and Carter, 2001) با افزایش درصد لوپین در جیره ماهی قزل‌آلا (*O. mykiss*)، روند کاهشی معنی‌داری در میزان پروتئین کل سرم مشاهده کردند. پروتئین کل در مجموع یک شاخص اصلی در متابولیسم جیره مطرح می‌باشدکه کاهش آن احتمالا به سبب کاهش هضم‌پذیری و متابولیسم جیره در ماهی قزل آلای رنگین کمان می‌باشد. بنابراین بررسی آن در مطالعات مهم می‌باشد. تغییرات آن شامل افزایش سنتز یا تجزیه پروتئین و مهار یا فعال شدن برخی از آنزیم‌ها می‌باشد (Canli, 1996).

در این بررسی تفاوت معنی‌داری در میزان آلبومین پلاسما مشاهده شد به این صورت که با افزایش پودر پوست انار میزان آلبومین نیز به طور معنی داری افزایش یافت. آلبومین فراوان‌ترین پروتئین پلاسما می‌باشد و هیپوآلبومین در بسیاری از بیماری‌ها نظیر بیماری های

کبدی، افزایش کاتابولیسم آلبومین، سوء تغذیه و دفع زیاد آب از کلیه‌ها و دستگاه گوارش دیده می‌شود.

بر اساس نتایج این بررسی، وجود پودر پوست انار در جیره قزل‌آلای رنگین‌کمان اثرات مثبتی بر ترکیب لاشه، شاخص های هماتولوژیک و بیوشیمیایی دارد که این امر می‌تواند موجب افزایش سیستم ایمنی ماهی شود. وجود پودر پوست انار در جیره موجب افزایش میزان کمپلمان‌های ایمنی در قزل‌آلای رنگین‌کمان گردید که این افزایش، تقویت سیستم ایمنی را به دنبال داشت. همچنین وجود پودر پوست انار بعنوان یک رنگدانه طبیعی در جیره ماهی قزل‌آلای رنگین کمان می‌تواند موجب افزایش میزان کارتنوئید خون، پوست و گوشت آن گردد (آوازه و همکاران، ۱۳۹۴).

نتایج این تحقیق نشان داد که افزودن پودر پوست انار به مقدار ۴ درصد در جیره غذایی تأثیر بسزایی در فاکتورهای خونی مرتبط با سیستم ایمنی نظیر گلبول سفید ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان خواهد داشت.

سپاسگزاری

این تحقیق با حمایت موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور و همکاری دانشکده شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری انجام گردیده است از زحمات دکترمطلبی رئیس سابق موسسه تحقیقات شیلات ایران و دکتر متین فر، دکتر عبدالحی، دکتر روحانی و کارکنان مرکز تحقیقات خجیر که در انجام مراحل عملی تحقیق ما را یاری نمودند تشکر و قدردانی می گردد.

منابع

۱. احتشامی، ف.، ۱۳۸۶. تغذیه ماهیان پرورشی. انتشارات سازمان شیلات ایران. ۳۹۶ صفحه.

۲. آوازه، ا.، عمادی، ح.، نگارستان، ح. و جانی جلیلی، خ.، ۱۳۹۴. بررسی اثر پوست انار بر تغییر رنگ پوست، گوشت و خون در ماهی ماهی قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*). مجله پژوهش‌های علوم و فنون دریایی، ۱۰(۱): ۱-۱۰.

۳. بهمنی، م.، ۱۳۷۸. بررسی اکوفیزیولوژی استرس از سیستم .H.P.I، .H.P.G از طریق اثر بر محور ایمنی و فرآیند تولید مثل در تاس ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*). رساله دکتری دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم تحقیقات. ۲۷۴ صفحه .

۴. تقی زاده، و.، ایمانپور، م.، اسعدی، ر.، چمن آرا، و. و شربتی، س.، ۱۳۸۹. تاثیر جایگزینی پروتئین‌های گیاهی به جای پودر ماهی روی شاخص های رشد، کیفیت لاشه و پارامترهای بیوشیمیایی خون فیل‌ماهی جوان. مجله علمی شیلات ایران. شماره ۴. صفحه ۴۲-۳۳.

۵. جمال‌زاده، ح.، کیوان، آ.، عریان، ش. و قمی مرزدشتی، م.ر.، ۱۳۸۷. بررسی سطوح برخی از شاخص‌های خونی و بیوشیمیایی ماهیان آزاد دریای خزر (*salmo trutta caspius*). مجله علمی شیلات ایران، ۱۷(۳)، ۴۷-۵۴.

۶. جمیلی، ش.، ماشینچیان مرادی، ع.، بهمنی، م. و کیانی ضیابری، ک.، ۱۳۷۸. بررسی و شناخت فاکتورهای خونی پودرک‌ماهی تالاب انزلی. اولین

کنفرانس ملی علوم و شیلات و آبزیان ایران و لاهیجان. صفحه های ۳۹-۳۷.

۷. حسینی فرد، س. م.، قبادی، ش.، خدابخش، ا. و رزاقی منصور، م.، ۱۳۹۲. تاثیر جیر ه های حاوی سطوح مختلف پودر سویا همراه با مکمل آنزیمی آویزایم بر شاخص های هماتولوژی و بیوشیمیایی سرم خون ماهی قزل‌آلای رنگین کمان. مجله دامپزشکی ایران. ۹(۳)، ۵۳-۴۳.

۸. رحیمی، ر.، پیرعلی، ا.، خدابخش، ا.، یزدی، ا.، فتح الهی، م.، میراحمدی، س. ع.، ۱۳۹۹. اثر کرم‌خاکی (*Eisenia fetida*) بر رشد و شاخص‌های خون‌شناسی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). نشریه توسعه آبزی پروری. ۱۴(۱)، ۱۱۸-۱۰۵.

۹. سعیدی، ع، پورغلام، ر.، نصرآباد، ع. و کامکار، م.، ۱۳۸۲. مقایسه برخی پارامترهای هماتولوژیکال و بیوکمیکال (تعداد اریتروسیتها، مقادیر هماتوکریت و هموگلوبین، اندیس های خونی شامل M.C.H.C و M.C.V و گلوکز یا قند خون) در بچه ماهی قره‌برون در شرایط دریا . مجله علمی شیلات ایران. ۲۰-۱۹.

۱۰. شاهسونی، د.، وثوقی، غ. و خضرائی نیا، پ.، ۱۳۷۹. تعیین برخی شاخص‌های خونی ماهیان خاویاری و انگشت‌قدقره‌برون و اوزون‌برون در استان گیلان. مجله پژوهش و سازندگی. ۵۰. ۱۸-۱۶.

۱۱. شاهسونی، د.، مهری، م. و تقوایی مقدم، ا.، ۱۳۸۶. تعیین مقادیر برخی از آنزیم های سرم خون فیل ماهی(خاویاری). مجله تحقیقات دامپزشکی. ۶۲(۳)، ۱۲۹-۱۲۷.

۱۲. نجات صنعتی، ع.، و زمینی، ع.، ۱۳۹۶. اثرات عصاره هیدرو الکلی بابونه (*Matricaria recutita*) و رازیانه (*Foeniculum vulgare*) بر شاخص‌های خونی و ایمنی بچه ماهیان کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). توسعه آبزی پروری. ۱۱(۴)،۱۲۱-۱۰۵.

۱۳. هدایتی، س. ع. ا.، باقری، ط.، یاوری، و. بهمنی، م. و علیزاده، م. ۱۳۸۷. بررسی برخی از فاکتورهای بیوشیمیایی سرم خون فیل ماهیان پرورشی در آب لب شور(*Huso huso*) ، مجله زیست شناسی ایران، ۲۱(۴)، ۶۵۸-۶۶۶.

14. Adamidou, S., Nengas, I., Henry, M., Grigorakis, K., Rigos, G., Nikolopoulou, D., Kotzamanis, Y., Bell, G.J., Jauncey, K., 2009. Growth, feed utilization, health and organoleptic characteristics of European seabass (*Dicentrarchus labrax*) fed extruded diets including low and high levels of three different legumes. Aquaculture, 293, 263-271.
15. Alykrins Kyay, I. O., Dolgova, S. N., 1984. Haematological feature of young sturgeon. Voprosy Ichtiologii, 4, 135-139.
16. AOAC, 1990. Official Methods of Analyses, In: Helrich, K. (Ed.), 15th edition. Association of Official Analytical Chemists Inc, Arlington, VA.
17. Azaza, M.S., K., Wassim, Mensi, F., Abdelmouleh, A., Brini, B., Kraïem, M.M., 2009. Evaluation of faba beans (*Vicia faba L. var. minuta*) as a replacement for soybean meal in practical diets of juvenile Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. Aquaculture, 287, 174–179.
18. Baker, D.W., Wood, A.M., Litvak, M.K. and Kieffer, J.D., 2005. Haematology of juvenile Acipenser oxyrinchus and Acipenser brevirostrum at rest and following forced activity. Journal of Fish Biology, 66, 208–221.
19. Blaxhall, P.C., Daisley, K.W., 1973. Routine haematological methods for use fish with blood. J. Fish. Biol. 5, 771–781.

20. Borges, A., Scotti, L.V., Siqueira, D.R., Jurinitz, D.F., Wassermann, G.F., 2004. Hematologic and serum biochemical values Jundia (*Rhamdia quelen*). Fish. Physiol. Biochem, 30, 21-25.
21. Borquez, A., Alarc´on, P., 2002. Reemplazo parcial de la harina de pescado por lupino blanco (*Lupinus albus*) en dietas para salm´on del Atl´antico (*Salmo salar)*. Salmonicultura, 28, 17–19.
22. Borquez, A.S., Hernandez A.J., Dantagnan, P., 2011. Incorporation of whole lupin, *Lupinus albus*, seed meal in commercial extruded diets for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*: effect on growth performance, nutrient digestibility and muscle fatty acid composition. Journal of World Aquaculture Society, 42, 209-221.
23. Campbell, T.W., Ellis, Ch. K., 2007. Avian and exotic animal hematology and cytology, Black well scientific publications Ltd, oxford, 11-25 pp.
24. Canli, M., 1996. Effects of mercury, chromiumand nickel on glycogen reserves and protein levelsin tissues of *Cyprinus carpio*. Journal of Zoology, 20, 161-16.
25. Cnaani, A., Tinman, S., Avidar, Y., Ron, M., Hulata, G., 2004. Comparative study of biochemical parameters in response to stress in *Oreochomis aureus*, *O.mossambicus* and two strains of *O. niloticus*. Aquaculture Research, 35, 1434–1440.
26. Farhangi M., Carter, C.G., 2001. Growth, physiological and immunological responses of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) to different dietary inclusion levels of dehulled lupin (*Lupinus angustifolius*). Aquaculture Research. 32,329-340.
27. Gaber, M.M., 2006. Partial and complete replacement of fish meal by broad bean meal in feeds for Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, L., fry. Aquaculture Research, 37, 986–993.
28. Hosseini, S.A., Khajepour, F., 2013. Effect of partial replacement of dietary fish meal with soybean meal on some hematological and serum biochemical parameters of juvenile beluga, *Huso huso*. Iranian Journal of Fisheries Sciences, 12(2), 348-356.
29. Hoseinifar, S.H., Mirvaghefi, A., Merrifield, D.L., Mojazi Amiri, B., Yelghi, S., Darvish Bastami, K., 2011. The study of some haematological and serum biochemical parameters of juvenile beluga (*Huso huso*) fed oligofructose. Fish Physiol. Biochem, 37, 91-96.
30. Jahanbakhshi, A., Imanpoor, M.R., Taghizadeh, V., Shabani, A., 2012. Hematological and serum biochemical indices changes induced by replacing fish meal with plant protein (sesame oil cake and corn gluten) in the Great sturgeon (*Huso huso*). Comparative Clinical Pathology, 22, 1087–1092.
31. Ji, S.C., Jeong, G.S., Im, G.S., Lee, S.W., Taki, K., 2007. Dietary medicinal herbs improve growth performance, fatty acid utilization, and stress recovery of Japanese flounder, Fisheries Science, 73(1), 70-76.
32. Kanieva, N.A., 2002. "Changes in Hematological Indices of Fish Depending on the Level of Sublethal Petroleum Concentrations," in Proceedings of the Conference Ded-icated to the 105th Anniversary of KaspNIRKh. Modern Problems of the Caspian Region (Astrakhan), 130-132.
33. Kuang N.Z., He Y., Xu Z.Z., Bao L., He RR. Kurihara H., 2009. Effect of pomegranate peel extracts on experimental prostatitis rats, Zhong Yao Cai., 32(2): 235-9.
34. Kumar, S., Sahu, N.P., Pal, A.K., Choudhury, D., Yengkokpam, S., Mukherjee, S.C., 2005. Effect of dietary carbohydrate on haematology, respiratory burst activity and histological changes in L. rohita juveniles. Fish and Shellfish Immunology, 19, 331-344.
35. Khajepour, F., Hosseini, S.A., 2012. Citric acid improves growth performance and phosphorus digestibility in beluga (*Huso huso*) fed diets where soybean meal partly replaced fish meal. Anim. Feed. Sci. Tech. 171, 68-73.
36. Kop, A., and Durmaz, Y., 2008. The effect of synthetic and natural pigments on the colour of the cichlids (*Cichlasoma severum*, Heckel 1840). Aquaculture International. 16: 117-122.

37. Krajnovic-Ozretic, M., 1991. Hematological and biochemical characteristics of reared sea bass (*Dicentrarchus Labrax L.*). Acta Biol. Jogosl. Ichtyologia, 23, 25-34.
38. Krylov, O.N., 1974. Methodical Instructions on the Hematological Examination of Fish in Aquatic Toxicology (Gos-NIORKh, Leningrad, 1974) [in Russian]. 324 pp.
39. Lee, R.G., Foerster, J., Jukens, J., Paraskevas, F., Greer, J.P., Rodgers, G.M., 1998. Wintrobe's- Clinical Hematology, 10th edn. LippincottWilliams & Wilkins, New York.
40. Mahdavi, D. L., Deshpande, S.S. and salunkhe, D.K., 1995. Food Antioxidant. Edn. New York: Marcelo, Dekker, Inc, U.S.A. 37AP.
41. Natt, M.P., Herrick, C.A., 1952. A new diluent for counting the erythrocytes and leukocytes of the chicken. Poult. Sci. 31, 735–737.
42. Parmar H.S, and Kar A., 2007. Antidiabetic potential of Citrus sinensis and Punica granatum peel extracts in alloxan treated male mice. Biofactors, 31(1): 17-24.
43. Schindhelm R.K., Diamant, M., Dekker J.M., Tushuizen M.E., Teerlink T., Heine R.J., 2006**.** Alanine aminotransferase as a marker of non-alcoholic fatty liver disease in relation to type 2 diabetes mellitus and cardiovascular disease. Diabetes Metab Res Rev, 22, 437-43.
44. Siddhuraju, P., Becker, K., 2001. Preliminary nutritional evaluation of mucuna seed meal (*Mucuna pruriens* var. utilis) in common carp (*Cyprinus carpio* L.): an assessment by growth performance and feed utilization. Aquaculture, 196, 105–123.
45. Webb, M.A.H., Feist, G.W., Foster, E.P., Schreck, C.B., Fitzpatrick, M.S., 2002. Potential classification of sex and stage of gonadal maturity of wild white sturgeon using blood plasma indicators. Transactions of the American Fishery Society, 131, 132-142.
46. Stoskopf, M.K., 1993. Clinical phatology. In: fish medicine. 113-130 pp.
47. Ye, J., Liu, X., Wang, Z., Wang, K., 2011. Effect of partial fish meal replacement by soybean meal on the growth performance and biochemical indices o juvenile Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. Aquaculture International, 19, 143-153.
48. Yue, Y.R., Zhou, Q.C., 2008**.** Effect of replacing soybean meal with cottonseed meal on growth, feed utilization, and hematological indices for juvenile hybrid tilapia. *Oreochromis niloticus.* Aquaculture, 284, 185-189.
49. Zhang Q_, Jia D_, Yao K., 2007. Antiliperoxidant activity of pomegranate peel extracts on lard, Natural Products Research, 21(3): 211-6.
50. Zmijewski, T., et al. 2006. Slaughter yield, proximate and fatty acid composition and sensory properties of rapfen (*Aspius aspius L*) with tissue of bream (*Abramis brama* L.) and pike (*Esox lucius* L). Journal of Food Composition and Analysis, 19, 176-181.

برآورد نسبت RNA/DNA در مراحل اولیه رشد لاروهای حاصل از تلاقی مولدین تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) در یک طرح فاکتوریل

علی حلاجیان[1*]، حسینعلی عبدالحی[2]، عبدالاحد شادپرور[3]، مهتاب یارمحمدی[1]، رضوان اله کاظمی[1]، ایوب یوسفی جوردهی[1]، بابک تیزکار[4]، حسین محمدی پرشکوه[5]، سیدعلی موسوی[1]

۱- سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، موسسه تحقیقات بین‌المللی تاسماهیان دریای خزر، رشت، ایران

۲- سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، تهران، ایران

۳- گروه علوادامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

۴- بخش شیلات، مرکزتحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان گیلان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، ایران

۵- مرکز بازسازی ذخایر ماهیان خاویاری دکتر شهید بهشتی، رشت، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۱/۹ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱/۳۰

چکیده

بررسی نسبت RNA/DNA یا (R/D) به عنوان یک ابزار سریع و کارآمد برای تعیین وضعیت رشد ماهی مورد استفاده قرار گیرد بر همین اساس این تحقیق با هدف برآورد نسبت R/D در لاروهای تولید شده از تلاقی سه مولد ماده با سه مولد نر تاسماهی ایرانی(*Acipenser persicus*) وحشی که از سواحل جنوبی دریای خزر در استان گیلان صید شده بودند، در یک طرح آزمایشی فاکتوریل۳×۳ انجام شد. بدین ترتیب ۹ تیمار شامل تلاقی های F1M1، F1M2، F1M3، F2M1، F2M2، F2M3، F3M1، F3M2 و F3M3 (هر تیمار با سه تکرار) ایجاد شد. لاروهای حاصل از این تیمارها در یک شرایط دمایی و تغذیه‌ای یکسان به مدت ۱۲۰ روز نگهداری شدند. برای برآورد نسبت R/D طی چهار مرحله در طول آزمایش از لاروها نمونه برداری صورت گرفت. نتایج نشان داد که نسبت R/D با رشد ماهی افزایش یافته بطوریکه مرحله K (۱۲۰ روز پس از تفریخ) بیشترین نسبت R/D دیده شده است. از لحاظ تیماربندی نسبت R/D تیمار ۵ (F2M2) با ۰/۰۶±۰/۹۳۹ بیشترین و تیمار ۲ (F1M2) با ۰/۰۲±۰/۵۰۰ نانوگرم بر میکرولیتر کمترین مقدار بود. در نتیجه گیری نهایی می‌توان بیان نمودکه غلظت RNA وDNA به سرعت با افزایش سن تاسماهی ایرانی، افزایش یافته و به دنبال آن با افزایش نسبت R/D در ماهی که در پاسخ به وضعیت تغذیه ماهی عمل می‌کند، همراه بوده که آن را می‌توان به تغییر رژیم غذایی در طول پرورش لارو نسبت داد. بر همین اساس می‌توان بیان داشت که با برآورد نسبت R/D اطلاعات مفیدی از وضعیت رشد و تغذیه لاروها بدست آورد.

کلمات کلیدی: تاسماهی ایرانی، طرح فاکتوریل، لارو، نسبت RNA/DNA

* عهده‌دار مکاتبات (✉). alihallajian@gmail.com

مقدمه

سواحل جنوبی دریای خزر دارای رودخانه‌های متعددی می‌باشدکه اکثراً محل مهاجرت و تخمریزی ماهیان مهاجر می‌باشند (چکمه دوز قاسمی و بهمنش، ۱۳۹۴). در این بین تاسماهی ایرانی پراکنش وسیعی را در کلیه مناطق دریای خزر و حوزه آبریز آن دارد اما بیشتر جمعیت آن در سواحل جنوبی و جنوب شرقی دریای خزر مشاهده می‌شود. عموماً عمر طولانی دارند و دیر به بلوغ جنسی می‌رسند بطوریکه نرها در ۸ سالگی و ماده‌ها در ۱۲ سالگی بالغ می‌شوند و جهت تخمریزی به رودخانه‌های آب شیرین مانند سفیدرود مهاجرت می‌کنند (شریعتی، ۱۳۸۹).

در سال‌های اخیر آلودگی‌های صنعتی و شهری، ماهیگیری غیرمسئولانه، تغییرات زیست محیطی محل‌های مهاجرت طبیعی و کاهش دبی آب رودخانه‌ها در فصل مهاجرت تکثیر سبب کاهش ذخایر ماهیان دریای خزر شده (شریفی و همکاران، ۱۳۹۵) و بر همین اساس در کشور جهت ایجاد گله‌های مولد پرورشی، بازاری و تولید خاویار و حفظ ذخایر با رهاسازی آنها به رودخانه‌ها، تنها با تکثیر مصنوعی و پرورش گونه‌های مختلف به منظور تولید صنعتی خاویار امکان‌پذیر است تا به این وسیله علاوه بر تولید خاویار موردنیاز، با کاهش صید این ماهیان در حفظ منابع موجود دریا کمک شود.

در سال‌های اخیر، انواع مختلفی از تکنیک‌ها از جمله مورفولوژیکی، بافت شناسی، و شاخص‌های بیوشیمیایی برای ارزیابی وضعیت رشد لارو و بچه ماهیان توسعه یافته و امروزه نیاز به هدایت و تحقیقات گسترده‌ای از نشانگرهای حساس به شرایط رشد مخصوصاً اسید نوکلئیک در لاروها می‌باشد (Rooker and Holt, 1996). مراحل آغازین تکامل ماهیان از مراحل بسیار بحرانی است که می‌تواند به طور مستقیم رشد و بازماندگی را به شدت تحت تاثیر خود قرار دهد (کاظمی و همکاران، ۱۳۹۸)، از این رو اسیدهای نوکلئیک نقش عمده‌ای در رشد و توسعه لاروها بازی می‌کنند. میزان اسید دئوکسی ریبونوکلئیک (DNA)، حامل اطلاعات ژنتیکی، تحت تغییر شرایط زیست محیطی پایدار است و از آن به عنوان یک شاخص زیست توده (Dortch *et al*., 1983) و تعداد سلول استفاده می شود ولی ریبونوکلئیک اسید (RNA) به طور مستقیم در سنتز پروتئین درگیر می‌باشد، در نتیجه رشد لارو وابسته به مقدارRNA در دسترس، می‌باشد. بنابراین نسبت غلظت اسید ریبونوکلئیک (RNA) به غلظت اسید دئوکسی ریبونوکلئیک (DNA) بافت‌های بدن یک شاخص مفید از وضعیت رشد در مطالعات لارو ماهی است، بطوریکه مقدارDNA در هر سلول یک گونه در بافت‌های سوماتیک ثابت بوده، در حالی که مقدار RNA (در درجه اول با ریبوزوم مرتبط) با نرخ سنتز پروتئین متفاوت است. از آنجائیکه رشد لاروها از طریق سنتز پروتئین صورت می‌گیرد، نسبت RNA/DN (R/D) به طور بالقوه می‌تواند برای ارزیابی وضعیت رشد در هر زمان استفاده شود. نسبت R به D ثابت کرده است که یکی از پارامترهای بیوشیمیایی ارزشمند برای مطالعه رشد در موجودات زنده و همچنین برای توسعه لاروهای ماهی است (Buckley *et al*., 1999; Westerman and Holt, 1994; Clemmesen, 1988). چون DNA یک پیش نیاز برای سنتز RNA که به نوبه خود یک نیاز برای سنتز پروتئین است.

مطالعه و اطلاعات بدست آمده از نسبت R/D در کاربرد اسیدهای نوکلئیک بعنوان رشد و شرایط تغذیه‌ای لارو ماهیان از جمله لارو تاسماهی ایرانی می‌تواند پایه و اساس مطالعات آینده این گونه از بچه ماهیان باشد (Tong *et al*., 2010; Tanaka *et al*., 2007). متاسفانه تاکنون در ایران تحقیقات و گزارشاتی در خصوص برآورد نسبت R/D لارو ماهیان استخوانی و ماهیان خاویاری صورت نگرفته است، ولی در خارج از کشور در لارو آبزیانی همچون ماهی، میگو، صدف و خرچنگ در حالت‌های گرسنگی، تغذیه شده و حتی در شرایط محیطی متفاوت (Raae *et al*., 1988; Buckley *et al*., 1999; Stierhoff *et al*., 2009; Amaral *et al*., 2009; Tillner *et al*., 2015; Hufnagl and Temming, 2018) گزارشات زیادی شده است. بر همین اساس این تحقیق برای اولین بار در ایران با هدف برآورد نسبت R/D که شاخصی از رشد و شرایط تغذیه‌ای در لارو ماهیان را نشان می‌دهد، بر روی لارو تاسماهی ایرانی(*Acipenser persicus*) حاصل از مولدین دریایی که از سواحل جنوبی دریای خزر در استان گیلان صید شده بودند، در یک طرح آزمایشی به انجام رسید.

مواد و روش ها

۶ عدد از مولدین تاس‌ماهی ایرانی (۳ عدد مولد ماده و سه عدد مولد نر) که در سال ۱۳۹۵ به روش دام گوش‌گیر در سواحل جنوب غربی دریای خزر (سواحل استان گیلان) صید و به مرکز بازسازی ذخایر ماهیان خاویاری شهید بهشتی واقع در سدسنگر رشت انتقال، و از لحاظ ظاهری سالم بودند، برای اجرای این تحقیق انتخاب گردید. تحریک مولدین و آمادگی برای اسپرم دهی و اوولاسیون بر اساس دستوالعمل Mohammadi و همکاران (۲۰۱۵) از روش تزریق زیرجلدی با هورمون LHRH-A2 استفاده گردید.

پس از بررسی آزمایشگاهی کمی و کیفی اسپرم (جدول ۱) و تخمک (جدول ۲)، از هر مولد ۳۰۰ گرم تخمک برای انجام تکثیر در این تحقیق برداشته و در سه لگنچه (هر لگنچه حاوی ۱۰۰ گرم تخمک) ریخته شد. عملیات تکثیر براساس روش مرسوم مراکز تکثیر ماهیان خاویاری به روش نیمه خشک، در یک طرح فاکتوریل ۳×۳ با تلاقی فردی یک نر با ۳ ماده صورت گرفت. بر همین اساس این تحقیق شامل ۹ تیمار بترتیب F1M1، F1M2، F1M3، F2M1، F2M2، F2M3، F3M1، F3M2 و F3M3 بود. تخم‌های لقاح یافته هر لگنچه بطور مساوی در ۳ پاکت انکوباتور بعنوان تکرار هر تیمار ریخته شد. بررسی فاکتورهای فیزیک وشیمیایی آب انکوباتورها به طور همزمان در هر پاکت انکوباتور که با یک منبع تأمین آب تغذیه می‌شد نیز انجام گرفت. دمای و اکسیژن محلول آب توسط ترمومتر و اکسی متر دیجیتال مدل HACH ساخت آمریکا و pH آب بوسیله دستگاه pH متر مدل 330i/SET (WTW) ساخت آلمان هر روز صبح و بعدازظهر اندازه‌گیری گردید. بر همین اساس فاکتورهای فیزیک وشیمیای آب انکوباتورهای اندازه‌گیری شده از زمان لقاح تا تفریخ لاروها در مدت ۶ روز بدین صورت بود که حداقل، حداکثر و متوسط دمای آب بترتیب ۱۷، ۲۰/۱ و ۱/۳۴±۱۸/۲ درجه سانتی گراد، حداقل، حداکثر و متوسط اکسیژن محلول آب بترتیب ۶/۳، ۹/۵ و ۱/۰۹±۸/۱ میلی گرم در لیتر و حداقل، حداکثر و متوسط pH آب بترتیب ۶/۸، ۷/۹ و ۰/۴۱± ۷/۵ برای تمامی تیمارها بود. تخم گشایی در متوسط دمای آب انکوباسیون از زمان لقاح تا تفریخ

۱/۳۴±۲/ ۱۸ سانتی گراد، پس از گذشت ۶ روز (۲۶۲۱ درجه – ساعت بعبارتی در ۱۰۹ درجه - روز) رخ داد.

جدول ۱: برخی از فاکتورهای اندازه گیری شده اسپرم مولدین نر مورد مطالعه

شماره ماهی	pH مایع اسپرمی	درصد اسپرماتوکریت	درصد تحرک اسپرم	اسمولاریته اسپرم (mOsm/l)	مدت زمان تحرک (ثانیه)	کیفیت تحرک اسپرم	تراکم اسپرم (سلول در میلی لیتر)
۱	۹/۳۵	۱۱	۵۰	۱۵۴	۱۹۵	متوسط	۳/۳۵۶×۱۰^{۹}
۲	۹/۶۷	۱۰	۶۰	۱۴۶	۱۱۰	متوسط	۲/۵۵۰×۱۰^{۹}
۳	۹/۴	۸	۸۰	۱۹۳	۲۶۰	خوب	۱/۰۵۱×۱۰^{۹}

جدول ۲: برخی از فاکتورهای اندازه گیری شده تخمک مولدین ماده مورد مطالعه

شماره ماهی	وزن کل تخمک (kg)	متوسط تعداد در گرم (عدد)	متوسط قطر تخمک (mm)	متوسط تعداد میکروپیل (عدد)	درصد GV
۱	۲/۸	۵۴	۳/۲	۶	۸/۶
۲	۴/۲	۵۲	۳/۵	۸	۸/۸
۳	۴/۲	۴۹	۳/۵	۹	۸/۹

حدود ۱۰ گرم لاروهای تازه تفریخ شده از هر تیمار با متوسط وزن ۲۱/۸ میلی‌گرم، از انکوباسیون به وان‌های ۲۰۰ لیتری موسسه تحقیقات بین المللی تاسماهیان دریای خزر منتقل گردید. لاروها به مدت ۴ ماه از زمان تفریخ در وان‌های مجهز به ورودی و خروجی آب چاه و اکسیژن هوا بودند، نگهداری شدند. لاروها در طول مدت ۱۲۰ روز آزمایش پس از جذب کیسه زرده ابتدا از غذای زنده شامل آرتمیا، دافنی، گاماروس و کرم قرمز منجمد (طی ۴ مرحله در روز) و سپس از غذای گرانوله(کنسانتره) (طی ۳ مرحله در روز)، تغذیه شدند(حلاجیان، ۱۳۹۷).

جهت بررسی کمیت اسیدهای نوکلئیک RNA وDNA و همچنین برآورد نسبت RNA/DNA یا (R/D) طی چهار مرحله و در هر مرحله تعداد ۳۰ عدد از لارو و بچه ماهیان در زیر هود لامینار پس از خشک کردن بدن آنها با پارچه تنظیف، وزن و طول کل‌شان را با استفاده از ترازو با دقت ۰/۰۰۱ گرم و خط‌کش فلزی به دقت یک میلی متر اندازه گیری و سپس نمونه‌های هر تیمار جهت سنجش نسب در ویال‌های RNas ریخته و تا زمان آزمایش در فریزر منفی ۸۰ درجه نگهداری شد. مراحل نمونه برداری شامل مرحلهA (۱۰ روز پس از تفریخ (حاوی کیسه زرده)، مرحلهD (۴۵ روز پس از تفریخ)، F (۹۰ روز پس از تفریخ) و مرحله K (۱۲۰ روز پس از تفریخ) بود. نسبت R/D اسید نوکلئیک بافت ماهی با استفاده از روش Schmidt-Thannhauser اصلاح شده توسط Amaral و همکارانش (۲۰۰۸) برآورد گردید (حلاجیان، ۱۳۹۷).

برای تجزیه و تحلیل آماری ابتدا نرمال بودن داده‌ها با استفاده از تست ناپارامتریک Kolmogorov-sminov اثبات گردید، سپس با استفاده از واریانس یک طرفه، دو طرفه از نوع تیپ ۳ (TYP III) برای تعیین اثر متقابل بین زمان نمونه برداری با نسبت R/D و با استفاده از

آزمونهای معنادار توکی (HSD) و نرم افزارهای $SPSS_{20}$ و اگسل تحت ویندوز انجام شد.

نتایج

نتایج زیست سنجی لاروها و بچه ماهیان طی ۴ مرحله نمونه برداری برای هریک از تیمارها درجدول ۳ آورده شده است. مقدار آلودگی اسیدهای نوکلئیک استخراج شده در نمونه‌ها ناچیز بوده، زیرا هر دو نسبت ۲۳۰/۲۶۰ و ۲۶۰/۲۸۰ نانومتر در هر مرحله از نمونه برداری برای RNA و DNA بین ۱/۶ تا ۲/۱ بوده است، و نتایج برآورد نسبت بین اسیدهای نوکلئیک (R/D) در جدول ۴ و همچنین اسیدهای نوکلئیک استخراج شده RNA و DNA در جدول ۵ نشان داده شده است.

جدول ۳: زیست سنجی مراحل نمونه برداری در کل تیمارهای مورد آزمون (SE± میانگین)

مراحل زیست سنجی		مرحله A (۱۰ روز پس از تفریخ)	مرحله D (۴۵ روز پس از تفریخ)	مرحله F (۹۰ روز پس از تفریخ)	مرحلهK (۱۲۰ روز پس از تفریخ)
وزن (گرم)	حداقل	۰/۰۳	۰/۶	۴	۵/۳۳
	حداکثر	۰/۰۵	۲/۲۴	۱۹/۳۱	۳۵/۱۸
	متوسط	۰/۰۳۸±۰/۰۰۴^{d}	۱/۰۲۹±۰/۳۴^{c}	۵/۷۶۹±۲/۱۳۷^{b}	۱۱/۱۸۳±۴/۹۹^{a}
طول کل (سانتی متر)	حداقل	۱/۵۰	۴/۷۰	۹/۵۰	۱۱/۶۰
	حداکثر	۲/۱۰	۸/۱۰	۱۸/۵۰	۲۲/۵۰
	متوسط	۱/۸۵۸±۰/۱۲^{d}	۵/۹۵۱±۰/۷۲^{c}	۱۱/۱۹۹±۳۳۹۱^{b}	۱۴/۸۸۰±۲/۰۶۱^{a}

حروف غیر مشابه بیانگر اختلاف معنادار آماری بین مراحل نمونه برداری هاست، P<۰/۰۵

جدول ۴: برآورد نسبت RNA/DNA یا (R/D)استخراج شده از نمونه‌های مورد آزمون (میکروگرم بر میکرولیتر)

تیمار	مراحل نمونه برداری A	D	F	K	متوسط تیمارها
(۱)F1M1	۱/۰۸±۰/۱۵	۰/۳۰۶±۰/۰۴	۰/۴۶±۰/۰۴	۰/۵۸۳±۰/۰۴	۰/۶۰۷±۰/۰۳
(۲)F1M2	۰/۹۶±۰/۱۵	۰/۳۸۰±۰/۰۴	۰/۵۵۲±۰/۰۶	۰/۶۷۰±۰/۰۴	۰/۵۰۰±۰/۰۲
(۳)F1M3	۰/۶۵±۰/۱۲	۰/۴۸۳±۰/۰۵	۰/۵۳۳±۰/۰۳	۰/۶۵۶±۰/۰۶	۰/۵۸۰±۰/۰۱
(۴)F2M1	۰/۷۸±۰/۱۴	۰/۳۱۳±۰/۰۶	۰/۶۰۳±۰/۰۳	۰/۵۹۰±۰/۰۶	۰/۵۷۱±۰/۰۲
(۵)F2M2	۱/۸۷±۰/۱۷	۰/۵۳۶±۰/۰۶	۰/۶۲۰±۰/۰۳	۰/۷۲۳±۰/۰۶	۰/۹۳۹±۰/۰۶
(۶)F2M3	۱/۰۵±۰/۱۲	۰/۲۳±۰/۰۳	۰/۵۶۰±۰/۰۴	۰/۷۵۳±۰/۰۵	۰/۶۴۹±۰/۰۳
(۷)F3M1	۱/۱۴±۰/۱۴	۰/۲۴۶±۰/۰۴	۰/۵۶۰±۰/۰۵	۰/۸۲۰±۰/۰۳	۰/۶۹۲±۰/۰۴
(۸)F3M2	۰/۸۰۰±۰/۱۳	۰/۴۲±۰/۰۵	۰/۶۰۰±۰/۰۵	۰/۷۰۶±۰/۰۴	۰/۶۳۱±۰/۰۲
(۹)F3M3	۰/۶۰۳±۰/۰۶	۰/۴۶۳±۰/۰۳	۰/۶۵۶±۰/۰۶	۰/۶۴۳±۰/۰۳	۰/۵۹۱±۰/۰۱
متوسط مراحل نمونه برداری	۰/۹۶±۰/۱۵	۰/۳۸۰±۰/۰۴	۰/۵۵۲±۰/۰۶	۰/۶۷۰±۰/۰۴	

جدول ۵: تعیین کمیت غلظت اسیدهای نوکلئیک DNA و RNA استخراج شده از لاروهای تاسماهی ایرانی

اسیدهای نوکلئیک	مراحل		تیمارها								
			F1M1	F1M2	F1M3	F2M1	F2M2	F2M3	F3M1	F3M2	F3M3
DNA	A	غلظت (ng/ul)	۷۰۰/۷	۸۳۰/۲	۶۷۴/۵	۶۶۹/۰۱	۵۹۳/۱	۷۰۰/۶	۱۰۱۷/۶	۸۸۹/۸۴	۱۰۳۸/۱
		۲۳۰/۲۶۰	۲/۰۶	۱/۷۸	۱/۸۱	۱/۸۷	۲/۱	۲/۰۵	۲	۲/۱	۲/۱
		۲۶۰/۲۸۰	۱/۶	۱/۶۱	۱/۶۲	۱/۶۳	۱/۶۶	۱/۶۵	۱/۶۱	۱/۶	۱/۶
	D	غلظت (ng/ul)	۱۰۷۴/۴	۱۲۳۵/۱	۱۴۸۰/۸	۱۳۲۶/۵	۱۳۱۰/۱	۱۲۶۲/۵	۱۳۱۲/۱	۱۲۲۲/۸	۱۴۰۷/۳
		۲۳۰/۲۶۰	۱/۶۷	۱/۸۳	۱/۹۲	۱/۶	۱/۸۱	۱/۷۲	۱/۶۱	۱/۶۷	۱/۶۱
		۲۶۰/۲۸۰	۱/۷	۱/۶۹	۱/۷	۱/۷۱	۱/۶۷	۱/۷۶	۱/۷	۱/۷۴	۱/۷۳
	F	غلظت (ng/ul)	۱۵۲۰/۵	۱۴۱۳/۱	۱۲۲۰/۷	۱۰۲۵/۱	۱۵۰۲/۶	۱۹۳۱/۱	۱۴۱۳/۹	۱۲۴۴/۱	۱۱۰۰/۱
		۲۳۰/۲۶۰	۱/۶۹	۱/۶	۱/۶	۱/۶۱	۱/۶۴	۱/۶۶	۱/۶	۱/۶۳	۱/۸۴
		۲۶۰/۲۸۰	۲/۰۳	۲/۰۹	۱/۸۴	۲/۰۶	۱/۸	۲/۱	۲/۰۳	۲	۲
	K	غلظت (ng/ul)	۱۲۰۷/۷	۱۳۶۱/۴	۱۱۰۶/۵	۱۲۶۹/۶	۱۵۸۹/۹	۱۶۰۲/۳	۱۷۰۳/۲	۱۲۶۶/۹	۱۸۷۳/۹
		۲۳۰/۲۶۰	۱/۶۳	۱/۶۵	۱/۷۳	۱/۶۹	۱/۷۶	۱/۶۱	۱/۶۴	۱/۶۸	۱/۶۳
		۲۶۰/۲۸۰	۲/۰۹	۲/۱	۱/۸۵	۱/۸۴	۲/۰۶	۲/۰۳	۱/۸۸	۱/۹۳	۲/۰۳
RNA	A	غلظت (ng/ul)	۴۶۰/۸	۵۳۸/۸	۳۷۳/۹	۵۹۱/۹	۹۶۸/۹	۷۹۴/۳	۸۵۶/۸	۶۷۶/۶	۶۵۸/۹
		۲۳۰/۲۶۰	۱/۶۳	۲/۱	۱/۸	۱/۶۳	۲/۱	۱/۹۸	۱/۹۲	۱/۹۴	۱/۸۹
		۲۶۰/۲۸۰	۱/۶۴	۱/۶۲	۱/۷۵	۱/۶۵	۱/۶۹	۱/۷۵	۱/۶۵	۱/۸	۱/۷۱
	D	غلظت (ng/ul)	۷۲۹/۷۶	۸۶۰/۵	۷۲۷/۹	۷۲۹/۹	۸۲۵/۱	۶۴۵/۸	۶۱۰/۹	۷۱۱/۳	۸۰۰/۳
		۲۳۰/۲۶۰	۱/۶۷	۱/۶	۱/۶۵	۱/۶۱	۱/۶	۱/۶	۱/۶۲	۱/۶	۱/۶۲
		۲۶۰/۲۸۰	۱/۹۹	۱/۷۴	۱/۸۲	۱/۹۹	۱/۷	۲/۰۷	۱/۹۲	۱/۸۹	۱/۹۹
	F	غلظت (ng/ul)	۷۵۴/۹	۷۱۳/۱	۸۲۸/۸	۸۱۸/۶	۶۲۷/۵	۷۳۷/۹	۷۱۰/۲	۸۸۵/۱	۷۴۰/۵
		۲۳۰/۲۶۰	۱/۶۳	۱/۶۲	۱/۶۵	۱/۶۷	۱/۶۳	۱/۶۵	۱/۶۴	۱/۶۴	۱/۶۵
		۲۶۰/۲۸۰	۲/۰۴	۱/۹۸	۱/۹۳	۲/۰۹	۱/۹۷	۱/۸۹	۲/۰۳	۱/۹۵	۱/۹۹
	K	غلظت (ng/ul)	۹۵۷/۶	۷۰۸/۷	۹۷۸/۴	۶۲۴/۴	۶۳۶/۱	۹۷۸/۵	۷۵۹/۶	۹۱۷/۱	۸۴۲/۵
		۲۳۰/۲۶۰	۱/۶	۱/۶	۱/۶۴	۱/۶۸	۱/۹	۱/۹	۱/۸۹	۱/۸۷	۱/۶۵
		۲۶۰/۲۸۰	۱/۷۳	۱/۶۷	۱/۷	۱/۹۴	۲/۰۲	۲/۰۴	۲/۰۷	۲/۰۴	۲

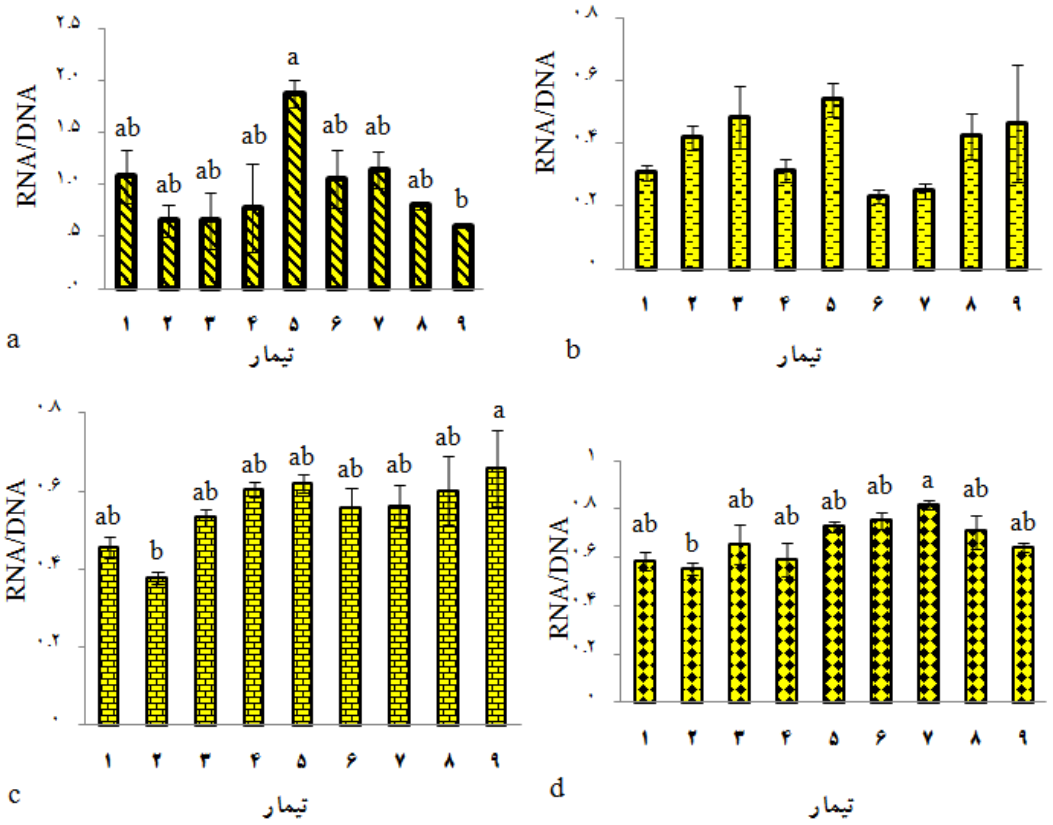
نتایج نسبتR/D بدست آمده از لحاظ مراحل نمونه‌برداری مرحلهA با ۰/۹۶±۰/۱۵ بیشترین نسبت و مرحله D با ۰/۳۸۰±۰/۰۴کمترین نسبت را به خود اختصاص داده‌اند. از لحاظ تیماری نیز، تیمار F1M2 (۰/۵۰۰±۰/۰۲) کمترین نسبت و تیمار F2M2 (۰/۹۳۹±۰/۰۶) بیشترین نسبت را به خود اختصاص داده بودند (جدول ۳). ولی نسبت R/D در سایر مراحل نمونه برداری با رشد ماهی افزایش یافته است. حداقل نسبت R/D ملاحظه شده در تیمار F2M3 (۰/۲۳±۰/۰۳) مربوط به مرحله D نمونه برداری و حداکثر در تیمار F2M2 (۱/۸۷±۰/۱۷) مربوط به مرحله A بوده است.

بر اساس آزمون آنالیز واریانس و توکی نسبت R/D محاسبه شده برای کل مراحل نمونه‌برداری معنی‌دار بوده (P≤0.05) و از لحاظ مراحل نمونه برداری (جدول ۶) اختلاف معنی‌داری در بین تیمارهای مراحل A، F و K مشاهده گردیده (P≤0.05) ولی در بین تیمارهای مرحله D اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید (P≥0.05).

جدول ۶: تست آنالیز واریانس هر یک از مراحل نمونه برداری درتاسماهی ایرانی

		مجموع مربعات	df	میانگین مربعات	F	Sig.
A	بین گروه	۳/۷۸۸	۸	۰/۴۷۴	۲/۵۲۸	۰/۰۴۹
	درون گروه	۳/۳۷۲	۱۸	۰/۱۸۷		
	مجموع	۷/۱۶۰	۲۶			
D	بین گروه	۰/۲۹۰	۸	۰/۰۳۶	۱/۹۱۴	۰/۱۲۰
	درون گروه	۰/۳۴۱	۱۸	۰/۰۱۹		
	مجموع	۰/۶۳۲	۲۶			
F	بین گروه	۰/۱۸۲	۸	۰/۰۲۳	۲/۷۲۸	۰/۰۳۷
	درون گروه	۰/۱۵۰	۱۸	۰/۰۰۸		
	مجموع	۰/۳۳۲	۲۶			
K	بین گروه	۰/۱۸۵	۸	۰/۰۲۳	۳/۳۲۴	۰/۰۱۶
	درون گروه	۰/۱۲۵	۱۸	۰/۰۰۷		
	مجموع	۰/۳۱۰	۲۶			

نتایج آزمون آماری نشان می‌دهد که مرحله A اختلاف آماری بین نسبت R/D در بین تیمارها مشاهده می‌شود (P≤0.05). این نتایج بیانگر آن است که بیشترین نسبت در تیمار ۵ و کمترین آن در تیمار ۹ بوده است (P≤0.05). لازم به ذکر است که تیمار ۵ و ۹ اختلاف معنی‌داری را با یکدیگر نشان دادند (P≤0.05) و بین سایر تیمارها اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده نگردید (P≥0.05) (شکل ۱a). مرحله D با توجه به اینکه تیمار ۶ کمترین مقدار و تیمار ۵ بیشترین مقدار نسبت R/D را داشتند ولی اختلاف آماری بین تیمارها مشاهده نگردید (P≥0.05) (شکل ۱b). در مرحله F، اختلاف آماری بین نسبت R/D در بین تیمارها مشاهده می‌شود (P≤0.05). نتایج این مرحله بیانگر آن بوده است که بیشترین نسبت در تیمار ۹ و کمترین آن در تیمار ۲ بوده است (P≤0.05). همچنین تیمار ۲ و ۹ اختلاف معنی داری را با یکدیگر نشان دادند (P≤0.05) و بین سایر تیمارها اختلاف معنی دار آماری مشاهده نگردید (P≥0.05) (شکل ۱c). در مرحله K نیز اختلاف آماری بین نسبت R/D در بین تیمارها مشاهده می‌شود (P≤0.05). نتایج این مرحله بیانگر آن بوده است که بیشترین نسبت در تیمار ۷ و کمترین آن در تیمار ۲ بوده است (P≤0.05). همچنین تیمار ۲ و ۷ اختلاف معنی‌داری را با یکدیگر نشان دادند (P≤0.05) و بین سایر تیمارها اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده نگردید (P≥0.05) (شکل ۱d).



شکل ۱: تغییرات نسبت RNA/DNA تیمار ها در مراحل نمونه برداری. a: مرحله A (۱۰ روز پس از تفریخ لارو" حاوی کیسه زرده"). b: مرحله D (۴۵ روز پس از تفریخ لارو). c: مرحله F (۹۰ روز پس از تفریخ لارو) و d: مرحله K (۱۲۰ روز پس از تفریخ لارو)

همچنین نتایج آزمون دو طرفه ANOVA اثر متقابل بین تیمارها در زمان‌های نمونه‌برداری نشـان می‌دهد که نسـبت R/D در زمان‌های مختلف در بین تیمارها نسـبت های متفاوتی وجود دارد ($P\leq0.05$). بر همین اسـاس اثر متقابل بین مراحل نمونه‌برداری و تیمارها با نسـبت R/D فقط در مرحلـه اول (A) در تیمارهای ۱، ۵ و ۷ و مرحله دوم (D) در تیمارهای ۱، ۴، ۶ و ۷ وجود داشت، اما بین سـایر زمان‌ها و تیمارها با نسـبت R/D اثر متقابل دیده نشد.

بحث

نرخ رشـد برای مطالعه پویایی شـناسـی جمعیت گونه‌ها از اهمیت اساسـی برخوردار اسـت و در صنعت آبزی پروری، غـذا بیش از ۶۰ درصـد از هزینـه‌هـای عملیاتی را به خود اختصـاص می‌دهد و با توجه به اینکه ماهی یک جزء مهم و منبع اصلی پروتئین حیوانی از کل مصـرف مواد غـذایی بیش از نیمی از جمعیت جهان اسـت، بر این اسـاس صـنعت آبزی پروری در سـراسـر جهان خیلی سریع در حال گسترش می‌باشد (Hufnagl and Temming, 2018). مـحـقـقـان در ابـتـدا بـرای انـدازه‌گیری رشـد و شـرایط تغـذیه‌ای در گونه‌های مختلف ماهی از شـاخص‌های همچون مورفومتریک، بافت‌شـناسـی و بیوشـیمیایی اسـتفاده می‌کردند، ولی امروزه بـا انـدازه‌گیری اسـیدنوکلئیک لاروها از طریق نسبت RNA/DNA میزان رشد در لاروها مورد سنجش قـرار می گیرد (Rooker and Holt, 1996). R/D از

نشانه‌های شاخص وضعیت رشد لارو ماهیان بوده که بدنبال آن با افزایش سنتز پروتئین و در نهایت با افزایش توده عضلانی بدن لاروها همراه می باشد.

غلظت RNA در یک بافت در پاسخ به سنتز پروتئین وابسته به رونویسی تغییر می‌کند که به طور مستقیم با فعالیت ریبوزوم و با میزان رشد (افزایش سن) ارتباط دارد و تخمینی از تعداد ریبوزوم را فراهم می‌کند و تغییرات در رژیم غذایی منجر به تغییرات در تعداد ریبوزوم می‌شود. در حالی که غلظت DNA بافت ماهی حامل اطلاعات ژنتیکی، در تغییر شرایط محیطی نسبتاً پایدار باقی می‌ماند و به عنوان شاخصی از تعداد سلول‌ها استفاده می‌شود. بنابراین به منظور تخمین و ارزیابی وضعیت رشد و فیزیولوژیک لاروها با اندازه‌گیری و تجزیه و تحلیل نسبت R/D می‌توان اطلاعات مفیدی از وضعیت لاروها و تغذیه آنها ماهیان بدست آورد (Wright and Hetzel, 1985; Foley *et al*., 2016). نسبت R/D به طور کیفی نشان داده می‌شود ولی به طور بالقوه منعکس کننده کمی لاروهای ماهی می‌باشد، بطوریکه نسبت R/D ثابت کرده است که یک برآورد قابل اعتماد از وضع تغذیه‌ای و رشد در لاروهای ماهیان بوده است.

نسبت R/D در لاروهای پس از جذب کیسه زرده (شروع تغذیه بیرونی) می‌تواند نشان دهنده تغییرات در نرخ رشد و شرایط تغذیه‌ای در طی یک دوره زمانی باشد. بر همین اساس Labh در سال ۲۰۱۵ با بررسی روند رشد در ماهی *Labeo rohita* با اندازه گیری نسبت RNA به DNA گزارش داد که محتوای RNA به سرعت با سن ماهی افزایش می یابد، بطوریکه متوسط مقدار RNA و DNA در تیمار شاهد از ابتدای شروع بترتیب ۴/۷۳ و ۲/۲۹ نانوگرم به میلی گرم در هفته اول به ۹/۱۹۲ و ۳/۲۴ نانوگرم به میلی گرم در پایان هفته ۱۲ آزمایش افزایش یافت. بطوریکه Clemmesen (۱۹۸۸) همچنین Ueberschar و Clemmesen (۱۹۹۲) نسبت R/D با نمونه‌برداری از لاروهای صید شده و گرسنه اظهار نمود که با افزایش فاصله گرسنگی، لاروها با کاهش نسبت R/D مواجه هستند و پیشنهاد نمود که استفاده از نسبت R/D در شناسایی لاروهای گرسنه در محیط‌های مختلف دریایی مورد استفاده قرار گیرد.

Raae و همکاران (۱۹۸۸) تغییرات کمی در DNA، RNA و پروتئین محلول در مراحل اولیه توسعه لارو ماهی کاد (*Gadus morhua* L.) در دو محیط آزمایشگاهی و استخر آب شور در حالت تغذیه ای و گرسنگی بیان داشتند که در هر دو محیط تغذیه شده تولید RNA و همچنین نسبت R/D آنها بالا بوده اما پاسخ لارو در محیط استخر بیشتر و سریع‌تر بود. Rooker و Holt (۱۹۹۶) با بررسی اثر گرسنگی بیش از ۵ روز در ۳ مرحله ۲۰،۳۰ و ۴۰ روز در ماهی گزارش نمود که تفاوت‌های قابل توجه‌ای از لارو تغذیه شده با لارو گرسنه در نسبت R/D مشاهده گردید و بیان نمودند که نسبت R/D در طول یک دوره گرسنگی ۵ روزه کاهش یافته و این نسبت یک کاهش نسبی با افزایش سن ماهی همرا بود و این نسبت در محیط‌های دمایی کنترل شده (ثابت) و طبیعی (دوره‌ای) بطور قابل توجهی تفاوت نداشت. نتایج تحقیق Rooker و Holt (۱۹۹۶) نشان داد که غلظت‌های RNA و DNA در طی توسعه زودرس لاروها به طور معنی داری کاهش می‌یابد، و پس از تقریبا ۴ هفته (حدود ۱۴ میلیمتر)، هر دو غلظت RNA و DNA ثابت باقی می‌ماند و این یافته‌ها نشان می دهد که هیپرتروفی در زمان توسعه

زودرس رخ می‌دهد و پس از یک دوره مشخص، رشد در سطح سلولی نسبتا یکنواخت می‌شود.

Stierhoff و همکاران (۲۰۰۹) با بررسی نسبت R/D در مطالعه پاسخ رشد پس از یک دوره ۷ روزه در دو گونه از ماهیان دریایی پرداخته و پیشنهاد داد که بررسی R/D تنها ۱ روز پس از غذا دهی (۱ روز گرسنگی) انجام گیرد ولی در شرایط دمایی بالا که معمولاً می‌تواند با کاهش رشد عضله همراه باشد بهتراست از نسبت R/D کمتر استفاده گردد. بنابراین در نظر گرفتن شرایط دمایی در زمان نمونه برداری از ماهی برای تفسیر نسبت R/D مهم است. این تحقیق نیز همانند با پیشنهاد Stierhoff و همکاران (۲۰۰۹) از لاروها یک روز پس از گرسنگی و در شرایط دمایی یکسان نمونه برداری صورت گرفت.

Tong و همکاران (۲۰۱۰) با بررسی تغییرات DNA ، RNA، پروتئین و رشد در لارو و بچه سپر ماهیان گزارش دادند که طی ۶۰ روز پرورش نسبت R/D، ۱۲ روز اول کاهش سپس به سرعت تا ۱۹ روز پس از تفریخ افزایش یافته و این ریتم تا ۳۵ روزگی در نوسان بوده و سپس به دنبال آن با کاهش نسبی همراه بود. بر همین اساس Grimm و همکاران (۲۰۱۵) نسبت R/D را بعنوان یک پاسخ از عملکرد دقیق در اوایل رشد خرچنگ خاردار گزارش نمودند و بیان داشتند که اگر رشد کلی مد نظر باشد نسبت R/D یک ابزار با ارزش در مطالعات تغذیه با خرچنگ خاردار های آب شیرین است.

مطالعات انجام شده توسط سایر محققین در خصوص برآورد نسبت R/D لاروی ماهی می‌توان به گونه *Thunnus orientalis* در اقیانوس آرام شمال غربی در لارو کمتر از ۵ میلی‌متری و در دماهای ۲۵ و ۲۸ درجه سانتی گراد این نسبت بترتیب ۳/۷۳ و۵/۳۹ و در لاروهای بیشتر از ۵ میلی‌متر و در دماهای ۲۵ و ۲۸ درجه این نسبت بترتیب۲/۸۳ و ۱/۲۴ (Tanaka et al., 2008)، در لاروهای *Pimephales promelas* این نسبت به طور معنی داری در ۸ روز پس از گرسنگی (محرومیت از غذا) نسبت به گروه لاروهای تغذیه شده کاهش یافته و محدوده نسبت R/D در لاروهای در حال رشد را بین ۴-۳ در بچه ماهیان قزل آلای رنگین کمان توسط (McLaughlin *et al*., Chung *et al*., 1993; 1995; Arndt *et al*., 1996;) گزارش شده بود و این نسبت در مقایسه با بالغین تغذیه شد به طور ثابتی پایین‌تر از ماهی‌های جوان بودند (Weber *et al*., 2003). نسبت R/D در خرچنگ جوان آب شیرین (*Astacus astacus*) تغذیه شده در هفته اول ۰/۳۳ و در هفته چهارم (پایان آزمایش) به ۱/۵۲ رسید، همچنین مقدار RNA وزن تر لاروها در هفته دوم نیز از ۰/۲۷ به ۱/۶۱ نانوگرم بر میلی گرم در هفته چهارم و غلظت DNA وزن تر لاروها نیز از ۰/۵۲ هفته سوم به ۲/۱۱ نانوگرم بر میلی‌گرم در هفته چهارم رسید(Grimm *et al*., 2015)، Tillner و همکاران (۲۰۱۵) نسبت R/D کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در تغذیه لاروها با آرتمیا ، نماتد و غذای خشک برای لاروهای ۸ روز پس از تفریخ را ۰/۲۷±۰/۶۵ و برای لاروهای ۲۲ روز پس از تفریخ ۰/۶۳±۱/۹۶ بدست آوردند و بیان نمودند که نسبتR/D به طور قابل توجهی با سرعت رشد ارتباط دارد. همچنین Hufnagl و Temming (۲۰۱۸) میزان نسبت RNA به DNA وزن خشک میگو قهوه‌ای (*Crangon crangon*) را ۰/۴۴۲ برآورد کردند، اشاره نمود.

نتایج حاصل از این تحقیق همسو با نتایج سایر محققین بوده بطوریکه در این بررسی با بدست آوردن

غلظت های RNA و DNA از لاروها، قبل از آغاز تغذیه بیرونی تا ۱۲۰ روزگی لاروها طی ۴ مرحله نسبت R/D حاصل گردید. متوسط غلظت RNA و غلظت DNA بدست آمده در این بررسی طی ۴ مرحله از زمان قبل از تغذیه فعال تا ۱۲۰ روزگی افزایش داشته بطوریکه محتوای آنها به ترتیب در مرحله A (۶۵۷/۸۶ و ۷۹۰/۴۳)، مرحله D(۷۳۷/۹۲ و ۱۶۷۰/۱۸)، مرحله F (۷۵۷/۳۸ و ۱۰۶۳/۴۵) و مرحله K (۷۸۹/۲۱ و ۱۰۳۱/۲۵) نانوگرم بر میکرولیتر بود. بر همین اساس متوسط نسبت R/D در طول زمان آزمایش که شاخصی از سنتز پروتئین به منظور تخمین دقیق میزان رشد و شرایط تغذیه ماهی استفاده می‌شود، و با توجه به اینکه غلظت RNA و DNA در این بررسی به سرعت با سن لاروهای تاسماهی ایرانی افزایش یافته بطوریکه این مقدار برای مرحله A (۰/۹۶)، مرحله D (۰/۳۸)، مرحلهF (۰/۵۵) و مرحله K (۰/۶۷) نانوگرم بر میلی‌گرم برآورد گردید. در این تحقیق بجز مرحله A در سایر مراحل یک روند افزایشی در نسبت R/D با افزایش سن لاروها دیده می‌شود، و علت بالا بودن نسبت R/D در مرحله A از یک طرف بعلت همراه داشتن کیسه زرده و از طرف دیگر هموژنیزه شدن کل بدن لاروهای این مرحله می توان نسبت داد در صورتی که برای سایر مراحل، لاروها تغذیه بیرونی داشته و حدود ۵۰ میلی گرم از عضله لاروها هر مرحله هموژنیزه و مورد سنجش قرار گرفته اند. با این حال افزایش غلظت RNA با روند افزایش سطح پروتئین غذایی همراه بوده و به طور مستقیم در سنتز پروتئین نقش داشته و با رشد لاروها، افزایش RNA مشاهده می‌گردد، ولی غلظت DNA معمولا پایدار بوده و نسبت R/D با توجه به روند افزایشی RNA، افزایش یافته، که نشان دهنده ظرفیت سنتز پروتئین در هر سلول است. بر همین اساس مطابق جدول ۳ متوسط کل مراحل نمونه‌برداری حاصل از این تحقیق نشان داد که تیمار ۵ (F2M2) دارای بالاترین نسبت R/D (۰/۹۳ نانوگرم بر میکرولیتر) نسبت به سایر تیمارهای مراحل نمونه برداری بود. همچنین پایین‌ترین نسبت R/D در مطالعه حاضر ۰/۲۳ در تیمار ۶ مربوط به مرحله D و بالاترین نسبت R/D در این تحقیق۰/۸۲ در تیمار ۷ مربوط به مرحله K مشاهده گردید که نسبت R/D به بالاترین مقدار خود در مرحله K با افزایش اندازه و سن رسیده است. اندازه‌گیری نسبت R/D می‌تواند یک رویکرد خوبی در بررسی کوتاه مدت رشد لاروهای جمع آوری شده باشد (XiaoDi, *et al.*, 2009; Zehra and Khan 2013). از طرفی نسبت R/D، به تنهایی یک شاخص دقیق از فعالیت متابولیک نسبت به غلظت RNA است، زیرا اندازه سلول‌های بافت در نمونه‌ها بر روی این نسبت، تاثیر گذار نیست (Labh, 2015). بنابراین نسبت R/D در لارو تاسماهی ایرانی در این تحقیق به طور مثبت با روند رشد در ارتباط است که توسط سایر محققین همچون Labh, 2015; Grimm *et al.*,2015; Zehra and Khan, 2015; Clemmesen, 1988; و غیره نشان داده شده است.

نسبت R/D نه تنها بعنوان شاخصی در وضعیت رشد موجودات می‌باشد بلکه از آن بعنوان یک شاخص مفید بر اثرات محدود کننده‌های محیطی و کیفیت محیط زیست در سنتز پروتئین موجودات استفاده می‌نمایند، بطوریکه در این راستا Amaral و همکاران (۲۰۰۹) بیان داشتند که نسبت R/D درگونه‌های مورد مطالعه هم با سطح آلودگی فصلی محیط زیست گونه‌ها و هم با تغییرات زیستگاهی تغییر می کند.

بطور کلی می‌توان نتیجه گیری نمود که غلظت RNA و DNA به سرعت با افزایش سن تاسماهی ایرانی، افزایش یافته و به دنبال آن با افزایش نسبت R/D در ماهی که در پاسخ به وضعیت تغذیه ماهی عمل می‌کند، همراه بوده که می‌توان آن را به تغییر رژیم غذایی در طول پرورش لارو نسبت داد، بنابراین اندازه‌گیری نسبت R/D می‌تواند یک رویکرد خوبی از تغذیه لاروها و بچه ماهیان حاصل از بررسی کوتاه مدت رشد آنها باشد. پیشنهاد می‌گردد که پژوهش در خصوص برآورد نسبت R/D که شاخصی از سنتز پروتئین و رشد می‌باشد به منظور تخمین دقیق میزان رشد در شرایط مختلف از جمله تغذیه‌ای ،گرسنگی، دمایی و محیطی صورت گیرد.

سپاسگزاری

بدینوسیله از ریاست محترم مرکز بازسازی ذخایر ماهیان خاویاری دکتر شهید بهشتی جناب آقای مهندس درویشی و همکاران محترم بخش تکثیر آن مرکز ، از کلیه همکاران محترم موسسه تحقیقات بین الملل ماهیان خاویاری علی الخصوص جناب آقای دکتر شناور، آقایدکتر معصوم زاده به دلیل هماهنگی های لازم و همکاری های صمیمانه شان سپاسگزاری می نمائیم.

منابع

۱. چکمه دوز قاسمی، ف.، بهمنش، ش.، ۱۳۹۴. تنوع ژنی و رابطه فیلوژنی دو گونه از جنس Rutilus در سواحل جنوبی دریای خزر بر اساس توالی یابی ژن سیتوکروم b میتوکندریایی. نشریه علمی توسعه آبزی پروری، ۹(۳)، ۲۸-۱۹

۲. حلاجیان، ع.، ۱۳۹۷. بهگزینی تاسماهی ایرانی(*Acipenser persicus*) براساس صفات رشد، بررسی توارث و رابطه RNA با رشد آن در مرحله لاروی. رساله دکتری پژوهش محور موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، ۲۴۴ص

۳. شریعتی، ابوالقاسم. ۱۳۸۹. تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری، موسسه آموزش عالی علمی کاربردی جهاد کشاورزی، ۲۰۶ص

۴. شریفی، م.، نجاتخواه معنوی، پ.، چکمه دوز قاسمی، ف.، بهمنش، ش.، ۱۳۹۵. ساختار ژنتیکی و جمعیتی ماهی کلمه (*Rutilus rutilus* caspicus) سواحل جنوبی دریای خزر و دریاچه پشت سد ارس با استفاده از روش توالی یابی DNA (DNA sequencing). نشریه علمی توسعه آبزی پروری، ۱۰(۴)، ۷۳-۶۳

۵. کاظمی، ر. ، فیروزبخش ، ف.، حلاجیان ، ع. و غلامی ، س. ۱۳۹۸. اثر نور بر فرآیند تکوین لوله گوارش و برخی از شاخصهای رشد لارو تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*). نشریه علمی توسعه آبزی پروری، ۱۳(۴)، ۹۳-۱۰۶.

6. Amaral, V., Henrique, N., Cabral, C., Paula, AJ., 2008. Implications of habitat-specific growth and physiological condition on juvenile crab population structure. Marine and Freshwater Research, 59: 726–734.
7. Amaral, V., Penha-Lopes, G., Paula, AJ., 2009. RNA/DNA ratio of crabs as an indicator of mangrove habitat quality. Aquatic Conservation Marine and Freshwater Ecosystems, 19: 56–62.
8. Buckley, L., Caldarone, E., Ong, T.L., 1999. RNA-DNA ratio and other nucleic acid-based indicators for growth and condition of marine fishes. Hydrobiologia, 401: 265-277

9. Clemmesen, C.M.,1988. A RNA and DNA fluorescence technique to evaluate the nutritional condition of individual marine fish larvae. Meeresforsch, 32: 134—143.
10. Dortch, Q., Todd, L., Roberts, J.R., Clayton, Jr., Ahmed, S.I., 1983. RNA/DNA ratios and DNA concentrations as indicators of growth rate and biomass in planktonic marine organisms. Marine Ecology-Progress Series, 13: 61-71.
11. Foley, C.J., Bradley, D.L., Hook, T.O., 2016. A review and assessment of the potential use of RNA:DNA ratios to assess the condition of entrained fish larvae. Ecological Indicators, 60:346-357.
12. Grimm, C., Lehmann, K., Clemmesen, C., Brendelberger, H., 2015. RNA/DNA ratio is an early responding, accurate performance parameter in growth experiments of noble crayfish *Astacus astacus* (L.). Aquaculture Research, 46: 1937–1945.
13. Hufnagl, M., Temming, A., 2018. Are the RNA: DNA ratio and dry-weight-at-length suitable growth proxies for brown shrimps (*Crangon crangon*)? Scientia Marina, 82(1):43-54.
14. Labh, Sh.N., 2015. RNA: DNA Ratio and Growth Performance of Rohu *Labeo rohita* (Hamilton) Fed Varied Proportion of Protein Diet during Intensive Aquaculture. International Journal of Life Sciences, 9(6): 113–122.
15. Mohammadi, H., Khara, H., Kazemi, R., 2015. Effect of different doses of synthetic hormone LHRH-A2 on serum sex hormones, ovulation percent and egg hatching rates of Persian sturgeon, *Acipenser persicus*, Croatian Journal of Fisheries, 73: 58-62.
16. Raae, A.J., Opstad, I., Kvenseth, P., Walther, B.Th., 1988. RNA, DNA and protein during early development in feeding and starved cod (*Gadus morhua* L.) larvae. Aquaculture, 73: 247- 259.
17. Rooker, J.R., Holt G.J., 1996. Application of RNA: DNA ratios to evaluate the condition and growth of larval and juvenile Red drum (*Sciaenops ocellatlcs*). Marine and Freshwater Research, 47: 283-90.
18. Rooker, J.R., Holt, G.J., Holt, S.A., 1997. Condition of larval and juvenile red drum (*Sciaenops ocellatus*) from estuarine nursery habitats. Marine Biology, 127: 387–394.
19. Stierhoff, K.L., Targett, T.E., Power, J.H., 2009. Hypoxia-induced growth limitation of juvenile fishes in an estuarine nursery: assessment of smallscale temporal dynamics using RNA: DNA. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 66:1033–1047.
20. Tanaka, Y., Gwak, W.S., Tanaka, M., Sawada, Y., Okada, T., Miyashita, S., Kumai, H., 2007. Ontogenetic changes in RNA, DNA and protein contents of laboratory-reared Pacific bluefin tuna *Thunnus orientalis*. Fisheries Science, 73: 378–384.
21. Tillner, R., Assheuer, T., Rennert, B., Trubiroha, A., Clemmesen, C., Wuertz, S., 2015. Evaluation of an improved RNA/DNA quantification method in a common carp (*Cyprinus carpio* Linnaeus 1758) larval feeding trial with *Artemia*, two nematodes (*Panagrellus redivivus* Linnaeus 1758, *Panagrolaimus* sp. Fuchs 1930) and dry feed. Applied Ichthyology, 31(3), 466-473.
22. Tong, X.H., Liu, Q.H., Xu, S.H., Li, J., Xiao, Z.Z., Ma, D.Y., 2010. Changes in RNA, DNA, protein contents and growth of turbot *Scophthalmus maximus* larvae and juveniles. Journal of Fish Biology, 77: 512–525.
23. Ueberschar, B., Clemmesen, C., 1992. A comparison of the nutritional condition of herring larvae as determined by two biochemical methods-tryptic enzyme activity and RNA/DNA ratio measurements. ICES Journal of Marine Science, 49(2): 245-249.
24. Westerman, M., Holt, G.J., 1994. RNA: DNA ratio during the critical period and early larval growth of the red drum *Sciaenops ocellarus*. Marine Biology (Berlin), 121: 1-9.
25. Wright, D.A., Hetzel, E.W., 1985. Use of RNA: DNA ratios as an indicator of nutritional stress in the American oyster,

Crassostrea virginica. Marine Ecology Progress Series, 25:199-206.

26. XiaoDi, S., Li, L., Hua, W., Wen, G., QingShui, W., Hui, X., 2009. Study on isoleucine requirement for juvenile grass carp, *Ctenopharyngodon idellus*. Journal of Fisheries of China, 33(5): 813–822.
27. Zehra, S., Khan, M.A., 2013. Dietary arginine requirement of fingerling Indian major carp, *Catla catla* (Hamilton). Journal of the World Aquaculture Society, 44: 363–373.
28. Zehra, S., Khan, M.A., 2015. Dietary tryptophan requirement of fingerling *catla catla* (Hamilton) based on growth, protein gain, RNA/DNA ratio, haematological parameters and carcass composition. Aquaculture Nutrition, 21:690-701.

رابطه میزان غلظت برخی عناصر با شاخص‌های رشد در بافت‌های کبد و عضله ماهی سیاه کولی (*Vimba persa*) در فصول مختلف از سواحل جنوب غربی دریای خزر

مسعود ستاری [۱و۲*]، سکینه مجیدی[۱]، جاوید ایمانپور نمین[۱]، مهدی بی‌باک[۱]، محمد فروهر واجارگاه[۱]، اکبر نصرالله زاده[۱]

۱- گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه سرا، ایران

۲- گروه علوم دریایی، پژوهشکده حوضه آبی دریای خزر، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۲/۱۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۴/۲۳

چکیده

در این مطالعه غلظت ۳۶ عنصر مختلف ازجمله عناصر سمی و غیر سمی در بافت کبد و عضله سیاه کولی *Vimba persa* بررسی شد. همچنین، ارتباط بین تجمع این عناصر با شاخص‌های رشد (درازا، وزن، ضریب چاقی و شاخص کبدی) بررسی شد. تعداد ۸۲ قطعه ماهی در فصول صیادی (پاییز ۱۳۹۶ - بهار ۱۳۹۷) از سه ایستگاه آستارا، انزلی و کیاشهر در سواحل جنوب غربی دریای خزر تهیه شد. اندازه‌گیری عناصر با استفاده از دستگاه ICP- OES انجام شد. در بین عناصر اندازه‌گیری شده در بافت عضله و کبد، بالاترین مقدار مربوط به فلز فسفر بود که به‌ترتیب (۳۴۹/۵۴±۱۱۴/۶۳) ppm و (۱۹۱/۵۸±۹۸/۴۵) ppm بود. پس از فسفر در بافت کبد بیشترین میانگین عناصر به ترتیب مربوط به گوگرد (۱۴۴/۷۷)، پتاسیم (۱۴۱/۱۹)، سدیم (۷۱/۵۶)، کلسیم (۵۰/۱۵)، منیزیم (۲۰/۵۲) به‌دست آمد. بررسی رابطه مقدار عناصر بافت با درازای ماهی نشان داد در تعدادی از عناصر رابطه معنی‌دار بود و همچنین، بین غلظت عناصر با وزن، ضریب چاقی و شاخص کبدی ارتباط معنی‌دار وجود داشت ($P<0.05$). بر اساس نتایج به‌دست‌آمده Ag، Ba، Be، Bi، Ce، La، Li، Mn، Mo، Sc، Sn، Th، Ti، W، Y در هر سه فصل پایین‌تر از حد تشخیص بودند.

کلمات کلیدی: عناصر کمیاب، شاخص‌های رشد، ماهی سیاه کولی، دریای خزر.

* عهده‌دار مکاتبات (✉). msattari647@gmail.com

مقدمه

دریای خزر بزرگ‌ترین دریاچه بسته جهان است که بیش از ۴۰ درصد آب‌های داخلی جهان را دارا می‌باشد. پنج کشور آذربایجان، ایران، قزاقستان، روسیه و ترکمنستان در حوضه این دریا قرار دارند و به سه بخش شمالی، مرکزی و جنوبی (عمدتاً سواحل ایران) تقسیم می‌شود (Aubrey *et al*., 1994). از بین کشورهای حاشیه خزر، روسیه، آذربایجان و ایران به‌ترتیب بیشترین حجم آلودگی را وارد خزر می‌کنند. دریای خزر به دلیل فرایندهای تکنولوژیک صنایع فعال در پهنه آبی و ساحلی، تخلیه آب توازن کشتی، عدم کنترل ورود پساب‌های صنعتی، کشاورزی و شهری و پیشروی غیراصولی خشکی در دریا، در معرض آلودگی شدید می‌باشد (امینی رنجبر ، ۱۳۷۳).

رود ولگا و انشعابات آن عامل بیش از ۹۰٪ آلودگی‌های خزر است. غلظت مواد آلاینده همچون هیدروکربن‌های نفتی و برخی عناصر کمیاب در این رودخانه به بیش از ۱۰ برابر حد مجاز استانداردهای جهانی می‌رسد (UNEP, 2006). به دلیل محصور بودن دریای خزر، زمان ماندگاری آلاینده‌های مختلف ورودی بسیار طولانی است، به‌گونه‌ای که تصفیه آلاینده‌ها به‌کندی صورت می‌گیرد. به همین دلیل، دریای خزر ازنظر بوم شناسی موقعیت حساس و آسیب‌پذیری دارد (Yaghobzadeh *et al*., 2014). سیاه کولی (*Vimba persa*) به خانواده کپور ماهیان (Cyprinidae) تعلق داشته، بومی دریای خزر است که در تمامی سواحل از شمال تا جنوب و از شرق تا غرب مشاهده می‌شود (Berg, 1949). این‌گونه طبق طبقه‌بندی IUCN[1] یکی از ذخایر در معرض تهدید دریای خزر است (کیابی و همکاران، ۱۳۷۸). این‌گونه در آب‌های شیرین و لب‌شور زندگی می‌کند (Ried, 2004).

زیستگاه اصلی آن در حوضه‌های آبریز دریای سیاه، بالتیک، آزوف، دریای شمال و دریای خزر می‌باشد (Cazemier and Hessen, 1989; Hesse, 2000). در سواحل استان گیلان و مخصوصاً تالاب انزلی مقدار آن بیشتر از مناطق جنوب شرقی دریای خزر است (کیابی و همکاران، ۱۳۷۸). به‌طورکلی ماهی و دیگر جانداران دریایی برای سوخت و ساز طبیعی خود عناصر ضروری مورد نیاز را از آب، غذا یا رسوبات جذب می‌کنند. در این فرایند عناصر سنگین غیرضروری نیز جذب و در بافت‌های ماهی ذخیره می‌شود (Pourang, 1995 و Saei-Dehkordi, 2011). عناصر سنگین به‌عنوان یکی از آلاینده‌های محیطی سبب کاهش رشد، تغییر رفتار، تغییرات ژنتیکی و مرگ‌ومیر در آبزیان می‌شوند. این اثرات سبب زوال زیستی آبزیان می‌شود. نابودی یا کاهش گونه‌ای خاص، سبب تغییر در بوم‌سازگان آبی شده و توازن آن‌ها را بر هم می‌زند (Mance, 1990)؛ لذا با مصرف جانوران و آبزیانی که در معرض این عناصر زندگی می‌کنند، انسان مبتلابه انواع بیماری‌های شناخته‌شده و یا ناشناخته می‌شود. بیماری‌هایی مانند سرطان، بیماری‌های اعصاب، همچنین آسیب‌هایی مانند سقط و ناقص‌الخلقه شدن جنین، آسیب به اسپرم و کاهش باروری ازجمله مشکلاتی هستند که توسط عناصر سنگین ایجاد می‌شوند

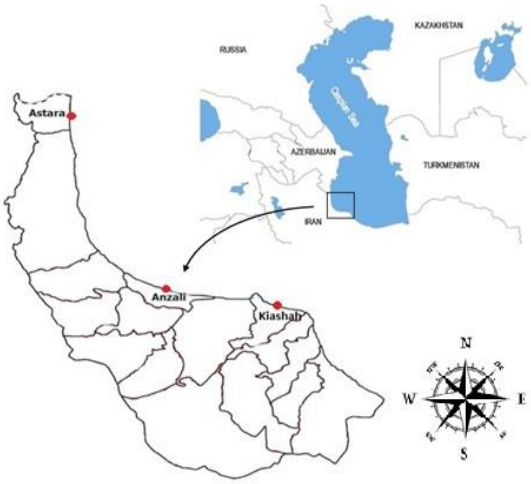
1 - IUCN: International Union for Conservation of Nature

(Watterson, 1998). مطالعاتی در این زمینه انجام‌شده است که در این میان می‌توان به مطالعه Anan و همکاران در سال ۲۰۰۵، Canli و همکاران در سال ۲۰۰۳، Burger و همکاران در سال ۲۰۰۷، Gašpić و همکاران در سال ۲۰۰۲ و عبدالمالکی و همکاران در سال ۱۳۸۵ اشاره کرد.

افزایش آلودگی‌ها در دریای خزر و اثرات مخرب آلاینده‌های سمی که بیشتر در آب‌های طبیعی یافت می شوند، به‌خصوص عناصر سنگین مانند سرب، کادمیم که ازنظر امکان بروز تلفات در ماهیان از بقیه عناصر نقش بیشتری دارند. بر همین اساس، مطالعه و بررسی غلظت این عناصر بافت‌های عضله (به سبب نقش مهم در تغذیه انسان و لزوم اطمینان از سلامت آن) و کبد (به دلیل نقش کلیدی که در سوخت‌وساز بدن دارد) در سیاه کولی (*V. persa*) که از گونه‌های باارزش و آسیب‌پذیر در دریای خزر و نیازمند حفاظت می‌باشد، ضرورت دارد.

مواد و روش‌ها

برای انجام این بررسی تعداد ۸۲ قطعه سیاه کولی خزری (*V. persa*) طی سه فصل و از سه منطقه انزلی (طول جغرافیایی ۴۹ درجه و ۲۸ دقیقه و عرض جغرافیایی ۳۷ درجه و ۲۸ دقیقه)، آستارا (طول جغرافیایی ۴۸ درجه و ۸۸ دقیقه و عرض جغرافیایی ۳۸ درجه و ۳۰ دقیقه) و کیاشهر (طول جغرافیایی ۴۹ درجه و ۹۸ دقیقه و عرض جغرافیایی ۳۷ درجه و ۴۲ دقیقه) توسط تور پره صید شدند. پس ازآن نمونه‌های ماهی در دمای ۴ درجه به آزمایشگاه منتقل شدند.



شکل ۱: مناطق نمونه‌برداری سیاه کولی

ماهیان صیدشده پس‌از انتقال به آزمایشگاه برای حذف هر نوع آلودگی با آب مقطر شسته شده و زیست سنجی شدند. برای تعیین سن تعدادی فلس از نمونه‌ها جدا شد. تعیین جنسیت ماهیان با توجه به نوع گنادهای (غدد) جنسی پس از کالبد گشایی در زیر میکروسکوپ Olympus (کمپانی Olympus، توکیو، ژاپن) انجام شد. پس از تخلیه امعاواحشا، بافت کبد و قسمتی از عضله ماهی (از ناحیه زیر باله پشتی و بالای خط جانبی) برای سنجش عناصر جدا شد. نمونه‌های جداشده پس از قرارگیری در داخل پلاستیک‌های Zipbag، تا انجام مراحل آزمایشگاهی و شروع سنجش‌ها در دمای ۲۰°C- نگهداری شدند (Lavilla *et al*, 2008).

برای آماده‌سازی نمونه‌ها به منظور هضم شیمیایی، بافت کبد و قسمتی از بافت عضله (بدون پوست و فلس) ماهی و سپس برای سنجش و تعیین سطوح عناصر برداشته شد و به‌طور جداگانه به داخل پتری دیش گذاشته شدند و پس از ثبت مشخصات کامل (Lavilla *et al*., 2008) در آون ۱۰۵ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت تا رسیدن به وزن ثابت، خشک شدند. سپس نمونه‌های خشک‌شده، در داخل هاون چینی کاملاً کوبیده شدند و به‌صورت پودر و یکنواخت درآمدند

(لکزایی و همکاران؛ ۱۳۹۴). برای هضم شیمیایی نمونه‌ها در مورد تعیین عناصر سرب و کادمیم تا حدود نیم گرم از هر نمونه‌ی پودر شده، با ترازوی دیجیتال (با دقت ۰/۰۰۱ گرم) توزین شده و در داخل ارلن ۱۰۰ میلی‌لیتری قرار داده شد. برای هضم شیمیایی نمونه‌ها از اسید نیتریک (HNO_3, Merck, 65%) استفاده شد (ارشد و همکاران؛ ۱۳۹۳). به طوری که به یک گرم از هر یک از بافت‌ها، ۱۰ میلی‌لیتر اسید نیتریک ۶۵٪ اضافه‌شده و در دمای آزمایشگاه به مدت ۵ ساعت برای هضم مقدماتی نگهداری شدند. سپس برای فیلتر کردن نمونه‌های هضم شده از کاغذ صافی (42-Wathman) استفاده شد و با آب دو بار تقطیر حجم نمونه‌ها را در بالن ژوژه به ۲۵ میلی لیتر رساندیم. پس از این مراحل، غلظت عناصر سنگین (Al، Ag، As، Ba، Be، Bi، Ca، Cd، Ce، Co، Cr، Cu، Fe، K، La، Li، Mg، Mn، Mo، Na، Ni، P، Pb، Rb، Sb، S، Si، Sn، Sr، Th، Ti، V، W ، Y و Zn) نمونه‌های آماده‌شده، توسط دستگاه طیف‌سنج گسیل نوری (ICP- OES) سنجش شد. ظروف مورداستفاده در این آزمایش پس‌ازانجام هر آزمایش با اسید نیتریک ۵ ٪ و سپس برای به حداقل رساندن آلودگی‌ها با آب دیونیزه شستشو شدند.

پیش از انجام تجزیه و تحلیل آماری، برای تعیین نرمال بودن داده‌ها از آزمون Kolmogorov-Smirnov استفاده شد. برای مقایسه مقدار عناصر (Pb و Cd) در بافت کبد و عضله از آزمون One-Way ANOVA و برای تعیین رابطه میزان تجمع عناصر سنگین با درازا، وزن، ضریب چاقی و شاخص کبد از ضریب همبستگی Pearson استفاده شد. تأثیر تفاوت منطقه‌ای بین تجمع عناصر در بافت بر اساس آزمون ANOVA ارزیابی شد. در این آزمون، نوع منطقه به‌عنوان عامل مستقل و تجمع عناصر موردبررسی، به‌عنوان عامل وابسته در نظر گرفته شدند و همچنین، با توجه به تأثیر درازای ماهیان در میزان تجمع عناصر، این فاکتور به‌عنوان covariate در نظر گرفته شد.

اثر وضعیت ماهی بر مقدار تجمع عناصر با استفاده از ضریب چاقی تعیین (فرمول ۲-۱) و همچنین شاخص کبدی برای بررسی اثر عناصر بر سلامت ماهی استفاده شد (فرمول ۲-۲).

ضریب چاقی Condition Factor (CF)

(Hung *et al*., 2002)

$$CF = \frac{W}{L^3} \times 100$$ (معادله ۱)

W = وزن ماهی (بر حسب گرم)

L = درازای ماهی (بر حسب سانتی متر)

CF = فاکتور وضعیت (ضریب چاقی)

- شاخص کبدی Hepatosomatic Index (HSI)

(Wahli, 2002)

$$HSI = \frac{w}{W} \times 100$$ (معادله ۲)

HSI =شاخص کبدی (گرم)

w = وزن کبد (گرم)

W = وزن ماهی (گرم)

برای تجزیه‌وتحلیل داده‌ها و انجام آنالیزهای آماری از نرم‌افزار SPSS (version 22) و Excel (2013) استفاده شد و سطح معنی‌دار بودن $P<0.05$ در نظر گرفته شد.

نتایج

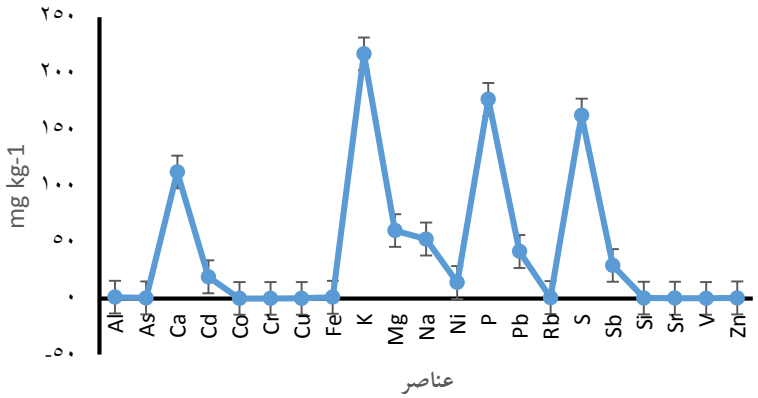
رابطه غلظت با شاخص‌های رشد ارزیابی شد. ماهیان صیدشده در این مطالعه در دامنه سنی (۰+-۳+) سال قرار داشتند که نسبت جنسی ماده به نر ۱/۶۱ به ۱ و غالبیت با جنس ماده بود (جدول ۱).

جدول ۱- نتایج حاصل از زیست سنجی و مقادیر ضریب چاقی و شاخص کبدی در سیاه کولی صیدشده از سواحل جنوب غربی دریای خزر

تعداد	سن	درازای کل (cm)	وزن (g)	ضریب چاقی	شاخص کبدی (٪)
	(±SE میانگین)	(±SE میانگین)	(±SE میانگین)	(±SE میانگین)	(±SE میانگین)
۷۳	۰/۵ ± ۲/۷۵	۲/۳۸ ± ۱۸/۰۵	۳۳/۹۸ ± ۶۵/۶۲	۰/۱ ± ۱/۰۴	۰/۵۱ ± ۰/۹۸
	*(۲ -۳)	(۱۴ -۲۵)	(۳۰ - ۲۰۵)	(۰/۸۱ -۱/۳۱)	(۰/۱۶ - ۳/۱۱)

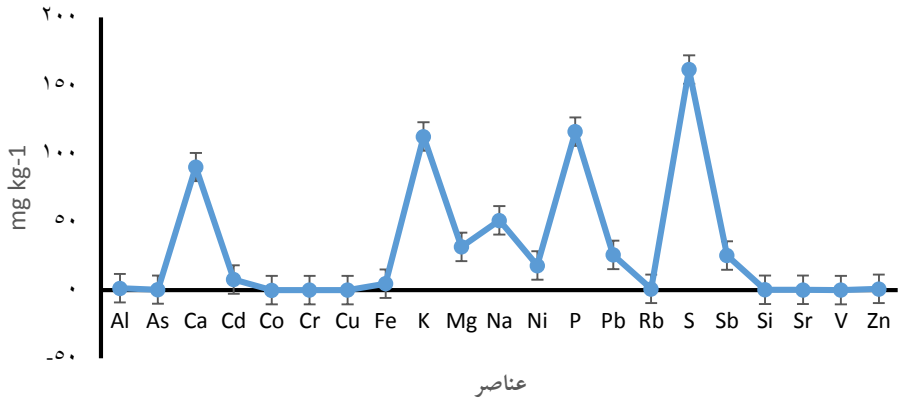
*(اعداد داخل پرانتز دامنه مقادیر ذکرشده را بیان می کند.)

میانگین عناصر در عضله



شکل ۲: میانگین غلظت عناصر در عضله سیاه کولی

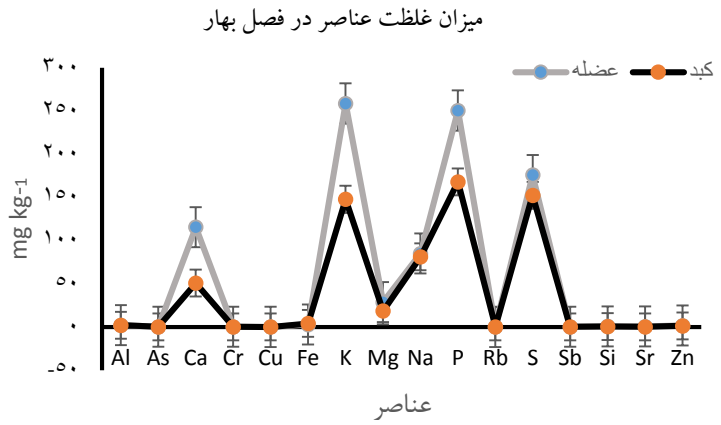
میانگین عناصر در کبد



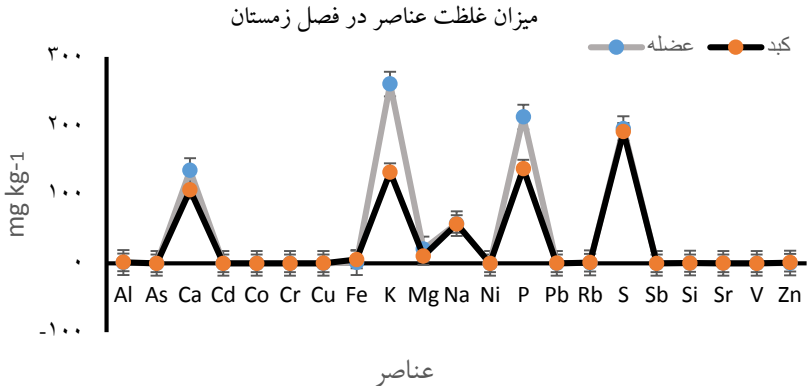
شکل ۳: میانگین غلظت عناصر در کبد سیاه کولی

جدول ۲- غلظت عناصر (SE ± میانگین) برحسب mg/kg وزن خشک، در بافت کبد و عضله سیاه کولی صیدشده از سواحل جنوب غربی دریای خزر

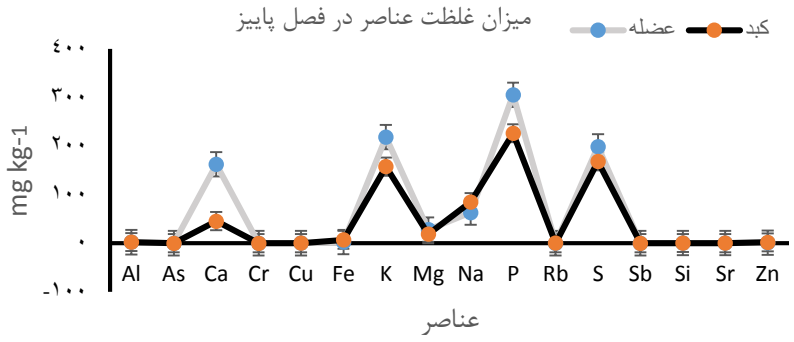
عناصر	درمجموع	کبد	عضله
نقره (Ag)	ND	ND	ND
آلومینیوم (Al)	۱/۹۱±۰/۹۶	۱/۹۴±۱/۱۷	۱/۸۷±۰/۷۳
آرسنیک (As)	۰/۰۶۲±۰/۰۳	۰/۰۳۸±۰/۰۱	۰/۰۷±۰/۰۳
باریم (Ba)	ND	ND	ND
بریلیم (Be)	ND	ND	ND
بیسموت (Bi)	ND	ND	ND
کلسیم (Ca)	۱۵۹/۳۶±۱۷۵/۳۵	۵۰/۱۵±۳۴/۰۱ b	۲۶۸/۵۷±۱۹۲/۵۱ a
کادمیم (Cd)	۰/۰۲±۰/۰۳	۰/۰۱±۰/۰۰۱	۰/۰۵±۰/۰۵
سزیم (Ce)	ND	ND	ND
کبالت (Co)	۰/۰۲±۰/۰۱	۰/۰۱±۰/۰۰۱	۰/۰۲±۰/۰۲
کروم (Cr)	۰/۱۳±۰/۰۲۶	۰/۱۹±۰/۰۳۶ b	۰/۰۷±۰/۰۲ a
مس (Cu)	۰/۲۵±۰/۰۲۷	۰/۳۹±۰/۲۹	۰/۰۷±۰/۰۳
آهن (Fe)	۷/۲۱±۱/۰۱	۱۳/۰۲±۷/۷۷ a	۱/۴۱±۰/۳۹ b
پتاسیم (K)	۱۸۹/۵۹±۷۵/۳۳	۱۴۱/۱۹±۴۶/۸۹	۲۳۷/۹۸±۶۷/۴۵
لانتانوم (La)	ND	ND	ND
لیتیم (Li)	ND	ND	ND
منیزیم (Mg)	۲۵/۴±۱۱/۱۲	۲۰/۵۲±۱۰/۹۱	۳۰/۲۹±۹/۳۳
منگنز (Mn)	ND	ND	ND
مولیبدن (Mo)	ND	ND	ND
سدیم (Na)	۶۸/۸±۳۱/۸۱	۷۱/۵۶±۳۹/۱۶	۶۶/۰۳±۲۳/۶
نیکل (Ni)	۰/۰۵±۰/۰۵	۰/۰۶±۰/۰۶	۰/۰۳±۰/۰۳
فسفر (P)	۲۷۰/۵۶±۱۳۲/۰۹	۱۹۱/۵۸±۹۸/۴۵	۳۴۹/۵۴±۱۱۴/۶۳
سرب (Pb)	۰/۰۶±۰/۰۴	۰/۰۹±۰/۰۵	۰/۰۳±۰/۰۱
روبیدیوم (Rb)	۰/۵۲±۰/۳۴	۰/۵۴±۰/۴۱	۰/۴۹±۰/۲۵
گوگرد (S)	۱۷۳/۱۵±۶۹/۳۴	۱۴۴/۷۷±۶۴/۷۶ b	۲۰۱/۵۴±۶۳/۸۶ a
آنتیموآن (Sb)	۰/۰۶±۰/۰۳	۰/۰۶±۰/۰۳	۰/۰۶±۰/۰۴
اسکاندینیوم (Sc)	ND	ND	ND
سیلیسیم (Si)	۰/۳۵±۰/۱۷	۰/۳۹±۰/۱۸	۰/۳±۰/۱۶
قلع (Sn)	ND	ND	ND
استرانسیم (Sr)	۱/۳۵±۱/۶۸	۰/۲۹±۰/۱۹ b	۲/۴۱±۱/۸۳ a
توریم (Th)	ND	ND	ND
تیتانیوم (Ti)	ND	ND	ND
وانادیوم (V)	ND	ND	ND
تنگستن (W)	ND	ND	ND
یتریوم (Y)	ND	ND	ND
روی (Zn)	۱/۲۸±۰/۷۳	۱/۵۶±۰/۹۲	۰/۹۹±۰/۳۱



شکل ۴: میزان غلظت عناصر در عضله و کبد سیاه کولی در فصل بهار



شکل ۵: میزان غلظت عناصر در عضله و کبد سیاه کولی در فصل زمستان



شکل ۶: میزان غلظت عناصر در عضله و کبد سیاه کولی در فصل پاییز

نمونه‌برداری از ماهیان به‌صورت فصلی انجام شد و غلظت عناصر در کبد و عضله نیز به‌صورت فصلی تعیین شد (اشکال ۴، ۵، ۶).

بحث

در بین عناصر اندازه‌گیری شده در بافت عضله و کبد، بالاترین مقدار مربوط به عنصر فسفر بود که به ترتیب ۱۱۴/۶۳±۳۴۹/۵۴) و۹۸/۴۵±۱۹۱/۵۸ میلی گرم در لیتر بود (جدول ۲ و اشکال ۲و ۳). پس از فسفر در بافت کبد بیشترین میانگین عناصر به ترتیب مربوط به گوگرد، پتاسیم، سدیم، کلسیم، منیزیم، آهن، آلومینیوم و روی گزارش شد. پس از فسفر در بافت عضله بیشترین میانگین عناصر به ترتیب مربوط به کلسیم، پتاسیم، گوگرد، سدیم، منیزیم، استرانسیم، آلومینیوم، آهن، روی، روبیدیوم، سیلیسیم، منگنز، آرسنیک، مس، کروم و قلع بود. در بین بافت‌ها اختلاف معنی‌داری از مقدار عناصر کلسیم، گوگرد، کروم، استرونسیم و آهن وجود داشت. بررسی رابطه مقدار عناصر در بافت با طول ماهی نشان داد که طول بر روی غلظت عناصر آلومینیوم، آرسنیک، باریم ، کلسیم ، کادمیم، کبالت، پتاسیم، آنتیموآن، سیلیسیم و روی تأثیری نداشته است. به‌عبارت‌دیگر، بین افزایش طول با میزان تجمع این عناصر رابطه‌ی معناداری وجود نداشته است (P>0.05) در بقیه عناصر این رابطه معنی‌دار بود (P<0.05).

بررسی رابطه مقدار عناصر در بافت با وزن ماهی نشان داد که در مورد آلومینیوم، آرسنیک، باریم، کلسیم، کادمیم، کبالت، پتاسیم، سیلیسیم و روی، وزن ماهی تأثیری نداشته است. به‌عبارت‌دیگر، بین افزایش وزن با میزان تجمع این عناصر رابطه معنی‌داری وجود نداشته است (P> 0.05). در مورد بقیه عناصر این رابطه معنی‌دار بود (P<0.05).

نتایج Anan و همکاران (2005) بر روی ماهیان استخوانی دریای خزر نشان می‌دهد که به‌طورکلی با افزایش اندازه ماهیان از مقدار تجمع فلزات در بافت عضله کاسته می‌شود. Anan این رابطه را تحت تأثیر فاکتورهای مختلفی مانند نرخ سوخت و ساز بدن و یا رقیق‌شدگی فلزات (dilution) در اثر رشد می‌داند. اما اگر غلظت فلزات در آب افزایش یابد نه‌تنها این کاهش غلظت فلزات در بافت ناشی از رشد و یا کاهش فعالیت سوخت و سازی بدن مشاهده نمی‌شود، بلکه تجمع فلزات در بافت ادامه یافته و ممکن است بین غلظت فلزات در بافت و اندازه ماهی رابطه مثبت برقرار شود (Canli *et al.*, 2003). با وجود این، اگر نرخ رشد موجود زنده سریع‌تر از میزان تجمع فلزات باشد، با افزایش سن و وزن، حتی اگر آلودگی در محیط افزایش یابد، مقدار فلزات در بدن کاهش می‌یابد (Gašpić *et al.*, 2002). بنابراین، می‌توان بیان نمود در این مطالعه افزایش تجمع فلزات در ماهیان همراه با افزایش اندازه، می‌تواند به علت افزایش میزان برخی از آلاینده‌های فلزی در دریای خزر (Anan *et al.*, 2005) و همچنین کاهش نرخ رشد ماهی به دلایلی همچون صید بی‌رویه، تکثیر مصنوعی و از دست رفتن ذخایر ژنتیکی ناشی از آن باشد (عبدالملکی، ۱۳۸۵). همچنین، این ارتباط می‌تواند به دلیل تغییر در رژیم غذایی ماهیان با افزایش سن و روش تغذیه benthopelagic نیز باشد. ازآنجا که برخی از گروه‌های گیاهی و جانوری مانند سخت‌پوستان و نرم‌تنان قابلیت بالایی برای تجمع فلزات و دیگر آلاینده‌ها دارند، لذا می‌توانند به‌عنوان مواد غذایی حامل سبب انتقال فلزات به بدن ماهیان شوند (Burger *et al.*,

2007). با وجود این، عدم وجود رابطه در بدن می‌تواند به دلیل غلظت‌های متفاوت این فلز در مناطق مختلف و همچنین، پایین بودن مقدار آن فلز در بدن ماهی باشد (Alonso *et al*., 2000).

Henry و همکاران (2004) عدم وجود ارتباط بین غلظت فلزات در بافت کبد و اندازه ماهی را ناشی از عوامل مختلفی همچون تفاوت در سوخت و ساز فلزات در گونه‌های مختلف ماهیان و بافت موردبررسی، رقابت، اثرات متقابل بین سن و رشد اندام‌ها و همچنین، میزان در دسترس بودن فلزات در محیط دانستند. اما به‌طورکلی در گونه‌هایی از ماهیان که دارای اندازه‌های کوچک یا متوسط هستند، افزایش اندازه ماهی غالباً تأثیری در غلظت فلزات در بافت‌ها ندارد (Gašpić *et al*., 2002 ;).

بررسی رابطه مقدار عناصر در بافت با ضریب چاقی ماهی نشان داد که در آلومینیوم، آرسنیک، باریم، کلسیم، کادمیم، کبالت، پتاسیم، سیلیسیم، روی و مس بین افزایش ضریب چاقی با میزان تجمع عناصر رابطه معنی‌داری وجود نداشت ($P>0.05$). در بقیه عناصر این رابطه معنی‌دار بود ($P<0.05$).

در مطالعه حاضر بین غلظت فلزات مس و سرب در بافت کبد و مقدار CF رابطه مستقیم ضعیفی مشاهده شد. در مطالعه Farkas و همکاران (2003) بین مقدار ضریب چاقی(CF) و تجمع فلزات مس و سرب در بافت ماهی سیم رابطه منفی وجود داشت که با نتایج این مطالعه هماهنگی ندارد. در مطالعه حاضر بین غلظت فلزات کروم و آهن در بافت کبد و مقدار CF رابطه عکس ضعیفی مشاهده شد. بیان‌شده است که وجود رابطه منفی بین مقدار فلزات در بافت ها و ضریب چاقی (شاخص وضعیت = CF) به اثر رقیق‌سازی محتویات چربی بافت‌ها مربوط است. این فرضیه به‌خوبی با این حقیقت که چربی درصدی از وزن بدن را تشکیل می‌دهد که در ماهیان جوان‌تر کمتر بوده و در طول فصل تخم‌ریزی و زمستان کاهش می‌یابد و در انتهای دوره اصلی تغذیه به بالاترین حد خود می‌رسد، حمایت می‌شود (Shul'man, 1974;Weatherly and Gill, 1987). این تغییرات شاید وجود رابطه منفی بین غلظت فلزات و ضریب چاقی را توجیه کند.

بررسی رابطه مقدار عناصر در بافت با شاخص کبدی ماهی نشان داد که در تمام عناصر رابطه معنی‌دار بوده، به‌طوری‌که تغییرات شاخص کبدی در میزان عناصر زیر به‌ترتیب به صورت زیر بود: در کبالت، بین افزایش شاخص کبدی با میزان تجمع عنصر رابطه معنی‌داری وجود نداشت ($P>0.05$). در بقیه عناصر این رابطه معنی‌دار بود ($P<0.05$). Fernandes (2008) گزارش کرد که افزایش برخی از فلزات همچون کروم سبب کاهش HSI می‌شود که با نتایج مطالعه حاضر هماهنگی دارد.

بر اساس نتایج به‌دست‌آمده Ag، Ba، Be، Bi، Ce، La، Li، Mn، Mo، Sc، Sn، Th، Ti، W، Y در هر سه فصل پایین‌تر از حد تشخیص بودند. عناصر Co، Cd، Na، Pb و V در فصل پاییز و بهار پایین‌تر از حد تشخیص گزارش شد، ولی در فصل زمستان غلظتی از این عناصر گزارش شد. علت این امر را احتمالاً می‌توان به شرایط مختلف محیط دریا در فصول مختلف، رژیم غذایی، منبع تغذیه، سن و نزدیکی محیط زندگی این ماهیان به منابع آلوده‌کننده مربوط دانست.

سپاسگزاری

این مقاله مستخرج از طرح تحقیقاتی پژوهشکده حوضه آبی دریای خزر-دانشگاه گیلان به شماره ۲۱۱۹۵۱۷۰ است.

منابع

۱. امینی رنجبر، غ.، ۱۳۷۳. بررسی میزان تجمع فلزات سنگین (Zn, Cd, Pb, Ni, Cu) در رسوبات سطحی تالاب انزلی. مجله علمی شیلات ایران، ۳: ۵-۲۶.

۲. لکزایی، ف.، بابائی، ه.، خداپرست، س. ح.، ۱۳۹۴. سنجش فلزات سنگین (سرب، کادمیم، روی و مس) در بافت کبد و عضله ماهی کفال طلائی در دو منطقه حوضه جنوب غربی دریای خزر (کیاشهر و تالش). نشریه توسعه آبزی پروری، ۹ (۳) :۵۱-۵۸.

۳. ارشد عما، صادقی راد مرجان، علی اکبر علیرضا، چوبیان فروزان.، ۱۳۹۳. بررسی فلزات سنگین (مس، سرب، کادمیوم و روی) آب در مراحل مختلف تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری مجتمع شهید دکتر بهشتی. نشریه توسعه آبزی پروری، ۸ (۲) :۱-۸.

۴. عبدالملکی، ش. ۱۳۸۵. بررسی روند تغییرات ذخایر ماهی سفید دریای خزر(ایران). مجله علمی شیلات ایران، ۱۵(۲)، ۱۰۰-۸۷.

5. Alonso, D., Pineda, P., Olivera, J., Gonzalz, H., Compos, N., 2000. Mercury levels in muscle of two fish species and sediments from the Cartagena Bay and Cienage Grand the Santa Marta Colombia. Environmental pullotion, 109: 157- 163.
6. Anan, Y., Kunito, T., Tanabe, S., Mitrofanov, I., Aubrey, D.G., 2005. Trace element accumulation in fishes collected from coastal waters of the Caspian Sea. Marine Pollution Bulletin, 51, 882-888. doi.org/10.1016/j.marpolbul.2005.06.038
7. Aubrey, D. G., Glushko, T. A., Ivanov, V.A., 1994. North Caspian Basin: Environmental status and oil and gas operational, 650th ed., Mobil-Oil, Moscow.
8. Berg, L.S., 1949. Freshwater fishes of the U.S.S.R. and adjacent countries. Trady institute Acad, U.S.S.R. (Translated to English in 1962). 2: 469 p.
9. Burger, J., Gochfeld, M., 2007. Risk to consumers from mercury in pacific cod (Godus macrocephalus) from the Aleutians: Fish age and size effect .Environmental Research. 105: 276-284.
10. Canli, M., Atli, G., 2003. The relationships between heavy metal (Cd, Cr, Cu, Fe, Pb, Zn) levels and the size of six Mediterranean fish species. Environmental Pollution, 121: 129–136.
11. Cazemier, W. G., Hessen, M.J., 1989. First record of *Vimba vimba* (Linnaeus, 1758) (Pisces: Cyprinidae) in the Nederlands. Bull. Zool. Museum. 12: 97-100.
12. Farkas, A., Salánki, J., Specziár, A., 2003. Age- and size-specific patterns of heavy metal in the organs of freshwater fish *Abramis brama* L. populating a low-contaminated site. Water Research. 37: 959- 964.
13. Fernandes, D., Bebianno, M.J., Porte, C., 2008. Hepatic levels of metal and metallothioneins in two commercial fish species of the Northern Iberian shelf. Science of the Total Environment, 391: 159-167.
14. Gašpić, Z. K., Zvonarić, T., Vrgoč, N., Odžak, N., Barič, A., 2002.Cadmium and lead in selected tissues of two commercially important fish species from the Adriatic Sea.Water Research. 36: 5023-5028.
15. Henry, F., Amara, R., Courcot, L., Lacouture, D., Bertho, M. L., 2004. Heavy metals in four fish species from the French coast of the Eastern English Channel and Southern Bight of the North Sea. Environment International. 30: 675-683.

16. Hesse, T., 2000. *Vimba vimba* (L.). In: Freshwater fish of Poland. M. Brylinska (Ed.). PWN, Warsaw, Poland, 521 p.
17. Hung, S.S.O. and Deng, D.F., 2002. Sturgeon, Acipenser spp. In: Webster, C.D. Lim, C (Eds), Nurient Requirements and Feeding of Finfish for Aquaculture. CABI Publishing, Walligford, UK: 344-357.
18. Lavilla, I., Vilas, P. and Bendicho, C., 2008. Fast determination of arsenic, selenium, nickel and vanadium in fish and shellfish by electrothermal atomic absorption spectrometry following ultrasound-assisted extraction. Food Chemistry, 106: 403-409.
19. Mance, G., 1990. Polluted threat of heavy metals in aquatic environments, Elsevier Applied Science, London, UK, 372 p.
20. Pourang, N., 1995. Heavy metal Bioaccumulation in different tissues of two fish species with regards to their feeding habits and tropic levels. Environmental Monitoring and Assessment, 35: 207-216.
21. Riede, K., 2004. Global register of migratory species from global to regional scales. Final Report of the R and D-Project 80805081, Federal Agency for Natural Conservation, Bonn, Germany, 329 p.
22. Saei-Dehkordi S.S., Fallah A.A., 2011. Determination of copper, lead, cadmium and zinc content in commercially valuable fish species from the Persian Gulf using derivative potentiometric stripping analysis. Microchemical Journal, 98: 156-162.
23. Shul'man, G.E., 1974. Life cycles of fish. Wiley, New York, 258 p.
24. United Nations Environment Programme (UNEP)., 2006. Stolberg, F., Borysova, O., Mitrofanov, I., Barannik, V. Eghtesadi, P. Caspian Sea, GIWA Regional assessment 23. University of Kalmar, Kalmar, Sweden, 92 p.
25. Wahli, T., 2002. Approaches to investigate environmental impacts on fish health Bull. Europ. Association of Fish Pathology, 22:126- 132.
26. Watterson, A., 1998. Toxicology in the working environment. Environment Toxicology: Current Development, Gordon and Breach Science Publishers, Amsterdam, pp. 225-252.
27. Weatherly, A.H., Gill, H.S., 1987. The biology of fish growth. Orlando, FL: Academic Press, 443 p.
28. Yaghobzadeh, Y., Hossein-Nezhad, M., Asadi-Shiran, G., Pourali, M., 2014. An investigation of lead concentration in *Rutilus frisii kutum* form the Caspian Sea: Case study of Bandar Anzali and Roodsar, Iran. Journal of Mazandaran University of Medical Sciences. 23(110), 102–108 [In Persian].

ارزیابی عوامل آمیخته بازاریابی بازار بزرگ ماهی تهران از دیدگاه فروشندگان

افشین عادلی[۱*]، خدیجه علیدوستی[۱]، معظمه کردجزی[۱]، محسن واحدی[۲]، حسین اعرابی[۳]

۱-گروه فرآوری محصولات شیلاتی، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

۲-گروه آمار حیاتی، دانشگاه علوم بهزیستی و توانبخشی، تهران، ایران

۳- سازمان مدیریت میادین میوه و تره بار شهرداری تهران، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۱/۲ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۳/۲۳

چکیده

ارزیابی عوامل آمیخته بازاریابی بزرگ‌ترین بازار ماهی ایران از دید فروشندگان با جمع‌آوری داده‌ها از طریق پرسشنامه در سال ۱۳۹۸ انجام شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از آمار توصیفی و آزمون فریدمن استفاده شد. نتایج نشان داد، از دید فروشندگان، مشتریان، خرید مداوم از یک غرفه یا مکان مشخص را خیلی زیاد ترجیح می‌دهند و بالاترین اولویت خرید ماهی آنان قزل‌آلا بوده و ماهیان جنوب، میگو، ماهیان پرورشی گرم‌آبی و ماهیان دریای شمال در اولویت‌های بعدی خرید هستند. در بررسی شاخص‌های موثر بر آمیخته بازاریابی از دیدگاه فروشندگان این بازار، به ترتیب بهداشت محصول، ارزش درک شده محصول، نحوه تمیز و خردکردن ماهی و سپس معرفی بازار در بیلبورد، رسانه و نشریات بالاترین رتبه‌ها را در ۴ آمیخته محصول، قیمت، مکان و تبلیغ بر عهده دارند. بنابراین فروشندگان، این شاخص‌ها و آمیخته مکان را از عوامل اصلی فروش و رونق بازار بعثت می‌دانند که می‌تواند قابل توجه شهرداری و نهادهای تصمیم ساز باشد.

کلمات کلیدی: آمیخته بازاریابی، فروش، تهران، بازار بعثت، بازار ماهی.

* عهده‌دار مکاتبات (✉). *afshinadeli@gau.ac.ir*

مقدمه

غذاهای دریایی سرشار از پروتئین با بافت پیوندی اندک و هم‌چنین ویتامین‌ها و مواد معدنی و ترکیبات مفید هستند، و به دلیل وجود اسیدهای چرب امگا-۳، وفور اسیدهای آمینه (لیزین و متیونین)، آنتی اکسیدان و ماده تورین و سایر عناصر ارزشمند، نقش مؤثری در تأمین سلامت مصرف‌کنندگان دارند (عادلی، ۱۳۹۴). گوشت ماهی حاوی مواد معدنی و ویتامین و درصد بالایی آب (۶۰-۸۶٪) است که مصرف آن می‌تواند نقش بسزایی در سلامت جامعه داشته باشد (Cirkovic *et al.*, 2002). امگا-۳ از طریق مکانیزم آریتمی، و کاهش لخته‌گی خون، خطر ابتلا به حمله قلبی و سکته مغزی را کاهش می‌دهد (Roosen *et al.*, 2009). بطوری‌که مصرف ماهی به پیشگیری و درمان آلزایمر، حمله و سکته مغزی، آسم، انواع سرطان و دیابت نیز کمک می‌کند(عادلی، ۱۳۹۴). حدود نیم قرن حاضر، روند رو به رشد مصرف آبزیان در ایران بیش‌تر از جهان بوده اما با این وجود، سهم مصرف آبزیان و فراورده‌های حاصل از آن در سبد غذایی خانوارهای ایرانی در مقایسه با مصرف سرانه جهان (۲۰/۲ کیلوگرم) (FAO, 2018) و هم‌چنین مصرف سرانه سایر پروتئن های حیوانی در ایران بسیار پایین است. متوسط سرانه مصرف آبزیان در کشور۱۱/۲ کیلوگرم در سال ۱۳۹۶ بوده است که در سال ۱۳۸۹ برای مردم تهران ۱۳/۳ کیلوگرم بدست آمده است (Adeli و همکاران، ۲۰۱۱). امروزه به منظور موفقیت در بازارها، فهمیدن ارزش‌های مصرفی مشتریان و تأثیر آن‌ها بر رفتار مصرف‌کنندگان از موضوعات حیاتی می‌باشد. با توجه به تغییر ارزش‌های مصرفی در بازار و وجود ویژگی‌های مختلف مشتریان بر مبنای ارزش‌های مصرفی متفاوت، بازاریابان باید نسبت به انواع نیازهای مصرفی و رفتار انتخاب محصولات در بخش-های مختلف بازار، حساس و مطلع باشند (حیدرزاده و حسنی پارسا، ۱۳۹۱). امکانات فیزیکی و زیرساختی در اکثر بازارهای ماهی، نامناسب و اطلاعات تولیدکنندگان از مسائل بازار؛ کم شناسایی شده است (شویک‌لو، ۱۳۸۴). نگهداری و بازاررسانی آبزیان نیز به دلیل ویژگی فسادپذیری بالاتر آن نسبت به سایر محصولات غذایی دشوار است (غفاری و همکاران، ۱۳۹۳). زمانی می‌توان بازار مناسبی برای آبزیان در کشور داشت که علاوه بر نیاز مردم، دسترسی اقتصادی، فیزیکی و تقاضا برای آنان نیز وجود داشته باشد (عادلی، ۱۳۸۳).

کلان شهر تهران به عنوان مقصد سهم عمده توزیع و مصرف آبزیان کشور قابلیت زیادی برای تحقیقات بازاریابی دارد. عوامل فراوانی در گرایش مصرف-کنندگان به مصرف ماهی و آبزیان وجود دارد که تازگی و کیفیت، قیمت و مکان توزیع و شیوه عرضه در زمره مهم‌ترین عوامل قرار دارند. بدلیل اینکه خرید غذاهای دریایی بطور عمده از خرده فروشی صورت می گیرد؛ این ضرورت ایجاد می‌شود که آبزیان در مکان بهداشتی و شکل مناسب و آسان به مصرف‌کنندگان عرضه شوند. عرضه صحیح و مناسب آبزیان نقش اساسی در تغییر و بهبود الگوی مصرف جامعه و رویکرد عمومی به استفاده از محصولات آبزیان دارد (غفاری و همکاران، ۱۳۹۳). برای دسترسی همگانی به آبزیان و برقراری امنیت غذایی از طریق آن، آشنایی با شرایط محیطی بازار در کشور لازم است. لذا انجام تحقیقات بازاریابی به منظور آشنایی با نیاز متقاضیان متنوع و جلب رضایت آنان از طریق نزدیک ساختن فروشندگان، خریداران و مصرف-کنندگان باید مورد توجه قرار گیرد (عادلی، ۱۳۹۲الف). مطالعه و بررسی عوامل مؤثر بر رفتار مصرف‌کنندگان،

باعث دستیابی به شناخت و درک رفتار آن‌ها می‌گردد (صفرزاده و همکاران، ۱۳۹۰). اطلاعات جامع و به روز درباره نگرش و ادراک مصرف‌کنندگان نسبت به مصرف ماهی و به ویژه عواملی که هنگام خرید و مصرف ماهی مؤثرند، شاخص‌های بسیار مهمی در تضمین برآورده کردن نیازهای مصرف‌کنندگان می‌باشند (Cardoso *et al.*, 2013).

رفتار مصرف‌کننده تحت تأثیر عوامل درونی و بیرونی شکل می‌گیرد. به منظور شناخت این جریان دائمی در حال تغییر و ایجاد یک آمیخته بازاریابی مناسب برای یک بازار تعریف شده، مدیران بازاریابی باید شناخت دقیقی از رفتار مصرف‌کننده داشته باشند (صفرزاده و همکاران، ۱۳۹۰) و بطور یقین فروشندگان با این رفتار آشنایی بیشتری دارند. تغییرات بازاریابی، ناشی از الگوهای مصرف و سلیقه افراد است. بازاریابان باید همواره رفتار مصرف‌کنندگان را به دقت مورد بررسی و تجزیه و قرار دهند، زیرا اگر محصول نتواند نظر مصرف‌کننده را جلب نماید، شکست در بازار حتمی است (کاتلر و آرمسترانگ، ۱۳۸۶). آگاهی فروشندگان نیز از خواسته‌های مشتریان بسیار حایز اهمیت است. آمیخته بازاریابی یکی از ابزارهای مهم در برنامه‌ریزی و سیاست‌گذاری در حوزه بازاریابی است که بنگاه یا صنعت می‌کوشد با انجام آن‌ها در میزان تقاضای محصولاتش اثرگذارد (Low and Tan, 1995). آمیخته بازاریابی مجموعه متغیرهای قابل کنترلی است که تولید کننده می‌تواند از آن‌ها در جهت ایجاد رضایت در بازار هدف خود، بهره بگیرد و می توان ان را در ۴ بعد محصول، قیمت، مکان یا توزیع و تبلیغ خلاصه نمود (Perreault *et al.*, 2017) این عوامل که به ۴p معروف هستند، عناصر کلیدی و مهم بازاریابی محسوب می‌گردند (چیت سازیان و چیت سازیان، ۱۳۸۹).

قیمت، تنها عنصر در آمیخته بازاریابی است که درآمد ایجاد می‌کند، در حالی که سایر عناصر، هزینه ای هستند (عادلی، ۱۳۹۲ب). قیمت محصول همواره با محصولات مشابه مقایسه شده و با ادراک و برداشت مشتریان از خصوصیات و مزایای آن محصول ارتباط مستقیم دارد (روستا و همکاران، ۱۳۸۳). هم‌چنین معیاری برای تصمیم‌گیری بوده و قابل پذیرش بودن محصول را با توجه به محدودیت‌های مصرف‌کننده تعیین می‌نماید (Sethuraman and Gielens, 2014). قیمت به عنوان یک عامل تاثیرگذار در برداشت مصرف‌کننده از کیفیت انواع کالاها محسوب می‌شود (هاوکینز، ۱۳۸۵).

توزیع در راهبرد بازاریابی تعیین‌کننده این است که مشتری بتواند محصول را در بهترین مکان و مناسب‌ترین زمان مورد نیاز، دریافت نماید (محب‌علی و فرهنگی، ۱۳۷۷). آبزیان به دلیل ویژگی‌های خاص، مستلزم شبکه توزیع کوتاه و سریع و در غیر آن فراوری، و شبکه توزیع مربوط به خود هستند (عادلی، ۱۳۹۲ب). شرکت‌ها از طریق تبلیغات، پیشبرد فروش، فروش شخصی و روابط عمومی مردم را به خرید محصول تشویق می‌کنند (کاتلر و آرمسترانگ، ۱۳۸۶). تأثیر روش‌های تبلیغی با یکدیگر متفاوت هستند و هر کدام از این روش‌ها ویژگی‌های منحصر به فردی دارد که عامل تعیین کننده در انتخاب هر یک محسوب می‌گردد (Linsen, 1993).

بازار ماهی بعثت که در جنوب شهر و در منطقه ۱۵ شهرداری تهران واقع شده است بزرگ‌ترین بازار ماهی کشور محسوب می‌شود. این بازار دارای ۲ سوله و ۴۰ غرفه ۶۰ متر مربعی ماهی‌فروشی می‌باشد. حجم ماهی ورودی این بازار در شش ماه نخست سال روزانه ۱۰۰ تن

و در شش ماه دوم به ۱۳۰ تن و در پایان سال به ۴۰۰ تن می رسد. بر اساس آمار ۷ ساله (۱۳۹۷-۱۳۹۰) سهمی معادل۷۴٪ ماهی پرورشی، ۱۱ ٪ ماهی جنوب و ۵ ٪ درصد ماهیان شمال کشور و ۹ ٪ میگو در این بازار عرضه شده است (سازمان مدیریت میادین تره‌بار شهرداری تهران، ۱۳۹۸). آبزیان این بازار پس از تایید و بازرسی سه دامپزشک مقیم عرضه می‌گردند. ساعت ۵ تا ۸ صبح به صورت عمده فروشی و از ۸ تا ۱۷ به صورت خرده فروشی ماهی در این مکان عرضه می‌گردد.

بر اساس جدول ۱ سهم ماهی پرورشی از ۳۶/۶۹ درصد در سال ۱۳۹۰ به ۳۳/۸۶ درصد در سال ۱۳۹۷ رسیده و ۳/۲ رشد داشته است و میانگین کل برای آن ۷۴/۵ درصد است ولی سهم ماهی شمال از ۹/۵ ٪ در سال ۱۳۹۰ به ۱/۶ ٪ در سال ۱۳۹۷ رسیده که رشد منفی داشته است. در این دوره سهم ماهیان جنوب نیز از ۱۴ ٪ به ۱۰ ٪ رسیده که نشان دهنده رشد منفی ۹/۵ درصد برای این گونه‌ها می‌باشد. سهم ماهی منجمد نیز از ۷ ٪ به ۱/۵٪ رسیده و این محصول نیز طی این ۷ سال رشد منفی در این بازار داشته است. ولی عرضه میگو رشد مثبت ۹/۴ داشته است. میزان درصد عرضه محصولات و سهم رشد هر کدام در دوره حاضر نشان می‌دهد که تنها ماهی پرورشی و میگو به ترتیب ۳/۲ و ۹/۴ درصد در این بازار رشد مثبت داشته‌اند و بقیه دسته‌ها روند کاهشی را طی کرده‌اند.

جدول ۱: آمار میزان عرضه و فروش ۷ سال اخیر بازار ماهی بعثت تهران(سازمان مدیریت میادین میوه و تره بار شهرداری تهران، ۱۳۹۸).

سال /تن	۱۳۹۰	۹۱	۹۲	۹۳	۹۴	۹۵	۹۶	۱۳۹۷
میگو				۱۴۶	۴۴۶	۳۱۶	۷۴۳۶	۱۶۰
ماهی منجمد	۱۲۲۱/۹	۲۱۶۶/۵	۱۶۵۱/۵	۴۴۵۷/۳	۹۱۵۹	۷۴۳۶	۲۰۳۳	۴۰۲/۷
ماهی جنوب	۲۱۹۶/۸	۳۶۵۲	۳۴۱۶/۷	۳۱۳۳/۷	۴۷۰۴/۶	۵۰۶۲	۳۹۶۴	۲۸۰۷
ماهی شمال	۱۵۰۴	۱۲۷۷/۵	۱۵۳۰	۹۵۵	۹۳۸/۵	۷۰۰/۵	۵۵۴۸/۵	۴۵۵/۶
ماهی پرورشی	۱۰۹۲۰	۳۹۵۴۲	۲۶۶۷۰	۲۱۸۵۸	۳۵۴۱۰/۳	۳۲۶۳۹/۵	۲۱۳۴۳	۲۴۱۶۰
جمع	۱۵۸۴۲/۷	۴۶۶۳۸	۳۲۲۶۸/۲	۳۰۵۵۰	۵۰۶۵۸/۴	۴۶۱۵۴	۴۰۳۲۴/۵	۲۷۹۸۵/۳

بر اساس آمار ماهانه ۴ سال اخیر شهرداری تهران نیز عرضه و فروش در ۶ ماه دوم سال نسبت به ۶ ماهه نخست بالاتر است و در اسفند ماه به بالاترین حد خود می‌رسد. این میزان در ماه پایانی سال ۱۳۹۷ نسبت به سال ماقبل آن، ۴۲ ٪ کاهش داشته است.

با وجود تحقیقات وسیع در زمینه رفتار مصرف-کنندگان، درباره تأثیر عوامل آمیخته بازاریابی بر بازار آبزیان ایران و جهان تحقیقات محدودی در دسترس است. از تحقیقات آمیخته بازاریابی در کشور می‌توان به تحقیقات قدوسی و همکاران (۱۳۹۴) در مورد شناسایی اواویت‌بندی عناصر آمیخته بازاریابی مؤثر در صادرات زعفران از دیدگاه کارشناسان، لیاقتی و همکاران (۱۳۹۴) در مورد نقش و تأثیر عناصر آمیخته بازاریابی بر صادرات انار ارگانیک ایران، چیت‌سازیان و چیت‌سازیان (۱۳۸۹) در رابطه با طراحی و رتبه‌بندی مؤلفه‌های آمیخته بازاریابی داخلی فرش دستباف ایران و یوسفی و همکاران (۱۳۸۶) به بررسی وضعیت بازاریابی ورزشی از طریق اینترنت در ایران با تأکید بر 4p، پرداخت. همچنین

می‌توان از تحقیقات عوامل آمیخته بازاریابی صمدی (۱۳۸۷) روی لبنیات، شکرچی‌زاده و قریشی (۱۳۹۱) بر روی کفش، حسین‌زاده و شهرکی (۱۳۹۵) و مهرانی (۱۳۹۶) روی محصولات لبنی، کمالی‌صالح‌آبادی (۱۳۸۸) بر روی محصولات کانون پرورش فکری، زمانی دادانه و همکاران (۱۳۹۴) و آزادی و همکاران (۱۳۹۴) بر روی پوشاک ورزشی و دلدار سارونی و همکاران (۱۳۹۷) بر روی لبنیات نام برد.

در آبزیان نیز تحقیقات دهدشتی شاهرخ و صیدزاده (۱۳۸۵) در رابطه با بکارگیری عناصر ترکیب بازاریابی و بازارپذیری ماهی پرورشی از دیدگاه مصرف‌کنندگان، اسماعیلی و همکاران (۱۳۸۸) در مورد بازاریابی ماهی در استان هرمزگان، نداف و همکاران (۱۳۹۱) به بررسی و رتبه‌بندی نقش عناصر آمیخته بازاریابی در رضایت‌مندی مصرف‌کنندگان ماهی پرورشی در شهرستان خرمشهر و هم‌چنین تحقیقات عادلی و همکاران (۱۳۹۸) به ارزیابی عوامل مؤثر بر روند خرید و فروش بازارهای ماهی بنادر استان گیلان پرداخته‌اند. از تحقیقات خارجی نیز می‌توان به تحقیقات(Mutambuki and Orwa, 2014) (Fitriah *et al.*, 2019)، و (Wongleedee, 2015))اشاره کرد. به هر حال با هدف ارزیابی و اولویت‌بندی عوامل آمیخته بازاریابی در بازار ماهی بعثت تهران از دیدگاه فروشندگان نسبت به خریداران ماهی، تحقیق حاضر انجام شد.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق پس از انجام مصاحبه با صاحب‌نظران و الگوبرداری از پرسشنامه‌های نظیر و بررسی مبانی نظری تحقیق، پرسش‌نامه طراحی گردید. پس از تایید روایی پرسشنامه با توجه به کوچک بودن جامعه آماری از کل جامعه نمونه‌گیری شد. جامعه آماری تحقیق شامل ۲۰ غرفه فعال بازار ماهی بعثت تهران در سال ۱۳۹۸ بود. تجزیه و تحلیل داده‌ها ازطریق نرم افزارآماری $SPSS_{۲۲}$ انجام شد. پرسش‌نامه شامل خصوصیات جامعه‌شناختی افراد از قبیل اطلاعات سن، سطح تحصیلات، رشته تحصیلی، تعداد افراد خانوار و سئوالات فنی متناسب با هدف و فرضیات تحقیق بود. از آمار توصیفی (فراوانی و درصد فراوانی) برای توصیف خصوصیات جمعیت‌شناختی و از آزمون فریدمن برای اولویت‌بندی عوامل آمیخته بازاریابی و عوامل موثر بر آن استفاده شد. درنهایت صحت و عدم صحت فرضیات ذیل مورد آزمون قرار گرفت (هومن، ۱۳۹۸).

فرض H_0 اول: ماهیان گرمآبی در اولویت اول خرید مشتریان ماهی از دید فروشندگان قرار ندارد.

فرض H_1 اول: ماهیان گرمآبی در اولویت اول خرید مشتریان ماهی از دید فروشندگان قرار دارد.

فرض H_0 دوم: علاقه به گونه خاص مهم‌ترین عامل خرید آمیخته محصول مصرف‌کنندگان از دیدگاه فروشندگان نیست.

فرض H_1 دوم: علاقه به گونه خاص مهم‌ترین عامل خرید آمیخته محصول مصرف‌کنندگان از دیدگاه فروشندگان است.

نتایج

با توجه به جدول ۲ بیش از نصف جامعه آماری در رده سنی ۳۵-۲۶ سال قرار داشتند. ۷۰ درصد فروشندگان ماهی بازار بعثت تهران زیر دیپلم و ۲۰ درصد دیپلم داشته‌اند و کمترین فراوانی مربوط به کارشناسی ارشد و دکتری بود که هر کدام یک نفر را شامل می‌شدند.

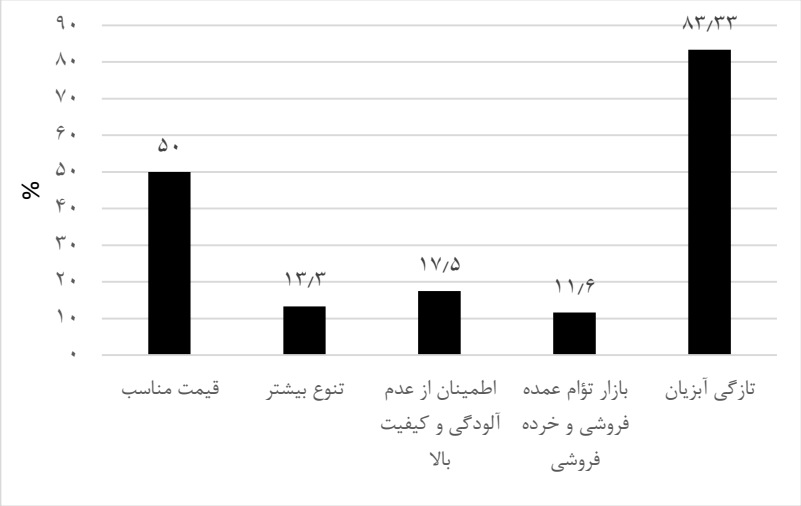
متوسط سابقه اشتغال افراد حدود ۱۵ سال بوده و متوسط خانوار آنها ۴ نفر بود.

در مجموع ۶۸ نفر در غرفه‌ها و بطور متوسط ۳ نفر در هر غرفه شاغل بودند. میزان مصرف ماهی که فروشندگان هر بار به منزل می‌بردند به طور متوسط ۳/۱۵ کیلوگرم و ۵/۵ مرتبه در ماه بود. بطوری که مصرف سرانه آنها ۴۱ کیلوگرم محاسبه شد. تعداد مراجعه‌کنندگان به هر غرفه به طور میانگین روزانه حداقل ۱۴ نفر و حداکثر ۴۰ نفر می باشد و میزان فروش روزانه ماهی هر یک از غرفه‌های بازار به طور میانگین ۲۲۴ کیلوگرم و حداقل ۳۰ و حداکثر ۱۰۰۰ کیلوگرم می‌باشد و به‌طور میانگین ۷۳ درصد فروش بازار خرده‌فروشی بود.

جدول ۲: جامعه شناختی فروشندگان بازار ماهی بعثت (n=۲۰)

متغیر	وضعیت	فراوانی(٪)	متغیر	وضعیت	فراوانی(٪)
سن	۲۶-۳۵	۵۰	تحصیلات	زیر دیپلم	۷۰
	۳۶-۴۵	۳۰		دیپلم	۲۰
	۴۶-۵۵	۲۰		لیسانس	
				فوق لیسانس	۵
				دکترا	۵
میزان سابقه فعالیت	۱-۵سال	۱۰	تعداد افراد خانوار	۲نفره	۱۰
	۶-۱۰سال	۱۰		۳نفره	۱۵
	۱۱-۱۵سال	۱۵		۴نفره	۳۵
	۱۵سال<	۶۵		۵نفره	۳۰
				۷نفره	۵
				۱۱نفره	۵

از دید فروشندگان دلایل خرید مردم از بازار ماهی بعثت تهران به ترتیب اولویت، تازگی آبزیان با حدود ۸۳ درصد بالاترین رتبه را دارا می‌باشد و دلایل دیگری چون قیمت مناسب، اطمینان از عدم آلودگی و کیفیت بالا، تنوع بیشتر و بازار توأم عمده فروشی و خرده فروشی به ترتیب دلایل دیگری هستند که در خرید مردم از این بازار نقش دارند (شکل ۱).



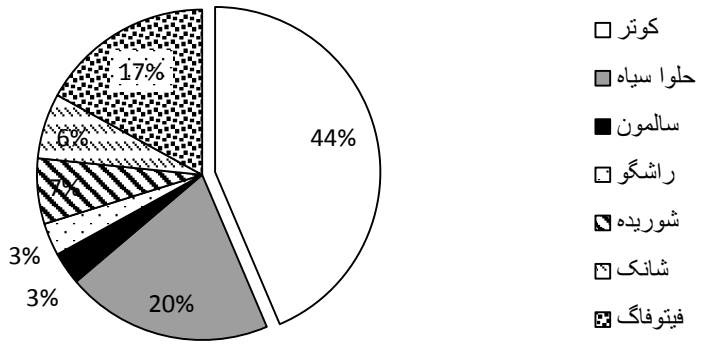
شکل ۱: درصد فراوانی دلایل خرید مصرف‌کنندگان بازار ماهی تهران از دید فروشندگان

بیشترین خرید و فروش بازار بزرگ ماهی تهران ماهیان سردآبی و در واقع قزل‌آلا بود که به معنی رد فرض H_1 اول است. و هم‌چنین ماهیان دریای جنوب، میگو، ماهی پرورشی گرم‌آبی و ماهیان دریای شمال به ترتیب در اولویت‌های بعدی خرید مردم از این بازار هستند.

جدول ۳. مورد دیدگاه فروشندگان نسبت به اولویت خرید ماهی مصرف‌کنندگان

ت خرید	درصد فراوانی اولویت خرید					میانگین	رتبه بر اساس	درجه	فریدمن	سطح
زیان	۵	۴	۳	۲	۱	رتبه	اولویت خرید	آزادی		معنی داری
گرم آبی			۱۵	۴۵	۴۰	۴,۲۵	۴			
سردآبی	۷۰	۲۵	۵			۱,۳۵	۱			
شمال		۵	۵	۳۵	۵۵	۴,۴	۵	۴	۶۴,۲	<۰/۰۰۱
جنوب	۳۰	۷۰				۱,۷	۲			
گو			۷۵	۲۰	۵	۳,۳	۳			

از دید فروشندگان بعد از فروش ماهی قزل‌آلا که ۱۰۰ درصد در رتبه اول آن، هم نظر بودند میگو، کپور و آمور با سهمی یکسان در رتبه هشتم بعد از ۷ گونه ماهی شکل ۳ در رتبه بعدی تقاضای مشتریان از دید فروشندگان قرار داشتند.



شکل۳: درصد علاقه مندی مردم نسبت به انواع گونه های ماهی در بازار بعثت تهران

جدول ۴ نیز نشان می‌دهد در ارزیابی عوامل آمیخته بازاریابی با توجه به آزمون فریدمن (۲۱/۹۶۹) و سطح معنی‌داری (۰/۰۰۱) مکان توزیع بالاترین اهمیت را دارد.

جدول۴: ارزیابی عوامل آمیخته بازاریابی مصرف کنندگان ماهی از دیدگاه فروشندگان

عوامل آمیخته بازاریابی	رتبه						میانگین رتبه	رتبه بر اساس بالاترین علاقه مندی	درجه آزادی	آزمون فریدمن	سطح معنی داری
	۰	۱	۲	۳	۴	۵					
محصول				۱۵	۶۰	۲۵	۳	۲			
قیمت				۳۵	۲۰	۴۵	۱/۴۵	۴			
مکان			۵	۵	۳۵	۵۵	۳/۱۵	۱	۳	۲۱/۹۶۹	<۰/۰۰۱
تبلیغ		۵	۵	۵	۲۰	۶۵	۲/۴	۳			

بر اساس جدول ۵ در رتبه‌بندی شاخص‌های عوامل آمیخته بازاریابی تفاوت معناداری میان اهمیت شاخص‌ها با آزمون فریدمن وجود دارد. پس در آمیخته محصول با آزمون فریدمن ۳۵/۹۴ بالاترین اولویت، بهداشت محصول است و بعد از آن به‌ترتیب کیفیت و تازگی، طعم و مزه ماهی، گونه ماهی و اندازه آن مهم می‌باشند. بر اساس آزمون فریدمن (۱۵/۴۴) ارزش درک شده محصول در آمیخته بازاریابی قیمت، بالاترین اولویت را داراست. در بین شاخص‌های مؤثر بر آمیخته مکان بر اساس دیدگاه فروشندگان نحوه تمیز و خرد کردن ماهی بالاترین رتبه را داشت و پاکیزگی و بهداشت بازار، راحتی بازدید و دسترسی خرید، چیدمان ماهی در پیشخوان و فروش آنلاین (اینترنتی) به ترتیب در رتبه‌های بعدی اهمیت دارند. برای شاخص‌های عامل تبلیغ نیز شاخص معرفی بازار در بیلبورد، رسانه و نشریات بالاترین رتبه را داشت و در مراتب بعدی مشاوره و معرفی وتهیه بروشور از آبزیان،حراج و تخفیف در روزهای ویژه، جشنواره غذا و آموزش طبخ آبزیان و تعیین جایزه و قرعه‌کشی در قبال خرید قرار داشتند.

جدول۵: نتایج آزمون فریدمن شاخص‌های مؤثر بر عوامل آمیخته بازاریابی بازار بعثت تهران

آمیخته	گزینه	درصد فراوانی رتبه‌ها ۱	۲	۳	۴	۵	میانگین رتبه	رتبه بر اساس اولویت	درجه آزادی	آزمون فریدمن	سطح معنی داری
	کیفیت و تازگی			۱۵	۵	۸۰	۳,۷۵	۲			
	طعم و مزه			۲۰	۳۰	۵۰	۳,۳۵	۳			
محصول	اندازه ماهی	۵	۵	۷۰	۲۰		۱,۸	۵	۴	۳۵,۹۴	<۰,۰۰۱
	گونه ماهی		۱۵	۴۵	۲۵	۱۵	۲,۱۷	۴			
	بهداشت* محصول	۵		۵	۵	۸۵	۳,۹۳	۱			
	ارزش درک* شده	۵	۵	۲۰	۵۵	۱۵	۲,۵	۱			
قیمت	قیمت ماهی در بازار	۱۰	۲۵	۵۰	۱۵		۲,۱۳	۲	۲	۱۵,۴۴	<۰,۰۰۱
	درج قیمت روی ماهیان	۵۵	۱۵	۱۰	۱۵	۵	۱,۳۸	۳			
	پاکیزگی و بهداشت بازار			۱۰	۲۰	۷۰	۳,۸	۲			
	چیدمان ماهی در پیشخوان	۱۰	۲۰	۱۵	۲۵	۳۰	۲,۵	۴			
مکان	نحوه تمیز و خرد کردن *			۱۰	۱۵	۷۵	۳,۸۸	۱	۴	۲۸,۱۸	<۰,۰۰۱
	راحتی بازدید و دسترسی خرید			۱۰	۶۵	۲۵	۲,۸۳	۳			
	فروش آنلاین(اینترنتی)	۴۰	۵	۱۵	۱۵	۲۵	۲	۵			
تبلیغ	مشاوره و معرفی وتهیه بروشور از آبزیان	۱۰	۱۰	۵	۳۵	۴۰	۳,۳	۲			
	معرفی بازار در بیلبورد، رسانه و نشریات*	۱۰	۵		۱۰	۷۵	۳,۹۸	۱			
	جشنواره غذا و آموزش طبخ آبزیان	۳۵	۵	۲۰	۱۵	۲۵	۲,۲۳	۴	۴	۳۴,۰۸	<۰,۰۰۱
	تعیین جایزه و قرعه کشی در قبال خرید	۵۰		۱۵	۲۵	۱۰	۱,۹۵	۵			
	حراج و تخفیف در روزهای ویژه	۱۰		۱۰	۳۰	۵۰	۲,۵۵	۳			

- **رتبه اول**

بحث

بطور مسلم رشد منفی میزان عرضه ماهیان دریای خزر در آمار هفت ساله اخیر بازار بعثت تهران ارتباط مستقیمی با کاهش ذخایر و میزان بهره برداری آنها دارد، اما در خصوص رشد کاهشی عرضه ماهیان جنوب نیاز به تحقیقی ویژه در این زمینه است. کاهش رشد جزیی ماهیان منجمد را نیز می‌توان به علاقه و مراجعه مردم به خرید ماهی تازه در بزرگ‌ترین بازار ماهی تهران دانست. دلیل گرایش بالای مردم به ماهی پرورشی و میگو می-تواند افزایش تولید و رشد آبزی‌پروری در کشور باشد.

عادلی و شعبانپور(۱۳۸۶) نیز در بررسی تغییر رفتار مصرفی خانوارهایِ تهرانی نشان دادند که آنان به ماهی سردآبی و ماهیان دریای شمال علاقه‌مندترند و کیفیت و تازگی، بهداشتی بودن محل توزیع بیشترین نقش را در تصمیم برای خرید آنان دارد. در حالی که در این تحقیق فروشندگان اعتقاد داشتند خانواده‌های تهرانی بیشترین علاقه‌مندی را به ماهی سردآبی و ماهیان دریای جنوب دارند و میگو، ماهیان پرورشی گرم‌آبی و ماهیان دریای شمال در رتبه‌های بعدی علاقه‌مندی آن‌ها قرار دارند. با توجه به تحقیق Adeli و همکاران (2010) که تقاضای قزل‌آلا در تهران را ۶۰ درصد دانستند تحقیق نشان داد هنوز قزل‌آلا در اولویت اول دلخواه مصرف‌کنندگان است و عرضه انبوه انواع ماهیان گرمآبی نتوانسته است جایگزین شود. کاهش چشمگیر عرضه ماهی در سال ۱۳۹۷ نسبت به سال ۱۳۹۶ نیز دلیلی جزء کاهش قدرت خرید مردم بدلیل افزایش قیمت ها نخواهد داشت.

هم‌چنین بهداشت محصول و کیفیت و تازگی بالاترین اولویت‌ها از شاخص‌های مؤثر بر آمیخته محصول بودند که از دید فروشندگان، مشتریان به آن‌ها در هنگام خرید توجه ویژه‌ای دارند. تحقیق Adeli و همکاران (2010) نیز نشان داده بود که در ماهیان پرورشی کیفیت و تازگی اولویت اول خریداران محسوب می‌شود. ریحانی پول و همکاران (۱۳۹۸) نیز کیفیت را عامل اول خرید میگو در ایران و حسینی و عادلی (۱۳۹۵) آنرا مهم‌ترین عامل خرید ماهی در شهرستان ساری، Burger و همکاران (2014) در جده عربستان و Thapa و همکاران (2015) در آمریکا دانسته‌اند. در آمیخته مکان نحوه تمیز و خرد کردن و بهداشت بازار در هنگام خرید برای مصرف‌کنندگان از دید فروشندگان بسیار اهمیت دارد. اما عادلی (۱۳۹۲الف) در بررسی عوامل موقعیتی رفتار سه گروه مستقل از خریداران ماهی در تهران بهداشت محیط را عامل اول دانست.

با توجه به شرایط فرهنگی ماهی‌فروشی‌ها در ایران همچون تحقیق عادلی و همکاران (۱۳۹۸) در بنادر استان گیلان، مردان فروشندگان ماهی بودند. در حالیکه در تحقیقی در ایالت بنو نیجریه و ایالت کرالا هند فروشندگان زن نقش مهم‌تری در بازاریابی ماهیان دریایی داشتند (Lawal and Idega, 2004; Mutambuki, and Orwa, 2014). حدود ۶۵ درصد از ماهی‌فروش‌ها بالای ۱۵ سال سابقه و تجربه شغلی داشتند. Ali و همکاران (۲۰۰۸) نشان دادند تجربه بازاریابی در تعیین سطح سود بازاریابان بسیار موثر است. زیرا بازاریابان باتجربه‌تر درک بیشتری از سیستم بازاریابی، شرایط و روند بازار، قیمت‌ها و موارد دیگر داشته و بنابر تجربیات خود می‌توانند نوسانات بازار را پیش‌بینی کرده، بر میزان سود خود افزوده و از میزان ضررهای احتمالی بکاهند. میزان مصرف سرانه ماهی فروشندگان بازار بعثت ۴۱ کیلوگرم بود که این میزان نسبت به میزان سرانه مصرف ماهی، فروشندگان ماهی بنادر استان گیلان عادلی و همکاران (۱۳۹۸) که ۴۵/۳۵ کیلوگرم بود، کمتر است که آن را می‌توان به ذائقه و یا فاصله از ساحل نسبت داد. با این حال میزان مصرف سرانه آبزیان فروشندگان از میزان سرانه مصرف‌کنندگان خانگی و مشتریان بطور طبیعی بیشتر است. در واقع فروشندگان بر این باور بودند که مصرف‌کنندگان ماهی وحشی را به پرورشی ترجیح می‌دهند که با تحقیقات عادلی و همکاران (۱۳۹۸) در بنادر استان گیلان و عقیلی و همکاران (۱۳۸۹) در شهر گرگان مطابقت دارد، ولی

بدلیل قیمت بالاتر آنها ماهیان پرورشی همچون قزل‌آلا در اولویت قرار گرفته است.

نتایج این‌تحقیق نشان داد در مورد فاکتورهای اثرگذار بر عوامل آمیخته بازاریابی قیمت و تبلیغ نیز قیمت ارزش درک شده(قیمت بر اساس کیفیت)، و معرفی بازار در بیلبورد، رسانه و نشریات در اولویت اول قرار دارند، در صورتی که عادلی (۱۳۹۴) عوامل موقعیتی موثر در رفتار مصرف‌کنندگان خانگی در تهران را بهداشت محیط، بو و تهویه محیط، شیوه عرضه، نظافت و پوشش فروشنده و رفتار آن‌ها، شلوغی فروشگاه و طرز چیدمان عنوان نموده بود و تنها با نتیجه آمیخته محصول این تحقیق که بهداشت محیط بود همخوانی داشت.

عوامل آمیخته تأثیرگذار بر مشتریان بازار بعثت به‌ترتیب شامل مکان، محصول، تبلیغ و قیمت، بودند. اما در تحقیقات زمانی دادانه و همکاران (۱۳۹۴) و شکرچی زاده و قریشی (۱۳۹۱) و همچنین در تحقیق لیاقتی و همکاران (۱۳۹۴) مهم‌ترین عوامل تأثیرگذار بر توسعه صادرات انار در بین عوامل آمیخته بازاریابی را به ترتیب قیمت، محصول، توزیع (مکان) و تبلیغ دانستند. چیت سازیان و چیت سازیان (۱۳۸۹) در رابطه با بازاریابی داخلی فرش دستباف ایران عوامل آمیخته بازاریابی تبلیغ، محصول، قیمت و در نهایت توزیع را به ترتیب بر بازار اثرگذار دانستند.

Mutambuki, and Orwa (2014) با هدف پرورش ماهی تجاری در کیتوئی کنیا روی ۴ عامل اصلی موثر بر بازاریابی شامل نام تجاری، تبلیغات فروش، صلاحیت (آموزش کافی برای فروشندگان) و موقعیت بازار کار کرد و نشان داد بیشترین میزان فروش ماهی آن‌ها به شکل فروش شخصی با فراوانی ۷۴٪ بوده و۲۰/۵٪ فروش از طریق تبلیغات، ۱/۵٪ فروش از طریق تلفن همراه و ۴٪ از میزان فروش در نمایشگاه‌ها بوده است. با این حال نتایج نشان داد تبلیغات ناکافی بر بازاریابی مؤثر محصول ماهی تأثیر بسزایی دارد همچنین کشاورزان اظهار داشتند که روش‌های ضعیف فروش، عدم آموزش و ارتباط کم، دلایل اصلی پایین بودن فروش است. قرار گرفتن در بازار(موقعیت مکانی) بر بازاریابی تأثیر دارد و ۸۶/۵٪ از پرورش دهندگان معتقد بودند موقعیت مکانی بازار بر افزایش سود آن‌ها می‌افزاید. در این تحقیق نیز مکان یا بازار بعثت مهم‌ترین عامل آمیخته بازاریابی از دید فروشندگان بود.

Wongleedee (2015) در مطالعه آمیخته بازاریابی و رفتارهای خرید محصولات عمومی در بازارهای سنتی بانکوک نشان داد مصرف‌کنندگان نسبت به قیمت کالاها از نظر کیفیت، قیمت ارزش درک شده، چانه‌زنی قیمت، قیمت‌گذاری و استاندارد نگرش مثبت دارند. با توجه به فروشندگان و عناصر مکان بازار، مصرف کنندگان، نظافت و رفتار فروشندگان و هم‌چنین موقعیت و محیط بازار را در هنگام خرید درنظر می‌گرفتند و ۱ بار خرید در هر ۳ ماه دلیل نگرش مثبت مصرف‌کنندگان نسبت به ترکیب بازاریابی قیمت و مکان بود. بطوری که نگرش مصرف‌کنندگان نسبت به قیمت و مکان با مقدار خرید در هفته رابطه داشت.

Fitriah و همکاران (2019) در تأثیر عوامل آمیخته بازاریابی بر عملکرد کسب و کار آبزی‌پروری کلانتان مالزی، آمیخته قیمت و تبلیغ را معنی‌دار دانستند. استراتژی‌های قیمت‌گذاری بر قیمت ها تآثیر مثبت داشت. اما با این حال آمیخته قیمت تأثیر متوسط و تبلیغ تأثیر زیادی داشت. مکان و محصول در اولویت‌های سوم و چهارم بودند و بر عملکرد کسب و کارهای کوچک (خرده فروشی‌ها) تأثیر چندانی نداشت. در صورتی که

در نتایج تحقیق حاضر آمیخته مکان، محصول و تبلیغ و قیمت در اولویت اول تا آخر بودند که می‌تواند بدین معنی باشد که مبدا اصلی ورود ماهی به تهران موقعیت مکانی بازار را در شرایطی قرار می‌دهد که قیمت عامل مهم‌تری برای خریداران علاقه‌مند مراجعه کننده به این بازار نخواهد بود.

Kessuvan و همکاران (2015) در بررسی عوامل موثر بر رفتار مصرف‌کنندگان محصولات شیلاتی در دو استان در شمال و شمال شرقی تایلند که هر دو دور از ساحل بودند نشان دادند کیفیت، تازگی، ایمنی مواد غذایی، راحتی بازدید، دسترسی به فضای مناسب پارکینگ و اطلاعات تغذیه‌ای برای‌شان الویت داشت و در آخر قیمت محصول آن هم به صورت ارزش درک شده بر همه این موارد در بین اهالی منطقه ناخون فانوم (شمال شرقی) ارجحیت داشت. ولی در نتایج تحقیق حاضر بهداشت محصول، نحوه تمیز و خردکردن، قیمت درک شده محصول، نحوه تمیز و خردکردن ماهی و سپس معرفی بازار در بیلبورد، رسانه و نشریات مهم‌ترین شاخص‌های اثرگذار بر عوامل آمیخته بازاریابی‌اند که در اولویت اول مصرف‌کنندگان از دید فروشندگان در این بازار آمیخته مکان در اولین اولویت و قیمت از نظر فروشندگان در اولویت آخر است و این بدین معنی است که فروشندگان انگیزه خرید را مکان بازار بعثت می دانند و بدلیل حضور علاقه مندان به ماهی اثر قیمت را ناچیز می‌دانند. در واقع مهم‌ترین دلیل خرید از این بازار تازگی آبزیان نسبت به بازارهای دیگر از دید فروشندگان شناخته شد و در کل فرضیات تحقیق پذیرفته نشدند. بطوری که بجای ماهیان گرمابی، ماهیان سردآبی (قزل‌آلا) و بجای گونه ماهی در آمیخته محصول، بهداشت آبزیان در بالاترین اولویت خرید مشتریان از دید فروشندگان قرار داشت که بدین سبب شناسایی انطباق دیدگاه فروشندگان با مشتریان بازار در افزایش میزان فروش ضروری و راهگشا خواهد بود.

سپاسگزاری

در اینجا بر خود لازم می دانیم از زحمات کلیه کسانی که ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند سپاسگزاری نماییم.

منابع

۱. آزادی، ر.، یوسفی، ب.، عیدی، ح.، ۱۳۹۴. اثرات عناصر منتخب آمیخته بازاریابی بر ارزش ویژه برند در صنعت پوشاک ورزشی از دیدگاه دانشجویان و فارغ التحصیلان تربیت بدنی و علوم ورزشی کشور(مطالعه موردی: ، برندهای ورزشی معتبر ایرانی موجود در بازار کشور) .پژوهش در ورزش دانشگاهی، ۸ ،۷۳-۵۳.

۲. اسماعیلی،ع. نجفی، ب. رحمتی،د.، ۱۳۸۸. بازار یابی ماهی در استان هرمزگان. فصلنامه تحقیقات اقتصادی کشاورزی. ۱(۳): ۱۰۰-۷۷.

۳. حسینی، س. م.، عادلی، ا.، ۱۳۹۵. اولویت‌بندی عوامل مؤثر بر رفتار مصرف‌کنندگان ماهی (موردی: شهر ساری). فصلنامه علوم و فنون شیلات دانشگاه تربیت مدرس، ۵ (۴)، ۱۱۰ - ۹۹.

۴. حسین‌زاده، م.، شهرکی، م.، ۱۳۹۵. بررسی تأثیر بازاریابی سبز بر ارزش ویژه برند (مطالعه موردی: محصولات کاله). فصلنامه پژوهش‌های جدید در مدیریت و حسابداری، ۳(۷)، ۲۲۰-۱۹۵.

۵. حیدرزاده، ک. حسنی پارسا، ا.، ۱۳۹۱. بررسی تاثیر ارزش های لذت جویانه بر رفتار خرید مصرف کنندگان. مدیریت بازاریابی. ۷(۱۷): ۳۵-۱۷.

۶. چیت‌سازیان، ا. م. ، چیت‌سازیان، ع. ل.، ۱۳۸۹. طراحی رتبه‌بندی مؤلفه‌های آمیخته بازاریابی داخلی فرش دستباف ایران. فصلنامه علمی- پژوهشی گلجام، انجمن علمی فرش ایران، ۱۷، ۷۰ - ۵۳.

۷. دلدار سارونی، ف.، محمدی، ح.، کرباسی، ع.ر.، ۱۳۹۷. بررسی تأثیر آمیخته بازاریابی بر خرید همزمان برندهای لبنیات با رویکرد لاجیت چند متغیره. نشریه اقتصاد و توسعه کشاورزی، ، ۳۲(۱)، ۹۶-۸۳.

۸. دهدشتی شاهرخ، ز.، صیدزاده، ح.، ۱۳۸۵. رابطه به‌کارگیری عناصر ترکیب بازاریابی و بازارپذیری ماهی پرورشی از دیدگاه مصرف‌کنندگان مطالعه موردی شهرستان ایلام. نشریه اقتصاد کشاورزی و توسعه، ۱۴(۵۳)،۱۵۲-۱۳۳.

۹. روستا، ا.، ونوس، د.، ابراهیمی، ع، ح.، ۱۳۸۹. مدیریت بازاریابی. چاپ هشتم. نشرسمت. ۲۴۸ص.

۱۰. ریحانی پول،س.، عالیشاهی، ع.، عادلی، ا.، نرگسیان، ع.، اجاق، س، م.، ۱۳۹۸. مطالعه رفتار، اولویت ها و موانع مصرف کنندگان میگو در ایران. مجله علمی شیلات ایران، ۲۸ (۶)، ۴۶-۳۵.

۱۱. زمانی دادانه، ک. الهی، ع.ر. امیرنژاد، س. و الماسی، س.، ۱۳۹۴. بررسی آمیخته بازاریابی پوشاک ورزشی خارجی از دیدگاه مشتریان (مطالعه موردی آدیداس). پژوهش‌نامه مدیریت ورزشی و رفتار حرکتی، ۱۱(۲۲)، ۱۹۰-۱۷۷.

۱۲. سازمان مدیریت میادین میوه و تره بار شهرداری تهران.، ۱۳۹۸. گزارش عملکرد آماری بازار ماهی بعثت، ۳۳ صفحه.

۱۳. شکرچی‌زاده، ا.ح.، قریشی، س.ش.، ۱۳۹۱. بررسی میزان تأثیر آمیخته بازاریابی(۴P) بر افزایش سهم بازار و فروش(مطالعه موردی فروشگاه‌های زنجیره‌ای شرکت کفش ملی در شهر تهران). اولین کنفرانس ملی مهندسی صنایع و سیستم‌ها، دانشگاه آزاد اسلامی واحد نجف‌آباد، ۲۹ و ۳۰ آذر ماه.

۱۴. شویکلو، غ.، ۱۳۸۴. روانشناسی رنگ‌ها و نمادها در بسته بندی غذاهای دریایی، وب سایت رسمی سازمان شیلات ایران. (www.shilat.ir)

۱۵. صفرزاده، ح. ، خیری، ب. ، آقا سید آقا، ر.، ۱۳۹۰. بررسی تأثیر عوامل زمینه‌ای، وفاداری به برند و تغییر دادن برندبر روی تصمیم خرید مصرف‌کنندگان جوان. مجله مدیریت بازاریابی. دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم تحقیقات، ۶(۱۰)، ۹۴-۶۵.

۱۶. صمدی، م.، ۱۳۸۷. بررسی تعیین آمیخته ترفیع مناسب برای محصولات لبنی با استفاده از روش تصمیم‌گیری چند معیاره (MCDM). اقتصاد کشاورزی و توسعه، ۱۶(۶۴)،۱۱۷-۹۷.

۱۷. عادلی، ا.، ۱۳۸۳. نقش بازاریابی در امنیت غذایی، مجله اقتصاد و بازاریابی شیلات ،شماره اول،۱۶-۱۳.

۱۸. عادلی، ا.، ۱۳۹۲الف. بررسی برخی عوامل موقعیتی موثر در رفتار مصرف کنندگان خانگی ماهی در تهران. نشریه شیلات، مجله منابع طبیعی ایران، ۶۷(۲)، ۲۵۱-۲۶۱.

۱۹. عادلی، ا.، ۱۳۹۲ب. اصول بازاریابی و بسته بندی آبزیان. چاپ دوم. نشر بی نهایت. ۲۰۴ص.
۲۰. عادلی، ا.، ۱۳۹۲ج. مصرف ماهی ایران در جهان. مجله پژوهش های علوم و فنون دریایی، ۸(۲)، ۲۹-۳۹.
۲۱. عادلی، ا .، ۱۳۹۴. خواص ماهی و ارزش غذایی آن برای انسان، مجله شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی آزاد شهر، ۹ (۳)،۶۸-۶۱.
۲۲. عادلی، ا.، ۱۳۹۴. بررسی برخی عوامل موقعیتی مؤثر در رفتار مصرف‌کنندگان خانگی ماهی در تهران. نشریه شیلات، ۶۷(۲): ۲۶۱-۲۵۱ .
۲۳. عادلی، ا.، شعبانپور، ب.، ۱۳۸۶. بررسی تغییر رفتار شهروندان تهرانی در مصرف آبزیان. مجله علمی شیلات ایران، ۱۶(۲)،۱۱۷-۱۲۶.
۲۴. عادلی، ا.، غفاری، ط.، اجاق، س. م.، واحدی، م.، ۱۳۹۸. ارزیابی عوامل مؤثر بر روند خرید و فروش بازارهای ماهی بنادر استان گیلان. فصلنامه علمی شیلات ایران، ۲۸(۳)، ۶۵-۵۵.
۲۵. عقیلی، س.م.، صفری، ر.، شعبانپور، ب.، رحمانی، م.، ۱۳۸۹. ارزیابی بازار مصرف آبزیان و فرآورده-های شیلاتی در شهرستان گرگان. مجله شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد آزادشهر، ۴(۳): ۹۱-۱۰۱.
۲۶. غفاری ، ط.، عادلی، ا.، اجاق، س. م.، واحدی، م.، ۱۳۹۳. بررسی اهمیت مطالعه بازار مصرفی آبزیان در کشور ، اولین همایش آبزی پروری نوین – چالش ها و فرصت ها، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.۱۱ صفحه.
۲۷. قدوسی، م.، محتشمی، ت.، متولی حبیبی، م.، شدتی، ش.، ۱۳۹۴. شناسایی و اولویت بندی عناصر آمیخته بازاریابی مؤثر در صادرات زعفران از دیدگاه کارشناسان. نشریه زراعت و فناوری زعفران، ۳(۴)،۲۹۶-۲۸۵.
۲۸. کاتلر، ا.، آرمسترانگ، گ.، ۱۳۸۶. اصول بازاریابی ترجمه بهمن فروزنده. انتشارات نشر آموخته. چاپ هشتم. ۹۳۲ص.
۲۹. کمالی صالح آباد، ل.، ۱۳۸۸. بررسی نقش عوامل آمیخته بازاریابی در میزان فروش کانون پرورش فکری کودکان و نوجوانان. مجله مدیریت فرهنگی، ۳(۳)، ۱۲۳-۱۱۷.
۳۰. لیاقتی، ه.، عسگری، و.، صادقی، م.، مجابی، س.م.، ۱۳۹۴. نقش تأثیر عناصر آمیخته بازاریابی بر صادرات انار ارگانیک ایران(مطالعه موردی: شهرستان ساوه). فصلنامه علوم محیطی، ۱۳(۳)، ۷۸-۷۱.
۳۱. محب علی، د.، فرهنگی، ع. ا.، ۱۳۷۷. مدیریت بازار (مدیریت بازاریابی). چاپ دوم. تهران: مؤسسه انتشارات امیرکبیر. ۲۴۷ص.
۳۲. مهرانی، ه.، ۱۳۹۶. بررسی رابطه بین عناصر منتخب آمیخته بازاریابی با ارزش ویژه برند شرکت صباح(مطالعه موردی شهر گرگان). مجله مدیریت شهری، شماره ۴۶، ۲۷۳ -۲۹۶.
۳۳. نداف، م.، گسکری، ر.، زمانی، م.، ۱۳۹۱. بررسی و رتبه بندی عناصر آمیخته بازاریابی در رضایت‌مندی مصرف‌کنندگان ماهی پرورشی در شهرستان خرمشهر. تحقیقات اقتصاد کشاورزی، ۴(۴)، ۲۱-۳۷.
۳۴. هاوکینز، د.، بست، ر.، کانی، ک.، ۱۳۸۵. رفتار مصرف‌کننده، مترجمان احمد روستا، عطیه بطحایی، تهران، نشر سارگل. ۶۶۲ص.

۳۵. هومن، ح.، ع.،۱۳۹۸. آمار استنباطی در پژوهش رفتاری. انتشارات سمت چاپ دوازدهم. ۶۲۸ صفحه.

۳۶. یوسفی، ب.، طاهری، ح. ر.، شجاعی، و.، ۱۳۸۶. بررسی وضعیت بازاریابی ورزشی از طریق اینترنت در ایران با تأکید بر 4p، پژوهش در علوم ورزشی، شماره ۱۵، ۸۱ -۹۵.

37. Adeli A, Hasangholipour T, Hossaini A, Salehi H, Shabanpour B.,2010. Identifying the main factors affecting home consumption attitude to farmed fishes among Tehrani households. Iranian Journal of Fisheries Sciences, 19(3): 87-96.
38. Adeli, A., Hasangholipour, T., Hossaini, A., Salehi, H., Shabanpour, B., 2011. Status of fish Consumption per capita of Tehran citizens. Iranian Journal of Fisheries Sciences, 10(4), 546-556.
39. Ali, E. A., Gaya, H. I.M. and Japed, T. N., 2008. Economic analysis of fresh fish marketing in Maiduguri Tambour market and Kachalari Alan Dam landing site of northeastern Nigeria. Journal of Agriculture Social Sciences, 4: 23-26.
40. Burger J, Gochfeld M, Batang Z, Alikunhi N, Al-Jahdali, R, Al-Jebreen D, Aziz M A, Al-Suwailem A., 2014. Fish consumption behavior and rates in native and non-native people in Saudi Arabia. Environmental Research, 133: 141-148.
41. Cardoso, C., Lourenço, H., Costa, S., Gonçalves, S., Nunes, M.L., 2013. Survey into the seafood consumption preferences and patterns in the Portuguese population. Gender and regional variability. Appetite, 64, 20-31.
42. Ćirkovic, M., Jovanovic, B., Maletin, S., 2002. Ribarstvo Univerzitet u Novom Sadu Poljoprivredni fakultet Novi Sad, pp. 1-359.
43. FAO., 2018. The state of world Fisheries and Aquaculture. Meeting the sustainable development goals. Rome. 210p.
44. Fitriah, A.W., Rosdi, S.N., Rosli, M.M., Aziz, Z.A., Ibrahim, W.M.Y.W., Radzi, M.S.N.M., Aniesha, N.Z. and Yaacob, A.A., 2019. The Effects of Marketing Mix on Small Fish Farming Business Performance. Revista Publicando, 6(19), 1-16.
45. Kaimakoudi, E., Polymeros, K., Schinaraki, M.G. and Batzios, C., 2013. Consumers' attitudes towards fisheries products. Procedia Technology, 8, 90-96.
46. Kessuvan, A., Parthanadee, P. Buddhakulsomsiri, J., 2015. The study of consumption behaviors and factors affecting decision to purchase fishery products of consumers in the North and Northeast of Thailand. International Food Research Journal, 22(6), 2670.
47. Lawal, W. L., Idega, E. O., 2004. Analysis of fish marketing in Benu state. Proceedings of the 2004 Annual Conference of the National Association of Agricultural Economists (NAAE) held at ABU zaria, Nov 3rd- 5th, 2004.
48. Linsen, M. A., 1993. Cavring out sales. Journal of Progressive Grocer, 72, 43-44.
49. Low, S.P. Tan, M.C., 1995. A convergence of Western marketing mix concepts and oriental strategic thinking (Конвергенция западной смеси маркетинговых концепций и восточного стратегического мышления). Marketing Intelligence & Planning, 13(2), 36-46.
50. Mutambuki, M.K. Orwa, B.H., 2014. Marketing Strategies of Commercial Fish Farming under Economic Stimulus Programme (ESP) in Kenya: An Empirical Study of Kitui County. International Journal of Humanities and Social Science, 4(8), 111-121.
51. Perreault, W, D. Cannon, J, P., McCarthy, E. J., 2017. Essentials of marketing: a marketing strategy planning. 15th ed. | New York, NY: McGraw-Hill Education, 752p.
52. Roosen, J., Marette, S., Blanchemanche, S., Verger, P., 2009. Does health information matter for modifying consumption? A field experiment measuring the impact of risk information on fish consumption. Review of Agricultural Economics, 31(1), 2-20.
53. Sethuraman, R. Gielens, K., 2014. Determinants of store brand share. Journal of Retailing, 90(2), 141-153.
54. Thapa, G., Dey, M.M. and Engle, C., 2015. Consumer preferences for live seafood in the Northeastern region of USA: Results from Asian ethnic fish market survey. Aquaculture Economics & Management, 19(2), 210-225.
55. Wongleedee, K., 2015. Marketing mix and purchasing behavior for community products at traditional markets. Procedia-Social and Behavioral Sciences, 197, 2080-2085.

ارزیابی اثرات اقتصادی - اجتماعی پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در قفس سد گلستان

کامران عقیلی [۱*]، عباسعلی آقایی مقدم[۱]، سید محمودعقیلی[۱]، سارا حق پرست[۱]

۱- مرکزتحقیقات ذخایر آبزیان آبهای داخلی – گرگان، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش وترویج کشاورزی، گرگان، ایران

۲- گروه شیلات، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۸/۶ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۱/۳۰

چکیده

این پروژه از مرداد ۱۳۹۶ تا مهر ۱۳۹۷ در حاشیه‌ی سد گلستان انجام گردید. از خانوار ۴ روستا درحاشیه‌ی سد گلستان با نام‌های، قره‌جه، عرب‌سورنگ، آق‌آباد، سارجه‌کر پرسشنامه تهیه گردید. جهت بررسی پرسشنامه‌ها از روش آماری آلفای کرومباخ (پایایی)، برای آزمون روایی سوالات، از روش مقایسه لیکرت، جهت بررسی توان عوامل موثر و اولویت‌بندی آن از روش Topsis، جهت شناسایی متغیرهای توصیفی و رابطه آن‌ها با وقوع رخداد و در نهایت تخمینی از احتمال وقوع یک رخداد برای فرد خاص از مدل لاجیت و برای بررسی اثر جنس و سن و غیره برروی پارامترهای اجتماعی و اقتصادی از آزمون کای‌اسکوئر استفاده شد. داده‌ها با نرم افزار SPSS نسخه ۱۹، تجزیه و تحلیل شدند. نتایج روش لاجیت نشان داد متغیرهای سن، جنسیت و فاصله هر یک در سطح ۱۰ درصد، اشتغال در سطح ۵ درصد و مهاجرت در سطح یک درصد، بر تمایل افراد تأثیر گذار است. نتایج آنتروپی وزن‌دهی معیارها نشان‌داد معیارهای بهبود وضعیت اقتصادی، افزایش درآمد درجامعه روستایی منطقه، جلوگیری از تمایل جوانان به شغل‌های کاذب، ایجاد و افزایش اشتغال دربخش آبزی‌پروری، بهبود زندگی روستاییان، از مهمترین اثرات اجتماعی- اقتصادی اجرای این فعالیت می‌باشد. نتایج این تحقیق نشان داد که پرورش ماهی در قفس سدگلستان می‌تواند بطور مستقیم در ایجاد اشتغال، بهبود وضعیت اقتصادی منطقه و گردشگری و کاهش مهاجرت روستاییان به شهرها تاثیرگذار باشد. از طرفی تولید پروتئین می‌تواند در افزایش مصرف سرانه وسلامت غذایی ساکنین اثر بسزایی داشته باشد.

کلمات کلیدی: پرورش درقفس، مخزن سد ، پرسشنامه، گنبد، اشتغال روستایی

* عهده‌دار مکاتبات (✉). K_aghili33@yahoo.com ،aghaeifishery@Gmail.com

مقدمه

امروزه افزایش جمعیت و نیاز روز افزون بشر به منابع پروتئینی و همچنین محدودیت آب‌های شیرین جهت شرب و کشاورزی از یک سو و کاهش صید و ذخایر ماهیان وحشی از سوی دیگر، نیازهای جامعه کنونی را برای تامین بخشی از پروتئین حیوانی معطوف به محیط آبی و آبزی پروری نمودکه پرورش در قفس نمونه‌ای از آن است.

آبزی‌پروری از یک سابقه دیرینه چند هزار ساله در آسیا برخوردار می‌باشد (Pillay, 1990) و در کشوری نظیر چین، پیشینه آن به ۲۷۰۰ سال پیش از میلاد می‌رسد (پیغان و عبداله‌شایی، ۱۳۸۴). ولی در بیشتر کشورهای جهان از جمله ایران نسبتاً جدید می‌باشد (Jolly and Clonnts, 1993). در آسیا گستره وسیعی از نظام‌های توأم کشاورزی- ماهیگیری مورد بهره‌برداری قرار می‌گیرد که عمدتاً درکشورهای چین، بنگلادش، هند، مالزی، تایلند و ویتنام می‌باشند (FAO, 2000b). در آفریقا پرورش ماهی در صورتی که با سیاست‌های حمایتی دولت همراه شود باعث افزایش رشد اقتصاد و امنیت غذایی شده و معتقدند که این امر می‌تواند باعث رشد اقتصاد و امنیت غذایی شود (Brummett *et al*., 2008). مطالعه در جنوب و دلتای مکونگ ویتنام نشان داد که بین میزان سرمایه‌گذاری در واحدهای پرورش ماهی و افزایش درآمد کشاورزان رابطه مثبت و معنی‌دار وجود دارد و سرمایه‌گذاری در منطقه مورد مطالعه باعث بهبود وضعیت اقتصادی کشاورزان شده است (Nhan *et al*., 2007 ; Minh Duc, 2007).

هرچند برای توسعه آبزی‌پروری، بیوتکنیک تولید، نقش کلیدی دارد، لیکن اهمیت نقش اجتماعی و اقتصادی آنها را در توسعه پایدار آبزی پروری را نمی‌توان نادیده گرفت. ارزیابی اثرات اقتصادی- اجتماعی پرورش ماهیان سردابی در مزارع شهرستان بویراحمد نشان داد که افزایش سرمایه‌گذاری در بخش آبزیان و بخش‌های مرتبط با آن و بهبود کیفیت و مقدار غذا و قوت روستاییان از مهمترین اثرات اقتصادی احداث مزارع پرورش ماهی سردآبی به شمار می‌روند (مردانی ادبی و احمدوند، ۱۳۹۱).

آبزی‌پروری یکی از روش‌هایی است که می‌تواند در رفع نیازهای اقتصادی جوامع، از طریق استفاده بهینه از منابع آبی و همچنین ایجاد اشتغال و جلوگیری از مهاجرت از مناطق روستایی به مناطق شهری، بسیار مؤثر باشد و یکی از سیاست‌های کلان بخش شیلات در هر کشوری، بهره برداری بهینه از منابع آبی و پتانسیل‌های آن است (اداره کل شیلات استان مرکزی، ۱۳۸۳) و هدف از انجام هر فعالیت اقتصادی ، کسب سود حداکثری است و مناسب ترین راهکار برای افزایش تولید و درآمد کشاورزان بکارگیری درست و مطلوب کلیه عوامل تولید است (یزدانی و همکاران، ۱۳۹۸). در تحقیقی بر ارزیابی جایگاه آبزی‌پروری در معیشت پایدار روستایی کشاورزان شهرستان زاهدان، با انتخاب ۵۲ خانوار و توزیع پرسشنامه نشان داد که آبزی‌پروری موجب پایداری بیشتر دارایی‌های اجتماعی، انسانی و مادی معیشتی کشاورزان آبزی پرور فعال در مقایسه با دو گروه دیگر بوده‌است. برمبنای یافته‌های پژوهش، آبزی‌پروری سبب بهبود وضعیت پایداری معیشت کشاورزان آبزی‌پرور فعال شده‌است (شهرکی و شریف زاده، ۱۳۹۴).

با توجه به ماده ۱۹۴ قانون برنامه پنجم توسعه کشور، دولت مکلف است به منظور بهبود وضعیت روستاها در

زمینه سیاستگذاری، برنامه‌ریزی، راهبردی، نظارت و هماهنگی بین دستگاه‌های اجرایی، ارتقاء سطح درآمد و کیفیت زندگی روستائیان و کشاورزان و کاهش نا برابری‌های موجود بین جامعه روستایی، عشایری و جامعه شهری، حمایت لازم را به عمل آورد (درخشنده، ۱۳۹۳).

معرفی روش پرورش ماهی درقفس بعنوان صنعت نوین در آبزی پروری به دهه اواخر دهه هفتاد و اوایل دهه هشتاد میلادی و با پیشگام شدن کشور نروژ صورت گرفته است (حسین جانی و همکاران، ۱۳۹۹). پرورش ماهی در قفس یک سرمایه‌گذاری زود بازده و از منظر استفاده بهینه از منابع و تولید محصول، یک موضوع خیلی مهم و از نظر اشتغالزائی و توسعه پایدار، از جایگاه ویژه‌ای برخوردار است. اگر بتوان درفرایند تصمیم‌گیری کارگزاران، ارزیابی تاثیرات اجتماعی را دخیل نمود، دراین صورت می‌توان بهتر تصمیم‌گیری کرد. بعلاوه با پیش‌بینی کردن و مدیریت تاثیرات اجتماعی ناشی از پروژه، مزایای اقتصادی –اجتماعی فراوانی، نصیب مردم و اجتماع محلی خواهد شد. نباید از یاد برد که پیامدهای پیش بینی نشده پروژه‌های توسعه می‌تواند منافع و مزایای این پروژه‌ها را بشدت کاهش دهد. از همین نقطه است که ارزیابی تاثیرات اجتماعی اهمیت می‌یابد.

یکی از مهمترین الزامات و شرایط اجرای پروژه‌های توسعه‌ای در کشورها این است که هر سازمان پیش از هراقدام، تاثیر آن پروژه را درروندکیفی زندگی انسانی (اقتصادی و اجتماعی) شناسایی و بررسی نماید. ارزیابی اقتصادی و اجتماعی بنام Socio-economic Impact Assessment یا به اختصار(SEIA) معروف است که به لحاظ این ارزیابی در فرایند تصمیم‌گیری کارگزاران توسعه‌ای، می‌تواند به آنها کمک نماید و از این طریق مزایای بیشتری به مردم منطقه برساند. از طرفی پیامدهای پیش‌بینی نشده این پروژه‌ها می تواند بسیار آسیب رسان باشند. منظور از تاثیر اجتماعی، هرگونه تاثیر پروژه بر شیوه‌ی زندگی، کار، روابط اجتماعی و سازماندهی مردم است. تغییر در ارزش‌ها، هنجارها و باورهای مردم نیزدر این بین باید مورد توجه قرارگیرد. درحقیقت ارزیابی تاثیرات اقتصادی – اجتماعی به شناسایی، تحلیل و ارزیابی اثرات اجتماعی و اقتصادی ناشی از یک پروژه می‌پردازدکه به ما می‌گوید رفتار ما انسان‌ها چه اثراتی بر جوانب اجتماعی محیط خواهد گذاشت. به عبارتی دیگر، تحلیل، نظارت و مدیریت بر پیامدهای اقتصادی اجتماعی پروژه‌های توسعه‌ای که می‌تواند مثبت یا منفی باشد، باید در ارزیابی‌ها آشکار شود (حافظیه و همکاران، ۱۳۹۷).

این تحقیق بمنظورتعیین و شناسایی اثرات اجتماعی- اقتصادی حاصل از پرورش ماهی قزل‌آلا در قفس (مخزن سد گلستان) و همچنین کسب دیدگاه‌ها و نظرات روستاییان از فعالیت‌های انجام شده صورت پذیرفت. اجرای این طرح در منطقه تحقیق در زمینه‌ی افزایش اشتغال برای بهره‌برداران و جلوگیری از مهاجرت روستایی که در حال حاضر از مهمترین چالش‌ها و معضلات مناطق روستایی محسوب می‌شود را بررسی نمود.

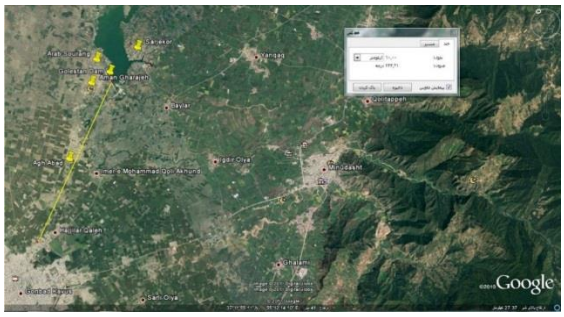
حال با توجه به بررسی اثرات اجتماعی- اقتصادی آبزی‌پروری توسط محققین مختلف دنیا و تأکید فائو بر این نکته که آبزی‌پروری در آینده نقش مهمی را در تأمین غذا، درآمد، اشتغال، ارزآوری و توسعه روستایی ایفا می‌کند (FAO, 2000a). این در حالی است که هیچ مطالعه‌ی هدفمندی جهت شناسایی اثرات اجتماعی- اقتصادی حاصل از آبزی‌پروری در قفس

(مخزن سدها) در منطقه مورد مطالعه صورت نگرفته است

مواد و روش ها

معرفی محدوده مورد مطالعه

این تحقیق در محدوده سد گلستان در فاصله ۱۰ کیلومتری جنوب شرقی شهرستان گنبد انجام گردید.



شکل۱: موقعیت جغرافیایی روستاهای موردمطالعه درمنطقه نسبت به شهرستان گنبد

شکل ۲ : مرحله‌ی تکمیل ساخت قفس‌ها در سد گلستان

این تحقیق از نوع کاربردی، توصیفی است. در این تحقیق جمع‌آوری اطلاعات بروش تکمیل پرسشنامه انجام گردید. ابتدا جامعه آماری را که شامل روستاییان اطراف منطقه بود انتخاب کرده و میزان جمعیت آنها استخراج گردید (جدول۳). تدوین پرسشنامه اولیه صورت گرفت و به صورت آزمایشی توسط تعداد ۵۰ نفر از افراد خبره و مطلع و کارشناس آبزی‌پروری تکمیل شد. همچنین برای بررسی مناسب بودن سوالات، جمع امتیاز کل با استفاده از آزمون همبستگی نیز محاسبه و بررسی گردید. جمع آوری اطلاعات به روش تکمیل پرسشنامه از ۱۸۷ خانوار روستایی از ۴روستا درحاشیه‌ی سد گلستان با نام‌های ، قره‌جه، عرب‌سورنگ، آق‌آباد، سارجه‌کر انجام گردید. پرسشنامه اولیه تهیه و به صورت آزمایشی توسط تعداد ۵۰ نفر از افراد خبره، مطلع و کارشناس آبزی‌پروری انجام گرفت (پیش آزمون). همچنین برای بررسی مناسب بودن سوالات، جمع امتیاز کل با استفاده از آزمون همبستگی محاسبه و بررسی گردید. سپس پرسشنامه ها توسط افرادی از جامعه اصلی بطورتصادفی انتخاب و تکمیل شد و طبق جدول (۳) توزیع شد.

جدول۱: اطلاعات جمعیت روستاهای مورد بررسی درمنطقه سدگلستان (۱۳۹۷)

ردیف	شهرستان	نام روستا	طول جغرافیایی(شرقی)	عرض جغرافیایی(شمالی)	موقعیت نسبت به سدگلستان	تعداد جمعیت	تعداد پرسشنامه توزیع شده
۱	گنبدکاووس	امان قره جه	۵۵°۲۷'۰۰"	۳۷°۳۲'۳۰"	۵۰۰ متر	۸۶۳	۳۳
۲	گنبدکاووس	عرب سورنگ	۵۵°۲۸'۲۴"	۳۷°۳۳'۲۰"	۲۰۰متر	۱۰۵۹	۳۹
۳	گنبدکاووس	آق آباد	۵۵°۲۴'۴۴"	۳۷°۲۹'۹۱"	۳۱۰۰متر	۵۵۳۴	۶۱
۴	گنبدکاووس	سارجه کر	۵۵°۳۱'۲۴"	۳۷°۳۲'۸۷"	۱۴۰۰متر	۳۰۰۲	۵۴

از این پرسشنامه‌ها توسط افرادی از جامعه اصلی تکمیل شد (پیش آزمون) که با تکمیل آنها محقق می‌تواند درک درستی از سوالات داشته باشد. درمرحله بعدی با استفاده از روش‌های آماری از جمله آلفای کرومباخ به بررسی پرسشنامه‌ها پرداخته شد (پایایی). رایج‌ترین مقیاس در تحقیقات اجتماعی، مقایسه لیکرت است که برمبنای ۱تا ۶ شکل می‌گیرد. دراین مورد همچنین از مبنای ۱تا۶ برای آزمون روایی سوالات، استفاده شد (اکبرزاده و کابلی، ۱۳۹۶).

کلیه داده‌ها و اطلاعات بدست آمده از پرسشنامه‌ها بعد از اصلاح آماری در برنامه Excel نسخه ۲۰۱۳ ثبت گردید و در این ارتباط ویژگی‌های جغرافیای اقتصادی و اجتماعی در منطقه پشت مخزن سد گلستان با استفاده از روش‌های آماری دسته بندی، خلاصه و با استفاده از سایر توابع تجزیه و تحلیل و مقایسه بین آنها انجام گردید و سپس با استفاده از نرم افزارSPSS نسخه ۱۹، داده‌ها تجزیه و تحلیل شدند. این تحقیق به منظور ارزیابی اقتصادی- اجتماعی پرورش ماهی در قفس درمنطقه سد گلستان انجام گردید.

رتبه بندی و آنالیز پاسخ پاسخگویان به آیتم‌های اقتصادی و اجتماعی با استفاده از آزمون کروسکال والیس انجام شد.

برای بررسی اثر جنس و سن و غیره بر روی پارامترهای اجتماعی و اقتصادی از آزمون کای اسکوئر استفاده گردید (درخشان و طغیانی، ۱۳۹۴؛ مردانی ادبی و احمدوند، ۱۳۹۱).

درنهایت پس از بررسی تمام پارامترهای مربوط به این مطالعه پس از وزن‌دهی توسط افراد متخصص، نسبت به پارامترهای اصلی (اجتماعی– اقتصادی) با استفاده از آزمون TOPSIS عدد مربوطه محاسبه می‌گردد. مقادیر بدست آمده از محاسبه وزن دهی در نهایت ستون اولویت را تشکیل می‌دهند که به آن بردار ویژه (eigenvector) نیز می‌گویند.

به منظور بررسی اولویت‌بندی و رتبه‌بندی معیارها که در مجموع شامل ۲۴ متغیر اجتماعی، اقتصادی می‌باشد، ابتدا وزن هریک از معیارها با روش آنتروپی محاسبه گردید، سپس اولویت بندی معیارها با با استفاده از روش TOPSIS بدست آمد.

این عدد در یک دامنه پیش‌بینی شده قرار می‌گیرد که می‌توان گفت آیا این فعالیت دارای اثرات مثبت، منفی و یا کم اثر است (اسدی و همکاران، ۱۳۸۸). برای بررسی اثر متغییرها از مدل لاجیت استفاده شده است.

نتایج

تحلیل توصیفی ویژگی‌های فردی پاسخگویان نشان داد که میانگین سنی کل نمونه آماری ۳۸/۷۷ سال، حداکثر سن پاسخگویان ، ۶۵ سال و حداقل آن ، ۲۱ سال بود. که در این یافته گروه‌های کمتر از ۳۰ سال با ۳۷ نفر(۱۹/۷۹ ٪) ، بین ۳۰ تا ۵۰ سال با ۱۳۰ نفر(۶۹/۵۱ ٪) بیشترین درصد و بالای پنجاه سال با ۲۰ نفر(۱۰/۷۰ ٪) کمترین درصد را تشکیل دادند. یافته های تحقیق نشان داد که مردان فراوانی ۱۵۸ نفر (۸۴/۵ ٪) و زنان با فراوانی ۱۹نفر (۱۵/۵ ٪) بود. در خصوص میزان تحصیلات پاسخگویان، تعداد ۴۰ نفر بی سواد (۲۱/۳۹٪) تعداد ۱۹ نفر دارای تحصیلات ابتدایی (۱۰/۱۶٪) تعداد۸۶ نفر تا دیپلم (۴۵/۹۹٪) بیشترین درصد از پاسخگویان و تعداد ۴۲ نفر دارای مدرک لیسانس و بالاتر (۲۲/۴۶٪) افراد مورد مطالعه این تحقیق را تشکیل می‌دادند.

دو بخش اقتصادی و اجتماعی بطور جداگانه تحت آزمون آلفای کرونباخ و پیرسون قرارگرفت. دربخش سوالات اقتصادی که ۸ سوال بود که آلفا ۰,۵۱محاسبه گردید. و برای سوالات بخش اجتماعی آلفای کرومباخ معادل ۰,۹۱ محاسبه شد. برمبنای نتایج آزمون پیرسون ۲ سوال حذف گردید.

رتبه بندی آیتم‌های اقتصادی با استفاده از آزمون کروسکال والیس نشان داد که آیتم‌هایی از قبیل درآمد جامعه روستایی، بهبود وضعیت اقتصادی و جذب سرمایه‌گذاری در آبزی پروری به ترتیب در رتبه‌های اول تا سوم نظرسنجی از لحاظ اهمیت قرار داشتند (جدول۲).

جدول ۲. رتبه‌بندی آیتم‌های اقتصادی با استفاده از آزمون کروسکال والیس

رتبه بندی	رتبه بندی میانگین	بخش اقتصادی
۱	۱۰۸۵/۳۸	جذب سرمایه گذاری در آبزی پروری
۲	۱۰۴۱/۱۹	بهبود وضعیت اقتصادی
۳	۱۰۳۷/۵۵	درآمد جامعه روستایی
۴	۷۵۰/۱۴	سرمایه گذاری در سایر بخش های کشاورزی
۵	۶۰۶/۴۹	صادرات به استان های هم جوار
۶	۵۳۰/۵۷	درآمد از راه توریسم
۷	۵۱۹/۰۸	سرمایه گذاری در سایر بخش ها
۸	۴۱۷/۶۱	صادرات به بازارهای خارجی

مقایسه میانگین سوالات اقتصادی در چهار روستای مورد مطالعه نشان می‌دهد که نظرات روستاییان در زمینه سوالات اقتصادی که نظرات آنها در مورد سوالات صادرات به استان‌های هم جوار و درآمدزایی از راه توریسم اختلاف معنی داری دارند (جدول ۳).

جدول ۳. مقایسه نظرات افراد شرکت‌کننده در نظرسنجی در خصوص سوالات اقتصادی در چهار روستای مورد بررسی با استفاده از آزمون کروسکال والیس (سطح معنی‌داری ۰/۰۵)

سوالات اقتصادی	روستا	تعداد	میانگین رتبه بندی	sig
صادرات به استان های هم جوار	آق آباد	۶۱	۷۰/۵۲	۰/۰۰۰
	سارجه کر	۵۴	۱۰۳/۷۵	
	امان قره جه	۳۳	۱۰۲	
	عرب سورنگ	۳۹	۱۱۰/۴۵	
درآمد از راه توریسم	آق آباد	۶۱	۱۰۸/۸۴	۰/۰۰۰
	سارجه کر	۵۴	۸۳/۲۷	
	امان قره جه	۳۳	۱۱۳/۷۷	
	عرب سورنگ	۳۹	۶۸/۹۱	

رتبه‌بندی آیتم‌های اجتماعی با استفاده از آزمون کروسکال والیس نشان داد که آیتم‌هایی از قبیل افزایش اعتبارات، ارتقاء بهره‌وری از منابع آبی و روش‌های نوین در تولید و پرورش آبزیان، افزایش اشتغال در بخش پرورش آبزیان و ایجاد اشتغال در بخش‌های مرتبط با پرورش آبزیان به ترتیب در رتبه های اول تا پنجم نظرسنجی از لحاظ اهمیت قرار داشتند (جدول ۴).

جدول ۴. رتبه بندی آیتم های اجتماعی با استفاده از آزمون کروسکال والیس

رتبه بندی	رتبه بندی میانگین	بخش اقتصادی
۱	۲۲۴۳/۰۸	افزایش اعتبارات
۲	۲۱۷۲/۰۴	ارتقاء بهره‌وری از منابع آبی
۳	۲۰۹۵/۸۳	روش‌های نوین در تولید و پرورش آبزیان
۴	۱۸۸۷/۴۴	افزایش اشتغال در بخش پرورش آبزیان
۵	۱۸۶۱/۹۶	ایجاد اشتغال در بخش‌های مرتبط با پرورش آبزیان

مقایسه میانگین سوالات اجتماعی در چهار روستای مورد مطالعه نشان می‌دهد که نظرات روستاییان در زمینه سوالات اجتماعی در مورد سوالات افزایش سرانه مصرف ماهی و آبزیان، تنوع بخشی در پرورش گونه‌های جدید ماهیان، ایجاد سایر مشاغل جدید، بهبود و رونق حمل و نقل در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ اختلاف معنی‌داری دارند (جدول ۵).

جدول ۵. مقایسه نظرات افراد شرکت‌کننده در نظر سنجی در خصوص سوالات اجتماعی در چهار روستای مورد بررسی با استفاده از آزمون کروسکال والیس (سطح معنی‌داری ۰/۰۵)

سوالات اجتماعی	روستا	تعداد	میانگین رتبه بندی	Sig
افزایش سرانه مصرف ماهی و آبزیان	آق آباد	۶۱	۸۶/۹۹	۰/۰۲۸
	سارجه کر	۵۴	۱۱۱/۶۹	
	امان قره جه	۳۳	۸۹/۰۶	
	عرب سورنگ	۳۹	۸۴/۶۴	
تنوع بخشی در پرورش گونه‌های جدید ماهیان	آق آباد	۶۱	۹۶/۰۳	۰/۰۰۰
	سارجه کر	۵۴	۱۱۵/۰۷	
	امان قره جه	۳۳	۸۳/۶۸	
	عرب سورنگ	۳۹	۷۰/۳۷	
ایجاد سایر مشاغل جدید	آق آباد	۶۱	۹۲/۳۳	۰/۰۲
	سارجه کر	۵۴	۱۰۷/۸۹	
	امان قره جه	۳۳	۹۶/۷۳	
	عرب سورنگ	۳۹	۷۵/۰۸	
بهبود و رونق حمل و نقل	آق آباد	۶۱	۹۰/۴۹	۰/۰۳
	سارجه کر	۵۴	۱۰۲/۹۴	
	امان قره جه	۳۳	۱۰۷/۰۸	
	عرب سورنگ	۳۹	۷۶/۰۴	

مدل لاجیت

جدول ۶ نشان‌دهنده نتایج حاصل از برآورد مدل با استفاده از روش لاجیت می‌باشد. با توجه به نتایج این جدول ، متغیرهای سن، جنسیت و فاصله هر یک در سطح ۱۰ درصد، اشتغال در سطح ۵ درصد و مهاجرت در سطح یک درصد، بر تمایل افراد تأثیر گذار است.

جدول ۶: نتایج مدل لاجیت

متغیر ها	ضریب ها	ارزش آماری t	معنی داری آماره	اثر نهایی
ضریب ثابت	-۱۰/۰۳۷	-۲/۳۳	۰/۰۱۹۷	-۰/۰۰۰۰۰۰۰۰۰۰۴۰۳
سن	-۰/۰۶۶	-۰/۰۸	۰/۹۳۱۸	۰/۰۰۰۰۰۰۰۰۰۰۰۰۶
جنسیت	۰/۲۴۵	۰/۲۱	۰/۸۳۴۳	۰/۰۰۰۰۰۰۰۰۰۰۰۴۳
فاصله (کیلومتر)	۰/۱۵۲	۰/۳۴	۰/۷۳۲۹	-۰/۰۰۰۰۰۰۰۰۰۰۰۰۳
اشتغال	۱/۰۵۹	۲/۰۱	۰/۰۴۴۸	۰/۰۰۰۰۰۰۰۰۰۰۰۱۰
مهاجرت	۳/۱۰۸	۲/۷۷	۰/۰۰۵۸	۰/۰۰۰۰۰۰۰۰۰۰۱۲۵
McFadden R-Squre	۰/۶۰۸۶			
Likelihood ratio test	۵۰/۹۲۴۵			
Log likelihood	-۱۶/۳۷۳۰			

اولویت‌بندی و رتبه‌بندی

به منظور بررسی اولویت‌بندی و رتبه‌بندی معیارها که در مجموع شامل ۲۴ متغیر اجتماعی، اقتصادی می‌باشد، ابتدا وزن هریک از معیارها با روش آنتروپی محاسبه گردید، سپس اولویت بندی معیارها با استفاده از روش TOPSIS بدست آمد.

جدول ۷ نتایج حاصل از وزن‌دهی معیارها با استفاده از روش آنتروپی را نشان می‌دهد. معیارهای افزایش درآمدزایی توریسم، گسترش صنایع تبدیلی و بسته بندی، سرمایه‌گذاری بیشتردرسایربخش‌ها، صادرات به بازارهای خارجی و تنوع بخشی در پرورش گونه‌های جدید ماهیان به ترتیب رتبه‌های اول تا پنجم را در وزن‌دهی نرمال کسب کرده‌اند.

جدول ۷: وزن نرمال‌سازی شده با روش آنتروپی

رتبه بدست آمده	نام معیار	وزن نرمال شده
۱	افزایش درآمد ناشی از جذب توریسم	/۰۴۸۰
۲	گسترش صنایع تبدیلی و بسته بندی	۰/۰۴۵۳
۳	سرمایه‌گذاری بیشتر در سایربخش‌ها(صنعت ، خدمات و غیره)	۰/۰۳۹۹
۴	صادرات به بازارهای خارجی	۰/۰۳۸۱
۵	تنوع‌بخشی در پرورش گونه‌های جدید ماهیان	۰/۰۳۷۴

مأخذ: یافته‌های تحقیق

همانطور که در جدول ۸ قابل مشاهده‌است، در ارزیابی مهمترین عوامل موثر بر اثرات اقتصادی – اجتماعی حاصل از این فعالیت در منطقه، افزایش جذب سرمایه‌گذاری در زمینه پرورش آبزیان و بهبود وضعیت اقتصادی و افزایش درآمد درجامعه روستایی منطقه، جلوگیری از تمایل جوانان به شغل‌های کاذب و ایجاد

اشتغال دربخش‌های مرتبط با پرورش آبزیان بترتیب در رتبه‌های اول تا پنجم را در میان ۱۸ معیار در نظر گرفته شده کسب نمودند.

جدول ۸: رتبه بندی معیارها با استفاده از روش **TOPSIS**

رتبه بدست آمده	نام معیار	فاصله تا برگزیده
۱	افزایش جذب سرمایه‌گذاری درزمینه پرورش آبزیان	۰/۳۷۲۵
۲	بهبود وضعیت اقتصادی	۰/۳۶۴۸
۳	افزایش درآمد درجامعه روستایی منطقه	۰/۳۶۳۴
۴	جلوگیری از تمایل جوانان به شغل های کاذب	/۳۶۲۰
۵	ایجاد اشتغال دربخش‌های مرتبط با پرورش آبزیان	۰/۳۶۰۱

مأخذ: یافته‌های تحقیق

بحث

با توجه به نتایج بدست آمده از رتبه‌بندی معیارها و تعداد معیارهای در نظر گرفته‌شده، بطور کلی مهم‌ترین عوامل موثر در آبزی‌پروری در قفس در پشت سد را می‌توان بدین ترتیب دانست: افزایش جذب سرمایه‌گذاری در زمینه پرورش آبزیان ، بهبود وضعیت اقتصادی، افزایش درآمد درجامعه روستایی منطقه، جلوگیری از تمایل جوانان به شغل‌های کاذب، ایجاد اشتغال دربخش‌های مرتبط با پرورش آبزیان، بهبود زندگی روستاییان، افزایش اشتغال در بخش پرورش آبزیان.

با توجه به نتایج بدست آمده از این تحقیق می‌توان گفت که اثرات یک فعالیت اقتصادی بر جامعه‌ی اطراف آن دارای ارزش یکسان نیستند و می‌توان با رتبه‌بندی آنها و استفاده از نتایج بدست آمده، تصمیم‌گیری‌هایی با پیش بینی مثبت اثرات طرح در بهبود وضعیت اقتصادی و معیشت منطقه داشته باشیم.

صالحی(۱۳۸۱) در تحقیقی که برنیازهای تحقیقات اقتصاد آبزی‌پروری در ایران داشت بیان داشت که نقش توسعه‌ی آبزی پروری بردرآمد ملی، افزایش درآمد روستاییان، اشتغالزایی، بخصوص اشتغال در مناطق کمتر توسعه یافته و روستایی که زمینه‌های محدودی برای اشتغال در آنها وجود دارد می‌تواند در جذب دیدگاه سیاست‌گذاران تاثیر بسزایی داشته باشد. بطورکلی هنوز پروژه‌های آبزی‌پروری و اثرات آنها در اقتصاد کلان و اثرات اجتماعی آن در بهبود زندگی جامعه مورد توجه قرار نگرفته و مطالعات لازم انجام نشده‌است. بر اساس تحقیق حاضر احداث و گسترش واحدهای پرورش ماهی پشت سد منطقه مورد مطالعه، موجب بهبود وضعیت اقتصادی، افزایش درآمد درجامعه روستایی منطقه، ایجاد اشتغال دربخش‌های مرتبط با پرورش آبزیان و سرمایه‌گذاری بیشتر در این زمینه می‌گردد که با نتایج صالحی مطابقت دارد.

Minh Duc (۲۰۰۷) با بررسی رابطه میان میزان سرمایه‌گذاری در احداث واحدهای پرورش ماهی و درآمد کشاورزان در جنوب ویتنام بیان داشت که بین میزان سرمایه‌گذاری در واحدهای پرورش ماهی و افزایش درآمد کشاورزان رابطه مثبت و معنی‌دار وجود

دارد و سرمایه‌گذاری در منطقه مورد مطالعه باعث بهبود وضعیت اقتصادی کشاورزان شده است. طبق مطالعه‌ی حاضر با اجرای آبزی پروری در سد گلستان با توجه به رونق اقتصادی وکسب کار در منطقه سرمایه‌گذاری در دیگر بخش‌ها (کشاورزی، صنعت و خدمات) نیز تقویت می‌گردد که این نتایج با نتایج مین داک مطابقت دارد.

مردانی ادبی و احمدوند (۱۳۹۱) در تحقیقی برارزیابی اثرات اقتصادی- اجتماعی پرورش ماهیان سردابی در مزارع شهرستان بویراحمد بهبود کیفیت و مقدار غذا و قوت روستاییان (با ضریب تغییرات ۰/۰۸۲)، افزایش سرمایه‌گذاری در بخش آبزیان و بخش‌های مرتبط با آن (با ضریب تغییرات ۰/۰۸۴) را از مهمترین اثرات اقتصادی پرورش ماهیان سردابی در مزارع شهرستان بویراحمد به شمارآورده که این اثرات با نتایج مطالعه‌ی اسدی و همکاران (۱۳۸۸)، رضایی و درویشی (۱۳۸۶)، ابراهیمی (۱۳۷۹) ، Yang و همکاران (۲۰۰۴) ، Ahmed and Lorica (۲۰۰۲) و صالحی(۱۳۸۱) که بیان داشتند که پرورش ماهی در مزارع می‌تواند به بهبود سرمایه‌گذاری در بخش کشاورزی و غیرکشاورزی، بهبود وضعیت اشتغال، گسترش صادرات و افزایش درآمد پرورش‌دهندگان منجر شود، همخوانی دارد. در مورد مهمترین اثرات اجتماعی آن نیز به افزایش گردش و تفریح در بین روستاییان (با ضریب تغییرات ۰/۰۵۸) دلخوشی و شادی روستاییان (با ضریب تغییرات ۰۹۳/) و همچنین افزایش رفت و آمد روستاییان به شهرها و دیگر روستاها (با ضریب تغییرات ۰۹۳/) اشاره نمود.

گلباز و همکاران (۱۳۹۶) در ارزیابی اثرات اجتماعی- اقتصادی و زیست محیطی سد و شبکه آبیاری تنگاب فیروزآباد فارس بیان نمودند که به طور کلی مهمترین اثر طرح سد تنگاب در منطقه را می‌توان بهبود شرایط کشاورزی دانست. اهمیت این موضوع به ویژه از این لحاظ است که در نتیجه بهبود شرایط کشاورزی در منطقه شاخص‌های اجتماعی مانند اشتغال در بخش کشاورزی، درآمد کشاورزان، مشاغل مرتبط با کشاورزی و غیره بهبود می‌یابد. با توجه به محدودیت منابع و جلوگیری از اتلاف این منابع محدود، به ویژه در کشورهای درحال توسعه، ارزیابی طرح‌های سرمایه‌گذاری، بخصوص سدها از نظراقتصادی و درکنارآن ارزیابی اجتماعی در تمامی دوره‌های قبل و بعد از اجرای طرح، امری ضروری و پیش نیاز انجام هر طرح است.

اثرات اقتصادی تحقیق حاضر نشان می‌دهد این فعالیت می‌تواند بر افزایش جذب سرمایه‌گذاری در زمینه پرورش آبزیان، ایجاد و افزایش اشتغال در بخش‌های مرتبط با پرورش آبزیان (اشتغال غیر کشاورزی را گسترش داده و وابستگی به تولید درآمد فقط از راه کشاورزی را کاهش دهد) و افزایش درآمد در جامعه روستایی و بهبود زندگی روستاییان اثرگذار باشد و درخصوص اثرات اجتماعی نیز می‌توان گفت بهبود و رونق حمل و نقل در منطقه که حاصل آن رفت و آمد بیشتر روستاییان به شهر و تبادل آسان کالا، نشاط بیشتر حاصل از آسایش اشاره نمود که این نتایج با نتایج مردانی ادبی و احمدوند و همچنین گلباز و همکاران مطابقت دارد.

ملک حسینی و میرک زاده (۱۳۹۴) در تحقیقی برتحلیل اثرات اجتماعی – اقتصادی سدسازی بر توسعه روستایی انجام دادند بیان داشتند که یکی از اهداف مهم توسعه‌ی روستایی بحث کاهش فقر در مناطق روستایی

می‌باشد. یافته‌های تحقیق آنها حاکی از موفقیت پروژه سد سلیمانشاه در زمینه کاهش فقر در منطقه‌ی تحت پوشش خود بوده است. در حقیقت سد مذکوراز طرق مختلف توانسته‌است نقش بسزایی را در این زمینه ایفا کند. از طرف دیگر یکی از اثرات اجتماعی سد مذکور کاهش مهاجرت و حتی در مواردی مهاجرت معکوس بوده‌است. سد مذکور در تقویت و تنوع اشتغال غیر کشاورزی در محیط روستاها نیز موفقیت خوبی داشته‌است. نتایج بررسی شاخص‌ها نشان می‌دهد که این طرح از لحاظ تقویت سرمایه اجتماعی، همبستگی و انسجام اجتماعی، بالا بردن امید به زندگی در مردم منطقه، حفظ امنیت منطقه و برقراری آرامش نسبی موفق بوده و اثرات قابل ملاحظه‌ای را بجاگذاشته است. یکی از اثرات مهم سد سلیمانشاه، توسعه توریسم و جذب گردشگر بوده‌است، سد مذکور هر ساله گردشگران زیادی را برای دیدن خود به شهر سنقر و منطقه تحت پوشش خود جلب کرده‌است که از جهات مختلف اقتصادی، اجتماعی و فرهنگی قابل تامل است و تبعات مثبت فراوانی را در پی دارد. این بررسی نشان می‌دهد که سد مذکور بطورکلی باعث بهبود وضعیت اقتصادی منطقه شده و اثرات اقتصادی از جمله افزایش قیمت زمین و املاک، افزایش درآمد، توسعه بخش کشاورزی، اطمینان روستاییان از کسب درآمد ثابت، جذب سرمایه‌های شهری به مناطق روستایی، افزایش قدرت خرید افراد روستایی و افزایش رقابت اقتصادی بین مردم را در برداشته است. از دیگر اثرات مهم سدسازی ورود گردشگران، افزایش درآمد از طریق مشاغل غیر کشاورزی، توسعه راه‌ها و ارتباطات روستایی (سهولت رفت و آمد) را می‌توان نام برد. تحقیق حاضر نشان داد که آبزی‌پروری در پشت سد می‌تواند به عنوان یکی از ارکان توسعه‌ی روستایی اثرگذار باشد. ایجاد اشتغال‌های مرتبط با گردشگری ایجاد کند. صید تفریحی، زنده فروشی، توسعه‌ی سفره‌خانه‌ها با صید ماهی تازه ، مکان‌های اسکان شبانه و توسعه‌ی فروشگاه‌های عرضه‌ی محصولات روستایی از اثرات مهم احداث آبزی‌پروری در منطقه می‌باشد که این موضوع با نتایج ملک حسینی مطابقت دارد.

حیدری ساربان (۱۳۹۴) در بررسی اثرات گردشگری در ارتقای توانمندی‌های اجتماعی و روان شناختی روستاییان شهرستان مشگین شهر بیان داشت ارتقای دانش و آگاهی، کاهش تنش‌های قومی در بین روستاییان، افزایش مشارکت اجتماعی، تسهیم دانش، افزایش قدرت تصمیم‌گیری افراد روستایی، تنو ع بخشی به فعالیت‌های اقتصادی، تقویت غرور و همبستگی جامعه میزبان، حفظ محیط‌زیست، بهزیستی اجتماعی، تسهیل جریان کارآمد اطلاعات، توانمندسازی فقرای روستایی، ارتقای شاخص‌های رفاه اجتماعی، کند شدن روند تخلیه سکونت‌گاه‌های روستایی، بهبود ظرفیت و اصلاح کیفیت اکوسیستم‌ها، ارتقای سطح بهره‌وری، تقویت و توسعه روحیه کارآفرینی، تقویت زیرساخت آموزشی، کاهش ریسک‌های کشاورزی، بهبود زیرساخت‌های ارتباطی و تقویت انسجام اجتماعی جامعه محلی از اثرات تقویت و توسعه گردشگری در مناطق روستایی می‌باشد. نتیجه مطالعه حاضر نشان داد که فعالیت آبزی‌پروری با توجه به تولید، ایجاد اشتغال غیر مرتبط نظیر رستوران و کافه‌های محل و جذب توریست، رفع نیازها از فروشگاه‌های محلی، حمل ونقل بطور مستقیم باعث کاهش فقر و بهبود شرایط زندگی روستاییان می‌شود. ورود گردشگران و افزایش رفت و آمد در

منطقه می‌تواند باعث افزایش قیمت زمین و املاک نیز شود که این موضوع با نتایج ملک حسینی ومیرک‌زاده و همچنین حیدری ساربان مطابقت دارد.

غیور و مسعودیان (۱۳۷۶) درتحقیقی بر اثرات گرمترشدن زمین بر چرخه‌ی آب در طبیعت در کشور ما ایران با توجه به ناپایداری شرایط اقلیمی، عدم توزیع یکنواخت زمانی - مکانی بارش و تغییرات نابسامان دمای هوا توجه به پایداری منابع آب، چگونگی تولید محصولات کشاورزی، تغییرات کاربری اراضی و شیوه‌های مقابله با خشکی و خشکسالی ضروری است. همانطورکه می‌دانیم حاصل تغییر اقلیم، کاهش بارش، خشکسالی و کاهش سطح زمین‌های زیر کشت می‌باشد که از نتایج آن کاهش درآمد حاصل از فعالیت کشاورزی، افزایش بیکاری، تغییر کاربری اراضی و تمایل جوانان به مهاجرت می‌شود. طبق نتایج غیور و مسعودیان در اثرات تغییر اقلیم بر کشاورزی و کاهش درآمد حاصل از آن، طبق نتایج این تحقیق فعالیت‌های اقتصادی در زمینه‌های آبزی پروری پشت دریاچه‌های سد با رونق اقتصادی در منطقه می‌تواند در کاهش اثرات تغییر اقلیم اثرگذار باشد.

Brummett و همکاران (۲۰۰۸) درتحقیقی که در آفریقا روی ارتباط بین پرورش آبزیان با رشد اقتصادی و امنیت غذایی انجام دادند بیان داشتندکه از اثرات مفید اقتصادی-اجتماعی پرورش ماهیان سردابی در مزارع، افزایش سرمایه‌گذاری در بخش آبزیان و بخش‌های مرتبط با آن و بهبود کیفیت و مقدار غذا و قوت روستاییان می‌باشد. از اثرات اجتماعی آن نیز به افزایش گردش و تفریح در بین روستاییان، دلخوشی و شادی روستاییان و همچنین افزایش رفت و آمد روستاییان به شهرها و دیگر روستاها اشاره نمودند. یکی از اهداف مهم کشور، امنیت غذایی می‌باشد که در اقتصاد مقاومتی نقش بسزایی ایفا می نماید. طبق نتایج این تحقیق احداث قفس و پرورش در پشت سد، توسعه‌ی آبزی‌پروری و استفاده از پتانسیل‌های موجود باعث افزایش تولید پروتئین و غذا در کشور، کاهش واردات وافزایش صادرات می‌شود که این نتایج با نتایج Brummett و همکاران مطابقت دارد.

اسدی و همکاران (۱۳۸۸) در تحلیل اثرات اقتصادی احداث حوضچه‌های پرورش ماهی شهرستان اردل در استان چهارمحال و بختیاری بیان داشتند که گسترش صادرات وافزایش درآمد پرورش دهندگان از مهم‌ترین اثرات اقتصادی احداث حوضچه‌های پرورش ماهی به شمار می‌روند .در نهایت طبق نتایج تحلیل عاملی، اثرات اقتصادی در قالب هفت دسته به ترتیب اهمیت شامل بهبود سرمایه‌گذاری در بخش کشاورزی و غیرکشاورزی، بهبود وضعیت اشتغال، بهبود وضعیت صادرات، بهبود درآمد، بهبود زیرساخت ها و جذب توریسم، بهبود تقاضا و گسترش نوآوری قابل طبقه‌بندی شدند که اثر بهبود سرمایه گذاری در بخش کشاورزی و غیرکشاورزی به عنوان مهم‌ترین اثر اقتصادی احداث حوضچه‌های پرورش ماهی شناسایی گردید. درتحقیق حاضرطبق رتبه بندی TOPSIS ، هفت اثر اصلی اقتصادی: افزایش جذب سرمایه‌گذاری در زمینه پرورش آبزیان، بهبود وضعیت اقتصادی، افزایش درآمد درجامعه روستایی منطقه، جلوگیری از تمایل جوانان به شغل‌های کاذب، ایجاد اشتغال دربخش‌های مرتبط با پرورش آبزیان، بهبود زندگی روستاییان و افزایش اشتغال دربخش پرورش آبزیان بوده که با نتایج اسدی و همکاران مطابقت دارد.

در این تحقیق یکی از اثرات مهم دیگر افزایش درآمد ناشی از جذب توریسم درمنطقه می‌باشد.

نتایج این تحقیق نشان داد که پرورش ماهی در قفس سدگلستان می‌تواند بطور مستقیم در ایجاد اشتغال، بهبود وضعیت اقتصادی منطقه و گردشگری و کاهش مهاجرت روستاییان به شهرها تاثیرگذار باشد. از طرفی تولید پروتئین می‌تواند در افزایش مصرف سرانه وسلامت غذایی ساکنین اثر بسزایی داشته‌باشد.

سپاسگزاری

بدینوسیله از دهیاری روستاهای قره‌جه، عرب‌سورنگ، آق‌آباد، سارجه‌کر ، مدیریت محترم آب منطقه‌ای استان گلستان، سد گلستان و همکاران محترم پروژه در مرکز تحقیقات ذخایر آبزیان آبهای داخلی گرگان کمال تشکر را داریم.

منابع

۱. ابراهیمی، م.، ۱۳۷۹. بررسی عملکرد مزارع پرورش میگو. گروه مطالعات اقتصادی شیلات ایران، ۲۵صفحه.

۲. اداره شیلات استان مرکزی، ۱۳۸۳. گزارش عملکرد سالانه‌ی استان مرکزی، اراک: اداره شیلات مرکزی، ۴۸صفحه.

۳. اسدی، ع.، کلانتری، خ.، انصاری اردلی، ع.، رحیمیان، م.، محمدی، ی.، ۱۳۸۸. تحلیل اثرات اقتصادی احداث حوضچه های پرورش ماهی شهرستان اردل دراستان چهار محال و بختیاری . مجله اقتصادی و توسعه کشاورزی(علوم و صنایع کشاورزی)، ۲۳ (۱)، ۱۰۷-۹۸.

۴. اکبرزاده، پ.، کابلی، س.ح.، ۱۳۹۶. ارزیابی اثرات اقتصادی- اجتماعی سدسازی و تاثیر آن برنظام بهره‌برداری سنتی(مطالعه موردی: سد سیازاخ شهرستان دیواندره). جغرافیا و پایداری محیط، ۲۳، ۶۵-۵۳.

۵. پیغان ر.، عبداله شایی، م.، ۱۳۸۴. مدیریت مزارع پرورش ماهی گرمابی بهداشت و تغذیه ماهی‌ها. چاپ اول، انتشارات دریاسر، .۱۵صفحه.

۶. حافظیه، م.، صالحی، ح.، صالحی، ع. ا.، پرافکنده حقیقی، ف.، گنجیان خناری، ع.، متین فر، ع.، فارابی، س م.و. ،جانبازی، ع.ا.، گل آقایی درزی،م.، فضلی، ح.، بهروزی،ش.، بعقوب زاده، ز.، قانعی تهرانی، م.، آذری، ح.، ۱۳۹۷. ارزیابی اقتصادی- اجتماعی پرورش ماهی قزل‌آلای‌رنگین کمان در قفس‌های شناور در منطقه‌ی جنوبی دریای خزر. گزارش نهایی پروژه ، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور،۴۶ صفحه.

۷. حسین جانی، ع.، صیاد بورانی، م.، ولی پور، ع.، احمد نژاد، م.، ۱۳۹۹. مروری بر وضعیت و الزامات توسعه پرورش ماهی درقفس درایران و جهان. مجله توسعه آبزی پروری، ۱۴(۱)، ۳۷-۲۵.

۸. حیدری ساربان، ۱۳۹۴. بررسی اثرات گردشگری در ارتقای توانمندی‌های اجتماعی وروان شناختی روستاییان شهرستان مشگین شهر(مطالعه‌ی موردی) ، مجله‌ی برنامه‌ریزی و توسعه گردشگری، ۴(۱۲)، ۱۸۲-۱۶۴.

۹. درخشان، م.، طغیانی، م، ۱۳۹۴. روش‌شناسی تهیه ارزیابی فرهنگی – اجتماعی برای طرح‌های اقتصادی مجله راهبرد فرهنگ، ۲۹، ۳۵-۷.

۱۰. درخشنده، ر.، ۱۳۹۳. طرح بین‌المللی حفاظت از تنوع زیستی در سیمای حفاظتی زاگرس مرکزی. دستورالعمل آبزی‌پروری پایدار. معاونت سازمان حفاظت محیط‌زیست، محیط طبیعی و تنوع‌زیستی، با همکاری UNDP/GEF . ۳۹ صفحه.

۱۱. رضایی، ج.، درویشی، ب.، ۱۳۸۶. ارزیابی اقتصادی مزارع پرورش ماهی قزل‌آلا در استان ایلام، فصل‌نامه‌ی امور دام و آبزیان، ۱۶۰، ۷۶-۱۵۰.

۱۲. شهرکی، م.، شریف‌زاده، م.، ۱۳۹۴. ارزیابی جایگاه آبزی‌پروری در معیشت پایدار روستایی کشاورزان شهرستان زاهدان. پژوهش‌های روستایی، ۶(۱)، ۱۱۶-۹۷.

۱۳. صالحی، ح.، ۱۳۸۱ . نیازهای تحقیقات اقتصاد آبزی‌پروری در ایران. مجله علمی شیلات ایران، ۱۱(۴)،۹۶-۷۴.

۱۴. غیور، ح .، مسعودیان، س.، ۱۳۷۶. اثرات گرمتر شدن زمین بر چرخه‌ی آب در طبیعت . فصلنامه تحقیقات جغرافیایی، ۴۶، ۶۹-۵۳.

۱۵. گلباز، م.، حیدری، ب.، حسین‌زاد فیروزی، ج.، حیاتی، ب.، ریاحی درچه، ف.، ۱۳۹۶. ارزیابی اثرات اجتماعی- اقتصادی و زیست‌محیطی سد و شبکه آبیاری تنگاب فیروزآباد فارس. مجله تحقیقات و توسعه کشاورزی ایران، ۲-۴۸(۲) ،۱۹۵-۱۷۹.

۱۶. مردانی ادبی، ی.، احمدوند، م.، ۱۳۹۱. ارزیابی اثرات اقتصادی- اجتماعی پرورش ماهیان سردابی در مزارع شهرستان بویراحمد . چهارمین کنگره علوم و ترویج و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی ایران،کرج، ۴۶-۳۴.

۱۷. ملک حسینی، ا.، میرک‌زاده، ع. ا.، ۱۳۹۴. تحلیل اثرات اجتماعی – اقتصادی سد سازی بر توسعه روستایی (مطالعه موردی سد سلیمانشاه). نشریه علمی – پژوهشی جغرافیا و برنامه‌ریزی، سال۱۹(۵۳)، ۳۵۱-۳۲۵.

۱۸. یزدانی، س.، رفیعی، ح.، رمضانی، م.، ۱۳۹۸. ارزیابی بهره وری کل عوامل تولیدوکارایی مزارع پرورش ماهی قزل آلارنگین کمان در قفس های دریایی مازندران. مجله توسعه آبزی پروری، ۱۳(۴)، ۱۳۴-۱۲۳.

19. Ahmed, M., Lorica, M.H., 2002. Improving developing country food security through aquaculture development-lessons from Asia. Food Policy. 27, 125–141.
20. Brummett, J., Randall E., Lazard R., Moehl, J., 2008. African aquaculture: Realizing the potential, journal of food policy, 33, 371-385.
21. FAO., 2000 a. The state of world fisheries and aquaculture. Rome, Italy. 142 P.
22. FAO., 2000 b. Small Ponds Make a Big Difference: Integrating Fish with Crop and Livestock Farming. Farm Management and Production Economics Service and Inland Water Resources and Aquaculture Service, FAO, Rome, Italy.
23. Jolly, C.M., Clonnts II.A., 1993. Economics of Aquaculture. Haworth Press Inc. Binghamton, New York, USA. 319 P.
24. McFadden, D., 1981. Econometric models of probabilistic choice, Structural Analysis of Discrete Data with Econometric Applications. MIT Press, Cambridge, MA.
25. Minh Duc, N., 2007. Economic contribution of fish culture to farm income In Southeast Vietnam, Aquaculture International, 17, 22-29.
26. Nhan, D.K., Phong, L.T., Verdegem, M.J.C., Duong, L.T., Bosma, R.H., Little, D.C., 2007. Integrated freshwater aquaculture, crop and livestock production in the Mekong delta, Vietnam: determinants and the role of the

pond.Agricultural System, vol.94, No. 2, pp.445–458.

27. Pillay, T.V.R., 1990. Aquaculture principles and practices. Fishing News Book Ltd., London. UK. 575 P.

28. Yang, Y.F., Li Chun, H.N. Xiang, P., Tang, D.L., Chung, I.K., 2004. Development of mariculture and its impacts in Chinese coastal waters Reviews in Fish Biology and Fisheries, 14, 1–10.

تاثیر جیره حاوی پروبیوتیک *Bacillus subtilis* IS02 بر شاخص های سلامتی، عملکرد سیستم ایمنی و پیشگیری از بیماری لکه سفید در میگوی سفید غربی

بابک قائدنیا [۱*]، مریم میربخش [۱] و سید محمد جلیل ذریه زهرا [۱]

۱- موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۴/۱۶ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۷/۲۲

چکیده

در این پژوهش پروبیوتیک "تک‌سل" که بر اساس مطالعات ۸ ساله موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور (از ۱۳۸۸ لغایت ۱۳۹۵) در پژوهشکده میگوی کشور و با همکاری شرکت تک ژن زیست تولید شده است، در جیره غذایی میگوهای پرورشی سفید غربی (*Litopenaeus vannamei*) با میانگین وزنی بیش از ۶ گرم افزوده شد (به سه مقدار $۱۰^{۶}$ و $۱۰^{۷}$ و $۱۰^{۸}$ CFU/Kg) و شاخص‌های سلامتی (شامل تعداد هموسیت کل، شمارش افتراقی هموسیت‌ها و میزان پروتئین پلاسما کل) میگوها در ابتدا و انتهای دوره آزمون، تعیین گردید. برای این منظور میگوها به صورت تصادفی انتخاب شده و در آکواریوم‌های ۱۵۰ لیتری (در هر اکواریوم ۳۰ قطعه) نگهداری شدند. میگوها در سه تیمار و هر کدام با سه تکرار تیماربندی شدند و کنترل منفی (تغذیه با جیره فاقد پروبیوتیک و عدم مواجهه با عامل بیماری) و کنترل مثبت (صرفاً مواجهه با عامل بیماری) منظور شد. در هر تیمار، میگوها سه بار در روز به مدت ۴۰ روز با غذای پلت حاوی پروبیوتیک تک‌سل تغذیه شدند و در طول آزمون، پارامترهای دما، شوری و اکسیژن ثبت گردد. پس از ۴۰ روز نیز مواجهه با ویروس لکه سفید انجام شده و به مدت ۲ هفته روزانه تلفات و درصد بازماندگی ثبت شد. پس از نمونه‌گیری همولنف، شاخص سلامت، شامل تعداد هموسیت کل (Total Hemocyte Count,THC)، شمارش افتراقی هموسیت‌ها (Differential Hemocyte Count ,DHC) و میزان پروتئین پلاسما کل (Total Plasma Protein,TPP) اندازه‌گیری و در تیمارها با گروه‌های شاهد مثبت و منفی، مقایسه گردید. بر اساس یافته‌های این پژوهش، می‌توان بیان کرد که تغذیه میگوهای سفید غربی با جیره‌های غذایی حاوی مقادیر $۱۰^{۷}$ و $۱۰^{۸}$ CFU/Kg موجب افزایش معنی‌دار ($P\leq ۰/۰۵$) عملکرد سیستم ایمنی میگوها و شاخص‌های سلامتی می‌گردد. افزون بر این تغذیه با جیره‌های غذایی مورد اشاره، در افزایش درصد بازماندگی میگوهای مواجهه یافته با ویروس لکه سفید در مقابسه با شاهد، موثر می‌باشد ($P\leq ۰/۰۵$).

کلمات کلیدی: میگوی سفید غربی، *Litopenaeus vannamei*، پروبیوتیک، شاخص‌های سلامتی، تعداد هموسیت کل، شمارش افتراقی هموسیت‌ها، میزان پروتئین پلاسما کل

* عهده‌دار مکاتبات (✉). babak.ghaednia@gmail.com

مقدمه

با پیشـــرفت تکنولوژی، اهمیت پارامترهای محیطی در سیستم‌های مدیریتی آشکار گردید و سیستم‌های مدیریتی با تاکید بیشتر بر پایش پارامترهای محیطی طراحی و اجرا شد. ولی علی‌رغم اعمال مدیریت‌های بهداشتی کامل، برخی از فشارهای محیطی مثل استرس هنگام انتقال لاروهای میگو از هچری به مزرعه اجتناب ناپذیر می‌باشد. برای کارآمد بودن هر روش کنترلی در مدیریت بیماری باید بکارگیری آن روش بخشی از سیستم مدیریت بهداشتی جامعی باشد که در استخر اعمال می‌شود. پروبیوتیک‌ها و محرک‌های سیستم ایمنی می‌توانند نقش مهمی در چنین سیستم‌هایی ایفا کنند (Bachère, 2000). پروبیوتیک یا Probiotics، Probiont، Probiotic bacteria و Beneficial bacteria واژه‌هایی هستند که مترادف یکدیگر بوده و همگی برای باکتری‌های پروبیوتیک استفاده می‌شوند.

پرورش میگو در سال‌های اخیر به یکی از عمده‌ترین فعالیت‌های اشتغال‌زا و سودآور در جهان تبدیل شده است، این صنعت در ایران از حدود ۲۰ سال پیش و با سرمایه‌گذاری بخش دولتی و خصوصی در استان بوشهر و پس از آن در سایر سواحل جنوبی کشور آغاز شد. بیماری‌های میگو همواره باعث ایجاد خسارات اقتصادی و اجتماعی زیادی به جامعه پرورش‌دهندگان و سایر حلقه‌های مرتبط در صنعت میگوی پرورشی شده است. در بین عوامل بیماری‌زا، ویروس لکه سفید بیماری‌زاترین عامل مرگ و میر و تلفات در میگوهای پرورشی است (Quang *et al.*, 2008).

بیماری‌های ویروسی خسارت زیادی را در تایوان، چین، اندونزی، ایران، هند، پاناما، هندوراس و اکوادور به صنعت آبزی پروری وارد کرده اند. به طور کلی می توان بیان کرد که نیمکره غربی با ویروسی که از شرق آمد، یعنی عامل بیماری لکه سفید، می‌جنگد و نیمکره شرقی با ویروسی که از غرب آمد یعنی عامل بیماری دم قرمز تورا[1] در ستیز است. برای درمان بیماری‌های ویروسی دارویی وجود ندارد ولی تکنیک‌های مدیریتی، اثرات ویروس‌ها را کاهش می‌دهد. هم اکنون تمامی مطالعات انجام شده در خصوص بیماری لکه سفید، لزوم بکارگیری ابزارهای مدیریتی پیشگیرانه برای کنترل آن را خاطرنشان می‌سازد. میزان برداشت میگوی پرورشی استان از سال ۱۳۷۴ لغایت ۱۳۸۳ از رشد مناسبی برخوردار بود؛ به طوری که در سال ۱۳۸۳ به ۵۶۰۰ تن رسید. میانگین وزنی اعلام شده تقریبا ۱۷ الی ۱۸ گرم بوده است که ارزش اقتصادی آن بالغ بر ۱۶۰ هزار میلیارد ریال می باشد، ولی در سال ۱۳۸۴ بدلیل بروز و شیوع بیماری لکه سفید (WSD) به حدود ۵۰۰ تن رسیده است. با توجه به پایین بودن میانگین وزنی میگوهای برداشت شده در این سال ارزش اقتصادی آن به حدود ۹۰ میلیارد ریال کاهش یافت (Salehi *et al.*, 2010).

در حال حاضر، پروبیوتیک‌های مرتبط با صنعت آبزیان، به طور وسیعی در امریکا، ژاپن، کشورهای اروپایی، اندونزی و تایلند تولید و استفاده می‌شوند. یکی از اثرات مفید پروبیوتیک‌ها، بهبود عملکرد ایمنی آبزیان پرورشی، در مقابله با میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا و در نهایت کاهش استفاده از آنتی بیوتیک‌ها، مواد شیمیایی و نیز پیشگیری از اپیدمی‌های ناگهانی

[1] Taura

بیماری‌ها گزارش شـده اسـت (وشـتانی و همکاران، ۱۳۹۳؛ خانجانی و همکاران، ۱۳۹۵؛ Newman,1999). آبزی‌پروری در ایـران یکی از محورهـای توسـعه استان‌های جنوبی و شمالی کشور محسوب می‌شود ولی کاربرد و توسعه پروبیوتیک در صنعت آبزی‌پروری، در مقایسه با سایر کشورها، بسیار ناچیز است. از آن جهت کـه کنترل بیمـاری هـا نیـاز بـه اقـدامـات نوینی دارد که مقرون به صـرفه، موثر و سـازگار با محیط زیست باشند، اسـتفاده از باکتری‌های مفید (پروبیوتیک‌ها) در صـنعت پرورش آبزیـان به عنوان بهترین، ارزان‌ترین و موثرترین روش برای کنترل عوامل بیماریزا در مقایسه با استفاده از آنتی بیوتیک‌ها می‌باشد (Salehi *et al*., 2010).

حسـن‌نیـا و همکـاران (۱۳۸۱)، به منظور تعیین اثر بـاکتری *Pseudomonas Fluorescenca* بر رشـد و بقـای مـیگوی سـفیـد هنـدی (*Fenneropenaeus indicus*) در مرحله لاروی اولیه، پژوهشـی انجام دادند. اثر باکتری در آزمایش‌های مختلف به صـورت مکمل غـذای زنـده یـا جـایگزین جلبـک بر لارو میگو مورد مطـالعـه قرارگرفـت. آنهـا اعلام کردند که اسـتفاده از ۵۰mg/L باکتری *سـودوموناس فلورسـنس*، می‌تواند تا ۲۶۶٪ بقـاء، ۵۶٪ طول و۱۲۲٪ وزن را بهبود بخشـد. بر اسـاس مطالعات Jiravanichpasial و همکارانش در سال ۱۹۹۷ می‌توان از گونه‌های *Lactpbacillus spp.* به عنوان پروبیوتیـک در *Penaeus monodon* اسـتفاده کرد. در مطالعه‌ای که توسط Rengpipat در سال ۲۰۰۰ برای مطالعه بهبود عملکرد سـیسـتم ایمنی در میگوی ببری سیاه به وسـیله باکتری پروبیوتیک *Bacillus* S11 انجام شـد، نشـان داد که در میگوهای تغذیه شـده با این سـویـه، پارامترهای ایمنی به طور چشـمگیری افزایش یـافـت و همچنین موجـب بهبود نرخ رشـد شـد. در مطالعه‌ای دیگر یک سـویه از باسـیلوس موجب بهبود کیفیت آب و افزایش میزان رشد و بازماندگی میگوهای پنئوس مونودون جوان و کـاهش ویبریو هـای بیمـاریزا می‌شـود (Dalmin *et al*., 2001). بـا مطـالعـه Li و همکاران، در سـال ۲۰۰۷، بر روی اثرات گونه *باسیلوس لیکینیفرمیس*[1] بر روی فلور میکروبی روده و سـیسـتم ایمنی میگوی سـفید غربی مشـخص شـد *باسـیلوس لیکینیفرمیس* در پرورش میگوی سـفیـد غربی موجـب مهـار گونـه‌هـای *ویبریو* از طریق حذف رقابتی شـده و مـوجـب بـهـبود عملکرد ایمنی میگو شـد. بنـابراین *Bacillus licheniformis* مـی‌تـوانـد بـه عنوان یـک محرک سـیسـتم ایمنی در مکمـل‌هـای غـذایی مورد اسـتفاده در آبزی پروری، به منظور بهبود عملکرد ایمنی در میگوها، استفاده شود.

در سـال ۲۰۱۰a، Liu و همکاران در مطالعه‌ای که بر روی تـاثیر پروبیوتیـک *Bacillus subtilis* E20 بر درصـد بازماندگی، رشـد، تحمل اسـترس و وضـعیت ایمنی در لاروهـای میگوی سـفید غربی انجام دادند، به این نتیجه رسـیدند که رشـد لارو میگوها به طور قابل مـلاحـظـه‌ای پـس از افـزودن پـروبـیوتیـک بـه میزان 10^9 CFU/ml افزایش یـافـت و درصـد بـازمـاندگی لاروهـای تیمار شـده با پروبیوتیک به میزان معنی‌داری بیشـتر از کنترل بود. بر اسـاس گزارش Zokaeifar و همکاران (۲۰۱۲) تغذیه میگوهای سفید غربی توسط دو سـویه *باسیلوی سابتیلیس* به مدت ۸ هفته و سپس بررسی اثر آنها در پیشـگیری از بروز ویبریوزیس نشـان داد که اسـتفـاده از این بـاکتری‌هـا سـبب افزایش وزن نهایی، ضریب رشد و فعالیت آنزیمی در مقایسه با گروه کنترل

1

گردید و همچنین ضریب رشد ویژه و درصد بازماندگی در میگوهایی که با دوز 10^8CFU/ml از باکتری‌ها تغذیه شده بودند اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد داشتند. Mirbakhshو همکاران (۲۰۱۳)، در پژوهش برروی میگوی سفید غربی در استان بوشهر، پس از جداسازی و شناسایی مولکولی باکتریهای موثر در تولید پروتیوتیک تاثیر هر یک از سویه‌های باکتریایی IS02 وIS03، به عنوان پروبیوتیک‌های بومی در آزمایش‌های انجام شده بر روی پست لارو میگوی سفید غربی اعلام کرد، درصد مرگ و میر تجمعی میگوهایی که با غذاهای حاوی پروبیوتیک، تغذیه شده بودند نسبت به گروه کنترل کاهش داشت ($P\leq$۰/۰۵). در پژوهش حاضر تاثیر پژوهش سویه بومی باسیلوس سابتیلیس جدا شده از مزارع پرورش میگو بر شاخص‌های سلامتی میگوهای سفید غربی مورد مطالعه قرار گرفت. یکی از مشکلات عمده در مطالعات مربوط به روش‌های مورد استفاده جهت بهبودِ مقاومتِ میگو در شرایط مختلف و تیمارهای مختلف، انتخاب فاکتورهای مناسب جهت تعیین سلامت میگو است، لذا در این مطالعه سه فاکتور THC، DHC و TPP برای این منظور در نظر گرفته شد (Sanchez *et al*,. 2001).

مواد و روش‌ها

سویه باکتری پروبیوتیک تک‌سل، باسیلوس سابتیلیس IS02 [1] (GenBank: JN856456.1) با دوز 10^{13}CFU/kg با فیلر کلسیم کربنات (نام تجاری تک‌سل- شرکت تک ژن زیست، ایران) می‌باشد.

تجهیزات و مواد مصرفی مورد استفاده عبارتند از سمپلر، اتوکلاو (ایران طب زعیم)، فور، هموژنایزر، انکوباتور یخچال‌دار (JSBI-250 C, JSR Inc, Korea)، انکوباتور شیکردار (JSSI-200CL, JSR Inc, Korea)، سانتریفیوژ یخچال‌دار (3-16PK, - Sigma Inc, Germany)، اسپکتروفتومتر (UV-Vis Spectrophotometer 6800 Jenway Inc, England)، هموژنایزر، هیتر، ترازو، هود لامینار، شوری‌سنج چشمی، پمپ هواده، پمپ کف‌کش، کلونی کانتر، دماسنج، فریزر ۲۰- و۷۰- درجه سانتیگراد، آسیاب، همزن برقی، چرخ گوشت، پلیت ۸ سانتی‌متری، سر سمپلر زرد و آبی، میکروتیوب، پنبه، کووت، کلرید سدیم،آب مقطر، آب تصفیه شده دریا، فویل، محیط کشت Tryptice Soy Broth (Merk, Germany)، محیط کشت Thiosulfate Citrate Bile Salts Sucrose Agar (TCBS) (Merk, Germany).

این پژوهش در سالن مواجهه پژوهشکده میگوی کشور، در بوشهر و در اکواریوم‌های ۱۵۵ لیتری حاوی آب فیلتر شده و کلرزنی به مدت ۲ ماه شده انجام شده است و پروبیوتیک تک سل که که بر اساس مطالعات ۸ ساله پژوهشکده میگوی کشور (از ۱۳۸۸ لغایت ۱۳۹۵) و با همکاری شرکت تک ژن زیست تولید شده است، در جیره غذایی میگوهای پرورشی سفید غربی با میانگین وزنی ۰/۸۹± ۷/۰۲ گرم افزوده شد (به سه مقدار 10^6 و 10^7 و 10^8CFU/Kg) و شاخص‌های سلامت (شاملTHC، TPP وDHC) میگوها در ابتدا و انتهای دوره آزمون، تعیین گردید. برای این منظور میگوها به صورت تصادفی انتخاب شده و در آکواریوم‌های ۱۵۵ لیتری (در هر اکواریوم ۳۰ قطعه) نگهداری و آداپته شدند. هر کدام از سه تیمار با سه تکرار تیماربندی شد و همچنین کنترل منفی (فاقد

[1] *Bacillus subtilis* IS02

پروبیوتیک و عامل بیماری) و کنترل مثبت (صرفاً پروبیوتیک) نیز منظور شد. در هر تیمار، میگوها سه بار در روز به مدت ۴۰ روز با غذای پلت شده حاوی پروبیوتیک تک سل تغذیه شدند (ساعات ۸ صبح، ۲ بعد از ظهر و ۱۰ شب) و پارامترهای دما، شوری و اکسیژن ثبت گردید. در آغاز و پایان دوره ۴۰ روزه، میگوها بیومتری و اطلاعات مربوطه ثبت شد و همچنین از میگوهایی که در فاز بین دو پوست‌اندازی بر اساس کلید شناسایی مراحل پوست‌اندازی (Promwikorn *et al.*, 2004) بودند، نمونه همولمف جمع‌آوری شد و شاخص سلامت شامل THC، DHC و TPP، اندازه‌گیری و تعیین گردید و در تیمارها با گروه‌های شاهد مثبت و منفی، مقایسه شد (Zhenguo *et al.*, 2003).

در این پژوهش ۲ گروه شاهد (مثبت و منفی) و سه تیمار و هرکدام با سه تکرار (به شرح جدول ذیل) منظور شد.

در مورد شاهد مثبت در مدت ۴۰ رور نخست با جیره غذایی فاقد پروبیوتیک تغذیه و در پایان ۴۰ روز با ویروس لکه سفید مواجهه داده شد. مواجهه در اکواریوم‌های ۱۵۵ لیتری که حاوی ۵۰ لیتر آب دریای فیلتر شده و کلر زده که از مرکز تولید میگوی عاری از بیماری خلیج فارس تامین شده بود انجام گردید. به مدت ۲ هفته درصد بازماندگی در تمامی تیمارها پیگیری و ثبت شد. برای آلوده کردن میگوها از تغذیه کردن میگوهای تیمارها و شاهد مثبت با میگوهای تلف شده بر اثر بیماری لکه سفید (که پس از انجام تستPCR، در فریزر منفی ۷۰ درجه سانتیگراد منجمد شده بودند) برای آلوده کردن میگوها استفاده شد.

جدول ۱: گروه‌های شاهد و تیمار، نوع تغذیه هر گروه، مواجهه یا عدم مواجهه با ویروس بیماری لکه سفید میگو، نام اختصاری منظور شده برای هر گروه و تعداد میگو در هر تیمار

نام اختصاری تیمار	تعداد میگو در هر تکرار	مواجهه با عامل ویروسی	تغذیه با جیره واجد پروبیوتیک
C1	۳×۳۰	منفی	شاهد منفی (پروبیوتیک- و مواجهه -)
C2	۳×۳۰	مثبت	شاهد مثبت (پروبیوتیک- و مواجهه +)
T1	۳×۳۰	مثبت	$۱۰^{۶}$ CFU/Kg در هر گرم خوراک
T2	۳×۳۰	مثبت	$۱۰^{۷}$ CFU/Kg در هر گرم خوراک
T3	۳×۳۰	مثبت	$۱۰^{۸}$ CFU/Kg در هر گرم خوراک

برای تعیین THC ، همولمف از سینوس شکمی و از بند دوم نمونه‌برداری شد. برای این منظور از سرنگ ۱ml انسولین حاوی ۰/۴ ml آنتی کوآگولانت Alsever با دمای ۴ درجه سانتیگراد و pH برابر با ۷/۲ استفاده گردید (Jiang *et al.*, 2004). پس از نمونه‌برداری، محتویات سرنگ به اپندروف ۲ میلی‌لیتری مخصوص سانتریفیوژ که از قبل حاوی ml ۰/۴ آنتی‌کوآگولانت بود انتقال یافت و برای هر میگو دو اسمیر از همولمف آسپیره شده، تهیه و در مجاورت هوا خشک شد. همولمف باقی‌مانده در اپندورف‌ها تا ۱ ساعت پس از نمونه‌برداری بر روی یخ قابل نگهداری است.

برای تعیین DHC ، اسمیرهای تهیه شده از همولمف به روش Gimsa – May Grunwad رنگ‌آمیزی شدند (Ghaednia *et al*., 2011) و سلول‌های رنگ‌آمیزی شده با میکروسکوپ نوری و با بزرگنمایی ×۱۰۰ مورد بررسی قرار گرفتند (Kidchakan and Juadee, 2003).

برای اندازه گیری TPP از روش لوری استفاده شد. این روش بر اساس تبدیل Cu^{2+} به Cu^{+} در شرایط قلیایی و واکنش مس قلیایی با پروتئین‌ها و احیای فسفومولیبدات (معرف فولین) توسط تیروزین و تریپتوفان پروتئین‌ها استوار می باشد. در اثر ایجاد کمپلکس پروتئین‌ها با معرف فولین (ترکیبات آن عبارتند از: تنگستات سدیم و مولیبدات سدیم در اسیدفسفریک و اسید کلریدریک)رنگ آبی ایجاد می‌شود که شدت رنگ حاصله به مقدار اسید آمینه‌های

۱- پودر کردن خوراک پلت شده
۲- افزودن آب (۳/۵ درصد وزن خشک)
۳- حرارت دهی در حمام آب گرم ۸۰ ^{o}C
۴- مخلوط کردن با همزن با دور بالا
۵- افزودن پروبیوتیک به میزان تعیین شده در هر تیمار
۶- مخلوط کردن با همزن با دور بالا

برای تیماربندی، در ابتدا جمعیت میگوهای جمع‌آوری شده از نظر نرمال بودن توزیع وزن مورد بررسی قرار گرفت. با توجه به حجم نمونه (تعداد میگوها بیش از ۵۰ عدد)، از آزمون Kolmogorov-Smirnov استفاده شد برای تجزیه و تحلیل داده‌های آزمایش از آنالیز واریانس یک طرفه و برای تعیین وجود یا عدم وجود اختلافات معنی‌دار در سطح اعتماد ۹۵ درصد از آزمون‌های Post Hoc دانکن، توکی و جیمز- هاول استفاده شد.

حلقوی فوق بستگی دارد. سپس با استفاده از اسپکتروفوتومتر، میزان جذب نوری نمونه‌ها اندازه‌گیری و با منحنی استاندارد مقایسه شده و میزان پروتئین محلول نمونه تعیین گردید.

روش تهیه غذای حاوی پروبیوتیک

برای اضافه کردن پروبیوتیک به غذای پلت شده به گونه ای عمل شد که پس از اضافه کردن آن به خوراک پلت شده، خوراک در آب حل نشود، برای این منظور آگار اضافه گردید (Zhang *et al*., 2011, Chai *et a*l., 2016).

مراحل تهیه کردن جیره‌های حاوی مقادیر مختلف پروبیوتیک تک سل:

۷- افزودن آگار، ۰/۰۵ تا ۰/۱ درصد وزن خشک
۸- مخلوط کردن با همزن با دور بالا
۹- نگهداری در دمای ۴ درجه سانتیگراد
۱۰- انتقال به دمای منفی ۱۵ درجه سانتیگراد
۱۱- تبدیل به قطعات مورد نظر
۱۲- نگهداری جیره‌های‌تولید شده در دمای ۴ ^{o}C

نتایج

اثر پروبیوتیک بومی بر شاخص‌های سلامتی (THC و TPP) میگوی سفید غربی در شرایط آزمایشگاهی

تعداد هموسیت کل میگوهای سفید غربی در ابتدای تیماربندی، پس از ۴۰ روز تغذیه با جیره‌های حاوی مقادیر تعیین شده پروبیوتیک تک سل در گروه شاهد منفی بین ۹/۴۵±۷۰/۶۷ و ۵/۵۷±۷۵/۰۰ تعیین گردیدکه برحذف فاکتورهای مذاخله کنند درروند آزمایش دلالت دارد (جدول ۲).

همانطور که در جدول ۳ مشـــاهد می‌شـــود، افزایش میزان پروتئین پلاســمای کل در میگوهای تیمار T3 پس از ۴۰ روز تغـذیـه بـا جیره‌هـای حـاوی CFU/Kg۱۰۸ پروبیوتیک تک ســل و همچنین ۱۴ روز پس از مواجهه با ویروس لکه سـفید، اختلاف معنی داری با شاهد منفی و مثبت نشان داد.

جدول۲: تعداد هموسیت کل(10^5cell/ml×) در میگوی سفید غربی در ابتدای تیماربندی و ۴۰ روز پس از تغذیه به جیره‌های حاوی با جیره‌های حاوی مقدار مختلف 10^6 و 10^7 و 10^8CFU/Kg پروبیوتیک تک سل

تیمارها	تعداد هموسیت کل(10^5cell/ml×)		
	در ابتدای تیماربندی	پس از ۴۰ روز تغذیه	۱۴ روز پس از مواجهه با ویروس
C1	۷۰/۶۷±۹/۴۵ a	۷۳/۶۷±۱۳/۰۵ a	۷۵/۰۰±۵/۵۷ b
C2	۶۹/۰۰±۶/۵۶ a	۷۲/۳۳±۱۲/۵۰ a	۳۹/۳۳±۱۴/۰۱ a
T1	۷۰/۳۳±۱۰/۰۲ a	۱۰۳/۶۷±۱۳/۵۸ b	۷۵/۳۳±۱۴/۲۹ c
T2	۷۲/۰۰±۸/۷۲ a	۱۲۶/۳۳±۶/۰۳ c	۷۳/۳۳±۱۲/۳۹ c
T3	۷۴/۶۷±۵/۸۶ a	۱۲۷/۳۳±۶/۶۶ c	۸۹/۳۳±۱۵/۵۰ d

وجود حروف a، b، c و d در هر ستون به معنی وجود اختلاف معنی‌دار بین مقادیر تعیین شده در هر جدول می‌باشد.

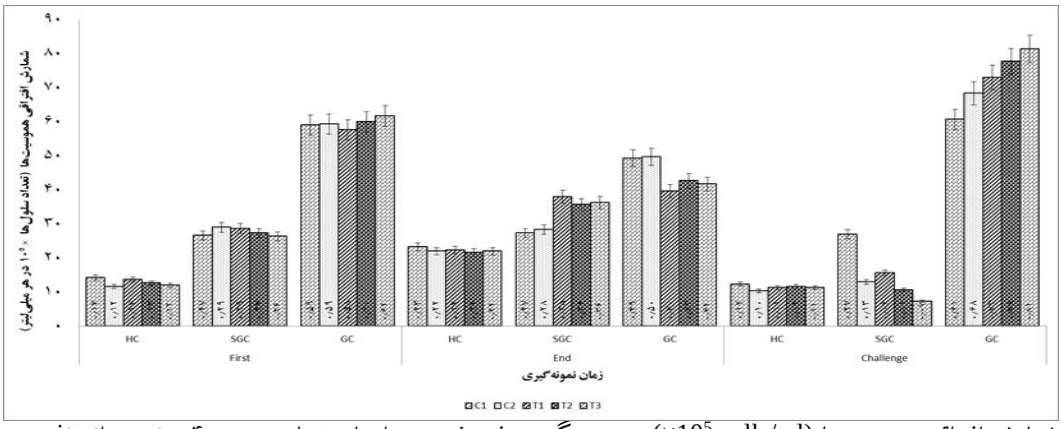
جدول ۱: پروتئین پلاسمای کل(mg/ml) در میگوی سفید غربی در ابتدای تیماربندی و ۴۰ روز پس از تغذیه به جیره‌های حاوی با جیره‌های حاوی مقدار مختلف 10^6 و 10^7 و 10^8CFU/Kg پروبیوتیک تک سل

تیمارها	پروتئین پلاسمای کل(mg/ml)		
	در ابتدای تیماربندی	پس از ۴۰ روز تغذیه	۱۴ روز پس از مواجهه با ویروس
C1	۷۷/۱۷±۱۲/۳۶ a	۷۴/۲۲±۱۰/۹۴ a	۷۱/۹۱±۷/۶۱ b
C2	۷۲/۴۲±۱۰/۵۱ a	۷۳/۴۳±۱۹/۳۶ a	۴۸/۲۷±۶/۲۱ a
T1	۷۴/۴۲±۱۵/۷۲ a	۱۱۰/۵۹±۹/۸۰ b	۸۶/۸۲±۲۷/۳۰ c
T2	۷۸/۷۹±۱۱/۰۲ a	۱۰۷/۶۳±۱۱/۷۴ b	۱۰۵/۸۵±۱۵/۰۵ c
T3	۷۸/۱۱±۱۴/۳۶ a	۱۱۷/۴۲±۱۲/۳۴ b	۱۱۹/۹۳±۲۵/۹۵ d

وجود حروف a، b، c و d در هر ستون به معنی وجود اختلاف معنی‌دار بین مقادیر تعیین شده در هر جدول می‌باشد.

اثر پروبیوتیک بومی بر شمارش افتراقی هموسیت‌های میگوی سفید غربی در شرایط آزمایشگاهی

تابلوی خونی مربوط به شمارش افتراقی هموسیت‌های میگوهای این مطالعه نشان می‌دهد تغذیه با جیره‌های حاوی ۱۰۶ و ۱۰۷ و ۱۰۸CFU/Kg پروبیوتیک تک سل، نشان داد که هموسیت‌های گرانیولار که در مقابله با عوامل ویروسی نقش اصلی را ایفاء می‌کنند. افزایش معنی‌داری را نشان می‌دهند (شکل ۱).



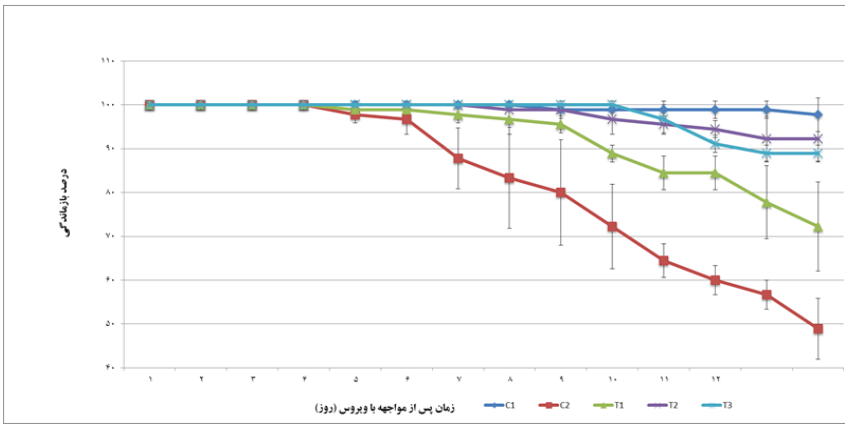
شکل ۱: شمارش افتراقی هموسیت‌ها (10^5 cells/ml×) در در میگوی سفید غربی در ابتدای تیماربندی و ۴۰ روز پس از تغذیه به جیره‌های حاوی با جیره‌های حاوی مقدار مختلف ۱۰۶ و ۱۰۷ و ۱۰۸CFU/Kg پروبیوتیک تک سل H: Hyaline cells, GC: Granular Cells, SGC: Semi Granular Cells)

اثر پروبیوتیک بومی بر پیشگیری از بیماری لکه سفید در میگوی سفید غربی در شرایط آزمایشگاهی

به میگوهای گروه شاهد منفی و مثبت و همچنین میگوهای تغذیه شده با جیره غذایی حاوی سه مقدار مختلف ۱۰۶ و ۱۰۷ و ۱۰۸ CFU/Kg از پروبیوتیک تک سل به مدت ۴۰ روز، در پایان دوره تغذیه،۰/۱ میلی لیتر از سوسپانسیون ویروسی به هر میگو تزریق شد (به غیر از گروه شاهد منفی که به جای سوسپانسیون ویروسی سرم فیزیولوژی در یافت نمودند) ، در پایان دوره ۱۴ روزه پس از تزریق، میانگین بازماندگی بترتیب به ۹۶/۷±۵/۸، ۴۰±۱۰، ۶۳/۳±۵/۸، ۸۰±۱۰ و ۷۶/۷±۵/۸ درصد رسید. آنالیز واریانس یک طرفه در هفته اولِ پس از تزریق سوسپانسیون ویروسی اختلاف معنی‌داری را نشان نداد ولی در پایان هفته دوم اختلاف معنی‌داری در بازماندگی بین گروه شاهد مثبت و منفی ($P<0.001$) مشاهده شد. در پایان هفته دوم نیز، میانگین بازماندگی در میگوهای شاهد مثبت با میگوهای تیمار T1 ($P= 0.027$)، تیمار T2 ($P=0.001$) و تیمار T3 ($P=0.003$) اختلاف معنی‌داری را نشان داد (جدول ۴ و شکل۲).

جدول ۲: درصد بازماندگی میگوهای سفید غربی مواجهه داده شده با ویروس لکه سفید، پس از ۴۰ روز تغذیه با جیره غذایی حاوی سه مقدار ۱۰۶ و ۱۰۷ و ۱۰۸ CFU/Kg از پروبیتیک تک سل

تیمارها	تعداد میگوها	زمان سپری شده پس از مواجهه (روز)، میزان بازماندگی (درصد) و تعداد میگوهای زنده در هر تکرار										
		۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰	۱۱	۱۲	۱۳	۱۴
C1	۳×۳۰	۱۰۰	۱۰۰ (۳۰، ۳۰ و ۳۰)	۱۰۰ (۳۰، ۳۰ و ۳۰)	۱۰۰ (۳۰، ۳۰ و ۳۰)	۱۰۰ (۳۰، ۳۰ و ۳۰)	۹۸/۸۹±۱/۹۲ (۳۰، ۲۹ و ۳۰)	۹۸/۸۹±۱/۹۲ (۳۰، ۲۹ و ۳۰)	۹۸/۸۹±۱/۹۲ (۳۰، ۲۹ و ۳۰)	۹۸/۸۹±۱/۹۲ (۳۰، ۲۹ و ۳۰)	۹۸/۸۹±۱/۹۲ (۳۰، ۲۹ و ۳۰)	۹۷/۷۸±۳/۸۵ (۳۰، ۲۸ و ۳۰)
C2	۳×۳۰	۱۰۰	۹۷/۷۸±۱/۹۲ (۲۹، ۳۰ و ۲۹)	۹۶/۶۷±۳/۳۳ (۲۸، ۳۰ و ۲۹)	۸۷/۷۸±۶/۹۴ (۲۸، ۲۷ و ۲۴)	۸۳/۳۳±۱۱/۵۵ (۲۷، ۲۷ و ۲۱)	۸۰/۰۰±۱۲/۰۲ (۲۷، ۲۵ و ۲۰)	۷۲/۲۲±۹/۶۲ (۲۵، ۲۰ و ۲۰)	۶۴/۴۴±۳/۸۵ (۲۰، ۲۰ و ۱۸)	۶۰/۰۰±۳/۳۳ (۱۸، ۱۹ و ۱۷)	۵۶/۶۷±۳/۳۳ (۱۷، ۱۸ و ۱۶)	۴۸/۸۹±۶/۹۴ (۱۳، ۱۷ و ۱۴)
T1	۳×۳۰	۱۰۰	۹۸/۸۹±۱/۹۲ (۳۰، ۳۰ و ۲۹)	۹۸/۸۹±۱/۹۲ (۳۰، ۳۰ و ۲۹)	۹۷/۷۸±۱/۹۲ (۳۰، ۲۹ و ۲۹)	۹۶/۶۷±۳/۳۳ (۳۰، ۲۹ و ۲۸)	۹۵/۵۶±۱/۹۲ (۲۹، ۲۹ و ۲۸)	۸۸/۸۹±۱/۹۲ (۲۷، ۲۶ و ۲۷)	۸۴/۴۴±۳/۸۵ (۲۶، ۲۴ و ۲۶)	۸۴/۴۴±۳/۸۵ (۲۶، ۲۴ و ۲۶)	۷۷/۷۸±۸/۳۹ (۲۱، ۲۳ و ۲۶)	۷۲/۲۲±۱۰/۱۸ (۲۱، ۱۹ و ۲۵)
T2	۳×۳۰	۱۰۰	۱۰۰ (۳۰، ۳۰ و ۳۰)	۱۰۰ (۳۰، ۳۰ و ۳۰)	۱۰۰ (۳۰، ۳۰ و ۳۰)	۹۸/۸۹±۱/۹۲ (۲۹، ۳۰ و ۳۰)	۹۸/۸۹±۱/۹۲ (۲۸، ۲۹ و ۳۰)	۹۶/۶۷±۳/۳۳ (۲۸، ۲۹ و ۳۰)	۹۵/۵۶±۱/۹۲ (۲۸، ۲۹ و ۲۹)	۹۴/۴۴±۱/۹۲ (۲۸، ۲۸ و ۲۹)	۹۲/۲۲±۵/۰۹ (۲۶، ۲۸ و ۲۹)	۹۲/۲۲±۵/۰۹ (۲۶، ۲۸ و ۲۹)
T3	۳×۳۰	۱۰۰	۱۰۰ (۳۰، ۳۰ و ۳۰)	۱۰۰ (۳۰، ۳۰ و ۳۰)	۱۰۰ (۳۰، ۳۰ و ۳۰)	۱۰۰ (۳۰، ۳۰ و ۳۰)	۱۰۰ (۳۰، ۳۰ و ۳۰)	۱۰۰ (۳۰، ۳۰ و ۳۰)	۹۶/۶۷±۳/۳۳ (۲۸، ۳۰ و ۲۹)	۹۱/۱۱±۱/۹۲ (۲۷، ۲۸ و ۲۷)	۸۸/۸۹±۱/۹۲ (۲۷، ۲۶ و ۲۷)	۸۸/۸۹±۱/۹۲ (۲۷، ۲۶ و ۲۷)



شکل ۲: درصد بازماندگی میگوهای سفید غربی مواجهه داده شده با ویروس لکه سفید، پس از ۴۰ روز تغذیه با جیره غذایی حاوی سه مقدار ۱۰۶ و ۱۰۷ و ۱۰۸ CFU/Kg از پروبیتیک تک سل

بحث

میگوها مانند سایر بی‌مهرگان، به منظور دفاع و مقابله دربرابر یک عفونت، کاملاً به سیستم ایمنی غیراختصاصی خود وابسته هستند و فاقد حافظه ایمنولوژیک شناخته شده در مهره‌داران می‌باشند (Bachère, 2000). بکارگیری پروبیوتیک‌ها در آبزی‌پروری به منظور کنترل باکتری‌های بیماری‌زا، بهبود شاخص‌های رشد، تعدیل سیستم ایمنی و آنزیم‌های گوارشی میزبان گزارش شده است (Chai *et al.*, 2016). در میان گونه‌های پروبیوتیک باکتریایی، خانواده باسیلاسه به طور گسترده‌ای در تکثیر و پرورش میگو استفاده می‌شود.

در این پژوهش پروبیوتیک بومی "تک‌سل" که بر اساس مطالعات ۸ ساله موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور در پژوهشکده میگوی کشور و با همکاری شرکت تک ژن زیست تولید شده است، در جیره غذایی میگوهای پرورشی سفید غربی با میانگین وزنی بیش از ۶ گرم افزوده شد (به سه مقدار مختلف ۱۰۶ (T1) و ۱۰۷ (T2) و ۱۰۸ (T3) CFU/Kg) و شاخص‌های سلامتی، شامل THC، TPP و DHC میگوها در ابتدای تیماربندی، پس از ۴۰ روز تغذیه با جیره‌های اشاره شده و ۱۴ روز پس از مواجهه با ویروس لکه سفید، تعیین گردید.

با توجه به نتایج بدست آمده، اختلاف معنی‌دار در شاخص‌های سلامتی و درصد بازماندگی میگوهای شاهد منفی (C1) در ابتدای تیماربندی و پایان دوره تغذیه با جیره‌های حاوی پروبیوتیک، مشاهده نشد (P≥۰/۰۵). در گروه شاهد مثبت (C2) که بدون دریافت پروبیوتیک، صرفاً با ویروس لکه سفید مواجهه داشت، پس از مواجهه با ویروس، کاهش معنی‌دار (P≤۰/۰۵) در شاخص‌های سلامتی، THC و TPP مشاهد گردید. درصد بازماندگی آنها، ۱۰±۴۰ تعیین شد که نشان از استرس و مرگ و میر شدید در این گروه است و تأییدی بر فعال بودن ویروس و تلفات ناشی از مواجهه با آن می‌باشد.

نکته بسیار مهم کاهش معنی‌دار (P≤۰/۰۵) و شدید THC در میگوهای C2، دو هفته پس از مواجهه با ویروس لکه سفید است (جدول۲). با بررسی دقیق تابلوی خونی (DHC)، مشخص می‌شود که تعداد هموسیت‌های هیالین (Semi Granular Cells, SGC)، ۱۴ روز پس از مواجهه با ویروس کاهش پیدا کرده و جاندار با افزایش هموسیت‌های نیمه گرانولار (Granular Cells, GC) ، تلاش کرده تا پاسخ سازگاری مناسبی به استرس مواجهه با ویروس لکه سفید بدهد (شکل ۱). با توجه به نقش GC در فعالیت‌های سایتوتوکسیسیتی مهار عفونت‌های ویروسی، این واکنش، منطقی به نظر رسیده و این امر کاهش شدید هموسیت‌های SGC را توجیه می‌کند. این یافته با نتایج و یافته‌های عبداللهی آرپناهی و همکاران (۱۳۹۳) مطابقت دارد.

نکته‌ای که باید در تفسیر نتایج DHC با دقت مورد توجه قرار گیرد، افزایش نسبت هموسیت‌های SGC نسبت به GC ها در پایان دوره تغذیه با جیره‌های حاوی پروبیوتیک در تیمارهای T1، T2 و T3 است. با توجه به مواجهه میگوها با پروبیوتیک باکتریایی "تک‌سل"، تغییر در تابلوی خونی و افزایش نسبی هموسیت‌های هیالین (Hyaline Cells, H) و SGC موجب کاهش نسبی هموسیت‌های GC شده است که این موضوع در پایان دوره ۱۴ روزه پس از مواجهه با ویروس تغییر کرده و تعداد هموسیت‌های H در تمام تیمارها، کاهش یافته و به درصد سلول‌های شاهد می‌رسد (شکل ۱) و با توجه به نقش حیاتی هموسیت‌های GC در مقابله با عوامل ویروسی، تعداد این سلول‌ها افزایش می یابد. مهمترین نقش ایمونولوژیک هموسیت‌های H، فاگوسیتوز می‌باشد و لی هموسیت‌های SGC در تشکیل ندول و کپسول نقش اصلی را ایفا می کنند (Bachère, 2000). این یافته‌ها با نتایج Gullian و همکاران (۲۰۰۴) هم‌خوانی دارد.

در تیمارهای T1، T2 و T3 که به ترتیب جیره‌های غذایی حاوی 10^6 و 10^7 و 10^8 CFU/Kg را دریافت کرده‌اند پس از تغذیه با این جیره‌ها به مدت ۴۰ روز دارای شاخص سلامتی بهتری در مقایسه با شاهد بوده و در خصوص THC مشاهد گردید که در پایان دوره تغذیه، در هر سه تیمار افزایش یافته و اختلاف معنی‌داری (P≤۰/۰۵) را با شاهد نشان می‌دهند و در بین تیمار T1 با دو تیمار T2 و T3 نیز اختلاف معنی‌داری مشاهد شده و میزان THC در دو تیمار T2 و T3 بیشتر است. پس از گذشت ۱۴ روز از مواجهه با ویروس، میزان THC در تیمار C2 به شدت کاهش یافته و تیمارهای T1 و T2 نیز اختلاف معنی‌داری با شاهد نشان نمی‌دهند (P≥0.05) ولی این میزان THC در تیمار T3 افزایش داشته و اختلاف معنی‌داری را با شاهد نشان داد (P≤۰/۰۵). همانطور که از نمودار DHC استنباط

می‌شود، جانور برای مقابله با عفونت ویروسی، تعداد هموسیت‌های GC را افزایش داده است به گونه‌ای که اختلاف معنی‌داری بین تعداد هموسیت‌های GC در تیمارهای T2 و T3 با تیمار T1 و شاهدهای مثبت و منفی دیده می‌شود (P≤۰/۰۵). کاهش شدید هموسیت‌های SGC نشان از افزایش قدرت سازگاری میگوهای دریافت کننده پروبیوتیک در مقابسه با C1 و C2 در مقابله با عفونت ویروسی دارد (Supamattaya *et al*., 2003). این یافته‌ها با نتایج Andrade محققین دیگر مطابقت نشان می‌دهد (Andrade, 2011, Zuo *et al*., 2019, Amoah *et al*., 2019).

همانطور که در خصوص نقش فعالیت هموسیتی در مواجهه و مقابله سیستم ایمنی میگو با عفونت‌های ویروسی بیان شد، در مطالعه TPP نیز مشاهد می‌شود که علی‌رغم کاهش شدید شاخص‌های THC و TPP در میگوهای C2 پس از گذشت ۱۴ روز از مواجهه با ویروس، اختلاف معنی‌داری بین شاخص TPP در میگوهای T1 و T2 مشاهده نمی‌شود و می‌توان این موضوع را به تحریک سیستم ایمنی میگوهای تیمارهای T1، T2 و T3 دانست. افزون بر این تیمار T3 اختلاف معنی‌داری را با سایر گروه‌ها نشان می‌دهد. یافته‌های مشابه پژوهش انجام شده توسط Liu و همکاران (۲۰۱۰b) نیز بر نقش پروتئین کل پلاسما در این خصوص تأکید کرده و با یافته‌های پژوهش جاری مطابقت نشان می‌دهد.

تعیین درصد بازماندگی در پایان دوره ۱۴ روزه پس از مواجهه با ویروس، اطلاعات به دست آمده از شاخص‌های سلامتی را تایید کرده و کمترین درصد بازماندگی (۶/۹۴±۴۸/۸۹)، در شاهد C2 مشاهده شد (شکل **۲** و جدول ۲). نکته مهم، بیشتر بودن درصد بازماندگی در تیمار T2 نسبت به تیمار T3 است. تمامی محرک‌های سیستم ایمنی حکم شمشیر دو لبه را داشته و در معرفی یک محرک سیستم ایمنی باید دقت نمود که محرک سیستم ایمنی مناسب، ترکیبی است که سیستم ایمنی جانور را به آرامی و به مقدار لازم تحریک نماید. تحریک بیش از حد سیستم ایمنی، موجب می‌گردد که بخشی از انرژی و توان فیزیولوژیک جانور، که باید منجر به تولید نهایی گردد، صرف افزایش سطح و عملکردایمنی جانور شود.

بر اساس یافته‌های این پژوهش، می‌توان بیان کرد که تغذیه میگوهای سفید غربی با جیره‌های غذایی حاوی مقادیر $۱۰^{۷}$ و $۱۰^{۸}$ CFU/Kg بر بهبود عملکرد سیستم ایمنی میگوها و تابلوی خونی آنها اثر مثبت داشته و موجب بهبود شاخص‌های سلامتی، تعدادهموسیت کل و میزان کل پروتئین پلاسما، می‌گردد. افزون بر این تغذیه با جیره‌های غذایی مورد اشاره، در افزایش درصد بازماندگی میگوهای مواجهه یافته با ویروس لکه سف ید، موثر می‌باشد.

سپاسگزاری

بر خود لازم می دانیم از زحمات کلیه همکاران پژوهشکده میگوی کشور و موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور که ما را در انجام این پژوهش یاری نمودند سپاسگزاری نماییم.

منابع

۱. حسن نیا، م. ر.، احمدی .م. ر.، رضویلر .و.، ۱۳۸۱. بررسی اثر باکتری *Pseudomonas fluorescence*

بر بازماندگی لاروهای میگوی سفید هندی، پژوهش و سازندگی، ۱۵، ۹۴ – ۹۸.

۲. خانجانی، م. ح.، سجادی، م. م.، علیزاده؛ م.، سوری نژاد، ا.، ۱۳۹۵. تولید و ارزیابی بیوفلوک به‌منظور به کارگیری در سیستم پرورشی بدون تعویض آب. نشریه توسعه آبزی‌پروری، ۱۰ (۱)،۳۳-۴۲.

۳. عبداللهی آرپناهی، د.، جعفریان، ح.ا.، سلطانی، م.، قلی ک.پ.ح.س.، ۱۳۹۳. بکارگیری دو گونه از پروبیوتیک‌های باسیلوسی بر پاسخ های ایمنی و فلور میکروبی روده پست لارو میگوی پا سفید غربی *Litopenaeus vannamei* . مجله علمی شیلات ایران، ۲۳(۴)، ۱۰۵-۱۱۷.

۴. وشتانی، س.، عابدیان کناری، ع.ح.، اکرمی، ر.، جیران، آ.، ۱۳۹۳. اثر جیره‌های حاوی سین بیوتیک (ترکیب پرو بیوتیک پروتکسین و پری‌بیوتیک مانان الیگوساکارید) بر عملکرد رشد، بقاء و ترکیب لاشه میگوی جوان پاسفید غربی، نشریه توسعه آبزی‌پروری، ۸ (۱)،۱-۱۷.

5. Amoah, K., Huang, Q.C., Tan, B.P., Zhang, S., Chi, S.Y., Yang, Q.H., Liu, H.Y., Dong, X.H., 2019. Dietary supplementation of probiotic *Bacillus coagulans* ATCC 7050, improves the growth performance, intestinal morphology, microflora, immune response, and disease confrontation of Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, Fish and Shellfish Immunology, 87, 796- 808.
6. Andrade, A.J., Nauwynck, H., and Sorgeloos P., 2011. Shrimp immunological reactions against WSSV: role of haemocytes on WSSV fate. Master's dissertation submitted in partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science in Aquaculture. 72p.
7. Bachère, E., 2000. Shrimp immunity and disease control. Aquaculture, 191, 3- 11.
8. Chai, P.C., Song, X.L., Chen, G.F., Xu, H., Huang, J., 2016. Dietary supplementation of probiotic *Bacillus* PC465 isolated from the gut of *Fenneropenaeus chinensis* improves the health status and resistance of *Litopenaeus vannamei* against white spot syndrome virus, Fish and Shellfish Immunology, 54, 602- 11.
9. Dalmin, G., Kathiresan, K., Purushothaman, A., 2001. Effect of probiotics on bacterial population and health status of shrimp in culture pond ecosystem. Indian Journal of Experimental Biology, 39, 939–942.
10. Ghaednia, B., Mehrabi, M.R., Mirbakhsh, M., Yeganeh, V., Hoseinkhezri, P., Garibi, G., Ghaffar Jabbari, A., 2011. Effect of hot-water extract of brown seaweed *Sargassum glaucescens* via immersion route on immune responses of *Fenneropenaeus indicus*. Iranian Journal of Fisheries Sciences, 10(4), 616-630.
11. Gullian, M., Thompsonb, F., Rodriguez, J. 2004. Selection of probiotic bacteria and study of their immunostimulatory effect in *Penaeus vannamei*. Aquaculture, 233, 1 – 14.
12. Jiravanichpasial, P., Chuaychuwong, P., Menasveta, P., 1997. The use of *Lactobacillus sp.* as the probiotic bacteria in the giant tiger shrimp (*Penaeus monodon* Fabricius). Poster session of the 2nd Asia-Pacific marine biotechnology conference and 3rd Asia-pacific conference on algal biotechnology. pp. 7-10, Phuket Thailand. P16.
13. Kidchakan, S., and Juadee, P., 2003. Morphology and immunological roles of hemocytes and fixed phagocytes in Black Tiger Shrimp, *Penaeus monodon*, Fish Pathology, 38(2), 33-39.
14. Li, K., Zheng, T., Tian, Y., Xi, F., Yuan, J., Zhang, G., Hong, H., 2007. Beneficial effects of Bacillus licheniformis on the intestinal microflora and immunity of the white shrimp, Litopenaeus vannamei, Biotechnol Letter, 29, 525–530.
15. Liu, C.H., Chiu, C.S., Ho, P.L., Wang, S.W. 2010a. Improvement in the growth performance of white shrimp, *Litopenaeus*

vannamei, by a protease-producing probiotic, Bacillus subtilis E20, from natto. Journal of Applied Microbiology, 107(3), 1031-41.
16. Liu., K.F., Chiu., C.H., Shiu., Y.L., Cheng., W., Liu., C.H., 2010b. Effects of the probiotic, *Bacillus subtilis* E20, on the survival, development, stress tolerance, and immune status of white shrimp, *Litopenaeus vannamei* larvae. Fish and Shellfish Immunology, 28(5-6), 837-44.
17. Mirbakhsh, M., Akhavansepahy, A., Afsharnasab, M., Khanafari, A., Razavi. M.R., 2013. Screening and evaluation of indigenous bacteria as a probiotic and biocontrol agent against *Vibrio harveyi* in *Litopenaeus vannamei* post larvae. Iranian Journal of Fisheries Science, 12(4), 873-886.
18. Newman, S.G., 2013. A Review of the Use of Non Specific Immune-Stimulants to Reduce the Impact of the WSSV. Biotechnology benefiting aquaculture, pp. 28-30.
19. Quang, N.D., Hoa, P.T.P, Da, T.T., Anh, P.H., 2008. Persistence of White Spot Syndrome Virus in Shrimp Ponds and Surrounding Areas after an Outbreak. Environmental Monitoring and Assessment, 156(1-4) 69-72.
20. Rengpipat, S., Rukpratanporn, S., Piyatiratitivorakul, S., Menasaveta, P., 2000. Immunity enhancement in black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) by a probiont bacterium (*Bacillus* S11). Aquaculture, 191,271–288.
21. Salehi, H., 2010. The economic impacts of WSSV on shrimp farming production and export in Iran. Aquaculture Animal Health, 14(2), 29-31.
22. Supamattaya, K., Itami, J.T., Phromkunthong, K.C.W., Muroga, K., 2003. Morphology and Immunological Roles of Hemocytes and Fixed Phagocytes in Black Tiger Shrimp *Penaeus monodon*. Fish Pathology, 32(2), 33-39.
23. Zhang, Q., Tan, B., Mai, K., Zhang, W., Ma, H., Ai, Q., Wang, X., Liufu, Z., 2011. Dietary administration of *Bacillus* (*B. licheniformis and B. subtilis*) and isomaltooligosaccharide influences the intestinal microflora, immunological parameters and resistance against *Vibrio alginolyticus* in shrimp, *Penaeus japonicus* (Decapoda: Penaeidae). Aquaculture Research, 42, 943-952.
24. Zhenguo, Q., Ruiying, T., Ningyu. H., 1994. Three strains photosynthetic bacteria applied for Prawn diet and their cultural effect. Marine Science, 2, pp. 4-7.
25. Zokaeifar, H., Balcázar, J.L., Saad, C.R., Kamarudin, M.S., Sijam, K., Arshad, A., Nejat, N., 2012. Effects of *Bacillus subtilis* on the growth performance, digestive enzymes, immune gene expression and disease resistance of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. Fish and Shellfish Immunology, 33(4), 683-689.
26. Zuo, Z.H., Shang, B.J., Shao, Y.C., Li, W.Y., Sun, J.S., 2019. Screening of intestinal probiotics and the effects of feeding probiotics on the growth, immune, digestive enzyme activity and intestinal flora of *Litopenaeus vannamei*. Fish and Shellfish Immunology, 86, 160-168.

تأثیر پروبیوتیک باکتوسل و آهن بر رشد ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*)

غلامرضالشتو آقایی[۱]، حسین خارا [۱*]، محمد صیاد بورانی[۲]

۱- گروه شیلات، واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، ایران

۲- پژوهشکده آبزی پروری آبهای داخلی ایران، موسسه تحقیقات شیلات ایران، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی و منابع طبیعی، بندر انزلی، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۱/۱۹ تاریخ پذیرش: ۱۱۳۹۹/۲/۲۵

چکیده

در این تحقیق اثر پروبیوتیک *Pediococcus acidilactici* با نام تجاری باکتوسل (Bactocell) و آهن بر فاکتور های رشد بچه ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*) مورد بررسی قرار گرفت. به همین منظور تعداد ۲۴۳۰ قطعه بچه ماهی آزاد با وزن اولیه ۳/۵۹ گرم در ۹ گروه آزمایشی (۸ تیمار با سه تکرار ۹۰ تایی و یک گروه شاهد) به مدت ۶۰ روز مورد بررسی قرار گرفتند. برای تغذیه گروه شاهد از غذای شرکت اسکرتینگ و سایر تیمارها از غذای تجاری به همراه مقادیر ذکر شده پروبیوتیک و آهن در یک کیلوگرم غذا استفاده شد. در طی دوره آزمایش عملیات زیست سنجی هر ۱۰ روز یک بار انجام شد. نتایج نشان داد تیمار ۸ بالاترین مقدار وزن نهایی (۱۳/۶۳ گرم) و طول کل (۱۰/۹۱ سانتی متر) را دارا بود. از نظر ضریب چاقی اختلاف معنی دار آماری وجود داشت ($P<0.05$). ضریب چاقی تیمارها از گروه شاهد بیشتر بودند ($P<0.05$). از نظر ضریب تبدیل غذایی، درصد افزایش وزن، ضریب رشد ویژه و بازده پروتئین بین تیمارها اختلاف معنی دار آماری مشاهده نشد ($P<0.05$). ضریب تبدیل غذایی و ضریب چاقی تیمارها بیشتر از گروه شاهد، درصد افزایش وزن بدن، ضریب رشد ویژه و بازده پروتئین گروه شاهد بیشتر از سایر تیمارها بود ($P<0.05$). پروبیوتیک ها اشتها را تحریک می‌کنند و با تولید ویتامین ها و آنزیم های گوارشی نظیر پروتئازها و تجزیه ترکیبات غیر قابل هضم، شرایط تغذیه ای بهتری را در ماهی ایجاد می نماید و موجب جذب مناسب تر مواد غذایی و تولید گوشت می گردند. هدف اصلی این تحقیق نیز بررسی اثر پروبیوتیک باکتوسل به همراه آهن بر میزان فاکتورهای رشد و یافتن راه حلی در جهت کاهش هزینه های تولید و افزایش درامد آبزی پروران انجام گرفت.

کلمات کلیدی: باکتوسل، آهن، رشد، ماهی آزاد دریای خزر، (*Salmo trutta caspius*).

* عهده‌دار مکاتبات (✉). h.khara1974@yahoo.com

مقدمه

ترکیبات پروتئینی یکی از مواد غذایی مورد نیاز ویژه بدن ما بوده و گوشت ماهی منبع مهمی برای تامین این نیاز می باشد؛ زیرا که گوشت ماهی دارای ۱۰ نوع اسید آمینه ضرری برای بدن بوده و نسبت به سایر منابع غذایی پروتئینی از هضم پذیری بهتری برخوردار است (Austin *et al.*, 1995). ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*) یکی از ماهیان استخوانی با ارزش دریای خزر است که به دلیل ارزش غذایی بالا، لذیذ بودن گوشت آن و هچنین بازار پسندی بسیار زیاد در شمال کشور، دارای اهمیت فراوان می‌باشد. در رژیم غذایی این ماهی ترکیبات پروتئینی، کربوهیدراتی، چربی، مواد معدنی نظیر کلسیم، فسفر، سدیم، کلر، گوگرد، ید، روی و فلوئور و ویتامین های مختلف محلول در آب و چربی وجود دارد(Austin *et al.*, 1995). امروزه استفاده از پروبیوتیک ها به دلیل بهبود تعادل میکروبی روده، هضم و جذب بهتر مواد غذایی در دستگاه گوارش و بهر وری بیشتر از مواد غذایی استفاده شده و کاهش هزینه و افزایش درآمد در دامپروری ها، مرغداری ها و مراکز آبزی پروری روبه افزایش است (Fuller, 1989). از پروبیوتیک ها به عنوان محرک رشد و جهت تحریک سیستم ایمنی استفاده می شود (Ali, 2000). پروبیوتیک ها یا میکروارگانیسم های زنده به عنوان راه حلی مطمئن و طبیعی برای کنترل اکوسیستم های میکروبیولوژیکی محسوب می شوند (Kesarcodi-Watson *et al*,. 2008). استفاده از اکتوسل ها برای پیشگیری از رشد عوامل عفونی بهترین جایگزین استفاده از آنتی بیوتیک هایی نظیر اریترومایسین و فلورمینکل می‌باشد (Aubin *et al.*, 2005). استفاده از پروبیوتیک *Saccharomyces boulardii* یا همان لووسل S B در سلامت انسان به دلیل عدم بروز اختلالات روده ای مفید بوده و جایگزین مناسبی برای آنتی بیوتیک هایی است که در درمان اسهالخونی تجویز می گرد (Pajalahati, 1999). مطالعات نشان داده که استفاده از پروبیوتیک ها در حفاظت آزاد ماهیان در برابر بیماری پرسینا بسیار موثر است(Mesalhy *et al.*, 2008). همچنین نشان داده شده استفاده از باکتوسل باعث تغییرات مفیدی در جمعیت میکروبی روده در ماهیان قزل آلا و میگوها می‌شود (Hoff, 1989). همچنین روشن شده است که باکتوسل مقاومت ماهیان در برابر عوامل استرس زا را افزایش می‌دهد (Gatesoupe, 1999).

پروبیوتیک ها از طریق عمل آنتگونیستی مستقیم با عوامل عفونت زا و یا از راه تحریک سیستم ایمنی باعث بهبود وضعیت سلامتی در جانوران می شوند (Pajalahati, 1999). پروبیوتیک ها از طریق رقابت با میکروبهای بیماری زا در جهت استفاده از مواد غذایی و همچنین در اتصال به مخاط دستگاه گوارش و کاهش تولید سم و یا مواد سمی در روده در بهبود وضعیت سلامتی در پستانداران، پرندگان و آبزیان کمک می کنند (Gatesoupe, 1999 ؛ Mesalhy *et al.*, 2008). نظر به اینکه لارو ماهیان در محیط های خارج از بدن رشد می نمایند و همچنین به دلیل نارس بودن سیستم گوارشی آنها در معرض خطر ابتلا به انواعی از بیماری های عفونی قرار دارند. لذا استفاده از پروبیوتیک ها در مرحله لاروی بیشتر توصیه می گردد (Gildberg, 1998). بر اساس نظر Browdy، یکی از مهمترین روش های کنترل بیماری ها استفاده از پروبیوتیک ها می باشد (Browdy, 1998). مطالعات نشان داده که باکتری ویبدیوآلژینولیتیکوس به عنوان یک پروبیوتیک باعث

افزایش تخم ریزی میگوهای اکوادوری و افزایش ۳۵ درصدی تولید در مزارع پرورش ماهیان می شود (Chim *et al.*, 2007). استفاده از باکتوسل باعث افزایش تولید و کاهش درصد مرگ و میر در مزارع پرورش میگو می شود (Castex *et al.*, 2009). مصرف پروبیوتیک باکتوسل منجر به کاهش شیوع بیماری Higripul در میگوها می گردد (Chim *et al.*, 2005). استفاده از پروبیوتیک باسیلوس سوتبلیس در جیره غذایی جوجه های گوشتی از وقوع بیماری های کامپیلو باکتر و همچنین عفونت های سالمونلایی به طور معنی داری جلوگیری می نماید (Maruta *et al.*, 1996). تحقیقات نشان داده که استفاده از پروبیوتیک ها باعث افزایش ایمنوگلوبین ها و افزایش فعالیت ماکروفاژی در دامنه وسیعی از میکروارگانیسم های موجود در دستگاه گوارشی جانوران می شود (Dugenci *et al.*, 2003؛ Wang *et al.*, 2008).

آهن عنصری ضروری تقریباً برای تمام میکروارگانیسم ها می باشد، وجود آهن در بخش "هم" هموگلوبین، اتصال اکسیژن، ظرفیت حمل اکسیژن و توانایی انتقال آن را به بافتها در موجودات چند سلولی، افزایش می دهد (Olafsen, 1998 & Bury *et al.*, 2003). نیاز بعضی از پاتوژنها به آهن زیاد است، به عنوان مثال در آزمایشی ثابت شد که با افزایش آهن در جیره غذایی آزاد ماهیان مورد مطالعه، مرگ و میر به صورت خطی افزایش یافت (Rorvik *et al.*, 1991 & Ali, 2000). غذای ماهی محتوی آهن به فرمهای آلی (هم) و غیر آلی (غیر هم) است که قابلیت دسترسی زیستی به آن ۱۷ تا ۹۸٪ است (Niamul *et al.*, 1998). این چنین آزمایشهایی نشان دهنده اهمیت و نقش آهن در رشد میکروارگانیسم ها در محیط به خصوص در بدن میزبان است. بنابراین با توجه به نقش آهن در فرآیند خون سازی، عملکرد پروبیوتیکها در تقویت سیستم ایمنی و تأثیر گذاری مثبت بر روی رشد فاکتورهای خونی و فلور باکتریایی روده ناشی از ترکیب توأم این دو (ناصری، ۱۳۸۷).

با توجه به ارزش غذایی گوشت ماهی در سبد غذایی و با عنایت به هزینه های بالای تولید آزاد ماهیان از جمله ماهی آزاد دریای خزر، این مطالعه با هدف بررسی اثر پروبیوتیک باکتوسل به همراه آهن بر میزان افزلیش وزن و نرخ رشد ویژه این ماهیان و یافتن راه حلی در جهت کاهش هزینه های تولید و افزایش درامد آبزی پروران انجام گرفت.

مواد و روشها

این مطالعه در سال ۱۳۹۳ بر روی تعداد ۲۴۳۰ عدد بچه آزاد ماهی دریای خزر (*Salmo trutta caspius*) با وزن متوسط ۳/۵۹ گرم و طول متوسط ۷/۲۳ سانتی متر از مزرعه پرورش ماهی قزل کوثر واقع در منطقه عسل محله دوهزار تنکابن تهیه گردید. این تحقیق در ۸ گروه تیمار و یک گروه شاهد در طی یک دوره ۶۰ روزه انجام شد. بچه ماهی ها ابتدا به مدت دو هفته به منظور محاسبه مقدار غذای مصرفی در روز، سازگار شدن با شرایط محیطی و آب محل انجام پروژه در تراف‌ها نگهداری و تغذیه شدند. روی تراف ها به منظور جلوگیری از پرش بچه ماهیان به بیرون با استفاده از توری پوشانده شد. فاکتورهای فیزیکی و شیمایی آب نظیر pH، اکسیژن محلول، دما و دبی آب مورد استفاده در تراف های پرورش بچه ماهیان آزاد طی ۶۰ روز براساس جدول زمانی اندازه گیری و ثبت گردید که مقادیر آنها در جدول (۱) آورده شده است.

جدول ۱: میزان دما، اکسیژن محلول، pH و دبی آب در مقاطع زمانی مشخص در طول دوره آزمایش

فاکتورهای فیزیکی و شیمایی	میانگین	حداقل	حداکثر
pH	۷/۶۱	۷/۳۹	۷/۷۹
اکسیژن محلول (ppm)	۶/۷۵	۶	۷/۷۴
دمای آب (°c)	۱۶/۴	۱۵/۶	۱۷/۲
دبی (lit/s)	۰/۱	۰/۰۹	۰/۱۳

پس از آماده سازی تیمارها نمونه برداری در دو مرحله انجام گرفت. مرحله اول ابتدا یک هفته قبل از شروع تیماربندی پس از اینکه از هیچ گونه ماده ضد غفونی استفاده نشد و پس از ۲۰ ساعت توقف غذادهی از بچه ماهیان جهت اندازه گیری فلور باکتریای روده و میزان باکتری های اسید لاکتیک و آنالیز لاشه و اندازه گیری فاکتورهای خونی، نمونه برداری انجام گرفت و مرحله دوم پس از گذشت ۶۰ روز تکرار شد. ضمناً پس از نمونه برداری در مرحله اول بچه ماهیان توسط هالامید مورد ضدعفونی قرار گرفتند. برای آماده سازی تیمارهای (۲) و (۳) جدول(۲)، بر اساس غلظت تعیین شده توسط کارخانه تولید کننده پروبیوتیک باکتوسل و پس از محاسبات انجام شده، میزان ۲ گرم پروبیوتیک را با ترازوی حساس (METLER مدل AB204-N) وزن و در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر حل شد و مقدار مورد نیاز به وسیله سرنگ بتدریج و بصورت یکنواخت در سطح غذا اسپری و مخلوط گردید. در مورد تیمارهای (۴) و (۵) جدول(۲)، بر اساس اطلاعات مندرج در راهنمای کارخانه تولید کننده هر قطره محلول آهن فریرون(شکل ۳-۴) حاوی ۱ میلی گرم آهن بوده، پس از محاسبه میزان آهن مصرفی، آن را به ۱۰ میلی لیتر آب مقطر اضافه نموده، و ۲ میلی لیتر از این محلول را به وسیله سرنگ بر روی ۲۰۰ گرم غذا اسپری نموده و با غذا کاملاً مخلوط گردید. در خصوص تیمارهای (۶)، (۷)، (۸) و (۹) جدول(۲)، طبق روش های گفته شده در مورد هر کدام از دو تیمار پروبیوتیک و آهن، ابتدا پروبیوتیک و سپس آهن به غذای توزین شده اضافه گردید. در ضمن به لاروهای سه تراف نیز به عنوان گروه شاهد (۱) جدول(۲)، غذای پلت مخلوط شده با آب مقطر خورانده شد. هر کدام از تیمارها با سه تکرار انجام شد. کلیه غذاهای تهیه شده در معرض جریان هوا قرار داده شد تا آب مخلوط شده با غذا، تبخیر گردد. پس از تبخیر، غذا را دوباره وزن نموده تا به وزن اولیه برسد و نهایتاً برای غذادهی استفاده گردید. در طول انجام این تحقیق کلیه غذاهای آماده شده برای تیمارهای مختلف در یخچال و دور از نور نگهداری شدند. لازم به توضیح می باشد که قبل از شروع دوره آزمایش ارزش غذایی غذای پلت شرکت اسکرتینگ (Skretting) فاقد پروبیوتیک از لحاظ سطوح چربی، پروتئین، رطوبت و میزان آهن مورد سنجش قرار گرفت که نتایج آن در جدول(۳)، آورده شده است.

جدول ۲: تیمارهای مورد بررسی

تیمار	محتویات تیمار
۱	غذای استاندارد (شاهد)
۲	غذای استاندارد به همراه مکمل غذایی پروبیوتیک (غذا 2g/10Kg)
۳	غذای استاندارد به همراه مکمل غذایی پروبیوتیک (غذا 3g/10Kg)
۴	غذای استاندارد به همراه محلول آهن (غذا 7 mg Fe/kg)
۵	غذای استاندارد به همراه محلول آهن (غذا 5 mg Fe/kg)
۶	غذای استاندارد به همراه مکمل غذایی پروبیوتیک (غذا 2g/10Kg) و محلول آهن (غذا 7 mg Fe/kg)
۷	غذای استاندارد به همراه مکمل غذایی پروبیوتیک (غذا 2g/10Kg) و محلول آهن (غذا 5 mg Fe/kg)
۸	غذای استاندارد به همراه مکمل غذایی پروبیوتیک (غذا 3g/10Kg) و محلول آهن (غذا 7 mg Fe/kg)
۹	غذای استاندارد به همراه مکمل غذایی پروبیوتیک (غذا 3g/10Kg) و محلول آهن (غذا 5 mg Fe/kg)

جدول ۳: ارزش غذایی غذای پلت شرکت اسکرتینگ (Skretting)

ردیف	تیمار	نتیجه آزمایش
۱	چربی	۵/۳
۲	رطوبت	۱۹/۷
۳	خاکستر	۱۱/۴۸
۴	پروتئین	۶۳/۵

به منظور تعیین بیومس و غذای مورد نیاز در طول ۶۰ روز پرورش، هر ۱۰ روز وزن و طول ۳۰ قطعه بچه ماهیهای گروه های تیمار و شاهد پس از بیهوشی ماهیها با عصاره گل میخک با ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم و خط کش با دقت یک میلیمتر اندازه گیری گردید. جهت ارزیابی اثر درصدهای مختلف پروبیوتیک و آهن بر کیفیت بچه ماهی آزاد در فواصل زمانی مشخص وزن و طول آنها از طریق بیومتری اندازه گیری گردید. کلیه شاخص های بیولوژی بر اساس مدل های ارائه شده توسط Shepherd و Bromage (۱۹۹۲) انجام شد.

شاخص وضعیت (Conditon Factor): W= وزن (گرم)، TL= طول کل(سانتیمتر). $CF=\frac{W}{TL^3}\times 100$

درصد افزایش وزن بدن (Weight Gain Perecent): BWf= وزن نهایی (گرم)، BWi= وزن اولیه بدن (گرم). $WGP=\frac{BW_F-BW_I}{BW_I}\times 100$

ضریب تبدیل غذایی (Feed Conversion Ratio): F= مقدار غذای مصرف شده، Wf= وزن نهایی (متوسط وزن) (گرم)، Wi= وزن اولیه بدن (متوسط وزن) (گرم). $FCR=\frac{F}{Wf-Wi}$

ضریب رشد ویژه (Specific Growth Rate): lnWf= لگاریتم طبیعی وزن نهایی(گرم)، lnWi = لگاریتم طبیعی وزن اولیه (گرم)، t= طول دوره پرورش(روز). $SGR=\frac{\ln W_F-\ln W_I}{t}\times 100$

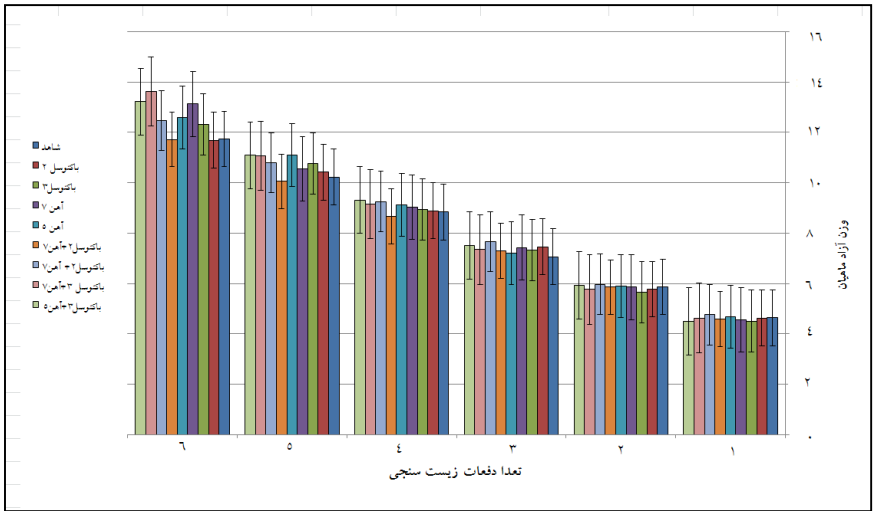
بازده پروتئین (Protein Efficiency Ratio): Wf= وزن نهایی(گرم)، Wi= وزن اولیه بدن (گرم)، AP= مقدار پروتئین داده شده به ماهی(گرم). PER=

$$\frac{W_F - W_I}{AP} \times 100$$

برای تجزیه و تحلیل کل داده ها از نرم افزار SPSS 17و StatsDirect و برای رسم نمودارها از برنامه Excel 2007 استفاده گردید. جهت اطمینان از نرمال بودن داده ها از آزمون (Shapiro-wilk) استفاده شد. در صورت نرمال بودن توزیع داده های مورد بررسی با استفاده از آزمون تجزیه واریانس یک طرفه (Oneway ANOVA) در سطح اطمینان ۹۵٪ ابتدا اختلاف کلی بین میانگینها مشخص و سپس با آزمون دانکن (Duncan) گروهها از یکدیگر تفکیک گردیدند و در مواقعی که داده ها نرمال نبودند، از آزمون ناپارامتری کروسکال– والیس (Kruskal-Wallis) جهت مقایسه تیمارها و از آزمون (Conover-Inman) برای مقایسه جفتی بین تیمارها استفاده شد.

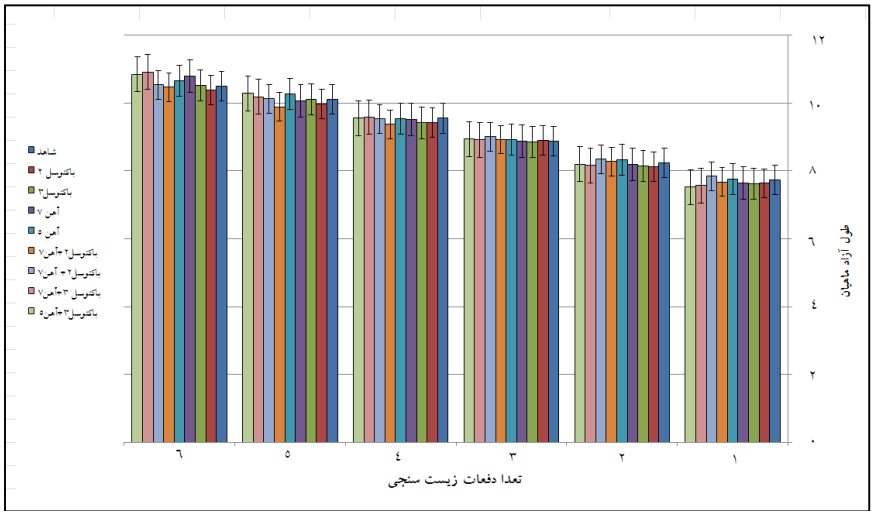
نتایج

بر اساس داده های نمودار (۱) کمترین و بیشترین میزان وزن بدن در گروه های باکتوسل۳+آهن۵ و باکتوسل۳+آهن۷ به دست آمد و بر اساس آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و دانکن مشخص گردید که بین تیمارهای مورد بررسی از نظر میزان وزن اولیه بچه ماهیان اختلاف معنی دار آماری وجود نداشت (P>0.05).



شکل۱: میانگین تغییرات وزن بدن در تیمارهای مختلف

بر اساس داده های نمودار(۲) کمترین و بیشترین میزان طول کل در گروه های باکتوسل ۳+آهن۵ و باکتوسل۳+آهن۷ به دست آمد و بر اساس آزمون کروسکال–والیس مشخص گردید که بین تیمارهای مورد بررسی از نظر میزان طول کل بچه ماهیان اختلاف معنی دار آماری وجود نداشت (P>0.05).



شکل۲: میانگین تغییرات طول بدن در تیمارهای مختلف

بر اساس آزمون های آنالیز واریانس یک طرفه و دانکن مشخص گردید که بین تیمارها از نظر ضریب چاقی اختلاف معنی دار آماری وجود داشت ($P<0.05$). اما از نظر ضریب تبدیل غذایی، درصد افزایش وزن، ضریب رشد ویژه و بازده پروتئین اختلاف معنی دار آماری مشاهده نشد ($P<0.05$).

جدول۴: شاخص‌های رشد و مصرف غذایی بچه ماهیان آزاد دریای خزر طی دوره پرورش

تیمارها	ضریب تبدیل غذایی	درصد افزایش وزن	ضریب رشد ویژه	ضریب چاقی	بازده پروتئین
شاهد	۰/۹۵±۰/۱۷ a	۲۲/۷۶±۵/۹۴a	۲/۰۴±۰/۴۸ a	۰/۹۹±۰/۰۸a	۲/۲۸±۰/۴۰ a
باکتوسل۲	۱/۰۱±۰/۲۰ a	۲۱/۸۷±۶/۸۶ a	۱/۹۶±۰/۵۶ a	۱/۰۳±۰/۰۹cd	۲/۲۶±۰/۵۱ a
باکتوسل۳	۱/۰۳±۰/۱۸ a	۲۰/۷۳±۴/۳۱ a	۱/۸۸±۰/۳۶ a	۱/۰۲±۰/۰۷bcd	۲/۲۲±۰/۳۴ a
آهن۷	۰/۹۶±۰/۱۴ a	۲۱/۹۳±۴/۲۳ a	۱/۹۸±۰/۳۵ a	۱/۰۲±۰/۰۹bcd	۲/۲۳±۰/۲۴ a
آهن۵	۰/۹۶±۰/۱۱ a	۲۲/۳±۵/۵۵ a	۲/۰۰±۰/۴۵ a	۱/۰۱±۰/۰۹ab	۲/۲۶±۰/۳۶ a
باکتوسل۲+آهن۷	۱/۰۳±۰/۱۴ a	۲۰/۶۵±۴/۸۶ a	۱/۸۷±۰/۴۰ a	۱/۰۱±۰/۰۷bc	۲/۱۱±۰/۲۸ a
باکتوسل۲+آهن۵	۱/۰۴±۰/۲۰ a	۲۰/۶۲±۴/۸۸ a	۱/۸۷±۰/۴۰ a	۱/۰۱±۰/۰۹bc	۲/۱۵±۰/۳۱ a
باکتوسل۳+آهن۷	۰/۹۸±۰/۱۵ a	۲۱/۸۱±۵/۴۹ a	۱/۹۶±۰/۴۵ a	۱/۰۲±۰/۱۰bcd	۲/۲۱±۰/۳۵ a
باکتوسل۳+آهن۵	۰/۹۹±۰/۱۶ a	۲۱/۴۷±۴/۸۹a	۱/۹۴±۰/۴۰ a	۱/۰۳±۰/۰۹d	۲/۱۰±۰/۲۷ a

بحث

یکی از اهداف اولیه آبزی پروری تولید گونه های مختلف آبزی برای تولید و همچنین بازسازی ذخایر است. هدف اصلی مطالعه تغذیه ای با تبدیل غذای ماهی به گوشت در زمان کوتاه و به همراه سود و مزایای اقتصادی دنبال می شود. نقش سودمند پروبیوتیک ها بر شاخص های رشد بطور گسترده ای توسط محققین مختلف گزارش شده است. نتایج کسب شده در طی ۸

هفته پرورش ماهی آزاد دریای خزر نشـان داد که میزان طول کل تیمارهای باکتوسـل ۲ و باکتوسـل۲+آهن۷ در آخرین مرحله نمونه برداری نسبت به گروه شاهد روند افزایشـی داشـته اسـت و کمترین و بیشـترین میزان طول کـل در بـه تـرتیـب در گروه هـای بـاکتوسـل۲ و باکتوسـل۳+آهن۷ به دسـت آمد. اما بر اسـاس آزمون کروسـکال- والیس مشـخص گردید که بین تیمارهای مورد بررسـی از نظر میزان طول کل بچه ماهیان اختلاف معنی دار آماری وجود نداشـت (P>0.05). در بررسـی تـأثیر پروبیوتیـک BioPlus 2B و آهن بر رشـد و بـازمـانـدگـی لارو قـزل آلای رنـگـیـن کـمـان (*Oncorhynchus mykiss*) بـا میانگین وزن ۰/۱۳ گرم توسـط ناصـری (۱۳۸۷)، بررسـی های آماری حاکی از عـدم وجود اختلاف معنی دار در طول کـل بین تیمارها بود که نتایج تحقیق حاضر با آن همسو بود.

مـیـزان وزن بـدن تـیـمـارهـای آهـن ۵، بـاکـتـوسـل۲+آهـن۷، بـاکـتـوسـل۳+آهـن۷ و باکتوسل۳+آهن۵ در آخرین مرحله نمونه برداری نسبت به گروه شـاهد روند افزایشـی داشـته اسـت و کمترین و بیشـترین میزان وزن بـدن در گروه های باکتوسـل۲ و باکتوسـل۳+آهن۷ به دسـت آمد. اما بر اسـاس آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و دانکن مشـخص گردید که بین تیمارهای مورد بررسـی از نظر میزان وزن اولیه بچه مـاهیـان اختلاف معنی دار آمـاری وجود نـداشـت (P>0.05). در بررسی تأثیر پروبیوتیک BioPlus 2B و آهن بر رشـد و بازماندگی لارو قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) بـا میانگین وزن ۰/۱۳ گرم توسـط ناصـری (۱۳۸۷)، در انتهای دوره آزمایشـی وزن نهایی در تیمارهای واجد پروبیوتیک نسـبت به شـاهد بیشـتر بود (P<0.01) اما در تحقیق حاضر وزن نهایی در تیمار باکتوسـل۳+آهن ۷ نسبت به گروه شاهد بیشتر بود (P<0.01) که نتایج تحقیق حاضـر با آن همسـو نبود که می توانـد بـه دلیـل تفـاوت در پروبیوتیک، گونه و وزن مورد بررسی باشد.

بر اسـاس آزمون های آنالیز واریانس یک طرفه و دانکن مشـخص گردید که بین تیمارها از نظر ضـریب چاقی اختلاف معنی دار آماری وجود داشت (P<0.05). ضـریـب چـاقی تیمارها از گروه شـاهد بیشـتر بودند (P<0.05). از نظر ضریب تبدیل غذایی، درصد افزایش وزن، ضـریـب رشـد ویژه و بازده پروتئین بین تیمارها اختلاف معنی دار آمـاری مشـاهـده نشـد (P<0.05). همچنین بر اساس آزمون های آنالیز واریانس یک طرفه و دانکن ضـریب تبدیل غذایی و ضـریب چاقی تیمارها بیشـتر از گروه شـاهد، درصد افزایش وزن بدن، ضریب رشـد ویژه و بازده پروتئین گروه شـاهد بیشتر از تیمارها (P<0.05). پروبیوتیک ها اشـتها را تحریک می کنند و با تولید ویتامین ها و آنزیم های گوارشی نظیر پروتئازها و تجزیـه ترکیبـات غیر قابل هضـم، شـرایط تغذیه ای بهتری را در مـاهی ایجـاد می نمـایـد و موجـب جـذب منـاسـب تر مواد غـذایی و تولیـد گوشـت می گردند (Imada *et al.*, 1985). این احتمـال وجود دارد کـه افزودن پروبیوتیـک به جیره غذایی، نسـبت جذب مواد غـذایی موجود در جیره را افزایش دهـد (Ghosh *et al.*, 2002). Naser و همکاران (۱۹۹۸) در بررسی اثر جیره آهن بر پاسـخ ایمنی و مقاومت در برابر بیماری در مـاهی آزاد اقیـانوس اطلس، با افزودن سـطوح متفاوت آهن بـه جیره غـذایی تفاوت معنی داری را در ضـریب تبدیل غذایی بین تیمارهای آزمایشـی مشـاهده نکردند که نتایج تحقیق حاضـر با آنها همسـو بود. در بررسـی اثرات سـودبخش ناشی از کاربرد پروبیوتیک باکتریایی

Lactobacillus rhamnosu در دوزهای متفاوت به صورت خوراکی بر روی ماهی قزل آلای رنگین کمان توسط Nikoskelainen و همکاران (۲۰۰۳)، افزایش رشد این گونه مشاهده شد که نتایج تحقیق حاضر با آنها همسو نبود که می تواند به دلیل تفاوت گونه باکتوسل مصرفی و گونه مورد مطالعه باشد. Carriquiriborde و همکاران (۲۰۰۴) با بررسی اثر مقادیر پایین و بالای آهن بر نوسانات فیزیولوژیکی متابولیسم آهن در ماهی قزل آلای رنگین کمان، تأثیری روی ضریب تبدیل غذایی ماهی ها مشاهده نکردند که نتایج تحقیق حاضر با آنها یکسان بود. در بررسی سطوح متفاوت پروبیوتیک BioPlus 2B بر روی رشد لارو قزل آلای رنگین کمان توسط Farzanfar و همکاران (۲۰۰۷)، بازده پروتئین در انتهای دوره آزمایشی در تیمارهای پروبیوتیکی نسبت به گروه شاهد بیشتر بود که نتایج تحقیق حاضر با آنها همسو نبود که می تواند به دلیل تفاوت پروبیوتیک و گونه مورد مطالعه باشد. در ارزیابی اثرات *Pediococcus acidilactici* نباتی و لیوفیلیزه شده بر رشد، بهره برداری از غذا، تشکیل کلنی در روده و پارامترهای سلامت ماهی قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) توسط Merrifield و همکاران (۲۰۰۹)، پیشرفت معنی داری در عملکرد رشد در گروه استفاده نموده از پروبیوتیک در مقایسه با گروه شاهد مشاهده نشد ($P>0.05$) که نتایج تحقیق حاضر با آنها همسو بود. در بررسی تأثیر پروبیوتیک BioPlus 2Bو آهن بر رشد و بازماندگی لارو قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) با میانگین وزن ۰/۱۳ گرم توسط ناصری (۱۳۸۷)، در انتهای دوره آزمایشی ضریب تبدیل غذایی، ضریب رشد ویژه، بازده پروتئین و رسوب پروتئین در تیمارهای واجد پروبیوتیک نسبت به شاهد بیشتر بود ($P<0.01$) اما در تحقیق حاضر ضریب تبدیل غذایی در تیمار باکتوسل۲+آهن۵، ضریب رشد ویژه در تیمار آهن ۵، بازده پروتئین و رسوب پروتئین در تیمار آهن ۷ نسبت به گروه شاهد بیشتر بود ($P<0.01$) که تفاوتهای مشاهده شده ناشی از اختلاف پروبیوتیک، گونه و وزن مورد مطالعه میباشد. در مطالعه تأثیر پروبیوتیک تجاری باکتوسل و پری بیوتیک مانان بر رشد و سیستم ایمنی ماهی قزل آلای رنگین کمان پرورشی توسط جنابی (۱۳۸۹)، یافته های تحقیق نشان داد که استفاده همزمان از این دو ماده باعث افزایش رشد ماهی قزل آلای رنگین کمان می گردد که نتایج تحقیق حاضر با آن همسو نبود که می تواند به دلیل تفاوت پروبیوتیک مصرفی و گونه مورد مطالعه باشد. در مطالعه افزایش رشد ماهی قزل آلای رنگین کمان با استفاده از پروبیوتیک تجاری باکتوسل و پری بیوتیک مانان توسط جنابی (۱۳۸۹)، مشخص گردید که استفاده توأم پروبیوتیک باکتوسل به میزان ۱۰۰ میلی گرم و پری بیوتیک مانان به میزان ۵ گرم به طور معنی داری سبب بهبود رشد ماهی قزل آلای رنگین کمان خواهد شد که نتایج تحقیق حاضر با آنها همسو نبود که می تواند به دلیل تفاوت گونه مورد مطالعه باشد.

در بررسی مقایسه ای مقادیر مختلف زیست یار حیاتی باکتوسل (Bactocell) در جیره غذایی قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) بر فاکتورهای رشد و فلورباکتریایی روده توسط مدبری (۱۳۹۱)، نتایج بدست آمده نشان داد که پروبیوتیک باکتوسل با دوز ۳۰۰ گرم به ازاء هر تن غذا می تواند در افزایش وزن ماهی قزل آلا رنگین کمان موثر باشد و همسو نبودن نتایج تحقیق حاضر با آن می تواند به دلیل تفاوت گونه مورد مطالعه باشد. استفاده از پروبیوتیک ها بعنوان

جایگزینی برای روشهای سابق مطرح شده و به نظر می رسد می تواند بسیاری از مشکلات را مرتفع سازد. استفاده از پروبیوتیک ها در واقع تکنولوژی جدید آبزی پروری همگام با محیط زیست به شمار می رود. با استفاده از این مواد هم می توان تولید را افزایش داد، هم کیفیت آب را اصلاح کرد و هم اینکه آنها را به عنوان مبارزه بیولوژیک مد نظر قرار داد (حسینی فر، ۱۳۸۶). پروبیوتیک ها با تولید ویتامین ها و سم زدایی از جیره غذایی و یا تجزیه ترکیبات غیر قابل هضم، اشتها را تحریک می کنند و شرایط تغذیه ای بهتری را در ماهی ایجاد می نمایند (Irianto & Austin, 2002). مهم ترین دلیل این امر احتمالاً در ارتباط با تولید آنزیم هایی مانند پروتئولیتیک و پپتیدولیتیک توسط باکتری های موجود در پروبیوتیک مصرفی می باشد که ترکیبات ماکرومولکول ها را به پپتیدها و آمینواسیدها هیدرولیز می کند (Fuller & Perdigon, 2003). آهن عنصری ضروری تقریباً برای تمام میکروارگانیسم ها بوده و اتصال اکسیژن، ظرفیت حمل اکسیژن و توانایی انتقال آن را به بافتها در موجودات چند سلولی، افزایش می دهد.

سپاسگزاری

لازم می‌دانیم مراتب قدردانی و سپاس خود را از آقایان مهندس کاظمی، مهندس صمدی و مهندس طاولی و سرکار خانم دکتر سلطنت لشگری و سایر عزیزانی که نقشی در این تحقیق داشته‌اند ابراز داریم چرا که بدون یاری آنها امکان انجام این تحقیق میسر نبود.

منابع

۱. جنابی، ر.، ۱۳۸۹. مقایسه تاثیر ترکیبی پروبیوتیک باکتوسل و پری بیوتیک مانان بر بازماندگی، شاخصهای رشد و برخی از پارامترهای پاسخ ایمنی ماهی قزل آلای رنگین کمان. پایان نامه کارشناسی ارشد دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه ارومیه، گروه شیلات. ۷۲ ص

۲. حسینی فر، س.ح. و پورامینی، م.، ۱۳۸۶. کاربرد پروبیوتیکها و پری بیوتیکها در آبزی پروری. چاپ اول، انتشارات موج سبز، تهران. ۱۲۰ صفحه.

۳. مدبری، ع.، آذری تاکامی، ق.، بهمنش، ش.، خارا، حسین.، ۱۳۹۲. تاثیر مقادیر مختلف زیست‌یار حیاتی باکتوسل (Bactocell) در جیره غذایی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) بر فاکتورهای رشد و فلور باکتریایی، نشریه توسعه آبزی‌پروی ۷(۴)، ۷۷-۸۷.

۴. ناصری، س. ۱۳۸۷. بررسی تأثیر پروبیوتیکها و آهن بررشد و بازماندگی لارو ماهی قزل آلای رنگین کمان. پایان نامه کارشناسی ارشد شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، ۱۲۵ ص.

5. Ali, A., 2000. Probiotic in fish furmioy–ev lunation of a candidate bacteria mixture. PhD. Thesis. Uppsala: Swedish university of Agriculture science.
6. Aubin, J., Gafesoupe, F.J., Labbe, L., Lebrun, L., 2005. Trial of probiofics to prevent the vertebral column compression syndrome in rain how frout (*Oncorbynchus mykiss* walbaum). Aquaculture Research, 36, 758-767.
7. Austin, B., L.F. Stuckey, P.A.W. Robertson, I., Effendi, and Griffith, D.R.W., 1995. A probiotic strain of vibrio alginolyticus salmonicida, vibrio anguillarum and vibrio or dalii. Journal of Fish Disease. 18(1), 93-96.

8. Browdy, C., 1998. Recent developments in penaeid brood stock and seedproduction tchnologies improving the outlook for superior captive stocks. Aquaculture, 164, 3-21.
9. Bury, N.R., Walker, P.W. and Glover, C. N., 2003. Nutritive metal uptake in teleost fish. The Journal of Experimental Biology, 206, 11-23.
10. Carriquiriborde, P., Handy, R.D. and Davies, S.J. 2004. Physiological modulation of iron metabolism in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed low and high iron diets. The Journal of Experimental Biology, 207, 75-86.
11. Castex, M., 2009. Evaluation of probiotic bacteria *pediococcus acidilactici* on penaeid shrimp *Litopenaeus stylirostris* in New Caledonia. Thesis presented at the " In stitut des seienceset Industries du vivanted de I' Envioronement (A gro paristech)", Ecole doctorale Ecole Doctorale ABIES-physiology, Nutrition. 400pp.
12. Chim, L., Castex, M. Wabete, N., Lemaire, P., Phan, D., Brun, P., 2007. Developmentof an original tool for shrimp culture studies using floating cages in earthen pond. First trial carried out to evaluate lactic acid probiotic (Bactocell) in shrimp litopeneus styliro stris reared in commercial farm subject to vibriosis. Book of Abstract Asian pacific Aquaculture, 5-8 August 2007. Hanoi, Vie tham.
13. Chim, L., Maisonneuve. V., Lemaire, P., Wabete, N., Usache, V., 2005. Dietarg probiotic *pediococcus acidilactici* MA 18/5 (Bactocell) study to ajuvenile marine shrimp *Litopenaeus stylirostris* reared in tanks and in pond. Book of abstracts. WAS annual meeting. 9-13 may 2005. Bail, Indonesia.
14. Dugenci, S. K., Arda, N., cand and A., 2003. Some medicinal plants as immuno stimulants for fish. Journal of Ethnopharamacology. 88, 99-106.
15. Farzanfar, A., Lashtoo Aghaei, G. R., Alizadeh, M., Bayati, M. and Ghorban, R., 2007. Study on growth performance of Rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, larvae with different concentration of probiotic in diet. In: proceedings of Aquaculture 2007, San Antonio, Texas, USA.
16. Fuller, R., 1989. Areview: probiotics in man and animals. Journal of Applied Bacteriology, 66: 365-378.
17. Fuller, R. and Perdigon, G., 2003. Gut flora, immunity and health. Blackwell publishing. pp: 276.
18. Gatesoupe F. J., 1999. The use of probiotic in aquaculture, Aquacultare. 180: 147-145.
19. Gildberg, A. Mikkelsen, H., 1998. Effects of supplementing the feed to Atlanfic cod (Gadus morhua) fry with lacticacid bacteria and immuno- stimulating pepfiles daring a challenge trial bacteria with vibro anguillarum. Aquaculfave, 167, 103-11.
20. Gill, H. S., 2003. Probiotics to enhance anti-infective defences in the gastrointestinal tract. Best Pract Res Best Pract Res Clin astroenterol. 2003 Oct; 17 (5):755-73.
21. Ghosh, K., Sen, S.K., Ray, A.K., 2002. Growth and survival of Rohu, *Labeo rohita* (Hamilton) spawn fed diets supplemented with fish intestinal microflora. Acta Icthology Piscatorial, 32(1), pp. 83-92.
22. Hoff, K. A., 1989. "Survival of Vibrio anguillarum and Vibrio salmonicida at different salinities." Applied and environmental microbiology, 55(7), 1775-1786.
23. Imada, C., Simidu, U. and Taga, N., 1985. Isolation and characterization of marine bacteria producing alkaline protease inhibitor. Bulletin Japan Society Science Fish, 51,799–803.
24. Irianto, A., Austin, B., 2002. Probiotics in aquaculture: Reviews Journal of Fish Diseases, 25(11), 633-642.
25. Kesarcodi- Watson, A. Kaspar, H: Josie lategan, M. Gibson, L., 2008. Probiotics in aguaculfure: The need, principles and mechanisms of aotion and screening processes. Aquaculture, 274(1), 1-14.
26. Maruta, K., H. Miyaaki, S. Masuda, M. Takahashi, T. Marubashi, Y. tadano, and H. Takahashi., 1996. Exclusion of intestinal pathogens by continuous feed in with bacillus subtilis c3102 and its in fluence on the intestinal microflora in broilers. Journal of Animal Science and Technology, 67: 273-280.

27.Merrifield, D. L., Bradley, G., Baker, R. T. M. and Davies, S. J., 2009. Probiotic application for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* walbaum) II. Effects on growth performance, feed utilization, intestinal microflora and related health criteria post antibiotic treatment. Aquaculture Nutrion, 16(5), 496-503.

28. Mesalhy Aly, S. Abdel- Galil Ahmed, Y.A bdel aziz ghareeb, A. and fathi Mohamed M., 2008. Studies on Bacillas subtilisand lacto bacillus acidophilus, as potential probiotics, on the immune response and resistance of tilapia nilotica (*oreochromisnil oficus*) to challenge in fections. Fish and shellfish Immunology, 25, 128-136.

29. Naser, N., Lall, S.P., Brown, L., Olivier, G., 1998. Role of dietary iron in immune response and disease resistance in Atlantic salmon, *Salmo salar* L. Aquaculture, Las Vegas, NV (USA).

30. Niamul, N., Santosh, P. L., Laura, B., Gilles, O., 1998. Role of dietary iron in immune response and disease resistance in Atlantic salmon, *Salmo salar* L. World Aquaculture society, Pp. 447.

31.Nikoskelainen, S., Ouwehand, A.C., Bylund, G., Salminen, S. and Lilius, E. M., 2003. Immune enhancement in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) by potential probiotic bacteria (*Lactobacillus rhamnosus*). Fish and Shellfish Immunology, 15(5), 443-452.

32. Olafsen, J. A., 2001. Interactions between fish larvae and bacteria in marine aquaculture. Aquaculture, 200, 223-247.

33. Pajalahati, J., 1999. Improve bird performance by feeding its microflora. World poultry, 15(2), 20-24.

34. Rorvik, K. A., Salte, R., Bentsen, H. B. and Thomassen, M., 1991. Effects ofdietary iron and n-3 unsaturated fatty acids (omega-3) on health and immunologicalparameters in farmed salmon.InProceedings of theFifth International Conference of the European Association of Fish Pathologists,European Association of Fish Pathologists, Budapest, Hungary, P. 86.

35. Shepherd, C.J., Bromage, N.R., 1992. Intensive Fish Farming. Wiley-Blackwell. pp. 416.

36. Wang, Y., Li, J, Lin, J., 2008. Probiotics in aquaculture: challenges and outlook, Aquaculture, 281 (-4), 1-4.

اثرات تجویز خوراکی اسانس مورد (*Myrtus communis* L) بر فراسنجه‌های بیوشیمیایی و آنتی اکسیدانی سرم خون بچه‌ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

تکاور محمدیان[۱]، سکینه مشجور[۲*]، رضا قانعی مطلق[۱]، حسین خاج[۳]، صادق رباط کریمی[۱]

۱- گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

۲- گروه زیست شناسی دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران

۳- موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۵/۲۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۹/۴

چکیده

افزودنی‌های غذایی فیتوژنیک (با منشا گیاهی)، مشتمل بر پودر گیاه، اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی هستند که به‌علت وجود ترکیبات زیست‌فعال فنول و فلاوونوئیدی در ساختار بیوشیمیایی آن‌ها می‌توانند، اثرات متعدد و مفیدی را بر سلامت جانداران برجای گزارند. هدف از مطالعه حاضر، بررسی اثرات تجویز خوراکی اسانس گیاه مورد (*Myrtus communis*) بر شاخص‌های بیوشیمیایی و آنتی اکسیدانی سرم خون بچه‌ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) بوده است. سه گروه ۲۰ تایی بچه‌ماهی کپور معمولی با میانگین وزن ۲/۹۸±۱۶/۵۳گرم در ۶ تکرار مورد مطالعه قرار گرفتند. یک گروه به‌عنوان شاهد و دو گروه دیگر تحت تغذیه با جیره غذایی غنی شده با اسانس گیاه مورد در غلظت‌های ۵۰۰mg/kg و ۷۰۰ قرار گرفتند. خون‌گیری از ساقه دمی ماهیان تیمارهای مختلف در پایان دوره ۶۰ روزه تیمار، انجام شد. سپس شاخص‌هایی چون آنزیم‌های کبدی (آسپارتات آمینوترنسفراز (AST)، آلانین آمینوترنسفراز (ALT)، آلکالین فسفاتاز (ALP) و لاکتات دهیدروژناز (LDH))، پروتئین تام و آنزیم آنتی اکسیدانی کاتالاز (CAT)، اندازه‌گیری شد. آنالیزهای آماری نشان داد که میزان ALP و AST در سرم خون ماهیان در گروه‌های تیمار در مقایسه با شاهد به طور معنی‌داری کاهش یافته است($P<۰/۰۵$). در مقابل ALT و LDH در تیمار با غلظت ۵۰۰mg/Kg اسانس در جیره نسبت به گروه‌های ۷۰۰mg/Kg و شاهد بالاتر بوده، ولی تفاوت‌ها معنی‌داری نبود($P>۰/۰۵$). تغییرات پروتئین تام نیز معنی دار نبوده، ولی در گروه های تیمار کاهش فعالیت CAT به تبعیت از افزایش غلظت اسانس مشاهده گردید($P<۰/۰۵$). طبق نتایج به دست آمده می‌توان نتیجه گرفت که سطوح این تغییرات بیوشیمیایی سرم غیرطبیعی و متاثر از شرایط تنش‌زا نبوده و این مکمل غذایی سلامت ماهیان را تحت تاثیر قرار نداده است.

کلمات کلیدی: کپور معمولی، مورد، اسانس، استرس، آنزیم های کبدی، آنتی اکسیدان.

* عهده‌دار مکاتبات (✉). sakynemashjoor@gmail.com

مقدمه

در سال‌های اخیر، به‌منظور ارتقای ایمنی و کارایی تغذیه‌ای ماهیان، تحقیقات بسیاری در جهت شناسایی و توسعه مکمل‌های غذایی جدید صورت پذیرفته است (فلاح پور، ۱۳۹۶). از طرفی در سیستم‌های تکثیر و پرورش ماهیان، حفظ شرایط بهداشتی و ممانعت از شیوع بیماری‌ها نیز بسیار حائز اهمیت است (پذیرا، ۱۳۹۶). با این وجود کنترل بیماری‌های ماهیان با بهره‌گیری از ترکیبات دارویی شیمیایی نظیر انواع آنتی‌بیوتیک‌ها، عموماً با نگرانی‌هایی چون توسعه سویه‌های میکروبی مقاوم به درمان، ماندگاری پسماندهای دارویی در بافت آبزی و مخاطرات آن برای مصرف‌کنندگان و نیز تاثیرات محیطی همراه بوده است (Otatake *et al.*, 2002). از این جهت در سال‌های اخیر، آمار جهانی نشانگر این است که توجه به مصرف گیاهان دارویی و بازگشت به طب سنتی، در کشورهای توسعه‌یافته آمریکایی و اروپایی، پیشرفت چشمگیری داشته است و این امر، بنا به‌دلایلی چون، کاهش عوارض سوء مصرف و شیوع مقاومت‌های دارویی به عوامل عفونت‌زا، گزارش شده است (Ekor, 2013).

در کشور ایران، بیش از ۸۰۰۰ گونه گیاهی شناخته شده است که بسیاری از آن‌ها خواص دارویی درمانی دارند (Zargari, 1997). در میان این طیف وسیع از گیاهان دارویی ایران، گیاه مورد با نام علمی *Myrtus communis* یک سرده از تیره موردیان Myrtaceae است که گیاهی درختچه‌ای همیشه‌سبز با برگ‌هایی با طول ۳-۵ سانتیمتر و بویی خوشایند است که بومی نواحی مدیترانه ای، جنوب اروپا و آفریقای شمالی بوده، ولی در ایران در نواحی غربی استان کرمانشاه، ایلام، فارس، خوزستان، کرمان ، یزد و هرمزگان نیز رویش دارد (Zargari, 1997; Mozafarian, 1996). مورد گیاهی معطر و خوشبو است و این به‌دلیل وجود غده‌های حاوی اسانس در برگ، میوه و گل‌های آن است (De Laurentis, 2005). بخش دارویی این گیاه عمدتاً برگ‌های آن است که حاوی اسانس بوده و این اسانس متشکل از، ترپن‌ها، سزکویی ترپن‌ها، الکل‌ها، استرها، آلدئیدها، فنل‌ها، اترها و پراکسیدها است (Omidbaigi, 2005; Salimi Beni *et al.*, 2017). تحقیقات اخیر وجود خواص ضدباکتری، ضدقارچ، ضداکسیدان، ضد ویروس، ضد التهاب و ضد درد، ضد انگل، تقویت کننده معده و قابض و ایمنی آن‌ها را برای انسان و دیگر مهره‌داران، گزارش نموده‌اند(Hennia *et al.*, 2018, 2019; Bahadori birgani *et al.*, 2018; Mansouri *et al.*, 2017; Salimi Beni *et al.*, 2017; Aleksic and Knezevic, 2014; Messaoud *et al.*, 2005; Aidiwanes, *et al.*, 2005; Burt and Reinders, 2003; Twaij *et al.*, 1988; Zargari *et al.*, 1989) و آن را در کنترل بیماری دیابت قند، بیماری‌های ریوی و سرطان نیز، موثر دانسته‌اند (Burt and Reinders, 2003).

از این‌رو این ترکیب فیتوژنیک (مشتق شده گیاهی) نیز می‌تواند به‌عنوان یک مکمل و افزودنی غذایی گیاهی برای گونه‌های مختلف جانوری از جمله آبزیان مورد توجه قرار گرفته (Peterson *et al.*, 2014) و همانند دیگر ترکیبات گیاهی مشابه احتمال می‌رود که بتواند موجب تحریک رشد و اشتها، تحریک ترشح شیره گوارشی، افزایش ضریب جذب غذا، تحریک سیستم دفاع آنتی‌اکسیدان و ایمنی آن‌ها گردیده و عملکرد رشد، سلامت و محافظت از بیماری‌ها را در این جانداران تا سطح مطلوبی بهبود بخشد (Menanteau-Ledouble *et al.*, 2015; Peterson *et al.*, 2014).

از آنجایی‌که سیستم ایمنی ماهیان، اولین سیستم دفاعی در برابر عوامل بیماریزا و استرس‌های محیطی است، لذا پاسخ سریع و ایمونولوژیک ماهیان نسبت به تجویز خوراکی اسانس‌های گیاهی در شرایط تکثیر پرورش آبزیان را می‌توان از طریق تغییر در سطح فعالیت برخی پارامترهای ایمنی و بیوشیمیایی به عنوان شاخص‌های هشداردهنده استرس‌های محیطی ارزیابی نموده (Sutili *et al.*, 2018) و سطوح مطلوب و بهینه این مکمل‌های غذایی را برای تجویز در جیره غذایی آبزیان، تعیین نمود.

در مطالعات تغذیه، سم‌شناسی و ایمنی، یکی از گونه‌های ماهی مدل متداول، ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) است، زیرا این ماهی یکی از گونه‌های پرورشی آب شیرین بوده که در اغلب بوم‌سازگان‌های آبی نیز یافت می‌شود و به علت پراکنش وسیع در سطح جهان، حساسیت به آلاینده‌ها و سازگاری با شرایط آزمایشگاهی همواره مورد توجه محققین شیلاتی بوده است (Hajibeglou and Sudagar, 2010). نظر به دامنه گسترده تکثیر و پرورش ماهیان در ایران، لزوم شناسایی و معرفی مکمل‌های غذایی سودمند در صنعت آبزی‌پروری و نیز ضعف و محدودیت اطلاعاتی موجود در این حوزه، در پژوهش حاضر محققین تلاش نموده‌اند تا ضمن افزایش دسترسی زیستی به اسانس گیاه مورد (*M. communis*) به‌واسطه افزودن آن به جیره غذایی ماهی کپور معمولی، تاثیرات مصرف آن به عنوان یک مکمل غذایی را بر تغییرات آنزیم‌های کبدی و آنتی‌اکسیدانی در خون مورد بررسی و کاوش قرار دهند. در تحقیقات پیشین نیز، اثرات مثبت عصاره گیاه مورد بر تقویت نرخ رشد و بقا، پارامترهای بیوشیمیایی خون و ایمنی (کلسترول و تری گلیسیرید) در ماهی کپور معمولی (Bahadori Birgani *et al.*, 2018) و نیز تاثیر آن بر تغییرات کیفی ماهی قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*)، در شرایط نگهداری سرد (Nasiri *et al.*, 2016) مورد تایید قرار گرفته بود.

مواد و روش‌ها

در تحقیق حاضر، تعداد ۵۰۰ عدد بچه ماهی کپور معمولی با میانگین وزن ۲/۹۸±۱۶/۵۳گرم و میانگین طول ۰/۸۲±۱۰/۱۳ از مرکز تکثیر پرورش شهید ملکی اهواز تهیه و با استفاده از مخزن مخصوص حمل بچه ماهی و کپسول اکسیژن به دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز منتقل گردید. پیش از شروع آزمایش، ماهی‌ها از نظر ظاهری و بالینی مورد بررسی قرار گرفتند و پس از تحمل ۲۴ ساعت گرسنگی به دلیل حمل و نقل به مدت دو هفته نسبت به شرایط آزمایشگاهی (۲۴±۲°C :دمای آب، ppm ۱±۶ :اکسیژن و ۰/۲ ± pH: ۷/۶) سازگار گردیدند. غذادهی ماهیان در طول دوره سازگاری با جیره اصلی (جدول۱) انجام گرفت. غذادهی به‌صورت روزانه به میزان ۲/۵٪ وزن توده زنده و سه بار در روز برای همه گروه‌ها انجام گرفت. اجزای جیره از شرکت بهدان چهارمحال و بختیاری (شهرکرد) (https://www.behdanco.com) تهیه و به تفکیک ذکر شده در جدول یک باهم ترکیب و ساخته شدند. غذاهای تهیه شده در دمای معمولی آزمایشگاه به مدت ۲۴ ساعت خشک و در کیسه‌های پلاستیکی بسته‌بندی و در یخچال تا زمان مصرف نگهداری شد. غذای مورد نیاز در هر روز پس از محاسبه از یخچال خارج و در لیوان‌های پلاستیکی

شماره‌گذاری شده تا زمان مصرف قرار داده شد. آنالیز تقریبی جیره نیز در جدول ۲ گزارش شده است. در ادامه اسانس گیاه مورد (*M. communis*)، به صورت یک محصول تجاری از شرکت داروسازی خرمان خرم آباد (http://khorraman.ir) تهیه گردید. نسبت ترکیبات شیمیایی در این اسانس (طبق دستورالعمل ارائه شده توسط کارخانه) در جدول ۳ قابل مشاهده است.

جدول ۱: ترکیب اصلی جیره استفاده شده در آزمایش

اجزای غذایی جیره	آرد جو	آرد گندم	سبوس گندم	کنجاله سویا	پودر ماهی	روغن ماهی	روغن (آفتابگردان)	آنزیمیت	ملاس	پرمیکس ویتامین و مواد معدنی
درصد	۲۵	۱۰	۸	۲۴	۲۰	۳	۴	۲	۲	۲

جدول ۲. آنالیز تقریبی جیره

در وزن خشک (درصد)	انرژی خام (Kcal/kg)	پروتئین خام	چربی خام	فیبر	رطوبت	خاکستر	TVN (mg/100gr)
	۳۵۰۰	۳۷	۹-۱۰	۵	کمتر از ۸	۱۱-۱۲	۳۹

جدول ۳. ترکیبات شیمیایی عمده اسانس گیاه مورد

ترکیب	Linalool	Limonene	α-Pinene	1,8-Cineole	α-Terpineole	Linalyl acetate	Terpinene-4-ol	Trans/Cis Carveole
درصد	۱۰/۶	۲۱/۲	۲۹/۴	۱۸	۳/۱	۴/۶	۰/۵	کمتر از ۰/۴-۰/۱

به منظور آماده‌سازی جیره مخصوص آزمایش، ابتدا تمامی اقلام خشک پس از پودر شدن با آسیاب، با هم مخلوط شده، سپس آب و روغن اسانس گیاه مورد (با احتساب میزان اسانس مورد برای هر تیمار)، به آن‌ها اضافه شده و کاملاً همگن شده و ماده خمیری حاصل توسط چرخ گوش با دهانه متوسط (۲ میلی‌متر) به صورت رشته‌ای آماده شد. رشته‌های غذایی پس از تفکیک در آون با دمای ۴۰ درجه سانتیگراد به مدت ۶ ساعت خشک شده و سپس خرد گشته و به‌شکل پلت مهیا شدند. پلت‌ها به مدت ۱روز در دمای اتاق نگهداری شدند و نهایتاً به یخچال با دمای ۴ درجه سانتیگراد تا زمان استفاده منتقل گردیدند.

در مطالعه حاضر، تیمارهای آزمایش مشتمل بر گروه شاهد (۱) (خوراک فاقد افزودنی)، تیمار (۲) (خوراک حاوی ۵۰۰mg/kg اسانس گیاه مورد)، تیمار (۳) (خوراک حاوی ۷۰۰mg/kg اسانس گیاه مورد) در شش تکرار (تعداد ۲۵ قطعه بچه‌ماهی در هر تیمار درون مخازن پلی اتیلن ۳۰۰ لیتری) بوده و غذادهی به صورت ۳٪ وزن توده زنده ماهی در دو وعده در روز و به مدت ۶۰ روز انجام پذیرفت. انتخاب غلظت‌ها مبتنی بر حداقل و حداکثر غلظت موثره پیشنهادی محققین در سابقه پژوهش‌های اخیر در ارتباط با عصاره گیاه مورد بود که تغییرات خونی، بیوشیمیایی و ایمنی را در ماهی کپور معمولی القا نموده بودند (Bahadori Birgani *et al.*, 2018).

جهت تعیین تغییرات توده زنده ماهیان در هر یک از تیمارها، هر ۱۵ روز یک‌بار ۱۰۰ درصد ماهیان هر تکرار با ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۱ گرم توزین و طول

کل آن‌ها با تخته بیومتری با دقت ۱ mm اندازه‌گیری شد. قبل از اجرای آزمون زیست‌سنجی، بچه‌ماهیان به مدت ۲۴ ساعت گرسنه نگه‌داشته شدند. در پایان دوره تیماربندی، ابتدا ماهیان به سطل حاوی ۱۰۰ppm داروی بیهوشی۲- فنوکسی اتانول منتقل گردیدند تا بیهوش شوند (Genc *et al.*, 2007; Giannenas *et al.*, 2012)، سپس خون‌گیری با استفاده از سرنگ هپارینه ۲/۵ میلی‌لیتری از ساقه دمی از تعداد ۳ قطعه از ماهیان در هر تکرار تیمار صورت گرفت. برای جداسازی سرم خون، نمونه‌های خون به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۳۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ شدند، سپس نمونه‌های سرم از خون جدا شده و تا قبل از انجام آزمون‌های بیوشیمیایی در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (Genc *et al.*, 2007).

اندازه‌گیری سطوح آنزیم‌های کبدی در سرم خون

به‌منظور تعیین شاخص‌های بیوشیمیایی خون، پس از تهیه نمونه‌های سرمی خون ماهیان هر تیمار، از روش رنگ‌سنجی مطابق بر دستورالعمل کیت‌های تشخیصی پارس آزمون (ایران) و با بهره‌گیری از دستگاه طیف سنج قرائت‌گر میکروپلیت (BioTek، آمریکا)، در طول موج‌های تعریفی برای هر شاخص استفاده شد. در این راستا، سطح فعالیت آنزیم‌های آسپارتات آمینوترنسفراز (AST) و آلانین آمینوترنسفراز (ALT) سرم بر اساس مقدار مصرف نیکوتین‌آمید آدنین دی‌نوکلئوتید (NADH) و تبدیل آن به NAD^+ در طول موج ۳۴۰ نانومتر، سطح لاکتات دهیدروژناز (LDH) سرم بر اساس تبدیل پیرووات به لاکتات در طول موج ۳۴۰ نانومتر و سطح آنزیم آلکالین فسفاتاز (ALP) بر اساس تبدیل نیتروفنیل فسفات به نیتروفنول و فسفات در طول موج ۴۰۵ نانومتر تعیین و براساس میزان جذب نوری (OD) و فرمول ارائه شده در دستورالعمل کیت‌های پارس آزمون محاسبه گردید (Moss and Henderson, 1999).

میزان پروتئین کل(TPr)

سنجش میزان پروتئین کل (TPr[1])، در هر عصاره بافتی با استفاده از روش Bradford (1976)، انجام پذیرفت. در این روش برای تعیین غلظت پروتئین، از منحنی استاندارد پروتئین آلبومین گاوی (BSA[2]) ۰/۲ mg/ml، استفاده گردید. در ادامه طیف جذبی نمونه‌ها، توسط دستگاه میکروپلیت‌ریدر BioTek، در طول موج ۵۹۵ nm قرائت گردید.

اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی سرم خون

فعالیت آنزیم کاتالاز نمونه‌های سرم خون ماهیان بر مبنای روش پیشنهادی Korolyuk (1988)، سنجش گردید. به‌منظور ارزیابی فعالیت آنزیم کاتالاز، حجم نهایی واکنش در ۲۰۵ µl تنظیم شد که مشتمل بر سرم خون، بافر ۰/۰۵ mM Tris-HCl با pH=۷/۸ و ۰/۰۳٪ ۱۰mM H_2O_2 بود، منتهی این واکنش پس از قرارگیری به‌مدت ۱۰ دقیقه در تاریکی با افزودن آمونیوم مولیبدات۴۳٪ متوقف گردید. سپس غلظت آنزیم بر مبنای قرائت اختلاف جذب نوری(Δ) بین نمونه A(s) و کنترل A(c) در طول‌موج ۴۱۰ نانومتر، توسط دستگاه میکروپلیت‌ریدر BioTek سنجش گردید.

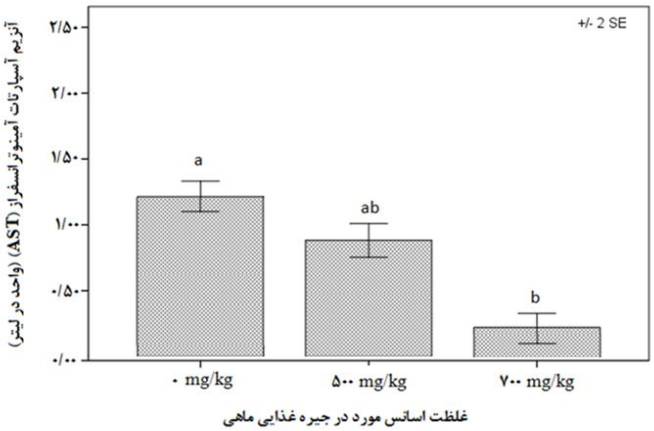
[1]-Total protein
[2]-Bovine serum albumin
[3]-Ammonium molybdate

تجزیه و تحلیل داده ها

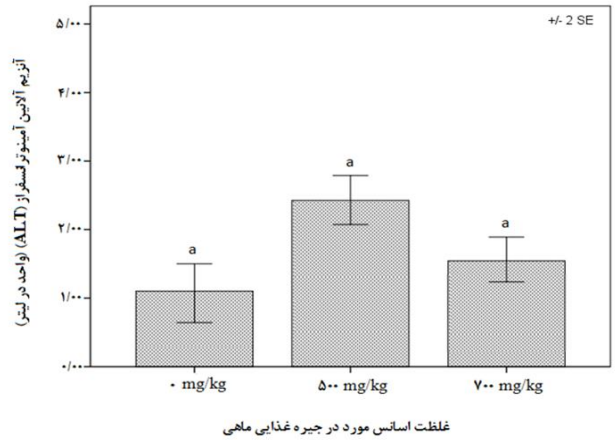
در نهایت کلیه داده‌های جمع‌آوری شده در نرم افزار Excel ثبت و داده‌ها توسط نرم افزار SPSS 16 با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) و پس آزمون دانکن مورد ارزیابی قرار گرفتند و وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای مختلف نسبت به گروه شاهد در سطح اطمینان ۹۵٪ سنجیده شد.

نتایج

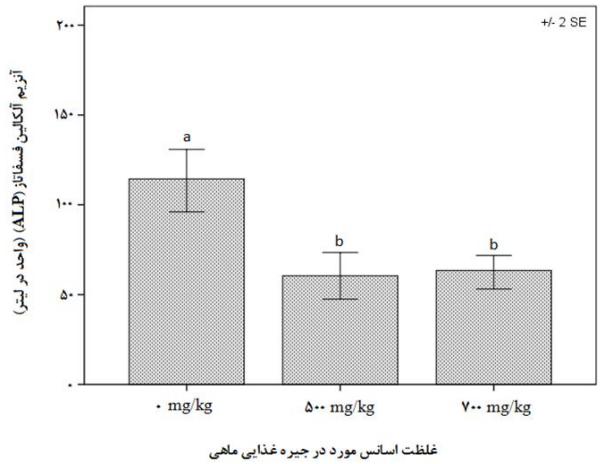
در تحقیق حاضر، در طی دوره آزمایش در هیچ یک از تیمارهای آزمایشی و گروه شاهد مرگ و میری مشاهده نشد. نتایج اندازه‌گیری آنزیم‌های سرمی در خون بچه‌ماهیان کپورمعمولی نشان می‌دهد که سطح فعالیت آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز (AST)، طی مواجهه ماهیان با افزایش غلظت اسانس گیاه مورد در مقایسه با گروه شاهد کاهش معنی‌داری داشته است (P<۰/۰۵) (شکل ۱).



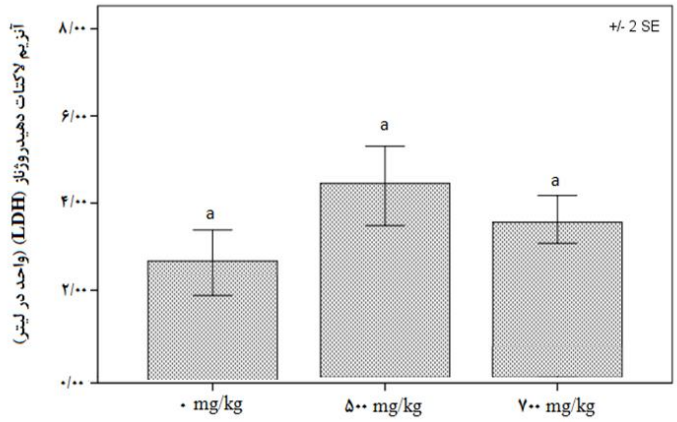
شکل ۱: تغییرات آنزیم AST در خون بچه‌ماهیان کپورمعمولی طی مواجهه با سطوح مختلف اسانس گیاه مورد. بیان داده‌ها به شکل میانگین± انحراف معیار و حروف لاتین ناهمنام نشانگر اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است(P<۰/۰۵).



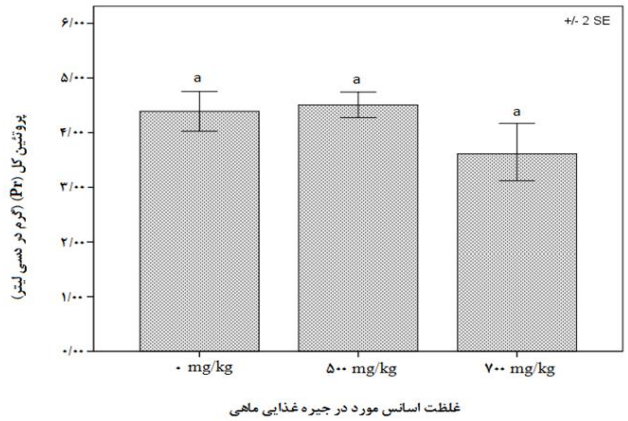
شکل ۲: تغییرات آنزیم ALT در خون بچه‌ماهیان کپورمعمولی طی مواجهه با سطوح مختلف اسانس گیاه مورد. بیان داده‌ها به شکل میانگین± انحراف معیار و حروف لاتین ناهمنام نشانگر اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است(P<۰/۰۵).



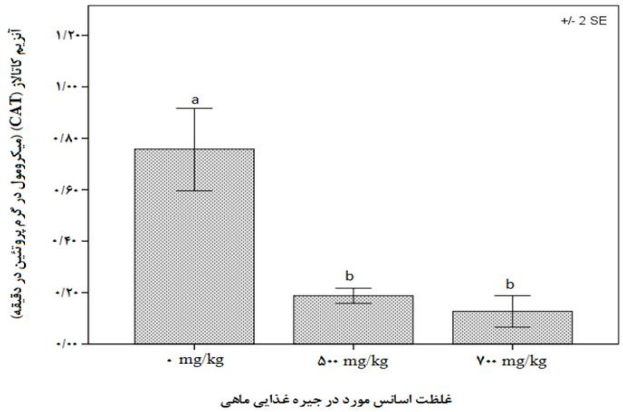
شکل ۳: تغییرات آنزیم ALP در خون بچه‌ماهیان کپورمعمولی طی مواجهه با سطوح مختلف اسانس گیاه مورد. بیان داده‌ها به شکل میانگین± انحراف معیار و حروف لاتین ناهمنام نشانگر اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است(P<۰/۰۵).



شکل ۴: تغییرات آنزیم LDH در خون بچه‌ماهیان کپورمعمولی طی مواجهه با سطوح مختلف اسانس گیاه مورد. بیان داده‌ها به شکل میانگین± انحراف معیار و حروف لاتین ناهمنام نشانگر اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است(p<۰/۰۵).



شکل ۵: تغییرات غلظت پروتئین تام در خون بچه‌ماهیان کپورمعمولی طی مواجهه با سطوح مختلف اسانس گیاه مورد. بیان داده‌ها به شکل میانگین± انحراف معیار و حروف لاتین ناهمنام نشانگر اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است(P<۰/۰۵).



شکل ۶: تغییرات آنزیم CAT در خون بچه‌ماهیان کپورمعمولی طی مواجهه با سطوح مختلف اسانس گیاه مورد. بیان داده‌ها به شکل میانگین± انحراف معیار و حروف لاتین ناهمنام نشانگر اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است(P<۰/۰۵).

همانطورکه در شکل‌های ۲ و ۴ مشاهده شد، سطح فعالیت آنزیم‌های آلانین آمینو ترانسفراز (ALT) و لاکتات دهیدوژناز (LDH) در گروه تیمار با غلظت ۵۰۰mg/Kg اسانس در جیره غذایی ماهی، نسبت به گروه‌های تیمار ۷۰۰mg/Kg و نیز گروه شاهد بالاتر بوده، ولی با این‌حال میزان این دو آنزیم تفاوت معنی‌داری را بین گروه‌های شاهد و تیمارها نشان نمی‌دهد(P>۰/۰۵). نتایج حاصله از آنالیزهای آماری آنزیم‌های آلکالین فسفاتاز (ALP)، نیز نشان می‌دهد که در هر دو غلظت تیمار در طول دوره مجاورت سطح فعالیت آنزیم کاهش یافته و اختلاف آن نسبت به گروه شاهد معنی‌دار بوده است(P<۰/۰۵). با این‌حال پایین‌ترین سطح ALP در غلظت ۵۰۰mg/Kg اسانس در جیره غذایی ماهی، مشاهده شده که برابر با U/L ۱۴/۵±۶۰/۵ بوده است (شکل۳). نتایج حاصله از سنجش میزان پروتئین تام سرم خون ماهیان بر اساس شکل ۵ نیز نشان داد که سطح کل پروتئین‌های سرم در تیمار ۷۰۰mg/Kg اسانس در جیره غذایی ماهی، نسبت به تیمار دیگر و گروه شاهد کاهش یافته، ولی اختلاف آن‌ها معنی‌دار نبوده است (P>۰/۰۵). تاثیر سطوح مختلف اسانس گیاه مورد بر فعالیت سیستم دفاع آنتی اکسیدانی و به طور ویژه، آنزیم کاتالاز سرم خون بچه ماهیان کپور نشان می‌دهد، که روند کاهش فعالیت CAT، تابعی از افزایش غلظت اسانس بوده و اختلاف آن نسبت به گروه شاهد معنی‌دار می‌باشد (P<۰/۰۵) (شکل۶). لذا افزایش دوز این مکمل با مهار فعالیت آنزیم CAT در گروه‌های تیمار همراه بوده است.

بحث

امروزه عوامل متعددی شناسایی شده‌اند که می‌توانند فشار مضاعفی را بر مشکلات پیش‌رو در صنعت آبزی پروری اعمال نمایند، نظیر کمبود و یا افزایش قیمت مواد خام سازنده غذای ماهیان نظیر، پودر ماهی و یا دیگر مشتقات مشابه آن، که چالش اصلی در افزایش پایدار بازده تولید در سیستم‌های تکثیر و پرورش ماهیان محسوب می‌شوند. با این وجود، استفاده از پروتئین‌های غذایی و مواد خام کم‌هزینه و نامرغوب با درصدپایین ریزمغذی‌ها و مکمل‌های غذایی می‌تواند منجر به کاهش نرخ هضم‌پذیری پروتئین و افزایش نامتعادل سطوح اسیدهای آمینه و کربوهیدرات‌ها و

فیبرها در غذا گردد. این امر منجر به مصرف بیشتر غذا، مستعد شدن به بیماری و تولید مواد دفعی بالاتر می‌گردد که هم هزینه تولید را بالا می‌برد و هم بازده تکثیر را کاهش می‌بخشد (Gonçalves and Santos, 2015). اما در این بین، مطالعات اخیر نشان داده‌اند که مکمل‌های غذایی فیتوژنیک[1] نظیر اسانس و عصاره گیاه مورد، ضمن افزایش مقاومت به میکروب‌ها، باکتری‌ها و عوامل بیماری‌زا (Suphoronski *et al.*, 2019; Lillehoj *et al.*, 2018; Sutili *et al.*, 2018; Beni *et al.*, 2017; Saiedi *et al.*, 2014; Akin *et al.*, 2010; Gholamhoseinian Najar *et al.*, 2009; Azadbakht *et al.*, 2004;Khaleghi, 1996)، سبب تحریک فعالیت گوارشی شده و قابلیت جذب و هضم غذا را نیز در آبزیان بهبود می‌بخشند (Mohiti-Asli and Ghanaatparast-Rashti, 2018; Menanteau-Ledouble *et al.*, 2015; Feibt *et al.*, 2005).

نتایج بدست آمده در پژوهش حاضر نشان داد که تغییرات فعالیت آنزیم‌های کبدی در سرم نظیر ALP، AlT و AlT و فاکتورهای مرتبط با استرس نظیر آنزیم کاتالاز و تغییرات پروتئین تام در طی یک دوره تیمار ۶۰ روزه ماهیان کپور معمولی با اسانس گیاه مورد، پاسخ‌های بیوشیمیایی و ایمنی را در پی داشته است. به نحوی‌که ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم اسانس گیاه مورد (*M. communis*) در تمامی پارامترهای سنجش شده، عملکرد بهینه‌تری را در مقایسه با گروه شاهد و دیگر تیمار (۷۰۰ mg/Kg) مذکور ابراز نمودند. آنزیم‌های AST و ALT به‌طور متداول جهت تشخیص آسیب بافت‌های ماهیان مورد استفاده قرار می‌گیرند. همچنین این آنزیم‌ها به آلودگی‌های محیطی و سمیت ناشی از ترکیبات زنوبایوتیک حساس بوده و قبل از بروز اثرات خطرناک نسبت به آن‌ها پاسخ می دهند (Flart *et al.*, 2011). آنزیم‌های ALT وAST جزو خانواده آنزیم‌های آمینوترانسفراز هستند که نقش مهمی در تنظیم متابولیسم پروتئین و آمینواسیدها و فعالیت ترانس‌آمینازها دارند(Atli *et al.*, 2006). افزایش فعالیت این آنزیم‌ها احتمالاً به نقش‌شان در تنظیم فرآیند گلوکونئوژنز (چرخه بازسازی گلوکز در کبد) جهت پاسخ به تقاضای انرژی جانور در شرایط تنش‌زا، باز می‌گردد، زیرا افزایش ترانس‌آمینازها یک مکانیسم ایمنی است که در مراحل اولیه استرس روی می‌دهد (Lin *et al.*, 1997). آنزیمALP نیز، اگرچه در تمامی بافت‌های ماهیان از جمله سلول‌های کبدی، اپی‌تلیوم مجاری صفراوی و نیز مخاط روده و کلیه‌ها تولید می‌شود، اما سطح این آنزیم، تنها در زمانی‌که اختلالات کبدی، نکروز بافتی کبد، انسداد و یا آسیب اپتیلیوم مجاری صفراوی داخل و خارج کبد، سیروز و یا آسیب‌بافتی در روده ماهی رخ دهند، به شدت در خون افزایش می‌یابد (Agrahari and Gopal, 2009)، لذا به‌عنوان شاخص مسمومیت‌های سلولی به زنوبایوتیک‌ها نیز، شناخته شده‌اند(Lohner *et al.*, 2001). در این راستا و بنابر نتایج ارائه شده، روند نزولی سطوح فعالیت هر سه آنزیم کبدی مورد آزمون (ALP، ALT وAST) در سرم خون (شکل ۳)، به تبعیت از افزایش غلظت اسانس در جیره غذایی بچه‌ماهیان کپورمعمولی نشان دهنده عدم القای استرس و بروز اثرات سیتولیزی بر سلول‌های کبدی و تحریک رهایش آنزیم‌های فوق ذکر تحت تاثیر حضور اسانس مورد در جیره غذایی ماهیان بوده است، زیرا نشت این آنزیم‌ها از سیتوزول کبد به داخل

[1]-Phytogenic feed additives

جریان خون و افزایش آن‌ها در سرم ناشی از بروز اختلالات بافت شناسی و آسیب‌های کبدی متاثر از اثرات استرس اکسیداتیو و تولید رادیکال‌های آزاد است (Flart *et al.*, 2011)که در پژوهش حاضر این طیف از واکنش‌های مشابه مشاهده نگردید. در شرایط تنش‌زا، تغییرات غدد درون‌ریز و ترشحات هورمون‌های گلوکورتیکوتروپینی[1] (ارتقای سطح واکنش‌های گلکونئوژنز) (Remyla *et al.*, 2008)، افزایش سطح گلوکز سرمی را در پی دارد. این هورمون‌ها با افزایش کاتابولیسم پروتئین‌ها در بافت‌ها، موجب افزایش سطح جذب اسیدآمینه توسط کبد و افزایش فعالیت آنزیم‌های آمینوترانسفراز و سایر آنزیم‌های موثر در چرخه بازسازی گلوکز در کبد می‌شوند. از طرفی، گلکوکورتیکوئیدها[2] نیز از مصرف گلوکز توسط بافت‌های خارج کبدی ممانعت به عمل آورده و نهایتاً سطح گلوکز خون را ترفیع می‌بخشند (Remyla *et al.*, 2008). بنابر نتایج این تحقیق حضور اسانس مورد در جیره غذایی به عنوان یک عامل محرک، افزایش کاتابولیسم پروتئین و کاهش سطح پروتین تام و نیز افزایش فعالیت آنزیم‌های گلیکولیتیک مانند لاکتات‌دهیدروژناز را در پی داشته است که این امر می تواند در راستای نقش LDH در کاهش ذخایر گلیکوژنی و پیرو آن، افزایش غلظت گلوکز خون باشد، اما نظر به این‌که اختلاف بین گروه های تیمار و شاهد معنی دار نیست (شکل‌های ۴و۵) به نظر می‌رسد این اثرات القای تولید LDH و کاهش پروتئین تحت تاثیر تنش نبوده و در راستای تقویت سیستم دفاعی و ایمنی بدن ماهیان بوده است. در ارتباط با تحریکات سیستم دفاع آنتی اکسیدانی، آنزیم CAT یکی از انواع آنزیم‌های موجود در پراکسی‌زوم[3] است، که جز سدهای دفاعی اولیه سلول نسبت به اکسیدان‌ها بوده و حذف و زدایش رادیکال‌های آزاد حاصله از H_2O_2 را تسهیل نموده و آن‌ها را به اکسیژن مولکولی و آب متابولیزه می‌نماید (Hao and Chen, 2012). تغییرات فعالیت این آنزیم، معمولاً به عنوان شاخص زیستی برای نشان دادن وضعیت استرس اکسیداتیو مورد استفاده قرار می‌گیرد. بنابر نتایج ارائه شده در تحقیق حاضر (شکل ۶)، افزایش غلظت اسانس گیاه مورد در جیره غذایی طی دوره تیمار، مهارکننده فعالیت آنزیم CAT خون ماهیان بوده است و اختلاف معنی‌داری را بین گروه‌های تیمار و شاهد، نشان داده است. در این‌جا به نظر می‌رسد، غلظت آنزیم CAT در جهت خنثی نمودن استرس و تحریکات سیستم دفاع آنتی اکسیدانی، روند کاهشی را به تبعیت از افزایش غلظت اسانس در جیره غذایی بچه ماهیان کپور معمولی، به نمایش گذارده است، به نحوی‌که، افزایش جبرانی فعالیت آنزیم در دوزهای بالای اسانس مشاهده نگردید و احتمال می‌رود این شرایط متاثر از تحریک سیستم دفاعی، افزایش تولیدات گونه فعال اکسیژن (ROS[4])، افزایش سطح متابولیسم، افزایش غلظت گلوکز و سطح بالای سوخت و ساز بدن بوده که نهایتاً تلاش در جهت پاکسازی اکسی‌رادیکال-های آزاد و تنظیم و تعدیل آن‌ها، مصرف آنزیم و تخریب ساختار آنزیمی آن را طی مقابله با سوپررادیکال‌های فعال در پی داشته است. این نتایج

[1] -*Glu-corticotropin*
[2] -*Glucocorticoids*

[1] -*Peroxisomes* *یکی از اندامک‌های غشادار سلولی است، که محتوی انواعی از آنزیم‌های موثر در واکنش‌های متابولیک است.*
[1]-Reactive oxygen species

نشـان می‌دهد بهره‌گیری از ترکیبات با منشا گیاهی نظیر اســانس گیاه *M. communis* می‌تواند ســطوح القایی فعـالیـت آنتی اکســیـدانی را در مـاهیـان ارتقا بخشــد. بـرگ‌هـای گـیـاه مـورد(*M. communis* L)، محتوی تـانن‌ها، روغن‌های فرار و ترکیبات فلاونوئیدی اســت (Baytop, 1999)که تقویت کننده سـیسـتم دفاع آنتی اکسـیدانی بوده و اسـانس آن نیز واجد ترکیبات ترپنی، فنلی و پراکســیـدی اســت (Naseian, 1997) که در مقادیر کم می‌توانند سـبب بهبود کارایی تغذیه و اشـتها در ماهیان گردد (Feibt *et al.*, 2005). مطالعات گذشته نیز اذعان داشــتند که مهمترین ترکیبات تشــکیل‌دهنده اســانس گیاه مورد که در مجموع ۹۶/۳ درصــد از وزن اســانس برگ خشــک را تشــکیل می‌دهند عبارتند از تـرکیـب‌هـایی چون 1,8-cineole (۲۳/۴٪) (۲۲/۴٪)، Limonene (۱۹/۲٪)، Linalool (۱۱/۷٪) و Linalyl acetate (۶/۱٪) (Barazandeh, 2000) که در این بین، ترکیباتی با بالاترین درصــد مشــارکت چون ســینئول، اثرات آرام بخش، ضــد آلرژی و محرک ترشــحات صفراوی در کبد داشته و آلفا پنین نیز، اثرات ضدالتهابی و ممانعت از تحریکات ســیســتم ایمنی را القا می نماید (Mir Azadi *et al.*, 2012).

نتایج مطالعه حاضــر نشــان داد که اگرچه در طول دوره تیمار تغذیه‌ای ۶۰ روزه ماهیان با جیره غذایی غنی شــده با اســانس گیاه مورد (*M. communis*)، فعالیت شـاخص‌های آنزیمی کبد چون ALP، ALT ،AST و LDHو آنزیم آنتی‌اکسـیدانی نظیر CAT در سـرم خون بچـه‌مـاهیـان کپورمعمولی بـه تبعیـت از افزایش غلظـت اسـانس در جیره غذایی تغییر نموده اسـت، ولی سـطوح این تغییرات بیوشیمیایی طبیعی بوده و در نهایت سلامت این ماهیان را تحت‌تاثیر قرار نداده اســت. از منظر دوز مصـرفی مکمل غذایی اسـانس مورد نیز، بنابر نتایج ارائه شــده، جیره حاوی ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم اســانس گیاه مورد توصیه می‌گردد. با این حال اثرات این مکمل غذایی در دیگر ماهیان گرمابی به‌ویژه در شـرایط تحت تنش و یـا چـالش بیماری، نیازمند بررســی‌های تکمیلی خواهد بود.

سپاسگزاری

در اینجـا بر خود لازم می دانیم از زحمـات کلیـه کســانی کـه مـا را در انجـام این تحقیق یـاری نمودنـد سپاسگزاری نماییم.

منابع

۱. پذیرا، ع.، ۱۳۹۶. فعالیت ضد قارچی اسانس آویشن باغی (*Thymus vulgaris*) بر روی قارچ‌های جداشده از پوست ماهی کوی (*Cyprinus carpio var. Koi*). نشریه توسعه آبزی پروری، ۱۱(۲)، ۱۳-۲۲.

۲. فلاح پور، ف.، بنایی، م.، جواد زاده، ن.، ۱۳۹۶. اثرات تجویز خوراکی عصاره گل ختمی (*Althaea officinalis*) بر سلول‌های خونی و برخی آنزیم‌های کبدی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). نشریه توسعه آبزی پروری، ۱۱(۲)، ۱۰۵-۱۱۷.

3. Agrahari, S., Gopal, K., 2009. Fluctuations of certain biochemical constituents and markers enzymes as a consequence of monocrotophos toxicity in the edible freshwater fish, *Channa punctatus*. Pesticide Biochemistry and Physiology, 94, 5-9.
4. Aidiwannes, W., Mohamodi, B., Marzouk, B., 2005. Variation in essential oil and fatty

asid composition during *Myrtus communis* var *italica* fruit maturation. Food Chemistry, 112, 621-626.
5. Akin, M., Aktumsek, A., Nostro, A., 2010. Antibacterial activity and composition of the essential oils of *Eucalyptus camaldulensis Dehn*. and *Myrtus communis* L. growing in Northern *Cyprus*. African Journal of Biotechnology, 9(4), 531-5.
6. Aleksic, V., Knezevic, P., 2014. Antimicrobial and antioxidative activity of extracts and essential oils of *Myrtus communis* L. Microbiological Research, 169(4), 240-254.
7. Atli, G., Alptekin, O., Tukel, S., Canli, M., 2006. Response of catalase activity to Ag^{+}, Cd^{2+}, Cr^{6+}, Cu^{2+} and Zn^{2+} in five tissues of freshwater fish *Oreochromis niloticus*. Comparative Biochemistry and Physiology, 143(2), 218–224.
8. Azadbakht, M., Ziaiye, H., Abdollahi, F., Shabankhani, B., 2004. Effect of methanolic essence and extract of *Myrtus Communis* on *Trichomonas Vaginalis*. Journal of Guilan University of Medical Sciences, 12(48), 8-13.
9. Bahadori Birgani, S., Roomiani, L., Chelehmal Dezfulnezhad, M., 2018. The effect of the extract supplements (*Myrtus communis* L.) on growth, survival, blood and immune system of fish Common carp (*Cyprinus carpio*). Journal of Animal Researches (Iranian journal of biology), 31(3), 329-341.
10. Barazandeh, M.M., 2000. Essential oil composition of *Myrtus communis* L. from Iran. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 6(1), 115-127.
11. Baytop, T., 1999. Therapy with medicinal plants in Turkey (past and present). 2nd ed. Nobel Tıp Kitabevi, Istanbul Ertug F., 2000.
12. Beni, A.S., Kocheki, Shahmokhtar, M., Masoumiasl, A., Khajehsharifi, H., 2017. Phytochemical and biological studies of some Myrtus (*Myrtus communis* L.) populations of south west region of Zagros (Iran). Natural Products Chemistry and Research, 5(7), 1000290.
13. Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry, 72, 248-254.
14. Burt, S.A., Reinders, R.D., 2003. Antibacterial activity of selected plant essential oils against *Escherichia coli* O157: H7. Letters in Applied Microbiology, 36(3), 162-166.
15. De laurentis, N., Rosato, A., Callo Leone, L., Milillo, M.A., 2005. Chemical composition and antimicrobial activity of *Myrtus communis*. Revista italiana EPPOS, 39, 3-8.
16. Ekor, M., 2013. The growing use of herbal medicines: issues relating to adverse reactions and challenges in monitoring safety. Front Pharmacol, 4,177.
17. Feibt, C., Franke, L., Appendino, G., Werz, O., 2005. Identification of molecular targets of the oligomeric nonprenylated acylphloroglucinols from *Myrtus communis* and their implication as anti-inflammatory compounds. The journal of pharmacology and experimental therapeutics, 315, 389-396.
18. Flart, O., Cogun, H.Y., Yüzereroğlu, A.T., Gök G., Flrat, O., Kargin, F., Kötemen Y., 2011. A comparative study on the (cypemethrin) and two metals (copper, lead) to serum biochemistr of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Fish Physiology and Biochemestry, 37, 657-666.
19. Genc, M., Aktas, M., Genc, E., Yilmaz, E. 2007. Effects of dietary mannan oligosaccharide on growth, body composition and hepatopancreas histology of *Penaeus semisulcatus* (de Haan 1844), Aquaculture Nutrition, 13(2), 156-161.
20. Gholamhoseinian, Najar, A., Mansouri, S., Rahighi, S. 2009. Eeffect of sub-inhibitory concentration of *Myrtus communis* leave extracts on the induction of free radicals in Staphylococcus aureus; A possible mechanism for the antibacterial action. Asian Journal of Plant Sciences, 8(8), 551-6.
21. Goncalves, R. and Santos, G., 2015. Phytogenics for better profitability and sustainability. Aquaculture Asia Pacific, pp. 34-36.

22. Hajibeglou, A., Sudagar, M., 2010. Immune response of common carp (*Cyprinus carpio*) fed with herbal immunostimulants diets. Journal of Animal and Veterinary Advances, 9(13), 1839-1847.
23. Hao, L., Chen, L., 2012. Oxidative stress responses in different organs of carp (*Cyprinus carpio*) with exposure to ZnO nanoparticles. Ecotoxicology and Environmental Safety, 80, 103-110.
24. Hennia, A., Nemmiche, S., Dandlen, S., Miguel, M.G., 2019. *Myrtus communis* essential oils: insecticidal, antioxidant and antimicrobial activities: A review. Journal of Essential Oil Research, 31(6), 487-545.
25. Hennia, A., Miguel, M.G., Nemmiche, S., 2018. Antioxidant activity of *Myrtus communis* L. and *Myrtus nivellei* Batt. and Trab. extracts: A brief review. Medicines (Basel), 5(3), 89.
26. Khaleghi, M., 1996. Study of ten plant essential oil effect on Methycillin- resistant *Staphyloccocus aureus* isolated from health vector and clinical samples. MSc Thesis University of Science Medical of Kerman.
27. Koroluk, M., Ivanova, L., Maiorova, I., 1988. The method of definition of the activeness of catalase, Laboratorial work, 1, 16-19.
28. Lillehoj, H., Liu, Y., Calsamiglia, S., Fernandez-Miyakawa, ME., Chi, F., Cravens, RL., Oh, S., Gay, C.G., 2018. Phytochemicals as antibiotic alternatives to promote growth and enhance host health. Veterinary Research, 49(1), 76.
29. Lin, L., Yang, Y.J., Yang, S.S., Leu, M.L., 1997. Aluminum utensile contribute to aluminum accumulation in patients with renal disease. American Journal of Kidney Diseases, 30(5), 653-658.
30. Lohner, T.W., Reash, R.J., Williams, M., 2001. Assessment of tolerant sunfish populations (*Lepomis* sp.) inhabiting seleniumladen coal ash effluents: 2. Tissue biochemistry evaluation," Ecotoxicology and Environmental Safety, 50(3), 217-224.
31. Mansouri Taee, H., Hajimoradloo, A., Hoseinifar, S.H., Ahmadvand, H., 2017. The effects of dietary Myrtle (*Myrtus communis* L.) supplementations on growth performance and some innate immune responses in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). International Journal of Aquatic Biology, 5(4), 252- 259.
32. Menanteau-Ledouble, S., Krauss, I., Santos, G., Fibi, S., Weber, B., El-Matbouli, M., 2015. Effect of a phytogenic feed additive on the susceptibility of *Onchorhynchus mykiss* to *Aeromonas salmonicida*. Diseases of Aquatic Organisms, 115(1), 57-66.
33. Messaoud, C., Zaouali, Y., Ben Saleh, A., Khoudja, M.L. Boussaid, M., 2005. *Myrtus communis* in Tunisia variability of the essential oil composition in natural population. Flavour and Fragrance Journal, 20, 577-582.
34. Mir Azadi, Z., Var, B., Meshaktosadat, M.H. Karamian, R., 2012. Site quality and essential oil composition of *Myrtus Communis* L. (case study: Cham moord site in Lorestan province). Agricultural Biotechnology Journal, 3(2), 71-80.
35. Mohiti-Asli, M., Ghanaatparast-Rashti, M., 2018. Comparing the effects of a combined phytogenic feed additive with an individual essential oil of oregano on intestinal morphology and microflora in broilers, Journal of Applied Animal Research, 46(1), 184-189.
36. Moss, D., Henderson, A., 1999. Clinical enzymology in: Burtis, C.A., Ashwood, F.R. editors, Tietz textbook of clinical chemisry. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders Company, 721 pp.
37. Mozaffarian, V.A., 1996. Dictinary of Iranian plant names. Farhang moaser, Tehran, Iran, 547 pp.
38. Naseian, R., 1997. Study of phytochemical and antimicrobial activity extracts and essential oils of *Myrtus communis* L. PhD Thesis University of Science Medical of Shiraz.
39. Nasiri, E., Hesari, J., Shekarforoush, S., Kooshesh, S., 2016. Effect of aqueous extract of myrtle leaves (*Myrtus communis*) on quality changes of farmed gutted rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during chilled (4 ±1°C) storage. Iranian Journal of Fisheries Sciences, 25 (3), 1-14.

40. Omid baigi, R., 2005. Production and Processing of medicinal plants. Tehran University, Iran, 283 pp.
41. Otatake, M., Kiryu, I., Nakanishi, T., 2002. Development of vaccine delivery method for fish: *Parcutaneous* administration by immersion with application of multiple puncture instruments. Journal of Vaccine, 1, 3764-3769.
42. Peterson, B.C., Bosworth, B.G., Li, M.H., Beltran, R., Santos, G.A., 2014. Assessment of a phytogenic feed additive (Digestarom PEP MGE) on growth performance, processing yield, fillet composition, and survival of channel catfish. Journal of the World Aquaculture society, 45(2), 206-212.
43. Remyla, S.R., Ramesh, M., Sajwan, K.S., Kumar, K.S., 2008. Influence of zinc on cadmium induced haematological and biochemical responses in a freshwater teleost fish *Catla catla*. Fish physiology and biochemistry, 34(2), 169.
44. Salimi Beni, A., Kocheki Shahmokhtar, M., Masoumiasl, A., Khajehsharifi, H., 2017. Phytochemical and biological studies of some Myrtus (*Myrtus communis* L.) populations of South West Region of Zagros (Iran). Natural Products Chemistry and Research, 5(7), 290.
45. Sutili, F.J., Gatlin, III D.M., Heinzmann, B.M., Baldisserotto, B., 2018. Plant essential oils as fish diet additives: benefits on fish health and stability in feed. Reviews in Aquaculture, 10(3), 716-72.
46. Twaij, H.A., Ali, H.M., Al-Zohyri, A.M., 1988. Phytochemical and antimicrobial studies of *Myrtus communis.* Research Journal of Biological Sciences, 19, 29-39.
47. Zargari, A., 1997. Medicinal plant. Tehran, Iran, 130 pp. (In Persian).
48. Zargari, A., 1989. Plant Medical. University of Tehran Press. pp. 645-647.
49. Saiedi, S., Bokaiean, M., Khaleghi, M., 2014. Assessment of antimicrobial activity of *Myrtus communis* extract against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Journal of Applied Biology, 26(2), 37-46.
50. Suphoronski, S.A., Chideroli, R.T., Facimoto, C.T., Mainardi, R.M., Souza, F.P., Lopera-Barrero, N.M., Jesus, G.F. A., Martins, M.L., Di Santis, G.W., de Oliveira, A., Gonçalves, G.S., Dari, R., Frouel, S., Pereira, U.P., 2019. Effects of a phytogenic, alone and associated with potassium diformate, on tilapia growth, immunity, gut microbiome and resistance against francisellosis. Scientific Reports, 9, 6045.
51. Sutili, F.J., Gatlin III, D.M., Heinzmann, B.M. Baldisserotto, B., 2018. Plant essential oils as fish diet additives: benefits on fish health and stability in feed. Reviews in Aquaculture, 10(3), 716-726.

عملکرد رشد و تغذیه آلوین قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در تغذیه با جیره دارای پودر دافنی (*Daphnia magna*) تخمیر شده با باسیلوس-های پروبیوتیکی

پریسا مرادی [۱*]، حجت ا... جعفریان [۱]، مهدی سلطانی [۲]، حسنا قلی‌پور کنعانی [۱]، جواد سهندی [۳]

۱-گروه شیلات، دانشکده علوم کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران

۲-گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

۳-دانشکده علوم زیستی اقیانوسی، دانشگاه اقیانوسی چین، چینگدائو، چین

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۴/۲۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۸/۸

چکیده

این مطالعه به منظور ارزیابی سطوح مختلف پودر تخمیر شده دافنی (*Daphnia magna*) به عنوان منبع تامین بخشی از پروتئین جیره بر نرخ رشد، تغذیه و کارایی ترکیبات غذایی جیره در آلوین‌های قزل‌آلای رنگین‌کمان به مدت ۸ هفته انجام شد. تعداد ۷۰۰ قطعه آلوین قزل‌آلای رنگین‌کمان با میانگین وزنی ۰/۱۹ ± ۰/۵۸ گرم (انحراف معیار ± میانگین) پس از سازگاری با محیط مطالعه در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با پنج تیمار که هر یک دارای سه تکرار بود در شرایط کاملاً یکسان مورد تغذیه قرار گرفتند. چهار جیره آزمایشی با پروتئین یکسان (۵۲/۷۰٪ پروتئین خام) به شکل دو جیره حاوی پودر دافنی تخمیر شده و دو جیره حاوی پودر دافنی خام (تخمیر نشده) درسطوح ۲۰ و ۳۰٪ تهیه گردید. جیره‌ای نیز بدون افزودن پودر دافنی تحت عنوان جیره شاهد با درصد یکسان پروتئین در نظر گرفته شد. پنج گونه باسیلوس تجاری شامل: *Bacillus subtilis*، *B. licheniformis*، *B. polymyxa*، *B. circulans* و *B. laterosporus* جهت تخمیر پودر دافنی استفاده شد. نتایج بدست آمده نشان دهنده تاثیر معنی‌دار پودر دافنی تخمیر شده بر افزایش نرخ رشد و افزایش نسبت کارایی ترکیبات مغذی جیره در مقایسه با پودر دافنی خام در سطوح مشابه و همچنین تیمار شاهد بود ($P<0/05$). همچنین تیمارهای تغذیه شده با سطوح مختلف از پودر دافنی تخمیر شده دارای ضریب تبدیل غذایی کمتری نسبت به تیمارهای آزمایشی دیگر و تیمار شاهد بودند ($P<0/05$). استفاده از باسیلوس‌های پروبیوتیکی که قابلیت ترشح آنزیم‌های خارج سلولی را دارند و از طریق تولید اسپور قابل افزایش هستند، ضمن تخمیر پودر دافنی قابلیت تلقیح در دستگاه گوارش آلوین‌ها را خواهند داشت. این امر ضمن بهبود ترکیبات غذایی پودر دافنی موجب افزایش فلور باکتریایی دستگاه گوارش آلوین‌ها و در نهایت رشد آن‌ها خواهد شد.

کلمات کلیدی: باسیلوس، تخمیر، آلوین، رشد، تغذیه، قزل‌آلای رنگین‌کمان، دافنی.

* عهده‌دار مکاتبات (✉). moradi.p13680@gmail.com

مقدمه

تولید آبزیان از سال ۲۰۰۴ تا ۲۰۱۰ تقریباً ۲۰ درصد افزایش داشته است که در این مدت منبع تامین پروتئین خوراک مصرفی تولید شده، پودر ماهی بوده است. همسو با این افزایش پرورش دهندگان اقدام به استفاده از ماهیان کم ارزش به عنوان منبع پروتئینی خوراک ماهیان پرورشی خود نمودند. در این بین تولید پودر ماهی در آسیا با سرعت کمی همراه بود تا جایی که موجب واردات این محصول جهت تولید خوراک آبزیان گردید (De Silva and Turchini, 2009). با روند افزایشی استفاده از پودر ماهی، مطالعاتی به منظور یافتن جایگزین مناسب به عنوان منبع تامین کننده پروتئین خوراک آبزیان آغاز گردید که از آن جمله می‌توان به استفاده از آرد تخمیر شده برگ باقلا سیاه (Ramachandran and Ray, 2007)، آرد گیاه لوسیانا (Bairagi *et al*., 2004)، پودر گاماروس (عظیمی و همکاران، ۱۳۹۰) و آرد دانه کنجد (Mukhopadhyay and Ray, 1999) اشاره نمود. با این حال پودر ماهی به دلیل تعادل آمینواسیدها، مقدار ویتامین و خوش خوراکی از ارزش بالایی برخوردار است (Tacon, 1993). لذا توجه به برخی موارد خاص همچون میزان انرژی، پروتئین و چربی از ضروریات تولید خوراک است. برای مثال تامین انرژی مورد نیاز ماهی بسیار مهم است چراکه خوردن بیش از اندازه خوراک ممکن است پروتئین مصرفی را محدود کرده و رشد را کاهش دهد (NRC, 1993). استفاده از منابع پروتئینی جانوری به علت خوش خوراکی برای گونه قزل‌آلای رنگین‌کمان بیشتر مد نظر قرار دارد، لذا تاکنون موارد مختلفی به عنوان منابع پروتئینی جانوری همچون پودر کرم خاکی (Tacon, 1985) و پودر آلوین حشرات (Sogbesan *et al*., 2005) مورد بررسی قرار گرفته است.

در این بین آنتن منشعب‌ها به عنوان شاخه‌ای از سخت-پوستان آبزی نیز می‌توانند به عنوان یکی از این منابع جانوری مورد بررسی قرار گیرند. تولید انبوه و ارزان قیمت گونه‌های متعلق به جنس دافنی در صنعت آبزی-پروری حائز اهمیت است. پودر این آبزی می‌تواند به عنوان منبع پروتئین جانوری مورد توجه قرار گیرد. انواع گونه‌های متعلق به این جنس در سرتاسر جهان وجود دارند. یکی از خصوصیات عمده دافنی‌ها این است که بخش اصلی بدن بوسیله یک اسکلت خارجی حفاظت می‌شود که تحت عنوان کاراپاس شناخته می‌شود و از جنس کیتین است که نوعی فاکتور ضد تغذیه‌ای محسوب می‌شود .اساس مطالعه Krogdahl و همکاران (۲۰۰۵) ترکیبات کیتینی دارای تاثیر منفی بر قابلیت هضم و جذب ماکرونوترینت‌های جیره می‌شود. وجود ترکیبات ضد تغذیه‌ای در منابع جایگزین باعث محدودیت استفاده از آن‌ها در جیره آبزیان می‌شود. به همین منظور توجه محققان به کاهش ترکیبات ضد تغذیه‌ای و امکان استفاده از این منابع در جیره ماهی به صورت نامحدود بوده است که طی این بررسی‌ها فرآیند تخمیر به عنوان عامل کاهش دهنده ترکیبات ضدتغذیه-ای و افزاینده قابلیت هضم و کارایی غذایی پیشنهاد گردید (Ramachandran and Ray, 2007). تخمیر یکی از تکنولوژی‌های قدیمی مورد استفاده برای نگهداری مواد غذایی است. طی قرون گذشته این روش استنتاج شده و اصلاح گردیده است. امروزه تنوع بسیاری از مواد غذایی از این تکنولوژی است که در مقیاس کوچک، خانواده‌ها، صنایع غذایی و سرمایه‌گذاری بزرگ تجاری مورد استفاده قرار می‌گیرد. فرآیند تخمیر

تحت تاثیر فعالیت قارچی و یا باکتریایی صورت می-گیرد. یافته‌های محققان در استفاده از میکروارگانیسم‌ها در فرآیند تخمیر نشان می‌دهد استفاده از میکروارگانیسم‌های موثر و مفید در فرآیند تخمیر اثر گذار است (Ghosh *et al*., 2004؛ Ramachandran and Ray, 2007). باسیلوس‌ها از جمله ارگانیسم‌های مفید هستند که قابلیت تولید آنزیم‌های خارج سلولی را دارند و می توانند در فرآیند تخمیر به کار گرفته شوند (Bairagi *et al*., 2004). در سال‌های اخیر تولید ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در سطح دنیا به شدت در حال افزایش می‌باشد. لذا دستیابی به خوراک با کیفیت و ارزان قیمت می‌تواند موجب کاهش هزینه‌های تولید این ماهی و در نتیجه قیمت نهایی ماهی گردد. بر همین اساس این مطالعه با هدف مطالعه ارزیابی تاثیر پودر دافنی تخمیر شده و خام با استفاده از پنج گونه باسیلوس پروبیوتیکی وتاثیر آن بر نرخ رشد، تغذیه و نسبت کارایی ترکیبات غذایی در آلوین‌های قزل‌آلای رنگین‌کمان انجام شد.

مواد و روش ها

محل و طرح آزمایش

این مطالعه در اسفند ماه ۱۳۹۱ در آزمایشگاه آبزی-پروری دانشگاه گنبد کاووس طراحی و طی مدت ۸ هفته اجرا گردید. در این مطالعه تعداد ۷۰۰ قطعه آلوین قزل-آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)، با وزن متوسط ۰/۱۹ g ± ۰/۵۳از کارگاه گل‌چشمه منطقه گزنک شهرستان آمل (مازندران- ایران) تهیه گردید. آلوین‌ها پس از تهیه و انتقال به آزمایشگاه در حوضچه‌ای ۲۰۰۰ لیتری دارای گردش آب و هوادهی مستمر به مدت ۱۴ روز جهت سازگاری نگهداری شدند. تعداد ۲۰ مخزن پلاستیکی با حجم آبگیری ۱۵ لیتر، هوادهی ثابت، جریان آب با دبی ۲ لیتر در دقیقه و شرایط نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی در سالن آزمایشگاه جایابی شدند. جهت کنترل معیارهای کیفی آب مخازن پرورش لوله‌ای جهت ورود آب و لوله‌ای جهت خروج آب مازاد جهت گردش مستمر آب برای هر مخزن در نظر گرفته شد. مجموعاً آلوین‌ها پس از گذشت دوره سازگاری در ۴ تیمار آزمایشی و ۱ تیمار شاهد با تراکم ۲ آلوین در هر لیتر تقسیم شدند که مجموعاً تعداد ۳۰ آلوین در هر حوضچه ذخیره‌سازی شد. آلوین‌ها روزانه ۴ بار در ساعت‌های ۰۰: ۸، ۰۰: ۱۲، ۰۰: ۱۶ و ۰۰: ۲۰ مورد غذادهی قرار گرفتند. غذادهی در طول دوره مطالعه بر حسب ۷-۴ درصد وزن صورت گرفت (محمدی آذرم و همکاران، ۱۳۸۳).

پروبیوتیک مورد استفاده

گونه‌های پروبیوتیکی استفاده شده جهت تخمیر پودر دافنی شامل پنج گونه باسیلوس پروبیوتیکی تجاری پروتکسین بود (لندن، انگلستان) که شامل: *Bacillus subtilis*، *B. licheniformis*، *B. polymyxa*، *B. circulans* و *B. laterosporus* بودند. باکتری‌ها در پلیت‌های تریپتیک سوی آگار (TSA) در دمای ۳۷°C به مدت ۲۴ ساعت مورد کشت قرارگرفتند. پس از کشت باکتریایی غلظت 10^8 CFU/g با استفاده از روش کدورت سنجی (Optical density) با دستگاه اسپکتوفتومتر Biochrom مدل Libera-S22 تهیه گردید. در این روش پس از برداشت توده باکتریایی با استفاده از آنس استریل از سطح محیط کشت و ترکیب آن با سرم فیزیولوژی استریل (۰/۹ وزنی/حجمی NaCl) با استفاده از دستگاه شیکر سوسپانسیون همگنی

تهیه و سپس کدورت آن علیه محلول مک‌فارلند با طول موج ۶۲۵ نانومتر در دستگاه اسپکتوفتومتر قرائت گردید (Gomez-Gil *et al*., 1998).

تخمیر پودر دافنی وتهیه جیره غذایی

دافنی مورد استفاده در این مطالعه گونه *Daphnia magna* بود که از کارگاه تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید مرجانی (آق‌قلا- گلستان) تهیه شد. دافنی‌ها پس از آبگیری اولیه با استفاده از صافی پارچه‌ای جهت خشک کردن در دمای ۶۰°C به مدت ۲۰ ساعت در آون الکتریکی قرار داده‌شد (Edmondson and Winberg, 1971) و پس از آن با استفاده از آسیاب الکتریکی تفال مدل VBL-999A1 (پاریس-فرانسه) به صورت پودر درآمده و با استفاده از الک یکنواخت شد. پودر تهیه شده توزین و پس از ترکیب با محلول پایه شامل ترکیبات (KH_2PO_4, 4; Na_2HPO_4, 4; $MgSo_4.7H_2O$, 0.2; CaCl2, 0.0001$FeSO_4.7H_2O$, 0.004) گرم در لیتر) به میزان ۵۰٪ وزنی/حجمی جهت آماده‌سازی برای فرآیند تخمیر مخلوط گردید و سپس در اتوکلاو با دمای ۱۲۱ درجه سانتیگراد تحت فشار یک اتمسفر به مدت ۱۵ دقیقه استریل شد. پس از اتوکلاو نمودن، سوسپانسیون باکتریایی شامل پنج گونه باسیلوس مذکور با غلظت 10^8 CFU/g به آن افزوده و جهت تخمیر دردمای ۳۷°C به مدت ۱۵ روز درون انکوباتور قرار داده شد (Ramachandran and Ray, 2007). جیره‌ای نیز بدون افزودن پودر دافنی به عنوان شاهد در نظر گرفته شد و فرآینده فوق در مورد آن جیره به صورت مشابه انجام گرفت. در تهیه جیره غذایی تیمارها سعی شد تا جیره غذایی دارای پروتئین یکسان باشد به طوری که پنج جیره غذایی دارای ترکیبات تقریبی یکسان (۵۲/۷۰ درصد پروتئین؛ ۸/۵۲ درصد چربی؛ ۴۶۵۳/۶۱ کالری بر گرم انرژی؛ ۹۳/۱۳ درصد ماده خشک) با استفاده از پودر دافنی به صورت خام و تخمیر شده در سطوح ۲۰ و ۳۰ درصد تهیه شد. ترتیب تیمارهای آزمایشی و درصد جایگزینی آرد دافنی در جیره لاروهای قزل‌آلای رنگین‌کمان در این مطالعه شامل شاهد: جیره پایه بدون افزودن آرد دافنی، T۱: جیره دارای ۲۰ درصد دافنی تخمیر شده، T۲: جیره دارای ۳۰ درصد دافنی تخمیرشده، T۳: جیره دارای ۲۰ درصد دافنی خام، T۴: جیره دارای ۳۰ درصد دافنی خام بود. برای این منظور جیره تجاری ۲۱ بیضاء (فارس- ایران) ابتدا آسیاب شده و میزان لازم از پودر دافنی و آرد جیره تجاری با استفاده از روش مربع پیرسون محاسبه و مخلوط گردید و مجدد به شکل پلت درآمد. برای کاهش هرگونه عامل بیرونی فرایند مذکور در مورد تیمار شاهد بدون افزودن پودر دافنی صورت گرفت. آنالیز ترکیبات مغذی دافنی و جیره غذایی پیش از تهیه جیره‌های آزمایشی ارزیابی شد (جدول ۱).

جدول ۱: نتایج آنالیز تقریبی جیره مصرفی و پودر دافنی ماگنا مصرفی در این مطالعه

نوع ماده	درصد پروتئین	درصد چربی	درصد خاکستر	درصد رطوبت
جیره مصرفی	۵۰	۱۷	۹/۷۰	۱۰<
پودر دافنی ماگنا	۳۶/۶۸	۲۸/۹۹	۲۸/۱۵	۹۵/۰۱

اندازه‌گیری پارامترهای رشد و تغذیه

در انتهای دوره آزمایش تعداد کل آلوین‌های هر حوضچه صید و پس از بیهوش شدن با پودر گل میخک به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر، طول و وزن آن‌ها با تخته زیست‌سنجی با دقت ۱ میلی‌متر و ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ گرم اندازه‌گیری شد. سپس بر اساس داده‌های بدست آمده و بر طبق فرمول‌های موجود، برخی از شاخص‌های رشد و تغذیه به شرح ذیل تعیین گردید:

(Helland *et al*., 1996) ۱۰۰ × [مدت مطالعه / (وزن اولیه ln– وزن نهایی ln)] = (درصد در روز) نرخ رشد ویژه

(جعفریان، ۱۳۸۵) ۱۰۰ × [[(مدت مطالعه × افزایش وزن) × ۰/۵] / غذای خورده شده] = (٪) غذای نسبی خورده شده

(Helland *et al*., 1996)(افزایش وزن / غذای خورده شده) = ضریب تبدیل غذایی

(جعفریان، ۱۳۸۵) پروتئین خام خورده شده / افزایش وزن = نسبت کارایی پروتئین

(جعفریان، ۱۳۸۵) انرژی خام دریافت شده / افزایش وزن = نسبت کارایی چربی

(Helland *et al*., 1996) ۱۰۰ × [(مدت مطالعه) / (پروتئین اولیه لاشه × وزن اولیه) – (پروتئین نهایی لاشه × وزن نهایی)] = پروتئین ابقاء شده

(Helland et al., 1996) ۱۰۰ × [(مدت مطالعه) / (چربی اولیه لاشه × وزن اولیه) – (چربی نهایی لاشه × وزن نهایی)] = چربی ابقاء شده

روش آماری مورد استفاده

این مطالعه بر اساس طرح کاملاً تصادفی طراحی و اجرا شد که طی آن ۴ تیمار آزمایشی و ۱ تیمار شاهد هر یک با ۳ تکرار برای هر تیمار در نظر گرفته شد. داده‌ها پس از بررسی نرمال بودن با استفاده از آزمون شاپیرو–ویلک جهت تعیین معنی‌دار بودن اختلاف بین تیمارهای مختلف با استفاده از آزمون واریانس یک طرفه بر اساس آزمون دانکن در سطح ۰/۰۵ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت (نرم افزار SPSS ورژن ۱۹).

نتایج

معیارهای کیفی آب شامل دما (۱/۳۳°C ± ۱۷/۶۶)، pH (۰/۰۸ ± ۷/۶۳)، هدایت الکتریکی (۴۵۰/۰۳µmhos/cm ± ۶۲/ ۳۰۱۲)، شوری (۰/۱۳mg/L ± ۲/۰۱)، قلیائیت (۲۴۰mmol/L) و سختی کل (۳۹۱/۶mg/L)، بود که در طول مدت آزمایش بین تیمارهای مختلف یکسان بود. بر اساس معیارهای رشد اندازه‌گیری شده در جدول ۲ نتایج نشان داد که استفاده از پودر دافنی‌تخمیر شده در جیره غذایی آلوین‌های قزل‌آلای رنگین‌کمان تاثیر معنی‌داری بر رشد، ضریب تبدیل غذایی و کارایی ترکیبات مغذی آلوین‌ها داشته است به طوری که بیشترین میزان رشد وزنی مربوط به تیمار T۲ (۶/۰۵ ± ۲۰/۶۹ گرم) و T۱ (۴/۹۷ ± ۲۰/۶۶ گرم) می‌باشد که به ترتیب با ۳۰ و ۲۰ درصد از پودر دافنی ماگنای تخمیر شده فرآیند جایگزینی صورت گرفته شد ($P<0/05$). استفاده از پودر دافنی خام نیز در تیمارهای T۳ و T۴ موجب افزایش رشد معنی‌دار نسبت به تیمار شاهد گردید ($P<0/05$) هرچند بین دو تیمار دریافت کننده سطوح مختلف پودر دافنی خام اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد.

جدول ۲: شاخص‌های رشد آلوین‌های قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با جیره حاوی پودر دافنی تخمیر شده و خام (SD± میانگین).

معیارهای رشد	تیمارهای آزمایشی				
	شاهد	T۱	T۲	T۳	T۴
وزن اولیه (گرم)	۰/۵۸ ± ۰/۱۹	۰/۵۸ ± ۰/۱۹	۰/۵۸ ± ۰/۱۹	۰/۵۸ ± ۰/۱۹	۰/۵۸ ± ۰/۱۹
وزن نهایی (گرم)	۱۴/۵۰ ± ۳/۶۹^{c}	۲۰/۶۶ ± ۴/۹۷^{a}	۲۰/۶۹ ± ۶/۰۵^{a}	۱۹ ± ۴/۳۹^{b}	۱۸/۴۹ ± ۴/۲۴^{b}
نرخ رشد ویژه (درصد)	۵/۳۵ ± ۰/۹۴^{d}	۵/۹۸ ± ۰/۴۳^{a}	۵/۹۶ ± ۰/۵۲^{ab}	۵/۸۴ ± ۰/۴۱^{bc}	۵/۸۰ ± ۰/۴۰^{c}
کارایی تبدیل رشد (درصد)	۹۴/۲۸ ± ۳۱/۸۲^{c}	۱۵۰/۵۸ ± ۴۷/۱۰^{a}	۱۵۱/۳۸ ± ۵۷/۸۹^{a}	۱۳۴/۸۳ ± ۴۰/۸۱^{b}	۱۳۰/۰۶ ± ۳۹/۶۳^{b}
غذای نسبی خورده شده (درصد)	۶/۲۸ ± ۲/۳۲^{a}	۴/۲۵ ± ۱/۱۸^{c}	۴/۳۸ ± ۱/۵۴^{bc}	۴/۶۲ ± ۱/۲۵^{bc}	۷/۴۲ ± ۱/۴۳^{b}
ضریب تبدیل غذایی	۱/۸۷ ± ۰/۶۹^{a}	۱/۲۷ ± ۰/۳۵^{c}	۱/۳۱ ± ۰/۴۶^{bc}	۱/۳۸ ± ۰/۳۷^{bc}	۱/۴۱ ± ۰/۴۲^{b}

حروف غیر مشابه در هر ردیف نشانه اختلاف معنی‌دار در سطح (P<۰/۰۵) است.

میانگین وزن نهایی ماهی در تمامی تیمارهای آزمایشی به طور معنی‌داری نسبت به وزن اولیه افزایش پیدا کرد. آلوین‌های قزل‌آلای تغذیه شده با جیره حاوی ۲۰ و ۳۰ درصد پودر تخمیر شده دافنی، به ترتیب بیشترین افزایش وزن را داشتند که از نظر آماری اختلاف معنی‌داری بین این دو تیمار مشاهده نشد (P>۰/۰۵). با این حال اختلاف بین دو تیمار در نرخ رشد ویژه معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). ضریب تبدیل غذایی در تیمارهای آزمایشی از ۱/۸۷ در تیمار شاهد به ۱/۲۷ در تیمار T۱ تغذیه شده با ۲۰ درصد پودر دافنی تخمیر شده کاهش داشت (P<۰/۰۵). به علاوه کارایی تبدیل رشد نشان داد تیمارهای تغذیه شده با سطوح ۲۰ و ۳۰ درصد از پودر دافنی تخمیر شده و خام بیشترین کارایی تبدیل رشد را داشته‌اند (P<۰/۰۵). اختلاف بین تیمارهای آزمایشی در نسبت کارایی پروتئین، چربی و انرژی در تیمارهای T۱ و T۲ بیشترین مقدار در مقایسه با سایر تیمارها مشاهده شد (P<۰/۰۵). (جدول ۳).

جدول ۳: شاخص‌های تغذیه‌ای در آلوین قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با جیره حاوی پودر دافنی تخمیر شده و خام (SD± میانگین).

معیارهای تغذیه‌ای	تیمارها				
	شاهد	T۱	T۲	T۳	T۴
		مکمل سازی شده با ۲۰٪ پودر دافنی تخمیر شده	مکمل سازی شده با ۳۰٪ پودر دافنی تخمیر شده	مکمل سازی شده با ۲۰٪ پودر دافنی خام	مکمل سازی شده با ۳۰٪ پودر دافنی خام
نسبت کارایی پروتئین (گرم)	۱/۳۲ ± ۰/۳۳^{c}	۱/۸۹ ± ۰/۴۵^{a}	۱/۸۹ ± ۰/۵۵^{a}	۱/۷۴ ± ۰/۴۰^{b}	۱/۹۶ ± ۰/۳۸^{b}
نسبت کارایی چربی (گرم)	۴/۷۹ ± ۱/۲۲^{c}	۶/۸۳ ± ۱/۶۴^{a}	۶/۸۴ ± ۲^{a}	۶/۲۸ ± ۱/۴۵^{b}	۶/۱۱ ± ۱/۴۰^{b}
نسبت کارایی انرژی (کیلو کالری/گرم)	۰/۱۴ ± ۰/۰۳^{c}	۰/۲۰ ± ۰/۰۴^{a}	۰/۲۰ ± ۰/۰۵^{a}	۰/۱۸ ± ۰/۰۴^{b}	۰/۱۷ ± ۰/۰۴^{b}
میزان بهره‌برداری از پروتئین (گرم)	۱/۳۷ ± ۰/۳۶^{c}	۲/۰۱ ± ۰/۵۰^{a}	۲/۰۹ ± ۰/۶۳^{a}	۱/۸۸ ± ۰/۴۵^{b}	۱/۸۰ ± ۰/۴۲^{b}
میزان بهره‌برداری از چربی (گرم)	۳۸/۳۴ ± ۹/۷۸^{c}	۶۸/۳۴ ± ۱۶/۴۴^{a}	۶۱/۵۵ ± ۱۸/۰۲^{b}	۶۲/۸۲ ± ۱۴/۵۴^{b}	۶۷/۲۵ ± ۱۵/۴۴^{a}

حروف غیر مشابه در هر ردیف نشانه اختلاف معنی‌دار در سطح (P<۰/۰۵) است.

بحث

افزایش تولید آبزیان مختلف از جمله ماهیان و نیاز به تولید خوراک، توجه به منابع پروتئینی جایگزین با پودر ماهی را مورد توجه قرار داده است. یکی از منابع پیشنهادی که مورد مطالعه قرار گرفته است، شامل جانوران کوچک آبزی است که از آن جمله می‌توان به استفاده از دافنی در مطالعه جعفریان و همکاران (۱۳۸۸)، Adineh و همکاران (۲۰۱۳) و همچنین استفاده از پودر گاماروس در مطالعه عظیمی و همکاران (۱۳۹۰) اشاره نمود. همچنین می‌توان به مطالعه Moren و همکاران (۲۰۰۶) در استفاده از ناجورپایان در جیره غذایی آزاد ماهی اقیانوس اطلس (*Salmo salar*) اشاره نمود. علی‌رغم پیشنهاد استفاده از پودر انواع موجودات آبزی و غیرآبزی همچون گاماروس، دافنی، پودر ناجورپایان و حتی ترکیبات گیاهی همواره محدودیت‌هایی وجود داشته است که مهمترین آن‌ها وجود ترکیبات ضد تغذیه‌ای از جمله کیتین، فیتات و تانن در ساختار پیکره موجود یا ماده مورد استفاده بوده است که می‌تواند بر قابلیت هضم و جذب ترکیبات مغذی تاثیر منفی داشته باشد (عظیمی و همکاران، ۱۳۹۰ ;Krogdahl *et al.*, 2005). بررسی فرآیند تخمیر با هدف کاهش ترکیبات ضد تغذیه‌ای مستلزم مطالعات گسترده و خاص خود می‌باشد. با این حال بررسی تاثیر آن بر کارایی غذایی جیره تهیه شده با ترکیبات تخمیری می‌تواند عاملی جهت بررسی تاثیر آن باشد. مدیریت میکروبی در فرآیند تخمیر ازجمله موارد قابل توجهی است که در مطالعات تخمیری در حوزه آبزیان مد نظر بوده‌است. در واقع این به آن معنا است که استفاده از گونه‌های موثر میکروبی می‌تواند راندمان تخمیر را افزایش دهد. مطابق با این گفتار می‌توان به تخمیرگیاه نخود فرنگی، *Lathyrus sativus* با استفاده از باسیلوس‌های پروبیوتیکی اشاره نمود که به طور قابل ملاحظه‌ای درکاهش میزان فیبر خام، فاکتورهای ضد تغذیه‌ای، تانن‌ها، اسید فایتیک، نئوروتوکسین،β-ODAP تاثیر داشته است (Ramachandran, *et al.*, 2005). بهبود ترکیبات غذایی در جیره پس از تخمیر در مطالعه Mukhopadhayو Ray (۱۹۹۹) نیز مشاهده شد که طی آن پس از تخمیر آرد دانه کنجد ترکیبات مغذی آن دستخوش تغییر شد بطوریکه میزان چربی خام از ۵۶ گرم در کیلوگرم آرد دانه کنجد خام بعد از تخمیر به ۶۷ گرم در کیلوگرم رسید. در مطالعات مطرح شده تلاش محققان بر آن بوده است که از گونه‌های خاص باکتریایی که معمولاً مستخرج از دستگاه گوارش خود آبزی هدف است استفاده شود. در همین زمینه Bairagi و همکاران (۲۰۰۲) از فلور میکروبی دستگاه گوارش کپور ماهی روهو، *Labeo rohita* جهت تخمیر آرد برگ عدسک آبی، *Lemna polyrhiza* استفاده نمودند و سپس از جیره تهیه شده جهت تغذیه آلوین همان گونه استفاده نمودند. در برخی مطالعات نیز پودر جایگزین با پودر ماهی با باکتری‌های پروبیوتیکی ترکیب و استفاده شده است که از آن جمله می‌توان به مطالعه جعفریان و همکاران (۱۳۸۸) در استفاده از پودر دافنی مکمل‌سازی شده با باسیلوس‌های پروبیوتیکی، Bairagi و همکاران (۲۰۰۴) در استفاده از آرد گیاه *Leucaena leucocephala* به شکل ترکیب شده با دو گونه باسیلوس *Bacillus subtilis* و *Bacillus circulans* در تغذیه کپور ماهی روهو اشاره نمود. باسیلوس‌های پروبیوتیکی بر اساس مطالعه Bairagi و همکاران (۲۰۰۴)، Ghosh و همکاران (۲۰۰۲)، Kar و همکاران (۲۰۰۸) قادر به تولید آنزیم‌های خارج سلولی هستند و

این آنزیم‌ها موجب ارتقاء کارایی غذایی خواهند شد (جعفریان، ۱۳۸۵؛ قبادی و همکاران، ۱۳۹۳). بر همین اساس در مطالعه حاضر پنج گونه باسیلوس پروبیوتیکی جهت فرآیند تخمیر استفاده شد. نتایج بدست آمده نشان داد استفاده از پودر دافنی در هر دو حالت تخمیر شده و خام موجب افزایش معنی‌دار وزن نهایی و دیگر پارامترهای رشد در آلوین‌های قزل‌آلای رنگین‌کمان شد. تغذیه با پودر دافنی خام به ترتیب موجب افزایش وزن نهایی ۴/۳۹±۱۹ گرم و ۴/۲۴±۱۸/۴۹ گرم در مقایسه با تیمار شاهد (۳/۶۹±۱۴/۵۰ گرم) شد. معنادار بودن این اختلاف نشانگر پایین بودن ترکیبات ضد تغذیه‌ای در دافنی نسبت به گاماروس است که در مطالعه عظیمی و همکاران (۱۳۹۰) مورد بررسی قرار گرفت. با این حال وزن نهایی تیمارهای تغذیه شده با پودر تخمیر شده دافنی موجب افزایش وزن نهایی از ۳/۶۹ ± ۱۴/۵۰ گرم در تیمار شاهد به ۴/۹۷ ± ۲۰/۶۶ گرم در T۱ و نرخ رشد ویژه از ۰/۹۴ ± ۵/۳۵ در تیمار شاهد به ۰/۴۳۹ ±۵/۹۸۴ در تیمارT۱ شد. افزایش معنی‌دار تیمارهای تخمیری نسبت به خام و شاهد می‌تواند موید تاثیر تخمیر بر جیره دارای پودر دافنی باشد. در تایید این یافته در مطالعه‌ای Ghosh و همکاران (۲۰۰۴)، با تخمیر جیره غذایی ماهی روهو توسط آنزیم‌های خارج سلولی *Bacillus circulans* وزن نهایی را از ۳/۴۵ گرم در تیمار شاهد به ۱۴/۶۱ گرم در تیمار آزمایشی ارتقا بخشیدند. در تشریح علل این افزایش در تیمارهای تغذیه شده با جیره دارای پودر دافنی تخمیر شده با باسیلوس‌های پروبیوتیکی باید گفت تولید آنزیم‌ها خارج سلولی موجب ارتقاء ترکیبات غذایی و سهل الهضم شدن آن‌ها شده است (Ghosh *et al*., 2004؛ مدبری و همکاران، ۱۳۹۲؛ جعفریان، ۱۳۸۵). بهبود کارایی تغذیه‌ای جیره‌های حاوی پودر دافنی تخمیر شده به شکلی بود که نسبت کارایی پروتئین، چربی و انرژی در تیمارهای آزمایشی به شکل معنی‌داری بیشتر از تیمار شاهد بود (P<۰/۰۵). در بیان این افزایش باید گفت تولید آنزیم‌های خارج سلولی در طول فرآیند تخمیر توسط عوامل میکروبی موجب افزایش میزان آمینواسیدهای آزاد و کاهش فیبر می‌شود (Hui and Evranuz, 2012). با این شرایط ابقاء ترکیبات مغذی از جمله پروتئین افزایش می‌یابد که در این مطالعه میزان ابقاء پروتئین در تیمار تغذیه شده با ۳۰ درصد پودر دافنی تخمیر شده ۶/۸۶±۲۲/۷۶ درصد مشاهده شد در حالی نرخ ابقاء چربی در این تیمار (۰/۹۰±۳ درصد) بود. با این حساب می‌توان گفت بهره‌برداری از ترکیبات مغذی جیره در تیمارهای دارای پودر دافنی تخمیر شده بیشتر بوده است و هدایت چربی به تامین انرژی موجب ابقاء پروتئین گردیده است. احتمالاً همانطور که اشاره شد آنزیم‌های خارج سلولی ترشح شده توسط باسیلوس‌های پروبیوتیکی موجب شکست پیوندهای پیچیده زنجیره‌های پپتیدی شده و همچنین دسترسی اسیدهای چرب را تسهیل نموده است و این موضوع باعث افزایش نسبت کارایی چربی درآلوین‌های قزل‌آلای رنگین‌کمان شده است. در تیمارهای تغذیه شده با پودر دافنی تخمیر شده شاهد کاهش ضریب تبدیل غذایی و غذای نسبی خورده شده بودیم به گونه‌ای که کمترین ضریب تبدیل غذایی مربوط به تیمار T۱ (۰/۳۵۲ ± ۱/۲۷۳) و بیشترین میزان آن مربوط به تیمار شاهد (۰/۶۹۰ ± ۱/۸۷۶) بود. همچنین معیارهای رشد از جمله وزن نهایی بدست آمده، نرخ رشد ویژه افزایش معنی‌دار را در تیمارهای تغذیه شده با پودر دافنی تخمیر شده در مقایسه با تیمار تغذیه شده با

جیره حاوی پودر دافنی خام داشت. مطابق با این نتایج Sogbesanو Ugwumba (۲۰۰۶) با استفاده از پودر موریانه به عنوان منبع پروتئینی با نسبت‌های ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰٪ در جیره غذایی گربه ماهی، *Heterobranchus longifilis* شاهد افزایش رشد وزنی و کاهش ضریب تبدیل غذایی در تیمار آزمایشی در مقایسه با تیمار شاهد بودند. در خصوص بهبود ضریب تبدیل غذایی در تیمارهای تغذیه شده با پودر دافنی تخمیر شده و خام نسبت به تیمار شاهد نتایج مشابهی مجددا توسط Sogbesanو Ugwumba در سال ۲۰۰۷ گزارش شد. در خصوص تاثیر باسیلوس‌های پروبیوتیکی بر فرآیند تخمیر دارای باید اشاره کرد که باسیلوس‌ها دارای فعالیت‌های سلولولتیک و آمیلولتیک خارج سلولی هستندو استفاده از آن‌ها موجب فعالیت آنزیم‌های سلولاز، پروتئاز و لیپاز می‌شود (Bairagi *et al*., 2004). در تحقیقی Ray و Mukhopadhyay (۱۹۹۹) گزارش دادند استفاده از پودر کنجد تخمیر شده به عنوان یکی از منابع جایگزین پروتئین موجب کاهش ضریب تبدیل غذایی و افزایش رشد در بچه ماهیان انگشت قد روهو گردید. Ghosh و همکاران (۲۰۰۴) نیز از جیره تخمیر شده با *Bacillus circulans* جهت تغذیه لاروهای ماهی روهو استفاده نمودند که نتایج بدست آمده نشان داد استفاده از جیره تخمیر شده در دوره زمانی ۵ روز موجب افزایش معیارهای رشد در آلوینهای ماهی روهو شده است. طبق مطالعات Jones (۱۹۷۵) در طول مدت تخمیر تغییرات ترکیبات مواد مغذی همچون کاهش وحذف برخی مواد در اثر نور، فعالیت میکروبی، حرارت و اکسیژن امکان پذیر است. این در حالی است کاهش ترکیبات مغذی طی سنتز میکروبی بسیار ناچیز بوده و در عوض موجب افزایش نرخ کارایی آن‌ها می‌گردد (Wee, 1991). بهبود نرخ کارایی ترکیبات مغذی از جمله پروتئین، چربی و انرژی از جمله عوامل بهبود رشد در ماهیان خواهد بود و امکان افزایش رشد در خصوص ماهیان تغذیه شده با جیره‌های حاوی ترکیبات تخمیر شده دور از انتظار نخواهد بود. شاخص کارایی تبدیل رشد به عنوان یک شاخص فیزیولوژی و بیوانرژتیک ماهی تحت شرایط آزمایشگاهی به جای نرخ انرژی تعیین می‌گردد (De Silva and Anderson, 1995). میزان این معیار در این مطالعه نشان داد تیمارهای تغذیه شده با سطوح ۲۰ و ۳۰٪ از پودر دافنی تخمیر شده کارایی تبدیل رشد بالاتری را در مقایسه با تیمارهای دیگر داشت. همچنین نرخ کارایی تبدیل رشد در تیمارهای تغذیه شده با جیره حاوی پودر دافنی خام نیز نسبت به تیمار شاهد به طور معنی‌داری بالاتر بود. همسو با این نتایج جعفریان و همکاران (۱۳۸۸) از پودر دافنی ماگنا به همراه باسیلوس‌های پروبیوتیکی در جیره غذایی آلوین قزل‌آلای رنگین‌کمان استفاده کردند و شاهد افزایش این نرخ از ۸/۰۸ ± ۵۲/۹۹ ٪ در تیمار شاهد به ۱۸/۵۴ ± ۷۸/۸۷ ٪ در تیمار آزمایشی بودند. نتایج بدست آمده از این مطالعه نشان داد که استفاده از پودر دافنی ماگنا تخمیر شده با باسیلوس‌های پروبیوتیکی موجب افزایش شاخص‌های رشد و تغذیه در آلوینهای قزل‌آلای رنگین‌کمان شده است. البته استفاده از پودر دافنی خام (تخمیر نشده) نیز موجب ارتقاء پارامترهای رشد در مقایسه با تیمار شاهد گردیده است. در بررسی نتایج و تحلیل آن نیز باید گفت تیمار دریافت کننده ۳۰ درصد پودر دافنی تخمیر شده نسبت به تیمار ۲۰٪ مناسب تر عمل کرده و پیشنهاد می‌شود سطوح بالاتر نیز مورد مطالعه قرار گیرد.

سپاسگزاری

نگارندگان مراتب تقدیر و تشکر خود را از همکاری صمیمانه دکتر جواد بیات کوهسار مدیریت وقت آزمایشگاهای دانشگاه گنبد کاووس و همچنین از همکاران محترم ایشان آقایان مهندس جعفرزاده، مهندس حسینی و سرکار خانم مهندس سراوانی ابراز می‌دارند.

منابع

۱. جعفریان، ح.، ۱۳۸۵. تاثیر باکتری‌های باسیلوسی تحت عنوان پروبیوتیک بر رشد، بازماندگی و فعالیت آنزیم‌های گوارشی در لارو تاس ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) در طول دوره پرورش لاروی از طریق غنی‌سازی با آرتمیا اورمیانا (*Artemia urmiana*) ، رساله دکتری، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.

۲. جعفریان، ح.، طاعتی کلی، م.، نظرپور، ع.ر.، ۱۳۸۸. بررسی اثر باسیل‌های پروبیوتیکی بر رشد لارو ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (Oncorhynchus mykiss)، مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی، ۱۶(۳)، ۴۸-۵۹.

۳. عظیمی، ع.، حسینی، س.ع.، سوداگر، م.، اصلان پرویز، ح.، ۱۳۹۰. اثر جایگزینی پودر گاماروس با بخشی از پودر ماهی کیلکای دریای خزر بر عملکرد رشد، ضریب تبدیل غذایی و بقاء بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان. مجله علمی شیلات ایران، ۲۰(۳)، ۶۳-۷۴.

۴. قبادی، ش.، توکلی، ح.، مجازی امیری، ب.، ۱۳۹۳. اثر سطوح مختلف پروبیوتیک باکتوسل بر برخی شاخص‌های بازماندگی و ترکیبات بدن بچه ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)، نشریه توسعه آبزی‌پروری، ۸(۴)، ۷۷-۸۶.

۵. محمدی آذرم، ح.، عابدیان کناری، ع. و ابطحی، ب. ۱۳۸۳. تاثیر پروبیوتیک پروتکسین بر رشد و زنده مانی لارو ماهی قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*). مجله علوم دریایی ایران، ۳(۲و۳): ۷۵-۶۹.

۶. مدبری، ع.، آذری تاکامی، ق.، بهمنش، ش.، خارا، حسین.، ۱۳۹۲. تاثیر مقادیر مختلف زیست‌یار حیاتی باکتوسل (Bactocell) در جیره غذایی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) بر فاکتورهای رشد و فلور باکتریایی، نشریه توسعه آبزی‌پروی ۷(۴)، ۷۷-۸۷.

7. Adineh, H., Jafaryan, H., Sahandi, J., Alizadeh, M., 2013. Effect of *Bacillus spp*. Probiotic on growth and feeding performance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) larvae. Bulgarian Journal of Veterinary Medicine, 16(1), 29-36.
8. Bairagi, A., Sarkar-Ghosh, K., Sen, S.K., Ray, A.K., 2004. Evaluation of nutritive value of *Leucaena leucocephala* leaf meal inoculated with fish intestinal bacteria *Bacillus subtilis* and *Bacillus circulans* in formulated diets for rohu, *Labeo rohita* (Hamilton) fingerlings. Aquaculture Research, 35, 436–446.
9. De-Silva, S.S., Anderson, T.A., 1995. Fish Nutrition in Aquaculture, 2-6 Boundary Row: London, Chapman & Hall, 318.
10. De-Silva, S.S., Turchini, G.M., 2009. Use of wild fish and other aquatic organisms as feed in aquaculture – a review of practices and implications in the Asia-Pacific. In M.R. Hasan and M. Halwart (eds). Fish as feed inputs for aquaculture: practices, sustainability and implications. FAO Fisheries and Aquaculture Technical Papers, 518, 63–127.
11. Edmondson, W.T., Winberg, G.G., 1971. An annual on methods for the assessment of

secondary productivity in fresh waters. London, Blackwell; Oxford, 358.
12. Ghosh, K., Sen, S.K., Ray, A.K., 2004. Growth and survival of *rohu*, *Labeo rohita* (Hamilton, 1822) spawn feed diets fermented with intestine bacterium, *Bacillus circulans*. Acta Ichthyologica Piscatoria, 34(2), 155-165.
13. Gomez-Gil, B., Herrera-Vega, M. A., Aberu- Grobis, F.A., and Roque, A., 1998. Bioencapsulation of two different vibrio species in nauplii of the Brine shrimp (*Artemia fransiscana*). Applied Environmental microbiology, 64, 2318-2322.
14. Helland, S.J., Grisdale, H.B., Nerland, S., 1996. A simple method for the measurement of daily feed intake of groups of fish in tanks. Aquaculture, 139, 157-163.
15. Hui, Y.H., Ervanuz, E.O., 2012. Handbook of Plant-Based Fermented Food and Beverage Technology, Second Edition: Florida, CRC Press. 821.
16. Jones, I.D., 1975. Effects of processing by fermentation on nutrients. In Nutritional Evaluation of Food Processing. Ed R.S. Harris and E. Karmas, 2nd ed: Westport, Avi Pub., 324 p.
17. Kar, N., Ghosh, K., 2008. isolation and characterization of extracellular enzyme producing bacilli in the digestive tracts of Rohu, *Labeo rohita* (Hamilton) and Murrel, *Channa punctatus* (Bloch). Asian Fisheries Science, 21, 421-434.
18. Krogdahl, A., Hemre, G.I., Mommsen, T.P., 2005. Carbohydrates in fish nutrition: digestion and absorption in post larval stages. Aquaculture Nutrition, 11, 103–122
19. Moren, M., Suontama, J., Hemre, G.I., Karlsen, O., Olsen, R.E., Mundheim, H., Julshamn, K., 2006. Element concentrations in meals from krill and amphipods, possible alternative protein sources in complete diets for farmed fish. Aquaculture, 261,174–181.
20. Mukhopadhyay, M., Ray, A.K., 1999. Effect of fermentation on the nutritive value of sesame seed meal in the diets for rohu, *Labeo rohita* (Hamilton), fingerling. Aquaculture Nutrition, 5, 229-236.
21. NRC (National Research Council)., 1993. Nutrient requirements of fish. Washington DC, National Academy Press, 114.
22. Ramachandran, S., Bairagi, A., Ray, A.K., 2005. Improvement of nutritive value of grass pea (*Lathyrus sativus*) seed meal in the formulated diets for rohu, *Labeo rohita* (Hamilton) fingerlings after fermentation with a fish gut bacterium. Bioresource Technology, 96, 1465-1472.
23. Ramachandran, S., Ray, A.K., 2007. Nutritional evaluation of fermented black gram (*Phaseolus mungo*) seed meal in compound diets for rohu, *Labeo rohita* (Hamilton), fingerlings. Journal of Applied Ichthyology, 23, 74–79.
24. Sogbesan, A.O., Ugwumba, A.A.A., 2006. Nutritional evaluation of Termite (*Macrotermes subhaylinus*) meal as animal protein supplements in the diets of *Heterobranchus longifilis* (Valenciennes, 1840) fingerling, Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Science, 8, 149-157.
25. Sogbesan, O.A., Ajuonu, N.D., Ugwumba, A.A.A., Madu, C.T., 2005. Cost benefits of maggot meal as supplemented feed in the diets of *Heterobranchus longifilis* x *Clarias gariepinus* (Pisces-Clariidae) hybrid fingerlings in outdoor concrete tanks. Journal of Industrial and Scientific Research, 3(2), 51-55.
26. Tacon, A.G.J., Jackson, A.J., 1985. Protein sources in fish feeds. In: Cowey, C.B., Nackie, A.M., Bell, J.G., (eds.): Nutrition and Feeding in Fish. London, Academic Press, 120-145.
27. Tacon, A.G.J., 1993. Feed ingredients for warm water fish: fish meal and other processed feedstuffs. Rome, FAO Fisheries Circular, No: 856, 64.
28. Wee, K.L., 1991. Use of non-conventional feedstuff of plant origin as fish feeds is it practical and economically feasible? In: De-Silva, S.S., (ed.) Fish Nutrition Research in Asia. Asian Fisheries Society Special Publication, Vol. 5. Proceedings of the Fourth Asian Fish Nutrition Workshop. Asian Fisheries Society, Manila, Philippines, 13-32.