دانشگاه گنبد کاووس

دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی

گروه شیلات

پایان نامه جهت اخذ مدرک کارشناسی ارشد(M.Sc)

رشته شیلات گرایش تکثیر و پرورش آبزیان

اثر عصاره آنزیمی باسیلوس‌های پروبیوتیکی بر عملکرد رشد لارو قزل‌آلای رنگین کمان(*Oncorhynchus mykiss*)

نفیسه پریچه

استاد راهنما:

حجت الله جعفریان

اساتید مشاور:

محمد هرسیج

علی رضا احمدی

۱۳۹۲

بسم الله الرحمن الرحيم

دانشگاه گنبد کاووس

دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی

گروه شیلات

پایان نامه جهت اخذ مدرک کارشناسی ارشد(M.Sc)

رشته تکثیر و پرورش آبزیان

اثر عصاره آنزیمی باسیلوس های پروبیوتیکی بر عملکرد رشد لارو قزل آلای رنگین کمان(*Oncorhynchus mykiss*)

نفیسه پریچه

اساتید راهنما:

حجت الله جعفریان

اساتید مشاور:

محمد هرسیج

علی رضا احمدی

۱۳۹۲

تقدیم

ماحصل آموخته هایم را تقدیم می کنم به آنان که مهر آسمانی شان آرام بخش وجود زمینی ام است

به استوارترین تکیه گاهم، دستان پر مهر **پدرم**

به سبزترین نگاه زندگیم، چشمان سبز **مادرم**

که هرچه آموختم در مکتب عشق شما آموختم و هرچه بکوشم قطره ای از دریای بی کران مهربانیتان را سپاس نتوانم بگویم.

امروز هستی ام به امید شماست و فردا کلید باغ بهشتم رضای شما.

سپاس

سپاس و ستایش خدای را که آثار قدرت او بر چهره روز روشن، تابان است و انوار حکمت او در دل شب تار، درفشان. آفریدگاری که خویشتن را به ما شناساند و درهای علم را بر ما گشود و عمری و فرصتی عطا فرمود تا بدان، بنده ضعیف، خویش را در طریق علم و معرفت بیازماید.

گذراندن دوران خاطره انگیز تحصیل با حضور شیرین اساتید عزیزم، بار اهنماییها و دغدغه های فراوان شان و شیفتت های زیبای آن دوران، نگاههای استوار پدر و مادرم، با چشم های پر از برق شوق، و زیبایی حضور خانواده و دوستانم در کنارم، که خستگی های این راه را به امید و روشنی تبدیل کرد. امیدوارم توانسته باشم جوابگوی این همه محبت آنها باشم.

اکنون، با احترام فراوان برای این همه این عزیزان پایان نامه ام را تقدیم شان می نمایم.

جا دارد در اینجا شکر خالصانه خود را از استاد راهنما بزرگوار، جناب آقای **دکتر رحمت الله جعفریان** که با تلاش های بی کران خود مرا در به انجام رساندن این مرحله از زندگی ام یاری نمودند، ابراز دارم. از اساتید گرانقدر جناب آقای **دکتر محمد حریری** و جناب آقای **دکتر علی رضا احمدی** برای مشاوره در این تحقیق کمال شکر را دارم.

همچنین قدردان زحمات همکار مطالعاتی ام جناب آقای **مهندس جواد سهندی** که در طول این پایان نامه همواره در کنار اینجانب بوده می باشم و همچنین از دوست خوبم سرکار خانم **مهندس پریسا مرادی** کمال تقدیر و شکر را دارم.

در پایان از زحمات کلیه اساتید و کارمندان **دانشگاه گنبد کاووس** که هرکدام به نحوی سختی های این راه را بر من آسان نمودند سپاسگذارم.

دانشگاه گنبد کاووس

تعهد نامه چاپ پایان نامه

نظر به اینکه چاپ و انتشار پایان نامه های تحصیلی دانشجویان دانشگاه گنبد کاووس مبین بخشی از فعالیت‌های علمی- پژوهشی بوده و همچنین با استفاده از اعتبارات و امکانات دانشگاه انجام می‌شود، بنابر این به منظور رعایت حقوق دانشگاه، کلیه دانش آموختگان نسبت به رعایت موارد ذیل متعهد می‌شوند:

قبل از چاپ پایان نامه (رساله) خود، مراتب را قبلا بطور کتبی به مدیریت تحصیلات تکمیلی دانشگاه اطلاع داده و کسب مجوز نمایند.

۱) در انتشار نتایج پایان نامه در قالب مقالات مجلات علمی پژوهشی، همایش ها و سایر موارد، ذکر نام دانشگاه گنبد کاووس، اساتید راهنما و مشاوران الزامی است.
۲) انتشار نتایج پایان نامه به هر شکلی (مقاله، کتاب، ثبت اختراع و ابداع) باید با کسب اجازه استاد راهنما و صورت گیرد.

اینجانب نفیسه پریچه دانشجوی رشته تکثیر وپرورش آبزیان مقطع کارشناسی ارشد دانشگاه گنبد کاووس تعهدات فوق را قبول کرده و ملزم به رعایت کلیه مفاد آن می باشم.

نام و نام خانوادگی دانشجو: نفیسه پریچه

امضا

تاریخ

چکیده

عصاره آنزیم‌های خارج سلولی باسیلوس‌های گرم مثبت اسپور داخلی هوازی، برای مکمل‌سازی جیره‌های آزمایشی و ارزیابی توانایی پروبیوتیکی آنها برای لارو ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) استفاده شد. لاروهای ماهی (۰/۱۹۷ ± ۰/۵۸۳ گرم) به ترتیب با سه جیره حاوی عصاره‌های آنزیم های خارج سلولی باکتریایی بدست آمده از سه غلظت از باسیلوس‌ها (۱×۱۰^{۶}، ۱×۱۰^{۷} و ۱×۱۰^{۸} واحد کلنی در هر میلی لیتر) در ۱۰۰ گرم از جیره برای مدت ۶۰ روز تغذیه شدند. ماهیان در سه تکرار از حوضچه‌های فایبرگلاسی با تراکم ذخیره سازی ۲ قطعه ماهی در هر لیتر به عنوان تیمارهای T۱، T۲، T۳ و شاهد پرورش داده شدند. لاروهای ماهی از جیره های D۱، D۲، D۳ به ترتیب در تیمارهایT۱، T۲ و T۳ بر پایه ۸ درصد وزن بدن در روز تغذیه شدند. تیمار شاهد از جیره بدون مکمل سازی با عصاره آنزیمی باکتریایی خارج سلولی تغذیه شد. در انتهای دوره آزمایش، حداکثر وزن نهایی (۲۰/۳۰ گرم) و طول نهایی (۱۲/۰۵ سانتیمتر) در تیمار T۳ بدست آمد. نتایج آنالیز خون شناسی نشان داد که بیشترین تعداد گلبول های سفید (WBC) و وزن متوسط هموگلوبین گلبولی(MCH) لاروهای ماهی قزل آلای رنگین کمان به ترتیب در تیمارهای T۱ و T۲ بدست آمد و با شاهد اختلاف معنی دار داشتند (P<۰/۰۵). آنالیز بیوشیمیایی پلاسما نشان داد که بالاترین میزان آلبومین (۵/۸۷g/dl) و پروتئین تام (۸/۸۲ g/dl) به ترتیب در تیمار T۳ و T۱ بدست آمد. در ضمن تیمار T۱ نشان داد یک کاهش معنی داری در مقدار آلکالین فسفاتاز(ALP) (P<۰/۰۵)، اما حداکثر میزان آسپارتات آمینو ترانسفراز (AST) و آلانین آمینو ترانسفراز در تیمار T۲ نشان داده شد. این مطالعه نشان داد که بکارگیری سطوح مختلف از عصاره آنزیم های خارج سلولی باسیلوس های گرم مثبت اسپور داخلی هوازی در جیره لارو ماهی قزل آلای رنگین کمان تاثیرات متفاوتی را بر پارامترهای خون شناسی، بیوشیمیایی و ایمنی این ماهی داشت.

کلمات کلیدی: آنزیم های خارج سلولی، مکمل سازی، توانایی پروبیوتیکی، آلانین آمینو ترانسفراز، پارامترهای ایمنی

فهرست مطالب

عنوان صفحه

فصل اول: مقدمه

۱- مقدمه ۱

۱-۱- پروبیوتیک و آنزیم ۲

۱-۲- اهمیت موضوع و اهداف ٦

فصل دوم: بررسی منابع ۸

۲-۱- سوابق تحقیق ۹

فصل سوم: مواد و روش‌ها ۱۷

۳- مواد و روش‌ها ۱۸

۳-۱- مواد مورد استفاده ۱۸

۳-۱-۱- ماهیان مورد استفاده در مطالعه ۱۸

۳-۱-۲ – پروبیوتیک‌های مورد استفاده ۱۸

۳-۱-۳- مواد مصرفی مطالعه ۱۹

۳-۱- ٤- مواد غیر مصرفی ۲۰

۳-۲- روش ها ۲۰

۳-۲-۱- آماده سازی محیط کشت پروبیوتیک‌ها ۲۰

۳-۲-۲- آماده سازی پروبیوتیک ها و تهیه غلظت های مورد نظر ۲۰

۳-۲-۳- فعال سازی اسپور باسیلوس های پروبیوتیکی و تبدیل آن ها به باکتری های رویشی ۲۰

۳-۲-٤- استخراج عصاره آنزیمی باسیلوس های پروبیوتیکی ۲۱

۳-۲-٥- سنجش آنزیم‌های خارج سلولی باسیلوس‌های پروبیوتیکی ۲۱

۳-۲-٦- مکمل‌سازی جیره مورد استفاده ۲۲

۳-۲-۷- طرح آزمایشی ۲۲

۳-۲-۸- تیمارهای آزمایشی ۲۳

۳-۲-۹- اندازه گیری معیارهای کیفی آب ۲۳

۳-۲-۱۰- سنجش فلور باکتریایی دستگاه گوارش ماهیان ۲٤

۳-۲-۱۱- زیست سنجی لاروهای ماهی ۲٤

۳-۲-۱۲- معیارهای رشد ۲۵

۳-۲-۱۳- معیارهای زیستی ۲٦

۳-۲-۱٤- معیارهای تغذیه‌ای ۲۷

۳-۲-۱۵- نرخ زنده مانی لاروها ۲۸

۳-۲-۱٦- اندازه‌گیری معیارهای خون شناختی ۲۹

۳-۲-۱٦-۱- اندازه‌گیری معیارهای خونی لارو ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در انتهای دوره آزمایش ۲۹

۳-۲-۱٦-۱-۱- تعداد گلبول‌های سفید و قرمز ۲۹

۳-۲-۱٦-۱-۲- هموگلوبین ۳۰

۳-۲-۱٦-۱-۳- هماتوکریت ۳۰

۳-۲-۱٦-۱-٤- شاخص های خونی ۳۱

۳-۲-۱٦-۲- اندازه‌گیری معیارهای سرم خونی لاروهای قزل آلای رنگین کمان ۳۳

۳-۲-۱۷- تست مقابله در برابر عوامل استرس زا ۳٤

۳-۲-۱۷-۱- آزمون مقابله با شرایط اسیدی با PH ۲ ..... ۳۵

۳-۲-۱۷-۲- آزمون مقابله با شرایط قلیایی با PH ۱۲ ..... ۳۵

۳-۲-۱۷-۳- آزمون مقابله با شرایط دمایی $^{\circ C}$ ٤۰ ..... ۳۵

۳-۲-۱۷-٤- آزمون مقابله با آمونیا به میزان ۵ میلیگرم در لیتر ۳٦

۳-۲-۱۸- تجزیه شیمیایی لاشه لارو قزل آلای رنگین کمان جهت تعیین ترکیبات مغذی آن ۳٦

۳-۲-۱۹- روش آماری (تجزیه و تحلیل داده ها) و شیوه نمونه برداری ۳٦

٤- نتایج ٣٨

٤-١- اثر عصاره آنزیمی باسیلوس‌های پروبیوتیکی بر معیارهای رشد لاروهای قزل‌آلای رنگین‌کمان ٣٩

٤-١-١- میانگین وزن نهایی ٤٠

٤-١-٢- میانگین طول نهایی ٤٠

٤-١-٣- غذای نسبی خورده شده ٤٠

٤-١-٤- وزن نسبی بدست آمده ٤٠

٤-١-٥- کارایی تبدیل رشد ٤١

٤-١-٦- افزایش وزن بدن ٤١

٤-١-٧- نرخ رشد ویژه ٤١

٤-١-٨- میانگین رشد روزانه ٤١

٤-٢- اثر عصاره آنزیمی باسیلوس‌های پروبیوتیکی بر شاخص‌های زیستی لاروهای قزل‌آلای رنگین‌کمان ... ٤٣

٤-٢-١- نسبت کارایی پروتئین ٤٤

٤-٢-٢- نسبت کارایی چربی ٤٤

٤-٢-٣- نسبت کارایی انرژی ٤٥

٤-٢-٤- نسبت کارایی فیبر ٤٥

٤-٢-٥- فاکتور وضعیت ٤٥

٤-٢-٦- شاخص های فیزیولوژیک ٤٥

٤-٣- اثر عصاره آنزیمی باسیلوس‌های پروبیوتیکی بر معیارهای تغذیه ای لاروهای قزل آلای رنگین کمان.. ٤٦

٤-٣-١- کارایی تبدیل غذایی ٤٦

٤-٣-٢- ضریب تبدیل غذایی ٤٧

٤-٣-٣- پروتئین ابقاء شده ٤٧

٤-٣-٤- چربی ابقاء شده ٤٧

٤-٣-٥- نرخ بهره برداری از پروتئین ٤٧

٤-٣-٦- نرخ بهره برداری از چربی ٤٨
٤-٣-٧- انرژی ابقاء شده به شکل پروتئین ٤٨
٤-٣-٨- نرخ کارایی انرژی ٤٨
٤-٣-٩- نرخ رشد متابولیکی ٤٨
٤-٤- درصد بازماندگی لاروهای قزل آلای رنگین کمان ٤٩
٤-٤-١- درصد بازماندگی ٤٩
٤-٥- اثر عصاره آنزیمی باسیلوس‌های پروبیوتیکی بر معیارهای خون‌شناختی لاروهای قزل‌آلای رنگین کمان ٤٩
٤-٥-١- معیارهای خون شناختی ٤٩
٤-٥-١-١- هماتوکریت ٥٠
٤-٥-١-٢- هموگلوبین ٥١
٤-٥-١-٣- RBC (گلبول قرمز) ٥١
٤-٥-١-٤- WBC (گلبول سفید) ٥١
٤-٥-١-٥- MCV (حجم متوسط گلبولی) ٥١
٤-٥-١-٦- MCHC (تغییرات غلظت هموگلوبین در گلبول قرمز) ٥٢
٤-٥-٢- معیارهای سرم خونی لارو قزل آلای رنگین کمان ٥٢
٤-٥-٢-١- آلبومین ٥٣
٤-٥-٢-٢- آلکالین فسفاتاز ٥٣
٤-٥-٢-٣- آلفا آمیلاز ٥٣
٤-٥-٢-٤- لیپاز ٥٣
٤-٥-٢-٥- AST (آسپارتات آمینو ترانسفراز) ٥٤
٤-٥-٢-٦- ALT (آلانین آمینو ترانسفراز) ٥٤
٤-٥-٢-٧- پروتئین کل ٥٤
٤-٥-٢-٨- کورتیزول ٥٤

٤-٦- تست مقابله با عوامل استرس زا ٥٥
٤-٦-١- تست مقابله با PH اسیدی ٥٥
٤-٦-٢- تست مقابله با PH قلیایی ٥٥
٤-٦-٣- تست مقابله با دمای ^{o}C ٤٠ ..... ٥٦
٤-٦-٤- تست مقابله با ٥ میلی گرم در لیتر آمونیا ٥٦
٤-٧- تجزیه بیوشیمیایی لاشه لاروهای قزل آلای رنگین کمان جهت تعیین ترکیبات مغذی آن ٥٦
٤-٧-١- پروتئین خام ٥٧
٤-٧-٢- چربی خام ٥٧
٤-٧-٣- انرژی خام ٥٨
٤-٧-٤- ماده خشک ٥٨
٤-٧-٥- خاکستر ٥٨
٤-٧-٦- رطوبت ٥٨
٤-٨- سنجش فلور باکتریایی لاکتوباسیلوس‌های دستگاه گوارش ٥٨
٤-٩- معیارهای کیفی آب ٥٩
٤-٩-١- تغییرات دما ٥٩
٤-٩-٢- تغییرات PH ٦٠
٥- بحث ٦١
.٥-١- اهمیت باسسیلوس های پروبیوتیکی و تولید آنزیم توسط آن ها ٦٢
٥-٢- تأثیر عصاره آنزیمی باسیلوس های پروبیوتیکی بر معیارهای رشد ٦٥
٥-٣-تأثیر عصاره آنزیمی باسیلوس های پروبیوتیکی بر معیارهای زیستی ٧٢
٥-٤- تأثیر عصاره آنزیمی باسیلوس های پروبیوتیکی بر معیارهای تغذیه ای ٧٣
٥-٦- نرخ بازماندگی لارو ماهی قزل آلای رنگین کمان ٧٥
٥-٧- تأثیر عصاره آنزیمی باسیلوس های پروبیوتیکی بر پارامترهای خونی لارو قزل آلای رنگین کمان ٧٦
٥-٧-١- بررسی معیارهای خون شناختی ٧٦

۵-۷-۲- معیارهای بیوشیمیایی و ایمنی سرم خون ماهی قزل آلای رنگین کمان ۷۸
۵-۸- بررسی مقاومت لاروها در برابر استرس های محیطی ۸۰
۵-۹- تأثیر بر ترکیبات بیوشیمیایی لاشه قزل آلای رنگین کمان ۸۲
۵-۱۰-تأثیر بر فلور میکروبی دستگاه گوارش ۸٤
۵-۱۱- فاکتورهای کیفی آب مورد استفاده ۸۵
۵-۱۲- نتیجه گیری ۸٦
۵-۱۳- پیشنهادات ۸۷
۵-۱۳-۱- پیشنهادات اجرایی ۸۷
۵-۱۳-۲- پیشنهادات پژوهشی ۸۷
٦- منابع ۸۸

فهرست جداول و اشکال

عنوان صفحه

جدول ۳-۱- سطوح حضور هر یک از باسیلوس‌های پروبیوتیکی در مخلوط باکتریایی..... ۱۹

جدول ۳-۲- مقادیر فعالیت ویژه آنزیم‌های گوارشی ترشح شده توسط باسیلوس‌های پروبیوتیکی در سوسپانسیون های باکتریایی..... ۲۲

جدول ٤-۱- معیارهای رشد لارو قزل آلای رنگین کمان تغذیه شده با جیره مکمل‌سازی شده با عصاره آنزیمی حاصل از پنج گونه باسیلوس پروبیوتیکی..... ۳۹

جدول ٤-۲- معیارهای زیستی لارو قزل‌آلای رنگین کمان تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی مکمل‌سازی شده با عصاره آنزیمی حاصل از پنج گونه باسیلوس پروبیوتیکی..... ٤٤

جدول ٤-۳- معیارهای تغذیه‌ای لارو قزل آلای رنگین کمان تغذیه شده با جیره مکمل سازی شده با عصاره آنزیمی حاصل از پنج گونه باسیلوس پروبیوتیکی..... ٤٦

جدول ٤-٤- معیارهای خون‌شناختی لارو قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با جیره مکمل‌سازی شده با عصاره آنزیمی حاصل از پنج گونه باسیلوس پروبیوتیکی..... ٥٠

جدول ٤-٥- معیارهای بیوشیمیایی و ایمنی سرم خون لاروماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با جیره مکمل-سازی شده با عصاره آنزیمی حاصل از باسیلوس‌های پروبیوتیکی..... ٥٢

جدول ٤-٦- میزان بازماندگی لارو ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی مکمل‌سازی شده با عصاره آنزیمی حاصل از غلظت‌های مختلف باسیلوسی در برابر استرس‌های محیطی بر حسب ثانیه..... ٥٥

جدول ٤-۷- ترکیبات بیوشیمیایی لاشه لارو قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با جیره مکمل‌سازی شده با عصاره آنزیمی حاصل از پنج گونه باسیلوس پروبیوتیکی..... ٥٧

جدول ٤-٨- فلور میکروبی لاکتوباسیلوسی روده لاروهای ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با جیره مکمل- سازی شده با عصاره آنزیمی حاصل از غلظت‌های مختلف باسیلوس‌های پروبیوتیکی..... ٥٩

شکل٤-١- نمودار میانگین افزایش وزن لارو قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با عصاره آنزیمی حاصل از باسیلوس‌های پروبیوتیکی..... ٤١

شکل٤-٢- نمودار تغیرات نرخ رشد ویژه لارو قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با عصاره آنزیمی حاصل از باسیلوس‌های پروبیوتیکی..... ٤٢

شکل٤-٣- نمودار میانگین رشد روزانه لارو قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با عصاره آنزیمی حاصل از باسیلوس- های پروبیوتیکی.....

شکل٤-٤- نرخ بقاء لارو قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با عصاره آنزیمی حاصل از باسیلوس‌های پروبیوتیکی..... ٤٣

شکل ٤-٥- تغییرات دمای آب در مخزن‌های پرورش لاروهای قزل‌آلای رنگین کمان..... ٤٩

شکل ٤-٦- تغییرات pH آب در مخزن‌های پرورش لاروهای ماهی قزل‌آلای رنگین کمان..... ٥٩

٦٠

فصل اول

مقدمه

۱- مقدمه

۱-۱-پروبیوتیک و آنزیم

تعریف پروبیوتیک‌ها در طول زمان توسعه یافته است. تلاش‌های اولیه جهت استفاده از آنها به عنوان نوعی ماده میکروبی که سبب تحریک رشد میکروارگانیزم‌های مفید و کاهش پاتوژن‌ها می‌شوند (لی لی و استیل ول[1]، ۱۹٦۵) و یا عصاره‌های بافتی که سبب بهبود رشد باکتری‌ها می شوند، عمومیت پیدا نکرد. پارکر[2] (۱۹۷٤) برای اولین بار واژه پروبیوتیک را در زمینه مکمل‌های جیره غذایی حیوانات بکار برده و آن را چنین تعریف نمود:

"پروبیوتیک‌ها، ارگانیزم‌ها یا موادی هستند که در تعادل میکروبی روده نقش دارند".

فولر[3] (۱۹۸۹) با حذف واژه "مواد" که ممکن بود شامل آنتی بیوتیک‌ها و مواد محرک باکتریایی شود، تعریف جدیدی از پروبیوتیک‌ها را بیان کرد بطوریکه پروبیوتیک‌ها را باکتری‌های زنده غذایی که با بهبود تعادل میکروبی روده اثرات سودمندی بر میزبان دارند خواند. این تعریف اصلاح شده، بر مکمل غذایی تشکیل شده از باکتری های زنده تأکید دارد و بهترین تعریف پذیرفته شده در رابطه با پروبیوتیک‌ها می‌باشد.

گرم[4] و همکاران (۱۹۹۹) بیان داشتند که پروبیوتیک هر نوع مکمل میکروبی زنده است که از طریق بهبود تعادل میکروبی روده تأثیرات سودمندی بر میزبان دارند (در این تعریف اتصال به غذا

---

[1] - Lily and Stillwell
[2] - Parker
[3] - Fuller
[4] - Gram

مدنظر نمی باشد). به علاوه، سالمینن[1] و همکاران (۱۹۹۹) پروبیوتیک را به عنوان هر نوع ترکیب میکروبی (اما نه الزاماً زنده) یا سلول‌های میکروبی با تأثیرات مفید بر سلامتی میزبان معرفی کردند (در این تعریف نیاز به وجود سلول های زنده جهت اتصال به ذرات غذایی نادیده گرفته شده است).

در آبزی پروری برای اولین بار یاسودا و تاگا[2] (۱۹۸۰) پیش بینی کردند که باکتری‌هایی یافت خواهند شد که نه تنها به عنوان غذا بلکه به عنوان کنترل کننده‌های زیستی بیماری ماهیان و فعال کننده‌های چرخه مواد غذایی مفید می‌باشند. گاتسوپ[3] (۱۹۹۹) تعریفی دیگر از پروبیوتیک‌ها در آبزی پروری ارائه نمود: سلول‌های تک یاخته‌ای که از طریق ورود به لوله گوارشی میزبان و قابلیت زنده ماندن، و با هدف بهبود سلامتی مورد استفاده قرار می‌گیرند. این تعریف بر مصارف خوراکی پروبیوتیک و قابلیت آن در بهبود سلامتی میزبان به جهت حضور در لوله گوارشی تأکید دارد و از جامع ترین تعاریف پروبیوتیک‌ها در رابطه با آبزی پروری می‌باشد.

نهایتاً تأکید بر این است که طبق نظر فولر (۱۹۸۹) پروبیوتیک‌ها باید دارای اثرات سودمند در بدن میزبان بوده همچنین قادر به زنده ماندن در لوله گوارش، ازدیاد در مقیاس انبوه و ادامه حیات برای مدت زمان طولانی به هنگام نگهداری باشند. همچنین باید در محدوده وسیع دمایی و شوری کارآیی داشته باشند.

یکی از موارد قابل توجه در انتخاب پروبیوتیک‌ها تولید ترکیبات مفید آنها است. میکروارگانیزم ها قادر به تولید مولکول‌های پیچیده هستند (وین[4] و همکاران، ۲۰۰۶). این ترکیبات که می‌توانند برای میزبان مفید باشند شامل: رنگدانه‌ها (هولموستروم[5] و همکاران، ۲۰۰۲)، پروتئین‌ها (کلین[6] و همکاران، ۱۹۹۸)، اسیدهای چرب (شیراساکا[7] و همکاران، ۱۹۹۵)، ویتامین‌ها (ساجیتا[8] و همکاران، ۱۹۹۱)، آنزیم-آنزیم‌ها (هانسن و اولافسن[9]، ۱۹۹۹ و رامیرز و دیکسون[10]، ۲۰۰۳) می‌باشند.

---

[1] - Salminen
[2] - Yasuda and Taga
[3] -Gatesoupe
[4] -Vine
[5] -Holmstorm
[6] -Klein
[7] - Shirasaka
[8] - Sugita
[9] -Hansen and Olafsen
[10] - Ramirez and Dixon

آنزیم ها کاتالیزورهای زیستی هستند که سرعت واکنش‌ها را حداقل به میزان حدود یک میلیون برابر افزایش می‌دهند. دانش مطالعه آنزیم‌ها از اوایل قرن نوزدهم در جریان توجه به فرآیندهای تخمیر و هضم پا به عرصه نهاد. واژه " آنزیم" در واقع از لغت یونانی en به معنای "در" و zyme به معنای تخمیر در سال ۱۸۷۸ و به منظور تأکید بر وجود عاملی در مخمر، غیر از خود مخمر، که فرآیند تخمیر را انجام می داد اقتباس گردید. آنزیم‌ها پروتئینی بوده و از زنجیره‌های اسیدآمینه با پیوند پپتیدی تشکیل شده‌اند. آنزیم‌ها سبب تسریع واکنش‌های بیوشیمیایی در همه موجودات زنده از موجودات تک سلولی، گیاهان، حشرات تا انسان می‌شوند و بدون حضور آنزیم‌ها غذا هضم نمی‌شود. دلیل اصلی استفاده از آنزیم‌ها، بهبود ارزش غذایی مواد خوراکی است. همه‌ی حیوانات برای هضم غذا از آنزیم استفاده می‌کنند که این آنزیم‌ها به وسیله حیوان یا میکروب‌های موجود در دستگاه گوارش تولید می شوند (صادقی و شورنگ، ۱۳۸٦). از آن جا که محققان در مطالعات مختلفی توانایی تولید آنزیم‌های خارج سلولی توسط باکتری‌های دستگاه گوارش که پتانسیل استفاده از آن را به عنوان پروبیوتیک نشان می‌دهد را گزارش کردند (گوش[1] و همکاران، ۲۰۰۲؛ کار و گوش[2]، ۲۰۰۸؛ کار و همکاران، ۲۰۰۸) اهمیت به کارگیری پروبیوتیک‌ها و به خصوص آنزیم‌های مترشحه توسط آن‌ها نمایان می‌گردد. همچنین محققین دیگر نشان دادند افزودن پروبیوتیک‌ها به جیره غذایی ماهیان موجب ترشح آنزیم‌های گوارش و تحریک اشتها می شود (ایرانتو و آستین[3]، ۲۰۰۲). پروبیوتیک‌ها با سنتز مولکول‌های غذایی در دستگاه گوارش علاوه بر تحریک ترشح آنزیم‌های گوارشی، خود نیز با ترشح آنزیم‌های خارج سلولی موجب افزایش کارایی غذایی می شوند(جعفریان، ۱۳۸۵) و در نتیجه افزایش ابقا پروتئین و بهره برداری مناسب از ترکیبات مغذی و ویتامینی جیره حاصل می‌شود.

روش‌های متعدد استفاده از پروبیوتیک‌ها در مطالعات مختلف بیان گردیده است که از آن جمله می توان به مکمل سازی جیره (توکمه چی و بند بنی، ۱۳۹۲) ، غنی سازی انواع موجودات زنده مانند روتیفر (سهندی[4] و همکاران، ۲۰۱۲) ، دافنی (جعفریان و همکاران، ۱۳۸۷) ، و یا افزودن به محیط آب پرورش آبزی (سهندی و همکاران، ۲۰۱۲) اشاره کرد.

---

[1] - Ghosh
[2] - Kar
[3] - Irianto and Astin
[4] - Sahandi

استفاده از پروپیوتیک‌ها در اشکال مختلف در صنعت آبزی پروری رو به فزونی است. اما در مورد بکارگیری عصاره آنزیم‌های خارج سلولی پروبیوتیک‌ها به صورت مجزا گزارشات اندکی ارائه شده-است و اکثر مطالعات شامل بررسی آنزیمی دستگاه گوارش حاوی میکروب‌های باکتریایی پروبیوتیکی در آن‌ها بوده است (زمانی، ۱۳۸٦؛ بایراجی و همکاران ۲۰۰۲؛ کار و گوش[۱] ۲۰۰۸؛ لسل[۲] و همکاران ۱۹۸٤؛ داس و ترپاسی[۳] و ۱۹۹۱؛ کار و همکاران ۲۰۰۸؛ ماندال[٤] و همکاران ۲۰۰۸ ؛ رای[٥] و همکاران ۲۰۱۰). باکتری‌های پروبیوتیکی قادر به تولید آنزیم‌های خارج سلولی بوده که ازآن جمله می توان آنزیم‌های پروتئاز، لیپاز و آمیلاز را نام برد که این آنزیم‌ها باعث افزایش فرآیند هضم گشته و افزایش رشد را به همراه خواهند داشت (دویلت و لانگدون[٦]، ۱۹۹٤). از سال ۱۹۲۰ محققین تأثیرات مفید آنزیم ها بر روی مواد غذایی طیور، به ویژه غذاهایی که حاوی دانه‌های غلات با ترکیب بالایی از فیبر هستند را مشاهده نموده‌اند (هاستینگ[۷] ۱۹٤٦؛ موران و گینیز[۸] ۱۹٦۸؛ پیترسون و آمان[۹] ۱۹۸۹؛ ریتز[۱۰] و همکاران، ۱۹۹٥). آنزیم‌های تولید شده مصنوعی یا مشتق شده از گیاهان، حیوانات و یا منبع میکروبی به عنوان مواد افزودنی در خوراک خوک و گاو به طور فزاینده‌ای مورد استفاده قرار گرفته است (آنون[۱۱]،۱۹۸۸، دوراک[۱۲]،۲۰۰۰،لوپز سوتو[۱۳]، ۲۰۰۰ ،موریلو[۱٤] و همکاران،۲۰۰۰،پیناس[۱٥] و همکاران،۲۰۰۰). باسیلوس سیرکولانس، باسیلوس سرئوس و باسیلوس پامیلوس ایزوله شده از روده ماهی انگشت قد روهو، در شرایط آزمایشگاهی، ظرفیت تولید آنزیم‌های پروتئاز، آمیلاز و سلولاز

---

1 - Kar and Ghosh
2 - Lesel
3 - Das and Tripathi
4 - Mondal
5 - Ray
6 - Douillet and Langdon
7 - Hastings
8 - Moran and Ginnis
9 - Petterson and Aman
10 - Ritz
11 - Anon
12 - Dvorak
13- Lopez-Soto
14- Murillo

15 - Pinos