فیزیولوژی و بیوتکنولوژی آبزیان
سال پنجم، شماره چهارم، زمستان ۱۳۹۶

اثرات سطوح مختلف پروبیوتیک *Lactobacillus casei* و نانوذرات نقره بر شاخص‌های رشد و ترکیب لاشه بچه ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

روح الله شیخ ویسی[۱]، طاهره باقری[۲]، حبیب الله سنچولی[۳]، سید علی اکبر هدایتی[۴]*

تاریخ دریافت: آذر ۹۵ تاریخ پذیرش: اسفند ۹۵

چکیده

در این مطالعه سطوح مختلف پروبیوتیک *Lactobacillus casei* و نانو ذرات نقره بر شاخص های رشد و ترکیب لاشه ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) مورد بررسی قرار گرفت. تعداد ۲۵۰ قطعه بچه ماهی کپور معمولی با میانگین وزن ۲/۴±۲۳ گرم در سه دسته ماهیان بدون پروبیوتیک و ماهیان دارای پروبیوتیک سطح A ($۱۰^{۶}$ کلی‌فرم بر میلی‌لیتر) و ماهیان دارای پروبیوتیک سطح B ($۱۰^{۷}$ کلی‌فرم بر میلی‌لیتر) تقسیم و به مدت ۴۲ روز تیمار شدند. سپس به هر کدام از گروه‌ها ۵۰ درصد غلظت کشنده نانونقره به مدت ۱۰ روز به آب اضافه شد. پروتئین کل، چربی کل، خاکستر و رطوبت به ترتیب با استفاده از کجدال، سوکسله، کوره الکتریکی و خشک کردن نمونه‌ها اندازه‌گیری شدند. نانونقره شاخص‌های رطوبت، درصد افزایش وزن بدن، فاکتور وضعیت لاشه را کاهش و شاخص‌های چربی، پروتئین و افزایش وزن بدن را افزایش داد. ترکیب نانونقره و پروبیوتیک نیز در شاخص‌های رطوبت، چربی و درصد افزایش وزن بدن نقش مثبتی ایفا کرد و منجر به تعدیل این شاخص‌ها شد. در مجموع، ترکیب پروبیوتیک و نانونقره تا حدی توانست اثرات نامطلوب ناشی از نانونقره را بر برخی شاخص‌های رشد و ترکیب بیوشیمیایی بدن بچه ماهی کپور معمولی بهبود ببخشد.

واژگان کلیدی: *آبزی، نانوذرات، بهبود مقاومت، پروبیوتیک.*

۱- دانشجوی دکتری تولید و بهره‌برداری آبزیان، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.

۲- استادیار مرکز تحقیقات شیلاتی آب‌های دور، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، ترویج و آموزش کشاورزی، چابهار، ایران.

۳- دانشجوی کارشناسی ارشد تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.

۴- دانشیار گروه تولید و بهره‌برداری آبزیان، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.

* نویسنده مسئول: Hedayati@gau.ac.ir

مقدمه

افزایش تولید و استفاده از نانوذرات به ناچار منجر به افزایش ورود نانومواد به محیط خواهد شد. محیط‌های آبی نسبت به محیط‌های خشکی آسیب‌پذیرتر هستند، به این خاطر که ممکن است به عنوان یک مخزن برای تخلیه بسیاری از مواد شیمیایی عمل کنند (Kim et al., 2007). نانوذرات نقره به دلیل خواص ضدمیکروبی خود بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند و در تولید محصولات مختلف از جمله شوینده‌ها، بانداژ زخم، بسته‌بندی و نگهداری مواد غذایی، لوازم منزل، رنگ‌ها و مکمل‌های غذایی استفاده می‌شوند (Asz et al., 2006). تاکنون مطالعات متعددی مشخص کرده است که نانونقره سبب افزایش استرس اکسیداتیو، پراکسیداسیون لیپیدی، کاهش عملکرد میتوکندری، کاهش رشد و در غلظت‌های بالا سبب مرگ آبزیان می‌شود (Arora et al., 2008).

پروبیوتیک‌ها میکروارگانیسم‌های مکملی مانند باکتری‌ها، قارچ‌ها و مخمرها هستند. تولید ویتامین‌ها، تجزیه مواد غذایی، بهبود سیستم ایمنی از مزایای پروبیوتیک‌ها است (Fuller, 1992). پروبیوتیک‌ها می‌توانند به صورت مستقیم یا غیرمستقیم بر آبزیان تاثیر بگذارند. در حالت اول با تغییر بر تعادل بار میکروبی روده جانور و تغییر فلور میکروبی موکوس روده، پوست و آبشش آبزی باعث ایجاد مقاومت در برابر بیماری می‌شوند (Ziaei-Nejad et al., 2006).

کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) از رده ماهیان استخوانی و متعلق به خانواده کپورماهیان (Cyprinidae) است و در تمام حوضه‌های آبریز ایران پراکنش دارد. ماهی کپور معمولی یکی از گونه‌های مهم تجاری در سراسر جهان است و در اکثر کشورهای جهان سیستم پرورش آن گسترده و نیمه متراکم است (ستاری و همکاران، ۱۳۸۲). از این رو، با توجه به نوظهور بودن فلزات سنگین آن هم در مقیاس نانو و اثر سمی آن‌ها و از طرف دیگر تاثیرات مثبت پروبیوتیک در تقویت آبزیان در برابر آلاینده‌ها این پژوهش به منظور بررسی شاخص‌های رشد و ترکیب لاشه کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در مواجهه با نانوذرات نقره و پروبیوتیک *Lactobacillus casei* صورت گرفته است.

مواد و روش‌ها

تهیه نمونه‌ها و شرایط نگهداری

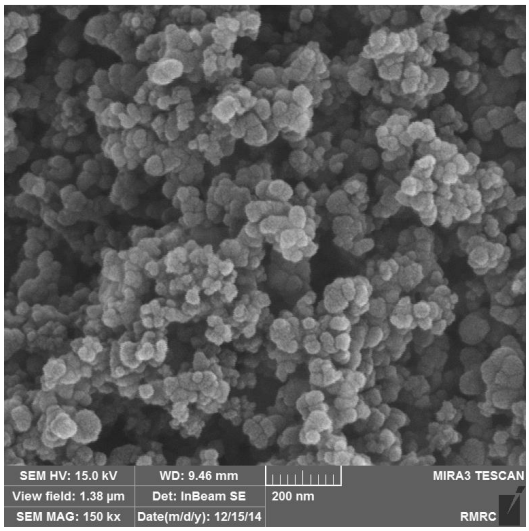
این آزمایش به مدت ۶۰ روز (یک هفته آداپتاسیون، ۴۲ روز تغذیه با پروبیوتیک، ۱۰ روز قرارگیری در معرض نانونقره) در محل مرکز تحقیقات آبزی پروری شهید ناصر فضلی برآبادی، گروه شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، در قالب یک طرح کاملا تصادفی، انجام شد. در این پژوهش ابتدا ۲۵۰ قطعه بچه ماهی کپور معمولی با محدوده وزنی حدود ۲۰ گرم از مراکز تکثیر و پرورش بخش خصوصی (قره سو) تهیه شد. برای سازگار شدن با محیط آزمایش بچه ماهیان به مدت یک هفته در داخل وان‌های پرورشی (ونیرو) نگهداری شدند. سپس، بعد از ضدعفونی، آماده‌سازی و آبگیری آکواریوم‌ها، بچه ماهیان به آکواریوم‌های آزمایشگاه منتقل شدند.

در طی دوره آزمایش، بچه ماهیان تحت شش تیمار شامل تیمار یک: شاهد، تیمار دو: پروبیوتیک $۱۰^{۶}$، تیمار سه: پروبیوتیک $۱۰^{۷}$، تیمار چهار: نانونقره با غلظت تحت کشنده، تیمار پنج: نانونقره تحت کشنده و پروبیوتیک $۱۰^{۶}$ و تیمار شش: نانونقره تحت کشنده و پروبیوتیک $۱۰^{۷}$ قرار گرفتند (هر تیمار با سه تکرار).

تغذیه و مواجهه با نانونقره

بعد از گذشت یک هفته دوره سازگاری، ابتدا بچه ماهیان به سه دسته تقسیم شدند و با جیره‌های بدون پروبیوتیک، دارای پروبیوتیک سطح A ($۱۰^{۶}$ کلی‌فرم بر میلی‌لیتر) و دارای پروبیوتیک سطح B ($۱۰^{۷}$ کلی‌فرم بر میلی‌لیتر) به مدت ۴۲ روز غذادهی شدند. اضافه کردن پروبیوتیک *Lactobacillus casei* به غذا با روش اسپری کردن به میزان ۱g/Kg صورت گرفت. به این صورت که ابتدا میزان ۲ گرم پودر ژلاتین را به آب اضافه کرده، پس از حل شدن پودر در آب مقادیر مورد نیاز پروبیوتیک که از قبل توزین و آماده شده بود، به محلول آب و پودر ژله اضافه شد. در نهایت پس از حل شدن پروبیوتیک، محلول آماده شده بر روی غذای تجاری اسپری شد.

بعد از گذشت ۴۲ روز به هر کدام از گروه‌ها ۵۰ درصد غلظت کشنده (۱ میلی گرم بر لیتر) نانوذره کلوئید نقره به مدت ده روز اضافه شد. نانوذره نقره مورد استفاده دارای درصد خلوص ۹۹/۹ درصد و میانگین اندازه ۲۰ نانومتر بود (شکل ۱) که به صورت محلول ppm ۴۰۰۰ (شرکت نانوپیشگامان مشهد) تهیه شد.



شکل ۱: تصویر میکروسکوپ الکترونی (SEM) نانونقره مورد استفاده در مطالعه حاضر

در طول دوره آزمایش شاخص‌های فیزیکوشیمیایی آب ثابت نگه داشته شد که شامل دمای آب ۱±۲۱ درجه سانتی‌گراد، pH ۶/۷–۷/۹، غلظت اکسیژن محلول ۹-۷ میلی‌گرم در لیتر و سختی آب ۲۱۰ میلی‌گرم کربنات کلسیم در لیتر بود (مولتی‌متر دیجیتال، هانا، آمریکا). همچنین، روزانه ۷۰ درصد حجم آب وان‌ها تعویض می‌شد (با حفظ غلظت سم در هر تیمار). غذادهی روزانه ۲/۵ درصد وزن بدن صورت گرفت.

بررسی ترکیب لاشه

در پایان ماهیان زیست‌سنجی شدند. سپس از هر تیمار ۶ نمونه ماهی انتخاب شد و ترکیب لاشه آن‌ها مورد بررسی قرار گرفت. برای این کار ابتدا ماهیان در داخل تشت‌های پلاستیکی محتوی آب همسان با آکواریوم هر ماهی که دارای ماده بیهوش کننده یوژینول بود، بیهوش شدند (Di Giulio and Hinton., 2008).

پروتئین خام لاشه از طریق تعیین نیتروژن کل به روش کجلدال با استفاده از دستگاه بخش هضم و بخش تقطیر (EBL، آلمان) اندازه‌گیری شد. چربی خام از طریق حل کردن چربی در اتر و تعیین مقدار آن به روش سوکسله به وسیله دستگاه سوکسله انجام گرفت (طهماسبی، ۱۳۹۳). اندازه‌گیری خاکستر

از طریق قرار دادن نمونه در کوره الکتریکی در دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد برای مدت ۴ ساعت اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری رطوبت: از طریق خشک کردن نمونه‌ها در آون با دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت اندازه‌گیری شد (طهماسبی، ۱۳۹۳).

بررسی شاخص‌های رشد

شاخص‌های رشد شامل افزایش وزن بدن (BWI)، درصد افزایش وزن بدن (PBWI)، فاکتور وضعیت (CF) و ضریب تبدیل غذایی (FCR) با استفاده از رابطه‌های ۱ تا ۴ محاسبه شد.

رابطه ۱:

$$BWI\,(g) = W_{t2} - W_{t1}$$

Wt1: وزن اولیه (گرم)؛ W_{t2}: وزن نهایی (گرم).

رابطه ۲:

$$PBWI\,(\%) = [(W_{t2} - W_{t1}) / W_{t1}] \times 100$$

Wt1: وزن اولیه (گرم)؛ W_{t2}: وزن نهایی (گرم).

رابطه ۳:

$$CF = [W / L^3] \times 100$$

W: وزن ماهی (گرم)؛ L: طول کل ماهی (سانتی‌متر).

رابطه ۴:

$$FCR = F / WG$$

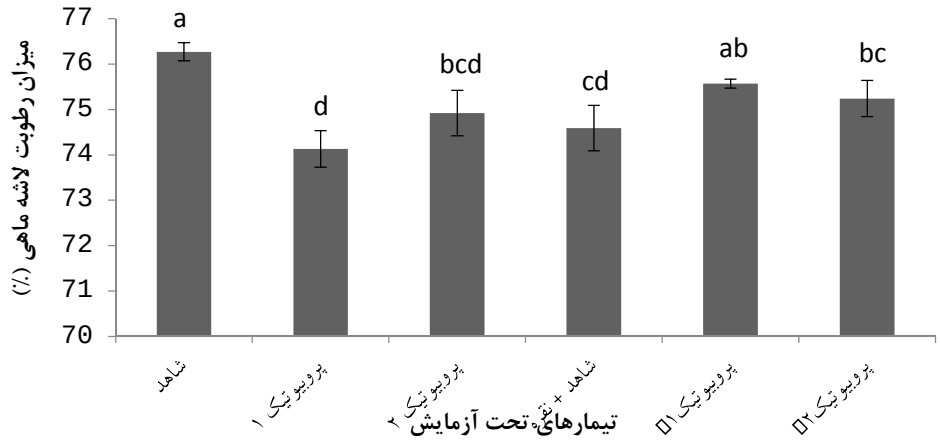
F: غذای خورده شده (گرم)؛ WG: وزن بدست آمده ماهی (گرم).

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه و پس‌آزمون چند دامنه دانکن با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ در سطح معنی‌داری ۰/۹۵ انجام شد و نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شد.

نتایج

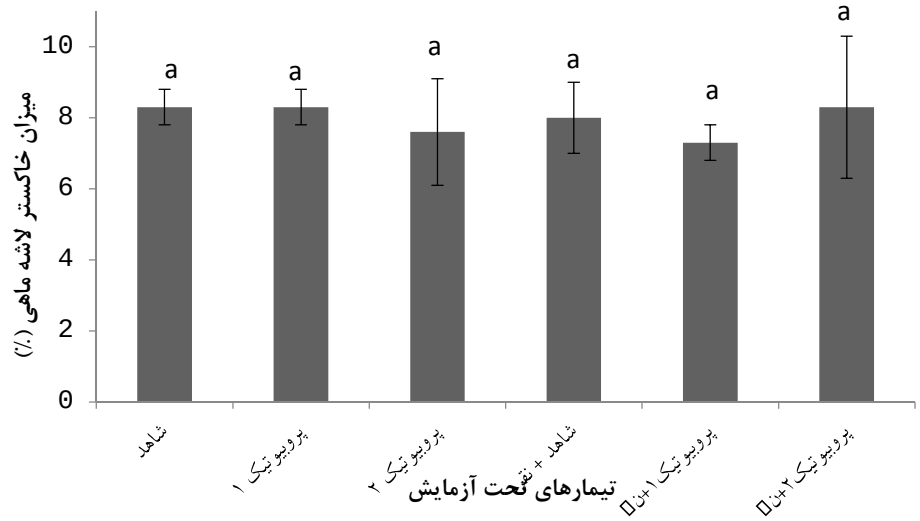
بررسی تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها نشان داد که در مجموع تیمارهای آزمایشی بر شاخص رطوبت لاشه ماهی تاثیر معنی‌داری داشت ($P<۰/۰۵$) و بررسی عددی نتایج نشان داد که رطوبت با میزان ۷۶/۲۷ درصد در تیمار یک بالاترین و تیمار دو با میزان ۷۴/۱۳ درصد کمترین مقدار را داشت. افزودن جداگانه پروبیوتیک و نانونقره به جیره باعث کاهش رطوبت لاشه شد (شکل ۲).



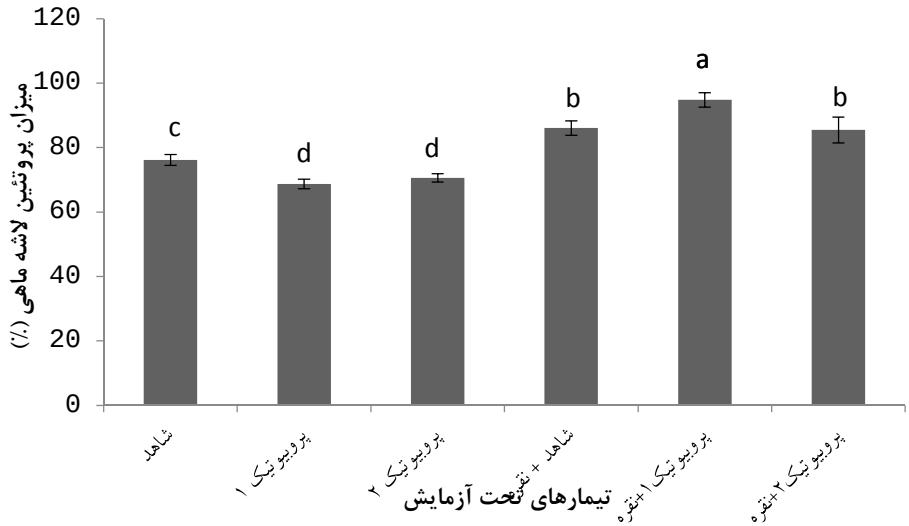
شکل ۲: میزان رطوبت لاشه بچه ماهی کپور معمولی در تیمارهای مختلف آزمایشی (میانگین ± انحراف معیار). حروف انگلیسی متفاوت نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها نشان داد که در مجموع، تیمارهای آزمایشی بر شاخص خاکستر لاشه ماهی تاثیر معنی‌داری نداشت (P>۰/۰۵)، ولی بررسی عددی نتایج نشان داد که خاکستر با میزان ۸/۳ درصد در تیمار یک، دو و سه بالاترین و تیمار پنج با میزان ۷/۳ درصد کمترین مقدار را داشت (شکل ۳).

بررسی آماری داده‌ها نشان داد که در مجموع، تیمارهای آزمایشی بر شاخص پروتئین لاشه تاثیر معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵)، به طوری که پروتئین لاشه در تیمار پنج با مقدار ۹۴/۷۹ درصد بالاترین و در تیمار دو با مقدار ۶۸/۶۸ درصد پایین‌ترین سطح را داشت. به عبارت دیگر پروبیوتیک باعث کاهش ولی افزودن نانونقره منجر به افزایش پروتئین لاشه شد و در ترکیب پروبیوتیک و نانونقره نیز پروبیوتیک نتوانست تاثیرات افزایشی نقره را بر میزان پروتئین بهبود ببخشد (شکل ۴).



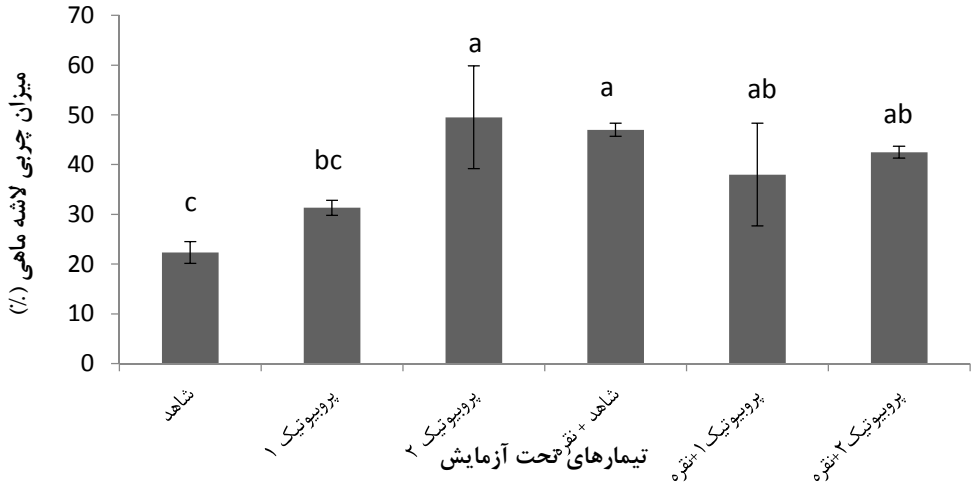
شکل ۳: میزان خاکستر لاشه بچه ماهی کپور معمولی در تیمارهای مختلف آزمایشی (میانگین ± انحراف معیار). حروف انگلیسی همسان نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار است (P>۰/۰۵).



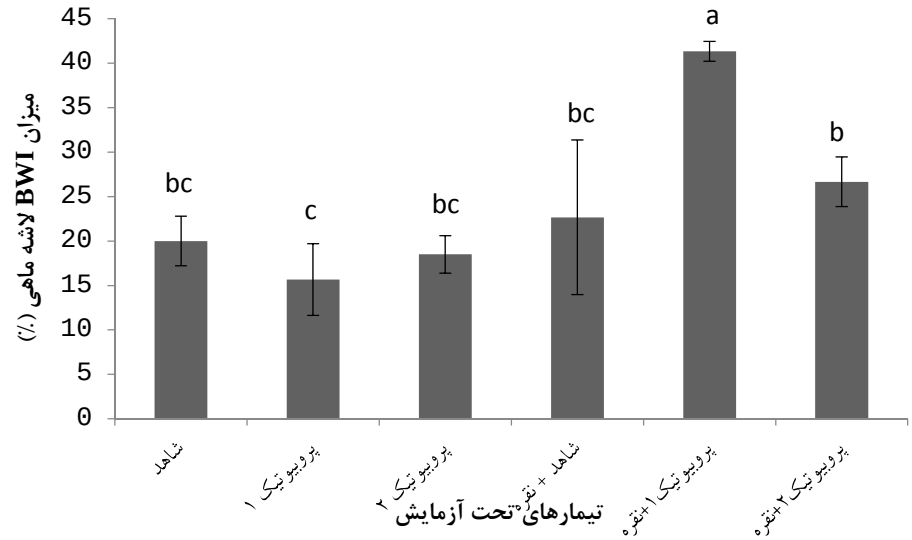
شکل ۴: میزان پروتئین لاشه بچه ماهی کپور معمولی در تیمارهای مختلف آزمایشی (میانگین ± انحراف معیار). حروف انگلیسی متفاوت نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

بررسی آماری داده‌ها نشان داد که در مجموع، تیمارهای آزمایشی بر شاخص چربی لاشه تاثیر معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵)، به طوری که چربی لاشه در تیمار یک با مقدار ۲۲/۲۳ درصد در پایین‌ترین سطح و در تیمار سه با مقدار ۴۹/۵ درصد در بالاترین سطح بود و از این رو پروبیوتیک و نانونقره هر یک به طور جداگانه منجر به افزایش میزان چربی لاشه شدند در حالی که ترکیب پروبیوتیک و نانونقره اثر افزایشی این میزان را تا حدی کاهش داد (شکل ۵).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها نشان داد که در مجموع، تیمارهای آزمایشی بر شاخص افزایش وزن بدن لاشه تاثیر معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵)، به طوری که افزایش وزن بدن لاشه در تیمار پنج با مقدار ۴۱/۳۳ درصد بالاترین سطح و در تیمار دو با مقدار ۵۵/۶۶ درصد پایین‌ترین سطح را داشت. بنابراین، پروبیوتیک و نانونقره منجر به افزایش میزان افزایش وزن بدن شد (شکل ۶).



شکل ۵: میزان چربی لاشه بچه ماهی کپور معمولی در تیمارهای مختلف آزمایشی (میانگین ± انحراف معیار). حروف انگلیسی متفاوت نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

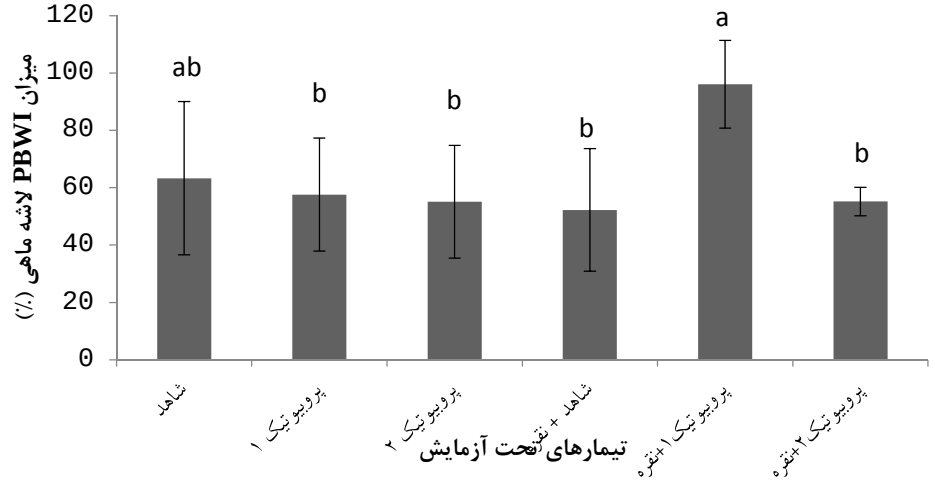


شکل ۶: میزان افزایش وزن بدن (BWI) لاشه بچه ماهی کپور معمولی در تیمارهای مختلف آزمایشی (میانگین ± انحراف معیار). حروف انگلیسی متفاوت نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

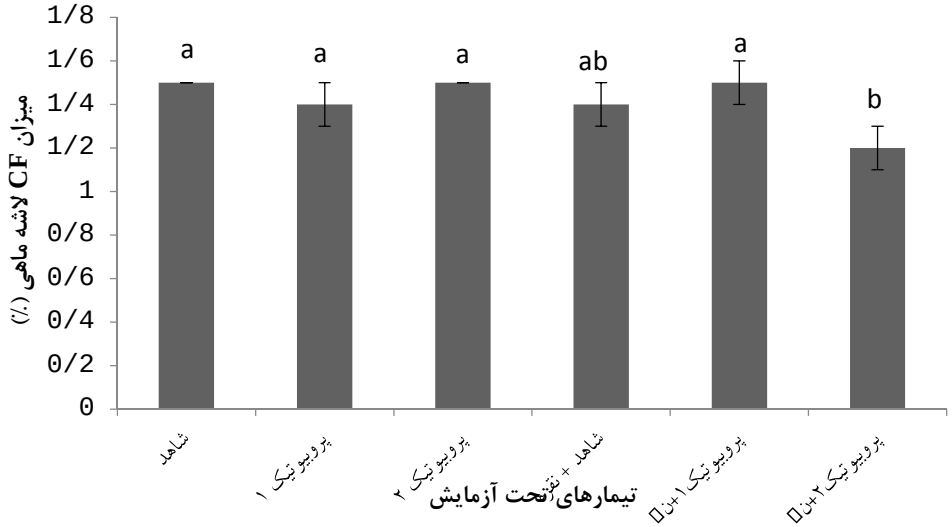
بررسی آماری داده‌ها نشان داد که در مجموع، تیمارهای آزمایشی بر شاخص درصد افزایش وزن بدن لاشه تاثیر معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵)، به طوری که درصد افزایش وزن بدن لاشه در تیمار پنج با مقدار ۹۶/۰۶ درصد در بالاترین سطح و در تیمار چهار با مقدار ۵۲/۲۷ درصد در پایین‌ترین بود. بنابراین، پروبیوتیک و نانونقره باعث کاهش این شاخص شد (شکل ۷).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها نشان داد که در مجموع، تیمارهای آزمایشی بر شاخص فاکتور وضعیت لاشه تاثیر معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵)، به طوری که فاکتور وضعیت در تیمارهای یک، سه و پنج با مقدار ۱/۵ درصد بالاترین سطح و در تیمار شش با مقدار ۱/۲ درصد پایین‌ترین سطح را داشت. پروبیوتیک و نانونقره تاثیر قابل ملاحظه‌ای بر شاخص فاکتور وضعیت نداشت (شکل ۸).

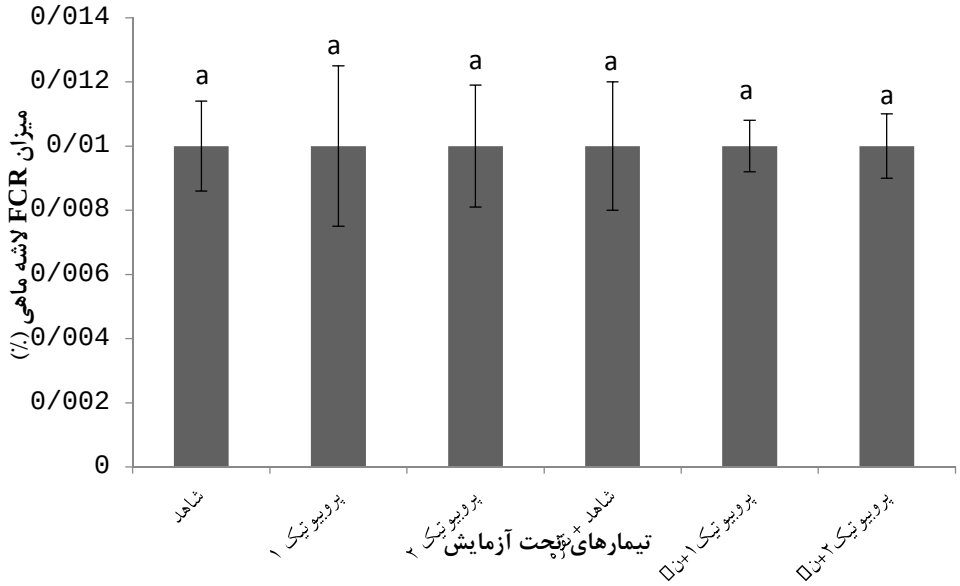
بررسی آماری داده‌ها نشان داد که در مجموع، تیمارهای آزمایشی بر شاخص FCR لاشه تاثیر معنی‌داری نداشت (P>۰/۰۵)، به طوری که مقدار عددی تیمارهای آزمایش نسبتا یکسان بود (شکل ۹).



شکل ۷: میزان درصد افزایش وزن بدن (PBWI) لاشه بچه ماهی کپور معمولی در تیمارهای مختلف آزمایشی (میانگین ± انحراف معیار). حروف انگلیسی متفاوت نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار است (P<۰/۰۵).



شکل ۸: میزان فاکتور وضعیت (CF) لاشه بچه ماهی کپور معمولی در تیمارهای مختلف آزمایشی (میانگین ± انحراف معیار). حروف انگلیسی متفاوت نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار است (P<۰/۰۵).



شکل ۹: میزان FCR لاشه بچه ماهی کپور معمولی در تیمارهای مختلف آزمایشی (میانگین ± انحراف معیار). حروف انگلیسی همسان نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار است (P>۰/۰۵).

بحث

بررسی و مقایسه میزان خاکستر و FCR لاشه بچه ماهیان کپور گروه شاهد و تیمارهای تغذیه شده با دو سطح پروبیوتیک (۱۰۶ و ۱۰۷ کلی‌فرم بر میلی‌لیتر) و سپس قرار گرفتن آن‌ها در معرض غلظت تحت کشنده نانونقره (۱ میلی‌گرم بر لیتر) نشان داد که دو سطح پروبیوتیک و نانونقره اثرات سویی را بر شاخص‌های مذکور بر جا نگذاشت. به طوری که آنالیز داده‌ها رابطه معنی‌داری را بین تیمارها نشان نداد (P>۰/۰۵). طی پژوهشی که طهماسبی (۱۳۹۳) به بررسی اثر تغذیه با جیره حاوی ویتامین E (آلفا توکوفرول استات) و نانوذرات سلنیوم بر شاخص‌های رشد، بقا، ترکیب لاشه، و میزان آنزیم گلوتاتیون پروکسیداز و مالون دی‌آلدهید کل بدن در ماهی سفید (*Rutilus frisii kutum*) پرداخت، نتایج آنالیز لاشه بچه ماهیان تغذیه شده با ویتامین E و نانوذرات سلنیوم نشان داد که این دو ریزمغذی تأثیری بر ترکیبات لاشه ماهیان نداشتند (P>۰/۰۵). در مطالعه‌ای دیگر که بر روی اثر منابع مختلف سلنیوم غذایی

(نانوذرات سلنیوم و سلنومتیونین) بر عملکرد رشد، ترکیب عضلانی و فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در ماهی کاراس (*Carassius auratus gibelio*) انجام شد که در طی این آزمایش ماهیان به مدت ۳۰ روز با نانوذرات سلنیوم تغذیه شده بودند نتایج هیچ گونه تفاوت معنی‌داری را از نظر ترکیبات عضلات (رطوبت، پروتئین خام، چربی خام و خاکستر خام) بین گروه‌های تغذیه شده با نانوذره مورد نظر و گروه شاهد نشان نداد (Zhou et al., 2009).

بررسی و مقایسه میزان فاکتور وضعیت، درصد افزایش وزن بدن و رطوبت لاشه بچه ماهیان کپور گروه شاهد و تیمارهای تغذیه شده با دو سطح پروبیوتیک ($۱۰^{۶}$ و $۱۰^{۷}$ کلی‌فرم بر میلی‌لیتر) و سپس قرار گرفتن آن‌ها در معرض غلظت تحت کشنده نانونقره نشان داد که دو سطح پروبیوتیک و نانونقره در بعضی از تیمارها اثرات سویی بر شاخص‌های مذکور داشت. به طوری که آنالیز داده‌ها رابطه معنی‌داری را بین تیمارها نشان داد ($P<۰/۰۵$). در مطالعه‌ای به بررسی تغییرات رشد و ترکیبات بیوشیمیایی بدن در معرض غلظت‌های تحت کشنده روی، طی دوره‌های مختلف در ماهی کپور معمولی پرداخته شد، که نتایج نشان داد شاخص‌های رشد با افزایش غلظت روی، کاهش یافتند (Abdel-Tawwab et al., 2006). جوهری و حسینی (۱۳۹۳) به بررسی سمیت تغذیه‌ای کلوئید نانوذرات نقره در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان پرداختند. در طی این مطالعه، ماهیان ابتدا به مدت ۵ هفته با جیره‌های غذایی محتوی ۰، ۲۰ و ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم نانوذرات نقره و سپس به مدت یک هفته با جیره‌های فاقد نانوذرات تغذیه شدند. در پایان نتایج نشان داد که غلظت بالای نانوذرات نقره در جیره غذایی ماهیان باعث کاهش اشتها و رشد ماهیان شد (جوهری و حسینی، ۱۳۹۳). در بررسی دیگر که بر اثرات استفاده از سطوح مختلف نانوذرات سلنیوم در رژیم غذایی بر عملکرد شاخص‌های رشد، ترکیب عضلانی، پروفیل‌های بیوشیمیایی خون و وضعیت آنتی‌اکسیدانی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) طی ۸ هفته انجام شد، تفاوت‌های معنی‌داری بین ماهیان تغذیه شده با نانوذره سلنیوم و گروه شاهد مشاهده شد (Ashouri et al., 2015). در مطالعه‌ای دیگر نشان داده شد که نرخ رشد ماهی *Sebartes schlegelli* با قرارگیری در معرض فلز مس، کاهش یافت (Kim and Kang, 2004). در مطالعه حاضر همسو با نتایج سایر پژوهشگران،

مقدار فاکتور وضعیت، درصد افزایش وزن بدن و رطوبت لاشه ماهی نسبت به تیمار شاهد کاهش یافت، که ترکیب پروبیوتیک و نانونقره توانست اثرات کاهشی میزان درصد افزایش وزن بدن و رطوبت لاشه ماهی را نسبتا تعدیل کند که به خاطر بر هم کنش نانونقره و پروبیوتیک *Lactobacillus casei* است که توانست بر تعادل میکروبی روده جاندار و تغییر فلور میکروبی مخاط روده، از اثرات مخرب نانونقره تا حدی جلوگیری کند. یک فرضیه برای این مشاهدات این است که قرار گرفتن در معرض غلظت‌های بالای نانونقره به نوبه خود منجر به کاهش اشتها ماهی، در نتیجه کاهش مصرف خوراک و به دنبال آن کاهش رشد ماهی می‌شود. فرضیه دیگر این است که با توجه به این که مصرف خوراک کاهش می‌یابد، انرژی مورد نیاز از طریق تجزیه مواد مغذی ذخیره‌سازی شده در بدن تامین می‌شود.

بررسی و مقایسه میزان پروتئین و افزایش وزن بدن بچه ماهیان کپور گروه شاهد و تیمارهای تغذیه شده با دو سطح پروبیوتیک ($۱۰^{۶}$ و $۱۰^{۷}$ کلی‌فرم بر میلی‌لیتر) و سپس قرار گرفتن آن‌ها در معرض غلظت تحت کشنده نانونقره نشان داد که شاخص‌های مذکور رابطه معنی‌داری را بین تیمارهای آزمایشی داشتند ($P<۰/۰۵$). در مطالعه‌ای که اثر بیوژن پروبیوتیک بر شاخص‌های رشد و ترکیب بدن بچه ماهی کپور معمولی در سه تیمار ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳ درصد پروبیوتیک و تیمار شاهد بدون پروبیوتیک به مدت ۶۰ روز مورد بررسی قرار گرفت، در پایان آزمایش نتایج نشان داد که میزان پروتئین تیمارهای آزمایشی با جیره شاهد دارای اختلاف معنی‌دار آماری بود و باعث افزایش این شاخص شد (Noveirian and Nasrollahzadeh, 2012). در مطالعه‌ای دیگر که به بررسی تغییرات رشد و ترکیبات بیوشیمیایی بدن بچه ماهیان تیلاپیا (۱۸/۱ و ۱۹/۱ گرمی) در معرض غلظت‌های تحت کشنده روی (۰، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر) طی دوره‌های مختلف (۷، ۱۴، ۲۸ و ۵۶ روز) پرداخته شد، نشان داده شد با افزایش غلظت فلز روی محتوای رطوبت کل بدن و خاکستر کل به طور قابل‌توجهی افزایش یافت، در حالی که پروتئین خام به طور قابل‌توجهی کاهش یافت (Abdel-Tawwab et al., 2006)، که همسو با نتایج پژوهش حاضر بود. برخلاف نتایج این پژوهش، در بررسی عملکرد رشد لارو ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) تغذیه شده با جیره‌های غذایی حاوی سطوح مختلف پروبیوتیک و مکمل آهن،

حداکثر مقدار پروتئین در جیره‌های حاوی پروبیوتیک و بدون مکمل آهن دیده شد (ناصری و همکارن، ۱۳۸۷). جعفریان و همکاران (۱۳۸۶) بـه بررسـی کارایی تغذیه و ترکیـب شـیمیایی بـدن لارو فیـل‌مـاهی (*Huso huso*) تغذیه شده با ناپلی آرتمیـای *Artemia urmiana* غنی شده با باسیلوس‌های پروبیوتیکی در سه سطح پرداختند و نتـایج بررسی آن‌ها نشـان داد کـه در تیمارهـای آزمایشـی، پروبیوتیـــک‌هـــا اثر افـزایشی معنـی‌داری بر پروتئین خام داشت ($P<۰/۰۵$).

در بررسی و مقایسه میزان چربی کپور ماهیان گروه شاهد و تیمارهای تغذیه شده با دو سطح پروبیوتیک ($۱۰^{۶}$ و $۱۰^{۷}$ کلی‌فرم بر میلی‌لیتر) و سپس قرار گرفتن آن‌ها در معرض غلظت تحت کشنده نانونقره نشان داد که شاخص مذکور در اثر دو سطح پروبیوتیک و نقره اثرات سویی را برجا گذاشت. به طوری که بررسی داده‌ها رابطه معنی‌داری را بین تیمارها نشان داد ($P<۰/۰۵$). به این ترتیب که پروبیوتیک و نانونقره منجر به افزایش میزان چربی لاشه شد، در حالی که ترکیب پروبیوتیک و نانونقره اثر افزایشی این میزان را تا حدی کاهش داد. طی یک بررسی که عملکرد رشد لارو ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در استفاده از سطوح مختلف پروبیوتیک و آهن مکمل شده در جیره غذایی مورد مطالعه قرار گرفت، مشخص شد که حداقل میزان چربی در جیرهای که حاوی پروبیوتیک و بدون مکمل آهن بود، دیده شد (ناصری و همکارن، ۱۳۸۷). در مطالعه‌ای که به بررسی تغییرات رشد و ترکیبات بیوشیمیایی بدن بچه ماهیان تیلاپیا در معرض غلظت‌های تحت کشنده روی (۰، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر) طی دوره‌های مختلف (۷، ۱۴، ۲۸ و ۵۶ روز) پرداخته شد، مشخص شد با افزایش غلظت فلز روی محتویات چربی کل به طور قابل‌توجهی کاهش یافت (Abdel-Tawwab et al., 2006). در مطالعه حاضر میزان چربی بر خلاف نتایج سایر پژوهشگران، پروبیوتیک و نانونقره باعث افزایش این میزان شد. اثر افزایشی چربی در تیمار با سطح بالاتر پروبیوتیک ($۱۰^{۷}$ کلی‌فرم بر میلی‌لیتر) بیشتر بود که می‌توان دلیل این افزایش چشمگیر را به سطح بالای پروبیوتیک نسبت داد که هر چه این میزان بیشتر باشد تولید ویتامین‌ها و تجزیه مواد غذایی که از مزایای پروبیوتیک‌ها است، بیشتر اتفاق می‌افتد و میزان چربی نیز به تبع آن افزایش می‌یابد (ناصری و همکارن،

۱۳۸۷). برخی تفاوت‌ها در نتایج گزارش شده توسط پژوهشگران مختلف را احتمالا می‌توان به نوع گونه پرورشی، اندازه، سن گونه پرورشی، طول دوره پرورش، شرایط محیطی و بهداشتی نگهداری موجود، رفتارهای تغذیه‌ای، ویژگی‌های فیزیولوژیکی موجود، نوع مواد اولیه به کار رفته در تهیه جیره و کمیت و کیفیت آن‌ها، فرمولاسیون جیره غذایی، درجه خلوص و میزان مورد استفاده آن در جیره، نحوه اضافه کردن مکمل به جیره و احتمالا فلور میکروبی ویژه‌ای که قادر به استفاده از آن به عنوان سوبسترا هستند، نسبت داد. این امر ممکن است بر تاثیر انواع مکمل‌های غذایی روی رشد و بازماندگی نیز موثر باشد (ناصری و همکارن، ۱۳۸۷).

به عنوان نتیجه‌گیری کلی، در این مطالعه پروبیوتیک به تنهایی توانست مقادیر شاخص چربی را افزایش دهد ولی مقادیر شاخص‌های رطوبت، پروتئین، درصد افزایش وزن بدن، افزایش وزن بدن و فاکتور وضعیت را کاهش دهد. نانونقره نیز شاخص‌های رطوبت، درصد افزایش وزن بدن، فاکتور وضعیت لاشه را کاهش و شاخص‌های چربی، پروتئین، افزایش وزن بدن را افزایش داد. ترکیب نانونقره و پروبیوتیک نیز توانست در شاخص‌های رطوبت، چربی و میزان درصدافزایش وزن بدن نقش مثبتی ایفا کند و منجر به تعدیل این شاخص‌ها شود. به علاوه، پروبیوتیک و نانونقره بر شاخص‌های خاکستر و FCR لاشه تاثیر قابل ملاحظه‌ای نداشتند. پژوهش حاضر، یک مطالعه مقدماتی است و به پژوهش‌های بیشتری درباره اثرات نانونقره بر حیات آبزیان از جمله ماهیان در زمینه‌های اکولوژیکی و زیست‌شناختی نیاز است.

تشکر و قدردانی

این پژوهش با حمایت‌های مادی و معنوی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان صورت گرفت. از همه بزرگوارانی که به نحوی در این پژوهش مساعدت نمودند، سپاسگزاری می‌نماییم.

منابع

جعفریان ح.، سلطانی م. و عابدیان ع.ا. ۱۳۸۶. استفاده از باسیلوس‌های پروبیوتیکی غنی شده با ناپلی آرتمیای ارومیانا برکارایی تغذیه و ترکیبات مغذی بدن لاروهای فیل‌ماهی (*Huso huso*). مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ۱۴(۱): ۶۶-۶۰.

جوهری ع. و حسینی س. ۱۳۹۳. سمیت تغذیه‌ای کلوئید نانوذرات نقره در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). مجله علمی شیلات ایران، ۲۰(۱): ۳۱-۲۱.

ستاری م.، شاهسونی د. و شفیعی ش. ۱۳۸۲. ماهی‌شناسی ۲. انتشارات حق‌شناس. ۵۹۷ص.

طهماسبی د. ۱۳۹۳. بررسی تغذیه با جیره حاوی ویتامین E (آلفا توکوفرول استات) و نانوذرات سلنیوم بر شاخص‌های رشد، بقا، ترکیب لاشه و میزان آنزیم گلوتاتیون پروکسیداز و مالون دی‌آلدهید کل بدن در ماهی سفید (*Rutilus frisii kutum*). پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان. ۵۶ص.

ناصری س.، بلوچی نظامی ش.، خارا ح.، فرزان‌فر ع. و لشتو آقایی غ. ۱۳۸۷. بررسی عملکرد رشد لارو ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در استفاده از سطوح متفاوت پروبیوتیک و آهن مکمل شده در جیره غذایی. مجله شیلات، ۲(۴): ۲۲-۱۵.

Abdel-Tawwab M., Khattab Y.A., Ahmad M.H. and Shalaby A.M. 2006. Compensatory growth, feed utilization, whole-body composition, and hematological changes in starved juvenile Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). Journal of Applied Aquaculture, 18(3): 17–36.

Arora S., Jain J., Rajwade J.M. and Paknikar K.M. 2008. Cellular responses induced by silver nanoparticles: In vitro studies. Toxicology Letters, 179(2): 93–100.

Ashouri S., Keyvanshokooh S., Salati A.P., Johari, S.A. and Pasha Zanoosi H. 2015. Effects of different levels of dietary selenium nanoparticles on growth performance, muscle composition, blood biochemical profiles and antioxidant status of common carp (*Cyprinus carpio*). Aquaculture, 446: 25–29.

Asz J., Asz D., Moushey R., Seigel J., Mallory S.B. and Foglia R.P. 2006. Treatment of toxic epidermal necrolysis in a pediatric patient with a nanocrystalline silver dressing. Journal of Pediatric Surgery, 41(12): 9–12.

Di Giulio R.T. and Hinton D.E. 2008. The Toxicology of Fishes. Taylor Francis. U.S.A. 1096P.

Fuller R. 1992. History and development of probiotics. P: 1–8. In: Fuller R. (Ed.). Probiotics: The Scientific Basis. Chapman and Hall, New York.

Kim J.S., Kuk E., Yu K.N., Kim J.H., Park S.J., Lee H.J., Kim S.H., Park Y.K., Park Y.H., Hwang C.Y. and Kim Y.K. 2007. Antimicrobial effects of silver nanoparticles. Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine, 3(1): 95–101.

Kim S.G. and Kang J.C. 2004. Effect of dietary copper exposure on accumulation, grows and hematological parameters of the juvenile rockfish, *Sebastes schlegeli*. Marine Environmental Research, 58: 65–82.

Noveirian H.A. and Nasrollahzadeh A. 2012. The effects of different levels of biogen probiotic additives on growth indices and body composition of juvenile common carp. Aquaculture, 289: 310–316.

Zhou X., Wang Y., Gu Q. and Li W. 2009. Effects of different dietary selenium sources (selenium nano-particle and selenomethionine) on growth performance, muscle composition and glutathione peroxidase enzyme activity of crucian carp (*Carassius auratus gibelio*). Aquaculture, 291(1): 78–81.

Ziaei-Nejad S., Habibi Rezaei M., Azari Takami G., Lovett D.L., Mirvaghefi A.R. and Shakouri M. 2006. The effect of *Bacillus* spp. bacteria used as probiotics on digestive enzyme activity, survival and growth in the Indian white shrimp *Fenneropenaeus indicus*. Aquaculture, 252(2–4): 516–524.

Aquatic Physiology and Biotechnology
Vol. 5, No. 4, Winter 2018

The effects of probiotic *Lactobacillus casei* and silver nano-particle levels on growth performance and carcass composition of common carp (*Cyprinus carpio*) fry

Ruhollah Sheikh Veisi[1], Tahere Bagheri[2], Habibollah Sanchooli[3], Seyed Ali Akbar Hedayati[4]*

Received: December 2016 Accepted: March 2017

Abstract

The aim of this study was to investigate the growth parameters and carcass composition of common carp (Cyprinus carpio) treated by silver nanoparticles and probiotic Lactobacillus casei. A total of 250 fry carp with mean weight 23±2.4g were divided into three treatments include without probiotics, probiotics level A (106 CFU/mL) and level B (107 CFU/mL) for 42 days. Each group was exposed to 50% of nano-silver LC50 for 10 days. Protein was determined with total nitrogen by a Kjeldahl method, crude fat by fat dissolving in the ether and determines where to Soxhlet, ash by putting the sample in electric oven and moisture was measured by drying the samples. Results showed that moisture, body weight index (BWI) and condition factor (CF) were reduced in nano silver treatments; however, fat, protein and BWI increased within the influence of nanosilver. Although neutralize the effect of probiotic on nanosilver had the positive effect on moisture, fat and BWI indices. In conclusion, probiotics neutralize some undesirable effects of silver and had a positive synergistic effect on the growth of common carp fry.

Key words: *Aquatic, Nanoparticle, Resistance Improvement, Probiotic.*

1- PhD Student in Aquatic Production and Exploitation, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.
2- Assistant Professor in Offshore Fisheries Research Center, Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization, Chabahar, Iran.
3- M.Sc. Student in Aquaculture, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.
4- Associate Professor in Department of Aquatic Production and Exploitation, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.
*Corresponding Author: Hedayati@gau.ac.ir