

بررسی اثرهای پروبیوتیک لاکتوباسیلوس رامنوسوس (*Lactobacillus rhamnosus*) و سیاه‌دانه (*Nigella sativa*) بر شاخص‌های رشد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

حبیب‌الله محمدی^۱، ناصر آق^۲

امیر توکمه‌چی^۳، فرزانه نوری^۴

تاریخ دریافت: ۹۰/۳/۱۵

تاریخ تصویب: ۹۰/۱۰/۲۷

چکیده

در این تحقیق، اثرهای پروبیوتیک لاکتوباسیلوس رامنوسوس و پودر سیاه‌دانه در شاخص‌های رشد و تغذیه‌ی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بررسی شد. جیره‌های غذایی استفاده‌شده، شامل تیمار (۱)، غذای تجاری قزل‌آلا (شاهد)؛ تیمار (۲)، غذای شاهد دارنده‌ی پروبیوتیک لاکتوباسیلوس رامنوسوس (10^8 CFU) در هر کیلوگرم غذا؛ تیمارهای (۳، ۴ و ۵) غذای شاهد دارنده‌ی به‌ترتیب ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ گرم پودر سیاه‌دانه در هر کیلوگرم غذا و 10^8 CFU پروبیوتیک لاکتوباسیلوس رامنوسوس در هر گرم غذا بود.

تعداد ۹۰۰ قطعه بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با میانگین وزنی ۳۶ گرم، در ۱۵ حوضچه‌ی بتنی حاوی ۴۰۰ لیتر آب چاه (۶۰ قطعه در هر حوضچه)، به مدت ۶۰ روز، پرورش داده شدند. به ماهیان سه وعده در روز غذا داده شد. بیشترین افزایش وزن، طول استاندارد، ضریب رشد و ویژه، نسبت کارایی غذا و میزان غذاگیری روزانه و کمترین میزان ضریب تبدیل غذا، در تیمار ۲۵ گرم پودر سیاه‌دانه‌ی پروبیوتیک دیده شد، که با تیمار ۱۰۰ گرم پودر سیاه‌دانه‌ی حاوی پروبیوتیک و تیمار شاهد اختلاف معنی‌دار نشان داد ($p > 0.05$).

۱. گروه شیلات، دانشکده‌ی منابع طبیعی، دانشگاه ارومیه، پژوهشکده‌ی آرتمیا و جانوران آبزی دانشگاه ارومیه.

۲. استاد گروه بیولوژی و تکثیر و پرورش آبزیان، پژوهشکده‌ی آرتمیا، دانشگاه ارومیه. agh1960@gmail.com

۳. پژوهشکده‌ی آرتمیا و جانوران آبزی دانشگاه ارومیه.

۴. پژوهشکده‌ی آرتمیا و جانوران آبزی دانشگاه ارومیه.

واژه های کلیدی: قزل‌آلای رنگین‌کمان، پروبیوتیک لاکتوباسیلوس رامنوسوس، سیاه‌دانه،

شاخص‌های رشد.

مقدمه

ماهیان بود (Salinas et al., 2005). این باکتری‌ها، با تأثیرگذاری بر فلور میکروبی روده‌ی میزبان، اثرهای بسیار خوبی در بهینه‌سازی جمعیت روده‌ی میزبان دارند و با فعالیت‌های متابولیکی تأثیر بسیار مطلوبی در افزایش کیفیت هضم و جذب مواد غذایی، افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی و ارتقای معیارهای رشد و بازماندگی در ماهی میزبان دارند.

لاکتوباسیلوس رامنوسوس (*Lactobacillus rhamnosus*) از پروبیوتیک‌هایی است که کاربرد آن در سال‌های گذشته برای ارتقای رشد و بازماندگی و بهبود سیستم ایمنی در ماهی موفق بوده است (Nikoskelainen et al., 2003, Panigrahi et al., 2004, 2005).

در سال‌های اخیر، به استفاده از گیاهان دارویی در مراحل مختلف پرورش برخی از حیوانات و پیشگیری از بیماری‌های آنان، به‌طور خاص، توجه شده است. از میان گیاهان دارویی مطالعه‌شده، سیاه‌دانه (*Nigella sativa*) گیاهی شگفت‌انگیز با پیشینه‌ی تاریخی است (Mohamad and Daradka, 2009). سیاه‌دانه گیاهی یک‌ساله، گلدار و بومی جنوب غربی آسیا است. نام علمی این گیاه *Nigella sativa* و از خانواده‌ی *Caryophyllaceae* است (قاسمی، ۱۳۸۸). سیاه‌دانه، از گیاهان دارویی با اثرهای بسیار قوی در کمک به رشد، بازماندگی و مقاومت در برابر انواع استرس و همچنین افزایش

تکثیر و پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، در ایران، بخش مهمی از صنعت آبی‌پروری است. (سالنامه‌ی آماری سازمان شیلات ایران، ۱۳۸۸). بنابراین، آگاهی کامل از نیازهای زیستی این ماهی و شناختن عوامل مؤثر در رشد، افزایش وزن و میزان مقاومت در برابر شرایط و عوامل محیطی برای تولید بیشتر در واحد سطح ضروری است (عمادی، ۱۳۸۳). غذا و غذادهی از فاکتورهای مهم مؤثر در رشد، ضریب تبدیل غذا و ترکیب لاشه‌ی ماهیان در پرورش متراکم است. اکنون، درباره‌ی تغذیه‌ی ماهی قزل‌آلا، بیشتر تحقیق می‌شود و تلاش می‌شود خوراکی با کیفیت بالاتر از آن تولید شود.

باکتری‌های پروبیوتیک یا زیست‌یار، میکروارگانیسم‌هایی هستند که اگر به مقدار کافی در اختیار میزبان قرار گیرند، تأثیرهای سودمندی در سلامتی جانور میزبان ایجاد می‌کنند (Reid et al., 2003). استفاده از پروبیوتیک‌ها، مدت‌زمان زیادی است که برای بهبود انسان و همچنین به‌منزله‌ی مکمل‌های رشد حیوانات اهلی مرسوم بوده است (Stavric and Kornegay, 1995; Mombelli and Gismondo, 2000; Ouwehand et al., 2002; Senok et al., 2005; Sullivan and Nord, 2002). استفاده از پروبیوتیک‌ها برای پرورش آبزیان، برای نخستین بار، در اواخر دهه‌ی ۱۹۸۰ شروع شد. در آن زمان، اکثر مطالعه‌های انجام‌شده درباره‌ی اثرهای پروبیوتیک‌ها در لارو و غذای زنده‌ی لارو

مقاومت در موجودات مختلف شناخته شده است (Mahdi, 1993, Khalil *et al.*, 2001).

با توجه به اهمیت استفاده از پروبیوتیک‌ها و گیاهان دارویی در غذا، در این تحقیق، اثرهای افزودن پروبیوتیک لاکتوباسیلوس رامنوسوس و پودر سیاه‌دانه به جیره‌ی غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان و نقش آن در بهبود پارامترهای رشد و بازماندگی ماهی بررسی شد. تا کنون، در ارتباط با اثرهای ترکیبی پروبیوتیک لاکتوباسیلوس رامنوسوس و گیاه دارویی سیاه‌دانه هیچ تحقیق مشابهی انجام نشده است.

مواد و روش‌ها

شرایط پرورش ماهی

برای انجام این آزمایش ۵ تیمار مختلف غذایی، و برای هر تیمار ۳ تکرار در نظر گرفته شد. در این آزمایش ۹۰۰ قطعه بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین کمان، با میانگین وزنی 36 ± 1 گرم، پس از انجام عملیات بهداشتی و ضدعفونی کردن، در ۱۵ حوضچه‌ی بتنی ۴۰۰ لیتری (۶۰ قطعه در هر حوضچه) توزیع شد.

آب لازم برای پرورش ماهی‌ها از یک حلقه چاه عمیق تأمین شد و دبی آب همه‌ی حوضچه‌ها، ۲۰ لیتر در دقیقه، تنظیم شد. اشاره به نحوه‌ی ضدعفونی کردن ضروری است

اندازه‌گیری فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب محیط پرورش

در طول دوره‌ی پرورش، پارامترهای فیزیکی و شیمیایی آب، شامل اکسیژن محلول، pH و دمای آب حوضچه‌ها، روزانه، به ترتیب، با استفاده از دستگاه دیجیتال اکسی‌متر و pH متر ساخته‌ی شرکت CRISON اسپانیا ثبت شد. برای اندازه‌گیری میزان نیترات، نیتريت و آمونیاک آب ورودی و خروجی هر یک از حوضچه‌ها از دستگاه فتومتر ۷۵۰۰ ساخته‌ی شرکت پالین انگلستان استفاده شد. میانگین شاخص‌های اندازه‌گیری شده در طول دوره‌ی پرورش، در جدول شماره‌ی ۱ نشان داده شده است.

جدول شماره‌ی ۱: میانگین پارامترهای آب استفاده‌شده برای پرورش ماهی هنگام آزمایش

میزان	فاکتورها
۸/۵±۰/۵	O ₂ (میلی گرم در لیتر)
۱۵±۱	دما (درجه‌ی سانتیگراد)
۷/۵-۱۸۵	pH
۲	CO ₂ (میلی گرم در لیتر)
۰/۰۲۵	آمونیاک NH ₃ (میلی گرم در لیتر)
۰/۱۲۵	آمونیم NH ₄ ⁺ (میلی گرم در لیتر)
۰/۰۱	نیتريت NO ₂ (میلی گرم در لیتر)

ترکیب شیمیایی سیاه‌دانه‌ی استفاده‌شده در تحقیق

میزان چربی و پروفیل اسیدهای چرب سیاه‌دانه استفاده‌شده در جیره‌های غذایی با روش سوکسله و با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی تعیین شد.

جدول شماره ۲: میزان چربی و پروفیل اسیدهای چرب اشباع پودر سیاه‌دانه (درصد از کل اسیدهای چرب)

چربی تام	C14:0	C15:0	C16:0	C17:0	C18:0	C20:0
۲۲/۵۴	۰/۱۵	۰/۰۶	۱۲/۱۳	۰/۰۷	۳/۱۳	۰/۲۵

جدول شماره ۳: پروفیل اسیدهای چرب غیراشباع پودر سیاه‌دانه (درصد از کل اسیدهای چرب)

C16:1n7	C18:1n9	C18:1n7	C18:2n6	C18:3n3	C20:1n9	C20:2n6	C20:3n3
۰/۲۸	۲۲/۴۵	۰/۸۷	۵۲/۲۸	۲/۶۳	۰/۳۶	۲/۵۷	۰/۰۷

تهیه‌ی غذا و غذادهی

(BCCM/LMG 18243) تهیه شد. باکتری مذکور در محیط آبگوشت (Merck, MRS⁶ Germany)، به مدت ۲۴-۱۸ ساعت، در دمای ۳۷°C و شرایط هوازی و در انکوباتور شیکردار کشت، و غلظت آن‌ها با استفاده از لوله‌های استاندارد مک‌فارلند تنظیم شد.

برای انجام دادن این تحقیق باکتری لاکتوباسیلوس رامنوسوس با تراکم 10^8 CFU، به‌ازای هر گرم غذا افشانده شد و نمونه غذا، به مدت دو ساعت، در دمای اتاق خشک شد. لازم است ذکر شود که روی غذای گروه شاهد، فقط سرم فیزیولوژی استریل افشانده شد (Brunt et al., 2003). غذاهای حاوی پروبیوتیک، هر دو روز یک بار، تهیه و در ظرف‌های پلاستیکی دربسته، در یخچال (۴ درجه‌ی سانتیگراد)، نگهداری می‌شد. در ضمن، برای اطمینان از تعداد باکتری‌های زنده‌ی موجود در غذا، از قسمت‌های مختلف غذا نمونه‌برداری و شمارش باکتریایی انجام شد. برای شمارش باکتری‌های

تیمارهای غذایی استفاده‌شده در این آزمایش عبارت‌اند از: تیمار (۱)، غذای قزل‌آلای شرکت اصفهان مکمل (شاهد)؛ تیمار (۲)، غذای شاهد حاوی 10^8 CFU پروبیوتیک لاکتوباسیلوس رامنوسوس در هر کیلوگرم غذا؛ تیمارهای (۳)، (۴)، (۵) غذای شاهد حاوی به‌ترتیب، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ گرم پودر سیاه‌دانه و 10^8 CFU پروبیوتیک لاکتوباسیلوس رامنوسوس در هر کیلوگرم غذا.

ترکیب اصلی غذا به این صورت بود: پروتئین خام، ۴۰ درصد؛ چربی، ۱۴ درصد؛ کربوهیدرات، ۱۵ درصد؛ خاکستر، ۱۱ درصد؛ فیبر، حداکثر ۴ درصد؛ مواد معدنی، ۱/۵ درصد؛ رطوبت، حدود ۱۱/۵ درصد؛ سایر افزودنی‌ها، ۳ درصد.

کشت پروبیوتیک و افزودن آن به غذا

پروبیوتیک لاکتوباسیلوس رامنوسوس لازم برای مطالعه، از مرکز کلکسیون میکروارگانیزم بلژیک^۵

2. De Man, Rogosa and Sharpe

1. Belgium Co-ordinated Collection of Microorganism

۶. میزان غذاگیری روزانه =

$$DFI=100 \times [(TF/fish) \div (IW-FW)^{1/2} \div D];$$

Hatlen et al. 2005

نتایج

بررسی وجود پروبیوتیک در غذا

کشت غذاهای تهیه شده با لاکتوباسیلوس رامنوسوس در محیط کشت اختصاصی MRS، وجود این باکتری را در تیمارهای غذایی افزوده ثابت کرد. نتایج آزمایش نشان داد که هر گرم غذای تیمارهای آزمایشی، به طور متوسط، حاوی $10^7 \times 9/3$ CFU باکتری لاکتوباسیلوس رامنوسوس بود؛ در حالی که این پروبیوتیک در غذای گروه شاهد وجود نداشت.

بیومتری و بازماندگی

نتایج آزمایش، به طور خلاصه، در جدول شماره ۴ نشان داده شده است. آنالیز آماری نتایج، بیشترین میانگین افزایش وزن را در ماهیان تغذیه شده با ترکیب ۲۵ گرم پودر سیاه دانه و پروبیوتیک (تیمار ۳) با $114/17$ g نشان داد، که با تیمارهای غذای شاهد به اضافه پروبیوتیک (تیمار ۲)، و ۵۰ گرم پودر سیاه دانه به اضافه پروبیوتیک (تیمار ۴)، اختلاف معنی داری نداشت؛ در حالی که با تیمارهای شاهد و ۱۰۰ گرم پودر سیاه دانه به اضافه پروبیوتیک (تیمارهای ۱ و ۵) اختلاف معنی دار داشت ($p < 0/05$). درصد افزایش وزن روزانه (SGR) در ماهیانی که از تیمار غذایی ۲۵ گرم پودر سیاه دانه به اضافه پروبیوتیک تغذیه کردند، بیشترین میزان ($1/92$ درصد) بود، که با تیمار ۱۰۰ گرم پودر سیاه دانه به اضافه پروبیوتیک و شاهد (به ترتیب با

موجود در هر گرم غذا، به کمک محلول PBS، استریل رقت سریال از 10^{-1} تا 10^{-6} تهیه و شمارش باکتریایی زنده روی محیط MRS انجام شد. غذادهی ماهیان به صورت سیری ظاهری و سه وعده در روز (در ساعت‌های ۸، ۱۲ و ۲۰) انجام شد. ماهیان در این شرایط، به مدت ۶۰ روز، پرورش داده شدند.

زیست‌سنجی ماهی

در ابتدای دوره (روز صفر)، همزمان با تقسیم ماهی‌ها در استخرهای پرورشی، ۱۰ قطعه ماهی، به طور تصادفی، انتخاب و زیست‌سنجی شدند. در طول دوره پرورش در روزهای ۱۶، ۳۱، ۴۶ و ۶۱، فاکتورهای رشد و تغذیه‌ی ماهی (وزن تر، طول استاندارد، نرخ رشد ویژه (SGR)، ضریب تبدیل غذا (FCR)، ضریب چاقی (CF)، نسبت کارایی غذا (FER)، میزان غذاگیری روزانه (DFI) و درصد بازماندگی سنجیده شد. شاخص‌های رشد ماهیان طبق فرمول‌های زیر محاسبه شد:

$$1. \text{افزایش وزن} = (FBW - IW) / (WG) \text{ (Huang et al., 2008)}$$

$$2. \text{نرخ رشد ویژه} = SGR = (\ln wf - \ln wi) \times 100 / t \text{ (Huang et al., 2008)}$$

$$3. \text{ضریب تبدیل غذایی} = FCR = f / (wf - wi) \text{ (Turchini et al., 2003)}$$

$$4. \text{ضریب چاقی} = Cf = w / L^3 \times 100 \text{ (Grant et al., 2008)}$$

$$5. \text{نسبت کارآیی غذا} =$$

$$\text{(Grant et al., 2008)} \quad FER(g) = TWG(g) / TF(g) \times$$

از نظر فاکتور وضعیت (CF)، میان تیمارها اختلاف معنی داری مشاهده نشد ($p > 0.05$). همچنین تیمار ۲۵ گرم پودر سیاه دانه به اضافه پروبیوتیک، بیشترین میزان جذب روزانه غذا (DFI) بود که با تیمار ۱۰۰ گرم پودر سیاه دانه به اضافه پروبیوتیک اختلاف معنی دار داشت ($p < 0.05$). نسبت کارایی غذایی (FER) در ماهیان تغذیه شده با ترکیب ۲۵ گرم پودر سیاه دانه و پروبیوتیک با ۱/۴۸ گرم، بیشترین میزان بود که با تیمار شاهد و ۱۰۰ گرم پودر سیاه دانه به اضافه پروبیوتیک اختلاف معنی دار داشت ($p < 0.05$).

نتایج این تحقیق نشان داد که افزودن پودر سیاه دانه با پروبیوتیک لاکتوباسیلوس رامنوسوس به غذای ماهی قزل آلا در شاخص های رشد آن به طور معنی داری اثر می گذارد.

۱/۶۲ و ۱/۷۲ درصد) اختلاف معنی دار نشان داد ($p < 0.05$).

بیشترین میانگین طول استاندارد (۱۹/۰۷ سانتی متر) در ماهیانی دیده شد که با غذای حاوی ۲۵ گرم پودر سیاه دانه به اضافه پروبیوتیک تغذیه شده بودند؛ به طوری که این تیمار با تیمار شاهد و گروه تغذیه شده با ترکیب ۱۰۰ گرم پودر سیاه دانه و پروبیوتیک، اختلاف معنی دار داشت ($p < 0.05$). کمترین میزان ضریب تبدیل غذا (۱/۱۳)، به گروه تغذیه شده با تیمار ۲۵ گرم پودر سیاه دانه حاوی پروبیوتیک مربوط بود، که با تیمار غذای شاهد به اضافه پروبیوتیک و تیمار ۵۰ گرم پودر سیاه دانه حاوی پروبیوتیک اختلاف معنی داری نداشت؛ ولی با تیمار شاهد و تیماری که از ترکیب ۱۰۰ گرم پودر سیاه دانه با پروبیوتیک استفاده کرده بودند، اختلاف معنی دار داشت ($p < 0.05$).

جدول شماره ۴: میانگین فاکتورهای رشد تغذیه‌ی ماهیان در تیمارهای مختلف آزمایشی

تیمار ۵	تیمار ۴	تیمار ۳	تیمار ۲	تیمار ۱	۴
۹۵/۳۳±۲/۷۴ ^a	۱۱۱±۲/۶۵ ^c	۱۱۴/۱۷±۴/۶۵ ^c	۱۱۰/۶۷±۱/۸۹ ^c	۱۰۱±۰/۵ ^b	وزن نهایی (g) FW
۵۹/۲۳±۲/۷۴ ^a	۷۵±۲/۵۵ ^c	۷۸/۲۵±۴/۵۵ ^c	۷۴/۴۶±۱/۷۵ ^c	۶۵±۰/۴ ^b	افزایش وزن (g)
۱۸/۲±۰/۱۵ ^a	۱۸/۹۶±۰/۱۳ ^b	۱۹/۰۷±۰/۲۶ ^b	۱۸/۸۶±۰/۳۱ ^b	۱۸/۴±۰/۱ ^a	طول نهایی SL (cm)
۱/۶۲±۰/۰۴ ^a	۱/۸۸±۰/۰۴ ^c	۱/۹۲±۰/۰۷ ^c	۱/۸۷±۰/۰۳ ^c	۱/۷۲±۰/۰۱ ^b	نرخ رشد ویژه SGR
۱/۳۴±۰/۰۵ ^b	۱/۱۷±۰/۰۵ ^a	۱/۱۳±۰/۰۸ ^a	۱/۱۹±۰/۰۴ ^a	۱/۳۹±۰/۰۳ ^b	ضریب تبدیل غذا FCR
۱/۵۸±۰/۰۵	۱/۶۳±۰/۰۶	۱/۶۵±۰/۰۱	۱/۶۵±۰/۰۷	۱/۶۲±۰/۰۴	ضریب چاقی CF
۱/۲۴±۰/۰۴ ^a	۲/۹۸±۰/۰۵ ^b	۳/۰۵±۰/۱۵ ^b	۳±۰/۱۸ ^b	۲/۸۷±۰/۰۷ ^b	میزان غذاگیری روزانه DFI (g)
۱/۲۴±۰/۰۵ ^a	۱/۴۲±۰/۰۶ ^b	۱/۴۸±۰/۱ ^b	۱/۴۰±۰/۰۴ ^b	۱/۱۹±۰/۰۳ ^a	نسبت کارایی غذایی FER (g)

مقادیر در جدول میانگین انحراف معیار سه تکرار از هر تیمار می باشند (n=9). اعداد در هر ستون با حروف متفاوت اختلاف معنی دار دارند ($p < 0.05$).

بحث

هضم و جذب مواد غذایی باعث افزایش شاخص - های رشد آبری می شوند.

در تیمارهای غذای شاهد حاوی 10^8 CFU/g لاکتوباسیلوس رامنوسوس و غذای شاهد حاوی ۲۵ و ۵۰ گرم سیاه دانه در هر کیلوگرم غذا به اضافه لاکتوباسیلوس رامنوسوس، بیشترین میزان فاکتورهای رشد و کمترین میزان ضریب تبدیل غذا (FCR) دیده شد، که با تیمار شاهد اختلاف معنی دار داشت ($P < 0.05$). یکی از عوامل افزایش فاکتورهای رشد و کاهش ضریب تبدیل غذا در تیمارهای مذکور می تواند اثرهای مثبت پروبیوتیک لاکتوباسیلوس رامنوسوس بر هضم و جذب غذا باشد؛ بهبود گوارش غذا باعث افزایش اشتها شده و در نتیجه، وزن نهایی، طول نهایی، SGR و CF افزایش یافته اند. همچنین، وجود مقادیر کافی اسیدهای چرب غیراشباع در سیاه دانه می تواند علت دیگر افزایش رشد در تیمارهای حاوی پودر سیاه دانه باشد.

Babayan و همکاران (۱۹۷۸) گزارش کردند که پودر سیاه دانه مقادیر کافی اسیدهای چرب اولئیک، لینولئیک و لینولنیک دارد که در بدن مهره داران سنتز نمی شوند. میزان اسیدهای چرب اولئیک (18:1n9)، لینولئیک (18:2n6) و لینولنیک (18:3n3) در پودر سیاه دانه ی افزوده به جیره در این تحقیق، به ترتیب، برابر با ۲۲/۴۵، ۵۲/۲۸ و ۲/۶۳ درصد از کل اسیدهای چرب بود. ماهیان آب شیرین، مانند قزل آلا، می توانند اسیدهای چرب لینولئیک و لینولنیک را به اسیدهای چرب بلند

لاکتوباسیلوس رامنوسوس (*Lactobacillus rhamnosus*) به منزله ی یک پروبیوتیک باکتریایی مفید و مؤثر شناخته شده است. محققان زیادی تأثیر مثبت پروبیوتیک ها در فاکتورهای رشد ماهی و میگو را اثبات کرده اند (Phianphak et al., 1999; Vine et al., 2006; Wang and Xu, 2004; Wang et al., 2005; Wang and Xu, 2006; Wang, 2007; Kesarcodi-Watson et al., 2008). نتایج تحقیق ما نشان داد که افزودن لاکتوباسیلوس رامنوسوس، به تنهایی یا به صورت ترکیبی، و همچنین افزودن پودر سیاه دانه به جیره ی ماهی قزل آلا باعث بهبود معنی دار شاخص های رشد می شود.

ماهیانی که از غذای شاهد حاوی 10^8 CFU/gr لاکتوباسیلوس رامنوسوس، به تنهایی، یا به صورت ترکیب با ۲۵ گرم پودر سیاه دانه در هر کیلوگرم غذا تغذیه کردند، بیشترین میزان CF را داشتند. هر چند اختلاف آماری معنی داری بین تیمارها دیده نشد، با تیمار شاهد اختلاف معنی دار داشتند ($P < 0.05$). نتایج حاصل از تغذیه ی ماهی با غذای تجاری حاوی 10^8 CFU لاکتوباسیلوس رامنوسوس در هر گرم غذا با نتایج تحقیقات Nikoskelainen (۲۰۰۳)، Gomez-Gill (۲۰۰۰) و Mmerrifield (۲۰۱۰)، که اثرهای مثبت پروبیوتیک را در فاکتورهای رشد ماهی و میگو بررسی کردند، مطابقت دارد. بر اساس یافته های آن ها برخی از پروبیوتیک ها، از قبیل لاکتوباسیلوس رامنوسوس، اشتها را افزایش و سلامتی را بهبود می بخشد و از طریق بهبود قابلیت

نیز نشان دادند که اسیدهای چرب غیراشباع بلند زنجیره‌ی (PUFA) می‌توانند بر میکروفلور روده تأثیر مثبت داشته باشند. نقش بیولوژیکی این اسیدهای چرب موجود در سیاه‌دانه به اثبات رسیده است، به طوری که علاوه بر داشتن خواص آنتی‌باکتریایی و آنتی‌اکسیدانی (Al-Harathi, 2004) باعث تحریک آنزیم‌های گوارشی در مخاط روده و پانکراس می‌شوند. ترشح این آنزیم‌ها سبب بهبود هضم و جذب مواد غذایی و کاهش ضریب تبدیل غذا می‌شود که در نهایت، می‌تواند موجب افزایش سرعت رشد شود (Lee *et al.*, 2004).

Takruri و Dameh (۱۹۹۸) ۱۵ اسید آمینه از پروتئین‌های موجود در سیاه‌دانه را شناسایی کردند که از میان آن‌ها ۸ اسید آمینه برای رشد طیور ضروری است. همچنین، یافته‌ی در خور توجه دیگر اثر سیاه‌دانه در تحریک سیستم گوارش طیور و پستانداران (Jamroz and Kamel, 2002; Ramakrishna *et al.*, 2003) و همچنین تحریک ترشح آنزیم لیپاز پانکراس است که می‌تواند به هضم و جذب ویتامین‌های محلول در چربی کمک کند (Crossland, 1980).

دلیل پایین بودن شاخص‌های رشد در تیمار حاوی ۱۰۰ گرم پودر سیاه‌دانه نسبت به تیمارهای حاوی ۲۵ و ۵۰ گرم سیاه‌دانه در هر کیلوگرم غذا می‌تواند اثرهای جانبی غلظت بالای سیاه‌دانه باشد؛ به طوری که غلظت بالای سیاه‌دانه در جیره باعث تغییر رنگ، مزه و بوی غذا شده است، که این عوامل

زنجیره‌ی غیراشباع یعنی آراشیدونیک اسید (ARA) (18:4n6)، ایکوزاپنتانویک اسید (EPA) (20:5n3) و دکوزاهگزانویک اسید (DHA) (22:6n3) تبدیل کنند.

بسیاری از محققان تأثیر این اسیدهای چرب را در رشد انواع ماهی‌ها، مانند ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، اثبات کرده‌اند (Sorgeloos and Léger, 1992; Tuncer and Harrell, 1992; Koven, *et al.*, 1992; Ozkizilicik and Chu, 1994; Webster and Lim, 2002). بنابراین، افزایش میزان اسیدهای چرب جیره در تیمارهای حاوی ۲۵ و ۵۰ گرم سیاه‌دانه را می‌توان از دلایل اصلی بهبود رشد در این تیمارها به‌شمار آورد.

نتایج تحقیقات Khaled و همکاران (۲۰۰۹)، Durrani و همکاران (۲۰۰۷)، Ibrahim و همکاران (۲۰۰۸) و Ziad و همکاران (۲۰۰۸) درباره‌ی تأثیر سیاه‌دانه در فاکتورهای رشد ماهی، میگو و بعضی حیوانات پرورشی نشان داده است که افزودن سیاه‌دانه سبب افزایش میزان رشد و بازماندگی بیشتر می‌شود. این نتایج با نتایج تحقیق ما مشابهت دارد. Ziad و همکاران، در سال ۲۰۰۸، با بررسی اثر سیاه‌دانه بر فاکتورهای رشد و تغذیه‌ی طیور پرورشی به این نتیجه رسیدند که افزودن ۱۵ g/kg پودر سیاه‌دانه به جیره‌ی غذایی می‌تواند سبب بهبود بقا، افزایش ضریب رشد ویژه و کاهش ضریب تبدیل غذا شود. محققان نام‌برده دلایل اثرهای مثبت پودر سیاه‌دانه را وجود روغن‌های فرار (volatile oil) (Hay and Waterman, 1993) و اسیدهای چرب ضروری (Oyen and Dung, 1999) در آن دانسته‌اند. Hekmatdoost و همکاران (2008)

- Babayan, V.K., Koottungal, D., Halaby, G.A., (1978). "Proximate analysis, fatty acid and amino acid composition of *Nigella sativa* L. seeds". *Food Sciences*, 43(4), 1314-1315.
- Brunt J. and Austin B. (2005). "Use of probiotic to control lactococcosis and streptococcosis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)". *Journal of fish disease*. 28: 693-701.
- Crossland, J., (1980). *Lewis Pharmacology*, 5th (Eds). Churchill Livingstone: London. N.Y., pp. 656-657.
- Durrani F.R., Chand N., Zaka K., Sultan A., Khattak F.M., Durrani Z., (2007). "Effect of different levels of feed added black seed (*nigella sativa* l.) On the performance of broiler chicks". *Biological sciences*. 10 (22): 15. 4164-4167.
- Gomez-Gill B., Rouque A., Turnbull J. F.(2000). "the use and selection of probiotic bacteria for use in the culture of larva aquatic organisms; aquaculture". 191: 259-270.
- Grant, A. A. M.; Baker, D.; Higgs, D.A.; Brauner, C.J.; Richards, J.G.; Balfry, S.K. and Schulte, P.M., (2008). "Effects of dietary canola oil level on growth, fatty acid composition and osmoregulatory ability of juvenile fall Chinook (*Oncorhynchus tshawytscha*)". *Aquaculture* 277, 303-312.
- باعث کاهش میزان غذاگیری ماهی شده و در نهایت، سبب کاهش رشد ماهی می شوند.
- بر اساس یافته‌های تحقیق افزودن ۲۵ الی ۵۰ گرم پودر سیاه‌دانه به هر کیلوگرم غذای ماهی قزل‌آلا حاوی 10^4 لاکتوباسیلوس رامنوسوس در هر گرم غذا می‌تواند فاکتورهای رشد و تغذیه را در این جیره، به‌طور معنی‌داری، نسبت به تیمار شاهد افزایش دهد؛ درحالی‌که افزودن مقدار بیشتر پودر سیاه‌دانه به غذا باعث کاهش شاخص‌های رشد در ماهی قزل‌آلا می‌شود.
- منابع**
- عمادی، حسین. (۱۳۸۳). **تکثیر و پرورش ماهی قزل‌آلا و آزاد**. نشر آریان.
- قاسمی، ع. (۱۳۸۳). **گیاهان دارویی و معطر (شناخت و بررسی اثرات آنها)**. انتشارات دانشگاه آزاد اسلامی: واحد شهرکرد.
- سازمان شیلات ایران (۱۳۸۸). **سالنامه‌ی آماری سازمان شیلات ایران**، دفتر برنامه و بودجه، گروه آمار و مطالعات توسعه شیلاتی: تهران.
- Al-Harhi, M.A. (2004). "Efficiency of utilizing some spices and herbs with or without antibiotic supplementation on growth performance and carcass characteristics of broiler chicks". *Egyptian Poult. Sci. J.* 24: 869-899.
- Azza M.M. and Abd-El-Rhman, (2009). "Antagonism of *Aeromonas hydrophila* by propolis and its effect on the performance of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*". *Fish and Shellfish Immunology*, 27(3), 454-459.

- Hatlen, B.; Grisdale-Helland, B. and Helland, S.J., (2005). "Growth, feed utilization and body composition in two size groups of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) fed diets differing in protein and carbohydrate content". *Aquaculture* 249:401-408
- Hay, R.K.M. and Waterman, (1993). Volatile oil crops: Third biology, biochemistry and production. Longman Scientific and Technical, Essex.
- Hekmatdoost A., Feizabadi M.M., Djazayery A, *et al.* (2008). "The effect of dietary oils on cecal microflora in experimental colitis in mice". *Indian J. Gastroenterol.* 27:186-189.
- Huang, S.S.Y.; Fu, C.H.L.; Higgs, D.A.; Balfry, S.K.; Schulte, P.M. and Brauner, C.J., (2008). "Effects of dietary canola oil level on growth performance, fatty acid composition and ionoregulatory development of spring chinook salmon parr, *Oncorhynchus tshawytscha*". *Aquaculture*, 274, 109-117.
- Ibrahim S. M. And El-Sharif. (2008). "Effect of some plant extract on quality aspects of frozen tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) Fillets". *Global veterinaria* 2 (2) : 62-66.
- Jamroz D., Kamel, C. (2002). "Plant extracts enhance broiler performance. In non ruminant nutrition: antimicrobial agents and plant extracts on immunity, health and performance". *J. Anim. Sci.* 80 (E. Suppl. 1), 41.
- Koven, W.M., Tandler, A., Kissil, G.W., Sklan, D., (1992). "The importance of n-3 highly unsaturated fatty acids for growth in larval (*Sparus aurata*) and their effect on survival, lipid composition and size distribution". *Aquaculture* 104, 91-104.
- Kesarcodi-Watson, A., Kaspar, H., Lategan, M.J. and Gibson, L. (2008). "Probiotics in aquaculture: The need, principles and mechanisms of action and screening processes". *Aquaculture*, 274, 1-14.
- Khaled A. Abdel-Sater., (2009). "gastr-protective effects of *nigella sativa* oil on the formation of stress gastritis in hypothyroidal rats. *Physiol pathophysiol pharmacol*". 1:143-149.
- Khalil Rh, Nadia Bm And Soliman Mk. (2001). "Effects of Biogen and Levamisol hydrochloride on the immune response of cultured *Oreochromis niloticus* to *Aeromonas hydrophila* vaccine". *Beni-Suef Veterinary Medical Journal.* 11: 381-392.
- Lee, K.W., Evarts, H. and Beynen, A.C. (2004). "Essential oils in broiler nutrition". *Int. J. Poult. Sci.* 3: 738-752.

- Mahdi H. (1993). Effect of *Nigella sativa* L. on the immune system in cirrhotic patients. Unpublished (DSc thesis), El-Azhar University: Cairo, Egypt. 155 pages. Miles Djc, Polchana J, Lilley Jh, Kanchanakhan.
- Mmerrifield D. L., Bradley G., Baker R. T. M., and Davies S. J., (2010). "Probiotic application for rainbow trout (*oncorhynchus mykiss walbaum*) ii. Effect on growth performance, feed utilization, intestinal microbiata and related health criteria postantibiotic treatments". *Aquaculture nutrition*. 16(5), 496-503.
- Mohammad, M.A., Mohamad MJ Mohamad, Dradka, H. (2009). "Effects of Black Seeds (*Nigella Sativa*) on Spermatogenesis and Fertility of Male Albino Rats". *Research Journal of Medicine and Medical Sciences*. 4(2): 386-390.
- Mombelli, B., Gismondo, M.R., (2000). "The use of probiotics in medicinal practice". *International Journal of Antimicrobial Agents* 16, 531–536.
- Ozkilzicik, S., Chu, F.L.E., (1994). "Evaluation of omega-3 fatty acid enrichment of *Artemia* naupli as food for striped bass *Monrone saxatilis* Walbaum larvae". *Journal of world aquaculture society*. 25. 147-154.
- Nikoskelainen, S., Ouwehand, A., Bylund, G., Salminen, S., Lilius, E.M., (2003). "Immune enhancement in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) by potential probiotic bacteria (*Lactobacillus rhamnosus*)". *Fish Shellfish Immunol*. 15, 443–452.
- Ouwehand, A.C., Salminen, S., Isolauri, E., (2002). "Probiotics: an overview of beneficial effects". *Antonie van Leewenhoek* 82, 279–289.
- Oyen, L.P.A. and Dung N.X. (1999). *Essential-oil plants*. Oyen, L.P.A. and N.X. Dung (Eds). Backhuys Publishers: Leiden.
- Panigrahi, A., Kiron, V., Kobayashi, T., Puangkaew, J., Satoh, S., Sugita, H., (2004). "Immune responses in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* induced by a potential probiotic bacteria *Lactobacillus rhamnosus* JCM 1136". *Vet. Immunol. Immunopathol*. 102, 379–388.
- Panigrahi, A., Kiron, V., Puangkaew, J., Kobayashi, T., Satoh, S., Sugita, H., (2005). "The viability of probiotic bacteria as a factor influencing the immune response in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*". *Aquaculture*, 243, 1-3, 241-254.
- Phianphak, W., Rengpipat, S., Piyatiratitivorakul, S., Menasveta, P., (1999). "Probiotic use of *Lactobacillus* spp. for black tiger shrimp, *Penaeus monodon*. *J. Sci. Res*". Chula Univ. 24, 42–51.
- Ramakrishna R.R., Platel K., Srinivasan, K. (2003). "In vitro influence of species and spice-active principles on digestive enzymes of rat pancreas

- and small intestine". *Nahrung* 47, 408–412.
- Reid, G., Sanders, M.E., Gaskins, H.R., Gibson, G.R., Mercenier, A., Rastall, R.A., Roberfroid, M.B., Rowland, I., Cherbut, C., Klaenhammer, T.R., (2003). "New scientific paradigms for probiotics and prebiotics". *J. Clin. Gastroenterol.* 37, 105–118.
- Salinas I., Cuesta A., Esteban M. A. And Meseguer J., (2005). Dietary administration of *Lactobacillus delbreckii* and *Bacillus subtilis*, single or combined, on gilthead seabream cellular innate immune responses. *Fish and shellfish immunology* 19, 67-77.
- Senok, A.C., Ismaeel, A.Y., Botta, G.A., (2005). "Probiotics: facts and myths. *Clinical Microbiology and Infection*". 11 (12), 958–966.
- Stavric, S., and E. T. Kornegay. (1995). **Microbial probiotics for pigs and poultry.** Pages 205–231 in *Biotechnology in Animal Feeds and Animal Feeding.* R. J. Wallace and A. Chesson, ed. VCH: New York, NY.
- Sorgeloos, P., Léger, Ph., (1992). "Improved larviculture outputs of marine fish, shrimp and prawn". *Journal of the World Aquaculture Society* 23: 251-264.
- Tuncer, H., Harrell, R.M., (1992). "Essential fatty acid nutrition of larval striped bass (*Monroa saxatilis*) and palmetto bass (*M. saxatilis* × *M. chrysops*)". *Aquaculture* 101. 105-121.
- Sullivan, A., Nord, C.E., (2002). "The place of probiotics in human intestinal infections". *International Journal of Antimicrobial Agents* 20, 313–319.
- Takruri H.R.H., Dameh M.A.F. (1998). "Study of the national value of black cumin seeds (*Nigella sativa* seeds L.)". *J. Sci. Food Agric.* 76, 404–410.
- Turchini, G. M.; Mentasti, T.; Frøyland, L.; Orban, E.; Caprino, F.; Moretti, V.M. and Valfré, F., (2003). "Effects of alternative dietary lipid sources on performance, tissue chemical composition, mitochondrial fatty acid oxidation capabilities and sensory characteristics in brown trout (*Salmo trutta* L.)". *Aquaculture* 225: 251–267.
- Vine, N.G., Leukes, W.D. and Kaiser, H. (2006). "Probiotics in marine larviculture". *FEMS Microbiol. Rev.*, 30, pp. 404–427.
- Wang, Y.B. (2007). "Effect of probiotics on growth performance and digestive enzyme activity of the shrimp *Penaeus vannamei*". *Aquaculture*, 269, pp. 259–264.
- Wang, Y.B. and Xu, Z.R. (2004). "Probiotics treatment as method of biocontrol in aquaculture". *Feed Res.*, 12, pp. 42–45.

- Wang, Y.B. and Xu, Z.R. (2006). "Effect of probiotics for common carp (*Cyprinus carpio*) based on growth performance and digestive enzyme activities". *Anim. Feed Sci. Technol.*, **127** , pp. 283–292.
- Wang, Y.B., Xu, Z.R. and Xia, M.S. (2005). "The effectiveness of commercial probiotics in Northern White Shrimp (*Penaeus vannamei* L.) ponds". *Fish. Sci.*, **71** , pp. 1034–1039.
- Webster, C.D. and Lim, C.E., (2002). "Nutrient Requirement and Feeding of Finfish for Aquaculture". *CAB International, CABI publishing*, pp.418.
- Ziad H. M. A.D. And Mohammad S. A.D. (2008). "Effect of feeding powdered *black cumin* seeds (*nigella sativa l.*) On growth performance of 4-8 week-old broilers". *Animal and veterinary advances*. 7(3): 286-290.