بهره‌برداری و پرورش آبزیان
جلد پنجم، شماره دوم، تابستان ۱۳۹۵
http://japu.gau.ac.ir

تأثیر باکتری پروبیوتیک *Bacillus subtilis* بر ترکیب اسیدهای چرب بدن ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

زهرا کلیایی[۱]، *علی آبرومند[۲]، سعید ضیایی‌نژاد[۲] و مهران جواهری بابلی[۳]

[۱]دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد شیلات، دانشگاه صنعتی خاتم‌الانبیاء (ص) بهبهان، خاتم‌الانبیاء، بهبهان،
[۲]استادیار گروه شیلات، دانشگاه صنعتی خاتم‌الانبیاء (ص) بهبهان، خاتم‌الانبیاء، بهبهان،
[۳]دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد گروه شیلات، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۳/۱۳؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/٤/۱

چکیده

باکتری‌های پروبیوتیک نقش مهمی در پرورش بهینه ماهی دارد. این تحقیق با هدف بررسی تأثیر باکتری زیست‌یار *Bacillus subtilis* جدا شده از ماهی کپور معمولی، بر ترکیب اسیدهای چرب بدن ماهی با میانگین وزن اولیه (۱± ٥٤/٥٦ گرم) انجام شد. ماهیان گروه شاهد با جیره پایه و ماهیان ۲ تیمار آزمایشی دیگر با جیره مکمل‌سازی شده در دو سطح با غلظت‌های $۱۰^{۳}$ (تیمار ۱) و $۱۰^{٦}$ (تیمار ۲) (سلول در هر میلی‌لیتر) تغذیه شدند. آزمایش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی در ۳ تکرار و به مدت ۸ هفته صورت پذیرفت. نرخ تغذیه بر اساس ۲ درصد وزن بدن و ۲ بار در روز انجام شد. تعیین میزان طول و وزن ماهیان هر ١٤ روز یک بار انجام گرفت. در نتایج ترکیب اسیدهای چرب، هیچ تفاوت معنی‌داری بین مقادیر امگا ۳، امگا ٦، مجموع اسیدهای چرب اشباع با یک پیوند دوگانه، مجموع اسیدهای چرب اشباع در کلیه تیمارهای آزمایشی مشاهده نشد ($P<۰/۰۵$). مقادیر مجموع اسیدهای چرب اشباع با چند پیوند دوگانه و مجموع اسیدهای چرب غیراشباع بلند زنجیره در تیمارهای آزمایشی نسبت به شاهد کاهش یافت و تیمار ۲ تفاوت معنی‌داری با گروه شاهد نشان داد

*مسئول مکاتبه: aberoumandali@yahoo.com

(P<۰/۰۵). بیش‌ترین مقدار اسید چرب دوکوزاهگزانوئیک و ایکوزاپنتانوئیک به‌ترتیب در تیمار ۱ و شاهد مشاهده شد. نتایج نشان داد باسیلوس سابتیلیس در جیره ماهی کپور معمولی می‌تواند روی ترکیب اسیدهای چرب بدن ماهی تأثیر داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: کپور معمولی، پروبیوتیک، ***Bacillus subtilis***، ترکیب اسیدهای چرب

مقدمه

کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) گونه‌ای از ماهیان آب شیرین می‌باشد که به‌دلیل خصوصیات ویژه مانند نرخ رشد سریع و سهولت پرورش در جهان به‌طور وسیعی پرورش داده می‌شود (گولر و همکاران، ۲۰۰۸). این‌گونه در ایران نیز یکی از فراوان‌ترین گونه‌ها بوده و تقریباً در تمام فصول سال در دسترس می‌باشد، علاوه‌بر این از گونه‌هایی است که در مقادیر زیادی پرورش می‌یابد و بخشی از پروتئین حیوانی مصرفی را تأمین می‌کند. کپور ماهیان گرما دوست هستند، ولی می‌توانند درجات حرارتی مختلفی مانند سرمای دراز مدت و نیز تغییرات سریع درجه حرارت را تحمل کنند.

باکتری باسیلوس سابتیلیس (Bacillus *subtilis*) از جمله باکتری‌هایی ست که به‌عنوان پروبیوتیک در صنعت آبزی پروری کاربرد فراوان دارد (ضیایی‌نژاد و همکاران، ۲۰۰۶؛ کیسامی، ۲۰۰۷). آن‌ها قادر به ترشح بسیاری از آنزیم‌های خارجی (لیو و همکاران، ۲۰۰۹) به‌منظور بهبود هضم و جذب غذا و بهبود کیفیت آب می‌باشند. این باکتری‌ها از طریق غذا وارد روده می‌شوند. با توجه به عدم ثبات و پایداری بسیاری از گونه‌های لاکتوباسیلوس در اغلب غذاها، استفاده از گونه باسیلوس سابتیلیس فراگیرتر شده است، زیرا این‌گونه دارای هاگ‌های زنده و مقاوم است که پایداری آن‌ها در مقایسه با سایر کشت‌های تولید کننده اسیدلاکتیک بیشتر است (لیسون و سامرز، ۱۹۹۷). همچنین قادر به تولید آنتی‌بیوتیک‌ها، آمینواسیدها و آنزیم‌ها می‌باشند، از این‌رو پروبیوتیک‌های باسیلوس اثرات تغذیه‌ای مثبتی روی آبزیان دارند (باقری و همکاران، ۲۰۰۸).

پلانت و همکاران (۲۰۰۷) به بررسی اثر پروبیوتیک *Arthrobacter* sp. بر لارو ماهی هادوک (*Melanogrammus aeglefinus*) پرداختند. نتایج مشخص کرد مقادیر اسیدهای چرب غیر اشباع با چند پیوند دوگانه موجود در اسیدهای چرب قطبی (فسفولیپیدها و گلیکولیپیدها) به‌دست آمده از لارو ماهی هادوک طی کل دوره پرورش، بیش‌تر از مقدار به‌دست آمده در اسیدهای چرب خنثی (تری

گلیسیرید، استرول و اسیدهای چرب آزاد) است. نسبت آراشیدونیک اسید در اسیدهای چرب قطبی گروه شاهد طی دوره ٥٦ روزه پرورش ٤/٤ درصد گزارش شد، اگرچه در ماهیان تیمارهای پروبیوتیکی مقدار آراشیدونیک اسید به‌طور معنی‌داری از ٥/١ درصد به ٣/٦ درصد کاهش یافت. در تحقیقی اثر پروبیوتیک *Shewanella putrefaciens* و *Shewanella baltica* بر ترکیب شیمیایی و اسیدهای چرب کبد کفشک ماهی بررسی شد. نتایج نشان داد افزودن پروبیوتیک به جیره آن ماهی میزان پروتئین، اسید چرب دوکوزاهگزانوئیک و ایکوزاپنتانوئیک و آراشیدونیک اسید کبد تیمارهای آزمایشی را نسبت به شاهد کاهش داد (تاپیا- پنگویا، ٢٠١٤).

مورایس و همکاران، ٢٠٠٤؛ و برندسن و همکاران، ٢٠٠٥) بیان کردند که میزان چربی و ترکیب اسیدچرب موجود در ماهیان مقدار ثابتی نمی‌باشد (زلاتانوس و لاسکادیریس، ٢٠٠٧). میزان مجموع اسیدهای چرب اشباع با چند پیوند دوگانه امگا ٣ در گونه‌های مختلف متفاوت بوده و بسته به اندازه، سن، سیکل تولیدمثلی، شوری، دما، فصل و موقعیت جغرافیایی متفاوت است (اینهامونس و فرانسو، ٢٠٠٨). بنابراین اطلاعات مربوط به مقادیر این اسیدهای چرب موجود در مواد غذایی ارزشمند می‌باشد.

تاپیا- پانگوئا (٢٠١٤) تأثیر دو سویه باکتری پروبیوتیکی *Shewanella putrefaciens* و *Shewanella baltica* را بر پروفیل اسیدهای چرب کبد کفشک ماهی *Solea senegalensis* پرورشی مورد بررسی قرار دادند. نتایج حاصله ثابت کرد همبستگی مثبتی بین سطوح اسید لینولنیک و اسید لینولئیک کبد تیمارهای دریافت کننده دو سویه مختلف باکتریایی وجود دارد.

لوبو و همکاران در سال (٢٠١٤) از آرتمیا غنی شده با مکمل‌های پروبیوتیکی به مقدار ($٢/٥ \times ١٠^{٧}$ واحد تشکیل کلنی در میلی‌لیتر) در جیره غذایی کفشک ماهی به‌کار بردند و عملکرد رشد و ترکیب شیمیایی لاشه را مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که مکمل غذایی پروبیوتیکی منجر به بهبود عملکرد رشد و کیفیت ترکیب شیمیایی لاشه گردید. لذا در تحقیق حاضر به مطالعه تأثیر باکتری پروبیوتیک Bacillus *subtilis* بر پروفیل اسیدهای چرب فیله ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) پرداختیم.

مواد و روش‌ها

باکتری پروبیوتیک و تهیه جیره پایه: در این تحقیق از باکتری پروبیوتیک Bacillus *subtilis* که از دستگاه گوارش ماهی کپور معمولی جداسازی و لیوفلیز شده استفاده گردید. باکتری‌های جدا شده از روده ماهی جوان کپور معمولی در ابتدا در محیط کشت تریپتیک سوی آگار (TSA) کشت داده شد و سپس از کلونی‌های کشت داده شده در شرایط استریل، توسط آنس استریل برداشته شده و به لوله اپندورف حاوی یک میلی‌لیتر آب مقطر استریل منتقل گردید. نمونه توسط شیکر به‌صورت هموژن درآمد و در دستگاه سانتریفیوژ با دور ۵۰۰۰ در دقیقه برای مدت ۱۰ دقیقه، سانتریفیوژ شد و سپس با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ٦١٠ نانومتر، واحد کلونی‌های موردنظر در هر میلی‌لیتر باکتریایی تهیه شد (اسماعیلی و همکاران، ۱۳۹۰). در مطالعه حاضر، باکتری مربوطه به‌صورت اسپور از آزمایشگاه دانشکده منابع طبیعی تهران تهیه گردیده است. غذای مورد استفاده جهت ترکیب با پروبیوتیک از شرکت تجاری تولید جیره ماهیان گرمابی نقشین کرمانشاه خریداری گردید. که آنالیز اجزای آن در جدول ۱ ارایه شده است.

جدول ۱- آنالیز تقریبی جیره غذایی مورد استفاده.

نوع ترکیب	درصد
رطوبت	۷/٤۱±۰/۱
پروتئین	۳٦/۲۳±۰/۰۹
چربی	۱۷/٦۲±۰/۰۹
خاکستر	۷/۲۹±۰/۰۷

تنظیم جیره غذایی: مکمل‌سازی جیره غذایی تیمارهای آزمایشی با باسیلوس‌های پروبیوتیکی با ترکیب کردن این باکتری‌ها با غلظت‌های به شرح زیر صورت گرفت:

تیمار شاهد: جیره پایه آزمایشی فاقد باکتری‌های پروبیوتیکی

تیمار ۱: جیره پایه + 1×10^{3} CFU/ml در ۱۰۰۰ گرم از جیره

تیمار ۲: جیره پایه + 1×10^{6} CFU/ml در ۱۰۰۰ گرم از جیره

به‌منظور آماده‌سازی جیره مخصوص هر یک از تیمارها، به کمک ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم، ۱ کیلوگرم از جیره برای هر یک از تیمارها و گروه شاهد توزین و در مرحله بعد توسط آسیاب برقی پودر گردید. مقدار موردنیاز از پروبیوتیک پس از حل شدن در میزان یکسان آب مقطر برای تمامی تیمارها به پودر غذا اضافه و کاملاً مخلوط گردید. ترکیب حاصل توسط چرخ‌گوشت دستی به پلت‌هایی شبیه رشته‌های ماکارونی متناسب با سایز دهان ماهیان جوان تهیه گردید. در انتها پلت‌ها در خشک کن در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد به‌مدت ۲٤ ساعت خشک شدند (پورعلی و همکاران، ۱۳۸۲؛ محسنی و همکاران، ۲۰۰٦، سریزولا و همکاران، ۲۰۰۸). به‌منظور حفظ کیفیت غذای مصرفی، غذای موردنیاز هر یک از تیمارها ۲ بار در هفته تهیه و در پوشش‌های مناسب پلاستیکی بسته‌بندی شده و تا زمان مصرف، در فریزر با دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. جیره غذایی گروه شاهد نیز با همین روش ساخته شد ولی به آن‌ها هیچ‌گونه *باسیلوس* پروبیوتیکی اضافه نگردید.

تغذیه ماهیان: به‌این منظور تعداد ۲٤۳ قطعه ماهی با میانگین وزنی ۵۳/۳۹±۵/۷۸ گرم به ۹ مخزن فایبرگلاس ۳۰۰ لیتری منتقل و تحت سه تیمار و هر تیمار در سه تکرار و برای مدت ٥٦ روز انجام شد. پس از انتقال و تیماربندی، ماهیان جوان در تمامی تیمارها به‌مدت یک هفته دوره سازگاری توسط جیره پایه تجاری تغذیه شدند. سپس به‌مدت ۸ هفته دوره آزمایش غذادهی به‌صورت دستی روزانه ۲ بار (در ساعت‌های ۸ و ١٦) و به میزان ۲ درصد وزن بدن تغذیه شدند. بعد از اتمام دوره آزمایش، همه ماهی‌ها برای ٤۸ ساعت گرسنگی داده می‌شوند (خالی شدن لوله گوارش)، کشته و سپس وزن شدند. از هر تانک ٦ ماهی به‌صورت تصادفی برداشته و کالبد شکافی می‌شوند. کبد به‌منظور محاسبه شاخص کبدی وزن گردید. سپس ماهی را پوست کنده، فیله جدا شده و در فریزر برای آنالیز ترکیب اسید چرب و ترکیب‌های شیمیایی بدن ماهی ذخیره شدند (ان جی و همکاران، ۲۰۰۳).

تعیین ترکیب اسیدهای چرب: ابتدا نمونه‌های کاملاً هموژن شده در مجاورت یخ خشک در فریزر به آزمایشگاه دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس واقع در تهران منتقل و به روش زیر آنالیز اسیدهای چرب لاشه اندازه‌گیری شد.

استخراج چربی بافت: جهت استخراج چربی از روش فولچ و همکاران (۱۹۷۵) استفاده شد. مقدار ۱ گرم نمونه را به بالن ژوژه ۵۰ میلی‌لیتر انتقال داد، سپس ۵ میلی‌لیتر به نمونه اضافه و به شدت تکان داده شد. سپس ۱۰ میلی‌لیتر کلروفرم به نمونه اضافه و باز هم ظرف به شدت تکان داده شد. نمونه

به‌مدت ۱۲ الی ۲٤ ساعت در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد تا چربی کاملاً خارج گردد. پس از ۲٤ ساعت نمونه‌ها را به داخل دکانتور انتقال داده و به آن ۵ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد و به دکانتور منتقل گردید. بعد از ۱ ساعت ۳ فاز مجزا در داخل دکانتور تشکیل شد، فاز چربی و حلال که در قسمت زیرین دکانتور قرار گرفته بود و به وسیله قیف و کاغذ صافی به درون ظروف COD منتقل شده و به وسیله نیتروژن مایع حلالی پرانی صورت گرفت و نهایتاً چربی باقی ماند.

استری کردن چربی استخراج شده: به‌منظور استری کردن چربی از روش مت کالف و همکاران (۱۹٦۱) استفاده شد. ۵ میلی‌لیتر سود متانولی ۰/۰۲ درصد (۲ گرم NaOH در ۱۰۰ میلی‌لیتر متانول) به چربی استخراج شده درون لوله آزمایش درب دار اضافه شد. سپس ۱ میلی‌لیتر محلول اینترنال استاندارد (با غلظت ۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) اضافه نمود، درب ظرف را بسته و به‌شدت تکان داده شد و به‌مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب جوش برای انجام عمل رفلکس متیلاسیون قرار گرفت. پس از گذشت زمان فوق و خنک شدن در دمای محیط، به مواد حاصل ۱ میلی‌لیتر n- هگزان نرمال اضافه تکان داده شد. سپس به مواد آن ۱ میلی‌لیتر نمک اشباع (۳۰ گرم NaCL در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر) اضافه گردید. محلول به‌دست آمده به شدت تکان داده شد و در جایی مستقر گردید. بعد از تشکیل دو فاز جداگانه، فاز بالایی به دقت جدا شد و به فالکون‌های ۱/۵ میلی‌لیتری منتقل گردید. از عصاره به‌دست آمده مقدار ۰/۲ میکرولیتر به دستگاه GC تزریق شد. از مقایسه زمان بازداری کروماتوگرام‌های نمونه مجهول با کروماتوگرام‌های به‌دست آمده از محلول استاندارد اسیدهای چرب متیل استر، اسیدهای چرب موجود در بافت ماهی شناسایی شد و نتایج به صورت درصد گزارش گردید. برای بررسی و شناسایی اسیدهای چرب از دستگاه گاز کروماتوگراف Varian CP-4600 (GC)، مجهز به ستون کاپیلاری از نوع BPX70 (ID: 0/25 mm×0/22 µm×30 m) و آشکارساز نوع (FID) flame ionization detector استفاده گردید. دمای آشکارساز و محل تزریق به‌ترتیب بر روی ۳۰۰ و ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد.

نسبت کارایی چربی: برای اندازه‌گیری میزان کارایی چربی از فرمول زیراستفاده شد.

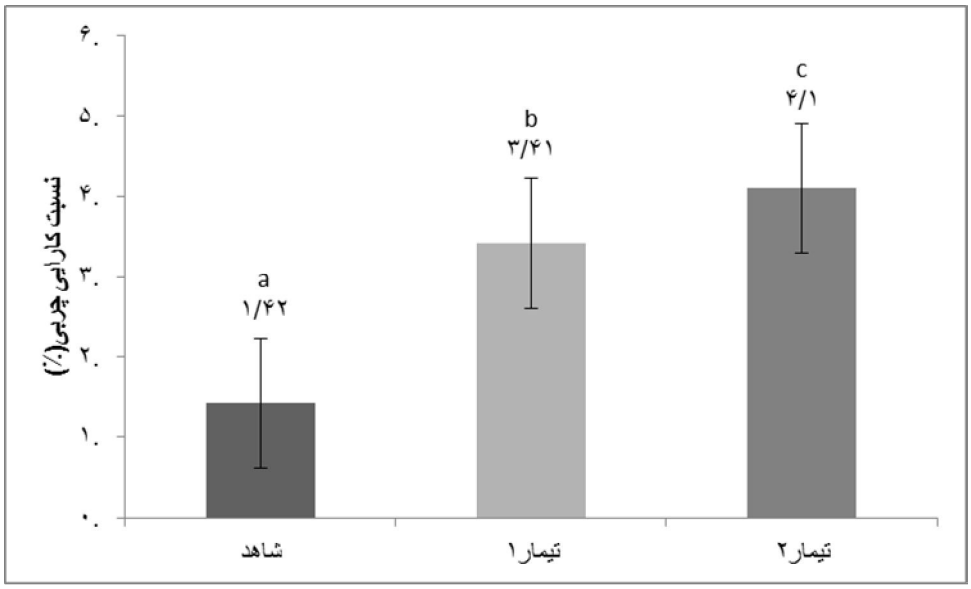
نسبت کارایی چربی (Lipid Efficiency Ratio)

(چربی خورده شده (گرم)/ وزن به‌دست آمده (گرم)

روش آماری: آزمایش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی انجام شد. با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه (One Way ANOVA) اختلاف موجود در بین میانگین‌های تیمارهای آزمایشی مشخص و سپس با استفاده از آزمون دانکن (test Multiple rang Duncan) معنی‌دار بودن تفاوت بین تیمارها به تفکیک در سطح اعتماد ۹۵ درصد ارزیابی گردید. برای انجام آنالیزهای آماری از نرم‌افزار SPSS ویرایش ۲۱ استفاده شد. هر آنالیز در سه تکرار انجام شد.

نتایج

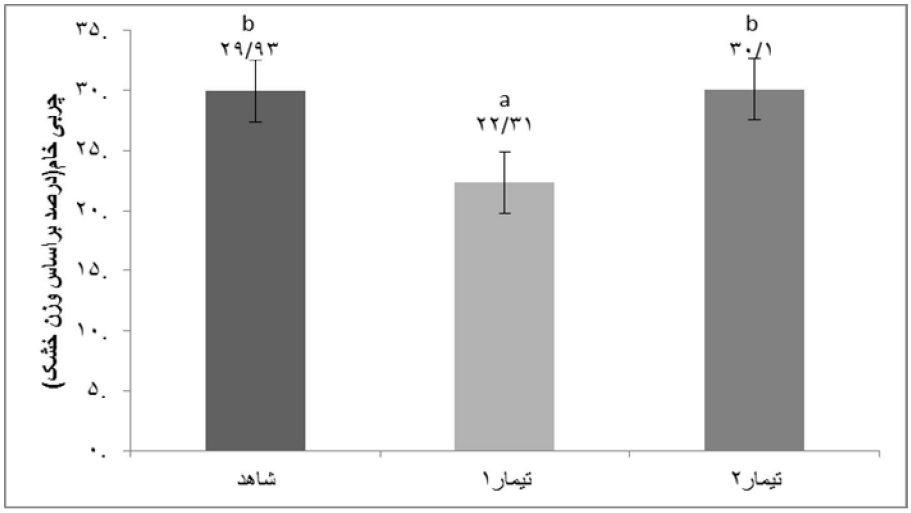
در نمودار ۱ مشاهده می‌شود که ضریب کارایی چربی در ماهیان تغذیه شده با سطوح مختلف پروبیوتیک بیشتر از تیمار شاهد بوده به طوری‌که اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای ۱ و ۲ و شاهد مشاهده شد (P<۰/۰۵).



نمودار ۱- نسبت کارایی چربی ماهی‌های تغذیه شده با جیره غذایی حاوی مکمل پروبیوتیک باسیلوس سابتیلیس

(حروف کوچک یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای آزمایشی می‌باشد).

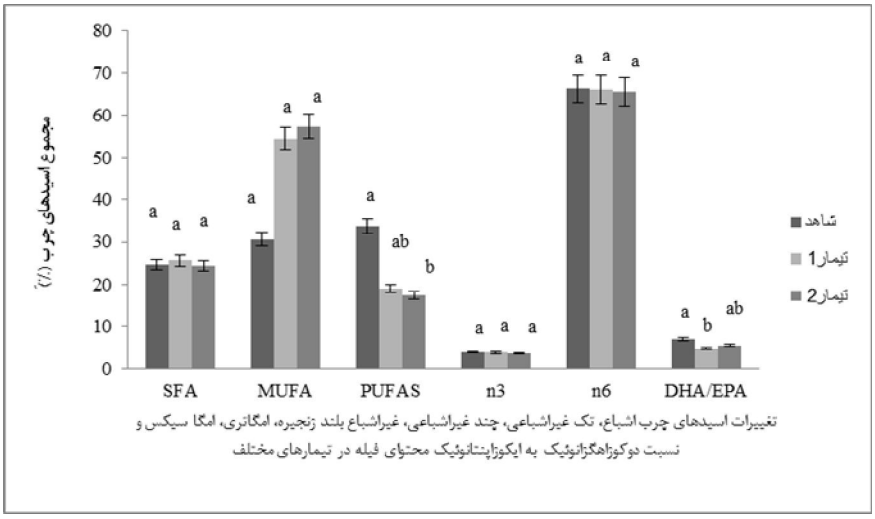
چربی خام: در نمودار ۲ مشاهده می‌شود، بیشترین مقدار چربی در تیمار ۲ بود که با گروه شاهد اختلاف معنی داری نشان نداد (P>۰/۰۵). کمترین مقدار مربوط به تیمار ۱ بوده که با سایر تیمارها تفاوت معنی‌دار داشت (P<۰/۰۵).



نمودار ۲- چربی خام بدن ماهی‌های تغذیه شده با جیره غذایی حاوی مکمل پروبیوتیک باسیلوس سابتیلیس

(حروف کوچک یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای آزمایشی می‌باشد).

ترکیب اسیدهای چرب: در نمودار ۳ مشاهده می‌شود که در چربی بدن ماهی کپور معمولی تغذیه شده با سطوح مختلف پروبیوتیک به‌ترتیب، اسیدهای چرب تک غیراشباع (MUFA) بیش‌ترین گروه اسیدهای چرب را تشکیل دادند و بعد از آن اسیدهای چرب اشباع (SFA)، چند غیراشباع (PUFA) و غیراشباع بلند زنجیره (HUFA) بیش‌ترین سهم اسیدهای چرب این ماهی را تشکیل دادند.



نمودار ۳- تغییرات اسیدهای چرب اشباع، تک غیراشباعی، چند غیراشباعی، غیراشباع بلند زنجیره، امگا ۳، امگا ٦، نسبت دوکوزاهگزانوئیک به ایکوزاپنتانوئیک محتوای بدن ماهی در تیمارهای مختلف.

نتایج به‌دست آمده نشان داد، مجموع اسیدهای چرب اشباع تیمار ۱ بالاترین و تیمار ۲ کمترین درصد را به خود اختصاص داده‌اند اما بین تیمارهای آزمایشی تفاوت معنی‌داری مشاهده نگردید (P>۰/۰۵). در بین اسیدهای چرب اشباع، اسید پالمیتیک بیش‌ترین میزان را داشته و در تیمارهای آزمایشی با افزایش روبرو بوده است.

در بررسی نتایج مشخص شد، میزان مجموع اسیدهای چرب با یک پیوند دوگانه با افزایش سطوح پروبیوتیک، افزایش داشت به‌نحوی که بیش‌ترین درصد مجموع اسیدهای چرب اشباع با یک پیوند دوگانه در تیمار ۲ (۵۷/۳۸±۰/۲۵) و کم‌ترین در شاهد (۳۰/٦۲±۲۳/۹۳) مشاهده گردید. بیش‌ترین مقدار اسیدهای چرب غیراشباع با یک پیوند دوگانه، اولئیک اسید (18:1(n-9 به‌دست آمد که در تیمارهای آزمایشی نسبت به شاهد با افزایش روبرو بوده است. بین تیمارهای آزمایشی تفاوت معنی‌دار نشان نداد (P>۰/۰۵).

مقایسه میزان مجموع اسیدهای چرب اشباع با چند پیوند دوگانه در تیمار شاهد بالاترین مقدار را نشان داد و از این نظر با تیمار ۲ اختلاف معنی‌داری نشان داد. بین مقدار اسیدهای چرب دوگانه، لینولئیک اسید که بیش‌ترین مقدار در تیمار شاهد داشتند.

نتایج نشان داد که میزان مجموع اسیدهای چرب غیراشباع بلند زنجیره از ۳۲/۹۱ درصد در تیمار شاهد، با کاهش در تیمارهای ۱ و ۲ مواجه شده و به ۱۶/۷۱ درصد در تیمار ۲ رسیده است. میزان مجموع اسیدهای چرب غیراشباع بلند زنجیره در تیمار شاهد با تیمار ۲ تفاوت معنی‌داری نشان داد (P<۰/۰۵). تفاوت معنی‌داری بین تیمار ۱ با سایرین مشاهده نشد (P>۰/۰۵).

بیش‌ترین میزان امگا ۳ و ٦ و نسبت امگا ۳ به امگا ٦ در تیمار شاهد مشاهده گردید که با افزایش سطوح پروبیوتیک در تیمار ۱ و ۲ این مقدار کاهش یافته اما هیچگونه تفاوت معنی‌داری بین تیمارها در مجموع اسیدهای چرب سری امگا ۳ و امگا ٦ و نسبت امگا ۳ به امگا ٦ نشان ندادند (P>۰/۰۵).

با توجه به نتایج، بیش‌ترین درصد نسبت اسید چرب دوکوزاهگزانوئیک به ایکوزاپنتانوئیک در گروه شاهد و کم‌ترین در تیمار ۱ به‌دست آمد. این نسبت بین شاهد و تیمار ۱ تفاوت معنی‌داری نشان داد (P<۰/۰۵). اختلاف معنی‌داری بین شاهد و تیمار ۲ مشاهده نگردید (P>۰/۰۵).

بحث

مقادیر انواع اسیدهای چرب موجود در ترکیب اسیدهای چرب، نسبت به هم مقایسه گردید. همان‌طور که نمودار ۱ نشان می‌دهد، نسبت کارایی چربی در تیمار ۲ بیشترین مقدار و در تیمار شاهد کمترین مقدار بود و بین تیمار ۱ و ۲ اختلاف معنی‌داری وجود داشت، این امر نشان داد که باکتری پروبیوتیک با غلظت بیشتر نقش مهمی در افزایش کارایی چربی بدن ماهی داشت. نمودار ۲ نشان می‌دهد که تفادت چندانی بین تیمار شاهد و تیمار ۲ وجود ندارد ولی تغذیه پروبیوتیک در افزایش میزان چربی خام بدن ماهی تأثیر چندانی نداشت. نمودار ۳ نشان می‌دهد که تغذیه پروبیوتیک تأثیر خوبی در افزایش مجموع اسیدهای چرب اشباع با یک پیوند دوگانه در هر دو تیمار ۱ و ۲ داشت ولی تأثیری در افزایش مجموع اسیدهای چرب اشباع با چند پیوند دوگانه و مجموع اسیدهای چرب غیراشباع بلند زنجیره در تیمار ۱ و ۲ نداشت.

در تحقیق‌های صورت گرفته توسط پلانت و همکاران (۲۰۰۷) لارو ماهی هادوک (*Melanogrammus aeglefinus*) در محیط حاوی باکتری پروبیوتیکی *Arthrobacter* sp. رشد یافته و پروفیل اسیدهای چرب (قطبی و خنثی) و چربی تجمعی بافت مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج نشان می‌دهد ماهیانی که در محیط حاوی باکتری بودند توده خشک و چربی تجمعی بافت بیشتری نسبت به تیمار بدون باکتری داشتند. همچنین نتایج نشان داد مقادیر مجموع اسیدهای چرب اشباع با

چند پیوند دوگانه موجود در اسیدهای چرب قطبی (فسفولیپیدها و گلیکولیپیدها) به‌دست آمده از لارو ماهی هادوک تیمارهای آزمایشی، بیش‌تر از مقدار به‌دست آمده در اسیدهای چرب خنثی (تری گلیسیرید، استرول و اسیدهای چرب آزاد) است. نسبت آراشیدیک اسید در اسیدهای چرب قطبی گروه کنترل طی دوره ٥٦ روزه پرورش ٤/٤ درصد گزارش شد، اگرچه در ماهیان تیمارهای آزمایشی مقدار آراشیدونیک اسید به‌طور معنی‌داری از ٥/١ درصد به ٣/٦ درصد کاهش یافت.

مقدار اسید چرب دوکوزاهگزانوئیک در چربی‌های خنثی لارو ماهی هادوک ب‌طور قابل توجهی، از ٢٩/٦ به ١١/٥ درصد در دوره ٣١ روزه کاهش یافت، اما سپس به مقدار ناچیزی افزایش (١٧ درصد)، در دوره ٥٦ روزه رسید. بین مقادیر اسید چرب دوکوزاهگزانوئیک و ایکوزاپنتانوئیک لاشه لارو ماهی هادوک و سطوح مختلف مکمل غذایی پروبیوتیکی دریافتی از طریق جیره، هیچ ارتباطی مشاهده نگردید.

در مطالعه حاضر، هیچ تفاوت معنی‌داری در مقادیر امگا ٣، امگا ٦، مجموع اسیدهای چرب اشباع با یک پیوند دوگانه، مجموع اسیدهای چرب اشباع بین کلیه تیمارهای آزمایشی مشاهده نشد (P>٠/٠٥). مقادیرمجموع اسیدهای چرب اشباع با چند پیوند دوگانه و مجموع اسیدهای چرب غیراشباع بلند زنجیره در تیمارهای آزمایشی نسبت به شاهد کاهش یافت و تیمار ٢ تفاوت معنی‌داری نشان دادند (P>٠/٠٥). اسید پالمیتیک (١٧/٦٨) در تیمار ١ بیش‌ترین اسید چرب اشباع بود.

تاپیا- پانگوئا (٢٠١٤) تأثیر دو سویه باکتری پروبیوتیکی (تیمار II: *Shewanella putrefaciens*) و (تیمار III: *Shewanella baltica*) را بر پروفیل اسیدهای چرب کبد کفشک ماهی *Solea senegalensis* پرورشی مورد بررسی قرار دادند. نتایج حاصله ثابت می‌کند همبستگی مثبتی بین سطوح اسید لینولنیک و اسید لینولئیک کبد تیمارهای دریافت کننده دو سویه مختلف باکتریایی وجود دارد. درصد پروتئین کبد کفشک ماهی در تیمارهای آزمایشی نسبت به شاهد کاهش یافت و به کمترین درصد در تیمار II رسید. اسیدهای چرب امگا ٣، آراشیدونیک اسید، اسید چرب دوکوزاهگزانوئیک و ایکوزاپنتانوئیک در تیمارهای آزمایشی نسبت به شاهد کاهش یافت. اما امگا ٦ در تیمارهای آزمایشی نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری نشان داد.

در تحقیق حاضر نیز، سطوح اسیدلینولنیک و اسیدلینولئیک در تیمارهای حاوی پروبیوتیک کاهش یافت اما تفاوت معنی داری نشان نداد (P<٠/٠٥). بیش‌ترین مقدار آراشیدونیک اسید در گروه شاهد به‌دست آمد و اختلاف معنی‌داری مشاهده گردید (P<٠/٠٥).

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که افزودن پروبیوتیک باسیلوس به جیره غذایی، بر ترکیب اسیدهای چرب به جز درموارد ذکر شده در ذیل تأثیر محسوسی ندارد. پروبیوتیک مذکور منجربه افزایش مقادیر مجموع اسیدهای چرب غیر اشباع با یک پیوند دوگانه در فیله ماهی کپور گردید، درحالی که باعث کاهش مقادیر مجموع اسیدهای چرب غیراشباع با چند پیوند دوگانه، مجموع اسیدهای چرب غیراشباع بلند زنجیره و نسبت دوکوزاهگزانوئیک به ایکوزاپنتانوئیک شد.

سپاسگزاری

از تمامی مسئولین و کارشناسان محترم دانشگاه صنعتی خاتم‌الانبیاء بهبهان به‌خصوص پرسنل محترم دانشکده منابع طبیعی و گروه شیلات که ما را در انجام این پروژه حمایت کردند، کمال تشکر و قدردانی را می‌نماییم.

منابع

1. Ismaili, M., Jafarian, H., Akrami, R., and Porabsali, M. 1390. Application of bacillus extracted from the intestine of beluga (*Huso huso*) on resistance and biochemical parameters (*Cyprinus carpio*). Journal of Veterinary New Research, 8: 15-24.
2. Pourali, H.R., Mohseni, M., Aqtoman, V., and Tevacoli, M. 1382. Development fishes with different percentages of concentrated food formulated. Iran Journal of Fisheries, Sturgeon first National Symposium, Pp: 37-48.
3. Bagheri, T., Hedayati, S.A., Yavari, V., Alizade, M., and Farzanfar, A. 2008. Growth, Survival and Gut Microbial Load of Rainbow Trout (*Onchorhynchus mykiss*) Fry Given Diet Supplemented with Probiotic During the Two Months of First Feeding. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 8: 43-48.
4. Bransden, M.P., Butterfield, G.M., Walden, J., McEvoy, L.A., and Bell, J.G. 2005. Tank colour and dietary arachidonic acid affects pigmentation, eicosanoid production and tissue fatty acid profile of larval Atlantic cod (*Gadus morhua*). Aquaculture, 250: 328–340.
5. Folch, J., Lees, M., and Stanley, G.H.S. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. Journal Biology Chemistry, 226: 497–509.
6. Guler, G.O., Kiztanir, B., Aktumsek, A., Citil, O.B., and Ozparlak, H. 2008. Determination of the seasonal changeson total fatty acid compositionand w3/w6

ratios of carp (*Cyprinus carpio* L.) muscle lipids in Beysehir Lake. Food Chemistry, 108: 689-694.
7. Keysami, M.A., Saad, C.R., Sijam, K., Daud, H.M., and Alimon, A.R. 2007. Effect of *Bacillus subtilis* on growth development and survival of postlarvae *Macrobrachium rosenbergii*. Aquaculture Nutrition, 13: 131-136.
8. Leeson, S., and Summers, J.D. 1997. Commercial Poultry Nutrition, 2nd. University Books, Guelph, Ontaro, Canada.
9. Liu, C.H., Chiu, C.S., Lin, P.L., and Wang, S.W. 2009. Improvement in the growth performance of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, by a protease producing probiotic, *Bacillus subtilis* E20 from natto. Journal Applenviron Microbiology, 107: 1031-41.
10. Lobo, C., Tapia-Paniagua, S., Moreno-Ventas, X., Alarcón, F.J., Rodríguez, C., Moriñigo, M.A., de La Banda, I.G., and Balebona, C. 2014. Benefits of probiotic administration on growth and performancealong metamorphosis and weaning of Senegalese sole (*Solea senegalensis*). Aquaculture, 433: 183–195.
11. Metcalfe, L.D., and Schmitz, A.A. 1961. The rapid preparation of fatty acid esters for gas chromatographic analysis. Analytical Chemistry, 33: 363-364.
12. Morais, S., Narciso, L., Dores, E., and Pousao-Ferreira, P. 2004. Lipid enrichment for Senegalese sol (*Solea senegalensis*) larvae: effect on larval growth, survival and fatty acid profile. Aquaculture International, 12: 281–298.
13. Ng, W.K., Lim, P.K., and Boey, P.L. 2003. Dietary lipid and palm oil source affects growth, fatty acid composition and muscule α- tocopherol concentration of African catfish, *Claris gariepinus*. Aquaculture, 215: 229- 243.
14. Plante, S., Pernet, F., Haché, R., Ritchie, R., Ji, B., and McIntosh, D. 2007. Ontogenetic variations in lipid class and fatty acid composition of haddock larvae *Melanogrammus aeglefinus* in relation to changes in diet and microbial environment. Aquaculture, 263: 107-121.
15. Tapia-Paniagua, S.T., Díaz-Rosales, P., García de la Banda, I., Lobo, C., Clavijo, E., Balebona, C., and Moriñigo, M.A. 2014. Modulation of certain liver fatty acids in *Solea senegalensis senegalensis* is influenced by the dietary administration of probiotic microorganisms. Aquaculture, 424–425: 234–238.
16. Ziaei-Nejad, S., Rezaei, M.H., Takami, GA., 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: 516-24.
17. Zlatanos, S., and Laskaridis, K. 2007. Seasonal variation in the fatty acid composition of three Mediterranean fish-sardine (*Sardina pilchardus*), anchovy (*Engraulis encrasicholus*) and picarel (*Spicara smaris*). Food Chemistry, 103: 725–728.