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)، به‌مدت ۶۰ روز، پرورش داده شدند. به ماهیان سه وعده در روز غذا داده شد. بیشترین افزایش وزن، طول استاندارد، ضریب رشد 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

تکثیر و پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، در ایران، بخش مهمی از صنعت آبزی‌پروری 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 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

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 رنگین‌کمان 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 ۱±۳۶ 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، به‌ترتیب، با استفاده از دستگاه دیجیتالی اکسی‌متر و pHمتر ساخته‌ی شرکت CRISON اسپانیا ثبت شد. برای اندازه‌گیری میزان نیترات، نیتریت و آمونیاک آب ورودی و خروجی هر یک از حوضچه‌ها از دستگاه فتومتر ۷۵۰۰ ساخته‌ی شرکت پالین انگلستان استفاده شد. میانگین شاخص‌های اندازه‌گیری‌شده در طول دوره‌ی پرورش، در جدول شماره‌ی ۱ نشان داده شده است.

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

فاکتورها	میزان
O_2 (میلی‌گرم در لیتر)	۸/۵±۰/۵
دما (درجه‌ی سانتیگراد)	۱۵±۱
pH	۷/۵-/۸۵
CO_2 (میلی‌گرم در لیتر)	۲
آمونیاک NH_3 (میلی‌گرم در لیتر)	۰/۰۲۵
آمونیوم NH^+_4 (میلی‌گرم در لیتر)	۰/۱۲۵
نیتریت NO_2 (میلی‌گرم در لیتر)	۰/۰۱

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. میزان چربی و ترکیب اسیدهای چرب سیاه‌دانه در جدول‌های شماره‌ی ۲ و۳ نشان داده شده است.

جدول شماره‌ی 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 شماره‌ی 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

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

ترکیب اصلی غذا به این صورت بود: پروتئین خام، ۴۰ درصد؛ چربی، ۱۴ درصد؛ کربوهیدرات، ۱۵درصد؛ 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[5] (BCCM/LMG 18243) تهیه شد. باکتری مذکور در محیط آبگوشت MRS[6] (Merck, Germany)، به‌مدت 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 انجام‌دادن این تحقیق باکتری *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* با تراکم 10^8 CFU، به‌ازای هر گرم غذا افشانده شد و نمونه غذا، به‌مدت 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

1. Belgium Co-ordinated Collection of Microorganism

2. De Man, Rogosa and Sharpe

موجود در هر گرم غذا، به کمک محلول PBS، استریل رقت سریال از $۱۰^{-۱}$ تا $۱۰^{-۸}$ تهیه و شمارش باکتریایی زنده روی محیط MRS انجام شد. غذادهی ماهیان به‌صورت سیری ظاهری و سه وعده در روز (در ساعت‌های ۸، ۱۲ و ۲۰) انجام شد. ماهیان در این شرایط، به‌مدت ۶۰ روز، پرورش داده شدند.

زیست‌سنجی ماهی

در ابتدای دوره (روز صفر)، همزمان با تقسیم ماهی‌ها در استخرهای پرورشی، ۱۰ قطعه ماهی، به‌طور تصادفی، انتخاب و زیست‌سنجی شدند. در طول دوره‌ی 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:

۱. افزایش وزن= FBW−IW=(g) (WG). (Huang et al., 2008).

۲. نرخ رشد ویژه= SGR=(ln wf-ln wi)×100/t. (Huang et al., 2008).

۳. ضریب تبدیل غذایی= FCR=f/(wf-wi) (Turchini et al., 2003).

۴. ضریب چاقی= $Cf=w/L^3\times100$ (Grant et al., (2008

۵. نسبت کارآیی غذا = FER(g)=TWG(g)/TF(g)x (Grant et al., 2008).

۶. میزان غذاگیری روزانه= $DFI=100\times[(TF/fish)\div(IW-FW)^{½}\div D]$; Hatlen et al. 2005

نتایج

بررسی وجود پروبیوتیک در غذا

کشت غذاهای تهیه‌شده 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، به‌طور متوسط، حاوی $۹/۳\times۱۰^{۷}$ CFU باکتری *لاکتوباسیلوس رامنوسوس بود*؛ درحالی‌که این پروبیوتیک در غذای گروه شاهد وجود نداشت.

بیومتری و بازماندگی

نتایج آزمایش، به‌طور خلاصه، در جدول شماره‌ی ۴ نشان داده شده است. آنالیز آماری نتایج، بیشترین میانگین افزایش وزن را در ماهیان تغذیه‌شده با ترکیب ۲۵ گرم پودر سیاه‌دانه و پروبیوتیک (تیمار ۳) با ۱۱۴/۱۷ g نشان داد، که با تیمارهای غذای شاهد به‌اضافه‌ی پروبیوتیک (تیمار ۲)، و ۵۰ گرم پودر سیاه‌دانه به‌اضافه‌ی پروبیوتیک (تیمار ۴)، اختلاف معنی‌داری نداشت؛ درحالی‌که با تیمارهای شاهد و ۱۰۰ گرم پودر سیاه‌دانه به‌اضافه‌ی پروبیوتیک (تیمارهای ۱ و ۵) اختلاف معنی‌دار داشت ($p<۰/۰۵$). درصد افزایش وزن روزانه (SGR) در ماهیانی که از تیمار غذایی ۲۵ گرم پودر سیاه‌دانه به‌اضافه‌ی پروبیوتیک تغذیه کردند، بیشترین میزان (۱/۹۲ درصد) بود، که با تیمار ۱۰۰ گرم پودر سیاه‌دانه به‌اضافه‌ی پروبیوتیک و شاهد (به‌ترتیب با

۱/۶۲ و ۱/۷۲ درصد) اختلاف معنی‌دار نشان داد (p<۰/۰۵).

بیشترین میانگین طول استاندارد (۱۹/۰۷ سانتی‌متر) در ماهیانی دیده شد که با غذای حاوی ۲۵ گرم پودر سیاه‌دانه به‌اضافه‌ی پروبیوتیک تغذیه شده بودند؛ به‌طوری‌که این تیمار با تیمار شاهد و گروه تغذیه‌شده با ترکیب ۱۰۰ گرم پودر سیاه‌دانه و پروبیوتیک، اختلاف معنی‌دار داشت (p<۰/۰۵). کمترین میزان ضریب تبدیل غذا (۱/۱۳)، به گروه تغذیه‌شده با تیمار ۲۵ گرم پودر سیاه‌دانه حاوی پروبیوتیک مربوط بود، که با تیمار غذای شاهد به‌اضافه‌ی پروبیوتیک و تیمار ۵۰ گرم پودر سیاه‌دانه حاوی پروبیوتیک اختلاف معنی‌داری نداشت؛ ولی با تیمار شاهد و تیماری که از ترکیب ۱۰۰ گرم پودر سیاه‌دانه با پروبیوتیک استفاده کرده بودند، اختلاف معنی‌دار داشت (p<۰/۰۵).

از نظر فاکتور وضعیت (CF)، میان تیمارها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (p>۰/۰۵). همچنین تیمار ۲۵ گرم پودر سیاه‌دانه به‌اضافه‌ی پروبیوتیک، بیشترین میزان جذب روزانه‌ی غذا (DFI) بود که با تیمار ۱۰۰ گرم پودر سیاه‌دانه به‌اضافه‌ی پروبیوتیک اختلاف معنی‌دار داشت (p<۰/۰۵). نسبت کارایی غذایی (FER) در ماهیان تغذیه‌شده با ترکیب ۲۵ گرم پودر سیاه‌دانه و پروبیوتیک با ۱/۴۸ گرم، بیشترین میزان بود که با تیمار شاهد و ۱۰۰ گرم پودر سیاه‌دانه به‌اضافه‌ی پروبیوتیک اختلاف معنی‌دار داشت (p<۰/۰۵).

نتایج این تحقیق نشان داد که افزودن پودر سیاه‌دانه با پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* به غذای ماهی قزل‌آلا در شاخص‌های رشد آن به‌طور معنی‌داری اثر می‌گذارد.

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

؟	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ۴	تیمار ۵
وزن نهایی FW (g)	۱۰۱±۰/۵^{b}	۱۱۰/۶۷±۱/۸۹^{c}	۱۱۴/۱۷±۴/۶۵^{c}	۱۱۱±۲/۶۵^{c}	۹۵/۳۳±۲/۷۴^{a}
افزایش وزن (g)	۶۵±۰/۴^{b}	۷۴/۴۶±۱/۷۵^{c}	۷۸/۲۵±۴/۵۵^{c}	۷۵±۲/۵۵^{c}	۵۹/۲۳±۲/۷۴^{a}
طول نهاییSL (cm)	۱۸/۴±۰/۱^{a}	۱۸/۸۶±۰/۳۱^{b}	۱۹/۰۷±۰/۲۶^{b}	۱۸/۹۶±۰/۱۳^{b}	۱۸/۲±۰/۱۵^{a}
نرخ رشد ویژه SGR	۱/۷۲±۰/۰۱^{b}	۱/۸۷±۰/۰۳^{c}	۱/۹۲±۰/۰۷^{c}	۱/۸۸±۰/۰۴^{c}	۱/۶۲±۰/۰۴^{a}
ضریب تبدیل غذا FCR	۱/۳۹±۰/۰۳^{b}	۱/۱۹±۰/۰۴^{a}	۱/۱۳±۰/۰۸^{a}	۱/۱۷±۰/۰۵^{a}	۱/۳۴±۰/۰۵^{b}
ضریب چاقی CF	۱/۶۲±۰/۰۴	۱/۶۵±۰/۰۷	۱/۶۵±۰/۰۱	۱/۶۳±۰/۰۶	۱/۵۸±۰/۰۵
میزان غذاگیری روزانه DFI (g)	۲/۸۷±۰/۰۷^{b}	۳±۰/۱۸^{b}	۳/۰۵±۰/۱۵^{b}	۲/۹۸±۰/۰۵^{b}	۱/۲۴±۰/۰۴^{a}
نسبت کارایی غذایی FER (g)	۱/۱۹±۰/۰۲^{a}	۱/۴۰±۰/۰۴^{b}	۱/۴۸±۰/۱^{b}	۱/۴۲±۰/۰۶^{b}	۱/۲۴±۰/۰۵^{a}

مقادیر در جدول میانگین انحراف معیار سه تکرار از هر تیمار می‌باشند (n=9). اعداد در هر ستون با حروف متفاوت اختلاف معنی‌دار دارند (p<۰/۰۵).

بحث

لاکتوباسیلوس رامنوسوس (*Lactobacillus rhamnosus*) به‌منزله‌ی یک پروبیوتیک باکتریایی مفید و مؤثر شناخته شده است. محققان زیادی تأثیر مثبت پروبیوتیک‌ها در فاکتورهای رشد ماهی و میگو را اثبات کرده‌اند (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 به‌صورت ترکیبی، و همچنین افزودن پودر سیاه‌دانه به جیره‌ی ماهی قزل‌آلا باعث بهبود معنی‌دار شاخص‌های رشد می‌شود.

ماهیانی که از غذای شاهد حاوی $۱۰^{۸}$ CFU/gr *لاکتوباسیلوس رامنوسوس*، به‌تنهایی، یا به‌صورت ترکیب با ۲۵ گرم پودر سیاه‌دانه در هر کیلوگرم غذا تغذیه کردند، بیشترین میزان CF را داشتند. هرچند اختلاف آماری معنی‌داری بین تیمارها دیده نشد، با تیمار شاهد اختلاف معنی‌دار داشتند (P<۰/۰۵). نتایج حاصل از تغذیه‌ی ماهی با غذای تجاری حاوی $۱۰^{۸}$ 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 یافته‌های آن‌ها برخی از پروبیوتیک‌ها، از قبیل *لاکتوباسیلوس رامنوسوس*، اشتها را افزایش و سلامتی را بهبود می‌بخشند و از طریق بهبود قابلیت هضم و جذب مواد غذایی باعث افزایش شاخص‌های رشد آبزی می‌شوند.

در تیمارهای غذای شاهد حاوی $۱۰^{۸}$ CFU/g *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* و غذای شاهد حاوی ۲۵ و ۵۰ گرم سیاه‌دانه در هر کیلوگرم غذا به‌اضافه‌ی لاکتوباسیلوس رامنوسوس، بیشترین میزان فاکتورهای رشد و کمترین میزان ضریب تبدیل غذا (FCR) دیده شد، که با تیمار شاهد اختلاف معنی‌دار داشت (P<۰/۰۵). یکی از عوامل افزایش فاکتورهای رشد و کاهش ضریب تبدیل غذا در تیمارهای مذکور می‌تواند 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 یافته‌اند. همچنین، وجود مقادیر کافی اسیدهای چرب غیراشباع در سیاه‌دانه می‌تواند علت دیگر افزایش رشد در تیمارهای حاوی پودر سیاه‌دانه باشد.

Babayan و همکاران (۱۹۷۸) گزارش کردند که پودر سیاه‌دانه مقدارهای کافی اسیدهای چرب اولئیک، لینولئیک و لینولنیک دارد که در بدن مهره‌داران سنتز نمی‌شوند. میزان اسیدهای چرب اولئیک (18:1n9)، لینولئیک (18:2n6) و لینولنیک (18:3n3) در پودر سیاه‌دانه‌ی افزوده به جیره در این تحقیق، به‌ترتیب، برابر با ۲۲/۴۵، ۵۲/۲۸ و ۲/۶۳ درصد از کل اسیدهای چرب بود. ماهیان آب شیرین، مانند قزل‌آلا، می‌توانند اسیدهای چرب لینولئیک و لینولنیک را به اسیدهای چرب بلند

زنجیره‌ی غیراشباع یعنی آراشیدونیک اسید (ARA) (18:4n6)، ایکوزاپنتانوئیک اسید (EPA) (20:5n3) و دکوزاهگزانوئیک 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 g/kg ۱۵ 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) 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، به‌طوری‌که علاوه بر داشتن خواص آنتی‌باکتریایی و آنتی‌اکسیدانی (Al-Harthi, 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، می تواند 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 خورتوجه 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 پایین‌بودن 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؛ به‌طوری‌که غلظت بالای سیاه‌دانه در جیره باعث تغییر رنگ، مزه و بوی غذا شده است، که این عوامل

باعث کاهش میزان غذاگیریِ ماهی شده و در نهایت، سبب کاهش رشد ماهی می‌شوند.

بر اساس یافته‌های تحقیق افزودن ۲۵ الی ۵۰ گرم پودر سیاه‌دانه به هر کیلوگرم غذای ماهی قزل‌آلا حاوی CFU $۱۰^{۸}$ 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 آبزیان.

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-Harthi, M.A. (2004). "Efficiency of utilizing some spices and herbs with or without antibiotic supplementation on growth performance and carcass characteristics of broliler chicks". *Egyptian Poult*. Sci. J. 24: 869-899.

Azza M.M. and Abd-El-Rhman, (2009). "Antagonism of Aeromonas hydro-phila by propolis and its effect on the performance of Nile tilapia, Oreoc-hromis niloticus". Fish and Shellfish Immunology, 27(3), 454-459.

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 streptococcossis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)". *Journal of fish disease*. 28: 693-701.

Crossland, J., (1980). Lewiss Pharmacology, 5th (Eds). Churchill Livingsto: 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.

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 ionoreg-ulatory development of spring chinook salmon parr, Oncorh-ynchus tshawy-tscha". *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 perfo-rmance. 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*, **27**4 , 1–14.

Khaled A. Abdel-Sater., (2009). "gastr-oprotective 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.

Ozkilzilcik, 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., Piyatira-titivorakul, 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 (*Monrone 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 Valfr´e, 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.