تغــذیه آبزیــان
سال پنجم، شماره اول،
بهار و تابستان ۱۳۹۸

تأثیر مکمل‌یاری سین‌بیوتیک بایومین ایمبو بر تغییرات آنزیم‌های دخیل در دفاع آنتی‌اکسیدانی، گوارشی و جمعیت میکروبی روده ماهی کفال خاکستری (*Mugil cephalus*)

سراج بیتا*، مهین سرحدی‌پور
گروه شیلات، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، سیستان و بلوچستان

تاریخ دریافت: ۹۸/۰۱/۳۱ تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۶/۲۱

چکیده
در سالیان اخیر به استفاده از مکمل‌های غذایی به‌خصوص سین‌بیوتیک‌ها در جیره غذایی ماهیان پرورشی به دلیل اثرات سودمند آنها بر سلامتی ماهیان توجه شده است. در این مطالعه اثرات سطوح مختلف سین‌بیوتیک بایومین ایمبو بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، گوارشی و فلور باکتریایی ماهی کفال خاکستری (*Mugil cephalus*) بررسی شد. ۱۲۰ قطعه بچه‌ماهی با میانگین وزنی ۰/۴۳ ± ۳/۹۲ گرم در آکواریوم‌های ۶۰ لیتری به تعداد ۱۰ قطعه در هر آکواریوم با جیره‌های حاوی ۰/۵، ۱ و ۱/۵ گرم سین بیوتیک در هر کیلوگرم غذا و گروه شاهد به مدت ۶۰ روز تغذیه شدند. تغذیه در حد سیری و به روش دستی انجام شد. در پایان دوره آزمایش، روده ماهیان خارج و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی شامل سوپراکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و گلوتاتیون اس- ترانسفراز و همچنین، آنزیم‌های گوارشی شامل لیپاز، آمیلاز، آلکالین فسفاتاز، پروتئاز، پپسین و کیموتریپسین و فلور باکتریایی بررسی شدند. طبق نتایج فعالیت سوپراکسید دیسموتاز در سطوح ۱ و ۱/۵ گرم و گلوتاتیون اس-ترانسفراز و گلوتاتیون ردوکتاز در سطح ۱ گرم سین‌بیوتیک در هر کیلوگرم غذا در مقایسه با تیمار شاهد افزایش معنی‌دار داشت ($p<0/05$)، در حالی‌که فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز تفاوت معنی‌داری را نشان نداد ($p>0/05$). نتایج سنجش فعالیت آنزیم‌های گوارشی نشان داد استفاده از سین‌بیوتیک بایومین ایمبو در سطح بالاتر بر فعالیت تمام این آنزیم‌ها بجز آلکالین فسفاتاز و لیپاز تأثیر معنی‌دار داشت ($p<0/05$). تعداد کل باکتری‌های زیست‌پذیر و لاکتیک اسید در سطوح ۱ و ۱/۵ گرم سین‌بیوتیک در هر کیلوگرم غذا نسبت به شاهد افزایش معنی‌دار و تعداد کلی‌فرم‌ها در این تیمارها با کاهش معنی‌دار همراه بوده است ($p<0/05$). یافته‌های تحقیق حاضر نشان داد که جیره حاوی ۱ گرم سین بیوتیک در هر کیلوگرم غذا را می‌توان به عنوان مکمل غذایی مناسب برای ماهی کفال خاکستری استفاده کرد.

کلمات کلیدی: سین بیوتیک بایومین ایمبو، دفاع آنتی‌اکسیدانی، آنزیم‌های گوارشی، فلور میکروبی، کفال خاکستری

نویسنده مسئول: serajbita@yahoo.com

مقدمه

بیماری‌های عفونی در ماهیان مشکل عمده‌ای برای آبزی‌پروری محسوب می شوند. بنابراین، یکی از اولویت‌های تحقیقاتی مهم در صنایع تولید غذاهای آبزیان، توسعه غذاهایی است که سبب ارتقای سلامت ماهیان شود. در طی چند سال گذشته، با افزایش توسعه صنعت آبزی‌پروری، روش‌های مختلفی برای غلبه بر این مشکلات به کار گرفته شده است که استفاده از اجزایی (به عنوان مواد افزودنی در جیره غذایی) همانند پروبیوتیک‌ها و پری‌بیوتیک‌ها می‌تواند نقش بسیار مهمی از این جنبه داشته باشد (Carbone and Faggio, 2016). سین‌بیوتیک‌ها به عنوان مواد افزودنی عملکردی به صورت ترکیبی از پروبیوتیک و پری‌بیوتیک هستند که استفاده از آن در آبزی‌پروری تاریخچه کوتاهی دارد (Hosseinifar et al. 2015; Dawood et al. 2018). به دلیل نگرانی‌هایی که ارتباط با مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها وجود دارد، استفاده از این مکمل‌ها به عنوان دوستدار محیط زیست، روشی پایدار برای بهبود عملکرد گونه‌های پرورشی است. زیرا آنها می‌توانند نقش مهمی در تعدیل دستگاه ایمنی و بهبود وضعیت اکسایش آنتی‌اکسیدان داشته باشند (Van Doan et al. 2018, Dawood et al. 2019). باتوجه به مشکلات موجود در پرورش مرحله نوزادی ماهی کفال، تغذیه و بکارگیری اصول مناسب غذادهی و نیز بالا بردن درصد بقا در طول دوره پرورش نوزادان پس از ورود به تغذیه فعال در آنها دارای اهمیت زیاد است (Giri et al. 2002).

اولین خط دفاعی بدن در مقابل استرس اکسیداتیو، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از قبیل کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون اس- ترانسفراز هستند (Yang et al. 2014) که سبب تبدیل آنیون سوپراکسید (O^{2-}) به پراکسید هیدروژن (H_2O_2) و سپس به آب و اکسیژن می‌شوند. گلوتاتیون ردوکتاز نیز گلوتاتیون اکسید شده را به فرم احیای آن تبدیل می‌کند. افزایش این آنزیم‌ها نشان دهنده حذف رادیکال‌های آزاد و غلبه بر استرس است (Jin et al. 2010)، به‌طوری‌که بهبود وضعیت آنتی‌اکسیدانی ممکن است به‌دلیل اثرات سین بیوتیک بر افزایش سطح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از قبیل کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و گلوتاتیون اس- ترانسفراز باشد (Iswarya et al. 2018). مشخص شده است که باکتری‌های پروبیوتیک قادر به تولید آنزیم‌های گوارشی خارج سلولی از جمله آنزیم‌های پروتئاز، لیپاز و آمیلاز هستند. این آنزیم‌ها از طریق افزایش فرآیند هضم مواد غذایی، سبب افزایش رشد موجود خواهند شد (Douillet and Langdon, 1994).

بوم‌شناسی میکروبی دستگاه گوارش انواع آبزیان آب شیرین و دریایی توسط بسیاری از پژوهشگران بررسی شده است و ثابت شده است که جمعیت باکتریایی ساکن روده، استقرار ریزموجودات بیماری‌زا را تحت تأثیر قرار می‌دهد. با وجود این، نقشی که هر یک از میکروب‌های موجود در دستگاه گوارش بر سلامت یا تغذیه آبزیان ایفا می‌کنند، هنوز به درستی درک نشده و نیازمند تحقیقات بیشتر است. استفاده از مکمل غذایی از جمله پروبیوتیک و پری‌بیوتیک به‌منظور افزایش رشد و بهبود جمعیت باکتریایی دستگاه گوارش در رشد، بقا، ایمنی و سلامت دستگاه گوارش از نظریه‌های مطرح است (Hosseinifar et al. 2010). در سال‌های اخیر مطالعاتی در زمینه تأثیر سین‌بیوتیک‌ها بر ماهیان توسط قاسم‌پور دهاقانی و همکاران (۱۳۹۲)، روحی و همکاران (۱۳۹۶)، حسینی‌فر و همکاران (۲۰۱۵)، جعفرزاده و همکاران (۲۰۱۵)، بیتا و همکاران (۱۳۹۶)، صفوی و همکاران (۱۳۹۷)، واعظی و همکاران (۲۰۱۶)، و چیت‌ساز و همکاران (۲۰۱۶) در ایران و Abid و همکاران (۲۰۱۳)، Mona و همکاران (۲۰۱۵)، Sewaka و همکاران (۲۰۱۹)، Singh و همکاران (۲۰۱۹) و Dawood و همکاران (۲۰۱۹) در دیگر کشورها انجام شده است. در تمام این مطالعات تعدیل دستگاه ایمنی، افزایش رشد و بازماندگی، بهبود مکانیسم دفاعی آنتی‌اکسیدانی و ارتقای سلامت ماهیان در اثر تغذیه با این مکمل‌ها گزارش شده است. بنابراین، هدف مطالعه حاضر، بررسی تغییرات آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، گوارشی و جمعیت میکروبی ماهی کفال خاکستری و نیز بهبود وضعیت سلامت و تولید نوزادان سالم و با کیفیت طی تغذیه با سین بیوتیک بایومین ایمبو است.

مواد و روش‌ها

شرایط تغذیه و آماده‌سازی تیمارها

۱۲۰ قطعه بچه‌ماهی کفال خاکستری با میانگین وزنی (میانگین ± انحراف معیار) ۰/۴۳ ± ۳/۹۲ گرم در سال ۱۳۹۴ از ساحل رمین واقع در چابهار با استفاده از تور پره صید و بلافاصله به سالن تکثیر و پرورش آبزیان دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار منتقل شدند. قبل از شروع آزمایش، بچه‌ماهیان در مخازن ۳۰۰ لیتری به مدت ۱۴ روز با شرایط آزمایشگاهی سازگار شدند و دو بار در روز با جیره غذایی پایه فرموله شده شرکت تعاونی تولیدی ۲۱ بیضاء، شیراز (با قطر mm ۶/۸-۱/۱ با ۵۰٪ پروتئین خام، ۱۳/۵٪ چربی خام، ۱/۷٪ فیبر خام و ۱۰٪ رطوبت) تا حد سیری تغذیه شدند (Hosseinifar et al. 2015). پس از اتمام دوره سازش‌پذیری، بچه‌ماهیان در تیمارهایی با مقادیر مختلف سین‌بیوتیک بایومین ایمبو شامل تیمار ۱ (۰/۵ گرم به ازای هر کیلوگرم غذا)، تیمار ۲ (۱ گرم به ازای هر کیلوگرم غذا) و تیمار ۳ (۱/۵ گرم به ازای هر کیلوگرم غذا) و گروه شاهد حاوی جیره غذایی فاقد مکمل سین‌بیوتیک، به‌منظور بررسی اثرات آن بر تغییرات آنزیم‌های دخیل در دفاع آنتی‌اکسیدانی، گوارشی و جمعیت میکروبی روده در آکواریوم‌های ۶۰ لیتری به تعداد ۱۰ قطعه بچه ماهی در هر آکواریوم به مدت ۶۰ روز غذادهی شدند. برای تأمین اکسیژن مورد نیاز بچه ماهی‌ها، در داخل هر مخزن یک عدد سنگ هوا قرار گرفته و تعویض آب و خارج سازی فضولات و مواد دفعی، از طریق عمل سیفون کردن یک روز در میان انجام شد. در طی دوره آزمایش تا حد ممکن تمام شرایط یکسان نگهداشته شد تا تنها عامل متغیر سطوح مختلف سین‌بیوتیک باشد.

نمونه برداری و سنجش شاخص‌های آنزیمی آنتی‌اکسیدانی و گوارشی

برای این منظور سه عدد ماهی از هر تکرار با استفاده از پودر گل میخک (۳ گرم در لیتر) بیهوش شده و سریعاً در مجاورت یخ قرار داده شدند تا با حداقل رساندن تغییر فعالیت آنزیمی، کالبدگشایی آن‌ها انجام شود. برای سنجش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و گوارشی، روده ماهیان به روش Cahu و همکاران (۱۹۹۹) آماده‌سازی و تا زمان سنجش در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. برای تهیه عصاره بافت روده ماهی، ۰/۵ گرم از روده ماهی توزین، و با ۲/۵ میلی لیتر بافر فسفات سرد ۱۰ میلی‌مولار با pH=۷/۴ مخلوط، و سپس با دستگاه هموژنایزر با دور rpm ۱۴۰۰۰ به مدت ۲ دقیقه کاملاً همگن شد. در مرحله بعد، بافت یکنواخت‌شده با سرعت rpm ۱۳۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس جداسازی مایع رویی به عنوان عصاره بافتی برای سنجش شاخص‌های آنزیمی انجام شد (Pérez-Jiménez et al. 2007). سنجش فعالیت آنزیم‌های گوارشی شامل آنزیم آلفا-آمیلاز بر اساس روش Worthington (۱۹۹۱)، تریپسین بر اساس روش Erlanger و همکاران (۱۹۶۱)، کیموتریپسین طبق روش Hummel (۱۹۵۹)، لیپاز به روش تیتراسیون بر اساس روش Worthington (۱۹۹۱) و آلکالین فسفاتاز قلیایی با استفاده از کیت تولید شده شرکت زیست شیمی (تهران، ایران) انجام شد. سنجش فعالیت آنزیم‌های مرتبط در دفاع آنتی‌اکسیدانی شامل سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، گلوتاتیون پراکسیداز (GPx) و گلوتاتیون ردوکتاز (GR) به ترتیب با استفاده از کیت‌های تجاری شرکت راندوکس (انگلستان) و گلوتاتیون اس ترانسفراز (GST) طبق روش Habig و همکاران (۱۹۷۴) انجام شد.

فلور باکتریایی

در پایان دوره آزمایش ۶ قطعه ماهی از هر تیمار به‌صورت تصادفی خارج شد. ماهیان با قطع نخاع آسان‌کشی شدند. جداسازی و شمارش تعداد کل باکتری‌ها، باکتری‌های اسید لاکتیک و کلی‌فرم‌ها از روده بچه ماهیان کفال خاکستری طبق روش Merrifeild و همکاران (۲۰۱۱) انجام شد. ۰/۵ گرم از بافت روده در ۴/۵ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی رقیق، و سپس از این نمونه، رقت‌های متوالی $۱۰^{۲}$ تا $۱۰^{۵}$ تهیه شد و به‌صورت سطحی در محیط کشت MRS Agar و TSA به‌ترتیب برای شمارش باکتری‌های لاکتیک اسید، کلی‌فرم‌ها و شمارش کلی کشت داده شد. شمارش پلیت‌های کشت داده‌شده در محیط کشت TSA پس از ۴۸ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و پلیت‌های کشت

داده‌شده در محیط کشت MRS به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد در جار بی‌هوازی قرار داده شدند. پس از انکوباسیون، پرگنه‌ها شمارش و نتایج به‌صورت لگاریتم به ازای هر گرم (Log cfu/g ± SD) ارائه شدند (Mahious et al. 2006).

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ انجام شد. از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه برای مقایسه داده‌ها، و معنی‌داری آنها با استفاده از آزمون توکی در سطح ۰/۰۵ درصد بررسی شد.

نتایج

پس از ۶۰ روز تغذیه ماهیان کفال خاکستری با سه سطح مختلف سین‌بیوتیک بایومین ایمبو (۰/۵، ۱ و ۱/۵ گرم به ازای هر کیلوگرم غذا) به همراه گروه شاهد نتایج حاصل از سنجش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، گوارشی و فلور میکروبی روده در جداول ۱ تا ۳ ارائه شده است. نتایج نشان داد که فعالیت اختصاصی آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در تیمارهای ۱ و ۲ در مقایسه با تیمار شاهد افزایش معنی‌دار داشت (p<۰/۰۵). بیشترین سطح فعالیت این آنزیم با میزان ۵۵۸/۰۳ ± ۸۶/۱۳ U/mg Protein در تیمار ۳ مشاهده شد. سطح فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز در تیمارهای مختلف سین‌بیوتیک بایومین ایمبو در مقایسه با تیمار شاهد کاهش یافت، اما این کاهش از نظر آماری معنی‌دار نبود (p>۰/۰۵) و کمترین میزان فعالیت آن نیز در تیمار ۲ مشاهده شد (۱/۵۷ ± ۰/۸۸ U/mg Pr). بیشترین فعالیت ویژه گلوتاتیون اس ترانسفراز و گلوتاتیون ردوکتاز در تیمار ۲ به دست آمد (جدول ۱) که نسبت به شاهد افزایش معنی‌دار داشت (p<۰/۰۵). همچنین، فعالیت آنزیم گلوتاتیون اس ترانسفراز در تیمار ۳ نسبت به تیمار ۲ کاهش معنی‌دار (p<۰/۰۵) و نسبت به تیمار ۱ و شاهد افزایش معنی‌دار داشت (p<۰/۰۵).

جدول ۱ تأثیر سین‌بیوتیک بایومین ایمبو بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی روده ماهی کفال خاکستری (*Mugil cephalus*)

	سوپراکسید دیسموتاز (U/mg Pr)	گلوتاتیون پراکسیداز (U/mg Pr)	گلوتاتیون اس ترانسفراز (U/mg Pr)	گلوتاتیون ردوکتاز (U/mg Pr)
شاهد	۲۸۹/۹۰ ± ۸۴^{b}	۱/۹۶ ± ۰/۷۰	۱۶/۲۴ ± ۵/۰۸^{c}	۱۱/۴۵ ± ۳^{b}
تیمار ۱	۳۰۲/۱۷ ± ۶۵/۳۷^{b}	۱/۵۷ ± ۰/۸۸	۱۶/۷۰ ± ۳/۴۴^{c}	۹/۹۵ ± ۱/۳۷^{b}
تیمار ۲	۵۶۴/۷۹ ± ۲۰/۹۹^{a}	۱/۹۲ ± ۰/۶۸	۲۴/۰۹ ± ۲/۸۵^{a}	۵۰/۱۶ ± ۱۴/۲۵^{a}
تیمار ۳	۵۵۸/۰۳ ± ۸۶/۱۳^{a}	۱/۷۷ ± ۰/۴۹	۱۹/۰۲ ± ۳/۴۰^{b}	۵۰/۰۰ ± ۸/۴۳^{a}

حروف غیرمشترک در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی‌دار است (p<۰/۰۵).

نتایج سنجش فعالیت آنزیم‌های گوارشی نشان داد که فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز و لیپاز در تیمارهای تغذیه شده با سطوح مختلف سین‌بیوتیک بایومین ایمبو در مقایسه با تیمار شاهد اختلاف معنی‌دار نداشت (p>۰/۰۵). بیشترین فعالیت آنزیم آمیلاز، پروتئاز و تریپسین به ترتیب با میزان ۱/۴ ± ۲۸/۸۸، ۳/۹۱ ± ۶۱/۰۶ و ۱/۷۹ ± ۱۳/۸ واحد بر میلی‌گرم پروتئین در تیمار ۲ مشاهده شد (جدول ۲) که از نظر آماری در مقایسه با تیمار شاهد افزایش معنی‌دار داشت (p<۰/۰۵). سطح فعالیت کیموتریپسین در تیمارهای ۲ و ۳ در مقایسه با شاهد افزایش معنی‌دار داشت (p<۰/۰۵) و بیشترین میزان آن در تیمار ۲ مشاهده شد. همچنین، فعالیت کیموتریپسین و آمیلاز در تیمار ۲ با تیمار ۳ اختلاف معنی‌دار نشان داد (p<۰/۰۵).

جدول ۲ تأثیر سین‌بیوتیک بایومین ایمبو بر فعالیت آنزیم‌های گوارشی روده ماهی کفال خاکستری (*Mugil cephalus*)

	آمیلاز (U/mg)	آلکالین فسفاتاز (U/mg)	لیپاز (U/mg)	پروتئاز (U/mg)	تریپسین (U/mg)	کیموتریپسین (U/mg)
شاهد	۲۰/۴۵ ± ۳/۱۶^{b}	۰/۸ ± ۰/۰۰۷^{a}	۱/۵۵ ± ۰/۰۶^{b}	۳۵/۷۷ ± ۶^{b}	۸/۹۵ ± ۰/۹b	۲۲۰ ± ۴۴/۵۵^{c}
تیمار ۱	۱۹/۸۹ ± ۱/۹۶^{b}	۰/۷۹ ± ۰/۱۵^{a}	۱/۸۹ ± ۰/۰۳^{b}	۳۵/۴۷ ± ۳/۰۸^{b}	۸/۶۳ ± ۲/۹۵^{b}	۲۳۴/۱۶ ± ۳۰/۷^{c}
تیمار ۲	۲۸/۸۸ ± ۱/۴^{a}	۰/۷۷ ± ۰/۲۱^{a}	۱/۵۸ ± ۰/۰۶۷^{b}	۶۱/۰۶ ± ۳/۹۱^{a}	۱۳/۸۰ ± ۱/۷۹^{a}	۴۱۶/۹۷ ± ۲۸/۵۳^{a}
تیمار ۳	۲۲/۰۱ ± ۲/۶۶^{b}	۰/۷۶ ± ۰/۱۸^{a}	۱/۶۰ ± ۰/۰۴۹^{b}	۵۸/۰۰ ± ۵/۲۵^{a}	۱۳/۷۳ ± ۴/۰۴^{a}	۳۳۱/۸۴ ± ۵۹/۲۵^{b}

حروف غیرمشترک در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی‌دار است ($p<۰/۰۵$).

از نظر شمارش باکتریایی، بالاترین تعداد کل باکتری‌های زیست‌پذیر در ماهیان تغذیه شده با سطوح مختلف سین‌بیوتیک بایومین ایمبو در تیمار ۳ به میزان log cfu/g ۰/۸۱ ± ۶/۷۵ به دست آمد که بجز با تیمار ۲ با بقیه تیمارها اختلاف معنی‌دار نشان داد ($p<۰/۰۵$). تعداد باکتری‌های اسید لاکتیک در تیمارهای ۲ و ۳ در مقایسه با تیمار شاهد افزایش معنی‌دار داشت ($p<۰/۰۵$) و بالاترین میزان آن در تیمار ۲ مشاهده شد (جدول ۳). کمترین شمارش تعداد کلی‌فرم‌ها در تیمار ۲ و بالاترین میزان آن در گروه شاهد مشاهده شد (جدول ۳) که از نظر آماری کاهش معنی‌داری در تیمارهای ۲ و ۳ نسبت به تیمار شاهد وجود داشت ($p<۰/۰۵$). همچنین، بیشترین نسبت درصد جمعیت باکتری‌های اسیدلاکتیک و کلی‌فرم‌ها به باکتری‌های کل به ترتیب مربوط به تیمار ۲ و شاهد بود.

جدول ۳ تاثیر سین‌بیوتیک بایومین ایمبو بر جمعیت میکروبی (log cfu/g) روده ماهی کفال خاکستری (*Mugil cephalus*)

	تعداد کل باکتری‌های زیست‌پذیر	تعداد باکتری‌های اسید لاکتیک	تعداد کلی‌فرم‌ها	درصد جمعیت باکتری‌های اسید لاکتیک به باکتری‌های کل	درصد جمعیت باکتری‌های کلی فرم به باکتری‌های کل
شاهد	۴/۸۸ ± ۰/۲۹^{b}	۳/۰۰ ± ۰/۲۴^{b}	۱/۹۸ ± ۰/۱۵^{c}	۶۱/۴۷^{b}	۴۰/۵۷^{c}
تیمار ۱	۴/۸۹ ± ۰/۷۰^{b}	۳/۰۸ ± ۰/۰۷^{b}	۱/۸۰ ± ۰/۲^{c}	۶۲/۹۸^{b}	۳۶/۸۰^{c}
تیمار ۲	۶/۵۹ ± ۰/۳۵^{a}	۴/۶۵ ± ۰/۱۵^{a}	۰/۶۵ ± ۰/۱۸^{a}	۷۰/۵۶^{a}	۹/۸۶^{a}
تیمار ۳	۶/۷۵ ± ۰/۸۱^{a}	۴/۳۳ ± ۰/۳^{a}	۱/۱۴ ± ۵/۲۵^{b}	۶۴/۱۵^{b}	۱۶/۸۹^{b}

حروف غیرمشترک در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی‌دار است ($p<۰/۰۵$).

بحث

توسعه غذاهای فراسودمند که سبب بهبود سلامت ماهی می‌شود، یکی از عوامل مهم مدیریت تغذیه‌ای در آبزی‌پروری است، توانایی استفاده از پروبیوتیک‌ها و سین‌بیوتیک در جیره غذایی آبزیان به منظور ارتقای سلامت توسط محققان مختلف اثبات شده است (Hosseinifaer et al. 2015; Adel et al. 2017; Dawood et al., 2019). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که فعالیت سوپراکسید دیسموتاز در تیمار ۳ و گلوتاتیون اس-ترانسفراز و گلوتاتیون ردوکتاز در تیمار ۲ بالاترین میزان بود که در مقایسه با شاهد افزایش معنی‌دار داشته است ($p<۰/۰۵$). سطح فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز در ماهیان تغذیه شده با سطوح مختلف سین‌بیوتیک بایومین ایمبو در مقایسه با شاهد کمتر بود و اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند. معمولاً باکتری‌های پروبیوتیک قادرند متابولیت‌های مختلفی با فعالیت آنتی‌اکسیدانی از قبیل گلوتاتیون، بوتیرات و فولات را تولید

کنند که نقش مهمی در بهبود وضعیت اکسیداتیو دارند (Wang et al. 2017)، اما احتمالاً سین‌بیوتیک‌ها میزان کمتری از این آنزیم آنتی‌اکسیدانی را داشته باشند (Singh et al. 2019) که سبب شده در مطالعه حاضر مقدار آن در تیمارهای حاوی سطوح مختلف سین‌بیوتیک نسبت به شاهد کمتر شود. سوپر اکسید دیسموتاز و گلوتیون اس-ترانسفراز و ردوکتاز به عنوان آنزیم‌های مهم در دستگاه دفاعی آنتی‌اکسیدانی هستند. افزایش فعالیت این آنزیم‌ها نشان دهنده مهار شدن فعالیت رادیکال‌های آزاد و بهبود وضعیت اکسیدان بدن ماهیان است (Puangkaew et al. 2005). مطابق با نتایج مطالعه حاضر، در مطالعه‌ای توسط حسینی‌فر و همکاران در سال ۲۰۱۷ در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) تغذیه شده با سین‌بیوتیک، Lee و همکاران (۲۰۱۷) در مارماهی ژاپنی (*Anguilla japonica*) تغذیه شده با مخلوط پروبیوتیک *Bacillus subtilis* و *Lactobacillus plantarum* و نیز Dawood و همکاران (۲۰۱۹) در ماهی تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) تغذیه شده با سین بیوتیک فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی افزایش یافت. همچنین Zhang و همکاران (۲۰۱۳) گزارش کردند استفاده از ۳٪ فروکتوالیگوساکارید همراه با باکتری پروبیوتیکی *Bacillus licheniformis* در جیره غذایی ماهی سیم (*Megalobrama terminalis*) منجر به افزایش فعالیت سوپراکسیداز دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز در کبد شد. محققان مختلف دریافتند که پروبیوتیک‌ها به طور معنی‌دار پراکسیداسیون لیپیدی و تشکیل نیتریک اکساید را در بافت‌ها مهار کرده و از این طریق آسیب اکسیداتیو ایجاد شده را کاهش، و مقادیر از قبیل گلوتاتیون پراکسیداز، گلوتاتیون ردوکتاز و سوپراکسید دیسموتاز را افزایش می‌دهند (Yadav *et al*., 2008). بر خلاف مطالعه حاضر در مطالعه Singh و همکاران (۲۰۱۹) تغذیه با مکمل سین‌بیوتیک در ماهی کپور هندی (*Labeo rohita*) تأثیر معنی‌داری بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون اس-ترانسفراز نداشت. این عدم همخوانی می‌تواند احتمالاً ناشی از نوع باکتری پروبیوتیکی، گونه ماهی و نیز شرایط آزمایش باشد.

ارزیابی فعالیت آنزیم‌های گوارشی، شاخص بالینی و فیزیولوژیک مهمی در تعیین سلامت دستگاه گوارش و مطالعه وضعیت تغذیه‌ای موجودات است، زیرا این آنزیم‌ها از طریق پیشبرد واکنش‌های بیوشیمیایی بر روی مواد غذایی، نقش مهمی در تأمین انرژی و متابولیت‌های حیاتی برای رشد، تکامل و دیگر فعالیت‌های زیستی ماهیان دارند (Gisbert et al. 2009). در مطالعه حاضر سطوح مختلف سین‌بیوتیک تأثیر متقاوتی بر فعالیت آنزیم‌های گوارشی داشتند، به‌طوری که حتی در بین تیمارهای مختلف سین‌بیوتیک نیز میزان فعالیت آنزیم‌های آمیلاز، تریپسین و کیموتریپسین با یکدیگر معنی‌دار بود. از بین آنزیم‌های گوارشی اندازه‌گیری شده بجز آنزیم آلکالین فسفاتاز و لیپاز، بقیه آنزیم‌های گوارشی در تیمار ۲ نسبت به شاهد افزایش معنی‌دار داشتند و بیشترین میزان آن مربوط به آنزیم پروتئاز بود. در مطالعه حاضر، افزایش فعالیت آنزیم‌های پروتئاز، آمیلاز، تریپسین و کیموتریپسین احتمالاً به دلیل تولید و ترشح آنزیم‌های خارج سلولی توسط سین بیوتیک موجود در جیره است، زیرا مشخص شده است که باکتری‌های پروبیوتیک قادر به ساختن آنزیم‌های خارج سلولی از قبیل پروتئاز و آمیلاز هستند که از این طریق، باعث افزایش فعالیت آن‌ها و فرایند هضم غذا می‌شوند (Douillet and Langdon, 1994). در مطالعه‌ای توسط دهقانی و همکاران (۲۰۱۵) افزایش معنی‌دار در فعالیت آنزیم‌های تریپسین و کیموتریپسین کپور معمولی تغذیه شده با سین بیوتیک بایومین ایمبو گزارش شد. در مطالعه این محققان، همسو با نتایج مطالعه حاضر، تغییر معنی‌داری در فعالیت آنزیم‌های لیپاز و آلکالین فسفاتاز مشاهده نشد. هم راستا با نتایج حاضر، Bairagi و همکاران (۲۰۰۴) افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی آمیلاز و پروتئاز را در ماهی روهو گزارش کردند. همچنین، Ghosh و همکاران (۲۰۰۴) با استفاده از جیره دستکاری شده ماهی روهو به شکل تخمیر با باسیلوس‌های پروبیوتیکی، روند افزایشی فعالیت آنزیم‌های گوارشی را گزارش کردند. Kumar و همکاران (۲۰۱۸) با بررسی تأثیر سین بیوتیک در جیره ماهی *Cirrhinus mrigala* تفاوت معنی‌دار در فعالیت

آنزیم‌های گوارشی نسبت به گروه شاهد مشاهده کردند که با نتایج مطالعه حاضر همخوانی دارد.

با توجه به اینکه روده ماهیان جایگاه مهمی از نظر بروز بیماری‌های باکتریایی به شمار می‌آید، بنابراین، بررسی جمعیت فلور میکروبی روده آن‌ها طی تغذیه با مکمل‌های غذایی به‌خصوص سین‌بیوتیک‌ها از اهمیت خاصی برخوردار است، زیرا در اثر استفاده از این مکمل‌ها، امکان تغییر فلور باکتریایی روده به سمت باکتری‌های مفید وجود دارد. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که به‌کارگیری مکمل سین‌بیوتیک بایومین ایمبو اثر معنی‌دار بر تعداد کل باکتری‌های زیست‌پذیر و اسید لاکتیک در تیمارهای ۲ و ۳ نسبت به گروه شاهد داشته است، به طوری که با افزایش سطح سین‌بیوتیک در جیره، تعداد کل باکتری‌های زیست‌پذیر نیز افزایش یافته است. مشخص شده است که به‌کارگیری این مکمل‌ها در جیره غذایی باعث تحریک رشد و تکثیر یک یا تعداد محدودی از باکتری‌های روده شده و به این ترتیب، سلامت میزبان را بهبود می‌بخشند (Collin and Gibsin, 1999). بنابراین، احتمالاً افزایش جمعیت میکروبی در مطالعه حاضر، به دلیل اثر مثبت سین‌بیوتیک بایومین ایمبو در القای رشد و تکثیر این باکتری‌هاست. نتایج مشابهی در اثر به‌کارگیری سطوح مختلف پری‌بیوتیک‌ها بر میکروبیوتای روده‌ای فیل‌ماهی (*Huso huso*) و ازون برون (*Acipenser stellatus*) به دست آمد (Mansour et al. 2012; Akrami et al. 2013). جمعیت باکتری‌های اسید لاکتیک در تیمار ۳ به‌رغم بالا بودن سطح سین‌بیوتیک در جیره، نسبت به تیمار ۲ اندکی کمتر بود. بر خلاف نتایج مطالعه حاضر، در مطالعه قاسم‌پور دهاقانی و همکاران (۱۳۹۲) بر روی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) بیشترین میزان باکتری‌های اسید لاکتیک در ماهیان تغذیه شده با بالاترین سطح سین‌بیوتیک (تیمار ۳) مشاهده شد. در مطالعه حسینی‌فر و حسین‌نیا (۱۳۹۳) جمعیت باکتری-های اسید لاکتیک در روده فیل ماهی جوان تغذیه شده با مکمل‌های فروکتوالیگوساکارید و پری‌بیوتیک مخمری، به موازات افزایش سطوح پری‌بیوتیک جیره، افزایش معنی‌دار داشت. همچنین، جمعیت کل باکتری‌های زیست‌پذیر، تفاوت معناداری با گروه شاهد نشان نداد که با نتایج تحقیق حاضر همسویی ندارد. این اختلاف در نتایج احتمالاً ناشی از گونه ماهی، نوع و میزان مکمل غذایی مورد استفاده و نحوه افزودن آن است. در مطالعه واعظی و همکاران (۲۰۱۶) شمارش باکتریایی کل و نیز جمعیت باکتری اسید لاکتیک در تاس ماهیان روسی (*Acipenser gueldenstadtii*) تغذیه شده با سین‌بیوتیک بایومین ایمبو نسبت به گروه شاهد به‌طور معنی‌دار بیشتر بود که با نتایج مطالعه حاضر همخوانی دارد. کمترین شمارش تعداد کلی‌فرم‌ها و بیشترین نسبت درصد باکتری‌های اسید لاکتیک به باکتری‌های کل در تیمار ۲ مشاهده شد که این افزایش نسبت باکتری‌های اسید لاکتیک به دلیل اثرات سین‌بیوتیک بر القای رشد و تکثیر باکتری‌های مفید و محدود شدن باکتری‌های مضر است، زیرا باکتری‌های اسید لاکتیک به واسطه تولید باکتریوسین‌ها، مانع از رشد باکتری‌های بیماری‌زا شده و بدین ترتیب، اثرات مثبتی بر فلور میکروبی روده ماهی می‌گذارند (Ringo and Gatesoupe, 1998).

نتیجه‌گیری کلی

با توجه به افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و گوارشی و نیز بالا بودن تعداد و نسبت باکتری‌های اسید لاکتیک به تعداد کل باکتری‌ها در تیمار ۲، به‌کارگیری سطح ۱ گرم سین بیوتیک به ازای هر کیلوگرم غذا توانسته است بهترین شرایط را برای ماهی کفال خاکستری از نظر بهبود سلامت دستگاه گوارش و مکانیسم دفاعی آنتی‌اکسیدانی و در نتیجه، ارتقای سلامت آن فراهم کند و استفاده از سین‌بیوتیک بایومین ایمبو به میزان ۱ گرم در هر کیلوگرم غذا می‌تواند مکمل غذایی مناسبی در تغذیه ماهی کفال خاکستری باشد.

منابع

بیتا، س.، اکبری، پ.، سرحدی‌پور، م. ۱۳۹۶. بررسی تاثیر سین‌بیوتیک (*Biomin Imbo*) بر وضعیت آنتی اکسیدان و پروفایل لیپیدی بچه ماهیان کفال معمولی (*Mugil cephalus*). تحقیقات دامپزشکی و فرآورده های بیولوژیک ۳۰: ۲۳۳-۲۲۴.

حسینی‌فر، س.ح.، حسین‌نیا، ز. ۱۳۹۳. بررسی مقایسه‌ای اثرات سطوح مختلف فروکتوالیگوساکارید و پربیوتیک مخمری بر ترکیب میکروبیوتای رودهای فیل ماهی جوان (*Huso huso*). بهره‌برداری و پرورش آبزیان ۳: ۷۸-۶۷.

روحی، ز.، قاسم‌زاده، ج.، شکوه سلجوقی، ظ. ۱۳۹۶. تأثیر سطوح مختلف سینبیوتیک بایومین ایمبوبر کارآیی رشد، تغذیه، ترکیب لاشه و برخی فاکتورهای ایمنی-خونی بچه ماهیان کفال خاکستری (*Mugil cephalus*). توسعه آبزی‌پروری ۱۱: ۶۵-۵۳.

صفوی، ف.، باقری، ط.، شهبازی ناصرآباد، س. ۱۳۹۷. تاثیر سین‌بیوتیک بایومین ایمبو بر شاخص‌های هماتولوژی، رشد، بهره‌وری غذا، ترکیب شیمیایی لاشه و بقای ماهی سفید خزری (*Rutilus frisii*). توسعه آبزی‌پروری ۱۲: ۸۲-۷۱.

قاسم پور دهاقانی، پ.، جواهری بابلی، م.، ضیایی‌نژاد، س.، تقوی مقدم، ا.، پورفرهادی، م. ۱۳۹۲. بررسی اثر مکمل غذایی سین بیوتیک بایومین ایمبو به عنوان مکمل غذایی بر عملکرد رشد، بازماندگی و فلور باکتریایی روده ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) انگشت قد. توسعه آبزی‌پروری ۷: ۵۲-۴۳.

Abid, A., Davies, S.J., Waines, P., Emery, M., Castex, M., Gioacchini, G., Merrifield, D.L. 2013. Dietary synbiotic application modulates Atlantic salmon (*Salmo salar*) intestinal microbial communities and intestinal immunity. Fish and Shellfish Immunology 35: 1948-1956.

Adel, M., Yeganeh, S., Dawood, M.A.O., Safari, R., Radhakrishnan, S. 2017. Effects of *Pediococcus pentosaceus* supplementation on growth performance, intestinal microflora and disease resistance of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. Aquaculture Nutrition 23: 1401-1409.

Akrami, R., Iri, Y., Rostami, H.K., Mansour, M.R. 2013. Effect of dietary supplementation of fructooligosaccharide (FOS) on growth performance, survival, lactobacillus bacterial population and hemato-immunological parameters of stellate sturgeon (*Acipenser stellatus*) juvenile. Fish and Shellfish Immunology 35: 1235-1239.

Bairagi, A., Sarkar Ghosh, K., Sen, S.K., Ray, A.K. 2004. Evaluation of the nutritive value of *Leucaena leucocephala* leaf meal, inoculated with fish intestinal bacteria *Bacillus subtilis* and *Bacillus circulans* in formulated diets for rohu, *Labeo rohita* (Hamilton) fingerlings. Aquaculture Research 35: 436-446.

Cahu, C.L., Infante, J.Z., Quazuguel, P., Le Gall, M.M. 1999. Protein hydrolysate vs. fish meal in compound diets for 10-day old sea bass *Dicentrarchus labrax* larvae. Aquaculture 171: 109-119.

Carbone, D., Faggio, C. 2016. Importance of prebiotics in aquaculture as immunostimulants. Effects on immune system of *Sparus aurata* and *Dicentrarchus labrax*. Fish and Shellfish Immunology 54: 172-178.

Cerezuela, R., Meseguer, J., Esteban, M.A. 2011. Current knowledge in symbiotic use for fish aquaculture: a review. Journal of Aquaculture Research and Developments 1: 1-7.

Chitsaz, H., Akrami, R., Arab Arkadeh, M. 2016. Effect of dietary synbiotics on growth, immune response and body composition of Caspian roach (*Rutilus rutilus*). Iranian Journal of Fisheries Sciences 15: 170-182.

Collins, M.D., Gibson, G.R. 1999. Probiotics, prebiotics and symbiotic: approaches for modulating the microbial ecology of the gut. The American Journal of Clinical Nutrition 69: 1052-1057.

Dawood, M.A., Eweedah, N.M., Moustafa, E.M., Shahin, M.G. 2019. Synbiotic effects of *Aspergillus oryzae* and β-

glucan on growth and oxidative and immune responses of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*. Probiotics and Antimicrobial Proteins 1-12.

Dawood, M.A., Koshio, S., Abdel-Daim, M. M., Van Doan, H. 2019. Probiotic application for sustainable aquaculture. Reviews in Aquaculture 11: 907-924.

Douillet, P.A., Langdon, C.J. 1994. Use of a probiotic for the culture of larvae of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas* Thunberg). Aquaculture 119: 25-40.

Erlanger, B.F., Kokowsky, N., Cohen, W. 1961. The preparation and properties of two new chromogenic substrates of trypsin. Archives of Biochemistry and Biophysics 95: 271-278.

Ghosh, K., Sen, S.K., Ray, A.K. 2004. Growth and survival of rohu, *labeo rohita* [hamilton, 1822] spawn fed diets fermented with intestinal bacterium, *bacillus circulans*. Acta Ichthyologica et Piscatoria 34: 155-165.

Giri, S.S., Sahoo, S.K., Sahu, B.B., Sahu, A.K., Mohanty, S.N., Mukhopadhyay, P.K., Ayyappan, S. 2002. Larval survival and growth in *Wallago attu* (Bloch and Schneider): effects of light, photoperiod and feeding regimes. Aquaculture 213: 151-161.

Gisbert, E., Giménez, G., Fernández, I., Kotzamanis, Y., Estévez, A. 2009. Development of digestive enzymes in common dentex *Dentex dentex* during early ontogeny. Aquaculture 287: 381-387.

Habig, W.H., Pabst, M.J., Jakoby, W.B. 1974. Glutathione S-transferases the first enzymatic step in mercapturic acid formation. Journal of Biological Chemistry 249: 7130-7139.

Hoseinifar, S.H., Mirvaghefi, A., Amoozegar, M.A., Sharifian, M., Esteban, M.Á. 2015. Modulation of innate immune response, mucosal parameters and disease resistance in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) upon synbiotic feeding. Fish and shellfish Immunology 45: 27-32.

Hoseinifar, S.H., Zare, P., Merrifield, D.L. 2010. The effects of inulin on growth factors and survival of the Indian white shrimp larvae and postlarvae (*Fenneropenaeus indicus*). Aquaculture Research 41: 348-352.

Hummel, B.C. 1959. A modified spectrophotometric determination of chymotrypsin, trypsin, and thrombin. Canadian Journal of Biochemistry and Physiology 37: 1393-1399.

Iswarya, A., Vaseeharan, B., Anjugam, M., Gobi, N., Divya, M., Faggio, C. 2018. β-1, 3 glucan binding protein-based selenium nanowire enhances the immune status of *Cyprinus carpio* and protection against *Aeromonas hydrophila* infection. Fish and Shellfish Immunology 83: 61-75.

Jafarzadeh, E., Khara, H., Ahmadnezhad, M. 2015. Effects of synbiotic (Biomin IMBO) on haematological and immunological components of Russian sturgeon, *Acipenser guldenstadti*. Comparative Clinical Pathology 24: 1317-1323.

Jin, Y., Zhang, X., Shu, L., Chen, L., Sun, L., Qian, H., Liu, W., Fu, Z. 2010. Oxidative stress response and gene expression with atrazine exposure in adult female zebrafish (*Danio rerio*). Chemosphere 78: 846-852.

Kumar, P., Jain, K.K., Sardar, P., Jayant, M., Tok, N.C. 2018. Effect of dietary synbiotic on growth performance, body composition, digestive enzyme activity and gut microbiota in *Cirrhinus mrigala* (Ham.) fingerlings. Aquaculture Nutrition 24: 921-929.

Lee, S., Katya, K., Park, Y., Won, S., Seong, M., Bai, S.C. 2017. Comparative evaluation of dietary probiotics *Bacillus subtilis* WB60 and *Lactobacillus plantarum* KCTC3928 on the growth performance, immunological parameters,

gut morphology and disease resistance in Japanese eel, *Anguilla japonica*. Fish and Shellfish Immunology 61: 201-210.

Mahious, A.S., Gatesoupe, F.J., Hervi, M., Metailler, R., Ollevier, F. 2006. Effect of dietary inulin and oligosaccharides as prebiotics for weaning turbot, *Psetta maxima* (Linnaeus, C. 1758). Aquaculture International 14: 219.

Mansour, M.R., Akrami, R., Ghobadi, S.H., Denji, K.A., Ezatrahimi, N., Gharaei, A. 2012. Effect of dietary mannan oligosaccharide (MOS) on growth performance, survival, body composition, and some hematological parameters in giant sturgeon juvenile (*Huso huso* Linnaeus, 1754). Fish Physiology and Biochemistry 38: 829-835.

Merrifield, D.L., Olsen, R.E., Myklebust, R., Ringø, E. 2011. Dietary effect of soybean (Glycine max) products on gut histology and microbiota of fish. In: El-Shemy H (ed) Soybean and Nutrition, INTECH Open Access Publisher 231-250.

Mona, M.H., Rizk, E.S.T., Salama, W.M., Younis, M.L. 2015. Efficacy of probiotics, prebiotics, and immunostimulant on growth performance and immunological parameters of *Procambarus clarkii* juveniles. The Journal of Basic and Applied Zoology 69: 17-25.

Pérez-Jiménez, A., Guedes, M.J., Morales, A.E., Oliva-Teles, A. 2007. Metabolic responses to short starvation and refeeding in *Dicentrarchus labrax*. Effect of dietary composition. Aquaculture 265: 325-335.

Puangkaew, J., Kiron, V., Satoh, S., Watanabe, T. 2005. Antioxidant defense of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in relation to dietary n-3 highly unsaturated fatty acids and vitamin E contents. Comparative Biochemistry and Physiology 140C: 187-196.

Ringø, E., Gatesoupe, F.J. 1998. Lactic acid bacteria in fish: a review. Aquaculture 160: 177-203.

Sewaka, M., Trullas, C., Chotiko, A., Rodkhum, C., Chansue, N., Boonanuntanasarn, S., Pirarat, N. 2019. Efficacy of synbiotic *Jerusalem artichoke* and *Lactobacillus rhamnosus* GG-supplemented diets on growth performance, serum biochemical parameters, intestinal morphology, immune parameters and protection against *Aeromonas veronii* in juvenile red tilapia (*Oreochromis* spp.). Fish and Shellfish Immunology 86: 260-268.

Singh, S.K., Tiwari, V.K., Chadha, N.K., Munilkumar, S., Prakash, C., Pawar, N.A. 2019. Effect of dietary synbiotic supplementation on growth, immune and physiological status of *Labeo rohita* juveniles exposed to low pH stress. Fish and Shellfish Immunology 91: 358-368.

Vaezi, M., Khara, H., Shenavar, A. 2016. Synbiotic (*Biomin imbo*) alters gut bacterial microflora of Russian sturgeon, *Acipenser guldenstadti* (Brandt and Ratzeburg, 1833) in a time-dependent pattern. Journal of Parasitic Diseases 40: 1189-1192.

Van Doan, H., Hoseinifar, S.H., Faggio, C., Chitmanat, C., Mai, N.T., Jaturasitha, S., Ringø, E. 2018. Effects of corncob derived xylooligosaccharide on innate immune response, disease resistance, and growth performance in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings. Aquaculture 495: 786-793.

Wang, Y., Wu, Y., Wang, Y., Xu, H., Mei, X., Yu, D., Wang, Y., Li, W. 2017. Antioxidant properties of probiotic bacteria. Nutrients 9: 5-21.

Worthington, C.C. 1991. Worthington Enzyme Manual. Freehold, New Jersey, USA, 346 p.

Yadav, H., Jain, S., Sinha, P.R. 2008. Oral administration of dahi containing probiotic *Lactobacillus acidophilus* and

Lactobacillus casei delayed the progression of streptozotocin-induced diabetes in rats. Journal of Dairy Research 75: 189-195.

Yang, T., Li, X., Zhu, W., Chen, C., Sun, Z., Tan, Z., Kang, J. 2014. Alteration of antioxidant enzymes and associated genes induced by grape seed extracts in the primary muscle cells of goats in vitro. PLoS One 9: e107670.

Zhang, C.N., Li, X.F., Xu, W.N., Jiang, G.Z., Lu, K.L., Wang, L.N., Liu, W.B. 2013. Combined effects of dietary fructooligosaccharide and *Bacillus licheniformis* on innate immunity, antioxidant capability and disease resistance of triangular bream (*Megalobrama terminalis*). Fish and Shellfish Immunology 35: 1380-1386.

The effects of symbiotic Biomin Imbo supplementation on the antioxidant activities, digestive enzymes and microbial flora of grey mullet, *Mugil cephalus* intestine

Seraj Bita*, Mahin Sarhadipour
Fisheries Department, Faculty of Marine Sciences, Chabahar Maritime University, Chabahar, Sistan and Baluchistan, Iran

Received 20 April 2019; accepted 12 September 2019

Abstract
In recent years, the use of dietary supplements, especially synbiotics, in the diet of farmed fish has been considered due to its beneficial effects on fish health. In this study, the effects of different levels of symbiotic Biomin Imbo were examined on the antioxidant activities, digestive and bacterial flora in the intestine of *Mugil cephalus*. One hundred and twenty grey mullet with a mean weight of 3.92 ± 0.43 g were reared in 60-liter aquaria for 60 days (10 fish in each aquarium) and the treatments were fed with diet containing symbiotic supplement at different levels including 0.5 ($T_{0.5}$) , 1 (T_1), 1.5 g ($T_{1.5}$) synbiotic per kg of feed, while control contained no supplementation. Feeding was carried out manually. At the end of the experiment, the fish intestine was removed and antioxidant enzyme activities including superoxide dismutase, glutathione peroxidase and glutathione S-transferase as well as digestive enzyme levels including lipase, amylase, alkaline phosphatase, protease, pepsin, chymotrypsin along with microbial flora were assayed. According to the results, superoxide dismutase activity at T_1 and $T_{1.5}$ and glutathione S-transferase and glutathione reductase at T_1 were significantly increased compared to the control ($p<0.05$), whereas glutathione peroxidase activity did not exhibit any significant difference ($p>0.05$). The high levels of synbiotic displayed significant effects on all the digestive enzyme activities except for alkaline phosphatase and lipase ($p<0.05$). Total number of viable and lactic acid bacteria in T_1 and $T_{1.5}$ significantly increased compared to the control, while the number of coliforms in these treatments was significantly decreased ($p<0.05$). The findings of the present study exhibited that the diet containing 1 g synbiotic per kg of feed can be used as a suitable dietary supplement for grey mullet.

Keywords: Synbiotic Biomin Imbo, Antioxidant defense, Digestive enzymes, Microbial flora, *Mugil cephalus*

Corresponding author: serajbita@yahoo.com