

بررسی تأثیر جیره غذایی بر شمارش تام باکتری‌های روده و مشخصات هیستومتریک روده ماهی کپور علفخوار (*Ctenopharyngodon idella*)

لفته محسنی نژاد*: گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز، صندوق پستی: ۱۹۱۵

رحیم پیغان: گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران، اهواز، صندوق پستی: ۱۳۹ تاریخ دریافت: اسفند ۱۳۹۳ تاریخ پذیرش: خرداد ۱۳۹۴

چکیده

در این مطالعه اثر مصرف یونجه و جو بر تعداد کل باکتری‌ها و تغییرات بافتی در روده ماهی کپور علفخوار مورد ارزیابی قرار گرفت. به این منظور تعداد ۶۰ قطعه ماهی از ۲ کارگاه پرورش ماهی با وزن (میانگین وزن \pm انحراف معیار) $319 \pm 1280/67$ گرم به صورت کاملاً تصادفی به دو گروه که از یونجه و جو تغذیه می‌کردند تقسیم و مورد بررسی قرار گرفتند. این ماهیان به مدت یک دوره پرورشی مورد تغذیه قرار گرفتند در انتهای دوره از هر مزرعه ۳۰ ماهی انتخاب گردید. پس از کالبدگشایی ماهی‌ها از بافت روده جهت شمارش تام باکتریایی و بافت‌شناسی به روش متداول آزمایشگاهی نمونه‌برداری صورت گرفت. نتایج نشان داد که میانگین تعداد باکتری (Colony Forming Unit) در ۲ گروه تفاوت معنی‌داری دارد ($p < 0/05$). در مطالعه بافتی روده طبق بررسی آماری در قطر لایه‌ها و تعداد سلول‌های موکوسی اختلاف معنی‌داری بین گروه‌ها وجود داشت ($p < 0/05$). به‌نحوی که در گروهی که با جو تغذیه شده بودند قطر لایه مخاطی افزایش یافته بود ولی قطر لایه عضلانی کم‌تر بوده است.

کلمات کلیدی: کپور علفخوار، بافت روده، یونجه، جو، باکتری



مقدمه

مواد پروتئینی و حتی انواع ویتامین‌های گوناگون بخصوص ویتامین‌های A و C از اهمیت خاصی برخوردار است (کریمی، ۱۳۸۱). آن دسته‌ای که به‌طور گسترده مطالعه شده‌اند گلوکان‌ها، پلی‌پپتیدهای خاص، لوامیزول و ویتامین C هستند (فاطمی و میرزرگر، ۱۳۸۶). عمده غذای مورد استفاده در پرورش کپور علفخوار یونجه تازه (*alfalfa*) می‌باشد (فریدپاک، ۱۳۸۹). برخی از مزارع به‌دلایل مختلفی قادر به تغذیه ماهی کپور علفخوار با یونجه نیستند و فقط از جو و دانه‌های گیاهی در استخر استفاده می‌کنند. از آن جایی‌که این نوع جیره که مناسب ماهی کپور علفخوار نیست احتمالاً باعث اختلالات تغذیه‌ای شده و تأثیر منفی بر فلور باکتریایی و بافت روده ماهی خواهد گذاشت. تاکنون در ارتباط با تأثیر جیره غذایی بر ساختار روده و فلور باکتریایی روده این ماهی خصوصاً در شرایط خوزستان بررسی صورت نگرفته است. هدف از این تحقیق، بررسی تأثیر جیره بر تعداد کلی باکتری‌ها و بافت روده در ماهی کپور علفخوار بود.

مواد و روش‌ها

تهیه نمونه برداری و تهیه ماهی: در تابستان سال ۱۳۹۳ از دو مزرعه پرورش ماهی (از هر مزرعه ۳ استخر) در ناحیه شوشتر (شمال استان خوزستان) انتخاب شدند. ماهیان کپور علفخوار در یکی از مزارع حداقل ۳ ماه به‌طور مداوم با یونجه و در دیگری با جو تغذیه شدند. ماهیان مورد مطالعه در محدوده وزنی (میانگین \pm انحراف معیار) $128.0/67 \pm 319$ گرم انتخاب گردیدند. برای عملیات نمونه‌برداری در تابستان ۱۳۹۳ به‌طور اتفاقی و با استفاده از تور پرتابی اقدام به صید ماهی گردید. ماهیان به‌طور زنده به آزمایشگاه بخش بهداشت و بیماری‌های آبزیان پژوهشکده آبی‌پروری جنوب کشور منتقل شدند. برای بررسی ماهیان ابتدا نخاعی شده زیست‌سنجی اولیه شامل اندازه‌گیری وزن و طول کل بدن انجام گردید. برای اندازه‌گیری طول از زیست‌سنجی و برای اندازه‌گیری وزن از ترازوی دیجیتال (A&D با دقت ۰/۰۰۱ گرم) استفاده شد.

شمارش کلی باکتریایی: برای مطالعه باکتریایی یک گرم از بافت روده را درون یک هاون چینی استریل هم‌زن کرده و از آن رقت‌های مختلف تهیه شد. بدین‌صورت که یک گرم بافت را در ۹ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی حل کرده و یک میلی‌لیتر از این محلول درون لوله دیگر حاوی ۹ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی ریخته می‌شود و به‌همین ترتیب رقت‌های مختلف تهیه شد.

پرورش آبزیان به‌منظور تولید و تامین بخشی از پروتئین موردنیاز انسان‌ها هست و ۴۴ درصد مردم در طول سال از ماهی استفاده می‌کنند (Salehi, ۲۰۰۶). هم‌چنین در امر پرورش ماهی ۵۰ تا ۶۰ درصد هزینه پرورش مربوط به تهیه و تولید غذا است که یکی از فاکتورهای مهم در رشد و تولید است (سوداگر و همکاران، ۱۳۸۶؛ FAO، ۲۰۰۶). تغذیه مناسب، در سلامت تمامی حیوانات نقش اساسی دارد و ماهیان نیز از این امر مستثنی نیستند، در بین ماهیان، بیماری‌هایی وجود دارد که مستقیماً وابسته به کمبود یا زیادی مواد غذایی است (ستاری و فرامرزی، ۱۳۷۸) عوارض و بیماری‌های تغذیه‌ای از جمله بیماری‌های متداول در پرورش ماهی هستند با این حال کم‌تر مورد توجه قرار می‌گیرند. این موضوع بیش‌تر به‌دلیل پیچیدگی و عدم امکان تشخیص قطعی بسیاری از این بیماری‌ها است (پیغان و مشایی، ۱۳۸۴). ماهی کپور علفخوار با توجه به محیط پیچیده و شرایط خاص اکولوژیکی خود مستعد ابتلاء به انواع آلودگی‌های ویروسی، باکتریایی، قارچی و انگلی می‌باشد. قابل مشاهده‌ترین تفاوت در بین ماهیان طول روده (از اسفنکتر باب المعده تا مخرج) است در ماهیان گوشت‌خوار طول روده حدود ۲۰٪ طول بدن بوده و روده مستقیماً از معده تا مخرج کشیده می‌شود و در ماهیان علفخوار طول روده تا بیش از ۲۰ برابر طول بدن می‌رسد (ستاری، ۱۳۸۱؛ Kasumyan و همکاران، ۲۰۰۲). اثرات جیره غذاهای پلت و گیاهی بر شاخص‌های رشد و برخی خصوصیات ریختی دستگاه گوارش بچه‌ماهی انگشت قد کپور علفخوار (*Ctenopharyngodon idella*) به اثبات رسیده است (امیرکلایی و همکاران، ۱۳۸۹؛ خارا و همکاران، ۱۳۸۱). هم‌چنین جهت تعیین ارجحیت غذایی ماهی کپور علفخوار تغذیه شده با گیاهان آبی نیز در کشور تحقیقاتی صورت گرفته است (حسینی و همکاران، ۱۳۹۰؛ فیلی‌زاده، ۱۳۷۹). گزارش‌هایی نیز در مورد تأثیر یونجه بر بهبود زخم وجود دارد (یوسفی و همکاران، ۱۳۸۹) هضم و جذب کربوهیدرات‌ها، توسط ماهی شبیه به پستانداران است. با این تفاوت که ماهی‌ها قادر نیستند مقادیر زیادی کربوهیدرات‌ها را هضم و جذب و متابولیزه کنند (Statoskopf, ۱۹۹۳). گیاه جو دارای مقادیر زیادی ویتامین به‌خصوص از نوع B₁، B₂، B₁₂، E، A بوده که علاوه بر آن از نظر مواد معدنی مانند کلسیم، فسفر، مس، سدیم، منگنز، منیزیم و کبالت غنی است (خدابنده، ۱۳۸۹). یونجه نیز با دارا بودن ذخایر غذایی از جمله مواد معدنی مختلف مانند کلسیم،

جدول ۱: مقایسه شمارش کلی باکتری ماهیان
تغذیه شده با یونجه و جو (CFU/gr)

ماهی	تعداد ماهی	میانگین \pm انحراف معیار
تغذیه با یونجه	۳۰	$6/4 \pm 36/2 \times 10^6$
تغذیه شده با جو	۳۰	$2/1 \pm 75/9 \times 10^7$



شکل ۱: یک نمونه پلیت قابل شمارش باکتری



شکل ۲: کلونی‌های باکتریایی در بافت تازه روده به ترتیب در رقت‌های ۰/۱ و ۰/۰۱ در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد

۰/۱ میلی‌لیتر از هر رقت در سطح پلیت حاوی محیط TSA ریخته و با استفاده از میله شیشه‌ای خمیده پخش گردید. پس از طی ۲۴-۴۸ ساعت زمان انکوباسیون با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، پلت‌هایی که دارای ۳۰-۳۰۰ کلنی بودند شمارش شدند و تعداد کلنی‌ها در عکس ضریب رقت ضرب شده و تعداد تقریبی باکتری‌های موجود در ۱ گرم نمونه محاسبه گردید (Karim, ۲۰۰۳). (CFU یا Colony Forming Unit)

بافت‌شناسی: برای بررسی بافتی پس از برش محوطه شکمی روده هر ماهی خارج و قطعه‌ای به طول یک سانتی‌متر از وسط و انتهای روده جدا گردید، برای انجام پایدارسازی، نمونه‌ها در فرمالین ۱۰٪ قرار داده شدند. پس از مدت زمان ۴۸ ساعت، فرمالین نمونه‌ها با الکل ۷۰ درصد تعویض گردید. بعد از طی شدن دوره تثبیت، نمونه‌ها از الکل خارج شده و پس از برش با تیغ اسکالپل، نمونه‌های با اندازه نیم سانتی در قالب‌های مخصوص قرار داده شدند سپس سایر مراحل طبق روش‌های معمول برای تهیه مقاطع انجام شد. مراحل تهیه مقطع بافت به ترتیب شامل پایدارسازی (ثبوت)، شست‌وشو، آب‌گیری، شفاف کردن، آغشتگی با پارافین، قالب‌گیری و برش دادن مقاطع بود. پس از طی مراحل فوق مقاطع مناسب روی لام قرار داده شدند و سپس با روش هماتوکسیلین-اتوزین رنگ‌آمیزی صورت گرفت (Noga, ۱۹۹۵).

برای اندازه‌گیری میکرومتری بافت روده از میکروسکوپ دوربین‌دار صایران و نرم‌افزار Axiovision استفاده شد و تصویرهایی با بزرگ‌نمایی ۱۰۰،۴۰۰ و ۱۰۰۰ برابر گرفته شد. برای بررسی آماری میانگین‌ها، از نرم‌افزار spss۱۷ و برنامه آنالیز واریانس یک‌طرفه و تست توکی استفاده گردید. در ضمن تمامی داده‌ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار ارائه شده‌اند.

نتایج

نتایج شمارش کلی باکتری: نتایج بررسی نشان داد میانگین تعداد باکتری در گروه تغذیه شده با یونجه (CFU/gr) $6/4 \pm 36/2 \times 10^6$ و در گروه تغذیه شده با جو میانگین تعداد باکتری (CFU/gr) $2/1 \pm 75/9 \times 10^7$ بود (جدول ۱). بررسی آماری نشان داد، تعداد باکتری در گروه دوم بیش‌تر از گروه اول بوده که این اختلاف معنی‌دار بود ($P < 0/01$).



دو گروه مورد مطالعه



شکل ۳: نمودار ستونی مقایسه میانگین (M±SD) تعداد کل باکتری‌ها (CFU/gr) در یک گرم بافت تازه روده ماهیان کپور علفخوار تغذیه شده با جو و گروه تغذیه شده با یونجه

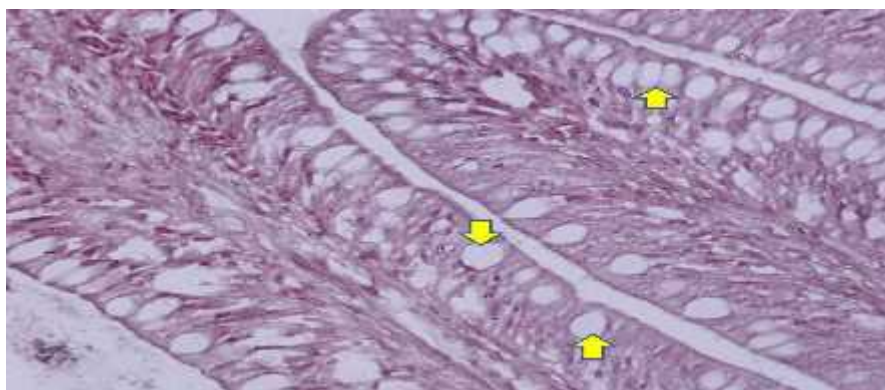
در گروهی که جو مصرف می‌کرد، باوجود کاهش قطر لایه عضلانی، قطر لایه مخاطی (شکل ۵) روده افزایش یافته بود. در هر دو گروه انتهای روده نسبت به وسط روده، تعداد سلول‌های موکوسی بیش‌تری مشاهده گردید. در بقیه موارد اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($p > 0.05$).

نتایج بررسی بافت‌شناسی: در بررسی بافتی روده در دو گروه مورد مطالعه، میانگین قطر لایه‌ها و تغییرات سلول‌های موکوسی مورد توجه قرار گرفت و باهم مقایسه گردید. نتایج این مقایسه در جدول ۲ نشان داده شده است. طبق بررسی آماری در قطر لایه‌ها و تعداد سلول‌های موکوسی (شکل ۴) اختلاف معنی‌داری بین گروه‌ها وجود داشت ($p < 0.05$).

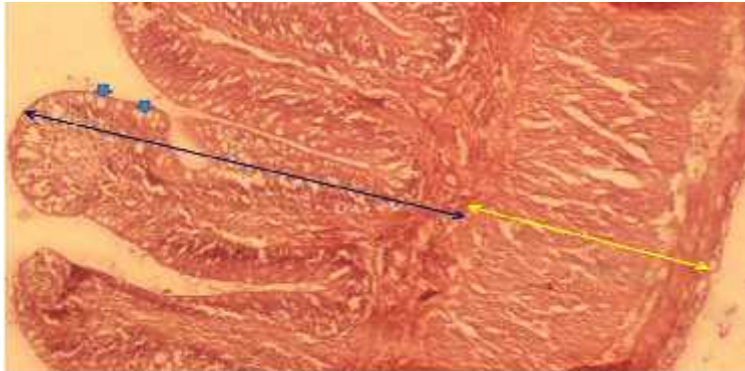
جدول ۲: مقایسه اثرات رژیم غذایی بر قطر لایه‌های بافتی روده ماهیان کپور علفخوار (میانگین ± انحراف معیار)

گروه	قطر مخاط	قطر لایه عضلانی	قطر کل لایه‌ها	تعداد سلول موکوسی (در ۱۰۰۰۰ میکرومتر مربع)
گروه تغذیه شده با یونجه (ناحیه وسط روده)	۱۴۶±۷۱۵ ^b	۹۸±۲۸۱ ^b	۱۹۱±۹۹۶ ^b	۱۰±۲۷ ^b
گروه تغذیه شده با یونجه (ناحیه انتهای روده)	۱۷۷±۷۵۷ ^b	۱۸۵±۶۰۱ ^a	۱۸۹±۱۳۵۸ ^a	۱۷±۴۴ ^a
گروه تغذیه شده با جو (ناحیه وسط روده)	۱۱۳±۷۹۰ ^a	۵۶±۲۴۱ ^b	۱۴۷±۱۰۳۱ ^b	۶±۲۳ ^b
گروه تغذیه شده با جو (ناحیه انتهای روده)	۱۳۵±۷۴۳ ^b	۹۹±۲۴۹ ^b	۱۷۳±۹۳۳ ^b	۳۳±۴۰ ^a

حروف متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین اندازه‌ها در هر ستون است.



شکل ۴: مقطع عرضی ناحیه وسط روده ماهی کپور علفخوار تغذیه شده با جو: لایه مخاطی حاوی تعداد زیادی سلول‌های موکوسی (پیکان‌ها) است. (رنگ آمیزی H&E، بزرگ‌نمایی ×۱۰۰۰)



شکل ۵: مقطع عرضی ناحیه انتهایی روده ماهی کپور علفخوار تغذیه شده با یونجه: لایه عضلانی (پیکان زرد رنگ)، لایه مخاطی (پیکان سیاه) و سلول‌های موکوسی (پیکان‌های کوچک) (رنگ آمیزی H&E، بزرگ‌نمایی $\times 400$)

بحث

در ایران، تکثیر و پرورش کپور علفخوار به علت مرغوبیت گوشت از نظر اقتصادی توجیه پذیر است و ارزش اقتصادی بالایی دارد. ماهی کپور علفخوار از جمله ماهیان بدون معده است که در محیط طبیعی از گیاهان عالی و علوفه‌ای مانند نی، علف مرغ، شبدر، یونجه و گیاهان آبی استفاده می‌کند. به دلیل امکان تکثیر مصنوعی و تغذیه با علوفه دستی ماهی کپور علفخوار از جمله ماهیان پرورشی با ارزش اقتصادی بالا محسوب می‌شود و سهم زیادی از تولید کپور ماهیان در دنیا را به خود اختصاص می‌دهد (چمن‌آرا، ۱۳۹۲).

نتایج به دست آمده از بررسی‌های آماری در این پژوهش نشان داد که بین ۲ گروه مورد تحقیق از نظر میانگین وزن اختلاف معنی داری وجود نداشت ($P > 0.05$). در پژوهش حاضر از روش شمارش کلی باکتریایی برای بررسی وضعیت روده ماهی کپور علفخوار استفاده گردید طبق نتایج و در بررسی بین ۲ گروه مورد مطالعه از نظر میزان تعداد باکتری در هر گرم از بافت تازه روده اختلاف معنی داری وجود داشت ($P < 0.01$). در مطالعه حاضر در گروه تغذیه شده با جو با میانگین (CFU/gr) $2.1 \pm 75.9 \times 10^7$ تعداد کلی باکتری بالاتری نسبت به گروه تغذیه شده با یونجه با میانگین (CFU/gr) $4 \pm 2 \times 10^6$ در هر گرم از بافت تازه روده مشاهده گردید. اطلاعات علمی موجود در زمینه مراحل همه‌گیری‌شناسی، مکانیسم‌های ایمنی و آسیب‌شناسی مربوط به باکتری‌ها از طریق اطلاعات مربوط به جانوران خونگرم به دست آمده است و کم‌تر در مورد جانوران خونسرد کار شده است. (Karim, 2003; Pollock و همکاران، 2002; Robert, 1989; Ringo و همکاران، 1998). امروزه

درک بیش‌تری از نیاز به مطالعه باکتری‌ها در ارتباط با شرایط محیطی آن‌ها و نیز فیزیولوژی میزبان‌شان به وجود آمده است و نتیجه حاصل این بوده است که بیماری‌های باکتریایی ماهی عمدتاً با تغذیه ارتباط دارند. محیط‌های آبی دارای فلور طبیعی باکتریایی می‌باشند، باکتری‌ها متنوع‌ترین و بزرگ‌ترین جوامع میکروارگانیسم‌ها هستند (Hurst, 1997).

در چندین پژوهش ثابت شده که کمبودهای غذایی، ضایعات ناشی از عفونت‌های باکتریایی، ویروسی و انگلی و عوامل مختلف و استرس‌زا به عنوان عوامل مستعدکننده بیماری به شمار می‌آیند (Post, 1987). باکتری‌ها پس از ورود به دستگاه گوارش همراه آب و مواد غذایی یا در مجاری گوارشی استقرار یافته و به عنوان بخشی از فلور طبیعی روده درآمده و یا توسط عوامل ضد میکروبی، ترشحات گوارشی و شرایط نامناسب دستگاه گوارش از بین می‌روند و یا همراه مدفوع مستقیماً دفع می‌شوند. هم‌چنین باکتری‌ها پس از استقرار در سطوح خارجی و مجاری گوارشی به عنوان پاتوژن اولیه عمل کرده و موجب بروز بیماری می‌شوند (Austin و همکاران، 1993).

در مطالعه دیگری توسط Ringo و همکاران (1994) ثابت شد که جیره غذایی در میکرو فلور روده ماهیان آب شیرین و شور پرورشی تأثیر دارد. بررسی حاضر نشان داد که شاخص‌های باکتریایی در دو کارگاه مورد مطالعه از نظر آماری اختلاف معنی داری دارد که این نشان‌دهنده شرایط مختلف تغذیه‌ای کارگاه‌های مذکور است. با توجه به یافته‌های فوق می‌توان نتیجه‌گیری نمود که تغذیه ماهی کپور علفخوار بر فلور باکتریایی تأثیر به‌سزایی گذاشته است تفاوت در تعداد باکتری‌ها علاوه بر شرایط فیزیکی‌وشیمیایی، فصل و نوع تغذیه می‌تواند به روش نمونه‌برداری، دستگاه گوارش تازه یا منجمد، روش‌های

بدن از دمای آب محیط اطراف، فلور میکروبی دائماً در حال تغییر است (Lesel, ۱۹۹۰). پس می‌توان نتیجه گرفت که با توجه به بیولوژی و نوع تغذیه‌ای این ماهی احتمالاً مصرف گیاهان و به‌خصوص یونجه برای این ماهی ضروری است. ساختارهای بافتی در ماهی‌ها اساساً مشابه مهره‌داران عالی‌تر است اما از آن‌جاکه این موجودات آبی می‌باشند ویژگی‌های خاص فیزیولوژی و بافت‌شناسی به تخصصی شدن برخی ارگان‌ها و بروز تفاوت با حیوانات خشکی‌زی منجر شده است (مینوش و همکاران، ۱۳۸۹). در پژوهش حاضر بررسی بافتی روده در دو گروه مورد مطالعه نشان‌دهنده بروز تغییراتی قابل توجه در میانگین قطر لایه‌ها و تغییرات سلول‌های موکوسی بوده است. نوع ماده موکوسی ترشح‌شده براساس گونه ماهیان و نیز مسیرهای مختلف دستگاه گوارش متفاوت است و کیفیت مواد مخاطی روده به‌طور کامل ارتباط مستقیمی با شرایط محیطی و همچنین نوع عملکرد کانال تغذیه دارد (Goff و همکاران، ۱۹۹۶؛ Cinar و همکاران، ۲۰۰۶). وجود لنفوسیت‌ها در بین بافت پوششی دستگاه گوارشی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان گزارش شده است (Banan و همکاران، ۲۰۰۹). وظیفه اصلی این سلول‌ها محافظت از اندام‌های بدن در برابر ورود عوامل میکروبی و بیماری‌زا است (پوستی و همکاران ۱۳۸۷) مهم‌ترین یافته‌ای که در این تحقیق به‌دست آمد این است که در گروهی که جو مصرف کرده‌اند قطر لایه مخاطی افزایش یافته است ولی قطر لایه عضلانی کم‌تر بوده است. شکل‌های میکروسکوپ نوری نشان می‌دهد که در هر دو گروه انتهایی روده نسبت به وسط روده، تعداد سلول‌های موکوسی بیش‌تری داشته است، بنابراین بررسی بافت‌شناسی یک پارامتر جامع است که به‌صورت کامل وضعیت سلامت ماهی را مشخص می‌کند

Van der Oost و همکاران (۲۰۰۳) عنوان کردند که شناخت رفتارهای تغذیه‌ای در امر پرورش نیز حائز اهمیت است. تاکنون مطالعه‌ای روی اثر یونجه بر بافت روده ماهی کپور علفخوار صورت نگرفته است. لذا با توجه به نتایج به‌دست آمده و مطالب اشاره‌شده در این مطالعه از مقایسه دو روش جیره غذایی به‌نظر می‌رسد که افزایش قطر لایه مخاطی احتمالاً به-دلیل تحریک مخاط و هایپرپلازی آن بوده است. به-طوری‌که استفاده زیاد از جو معمولی در ترکیب تغذیه سبب کاهش قابلیت هضم خوراک، کندی سرعت عبور مواد غذایی در مجرای گوارشی، کاهش هضم چربی و چسبندگی در مدفوع می‌گردد. این موضوع می‌تواند جذب مواد غذایی را کاهش دهد. ساختار

کشت، هموزنیزه کردن محتویات روده و ... بستگی داشته باشد (سفلایی، ۱۳۷۸). برخی از گونه‌های باکتریایی با این‌که جزء فلور طبیعی آب و یا بدن موجودات آبی هستند ممکن است شرایط نامساعد محیطی و تغذیه‌ای منجر به ازدیاد آن‌ها شود و این امر زمینه را برای بروز بیماری فراهم خواهد کرد (Hurst, ۱۹۹۷). Birkbeck و همکاران (۲۰۰۵)، گزارش دادند که جمعیت باکتریایی در روده ماهیان دارای ثبات خاصی است و این امر از نقطه نظر بروز عفونت‌های میکروبی و بیماری ماهیان دارای اهمیت بالایی می‌باشد. Huss (۱۹۸۸) عنوان کرد که هنگام صید ماهی تعداد باکتری‌ها در هر سانتی‌متر مربع پوست 10^2-10^7 و در هر گرم بافت آبشش 10^9-10^3 و در هر گرم بافت روده 10^9-10^3 عدد هست این میزان وسیع منعکس‌کننده اثرات محیط بر روی ماهی‌ها است. به‌طوری‌که در آب‌های سرد و تمیز که ماهی صید شود این تعداد به میزان 10^0-10^1 باکتری در هر سانتی‌متر مربع پوست می‌رسد ولی در آب‌های گرم و مناطق آلوده این میزان افزایش فوق‌العاده‌ای می‌یابد.

میزان حضور باکتری‌ها در روده ماهی بازتابی از محل زندگی ماهی و نوع غذای مصرفی آن است محدوده تعداد باکتری‌ها در کل دستگاه گوارش لارو با کیسه زرده و لارو پیشرفته از صفر تا 10^4 کلنی در گرم است، درحالی‌که در انگشت قدها از 10^3 تا 10^7 باکتری در گرم است (پورصفرطبالوندانی، ۱۳۸۸؛ Cahill, ۱۹۹۰). چندین مطالعه ثابت کرده که دست‌یابی به نتایج مطلوب در پرورش آبزیان از جمله ماهیان گرم‌آبی، مستلزم وقوف کامل به نیازهای محیطی و تغذیه‌ای و نیز عوامل زمینه‌ساز ایجاد بیماری در این ماهیان است افزایش بار آلی استخر ناشی از کود دهی می‌تواند باعث افزایش ناگهانی تعداد کل باکتری و زخم در بافت‌های داخلی ماهیان پرورشی شود (سید مرتضایی و همکاران، ۱۳۹۰؛ پیغان و مشایی، ۱۳۸۴).

Hansen و همکاران (۱۹۹۹) نیز عنوان کرده‌اند که میکروفلور و pH روده‌ای ماهیان همانند مهره‌داران عالی‌تر به شرایط متفاوتی از قبیل ترکیبات غذایی شرایط بی‌هوازی، غلظت نمک‌های صفراوی و آنزیم‌های گوارشی و تأثیرات متقابل جمعیت باکتریایی روده بستگی دارد. Ringo و همکاران (۱۹۹۴) گزارش کردند که تعداد طبیعی جمعیت باکتری در روده ماهیان 10^8 باکتری هتروترفیک هوازی در گرم و تقریباً 10^5 باکتری غیر هوازی در گرم است. جستجوی صورت گرفته نشان داد که تحقیق مشابهی که بتوان نتایج آن را با یافته ذکرشده مقایسه کرد وجود ندارد، در آبزیان به‌علت خونسرد بودن و تبعیت دمای

منابع

۱. پورصفرطبالوندانی، م.، ۱۳۸۸. بررسی آلودگی باکتریایی محصولات شیلاتی. پایان نامه کارشناسی مرکز آموزش عالی علوم و صنایع شیلاتی میرزا کوچک خان رشت. ۶۹ صفحه.
۲. پوستی، آ.؛ ادیب مرادی، م. و فضیلی، آ.، ۱۳۸۷. بافت‌شناسی مقایسه‌ای. انتشارات دانشگاه تهران. ۲۳۲ صفحه.
۳. پیغان، ر. و عبدالله‌مثنائی، م.، ۱۳۸۴. مدیریت مزارع پرورشی ماهی گرم آبی، انتشارات دریا سر. ۱۷ صفحه.
۴. چمن‌آرا، و. و فرهودی، آ.، ۱۳۹۲. تغییرات آنتوژنی آنزیم‌های گوارشی پانکراسی و اسیدهای چرب در تخم و لارو کپور علفخوار *Amor (Ctenopharyngodon idella)*. مجله منابع طبیعی ایران. دوره ۶۶، شماره ۴، ۴۲۴ صفحه.
۵. حسینی، آ.؛ فیلی‌زاده، م. و نظامی، ش.، ۱۳۹۰. بررسی ارجحیت غذایی و میزان رشد ماهی *Amor (Ctenopharyngodon idella Val)* تغذیه شده با ۶ گیاه آبی. مجله تحقیقات منابع طبیعی تجدیدشونده. سال ۲، شماره ۲، صفحات ۱۴۶ تا ۱۵۲.
۶. خارا، ح.؛ کیوان، آ.؛ نظامی‌بلوچی، ش.؛ مهدی‌نژاد، ک. و محمدجانی، ط.، ۱۳۸۱. بررسی رژیم غذایی دورگه ماهی سفید ماده و آمو نر. مجله علمی شیلات ایران. دوره ۱۱، شماره ۲، صفحات ۲۵ تا ۳۱ صفحه.
۷. خداپنده، ن.، ۱۳۸۹. غلات. مرکز نشر دانشگاهی. تهران. ۱۹۷ صفحه.
۸. ستاری، م. و فرامرزی، ن.، ۱۳۷۸. بهداشت ماهی. انتشارات دانشگاه گیلان. ۱۷۴ صفحه.
۹. ستاری، م.، ۱۳۸۱. ماهی‌شناسی (۱). تشریح و فیزیولوژی. چاپ اول. انتشارات نقش مهر تهران. ۲۱۹ صفحه.
۱۰. سفلیایی، ن.، ۱۳۷۸. بررسی باکتری‌های گرم منفی غالب در تاس ماهیان کارگاه شهیدبهشتی سدسنگر. پایان نامه دوره کارشناسی‌ارشد شیلات دانشگاه تربیت مدرس. دانشکده علوم دریایی نور. ۸۵ صفحه.
۱۱. سوداگر، م.؛ جعفری‌شومشکی، م.؛ حسینی، س.ع.؛ گرگین، س. و عقیلی، ک.، ۱۳۸۶. اثر اسیدآمینه آسپارتیک و آلانین به‌عنوان ماده جاذب غذایی بر شاخص‌های رشد و بقاء بچه فیل‌ماهیان (*Huso huso*). مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی. جلد ۱۵، شماره ۱، صفحات ۳۸ تا ۴۴.
۱۲. سیدمرتضایی، س.ر.؛ هوشمند، ح.؛ آهنگرزاده، م.؛ جرفی، آ.؛ دهقان‌مدیسه، س.؛ کیان‌ارثی، ف.؛ توسلی، م.؛ سلیمانی، ج.؛ محسنی‌نژاد، ل. و سنجر، م.، ۱۳۹۰. طرح مطالعاتی پایش مزارع گرمابی به‌منظور تشخیص علل تلفات کپور نقره‌ای. ۳۳ صفحه.

بافتی و هیستوشیمیایی لایه مخاطی نیز در بعضی از ماهیان مطالعه شده است (Voronina, ۱۹۹۷). این مطالعات تأیید می‌کنند که بیش‌تر مخاط مسیر لوله گوارشی توسط سلول‌های جامی واقع در قسمت سطحی بافت پوششی روده و در صورت وجود، توسط بعضی از سلول‌های غدد روده‌ای ترشح می‌شود (Cinar و همکاران، ۲۰۰۶).

AL Abdulhadi (۲۰۰۵) و Goff و همکاران (۱۹۹۶) ثابت کردند که چین‌های مخاط روده قابلیت جذب مواد غذایی را افزایش می‌دهند. متأسفانه گزارش‌های محدودی از تغییرات در بافت‌های ماهیان که تأثیر آسیب‌های بافتی نوع استرس‌ها و آلودگی‌ها و این‌که چه چیزی باعث این تغییرات بافتی شده است را نشان می‌دهد به همین خاطر مطالعه بافت ماهی را حائز اهمیت می‌دانند (Jordanoska و همکاران، ۲۰۰۵). Ruyter و همکاران (۲۰۰۶) اثر تغذیه را به‌عنوان یکی از شاخص‌های سلامت بچه‌ماهیان آزاد عنوان کرده و گفته است نوع تغذیه روی بافت‌های کبد و روده تأثیر دارد و همچنین تغذیه روی مقدار چربی ذخیره‌شده در بافت کبد مؤثر است. لوله گوارش عمل بسیار مهم و حیاتی در هضم و جذب مواد غذایی دارد و در بیماری‌های متعددی دچار آسیب می‌شود و همچنین تغییرات بافت روده وضعیت تغذیه‌ای و سلامتی ماهی را نشان می‌دهد.

تحقیق مشابهی که تأثیر تغذیه با یونجه و اثر آن بر بافت روده ماهی کپور علفخوار باشد صورت نگرفته است و مطالعه حاضر برای اولین بار در ایران برای تعیین جیره مناسب کپور علفخوار با استفاده از یونجه و جو می‌باشد. در مجموع مطالعه حاضر مشخص کرد که با وجود این‌که دو کارگاه از نظر شرایط محیطی یکسان بودند و مدیریت مشابهی داشتند و بچه‌ماهی‌ها نیز از یک کارگاه تکثیر خریداری کرده بودند ولی نتایج حاصل از این تحقیق نشان می‌دهد نوع ماده غذایی مصرفی در ماهی کپور علفخوار بایستی مورد توجه خاص قرار گیرد و از جایگزینی یونجه با جو خودداری گردد. براساس نتایج چنین برمی‌آید که استفاده از جو نه تنها بر فلور میکروبی و بافت روده ماهی تأثیر دارد بلکه باعث تغییرات ساختاری روده نیز می‌شود.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله مراتب تشکر و قدردانی از جناب آقای دکتر مرمضی، جناب آقای دکتر سیدمرتضایی، جناب آقای دکتر هوشمند و سرکار خانم دکتر آهنگر زاده و مهندس جمال سلیمانی که در انجام این تحقیق یاری نمودند اعلام می‌گردد.

- digestive tract in flower fish (*Pseudophoxinus antalyae*). Anatomia histologia embryologia. Journal of Veterinary Medicine. Vol. ۳۵, No. ۲, pp: ۱۴۷-۱۵۱.
۲۷. **FAO (FOOD & Agriculture Organization)**. . AquaCulture production in Iran. FAO Fisheries statistics and information. (www.FAO.org). ۳۸۷ p.
۲۸. **Goff, G.P.; Murray, H.M. and Wright, G.M.,** . A comparative histological and histochemical study of the post-gastric alimentary canal from three species of pleuronectid, the Atlantic halibut, the yellowtail flounder and the winter flounder. Journal of Fish Biology. Vol. ۴۸, ۱۸۷-۲۰۶.
۲۹. **Hansen, G.H. and Olafsen, J.A.,** . Bacterial Interactions in early life stages of marine Cold water Fish, microbial ecology. Vol. ۳۸, No. ۱, pp: ۱-۲۶.
۳۰. **Hurst, C.J.,** . Manual of Environmental Microbiology. American Society for Microbiology. Washington, D.C. ۸۹۴ p.
۳۱. **Huss, H.H.,** . Fresh Fish quality and quality changes FAO. Fisheries. Vol. ۲۹, pp: ۲۰-۶۷.
۳۲. **Jordanoska, L.V. and Kostoski, G.,** . Histopathological Analysis of liver in fish in Reservoir Trebenista Natura Croatica. Vol. ۱۴, No. ۲, pp: ۱۴۷-۱۵۳.
۳۳. **Karim, G.,** . Microbial tests in Foods. Univ. of Tehran. ۴th edit. ۵۱۷ p.
۳۴. **Kasumyan, A.O. and Nikolaeva, E.V.,** . Comparative analysis of taste preferences in fishes with different ecology and feeding. Ichthyology. Vol. ۴۲, pp: ۲۰۳-۲۱۴.
۳۵. **Lesel, R.,** . Thermal effect on bacterial flora in the gut of rainbow trout and african catfish. In: Lesel, R. (Ed.) Microbiology in Poecilotherms. Elsevier, Amsterdam. pp: ۳۳-۳۸.
۳۶. **Noga, E.J.,** . Fish Diseases: Diagnosis and Treatment. Mosby Electronic and Walsworth publishing Co. pp: ۹۴-۱۹۹.
۳۷. **Pollock, R.A.; Finlay, L.; Mondschein, W. and Modesto, R.R.,** . Laboratory exercises in microbiology. John Wiley & Sons., INC. ۲۳۲ p.
۳۸. **Post, G.,** . Text book of fish health. T.F.H. Publication. ۱۹۷ p.
۳۹. **Ringo, E. and Gatesoupe, F.J.,** . Lactic acid bacteria in fish, a review. Aquaculture. Vol. ۱۶۰, pp: ۱۷۷-۲۰۳.
۴۰. **Ringo, E. and Strom, E.,** . Intestinal microflora of Arctic char. *Salvelinus alpinus* (L.I.). The gastrointestinal microflora of free-living fish, and the effect of diet and salinity on Intestinal microflora. Aquaculture and Fisheries Management. Vol. ۲۵, pp: ۶۲۳-۶۲۹.
۴۱. **Roberts, R.J.,** . The pathophysiology and systematic pathology of teleosts. In Fish pathology (Ed. by R.J. Roberts), Bailliere Tindall. London. pp: ۵۶-۱۳۶.
۴۲. **Ruyter, B.; Moya, C.; falcon, G.; Rosenlund, A. And Vegusdal, M.,** . Fat content and morphology of liver and intestine of Atlantic salmon (*Salmo salar*) Effects of temperature and dietary soybean oil. Aquaculture. Vol. ۲۵۲, pp: ۴۴۱-۴۵۲.
۴۳. **Salehi, H.,** . An analysis of the consumer market for carp and carp products in Iran; Iranian Journal of Fisheries Sciences. IFRO; Tehran, Iran. Vol. ۵, No. ۲, pp: ۸۳-۱۱۰.
۴۴. **Stoskopf, M.K.,** . Fish medicine. W.B. Saunders. ۸۸۲
۴۵. **Van der Oost, R.J.; Beyer, J. and Vermeulen, N.,** . environmental risk assessment: a review. Environmental Toxicology and pharmacology. Vol. ۱۳, pp: ۵۷-۱۴۹.
۴۶. **Voronina, E.P.,** . Anatomical and histological traits of the digestive tract of the salmonidae. Journal of Ichthyology. Vol. ۳۷, pp: ۶۴۱-۶۵۳.
۱۳. **عسکری، ص.؛ مشتاقیان، س.؛ حسینی، م. و نادری، غ.،** ۱۳۸۶. بررسی اثرات مصرف یونجه بر لیپوپروتئین‌ها و ایجاد رگه‌های چربی در خرگوش‌های هیپرکلسترولمیک. مجله دانشگاه علوم پزشکی بیرجند. دوره ۱۴، شماره ۲، صفحات ۱۳ تا ۲۷.
۱۴. **فاطمی، س.آ. و میرزرگر، س.س.،** ۱۳۸۶. فارماکولوژی کاربرد ماهیان. انتشارات دانشگاه تهران. چاپ اول. ۱۲۳ صفحه.
۱۵. **فریدپاک، ف.،** ۱۳۸۹. تکثیر و پرورش ماهیان گرمابی (دستورالعمل اجرایی) معاونت تکثیر و پرورش. انتشارات علمی آریزان. ۱۵ صفحه.
۱۶. **فیلی‌زاده، م.،** ۱۳۷۹. بررسی ارجحیت غذایی ماهی‌های سفید (*Ctenopharyngodon idella* Val) با استفاده از سه گیاه آبی غوطه‌ور و تغذیه مصنوعی. مجله علمی شیلات ایران. جلد ۹، شماره ۴، صفحات ۴۷ تا ۵۳.
۱۷. **کرامت‌امیرکلایی، ع.؛ لشکربلوکی، م. و میرزایی‌عبدلی، س.،** ۱۳۸۹. تأثیر غذاهای پلت و گیاهی بر شاخص‌های رشد و برخی خصوصیات ریختی دستگاه گوارش بچه‌ماهی انگشت قد امور (*Ctenopharyngodon idella*) نشریه شیلات (مجله منابع طبیعی ایران). دوره ۶۳، صفحات ۱۹۵ تا ۲۰۹.
۱۸. **کریمی، ه.،** ۱۳۸۱. یونجه. مرکز نشر دانشگاهی. تهران. ۱۰۱ صفحه.
۱۹. **مینوش، ز.؛ حقیقی، س.ا.؛ مصطفی‌اخلاقی، م. و منصور، س.،** ۱۳۸۹. مطالعه بافت‌شناسی طحال، کبد و روده ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) مجله علوم آریزان سال ۱، شماره ۳، صفحات ۷۱ تا ۸۲.
۲۰. **یوسفی، م.؛ شیرزاد، ه.؛ یوسفی، ح.،** ۱۳۸۹. بررسی تأثیر گیاه یونجه (*Medicago sativa*) بر بهبود زخم در موش‌های آزمایشگاهی. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی ایلام. دوره ۱۸، شماره ۴، صفحات ۵۰ تا ۶۲.
۲۱. **AL Abdulhadi, H.A.,** . Some comparative histological studies on alimentary tract of Tilapia fish (*Tilapia spilurus*) and Sea Bream (*Mylio cuvieri*). Egyptian Journal of Aquatic research. Vol. ۳۱, No. ۱, pp: ۳۸۷-۳۹۶.
۲۲. **Austin, B. and Austin, D.A.,** . Bacterial fish pathogens: Disease infarmed and wild fish ۲nd Ed. Ellis Horwood Ltd., Chichester. ۳۷۶ p.
۲۳. **Banan Khojasteh, S.M.; Sheikhzadeh, M. and Azami, A.,** . Histological, histochemical and ultrastructural study of the intestine of rainbow trout. Sciences Journal. Vol. ۶, No. ۱۱, pp: ۱۵۳۱-۱۵۲۵.
۲۴. **Birkbeck, T.H. and Ringo, E.,** . Pathogenesis and gastrointestinal tract of growing fish. In: Holzapfel, W.; Naughton, P (Eds.): Microbial Ecology in Growing Animals. Elsevier, Edinburgh, UK, pp: ۲۰۸-۲۳۴.
۲۵. **Cahill, M.M.,** . Bacterial flora of fishes: A review. Microbial Ecology Springer-verlag. New york inc. Vol. ۱۹, :۲۱-۴۱.
۲۶. **Cinar, K. and Senol, N.,** . Histological and histochemical characterization of the Mucosa of the