

تأثير الاحلال الجزئي لسحالة الرز بدلا من الذرة الصفراء والتدعيم بخليط المعزز الحيوي والانزيمات التجارية في مجتمع بكتريا الامعاء لصغار اسماك الكارب الشائع (*Cyprinus Carpio L.*)
1. التأثير في بكتريا *Staphylococcus spp.* و *Escherichia coli*

طارق صالح حسن العكيلي محمد موسى جعفر ايمان سبع خميس صادق جعفر جاسم

وزارة العلوم والتكنولوجيا / دائرة البحوث الزراعية

بغداد - العراق

الخلاصة

نفذت هذه الدراسة لتحديد اثر الاحلال الجزئي لسحالة الرز محل الذرة الصفراء بنسبتي احلال 25% و 50% والتدعيم بالمعزز الحيوي في سكان بكتيريا *Staphylococcus spp.* و *Escherichiacoli* في امعاء صغار الكارب الشائع *Cyprinus Carpio L.* ، اظهرت النتائج أنخفاصاً في مجتمع بكتيريا *Staphylococcus* اذ سجلت كثافة عددية مقدارها 5×10^3 بكتريا و 0.6×10^3 بكتريا لنسبتي الاحلال 25% و 50% على التوالي ، اما مجتمع بكتيريا *Escherichia coli* فاحدثت معاملتا الاحلال خفصا للمجتمع وبلغ 4×10^4 و 10×10^4 ومعاملتا اضافة خليط المعزز سجلت 1×10^4 و 10×10^4 كما واطهرت نتائج تأثير نسبتي الاحلال في مجتمع البكتريا المدروسة ان زيادة نسبة الاحلال من 25% الى 50% احدثت أنخفاصاً في مجتمع بكتيريا *Staphylococcus spp.* اذ سجلت 5×10^3 و 0.6×10^3 لكلا نسبتي الاحلال على التوالي في حين ازداد مجتمع البكتريا *Escherichia coli* بزيادة نسبة الاحلال اذ سجل 4×10^4 و 6×10^4 على التوالي .

الكلمات المفتاحية : المعزز الحيوي ، بكتريا الامعاء ، المجتمع البكتيري ، سحالة الرز و صغار الكارب الشائع .

The Effect of Partial Replacement of Rice Husk Instead of Corn and Nourishment with Probiotic and Enzymes Combination on Intestine Bacterial Population in Juvenile Common Carp(*cyprinus carpio L.*)

1. The Effect on *Staphylococcus spp.* and *Escherichia coli*

Tariq Salih Hassan ALoqaily Muhammed Mossa Jaffaer Eman Sabaa khamees Sadiq Juaffer Jasem

Ministry of Science and Technology / Agricultural Research Directorate .
Baghdad – Iraq

E_mail: Aloqialyariq@yahoo.com

Abstract

This study was conducted to determine the effect of partial substitution of rice husk instead of corn (25% and 50%) and reinforcement with probiotics on bacterial population in common carp larvae stomach. The results showed that the replacement of rice husk induced reduction in the population of *Staphylococcus spp.* which recorded 5×10^3 , 0.6×10^3 bacteria of both percentages of replacement 25% and 50% respectively . Regarding the effect on *Escherichia coli* , the replacement treatments induced reduction in bacterial population which recorded 4×10^4 , 10×10^4 bacteria and the treatment of reinforcement with probiotic which recorded 1×10^4 , 10×10^4 bacteria respectively. The results also showed that the effect of replacement in tested bacterial population was decreased as the percentage of replacement increased from 25% to 50% for *Staphylococcus spp.* which recorded 5×10^3 and 0.6×10^3 bacteria while *Escherichia coli* population was increased which recorded 4×10^4 to 6×10^4 bacteria respectively .

Key Words: Probiotic, Bacterial Population, *Staphylococcus spp.* *E. Coli* and Rice Husk.

خسائر اقتصادية ، لذا انتشر في الآونة الأخيرة استخدام البروبيوتك في المفاقرس و المزارع السمكية كنوع من مكافحة البيولوجية لمسببات الامراض بهدف زيادة انتاجية الزريعة و اسماك المائدة و في نفس الوقت الحد من استخدام المضادات الحيوية و المواد الكيميائية و المطهرات اذ ان استخدامهما مكلف و ملوث للبيئة فضلا عن ان الاستخدام المتكرر و لفترات طويلة يولد مقاومة لها في جسم الاسماك (Cammarota وآخرون، 2009). وقد تتراكم المواد الكيميائية و المطهرات في اجسام الكائنات المائية و تؤثر سلباً على صحتها و انتاجيتها و نموها بالاضافة الى التأثير الضار على البيئة المائية (Panigrahi وآخرون، 2010). استخدم المعزز الحيوي على نطاق واسع في مجال تغذية الاسماك لما لها من تأثير ملحوظ في رفع الكفاءة التحويلية للأسماء . و من أشهر الأنواع التي تستخدم في مجال تربية الأسماك هي :

Bacillus spp., *Streptococcus*,
Lactococcus lactis, *Ps. fluorescens*,
V. alginoliticus,
accharomyces cerevisiae,
Debrayomyces hansenii Spirulina.

(Apata , 2008).

تهدف هذه الدراسة للتحري عن التغيير الحاصل في نوعين من البكتريا الشائعة *Staphylococcus spp.* و *Escherichia coli* في امعاء صغار الكارب الشائع نتيجة الاستبدال الجزئي للذرة الصفراء بسحالة الرز المدعمة بخليط المعزز الحيوي والانزيمات التجارية .

المواد وطرائق العمل

اجريت تجربة مختبرية لمدة 72 يوماً من 2016/3/7 لغاية 2016/5/18 في مختبرات مركز الثروة الحيوانية والسمكية لمعرفة تأثير المعزز الحيوي *Lactobacillus acidophilus* و *Bacillus Streptococcus faecium subtilis* في التوازن البكتيري في امعاء صغار اسماك الكارب الشائع. جلبت صغار الاسماك من

يزداد في الوقت الحاضر عدد سكان العالم بنسبة 2% سنوياً وان جهوداً كبيرة مطلوبة حصلت لتضييق الفجوة الأخذة في الاتساع في الطلب على الغذاء والإمدادات الغذائية وخاصة في العالم النامي، اذ أن هناك نحو مليار شخص يعتمدون على الاسماك كمصدر رئيس للبروتين وتعتبر تربية الأحياء المائية مصدراً غذائياً مهماً اذ يوفر اكثر من 15% من البروتين الحيواني (Naylor وآخرون، 2000). ونظراً للنمو السريع في تربية الأحياء المائية في الوقت الحاضر كان لابد من إيجاد استراتيجيات لمكافحة الميكروبات التي تعتبر الخطر المرضي الأساسي و يسبب الكثير من خسائر التربية ، ان العامل الأول في السيطرة على تلك الميكروبات هو استعمال المضادات الحيوية للسيطرة على نقشي المسببات المرضية البكتيرية في التربية إلا أن الإستعمال غير المنتظم للمضادات الحيوية لم تعد تعطى الكفاءة المرجوة من إستعمالها بل أصبح على العكس مسألة نشير قلقاً متزايداً لما تتركه من بقايا في لحوم الأسماك والذي يؤثر سلباً في صحة الإنسان كمستهلك نهائي للأسماك المستزرعة (Nikoskelainen وآخرون، 2001) وهذا ما دعى للبحث عن بدائل أخرى تساعد في السيطرة على المسببات البكتيرية لأمراض الأسماك دون الحاجة إلى المضادات الحيوية أو على الأقل التقليل من إستخدامها فكان استخدام المعززات الحيوية والتي تعرف بأنها كائنات حية دقيقة عند إضافتها إلى أعلاف الأسماك بكميات مناسبة تعطى فوائد عديدة منها تحسين المستوى الصحي وتحسين خصائص المياه المستزرع فيها الأسماك و زيادة كفاءة التحويل الغذائي. ويعد المعزز الحيوي متممات غذائية من البكتريا الحية أو الخمائر تستطيع ضبط المحتوى الغذائي للعلائق المستخدمة في تغذية الأسماك، و في مجال الاستزراع السمكي تعد الميكروبات الضارة التي تسبب المشاكل المرضية المختلفة في مفاقرس و مزارع الاسماك من اهم معوقات الانتاج التي تسبب

(Cappuccion, 1987) واستخدم الوسط الزراعي المناسب لعزل وعد كل نوع من انواع البكتريا ، حضنت الاطباق بدرجات حرارية مختلفة (30,37) م ° لمدة 48 ساعة واستعملت الاوساط الزراعية حسب ما ذكر Holt (1984) (جدول 2).

حسبت النسبة المئوية للخفض في جميع البكتريا وفق المعادلة الاتية

$$\frac{\text{مجتمع المقارنة} - \text{مجتمع المعاملة}}{100} \times \text{النسبة المئوية للخفض} = \%$$

مجتمع المقارنة

(Nam واخرون 2000) .

يوضح الجدول (3) المواد المستخدمة ونوع المعزز الحيوي وكمياته في عليقة التجربة

جدول (2) نوع البكتريا والوسط الزراعي وحرارة الحضانة

نوع المعزز الحيوي	حجم المستعمرة وكمية الانزيمات المضافة
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	2.75×10^{10} CFU
<i>Bacillus subtilis</i>	8.25×10^{10} CFU
<i>Streptococcus faecium</i>	1.1×10^{10} CFU
Protease	2.750 CSU
Amylase	5.500 SLU
Cellulase	27.5 FPU

مزرعة اهلية في قضاء الماويل/محافظة بابل بواسطة عجلة حوضية . تراوح مدى أوزان الأسماك 22-36 غم واقلمت لمدة اسوعين قبل تنفيذ التجربة مع اجراء التعقيم بمحلول ملحي تركيز 3% لمدة (3-5) دقيقة قبل وضعها في احواض زجاجية بإبعاد (30×30×60) سم ملئت 40 لتر ماء/حوض وجهزت بمصدر أوكسجين مستمر بواسطة مضخات هواء ، يبدل الماء يدويا بواسطة ماصة بلاستيكية بطريقة السيفون .

العلائق التجريبية

استخدمت 5 معاملات وبواقع مكررين لكل معاملة بضمنها معاملة السيطرة استخدم المنتج التجاري نوع LABAZYME الحاوي على مزيج من مستعمرات بكتيرية مفيدة كمعززات حيوية وعلى انزيمات علفية كما في الجدول (1) واضيف المنتج 750 ملغم/كغم علف (جدول 1) والمسحوق هو مزيج من المستعمرات البكتيرية المفيدة كمعزز حيوي + خليط الانزيمات العلفية تم خلطها ثم اضافته الماء لها ثم تقطيعها في ماكنه فرم واخراجها على شكل اقراص رطبة ثم تجفف بواسطة اشعة الشمس لمدة يومين بعدها تخزن في اكياس نايلون مرقمة لاعطاء العلف للأسماك حسب النسب المطلوبة.

جدول (1) نوع المعزز الحيوي والانزيمات ونسبة الاضافة في علائق التجربة

التحاليل البكتيرية

سحبت عينات في مختبر التقانات الاحيائية في دائرة البحوث الزراعية من امعاء الاسماك كل معاملة بواقع 25غم/معاملة و اضافته الى 225 مل من وسط رنكر بروت Ringer broth وترك لمدة 30 دقيقة بعدها تم اجراء سلسلة من التخفيف

النتائج والمناقشة

اظهرت النتائج ان معاملة الاحلال بدون ومع المعزز الحيوي احدثت انخفاضا في مجتمع البكتريا مقارنة بمعاملة السيطرة وسجلت المعاملات بدون معزز 10×5^3 ، 10×0.6^3 و 10×4^4 ، 10×6^4 للبكتريا *Staphlococcus spp.* و

Escherichia coli وعلى التوالي وفي معاملتي اضافة المعزز الحيوي انخفضت القيم لنوعي البكتريا اعلاه الى 10×16^3 ، 10×20^3 و 10×1^4 و 10×10^4 مقارنة بمعاملة السيطرة التي سجلت 10×30^4 على التوالي (جدول 4). بلغت نسبة الخفض بدون معزز حيوي 83.3% ، 99.8% ، 89.9% و 83.3% لكلا النوعين من البكتريا وعلى

وفي دراسة Sava واخرون (2004) أثبت ان المعزز له القدرة على افراز مواد تؤدي الى تثبيط البكتريا المرضية. عادةً تحفز بكتريا المعزز الحيوي زيادة الوزن حيث تبدأ بالحث او التحفيز على الهضم وتعزيز المناعة وزيادة نسب البقاء والنمو وهذا ما اكده الكعبي واخرون (2015 و 2016) إن التحسين الذي حصل كان نتيجة لنشاط انزيم الاميليز وتحسين كفاءة وقدرة نشاط السكريات مثل السكروز واللاكتوز نتيجة الاستجابة لهذه المعززات الحيوية (Collington واخرون، 1990). أما المعاملات التي لم يحصل فيها تغير في تثبيط البكتريا المرضية بشكل كبير فقد يعود السبب للتأثر الكبير الذي تمتلكه البكتريا المرضية على النطاق الواسع من عوامل الفوعة التي لم تتأثر بها بكتريا المعزز الحيوي (Raja، 2009، Hami و، 2011).

يستنتج من الدراسة ان احلال سحالة الرز محل الذرة الصفراء قد احدث خفضا في البكتريا *Escherichia coli* و *Staphlococcus spp.* مساويا الى ما احدثه المعزز الحيوي مما يؤدي الى امكانية الاستغناء عن المعزز الحيوي ولو جزئيا باستخدام الاحلال لسحالة الرز بدل الذرة الصفراء .

التوالي وقد يرجع السبب في ذلك الى ان استبدال الذرة بالسحالة بدون معزز حيوي خلقت بيئة غير مناسبة لنمو ونشاط البكتريا الممرضة لصعوبة تحلل السليلوز لكن اضافة المعزز الحيوي وما يحتويه من بكتريا ساهم في تحلل سحالة الرز وبالتالي خلق بيئة مناسبة لتكاثر البكتريا وادى الى ارتفاع مجتمعا على الرغم من انها دون معاملة المقارنة (جدول5) . وفيما يخص المقارنة بين اضافة المعزز وعدم اضافته فقد يعود السبب الى ما يحتوي المسحوق العلفي من معززات حيوية وانزيمات علفية التي ساعدت في تحلل سحالة الرز وبالتالي خلقت وسط ملائم لنمو وتكاثر البكتريا ولكن بقي هذا دون مستوى المقارنة فقد بلغت نسبة الخفض في المعاملتين الثالثة والرابعة مع المعزز الحيوي 46.3% ، 33.3% و 98.88% ، 88.88% لكلا النوعين من البكتريا *Staphylococcus spp.* و *Escherichia coli* على التوالي. اوضحت النتائج ايضا عن زيادة في تثبيط البكتريا المرضية وهذه دلالة على ان احدى المحددات الرئيسية لزيادة النشاط الصحي داخل الامعاء هو استخدام اكثر من معزز حيوي بكتيري ممكن ان يغير من التركيبية المجتمعية وبطريقة ديناميكية للاستفادة من البكتريا المفيدة وتثبيط البكتريا الضارة وهذا يتفق مع ما توصل اليه Mountzouris واخرون (2007).

جدول (3) النسب المئوية لمكونات العليقة التجريبية لصغار اسماك الكارب الشائع

نوع المادة	مستوى الاحلال	بروتين حيواني%	نسبة فول الصويا%	ذرة صفراء%	شعير محلي%	نخالة حنطة%	فيتامينات واملاح%	سحالة رز%
سحالة رز	T1 25%	10	25	12	22	25	2	4
	T2 50%	10	25	8	22	25	2	8
سحالة رز مع المعزز الحيوي	T3 25%	10	25	12	22	25	2	4
	T4 50%	10	25	8	22	25	2	8
السيطرة	T5	10	25	16	22	25	2	0

جدول (4) اعداد البكتريا الضارة *Staphylococcus spp.* و *Escherichia coli* قيد الدراسة في امعاء صغار

المعاملات	اضافة المعزز الحيوي	نسبة الاحلال	<i>Staphylococcus</i> spp. ³ 10 ×	<i>Escherichiacoli</i> × 10 ⁴
1	بدون معزز حيوي	25%	5	4
2	بدون معزز حيوي	50%	0.6	6
3	مع المعزز الحيوي	25%	16	1
4	مع المعزز الحيوي	50%	20	10
5	معاملة السيطرة	معاملة السيطرة	30	90

جدول (5) نسبة خفض البكتريا الضارة *Staphylococcus spp.* و *Escherichia coli* قيد الدراسة في امعاء صغار الكارب الشائع

المعاملات	اضافة المعزز الحيوي	<i>Staphylococcus</i> spp. %	% <i>Escherichiacoli</i>
1	بدون معزز حيوي	83.3	89.9
2	بدون معزز حيوي	99.8	83.3
3	مع المعزز الحيوي	46.3	98.88
4	مع المعزز الحيوي	33.3	88.88
5	معاملة السيطرة	-	-

- Cappuccion, N.S.** (1987). *Microbiology: A laboratory Manual*, 1st ED, The Benjamin Cummings Publishing Co Inc New York 105-300.
- Collington, G., Parker, D. and Armstrong, D.** (1990). The Influence of Inclusion of Either an Antibiotic or a Probiotic in the Diet on the Evelopment of Digestive Enzyme Activity in the Pig. *British Journal of Nutrition*, 64 (1), 59–70
- Hami, K.** (2011). Anti Bacterial Effects of Probiotics Isolated from Youghurts Against some Common Bacterial pathogens African Journal of Microbiology Research. 5 (25), 4363-4367.
- Holt, J. G.** (1984). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 1st Ed., Vol. 1, Williams and Wilkins, Baltimore
- Mountzouris, K. C. ; Tsirtsikos, P. ; Kalamara, E. ; Nitsch, S. ; Schatzmayr, G. and Fegeros, K.** (2007). Evaluation of The Efficacy of a Probiotic Ontaining *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, and *Pediococcus* Strains in Promoting Broiler Performance and Modulating Cecal Micro Flora Omposition and Metabolic Activities. *Poultry Science*, 86(2), 309–317.
- المصادر
الكعبي، كريم موزان ; الرديني، محسن جواد كاظم ; فاضل، علي عباس ; رهيح، عبد السادة مريوش ومحمد، سليمان داود (2016). دور المعزز الحيوي *Lactaobacillus* في نسب البقاء والنمو ليرقات اسماك الكارب الشائع *Cyprinus carpio* L. مجلة البصرة للأبحاث البيطرية المجلد 15 العدد 3 الصفحة 110-102 .
الكعبي، كريم موزان ; محمد، سليمان داود ; حمادي، احمد جاسم ; فاضل، علي عباس ورهيح، عبد السادة مريوش (2015). تأثير اضافة مزيج الفيتامينات والمعادن مع المعزز المحلي probiotics بتركيز مختلفة في الاداء الانتاجي لبعض انواع الاسماك 1- الكارب الشائع *Cyprinus carpio* L. وقائع البحوث الزراعية للمؤتمر العلمي الدولي الثاني للكلية التقنية، المسيب 495-502.
Apata, D. (2008). Growth Performance, Nutrient Digestibility and Immune Response of Broilerchicks Fed Diets Supplemented with a Culture of *Lactobacillus Bulgaricus*. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88(7), 1253–1258.
Cammarota, M. De; Rosa, A. ; Stellavato, M. ; Lamberti, I. and Marzaioli, M. (2009) *Giuliano* *In vitro* Evaluation of *Lactobacillus plantarum* DSMZ 12028 as a probiotic: Emphasis on Innate Immunity *Int. J. Food Microbial.*, 135, 90–98.

Nam, J.; Park, H., Songa, C. K.; Kim, D. G.; Moon, Y. H. and Jung, I. C. (2000).

Effect of Freezing and Re-Freezing Treatment on Chicken Meat Quality. Food Sci. 20,222-229.

Naylor, R.J ; Goldberg, J.H ; Primavera, N. Kautsky, M.C.M. Beveridge, J. Clay, (2000). Effect of Aquaculture on World Fish Supplies Nature, 405, 1017–1024.

Nikoskelainen, S.؛ Ouwehand, A.؛ Salminen, S. and Bylund, G.(2001). Protection of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) from Furunculosis by Lactobacillus Amnosus Aquaculture, 198, 229-236.

Panigrahi, A. ; Kiron V, Satoh S, Watanabe T. (2010). Probiotic Bacteria Lactobacillus Rhamnosus Influences The Blood Profile in Rainbow Trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Fish Physiol. Biochem. 36, 969-977.

Raja, A. ; Gajalakshmi,P,and Imran .M.(2009). Effect of Lactobacillus lactiscremoris Isolated from keffir Against Food Spoilage Bacteria .AmJ Food Technol 4,201-209 .

Sava Dogo, A. ; Ouattara, A.T and Taraore, A. S. (2004). Lactobacteria Antimicrobial Activities of Lactic Acid Bacteria Strains Isolated from Burkina Faso Fermented Milk. Pakistan Journal of Nutrition ,3 (3)• 174-179.