نشریه پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی
Journal homepage: http://jair.gonbad.ac.ir
وزارت علوم، تحقیقات و فناوری
دانشگاه گنبد کاووس

بررسی اثرات سینرژیستی اسید آلی سوربات پتاسیم و پروبیوتیک (*Lactobacillus casei*) بر فعالیت آنزیم‌های گوارشی، هیستومورفولوژی روده و مقاومت در برابر باکتری بیماری‌زای *Yersinia rucker*، در بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792)

علی جافرنوده *[1]، امیر تکمه‌چی[2]، ابراهیم‌حسین نجدگرامی[2]، عبدالمجید حاجی‌مرادلو[3]، فرزانه نوری[2]

[1] دانشجوی دکترا، دانشگاه علوم کشاورزی ومنابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
[2] استادیار، گروه شیلات، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران
[3] استاد، گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی ومنابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

نوع مقاله:
پژوهشی اصیل

تاریخچه مقاله:
دریافت: ۹۶/۰۴/۱۲
پذیرش: ۹۶/۰۷/۱۶

نویسنده مسئول مکاتبه:
علی جافرنوده، استادیار، گروه شیلات، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.
ایمیل: a.jafar55@gmail.com

چکیده

امروزه در آبزی‌پروری برای جلوگیری از اثرات منفی آنتی‌بیوتیک‌ها استفاده از جایگزین‌های مختلف از جمله پروبیوتیک‌ها، پربیوتیک‌ها، اسیدهای‌آلی مطرح گردیده که می‌توانند اثرات مثبت بر فعالیت‌های فیزیولوژی آبزیان داشته باشند. این تحقیق به‌منظور بررسی اثرات سینرژیستی اسید آلی سوربات پتاسیم و پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازئی(*Lactobacillus casei*) در بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) انجام شد. بدین منظور تعداد ۳۶۰ قطعه بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با وزن اولیه ۰/۰۵±۲/۷۵ گرم در ۶ تیمار و هر تیمار با ۳ تکرار شامل: جیره تجاری (تیمار ۱ ،شاهد)، جیره حاوی 10^7 CFU/g پروبیوتیک *L. casei* (تیمار۲)، جیره حاوی ۰/۵ درصد سوربات پتاسیم (تیمار۳)، جیره حاوی ۱درصد سوربات پتاسیم (تیمار۴)، جیره حاوی ترکیب ۰/۵ درصد سوربات پتاسیم و 10^7 CFU/g پروبیوتیک *L. casei* (تیمار۵) و جیره حاوی ترکیب ۱ درصد سوربات پتاسیم و 10^7 CFU/g پروبیوتیک *L. casei* (تیمار۶) طراحی گردید. غذادهی در سه مرحله و دوره آزمایش حدود ۶۰ روز به طول انجامید. نمونه‌برداری از ماهیان برای بررسی آنزیم‌های گوارشی، هیستومورفولوژی روده و بررسی مقاومت بچه‌ماهیان در برابر باکتری بیماری‌زای (*Yersinia ruckeri*) در پایان دوره آزمایش انجام شد. نتایج تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد بیش‌ترین میزان آنزیم آلکالین فسفاتاز و آنزیم پروتئاز در تیمار ۵ و کم‌ترین میزان آن درتیمار شاهد مشاهده شد و بین این دو اختلاف معنی‌دار وجود داشت. بررسی هیستومورفولوژی روده نشان داد بیش‌ترین میزان طول پرز و قطر آن در تیمار ۵ و ۶ و کم‌ترین آن در تیمار شاهد مشاهده شد و بین آنها اختلاف معنی‌دار بود، همچنین نتایج مربوط به آزمون مقاومت در برابر باکتری بیماری‌زای *Y. ruckeri* در پایان دوره نشان داد، بیش‌ترین میزان مرگ و میر در گروه شاهد و کم‌ترین آن در تیمار ۵ و ۶ مشاهده شد که بین آنها اختلاف معنی‌دار بود. در مجموع باتوجه به نتایج به‌دست آمده از این مطالعه، به‌نظر می‌رسد استفاده از ترکیب پروبیوتیک و اسیدآلی در جیره باعث افزایش توان تولید گردد.

واژه‌های کلیدی:
***O. mykiss*، پروبیوتیک، اسید آلی، آنزیم‌های گوارشی، هیستومورفولوژی**

۱ | مقدمه

در صنعت آبزی‌پرروی، به‌ویژه در آسیا، استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها به‌علت توانایی آنها در بهبود رشد و مقابله با بیماری‌ها، امری معمول بوده است (Hernandez- Serrano, 2005). هر چند استفاده از این مواد تاحدی توانست در جلوگیری از شیوع بیماری‌ها مفید واقع شود ولی پس از گذشت سال‌ها این داروها خود مشکلاتی عمده‌ای ازجمله، مقاوم شدن عوامل بیماری‌زا (Da Silva *et al*., 2013)، تغییر فلور میکروبی روده (که در سلامت میزبان نقش بالقوه‌ای دارند) به‌سمت یک فلور نامتعادل، کاهش تولید اسیدهای چرب کوتاه زنجیره، انتقال این مواد به انسان

© ۱۳۹۹ | دانشگاه گنبدکاووس

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-08]
[DOI: 10.29252/jair.8.2.51]

(بزرگنمایی زیستی)، آلودگی‌های زیست‌محیطی و افزایش هزینه‌های جاری تولید ماهی را به‌همراه داشته (Gatlin *et al*., 2006)، به‌طوری‌که امروزه در اغلب کشورهای آمریکایی و اروپایی، استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها ممنوع و یا با محدودیت‌های شدیدی مواجه گردیده است (Romano *et al*., 2015). امروزه برای مقابله با این مشکلات راهکارهای مختلفی پیشنهاد شده که از جمله می‌توان به استفاده از پروبیوتیک‌ها، اسیدهای آلی و پری‌بیوتیک‌ها اشاره کرد (Perez-Sanchez *et al*., 2011).

پروبیوتیک‌ها مکمل‌های میکروبی زنده‌ای هستند که با بهبود و تعادل میکروبی روده میزبان تأثیرات سودمندی برای آنها ایجاد می‌کنند (Fuller, 1989). از جمله عملکردهای مثبت پروبیوتیک‌ها می‌توان به بهبود تعادل میکروفلور روده (Rasdhari *et al*., 2008)، اصلاح زیستی آب (Bioremediation) (Diego *et al*., 2012)، تحریک و ارتقاء سیستم ایمنی بدن (Diego *et al*., 2012) و افزایش کارآیی غذایی، تولید ویتامین‌ها، افزایش قابلیت جذب مواد معدنی و عناصر کمیاب و نیز تولید آنزیم‌های گوارشی (Khan and Ansari, 2007) اشاره کرد.

اسیدهای آلی، اسیدهای کربوکسیلیک ضعیفی هستند که در ساختار خود دارای یک یا بیش از چند گروه کربوکسیل هستند (Wing-Keong *et al*., 2009). از بین این ترکیبات آنهایی که بین ۱ تا ۷ کربن دارند، دارای اثرات ضد میکروبی می‌باشند (Eidelsburger, 1998). بیش‌تر اسیدهای آلی به خاطر ساختار ساده و اندازه و جرم ملکولی کوچک می‌توانند عملکرد مفیدی داشته باشند و به‌راحتی به درون سلول نفوذ کنند (Nakai and Siebert, 2003). اثرات مثبت اسیدهای آلی و نمک‌های آنها بر کارآیی رشد و سلامت ماهیان در گونه‌های مختلف نظیر: سالمون آتلانتیک (*Salmo salar*) (Luckstadt, 2008)، قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) (Pandey and Satoh, 2008)، هیبرید تیلاپیا (*Oreochromis niloticus*×*O. aureus*) (Zhou *et al*., 2009) و گربه‌ماهی (*Clarias gariepinus*) (Owen *et al*., 2006) نشان داده شده است.

باتوجه به عملکردهای مثبت پروبیوتیک‌ها و اسیدهای آلی، این پژوهش با هدف بررسی اثرات جدا و ترکیبی اسید آلی سوربات پتاسیم و پروبیوتیک (*Lactobacillus casei*) بر فعالیت آنزیم‌های گوارشی، هیستومورفولوژی روده و مقاومت در برابر باکتری بیماری‌زای *Yersinia ruckeri* در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان انجام شد.

۲ | مواد و روش‌ها

پروبیوتیک مورد استفاده در این تحقیق لاکتوباسیلوس کازئی (*L. casei*)، یک سویه بومی، از خانواده لاکتوباسیلوس‌ها، جدا سازی شده از روده ماهی کپور معمولی بود (پژوهشکده مطالعات دریاچه ارومیه) (Andani *et al*., 2012).

به‌منظور آماده‌سازی باکتری *L. casei* از حالت لیوفیلیزه، از محیط کشت MRS broth استفاده شد. ابتدا مقداری از پودر لیوفیلیزه باکتری را در محیط کشت مذکور ریخته و به‌مدت ۲۴ ساعت در دستگاه آون (مدل FD115 ، ساخت کمپانی BINDER آلمان) با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه و پس از رشد باکتری، به‌منظور حذف محیط کشت در سانتریفیوژ یخچال‌دار (مدل 5810R ساخت کمپانی eppendorf آلمان) با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و (Rpm) ۵۰۰۰ قرار داده شد و رسوب حاصله، سه بار با سرم فیزیولوژی استریل، شستشو داده شد. در پایان غلظت باکتری به میزان 10^7 CFU/g با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر، تهیه و جهت اسپری به غذا آماده گردید (Andani *et al*., 2012).

اسید آلی مورد استفاده در این تحقیق سوربات پتاسیم با درجه خلوص ۹۹٪ بودکه از شرکت سیگما (آمریکا) خریداری گردید.

۳۶۰ قطعه بچه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با میانگین وزن اولیه ۰/۰۵±۲/۷۵ گرم در ۶ تیمار و هر تیمار با ۳ تکرار توزیع گردید و تیمارهای آزمایش شامل: جیره تجاری (تیمار ۱ شاهد)، جیره حاوی 10^7 CFU/g پروبیوتیک *L. casei* (تیمار۲)، جیره حاوی ۰/۵ درصد سوربات پتاسیم (تیمار۳)، جیره حاوی ۱٪ سوربات پتاسیم (تیمار۴)، جیره حاوی ترکیب ۰/۵ درصد سوربات پتاسیم و 10^7 CFU/g پروبیوتیک *L. casei* (تیمار۵) و جیره حاوی ترکیب ۱٪ سوربات پتاسیم و 10^7 CFU/g پروبیوتیک *L. casei* (تیمار۶) بود. شاخص‌های کیفی آب مورد استفاده در آزمایش در جدول ۱ آمده است.

جدول ۱- شاخص‌های کیفی آب استفاده شده در گروه‌های آزمایشی و گروه شاهد در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*)

شاخص	میزان
اکسیژن	۰/۴±۸/۶ میلی‌گرم در لیتر
درجه حرارت	۰/۶±۱۵ درجه سانتی‌گراد
شوری	۰/۱ قسمت در هزار
اسیدیته	۰/۱۵±۶/۹

جیره غذایی پایه شامل غذای تجاری ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (غذای بهدانه شمال- شهرک صنعتی میرود بابلسر) بود. اجزاء جیره غذایی استفاده در این آزمایش در جدول ۲ آمده است. برای تیمارهای آزمایشی، باکتری و اسید آلی، پس از آماده سازی به‌صورت اسپری به غذا اضافه و برای کاهش میزان آب‌شویی از ژلاتین ۴٪ استفاده شد. بچه‌ماهیان به‌مدت دو ماه و روزانه ۳ بار غذادهی شدند (ساعت ۸ صبح، ۱۲ ظهر و ۴ بعدازظهر) و میزان غذادهی حدود ۳٪ روزانه محاسبه گردید. بیومتری ماهیان هر دو هفته یک بار انجام شد.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-08]

[DOI: 10.29252/jair.8.2.51]

جدول ۲- ترکیب و درصد اجزاء جیره تجاری مورد استفاده در گروه‌های آزمایشی و گروه شاهد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*)

اجزای جیره	پروتئین خام	چربی	فیبر	خاکستر	فسفر کل	کلسیم	سدیم
درصد اجزاء جیره (٪)	۳۷	۱۴	۴	۱۰	۱/۲	۲	۰/۴

به‌منظور بررسی اثرات تیمارهای مختلف اسید آلی و پروبیوتیک بر هیستومورفولوژی روده بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان، در پایان دوره آزمایش از هر تیمار ۳ ماهی به‌طور تصادفی انتخاب شد. ماهیان پس از کشته شدن با استفاده از تیغ اسکالپل استریل کالبدگشایی شد و روده آنها با دقت خارج و در فرمالین ۱۰٪ تثبیت شد. روده تثبیت شده به‌منظور انجام مطالعات بافت‌شناسی به آزمایشگاه منتقل شد. آماده‌سازی بافت‌های روده به روش بافت‌شناسی کلاسیک و رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین انجام شد. پس از آماده‌سازی، از لام‌ها عکس‌برداری و ارتفاع و ضخامت پرزهای روده با استفاده از نرم افزار Image J اندازه‌گیری گردید.

۲۴ ساعت بعد از قطع غذادهی از هر تیمار ۳ قطعه ماهی به‌صورت تصادفی انتخاب و بعد از بیهوشی، اقدام به نمونه‌برداری شد. روده ماهیان بعد از تخلیه و جدا کردن چربی‌های اضافی اطراف آن در سرم نمکی استریل شستشو داده و سپس خشک نموده و درون میکروتیوپ-ها قرار داده شد (تمامی مراحل مذکور در روی یخ انجام گرفت)، سپس به داخل تانک ازت مایع انتقال یافت و در پایان کار تمام نمونه‌ها به فریزر ۷۰- درجه سانتی‌گراد منتقل شدند.

استخراج آنزیم‌های گوارشی، نمونه‌ها به نسبت ۱:۵ در بافر HCl Tris- 50 میلی مولار توسط هموژنایزر (مدل ΔPolytron PT 1300) به‌مدت ۱/۵ دقیقه هموژن شده و محلول هموژن شده به‌مدت ۲۰ دقیقه در سانتریفیوژ یخچال‌دار (مدل Z36HK) در ۴ درجه سانتی‌گراد با دور ۱۰۰۰۰ g سانتریفوژ گردید سپس محلول رویی حاصله در ویال اپندورف جهت آنالیز آنزیم‌های مورد نظر تقسیم شد و در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید (Chong *et al*., 2002). پروتئین محلول نمونه‌ها با استفاده از روش بردفورد (Bradford, 1976)، سنجش فعالیت آنزیم پروتئاز براساس روش گارسیا و هارد (Garcia-Carreno and Haard, 1993)، سنجش فعالیت آنزیم آمیلاز بر اساس روش برنفیلد و همکاران (Bernfeld *et al*., 1955)، سنجش فعالیت آنزیم لیپاز براساس روش لیجیما و همکاران (Iijima *et al*., 1998)، مورد سنجش قرار گرفت.

به‌منظور بررسی میزان مقاومت بچه‌ماهیان تغذیه‌شده با سوربات پتاسیم و پروبیوتیک *L. casei*، از باکتری بیماری‌زای *Y. ruckeri* استفاده شد. برای تعیین LC_{50} ابتدا رقت‌هایی در دامنه (10^{1}-10^{8}CFU/ml) از باکتری بیماری‌زا به‌طور جداگانه در سرم فیزیولوژی استریل تهیه و از هر رقت مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر به‌صورت داخل صفاقی به پنج قطعه ماهی تزریق شد. در مرحله بعد ماهیان به‌صورت جداگانه در حوضچه‌های ۱۰۰ لیتری تا ۷ روز نگهداری و براساس آن مقدار LC_{50} باکتری محاسبه گردید. سپس براساس LC_{50} به‌دست آمده در پایان دوره آزمایش از هر تیمار تعداد ۲۰ قطعه ماهی انتخاب و در دو تکرار (هر تکرار ۱۰ قطعه ماهی) تقسیم شدند. در آزمون رویارویی با باکتری بیماری‌زا، بچه‌ماهیان در داخل حوضچه‌های ۲۰۰ لیتری با حجم آبگیری ۱۰۰ لیتر نگهداری شدند و به هر ماهی به‌صورت داخل صفاقی به میزان 5×10^{7} به میزان ۱۰۰ میکرولیتر تزریق شد، سپس ماهیان به‌مدت ۱۴ روز تحت بررسی قرار گرفته و تعداد تلفات ثبت گردید (Peters *et al*., 1988).

تیمارها در قالب طرح کاملاً تصادفی و هر تیمار با سه تکرارآماده شدند. ابتدا نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون شاپیرو-ویلک بررسی گردید سپس برای آنالیز داده‌های نرمال از آزمون تجزیه واریانس یک طرفه ONE- WAY- ANOVA و برای داده‌های غیرنرمال از آزمون کروسکال- والیس استفاده شد. مقایسه میانگین تیمارها با استفاده از آزمون پشتیبان دانکن و حداقل سطح معنی‌دار بودن آزمون‌ها در سطح ($p\leq$۰/۰۵) در نظر گرفته شد. داده‌های به‌دست آمده به‌صورت (انحراف معیار ± میانگین) برحسب مورد ارائه شدند. برای انجام آنالیزهای آماری از نرم‌افزار SPSS-16 و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

۳ | نتایج

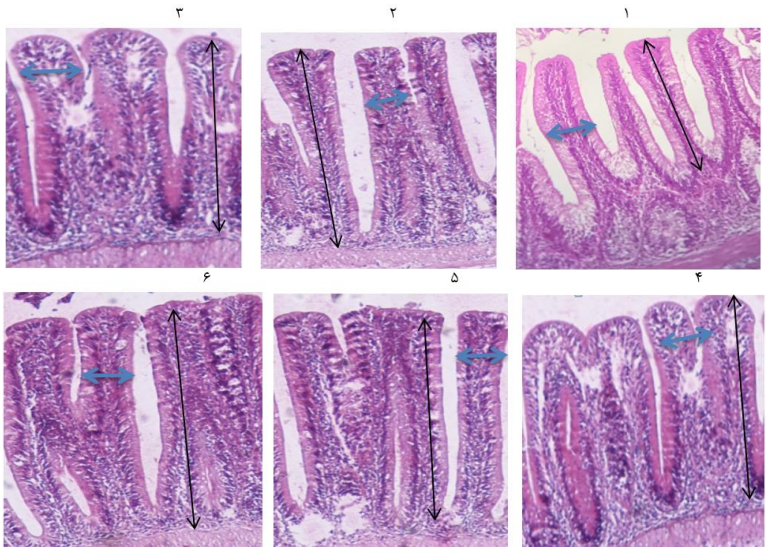
اثرات گروه‌های مختلف آزمایشی بر هیستومورفولوژی روده بچه-ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در جدول ۳ نشان داده شده است. بر طبق نتایج بیش‌ترین میزان رشد طولی پرزهای روده‌ایی و ضخامت آن در تیمار ۵ و کم‌ترین آن در تیمار ۱ (شاهد) مشاهده شد و بین این دو اختلاف معنی‌دار وجود داشت ($p<$۰/۰۵). همچنین تصاویر برش بافتی روده در تیمارهای مختلف در شکل (۱) نشان داده شده است.

جدول ۳- مقایسه میانگین ارتفاع و قطر پرزهای (ویلی‌ها) روده در گروه‌های مختلف آزمایشی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*)

فاکتورها/تیمارها	تیمار۱(شاهد)	تیمار ۲	تیمار۳	تیمار۴	تیمار۵	تیمار۶
ارتفاع ویلی (µm)	۲۱/۹۷± ۱/۹۵^{c}	۲۶/۸۷± ۱/۴۹^{b}	۲۳/۹۱± ۰/۳۲^{c}	۲۷/۶۳± ۱/۰۹^{b}	۳۴/۲۸± ۱/۶۰^{a}	۳۲/۹۷± ۲/۲۳^{a}
قطر ویلی (µm)	۵/۲۰± ۰/۲۹^{d}	۷/۲۰± ۰/۵۷^{b}	۵/۹۰± ۰/۴۳^{cd}	۶/۵۶± ۰/۵۸^{bc}	۸/۸۹± ۰/۳۱^{a}	۸/۱۴± ۰/۲۵^{a}

* حروف انگلیسی غیر یکسان در هر ردیف نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین میانگین داده‌هاست ($p<$۰/۰۵).* داده‌ها به‌صورت (SD ± میانگین) بیان شده است.* تیمار۱ (شاهد)، تیمار ۲ (جیره حاوی پروبیوتیک به میزان 10^{7} CFU/g)، تیمار ۳ (جیره حاوی ۰/۵ درصد سوربات پتاسیم)، تیمار ۴ (جیره حاوی ۱٪ سوربات پتاسیم)، تیمار ۵ (جیره حاوی ترکیب ۰/۵ درصد سوربات پتاسیم و پروبیوتیک به میزان 10^{7} CFU/g) و تیمار ۶ (جیره حاوی ترکیب ۱٪ سوربات پتاسیم و پروبیوتیک به میزان 10^{7} CFU/g).

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-08]
[DOI: 10.29252/jair.8.2.51]



شکل ۱- برش بافتی روده ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) در گروه‌های مختلف آزمایشی: تیمار ۱ (۱)، تیمار ۲ (۲)، تیمار ۳ (۳)، تیمار ۵ (۴) و تیمار ۶ (۵) و تیمار ۶ (۶). فلش مشکی: طول پرز و فلش آبی قطر پرز

جدول ۴ مقایسه میانگین فعالیت آنزیم‌های گوارشی را در تیمار-های مختلف نشان می‌دهد. برطبق نتایج، بیش‌ترین میزان فعالیت آنزیم آلکالین پروتئاز و α-آمیلاز در تیمار ۵ و کم‌ترین میزان آنها در تیمار ۱ (شاهد) مشاهده شد و این اختلاف معنی‌دار بود (p<۰/۰۵)، همچنین میزان فعالیت آنزیم لیپاز در هیچ یک از تیمارهای آزمایش اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند (p>۰/۰۵).

جدول ۴- مقایسه میانگین فعالیت آنزیم‌های گوارشی در گروه‌های آزمایشی و گروه شاهد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*)

فاکتورها/تیمارها	تیمار۱(شاهد)	تیمار ۲	تیمار۳	تیمار۴	تیمار۵	تیمار۶
فعالیت ویژه آلکالین پروتئاز (Umg/protein)	۰/۱۰± ۰/۰۳^{b}	۰/۲± ۰/۱۱^{ab}	۰/۱۱± ۰/۰۳^{b}	۰/۱۲± ۰/۰۴^{ab}	۰/۲۸± ۰/۱^{a}	۰/۲۴± ۰/۱۰^{ab}
لیپاز (µmole/g/h)	۰/۱۰± ۰/۰۱	۰/۱۰± ۰/۰۱	۰/۰۹± ۰/۰۰	۰/۱۲± ۰/۰۱	۰/۱۲± ۰/۰۲	۰/۱۲± ۰/۰۰
فعالیت ویژه α-آمیلاز (Umg/protein)	۷/۱۷± ۰/۴۲^{b}	۸/۲۰± ۰/۵۹^{b}	۷/۰۱± ۰/۲۷^{b}	۷/۵۴± ۱/۷۹^{b}	۱۲/۵۷± ۰/۴۴^{a}	۱۰/۹۳± ۱/۵۰^{a}

* حروف انگلیسی غیر یکسان در هر ردیف نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین میانگین داده‌هاست (p<۰/۰۵).* داده‌ها به‌صورت (SD ± میانگین) بیان شده است*. تیمار۱ (شاهد)، تیمار ۲ (جیره حاوی پروبیوتیک به میزان 10^{7} CFU/g)، تیمار ۳ (جیره حاوی ۰/۵ درصد سوربات پتاسیم)، تیمار ۴ (جیره حاوی ۰/۱٪ سوربات پتاسیم)، تیمار ۵ (جیره حاوی ترکیب ۰/۵ درصد سوربات پتاسیم و پروبیوتیک به میزان 10^{7} CFU/g) و تیمار ۶ (جیره حاوی ترکیب ۰/۱٪ سوربات پتاسیم و پروبیوتیک به میزان 10^{7} CFU/g).

نتایج بررسی مقاومت بچه‌ماهیان در مواجهه با باکتری بیماری‌زای *Y. ruckeri* طی دوره ۱۴ روز در تیمارهای مختلف آزمایشی در جدول ۵ نشان داده شده است. تلفات ناشی از تزریق باکتری بیماری‌زا از روز چهار و پنجم آغاز گردید. ماهیان بیمار و تلف شده دارای نشانه‌هایی از جمله: قرمزی دهان، بی‌حالی، از دست دادن اشتها، تیرگی بدن، اگزوفتالمی و خون‌ریزی در چشم و پایه‌های باله‌ها بودند.

براساس نتایج به‌دست آمده بیش‌ترین میزان تلفات در تیمار ۱ (شاهد) و کم‌ترین آن در تیمار ۵ مشاهد شد و بین این دو اختلاف معنی‌داری وجود داشت (p<۰/۰۵). همچنین در خصوص شاخص نسبی بقاء (RPS) نیز بیشترین میزان آن در تیمار ۵ و کمترین آن در تیمار ۱ (شاهد) مشاهده شد و بین این دو اختلاف معنی‌داری وجود داشت (p<۰/۰۵).

جدول ۵- مقایسه میانگین درصد تلفات کل (٪) و درصد نسبی بقاء (RPS) ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) در آزمون مواجهه با باکتری بیماری‌زا در تیمارهای مختلف آزمایشی پس از ۱۴ روز

فاکتورها/تیمارها	تیمار۱(شاهد)	تیمار ۲	تیمار۳	تیمار۴	تیمار۵	تیمار۶
تلفات کل (٪)	۸۵± ۷/۰۷^{a}	۵۷/۵± ۱۰/۶^{bc}	۷۵± ۷/۰۷^{ab}	۶۲/۵± ۳/۵۳^{bc}	۴۵± ۷/۰۷^{c}	۵۷/۵± ۳/۵۳^{bc}
درصد نسبی بقاء (RPS)	۰/۰۰± ۰/۰۰^{d}	۳۲/۳۵± ۱۲/۴۷^{ab}	۱۱/۷۶± ۸/۳۱^{cd}	۲۶/۴۷± ۴/۱۶^{bc}	۴۷/۰۵± ۸/۳۲^{a}	۳۲/۳۵± ۴/۱۵^{ab}

* حروف انگلیسی غیر یکسان در هر ردیف نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین میانگین داده‌هاست (p<۰/۰۵).* داده‌ها به‌صورت (SD ± میانگین) بیان شده است.* تیمار۱ (شاهد)، تیمار ۲ جیره حاوی پروبیوتیک به میزان 10^{7} CFU/g)، تیمار ۳ (جیره حاوی ۰/۵ درصد سوربات پتاسیم)، تیمار ۴ (جیره حاوی ۰/۱٪ سوربات پتاسیم)، تیمار ۵ (جیره حاوی ترکیب ۰/۵ درصد سوربات پتاسیم و پروبیوتیک به میزان 10^{7} CFU/g) و تیمار ۶ (جیره حاوی ترکیب ۰/۱٪ درصد سوربات پتاسیم و پروبیوتیک به میزان 10^{7} CFU/g).

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-08]

[DOI: 10.29252/jair.8.2.51]

۴ | بحث و نتیجه‌گیری

صنعت آبزی‌پروری در پاسخ به نیاز غذایی جوامع بشری (با نگاه منابع سالم و ارزان قیمت تغذیه‌ای)، رشد روزافزونی داشته است. درنتیجه، توسعه این صنعت هرساله، نسبت به تولیدات صیادی درحال افزایش است (FAO, 2009). با مشخص شدن اهمیت فلور میکروبی روده، پروبیوتیک‌ها به‌منظور بهبود وضعیت فلور میکروبی روده و ممانعت از تشکیل کلنی باکتری‌های بیماری‌زا به صنعت آبزی‌پروری معرفی شدند (Ringo and Gatesoupe,1998). اثرات مثبت پروبیوتیک‌ها و اسیدهای آلی در ماهیان در مطالعات مختلف مورد تأیید قرار گرفته است (Ghosh *et al*., 2008; Suzer, *et al*., 2008; Wing-Keong, *et al*., 2009; Romano, *et al*., 2015; Castillo, *et al*., 2014).

بررسی بافت روده از جمله قطر و اندازه ویلی‌ها (پرز) روده می‌تواند شاخص مناسبی برای بررسی وضعیت فیزیولوژیک روده به عنوان یکی از بخش‌های مهم دستگاه گوارش باشد (Hoseinifar *et al*., 2014). همان‌طوری‌که نتایج این مطالعه نشان می‌دهد استفاده از سوربات پتاسیم با غلظت ۱٪ (تیمار ۲)، پروبیوتیک به‌صورت مجزا (تیمار ۴)، ترکیب سوربات پتاسیم (غلظت ۰/۵ و ۱٪) و پروبیوتیک (تیمار ۵ و ۶) باعث افزایش معنی‌دار طول و قطر پرزهای روده نسبت به گروه شاهد شد. ژانگ و همکاران (Zhang *et al*., 2013) افزایش طول ویلی‌ها را در ماهی سیم (*Megalobrama terminalis*) تغذیه‌شده با جیره حاوی پروبیوتیک *B. licheniformis* مشاهده کردند و این افزایش را به افزایش تکثیر سلول‌های اپی‌تلیال روده توسط پروبیوتیک‌ها نسبت دادند. همچنین بهبود ساختار ویلی‌ها و سطح جذب روده در گونه‌های مختلف توسط پروبیوتیک‌ها در مطالعات رودریگز و همکاران (Rodriguez *et al*., 2009) و ماریفیلد و همکاران (Merrifield *et al*., 2009) نیز مشاهده شده است. در ارتباط با اثر سینرژیستی بین اسید آلی سوربات پتاسیم و پروبیوتیک در آبزی‌پروری مطالعه‌ای انجام نشده ولی گزارش شده که اسیدهای چرب کوتاه زنجیره می‌توانند به‌عنوان منبع انرژی قابل استفاده برای سلول‌های اپی‌تلیال روده محسوب شوند و حتی تا ۵۰٪ انرژی مورد نیاز روزانه آنها را تأمین کنند و بر عملکردهای سلولی مرتبط با سلامت روده تأثیر گذارند (Hamer *et al*., 2008). به‌نظر می‌رسد به‌کارگیری پروبیوتیک و سوربات پتاسیم (که جزء اسیدهای چرب کوتاه زنجیره است) موجود در جیره سبب افزایش میزان اسیدهای چرب کوتاه‌زنجیره در روده گردیده و این عامل باعث تأمین انرژی مورد نیاز سلول‌های اپی‌تلیال روده شده و نتیجه این تأمین انرژی، باعث افزایش طول و قطر پرزها در روده شده باشد.

در ارتباط با آنزیم‌های گوارشی، باتوجه به نتایج این پژوهش، بیش‌ترین میزان آلکالین پروتئاز در تیمار ۵ (ترکیب پروبیوتیک و ۰/۵ درصد سوربات پتاسیم) مشاهده شد که با تیمار شاهد و تیمار ۰/۵ درصد سوربات پتاسیم (به‌طور مجزا) اختلاف معنی‌دار داشت، ولی با سایر تیمارها اختلاف معنی‌دار نداشت. میزان لیپاز در گروه‌های مختلف آزمایشی اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند، همچنین بیش‌ترین میزان α-آمیلاز در تیمارهای ۵ (ترکیب پروبیوتیک و ۰/۵ درصد سوربات پتاسیم) مشاهده شد که با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری داشتند. تصور می‌شود که پروبیوتیک‌ها فرآیندهای گوارشی را از طریق افزایش جمعیت میکروارگانیسم‌های مفید، فعالیت آنزیمی باکتری‌ها، بهبود تعادل میکروبی روده و در نتیجه بهبود هضم و جذب مواد غذایی و مصرف غذا، تحت تأثیر قرار دهند (Soleimani *et al*, 2012). همچنین آنتروسیت‌های روده نیز آنزیم‌های خود را وارد روده می‌کنند (Kuzmina *et al*., 2010). مطالعات مختلف بیانگر این مطلب است که باکتری‌های گروه باسیلوس از جمله متداول‌ترین پروبیوتیک‌هایی هستند که در پرورش آبزیان مورد استفاده قرار می‌گیرند. این دسته از باکتری‌ها قادر به تولید و ترشح تعداد زیادی از آنزیم‌های خارج سلولی از جمله آمیلاز، لیپاز و پروتئاز بوده و از طریق تحریک اشتها، افزایش متابولیسم میکروبی، سطح تغذیه میزبان را ارتقاء می‌بخشند (Irianto and Austine, 2002) که از جمله آنها می‌توان به آنزیم‌های پروتئاز مانند سوبتیلین و باسیتراسین اشاره کرد (Sanders *et al*., 2003)، همچنین باکتری‌های *Bacillus subtilis* و *B. licheniformis* قادر به هضم میکروبی پروتئین‌ها و کربوهیدرات‌ها هستند. بنابراین باکتری‌های ذکر شده می‌توانند با شرکت در فرآیند هضم، کارآیی دستگاه گوارش را افزایش و در نهایت موجب بهبود شاخص‌های رشد شوند.

در مطالعه ژو و همکاران (Zhou *et al*., 2009) که باکتری *B. coagulance* در سطوح ۱×۱۰^{۵}، ۵×۱۰^{۵}، ۱×۱۰^{۶}، صفر (شاهد) به آب محیط پرورش میگوی پا سفید غربی اضافه شده بود، سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های پروتئاز، α-آمیلاز و لیپاز در تیمارهای آزمایشی در مقایسه با گروه شاهد شد.

ژانگ و همکاران (Zhang *et al*., 2013) افزایش معنی‌دار آنزیم‌های گوارشی لیپاز و پروتئاز را در تغذیه با جیره حاوی پروبیوتیک *B. lichoniformis* گزارش کردند و این افزایش را به توانایی باسیلوس‌ها در تولید آنزیم‌های خارجی نسبت دادند. موارد مشابه‌ای از توانایی تولید آنزیم‌های گوارشی خارج سلولی توسط باکتری‌های موجود در دستگاه گوارش میگوی چینی (*P. chinensis*) در مطالعه (Wang and Xu, 2006)، ماهی قنات (*Rutilus rutilus*) (Skrodenytė-Arbaciauskienė *et al*., 2008)، شانک (*Acanthopagrus latus*) (Suzer *et al*., 2008)، میگوی سفید هندی (*Fenneropenaeus indicus*) (Ziaei-Nejad *et al*, 2006) و میگوی پا سفید غربی (*Litopenaeus vannamei*) (Wang, 2007) گزارش شده است. متأسفانه اطلاعات در زمینه اثر سینرژیستی بین پروبیوتیک و اسید آلی سوربات پتاسیم بر آنزیم‌های گوارشی وجود ندارد. باتوجه به نتایج، میزان آلکالین پروتئاز در تیمارهای پروبیوتیک و تیمار ۱٪ سوربات پتاسیم به‌طور مجزا افزایش نشان می‌دهد که این افزایش معنی‌دار نبود و میزان α-آمیلاز نیز در تیمارهای مذکور افزایش نشان نمی‌دهد. ولی در تیمار ۵ (ترکیب پروبیوتیک و ۰/۵ درصد سوربات پتاسیم) میزان آلکالین پروتئاز و α-آمیلاز افزایش معنی‌داری را نسبت به تمامی تیمارها نشان می‌دهد. به‌نظر می‌رسد احتمالاً وجود اثر سینرژیستی بین پروبیوتیک و سوربات

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-08]
[DOI: 10.29252/jair.8.2.51]

پتاسیم باعث شده اثرات پروبیوتیک (به‌طور مجزا) و سوربات پتاسیم (به‌طور مجزا) در تیمارهای ترکیبی به شکلی مضاعف شده و توانسته ساختار روده را بهبود ببخشد و شرایط را برای جمعیت باکتری‌های باسیلوس که توانایی ترشح آنزیم‌های خارجی (آمیلازها و پروتئازها) دارند را فراهم کند و این اثر هم‌افزایی باعث افزایش معنی‌دار در میزان آلکالین پروتئاز و α-آمیلاز در تیمار ۵ (ترکیب پروبیوتیک و ۰/۵ درصد سوربات پتاسیم)، نسبت به سایر تیمارها شده باشد.

کارآیی استفاده از ترکیب پروبیوتیک و اسید آلی پتاسیم سوربات را می‌توان با استفاده از آزمون رویارویی با باکتری‌های بیماریزا مورد بررسی قرار داد. در مطالعه حاضر آزمون مواجهه بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان با باکتری بیماری‌زا پس از ۲ ماه تغذیه با مکمل‌های مختلف (تیمارهای آزمایش) نشان داد تقریباً تمامی تیمارها (به جزء تیمار ۰/۵ درصد سوربات پتاسیم به‌صورت مجزا) اختلاف معنی‌داری به لحاظ میزان تلفات با گروه شاهد داشتند. بیش‌ترین میزان تلفات در تیمار شاهد (۷/۰۷ ±۸۵ درصد) و کم‌ترین آن در تیمار ۵ (ترکیب پروبیوتیک و ۰/۵ درصد سوربات پتاسیم) مشاهده شد (۷/۰۷ ±۴۵) و بین این دو اختلاف معنی‌دار وجود داشت. به‌نظر می‌رسد تغذیه بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان با سوربات پتاسیم و پروبیوتیک به‌صورت مجزا و ترکیب این دو (ترکیب پروبیوتیک و ۰/۵ و ۰/۱٪ سوربات پتاسیم) باعث افزایش مقاومت بچه‌ماهیان در برابر باکتری بیماری‌زا شده است. با این حال بیش‌ترین میزان درصد نسبی بقاء (RPS, Ratio Percent Surrvival) در تیمارهای ۵ و ۶ (ترکیب پروبیوتیک و (۰/۵ و ۰/۱٪) سوربات پتاسیم مشاهده شد که با سایر تیماها اختلاف معنی‌داری داشت. عملکرد مثبت پروبیوتیک‌ها در آزمون مواجهه با عوامل بیماری‌زا در مطالعه گیری و همکاران (Giri *et al*, 2013) و همچنین عملکرد مثبت اسیدهای آلی در آزمون مواجهه با عوامل بیماری‌زا در مطالعه وینگ‌کونگ و همکاران (Wing-Keong *et al*, 2009) مورد بررسی قرار گرفته است.

همراستا با نتایج این پژوهش، اندانی و همکاران (Andani *et al*., 2012)، در مطالعه‌ای اثر تغذیه بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان با پروبیوتیک *L. casei* بر مقاومت در برابر عفونت ناشی از باکتری *A. hydrophilla* و *Y. ruckeri* را مورد بررسی قرار دادند. نتایج حاصل نشان داد که تیمار پروبیوتیک به‌طور معنی‌داری کاهش تلفات ناشی از عفونت این عوامل بیماری‌زا را دربر داشته است. همچنین وینگ‌کونگ و همکاران (Wing-Keong *et al*, 2009) در مطالعه‌ای مقاومت هیبرید تیلاپیا (*Oreochromis sp*.) در آزمون مواجهه با باکتری بیماری‌زای (*Streptococcus agalactiae*) پس از دو ماه تغذیه با جیره حاوی اسید آلی دی فورمات پتاسیم را مورد بررسی قرار دادند. نتایج این مطالعه هم کاهش معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) مرگ و میر در تیمار اسید آلی نسبت به گروه شاهد را نشان داد. نتایج مطالعه داسیلوا و همکاران (Da Silva *et al*., 2013) در میگوی وانامی (*Litopenaeus vannamei*) و ابو ایلائی و راگا (Abu Elala and Ragaa, 2014) در ماهی تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*)، بهبودی معنی‌دار فلور باکتریایی روده را بدنبال استفاده از اسید آلی در جیره غذایی نشان داد.

افزایش بازماندگی و مقاومت در آزمون مواجهه با باکتری بیماری‌زا در مطالعه حاضر می‌تواند مؤید افزایش ایمنی و سلامت بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان باشد. نظر به اینکه استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در آبزی‌پروری به‌دلیل توسعه باکتری‌های مقاوم در برابر آنتی‌بیوتیک و نیز حضور بقایای آنتی‌بیوتیک در لاشه آبزیان با محدودیت‌هایی مواجهه است باتوجه به اینکه بهترین عملکرد در بین تیمارهای مختلف این پژوهش تیمار، ترکیب پروبیوتیک و سوربات پتاسیم (غلظت ۰/۵ و ۰/۱٪) بود به‌نظر می‌رسد استفاده از این تیمار در جیره غذایی ماهیان به‌صورت پیشگیرانه در افزایش ایمنی یا افزایش مقاومت در صورت ابتلا مؤثر باشد.

۵ | تشکر و قدردانی

بدینوسیله از آقای دکتر حاجی‌بگلو بخاطر در اختیار قرار دادن سالن تکثیر مزرعه پرورش قزل آلای خود کمال تشکر و سپاس را دارد.

پست الکترونیک نویسندگان

علی جافرنوده: a.jafar55@gmail.com
امیر تکمه‌چی: atokmechi@gmail.com
ابراهیم‌حسین نجدگرامی: e.gerami55@gmail.com
عبدالمجید حاجی‌مرادلو: a.hajimoradlu@gmail.com
فرزانه نوری: yalda.45@gmail.com

REFERENCES

Abu Elala N.M., Ragaa N.M. 2014. Eubiotic effect of a dietary acidifier (potassium diformate) on the health status of cultured *Oreochromis niloticus*. Journal of Advanced Research, 6(4): 621-629.

Andani H.R.R., Tukmechi A., Meshkini S., Sheikhzadeh N. 2012. Antagonistic activity of two potential probiotic bacteria from fish intestines and investigation of their effects on growth performance and immune response in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Journal of Applied Ichthyology, 28: 728-734.

Bernfeld P. 1955. Amylase, α and β. In: Colowick SP, Kaplan NO (Eds.).Methods in Enzymes, Academic Press, New York, USA, pp: 149-158.

Bradford M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry, 72: 248-254.

Castillo S., Rosales M., Pohlenz C., Gatlin D.M. 2014. Effects of organic acids on growth performance and digestive enzyme activities of juvenile red drum *Sciaenops ocellatus*. Aquaculture, 433: 6-12.

Chong A., Hashim R., Lee L.C., Ali A.B. 2002. Characterization of protease activity in developing discus *Symphysodon aequifasciata* larva. Aquaculture Research, 33(9): 663-672.

Da Silva B.C., Vieira F.D.N., Mourino J.L.P., Ferreira G.S., Seiffert W.Q. 2013. Salts of organic acids selection by multiple characteristics for marine shrimp nutrition. Aquaculture, 384(387): 104-110.

Diego I., Paula D., MariaT.M., Gumersindo F. 2012. Potential

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-08]

[DOI: 10.29252/jair.8.2.51]

Potential environmental effects of probiotics used in aquaculture. Aquaculture International, 20: 779-789.

Eidelsburger U. 1998. Feeding short-chain organic acids to pigs. In: Garnsworthy PC, Wiseman J (Eds.). Recent Advances in Animal Nutrition, Nottingham University Press, Nottingham, UK, pp: 93-106.

FAO. 2009. The state of world fisheries and aquaculture. Aquaculture Department Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy. 227 p.

Fuller R. 1989. Probiotics in man and animal. Journal of Applied Bacteriology, 66: 365-378.

Garcia-Carreno F.L., Haard N.F. 1993. Characterization of proteinase classes in *Langostilla Pleuroncodes planipes* and Crayfish *Pacifastacus astacus* extracts. Journal of Food Biochemistry, 17: 97-113.

Gatlin D.M., Li P., Wang X., Burr G.S., Castille F., Lawrnce A.L. 2006. Potential application of prebiotics in aquaculture. 8th International symposium on aquaculture nutrition, Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, Nuevo León, México, pp: 371-376.

Ghosh S., Sinha A., Sahu C. 2008. Dietary probiotic supplementation in growth and health of live-bearing ornamental fishes. Aquaculture Nutrition, 14: 289-299.

Giri S.S., Sukumaran V., Oviya M. 2013. Potential probiotic *Lactobacillus plantarum* VSG3 improves the growth, immunity, and disease resistance of tropical freshwater fish, *Labeo rohita*. Fish and Shellfish Immunology, 34: 660-666.

Hamer H.M., Jonkers D., Venema K., Vanhoutvin S., Troost F.J., Brummer, R.J. 2008. Review article: the role of butyrate on colonic function. Alimentary Pharmacology and Therapeutics, 27: 104-119.

Hernandez-Serrano P. 2005. Responsible use of antibiotics in aquaculture. FAO Fisheries Technical Paper No. 469. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy. 97 P.

Hoseinifar S.H., Soleimani N., Hosseinnia Z. 2014. The effects of fructooligosaccharide as prebiotic on growth, haematological parameters, intestinal micro biota and resistance to salinity stress in common carp. Report on research with ID number 92-314-87. Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources. Gorgan, Iran. (In Persian).

Iijima N., Tanaka S., Ota Y. 1998. Purification and characterization of bile salt activated lipase from the hepatopancreas of red sea bream, *Pagrus major*. Fish Physiology and Biochemistry, 18: 59-69.

Irianto A., Austine B. 2002. Probiotics in aquaculture. Fish Disease, 25: 633-642.

Khan S.H., Ansari F.A. 2007. Probiotics the friendly bacteria with market potential in global market. Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences, 20(1): 71-76.

Kuzmina V., Shekovtsova N., Bolobonina V. 2010. Activity dynamics of proteinases and glycosidases of fish chyme with exposure in fresh and brackish water. Biology Bulletin, 37: 605-611.

Luckstadt C. 2008. The use of acidifiers in fish nutrition. CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources, 3 (44): 1-8.

Merrifield D.L., Bernard D., Bradley G., Davies S.J., Baker R.T.M., 2009. Microbial community diversity associated with the intestinal mucosa of farmed rainbow trout (*Oncoryhnchus mykiss*). Aquaculture Research, 40: 1064-1072.

Nakai S.A., Siebert K.J. 2003. Validation of bacterial growth inhibition models based on molecular properties of organic acid. International Journal of Food Microbiology, 86: 791-799.

Owen M.A.G., Waines P., Bradley G., Davies S. 2006. The effect of dietary supplementation of sodium butyrate on the growth and micro flora of *Clarias gariepinus* (Burchell 1822). Proceeding Books of the 12th International Symposium Fish Nutrition and Feeding, May 28–June 1, Biarritz, France. 149 P.

Pandey A., Satoh S. 2008. Effects of organic acids on growth and phosphorus utilization in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Fisheries Science, 74: 867-874.

Perez-Sanchez T., Balcazar J.L., Merrifield D., Carnevali O., Gioacchini G., Blas I.d. 2011. Expression of immune-related genes in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) induced by probiotic bacteria during *Lactococcus garvieaeinfection*. Fish and Shellfish Immunology, 31: 196-201.

Peters G., Faisal M., Lang T., Ahmed I. 1988. Stress caused by social interaction and its effect on susceptibility to *Aeromons hydrophilic* infection in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Disease of Aquatic Organisms, 4: 83-89.

Rasdhari M., Parekh T., Dave N., Patel V., Subhash R. 2008. Evaluation of various physic-chemical Properties of *Hibiscus safdariffa* and *Lactobacillus casei* incorporated probiotic yogurt. Pakistan Journal of Biological Sciences, 11(17): 2101-2108.

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

Rodriguez-Estrada U., Satoh S., Haga Y., Fushimi H., Sweetman J. 2009. Effects of single and combined supplementation of *Enterococcus faecalis*, mannan oligosaccharide and polyhydroxybutyrate acid on growth performance and immune response of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. AGRIS, Suisanzoshoku (Japan), 57(4): 609-617.

Romano N., Koh C.B., Ng W.K. 2015. Dietary microencapsulated organic acids blend enhances growth, phosphorus utilization, immune response, hepatopancreatic integrity and resistance against *Vibrio harveyi* in white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. Aquaculture, 435: 228-236.

Sanders M.E., Morelli L., Tompkins T.A. 2003. Sporeformers as human probiotics: Bacillus. Comprehensive Reviews in Food Sciences and Food Safety, 2(3): 101-110.

Skrodenytė-Arbaciauskienė V., Sruoga A., Butkauskas D., krupskelis K. 2008. Phylogenetic analysis of intestinal bacteria of freshwater salmon (*Salmo salar*) and sea trout (*Salmo trutta trutta*) and diet. Fisheries Science, 74: 1307-1314.

Soleimani N., Hoseinifar S.H., Merrifield D.L., Barati M., Hassan Abadi Z. 2012. Dietary supplementation of

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-08]

[DOI: 10.29252/jair.8.2.51]

fructooligosaccharide (FOS) improves the innate immune response, stress resistance, digestive enzyme activities and growth performance of Caspian roach (*Rutilus rutilus*) fry. Fish and Shellfish Immunology, 32: 316-321.

Suzer C., oben D., Kamaci H.O., Saka Ş., Firat K., Küksari H. 2008. *Lactobacillus spp*. Bacteria as probiotics in gilthead sea bream (*Sparus aurata*, L) larvae Effects on growth performance and digestive enzyme activities. Aquaculture, 280: 240-245.

Wang Y.B. 2007. Effect of probiotics on growth performance and digestive enzyme activity of the shrimp *Penaeus vannamei*. Aquaculture, 269: 259-264.

Wang Y.B., Xu Z. 2006. Effect of probiotics for common carp (*Cyprinus carpio*) based on growth performance and digestive enzyme activities. Animal Feed Science and Technology, 127: 283-292.

Wing-Keong N., Chik-Boon C., Kumar S., Siti-Zahrah A. 2009. Effects of dietary organic acids on growth, nutrient digestibility and gut microflora of red hybrid tilapia (*Oreochromis sp*) and subsequent survival during a challenge test with (*Streptococcus agalactiae*). Aquaculture Research, 40: 1490-1500.

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 Shellfish Immunology, 35(5): 1380-6.

Zhou Z., Liu Y., He S., Shi P., Gao X., Yao B., Ringo E. 2009. Effects of dietary potassium diformate (KDF) on growth performance, feed conversion and intestinal bacterial community of hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* ♀×*O. aureus* ♂). Aquaculture, 291: 89-94.

نحوه استناد به این مقاله:

جافرنوده ع.، تکمه‌چی ا.، نجدگرامی ا.ح.، حاجی‌مرادلو ع.م.، نوری ف. بررسی اثرات سینرژیستی اسید آلی سوربات پتاسیم و پروبیوتیک (*Lactobacillus casei*) بر فعالیت آنزیم‌های گوارشی، هیستومورفولوژی روده و مقاومت در برابر باکتری بیماری‌زای *Yersinia rucker*، در بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792). نشریه پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی دانشگاه گنبدکاووس. ۱۳۹۹، ۵۹-۵۱ :(۲)۸ .

Jafar Nodeh A., Tukmechi A., Najd Grami E.H., Hajimoradlo A.M., Noori F. Study of synergistic effects of potassium-sorbate and *Lactobacillus casei* on the digestive enzyme activity, intestinal histomorphology, and resistance against pathogenic bacteria (*Yersinia ruckeri*) in rainbow trout fry (*Oncorhynchus mykiss*). Journal of Applied Ichthyological Research, University of Gonbad Kavous. 2020, 8(2): 51-59.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-08]

[DOI: 10.29252/jair.8.2.51]

Study of synergistic effects of potassium-sorbate and *Lactobacillus casei* on the digestive enzyme activity, intestinal histomorphology, and resistance against pathogenic bacteria (*Yersinia ruckeri*) in rainbow trout fry *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792)

Jafar Nodeh A[*1]., Tukmechi A[2]., Najd Grami E.H[2]., Hajimoradlo A.M[3]., Noori F[2].

[1] PhD of Fisheries, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran
[2] Assistant Prof. of Fisheries, Urmia Lake Research Institute, Urmia University, Iran
[3] Prof. of Fisheries, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

Type:

Original Research Paper

Paper History:

Received: 03-07-2017
Accepted: 08-10- 2017

Corresponding author:

Jafar Nodeh A. PhD of Fisheries, Gorgan University of Agricultural Sciences and, Natural Resources, Gorgan, Iran.
Email: a.jafar55@gmail.com

Abstract

To prevent the negative impacts of antibiotics, it is recommended to use other alternatives such as probiotics, prebiotics, and organic acids, which can have positive effects on the physiology of aquatic animals. This present study aimed to investigate the synergistic effects of organic acid (potassium sorbate) and probiotic (*Lactobacillus casei*) on rainbow trout fry (*O. mykiss*). Three hundred and sixty rainbow trout fry (mean weight ± SE: 2.45 ± 0.05g) were provided and randomly distributed in six treatments with three replications for each treatment including commercial diet (control, treatment 1), 10^7 CFU/g probiotic (*L. casei*) (treatment 2), a diet containing 0.5% of potassium sorbate (treatment 3), a diet containing 1% potassium sorbate (treatment 4), a diet containing 0.5% potassium sorbate and 10^7 CFU/g probiotic (*L. casei*) (treatment 5), a diet containing %1 potassium sorbate, and 10^7 CFU/g probiotic (*L. casei*) (treatment 6). The feeding trial was applied in two stages for a period of 60 days. At the end of the experiment, digestive enzyme activity, intestinal histomorphology, and the resistance of fry fish against pathogenic bacteria (*Yersinia ruckeri*) were investigated. The highest alkaline phosphatase and protease enzyme were observed in treatment 5 and the lowest in the control group. Intestinal histomorphology showed the highest length of Vili and its diameter in treatment 5 and 6 and the lowest was observed in the control group. After the resistance test against *Y. ruckeri* pathogen bacteria, the highest mortality rate was observed in the control group and the lowest observed in treatment 5 and 6. Based on the results of this study, it seems the use of combination probiotic and organic acid in the diet can increase the production of rainbow trout

Keywords: *O. mykiss*, Organic acids, Probiotic, Digestive enzymes, Histomorphology

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-08]

[DOI: 10.29252/jair.8.2.51]