دانشگاه گنبد کاووس
نشریه "پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی"
دوره چهارم، شماره اول، بهار ۹۵
http://jair.gonbad.ac.ir

بررسی اثرات سینرژیستی اسید آلی پتاسیم‌سوربات و پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازئی (*Lactobacillus casei*) بر شاخص‌های رشد و خونی، ترکیب لاشه و فلور میکروبی روده در بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792)

علی جافرنوده*[1]، امیر توکمه‌چی[2]، ابراهیم حسین نجدگرامی[2]، عبدالمجید حاجی‌مرادلو[3]، فرزانه نوری[2]

[1]دانش‌آموخته دوره دکتری تکثیر و پرورش آبزیان، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران
[2]استادیار گروه شیلات دانشکده منابع طبیعی، پژوهشکده مطالعات دریاچه ارومیه، دانشگاه ارومیه، ایران
[3]استاد گروه شیلات دانشکده شیلات و محیطزیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱/۲۳ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۴/۱

چکیده

به‌منظور بررسی اثرات سینرژیستی اسید آلی پتاسیم‌سوربات و پروبیوتیک *L. casei* در بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) با وزن اولیه ۰/۰۵±۲/۷۵ گرم، آزمایشی به‌مدت ۸ هفته با به‌کارگیری شش تیمار شامل: تیمار شاهد، جیره حاوی 10^7 CFU/g پروبیوتیک *L. casei* (تیمار ۱)، جیره حاوی ۰/۵ درصد پتاسیم سوربات (تیمار ۲)، جیره حاوی ۱ درصد پتاسیم سوربات (تیمار ۳)، جیره حاوی ترکیب ۰/۵ درصد پتاسیم سوربات و 10^7 CFU/g پروبیوتیک *L. casei* (تیمار ۴) و جیره حاوی ترکیب ۱ درصد پتاسیم سوربات و CFU/g 10^7 پروبیوتیک *L. casei* (تیمار ۵) صورت پذیرفت. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام گرفت. نتایج به‌دست آمده نشان داد که بیش‌ترین میزان وزن نهایی، ضریب تبدیل غذایی، نرخ رشد ویژه و کارائی پروتئین در تیمار ۴ مشاهده شد که با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری داشت ($p<0/05$). از نظر ترکیب لاشه اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای مختلف مشاهده نشد. میزان گلبول سفید در تیمار ۴ به‌طور معنی‌داری بیشتر از سایر تیمارها بود ($p<0/05$)، ولی اختلاف معنی‌داری در میزان گلبول‌های قرمز، هموگلوبین، هماتوکریت، نوتروفیل، لنفوسیت، مونوسیت، MCV، MCH و MCHC مشاهده نشد. بررسی تعداد کل باکتری‌ها و باکتری‌های اسید لاکتیک روده بین تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری را نشان داد به طوری‌که بیشترین میزان آن در تیمار ۴ مشاهده شد ($p<0/05$). در مجموع با توجه به نتایج و اثرات مثبت، افزودن ترکیب ۰/۵ درصد پتاسیم سوربات و CFU/g 10^7 باکتری *L. casei* به جیره غذایی بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان توصیه می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: ***O. mykiss*، *L. casei*، اسید آلی، پتاسیم سوربات**

*مسئول مکاتبه: a.jafar55@gmail.com

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-06-28]

مقدمه

در حال حاضر با توجه به روند روز افزون جمعیت جهان یکی از معضلات اساسی جوامع بشری فراهم نمودن غذا و منابع پروتئینی برای جمعیت رو به رشد کره زمین است (FAO, 2002). آبزی‌پروری به‌عنوان یک راه‌کار اساسی، می‌تواند از طریق تأمین پروتئین موردنیاز انسان، نقش مهمی را در این زمینه ایفا کند. هدف نهایی در انواع مختلف فعالیت‌های آبزی‌پروری، افزایش بازده تولید، جهت به حداکثر رساندن سوددهی می‌باشد. یکی از روش‌های افزایش تولید در آبزی‌پروری، کنترل بیماری بوده که در این زمینه می‌توان به استفاده از داروهای ضد میکروبی (آنتی‌بیوتیک‌ها) اشاره کرد. متأسفانه مصرف طولانی مدت این ترکیبات سبب ایجاد مشکلاتی عمدهایی از جمله مقاوم شدن عوامل بیماری‌زا، تغییر فلور میکروبی روده (که در سلامت میزبان نقش بالقوه‌ایی دارند) به سمت یک فلور نامتعادل، کاهش تولید اسیدهای چرب کوتاه زنجیره، انتقال این مواد در نهایت به انسان، آلودگی‌های زیست‌محیطی و افزایش هزینه‌های جاری تولید ماهی می‌گردد. از جمله ترکیباتی که به‌عنوان جایگزین مواد ضد میکروبی مطرح می‌باشد می‌توان به اسیدهای آلی اشاره کرد (Luckstadt, 2008).

طبق تعریف سازمان خوار و بار جهانی (FAO) و سازمان بهداشت جهانی پروبیوتیک‌ها میکروارگانیسم‌های زنده‌ای هستند که اگر به میزان مناسب مورد استفاده قرار گیرند می‌توانند سبب بهبود وضعیت سلامت میزان شوند (Ghosh *et al*., 2008). از جمله مزایای استفاده از پروبیوتیک‌ها می‌توان به بهبود جذب کلسیم، سنتز ویتامین‌ها، پروتئین‌ها و بهبود تعادل میکروفلور روده (Rasdhari *et al*., 2008)، تحریک و ارتقاء سیستم ایمنی بدن، کاهش سطح کلسترول سرم خون، افزایش کارائی غذایی (که این امر از طریق تولید ویتامین‌ها، افزایش قابلیت جذب مواد معدنی و عناصر کمیاب و نیز تولید آنزیم‌های گوارشی) اشاره کرد (Khan and Ansari, 2007). با این حال زنده‌مانی پایین باکتری‌های پروبیوتیکی در دستگاه گوارش و توانایی تحمل شرایط حاکم بر آن از مشکلات کاربرد این میکروارگانیسم‌ها در صنعت آبزی‌پروری است (Mahious *et al*., 2005).

اسیدهای آلی ترکیباتی هستند که دارای گروه کربوکسیلیک در ساختمان خود هستند. از بین این ترکیبات آن‌هایی که بین ۱ تا ۷ کربن دارند دارای اثرات ضد میکروبی می‌باشند (Eidelsburger, 1998). همه اسیدهای آلی به‌طور طبیعی در بافت سبزیجات مختلف و حیوانات وجود دارند، بنابراین به‌طور طبیعی می‌توانند در مواد غذایی به‌عنوان یک فرآیند طبیعی متابولیسمی بیوشیمیایی ظاهر شده و یا مستقیماً به‌عنوان اسیدی‌کننده، هیدرولیزکننده رشد باکتری‌ها به تولیدات غذایی اضافه گردند. امروزه، توجه ویژه‌ای به کاربرد تجاری اسیدهای آلی در جیره ماهیان و سایر جانداران در جهت کنترل بیماری‌ها و افزایش کارایی رشد صورت می‌گیرد (Wing-Keong *et al*., 2009). محققین گزارش کرده‌اند که چندین

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-06-28]

اسید آلی، نمک‌ها و ترکیبات متعلق آن‌ها می‌توانند موجب افزایش رشد، مصرف غذا و مقاومت در برابر بیماری در ماهیان گردند (Wing-Keong *et al*., 2009).

با توجه به اثرات مفید پروبیوتیک‌ها و اسیدهای آلی در صنعت آبزی‌پروری (Rahmati Andani *et al*., 2011; Ghosh *et al*., 2008; Suzer *et al*., 2008; Wing-Keong *et al*., 2009; Vielma *et al*., 1999; Bairagi *et al*., 2004; Romano *et al*., 2015; Castillo *et al*., 2004) این تحقیق با هدف بررسی اثرات سینرژیستی اسیدآلی پتاسیم سوربات و پروبیوتیک *L. casei* در بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) انجام شد.

مواد و روش‌ها

اسیدهای آلی مورد استفاده: اسید آلی مورد استفاده در این تحقیق پتاسیم سوربات با فرمول شیمیایی (CH3CH=CHCH=CHCOOK) و درجه خلوص ۹۹ درصد که از شرکت سیگما (آمریکا) خریداری شد.

سویه باکتری مورد استفاده: پروبیوتیک مورد استفاده در این تحقیق لاکتوباسیلوس کازئی (*L. casei*)، یک سویه بومی، از خانواده لاکتوباسیلوس‌ها (گرم مثبت)، که از روده ماهی کپور معمولی جداسازی شده (پژوهشکده مطالعات دریاچه ارومیه) (Rahmati Andani, *et al*., 2011) و به‌صورت لیوفیلیزه در اختیار ما قرار گرفته شد.

آماده‌سازی سوسپانسیون باکتریایی: به‌منظور احیاء پروبیوتیک *L. casei* از حالت لیوفیلیزه، از محیط کشت MRS broth استفاده و پس از تلقیح باکتری به‌مدت ۲۴ ساعت در دستگاه آون (مدل FD115، ساخت کمپانی BINDER آلمان) با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از رشد باکتری، برای حذف محیط کشت در سانتریفیوژ یخچال‌دار (مدل R۵۸۱۰ ساخت کمپانی eppendorf آلمان) با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و ۵۰۰۰ دور در دقیقه قرار داده شد و رسوب حاصله را سه بار با سرم فیزیولوژی استریل، شستشو و در مرحله آخر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر، سوسپانسیون باکتریایی با غلظت $۱۰^{۷}$ CFU/g تهیه و جهت اسپری به غذا آماده گردید (Rahmati Andani *et al*., 2011).

ماهیان و تیمارهای مورد استفاده در آزمایش: برای انجام این پژوهش تعداد ۳۶۰ قطعه بچه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با وزن اولیه ۲/۷۵±۰/۰۵ گرم استفاده شد که در ۶ تیمار جیره‌ای شامل: جیره تجاری (تیمار شاهد)، جیره حاوی $۱۰^{۷}$ CFU/g پروبیوتیک *L. casei* (تیمار ۱)، جیره حاوی ۰/۵ درصد پتاسیم سوربات (تیمار ۲)، جیره حاوی ۱ درصد پتاسیم سوربات (تیمار ۳)، جیره حاوی ترکیب ۰/۵ درصد پتاسیم سوربات و $۱۰^{۷}$CFU/g پروبیوتیک *L. casei* (تیمار ۴) و جیره حاوی ترکیب ۱ درصد

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-06-28]

پتاسیم سوربات و 10^{7} CFU/g پروبیوتیک *L. casei* (تیمار ۵) و هر تیمار با سه تکرار صورت پذیرفت. بیومتری ماهیان ماهیان هر دو هفته یک بار انجام شد.

جیره غذایی و تغذیه ماهیان: برای انجام آزمایش از غذای تجاری ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (غذای بهدانه شمال- شهرک صنعتی می‌رود بابلسر) استفاده شد و برای تیمارهای آزمایشی، باکتری و اسید آلی، پس از آماده‌سازی به‌صورت اسپری به غذا اضافه و برای کاهش میزان آبشویی از ژلاتین ۴ درصد استفاده گردید. بچه‌ماهیان به‌مدت دو ماه و روزانه ۳ بار غذادهی شدند (ساعت ۸ صبح، ۱۲ ظهر و ۴ بعدازظهر) و میزان غذادهی حدود ۳ درصد وزن بود.

جدول ۱: ترکیب و درصد اجزاء جیره تجاری بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) مورد استفاده در گروه‌های آزمایشی و گروه شاهد.

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

بررسی میزان رشد: برای بررسی رشد ماهیان و مقایسه بین تیمارها از شاخص‌های رشد شامل میزان افزایش وزن (Ai *et al*., 2007)، میزان کارآیی پروتئین (Ai *et al*., 2007)، نرخ رشد ویژه (Hevroy *et al*., 2005) و ضریب تبدیل غذایی (Helland *et al*., 1996) استفاده شد.

بررسی ترکیبات لاشه: جهت بررسی ترکیبات لاشه از روش استاندارد (AOAC., 2000) استفاده شد. رطوبت، از طریق خشک کردن نمونه‌ها در آون (مدل FD115، ساخت کمپانی BINDER آلمان) با دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۴ ساعت مورد سنجش قرار گرفت. پروتیین خام نمونه‌ها از طریق تعیین نیتروژن کل به روش کلدال با استفاده از دستگاه بخش هضم مدل EBL و بخش تقطیر مدل VAP ساخت کمپانی Gerhardt آلمان تعیین شد. چربی خام نمونه‌ها از طریق حل کردن چربی در اتر و تعیین مقدار آن به روش سوکسله به وسیله دستگاه سوکسله مدل VAP40 ساخت کمپانی Gerhardt آلمان انجام گرفت و خاکستر نمونه‌ها از طریق قرار دادن نمونه‌ها در کوره الکتریکی مدل LV/5/11/B170 ساخت کمپانی Nabertherm آلمان در دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد برای مدت ۴ ساعت اندازه‌گیری شد.

بررسی شاخص‌های خونی: در پایان دوره آزمایش پس از بیهوشی ماهیان با استفاده از پودر گل میخک اقدام به خونگیری با سرنگ از ساقه دمی بچه ماهیان گردید. جهت تعیین شاخص‌های خونی، تعداد گلبول‌های قرمز، تعداد گلبول‌های سفید، هماتوکریت، هموگلوبین، MCV، MCH، MCHC،

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-06-28]

نوتروفیل، لنفوسیت و مونوسیت از روش‌های توصیف شده توسط هوستون (Houston, 1990) برای خون شناسی ماهیان استفاده شد. تعداد گلبول‌های سفید و گلبول‌های قرمز با استفاده از لام نئوبار مورد سنجش قرار گرفت. تعداد نوتروفیل، لنفوسیت و مونوسیت با تهیه گسترش خونی و رنگ‌آمیزی آن با استفاده از رنگ‌آمیزی گیمسا و سپس شمارش در زیر میکروسکوپ تعیین شد. هماتوکریت با استفاده از دستگاه میکروسانتریفیوژ محاسبه گردید. هموگلوبین با استفاده از کیت هموگلوبین و دستگاه اسپکتروفتومتر تعیین شد. MCV، MCH و MCHC با استفاده از فرمول‌های ذیل مورد محاسبه قرار گرفت.

$$MCV = \frac{PCV \times 10}{RBC}$$

(MCV) حجم متوسط گلبولی (fl)

$$MCH = \frac{Hb \times 10}{RBC}$$

(MCH) هموگلوبین متوسط گلبولی (pg)

$$MCHC = \frac{Hb \times 100}{PCV}$$

(MCHC) غلظت متوسط هموگلوبین گلبول‌های قرمز (درصد)، (RBC) تعداد گلبول‌های قرمز بر حسب میلیون، (Hb): هموگلوبین و (PCV) هماتوکریت

بررسی فلور میکروبی روده: به‌منظور بررسی قابلیت تشکیل کلنی و تثبیت لاکتوباسیلوس مصرفی در روده بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در تیمارهای مختلف در انتهای دوره به‌طور تصادفی نمونه‌برداری انجام شد (۲۴ ساعت قبل از نمونه‌برداری تغذیه ماهیان قطع گردید). نمونه‌ها در مجاورت یخ به آزمایشگاه منتقل و در آزمایشگاه ابتدا طول و وزن آن‌ها با استفاده از خط‌کش و ترازوی دیجیتالی اندازه‌گیری شد. برای از بین بردن باکتری‌های سطح بدن ماهی، نمونه ماهی در محلول بنزالکونیوم کلراید ۰/۱ درصد به‌مدت ۱ دقیقه قرار داده شد (Mahious *et al.*, 2005). سپس ناحیه شکمی ماهی با استفاده از تیغ جراحی استریل شکافته و روده آن پس از جداسازی، به هاون چینی استریل منتقل و توزین گردید. سپس ۹ برابر وزن روده، محلول نمکی استریل نرمال (۰/۸۷ w/v Nacl درصد) به آن افزوده و هموژن شد.

پس از تهیه نمونه هموژن با استفاده محلول نمکی استریل نرمال (۰/۸۷ w/v Nacl درصد) رقت‌های مختلف در دامنه $۱۰^{-۱}$ تا $۱۰^{-۸}$ تهیه و از رقت‌های موردنظر تحت شرایط استریل، حجمی

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-06-28]

معادل ۰/۱ میلی‌لیتر برداشته و به پلیت حاوی محیط کشت نوترینت آگار برای کل باکتری‌ها و محیط کشتم- آر- اس برای لاکتوباسیلوس‌ها منتقل و در سطح آن پخش گردید (Mahious *et al.*, 2005).

انکوباسیون پلیت‌ها به‌مدت ۷۲ ساعت در دمای اتاق و در شرایط هوازی انجام شد. تعداد باکتری‌ها در هر یک از نمونه‌ها براساس لگاریتم واحدکلنی[1] (تعداد کلنی × عکس ضریب رقیق‌سازی =CFU/g intestine) شمارش و تعیین شد (Mahious *et al.*, 2005).

تجزیه و تحلیل آماری: تیمارها در قالب طرح کاملاً تصادفی هر تیمار با سه تکرار آماده شد. نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون شاپیرو- ویلک، برای آنالیز واریانس داده‌های نرمال از آزمون تجزیه واریانس یک طرفه استفاده شد. مقایسه میانگین تیمارها از آزمون دانکن و حداقل سطح معنی‌دار بودن آزمون‌ها (p<۰/۰۵). در نظر گرفته شد. برای انجام آنالیزهای آماری از نرم‌افزار SPSS و Excel استفاده شد.

نتایج

فاکتورهای رشد: جدول ۲ مقایسه میانگین شاخص‌های رشد و تغذیه را در تیمارهای مختلف نشان می‌دهد. همان‌گونه که مشاهده می‌شود میزان ضریب تبدیل غذایی، کارایی پروتئین در تیمار ۴ و ۵ بهتر از سایر تیمارها بود و کمترین آن در تیمار شاهد بود و این اختلاف معنی‌دار بود (p<۰/۰۵). ولی بین دو تیمار ۴ و ۵ اختلاف معنی‌دار وجود نداشت (p>۰/۰۵). همچنین بیشترین میزان نرخ رشد ویژه و افزایش وزن در تیمار ۴ مشاهده گردید که اختلاف آن با سایر تیمارها معنی‌دار بود (p<۰/۰۵).

ترکیبات لاشه: جدول ۳ نتایج مقایسه میانگین ترکیبات لاشه را درگروه‌های مختلف آزمایشی را نشان می‌دهد. بر اساس جدول، اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای مختلف از نظر ترکیبات لاشه وجود ندارد (p>۰/۰۵).

1- Colony Forming Unit

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-06-28]

جدول ۲: مقایسه میانگین شاخص‌های رشد و تغذیه در گروه‌های آزمایشی و گروه شاهد بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*)

فاکتورها/ تیمارها	شاهد	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ۴	تیمار ۵
وزن اولیه (گرم)	۱/۳۷±۰/۱۱	۲/۴۲±۰/۰۷	۲/۳۸±۰/۰۴	۲/۴۲±۰/۰۵	۲/۳۹±۰/۰۲	۲/۳۷±۰/۰۳
وزن انتهای دوره (گرم)	۲۹/۷۶±۰/۳۱^{c}	۳۰/۶۱±۰/۵۸^{ab}	۲۹/۲۴±۱/۳۷^{c}	۳۱/۰۱±۰/۹۹^{ab}	۳۶/۷۲±۱/۵۷^{a}	۳۲/۱۰±۱/۴۷^{b}
افزایش وزن (گرم)	۲۷/۳۹±۰/۴۲^{b}	۲۸/۱۸±۰/۵۸^{ab}	۲۶/۸۶±۱/۳۸^{b}	۲۸/۵۹±۱/۰۴^{ab}	۳۴/۳۲±۱/۵۵^{a}	۲۹/۷۳±۱/۴۶^{b}
نرخ رشد ویژه (درصد در روز)	۴/۱۵±۰/۱۰^{bc}	۴/۵۲±۰/۰۶^{bc}	۴/۴۷±۰/۰۹^{c}	۴/۵۵±۰/۰۹^{bc}	۴/۸۷±۰/۰۶^{a}	۴/۶۴±۰/۰۷^{b}
ضریب تبدیل غذایی	۱/۲۳±۰/۰۱^{a}	۱/۱۰±۰/۰۱^{b}	۱/۲۶±۰/۰۳^{a}	۱/۱۲±۰/۰۳^{b}	۱/۰۴±۰/۰۲^{c}	۱/۰۵±۰/۰۲^{c}
کارایی پرتئین (گرم/ گرم)	۲/۰۲±۰/۰۲^{c}	۲/۲۵±۰/۰۳^{b}	۱/۹۸±۰/۰۵^{c}	۲/۲۳±۰/۰۵^{b}	۲/۳۹±۰/۰۴^{a}	۲/۳۶±۰/۰۵^{a}
بقاء (درصد)	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰

*حروف انگلیسی غیرمشترک در هر ردیف نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌داری بین میانگین داده‌ها می‌باشد ($p<۰/۰۵$).

* داده‌ها به‌صورت (±SD میانگین) بیان شده است.

* تیمار شاهد (جیره تجاری)، جیره حاوی $۱۰^{۷}$ CFU/g پروبیوتیک *L. casei* (تیمار ۱)، جیره حاوی ۰/۵ درصد پتاسیم سوربات (تیمار ۲)، جیره حاوی ۱ درصد پتاسیم سوربات (تیمار ۳)، جیره حاوی ترکیب ۰/۵ درصد پتاسیم سوربات و $۱۰^{۷}$ CFU/g پروبیوتیک *L. casei* (تیمار ۴) و جیره حاوی ترکیب ۱ درصد پتاسیم سوربات و $۱۰^{۷}$ CFU/g پروبیوتیک *L. casei* (تیمار ۵).

جدول ۳: مقایسه میانگین ترکیبات لاشه در گروه‌های آزمایشی و گروه شاهد بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*)

فاکتورها/ تیمارها	شاهد	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ۴	تیمار ۵
رطوبت (درصد)	۷۲/۲۲±۱/۳۴	۷۱/۵۲±۲/۲۵	۷۲/۵۸±۰/۵	۷۲/۱۳±۱/۸۱	۷۱/۹۳±۱/۹۴	۷۱/۶۴±۱/۸۵
پرتئین (درصد)	۱۶/۹۷±۰/۲۴	۱۷/۱۳±۰/۴۵	۱۶/۶۷±۰/۴۸	۱۶/۶۶±۰/۴۹	۱۷/۰۱±۰/۳۷	۱۶/۸۷±۰/۱۳
چربی (درصد)	۷/۰۷±۰/۲	۶/۷۶±۰/۷۹	۶/۸۱±۰/۳۲	۶/۹۱±۰/۲	۶/۶۹±۰/۷۳	۶/۹۶±۰/۴۴
خاکستر (درصد)	۳/۴۲±۰/۳۹	۳/۶۴±۰/۳۸	۳/۳۴±۰/۳۲	۳/۷۴±۰/۳۲	۳/۴۱±۰/۵۲	۳/۲۴±۰/۴۷

* حروف انگلیسی غیرمشترک در هر ردیف نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌داری بین میانگین داده‌ها می‌باشد ($p<۰/۰۵$).

* داده‌ها به‌صورت (SD ± میانگین) بیان شده است.

* تیمار شاهد (جیره تجاری)، جیره حاوی $۱۰^{۷}$ CFU/g پروبیوتیک *L. casei* (تیمار ۱)، جیره حاوی ۰/۵ درصد پتاسیم سوربات (تیمار ۲)، جیره حاوی ۱ درصد پتاسیم سوربات (تیمار ۳)، جیره حاوی ترکیب ۰/۵ درصد پتاسیم سوربات و $۱۰^{۷}$ CFU/g پروبیوتیک *L. casei* (تیمار ۴) و جیره حاوی ترکیب ۱ درصد پتاسیم سوربات و $۱۰^{۷}$ CFU/g پروبیوتیک *L. casei* (تیمار ۵).

شاخص‌های خونی: با توجه به جدول ۴ و ۵ میزان گلبول سفید در تیمار ۴ به‌طور معنی‌داری بالاتر از سایر تیمارها بود ($p>۰/۰۵$). و کمترین میزان آن در تیمار شاهد مشاهده شد. ولی اختلاف معنی‌داری در میزان گلبول قرمز، هموگلوبین، لنفوسیت، نوتروفیل، مونوسیت، MCV، MCH و MCHC در بین گروه‌ها آزمایشی مشاهده نشد ($p>۰/۰۵$).

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-06-28]

جدول ۴: مقایسه میانگین شاخص‌های خونی در گروه‌های آزمایشی و گروه شاهد بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*)

شاخص‌های خونی	شاهد	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ۴	تیمار ۵
گلبول قرمز ×۱۰^۶	۱/۳۴±۰/۰۴	۱/۳۴±۰/۰۵	۱/۳۲±۰/۰۳	۱/۳۳±۰/۰۴	۱/۴±۰/۰۲	۱/۳۵±۱/۳۴
هموگلوبین	۹/۲۴±۰/۵۷	۹/۹۴±۰/۲۶	۹/۵۰±۰/۶۵	۱۰/۰۸±۰/۴۶	۹/۷۵±۰/۶۳	۹/۵۱±۰/۹۰
هماتوکریت	۳۵/۰۲±۰/۲۱	۳۵/۸۷±۰/۲۵	۳۵/۷۶±۰/۷۹	۳۵/۹۹±۰/۷۲	۳۶/۲۳±۰/۵۰	۳۶/۲۱±۰/۸۶
MCV	۲۶۰/۲۹±۸/۳۰	۲۶۶/۷۰±۱۲/۲۱	۲۶۹/۷۲±۹/۴۴	۲۶۹/۵۲±۱۳/۳۴	۲۵۸/۷۹±۲/۱۵	۲۶۷/۳۵±۱۶/۰۴
MCH	۶۸/۷۱±۴/۹۱	۷۳/۹۲±۴/۷۲	۷۱/۷۱±۶/۷۷	۷۵/۴۶±۴/۳۰	۶۹/۶۴±۳/۸۴	۷۰/۲۶±۸/۳۷
MCHC	۲۶/۳۹±۱/۴۸	۲۷/۷۰±۰/۵۷	۲۶/۵۶±۱/۸۰	۲۸/۰۲±۱/۶۵	۲۶/۹۲±۱/۷۰	۲۶/۲۶±۲/۴۰

* حروف انگلیسی غیرمشترک در هر ردیف نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌داری بین میانگین داده‌ها می‌باشد (P>۰/۰۵).

* داده‌ها به‌صورت (± SD میانگین) بیان شده است.

* تیمار شاهد (جیره تجاری)، جیره حاوی ۱۰^۷ CFU/g پروبیوتیک *L. casei* (تیمار ۱)، جیره حاوی ۰/۵ درصد پتاسیم سوربات (تیمار ۲)، جیره حاوی ۱ درصد پتاسیم سوربات (تیمار ۳)، جیره حاوی ترکیب ۰/۵ درصد پتاسیم سوربات و CFU/g ۱۰^۷ پروبیوتیک *L. casei* (تیمار ۴) و جیره حاوی ترکیب ۱ درصد پتاسیم سوربات و CFU/g ۱۰^۷ پروبیوتیک *L. casei* (تیمار ۵).

جدول ۵: مقایسه میانگین تعداد لکوسیت‌ها و شمارش انواع آن در گروه‌های آزمایشی و گروه شاهد بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*).

ترکیبات بدن	شاهد	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ۴	تیمار ۵
گلبول سفید ×۱۰^۳	۱۹/۹۳±۱/۰۰^d	۲۱/۴۶±۰/۹۸^c	۱۹/۸۳±۱/۰۲^d	۲۱/۵±۰/۵^c	۲۹/۹۳±۰/۶۴^a	۲۳/۴۳±۴/۱۶^b
لنفوسیت	۸۲/۳۳±۱/۵۲	۸۳/۰۰±۲/۶۴	۸۲/۰۰±۱/۰۰	۸۴/۳۳±۲/۰۸	۸۱/۶۶±۱/۱۵	۸۳/۶۶±۲/۰۸
نوتروفیل	۱۲±۱	۱۱/۶۶±۰/۵۷	۱۳/۰±۱/۰۰	۱۱/۳۳±۰/۵۷	۱۳/۰۰±۱/۰۰	۱۱/۶۶±۲/۰۸
مونوسیت	۵/۳۳±۱/۵۲	۵/۰۰±۱/۷۳	۵/۰۰±۱/۰۰	۴/۳۳±۱/۵۲	۵/۳۳±۱/۵۲	۴/۶۶±۲/۰۸

* حروف انگلیسی غیرمشترک در هر ردیف نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌داری بین میانگین داده‌ها می‌باشد (p<۰/۰۵).

* داده‌ها به‌صورت (±SD میانگین) بیان شده است.

* تیمار شاهد (جیره تجاری)، جیره حاوی ۱۰^۷ CFU/g پروبیوتیک *L. casei* (تیمار ۱)، جیره حاوی ۰/۵ درصد پتاسیم سوربات (تیمار ۲)، جیره حاوی ۱ درصد پتاسیم سوربات (تیمار ۳)، جیره حاوی ترکیب ۰/۵ درصد پتاسیم سوربات و CFU/g ۱۰^۷ پروبیوتیک *L. casei* (تیمار ۴) و جیره حاوی ترکیب ۱ درصد پتاسیم سوربات و CFU/g ۱۰^۷ پروبیوتیک *L. casei* (تیمار ۵).

فلور میکروبی روده: با توجه به جدول ۶ تعداد کل باکتری‌ها و باکتری‌های اسید لاکتیک روده در گروه‌های آزمایشی اختلاف معنی‌داری با هم داشتند (p<۰/۰۵).

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-06-28]

جدول ۶: مقایسه میانگین تعداد کل باکتری و باکتری‌های اسید لاکتیک روده در گروه‌های مختلف آزمایشی و گروه شاهد براساس (Log CFU/g) بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*)

فاکتورها/ تیمارها	تیمار ۱ (شاهد)	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ۴	تیمار ۵	تیمار ۶
کل باکتری	۵/۸۴±۰/۰۷^{c}	۶/۰۵±۰/۱۱^{ab}	۵/۸۴±۰/۰۷^{c}	۵/۹۸±۰/۰۷^{bc}	۶/۱۷±۰/۰۵^{a}	۶/۱۶±۰/۰۷^{ab}
باکتری‌های اسید لاکتیک	۲/۹۸±۰/۰۸^{d}	۳/۶۰±۰/۱۳^{c}	۲/۹۲±۰/۰۶^{d}	۳/۶۱±۰/۰۳^{c}	۴/۶۰±۰/۱۴^{a}	۴/۲۶±۰/۰۸^{b}

* حروف انگلیسی غیرمشترک در هر ردیف نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌داری بین میانگین داده‌ها می‌باشد ($p<۰/۰۵$).

* داده‌ها به‌صورت (SD ± میانگین) بیان شده است.

* تیمار شاهد (جیره تجاری)، جیره حاوی $۱۰^{۷}$ CFU/g پروبیوتیک *L. casei* (تیمار ۱)، جیره حاوی ۰/۵ درصد پتاسیم سوربات (تیمار ۲)، جیره حاوی ۱ درصد پتاسیم سوربات (تیمار ۳)، جیره حاوی ترکیب ۰/۵ درصد پتاسیم سوربات و CFU/g $۱۰^{۷}$ پروبیوتیک *L. casei* (تیمار ۴) و جیره حاوی ترکیب ۱ درصد پتاسیم سوربات و CFU/g $۱۰^{۷}$ پروبیوتیک *L. casei* (تیمار ۵).

بحث و نتیجه‌گیری

امروزه برای مقابله با مشکلات ناشی از مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها راهکارهای مختلفی پیشنهاد شده است که از جمله می‌توان به استفاده از مکمل‌های غذایی (پروبیوتیک‌ها، پربیوتیک‌ها و آنزیم‌ها و ...) اشاره کرد که در بالا بردن توان ایمنی نقش عمده‌ای دارند، این مواد علاوه‌بر تأمین مواد مغذی لازم، جهت تقویت رشد آبزیان، می‌توانند در افزایش سلامت، مقاومت نسبت به استرس و عوامل بیماری‌زا نیز مفید واقع شوند (Vulevic *et al*., 2004).

نتایج به‌دست آمده از این پژوهش نشان داد که استفاده از مکمل‌های پروبیوتیکی و اسید آلی پتاسیم سوربات به صورت معنی‌داری باعث بهبود شاخص‌های رشد و تغذیه، از جمله افزایش رشد بدن، ضریب تبدیل غذای، کارایی پروتئین و نرخ رشد ویژه در بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان شده که این نتایج در تیمار ۴ (ترکیب ۰/۵ درصد اسید آلی پتاسیم سوربات و CFU/g $۱۰^{۷}$ پروبیوتیک (*L. casei*)) کاملاً مشهود بوده است. مطالعات زیادی در ارتباط با نقش پروبیوتیک‌ها در عملکرد رشد و تغذیه وجود دارد (Lara-Flores, 2011؛Tukmechi *et al*., 2011 ؛Andani *et al*., 2012). پروبیوتیک‌ها به طرق مختلف بر عملکرد رشد اثر می‌گذارند. از جمله افزایش قابلیت جذب مواد معدنی مانند کلسیم، سنتز ویتامین‌ها و پروتئین‌ها (Rasdhari *et al*., 2008)، بهبود تعادل میکروفلور روده (Rasdhari *et al*., 2008)، تحریک و تولید آنزیم‌های گوارشی از جمله پروتئاز و آمیلاز، افزایش کارائی غذایی (Khan and Ansari, 2007) و تولید اسیدهای چرب کوتاه زنجیره که اثرات مفیدی در کاهش باکتری‌های مضر و مهیا کردن شرایط برای رشد باکترهای مفید دارد (از طریق کاهش pH)، اشاره کرد. پروبیوتیک‌ها هنگام ورود به روده میزبان، به سطح روده متصل شده و از کربوهیدرات‌های موجود در محیط روده

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-06-28]

برای رشد و تولید شمار زیادی از آنزیم‌های هضم‌کننده، از جمله آمیلازها، پروتئازها و لیپازها استفاده می‌کنند و باعث افزایش هضم‌پذیری مواد غذایی شده، در نتیجه، باعث رشد بیشتر و جلوگیری از اختلالات رودهایی می‌شوند (Lara-Flores, 2011). همچنین نقش مثبت اسیدهای آلی در چند مطالعه از قبیل چار قطبی (*Salvelinus alpinus*) (Ringo, 1991) و قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) (Pandey and Satoh, 2008) مورد بررسی قرار گرفته است که نتایج این مطالعات نشان داده است که کارایی رشد ماهیان را با استفاده از برخی اسیدهای آلی می‌توان بالا برد. رینگو و استروم (Ringo and Strom, 1994) بیان نمودند جیره‌های حاوی اسیدلاکتیک و اسید پروپیونیک باعث افزایش وزن در ماهی چار (*Salvelinus alpinus*) در مقایسه با گروه شاهد (فاقد اسید آلی) می‌شود. سوداگر و همکاران (Sudagar *et al*., 2010) نیز طی مطالعه‌ای اعلام نمودند استفاده از اسید سیتریک (اسید آلی) به‌عنوان ماده جاذب در جیره غذایی فیل ماهیان جوان به میزان ۵، ۱۰ و ۱۵ گرم به ازای هر کیلوگرم جیره (۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد) باعث افزایش وزن نهایی و بهبود معنی‌دار نرخ رشد روزانه، نرخ رشد ویژه، شاخص وضعیت و کاهش ضریب تبدیل غذایی می‌گردد. دلایل مختلفی برای افزایش کارایی رشد و تغذیه با استفاده از اسید آلی می‌توان عنوان کرد. از جمله نقش اسیدهای آلی در کاهش بار میکروبی مضر در غذای مصرفی، استفاده از اسیدهای آلی در جیره و شروع فرایند هضم از خود جیره غذایی، کاهش pH معده و عملکرد بهتر پپسین، کاهش باکترهای مضر روده از طریق کاهش pH و متعادل‌سازی فلور میکروبی روده را نام برد (Luckstadt, 2008)، همچنین انرژی اسیدهای آلی می‌تواند به‌طور کامل در متابولیسم مورد مصرف قرار گیرد و سلول‌های اپتلیال روده از این مواد می‌توانند به‌عنوان منابع انرژی استفاده کنند و باعث رشد بیشتر سلول‌های انتروسیت روده گردند (Topping and Clifon, 2001) و در نتیجه افزایش اندازه ریزپرزهای روده و افزایش سطح جذب و به تبع آن کارائی بیشتر غذا را به دنبال خواهد داشت. مطالعات در زمینه اثرات سینرژیستی اسید آلی و پروبیوتیک‌ها بسیار محدود است. رودریگوئز- استرادا و همکاران (Rodriguez-Estrada *et al*., 2009) در مطالعه‌ای در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان نشان دادند، استفاده از ترکیب باکتری (*Enterococcus faecalis*) و اسید آلی دی هیدروکسی بوتیرات باعث افزایش معنی‌دار شاخص‌های رشد و تغذیه نسبت به سایر تیمارها می‌شود. نتایج این تحقیق با نتایج ما مطابقت دارد. با توجه به نتایج به‌نظر می‌رسد در چنین شرایطی پروبیوتیک *L. casei* استفاده شده (که از خانواده *Lactobacilli* است) در جیره غذایی تحت تأثیر اسید آلی (پتاسیم سوربات) استفاده شده بقاء بهتری پیدا کرده باشد و فلور میکروبی روده را به سمت یک فلور متوازن و متعادل‌تر پیش برده باشد، کما این‌که بررسی فلور میکروبی روده در مطالعه حاضر این مورد را تأیید می‌کند. در نهایت به‌نظر می‌رسد مجموعه این عوامل باعث بهبود عملکرد هضم و جذب و کارائی غذا در بچه‌ماهیان مورد مطالعه شده باشد که به تبع آن بهبود فاکتورهای رشد در

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-06-28]

بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در تیمارهای ترکیب پروبیوتیک *L. casei* و اسید آلی پتاسیم سوربات به دنبال داشته است. نتایج حاصل از آنالیز لاشه در این تحقیق نشان داد که استفاده از اسید آلی پتاسیم سوربات و پروبیوتیک *L. casei* در تیمارهای مختلف تأثیر معنی‌داری برکیفیت لاشه اعم از پروتئین، چربی، خاکستر، رطوبت نداشته است. برخی محققین بر این باورند که تغییرات در ترکیبات بیوشیمیایی لاشه ماهیان می‌تواند به تغییرات در سنتز پروتئین و چربی در بدن، میزان ذخیره‌شان در بافت‌های بدن و نرخ رشد متفاوت، نسبت داده شود (Abdel-Tawwab *et al*., 2008; Heidarieh *et al*., 2012). اطلاعات موجود در مورد اثرات مفید جیره‌های حاوی پروبیوتیک، اسیدهای آلی و نمک‌هایشان بروی کارایی رشد در ماهیان متناقض بوده و به‌نظر می‌رسد به عواملی همچون گونه ماهیان، اندازه و سن ماهیان، نوع و سطوح اسیدهای و نمک‌هایشان و یا ترکیب آن‌ها بستگی دارد. همچنین ترکیبات جیره‌های آزمایشی، ظرفیت بافری مواد تشکیل دهنده جیره، مدیریت پرورش و تغذیه و کیفیت آب از دیگر عوامل مؤثر می‌باشند (Lim *et al*., 2000). با توجه به این‌که درصد پروتئین، چربی و خاکستر لاشه در تیمارهای مختلف تغییر نکرده است ولی میزان کلی پروتئین و چربی و خاکستر در تیمارها بیشتر از گروه شاهد است. چون میزان رشد (افزایش وزن) در تیمارهای ۴ (ترکیب ۰/۵ درصد اسید آلی پتاسیم سوربات و پروبیوتیک *L. casei*) نسبت به سایر تیمارها بیشتر بوده است در نتیجه میزان کلی ابقاء پروتئین و چربی و خاکستر با توجه به افزایش وزن موجود بیشتر خواهد بود.

شاخص‌های خونی ماهیان تحت تأثیر عوامل مختلفی از قبیل گونه، اندازه، سن، وضعیت فیزیولوژیکی، شرایط محیطی، رژیم غذایی، کمیت و کیفیت غذا، مواد تشکیل دهنده جیره، منابع پروتئینی، ویتامین‌ها و محرک‌های رشد قرار دارد (Merrifield *et al*., 2010) و علت تناقض داده‌های مربوط به اثر محرک‌های رشد بروی شاخص‌های خونی می‌تواند، موارد ذکر شده در بالا باشد.

نتایج این مطالعه نشان داد در تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری در تعداد گلبول‌های قرمز، هموگلوبین، هماتوکریت، MCV، MCH و MCHC وجود ندارد ولی در تعداد گلبول‌های سفید این اختلاف نسبت به گروه شاهد معنی‌دار است و این تفاوت در تیمار ۴ کاملاً مشهود بود. این نتایج با یافته‌های (Akrami *et al*., 2007)، در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (Hoseinifar *et al*., 2011)، در فیل‌ماهیان جوان مطابقت دارد. آن‌ها در مطالعات خود نشان دادند که افزودن محرک‌های رشد به جیره‌های آزمایشی باعث افزایش معنی‌داری در تعداد گلبول‌های سفید در مقایسه با گروه شاهد (بدون محرک رشد) می‌شود.

اگر چه حضور باکتری‌های اسیدلاکتیک در روده بسیاری از ماهیان از جمله ماهی کاد اطلس (*Labeo rohita*)، ماهی آزاد اطلس (*Salmo salar*)، قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)، فیل ماهی (*Huso huso*)، قره‌برون (*Acipenser persicus*) و چار قطبی (*Salvelinus alpinus*) ثابت شده

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-06-28]

است اما این باکتری‌ها جزء فلور غالب روده نیستند (Askarian *et al*., 2009). امروزه ثابت شده است که میکروارگانیسم‌های پروبیوتیکی که با غلظت کمتر از $۱۰^{۶}$ تا $۱۰^{۷}$ CFU/g در فلور روده وجود داشته باشند، توانایی ایجاد تعادل بین جمعیت خود و باکتری‌های ساکن روده را نداشته، در نتیجه نمی‌توانند فعالیت مناسب و اثر قابل قبولی بر سلامتی میزبان داشته باشند (Grama and Ringø, 2005).

تلاش جهت افزایش تعداد و غالبیت باکتری‌های اسیدلاکتیک از طریق به‌کارگیری سویه‌های پروبیوتیکی عمدتاً به تشکیل کلنی پایدار و غالبیت در میکروبیوتای روده‌ای نشده است (Rurangwa *et al*., 2009). ولی به‌نظر می‌رسد استفاده از موادی نظیر پربیوتیک، اسیدهای آلی قابلیت دستیابی به این مهم را دارا باشند. بررسی فلور میکروبی روده در این پژوهش نشان داد تعداد کل باکتری‌ها در تیمار ۴ (ترکیب ۰/۵ درصد پتاسیم سوربات و $۱۰^{۷}$ CFU/g پروبیوتیک *L. casei*) اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها دارد (p<۰/۰۵). تعداد باکتری‌های اسید لاکتیک در تیمارهای مختلف معنی‌دار بود (p<۰/۰۵). به‌طوری که به جز تیمار شاهد و تیمار ۲ (۰/۵ درصد پتاسیم سوربات) که اختلاف معنی‌دار با هم نداشتند. ولی در سایر تیمارها اختلاف معنی‌دار بود (p<۰/۰۵). در تیمار ۴ (ترکیب ۰/۵ درصد اسید آلی پتاسیم سوربات و $۱۰^{۷}$ CFU/gپروبیوتیک *L. casei*)، بیشترین میزان باکتری‌های اسید لاکتیک مشاهده شد. به‌نظر می‌رسد در تیمار ۴، وجود اثر هم‌افزایی مثبت، افزایش تعداد باکتری‌های اسیدلاکتیک در محیط روده را امکان‌پذیر کرده باشد. احتمالاً این اثر هم‌افزایی از طریق تأثیرات پتاسیم سوربات برروی pH محیط روده، تأمین بخشی از انرژی موردنیاز و شرایط محیطی مناسب (pH) برای باکتری‌های اسیدلاکتیک و محدودیت رشد برای باکتری‌های مضر (حساس به pH) روده امکان‌پذیر شده باشد که در نهایت پایداری باکتری‌های مفید (باکتری‌های اسیدلاکتیک) را در میکروبیوتای روده‌ای به دنبال داشته است (Cerezuela *et al*., 2011).

در این پژوهش استفاده از ترکیب اسید آلی پتاسیم سوربات و پروبیوتیک *L. casei* باعث افزایش فاکتورهای رشد و تغذیه (افزایش رشد بدن، ضریب تبدیل غذای، کارایی پروتئین و نرخ رشد ویژه) و همچنین افزایش باکتری‌های مفید روده (باکتری‌های اسید لاکتیک) در بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان شد. از آنجایی که یکی از ارکان اصلی در مقرون به صرفه شدن پرورش ماهیان تجاری، افزایش بازده محصول و وضعیت سلامت ماهیان است. به‌نظر می‌رسد این نتایج می‌تواند به افزایش بهره‌وری اقتصادی (با افزایش بازده محصول و وضعیت سلامت ماهیان) در پروش تجاری ماهیان کمک کند.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از آقای دکتر حاجی‌بگلو به‌خاطر فراهم کردن امکانات اجرایی و مساعدت‌هایشان در انجام این طرح کمال تقدیر و تشکر را دارد.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-06-28]

منابع

Abdel-Tawwab M., Abdel-Rahman A.M., Ismael N.E.M. 2008. Evaluation of commercial live bakers' yeast, *Saccharomyces cerevisiae* as a growth and immunity promoter for Fry Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) challenged in situ with *Aeromonas hydrophila.* Aquaculture, 280: 185–189.

Ai Q., Mai K., Zhang L., Tan B., Zhang W., Xu W., Li H. 2007. Effects of dietary β-1, 3 glucan on innate immune response of large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*). Fish and Shelfish Immunology, 22(4): 394-402.

Akrami R., Ghelichi A., Ebrahimi A. 2007. The effects of inulin as prebiotic on growth, survival and intestinal microflora of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). In: Proceeding of first national conference on fisheries sciences, Lahidjan, Iran, pp: 20-20. (In Persian).

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.

AOAC. 2000. Official Methods of Analysis. Horwitz W. 18th edition, Washington, DC, pp: 10-18.

Askarian F., Kousha A., Ringø E. 2009. Isolation of lactic acid bacteria from the gastrointestinal tract of beluga (*Huso huso*) and Persian sturgeon (*Acipenser persicus*). Journal of Applied Ichthyology, 25: 91-94.

Bairagi A., Ghosh S.k., Sen S.K., Ray A.K. 2004. Evaluation of nutritive value of (*Leucana leucophala*) leaf meal, inoculated with fish intestinal bacteria (*Bacillus subtillis*) circulans in formulated diets of rohu (*Labeo rohita*) fingerlings. Aquaculture Research, 35: 436-446.

Castillo C., Benedito J.L., Mendez J., Pereira V., Lopez-Alonso M., Miranda M., Hernandez J. 2004. Organic acid as substitute for monesnsin in diets for beef cattle. Animal Feed Science and Technology, 115: 101-116.

Cerezuela R., Meseguer J., Esteban M. 2011. Current Knowledge in Synbiotic Use for Fish Aquaculture. A Review. Journal of Aquaculture Research & Development, 1:1-7.

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

FAO. 2002. The state of world fisheries and aquacultures. SOFIA, Rome, Italy, 150P.

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

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-06-28]

Grama L., Ringø E. 2005. 17 Prospects of fish probiotics. Biology of Growing Animals, 2: 379–417.

Heidarieh M., Mirvaghefi A., Akbari M., Farahmand H., Sheikhzadeh N., Shahbazfar A., Behgar M., 2012. Effect of dietary Ergosan on growth performance, digestive enzymes, intestinal histology, hematological parameters and body composition of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Fish Physiology and Biochemistry, 38: 1169–1174.

Helland S.J., Grisdale B., Nerland S. 1996. Asimple method for the measurement of daily feed intake of groups of fish in tanks. Aquaculture, 139: 157-163.

Hevroy E.M., Espe M., Waagbo R., Sandness K., Rund M., Hemer G.I. 2005. Nutrition utilization in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed increased level of fish protein hydrolysate during a period of fast growth. Aquaculture Nutrition, 11: 301-313.

Hoseinifar S.H., Mirvaghefi A., Merrifield D.L., Mojazi Amiri B., Yelghi S. Darvish Bastami K. 2011. The study of some haematological and serum biochemical parameters of juvenile beluga (*Huso huso*) fed oligofructose. Fish Physiology and Biochemistry, 37: 91-96.

Houston A. 1990. Blood and circulation, In: Shreck CB, Moyle PB (Eds.). Methods for fish biology. American Fisheries Society, Bethesda, Maryland, pp: 273-322.

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.

Lara-Flores M. 2011. The use of probiotic in aquaculture: an overview. International Research Journal of Microbiology, 2: 471-478.

Luckstadt C. 2008. The use of acidifiers in fish nutrition. Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources, 3(044): 1-8.

Lim C., Klesius P.H., Li M.H., Robinson E.H. 2000. Interaction between dietary levels of iron and vitamin C on growth, hematology, immune response and resistance of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) to *Edwardsiella ictaluri* challenge. Aquaculture, 185: 313-327.

Mahious A.S., Gatesoupe F.J., Hervi M., Metailler R., Ollevier, F. 2005. Effect of dietary inulin and oligosaccharides as prebiotics for weaning Turbot (*Psetta maxima*). Aquaculture International, 14: 219-229.

Merrifield D.L., Dimitroglou A., Foey A., Davies S.J., Baker R.T.M., Bogwald J., Castex M., Ringo E. 2010. The current status and future focus of probiotic and prebiotic applications for salmonids. Aquaculture, 302: 1-18.

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

Rahmati Andani H.R., Tukmechi A., Meshkini S., Ebrahimi H. 2011. The increase of resistance of Rainbow trout against *Aeromonas hydrophila* and *Yersinia*

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-06-28]

ruckeri infection using *Lactobacillus* isolated from the intestine of common carp (*Cyprinus caipio*). Journal of Veterinary of Iran, 2: 26-35.

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. 1991. Effects of dietary lactate and propionate on growth and digesta in Arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.). Aquaculture, 96: 321–333.

Ringo E. Strom E. 1994. Microflora of arctic charr (*Salvelinus alpinus*) Gastrointestinal microflora of free-living fish and effect of diet and salinity on intestinal microflora. Aquaculture and Fisheries Management, 25: 623-629.

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.

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*). Aquaculture Sciences, 57(4): 609-617.

Rurangwa E., Laranja J.L., Van Houdt R., Delaedt Y., Geraylou Z., Van de Wiele T. 2009. Selected nondigestible carbohydrates and prebiotics support the growth of probiotic fish bacteria mono cultures in vitro. Journal of Applied Microbiology, 106: 932-40.

Sudagar M., Hosseinpoor Z., Hosseini A. 2010. The use of citric acid as attractant in diet of grand sturgeon (*Huso huso*) fry and its effects on growing factors and survival rate. AACL Bioflux, 3: 311-316.

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.

Topping D.L., Clifon P.M. 2001. Short chain fatty acids and human colonic function. roles of resistant starch and non-starch polysaccharides. Physiological Reviews, 81: 1031–1064.

Tukmechi A., Rahmati Andani H.R., Manaffar R., Sheikhzadeh N. 2011. Dietary administration of beta-mercapto-ethanol treated Saccharomyces cerevisiae enhanced the growth, innate immune response and disease resistance of the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Fish and Shellfish Immunology, 30: 923-928.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-06-28]

Vielma J., Ruohonen K., Lall S.P. 1999. Supplemental citric acid and particle size of fish bone-meal influence the availability of minerals in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture Nutrition, 5: 65–71.

Vulevic J., Rastall R.A., Gibson G.R. 2004. Developing a quantitation approach for determining the in vitro prebiotic potential of dietary oligosaccharids. FEMS Microbiology Letters, 236: 153-159.

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.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-06-28]