نشریه پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی

Journal homepage: http://jair.gonbad.ac.ir

ISSN: 2423-6349

دوره ۱۲، شماره ۱، صفحات ۵۸-۴۴.

وزارت علوم، تحقیقات و فناوری
دانشگاه گنبد کاووس

اثر جیره غذایی مکمل‌سازی شده با سلنیوم آلی (Selenomethionine) و سین‌بیوتیک دی‌پروپلاس ($Dipro^+$) به صورت جداگانه و تلفیقی روی فعالیت آنزیم‌های گوارشی، فلور باکتریایی روده و بافت‌شناسی روده در ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo caspius*)

مازیار اکبرآبادی[۱]، حسین خارا[۱*]، حبیب وهابزاده رودسری[۱]، محدثه احمدنژاد[۲]، رقیه صفری[۳]

[۱] گروه شیلات، واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، ایران

[۲] پژوهشکده آبزی‌پروری آبهای داخلی، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بندرانزلی، ایران

[۳] گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

نوع مقاله:
پژوهشی اصیل

تاریخچه مقاله:
دریافت: ۰۲/۱۲/۰۸
پذیرش: ۰۳/۰۱/۱۷

نویسنده مسئول مکاتبه:
حسین خارا، گروه شیلات، واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، ایران.

ایمیل: h.khara1974@yahoo.com

چکیده

سین‌بیوتیک‌ها و عناصر کمیاب از جمله سلنیوم در ماهی‌های پرورشی سبب تقویت دفاع غیراختصاصی و بهبود هضم و جذب مواد غذایی می‌گردد. هدف از تحقیق حاضر تعیین اثر جیره غذایی مکمل‌سازی شده با سلنیوم آلی (Selenomethionine) و سین بیوتیک دی پرو پلاس (Dipro+) به صورت جداگانه و تلفیقی روی فعالیت آنزیم‌های گوارشی، فلور باکتریایی روده و بافت‌شناسی روده در ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo caspius*) بود. در این پژوهش تعداد ۵۴۰ قطعه بچه ماهی آزاد دریای خزر با میانگین وزن ۱/۴۵±۶۶/۳۴ گرم تهیه شد. ماهیان پس از سازگاری با شرایط آزمایشی رقم بندی در ۲۷ عدد حوضچه مخصوص بچه‌ماهی‌ها به‌طور کاملاً تصادفی توزیع گردیدند. این آزمایش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی تحت ۸ تیمار آزمایشی و یک گروه شاهد (هر کدام با ۳ تکرار) به مدت ۸ هفته صورت گرفت. تیمارهای آزمایشی شامل: ۲ گرم سین‌بیوتیک در کیلوگرم جیره (تیمار ۱)، ۳ گرم سین‌بیوتیک در کیلوگرم جیره (تیمار ۲)، ۲ میلی‌گرم سلنیوم آلی در کیلوگرم جیره (تیمار ۳)، ۴ میلی‌گرم سین‌بیوتیک در کیلوگرم جیره (تیمار ۴)، ۲ گرم سین‌بیوتیک و ۲ میلی‌گرم سلنیوم آلی در کیلوگرم جیره (تیمار ۵)، ۲ گرم سین‌بیوتیک و ۴ میلی‌گرم سلنیوم آلی در کیلوگرم جیره (تیمار ۶)، ۳ گرم سین‌بیوتیک و ۲ میلی‌گرم سلنیوم آلی در کیلوگرم جیره (تیمار ۷)، ۳ گرم سین‌بیوتیک و ۴ میلی‌گرم سلنیوم آلی در کیلوگرم جیره (تیمار ۸) بود. بیشترین میزان آنزیم‌های گوارشی شامل: آمیلاز، لیپاز و پروتئاز در تیمار ۱ یعنی گروه تغذیه شده با ۲ گرم سین‌بیوتیک دی‌پروپلاس ثبت شد که به‌طور معنی‌داری با گروه شاهد اختلاف معنی‌دار داشت ($p < ۰/۰۵$). کمترین میزان باکتری اسیدلاکتیک (LAB) و تعداد کل باکتری‌های روده (TVC) به‌طور معنی‌داری در گروه شاهد وجود داشت ($p < ۰/۰۵$). نتایج نشان داد که بین شاخص‌های بافتی روده در گروه‌های تغذیه شده با مکمل‌های غذایی به‌طور تلفیقی و جداگانه با گروه شاهد اختلاف معنی‌دار مشاهده شد. به‌طورکلی نتایج نشان داد که استفاده توأم سین‌بیوتیک دی‌پروپلاس و سلنیوم آلی توانست آسیب‌های بافتی را کاهش دهد و به‌عنوان مکمل غذایی در جیره ماهی آزاد دریای خزر توصیه می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: سلنیوم آلی، سین‌بیوتیک دی‌پروپلاس، ماهی آزاد دریای خزر، دستگاه گوارش.

۱ | مقدمه

آزاد ماهیان از مهم‌ترین گونه‌های پرورشی ماهیان در سراسر دنیا می‌باشند و پرورش آن‌ها قرن‌هاست که در جوامع مختلف در حال انجام است (Lee and Donaldson, 2001). در این بین، ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo caspius*) از ارزشمندترین ماهیان اقتصادی دریای خزر می‌باشد. این ماهی به‌طور عمده در جنوب دریای خزر و در سواحل ایران وجود دارد. با توجه به موارد مختلف بازماندگیی نسل ماهی آزاد دریای خزر که از ارزش اقتصادی بالایی برخوردارند، به خطر افتاده است (Kiabi *et al*., 1999; Ringoe and Birkbeck,

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-07-11]

1999). در این راستا، بیش از چند دهه است که در مرکز تکثیر و پرورش ماهیان سردآبی شهید باهنر کلاردشت، تکثیر و پرورش مصنوعی آن به منظور بازسازی ذخایر ماهی آزاد دریای خزر انجام شده و بچه ماهیان به رودخانه‌های منتهی به دریای خزر به‌ویژه رودخانه چشمه کیله تنکابن رهاسازی می‌شوند. از طرفی، چند سالی است که ماهی آزاد دریای خزر به عنوان گونه جدید پرورشی به صنعت آبزی‌پروری کشور معرفی شده است. بطوری‌که، از پتانسیل بسیار بالایی برای پرورش در مزارع سردآبی و پرورش در قفس در دریاچه‌های پشت سدها و دریای خزر برخوردار است.

امروزه، با توجه به روند رو به رشد جمعیت جهان و نیاز انسان‌ها به دستیابی به منابع پروتئینی متنوع و سالم، مصرف آبزیان یکی از راه‌های تامین این پروتئین می‌باشد. از همین رو، پیش‌بینی می‌شود که در دو دهه آینده، آبزی‌پروری نقش بسزایی در تامین غذای بشر و کاهش فقر جهانی ایفا کند. توسعه غذاهایی که سلامتی و رضایت‌مندی را ارتقاء می‌دهند یکی از فاکتورهای مهم اولویت تحقیقاتی در صنایع غذایی است و غذاهای غنی شده با ترکیب فعال فیزیولوژی مانند پروبیوتیک و پری-بیوتیک برتری مصرف دارند. این غذاها نقش مهمی در تخمیر روده‌ای از طریق نفوذ در ترکیبات میکروبی و متابولیسم تخمیر دارند (Puupponen-Pimiä *et al.*, 2002). در سال‌های اخیر تحقیقات فراوانی در استفاده از افزودنی‌های غذایی که در بهبود سلامتی ماهی نقش دارند، صورت گرفته است که می‌توان به پروبیوتیک‌ها و پری‌بیوتیک‌ها اشاره نمود. اخیراً به کارگیری از مجموع این دو ماده غذایی تحت نام سین بیوتیک مطرح شده است که تأثیر مثبت آن در انسان‌ها و موجودات خشکی-زی و نیز در برخی آبزیان ثابت گردیده است (Ai *et al.*, 2011) استفاده همزمان گونه‌های پروبیوتیکی به همراه پری‌بیوتیک‌های مناسب (سین‌بیوتیک) به عنوان سوبسترا برای افزایش غالبیت و رشد پایدار باکتری‌های پروبیوتیکی، به علت ناتوانی گونه‌های پروبیوتیکی برای تشکیل کلونی پایدار و حفظ غالبیت در میکروبیوتای روده‌ای آبزیان پیشنهاد شده است (Li and Gatlin, 2003).

از طرفی دیگر در سال‌های اخیر، تمایل به استفاده از مکمل‌های غذایی معدنی به‌خصوص عناصر کمیاب به دلیل ضرورت تامین مایحتاج مورد نیاز جیره برای موجود زنده و تاثیر کمبود آن بر سلامتی و رشد بسیار مورد توجه پرورش دهندگان دام و آبزیان قرار گرفته است (Oliva-Teles, 2012; Dato-Cajegas and Yakupitiyage, 1996). این مکمل‌ها علاوه بر بهبود شاخص‌های رشد، منجر به افزایش مقاومت ماهی نسبت به استرس‌های محیطی، بیماری‌های عفونی مختلف و تحریک سیستم ایمنی غیراختصاصی آبزیان می‌گردد که همه این عوامل در نهایت منجر به بهبود کارایی تولید این صنعت می‌شوند (Roubach *et al.*, 2019). در این بین سلنیوم از جمله عناصر کمیاب ضروری برای تمامی موجودات زنده است (Hamilton, 2004). سلنیوم یک عنصر ریز مغذی ضروری برای انسان، حیوانات و ماهیان محسوب می‌شود. این فلز جزء اصلی ساختمان آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز بوده و وظیفه این آنزیم محافظت سلول‌ها و غشاءها در برابر آسیب‌های اکسیداتیو ناشی از رادیکال‌های آزاد است (Wang *et al.*, 2017).

با توجه به اینکه ماهی آزاد یک گونه کاملا وحشی می باشد پس جهت اهلی سازی و پرورش آن کاهش استرس در آن بسیار مهم بوده و می بایستی مد نظر قرار گیرد و از ضروریات پرورش یک گونه ماهی شناخت اثر مکمل های مختلف غذایی در جهت افزایش شاخص‌های رشد، بهبود سیستم ایمنی و عملکرد دستگاه گوارش می‌باشد. با این وجود علی رغم اهمیت اقتصادی بالای ماهی آزاد دریای خزر جهت آبزی پروری در سال‌های اخیر، مطالعات کمی راجع به نیازهای غذایی آن صورت گرفته است. تاکنون اثر سلنیوم و سین‌بیوتیک دی‌پروپلاس به تنهایی و توام روی ماهی آزاد دریای خزر به عنوان یک مکل غذایی مورد بررسی قرار نگرفته است. به همین دلیل پژوهش حاضر با هدف بررسی اثر توام سلنیوم آلی و سین‌بیوتیک دی‌پرو-پلاس روی فعالیت آنزیم‌های گوارشی، فلور باکتریایی روده و بافت‌شناسی روده ماهی آزاد دریای خزر انجام شد.

۲ | مواد و روش‌ها

تهیه مواد و محل انجام آزمایش: این پژوهش به مدت ۸ هفته در مرکز تکثیر و بازسازی ذخایر آزاد ماهیان شهید باهنر کلاردشت واقع در استان مازندران انجام شد. سین-بیوتیک دی‌پروپلاس از شرکت دانش بنیان تک ژن زیست

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-07-11]

(تهران) و سلنیوم آلی از شرکت دانش بنیان توسعه مکمل زیست فناور آریانا (مشهد) خریداری شد. ترکیب سین-بیوتیک دی‌پروپلاس شامل باسیلوس سابتیلیس (*Bacillus subtilis*)، باسیلوس لیکنی فورمیس (*Bacillus licheniformis*)، باکتری لیوفیلیزه پدیوکوکوس اسیدی لاکتیکی (*Pediococcus acidilactici*) و ۴ سویه از باکتری‌های اسیدلاکتیکی و مانان الیگوساکارید بود. همچنین سلنیوم آلی متشکل از عنصـــر سلنیوم بود که به شکل یون با مولکول‌های آلی اسید آمینه متیونین بانـد شده و با حامل کنسانتره‌ای متشکل از ذرت، سویا، جـو و سبوس ترکیب شد.

طراحی آزمایش و تهیه جیره غذایی: تحقیق حاضر در قالب یک طرح کاملاً تصادفی تحت ۸ تیمار آزمایشی و یک گروه شاهد (هر کدام با ۳ تکرار) انجام شد. برای این منظور، تعداد۵۴۰ قطعه بچه ماهی آزاد دریای خزر با میانگین وزن ۱/۴۵±۶۶/۴۴ گرم (حاصل تکثیر ۱۴۰۰) تهیه و پس از سازگاری با شرایط آزمایشی رقم بندی شدن، بچه ماهیان در ۲۷ عدد حوضچه (با ابعاد ۱۵۰×۱۵۰×۸۰ سانتی‌متر با ارتفاع آبگیری ۵۰ سانتی-متر) با تراکم ۲۰ قطعه ماهی در هر تانک مخصوص بچه ماهی‌ها به طور کاملا تصادفی توزیع گردیدند. از خوراک اکسترود رشد ۲ (EX-TG2) شرکت تعاونی ۲۱ بیضاء به عنوان جیره پایه استفاده شد. مشخصات فیزیکی و آنالیز غذای مصرفی در جدول ۱ آورده شده است. همچنین، نحوه تیماربندی بچه ماهیان نیز در جدول ۲ ذکر شده است. هر یک از حوضچه‌ها به طور جداگانه به سیستم هوادهی مجهز شده بود. منبع تامین آب، چشمه بود که شاخص‌های کیفی آن مانند: دما، پی اچ و اکسیژن محلول با استفاده از دستگاه EUTECH مدل DO6 به طور روزانه اندازه‌گیری می‌شد. در طول اجرای آزمایش سعی شد که دمای آب روی ۱۷ درجه سانتی‌گراد، پی اچ روی ۶/۹-۷ و اکسیژن در حد ۷ میلی‌گرم در لیتر تثبیت شود (Khara *et al*., 2016).

جدول ۱- آنالیز خوراک استفاده شده جهت تغذیه بچه ماهی‌ها (شرکت بیضاء).

Maximum moisture (%)	Minimum absorbable phosphorus (%)	Maximum crude fiber (%)	digestible energy (kcal/kg)	Minimum crude fat (%)	Minimum crude protein (%)	Fish weight (g)	Feed diameter (mm)
10	0.8	2.2	4300	14.5	44	25-75	3.3-2.4

جدول ۲- نحوه تیماربندی به مدت ۸ هفته.

Synbiotic (Dip$^+$) (grams per kilogram of diet)	Selenium (Se) (mg/kg diet)	Coding	Treatment
-	-	Dip0Se0	Control
2	-	Dip2Se0	T1
3	-	Dip3Se0	T2
-	2	Dip0Se2	T3
-	4	Dip0Se4	T4
2	2	Dip2Se2	T5
2	4	Dip2Se4	T6
3	2	Dip3Se2	T7
3	4	Dip3Se4	T8

بررسی آنزیم‌های گوارشی: برای سنجش فعالیت آنزیم‌های گوارشی، ۲۴ ساعت قبل از نمونه‌گیری غذادهی متوقف گردید. سپس، تعداد ۳ قطعه بچه ماهی به طور تصادفی از هر تیمار انتخاب و با استفاده از پودر گل میخک (۲۰۰میلی‌گرم در یک لیتر آب) بیهوش شدند (Hatami *et al*., 2020)، ماهیان بیهوش شده بلافاصله در روی یخ قرار داده شدند و تحت شرایط استریل روده این ماهیان جدا و در ازت مایع منجمد و سپس در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان سنجش آنزیم‌های گوارشی نگهداری شدند (Mohammadi Arani *et al*., 2019).

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-07-11]

جهت استخراج عصاره آنزیمی از روش هارپز و همکاران (Harpaz *et al*., 1994) استفاده شد. بر اساس این روش، روده ماهیان با نسبت وزنی- حجمی ۱ به ۵ و با استفاده از بافر هموژنات سرد (Tris-HCl ۵۰ میلی مولار در پی اچ ۸/۵ و حاوی CaCl2 ۲۰ میلی‌مولار و KCl ۵۰ میلی‌مولار) به مدت ۳۰ ثانیه در کنار یخ هموژن شده و در ادامه نمونه هموژن شده به مدت ۲۰ دقیقه در ۴ درجه سانتی‌گراد با دور ۱۷۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. بعد از پایان سانتریفیوژ، مایع رویی با استفاده از میکروسمپلر جمع‌آوری و برای سنجش آنزیمی مورد استفاده قرار گرفت. برای سنجش آنزیم لیپاز، از هیدرولیز P- nitrophenyl myristate به عنوان سوبسترا در متوکسی اتانول ۰/۲۵ میلی‌مولار، Tris-HCL ۰/۲۵ مولار و Sodium cholate ۵ میلی‌مولار در pH ۹ استفاده شد (۳۳). برای سنجش فعالیت آنزیم آلفا- آمیلاز از روش برنفیلد (Bernfeld, 1955) از نشاسته به عنوان سوبسترا استفاده شد. از این رو، نشاسته در بافر فسفات سدیم ۰/۰۲ مولار حاوی کلریدسدیم ۰/۰۰۶ مولار آماده شد. برای رقیق‌سازی نمونه‌ها از آب مقطر استفاده شد. برای سنجش فعالیت آنزیم پروتئاز، از روش آنسون (Anson, 1938) استفاده شد. دراین روش، از پودر هموگلوبین به عنوان سوبسترا استفاده شد. هموگلوبین در آب مقطر حل شده و سپس با اسیدکلریدریک ۰/۳ نرمال رقیق گردید؛ برای رقیق‌سازی نمونه از اسیدکلریدریک ۰/۰۱ نرمال استفاده گردید.

بررسی فلور میکروبی روده: ضدعفونی سطح شکمی ماهیان با الکل اتانول۷۰٪ انجام شد. در مرحله بعد، شکم ماهیان در شرایط استریل شکافته شده و روده آن‌ها پس از تخلیه محتویات توسط سرم فیزیولوژی سه بار مورد شستشو قرار گرفت. پس از توزین روده در داخل ظروف استریل، سرم فیزیولوژی جهت تهیه رقت مورد نظر به آن اضافه شده و پس از تهیه رقت‌های مورد نظر در مراحل بعدی، ۱/ ۰ میلی‌لیتر از هر رقت روی محیط‌های کشت TSA و MRS آگار به صورت سطحی کشت داده شدند. سپس پلیت‌ها در دمای ۳۰-۳۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸-۷۲ ساعت انکوبه شده و پس از شمارش کلنی‌ها، تعداد آن‌ها در عکس ضریب رقیق‌سازی ضرب شده و در آخر بر اساس CFU بر گرم روده گزارش شدند. در این مطالعه پلیت‌هایی قابل شمارش در نظر گرفته شدند که تعداد کلنی آن‌ها بین ۳۰۰-۳۰ عدد بود (Willey *et al*., 2008; Gabriel, 2005; Gabriel *et al*., 2005).

نمونه‌برداری از روده به منظور برسیی‌های بافت-شناسی: از هر کدام از تیمارها نمونه‌برداری روده انجام گرفت. بچه ماهیان ابتدا با استفاده از عصاره گل میخک (۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) بیهوش و کشته شدند. سپس، بلافاصله پس از باز کردن محوطه شکمی، روده و کبد آن-ها خارج شد. سپس، نمونه‌های بافتی در فرمالین۱۰ ٪ جهت ثبوت غوطه‌ور و مراحل آماده‌سازی و پاساژ بافتی، آبگیری، شفاف‌سازی و غوطه‌ورسازی در پارافین صورت گرفت. در مرحله نهایی، قالب‌های پارافینی تهیه و با استفاده از میکروتوم، برش‌های ۶-۵ میکرومتری از قالب‌ها تهیه و گسترش بافتی نیز آماده گردید. سپس، نمونه‌ها به وسیله هماتوکسیلین-ائوزین و تری کروم ماسون رنگ آمیزی شدند (Takashima *et al*., 2005; Takashima *et al*., 2020).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها: این آزمایش در یک طرح کاملا تصادفی انجام شد. داده‌های به دست آمده جهت بررسی نرمالیتی با استفاده از آزمون کولوموگروف اسمیرنوف بررسی شدند. سپس، با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون دانکن (جهت مقایسه میانگین‌ها) درسطح اطمینان ۹۵ درصد در نرم افزار SPSS-21 داده‌ها مورد تجزیه و تحلیل قرارگرفتند.

۳ | نتایج

آنزیم‌های گوارشی در ماهیان آزاد تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی: نتایج به دست آمده از بررسی آنزیم‌های گوارشی در جدول ۳ آورده شده است. نتایج نشان داد که بیشترین میزان آنزیم‌های گوارشی شامل: آمیلاز، لیپاز و پروتئاز در تیمار یک یعنی گروه تغذیه شده با ۲ گرم سین‌بیوتیک دی‌پروپلاس ثبت شد که به طور معنی‌داری با گروه شاهد اختلاف معنی‌دار داشت ($p < ۰/۰۵$).

براساس نتایج شکل ۱ کمترین میزان باکتری اسیدلاکتیک (LAB) و تعداد کل باکتری‌های روده (TVC) به طور معنی‌داری در گروه شاهد وجود داشت ($p < ۰/۰۵$). نتایج نشان داد در تیمارهایی که سلنیوم آلی را به میزان ۴ میلی‌گرم دریافت کرده بودند، تعداد

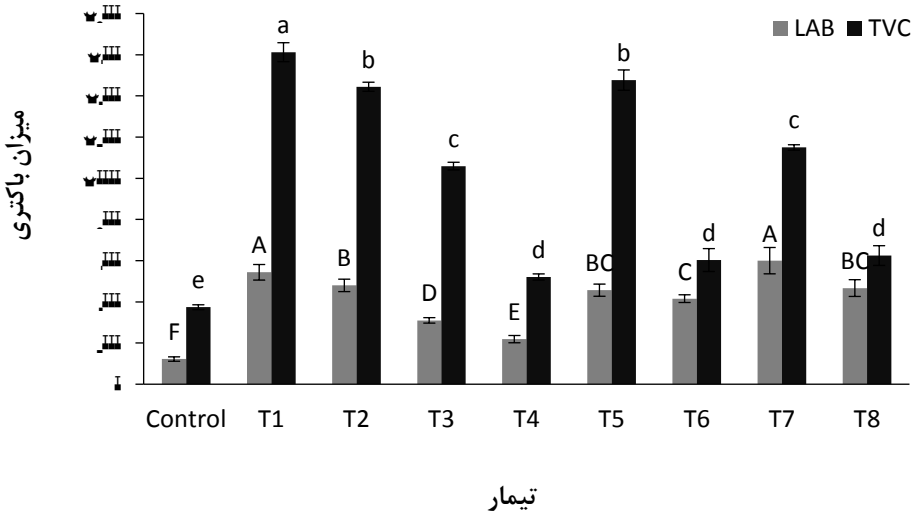
[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-07-11]

باکتری‌های اسیدلاکتیک و باکتری‌های کل در مقایسه با سایر تیمارها کم‌تر بود($p < ۰/۰۵$).

جدول ۳- مقایسه میانگین آنزیم‌های گوارشی در ماهیان آزاد دریای خزر تغذیه شده با سطوح مختلف سلنیوم آلی و سین‌بیوتیک دی‌پروپلاس به مدت ۸هفته.

Digestive enzymes	Control	Treatments							
		T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
Amylase (units/kg)	255.33± 1.45^{g}	440.33±0. 88^{a}	324.66±1. 33^{e}	393.33 ±1.76^{c}	314.33±1. 20^{f}	307.00±1. 15^{b}	316.33±0. 88^{f}	391.66± 0.88^{c}	353.33±0. 888^{d}
lipase (unit/kg)	65.67±0 .88^{c}	80.33±0.8 8^{a}	68.33±0.6 7^{c}	80.33± 0.88^{a}	66.67±0.3 3^{c}	74.67±0.8 8^{b}	68.67±1.6 7^{c}	83.00±0. 58^{a}	77.00±1.1 5^{b}
Protease (unit/kg)	93.67±0 .88^{e}	123.33±0. 88^{a}	100.33±0. 67^{d}	118.00 ±1.15^{b}	94.67±0.3 3^{e}	114.67±0. 88^{c}	101.67±0. 67^{d}	120.67± 1.20^{ab}	113.33±1. 76^{c}

- **حروف لاتین غیر همنام در هر ردیف تفاوت معنی دار را نشان می‌دهد ($p < ۰/۰۵$).**
- Control: جیره‌ی پایه (بدون افزودنی‌های آزمایشی)، T1: ۲ گرم در کیلوگرم جیره سین‌بیوتیک دی‌پروپلاس، T2: ۳ گرم در کیلوگرم جیره سین‌بیوتیک دی‌پروپلاس ، T3: ۲ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره سلنیوم آلی، T4: ۴ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره سلنیوم آلی، T5: تلفیق ۲ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره سلنیوم آلی و ۲ گرم در کیلوگرم جیره سین‌بیوتیک دی‌پروپلاس، T6: تلفیق ۴ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره سلنیوم آلی و ۲ گرم در کیلوگرم جیره سین‌بیوتیک دی‌پروپلاس، T7: تلفیق ۲ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره سلنیوم آلی و ۳ گرم در کیلوگرم جیره سین‌بیوتیک دی‌پروپلاس و T8: تلفیق ۴ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره سلنیوم آلی و ۳ گرم در کیلوگرم جیره سین‌بیوتیک دی‌پروپلاس.



شکل ۱- میانگین فلور باکتریایی روده در ماهیان آزاد دریای خزر تغذیه شده با سطوح مختلف سلنیوم آلی و سین‌بیوتیک دی‌پروپلاس به مدت ۶۰ روز. حروف لاتین غیر همنام در هر ستون تفاوت معنی دار را نشان می‌دهد ($p < ۰/۰۵$).

LAB= **باکتری‌های اسید لاکتیک کشت داده شده در محیط کشت** MRS **آگار**، TVC= **تعداد کل باکتری‌های کشت داده شده در محیط کشت** TSA

- Control: جیره‌ی پایه (بدون افزودنی‌های آزمایشی)، T1: ۲ گرم در کیلوگرم جیره سین‌بیوتیک دی‌پروپلاس، T2: ۳ گرم در کیلوگرم جیره سین‌بیوتیک دی‌پروپلاس ، T3: ۲ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره سلنیوم آلی، T4: ۴ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره سلنیوم آلی، T5: تلفیق ۲ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره سلنیوم آلی و ۲ گرم در کیلوگرم جیره سین‌بیوتیک دی‌پروپلاس، T6: تلفیق ۴ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره سلنیوم آلی و ۲ گرم در کیلوگرم جیره سین‌بیوتیک دی‌پروپلاس، T7: تلفیق ۲ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره سلنیوم آلی و ۳ گرم در کیلوگرم جیره سین‌بیوتیک دی‌پروپلاس و T8: تلفیق ۴ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره سلنیوم آلی و ۳ گرم در کیلوگرم جیره سین‌بیوتیک دی‌پروپلاس.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-07-11]

نتایج حاصل از بررسی بافت‌شناسی روده در ماهیان آزاد دریای خزر تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی: نتایج اثرات استفاده مجزا و ترکیبی سلنیوم آلی و سین‌بیوتیک دی‌پروپلاس شاخص‌های بافت‌شناسی روده ماهی آزاد دریای خزر در جدول ۴ نشان داده شده است. بر اساس نتایج مشخص گردید که در ارتفاع پرز روده بین گروه شاهد با تیمار ۲، ۴ و ۷ اختلاف معناداری مشاهده نشد (p > ۰/۰۵). همچنین، زمانی‌که ۲ گرم سین‌بیوتیک به تنهایی و همراه با ۲ میلی‌گرم سلنیوم آلی به ازای کیلوگرم جیره به غذای ماهی آزاد دریای خزر اضافه شد، به طور معناداری کمترین میزان ارتفاع پرز روده مشاهده شد (p < ۰/۰۵). ولی ارتفاع پرز در تیمارهای ۳، ۶ و ۸ در مقایسه با سایر تیمارها بالاتر بود؛ اگرچه، این شاخص در سه تیمار مذکور با تیمار ۲ اختلاف معنادار نداشت (۰/۰۵ < p). از سویی دیگر، عرض اپیتلیوم پرز نیر در تیمار ۱ (۲ گرم سین‌بیوتیک در کیلوگرم غذا بدون افزودن سلنیوم آلی) در مقایسه با گروه شاهد و سایر تیمارها به‌طور معناداری کمتر بود (p < ۰/۰۵). با این‌حال، عرض اپیتلیوم پرز در تیمار ۷ (۳ گرم سین‌بیوتیک و ۲ میلی‌گرم سلنیوم آلی به ازای کیلوگرم غذا) در بیشترین مقدار حود قرار داشت که بجز تیمارهای ۲، ۶ و ۸ با سایر گروه‌ها (شاهد، ۱، ۳، ۴ و ۵) اختلاف معناداری داشت (۰/۰۵ > p). در تیمار ۲ (۳ گرم سین‌بیوتیک به ازای کیلوگرم غذا بدون افزودن سلنیوم آلی) و ۶ (۲ گرم سین‌بیوتیک و ۴ میلی‌گرم سلنیوم آلی به ازای کیلوگرم غذا) عرض پرز روده در مقایسه با سایر گروه‌ها بیشتر بود، اگرچه، این افزایش در دو تیمار مذکور بجز دو گروه شاهد و تیمار ۱ (۲ گرم سین‌بیوتیک در کیلوگرم غذا بدون افزودن سلنیوم آلی)، با سایر تیمارها معنادار نبود (۰/۰۵ < p). بیشترین عرض لامیناپروپریا در تیمار ۲ (۳ گرم سین‌بیوتیک به ازای کیلوگرم غذا بدون افزودن سلنیوم آلی) مشاهده شد که به‌طور معناداری با گروه شاهد و سایر تیمارها اختلاف داشت (۰/۰۵ > p). اگرچه، بین گروه شاهد و سایر تیمارها این اختلاف معنادار نبود (۰/۰۵ < p). در تیمار ۷ (۳ گرم سین‌بیوتیک و ۲ میلی‌گرم سلنیوم آلی به ازای کیلوگرم غذا) بیشترین ضخامت زیر مخاط مشاهده شد که با تمام گروه‌ها بجز تیمار ۱ (۲ گرم سین‌بیوتیک به ازای ۱ کیلو گرم غذا، بدون افزودن سلنیوم آلی) اختلاف معنادار داشت (۰/۰۵ > p). ضخامت لایه ماهیچه‌ای در بافت روده ماهیان آزاد دریای خزر تنها در تیمار ۷ (۳ گرم سین‌بیوتیک و ۲ میلی‌گرم سلنیوم آلی به ازای کیلوگرم غذا) با گروه شاهد و سایر تیمارها اختلاف معناداری نشان داد (۰/۰۵ > p).

جدول ۴- مقایسه میانگین شاخص‌های بافت‌شناسی روده در ماهیان آزاد دریای خزر تغذیه شده با سطوح مختلف سلنیوم آلی و سین‌بیوتیک دی-پروپلاس به مدت ۸ هفته.

Digestive enzymes	Control	Treatments							
		T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
villi height (**µm**)	460.42±25.42^{bc}	291.47±17.28^{d}	506.46±16.33^{ab}	559.72±32.72^{a}	445.92±28.89^{bc}	348.94±24.65^{d}	544.50±21.93^{a}	435.02±20.55^{c}	572.44±19.21^{a}
diameter of the villus (**µm**)	38.13±2.80^{c}	26.35±2.72^{d}	46.83±2.33^{ab}	39.03±2.96^{c}	38.54±2.10^{c}	40.15±1.60^{bc}	41.70±1.88^{abc}	47.81±2.12^{a}	46.98±2.07^{ab}
villi width (**µm**)	87.95±7.75^{b}	59.51±5.79^{c}	116.96±5.53^{a}	106.50±10.02^{ab}	100.59±6.36^{ab}	97.36±3.18^{ab}	109.44±4.97^{a}	102.83±3.31^{ab}	102.61±5.22^{ab}
lamina propria (**µm**)	11.64±1.34^{bc}	9.62±0.71^{bc}	18.22±1.03^{a}	18.81±4.04^{c}	7.56±0.42^{c}	9.86±0.50^{bc}	12.19±0.75^{bc}	12.93±1.83^{b}	12.44±0.68^{bc}
Submucosa thickness (**µm**)	67.03±2.26^{bc}	79.05±4.05^{ab}	47.97±2.54^{e}	44.34±3.67^{e}	56.32±2.47^{cde}	52.89±3.95^{de}	65.365±5.53^{cd}	81.60±7.33^{a}	57.55±4.87^{cde}
thick muscular layer (µm)	66.78±3.87^{b}	83.42±4.76^{a}	55.60±4.90^{b}	55.88±4.11^{b}	63.52±3.59^{b}	64.28±2.56^{b}	65.11±6.74^{b}	70.38±7.62^{ab}	67.62±5.04^{b}

- حروف لاتین غیر همنام در هر ردیف تفاوت معنی دار را نشان می‌دهد (۰/۰۵ > p).
- گروه شاهد: جیره‌ی پایه (بدون افزودنی‌های آزمایشی)، تیمار۱: ۲ گرم در کیلوگرم جیره سین‌بیوتیک دی‌پروپلاس، تیمار۲: ۳ گرم در کیلوگرم جیره سین‌بیوتیک دی‌پروپلاس ، تیمار۳: ۲ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره سلنیوم آلی، تیمار۴: ۴ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره سلنیوم آلی، تیمار۵: تلفیق ۲ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره سلنیوم آلی و ۲ گرم در کیلوگرم جیره سین‌بیوتیک دی‌پروپلاس، تیمار۶: تلفیق ۴ میلی-

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-07-11]

گرم در کیلوگرم جیره سلنیوم آلی و ۲ گرم در کیلوگرم جیره سین‌بیوتیک دی‌پروپلاس، تیمار۷: تلفیق ۲ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره سلنیوم آلی و ۳ گرم در کیلوگرم جیره سین‌بیوتیک دی‌پروپلاس و تیمار۸: تلفیق ۴ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره سلنیوم آلی و ۳ گرم در کیلوگرم جیره سین‌بیوتیک دی‌پروپلاس.

۴ | بحث و نتیجه‌گیری

ظرفیت هضم در روده‌های آبزیان به طور مستقیم به سه پارامتر مختلف بستگی دارد: ۱: نوع و مقدار رژیم غذایی مصرف شده توسط میزبان و حساسیت خوراک به اثرات آنزیم‌های گوارشی، ۲: فعالیت آنزیم‌های گوارشی، و ۳: مدت زمان قرار گرفتن مواد مغذی در معرض آنزیم‌های گوارشی (Ray *et al*., 2012). هر یک از این پارامترها تحت تأثیر چندین عامل ثانویه قرار دارند. این توانایی هضم را می‌توان به ویژگی‌های خاص پروبیوتیک‌ها نسبت داد که قادرند آنزیم‌های گوارشی خارج سلولی مختلف مانند آمیلاز، لیپاز، پروتئاز و آلکالین فسفاتاز در روده میزبان تولید کنند، همچنین، پروبیوتیک‌ها می‌توانند سیستم گوارشی میزبان را تحریک کنند و تولید آنزیم‌های گوارشی درون بدن میزبان را افزایش دهند (Mohammadi Arani *et al*., 2019). این تولیدات یعنی آنزیم‌های گوارشی بر رشد ماهی تأثیر مثبت می‌گذارد (Anson, 1938)، زیرا در حضور این آنزیم‌ها جذب مواد مغذی مختلف مانند پروتئین و لیپید به شدت افزایش می‌یابد (El- Haroun *et al*., 2006). نتایج حاصل از تحقیق حاضر نشان داد که بیشترین میزان آنزیم‌های گوارشی شامل: آمیلاز، لیپاز و پروتئاز در تیمار ۱ یعنی گروه تغذیه شده با ۲ گرم سین‌بیوتیک دی‌پروپلاس وجود داشت که به طور معنی‌داری با گروه شاهد اختلاف معنی‌دار داشت. در این تحقیق، میزان آنزیم‌های گوارشی در هیچ کدام از تیمارهای آزمایشی کمتر از گروه شاهد گزارش نشد. در همین راستا، می‌توان به تحقیقات انجام شده در ارتباط با استفاده از سلنیوم (Adineh *et al*., 2021; Cerezuela *et al*., 2011; Çiçek *et al*., 2021; Dawood *et al*., 2020; Deilamy Pour *et al*., 2021; Ibrahim *et al*., 2021; Iijima *et al*., 1998) و سین‌بیوتیک روی آنزیم‌های گوارشی برخی از گونه‌ها اشاره کرد (Khan *et al*., 2017; Akter *et al*., 2016; Das *et al*., 2017; Dehaghani *et al*., 2015; Kumar *et al*., 2018; Wang *et al*., 2017; Willey *et al*., 2008). در توافق با نتیجه مطالعه حاضر، در هیچ کدام از تحقیقات مذکور نیز، میزان فعالیت آنزیم‌های گوارشی از گروه شاهد کمتر نبود. از سویی دیگر، تحقیقات نشان داد که با ارزیابی فعالیت آنزیم‌های گوارشی به عنوان یک شاخص بالینی و فیزیولوژیک مهم می‌توان سلامت دستگاه گوارش و وضعیت تغذیه‌ای موجودات را رصد کرد، زیرا این آنزیم‌ها از طریق پیشبرد واکنش‌های بیوشیمیایی روی مواد غذایی، نقش مهمی در تأمین انرژی و متابولیت‌های حیاتی برای رشد، تکامل و دیگر فعالیت‌های زیستی ماهیان دارند (Gisbert *et al*., 2009). همچنین، سلنیوم به عنوان یک کوآنزیم در تولید و ساخت آنزیم‌های گوارشی عمل می‌کند و موجب افزایش فعالیت آن‌ها می‌شود (Shenkin, 2006). فعال شدن آنزیم‌های گوارشی قابلیت هضم مواد مغذی را افزایش داده و مواد مغذی بیشتری را برای جذب از طریق سلول‌های اپیتلیال روده آزاد می‌کند که در نهایت موجب افزایش رشد می‌گردد. به علاوه، از آن‌جایی که سلنیوم آلی و سین‌بیوتیک مورد استفاده در تحقیق حاضر فاقد هر گونه اثرات سوئی روی سلامت میزبان داشتند، بنابراین ممکن است بتوان چنین توجیه نمود که بدن در شرایط ایده‌آل توانست دارای بهترین عملکرد در ترشح و فعالیت آنزیم‌های گوارشی باشد. با این حال، شاید بتوان علت عدم ثبت اختلاف معنی‌دار در برخی از تیمارها و گروه شاهد را به عواملی چون اندازه ماهی، شرایط محیط پرورش، درجه حرارت آب و طریقه افزودن این مکمل‌ها به جیره نسبت داد (Khan *et al*., 2017).

دستگاه گوارش ماهی یکی از مسیرهای مهم برای ورود عوامل بیماری‌زا به بدن است. این موضوع مسلم است که دستگاه گوارش ماهی یک اکوسیستم پیچیده دارد و دارای تعداد زیادی از میکروارگانیسم‌ها می‌باشد. جمعیت‌های میکروبی روده ماهیان نسبت به محیط آبی اطراف آن‌ها بسیار بیشتر می‌باشند. این موارد نشان دهنده آن است که روده جایگاه‌های اکولوژیکی مناسبی را برای این جمعیت میکروبی فراهم می‌آورد (Huber *et al*., 2004). در واقع، شرایط روده به گونه‌ای است که علاوه براین که وظایف هضمی و جذبی را برای تعادل آب و الکترولیت‌های بدن

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-07-11]

انجام می‌دهد، کار تنظیم هورمونی، متابولیسم و ایمنی بدن نیز تابع شرایط موجود در روده است و بنابراین حفظ تعادل روده ضروری و حیاتی است (Denev *et al.*, 2009). در این میان، میکروبیوتای روده یک عامل دفاعی در برابر باکتری‌های بیماری‌زاست (Merrifield *et al.*, 2011)، اگرچه که این عامل به تنهایی توانایی مقابله در برابر عوامل بیماری‌زا را ندارد. فلور میکروبی ماهی به واسطه تراکم بالای جمعیتی دارای برهم‌کنش‌های متنوع و پیچیده است و با وجود آنکه تمام گروه‌های اصلی میکروب-ها در این بخش وجود دارند، اما باکتری‌ها غالب هستند. به عبارت دیگر، باکتری‌ها اجزاء اصلی فلور میکروبی روده در ماهیان محسوب می‌گردند (Pond *et al.*, 2006; Spanggaard *et al.*, 2000). نتایج به دست آمده از بررسی فلور میکروبی روده ماهیان آزاد تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی نشان داد که کمترین میزان باکتری اسیدلاکتیک و تعداد کل باکتری‌های روده به طور معنی-داری در گروه شاهد وجود داشت. تحقیقات نشان داد که یکی از روش‌های بهبود مناسب جمعیت میکروبی آبزیان از طریق دستکاری جمعیت باکتری در میزبان، اضافه کردن پروبیوتیک‌ها به خصوص لاکتوباسیل‌ها و باسیلوس‌ها به آب محیط پرورشی آبزیان و تلفیق با برخی از ترکیبات طبیعی و مصنوعی مانند پری‌بیوتیک‌ها و ریز مغذی‌ها به جیره غذایی آبزیان می‌باشند (Ringoe and Birkbeck, 1999). در تحقیق حاضر، تیمارهایی که با سین‌بیوتیک به صورت مجزا تغذیه شده بودند و همچنین تیمارهایی که با سین‌بیوتیک و سلنیوم آلی به میزان ۲ میلی‌گرم تغذیه شده بودند، تعداد باکتری‌های بیشتری در مقایسه با سایر تیمارها داشتند و تیمارهایی که سلنیوم آلی را به میزان ۴ میلی‌گرم دریافت کرده بودند، تعداد باکتری‌های اسیدلاکتیک و باکتری‌های کل در مقایسه با سایر تیمارها کم‌تر بود. سلنیوم یک ریز مغذی با کاربری دوسویه است، یعنی اگرچه برای بدن بسیار ضروری و حیاتی است اما اگر در مقادیر بیشتر از حد نیاز بدن مصرف شود، اثرات مخرب و سمی روی میزبان می‌گذارد. مهم‌ترین قسمتی که سلنیوم روی آن اثر می‌گذارد، روده است. در واقع، سلنیوم با تاثیر روی روده می‌تواند روی فلور میکروبی آن به طور غیر مستقیم موثر باشد. (Takahashi *et al.*, 2020). احتمال می‌رود بتوان نتایج تحقیق حاضر را چنین توجیه نمود: سین‌بیوتیک موجود در جیره به دلیل ظرفیت بالای باکتری‌هایش به خاطر وجود سوبسترای مناسب، توانست فعالیت هضم مواد مغذی را به واسطه تولید ویتامین‌های خارج سلولی و کوفاکتورها از طریق بهبود فعالیت آنزیمی، ارتقا دهد (Gatesoupe, 1999)، از سویی دیگر، از آن‌جایی که سلنیوم یک کوفاکتور برای فعالیت آنزیمی محسوب می‌شود، زمانی که در مقادیر کمتر به کار برده شد، نتایج بهتری داشت. اگرچه که در تمام تیمارها نتایج در مقایسه با گروه شاهد به طور معنی-داری بهبود یافته بود، ولی در تیمارهایی که سطح کمتر سلنیوم وجود داشت، نتایج بهتر بود که ممکن است به خاطر خاصیت دوسویه بودن سلنیوم و یا تفاوت‌های درون گونه‌ای باشد (Lara-Flores *et al.*, 2003; Takahashi *et al.*, 2020). نتایج تحقیقات قاسم‌پور دهقانی و همکاران (Ghasempour Dehaqani *et al.*, 2012)، زکریایی و همکاران (Zakariaee *et al.*, 2022)، بیتا و سرحدی‌پور (Bita and Sarhadipour, 2018)، یه و همکاران (Ye *et al.*, 2011) در ارتباط با اثرات سودمند استفاده از سین‌بیوتیک‌ها و سلنیوم در میکروبیوتای روده برخی از گونه‌ها در تطابق با نتایج تحقیق حاضر می‌باشد.

دستگاه گوارش در تمام موجودات اندامی پشتیبان است، از این‌رو برای افزایش بازده هضم وجذب مواد مغذی و فراهم نمودن نیاز اندام‌هایی از جمله ماهیچه‌ها در آغاز زندگی توسعه چشمگیری یافته است (Sell *et al.*, 1991). مطالعات بافت‌شناسی ثابت کرد که بافت دیواره روده کوچک از قسمت‌های مختلفی تشکیل گردیده است. داخلی‌ترین لایه آن بافت مخاطی است. این لایه از پرزها تشکیل می‌گردد. پرزهای روده از نظر شکل و اندازه به‌طور قابل توجهی در هر بخش روده متفاوتند (Hampson and Kidder, 1986). به طورکلی، مطالعه دستگاه گوارش آبزیان سبب فهم عمیق‌تر ما از نحوه گوارش، هضم و جذب غذا در بدن آن‌ها می‌گردد. آگاهی از چگونگی فعالیت روده و لایه‌های سطحی آن می‌تواند در پی بردن به قدرت هضم دستگاه گوارش ماهیان مؤثر باشد (Sediqi *et al.*, 2018). از آن‌جایی که سطح روده دارای پرزهای فراوانی است که بتواند سطح جذب روده‌ای را تا چندین برابر افزایش دهد و به حرکت غذا در روده کمک کند، بررسی این شاخص بافتی بسیار حائز اهمیت است

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-07-11]

(Kozarić *et al*., 2008). همچنین، با در نظر گرفتن نقش مؤثر پرزها در گوارش و جذب مواد مغذی، بررسی روند تغییرات دستگاه گوارش و غدد ضمیمه در قسمت روده دارای اهمیت خاصی است (Sepherfar *et al*., 2019). از عوامل مؤثر بر مورفولوژی روده می‌توان به نوع رژیم غذایی، دفعات خوردن غذا، اندازه و شکل بدن رااشاره کرد (Domeneghini *et al*., 1999). تحقیقات نشان داد که می‌توان از مکمل‌های غذایی علاوه بر افزایش رشد و کارایی مصرف جیره، جهت تحریک و بهبود سیستم ایمنی نیز استفاده کرد. در تحقیق حاضر، استفاده از دو مکمل غذایی سین‌بیوتیک دی‌پروپلاس و سلنیوم آلی مورد بررسی قرار گرفت. در این بررسی چند شاخصه بافت‌شناسی شامل: ارتفاع پرز، عرض پرز، عرض اپیتلیوم پرز، عرض لامیناپروپریا، ضخامت زیر مخاط و ضخامت لایه ماهیچه‌ای مورد ارزیابی بافت‌شناسی قرار گرفته است. بر اساس نتایج به دست آمده مشخص گردید زمانی‌که ۲ گرم سین‌بیوتیک به تنهایی و همراه با ۲ میلی‌گرم سلنیوم آلی به ازای کیلوگرم جیره به غذای ماهی آزاد دریای خزر اضافه شد، به طور معنادار کمترین ارتفاع و عرض پرز و عرض اپیتلیوم پرز روده را داشت. انواع سین‌بیوتیک‌ها و عناصر کمیاب جزو مکمل‌های غذایی مورد استفاده در جیره آبزیان می‌باشند که با مکانیسم‌هایی سبب افزایش ارتفاع پرز در بافت روده می‌شوند. این مکمل‌ها با اثرگذاری بر افزایش تولید و ترشح اسیدهای چرب کوتاه زنجیره در روده، باعث تأمین انرژی مورد نیاز سلول‌های اپتلیال روده می‌گردد (Papina *et al*., 2003). در نتیجه این تأمین نیاز انرژی باعث افزایش طول و عرض پرزها در روده می‌شود. در تحقیق حاضر، کاهش ارتفاع و عرض پرز در تیمار ۱ در مقایسه با سایر تیمارها را شاید بتوان به اختلافات فردی و میزان دریافت مکمل نسبت داد. زیرا به طور معمول، پری‌بیوتیک‌ها با تأثیر بر مخاط روده به طور مستقیم و همچنین پروبیوتیک‌ها به طور غیر مستقیم سبب این تحریکات می‌شوند. پروبیوتیک‌ها نیز با فعالیت خود سبب تولید اسیدهای چرب کوتاه زنجیره می‌گردند. در فعالیت پروبیوتیک‌ها یکسری از آنزیم‌ها دخالت دارند که عناصر کمیاب مانند سلنیوم به عنوان کوفاکتور آن‌ها ممکن است این امر را تسهیل بخشند. در این راستا سپهرفر و همکاران (Sepherfar *et al*., 2019) گزارش کردند که استفاده مجزا و تلفیقی پروبیوتیک پدیوکوکوس اسیدلاکتیکی و پربیوتیک رافینوز اگرچه باعث افزایش ارتفاع و عرض پرزها در گروه تغذیه شده با سین‌بیوتیک شد، ولی این اختلاف معنادار نبود که ممکن بود با افزایش میزان مکمل‌های مصرفی اختلاف دو شاخص مذکور معنادار می‌شد. در تحقیق حاضر نیز همان‌طور که مشاهده شد با افزایش میزان مصرف سین‌بیوتیک و سلنیوم آلی نیز ارتفاع و عرض پرز نیز بیشتر شد.

لامینا پروپریا ممکن است سرشار از شبکه‌های عروقی، عروق لنفاوی، الیاف الاستیک و عضلات صاف باشد. انتهای عصب وابران و آوران را می‌توان در لامینا پروپریا نیز یافت. سلول‌های ایمنی و همچنین بافت لنفاوی از جمله ندول-های لنفاوی و مویرگ‌ها ممکن است وجود داشته باشد. فیبرهای عضلانی صاف ممکن است در لایه بینی برخی از بافت‌ها مانند ویلی روده قرار داشته باشد. عروق لنفاوی به مخاط نفوذ می‌کنند و در زیر غشای اپیتلیوم قرار می-گیرند، از آنجا لامینا پروپریا را تخلیه می‌کنند. میوفیبروبلاست‌ها در لامینا پروپریا به عنوان یک عامل بسیار مهم در پاسخ به التهاب و ترمیم زخم‌ها هستند. میوفیبروبلاست‌ها می‌توانند در پاسخ به استرس، سایتوکین‌ها و شیمیوکین‌ها را آزاد کنند. همچنین، ظرفیت انقباضی آن‌ها می‌تواند به جمع شدن بافت در مکانیسم ترمیم زخم کمک کند (Powell *et al*., 2011; Niess and Reinecker, 2005). در تحقیق حاضر، زمانی که از سلنیوم آلی به تنهایی در جیره غذایی استفاده شد، عرض لامینا پروپریا در مقایسه با تمام تیمارها و گروه شاهد کم‌تر بود؛ ممکن است این موضوع به این دلیل باشد که سلنیوم آلی دارای اثرات سمی بوده ولی، سین‌بیوتیک توانست این اثر سمی را در تیمارهایی که هر دو مکمل را به طور همزمان (تیمار ۵ تا ۸) و یا تیمارهایی که سین-بیوتیک را به تنهایی دریافت کرده بودند (تیمار ۱ و ۲)، خنثی کند؛ همانطور که در تیمار ۲ (۳ گرم سین‌بیوتیک به ازای کیلوگرم جیره تجاری) مشاهده می‌شود بیشترین میزان عرض این لایه در این تیمار وجود داشت؛ که این افزایش ممکن است بتواند در افزایش ایمنی به دلیل ماهیت لامیناپروپریا کمک شایانی کند. در همین راستا، Torrecillas و همکاران (Torrecillas *et al*., 2018) گزارش کردند که ماهی باس دریایی در تیمارهایی که با جیره‌های مکمل‌سازی شده با MOS و *P. acidilactici* تغذیه شده بودند، روندی برای واکنش‌پذیری بیشتر

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-07-11]

لایه‌های پروپریا و زیرمخاط در مقایسه با گروه شاهد نشان دادند که ممکن است این موضوع نشان‌دهنده تغییرات در جمعیت‌های لکوسیت‌های این لایه باشد که به تغییرات ترکیب میکروبیوتا مربوط می‌شود که با نتیجه حاصل از تحقیق حاضر مطابقت دارد.

برمبنای مطالعات انجام شده، مجرای گوارشی ماهیان شامل چهار لایه اصلی مخاط، زیرمخاط، عضلانی یا ماهیچه‌ای و سروزی می‌باشد (Banan Khojasteh, 2012; El-Bakary *et al*., 2010). نتایج تحقیق حاضر نشان داد که بیشترین ضخامت لایه زیر مخاط در تیمار ۷ (۲ میلی‌گرم سلنیوم آلی و ۳ گرم سین‌بیوتیک دی-پروپلاس به ازای کیلوگرم جیره) در مقایسه با ساز تیمارها و گروه شاهد بیشتر است. اگرچه، این اختلاف با تیمار دریافت کننده ۲ میلی‌گرم سین‌بیوتیک به ازای کیلوگرم جیره (تیمار ۱) معنادار نبود. همچنین، بین تیمار ۱ و گروه شاهد نیز اختلاف معناداری مشاهده نشد. با این حال، بین سایر تیمارها با یکدیگر در این شاخص اختلاف معناداری مشاهده نشد. همچنین، بیشترین ضخامت لایه ماهیچه‌ای نیز به طور معناداری در تیمار ۱ (۲ میلی‌گرم سین‌بیوتیک دی‌پروپلاس به ازای کیلوگرم جیره) مشاهده شد که با گروه شاهد و تمام تیمارها بجز تیمار ۷ (۲ میلی‌گرم سلنیوم آلی و ۳ گرم سین‌بیوتیک دی‌پروپلاس به ازای کیلوگرم جیره) اختلاف معنادار نداشت. تاثیر بهبود ساختار بافتی روده به لحاظ ریخت‌شناسی در عملکرد دستگاه گوارش و متعاقبا افزایش رشد و ایمنی امری بدیهی است. در مطالعات آبزیان، بررسی پرزها و چین‌های مخاطی شاخص‌هایی برای بیان توانایی جذب محسوب می‌گردند. از سویی دیگر، مشاهده گردید که در یک مطالعه افزایش ضخامت ریز پرزهای روده‌ای سبب بهبود فاکتورهای رشد در ماهی تیلاپیا شد (Dawood *et al*., 2021)؛ زیرا این شاخص‌ها با افزایش خود تاثیر نهایی را بر عملکرد رشد می‌گذارند. با این وجود، یک فاکتور را به تنهایی نمی‌توان بررسی کرد و تمامی شاخص‌های مربوط به یک سنجش را در کنار یکدیگر باید مور ارزیابی قرار داد. به طورکلی، بهترین نتیجه حاصل از بررسی‌های بافت‌شناسی روده در گروه‌هایی مشاهده شد که سین‌بیوتیک را به تنهایی و یا همراه با سلنیوم آلی دریافت کرده بودند؛ زیرا احتمال می‌رود که سلنیوم آلی اثر دو جانبه (مثبت و منفی) داشته و زمانی‌که در تیمارها همراه با سین‌بیوتیک دریافت شد، سین‌بیوتیک توانست اثرات منفی و سمی این ریزمغذی را کاهش دهد. بنابراین، می‌توان نتیجه گرفت که استفاده توأم این دو مکمل خوراکی دارای اثرات مثبت روی مورفولوژی روده ماهی آزاد دریای خزر بوده است. در تحقیق حاضر، بهترین نتیجه در تیمار ۶ مشاهده شد؛ بنابراین احتمال می‌رود بتوان استفاده همزمان ۴ میلی‌گرم سلنیوم آلی و ۲ گرم سین‌بیوتیک دی‌پروپلاس در جیره غذایی ماهی آزاد دریای خزر را به عنوان مکمل رشد و ایمنی توصیه کرد. با این حال، تحقیقات بیشتری در سطوح مولکولی برای اثبات این موضوع ضرورت دارد.

۵| ملاحظات اخلاقی

موردی توسط نویسندگان گزارش نشده است.

EFERENCES

Adineh, H., Naderi, M., Nazer, A., Yousefi, M. and Ahmadifar, E., 2021. Interactive effects of stocking density and dietary supplementation with Nano selenium and garlic extract on growth, feed utilization, digestive enzymes, stress responses, and antioxidant capacity of grass carp, *Ctenopharyngodon idella*. Journal of the World Aquaculture Society, 52(4), pp.789-804. doi.org/10.1111/jwas.12747

Ai, Q., Xu, H., Mai, K., Xu, W., Wang, J. and Zhang, W., 2011. Effects of dietary supplementation of *Bacillus subtilis* and fructooligosaccharide on growth performance, survival, non-specific immune response and disease resistance of juvenile large yellow croaker, *Larimichthys crocea*. Aquaculture, 317(1-4), pp.155-161. doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.04.036

Akter, M., Sutriana, A., Talpur, A.D. and Hashim, R., 2016. Dietary supplementation with mannan oligosaccharide influences growth, digestive enzymes, gut morphology, and microbiota in juvenile striped catfish, *Pangasianodon hypophthalmus*. Aquaculture international, 24(1), pp.127-144. doi.org/10.1007/s10499-015-9913-8

Anson, M.L., 1938. The estimation of pepsin, trypsin, papain, and cathepsin with hemoglobin. The Journal of general physiology, 22(1), p.79. doi.org/10.1085/jgp.22.1.79

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-07-11]

Banan Khojasteh, S.M., 2012. The morphology of the post-gastric alimentary canal in teleost fishes: a brief review. Int. J. of Aquatic Science, 3(2), pp.71-88. https://www.journal-aquaticscience.com/article_73560.html

Bernfeld, P., 1955. [17] Amylases, α and β. Methods in Enzymology.1, pp. 149-158. doi.org/10.1016/0076-6879(55)01021-5

Bita, S. and Sarhadipour, A. 2018. The effect of Biomin Imbo synbiotic supplementation on the changes of enzymes involved in antioxidant defense, digestion and intestinal microbial population of gray mullet fish. Aquatic Nutrition, 5(1), pp. 111-122. doi.org/10.22124/janb.2020.15009.1077

Carnevali, O., de Vivo, L., Sulpizio, R., Gioacchini, G., Olivotto, I., Silvi, S. and Cresci, A., 2006. Growth improvement by probiotic in European sea bass juveniles (*Dicentrarchus labrax*, L.), with particular attention to IGF-1, myostatin and cortisol gene expression. Aquaculture, 258(1-4), pp.430-438. doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.04.025

Cerezuela, R., Meseguer, J. and Esteban, M.A., 2011. Current knowledge in synbiotic use for fish aquaculture: a review. Journal of Aquaculture Research & Development S, 1, pp.1-7. doi.org/10.4172/2155-9546.S1-00

Çiçek, S. and Özoğul, F.A.T.İ.H., 2021. Effects of selenium nanoparticles on growth performance, hematological, serum biochemical parameters, and antioxidant status in fish. Animal Feed Science and Technology, 281, p.115099. doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2021.115099

Das, S., Mondal, K. and Haque, S., 2017. A review on application of probiotic, prebiotic and synbiotic for sustainable development of aquaculture. Growth, 14, p.15.

Dato-Cajegas, C. R. S. and Yakupitiyage, A., 1996. The need for dietary mineral supplementation for Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, cultured in a semi-intensive system. Aquaculture, 144(1-3), pp.227-237. doi.org/10.1016/S0044-8486 (96)01292-6

Dawood, M.A., Eweedah, N.M., Moustafa, E.M. and Shahin, M.G., 2020. Synbiotic effects of *Aspergillus oryzae* and β-glucan on growth and oxidative and immune responses of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*. Probiotics and antimicrobial proteins, 12(1), pp.172-183. doi.org/10.1007/s12602-018-9513-9

Dawood, M.A., Basuini, M.F.E., Yilmaz, S., Abdel-Latif, H.M., Kari, Z.A., Abdul Razab, M.K.A., Ahmed, H.A., Alagawany, M. and Gewaily, M.S., 2021. Selenium nanoparticles as a natural antioxidant and metabolic regulator in aquaculture: A review. Antioxidants, 10(9), p.1364. doi.org/10.3390/antiox10091364

Deilamy Pour, H., Mousavi, S.M., Zakeri, M., Keyvanshokooh, S. and Kochanian, P., 2021. Synergistic effects of selenium and magnesium nanoparticles on growth, digestive enzymes, some serum biochemical parameters and immunity of Asian sea bass (*Lates calcarifer*). Biological Trace Element Research, 199(8), pp.3102-3111. doi.org/10.1007/s12011-020-02421-3

Dehaghani, P.G., Baboli, M.J., Moghadam, A.T., Ziaei-Nejad, S. and Pourfarhadi, M., 2015. Effect of synbiotic dietary supplementation on survival, growth performance, and digestive enzyme activities of common carp (*Cyprinus carpio*) fingerlings. Czech Journal of Animal Science, 60(5), pp.224-232. doi.org/10.17221/8172-CJAS

Denev, S., Beev, G., Staykov, Y. and Moutafchieva, R., 2009. Microbial ecology of the gastrointestinal tract of fish and the potential application of probiotics and prebiotics in finfish aquaculture. International aquatic research, 1(1), p.1. https://journals.iau.ir/article_673235.html

Domeneghini, C., Arrighi, S., Radaelli, G., Bosi, G. and Mascarello, F., 1999. Morphological and histochemical peculiarities of the gut in the white sturgeon, *Acipenser transmontanus*. European Journal of Histochemistry: EJH, 43(2), pp.135-145.

El-Haroun, E.R., Goda, A.S. and Kabir Chowdhury, M.A., 2006. Effect of dietary probiotic Biogen® supplementation as a growth promoter on growth performance and feed utilization of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (L.). Aquaculture research, 37(14), pp.1473-1480. doi.org/10.1111/j.1365-2109.2006.01584.x

El-Bakary, N.E.R., and El-Gammal, H.L., 2010. Comparative histological, histochemical and ultrastructural studies on the proximal intestine of flathead grey mullet (*Mugil cephalus*) and sea bream (*Sparus aurata*), Journal of Sciences, 8(4), pp. 477-485.

Gabriel, Y., 2005. Glass cages and glass palaces: Images of organization in image-conscious times. Organization, 12(1), pp.9-27. doi.org/10.1177/1350508405048

Gabriel, I., Mallet, S. and Sibille, P., 2005. Digestive microflora of bird: factors of variation and consequences on bird. INRA Prod Anim, 18, pp.309-22. https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/20063017767

Gatesoupe, F. J., 1999. The use of probiotics in aquaculture. Aquaculture. 180, pp.147-65. doi.org/10.1016/S0044-8486 (99)00187-8

Ghasempour Dehaqani, P., Javaheri Babli, M., Ziainejad, S., Tagvi Moghadam, A., and Porhadi, M., 2012. Investigating the effect of Biomin Imbo synbiotic food supplement as a food supplement on growth performance, survival and intestinal bacterial flora of common carp (*Cyprinus carpio*). Aquaculture Development Journal, 7(3), pp.43-52. doi.org/10.17221/8172-CJAS

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-07-11]

Gisbert, E., Giménez, G., Fernández, I., Kotzamanis, Y. and Estévez, A., 2009. Development of digestive enzymes in common dentex *Dentex dentex* during early ontogeny. Aquaculture, 287, pp. 381- 387. doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.10.039

Hatami, A., Paknejad, H. and Sudagar, M., 2020. Effect of Dietary Supplemented Biotronic Top3 on Growth Indices, Mucus and Blood Serum Immunity and the Expression of Growth-Related Genes (GH, Ghrelin, IGF-1) in Persian Sturgeon (*Acipenser persicus*) . Animal physiology and development, 14(4):17-34.

Hamilton, S. J., 2004. Review of selenium toxicity in the aquatic food chain. Science of the Total Environment, 326(1-3), 1-31. doi.org/10.1016/j.scitotenv.2004.01.019

Hampson, D.J. and Kidder, D.E., 1986. Influence of creep feeding and weaning on brush border enzyme activities in the piglet small intestine. Research in veterinary science, 40(1), pp.24-31. doi.org/10.1016/S0034-5288 (18)30481-8

Harpaz, S., Eshel, A. and Lindner, P., 1994. Effect of 1-propanol on the activity of intestinal proteolytic enzymes of the European sea bass *Dicentrarchus labrax*. Journal of agricultural and food chemistry, 42(1), pp. 49-52. doi.org/10.1021/jf00037a007

Hosseinpour Zalti, A., Seyed Hosni, M. H., Adineh, H. and Sohrabi, T., 2021. Effect of selenium nanoparticle, microencapsulated vitamins C and E on growth performance, immune indices and liver enzymes of young farmed elephant fish (*Huso huso*). Scientific Journal of Iranian Fisheries, 30(6), pp. 111-125. doi.org/20.1001.1.10261354.1400.30.6.7.2

Huber, I., Spanggaard, B., Appel, K.F., Rossen, L., Nielsen, T. and Gram, L., 2004. Phylogenetic analysis and in situ identification of the intestinal microbial community of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum). Journal of applied microbiology, 96(1), pp.117-132. doi.org/10.1046/j.1365-2672.2003.02109.x

Ibrahim, M.S., El-gendy, G.M., Ahmed, A.I., Elharoun, E.R. and Hassaan, M.S., 2021. Nanoselenium versus bulk selenium as a dietary supplement: Effects on growth, feed efficiency, intestinal histology, haemato-biochemical and oxidative stress biomarkers in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1758) fingerlings. Aquaculture Research, 52(11), pp.5642-5655. doi.org/10.1111/are.15439

Iijima N., Tanaka S. and Ota Y., 1998. Purificationand characterization of bile salt-activated lipasefrom the hepatopancreas of red sea bream, Pagrusmajor. Fish physiology and Biochemistry, 18, pp. 59-69. doi.org/10.1023/A:1007725513389

Iqbal, S., Atique, U., Mahboob, S., Haider, M.S., Iqbal, H.S., Al-Ghanim, K.A., Al-Misned, F., Ahmed, Z. and Mughal, M.S., 2020. Effect of supplemental selenium in fish feed boosts growth and gut enzyme activity in juvenile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Journal of King Saud University-Science, 32(5), pp.2610-2616. doi.org/10.1016/j.jksus.2020.05.001

Khan, K.U., Zuberi, A., Fernandes, J.B.K., Ullah, I. and Sarwar, H., 2017. An overview of the ongoing insights in selenium research and its role in fish nutrition and fish health. Fish physiology and biochemistry, 43(6), pp.1689-1705. doi.org/10.1007/s10695-017-0402-z

Khara, H., Sayyadborani, M., SayyadBorani, M., 2016. Effects of α-tocopherol (vitamin E) and ascorbic acid (vitamin C) and their combination on growth, survival and some haematological and immunological parameters of Caspian brown trout, *Salmo trutta caspius* juveniles. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 16(2), pp. 385-393. DOI: 10.4194/1303-2712-v16_2_18

Kiabi, B. H., Abdoli, A. and Naderi, M., 1999. Status of the fish fauna in the South Caspian Basin of Iran. Zoology in the Middle East, 18, pp.57-65. doi.org/10.1080/09397140.1999.10637782

Kozarić, Z., Kužir, S., Petrinec, Z., Gjurčević, E. and Božić, M., 2008. The development of the digestive tract in larval European catfish (*Silurus glanis* L.). *Anatomia, histologia*, embryologia, 37(2), pp.141-146. doi.org/10.1111/j.1439-0264.2007.00812.x

Kumar, P., Jain, K.K., Sardar, P., Jayant, M. and Tok, N.C., 2018. Effect of dietary synbiotic on growth performance, body composition, digestive enzyme activity and gut microbiota in *Cirrhinus mrigala* (Ham.) fingerlings. Aquaculture nutrition, 24(3), pp.921-929. doi.org/10.1111/anu.12628

Lara-Flores, M., Olvera-Novoa, M.A., Guzmán-Méndez, B.E. and López-Madrid, W., 2003. Use of the bacteria *Streptococcus faecium* and *Lactobacillus acidophilus*, and the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as growth promoters in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Aquaculture, 216(1-4), pp.193-201. doi.org/10.1016/S0044-8486 (02)00277-6

Lee, C.S. and Donaldson. E.M., 2001. Reproductive Biotechnology in Finfish Aquaculture. Proceedings of a Workshop Hosted by the Oceanic Institute.Elzevier, p. 11.

Li, P. and Gatlin, D.M., 2003. Evaluation of brewer's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) as a feed supplement for hybrid Striped Bass (*Moronechry sops×M. saxatilis*). Aquaculture, 219, pp. 681–692.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-07-11]

doi.org/10.1016/S0044-8486 (02)00653-1
Merrifield, D.L., Olsen, R.E., Myklebust, R., Ringø, E. and El-Shemy, H., 2011. Dietary effect of soybean (*Glycine max*) products on gut histology and microbiota of fish. Soybean and nutrition, pp.231-250.
Mohammadi Arani, M., Salati, A.P., Safari, O. and Keyvanshokooh, S., 2019. Dietary supplementation effects of *Pediococcus acidilactici* as probiotic on growth performance, digestive enzyme activities and immunity response in zebrafish (*Danio rerio*). Aquaculture Nutrition, 25(4), pp.854-861. doi.org/10.1111/anu.12904
Niess, J.H. and Reinecker, H.C., 2005. Lamina propria dendritic cells in the physiology and pathology of the gastrointestinal tract. Current opinion in gastroenterology, 21(6), pp.687-691. doi.org/10.1097/01.mog.0000181710.96904.58
Oliva-Teles, A., 2012. Nutrition and health of aquaculture fish. Journal of fish diseases, 35(2), pp. 83-108. doi.org/10.1111/j.1365-2761.2011.01333.x
Papina, M., Meziane, T. and Van Woesik, R., 2003. Symbiotic zooxanthellae provide the host-coral *Montipora digitata* with polyunsaturated fatty acids. Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology, 135(3), pp.533-537. doi.org/10.1016/S1096-4959 (03)00118-0
Pond, M.J., Stone, D.M. and Alderman, D.J., 2006. Comparison of conventional and molecular techniques to investigate the intestinal microflora of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture, 261(1), pp.194-203. doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.06.037
Powell, D.W., Pinchuk, I.V., Saada, J.I., Chen, X. and Mifflin, R.C., 2011. Mesenchymal cells of the intestinal lamina propria. Annual review of physiology, 73, pp.213-237. doi.org/10.1146/annurev.physiol.70.113006.100646
Puupponen-Pimiä, R.A.M.A., Aura, A.M., Oksman-Caldentey, K.M., Myllärinen, P., Saarela, M., Mattila-Sandholm, T. and Poutanen, K., 2002. Development of functional ingredients for gut health. Trends in Food Science & Technology, 13(1), pp.3-11. doi.org/10.1016/S0924-2244 (02)00020-1
Ray, A.K., Ghosh, K. and Ringø, E.J.A.N., 2012. Enzyme-producing bacteria isolated from fish gut: a review. Aquaculture Nutrition, 18(5), pp.465-492. doi.org/10.1111/j.1365-2095.2012.00943.x
Ringoe, E. and Birkbeck, T.H., 1999. Intestinal microflora of fish larvae and fry. Aquaculture research, 30(2), p73-93. 21p.
Roubach, R., Menezes, A., Oh, K. and Dabbadie, L., 2019. Towards guidelines on sustainable aquaculture. FAO Aquaculture Newsletter, (60), pp. 55-56. https://www.fao.org/3/ca5223en/ca5223en.pdf
Sediqi, S., Sajjadi, M. and Hosseini Far, S., 2018. The effect of dietary malic acid on the growth performance and histomorphology of gold fish intestinal tissue. Animal Ecology, 11(3), pp. 147-154.
Sell, J.L., Angel, C.R., Piquer, F.J., Mallarino, E.G. and Al-Batshan, H.A., 1991. Developmental patterns of selected characteristics of the gastrointestinal tract of young turkeys. Poultry Science, 70(5), pp.1200-1205. doi.org/10.3382/ps.0701200
Sepherfar, D., Hosseinifar, S. H. and Jafarnoudeh, A., 2019. The effect of separate and combined use of probiotic *Pediococcus acidilactici* and probiotic Raffinos on some blood parameters and non-specific immune parameters of serum in golden *crucian carp*. Animal Ecology, 13(3), pp. 269-276.
Shenkin, A., 2006. Micronutrients in health and disease. Postgraduate medical journal, 82(971), pp.559-567. doi.org/10.1136/pgmj.2006.047670
Spanggaard, B., Huber, I., Nielsen, J., Nielsen, T., Appel, K.F. and Gram, L., 2000. The microflora of rainbow trout intestine: a comparison of traditional and molecular identification. Aquaculture, 182(1-2), pp.1-15. doi.org/10.1016/S0044-8486 (99)00250-1
Takashima, H., Nakajima, T., Moriguchi, M., Sekoguchi, S., Nishikawa, T., Watanabe, T., Katagishi, T., Kimura, H., Minami, M., Itoh, Y. and Kagawa, K., 2005. In vivo expression patterns of survivin and its splicing variants in chronic liver disease and hepatocellular carcinoma. Liver International, 25(1), pp.77-84. doi.org/10.1111/j.1478-3231.2004.0979.x
Takahashi, K., Suzuki, N. and Ogra, Y., 2020. Effect of gut microflora on nutritional availability of selenium. Food chemistry, 319, p.126537. doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126537
Torrecillas S, Rivero-Ramírez F, Izquierdo MS, Caballero MJ, Makol A, Suarez-Bregua P, Fernández-Montero A, Rotllant J, Montero D. 2018. Feeding European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles with a functional synbiotic additive (mannan oligosaccharides and Pediococcus acidilactici): An effective tool to reduce low fishmeal and fish oil gut health effects? Fish and Shellfish Immunology, 81, 10-20. doi: 10.1016/j.fsi.2018.07.007.
Vathouqi, G., and Mostajir, B., 1992. Mahian Ab Shirin, Institute of Publishing and Printing, University of Tehran. 317 p.
Watanabe, T., Kiron, V., Satoh, S., 1997. Trace minerals in fish nutrition. Aquaculture, 151, pp. 185–207. doi.org/10.1016/S0044-8486 (96)01503-7
Wang, X., Sun, Y., Wang, L., Li, X., Qu, K. and Xu, Y., 2017. Synbiotic dietary supplement

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-07-11]

affects growth, immune responses and intestinal microbiota of *Apostichopus japonicus*. Fish & shellfish immunology, 68, pp.232-242. doi.org/10.1016/j.fsi.2017.07.027

Willey, J. M., Shorwood, L. M. and woolverton, C. J., 2008. Prescott, Harley and Wein's Microbiology, 7th edited, Mcgraw-Hill Higher Education USA., 1088p.

Ye, J.D., Wang, K., Li, F.D. and Sun, Y.Z., 2011. Single or combined effects of fructo- and mannan oligosaccharide supplements and *Bacillus clausii* on the growth, feed utilization, body composition, digestive enzyme activity, innate immune response and lipid metabolism of the Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. Aquaculture nutrition, 17(4):e902-e911. doi.org/10.1111/j.1365-2095.2011.00863.x

Zakariaee, H., Sodagar, M., Hosseini, S. P., Paknejad, H. and Baroah, K., 2022. The effect of using synbiotics containing button mushroom (*Agaricus bisporus*) extract in combination with two species of lactic acid bacteria on digestive enzyme activities, body composition, growth and intestinal microbial flora in zebrafish (*Danio rerio*). Marine Science and Technology Journal, 21(2), 63-75. doi.org/10.22113/jmst.2020.233183.2375

نحوه استناد به‌مقاله:

اکبرآبادی م.، خارا ح.، وهاب‌زاده رودسری ح.، احمدنژاد م.، صفری ر. اثر جیره غذایی مکمل‌سازی شده با سلنیوم آلی (Selenomethionine) و سین‌بیوتیک دی‌پروپلاس ($Dipro^+$) به صورت جداگانه و تلفیقی روی فعالیت آنزیم‌های گوارشی، فلور باکتریایی روده و بافت‌شناسی روده در ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo caspius*). نشریه پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی‌دانشگاه گنبدکاووس. ۱۴۰۳. ۱۲(۱): ۵۸-۴۴.

Akbarabadi M., Khara H., Vahabzadeh Roudsari H., Ahmadnejad M., Safari R. The effect of supplemented diet with organic selenium (Selenomethionine) and synbiotic diproplus ($Dipro^+$) individually and combined on digestive enzyme activities, intestinal bacterial flora and intestinal histology in Caspian Sea salmon (*Salmo caspius*). Journal of Applied Ichthyological Research, University of Gonbad Kavous. 2024, 12(1): 44-58.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-07-11]

Journal of Applied Ichthyological Research Vol. 12, No 1, 44-58
Print ISSN: 2423-6349
Journal homepage: http://jair.gonbad.ac.ir

The effect of supplemented diet with organic selenium (Selenomethionine) and synbiotic diproplus (Dipro$^+$) individually and combined on digestive enzyme activities, intestinal bacterial flora and intestinal histology in Caspian Sea salmon (*Salmo caspius*)

Akbarabadi M[1]., Khara H[1*]., Vahabzadeh Roudsari H[1]., Ahmadnejad M[2]., Safari R[3].

[1] Department of Fisheries, Lahijan Branch, Islamic Azad University, Lahijan, Iran
[2] Aquaculture Research Institute of Inland Waters, Fisheries Science Research Organization of Iran, Agricultural Research, Education and Promotion Organization, Bandar-Anzali, Iran
[3] Department of Aquatic Reproduction and Breeding, Faculty of Fisheries and Environment, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.

Type:
Original Research Paper

Paper History:

Received: 29-02-2024
Accepted: 01-04- 2024

Corresponding author:

Khara H. Department of Fisheries, Lahijan Branch, Islamic Azad University, Lahijan, Iran.

Email: h.khara1974@yahoo.com

Abstract

Synbiotics and rare elements such as selenium strengthen non-specific defense in aquaculture industry and improve digestion and absorption of diets. The aim of this research was to determine the effect of diet supplemented with organic selenium (Selenomethionine) and synbiotic Dipro+ separately and combined on digestive enzyme activities, intestinal bacterial flora and intestinal histology in *Salmo caspius*. In this research, 540 pieces of Caspian Sea with an average weight of 66.34 ± 1.45 grams were prepared. After adapting to the experimental conditions, the fish were randomly distributed in 27 fish ponds. This experiment was conducted in the form of a completely randomized design under 8 experimental treatments and a control group (each with 3 repetitions) for 8 weeks. Experimental treatments include: 2 grams of synbiotics per kilogram of diet (treatment 1), 3 grams of synbiotics per kilogram of diet (treatment 2), 2 milligrams of organic selenium per kilogram of diet (treatment 3), 4 milligrams of synbiotics biotic per kg of diet (treatment 4), 2 grams of synbiotic and 2 mg of organic selenium per kg of diet (treatment 5), 2 grams of synbiotic and 4 mg of organic selenium per kg of diet (treatment 6), 3 gram of synbiotic and 2 mg of organic selenium per kg of diet (treatment 7), 3 grams of synbiotic and 4 mg of organic selenium per kg of diet (treatment 8). The highest amount of digestive enzymes, including: amylase, lipase and protease, was recorded in treatment 1, that is, the group fed with 2 grams of synbiotic dipro$^+$, which was significantly different from the control group. The lowest amount of lactic acid bacteria (LAB) and the total number of intestinal bacteria (TVC) were significantly present in the control group. The results showed that there was a significant difference between the intestinal tissue indices in the groups fed with nutritional supplements combined and separately with the control group. Altogether, the results showed that the combined use of synbiotic dipro$^+$ and organic selenium could reduce tissue damage and is recommended as a supplement in the diet of *Salmo caspius*.

Keywords: organic selenium, dipro$^+$ synbiotic, Caspian Sea salmon, gut

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-07-11]