مجله علوم و فنون شیلات
دوره ۱۳ شماره ۲، بهار ۱۴۰۳، صفحات ۵۵ تا ۶۸

ارزیابی رشد، ترکیب بدن، باکتری های روده و ایمنی تاسماهی سیبری (*Acipenser baerii*) تغذیه شده با مکملهای غذایی اسید لاکتیک و پروبیوتیک پروتکسین

رسول زارع؛ عبدالمحمد عابدیان کناری*

گروه تکثیر و پرورش آبزیان- دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران.

چکـــیده

استفاده از پروبیوتیک ها و اسیدهای آلی یک راه ایده آل و جایگزین مناسب برای آنتی بیوتیک ها در آبزی پروری است. در حال حاضر شناخت کافی از عملکرد مجزا و ترکیبی این افزودنی ها در غذای ماهیان خاویاری وجود ندارد. هدف از پژوهش حاضر ارزیابی استفاده از مکمل های اسید لاکتیک و پروبیوتیک (پروتکسین) و ترکیب این دو در تغذیه تاسماهی سیبری (*Acipenser baerii*) است. از اینرو ۱۶۰ قطعه ماهی سالم با میانگین وزن بدن۰/۳۶ ± ۵۴/۸۵ گرم به طور تصادفی به ۴ گروه آزمایشی در ۳ تکرار تقسیم شدند. ماهیان با چهار جیره غذایی شامل جیره غذایی شاهد یا بدون افزودنی (جیره ۱)، جیره غذایی شاهد همراه با ۲٪ اسید لاکتیک (جیره ۲)، جیره شاهد همراه با ترکیب ۲٪ اسید لاکتیک و ۰/۰۱ ٪ پروتکسین (جیره ۳) و جیره غذایی شاهد همراه با ۰/۰۱ ٪ پروتکسین (جیره ۴) تغذیه شدند. ماهی ها به مدت ۹ هفته و سه بار در روز تا حد سیری تغذیه شدند. در پایان آزمایش، پارامترهای رشد، فیزیولوژی و ایمنی ماهی سنجش شد. نتایج نشان داد اسید لاکتیک به تنهایی و هم در ترکیب با پروتکسین موجب افزایش وزن بدن و ضریب رشد ویژه شد. ضریب تبدیل غذایی در تیمارهایی که اسید لاکتیک بصورت مجزا یا در ترکیب با پروتکسین استفاده شده بود کاهش یافت ($P<0/05$). میزان تلفات در تمام تیمارها در طول دوره آزمایش صفر بود. پروتئین لاشه تاسماهی سیبری در تیمارهای تغذیه شده با ترکیب اسید لاکتیک و پروتکسین نسبت به گروه های دیگر بهبود معنی داری داشت. ($P<0/05$). افزودن اسید و پروتکسین هم بطور مجزا و هم در ترکیب با هم موجب کاهش چربی لاشه شد ($P<0/05$). کمترین pH روده در تیمار تغذیه شده با اسید لاکتیک توام با پروتکسین و بیشترین آن در گروه شاهد مشاهده شد. همچنین، تعداد کل باکتری های اسیدلاکتیک موجود در روده ماهیان تغذیه شده با اسیدلاکتیک به همراه پروتکسین در مقایسه با باقی تیمارها افزایش معنی داری نشان داد ($P<0/05$). افزودن توام اسید لاکتیک با پروتکسین فعالیت لیزوزیم و کمپلمان خون ماهی را بطور معناداری افزایش داد ($P<0/05$). به طور کلی استفاده مجزا و ترکیبی اسید لاکتیک (۲ درصد) با پروتکسین (۰/۰۱ ٪) در غذای ماهی سیبری موجب بهبود عملکرد این ماهی گردید.

کـــلید واژه‌ها: اسیدهای آلی، باکتری های مفید، رشد، ایمنی، تاس ماهی سیبری

نوع مقـاله

مقاله پژوهشی اصیل

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۲/۱۲

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۳/۱۵

تاریخ چاپ الکترونیکی: ۱۴۰۳/۰۳/۲۰

***نویسنده مسول:**
aabedian@modares.ac.ir

مقدمه

صنعت آبزی پروری یکی از شاخه های روبه رشد صنعت تولید غذا در جهان می باشد و انتظار می رود این رشد در سال های آینده همچنان ادامه داشته باشد. رشد سریع آبزی پروی مدرن تحت تاثیر چندین عامل مهم از قبیل استفاده از غذاهای فرموله شده و افزایش تراکم در سیستم های پرورشی می باشد. این افزایش تراکم در سیستم های پرورشی با محدودیت هایی همراه است که یکی از مهم ترین آنها شیوع بیماریها می باشد [۱]. به عبارت دیگر توسعه این صنعت به شدت تحت تاثیر بیماریهای ناشی از عوامل بیماریزا می باشد که عامل اصلی بسیاری از زیان های اقتصادی در مزارع پرورشی می باشد. از این رو مقادیر زیادی آنتی بیوتیک به منظور پیشگیری و یا کنترل بیماریهای عفونی ناشی از عوامل باکتریایی مورد استفاده قرار می گیرند. استفاده گسترده طیف وسیعی از آنتی بیوتیک ها در آبزی پروری، چه برای درمان و چه به عنوان ترکیبات افزایش دهنده رشد، باعث افزایش صدمات به محیط های آبی شده است که خطرات زیادی برای سلامت موجودات و انسان درپی خواهد داشت. علاوه بر این، بسیاری از محققان در مورد ضرورت توجه به ایجاد سویه های باکتریایی مقاوم به آنتی بیوتیک تذکر داده اند [۲]. همچنین استفاده بیش از حد آنتی بیوتیک ها در آبزی پروری خطر تجمع زیستی این ترکیبات در انسان به عنوان مصرف کننده آبزیان به همراه دارد [۱]. مطالعات نشان داده است که برخی عناصر ژنتیکی مقاوم به آنتی بیوتیک بین پاتوژن های آبزیان و پاتوژن های انسانی مشترک هستند و ممکن است منشاء

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-12-22]

آن در باکتری های آبزیان باشد. این امر باعث شد که سازمان بهداشت جهانی در مورد استفاده بیش از حد از آنتی بیوتیک ها در مزارع آبزی پروری برای دستیابی به دستاوردهای اقتصادی کوتاه مدت هشدار دهند. علاوه بر این، تحقیقات انجام شده در مزارع پرورشی نشان داده است که استفاده طولانی مدت از آنتی بیوتیک ها به دلیل ایجاد سویه های مقاوم در برابر باکتریها باعث کاهش اثردهی بعدی آنتی بیوتیک ها می شود [۳]. تلاش جهانی در جهت به حداقل رساندن استفاده از آنتی بیوتیک ها در آبزی پروری با ممنوعیت استفاده از آنتی بیوتیک ها در اتحادیه اروپا از ژانویه ۲۰۰۶ آغاز شد [۴]. از این رو دستیابی به ترکیبات غیر آنتی بیوتیکی موثر به عنوان جایگزین آنتی بیوتیک ها در کنترل بیماری های عفونی و تقویت عملکرد رشد مهمترین نکته برای ادامه صنعت آبزی پروری جهانی است. یکی از این ترکیبات، اسیدهای آلی است. اسیدهای آلی با زنجیره کوتاه (C1–C7) و نمک ها یا مخلوط های آنها، که معمولاً به عنوان اسیدی فایرها شناخته می شوند، یکی از گزینه های مناسب جایگزین آنتی بیوتیک ها هستند و مورد توجه محققان آبزی پروری قرار گرفته اند [۵،۶]. اسیدهای آلی مانند اسیدهای بنزوئیک، فرمیک، لاکتیک، اسید استیک، اسید سیتریک و پروپیونیک به طور سنتی به عنوان مواد نگهدارنده در مواد غذایی و خوراکی ها برای جلوگیری از فاسد شدن محصول ناشی از قارچ ها و میکروب ها مورد استفاده قرار گرفته اند [۷]. برخی از اسیدهای آلی دارای اثرات ضد باکتریایی قوی در برابر عوامل بیماری زای موجود در مواد غذایی هستند و در حال حاضر برای کنترل عوامل بیماری زای باکتریایی در خوراک دام استفاده می شوند [۸]. اگرچه استفاده از اسیدهای آلی و نمکهای آنها به طور گسترده در جیره دام و طیور مورد مطالعه قرار گرفته، اما تحقیقات در مورد آبزیان تنها در ۱۰ سال گذشته شدت یافته است. به دلیل کنترل های نظارتی جهانی در مورد استفاده از آنتی بیوتیک ها، طی سالهای آینده شاهد افزایش فزاینده تحقیقات در خصوص استفاده از اسیدهای آلی در آبزیان خواهیم بود. این ترکیبات در مقررات اتحادیه اروپا به عنوان مواد افزودنی مجاز در خوراک حیوانات ذکر شده اند. مخلوط های تجاری اسیدهای آلی به طور گسترده ای برای کنترل باکتری های بیماری زا، مانند گونه های سالمونلا، در خوراک دام استفاده می شود [۸].

یکی دیگر از ترکیبات جایگزین آنتی بیوتیک ها، پروبیوتیک ها هستند. پروبیوتیک ها، یک یا ترکیبی از چند میکروارگانیسم هستند که با بهبود تعادل میکروبی روده در سلامت میزبان نقش ایفا می کنند [۱۰]. پروبیوتیک ها در آبزی پروری با الگویی مشابه حیوانات خشکی زی عمل می کنند. با این حال رابطه بین موجود آبزی با محیط پرورش بسیار پیچیده تر از آن چیزی است که در موجودات خشکی زی شاهد هستیم. میکروارگانیسم های موجود در آب از طریق آبشش و غذا در تماس مستقیم با موجود بوده و به راحتی به دستگاه گوارش دسترسی دارند و آن دسته که توان بیماری زایی دارند، در صورت بروز استرس باعث ایجاد بیماری می شوند. از این رو هدف از استفاده از پروبیوتیک ها در آبزی پروری علاوه بر تاثیر مستقیم بر موجود، تاثیر بر محیط پرورش نیز می باشد. اصلاح مناسب میکروفلور دستگاه گوارش اهمیت بسزایی دارد. با استفاده از پروبیوتیک ها می توان میکروفلور روده ماهی را اصلاح نمود [۱۰،۱۱]. سیستم های پرورش متراکم به علت شرایط استرس زا باعث کاهش رشد و ضعیف شدن سیستم ایمنی آبزی شده و شرایط را برای شیوع باکتری های فرصت طلب مهیا می کند. از این رو استفاده از پروبیوتیک ها بویژه با هدف تقویت سیستم ایمنی مورد توجه قرار گرفت. به علاوه، پروبیوتیک ها می توانند به عنوان عوامل افزاینده رشد موجودات آبزی استفاده شوند زیرا تاثیر مستقیم بر تامین و افزایش جذب مواد غذایی دارند. مزایای استفاده از پروبیوتیک ها در آبزی پروری شامل بهبود ارزش غذایی جیره، کمک آنزیمی به هضم غذا، مقابله با پاتوژن ها، فاکتورها افزاینده رشد، بهبود پاسخ ایمنی و ارتقا کیفی آب می باشد [۹،۱۲،۱۳،۱۴].

علی رغم وجود اثرات مفید اسیدهای آلی در جیره غذایی دام های خشکی زی و تاثیر آنها در بهبود عملکرد و سلامتی این موجودات، تاکنون تحقیقات محدودی در زمینه ارزیابی کارآیی اسیدهای آلی یا نمکهای آنها در آبزیان به خصوص در تاسماهیان صورت گرفته است [۱۵،۱۶،۱۷،۱۸،۱۹،۲۰،۲۱]. اما اطلاعات اندکی در رابطه با اثر استفاده توام این ترکیبات وجود دارد. بنابراین در این تحقیق ضمن بررسی اثرات اسید لاکتیک و پروبیوتیک پروتکسین بصورت مجزا، اثرات توام استفاده از این دو مکمل در جیره غذایی ماهی سیبری نیز مورد ارزیابی قرار می گیرد.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-12-22]

مواد و روش ها

شرایط پرورش

مخازن مورد استفاده در پرورش شامل ۲۴ عدد مخزن فایبرگلاس ۵۰۰ لیتری به ابعاد۵۲ × ۱۰۲ × ۱۰۵ سانتیمتر بود. این مخازن پرورشی مجهز به سیستم تخلیه آب مرکزی و سیستم هوادهی بودند. تمام مخازن در کنار هم در یک ردیف و در محیط سرپوشیده سوله تکثیر و پرورش با شرایط یکسان قرارگرفتند. سیستم هوادهی و آب رسانی و سایر شرایط محیطی دیگردر تمام مخازن یکسان بود. به منظور سازگاری ماهیان به محیط جدید آنها قبل از شروع آزمایش به مدت ۱۰ روز در این مخازن و در شرایط آزمایش قرار گرفتند. برای اینکه ماهیان به غذای مورد استفاده عادت کنند، طی این مدت، غذادهی به میزان ۳ درصد وزن بدن تا حد سیری با غذای شاهد صورت گرفت. تعداد۱۲۰ قطعه بچه ماهی تاسماهی با میانگین وزن اولیه ۰/۳۶± ۵۴/۸۵ گرم (میانگین±SE) به طور تصادفی در ۱۲ مخزن فایبرگلاس (۱۰ ماهی در هر مخزن) حاوی ۴۰۰ لیتر آب توزیع شدند. مخازن به سیستم جریان مداوم آب متصل شده و مدفوع و مواد غذایی مصرف نشده هر روز از مخازن خارج می شد. دمای آب C °۲/۷۱±۱۹/۸۲، اکسیژن محلول ۱/۰۴±۱۱/۱۱ میلی گرم در لیتر و دوره نوری طبیعی بود. اندازه گیری و ثبت فاکتورهای فیزیکو شیمیایی آب (دما، اکسیژن و pH) بطور روزانه انجام می شد.

تیمارها و جیره های غذایی

پروتکسین مورد استفاده در این آزمایش، ساخت شرکت Probiotics International Ltd به سفارش شرکت نیکوتک تهران بود که مخلوطی از ۷ سویه باکتریایی و ۲ سویه قارچی و مخمری می باشد. گونه های باکتریایی شامل لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (*Lactobacillus cidophilus*)، لاکتوباسیلوس دلبروکی (*Lactobacillus delbrueckii*)، لاکتو باسیلوس پلانتاریوم (*Lactobacillus plantarum*)، لاکتو باسیلوس رامنوسوس (*Lactobacillus rhamnosus*)، بیفیدو باکتریوم بیفیدوم (*Bifidobacterium bifidum*)، انتروکوکوس فاسیوم (*Enterococcus faecium*) و استرپتوکوکوس سالیواریوس (*Streptococcus salivariuss*) و سویه های قارچی شامل آسپرژیلوس اریزای (*Aspergillus oryzae*) و کاندیدا پینتولوپسی (*Candida pintolopesi*) می باشد. انتخاب دوز پروتکسین بر اساس پیشنهاد شرکت تولید کننده این پروبیوتیک و همچنین مطالعات قبلی انجام شده انتخاب شد [۲۲،۲۳]. انتخاب دوز اسید لاکتیک (سیگما آلدریچ ، آلمان ، pH = ۲/۵) بر اساس نتایج مثبت آزمون های انجام شده قبلی صورت پذیرفت [۱۹،۲۰]. چهار جیره غذایی آزمایشی به شرح زیر تهیه شد (جدول ۱):

جیره شاهد بدون افزودنی (جیره۱)،

جیره شاهد همراه با اسید لاکتیک ۲٪ (جیره ۲) ،

جیره شاهد همراه با اسید لاکتیک۲٪+ پروتکسین ۰/۰۱ ٪ معادل CFU/g ۱۰^۸ × ۲ (جیره ۳)،

جیره شاهد با پروتکسین ۰/۰۱ ٪ معادل CFU/g ۱۰^۸ × ۲ (جیره ۴).

تمام مواد تشکیل دهنده جیره های شاهد و آزمایش کاملاً مخلوط شده و سپس به صورت پلت طبق روش مرسوم [۲۴]. تهیه شد. ماهی ها سه بار در روز (ساعت ۸:۰۰، ۱۵:۰۰ و ۲۱:۰۰) به مدت ۹ هفته تا حد سیری تغذیه شدند. هر تیمار غذایی در سه تکرار آزمایش شدند.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-12-22]

جدول ۱: ترکیب و آنالیز تقریبی جیره های آزمایشی (درصد)

ویتامین و مواد معدنی (میلی گرم یا گرم بر کیلوگرم رژیم غذایی): ۱ کیلوگرم مکمل معدنی شامل: آهن (۲۰ گرم)، روی (۲۰ گرم)، سلنیوم (۴۰۰ میلی گرم)، کبالت (۲۰۰ میلی گرم)، مس (۲ گرم)، منگنز (۴۰ میلی گرم)، ید (۴۰۰ میلی گرم)، کلرید کولین (۶۰ گرم). پنج کیلوگرم مکمل ویتامین (۰٫۵٪) شامل: ویتامینA ، ۸/۰۰۰/۰۰۰ واحد بین‌المللی؛D3 ، ۲/۰۰۰/۰۰۰ واحد بین‌المللی؛ E ۱۵۰ گرم؛K3 ، ۵۰ گرم؛B1 ، ۵۰ گرم؛B2 ، ۴۰ گرم؛B3 ، ۱۵۰ گرم؛B5 ، ۲۰۰ گرم؛B6 ، ۸۰ گرم؛B9 ، ۱۵ گرم؛ B12، ۰/۰۵ گرم؛C ، ۵۰۰ گرم؛ بوتیلات هیدروکسی تولوئن(BHT) ، ۱۰۰ گرم؛ اینوزیتول، ۵۰۰ گرم.

تیمارها / ترکیبات	شاهد (جیره ۱)	لاکتیک (جیره ۲)	لاکتیک+ پروتکسین (جیره ۳)	پروتکسین (جیره ۴)
پودر ماهی	۳۷/۰۰	۳۷/۰۰	۳۷/۰۰	۳۷/۰۰
پودر سویا	۳۲/۰۰	۳۲/۰۰	۳۲/۰۰	۳۲/۰۰
آرد گندم	۱۶/۰۰	۱۶/۰۰	۱۶/۰۰	۱۶/۰۰
روغن ماهی	۲/۸۶	۲/۸۶	۲/۸۶	۲/۸۶
روغن سویا	۲/۸۶	۲/۸۶	۲/۸۶	۲/۸۶
لیستین	۰/۵۰	۰/۵۰	۰/۵۰	۰/۵۰
مونوکلسیم فسفات	۰/۵۰	۰/۵۰	۰/۵۰	۰/۵۰
مخلوط معدنی	۲/۰۰	۲/۰۰	۲/۰۰	۲/۰۰
مکمل ویتامینه	۲/۰۰	۲/۰۰	۲/۰۰	۲/۰۰
ضدقارچ	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
آنتی اکسیدان	۰/۰۳	۰/۰۳	۰/۰۳	۰/۰۳
پر کننده	۳	۱	۰/۹۹	۲/۹۹
اسید آلی	-	۲/۰۰	۲/۰۰	-
پروتکسین	-	-	۰/۰۱	۰/۰۱
همبند	۱/۰۰	۱/۰۰	۱/۰۰	۱/۰۰
آنالیز جیره (درصد ماده خشک)				
پروتئین	۴۳/۶۰	۴۳/۵۶	۴۲/۵۰	۴۳/۴۹
چربی	۱۱/۷۷	۱۱/۹۰	۱۱/۸۳	۱۱/۸۵
خاکستر	۱۳/۹۳	۱۴/۱۵	۱۴/۱۱	۱۳/۸۵
رطوبت	۷/۷۷	۷/۸۸	۷/۶۵	۷/۸۴
NFE	۲۲/۹۳	۲۲/۵۱	۲۳/۹۱	۲۲/۹۷

بررسی شاخص های رشد و تغذیه ماهی

در پایان آزمایش، ماهی های هر مخزن با عصاره گل میخک (۳۰۰۰ میلی گرم در لیتر به مدت ۶۰-۴۰ ثانیه) بیهوش و به صورت جداگانه وزن شدند [۲۵]. وزن ماهی به ترتیب با دقت ۰/۰۱ گرم اندازه گیری شدند. ماهی ها قبل از بیهوشی برای اندازه گیری پارامترهای خون (چهار ماهی در هر مخزن)، pH روده و فلورمیکروبی (سه ماهی در هر مخزن) و ترکیب اسیدهای چرب (سه ماهی از هر تکرار) به مدت ۲۴ ساعت غذا دهی نشدند. شاخص های رشد و تغذیه با استفاده از فرمول های زیر سنجش شد:

افزایش وزن بدن (%) = ۱۰۰ × (وزن اولیه بدن –وزن نهایی بدن) / وزن اولیه بدن

ضریب رشد ویژه (درصد در روز) = ۱۰۰ × [لگاریتم نپرین وزن اولیه –لگاریتم نپرین وزن نهایی] / زمان

ضریب تبدیل غذایی = غذای خشک مصرفی (گرم) / وزن تر (گرم)

زنده مانی ماهی (%) = ۱۰۰ × تعداد ماهی در پایان دوره / تعداد ماهی در ابتدای دوره

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-12-22]

بررسی ترکیب شیمیایی جیره های غذایی و بدن

آنالیز شیمیایی غذا و بدن بر اساس روش استاندارد [۲۶] صورت گرفت. پروتئین خام با استفاده از سنجش نیتروژن (نیتروژن×۶/۲۵) و به روش کجلدال اندازه گیری شد. چربی خام به روش استخراج با کلروفورم و متانول با استفاده از سیستم سوکسله صورت گرفت. اندازه گیری میزان رطوبت با استفاده از آون و حرارت تا دمای ۱۰۵ درجه سانتیگراد تا رسیدن به وزن ثابت سنجیده شد. میزان خاکستر بافت بدن با سوزاندن نمونه ها در کوره در دمای ۶۰۰ درجه سانتیگراد به مدت ۶ ساعت تخمین زده شدند.

شمارش تعداد کل باکتری ها و باکتریهای اسید لاکتیک روده

برای انجام این آزمون ماهی ها با غوطه وری در عصاره گل میخک بیهوش و با ضربه به سر کشته شدند. برای از بین بردن باکتری ها و میکرورگانیسم های های ناخواسته روی سطح بدن، سطح بدن ماهی در محلول کلرید بنزالکونیوم ۰/۱٪ به مدت ۱ دقیقه قرار داده شد. سپس روده با رعایت کامل شرایط استریل خارج شده، باز شد و محتویات آن برای اندازه گیری pH کنار گذاشته شد. سپس، روده را سه بار با آب مقطر استریل شستشو داده، به طور جداگانه در یک محلول PBS استریل هموژن کرده و سوسپانسیون به صورت سریالی به$^{-3}$۱۰ تا $^{-8}$۱۰ محلول نمکی ۰/۸۵٪ NaCl رقیق شد. به منظور شمارش کل باکتری ها، ۰/۵ میلی لیتر از هر رقت بر روی پلیت حاوی تریپتیک سوی آگار (TSA، مرک) و به منظور شمارش باکتری های اسیدلاکتیک ۰/۵ میلی لیتر از هر رقت deMan Rogosa Sharp (MRS، مرک) پخش شد. تمام پلیت ها به مدت ۵ روز در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد انکوبه شدند [۲۷]. تعداد کلنی ها به عنوان واحد کلنی (CFU) در هر گرم روده شمارش شد و به صورت $\log \text{CFU g}^{-1}$ بیان شد.

اندازه گیری pH جیره غذایی و محتوای روده

جیره های غذایی و محتوای روده با توجه به روش توصیف شده توسط بارو و همکاران [۲۸] اندازه گیری شد. محتوای روده برداشته شده به صورت جداگانه در یک پلیت استریل همگن شده و با نسبت ۵ به۵۰ میلی لیتر آب دیونیزه به مدت ۱ دقیقه مخلوط شد. pH محتوای روده همگن با استفاده از pH متر دیجیتال اندازه گیری شد. pH جیره های غذایی نیز به همین روش محاسبه شد.

آزمایشات خون شناسی

سنجش فاکتورهای ایمنی

برای سنجش میزان لیزوزیم سرم از روش ورتز و همکاران [۲۹] استفاده شد. اساس این روش توانایی لیزوزیم سرم در تخریب لایه پپتیدوگلیکان باکتری گرم مثبت میکروکوکوس لیزودکیتیکوس می باشد. نمونه های خون جمع آوری شده در دمای ۴ درجه سانتیگراد لخته شده و در ۷۰۰۰ گرم به مدت ۷ دقیقه سانتریفیوژ شدند. سرمها برای سنجشهای لیزوزیم و کمپلمان در دمای ۸۰- درجه سانتیگراد جمع آوری شدند. سطح لیزوزیم با استفاده از روش turbidimetric با استفاده از باکتری میکروکوکوس لیزودکیتیکوس و لیزوزیم سفید (سیگما الدریچ) تخم مرغ اندازه گیری شد. ابتدا محلول PBS در لوله آزمایش ریخته و مقداری باکتری به آن اضافه و به آرامی تکان داده شد. سپس مقدار ۲۰۰ میکرولیتر از محلول مزبور را برداشته و در طول موج ۴۵۰ نانومتر در فتومتر قرائت شد. در مرحله بعد مقدار ۱۵ میکرولیتر از سرم خون به آن اضافه، کمی به هم زده شده و پس از نگهداری آن به مدت ۲۰ دقیقه در دمای اتاق، مقدار جذب قرائت گردید. سپس مقدار جذب را با منحنی استانداری که از لیزوزیم

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-12-22]

سفیده تخم مرغ مقایسه و مقدار لیزوزیم نمونه موردنظر براساس کدورت سنجی برحسب میلی گرم بر میلی لیتر محاسبه شد. میزان فعالیت کمپلمان بر اساس همولیز گلبول های قرمز خرگوش طبق روش یانو [۳۰] انجام شد.

آنالیز آماری

طرح کلی این تحقیق در قالب طرح کاملا تصادفی برنامه ریزی و اجرا شد. ابتدا نرمال بودن داده ها توسط آزمون Sample One Kolmogorov-Smirnov ارزیابی شد. سپس تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه (One-Way ANOVA) انجام شد. برای مقایسه میانگین شاخص های رشد و شیمیایی از آزمون دانکن در سطح اطمینان ۵ درصد استفاده شد. از نرم افزار SPSS برای آنالیز آماری و Excel برای رسم نمودارها استفاده شد.

نتایج

اثر جیره های مکمل سازی شده با اسید و پروبیوتیک بر عملکرد رشد

نتایج عملکرد رشد نشان داد که ماهیان تغذیه شده با جیره غذایی مکمل سازی شده با اسید لاکتیک به تنهایی و هم در ترکیب با پروتکسین موجب افزایش وزن بدن، وزن نهایی و نرخ رشد ویژه شد (جدول ۳). ضریب تبدیل غذایی در تیمارهایی که اسید لاکتیک بصورت مجزا یا در ترکیب با پروتکسین استفاده شده بود کاهش یافت ($P < ۰/۰۵$). میزان تلفات در تمام تیمارها در طول دوره آزمایش صفر بود. درکل، بهترین نتیجه در ماهیان تغذیه شده با جیره غذایی اسیدلاکتیک مخلوط با پروتکسین مشاهده شد.

جدول ۳. عملکرد رشد و بازماندگی تاسماهی سیبری تغذیه شده با جیره های مکمل سازی شده با اسید آلی و پروتکسین

اعداد (میانگین± خطای استاندارد) در هر ردیف با حروف متفاوت نشان دهنده وجود اختلاف معنادار بین تیمارهای آزمایشی است ($P < ۰/۰۵$).

شاخص	تیمارها شاهد	اسید لاکتیک	اسید لاکتیک+ پروتکسین	پروتکسین
وزن اولیه (g)	۵۵/۳۹±۰/۲۰	۵۵/۳۲±۰/۳۳	۵۴/۸۲±۰/۲۴	۵۴/۴۳±./۶۳
وزن نهایی (g)	۱۰۲/۰۱±۱/۲۶ ^{c}	۱۳۷/۹۱±۹/۵۷^{ab}	۱۵۷/۸۶±۱۲/۲۵^{a}	۱۱۹/۵۷±۳/۷^{bc}
افزایش وزن (٪)	۸۴/۱۶±۲/۰۱^{c}	۱۴۹/۲۹±۲/۷۵^{b}	۱۸۷/۹۶±۵/۴۲^{a}	۱۱۹/۶۸±۳/۰۲^{bc}
ضریب رشد ویژه (% day $^{-1}$)	۱/۱۲±۰/۰۱^{c}	۱/۳۸±۰/۰۶^{ab}	۱/۵۱±۰/۰۷^{a}	۱/۲۶±۰/۰۲^{bc}
ضریب تبدیل غذا	۲/۳۷±۰/۱۴^{a}	۱/۸۴±۰/۰۴^{b}	۱/۹۶±۰/۰۰^{b}	۲/۲۳±۰/۰۶^{a}
درصد بقا	۱۰۰±۰/۰۰	۱۰۰±۰/۰۰	۱۰۰±۰/۰۰	۱۰۰±۰/۰۰

اثر جیره های مکمل سازی شده با اسیدهای آلی و پروبیوتیک بر ترکیب بدن

نتایج نشان داد که پروتئین لاشه تاسماهی سیبری در تیمارهای تغذیه شده با اسید لاکتیک+پروتکسین نسبت به گروه های دیگر بهبود معنی داری داشت (جدول ۴؛ $P < ۰/۰۵$). افزودن اسید و پروتکسین هم بطور مجزا و هم در ترکیب با هم موجب کاهش چربی لاشه شد ($P < ۰/۰۵$).

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-12-22]

ماهیانی که از جیره مکمل سازی شده تغذیه کرده بودند بیشترین و ماهیانی که از جیره شاهد استفاده کرده بودند کمترین خاکستر لاشه را داشتند. بیشترین مقدار رطوبت در تیمار تغذیه شده با جیره حاوی اسید لاکتیک و کمترین آن درجیره پروتکسین مشاهده شد ($P <$۰/۰۵).

جدول ۴. ترکیب بدن تاسماهی سیبری تغذیه شده با جیره های مکمل سازی شده با اسید آلی و پروتکسین (بر حسب درصد ماده خشک) اعداد (میانگین± خطای استاندارد) در هر ردیف با حروف متفاوت نشان دهنده وجود اختلاف معنادار بین تیمارهای آزمایشی است ($P <$۰/۰۵).

تیمارها / شاخص	شاهد	اسید لاکتیک	اسید لاکتیک +پروتکسین	پروتکسین
پروتئین	۶۱/۲۶±۰/۰۸^{b}	۵۶/۰۶±۱/۱۰^{c}	۶۵/۷۰±۰/۰۴^{a}	۵۷/۶۶±۰/۲۴^{c}
چربی	۴/۱۸±۰/۱۹^{b}	۳/۴۱±۰/۲۶^{c}	۴/۱۱±۰/۰۶^{b}	۶/۰۸±۰/۱۱^{a}
خاکستر	۵/۲۸±۰/۰۹^{b}	۶/۳۳±۰/۱۶^{a}	۶/۱۳±۰/۱۲^{a}	۶/۳۰±۰/۱۶^{a}
رطوبت	۶۸/۰۰±۱/۱۵^{b}	۷۵/۳۰±۱/۷۳^{a}	۶۷/۶۶±۰/۰۲^{bc}	۶۷/۰۰±۱/۷۳^{c}

اثر جیره های مکمل سازی شده با اسید لاکتیک و پروبیوتیک بر باکتری های روده

نتایج نشان داد مکمل سازی جیره با اسید به تنهایی و در ترکیب با پروتکسین باعث تغییر pH جیره و روده شد (جدول۶). بطوریکه ماهیان تغذیه شده با پروتکسین، اسید و ترکیب آنها کاهش معنادار در pH روده نشان دادند. کمترین pH روده در تیمار تغذیه شده با اسید لاکتیک+پروتکسین و بیشترین آن در گروه شاهد مشاهده شد. مکمل سازی جیره با پروتکسین، اسیدلاکتیک و اسیدلاکتیک+پروتکسین موجب شد تعداد باکتری های کل روده،کمترین تعداد در بین تیمارهای مورد آزمایش باشد. همچنین، تعداد باکتری های اسیدلاکتیک جداسازی شده از روده ماهیان تغذیه شده با اسیدلاکتیک+پروتکسین در مقایسه با باقی تیمارها افزایش معنی داری نشان داد ($P <$۰/۰۵).

جدول۶. میزان pH و شمارش تعداد کل باکتری ها و باکتری های اسیدلاکتیک در روده تاسماهی سیبری تغذیه شده با جیره های مکمل سازی شده با اسید لاکتیک و پروتکسین

اعداد (میانگین± خطای استاندارد) در هر ردیف با حروف متفاوت نشان دهنده وجود اختلاف معنادار بین تیمارهای آزمایشی است ($P <$ ۰/۰۵).

تیمارها / شاخص	جیره شاهد	لاکتیک	لاکتیک+ پروتکسین	پروتکسین
پی هاش جیره	۵/۶۴±۰/۰۱^{a}	۵/۲۲±۰/۰۱^{b}	۵/۱۷±۰/۰۲^{b}	۵/۶۳±۰/۰۲^{a}
پی هاش روده	۷/۶۵±۰/۰۳^{a}	۷/۲۴±۰/۰۳^{b}	۷/۱۱±۰/۰۴^{b}	۷/۴۴±۰/۰۸^{a}
Total count (log CFU g^{-1})	۹/۳۰±۲/۸۱^{a}	۸/۱۲±۱/۲۱^{b}	۸/۳۵±۰/۶۶^{b}	۷/۵۱±۲/۱۶^{c}
LAB (log CFU g^{-1})	۵/۷۱±۱/۳۳^{c}	۶/۸۴±۱/۶۳^{b}	۷/۵۳±۲/۶۰^{a}	۵/۹۹±۰/۴۳^{c}

اثر جیره های مکمل سازی شده با اسیدهای لاکتیک و پروبیوتیک بر سیستم ایمنی- خونی

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-12-22]

اثر مکمل سازی جیره ها با اسید آلی و پروتکسین بر سیستم ایمنی- خونی تاسماهی سیبری در جدول ۷ آمده است. افزودن اسید لاکتیک+پروتکسین فعالیت لیزوزیم خون ماهی را بطور معناداری افزایش داد (P <۰/۰۵). کمترین میزان فعالیت لیزوزیم در خون ماهیانی بود که با اسید لاکتیک تغذیه شده بودند. همچنین ماهیان تغذیه شده با جیره غذایی حاوی اسید لاکتیک+پروتکسین باعث افزایش معنادار کمپلمان نسبت به باقی تیمارها شدند (P <۰/۰۵). کمترین میزان کمپلمان در خون ماهیانی بود که با اسید لاکتیک تغذیه شده بودند.

جدول ۷. پاسخ های ایمنی_خونی در تاسماهی سیبری تغذیه شده با جیره های مکمل سازی شده با اسید لاکتیک و پروتکسین

اعداد (میانگین± خطای استاندارد) در هر ردیف با حروف متفاوت نشان دهنده وجود اختلاف معنادار بین تیمارهای آزمایشی است (P <۰/۰۵).

شاخص / تیمارها	شاهد	اسید لاکتیک	اسید لاکتیک + پروتکسین	پروتکسین
لیزوزیم (units/ml)	۲۸/۱۶±۱/۵۸ b	۲۶/۵۰±۰/۲۸ c	۳۱/۶۶±۱/۴۸ a	۲۹/۳۳±۱/۰۱ b
کمپلمان (units/ml)	۱۲۸/۵۰±۳/۶ b	۱۲۵/۳۳±۰/۷۲c	۱۳۰/۵±۴/۰۴ a	۱۲۹/۶۶±۱/۵۸ab

بحث و نتیجه گیری

نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که جیره های حاوی اسید لاکتیک هم به تنهایی و هم در ترکیب با پروتکسین در جیره موجب بهبود معنادار شاخص های رشد تاسماهی سیبری شد. افزایش رشد ماهی در تیمارهای آزمایشی را می توان به کاهش پی هاش روده، افزایش باکتری های مفید روده، جلوگیری از رشد عوامل بیماریزا و همچنین افزایش قابلیت هضم و جذب غذا نسبت داد [۱۰،۳۱]. مشابه با نتایج موجود، مطالعات گذشته نیز نشان داده اند که استفاده از اسیدهای آلی در جیره ماهی *Huso huso* [۳۲] ، *Labeo rohita* [۳۰]،*Pagrus major* [۳۰]، *Oncorhynchus mykiss* [۳۴]، *Huso huso* [۱۹]، و قزل آلای رنگین کمان [۲۰]، بهبود رشد را به همراه داشته است. با این حال در برخی تحقیقات انجام شده، استفاده از اسیدهای آلی و نمک های آنها در جیره ماهی های مختلف تاثیر مثبتی بر رشد نداشت. برای مثال استفاده از لاکتات در جیره *Salmo salar* [۱۶]، اسید بوتیریک در جیره .*Oreochromis* sp [۱۶]، پلی هیدروکسی بوتیرات در جیره تاسماهی سیبری [۳۵]، اسید مالیک در جیره تاسماهی سیبری [۳۶]، و سدیم دی فورمات در جیره *Salmo trutta caspius* [۳۷]، که همگی نشان داده اند استفاده از اسیدهای آلی به تنهایی یا به همراه پروبیوتیک ها تاثیر مثبتی بر رشد نداشته اند. دلیل تناقضات در این نتایج می تواند به دلیل اختلاف در نوع و دوز اسید آلی مورد استفاده، مدت استفاده از اسید آلی در تغذیه ماهی و نوع گونه و سن ماهی باشد [۳۸].

در مطالعه موجود استفاده از پروبیوتیک پروتکسین به تنهایی در جیره غذایی اگر چه باعث بهبود جزیی در رشد ماهی نسبت به گروه شاهد شد اما این افزایش معنادار نبود. بطور مشابه، محمودی و همکاران نشان دادند که استفاده از پروتکسین حتی در دوزهای متفاوت باعث بهبود رشد تاسماهی سیبری نمی شود [۳۹]. با این حال افزودن پروتکسین به جیره برخی ماهیان از قبیل اسکار (Oscar) *Astronotus ocellatus* [۲۲]. سی باس (Sea bass) *Dicentrarchus labrax* [۲۳] کپور معمولی *Cyprinus carpio* [40] و نیل تیلاپیا *Oreochromis niloticus* [۴۱] باعث بهبود رشد گردید. افزودن دیگر انواع پروبیوتیک ها به جیره غذایی ماهیان مختلف مانند افزودن *انتروکوکوس فاسیوم* به جیره نیل تیلاپیا *Oreochromis niloticus* [۴۲] *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* به جیره غذایی قزل آلای رنگین کمان [۴۳]، *Saccharomyces*

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-12-22]

cervisiae به جیره نیل تیلاپیا[۴۴]، *پدیکوکوس اسیدی لاکتیکی* به جیره *Aequidens rivulatus* [۴۵]، *لاکتوباسیلوس* به جیره *Cyprinus Carpio* [۱۴] و *لاکتوباسیلوس پلانتوروم* به جیره تیلاپیا [۱۳] باعث افزایش رشد ماهی شد. درمقابل، *افزودن پدیکوکوس اسیدی لاکتیکی* به جیره *Lates calcalifer* [۲۵] و *باسیلوس سوبتیلیس* به جیره تیلاپیا [۴۶] باعث افزایش رشد ماهی نشد. به طور کلی تناقضات موجود در نتایج حاصل از استفاده پروبیوتیک در جیره غذایی به عوامل متعددی از قبیل گونه، سن و اندازه ماهی، شیوه اجرای آزمایش، جیره غذایی، زمان مصرف پروبیوتیک و دوره غذادهی بستگی دارد [۴۷،۴۸].

ترکیب اسید لاکتیک و پروتکسین دارای اثر هم افزایی بوده و موجب افزایش معنادار رشد نسبت به استفاده مجزای پروتکسین و اسید شد. بطور مشابه، استفاده از ترکیب سدیم بوتیرات و پروتکسین در تیلاپیا [۴۹]، ترکیب اسیدمالیک و *باسیلوس سوبتیلوس* در ماهی تیلاپیا و ترکیب سوربات پتاسیم و پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس کازیی* در قزل آلای رنگین کمان [۴۶] و ترکیب بتاگلوکان، مانان اولیگو ساکارید و پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلانتاروم به جیره ماهی آزاد دریای خزر [۵۰] باعث بهبود رشد نسبت به استفاده مجزای پروبیوتیک و اسیدآلی شد. این مسئله عملکرد سینرژیسمی این دو نوع افزودنی غذایی را نشان می دهد و قابل توصیه می باشد هر چند تفاوت جدی با تیمار اسید لاکتیک به تنهایی نداشت.

بررسی ترکیب بدن نشان داد که افزودن اسید لاکتیک باعث بهبود میزان پروتئین لاشه تاسماهی سیبری شد. همچنین جیره مکمل سازی شده با اسید لاکتیک موجب کاهش چربی لاشه شد دلیل آن می تواند کاهش پی هاش دستگاه گوارش توسط یون های H^+ باشدکه متعاقبا باعث افزایش هیدرولیز پروتئین ها [۵۱]، افزایش جذب مواد معدنی و همچنین بهبود مصرف و جذب مواد مغذی شده است [۵۲] در برخی تحقیقات دیگر نتایج به دست آمده با نتایج موجود اختلاف دارد. برای مثال، افزودن اسید مالیک به جیره غذایی تاسماهی سیبری [۳۶] و افزودن لاکتات و پروپینات به جیره Arctic charr, *Salvelinus alpinus* [۱۵] تغییر مثبتی در ترکیب بدن ماهی ایجاد نکرد. همچنین، جیره مکمل سازی شده با اسید مالیک باعث کاهش پروتئین و چربی ولی افزایش خاکستر بدن در ماهی نیل تیلاپیا شد [۴۶]، دلیل این اختلاف در نتایج را می توان به تفاوت در شرایط آزمایش، نوع و غلظت اسید آلی مورد استفاده، همچنین گونه، اندازه و وضعیت فیزیولوژیکی ماهی دانست [۵۳].

همانطور که انتظار میرفت، افزودن ترکیب اسید لاکتیک و پروتکسین به جیره، ترکیب بدن را نسبت به افزودن اسید لاکتیک و پروتکسین به تنهایی بهبود بخشید. بطور کلی استفاده از ترکیب اسیدهای آلی با پروتکسین باعث افزایش خاکستر و رطوبت و کاهش چربی لاشه تاسماهی سیبری شد که دلیل آن اثر هم افزایی ترکیب دو مکمل می باشد. به عبارتی، کاهش پی هاش روده توسط اسیدهای آلی مورد استفاده باعث بهبود عملکرد پروبیوتیک های موجود در پروتکسین شده که بطور آشکاری بر چربی، خاکستر و رطوبت تاثیر داشته است. نتایج مشابهی در استفاده توام اسید آلی سوربات پتاسیم و پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازیی در قزل آلای رنگین کمان توسط تکمه چی و همکاران (۱۳۹۶) و اسیدمالیک و باسیلوس سوبتیلیس در ماهی نیل تیلاپیا [۴۶] مشاهده شد.

افزودن پروتکسین به تنهایی تاثیر معناداری بر پی هاش جیره نداشت. با این حال در تیمار تغذیه شده با جیره حاوی پروتکسین شاهد کاهش اندک پی هاش روده و TVB و افزایش اندک LAB بودیم. کاهش پی هاش روده می تواند به دلیل تولید اسیدهای آلی توسط پروبیوتیک های موجود در پروتکسین و به دنبال آن تولید یون H^+ باشد که در تحقیقات قبلی نیز به اثبات رسیده است [۵۴]. انتظار می رفت استفاده از پروتکسین به تنهایی موجب افزایش باکتری های مفید روده شود اما تغییر معناداری نسبت به گروه شاهد مشاهده نشد هر چند تغییر مثبت اندکی مشاهده گردید. مطالعات انجام شده توسط محققین مختلف [۹،۱۲] نشان داده است که پروبیوتیک ها در فرآیند رقابت با پاتوژن ها مکان های اتصال دستگاه گوارش را اشغال کرده و اجازه رشد به پاتوژن ها نمی دهند. بنابراین، احتمالا به همین دلیل موجب رشد باکتری های مفید روده می شود.

روده ماهیان تغذیه شده با جیره های حاوی ترکیب اسید آلی و پروتکسین کمترین میزان پی هاش را داشتند. این کاهش پی هاش در تیمارهای تغذیه شده با ترکیب پروتکسین و اسیدلاکتیک نسبت به تیمارهای تغذیه شده با این اسید و پروتکسین (بطور مجزا) با افزایش LAB همراه بود. به عبارتی، ترکیب این اسیدهای آلی و پروتکسین باعث کاهش پی هاش روده ماهیان نسبت به زمانی که از اسید آلی و پروتکسین به تنهایی استفاده کرده بودند شد که نشان می دهد در این جیره ها اسیدهای آلی با ایجاد محیط اسیدی از رشد پاتوژن ها جلوگیری کرده و همچنین باعث

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-12-22]

تحریک رشد باکتری های اسیدلاکتیک ساکن روده و همچنین باکتری های پروبیوتیک موجود در پروتکسین شده که نهایتا بهبود عملکرد پروبیوتیک را به همراه داشته است که این امر می تواند باعث افزایش رشد ماهی شود [۱۱] بطور مشابه، در مطالعات قبلی اثر هم افزایی استفاده توام *باسیلوس سوبتیلیس* و اسیدمالیک در جیره غذایی *Oreochromis niloticus* [۴۶] استفاده توام *پدیکوکوس اسیدی لاکتیکی* و سدیم آلژینات در جیره غذایی Sea bass [۱۱] و پتاسیم سوربات و پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس کازیی* در ماهی *Oncorhynchus mykiss* در بهبود فلورمیکروبی روده به اثبات رسیده است [۵۵].

استفاده اسید لاکتیک در ترکیب با پروتکسین بیشترین تاثیر را در افزایش سطح شاخص های لیزوزیم و کمپلمان نشان داد که احتمالا به دلیل افزایش باکتری های مفید روده باشد. نتایج حاصل از تحقیقات پیشین اثر هم افزایی استفاده توام اسید اسکوربیک و *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* در قزل آلا [۵۵]، پروتکسین و اسید بوتریک در نیل تیلاپیا [۴۹] و سدیم دی فورمات و پروبیوتیک بیوآکوا در جیره *Salmo trutta caspius* [۳۷] را نشان می دهد. وجود نتایج متفاوت در تیمارهای مختلف در تحقیق موجود می تواند ناشی از تفاوت در گونه و اندازه ماهی، دوز و نوع اسید آلی و پروبیوتیک مورد استفاده باشد [۳۸].

نتیجه گیری کلی

نتیجه حاصل از این تحقیق نشان داد افزودن اسید لاکتیک موجب افزایش رشد، افزایش باکتری های اسید لاکتیک روده تاسماهی سیبری می شود. ترکیب اسید لاکتیک با پروتکسین منجر به اثر هم افزایی بر باکتری های روده، و افزایش رشد شد. افزودن اسید لاکتیک به جیره باعث بهبود ترکیب بدن (افزایش پروتئین و کاهش چربی لاشه) شد. جیره های ترکیبی این اسید آلی با پروتکسین باعث بهبود ترکیب لاشه نسبت به استفاده مجزای این اسید آلی شد. اسید لاکتیک به تنهایی تاثیر چندانی بر شاخص های ایمنی نداشت ولی در ترکیب با پروتکسین موجب افزایش شاخص های لیزوزیم و کمپلمان شد. به طور کلی استفاده مجزا و ترکیبی اسید لاکتیک (۲ درصد) با پروتکسین (۰/۰۱ درصد معادل 2×10^{8} CFU/g) در غذای ماهی سیبری موجب بهبود عملکرد این ماهی گردید.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از دانشگاه تربیت مدرس به جهت پشتیبانی مالی و از زحمات پرسنل انستیتو ماهیان خاویاری رشت برای کمک در انجام کارهای کارگاهی و به جهت تامین بچه ماهی کمال تشکر و سپاس به عمل می آید.

منابع

[1] Matyar F, Dincers S, Kaya A, Colak O. Prevalence and resistance to antibiotics in Gram negative bacteria isolated from retail fish in Turkey. Annals of microbiology. 2004, 54(5) 151-160.

[2] Cabello FC, Godfrey HP, Tomova A, Ivanova L, Dolz H, Millanao A, Buschmann AH. Antimicrobial use in aquaculture re-examined: its relevance to antimicrobial resistance and to animal and human health. Environmental microbiology. 2013,15(1) 1917–1942.

[3] Pathak SP, Gopal K. Occurrence of antibiotic and metal resistance in bacteria from organs of river fish. Environmental Research. 2005, 98(8) 100-103.

[4] Castanon, JIR. History of the Use of Antibiotic as Growth Promoters in European Poultry Feeds. Poultry Science. 2007, 86(11) 2466-2471.

[5] Luckstadt C. The use of acidifiers in fish nutrition. CAB Rev 2008, 3:1–8

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-12-22]

[6] Ng WK, Koh CB, Sudesh K, Siti-Zahrah A. 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. 2009, 40:1490–1500.
[7] Van Dam H. Organic acids and their salts. Feed Mix. 2006, 14:28–31.
[8] Kumar P, Jain KK, Sardar P, Sahu NP, Gupta S. Dietary supplementation of acidifier: effect on growth performance and haemato-biochemical parameters in the diet of *Cirrhinus mrigala* juvenile. Aquaculture international. 2017, 25: 2101–2116.
[9] Merrifield DL, Bradley G, Baker RTM, Davies SJ. Probiotic applications for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum). Effects on growth performance, feed utilization, intestinal microbiota and related health criteria post antibiotic treatment. Aquaculture nutrition. 2010,16:496–503
[10] Ng WK, Ling LC, Romano N, Kua BC. Dietary short-chain organic acids enhanced resistance to bacterial infection and hepatopancreatic structural integrity of the giant freshwater pawn, *Macrobrachium rosenbergii*. International aquaculture research. 2017, 9:293–302.
[11] Ashouri G, Soofiani NM, Hoseinifar SH, Jalali SAH, Morshedie V, Valinassab T, Bagheri D, Doanh HV, Mozanzadeh MT, Carnevali O. Influence of dietary sodium alginate and *Pediococcus acidilactici* on liver antioxidant status, intestinal lysozyme gene expression, histomorphology, microbiota, and digestive enzymes activity, in Asian sea bass (*Lates calcarifer*) juveniles. Aquaculture. 2020, 518:734638.
[12] Lazado C, Caipang CMA, Brinchmann MF, Kiron V. In vitro adherence of two candidate probiotics from Atlantic cod and their interference with the adhesion of two pathogenic bacteria. Veterinary microbiology. 2011, 148:252–259.
[13] Alishahi M, Tulaby Dezfuly Z, Mohammadian T, Mesbah M. Effects of two probiotics, *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus bulgaricus* on growth performance and intestinal lactic acid bacteria of *Cyprinus Carpio*. Iranian Journal of veterinary medicine. 2018, 12:207–218.
[14] Dawood MAO, Magouz FI, Salem MFI, AbdelDaim HA. Modulation of digestive enzyme activity, blood health, oxidative responses and growth-related gene expression in GIFT by heat-killed *Lactobacillus plantarum* (L-137). Aquaculture. 2019, 505:127–136.
[15] Ringø E. Effects of dietary lactate and propionate on growth and digesta in Arctic charr, *Salvelinus alpinus* (L.). Aquaculture. 1991, 96:321–333.
[16] Gislason G, Olsen RE, Ringø E. Lack of growth-stimulating effect of lactate on Atlantic salmon, *Salmo salar* L. Aquaculture and Fisheries Management. 1994, 25: 861–2.
[17] Vielma J, Lall SP. Dietary formic acid enhances apparent digestibility of minerals in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Aquaculture Nutrition. 1997, 3:265–8.
[18] Vielma, J., Ruohonen, K., Lall, SP. 1999. Supplemental citric acid and particle size of fish bone-meal influence the availability of minerals in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Aquaculture Nutrition, 5:65–71.
[19] Matani Bour HA, Esmaeili M, Abedian Kenari A. Growth performance, muscle and liver composition, blood traits, digestibility and gut bacteria of beluga (*Huso huso*) juvenile fed different levels of soybean meal and lactic acid. Aquaculture nutrition. 2018, 24:1361–1368.
[20] Khoshhava M.B, Abedian Kenari A, Mirzakhani M. K. The effects of concurrent of citric acid and soybean-based diets on growth performance, body composition, haemobiochemical indices, digestibility and fatty acid profile in juvenile rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Aquaculture Nutrition. 2021, 27: 1671‐1682.
[21] Zare R, Abedian Kenari A, Yazdani Sadati M. Influence of dietary acetic acid, protexin (probiotic), and their combination on growth performance, intestinal microbiota, digestive enzymes, immunological parameters, and fatty acids composition in Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*, Brandt, 1869). Aquaculture international. 2021, 29: 891-910.
[22] Firouzbakhsh F, Noori F, Khalesi MK, Jani-Khalili K. Effects of a probiotic, protexin, on the growth performance and hematological parameters in the Oscar (*Astronotus ocellatus*) fingerlings. *Fish Physioogy and Biochemistry*. 2011, 37(4) 833-842.
[23] El–Gohary MS, Diab AM. Some Studies on the Effect of Protexin on Immune Status of Cultured Seabass Fingerlings. *Alexandria Journal of Veterinary Sciences*. 2014, 41(3) 109-119.
[24] Merrifield D, Bradley G, Harper G, Baker R., Munn C, Davies S. Assessment of the effects of vegetative and lyophilized *Pediococcus acidilacticion* on growth, feed utilization, intestinal colonization and health parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum). Aquacalture nutrition. 2011, 17(5) 73-79.
[25] Ashouri G, Soofiani NM, Hoseinifar SH, Jalali SAH, Morshedie V, Valinassab T, Bagheri D, Doanh HV, Mozanzadeh MT. Combined effects of dietary low molecular weight sodium alginate and *Pediococcus acidilactici* on growth performance, haematological and innate immune responses of Asian sea bass (*Lates calcalifer*) juveniles. Fish and Shellfish Immunology. 2018, 79(6) 34-41.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-12-22]

[26] AOAC. 1995. *Official methods of analysis of the association official analytical chemists,* In: Cunnil, PA., ed. 16th ed. Arlington, USA: AOAC International.
[27] Mahious AS, Gatesoupe FJ, Hervi M, Metailler R, Ollevier F. Effect of dietary inulin and oligosaccharides as prebiotics for weaning turbot (*Psetta maxima*). Aquaculture international. 2006, 14(5) 219–229.
[28] Baruah K, Pal AK, Sahu NP, Jain KK, Mukherjee S.C, Debnath D. Dietary protein level, microbial phytase, citric acid and their interactions on bone mineralization of *Labeo rohita* (Hamilton) juveniles. Aquaculture research. 2005, 36(6) 803–812.
[29] Wuertz S, Lutz I, Gessner J, Loeschau P, Hogans B, Kirschbaum F, Kloas W. The influence of rearing density as environmental stressor on cortisol response of shortnose sturgeon (*Acipenser brevirostrum*). Applied Ichthyology. 2006, 22(3) 269-273.
[30] Yano T. Assays of Hemolytic Complement Activity. In: Stolen, JS., Fletcher, TC., Anderson, DP., Kaattari, SL., Rowley, AF, eds. Techniques in Fish Immunology. S.O.S Publication, Fair Haven:NJ. 1992, 131–141.
[31] De Wet L. Organic acids as performance enhancers. *Aqua Feeds: Formulation and beyond*. 2005, 2(2) 12–14.
[32] Khajepour F, Hosseini SA. Citric acid improves growth performance and phosphorus digestibility in Beluga (*Huso huso*) fed diets where soybean meal partly replaced fish meal. *Animal* Feed sciences and technology. 2012, 171(11) 68–73.
[33] Hossain MA, Pandey A, Satoh S. Effects of organic acids on growth and phosphorus in red sea bream *Pagrus major*. Fisheries sciences. 2007, 73(6) 1309–1317.
[34] Tabrizi JM, Barzeghar A, Farzampour S, Mirzaii H, Safarmashaei S. Study of the effect of prebiotic (*Saccharomyces cerevisiae*) and acidifier on growth parameters in grower's rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Annuls biology research. 2012, 3(4) 2053-2057.
[35] Najdegerami EH, Baruah K, Shiri A, Rekecki A, Broeck WVD, Sorgeloos P, Boon N, Bossier P, De Schryver P. Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*) larvae fed Artemia nauplii enriched with poly-b-hydroxybutyrate (PHB): effect on growth performance, body composition, digestive enzymes, gut microbial community, gut histology and stress tests. Aquaculture research. 2013, 46(4) 801-812.
[36] Alizade H, Ouraji H, Falahatkar B, Efatpanah I. Effect of dietary Malic acid on growth performance and body composition of juvenile Siberian sturgeon (*Acipenser baerii* Brandt, 1869). Iranian Journal of Fisheries Sciences. 2018, 27(7) 1-12.
[37] Kalantarian SH, Mirzargar SS, Rahmati-Holasoo H, Sadeghinezha DJ, Mohammadian T. Effects of oral administration of acidifier and probiotic on growth performance, digestive enzymes activities and intestinal histomorphology in *Salmo trutta caspius* (Kessler, 1877). Iranian Journal of Fisheries Sciences. 2020, 19(3) 1532-1555.
[38] Luckstadt C. The use of acidifiers in fish nutrition. CAB Reviews. 2008, 3(3) 1–8.
[39] Mahmoudi K, Zamini AA, Yazdsni MA, Kazemi R, Jalilipour J. Effect of protexin probiotic product on some growth parameters and body composition of the cultured Siberian (*Acipenser baeri*). Fisheries. 2012, 5(5) 39-48.
[40] Asadian M, Shahsavani D, Kazerani HR. Growth promoting effects of a multi-strain probiotic on common carp (*Cyprinus carpio*) fingerlings. Iran Journal of Veterinary Sciences and Technology. 2015, 7(7) 63-74.
[41] Ahmed HA,Sadek KM. Impact of Dietary Supplementation of Sodium Butyrate and/or Protexin on the Growth Performance, Some Blood Parameters, and Immune Response of *Oreochromis Niloticus*. International Journal of Agricultural Researches. 2014, 3(5) 985-991.
[42] Wang YB, Tian ZQ, Yao JT, Li WF. Effect of probiotics, *Enteroccus faecium*, on tilapia (*Oreochromis niloticus*) growth performance and immune response. Aquaculture. 2008, 277(7) 203–207.
[43] Hooshyar Y, Abedian Kenari A, Paknejad H, Gandomi H. Effects of *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 7469 on Different Parameters Related to Health Status of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) and the protection Against *Yersinia ruckeri*. Probiotics and Antimicrobial Proteins. 2020, 12 (3) 1370–1384.
[44] Abdel-Tawwab M, Adeshina I, Jenyo-Oni A, Ajani E.K, Emikp B.O. Growth, physiological, antioxidants, and immune response of African catfish, *Clarias gariepinus* (B.), to dietary clove basil, *Ocimum gratissimum*, leaf extract and its susceptibility to *Listeria monocytogenes* infection. Fish and Shellfish Immunology. 2018, 78(1) 346–354.
[45] Neissi G, Rafiee M, Nematollahi M, Safari O. The effect of *Pediococcus acidilactici* bacteria used as probiotic supplement on the growth and non-specific immune responses of green terror, *Aequidens rivulatus*. Fish and Shellfish Immunology. 2013, 35(5) 1976–1980.
[46] Hassaan MS, Soltan MA, Jarmołowicz S, Abdo HS. Combined effects of dietary malic acid and *Bacillus subtilis* on growth, gut microbiota and blood parameters of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Aquaculture Nutrition. 2016, pp1–11.
[47] Hai NV. The use of probiotics in aquaculture. *Appllied Microbiology*. 2015, 119(9) 917-93.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-12-22]

[48] Fazio F, Marafioti S, Arfuso F, Piccione G, Faggio C. Influence of different salinity on haematological and biochemical parameters of the widely cultured mullet *Mugil cephalus*. Marine and Freshwater Behaviour and Physiology. 2013, 46(6) 211-218.
[49] Ahmed HA,Sadek KM. Impact of Dietary Supplementation of Sodium Butyrate and/or Protexin on the Growth Performance, Some Blood Parameters, and Immune Response of *Oreochromis Niloticus*. International Journal of Agricultural Researches. 2014, 3(5) 985-991.
[50] Jami MJ, Abedian Kenari A, Paknejad H, Mohseni M. Effects of dietary b-glucan, mannan oligosaccharide, *Lactobacillus plantarum* and their combinations on growth performance, immunity and immune related gene expression of Caspian trout, *Salmo trutta caspius* (Kessler, 1877). Fish and Shellfish Immunology. 2019, 91(5) 202-208.
[51] Freitag M. Organic acids and salts promote performance and health in animal husbandry. In: Luckstadt, C., ed. *Acidifiers in Animal Nutrition; A Guide for Feed Preservation and Acidification to Promote Animal Performance.* 1st ed, Nottingham University Press, Nottingham, UK. 2007, pp: 1–11.
[52] Sugiura SH, Roy PK, Ferraris RP. Dietary acidification enhances phosphorus digestibility but decreases H+ /K+ ATPase expression in rainbow trout. Experimental Biology. 2006, 209(9) 3719–3728.
[53] Castillo S, Rosales M, Pohlenz C, Delbert M. Effects of organic acids on growth performance and digestive enzyme activities of juvenile red drum *Sciaenops ocellatus*. Aquaculture. 2014, 433(3) 6–12.
[54] Ma C, Cho Y, Oh KH. Removal of pathogenic bacteria and nitrogens by *Lactobacillus* spp. JK8 and JK-11. Aquaculture. 2009, 287(7) 266–270.
[55] Jafarnodeh A, Tukmechi A, Najd Grami E.H, Hajimoradlo A.M, Noori F. Study of synergistic Effects of potassium- sorbate and Lactobacillus casei on the activity of digestive enzymes, intestinal Histomorphology and resistance against pathogenic bacteria (*Yersinia ruckeri*) in rainbow trout fry (*Oncorhynchus mykiss*). Journal of applied ichthyological research. 2020, 8 (2):51-59.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-12-22]

Journal of Fisheries Science and Technology
Volume13, Issue 2, Spring 2024
Pages: 60-76

Evaluation of Growth, body composition, gut bacteria and immune parameters of Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*) fed with lactic acid and probiotic Protexin dietary supplements

Rasool Zare [1] & Abdolmohammad Abedian Kenari[1*]

Aquaculture Department, Natural Resources & Marine Sciences Facultuy, Tarbiat Modares University, Mazandaran, Noor, Iran.

A B S T R A C T

The use of probiotics and organic acids is an ideal and suitable alternative to antibiotics in aquaculture. Currently, there is not enough knowledge about the specific and combined effects of these additives in the diet of sturgeon. Therefore, the aim of this research was to evaluate the use of lactic acid and probiotic supplements (Protexin) and their combination in the diet of Siberian sturgeon (Acipenser baerii). Therefore, 160 healthy fish with an average body weight of 54.85 ± 0.36 grams were randomly divided into 4 experimental groups in 3 replicates. Fish were fed four diets including a control diet without additives (diet 1), a control diet with 2% lactic acid (diet 2), a control diet with a combination of 2% lactic acid and 0.01% Protexin (diet 3), and a control diet with 0.01% Protexin (diet 4). Fish were fed three times a day to satiation for 9 weeks. At the end of the experiment, growth and physiological parameters were measured. The results showed that lactic acid alone and in combination with Protexin increased body weight and specific growth rate. The feed conversion ratio decreased in treatments where lactic acid was used alone or in combination with Protexin ($P<0.05$). Mortality rates were zero in all treatments during the experimental period. The carcass protein of Siberian sturgeon in diets supplemented with a combination of lactic acid and Protexin showed significant improvement compared to other groups ($P<0.05$). Addition of lactic acid and Protexin either separately or in combination led to a decrease in carcass fat content ($P<0.05$). The lowest intestinal pH was observed in the diet supplemented with lactic acid along with Protexin, while the highest was in the control group. Additionally, the total number of lactic acid bacteria in the intestines of fish fed with lactic acid along with Protexin showed a significant increase compared to other treatments ($P<0.05$). The combined addition of lactic acid with Protexin significantly increased lysozyme and complement activity in fish blood ($P<0.05$). In general, the separate and combined use of lactic acid (2 %) and Protexin (0.01 %) in the diet of Siberian sturgeon improved the performance of this fish.

KEYWORDS: Organic Acids, Beneficial Bacteria, Growth, Immune, Siberian Sturgeon.

ARTICLE TYPE

Original Research

ARTICLE HISTORY

Received: 1 May 2024
Accepted: 4 June 2024
ePublished: 9 June 2024

* Corresponding Author:
Email address: aabedian@modares.ac.ir
Tel: 01144998000
© Published by Tarbiat Modares University
ISSN: 2322-5513

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-12-22]