Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics

Online ISSN: 2345-427X
Print ISSN: 2345-4288

The effect of simultaneous use of lactic acid and probiotic (*Lactobacillus acidophilus*) on some parameters of growth, carcass quality, and blood parameters in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)

Mohsen Soleymani Iraee[1], Hosein Oraji[*2], Sakineh Yeganeh[3]

1. Dept. of Fisheries, Faculty of Animal Sciences and Fisheries, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran. E-mail: keyvan6262@gmail.com
2. Corresponding Author, Dept. of Fisheries, Faculty of Animal Sciences and Fisheries, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran. E-mail: h.oraji@sanru.ac.ir
3. Dept. of Fisheries, Faculty of Animal Sciences and Fisheries, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran. E-mail: s.yeganeh@sanru.ac.ir

Article Info

Article type:
Full Length Research Paper

Article history:
Received: 08.01.2022
Revised: 08.25.2022
Accepted: 11.11.2022

Keywords:
Growth,
Lactic acid,
Probiotic (*Lactobacillus acidophilus*),
Rainbow trout

ABSTRACT

Growth is a very important factor in economic efficiency of fish breeding farms, so its increasing can improve the fish ponds conditions. For this purpose and for studying the synergistic effects of different amounts of lactic Acid and probiotic *lactobacillus acidophilus* on growth function, corpse quality and some blood factors of *Oncorhynchus mykiss*; 540 fishes with average weight of 15.4 ± 1.2 gr in 9 treatments with 3 repetitions were feed by trial food ration in 8 weeks including Experimental diets include treatment D1 (commercial food without additives), treatment D2 and D3 (diet containing 10^7 and 10^9 CFU/g of probiotics respectively), treatment D4 and D5 (diet containing 0.5% and 1% of feed lactic acid, respectively) treatment D6 and D7 (diet containing respectively 10^7 and 10^9 CFU/g of probiotics along with 0.5% of feed lactic acid), treatment D8 and D9 (diet containing respectively 10^7 and 10^9 CFU/g of probiotics along with 1% of feed acid lactic) were placed. The results showed that the most final weight; weight growth percentage, specific growth, protein efficiency and qualification factor was existed meaning fully in D8, D9 treatment and specially in D9. Conversion factor in D9, treatment was recorded lower than other treatments ($P<0.05$). No significant difference was recorded in fat, protein, ash and humidity amounts between treatments ($P>0.05$). The hematocrit level and white blood numbers in D8 and D9 treatments were more than other treatments ($P>0.05$) but there was no significant difference in red blood and hemoglobin numbers ($P>0.05$). In total, the results showed that due to the synergistic efficiency of lactic acid and probiotic (*Lactobacillus acidophilus*) together, the use of a ration containing 109 CFU/g of probiotic along with 1% of lactic acid feed in the diet of rainbow trout improved the Growth conditions, carcass composition, and some blood parameters of fish.

Cite this article: Soleymani Iraee, Mohsen, Oraji, Hosein, Yeganeh, Sakineh 2023. The effect of simultaneous use of lactic acid and probiotic (*Lactobacillus acidophilus*) on some parameters of growth, carcass quality, and blood parameters in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics*, 12 (2), 117-131.

© The Author(s).
DOI: 10.22069/japu.2022.20480.1694
Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

نشریه بهره‌برداری و پرورش آبزیان

شاپا آنلاین: ۲۳۴۵-۴۲۷X
شاپا چاپی: ۲۳۴۵-۴۲۸۸

تأثیر استفاده هم‌زمان اسید لاکتیک و پروبیوتیک (*Lactobacillus acidophilus*) بر برخی معیارهای رشد، کیفیت لاشه و پارامترهای خونی در ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

محسن سلیمانی ایرائی[۱]، حسین اورجی*[۲]، سکینه یگانه[۳]

۱. گروه شیلات، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران. رایانامه: keyvan6262@gmail.com

۲. نویسنده مسئول، گروه شیلات، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران. رایانامه: h.oraji@sanru.ac.ir

۳. گروه شیلات، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران. رایانامه: s.yeganeh@sanru.ac.ir

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:
مقاله کامل علمی- پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۵/۱۰
تاریخ ویرایش: ۱۴۰۱/۰۶/۰۳
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۸/۲۰

واژه‌های کلیدی:
اسید لاکتیک،
پروبیوتیک (*Lactobacillus acidophilus*)
رشد،
قزل‌آلای رنگین‌کمان

چکیده

رشد یک عامل بسیار مهم در بازدهی اقتصادی مزارع پرورش ماهی می‌باشد که افزایش آن می تواند به بهبود شرایط در استخرها بیانجامد. برای این منظور و در جهت بررسی اثرات هم‌افزایی سطوح مختلف اسید لاکتیک و پروبیوتیک (*Lactobacillus acidophilus*) بر عملکرد رشد، کیفیت لاشه و برخی فاکتورهای خونی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) تعداد ۵۴۰ قطعه ماهی با متوسط وزن ۱/۲ ± ۱۵/۴ گرم در ۹ تیمار با سه تکرار به مدت هشت هفته تحت تغذیه با جیره‌های آزمایشی شامل تیمار D1 (غذای تجاری فاقد افزودنی)، تیمار D2 و D3 (جیره حاوی به ترتیب 10^7 CFU/g و 10^9 پروبیوتیک)، تیمار D4 و D5 (جیره حاوی به ترتیب ۰/۵ و ۱ درصد خوراک اسید لاکتیک)، تیمار D6 و D7 (جیره حاوی به ترتیب 10^7 CFU/g و 10^9 پروبیوتیک به همراه ۰/۵ درصد خوراک اسید لاکتیک)، تیمار D8 و D9 (جیره حاوی به ترتیب 10^7 CFU/g و 10^9 پروبیوتیک به همراه ۱ درصد خوراک اسید لاکتیک) قرار گرفتند. نتایج نشان داد که بیش‌ترین میزان وزن نهایی، درصد رشد وزنی و رشد ویژه به‌صورت معنی‌داری در تیمارهای D8 و D9 و به‌خصوص در تیمار D9 و تحت‌تأثیر متقابل اسید لاکتیک و پروبیوتیک بود ($P<0/05$). ضریب تبدیل در تیمار D9 کم‌تر از سایر تیمارها ثبت گردید ($P<0/05$). هم‌چنین نتایج نشان داد که اثر متقابل اسید آلی و پروبیوتیک هیچ اختلاف بر مقادیر چربی، پروتئین، خاکستر و رطوبت معنی‌دار نبود ($P>0/05$). اما به‌طور معنی‌داری موجب افزایش مقادیر هماتوکریت و تعداد گلبول‌های سفید در تیمار D8 و D9 گردید ($P<0/05$) ولی در مقادیر گلبول قرمز و هموگلوبین هیچ تفاوت معنی‌داری مشاهده نگردید ($P>0/05$). در مجموع نتایج نشان داد که

با توجه به بازدهی هم‌افزایی اسید لاکتیک و پروبیوتیک (*Lactobacillus acidophilus*) در کنار هم، استفاده از جیره حاوی 10^9 CFU/g پروبیوتیک به همراه ۱ درصد خوراک اسید لاکتیک در جیره غذایی ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان موجب بهبود شرایط رشد، ترکیب لاشه و برخی پارامترهای خونی ماهی می‌گردد.

استناد: سلیمانی ایرائی، محسن، اورجی، حسین، یگانه، سکینه (۱۴۰۲). تأثیر استفاده هم‌زمان اسید لاکتیک و پروبیوتیک (*Lactobacillus acidophilus*) بر برخی معیارهای رشد، کیفیت لاشه و پارامترهای خونی در ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). *نشریه بهره‌برداری و پرورش آبزیان*، ۱۲ (۲)، ۱۳۱-۱۱۷.
DOI: 10.22069/japu.2022.20480.1694

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

© نویسندگان.

مقدمه

امروزه با توجه به روند روزافزون افزایش جمعیت نیاز به منابع پروتئینی بیش‌تر شده است که در میان آبزیان و آبزی پروری نقش به‌سزایی دارند (۱). با توجه به این افزایش نیاز، فعالیت‌های بخش آبزی‌پروری محتاج به افزایش تولید و بهره‌وری در جهت سوددهی بیش‌تر است (۲). بیش از ۷۰ درصد هزینه مزارع پرورش ماهی را جیره‌های غذایی تشکیل می‌دهند. هر گونه بهبود کارایی جیره غذایی می‌تواند در هزینه‌های نهایی و سودآوری مزارع اثربخش باشد (۳). یکی از روش‌های افزایش بهره‌وری در مزارع استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها طی دوره پرورش است که استفاده از آن معایب بسیاری چون مقاومت گونه بیماری‌زا در انسان و ماهی و نیز آلودگی محیط را به‌دنبال دارد (۴، ۵). امروزه راهکارهای فراوانی برای جایگزینی آنتی‌بیوتیک‌ها در مزارع پیشنهاد شده است که یکی از آن‌ها استفاده از مکمل‌های تقویت‌کننده سیستم ایمنی و فراهم‌کننده رشد که سبب مقاومت ماهی در برابر شرایط استرس‌زا نیز می‌شوند در ماهیان می‌باشد (۶). از جمله این مکمل‌های جایگزین می‌توان به پروبیوتیک‌ها و اسیدهای آلی اشاره کرد (۷). اسیدهای آلی ترکیباتی حاوی یک یا چند ساختار کربوکسیلیک (-COOH) هستند که به‌عنوان بهبوددهنده سلامت ماهی و عملکرد ماهی از طریق اثرگذاری بر مدولاسیون میکروفلور روده، فعال شدن پپسین، ترشح پانکراس و افزایش قابلیت هضم پروتئین در جیره غذایی ماهیان به‌کار می‌روند (۸، ۹). مطالعات فراوانی از اثربخشی استفاده از اسیدهای آلی در پرورش Nile tilapia (۱۰)، *Labeo rohita* (۱۱) و *Acanthopagrus latus* (۱۲) گزارش داده‌اند.

از نظر لغوی ریشه کلمه پروبیوتیک یونانی است، اما در واقع این کلمه متشکل از پیشوند لاتین "پرو" و کلمه یونانی باستانی "بایوس" است، ترکیبی لفظی که به معنای "برای زندگی" است. سازمان جهانی بهداشت، این اصطلاح را به ارگانیسم‌های زنده‌ای اطلاق می‌کند که در صورت مصرف به میزان لازم، اثرات سلامت‌بخشی برای میزبان خود فراهم آورند (۱۳). استفاده از پروبیوتیک‌ها در جیره غذایی ماهیان می‌تواند اثرات مفیدی هم‌چون افزایش عملکرد رشد، افزایش کارایی خوراک از طریق بهبود فرایند جذب، افزایش سنتز پروتئین، بهبود مورفولوژی روده، بهبود میکروبیوتای روده، افزایش آنزیم‌های گوارشی، محدود کردن باکتری‌های بیماری‌زا توسط مواد بازدارنده تولیدی و تقویت پاسخ ایمنی و القای سایتوکین‌های پیش التهابی به دنبال داشته باشد (۱۴، ۱۵، ۱۶). طیف وسیعی از باکتری‌ها در فرآورده‌های پروبیوتیکی مورد استفاده قرار می‌گیرند که در این بین لاکتوباسیلوس‌ها از مهم‌ترین گروه‌ها محسوب می‌شوند (۱۷). اما با این وجود باکتری‌ها در محیط گوارش به دلیل توانایی پایین مقاومت در برابر شرایط و ماندگاری کم، کارایی خود را تا حد زیادی از دست می‌دهند (۱۸). اسیدهای آلی با تغییر در شرایط اسیدیته روده محیط را برای فعالیت باکتری‌های پروبیوتیک فراهم نموده و سبب بهبود عملکرد آن‌ها در سلامت و رشد ماهی می‌گردند (۱۹) که این مسأله در بررسی‌های مختلف مانند اسیدیفر و پروبیوتیک در ماهی *Salmotrutta caspius* (۲۰)، بوتریات و پروبیوتیک بر بقای میگوی سفید (۲۱)، اسیدهای آلی میکروکپسوله در بر فاکتورهای زیستی میگوی سفید (۲۲)، افزایش مقاومت و امینی ماهی روهو با استفاده از پروبیوتیک *Lactobacillus plantarum* (۲۳) مورد تأکید قرار گرفته است. با توجه

به مطالعات انجام شده و عدم وجود گزارش‌های مطالعاتی کافی مبنی بر تأثیر هم‌افزایی سطوح مختلف اسید لاکتیک و پروبیوتیک (*Lactobacillus acidophilus*)، پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر استفاده توأم این دو ترکیب بر عملکرد رشد، ترکیب لاشه و برخی فاکتورهای خونی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

تیمارهای مورد آزمایش: مطالعه حاضر از تاریخ ۱۳۹۸/۲/۱۵ لغایت ۱۳۹۸/۴/۱۵ به مدت دو ماه انجام گرفت. برای این منظور تعداد ۵۴۰ قطعه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) با میانگین وزن ۱/۰۵ ± ۱۰ گرم تهیه و در مرکز پرورش ماهیان سردآبی قزل کوهپایه واقع در جاده هراز آمل منتقل شدند. ماهیان خریداری شده از نظر بیماری‌های احتمالی و عدم وجود ضایعات مورد ارزیابی بالینی قرار گرفتند و سپس به مدت ۲ هفته اجازه داده شد تا با شرایط آب و محیطی تأسیسات سازگار شوند و طی آن ماهی‌ها با ۲ درصد وزن بدن با جیره غذایی تجاری (کارخانه فرادانه) حاوی ۱۳ درصد چربی، ۲۸ درصد کربوهیدرات، ۳۸ درصد پروتئین، ۱۲ درصد خاکستر، ۲ درصد فیبر و ۱ درصد فسفر تغذیه شدند. سپس ماهی‌ها (۱/۲ ± ۱۵/۴ گرم) به‌طور تصادفی در ۲۷ حوضچه بتنی مستطیلی (۱ مترمکعب) با ورودی آب ۲ لیتر در ثانیه و ۲۰ ماهی در هر استخر (۶۰ ماهی در هر تیمار) توزیع شدند. خواص فیزیکوشیمیایی آب، یعنی مقادیر متوسط اکسیژن ۰/۱۱ ± ۸/۷۳ میلی‌گرم در لیتر، دما ۱ ± ۱۳/۲۲ درجه سانتی‌گراد و اسیدیته ۰/۲۱ ± ۷/۵۵ با دستگاه مانیتورینگ قابل حمل اندازه‌گیری شد.

تهیه پروبیوتیک: پروبیوتیک مورد استفاده در این پژوهش پروبیوتیک *Lactobacillus acidophilus* از خانواده لاکتوباسیلوس‌ها از شرکت پیشگامان ایرانیان تهیه گردید. به منظور فعالسازی باکتری‌های موردنظر، ترکیب پروبیوتیک تهیه شده را به محیط کشت MRS broth اضافه کرده و به مدت ۲۴ ساعت در دستگاه آون (ساخت کمپانی BINDER آلمان) قرارداده شد. دمای آون در این مدت ۳۷ درجه سانتی‌گراد تثبیت گردید. پس از توسعه و رشد باکتری‌های محیط کشت با استفاده از سانتریفیوژ یخچالدار (CFP-15000، کره جنوبی) با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و در ۵۰۰۰ دور و با شستشو حذف گردید. سپس در انتها با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر سوسپانسیون باکتریایی با غلظت 10^7 و 10^9 جهت استفاده در جیره های آزمایشی تیمارهای مختلف آماده گردید (۲۳).

تهیه اسید آلی: اسید آلی مورد استفاده در این پژوهش اسید لاکتیک با نام شیمیایی اسید ۲-هیدروکسی پروپانوئیک با درجه خلوص ۹۵ درصد از شرکت سیگا تهیه گردید.

تهیه جیره‌های آزمایشی: برای تهیه جیره‌های آزمایشی از خوراک پایه قزل‌آلای رنگین‌کمان به کار برده شد. جیره‌های آزمایشی مورد استفاده در این مطالعه در جدول ۱ آورده شده است.

جدول ۱- جیره‌های مختلف غذایی مورد استفاده در طول دوره آزمایشی.

نام تیمار	مشخصات
D1	جیره غذایی استاندارد بدون اسید آلی و پروبیوتیک
D2	جیره غذایی استاندارد همراه پروبیوتیک با غلظت 10^7 CFU/g
D3	جیره غذایی استاندارد همراه پروبیوتیک با غلظت 10^9 CFU/g
D4	جیره غذایی استاندارد همراه اسید لاکتیک به میزان ۰/۵ درصد خوراک
D5	جیره غذایی استاندارد همراه اسید لاکتیک به میزان ۱ درصد خوراک
D6	جیره غذایی استاندارد همراه پروبیوتیک با غلظت 10^7 CFU/g و اسید لاکتیک به میزان ۰/۵ درصد خوراک
D7	جیره غذایی استاندارد همراه پروبیوتیک با غلظت 10^9 CFU/g و اسید لاکتیک به میزان ۰/۵ درصد خوراک
D8	جیره غذایی استاندارد همراه پروبیوتیک با غلظت 10^7 CFU/g و اسید لاکتیک به میزان ۱ درصد خوراک
D9	جیره غذایی استاندارد همراه پروبیوتیک با غلظت 10^9 CFU/g و اسید لاکتیک به میزان ۱ درصد خوراک

جهت افزودن اسید آلی و پروبیوتیک به جیره‌های آزمایشی از اسپری روغن به میزان ۲۰ میلی‌گرم/ کیلوگرم خوراک استفاده گردید (۶). به جیره شاهد تنها روغن خالی اسپری شد. ماهیان در تیمارهای مختلف به میزان ۲ درصد و سه مرتبه در شبانه‌روز (ساعات ۷، ۱۲ و ۱۶) تغذیه گردیدند. حوضچه‌های نگهداری جهت حفظ سلامت و بهداشت ماهیان به‌طور مداوم سیفون و نظافت شدند.

بررسی پارامترهای رشد: در ابتدا و انتهای دوره طول و وزن ماهیان به دقت اندازه‌گیری و ثبت گردید. پارامترهای رشد و تغذیه با استفاده از روابط زیر به‌دست آمد (۱۷، ۲۴).

افزایش وزن بدن (درصد) (WG %) = ((متوسط وزن نهایی به گرم – متوسط وزن ابتدایی به گرم)/ وزن ابتدایی به گرم) × ۱۰۰

ضریب رشد ویژه (SGR) = ((لگاریتم طبیعی متوسط وزن نهایی به گرم – لگاریتم طبیعی متوسط وزن ابتدایی به گرم) / طول دوره به روز) × ۱۰۰

ضریب تبدیل غذایی (FCR) = غذای مصرف شده به گرم / افزایش وزن به دست آمده به گرم

شاخص وضعیت (CF %) = ((افزایش وزن به گرم / طول به سانتی متر^3) × ۱۰۰

ترکیبات تقریبی لاشه: بدین منظور در انتهای آزمایش از هر تانک سه ماهی به‌طور تصادفی انتخاب و پس از حذف باله و دم و چرخ کردن عضله، میزان پروتئین به روش کلدال، چربی از طریق حل کردن آن در اتر و به روش سوکسله، خاکستر از طریق قرار دادن قرار دادن نمونه‌ها در کوره الکتریکی و رطوبت لاشه به

روش خشک کردن نمونه‌ها در آون در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت با استفاده از روش‌های استاندارد (AOAC, 2000) انجام می‌گیرد (۲۵).

سنجش فاکتورهای خونی: در انتهای دوره تحقیقاتی با استفاده از گل میخک ماهیان بیهوش و از هر تکرار ۷ ماهی برداشت و از ساقه دمی آن‌ها اقدام به خونگیری گردید. جهت تعیین شاخص‌های خونی از روش‌های ارائه شده توسط هوستون به شرح زیر استفاده گردید (۲۶).

تعداد گلوبول‌های قرمز و سفید (WB) با استفاده از لام نئوبار، هماتوکریت با استفاده از دستگاه میکروسانتریفیوژ، هموگلوبین با استفاده از کیت هموگلوبین و دستگاه اسپکتروفوتومتر تعیین شدند.

روش‌های آماری: با توجه به این‌که در این مطالعه سه سطح اسید آلی (۰، ۰/۵ و ۱ درصد خوراک) و سه سطح پروبیوتیک (۰، $۱۰^{۷}$و $۱۰^{۹}$ در واحد CFU/g) به‌کار برده شدند تجزیه تحلیل آماری داده‌ها به روش آنالیز واریانس دوطرفه (Two Way ANOVA) و در قالب طرح فاکتوریل (۳ × ۳) انجام گرفت. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون آماری دانکن و در سطح معنی‌داری ۵ درصد ($P<۰/۰۵$) از طریق نرم‌افزارهای SPSS و EXCEL استفاده شد. تمامی داده‌ها به‌صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شدند.

نتایج

پارامترهای رشد: نتایج مقایسه میانگین پارامترهای رشد تیمارهای مختلف در جدول ۲ آورده شده است. همان‌گونه که مشاهده می‌گردد آنالیز واریانس دوطرفه نتایج نشان داد که اثر اصلی اسید آلی، اثر اصلی پروبیوتیک *L. acidophilus* و اثر متقابل آن‌ها بر شاخص‌های وزن نهایی، SGR و درصد افزایش وزن بین تیمارهای آزمایشی دارای اختلاف معنی‌داری بودند ($P<۰/۰۵$). این مقادیر در تیمار D9 بیش‌تر بود. در این تیمار FCR دارای اختلاف معنی‌داری با سایر جیره‌ها و کم‌تر از آن‌ها ثبت گردید. در میزان ثبت شده برای CF هیچ اختلاف معنی‌داری بین تیمارها ثبت نگردید ($P>۰/۰۵$) اما در این بین مقدار فاکتور وضعیت در تیمار D9 بیش‌تر از سایر تیمارها بود.

همان‌طور که در جدول ۳ نیز مشاهده می‌گردد هیچ اختلاف معنی‌داری در آنالیز واریانس دوطرفه نتایج اثر اصلی اسید آلی، اثر اصلی پروبیوتیک *L. acidophilus* و اثر متقابل آن‌ها در بین تیمارها در مقادیر چربی، پروتئین، خاکستر و رطوبت ثبت نگردید ($P>۰/۰۵$).

پارامترهای خونی: همان‌طور که در بررسی برخی پارامترهای خونی مشاهده می گردد (جدول ۴) آنالیز واریانس دوطرفه نتایج نشان داد که اثر اصلی اسید آلی، اثر اصلی پروبیوتیک *L. acidophilus* و اثر متقابل آن‌ها بر شاخص‌های WBC و هماتوکریت بین تیمارهای آزمایشی دارای اختلاف معنی‌داری بودند ($P<۰/۰۵$). میزان هماتوکریت در تیمارهای تغذیه شده با جیره غذایی استاندارد همراه پروبیوتیک با غلظت $۱۰^{۹}$ CFU/g و اسید لاکتیک به میزان ۱ درصد خوراک به‌صورت معنی‌داری بیش از سایر تیمارها ثبت گردید. تیمارهای تغذیه شده با پروبیوتیک و اسید آلی به‌صورت همزمان از تیمارهای شاهد و D2-D5 مقدار بیش‌تری از WBC را به ثبت رسانیدند که در این میان تیماره D9 دارای بالاترین میزان بود. اما در پارامترهای گلبول قرمز و هموگلوبین هیچ تفاوت معنی‌داری بین جیره‌های مختلف ثبت نگردید ($P>۰/۰۵$).

جدول ۲- مقایسه میانگین برخی پارامترهای رشد در ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با جیره‌های غذایی آزمایشی.

تیمارها	باکتری CFU/g	اسید آلی (درصد در خوراک)	وزن اولیه (گرم)	وزن نهایی (گرم)	WG% (g)	SGR	FCR	CF%
D1	۰	۰	۱۵/۷ ± ۰/۹۲	۶۱/۲۳ ± ۲/۱^{a}	۲۹۰/۱ ±۱۶/۲۲^{a}	۲/۲۶ ± ۰/۲۷^{a}	۱/۴۱ ± ۰/۱^{c}	۱/۲۷ ± ۰/۱۸
D2	۱۰^{۷}	۰	۱۶/۱۱±۱/۱۰۲	۶۳/۵ ± ۲/۱۸^{b}	۲۹۴/۱۶±۱۹/۳۶^{b}	۲/۲۸ ±۰/۱۸^{a}	۱/۳۵ ± ۰/۱^{bc}	۱/۲۸ ± ۰/۳۵
D3	۱۰^{۹}	۰	۱۶/۰۲± ۱/۱۲	۶۵/۸۴±۲/۶۸^{c}	۳۱۰/۹۸± ۲۲/۱^{c}	۲/۳۵ ±۰/۲۲^{ab}	۱/۲۹ ± ۰/۱۲^{b}	۱/۳۲ ± ۰/۲۹
D4	۰	۰/۵	۱۵/۸۵± ۰/۷۵	۶۲/۶± ۲/۴۵^{ab}	۲۹۴/۹۵±۱۸/۹^{bc}	۲/۲۸ ± ۰/۱۹^{a}	۱/۳۷ ±۰/۰۸^{bc}	۱/۲۸ ± ۰/۱
D5	۰	۱	۱۵/۹ ± ۱/۱	۶۳/۱۱± ۲/۸^{ab}	۲۹۶/۹۱±۱۷/۴۵^{c}	۲/۲۹ ± ۰/۳۸^{a}	۱/۳۶± ۰/۰۷^{bc}	۱/۳۱ ± ۰/۳۴
D6	۱۰^{۷}	۰/۵	۱۶/۲۱± ۰/۶۷	۶۸/۲۹±۳/۱۲^{d}	۳۲۱/۲۸±۱۸/۶۲^{d}	۲/۳۹± ۰/۰۸^{ab}	۱/۲۴ ± ۰/۱۲^{b}	۱/۳۳ ± ۰/۳۱
D7	۱۰^{۹}	۰/۵	۱۶/۴ ± ۰/۹۵	۷۱/۷۸±۲/۷۵^{e}	۳۳۷/۶۸± ۲۱/۳^{e}	۲/۴۶± ۰/۱۵^{ab}	۱/۱۷± ۰/۰۶^{ab}	۱/۳۴± ۰/۲۵
D8	۱۰^{۷}	۱	۱۵/۶۲ ± ۱/۱	۷۳/۴۵±۳/۳۲^{e}	۳۷۰/۵۳±۲۱/۷^{f}	۲/۵۸ ±۰/۱۲^{b}	۱/۱۳ ±۰/۰۷^{ab}	۱/۳۶ ± ۰/۲۱
D9	۱۰^{۹}	۱	۱۵/۷۹±۱/۱۱۵	۷۶/۰۳± ۳/۰۲^{f}	۳۸۱/۵±۲۴/۲۵^{g}	۲/۶۱ ±۰/۲^{b}	۱/۰۹ ± ۰/۰۴^{a}	۱/۳۸ ± ۰/۲۲
			آنالیز واریانس دوطرفه					
		اثر اصلی اسید آلی	*	*	*	*	Ns	
		اثر اصلی پروبیوتیک *L. acidophilus*	*	*	*	*	Ns	
		اثر متقابل پروبیوتیک و اسید لاکتیک	*	*	*	*	Ns	

همه داده‌ها به صورت میانگین ± خطای استاندارد میانگین (sd) بیان شده‌اند. نتایج با حروف انگلیسی متفاوت در ستون‌های یکسان نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار آماری در بین تیمارها می‌باشند (P<۰/۰۵). در قسمت آنالیز واریانس دوطرفه Ns: عدم اختلاف معنی‌داری و *: اختلاف معنی‌داری در سطح ۰/۵

جدول ۳- مقایسه میانگین ترکیات تقریبی لاشه در ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با جیره‌های غذایی آزمایشی.

تیمارها	باکتری CFU/g	اسید آلی (درصد در خوراک)	چربی	پروتئین	رطوبت	خاکستر
D1	۰	۰	۷/۰۳ ± ۰/۵۳	۱۵/۹۸ ±۱/۷۵	۷۲/۱۱ ± ۵/۱	۳/۱۳ ± ۰/۲۱
D2	۱۰^{۷}	۰	۶/۸۳ ± ۰/۴۴	۱۶/۲۵ ± ۱/۶۷	۷۱/۵۸ ±۴/۱	۳/۱۸ ± ۰/۱۲
D3	۱۰^{۹}	۰	۶/۱۴ ± ۰/۴۴	۱۶/۸۲ ± ۱/۰۱	۷۲/۰۱ ± ۴/۶	۳/۴۸ ± ۰/۲
D4	۰	۰/۵	۶/۶۲ ± ۰/۵۶	۱۷/۰۱ ± ۱/۵	۷۱/۴۱ ± ۵/۴	۳/۱۴ ± ۰/۳
D5	۰	۱	۶/۸۵ ± ۰/۴۱	۱۷/۱۳ ± ۱/۱	۷۱/۱ ± ۳/۸	۳/۷۴ ± ۰/۳۱
D6	۱۰^{۷}	۰/۵	۶/۳۸ ± ۰/۵۲	۱۷/۳۴ ± ۱/۷۵	۷۲/۲۲ ± ۴/۷۵	۳/۱۵ ± ۰/۴
D7	۱۰^{۹}	۰/۵	۶/۸۳ ± ۰/۶۴	۱۶/۳۵ ± ۰/۸۱	۷۲/۶۵ ± ۵/۷۴	۳/۶۳ ± ۰/۱۳
D8	۱۰^{۷}	۱	۶/۸۷ ± ۰/۳۲	۱۷/۶۱ ± ۱/۶۵	۷۱/۹۴ ± ۵/۶۷	۳/۸۶ ± ۰/۴۵
D9	۱۰^{۹}	۱	۶/۰۳ ± ۰/۵۵	۱۷/۹۷ ± ۱/۸۶	۷۱/۸۴ ± ۳/۸۱	۳/۶۴ ± ۰/۵۸
			آنالیز واریانس دوطرفه			
		اثر اصلی اسید آلی	Ns	Ns	Ns	Ns
		اثر اصلی پروبیوتیک *L. acidophilus*	Ns	Ns	Ns	Ns
		اثر متقابل پروبیوتیک و اسید لاکتیک	Ns	Ns	Ns	Ns

همه داده‌ها به صورت میانگین ± خطای استاندارد میانگین (sd) بیان شده‌اند. نتایج با حروف انگلیسی متفاوت در ستون‌های یکسان نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار آماری در بین تیمارها می‌باشند (P<۰/۰۵). در قسمت آنالیز واریانس دوطرفه Ns: عدم اختلاف معنی‌داری و *: اختلاف معنی‌داری در سطح ۰/۵

جدول ۴- مقایسه میانگین برخی پارامترهای خونی در ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با جیره‌های غذایی آزمایشی.

تیمارها	باکتری CFU/g	اسید آلی (درصد در خوراک)	گلبول قرمز	هموگلوبین	هماتوکریت	WBC
D1	۰	۰	۱/۳ ± ۰/۰۵	۹/۱ ± ۱/۱	۳۴/۱ ± ۲/۸^{a}	۲۰/۴۵ ± ۱.۳۸^{a}
D2	$۱۰^{۷}$	۰	۱/۳۲ ± ۰/۰۵	۹/۴۳ ± ۰/۹۸	۳۵/۳۴ ± ۱/۷^{ab}	۲۴/۸۲ ± ۱.۳۵^{c}
D3	$۱۰^{۹}$	۰	۱/۳۵ ± ۰/۰۶	۹/۴۸ ± ۰/۹	۳۵/۰۹ ± ۲/۱^{ab}	۲۶/۳۱ ± ۱.۳۹^{cd}
D4	۰	۰/۵	۱/۳۱ ± ۰/۰۷	۹/۸۱ ± ۱/۱۴	۳۵/۶۴ ± ۱/۸^{b}	۲۲/۸۷ ± ۱/۴۷^{b}
D5	۰	۱	۱/۳۱ ± ۰/۰۶	۹/۷۴ ± ۱/۲	۳۵/۰۴ ± ۱/۴۵^{ab}	۲۲/۳۸ ± ۱/۴۲^{b}
D6	$۱۰^{۷}$	۰/۵	۱/۳۳ ± ۰/۰۴	۹/۷۳ ± ۰/۹۶	۳۵/۹۴ ±۱/۲۲^{bc}	۲۶/۸۵ ± ۱/۵۶^{d}
D7	$۱۰^{۹}$	۰/۵	۱/۳۵ ± ۰/۰۷	۹/۵۷ ± ۰/۷۵	۳۵/۸۹ ± ۲/۹^{bc}	۲۷/۳۴ ± ۱/۵۵^{d}
D8	$۱۰^{۷}$	۱	۱/۳۵ ± ۰/۰۸	۹/۷۲ ± ۰/۰۶	۳۶/۰۳ ± ۱/۵^{bc}	۲۷/۱۲ ± ۱/۴۵^{d}
D9	$۱۰^{۹}$	۱	۱/۴ ± ۰/۰۸	۹/۹۵ ± ۰/۰۲	۳۷/۴۲ ± ۱/۵^{c}	۲۷/۸۱ ± ۱/۵۳^{d}
						آنالیز واریانس دو طرفه
		اثر اصلی اسید آلی	Ns	Ns	*	*
		اثر اصلی پروبیوتیک *L. acidophilus*	Ns	Ns	*	*
		اثر متقابل پروبیوتیک و اسید لاکتیک	Ns	Ns	*	*

همه داده‌ها به صورت میانگین ± خطای استاندارد میانگین (sd) بیان شده‌اند. نتایج با حروف انگلیسی متفاوت در ستون‌های یکسان نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار آماری در بین تیمارها می‌باشند (P<۰/۰۵). در قسمت آنالیز واریانس دوطرفه Ns: عدم اختلاف معنی‌داری و *: اختلاف معنی‌داری در سطح ۰/۵

بحث

پرورش‌دهندگان آبزی با معضلات و مشکلات فراوانی در مزارع خود مواجه هستند که در اکثر مواقع برای مقابله با تلفات ناشی از این معضلات اقدام به مصرف آنتی‌بیوتیک‌های شیمیایی می‌نمایند که در نهایت این امر موجب پیامدهای بهداشتی متعدد در ماهی و انسان می‌گردد. امروزه جهت مقابله با این پیامدها، حذف آنتی‌بیوتیک‌های شیمیایی از مزارع پرورش ماهی، مقابله با عوامل بیماری‌زا، تقویت ایمنی، حذف استرس و بهبود رشد و سلامت ماهی روش‌های مختلفی هم‌چون استفاده از اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی، پروبیوتیک‌ها، اسیدهای آلی و ... به‌کار برده می‌شود (۲۷). همان‌گونه که در مطالعه حاضر مشاهده گردید استفاده هم‌زمان از پروبیوتیک *Lactobacillus acidophilus* و اسید آلی لاکتیک در جیره غذایی ماهیان قزل‌آلای انگشت‌قد موجب بهبود معنی‌دار برخی پارامترهای رشد و خونی در آن‌ها می‌گردد که این بهبود و افزایش در ماهیان تغذیه شده با جیره غذایی حاوی پروبیوتیک با غلظت $۱۰^{۹}$ CFU/g و اسید لاکتیک به میزان ۱ درصد خوراک بیش‌تر از سایر تیمارها ثبت گردید. در مطالعات مختلف بر اهمیت استفاده از پروبیوتیک در رشد و سلامت ماهیان تاکید شده است. چوبکار و همکاران در سال ۱۳۹۷ طی مطالعه‌ای دریافتند که استفاده از جیره غذایی حاوی چهار با 10^{8} CFU/g تأثیر معنی‌داری بر سطح پروتئین لاشه ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان خواهد داشت (۲۸). در مطالعه‌ای دیگر توسط نرگسی و همکاران (۱۳۹۶) بیان شد که افزودن ۲ گرم در کیلوگرم جیره پروبیوتیک بیوآکوا در خوراک ماهی قزل‌آلا موجب افزایش وزن نهایی،

ضریب رشد ویژه و کاهش ضریب تبدیل در آن‌ها می‌گردد (۲۹). نتایج مطالعه‌ای دیگر نشان داد ماهیان قزل‌آلایی که با ۷ درصد وزن غذا لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس باعث افزایش نرخ رشد ویژه و درصد افزایش وزن در بچه‌ماهیان کپور معمولی شد که اختلاف معنی‌داری با شاهد داشت و در پایان دوره پرورش، پروبیوتیک به میزان ۷ درصد وزن غذا باعث افزایش نرخ بازماندگی شد (۳۰). Aisyah و همکاران (۲۰۲۰) در نتایج بررسی خود بیان داشتند که استفاده از سویه‌های باکتری *Saccharomyces*، *Enterobacter*، *Aeromonas* و *Lactococcus* در جیره غذایی ماهیان *Nilasa strain* موجب بهبود فاکتورهای رشد در آن‌ها می‌گردد (۳۱). نتایج مشابهی برای بهبود عملکرد رشد در ماهیان Red Hybrid Tilapia، *Labeo rohita* و *Oreochromis niloticus* با استفاده از سویه‌های مختلف باکتری به‌دست آمده است (۳۲، ۳۳، ۳۴). باکتری‌های پروبیوتیک می‌توانند با ساکن شدن در روده و اتصال به آن اثرات مفید و متعدد خود را اعمال کنند (۳۵). آن‌ها می‌توانند تعادل باکتریایی روده را بهبود ببخشند تولید شمار زیادی از آنزیم‌های هضم‌کننده، از جمله آمیلازها، پروتئازها و لیپازها می‌توانند سبب افزایش فرایند هضم گردد (۳۶). پروبیوتیک‌ها از طریق مکانیسم‌های خاصی مانند تولید ترکیبات مهارکننده، رقابت برای مواد شیمیایی و انرژی موجود و بهبود و افزایش پاسخ ایمنی باعث کاهش عوامل بیماری‌زا و افزایش نرخ بقا در ماهیان می‌شوند (۳۶). یکی دیگر از عملکردهای اثرگذار مطلوب پروبیوتیک‌ها تولید و ترشح انواع ویتامین‌ها، استات و لاکتات بوده که این مواد از طریق جریان خون به کبد منتقل شده و به عنوان مواد غذایی باعث بهبود رشد در میزبان می‌شوند (۳۶). در کل افزایش رشد ماهی در نتیجه استفاده از پروبیوتیک را می‌توان مرتبط با افزایش ساخت و ساز ویتامین‌ها، کوفاکتورها و بهبود فرایند هضم و جذب دانست. در کنار استفاده از پروبیوتیک در جیره غذایی آبزیان استفاده از اسیدهای آلی نیز در مطالعات مختلف موجب بهبود پارامترهای رشد گردیده است (۳۷، ۳۸). در یک آزمایش ۸ هفته‌ای ماهیان *Acanthopagrus schlegelii* در معرض مقادیر ۰/۱ و ۰/۸ درصد جیره اسید آلی lauric قرار گرفتند (۳۹). نتایج نشان داد که استفاده از LA در جیره ماهیان با توجه به یافته‌های این مطالعه، رژیم غذایی مکمل LA به وسیله قابلیت آنتی‌اکسیدانی، میکروبیوتای روده و سلامت روده رشد ماهی را بهبود می‌بخشد. در مطالعه‌ای مشابه ماهیان *Clarias garipenus* به مدت هشت هفته با جیره‌های حاوی ۰، ۲، ۴ و ۶ میلی‌لیتر اسید آلی مرکب از اسید فرمیک و اسید فسفریک در هر کیلوگرم خوراک تغذیه گردیدند (۴۰). در داده‌های به‌دست آمده مشاهده گردید که گروه ماهی تغذیه شده با ۰/۶ درصد اسیدهای آلی بیش‌ترین افزایش وزن کل، نرخ رشد ویژه، بهترین ضریب تبدیل خوراک، نسبت راندمان خوراک و بالاترین راندمان پروتئین را نسبت به بقیه گروه‌های آزمایشی نشان داده‌اند. اسیدهای آلی دارای جایگاه ویژه‌ای در صنعت آبزی‌پروری هستند زیرا با تأثیر بر تعادل باکتریایی روده و بهبود شرایط آنزیمی و هضم موجب افزایش رشد ماهی می‌گردد (۴۱). اسیدهای آلی می توانند با کاهش pH روده و تأثیر بر سیتوپلاسم میکروبی شده و محدود کردن عوامل بیماری‌زای روده سبب افزایش جمعیت مفید باکتری‌های روده میزبان و افزایش کارایی سیستم ایمنی و عملکرد تغذیه‌ای گردند (۴۲). هم‌چنین در اوزان پایین‌تر ماهی به دلیل مصرف بالای خوراک و دریافت فراوان پروتئین میزان غلظت اسید هیدروکلریک معده کاهش یافته که این امر موجب اختلال در

کارکرد آنزیم‌های پپسین و پانکراتیک و در نهایت کاهش هضم غذا و رشد می‌گردد که می‌توان با افزودن اسیدهای آلی به جیره غذایی این معضلات را برطرف نمود (۴۳). لازم به ذکر است سلول‌های اپتلیال روده می‌توانند از انرژی اسیدهای آلی بهره برده و با افزایش رشد بیش‌تر سلول‌های انتروسیت و اندازه ریزپرزها روده سطح جذب و کارایی هضم افزایش پیدا کند (۴۴). در مطالعاتی بیان شده است که اسیدهای آلی می توانند عملکرد پروبیوتیک را در بدن موجود زنده بهبود ببخشند (۴۵، ۴۶، ۴۷). در مطالعه حاضر نیز بیش‌ترین میزان رشد در نمونه‌های تغذیه شده با جیره غذایی حاوی اسید آلی و پروبیوتیک مشاهده گردید که این امر می‌تواند به دلیل فراهم کردن شرایط متعادل برای فعالیت پروبیوتیک‌ها در روده ماهی توسط اسیدهای آلی باشد. ترکیب شیمیایی بدن ماهی به عوامل مختلفی بستگی دارد مانند گونه ماهی، نوع خوراک، مقدار خوراک، درصد تغذیه، فرمولاسیون خوراک و دمای آب (۴۸). در مطالعه ما نیز مقادیر چربی، پروتئین، خاکستر و رطوبت هیچ تفاوت معنی‌داری را بین تیمارها به ثبت نرساندند اما همان‌طور که در نتایج مشاهده گردید تیمار تغذیه شده با پروبیوتیک با غلظت 10^9 CFU/g و اسید لاکتیک به میزان ۱ درصد خوراک کم‌ترین میزان چربی و بیش‌ترین میزان پروتئین عضله را داشت که نشان از کیفیت بهتر آن نسبت به سایر گروه‌ها خواهد بود. پارامترهای خون و تغییرات در مقادیر Hc، RBC، Hb و WBC شاخص‌های مناسب برای ارزیابی سلامت ماهی و ایمنی و بررسی سطح انتقال اکسیژن خون در پاسخ به جایگزینی ترکیبات درمانی شیمیایی با ترکیبات طبیعی می‌باشند (۴۹). نتایج این مطالعه نشان داد که میزان همانوکریت و WBC ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی ترکیبی از اسید آلی و پروبیوتیک به‌صورت معنی‌داری بیش‌تر از سایر تیمارها ثبت گردید. اما در نتایج به‌دست آمده برای گلبول قرمز و هموگلوبین هیچ تفاوت معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نگردید. شاخص‌های خونی در ماهیان می‌تواند تحت‌تأثیر عوامل مختلفی مانند سن، نژاد، گونه، تغذیه، شرایط محیطی، شرایط فیزیولوژیکی، کیفیت جیره غذایی، ترکیبات و میزان پروتئین جیره و ویتامین‌ها و بسیاری عوامل دیگر قرار گیرد (۳۱) و این عوامل می‌توانند موجب تفاوت در مقادیر این پارامترها باشند. در مطالعات مختلفی نتایج نشان داد که استفاده از اسیدهای آلی و پروبیوتیک موجب بهبود پارامترهای خونی و افزایش گلبول سفید در آن‌ها می‌گردد (۲۳، ۳۲، ۳۵).

نتیجه‌گیری

مطالعه حاضر نشان داد که استفاده همزمان از سطوح مختلف اسید آلی لاکتیک و پروبیوتیک *Lactobacillus acidophilus* موجب بهبود پارامترهای رشد و برخی پارامترهای خونی و مقدار WBC در خون ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌گردد. در صنعت آبزی‌پروری بازدهی اقتصادی مزارع و پایین آوردن ضریب تبدیل و بهبود عملکرد رشد از اهمیت بالایی برخوردار است که در نتایج مطالعه حاضر مشاهده گردید افزودن ترکیب مذکور به جیره ماهیان می‌تواند در این امر دخیل باشد. البته نتایج قطعی‌تر برای این مسأله نیازمند مطالعات بیش‌تر و گسترده‌تری می‌باشد.

منابع

1.Henriksson, P. J. G., Troell, M., Banks, L. K., Belton, B., Beveridge, M. C., Klinger, D. H., Pelletier, N., Phillips, M. J., & Tran, J. (2021). Interventions for improving the productivity and environmental performance of global aquaculture for future food security. *One Earth*. 4 (9), 1220-1232.

2.Arechavala-Lopez, P., Cabrera-Álvarez, M. J., Maia, C. M., & Saraiva, J. L. (2021). Environmental enrichment in fish aquaculture: A review of fundamental and practical aspects. *Reviews in Aquaculture*. 14 (2), 704-728.

3.Munguti, J., Obiero, K., Odame, H., Kirimi, J., Kyule, D., Ani, N., & Liti, D. (2021). Key limitations of fish feeds, feed management practices, and opportunities in Kenya's aquaculture enterprise. *African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development*. 21 (2), 17416-17434.

4.Okeke, E. S., Chukwudozie, K. I., Nyaruaba, R., Ita, R. E., Oladipo, A., Ejeromedoghene, O., Atakpa, E. O., Agu, C. V., & Okoye, C. O. (2022). Antibiotic resistance in aquaculture and aquatic organisms: a review of current nanotechnology applications for sustainable management. *Environmental Science and Pollution Research*. 29, 69241-69274.

5.Baba, E., Acar, Ü., Yılmaz, S., Zemheri, F., & Ergün, S. (2018). Dietary olive leaf (*Olea europea* L.) extract alters some immune gene expression levels and disease resistance to *Yersinia ruckeri* infection in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Fish & shellfish immunology*. 79, 28-33.

6.Farsani, M. N., Hoseinifar, S. H., Rashidian, G., Farsani, H. G., Ashouri, G., & Van Doan, H. (2019). Dietary effects of Coriandrum sativum extract on growth performance, physiological and innate immune responses and resistance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) against Yersinia ruckeri. *Fish & shellfish immunology*. 91, 233-240.

7.Addam, K. G. S., Pereira, S. A., Jesus, G. F. A., Cardoso, L., Syracuse, N., Lopes, G. R., Lehmann, N. B., da Silva, B. C., de Sá, L. S., & Chaves, F. C. M. (2019). Dietary organic acids blend alone or in combination with an essential oil on the survival, growth, gut/liver structure and de hemato-immunological in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture Research*. 50 (10), 2960-2971.

8.Koh, C. B., Romano, N., Zahrah, A. S., & Ng, W. K. (2016). Effects of a dietary organic acids blend and oxytetracycline on the growth, nutrient utilization and total cultivable gut microbiota of the red hybrid tilapia, *O. reochromis* sp., and resistance to *S. treptococcus* agalactiae. *Aquaculture Research*. 47 (2), 357-369.

9.Mustafa, S. A., & Al Faragi, J. K. Supplementation of Feed Additives on Aquaculture Feeds: A Review. *International Journal of Pharmaceutical Research*. 13 (1), 561-567.

10.Libanori, M. C. M., Santos, G. G., Pereira, S. A., Lopes, G. R., Owatari, M. S., Soligo, T. A., Yamashita, E., Pereira, U. P., Martins, M. L., & Mouriño, J. L. P. (2021). Dietary supplementation with benzoic organic acid improves the growth performance and survival of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) after challenge with Streptococcus agalactiae (Group B). *Aquaculture*. 545, 737204.

11.Baruah, K., Sahu, N. P., Pal, A. K., Jain, K. K., Debnath, D., & Mukherjee, S. C. (2007). Dietary microbial phytase and citric acid synergistically enhances nutrient digestibility and growth performance of *Labeo rohita* (Hamilton) juveniles at sub-optimal protein level. *Aquaculture Research*. 38 (2), 109-120.

12.Sangari, M., Sotoudeh, E., Bagheri, D., Morammazi, S., & Torfi Mozanzadeh, M. (2020). Growth, body composition, and hematology of yellowfin seabream (*Acanthopagrus latus*) given feeds supplemented with organic acid salts (sodium acetate and sodium propionate). *Aquaculture International*. 29, 261-273.

13.Wuertz, S., Schroeder, A., & Wanka, K. M. (2021). Probiotics in Fish Nutrition-Long-Standing Household Remedy or Native Nutraceuticals. *Water, Agriculture and Aquaculture*. 13 (10), 1348.

14. Selim, K. M., & Reda, R. M. (2015). Improvement of immunity and disease resistance in the Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, by dietary supplementation with Bacillus amyloliquefaciens. *Fish & shellfish immunology*. 44 (2), 496-503.
15. Bidhan, C. D., Meena, D. K., Behera, B. K., Pronob, D., Das Mohapatra, P. K., & Sharma, A. P. (2014). Probiotics in fish and shellfish culture: immunomodulatory and ecophysiological responses. *Fish Physiology and Biochemistry*. 40, 921-971.
16. Abudurasak Ige, B. (2014). Probiotics use in intensive fish farming. *African Journal of Microbiology Research*. 7 (22), 2701-2711.
17. Omosowone, O., Dada, A., & Adeparusi, E. (2018). Comparison of dietary butyric acid supplementation effect on growth performance and body composition of *Clarias gariepinus* and *Oreochromis niloticus* fingerlings. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*. 17 (2), 403-412.
18. Martín, M. J., Lara-Villoslad, F., Adolfina Ruiz, M., & Morales, M. E. (2015). Microencapsulation of bacteria: A review of different technologies and their impact on the probiotic effects. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 27, 15-25.
19. Ghanbary, K., Firouzbakhsh, F., Arkan, E., & Mojarrab, M. (2022). The effect of *Thymbra spicata* hydroalcoholic extract loaded on chitosan polymeric nanoparticles on some growth performances, hematology, immunity, and response to acute stress in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*. 548, 737568.
20. Da Cunha, J., Heinzmann, B., & Baldisserotto, B. (2018). The effects of essential oils and their major compounds on fish bacterial pathogens–a review. *Journal of applied microbiology*. 125 (2), 328-344.
21. Liu, L., Wang, Y., Ren, J., Zou, H., & Wang, C. (2022). Effect of dietary supplementation with sodium butyrate and tributyrin on the growth performance and intestinal microbiota of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Aquaculture International*. 30, 2477-2489.
22. Romano, N., Koh, C.B., & Ng, W.K. (2015). Dietary microencapsulated organic acids blend enhances growth, phosphorus utilization, immune response, hepatopancreatic integrity and resistance against Vibrio harveyi in white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*. 435, 228-236.
23. Tukmechi, A., Najd Grami, E., Hajimoradlo, A., & Noori, F. (2017). Study of Synergistic Effect of Potassium-Sorbate and *Lactobacillus casei* on the Growth Performance, Hematological Parameters, Body Composition and Intestinal flora of Rainbow Trout Fry (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Aquaculture Development*. 11 (1), 25-37.
24. Asriqah, L., Nugroho, R.A., & Aryani, R. (2018). Effect of various organic acid supplementation diets on *Clarias gariepinus* BURCHELL, 1822. Evaluation of growth, survival and feed utilization. *F1000Research*:7.
25. Turner, A. D., Tarnovius, S., Hatfield, R. G., Teixeira Alves, M., Broadwater, M., Van Dolah, F., Garcia-Mendoza, E., Medina, D., Salhi, M., & Goya, A. B. (2020). Application of six detection methods for analysis of paralytic shellfish toxins in shellfish from four regions within Latin America. *Marine drugs*. 18 (12), 616.
26. Ahmed, I. B., & Al-Hamdani, A. (2022). Effect of Garlic on Blood Parameters in Thermal Stressed Common Carp Fish (*Cyprinus Carpio* L.). *Egyptian Journal of Veterinary Sciences*. 53 (4), 85-97.
27. Karataş, T., Korkmaz, F., Karataş, A., & Yildirim, S. (2020). Effects of Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) extract on growth, blood biochemistry, immunity, antioxidant, digestive enzymes and liver histopathology of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture Nutrition*. 26 (5), 1533-1541.

28. Choobkar, N., Kakulki, Sh., Sahraei, F., Aghajani, A., Rezaeimanesh, M., & Mohammadi, F. (2019). Investigating the effect of probiotic-enriched food on growth parameters of farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Scientific Journal of Iranian Fisheries*. 27 (5), 115-124.
29. Nargesi Akbari, A., Falahatkar, B., & Sajjadi, M. (2018). Effect of probiotics on growth performance and blood parameters of male rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Scientific Journal of Aquatic Ecology*. 8 (2), 51-60.
30. Jafari, A., Kamali, A., & Shamsaei, M. 2017. The effect of adding Lactobacillus acidophilus probiotic in the diet as a supplement on some growth indicators of common carp (*Cyprinus carpio*). *Renewable natural resources research*. 4 (26), 69-76.
31. Koshinski, R., Velichkova, K., Sirakov, I., & Stoyanova, S. (2020). Effect of *Angelica archangelica* L. extract on growth performance, meat quality and biochemical blood parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* W.), cultivated in a recirculating system. *Bulg. J. Agric. Sci*. 26, 232-237.
32. Zabidi, A., Yusoff, F. M., Amin, N., Yaminudin, N. J. M., Puvanasundram, P., & Karim, M. M. A. (2021). Effects of probiotics on growth, survival, water quality and disease resistance of red hybrid tilapia (*Oreochromis* spp.) fingerlings in a biofloc system. *Animals*. 11 (12), 3514.
33. Munirasu, S., Ramasubramanian, V., & Arunkumar, P. (2017). Effect of Probiotics diet on growth and biochemical performance of freshwater fish Labeo rohita fingerlings. *Journal of Entomology and Zoology Studies*. 5 (3), 1374-1379.
34. Bahnasawy, M. H., El-Ghobashy, A. E., El-Ebiary, E. S. H., Helal, A. M., & El-Sisy, D. M. (2020). Effect of probiotic on water quality, growth performance and body composition of nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). 8 (1), 86-91.
35. Mroz, Z., Jongbloed, A., Partanen, K., Vreman, K., Kemme, P., & Kogut, J. 2000. The effects of calcium benzoate in diets with or without organic acids on dietary buffering capacity, apparent digestibility, retention of nutrients, and manure characteristics in swine. *Journal of animal science*. 78 (10), 2622-2632.
36. Gunal, M., Yayli, G., Kaya, O., Karahan, N., & Sulak, O. (2006). The effects of antibiotic growth promoter, probiotic or organic acid supplementation on performance, intestinal microflora and tissue of broilers. *International Journal of Poultry Science*. 5 (2), 149-155.
37. Busti, S., Rossi, B., Volpe, E., Ciulli, S., Piva, A., D'Amico, F., Soverini, M., Candela, M., Gatta, P. P., & Bonaldo, A. (2020). Effects of dietary organic acids and nature identical compounds on growth, immune parameters and gut microbiota of European sea bass. *Scientific reports*. 10 (1), 1-14.
38. Huyben, D., Chiasson, M., Lumsden, J. S., Pham, P. H., & Chowdhury, M. A. K. (2021). Dietary microencapsulated blend of organic acids and plant essential oils affects intestinal morphology and microbiome of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Microorganisms*. 9 (10), 2063.
39. Ullah, S., Zhang, J., Xu, B., Tegomo, A. F., Sagada, G., Zheng, L., Wang, L., & Shao, Q. (2022). Effect of dietary supplementation of lauric acid on growth performance, antioxidative capacity, intestinal development and gut microbiota on black sea bream (*Acanthopagrus schlegelii*). *Plos one*. 17, 1. e0262427.
40. Saleh, M., Amer, M., & Osman, M. (2018). Effect of Dietary Blended Organic Acid on Growth, Digestibility and Immunity of African Catfish (*Clarias garipenus*). *Arab Universities Journal of Agricultural Sciences*. 26(Special issue (2D)), 2335-2346.
41. Chowdhury, M. A. K., Song, H., Liu, Y., Bunod, J. D., & Dong, X. H. (2021). Effects of Microencapsulated Organic Acid and Their Salts on Growth Performance, Immunity, and Disease Resistance of Pacific White Shrimp Litopenaeus vannamei. *Sustainability*. 13 (14), 77-91.

42.Hosseini Shekarabi, P., Seyedalikhani, S., Shamsaie Mehrgan, M., Seyedalhosseini, S., & Manouchehri, H. (2019). Effect of different levels of organic acids mixture on some growth parameters and carcass composition of common carp (*Cyprinus carpio*) juveniles. 28 (4), 35-43.

43.Safari, O., Paolucci, M., & Ahmadniaye Motlagh, H. (2021). Effect of dietary encapsulated organic salts (Na-acetate, Na-butyrate, Na-lactate and Na-propionate) on growth performance, haemolymph, antioxidant and digestive enzyme activities and gut microbiota of juvenile narrow clawed crayfish, *Astacus leptodactylus leptodactylus* Eschscholtz, 1823. *Aquaculture Nutrition*. 27 (1), 91-104.

44.Rombenso, A. N., Truong, H., & Simon, C. (2020). Dietary butyrate alone or in combination with succinate and fumarate improved survival, feed intake, growth and nutrient retention efficiency of juvenile *Penaeus monodon*. *Aquaculture*. 528, 735492.

45.Dasneves, S. C. V., Da silva, S. M. B. C., Costa, G. K. A., Correria, E. S., Santos, A. L., Da silva, L. C. R., & Bicudo, A. J. A. (2021). Dietary Supplementation with Fumaric Acid Improves Growth Performance in Nile Tilapia Juveniles. *Animals*. 12 (1), 8.

46.Wang, Y. B. (2007). Effect of probiotics on growth performance and digestive enzyme activity of the shrimp *Penaeus vannamei*. *Aquaculture*. 269 (1-4), 259-264.

47.Bolívar Ramírez, N. C., Rodrigues, M. S., Guimarães, A. M., Guertler, C., Rosa, J. R., Seiffert, W. Q., Andreatta, E. R., & Vieira, F. d. N. (2017). Effect of dietary supplementation with butyrate and probiotic on the survival of Pacific white shrimp after challenge with Vibrio alginolyticus. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 46, 471-477.

48.Pérez-Jiménez, A., Peres, H., Rubio, V. C., & Oliva-Teles, A. (2012). The effect of hypoxia on intermediary metabolism and oxidative status in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) fed on diets supplemented with methionine and white tea. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*. 155 (3), 506-516.

49.Hoseinifar, S. H., Mirvaghefi, A., Merrifield, D. L., Amiri, B. M., Yelghi, S., & Bastami, K. D. (2011). The study of some haematological and serum biochemical parameters of juvenile beluga (*Huso huso*) fed oligofructose. *Fish physiology and biochemistry*. 37 (1), 91-96.