

تأثیر ریزپوشانی *Pediococcus acidilactici* بر عملکرد رشد، ترکیب بدن و فلور باکتریایی قزل آلاهی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

یلدا هوشیار^۱، عبدالمحمد عابدیان کناری^{۱*}، حسن گندمی^۲، حامد پاک نژاد^۳

۱- گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، مازندران

۲- گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، تهران

۳- گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، گلستان

تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۵/۳۰

تاریخ دریافت: ۹۸/۰۳/۲۰

چکیده

تحقیق حاضر به منظور ارزیابی تأثیر پروبیوتیک *Pediococcus acidilactici* ریزپوشانی شده با آلژینات و نشاسته مقاوم ذرت پوشش داده شده با کیتوزان، بر شاخص‌های رشد، فلور باکتریایی روده و ترکیب شیمیایی لاشه قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) انجام شد. ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با میانگین وزنی $0/32 \pm 18/41$ گرم به مدت ۶۰ روز با جیره‌های غذایی شامل: پروبیوتیک ریزپوشانی شده، پروبیوتیک آزاد، جیره حاوی دانک‌های بدون باکتری (کنترل مثبت) و جیره شاهد فاقد پروبیوتیک تغذیه شدند. نتایج نشان داد که میزان ضریب رشد، درصد افزایش وزن بدن و ضریب تبدیل غذایی در گروه‌های مختلف اختلاف معنی‌دار نداشتند. بالاترین تعداد باکتری‌های اسید لاکتیک روده در ماهیانی که باکتری پوشش داده شده را دریافت کردند دیده شد، در حالی که کمترین مقدار مربوط به گروه شاهد بود ($p < 0/05$). بیشینه پروتئین و چربی لاشه در تیمار حاوی باکتری ریزپوشانی شده و بیشینه خاکستر لاشه در تیمار شاهد مشاهده شد ($p < 0/05$). نتایج نشان می‌دهد که استفاده از *P. acidilactici* ریزپوشانی شده سبب بهبود عملکرد رشد، ترکیب بدن و فلور باکتریایی روده ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌شود.

کلمات کلیدی: *Pediococcus acidilactici*، ریزپوشانی، پروبیوتیک، فلور باکتریایی روده، قزل‌آلای رنگین‌کمان

مقدمه

در حال حاضر قزل آلابی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) یکی از شناخته شده ترین گونه های پرورشی آب شیرین در سراسر جهان است. طبق آخرین آمار سازمان فائو در سال ۲۰۱۶ میزان تولید این ماهی در ایران ۱۲۶۵۱۵ تن بوده است (FAO, 2016). با وجود این، با سرعت گرفتن تولید متراکم این ماهی، مشکلات و بیماری های آنها پیچیده تر و جدی تر شده است (Pourgholam et al., 2013) و نیاز به تقویت هر چه بیشتر دستگاه ایمنی ماهیان احساس می شود. یکی از معمول ترین روش های درمان بیماری های عفونی باکتریایی در مزارع پرورشی، استفاده از آنتی بیوتیک هاست. این در حالی است که استفاده بیش از حد از این داروها سبب بروز مقاومت باکتریایی در آنها می شود (Tuber, 2001).

پروبیوتیک ها ریز موجوداتی هستند که با بهبود تعادل میکروبی دستگاه گوارش، سلامت میزبان را افزایش می دهند (Fuller, 1992; Singh et al., 2011). مطالعات متعدد نشان داده است که پروبیوتیک ها می توانند بهره برداری از غذا، هضم پذیری اجزای غذایی جیره، پاسخ ایمنی و مقاومت به بیماری را در آبزیان بهبود بخشیده و از این رو، موجبات سلامتی و یا افزایش میزان رشد را در آنها فراهم آورند (Fuller, 1992; Balcazar et al., 2006; Nayak, 2010; Esteban et al., 2014). پروبیوتیک ها در صورتی که به تعداد کافی به مصرف برسند، اثرات سلامتی بخش در میزبان بر جای می گذارند (Fuller, 1989). بر اساس استانداردها، توصیه شده است که میزان پروبیوتیک ها باید به تعداد حداقل 10^6 CFU/g در مواد غذایی (Doleyres and Lacroix, 2005) یا 10^7 CFU/g در نقطه تحویل (Lee and Salminen, 1995) باشند. بسیاری از پروبیوتیک ها نسبت به شرایط روند آماده سازی غذا، شرایط دستگاه گوارش مانند اسیدیته پایین، شوری، دما و استرس اکسیداتیو حساس هستند (Mattila-Sandholm et al., 2002). بنابراین، نیازمند محافظت در برابر عوامل ناخواسته مذکور هستند.

ریزپوشانی^۱ یک روش ساده، امن و قابل اعتماد در این زمینه بوده و یکی از مهم ترین مسائل در این روش، نه تنها حصول اطمینان از زنده ماندن پروبیوتیک، بلکه رهایش کنترل شده آن در نقطه هدف است (Kailasapathy, 2010; Chavarri et al., 2002). پوشش دانه های آلژینات و اثر آن در حفاظت از پروبیوتیک به طور گسترده مطالعه شده است. محققان پیشین گزارش کرده اند که پوشش دانه های آلژینات با کیتوزان ثبات دانه های آلژینات را بهبود می بخشد و از این رو، قابلیت زنده ماندن پروبیوتیک ها افزایش می یابد (Krasaekoopt et al., 2004). آلژینات کلسیم و کیتوزان به دلیل ارزان و غیر سمی بودن به طور گسترده ای به منظور ریزپوشانی در صنایع غذایی و دارویی استفاده می شوند و می توانند بقای باکتری های پروبیوتیک را تا ۸۵-۹۰٪ بهبود ببخشند (Mandal et al., 2006). پره بیوتیک ها ترکیبات غیر قابل هضمی هستند که رشد و فعالیت پروبیوتیک ها را تشدید می کنند و به طور اختصاصی می توانند توسط پروبیوتیک ها استفاده شوند. از این ترکیبات می توان به نشاسته مقاوم^۲، فروکتوالیگوساکاریدها، گالاکتوالیگوساکاریدها، پکتین و اینولین اشاره کرد (Sultana et al., 2000). مخلوط کردن آلژینات کلسیم با نشاسته مقاوم ذرت از یک سو ساختاری منسجم و یکنواخت پدید می آورد و از سوی دیگر بقای سلول ها را به دلیل خاصیت پره بیوتیکی آن افزایش می دهد.

با وجود اینکه پروبیوتیک ها به طور گسترده ای در آبی پروری استفاده می شوند، اما تحقیقات اندکی در زمینه ریزپوشانی پروبیوتیک ها به منظور استفاده در آبی پروری، انجام شده است. حسینی و همکاران (۱۳۹۶)، پس از ریزپوشانی پروبیوتیک *Lactobacillus plantarum* با آلژینات و کیتوزان بهبود میزان زنده ماندن پروبیوتیک در شرایط شبیه سازی شده دستگاه گوارش را گزارش کردند. استفاده از باکتری *Enterococcus faecium* ریزپوشانی شده با آلژینات و کیتوزان در غذای قزل آلابی رنگین کمان سبب بهبود فلور باکتریایی روده ماهی شد (عابدیان امیری و همکاران، ۱۳۹۵). محمدیان و همکاران (۱۳۹۸) تأثیر باکتری *Lactobacillus plantarum* ریزپوشانی شده با آلژینات

² Resistant starch

¹ Microencapsulation

ساعت فعال شد. زیتوده حاصله توسط سانتریفیوژ با ۶۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ °C جداسازی، و سپس در دو مرحله با محلول سرم فیزیولوژی ۰/۹٪ شسته شد. تعداد باکتری‌ها با استفاده از کشت سطحی در MRS آگار در دو تکرار تعیین، و باکتری با ۰/۳٪ گلیسرول تا زمان استفاده در دمای ۲۰ °C ذخیره شد.

تمامی مواد و وسایل آزمایشگاهی در دمای ۱۲۱ °C به مدت ۱۵ دقیقه استریل شدند. ریزپوشانی باکتری با استفاده از روش امولسیون توصیه شده توسط Sultana و همکاران (۲۰۰۰) با کمی تغییرات انجام شد. ۰/۲٪ آلژینات سدیم (ویسکوزیته متوسط، Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) و ۰/۱٪ نشاسته مقاوم ذرت (Sisco Research Laboratories Pvt. Ltd, India) در آب مقطر مخلوط شدند و پس از استریل شدن، ۰/۱٪ سوسپانسیون پروبیوتیک (CFU/mL) ۱۰^۸ به آنها اضافه شد. برای تشکیل امولسیون مخلوط حاصل در ۱۵۰ میلی‌لیتر روغن کانولا حاوی ۰/۱۵٪ توئین ۸۰ (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) ریخته شده و با استفاده از همزن مغناطیسی (با سرعت ۴۰۰ دور در دقیقه) به مدت ۵ دقیقه امولسیون یکنواختی تشکیل شد. به منظور تشکیل کپسول به محلول مورد نظر ۱۵۰ میلی‌لیتر کلرید کلسیم ۰/۱ مولار اضافه شد و بعد از ۲۵ دقیقه که کپسول‌ها ته‌نشین شدند. به منظور جداسازی کپسول‌ها از سانتریفیوژ با ۲۵۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه استفاده شد. کپسول‌ها با سرم فیزیولوژی ۰/۹٪ شسته و در دمای ۴ °C نگهداری شدند. دانه‌های آلژینات بر طبق روش Krasaekoop و همکاران (۲۰۰۴) پوشش یافتند. به طور خلاصه، ۰/۴ گرم کیتوزان (با وزن مولکولی پایین، Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) در ۹۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل شد و با اسید استیک گلاسیال به غلظت نهایی ۰/۴ w/v رسید. pH محلول کیتوزان بعد از اتوکلاو با افزودن هیدروکسید سدیم ۱ مولار به ۵/۷ رسانده شد. کپسول‌های آلژینات کلسیم و نشاسته ساخته شده، در این محلول پراکنده شدند (۱۰۰ دور در دقیقه تا ۴۰ دقیقه) تا عملیات پوشش‌دهی به طور کامل انجام شود. دانه‌های پوشش یافته با کیتوزان، با آب مقطر شسته و در همان روز استفاده شدند.

و کیتوزان را بر برخی شاخص‌های بیوشیمیایی پلاسما خون فیل ماهی (*Huso huso*) بررسی کردند و بهبود این شاخص‌ها در ماهیان تغذیه شده با تیمار حاوی پروبیوتیک ریزپوشانی شده را گزارش کردند. سراج و همکاران (۱۳۹۷) توان آنتی‌اکسیدانی باکتری *L. plantarum* ریزپوشانی شده را در فیل ماهی جوان ارزیابی کردند و افزایش میزان سوپراکسید دیسموتاز و مالون دی‌آلدئید را در ماهیان تغذیه شده با باکتری ریزپوشانی شده گزارش کردند. استفاده از مخمر *Saccharomyces cerevisiae* ریزپوشانی شده به عنوان مکمل در غذای ماهی، ساختار روده و عملکرد رشد را در تیلاپیا *Oreochromis niloticus* بهبود بخشید (Ghosh, Pinpimai et al. 2015). همکاران (۲۰۱۶) نشان دادند که استفاده از رژیم غذایی حاوی پروبیوتیک گونه‌های *Enterobacter* به صورت ریزپوشانی شده در غذای قزل‌آلای رنگین‌کمان، سبب کاهش مرگ و میر ناشی از بیماری آب‌های سرد در اثر *Flavobacterium psychrophilum* می‌شود. همکاران (۲۰۱۵) دستگاه ایمنی و میکروفلور روده ماهی سیم (*Sparus aurata* L. را بعد از ۴ هفته تغذیه با جیره حاوی *Shewanella putrefaciens* Pdp11 ریزپوشانی شده بررسی، و گزارش کردند که ریزپوشانی باکتری Pdp11 مانند محرک ایمنی عمل کرده و بر پارامترهای هومورال (مانند سطح IgM و فعالیت پرکسیداز سرم) تاثیر مثبت داشته و همچنین، سبب افزایش سطح mRNA گلوبول‌های سفید کلیه فوقانی *mhcIIa* و *tcrβ* می‌شود. بر این اساس، مطالعه حاضر با هدف بررسی تاثیر ریزپوشانی پروبیوتیک *Pediococcus acidilactici* بر عملکرد رشد، فلور باکتریایی روده و ترکیب شیمیایی لاشه قزل‌آلای رنگین‌کمان در مدت ۶۰ روز دوره پرورش انجام شد.

مواد و روش‌ها

تهیه باکتری و ریزپوشانی

باکتری *P. acidilactici* (ATCC 25740) به صورت خالص و لیوفیلیزه از مجموعه سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران خریداری و در محیط کشت MRS برات (de Man-Rogasa-Sharpe) در دمای ۳۷ °C به مدت ۴۸

شرایط پرورش و غذادهی

این تحقیق در سالن تکثیر و پرورش ماهی، دانشکده علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس انجام شد. بچه ماهیان مورد استفاده در این مطالعه از یک مرکز خصوصی واقع در شهرستان تنکابن تهیه شدند. بچه ماهیان قزل آلاهی رنگین کمان به مدت ۱۴ روز با شرایط آزمایشگاهی و غذای پایه سازگار شدند. غذای پایه بر اساس ۵۰٪ پروتئین با منشاء آرد ماهی فرموله شد (جدول ۱). در پایان دوره سازگاری، تعداد ۱۴۴ عدد بچه ماهی (با میانگین وزنی $0.32 \pm 18/14$ گرم) در قالب طرح کاملاً تصادفی بین ۱۲ مخزن ۳۰۰ لیتری (هر مخزن حاوی ۱۲ ماهی) توزیع شدند. تغذیه با ۴ تیمار: ۱- کنترل (فاقد هر گونه پروبیوتیک)، ۲- کنترل مثبت (حاوی دانک های فاقد باکتری)، ۳- غذای حاوی پروبیوتیک *P. acodilactici* به صورت آزاد با غلظت 10^8 CFU/g و ۴- پروبیوتیک *P. acidilactici* ریزپوشانی شده به مدت ۶۰ روز

انجام شد. دمای آب در طول دوره پرورش $1 \pm 16^\circ\text{C}$ ، اکسیژن محلول $0.3 \pm 8/5$ میلی گرم در لیتر و $0.1 \pm \text{pH}$ بود و ماهی ها در رژیم نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی قرار داشتند. باکتری آزاد به همراه روغن کانولا روی غذای پایه افشانه و در معرض جریان هوا خشک شد. کپسول های حاوی باکتری در حین ساخت غذای پایه افزوده شدند. به منظور یکسان شدن شرایط، جیره شاهد نیز با روغن کانولا افشانه شد. همه جیره های غذایی در دمای 20°C نگهداری شدند. غذادهی در همه گروه ها به میزان ۲٪ وزن بدن، ۳ بار در روز (ساعات ۸:۳۰، ۱۴، ۲۰) انجام شد. برای نمونه برداری، در پایان آزمایش و پس از سپری شدن ۲۴ ساعت گرسنگی، به صورت تصادفی، ۹ ماهی از هر تیمار (۳ ماهی از هر تکرار) با استفاده از پودر گل میخک بیهوش شدند (500 mg/L).

جدول ۱ ترکیبات جیره غذایی پایه مورد استفاده جهت تغذیه قزل آلاهی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*).

نوع ماده اولیه	مقدار (%)	ترکیب شیمیایی	وزن خشک (%)
آرد ماهی ^۱	۵۰	پروتئین خام	۵۲/۲۲
پودر سویا ^۱	۲۱/۳۳	چربی خام	۱۵/۴۲
دکسترین ^۲	۳	خاکستر	۱۱/۲۲
آرد گندم	۱۰	کربوهیدرات ^۶	۲۱/۱۵
روغن ماهی ^۱	۱/۵		
روغن آفتابگردان	۳/۵		
لسیتین سویا ^۲	۱		
مخلوط ویتامینی ^۴	۲		
مخلوط معدنی ^۵	۳		
ضد قارچ ^۱	۰/۲۵		
دی کلسیم فسفات ^۱	۰/۵		
آنتی اکسیدانت (BHT) ^۱	۰/۰۳		
سلولز ^۲	۱		
جمع کل	۱۰۰		

^۱ شرکت خوراک دام آریان، ساری، ایران؛ ^۲ شرکت Merck، آلمان؛ ^۳ شرکت بهپاک، بهشهر، ایران؛ ^۴ مخلوط ویتامینی شامل (Unit/kg): A: ۱۰۰۰۰۰ IU D₃، ۴۰۰۰۰۰ IU E، ۳۰ g ریوفلاوین g، ۸، پیریدوکسین g، ۴۰، B₀ ۳، سیانو کوبالامین g، ۱۰۰/۰۱ C، ۱۰۰ g K₃، ۱۰، بیوتین g، ۱۰؛ ^۵ مخلوط معدنی شامل (mg/kg): آهن g، ۲۰، روی g، ۶۰، کبالت mg، ۲۰۰، مس g، ۲، منگنز g، ۴۰، ید mg، ۴۰۰؛ ^۶ کربوهیدرات = ۱۰۰ - (پروتئین خام + چربی خام + خاکستر).

افزایش وزن بدن (WG) و ضریب تبدیل غذایی (FCR) از طریق فرمول‌های زیر سنجیده شد (Yanbo and Zirong, 2006):

$$\text{درصد نرخ رشد ویژه (SGR)} = \frac{\ln(\text{وزن نهایی بدن (g)}) - \ln(\text{وزن اولیه بدن (g)})}{\text{طول دوره پرورش (روز)} \times 100}$$

$$\text{درصد افزایش وزن بدن (WG)} = \frac{\text{وزن نهایی بدن (g)} - \text{وزن اولیه بدن (g)}}{\text{وزن اولیه بدن (g)} \times 100}$$

$$\text{ضریب تبدیل غذا (FCR)} = \frac{\text{کل غذای خورده شده (g)}}{\text{افزایش وزن کسب شده (g)}}$$

به‌وسیله خشک کردن نمونه‌ها در آون در دمای 105°C به مدت ۲۴ ساعت تا رسیدن به وزن ثابت تعیین و اندازه‌گیری شدند.

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از تجزیه واریانس یک طرفه (ANOVA) و نرم‌افزار SPSS (SPSS Inc., Chicago, USA) انجام شد. برای بررسی نرمال بودن داده‌ها از آزمون Kolmogorov-Smirnov استفاده شد و همگنی واریانس‌ها با آزمون Levene بررسی شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح معنی‌داری $p < 0.05$ انجام شد و داده‌ها به صورت $\text{mean} \pm \text{SE}$ ارائه شده‌اند.

نتایج

جدول ۲ نتایج سنجش شاخص‌های رشد در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان را نشان می‌دهد. بر اساس نتایج به دست آمده، بیشینه وزن کسب شده (وزن نهایی) در تیمار حاوی پروبیوتیک ریزپوشانی شده مشاهده شد، اما اختلاف معنی‌داری بین تیمارها دیده نشد ($p > 0.05$). بیشترین و کمترین میزان FCR به ترتیب در تیمار شاهد و تیمار تغذیه شده با پروبیوتیک ریزپوشانی شده به دست آمد. همچنین، اختلاف معنی‌داری در میزان SGR و WG تیمارهای مختلف وجود نداشت ($p > 0.05$).

شاخص‌های رشد

برای محاسبه شاخص‌های رشد، با توجه به اندازه‌گیری‌های انجام شده در انتهای آزمایش، نرخ رشد ویژه (SGR)، درصد

درصد نرخ رشد ویژه (SGR) = $\frac{\ln(\text{وزن نهایی بدن (g)}) - \ln(\text{وزن اولیه بدن (g)})}{\text{طول دوره پرورش (روز)} \times 100}$

درصد افزایش وزن بدن (WG) = $\frac{\text{وزن نهایی بدن (g)} - \text{وزن اولیه بدن (g)}}{\text{وزن اولیه بدن (g)} \times 100}$

ضریب تبدیل غذا (FCR) = $\frac{\text{کل غذای خورده شده (g)}}{\text{افزایش وزن کسب شده (g)}}$

فلور باکتریایی روده

به منظور بررسی وضعیت میکروبی روده ماهیان، در انتهای دوره از هر تیمار به طور مجزا نمونه برداری انجام شد. بعد از ۲۴ ساعت گرسنگی، از هر مخزن به طور تصادفی ۳ ماهی انتخاب و پس از بیهوش سازی در شرایط استریل روده ماهی جداسازی و به طور کامل با سرم فیزیولوژی شسته شد (Merrifield et al. 2009). بعد از هموژن کردن، نمونه‌ها به صورت پی در پی با سرم فیزیولوژی (۰/۹٪ نمک) رقیق سازی شدند و سپس برای دست یابی به تعداد کل باکتری‌های روده بر روی محیط کشت TSA (Tryptic Soy Agar, MRS (Man Rogosa Sharpe, QUELAB محیط کشت MRS (Man Rogosa Sharpe, QUELAB) و تعداد کل باکتری‌های اسید لاکتیک بر روی محیط کشت MRS (Man Rogosa Sharpe, QUELAB) کشت داده شدند. سپس پلیت‌ها در دمای 25°C به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور قرار گرفتند. جمعیت باکتری‌ها به صورت لگاریتم تعداد پرگنه در گرم (log CFU/g) بیان شد (Dawood et al. 2016).

تجزیه شیمیایی لاشه

در پایان آزمایش سه قطعه ماهی از هر تکرار برای تجزیه و تحلیل ترکیب بیوشیمیایی لاشه و اندازه‌گیری رطوبت، خاکستر، چربی و پروتئین با استفاده از روش‌های استاندارد AOAC (۱۹۹۰) در نظر گرفته شد. میزان پروتئین به روش کلدال، چربی به روش سوکسله، خاکستر با استفاده از کوره الکتریکی با حرارت 600°C به مدت ۶ ساعت و میزان رطوبت

جدول ۲ شاخص های رشد اندازه گیری شده در ماهی قزل آلابی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) پس از ۶۰ روز نگهداری (mean ± SE).

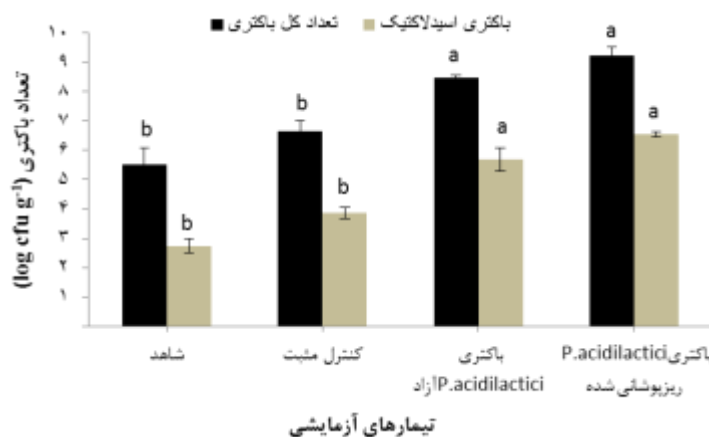
تیمارها				
شاخص های رشد	شاهد	شاهد مثبت	باکتری آزاد <i>P. acidilactici</i>	باکتری ریزپوشانی <i>P. acidilactici</i>
وزن اولیه (g)	۱۸/۲۶ ± ۰/۳۲	۱۸/۱۰ ± ۰/۰۳	۱۸/۱۱ ± ۰/۲۶	۱۸/۳۲ ± ۰/۰۲
وزن نهایی (g)	۷۰/۹۳ ± ۵/۸	۷۴/۸۳ ± ۰/۰۶	۷۸/۲ ± ۴/۶۶	۸۳/۶۷ ± ۲/۵۷
WG%	۲۶۷/۷۶ ± ۳/۷۲	۲۹۰/۴۶ ± ۲۳/۴	۳۰۰/۹۳ ± ۱۹/۹۶	۳۲۴/۱۹ ± ۱۰/۵
SGR	۲/۱۹ ± ۰/۱۱	۲/۲۷ ± ۰/۰۳	۲/۳۰ ± ۰/۱۱	۲/۴۰ ± ۰/۰۴
FCR	۱/۲۴ ± ۰/۰۶	۱/۱۹ ± ۰/۰۱۰	۱/۲۸ ± ۰/۰۸	۱/۱۴ ± ۰/۰۴

عدم وجود حروف در ستون ها، نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی دار بین میانگین ها است ($p > 0.05$). WG = درصد افزایش وزن بدن، SGR = نرخ رشد ویژه و FCR = ضریب تبدیل غذایی.

باکتری های کل، اختلاف معنی داری را بین گروه های شاهد و تیمار حاوی باکتری *P. acidilactici* آزاد و ریزپوشانی شده نشان دادند ($p < 0.05$).

فلور باکتریایی روده

نتایج مربوط به فلور باکتریایی روده تیمارهای مختلف در شکل ۱ نشان داده شده است. تعداد باکتری اسید لاکتیک و تعداد



شکل ۱ میزان باکتری های اسید لاکتیک و تعداد کل باکتری های روده ماهی قزل آلابی رنگین کمان تغذیه شده با تیمارهای مختلف طی ۶۰ روز پرورش (mean ± SE). حروف متفاوت اختلاف معنی دار را نشان می دهند ($p < 0.05$).

($p < 0.05$). بالاترین مقدار چربی خام ($0.18/6 \pm 0.026$) لاشه در تیمار حاوی پروبیوتیک کپسوله شده ثبت شد. بالاترین درصد خاکستر ($9/57 \pm 0.21$) لاشه در تیمار شاهد و کمترین مقدار آن معادل $0.11 \pm 0.6/83$ در تیمار حاوی باکتری *P. acidilactici* ریزپوشانی شده دیده شد. بین تیمارهای مورد بررسی از نظر درصد رطوبت لاشه اختلاف معنی داری مشاهده نشد ($p > 0.05$).

تجزیه ترکیبات لاشه

نتایج مربوط به تجزیه ترکیبات شیمیایی لاشه قزل آلابی رنگین کمان در جدول ۳ ارائه شده است. افزودن پروبیوتیک به صورت آزاد و کپسول شده به غذا میزان درصد پروتئین را افزایش داد و اختلاف معنی داری با گروه های شاهد نشان داد. بالاترین مقدار پروتئین ($0.61 \pm 0.75/43$) در گروه تغذیه شده با جیره حاوی پروبیوتیک ریزپوشانی شده مشاهده شد

جدول ۳ آنالیز شیمیایی لاشه (وزن خشک: mean \pm SE) قزل آلی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) پس از ۶۰ روز تغذیه با باکتری *P. acidilactici* آزاد و ریزپوشانی شده (n = ۹).

تیماها		کنترل مثبت		شاهد	ترکیبات بدن (وزن خشک) (%)
باکتری ریزپوشانی <i>P. acidilactici</i>	باکتری آزاد <i>P. acidilactici</i>				
۷۳/۵۴ \pm ۰/۱۲	۷۵/۴۹ \pm ۰/۵۶	۷۶/۱۲ \pm ۰/۵۶	۷۴/۱۱ \pm ۱/۴۵		رطوبت
۷۵/۴۳ \pm ۰/۶۱ ^a	۷۴/۸۵ \pm ۰/۵۱ ^a	۷۳/۶۵ \pm ۰/۹۵ ^{ab}	۷۱/۸۹ \pm ۱/۲۱ ^b		پروتئین خام
۱۸/۶۰ \pm ۰/۲۶ ^a	۱۶/۵۷ \pm ۰/۸۷ ^{ab}	۱۵/۸۸ \pm ۱/۳۵ ^{ab}	۱۴/۶۷ \pm ۰/۷۶ ^b		چربی خام
۶/۸۳ \pm ۰/۱۱ ^c	۷/۸۸ \pm ۰/۴۰ ^{abc}	۸/۴۷ \pm ۰/۵۵ ^{ab}	۹/۵۷ \pm ۰/۲۱ ^a		خاکستر خام

حروف متفاوت در ستون‌ها، نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌هاست (p < ۰/۰۵).

بحث

قابل توجه ریزپوشانی در افزایش زنده‌مانی و به‌دنبال آن، افزایش خواص عملکردی پروبیوتیک‌ها را نشان داده‌اند (Brinques et al. 2011; de Araújo Etchepare et al. 2016). Suzer و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند که پروبیوتیک‌ها با تحریک آنزیم‌های گوارشی، سبب افزایش اشتها و به دنبال آن، افزایش رشد و بازده تغذیه می‌شوند. پروبیوتیک‌ها به دلیل ترشح آنزیم‌های خارج سلولی، مانند بعضی از آنزیم‌های گوارشی از جمله آمیلاز و لیپاز نقش مهمی در افزایش فعالیت ویژه این آنزیم‌ها در روده ماهیان دارند. لذا این باکتری‌ها موجب افزایش قابلیت هضم پذیری پروتئین، چربی و کربوهیدرات‌ها شده و در نتیجه، کارایی تغذیه و رشد بهتری را در آبزیان موجب می‌شوند (Bairagi et al. 2002).

در جیره حاوی باکتری ریزپوشانی شده و باکتری آزاد، میزان حضور این پروبیوتیک در روده ماهی افزایش یافت. در میزان کل باکتری، تیمارهای دریافت‌کننده پروبیوتیک نیز با گروه‌های شاهد اختلاف معنی‌داری داشتند. در مطالعه Ferguson و همکاران (۲۰۱۰) تیلایپای نیل با تغذیه از جیره حاوی پروبیوتیک *P. acidilactici* افزایش فلور روده را نشان داد. در قرارگیری پروبیوتیک‌های موجود در غذا به عنوان فلور باکتریایی روده، دو مکانسیم ممکن است دخیل باشد که یکی، توان رقابتی پروبیوتیک نسبت به باکتری‌های دیگر روده و دیگری، توان تولید مواد ضد میکروبی است، پروبیوتیک‌ها با فعالیت آنتاگونیستی، سبب حذف باکتری‌های بیماری‌زا شده و خود به عنوان فلور روده تثبیت می‌شوند (Nayak et al. 2010). از طرفی، بیان شده است

پروبیوتیک‌ها موثرترین مواد افزودنی هستند که با ویژگی‌های مختلفی موجب ارتقای سلامتی در میزبان می‌شوند، اما تأثیر آن‌ها محدود به اثر بیوفیزیکی‌شان در محل هدف، در دستگاه گوارش است. ریزپوشانی پروبیوتیک‌ها موجب می‌شود زنده‌مانی باکتری‌ها در خلال عمل‌آوری و همچنین، تحویل در دستگاه گوارش افزایش یابد (Chávarri et al. 2010).

نتایج تحقیق حاضر اختلاف معنی‌داری را در پارامترهای رشد ماهی قزل‌آلی رنگین‌کمان در مقایسه با گروه شاهد نشان ندادند. در مقایسه میانگین‌ها، نتایج نشان دادند که SGR و WG ماهی تغذیه شده با جیره حاوی باکتری ریزپوشانی شده، نسبت به دیگر گروه‌ها بالاتر است. تحقیقات متعدد، بهبود شاخص‌های رشد در ماهیان تغذیه شده با پروبیوتیک را نشان داده‌اند. استفاده از باکتری *P. acidilactici* در تیلایپای نیل (*Oreochromis niloticus*) منجر به افزایش وزن شد (Shelby et al. 2006). همچنین، این اثر در ماهی سیم (*Pagrus major*) (Dawood et al. 2016) و نیز هامور (*Epinephelus coioides*) (Sun et al. 2012) به اثبات رسیده است. خمایی و همکاران (۱۳۹۶) گزارش کردند که ماهی سیم (*Abramis brama orientalis*) تغذیه شده با میزان 2×10^9 CFU/g از *P. acidilactici* از افزایش وزن و درازای خوبی نسبت به گروه شاهد برخوردار بودند. کپسول‌های آلژینات-کیتوزان با حفاظت از باکتری در برابر شرایط نامساعد، مانند pH پایین سبب افزایش زنده‌مانی باکتری و در نتیجه، اثرگذاری در اندام هدف می‌شوند. مطالعات متعدد در سطح *in vitro* تأثیر

همکاران (۱۳۹۵) درصد بالای پروتئین لاشه قزل آلابی رنگین کمان را در تیمار دریافت کننده 10^9 CFU/g از باکتری *Lactobacillus plantarum* را گزارش کردند. تغییرات در محتوای پروتئین و چربی لاشه ماهی را می توان تحت تاثیر ترشح آنزیم های مختلف از جمله آنزیم پروتئاز و لیپاز توسط پروبیوتیک ها دانست که موجب افزایش قابلیت هضم ترکیبات پروتئینی و چربی غذای خورده شده در روده جانور آبی شده و در نتیجه، سبب می شوند تا این ترکیبات به خوبی در روده آبی هضم و جذب شده و درصد پروتئین و چربی خام لاشه افزایش یابد (Ghosh et al. 2001).

با توجه به نتایج بدست آمده در خصوص افزودن باکتری *P. acidilactici* به صورت ریزپوشانی شده به جیره غذایی ماهی قزل آلابی رنگین کمان، این آزمایش به خوبی نشان داد که آلژینات سدیم/نشاسته مقاوم ذرت/کیتوزان می توانند به خوبی باکتری را در برابر شرایط نامطلوب محیطی حفظ، و در اندام هدف رهاسازی کنند و به موجب آن، اثرات مثبتی بر شاخص های رشد، ترکیب لاشه و فلور باکتریایی روده ماهی قزل آلابی رنگین کمان برجای بگذارند.

تشکر و قدردانی

این تحقیق با پشتیبانی مالی دانشگاه تربیت مدرس، برای انجام رساله دکتری انجام شده است. از کارشناسان آزمایشگاه گروه شیلات آقایان دکتر مرتضی کمالی، مهندس حسین نورانی و مهندس سید مصطفی حسینی تشکر و قدردانی می شود.

منابع

حسینی، ص.، محمدین، ت.، عباسپور، م.، علیشاهی، م. ۱۳۹۶. اثر ریزپوشانی با آلژینات/کیتوزان بر بقاء باکتری پروبیوتیک الکتوباسیلوس پلانتروم (*Lactobacillus plantarum*) در شرایط شبیه سازی شده معده و روده در فیل ماهی (*Huso huso*). مجله علمی شیلات ایران ۲۷: ۱۶۱-۱۷۳.

خمامی، س.، مورکی، ن.، ولی پور، ع. ۱۳۹۶. تاثیر پروبیوتیک *Pediococcus acidilactici* بر رشد و شاخص های

که افزایش تعداد باکتری های اسید لاکتیک در روده از طریق به کارگیری موادی که خاصیت پرهیوتیکی دارند، اثرات سودمندی را به دنبال خواهد داشت (Dimitroglou et al. 2010). پرهیوتیک ها می توانند چسبندگی باکتری های بیماری زا را مهار کرده و از این طریق سبب بهبود ترکیب میکروفلور روده شوند (Mahious et al. 2006). در تحقیقات گذشته با افزودن انواع پرهیوتیک ها، افزایش فلور باکتریایی روده گزارش شده است (Gatesoupe et al. 2014). عابدیان امیری و همکاران (۱۳۹۵)، با افزودن باکتری *L. plantarum* ریزپوشانی شده با آلژینات و کیتوزان به غذای ماهی قزل آلابی رنگین کمان افزایش تعداد باکتری های اسید لاکتیک و تعداد کل باکتری های روده را گزارش کردند. در تحقیق حاضر، میزان بالای باکتری در روده ماهیان تغذیه شده با باکتری ریزپوشانی شده، نشان می دهد که وجود نشاسته مقاوم ذرت و کیتوزان در بارگذاری پروبیوتیک های مورد استفاده در روده ماهی نقش به سزایی داشته اند؛ به این ترتیب که نشاسته مقاوم ذرت به عنوان پرهیوتیک، منبع غذایی مناسبی برای فلور روده محسوب شده و کیتوزان نیز به عنوان پوشش دهنده مناسب با حفاظت کامل از باکتری ها، رهایش آنها در اندام هدف، یعنی روده را به خوبی به انجام رسانده است.

کیفیت گوشت آبزیان پرورشی از موارد مهمی است که به میزان زیاد تحت تاثیر شرایط محیطی و ترکیبات مغذی در جیره غذایی است (Topic Popovic et al. 2016). بررسی نتایج تجزیه لاشه ماهیان قزل آلابی رنگین کمان نشان داد که استفاده از *P. acidilactici* ریزپوشانی شده در جیره غذایی، افزایش معنی دار مقادیر پروتئین خام و چربی خام لاشه و همچنین، کاهش معنی دار خاکستر لاشه را در پی داشته است. این در حالی است که هیچ گونه اختلاف معنی داری در رطوبت لاشه تیمارهای آزمایشی در مقایسه با گروه شاهد مشاهده نشد. میزان بالاتر پروتئین و چربی لاشه ماهی سفید (*Rutilus frisii kutum*) تغذیه شده با دو پروبیوتیک *Bacillus licheniformis* و *Bacillus subtilis* (Azarin et al. 2015) و قزل آلابی رنگین کمان تغذیه شده با پروبیوتیک *Bacillus spp.* تجاری (Bagheri et al. 2008) گزارش شده است. قلجایی فرد و

قلجایی فرد، ا.، خارا، ح.، شناور ماسوله، ع. ۱۳۹۵. اثر باکتری *Lactobacillus plantarum* (KC426951) جداسازی شده از روده قزل آلاهی رنگین کمان استان گیلان بر فاکتورهای رشد، فلور باکتریایی روده و ترکیب شیمیایی لاشه بچه ماهی قزل آلاهی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*). علوم و فنون شیلات ۵: ۱۱۱-۱۲۴.

محمدیان، ت.، بیتا، س.، ناصری پروتکلو، ر. ۱۳۹۸. تأثیر لاکتوباسیلوس پالانتاروم ریزپوشانی شده با آلژینات/کیتوزان بر برخی فاکتورهای بیوشیمیایی پلاسما خون در فیله ماهی (*Huso huso*). تحقیقات دامپزشکی ۷۴: ۱۰۳-۹۳.

- Azarin, H., Aramli, M.S., Imanpour, M.R., Rajabpour, M. 2015. Effect of a probiotic containing *Bacillus licheniformis* and *Bacillus subtilis* and ferroin solution on growth performance, body composition and haematological parameters in Kutum (*Rutilus frisii kutum*) fry. Probiotics and Antimicrobial Proteins 7: 31-37.
- AOAC. 1990. Official Methods of Analysis of Association of Official Analytical Chemists (AOAC), 15th ed, Washington, USA.
- Bagheri, T., Hedayati, S.A., Yavari, V., Alizadeh, M. Farzanfar, A. 2008. Growth, survival and gut microbial load of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fry given diet supplemented with probiotic during the two month first feeding. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 8: 43-48.
- Bairagi, A., Ghosh, K. S., Sen, S. K., Ray, A. K. 2002. Enzyme producing bacterial flora isolated from fish digestive tracts. Aquaculture International 10: 109-121.
- Balcazar, J., Blas I., Ruiz-Zarzuola I., Cunningham, D., Vendrell, D., Muzquiz, J. 2006. The role of probiotics in aquaculture. Veterinary Microbiology 114: 173-186.

خونی بچه ماهی سیم *Abramis brama orientalis* علوم و فنون شیلات ۶: ۱-۱۲.

سراج، ب.، محمدیان، ت.، ناصری پروتکلو، ر. ۱۳۹۷. ارزیابی توان آنتی اکسیدانی لاکتوباسیلوس پالانتاروم (*Lactobacillus plantarum*) ریزپوشانی شده با آلژینات/کیتوزان در فیله ماهی جوان *Huso huso* محیط زیست جانوری ۱۰: ۲۴۹-۲۵۶.

عابدیان امیری، آ.، آذری تاکامی، ق.، افشار نسب، م.، رضویلز، و. ۱۳۹۵. تأثیر مصرف خوراکی شکل میکروانکپسوله *Enterococcus faecium* بر روی فاکتورهای سلامت، رشد، تغذیه و فلور باکتریایی روده در قزل آلاهی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792).

نشریه علوم آبزی پروری ۵: ۷۹-۶۲.

- Brinques, G.B., Ayub, M.A.Z. 2011. Effect of microencapsulation on survival of *Lactobacillus plantarum* in simulated gastrointestinal conditions, refrigeration, and yogurt. Journal of Food Engineering 103: 123-128.
- Chávarri, M., Marañón, I., Ares, R., Ibáñez, F.C., Marzo, F., del Carmen Villarán, M. 2010. Microencapsulation of a probiotic and prebiotic in alginate-chitosan capsules improves survival in simulated gastrointestinal conditions. International Journal of Food Microbiology 142: 185-189.
- Cordero, H., Guardiola, F.A., Tapiapaniagua, S.T., Cuesta, A., Meseguer, J., Balebona, M.C., Moriñigo, M.Á., Esteban, M.Á. 2015. Modulation of immunity and gut microbiota after dietary administration of alginate encapsulated *Shewanella putrefaciens* Pdp11 to gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). Fish & Shellfish Immunology 45: 608-618.
- Dawood, M.A., Koshio, S., Ishikawa, M., Yokoyama, S., El Basuni, M. F., Hossain, M. S., Nhu, T.H., Dossou, S., Moss, A.S. 2016. Effects of dietary supplementation of *Lactobacillus rhamnosus* or/and *Lactococcus lactis* on the growth, gut microbiota and immune responses of red

- sea bream, *Pagrus major*. Fish & Shellfish Immunology 49: 275-285.
- de Araújo Etchepare, M., Raddatz, G.C., de Moraes Flores, É.M., Zepka, L.Q., Jacob-Lopes, E., Barin, J.S., Ferreira Grosso, C.R., de Menezes, C.R. 2016. Effect of resistant starch and chitosan on survival of *Lactobacillus acidophilus* microencapsulated with sodium alginate. LWT-Food Science and Technology 65: 511-517.
- Doleyres, Y., Lacroix, C. 2005. Technologies with free and immobilised cells for probiotic bifidobacteria production and protection. International Dairy Journal 15: 973-988.
- Esteban, M.A., Cordero, H., Martínez-Tom, M., Jimenez-Monreal, A.M., Bakhrouf A., Mahdi, A.L. 2014. Effect of dietary supplementation of probiotics and palm fruits extracts on the antioxidant enzyme gene expression in the mucosae of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). Fish & Shellfish Immunology 39: 1-9.
- FAO, 2016. The state of the World Fisheries and Aquaculture. FAO, Rome, Italy.
- Ferguson, R.M.W., Merrifield, D.L., Harper, G.M., Rawling, M.D., Mustafa, S., Picchietti, S., S., Balcàzar, J.L., Davies, S.J. 2010. The effect of *Pediococcus acidilactici* on the gut microbiota and immune status of on-growing red tilapia (*Oreochromis niloticus*). Journal of Applied Microbiology 109: 851-862.
- Fuller, R. 1989 Probiotics in man and animals. Journal of Applied Microbiology 66: 365-378.
- Fuller, R. 1992. History and development of probiotics. In: Fuller, R (Ed.), Probiotics: The Scientific Basis. Chapman and Hall, London, 1-8.
- Ghosh, K., Chakraborty, K., Sen, S.K., Ray, A.K. 2001. Effects of thermostable bacterial α - amylase on growth and feed utilization in rohu, *Labeo rohita* (Hamilton), fingerlings. Israeli Journal of Aquaculture- Bamidgeh 53: 101-109.
- Ghosh, B., Cain, K.D., Nowak, B.F., Bridle, A.R. 2016. Microencapsulation of a putative probiotic *Enterobacter* species, C6-6, to protect rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), against bacterial coldwater disease. Journal of Fish Diseases 39: 1-11.
- Kailasapathy, K. 2002. Microencapsulation of probiotic bacteria: technology and potential applications. Current Issues Intestinal Microbiology 3: 39-48.
- Krasaekoopt, W., Bhandari, B., Deeth, H. 2004. The influence of coating materials on some properties of alginate beads and survivability of microencapsulated probiotic bacteria. International Dairy Journal 14: 737-43.
- Lee, Y.K., Salminen, S. 1995. The coming of age of probiotics. Trends in Food Science & Technology 6: 241-245.
- Mandal, S., Puniya, A.K., Singh, K. 2006. Effect of alginate concentrations on survival of microencapsulated *Lactobacillus casei* NCDC-298. International Dairy Journal 16: 1190-1195.
- Mattila-Sandholm, T., Myllärinen, P., Crittenden, R., Mogensen, G., Fondén, R., Saarela, M. 2002. Technological challenges for future probiotic foods. International Dairy Journal 12: 173-182.
- Merrifield, D.L., Dimitroglou A., Bradley G., Baker R.T.M., Davies S.J. 2009. Probiotic applications for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum). I. Effects on growth performance, feed utilization, intestinal microbiota and related health criteria. Aquaculture Nutrition 10: 1365-2095.
- Pinpimai, K., Rodkhum, C., Chansue, N., Katagiri, T., Maita, M., Pirarat, N. 2015. The study on the candidate probiotic properties of encapsulated yeast, *Saccharomyces cerevisiae* JCM 7255, in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*).

- Research in Veterinary Science 102: 103-11.
- Pourgholam, R., Laluei, F., Saeedi, A.A., Taghavi, M.J., Safari, R., Zahedi, A. 2013. Identification of some streptococcus species isolated from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Iran by using molecular method. Journal of Novel Applied Sciences 2: 1228-1233.
- Shelby, R.A., Lim, C., Yildirim-Aksoy, M., Delaney, M.A. 2006. Effects of probiotic supplements on disease resistance and immune response of young Nile tilapia. (*Oreochromis niloticus*). Journal of Applied Aquaculture 18: 22-34.
- Singh, K., Kallali, B., Kumar, A., Thaker, V. 2011. Probiotics: A review. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine 1: 287-290.
- Sultana, K., Godward, G., Reynolds, N., Arumugaswamy, R., Peiris, P., Kailasapathy, K. 2000. Encapsulation of probiotic bacteria with alginate-starch and evaluation of survival in simulated gastrointestinal conditions and in yoghurt. International Journal of Food Microbiology 62: 47-55.
- Sun, Y.Z., Yang, H.L., Ma, R.L., Song, K., Li, J.S. 2012. Effect of *Lactococcus lactis* and *Enterococcus faecium* on growth performance, digestive enzymes and immune response of grouper *Epinephelus coioides*. Aquaculture Nutrition 18: 281-289.
- Suzer, C., Çoban, D., Kamaci, H.O., Saka, Ş., Firat, K., Otgucuoğlu, Ö., Küçüksarı, H. 2008. *Lactobacillus* spp. bacteria as probiotics in gilthead sea bream (*Sparus aurata*, L.) larvae: effects on growth performance and digestive enzyme activities. Aquaculture 280: 140-145.
- Topic Popovic, N., Strunjak-Perovic, I., Sauerborn-Klobucar, R., Barisic, J., Jadan, M., Kazazic, S., Kesner-Koren, I., Prevendar Crnic, A., Suran, J., Beer Ljubic, B., Matijatko, V. 2016. The effects of diet supplemented with *Lactobacillus rhamnosus* on tissue parameters of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Aquaculture Research 48: 2388-2401.
- Tuber, M. 2001. Veterinary use and antibiotic resistance laboratory of Food microbiology. Current Opinion in Microbiology 4: 493-499.
- Yanbo, W., Zirong, X. 2006. Effect of probiotics for common carp (*Cyprinus carpio*) based on growth performance and digestive enzyme activities. Animal Feed Science and Technology 127: 283-292.

Effect of microencapsulation of *Pediococcus acidilactici* on growth performance, body composition and the bacterial flora of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)

Yalda Hooshyar¹, Abdolmohammad Abedian Kenari^{1*}, Hassan Gandomi², Hamed Paknejad³

1- Department of Aquaculture, Faculty of Natural Resources and Marine Sciences, Tarbiat Modares University, Noor, Mazandaran, Iran

2- Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Tehran, Iran

3- Department of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Golestan, Iran

Received 10 June 2019; accepted 20 August 2019

Abstract

The present study was conducted to evaluate the effect of probiotic bacteria *Pediococcus acidilactici* encapsulated with alginate and resistant starch (Hi maize) coated by chitosan, on growth indices, intestinal flora and carcass composition of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Rainbow trout fingerling with an average weight of 18.41 ± 0.32 g were fed with diets including: encapsulated probiotic, free probiotic, diet containing capsules free of bacteria (positive control) and control diet containing no probiotics for 60 days. The results exhibited that there were no significant differences in growth rate, weight gain, specific growth rate and feed conversion ratio in different groups. The highest number of lactic acid bacteria was found in the fish received the encapsulated bacteria while the lowest was in the control group ($p < 0.05$). Maximum carcass protein and fat contents were observed in encapsulated bacteria treatment and maximum carcass ash was in control group ($p < 0.05$). Totally, the results suggest that encapsulated *P. acidilactici* improves the growth performance, body composition and bacterial flora of rainbow trout.

Keywords: *Pediococcus acidilactici*, encapsulation, probiotic, intestinal bacterial flora, *Oncorhynchus mykiss*

Corresponding author: aabedian@modares.ac.ir