



University of Guilan

University of Guilan with collaboration of Iranian
Aquaculture Society

Aquatic Animals Nutrition

Vol. 9, No. 2, 2023, pages: 55-66
DOI: 10.22124/janb.2023.24771.1207



Effect of adding Bio-Aqua probiotic supplement to earthen pond on growth performance, carcass composition, hematological and biochemical parameters of grass carp, *Ctenopharyngodon idella*

Hosein Ghorbani Koutanaei¹, Reza Changizi^{*1}, Shayan Ghobadi^{*1}, Babak Moghaddasi²,
Hamed Manouchehri¹

1- Department of Aquaculture, Babol Branch, Islamic Azad University, Babol, Iran

2- Department of Marin Biology, Savadkouh Branch, Islamic Azad University, Savadkouh, Iran

Received 09 April 2023

Revised 18 June 2023

Accepted 20 June 2023

KEYWORDS

Physicochemical
parameters
Hematology
Carcass
composition
Growth yield
Biochemical
characteristics
Bio-Aqua
probiotic
supplement

ABSTRACT

In this study, the effect of different levels of Bio-Aqua probiotic supplement on the qualitative indices of grass carp, *Ctenopharyngodon idella*, as well as non-biological and biological parameters of earthen ponds was investigated. For this purpose, fish with an average initial weight of 2.0 ± 0.1 g were selected for 120 days. In the present study, treatments including 0 g/ha (control), 250 g/ha (treatment 1 = T₁), 350 g/ha (treatment 2 = T₂) and 450 g/ha (treatment 3 = T₃) of this Bio-Aqua probiotic supplement were added to the ponds. Based on the results, the specific growth rate, daily growth rate, weight gain, and survival rate in T₃ (450 g/ha) showed a significant difference compared to other treatments ($p < 0.05$). Moreover, significant differences were found in the crude protein and moisture content of grass carp in T₃ compared to the other treatments, especially the control group ($p < 0.05$). In addition, there was a significant difference in lymphocytes, neutrophils, monocytes, hemoglobin, hematocrit, white and red blood cells count in T₃ compared to the other treatments ($p < 0.05$). Bio-Aqua probiotic supplement from 450 g Bio-Aqua /ha (in T₃) caused a significant reduction in TSS, BOD, COD, nitrite, and phosphate levels of water compared to the other experimental treatments ($p < 0.05$). In conclusion, Bio-Aqua probiotic supplementation, especially at T₃ (450 g/ha) exhibited improved growth performance, nutritional value, survival rate, chemical composition, and hematological parameters in grass carp.

*Corresponding author: changizi@baboliau.ac.ir, shgh_science@yahoo.com





"مقاله پژوهشی"

تأثیر افزودن مکمل پروبیوتیک بیوآکوا به استخرهای خاکی بر عملکرد رشد، ترکیب لاشه، فراسنجه‌های خون
شناختی و بیوشیمیایی ماهی آمور (*Ctenopharyngodon idella*)

حسین قربانی کوتنایی^۱، رضا چنگیزی^{۱*}، شایان قبادی^{۱*}، بابک مقدسی^۲، حامد منوچهری^۱

۱- گروه شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد بابل، بابل، مازندران

۲- گروه زیست‌شناسی دریا، واحد سوادکوه، دانشگاه آزاد اسلامی، سوادکوه، مازندران

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۳/۳۰

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۲/۰۳/۲۸

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۱/۲۰

کلمات کلیدی

چکیده

در این پژوهش، تأثیر سطوح مختلف مکمل پروبیوتیک بیوآکوا بر شاخص‌های کیفی ماهیان آمور (*Ctenopharyngodon idella*) و فراسنجه‌های غیرزیستی و زیستی آب استخرهای خاکی پرورش بررسی شد. برای این کار ماهیان با میانگین وزنی اولیه 0.1 ± 0.2 گرم به مدت ۱۲۰ روز بررسی شدند. در این مطالعه، تیمارها شامل صفر گرم در هکتار (شاهد)، ۲۵۰ گرم در هکتار (تیمار ۱)، ۳۵۰ گرم در هکتار (تیمار ۲) و ۴۵۰ گرم در هکتار (تیمار ۳) از این مکمل پروبیوتیک بیوآکوا به استخرها اضافه شد. بر اساس نتایج حاصله، نرخ رشد ویژه، نرخ رشد روزانه، وزن اکتسابی و درصد بازماندگی در تیمار ۳ (۴۵۰ گرم در هکتار) نسبت به دیگر تیمارها اختلاف معنی‌دار نشان داد ($p < 0.05$). همچنین، اختلاف معنی‌داری در درصد پروتئین خام و درصد رطوبت ماهیان آمور تیمارهای ۳ در مقایسه با تیمارهای دیگر به‌خصوص گروه شاهد وجود داشت ($p < 0.05$). همچنین، اختلاف معنی‌داری در درصد لنفوسیت‌ها، نوتروفیل‌ها و مونوسیت‌ها، هموگلوبین، مقدار هماتوکریت، تعداد گلبول‌های سفید و قرمز خون در تیمار ۳ نسبت به دیگر تیمارها وجود داشت ($p < 0.05$). مکمل پروبیوتیک بیوآکوا از ۴۵۰ گرم بیوآکوا در هکتار (در تیمار ۳) موجب کاهش معنی‌دار مقادیر COD، BOD، TSS، نیتريت و فسفات آب در مقایسه با دیگر تیمارهای آزمایشی شد ($p < 0.05$). در نتیجه، این مطالعه نشان داد که مکمل پروبیوتیک بیوآکوا، به‌خصوص در تیمار ۳ با مقدار ۴۵۰ گرم در هکتار نشان‌دهنده بهبود عملکرد رشد، ارزش غذایی، بازماندگی، ترکیب شیمیایی و فراسنجه‌های خون‌شناسی ماهی آمور است.

مقدمه

رشد سریع، رفتار تغذیه‌ای گیاهخواری و توانایی تغذیه با گیاهان مختلف از ویژگی‌های مهم ماهی آمور (*Ctenopharyngodon idella*) به عنوان یکی از مهمترین ماهی‌ها برای پرورش در ایران است (Young and Library, 1989). تراکم بالا، به خصوص روش فشرده، استرس محیطی بالقوه‌ای را برای ماهی‌ها ایجاد کرده است که منجر به حساسیت زیاد به عوامل مختلف بیماری از جمله باکتری‌ها، قارچ‌ها، ویروس‌ها و انگل‌ها می‌شود و به همین دلیل پرورش دهندگان متحمل خسارات و ضررهای اقتصادی زیادی می‌شوند. استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها و دیگر داروهای شیمیایی برای کنترل عفونت ممکن است منجر به سویه‌های مقاوم به دارو، آلودگی محیطی، تجمع باقی‌مانده در بافت‌ها و نگرانی‌های مربوط به ایمنی مواد غذایی شود (Lazado and Caipang, 2014). بنابراین، استفاده از داروهای طبیعی و دوست‌دار محیط زیست به عنوان محرک رشد و تحریک کننده‌های دستگاه ایمنی در پرورش آبزیان توصیه شده است.

پروبیوتیک‌ها ریزموجودات مکمل مانند باکتری‌ها، قارچ‌ها و باکتری‌ها هستند که اثرات مفیدی روی میزبان از طریق تعادل میکروبی در دستگاه گوارش ماهی دارند. *Lactococcus* *Lactobacillus* *Leuconostoc* *Enterococcus* *Bifidobacter* *Bacillus* *Shewanella* *Carnobacterium* *Enterobacter* *Vibrio* *Aeromonas* *Pseudomonas* *Clostridium* و *Saccharomyces* از انواع رایجی هستند که در آبی پروری استفاده می‌شوند (Nayak, 2010). این مواد مکانیسم‌های مختلفی در اعطای فواید خود به ماهی‌ها دارند. این ترکیبات می‌توانند با تولید آنزیم‌های گوارشی عملکرد رشد ماهی را افزایش، و ارزش غذایی و نرخ زنده ماندن آنها را ارتقا دهند. اثرات مثبت آنها به عنوان یک افزودنی خوراکی بر عملکرد رشد، دستگاه ایمنی ذاتی، میکروبیوتای روده، استرس و مقاومت در برابر بیماری و بهبود کیفیت آب در قزل‌آلای رنگین‌کمان تأیید شده است (Adel et al. 2018; Mehrabi et al. 2015). این مواد می‌توانند با

تنظیم ژن‌های سیتوکین پیش‌التهاب و افزایش فعالیت بیگانه‌خواری گلبول‌های سفید، دستگاه ایمنی ماهی را تقویت کنند (Panigrahi et al. 2019). مکمل پروبیوتیک بیوآکوا یک پروبیوتیک چند سویه و شامل *Bacillus spp.* *Lactobacillus spp.* *Saccharomyces* و *Bifidobacterium bifidum cerevisiae* است که معمولاً به عنوان مواد ایمن و سازگار با محیط زیست در میان نامزدهای اصلی برای بهبود افراد سالم شناخته می‌شوند. استفاده از مکمل پروبیوتیک بیوآکوا در جیره غذایی قزل‌آلای رنگین‌کمان (جیره ۲ گرم در کیلوگرم) باعث افزایش شاخص‌های رشد از جمله افزایش وزن، ضریب رشد ویژه (SGR) و وزن نهایی شده است (Akbari Nargesi et al. 2019). این مطالعه به منظور ارزیابی اثرات مکمل غذایی پروبیوتیک بیوآکوا بر فراسنجه‌های فیزیکیوشیمیایی آب استخرهای خاکی و عملکرد رشد، ترکیب لاشه، فراسنجه‌های خون شناختی و بیوشیمیایی بچه‌ماهی آمور انجام شده است.

مواد و روش‌ها

ماهیان آزمایشگاهی

دو هزار و چهارصد ماهی آمور با وزن متوسط 0.1 ± 0.2 گرم از یک مزرعه پرورش ماهی در استان مازندران، ایران به دست آمد. آنها به مدت ۲ هفته در استخرهای خاکی سازگار شدند (هر یک با ظرفیت ۵۰۰ متر مکعب). ماهی‌ها به طور تصادفی در ۱۲ حوضچه خاکی توزیع شدند که هر کدام ۲۰۰ ماهی داشتند و با جیره‌های تجاری (تغذیه آبزیان، مازندران، ایران) به مدت دو هفته تغذیه شدند.

آماده‌سازی جیره‌های غذایی پروبیوتیک و آزمایشگاهی

مکمل پروبیوتیک بیوآکوا از شرکت زیست دارمن ماهان (تهران، ایران) تهیه شد. این مکمل حاوی *Enterococcus faecium*، *Bacillus L. casei* *Lactobacillus plantarum subtilis* *Lactobacillus Pediococcus acidilactici* *L. rhamnosus acidophilus* *Saccharomyces* و *Bifidobacterium bifidum*

¹ Specific Growth Rate

2018): رطوبت با قرار دادن نمونه‌ها در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد و توزین آن پس از خنک شدن تا رسیدن به وزن ثابت به دست آمد. در مورد پروتئین، میزان ازت کل با استفاده از روش کلدال تعیین شد و با اعمال ضریب ۶/۲۵ مقدار پروتئین محاسبه شد. در مورد چربی، با استفاده از روش سوکسله و از طریق حل کردن چربی در اتر اندازه‌گیری شد. خاکستر از طریق سوزاندن نمونه در دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶ ساعت و توزین پس از خنک شدن به دست آمد.

ارزیابی عملکرد رشد

تغذیه تمام ماهیان ۲۴ ساعت قبل از توزین و اندازه‌گیری قطع، و شاخص‌های زیر در پایان دوره تغذیه بعد از ۴ ماه اندازه‌گیری شد (Yıldız et al. 2018):

crevisiae (باکتری $CFU/g \times 10^6 \times 3$) بود. در این مطالعه تیمارها شامل شاهد (T_0)، T_1 (۲۵۰ گرم در هکتار پروبیوتیک بیوآکوا)، T_2 (۳۵۰ گرم در هکتار پروبیوتیک بیوآکوا) و T_3 (۴۵۰ گرم در هکتار پروبیوتیک بیوآکوا) بودند که به آب استخرهای حاکی اضافه شدند. در دو ماه دوم، مقادیر این مکمل دو برابر شد. جیره غذایی ماهی شامل $0/4 \pm 0/26/4$ ٪ پروتئین خام، $0/2 \pm 0/9/2$ ٪ چربی خام، $0/1 \pm 0/6/9$ ٪ فیبر خام، $0/5 \pm 0/9/2$ ٪ رطوبت و $0/3 \pm 0/8/5$ خاکستر بود. میزان تغذیه روزانه حدود ۴٪ از کل وزن بدن بود (Saeidi et al. 2017).

سنجش لاشه ماهی

در پایان تعداد ۹ ماهی از هر تکرار از هر استخر حاکی به طور تصادفی انتخاب شدند. ترکیب تقریبی مطابق با روش‌های استاندارد AOAC انجام شد (Yıldız et al.)

وزن اکتسابی (WG) = وزن اولیه - وزن نهایی

نرخ رشد روزانه (DGR) = (وزن اولیه - وزن نهایی) / طول دوره پرورش

ضریب تبدیل غذای (FCR) = (افزایش وزن / غذای خورده شده)

نرخ رشد ویژه (SGR) = ((لگاریتم طبیعی وزن اولیه - لگاریتم طبیعی وزن ثانویه) / (زمان اولیه - زمان ثانویه)) $\times 100$

نرخ بازماندگی (درصد بازماندگی) = (تعداد اولیه ماهیان - تعداد ماهیان موجود) $\times 100$

نمونه برداری خون

بعد از ۱۲۰ روز، غذای ماهی‌ها ۲۴ ساعت قبل از نمونه‌گیری قطع شد و قبل از جمع‌آوری نمونه، ماهی‌ها با اسانس میخک (۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر) بیهوش شدند (Saeidi et al. 2017). نمونه‌های خون (حدود ۱ میلی‌لیتر) را از سیاهرگ ساقه دمی گرفته، و بلافاصله برای جمع‌آوری سرم به لوله‌های هپارینه منتقل شدند (۳۰ ماهی در هر گروه). نمونه‌های خون هفت ماهی از هر مخزن جداگانه (۲۱ ماهی در هر گروه) بلافاصله به دو قسمت تقسیم شدند. نیمی برای مطالعه خون به لوله‌ای حاوی ضد انعقاد (هپارین) منتقل شد، در حالی که نیمی دیگر برای انجام مطالعات بیوشیمیایی به لوله‌های غیر هپارینه منتقل شد. نمونه‌های سرم پس از سانتریفیوژ به مدت ۵ دقیقه در ۷۰۰۰ دور در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد توسط نمونه‌های خون انعقادی به دست آمدند و تا زمان استفاده در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد ذخیره شدند (Binaii et al. 2014).

اندازه‌گیری شاخص‌های خونی

تعداد گلبول‌های قرمز خون ($RBC: 10^6/mm^3$) و گلبول‌های سفید خون ($WBC: 10^3/mm^3$) توسط لام هماسیتومتر Neubauer با استفاده از مایعات رقیق‌کننده Hayem و Turck شمارش شدند (Binaii et al. 2014): هماتوکریت (Ht) با استفاده از روش میکروهماتوکریت استاندارد اندازه‌گیری و به صورت درصد بیان شد. اندازه‌گیری هموگلوبین (Hb, g/dL) مطابق روش سیانومت هموگلوبین انجام شد. به علاوه، گلبول‌های سفید با تهیه اسمیرهای آغشته به گیمسا اندازه‌گیری شدند (Binaii et al. 2014). برای شمارش تعداد یاخته‌های خونی، اسمیرهای خون توسط میکروسکوپ نوری بررسی شد.

سنجش بیوشیمیایی

لاکتات دهیدروژناز (LDH)^۲ و آلکالین فسفاتاز (ALP)^۳، میزان آلومین، پروتئین کل و گلوکز با استفاده از کیت-های تجاری (شرکت پارس آمون، تهران، ایران) و یک آنالایزر اتوماتیک بیوشیمیایی (Eurolyser, Belgium) تعیین شد (Adel et al. 2015).

سنجش فراسنجه‌های فیزیکیوشیمیایی آب استخرهای ماهی

نمونه‌برداری از آب استخرهای منتخب به صورت ماهیانه انجام شد. به این منظور ۶ نمونه از هر استخر (با سه تکرار) گرفته شد.

نمونه‌ها در کمینه زمان در کنار جعبه‌های یخ (۴ درجه سانتی‌گراد) و در لوله‌های فالكون سترون به آزمایشگاه منتقل شدند. pH، اکسیژن محلول و دما توسط دستگاه قابل حمل WTW اندازه‌گیری شد (WTW-320, USA). کل مواد جامد محلول (TDS) و کل مواد جامد معلق (TSS) از طریق روش وزنی، مطالبه اکسیژن شیمیایی (COD) از طریق روش تیتراسیون، مطالبه اکسیژن زیستی (BOD) از طریق BOD Track Equipment، قلیائیت و فسفات محلول از روش تیتراسیون، آمونیوم و نیتريت با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر اندازه‌گیری شد (Sandeva et al. 2015).

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS ۱۸ (SPSS Inc, USA, IL, Chicago) با استفاده از آزمون واریانس یک طرفه (ANOVA) و به دنبال آن آزمون‌های چند دامنه‌ای دانکن انجام شد. مقدار $p < 0.05$ معنی‌دار در نظر گرفته شد. تمام داده‌ها در سه تکرار برای هر تیمار انجام شد. برای تعیین نرمالیتی داده‌ها از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف استفاده شد.

نتایج

شاخص‌های رشد

نتایج مربوط به شاخص‌های رشد تیمارهای مختلف آمورهای تغذیه شده با مکمل پروبیوتیک بیوآکوا در انتهای دوره در جدول ۱ آمده است. بر اساس این نتایج میزان نرخ رشد ویژه (SGR)، وزن اکتسابی (WG)، نرخ رشد روزانه (DGR)، ضریب تبدیل غذایی (FCR) و بازماندگی در تیمار ۳ (۴۵۰ گرم در هکتار) اختلاف معنی‌دار نشان داد ($p < 0.05$). بر اساس نتایج به دست آمده با افزایش مقادیر بیوآکوا از ۲۵۰ به ۴۵۰ گرم در هکتار به میزان شاخص‌های مورد مطالعه (به استثنای FCR) افزوده شد ($p < 0.05$). همچنین، بیشترین میزان زنده‌مانی در تیمار ۳ مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری با تیمارهای دیگر داشت ($p < 0.05$).

جدول ۱ عملکرد رشد و میزان شاخص‌های رشد آمور در تیمارهای مختلف با پروبیوتیک بیوآکوا (Mean \pm SE)

فراسنجه	شاهد	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳
وزن اولیه (گرم)	۲ \pm ۰/۰۵	۲ \pm ۰/۰۵	۲/۱ \pm ۰/۰۷	۲/۰۳ \pm ۰/۰۴
وزن اکتسابی (گرم)	۴۹/۲۸ \pm ۰/۵ ^d	۵۷/۱۶ \pm ۰/۸ ^c	۶۶/۵ \pm ۰/۶ ^b	۷۳/۱ \pm ۰/۹ ^a
نرخ رشد ویژه (SGR)	۱/۰۱ \pm ۰/۰۴ ^d	۱/۱۲ \pm ۰/۰۵ ^c	۱/۳۰ \pm ۰/۱ ^b	۱/۴۶ \pm ۰/۰۷ ^a
ضریب تبدیل غذایی	۲/۷۵ \pm ۰/۳ ^a	۲/۵۸ \pm ۰/۱ ^b	۲/۴۰ \pm ۰/۲ ^c	۲/۱۸ \pm ۰/۱ ^d
نرخ رشد روزانه (گرم در روز)	۱/۲۶ \pm ۰/۱ ^d	۱/۴۴ \pm ۰/۳ ^c	۱/۷۶ \pm ۰/۲ ^b	۲/۰۹ \pm ۰/۴ ^a
درصد بازماندگی	۸۰/۱ \pm ۱/۴ ^c	۸۶ \pm ۲/۱۰ ^b	۸۸/۲ \pm ۰/۸ ^b	۹۴ \pm ۲/۳ ^a

حروف متفاوت در هر ردیف نشان دهنده تفاوت معنی‌دار بین تیمارهای مورد مطالعه است ($p < 0.05$).

نتایج ترکیبات شیمیایی لاشه

در جدول ۲ سنجش ترکیب شیمیایی بدن ماهیان آمور تغذیه شده با مقادیر مختلف مکمل پروبیوتیک بیوآکوا پس

از ۴ ماه نشان داده شده است. بر اساس این نتایج، اختلاف معنی‌دار در درصد پروتئین خام و درصد رطوبت بین ماهیان آمور تغذیه شده با جیره ۳ با دیگر نمونه‌ها به خصوص

³ alkaline phosphatase

² lactate dehydrogenase

شاهد و تیمار ۱ وجود داشت ($p < 0.05$)؛ هر چند که اختلاف معنی‌داری از نظر درصد چربی خام و خاکستر بین تیمارهای مختلف آزمایشی مشاهده نشد ($p > 0.05$).

جدول ۲ ترکیبات شیمیایی لاشه آمور در تیمارهای مختلف مکمل پروبیوتیک بیوآکوا (Mean \pm SE)

فراسنجه (%)	شاهد	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳
پروتئین خام	۱۶/۹ \pm ۰/۲ ^c	۱۷/۲ \pm ۰/۴ ^b	۱۷/۸ \pm ۰/۶ ^b	۱۸/۵ \pm ۰/۷ ^a
چربی خام	۲/۷ \pm ۰/۲	۲/۶ \pm ۰/۱	۲/۳ \pm ۰/۲	۲/۱ \pm ۰/۱
رطوبت	۷۸/۱ \pm ۰/۷ ^a	۷۷/۸ \pm ۰/۶ ^a	۷۷ \pm ۰/۳ ^b	۷۶/۳ \pm ۰/۴ ^c
خاکستر	۱/۹ \pm ۰/۱	۲ \pm ۰/۱	۱/۸ \pm ۰/۱	۱/۹ \pm ۰/۱

حروف متفاوت در هر ردیف نشان دهنده تفاوت معنی‌دار بین تیمارهای مورد مطالعه است ($p < 0.05$).

سنجش خون

($p < 0.05$). بر اساس نتایج، اختلاف معنی‌داری در درصد لنفوسیت، نوتروفیل و مونوسیت، هماتوکریت و تعداد WBC و RBC در T₃ در مقایسه با دیگر تیمارها وجود داشت ($p < 0.05$)؛ اگرچه، اختلاف معنی‌داری در درصد ائوزینوفیل در تیمارهای مورد مطالعه مشاهده نشد ($p > 0.05$).

تعداد گلبول‌های سفید و قرمز خون در تیمارهای پروبیوتیک بیوآکوا به طور قابل توجهی افزایش یافت ($p < 0.05$; جدول ۳). بیشترین تعداد گلبول سفید و قرمز در تیمار T₃ مشاهده شد که از نظر آماری تفاوت معنی‌داری با دیگر تیمارها، به‌خصوص شاهد (تیمار T₀) داشت.

جدول ۳ سنجش خون ماهی آمور پرورش داده شده در آب غنی شده با مقادیر مختلف مکمل پروبیوتیک بیوآکوا طی ۴ ماه (Mean \pm SE)

فراسنجه	شاهد	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳
RBC ($\times 10^6$)	۰/۸۴ \pm ۰/۰۷ ^c	۰/۹۰ \pm ۰/۰۶ ^c	۱/۱۱ \pm ۰/۰۸ ^b	۱/۳۲ \pm ۰/۰۶ ^a
WBC ($\times 10^3$)	۲۲/۱۶ \pm ۰/۵ ^c	۲۲/۹۴ \pm ۰/۶ ^{bc}	۲۳/۴۶ \pm ۰/۲ ^b	۲۵/۶۸ \pm ۰/۵ ^a
Hb (g/dL)	۶/۸۷ \pm ۰/۰۸ ^b	۷/۱۳ \pm ۰/۱۳ ^b	۷/۸۲ \pm ۰/۱۵ ^a	۸/۴۳ \pm ۰/۱ ^a
Hct (%)	۲۰/۴ \pm ۰/۶ ^c	۲۱/۴ \pm ۰/۵ ^c	۲۲/۶ \pm ۰/۹ ^b	۲۴/۱ \pm ۰/۸ ^a
مونوسیت (%)	۵/۰۷ \pm ۰/۰۲ ^b	۵/۰۲ \pm ۰/۰۶ ^b	۵/۹۰ \pm ۰/۰۶ ^a	۶/۱۱ \pm ۰/۰۵ ^a
لنفوسیت (%)	۸۱ \pm ۱ ^a	۷۹/۳ \pm ۱/۱۴ ^b	۷۷/۵ \pm ۱/۳ ^c	۷۴/۲ \pm ۰/۹ ^d
نوتروفیل (%)	۱۱/۸ \pm ۰/۸ ^d	۱۲/۲ \pm ۱ ^c	۱۳/۶ \pm ۰/۹ ^b	۱۵/۷ \pm ۱/۱ ^a
ائوزینوفیل (%)	۰/۷۸ \pm ۰/۰۲	۰/۸۲ \pm ۰/۰۲	۰/۶۹ \pm ۰/۰۲	۰/۷۴ \pm ۰/۰۱

حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین تیمارهای مورد مطالعه است ($p < 0.05$).

تغییرات بیوشیمیایی سرم خون

گرم در هکتار) و T₂ (۳۵۰ گرم در هکتار) با شاهد و T₁ (۲۵۰ گرم در هکتار) در مقدار آلومین تفاوت معنی‌دار وجود داشت ($p < 0.05$). همچنین، اختلاف معنی‌داری در سرم در T₃ (۴۵۰ گرم در هکتار) با دیگر تیمارها، به‌خصوص گروه شاهد از نظر مقدار پروتئین کل و گلوکز وجود داشت ($p < 0.05$).

تغییرات بیوشیمیایی سرم خون در جدول ۴ خلاصه شده است. بر اساس این نتایج، تفاوت قابل توجهی در فعالیت‌های LDH و ALP ماهی آمور در T₃ نسبت به دیگر تیمارها مشاهده شد (جدول ۴). همچنین، بین T₃ (۴۵۰

جدول ۴ تغییرات بیوشیمیایی سرم خون ماهی آمور پرورش داده شده در آب غنی شده با مقادیر مختلف مکمل پروبیوتیک بیواکوا (Mean ± SE)

فراسنجه	شاهد	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳
لاکتات دهیدروژناز	۹۵۷/۶ ± ۱۰/۳ ^a	۸۶۷ ± ۸/۴ ^b	۷۴۱ ± ۱۰/۳ ^c	۷۰۹ ± ۱۴ ^d
آلکالین فسفاتاز	۵۳۳/۱ ± ۱۲/۶ ^a	۴۹۲/۲ ± ۱۱/۵ ^b	۳۶۷/۵ ± ۵ ^c	۳۵۱/۷ ± ۶/۹ ^d
آلبومین (گرم/دسی لیتر)	۱/۱۲ ± ۰/۱ ^b	۱/۲۳ ± ۰/۱ ^b	۱/۵۴ ± ۰/۱ ^a	۱/۵۶ ± ۰/۱ ^a
پروتئین تام (گرم/دسی لیتر)	۳/۱ ± ۰/۳ ^c	۳/۳ ± ۰/۱ ^c	۴/۱ ± ۰/۱ ^b	۴/۷ ± ۰/۱ ^a
گلوکز (میلی گرم/دسی لیتر)	۷۱ ± ۰/۵ ^c	۷۵/۲ ± ۰/۷ ^c	۸۶/۷ ± ۰/۹ ^b	۹۸/۱ ± ۱/۱ ^a

حروف متفاوت در هر ردیف نشان دهنده تفاوت معنی دار بین تیمارهای مورد مطالعه است ($p < 0.05$).

فراسنجه های فیزیکیوشیمیایی آب

تأثیر مقادیر مختلف مکمل پروبیوتیک بیواکوا بر روی فراسنجه های فیزیکیوشیمیایی آب استخرهای پرورشی به صورت خلاصه در جدول ۵ آمده است. نتایج نشان داد که استفاده از ۴۵۰ گرم بیواکوا در هکتار (در تیمار ۳) موجب

کاهش معنی دار مقادیر COD, BOD, TSS، نیتريت و فسفات آب در مقایسه با دیگر تیمارهای آزمایشی شده است ($p < 0.05$). اگرچه نتایج نشان دهنده آن است که مقادیر مختلف مکمل پروبیوتیک بیواکوا بر روی شاخص های دما، pH، شوری، TDS و آمونیاک آب استخرهای پرورشی تأثیر معنی دار نداشته است ($p > 0.05$).

جدول ۵ فراسنجه های فیزیکیوشیمیایی آب استخرهای حاکی غنی شده با سطوح مختلف مکمل پروبیوتیک بیواکوا پس از ۱۲۰ روز (Mean ± SE)

فراسنجه	شاهد	۲۵۰ گرم در هکتار	۳۵۰ گرم در هکتار	۴۵۰ گرم در هکتار
دما (درجه سانتی گراد)	۳۱/۲ ± ۰/۳	۳۱/۵ ± ۰/۵	۳۱/۵ ± ۰/۲	۳۱/۶ ± ۰/۴
pH	۸/۵ ± ۰/۱	۸/۳ ± ۰/۲	۸/۴ ± ۰/۱	۸/۶ ± ۰/۱
شوری (ppt)	۳/۱ ± ۰/۰۷	۳/۲ ± ۰/۰۸	۳/۴ ± ۰/۰۵	۳/۲ ± ۰/۰۸
TDS (ppt)	۲/۴۸ ± ۰/۰۳	۲/۵ ± ۰/۰۱	۲/۶۱ ± ۰/۰۲	۲/۳۶ ± ۰/۰۳
TSS (میلی گرم در لیتر)	۲۷۹/۰ ± ۵/۳ ^a	۲۶۸/۵ ± ۸/۳ ^b	۲۲۸/۵ ± ۷/۴ ^c	۲۱۰ ± ۵ ^d
BOD (میلی گرم در لیتر)	۴ ± ۰/۱ ^a	۳/۷۵ ± ۰/۱۲ ^{ab}	۳/۵۵ ± ۰/۰۵ ^{ab}	۳/۱ ± ۰/۰۵ ^b
COD (میلی گرم در لیتر)	۱۴ ± ۰/۸ ^a	۱۳/۳ ± ۱/۳ ^a	۱۲/۵ ± ۱/۳ ^{ab}	۱۰/۱۷ ± ۱/۳ ^b
آمونیاک (میلی گرم در لیتر)	۰/۱۹ ± ۰/۰۲	۰/۲ ± ۰/۰۱	۰/۱۹ ± ۰/۰۱	۰/۱۸ ± ۰/۰۱
نیتريت (میلی گرم در لیتر)	۰/۰۹ ± ۰/۰۳ ^a	۰/۱۰ ± ۰/۰۱ ^a	۰/۰۷ ± ۰/۰۱ ^{ab}	۰/۰۶ ± ۰/۰۱ ^b
فسفات (میلی گرم در لیتر)	۰/۰۶۲ ± ۰/۰۳ ^a	۰/۰۶۰ ± ۰/۰۳ ^a	۰/۰۵۷۰ ± ۰/۰۳ ^a	۰/۰۳۴ ± ۰/۰۳ ^b

حروف متفاوت در هر ردیف نشان دهنده تفاوت معنی دار بین تیمارهای مورد مطالعه است ($p < 0.05$).

بحث

استفاده از پروبیوتیک به عنوان یک راهبرد مهم برای دستیابی به تولیدات تجدیدپذیر از طریق کنترل زیستی در سازگان های پرورش ماهی و سخت پوستان پیشنهاد شده است. یکی از مهم ترین ویژگی های پروبیوتیک ها افزایش ارزش غذایی و بهبود عملکرد رشد ماهی است. نتایج این مطالعه نشان داد که افزودن مقادیر مختلف مکمل

پروبیوتیک بیواکوا به آب استخرهای حاکی تأثیرات قابل توجهی بر عملکرد رشد ماهی آمور دارد. در پایان مطالعه، تیمار T₃ (۴۵۰ گرم در هکتار) دارای بالاترین افزایش وزن، رشد ویژه، سرعت رشد روزانه و بازماندگی بود. پیشنهاد شده است که بهبود عملکرد رشد در ماهی آمور تغذیه شده با مکمل پروبیوتیک بیواکوا ممکن است به تولید ماده بازدارنده، بهبود ترشح آنزیم های روده و میکرو فلور روده،

تعدیل و تقویت پاسخ‌های ایمنی مربوط باشد. مشابه نتایج حاضر، Akbari Nargesi و همکاران (۲۰۱۹) نشان دادند که استفاده از پروبیوتیک تجاری بیوآکوا به میزان ۲ گرم در هر کیلوگرم جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) منجر به بهبود شاخص‌های رشد ماهیان شامل افزایش وزن بدن و میانگین وزن نهایی می‌شود. همچنین، نشان داده شده است که استفاده از اسپورهای باسیلوس‌های پروبیوتیک *Bacillus circulans* و *B. licheniformis* که به آب پرورشی افزوده می‌شوند، عملکرد رشد و بازماندگی آمور را بهبود می‌بخشند (Jafarian et al. 2011).

در مطالعه دیگری، اختلافات معنی‌داری در SGR، FCR و بازده خوراک ماهیان آمور، سرگنده (*Hypophthalmichthys nobilis*) و کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) تغذیه شده با باسیلوس مشاهده شد (Jamali et al. 2015). Toutou و همکاران (۲۰۱۶) گزارش کردند که مکمل غذایی با چند سویه پروبیوتیک (باسیلوس سوبتیلیس، باسیلوس سرئوس و مخمر) در جیره ماهی آمور عملکرد رشد و وضعیت سلامتی ماهی را بهبود می‌بخشد. Wu و همکاران (۲۰۱۲) گزارش کردند که *Bacillus subtilis* Ch9 می‌تواند میکرو فلور روده را تعدیل کند، فعالیت آنزیم گوارشی را القا کند و به طور بالقوه باعث هضم و جذب مواد مغذی شود و همچنین عملکرد رشد ماهی آمور را به طور قابل توجهی بهبود بخشد. به همین ترتیب، Qi و همکاران (۲۰۰۹) گزارش کردند که با استفاده از مکمل پروبیوتیک، قادر به کاهش ۷٪ از کل هزینه‌های خود با توجه به افزایش سرعت رشد برای پرورش ماهیان کپور نقره‌ای (*Hypophthalmichthys molitrix*) و سرگنده شدند.

عملکرد رشد بهبود یافته برای ماهی آمور، سرگنده، کپور نقره‌ای و کپور سیاه (*Mylopharyngodon piceus*) هم با استفاده از مکمل‌های پروبیوتیک گزارش شده است (Dawood and Koshio, 2016; Chen et al. 2020; Wu et al. 2021).

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که مکمل پروبیوتیک بیوآکوا بازماندگی ماهی آمور (تیمار T₃) را افزایش می‌دهد که دلیل این افزایش ممکن است مربوط به از بین بردن باکتری‌های مضر توسط باکتری‌های مفید در این پروبیوتیک چندسویه به خصوص *L. casei*، *L. plantarum* و

L. rhamnosus و *acidophilus* باشد. Tang و همکاران (۲۰۱۹) گزارش کردند که *B. subtilis* اثری محافظتی برای ماهی آمور در برابر آسیب استرس اکسیداتیو ناشی از عفونت *A. hydrophila* دارد. Kong و همکاران (۲۰۲۰) گزارش کردند که باکتری‌های اسید لاکتیک ترکیباتی مانند باکتریوسین تولید می‌کنند و از این طریق از رشد ریزموجودات مضر در روده جلوگیری می‌کنند.

سنجش خون به‌عنوان شاخص زیستی ارزشمند شناخته شده است که نشان‌دهنده پاسخ بدن به فشارهای فیزیولوژیک است و همچنین، سلامت عمومی بدن را نشان می‌دهد. بر اساس نتایج، تفاوت معنی‌دار در درصد لنفوسیت، نوتروفیل و مونوسیت، هموگلوبین، مقدار هماتوکریت، تعداد WBC و RBC در T₃ در مقایسه با دیگر تیمارها وجود داشت. این نتایج، بهبود دستگاه ایمنی ماهی آمور پرورش یافته در آب غنی حاوی مقادیر مختلف پروبیوتیک بیوآکوا پس از ۴ ماه را تأیید می‌کند. در مطالعه مشابه، تعداد گلبول‌های قرمز خون، هماتوکریت و هموگلوبین ماهی کپور معمولی در گروه‌های *Lactobacillus plantarum* بالاتر از گروه شاهد بود (Soltani et al. 2017). مطالعه Kumar و همکاران (۲۰۰۶) نشان داد که استفاده از باسیلوس سوبتیلیس به عنوان پروبیوتیک در کپور هندی موجب تأثیر معنی‌دار در تعداد گلبول‌های سفید خون، شاخص‌های ایمنی و افزایش بازماندگی ماهی در برابر باکتری آئروموناس هیدروفیلا می‌شود. Al-dohail و همکاران (۲۰۰۹) گزارش کردند که اضافه کردن پروبیوتیک *L. acidophilus* به جیره گربه-ماهی آفریقایی *Clarias gariepinus* باعث افزایش سطح هماتوکریت، هموگلوبین و هم‌چنین، تعداد کل گلبول‌های قرمز و سفید می‌شود.

پروتئین‌های کل شامل پروتئین‌های آلبومین و گلوبولین است. تصور می‌شود که افزایش مقادیر آلبومین، گلوبولین و پروتئین کل بیشتر با تحریک دستگاه ایمنی غیراختصاصی مرتبط باشد (Kong et al. 2020). در مطالعه مشابه، Soltani و همکاران (۲۰۱۷) نشان دادند که کپور معمولی با غلظت‌های مختلف *L. plantarum* دارای سطح بالاتری از پروتئین کل سرم در مقایسه با شاهد است. در مطالعه صفری و همکاران (۲۰۱۶) تعداد نوتروفیل‌ها در تمام گروه‌های پروبیوتیک (*Enterococcus casseliflavus*) از

تعدیل و تقویت پاسخ‌های ایمنی مربوط باشد. مشابه نتایج حاضر، Akbari Nargesi و همکاران (۲۰۱۹) نشان دادند که استفاده از پروبیوتیک تجاری بیوآکوا به میزان ۲ گرم در هر کیلوگرم جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) منجر به بهبود شاخص‌های رشد ماهیان شامل افزایش وزن بدن و میانگین وزن نهایی می‌شود. همچنین، نشان داده شده است که استفاده از اسپورهای باسیلوس‌های پروبیوتیک *Bacillus circulans* و *B. licheniformis* که به آب پرورشی افزوده می‌شوند، عملکرد رشد و بازماندگی آمور را بهبود می‌بخشند (Jafarian et al. 2011).

در مطالعه دیگری، اختلافات معنی‌داری در SGR، FCR و بازده خوراک ماهیان آمور، سرگنده (*Hypophthalmichthys nobilis*) و کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) تغذیه شده با باسیلوس مشاهده شد (Jamali et al. 2015). Toutou و همکاران (۲۰۱۶) گزارش کردند که مکمل غذایی با چند سویه پروبیوتیک (باسیلوس سوبتیلیس، باسیلوس سرئوس و مخمر) در جیره ماهی آمور عملکرد رشد و وضعیت سلامتی ماهی را بهبود می‌بخشد. Wu و همکاران (۲۰۱۲) گزارش کردند که *Bacillus subtilis* Ch9 می‌تواند میکرو فلور روده را تعدیل کند، فعالیت آنزیم گوارشی را القا کند و به طور بالقوه باعث هضم و جذب مواد مغذی شود و همچنین عملکرد رشد ماهی آمور را به طور قابل توجهی بهبود بخشد. به همین ترتیب، Qi و همکاران (۲۰۰۹) گزارش کردند که با استفاده از مکمل پروبیوتیک، قادر به کاهش ۷٪ از کل هزینه‌های خود با توجه به افزایش سرعت رشد برای پرورش ماهیان کپور نقره‌ای (*Hypophthalmichthys molitrix*) و سرگنده شدند.

عملکرد رشد بهبود یافته برای ماهی آمور، سرگنده، کپور نقره‌ای و کپور سیاه (*Mylopharyngodon piceus*) هم با استفاده از مکمل‌های پروبیوتیک گزارش شده است (Dawood and Koshio, 2016; Chen et al. 2020; Wu et al. 2021).

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که مکمل پروبیوتیک بیوآکوا بازماندگی ماهی آمور (تیمار T₃) را افزایش می‌دهد که دلیل این افزایش ممکن است مربوط به از بین بردن باکتری‌های مضر توسط باکتری‌های مفید در این پروبیوتیک چندسویه به خصوص *L. casei*، *L. plantarum* و

جلبک‌ها و اکسیژن محلول را افزایش دهند و همچنین به کنترل و کاهش آمونیاک، نیتريت و سولفید هیدروژن و شیوع بیماری‌ها کمک کنند (Padmavathi et al., 2012). در مطالعه حاضر، پروبیوتیک بیوآکوا، در تیمار T₃ به طور قابل توجهی باعث کاهش COD، BOD، TSS، نیتريت و فسفات آب استخر پرورش شده در مقایسه با دیگر تیمارها شد.

پروبیوتیک‌ها با تسریع فرآیندهای طبیعی مانند نیتریفیکه شدن، آمونیاک‌سازی، دنیتریفیکه شدن، اکسایش سولفید و تجزیه ترکیبات سمی، کیفیت آب را افزایش می‌دهند (Padmavathi et al., 2012). Zhou و همکاران (۲۰۰۹) نشان دادند که استفاده از پروبیوتیک‌های تجاری میزان نیتروژن و فسفر را در حوضچه کاهش می‌دهد و خصوصیات کیفیت آب را بهبود می‌بخشد. Maia و همکاران (۲۰۱۳) نشان داد که استفاده از پروبیوتیک‌های تجاری در آب‌های استخرهای حاکی با کاهش باکتری‌های بیماری‌زا در محیط کشت، کیفیت آب را بهبود می‌بخشد. این نتایج مشابه نتایج فعلی بوده و تأثیرات مثبت پروبیوتیک بیوآکوا را در آب استخرهای حاکی تأیید می‌کند.

در نهایت، می‌توان نتیجه‌گیری کرد که مکمل پروبیوتیک بیوآکوا، به‌خصوص در غلظت ۴۵۰ گرم در هکتار، اثرات مثبت و قابل توجهی بر عملکرد رشد، ارزش غذایی، بازماندگی، ترکیب شیمیایی ماهی آمور و همچنین بر فراسنجه‌های فیزیکیوشیمیایی آب استخرهای حاکی دارد. بنابراین، توصیه می‌شود که در آب استخرهای حاکی برای پرورش ماهی آمور استفاده شود. اگرچه، مطالعات بیشتری برای بررسی تأثیر پروبیوتیک بیوآکوا بر پاسخ ایمنی غیراختصاصی، مقاومت در برابر بیماری‌ها و فعالیت آنزیم‌های روده ماهی آمور مورد نیاز است.

بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان به طور قابل توجهی در مقایسه با گروه شاهد افزایش یافت.

آنزیم‌های کبدی به عنوان شاخص‌هایی برای ارزیابی فعالیت کبد در نظر گرفته می‌شوند. تغییر در فعالیت آنزیم‌های کبدی و ترشح آنها می‌تواند تحت تأثیر فراسنجه‌های فیزیکیوشیمیایی آب، تراکم، نوع جیره غذایی، سن و جنس ماهی قرار گیرد. نتایج حاضر نشان داد که فعالیت آنزیم‌های کبدی (LDH و ALP) تحت تأثیر مقادیر مختلف پروبیوتیک بیوآکوا نبوده و کاهش یافته است. به طور کلی، افزایش فعالیت‌های LDH و ALP معمولاً به عنوان شاخص آسیب کبدی در نظر گرفته می‌شود (Safari et al., 2016). بنابراین، نتایج نشان می‌دهد که پروبیوتیک بیوآکوا برای سلامت کبد سمی نبوده است. در گزارش مشابه، اختلاف معنی‌داری در سطح ALP، ALT، AST و LDH ماهی کپور معمولی تغذیه شده با غلظت‌های مختلف *L. plantarum* دیده نشد.

بر اساس نتایج فعلی، تفاوت معنی‌داری در درصد پروتئین خام و میزان رطوبت در T₃ در مقایسه با دیگر تیمارها به‌خصوص شاهد و T₁ وجود داشت که احتمالاً به توانایی باکتری‌های اسید لاکتیک در بهبود هضم و جذب ترکیبات پروتئینی از دستگاه گوارش مربوط می‌شود (Zheng et al., 2020). در مطالعه مشابه، Katuli و همکاران (۲۰۱۳) گزارش کردند که باسیل *S. cerevisiae* جدا شده از روده بلوگا (*Huso huso*) به طور قابل توجهی محتوای پروتئین لاشه را در مقایسه با گروه شاهد افزایش می‌دهد. Ramachandran و Ray (۲۰۰۷) نشان دادند که *Bacillus sp.* جدا شده از روده ماهی کپور معمولی به عنوان پروبیوتیک باعث افزایش پروتئین خام ماهی *Labeo rohita* انگشت گذاری می‌شود.

کیفیت آب نقش مهمی در عملکرد رشد و میزان بازماندگی ماهی دارد. پروبیوتیک‌ها می‌توانند تجزیه مواد آلی، رشد

منابع

- Adel, M., Safari, R., Pourgholam, R., Zorriehzahra, J., Esteban M.Á. 2015. Dietary peppermint (*Mentha piperita*) extracts promote growth performance and increase the main humoral immune parameters (both at mucosal and systemic level) of Caspian brown trout (*Salmo trutta caspius* Kessler, 1877). *Fish & Shellfish Immunology* 47: 623-629.
- Akbari Nargesi, E., Falahatkar, B., Mohammadi, M. 2019. Growth performance and hematological indices in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*):

- Exclusive study of probiotic effect on male broodstock. Iranian Scientific Fisheries Journal 28: 101-112.
- Al-Dohail, M.A., Hashim, R., Aliyu-Paiko, M. 2009. Effects of the probiotic, *Lactobacillus acidophilus*, on the growth performance, haematology parameters and immunoglobulin concentration in African Catfish (*Clarias gariepinus*, Burchell 1822) fingerling. Aquaculture Research 40: 1642-1652.
- Binaii, M., Ghiasi, M., Farabi, S.M.V., Pourgholam, R., Fazli, H., Safari, R., Alavi, S.E., Taghavi, M.J., Bankehsaz, Z. 2014. Biochemical and hemato-immunological parameters in juvenile beluga (*Huso huso*) following the diet supplemented with nettle (*Urtica dioica*). Fish & Shellfish Immunology 36: 46-51.
- Chen, X., Xie, J., Liu, Z., Yin, P., Chen, M., Liu, Y., Tian, L., Niu, J. 2020. Modulation of growth performance, non-specific immunity, intestinal morphology, the response to hypoxia stress and resistance to *Aeromonas hydrophila* of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) by dietary supplementation of a multi-strain probiotic. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology 231: 108724.
- Dawood, M.A.O., Koshio, S. 2016. Recent advances in the role of probiotics and prebiotics in carp aquaculture: A review. Aquaculture 454: 243-251.
- Jafarian, H., Soltani, M., Noferesti, H., Ebrahimi, P. 2011. Effect of adding probiotics into the rearing tanks of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) for the exploitation of *Artemia urmiana*, *Artemia fransiscana* and *Artemia parthenogenetica* nauplii. Iranian Journal of Veterinary Medicine 5: 157-161.
- Jamali, H., Jafaryan, H., Nazerian, S., Aramli, M. 2015. Effect of probiotic *Bacillus* spp. on growth and feed efficiency of common carp, grass carp and bighead larvae fed with nauplii of different *Artemia* species. Fisheries Science and Technology (Tarbiat Modares University). 4: 27-43.
- Katuli, K., Jafaryan, H., Abdollahi Arpanahi, D., Tavana. 2013. Performance evaluation of combined probiotic *Bacillus* and yeast *Saccharomyces cerevisiae* isolated from the digestive tract of *Huso huso* on growth factors and biochemical body extracts improvement and increased resistance of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) larvae in the face of stressors. Journal of Fisheries. 66: 441-452.
- Kong, Y., Gao, C., Du, X., Zhao, J., Li, M., Shan, X., Wang, G. 2020. Effects of single or conjoint administration of lactic acid bacteria as potential probiotics on growth, immune response and disease resistance of snakehead fish (*Channa argus*). Fish & Shellfish Immunology 102: 412-421.
- Kumar, R., Mukherjee, S.C., Prasad, K.P., Pal, A.K. 2006. Evaluation of *Bacillus subtilis* as a probiotic to Indian major carp *Labeo rohita* (Ham.). Aquaculture Research 37: 1215-1221.
- Lazado, C.C., Caipang, C.M.A. 2014. Atlantic cod in the dynamic probiotics research in aquaculture. Aquaculture 424-425: 53-62.
- Maia, E., Alves-Modesto, G., Brito, L., Galvez, A., Tereza Vasconcelos-Gesteira, C. 2013. Effect of a commercial probiotic on bacterial and phytoplankton concentration in intensive shrimp farming (*Litopenaeus vannamei*) recirculation systems. Latin American Journal of Aquatic Research 41: 126-137.
- Mehrabi, F., Khalesi, M., Hazaie, K. 2018. Effects of pre-and probiotics on growth, survival, body composition, and hematology of common carp (*Cyprinus carpio* L.) fry from the Caspian Sea. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 18: 597-602.

- Nayak, S.K. 2010. Probiotics and immunity: A fish perspective. *Fish & Shellfish Immunology* 29: 2-14.
- Padmavathi, P., Sunitha, K., Veeraiah, K., 2012. Efficacy of probiotics in improving water quality and bacterial flora in fish ponds. *African Journal of Microbiology Research* 6: 7471-7478.
- Panigrahi, A., Sundaram, M., Saranya, C., Swain, S., Dash, R.R., Dayal, J.S. 2019. Carbohydrate sources differentially influence growth performances, microbial dynamics and immunomodulation in Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) under biofloc system. *Fish & Shellfish Immunology* 86: 1207-1216.
- Ramachandran, S., Ray, A.K. 2007. Nutritional evaluation of fermented black gram (*Phaseolus mungo*) seed meal in compound diets for rohu, *Labeo rohita* (Hamilton), fingerlings. *Journal of Applied Ichthyology* 23: 74-79.
- Saeidi, asl M.R., Adel, M., Caipang C.M.A., Dawood, M.A.O. 2017. Immunological responses and disease resistance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) juveniles following dietary administration of stinging nettle (*Urtica dioica*). *Fish & Shellfish Immunology* 71: 230-238.
- Safari, R., Adel, M., Lazado , C.C., Caipang, C.M.A., Dadar, M. 2016. Host-derived probiotics *Enterococcus casseliflavus* improves resistance against *Streptococcus iniae* infection in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) via immunomodulation. *Fish & Shellfish Immunology* 52: 198-205.
- Sandeva, G., Zapryanova, D., Atanasoff, A., Nikolov, G., Ivanov, V. 2015. Chemical analysis of water used for fish farming in Tundzha River, Bulgaria. *Annals of the University of Craiova. XLV*: 248-254.
- Soltani, M., Abdy, E., Alishahi, M., Mirghaed, A.T., Hosseini-Shekarabi , P. 2017. Growth performance, immune-physiological variables and disease resistance of common carp (*Cyprinus carpio*) orally subjected to different concentrations of *Lactobacillus plantarum*. *Aquaculture International* 25: 1913-1933.
- Tang, Y., Han, L., Chen, X., Xie , M., Kong , W., Wu, Z. 2019. Dietary supplementation of probiotic *Bacillus subtilis* affects antioxidant defenses and immune response in grass carp under *Aeromonas hydrophila* challenge. *Probiotics and Antimicrobial Proteins* 11: 545-558.
- Toutou, M., Soliman, A.A., Farrag, M., Abouelwafa, A. 2016. Effect of probiotic and synbiotic food supplementation on growth performance and healthy status of grass carp, *Ctenopharyngodon idella* (Valenciennes, 1844). *International Journal of Ecotoxicology and Ecobiology* 1: 111-117.
- Wu, Z., Qi, X., Qu, S., Ling, F., Wang, G. 2021. Dietary supplementation of *Bacillus velezensis* B8 enhances immune response and resistance against *Aeromonas veronii* in grass carp. *Fish & Shellfish Immunology* 115: 14-21.
- Wu, Z.X., Feng, X., Xie, L.L., Peng, X.Y., Yuan, J., Chen, X.X. 2012. Effect of probiotic *Bacillus subtilis* Ch9 for grass carp, *Ctenopharyngodon idella* (Valenciennes, 1844), on growth performance, digestive enzyme activities and intestinal microflora. *Journal of Applied Ichthyology* 28: 721-727.
- Yıldız, M., Eroldoğan, T.O., Ofori-Mensah, S., Engin, K., Baltacı, M.A. 2018. The effects of fish oil replacement by vegetable oils on growth performance and fatty acid profile of rainbow trout: Re-feeding with fish oil finishing diet improved the fatty acid composition. *Aquaculture* 488: 123-133.
- Young, A.T., Library, N.A. 1989. Grass Carp (white Amur), January 1970-March 1989: 139 Citations. U.S. Department of Agriculture, National Agriculture Library.
- Zheng, D., Liwinski, T., Elinav, E. 2020. Interaction between microbiota and

immunity in health and disease. Cell
Research 30: 492-506.
Zhou, X.X., Wang, Y.b., Li, W.F. 2009.
Effect of probiotic on larvae shrimp

(*Penaeus vannamei*) based on water
quality, survival rate and digestive
enzyme activities. Aquaculture 287:
349-353.