فصلنامه علمی زیست‌شناسی کاربردی دانشگاه الزهرا(س)
دوره ۳۵، شماره۳، پیاپی ۷۳، پاییز ۱۴۰۱، ص ۸۹ -۷۵
نوع مقاله: مقاله پژوهشی

The Quarterly Scientific Journal of Applied Biology
Vol.35, No.3, Sering.72, Fall 2022, p. 41 - 88
Article type: Research paper

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۵/۱۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۱/۱۸
وب سایت نشریه: https://jab.alzahra.ac.ir
10.22051/JAB.2021.34309.1398

# ارزیابی تأثیر پروبیوتیک Bio-Aqua ® بر شاخص های رشد و بازماندگی، کیفیت لاشه ماهی، اندیس های خونی و بیوشیمیایی کپور نقره ای (*Hypophthalmichthys molitrix*) و متغیرهای فیزیکوشیمیایی آب محیط پروش

**امید رمضان نژاد[۱] *صابر وطن دوست[۲]، *رضا چنگیزی[۳]، حامد منوچهری[۴]، رضا صفری[۵]**

## چکیده

*این مطالعه به منظور بررسی تاثیر پروبیوتیک بیوآکوا بر شاخص‌های رشد، کیفیت لاشه و مولفه های خونی و بیوشیمیایی ماهی کپور نقره‌ای و همچنین مولفه های فیزیکوشیمیایی آب محیط پرورش انجام شد. برای این منظور ماهیان کپور نقره ای به ترتیب با میانگین وزنی اولیه ۰/۰۵ ± ۱/۱ گرم با تیمارهای آزمایشی منتخب برای ۴ ماه پرورش داده شدند. تیمارها شامل شاهد (تیمار شاهد) ، T1 (۲۵۰گرم در هکتار پروبیوتیک بیوآکوا) ، T2 (۳۵۰گرم در هکتار پروبیوتیک بیوآکوا) و T3 ( ۴۵۰ گرم در هکتار پروبیوتیک بیوآکوا) که به آب استخرهای خاکی اضافه شدند. بر اساس نتایج، میزان نرخ رشد ویژه (SGR)، نرخ رشد روزانه (DGR)، وزن اکتسابی (WG)، ضریب تبدیل غذایی (FCR) ، درصد بازماندگی و شاخص های خونی و بیوشیمیایی در تیمار ۳ (۴۵۰ گرم/هکتار) نسبت به گروه شاهد و تیمارهای ۱ (۲۵۰ گرم در هکتار ) و ۲ (۳۵۰ گرم در هکتار) اختلاف معنی داری نشان داد (p<۰/۰۵). همچنین اختلاف معناداری در ترکیبات شیمیایی لاشه (درصد پروتئین خام و درصد رطوبت) ماهیان کپور نقره ای تیمارهای ۲ و ۳ در مقایسه با تیمارهای شاهد و ۱ وجود داشت (p<۰/۰۵). علاوه بر آن، استفاده از ۴۵۰ گرم بیوآکوا/هکتار (در تیمار ۳) موجب کاهش معنی دار مقادیر TSS، BOD، COD، نیتریت و فسفات آب در مقایسه با سایر تیمارهای آزمایشی*

---

۱ . دانشجوی دکترا، گروه شیلات، واحد بابل، دانشگاه آزاد اسلامی، بابل، ایران
۲ .استادیار، گروه شیلات، واحد بابل، دانشگاه آزاد اسلامی، بابل، ایران و نویسنده مسؤول: s.vatandoust@gmail.com
۳ . استادیار ،گروه شیلات، واحد بابل، دانشگاه آزاد اسلامی، بابل، ایران و نویسنده مسؤول: changizi@baboliau.ac.ir
٤ . استادیار،گروه شیلات، واحد بابل، دانشگاه آزاد اسلامی، بابل، ایران
٥ . دانشیار ،گروه تغذیه، پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، ساری، ایران

*شد (p<۰/۰۵). نتیجه گیری شد، اثرات پروبیوتیک بیوآکوا ، به ویژه در T3 (۴۵۰ گرم در هکتار) بر شاخص های رشد، بازماندگی، کیفیت لاشه ، شاخص های خونی و بیوشیمیایی و همچنین شاخص های فیزیکوشیمی آب مطلوب بوده و می توان از آن در سایت های پرورش ماهیان گرمابی با هدف بهینه سازی رشد و محیط پرورش استفاده نمود.*

***واژه های کلیدی:*** *پروبیوتیک بیوآکوا، ترکیب لاشه، کپور نقره ای، شاخص های رشد ، اندیس های فیزیکوشیمیایی، شاخص های خونی*

## مقدمه

از نظر اقتصادی ماهی کپور نقره ای (*Hypophthalmichthys molitrix*) یکی از مهمترین ماهی ها است که در آسیا و ایران به طور گسترده پرورش می‌یابد (Asadian *et al*., 2015 ).

پرورش به روش متراکم، تنش محیطی بالقوه ای را برای ماهی ها ایجاد می کند که منجر به حساسیت زیاد به عوامل مختلف بیماری از جمله باکتری ها، قارچ ها، ویروس ها و انگل ها می شود و متعاقب آن نیز خسارات اقتصادی زیادی را در پی خواهد داشت. اخیرا، به دلیل افزایش مقاومت بیشتر باکتری های عفونی و همچنین خطرات جدی محیطی ، استفاده از آنتی بیوتیک ها ممنوع شده است (Lazado & Caipang, 2014, Wang *et al*., 2014). به همین دلیل، استفاده از مواد افزودنی خوراکی که به عنوان محرک رشد و تحریک کننده سیستم ایمنی در غذاهای آبی استفاده می شوند، بسیار توصیه می شود. پروبیوتیک ها، میکروارگانیسم هایی مانند قارچ ها و باکتری ها هستند و وجود آنها در اندام های گوارشی بویژه روده عاملی ارزشمند است که منجر به ایجاد تعادل میکروبی می‌گردد. *Lactobacillus* ، *Lactococcus* ، *Leuconostoc* ، *Enterococcus* ، *Bifidobacter* ، *Carnobacterium* ، *Shewanella* ، *Bacillus* ، *Aeromonas* ، *Vibrio* ، *Enterobacter* ، *Pseudomonas* ، *Clostridium* و *Saccharomyces* پروبیوتیک های رایجی هستند که در آبزی پروری استفاده می شوند (Nayak, 2010). اثرات مثبت پروبیوتیک ها به عنوان یک افزودنی خوراکی بر عملکرد رشد، سیستم ایمنی ذاتی، میکروفلور روده، تنش و مقاومت در برابر بیماری و بهبود کیفیت آب در بسیاری از گونه‌های ماهی مانند کپور معمولی، کپور سرگنده و کپور نقره‌ای تأیید شد ( Kumar *et al*., 2006, Wang, 2011, Adel *et al*., 2015, Asadian *et al*., 2015). پروبیوتیک ها با تنظیم ژن های پیش التهاب سیتوکین و افزایش فعالیت فاگوسیتیک لکوسیت ها، می توانند سیستم ایمنی ماهی را تحریک کنند. مکمل پروبیوتیکی بیوآکوا یک پروبیوتیک تجاری (پروبیوتیک چند سویه) از جمله *Lactobacillus sp.* ، *Bacillus sp.*، *Bifidobacterium bifidum* و *Saccharomyces cerevissiae* است که در میان کاندیداهای اصلی به عنوان ماده ایمن برای بهبود تغذیه افراد سالم شناخته می شود ( Renuka *et al*., 2013). مطالعه Akbari Nargesi و همکاران (۲۰۱۹) نشان داد که استفاده از مکمل پروبیوتیکی بیوآکوا (رژیم ۲ گرم بر کیلوگرم) در رژیم غذایی قزل آلای رنگین کمان باعث افزایش مولفه های رشد از جمله افزایش وزن، نرخ رشد ویژه و وزن نهایی می شود.

اهداف اصلی این مطالعه ارزیابی اثرات مکمل غذایی پروبیوتیکی بیوآکوا بر عملکرد رشد، ترکیب لاشه، شاخص های خونی و بیوشیمیایی ماهی کپور نقره ای و مولفه های فیزیکوشیمیایی آب استخرهای پرورش بوده است.

## مواد و روش ها

### تهیه ماهی

ماهی کپور نقره‌ای سالم بر اساس مشخصات ظاهری و مورفولوژی و عدم مشاهده ضایعات جلدی به تعداد ۲۴۰۰ قطعه با میانگین وزن ۰/۰۵ ± ۱/۱ گرم از یکی مزارع پرورش ماهی در استان مازندران تهیه گردید. به منظور سازگاری، ماهیان به مدت ۲ هفته در استخرهای خاکی (۵۰۰ متر مکعب) نگهداری شدند. سپس ماهیان به طور تصادفی در ۱۲ استخر خاکی (۲۰۰ قطعه در استخر) توزیع شده و به مدت دو هفته با جیره غذایی تجاری (تغذیه آبزیان، مازندران، ایران) تغذیه شدند.

### آماده سازی رژیم های غذایی پروبیوتیک و آزمایشگاهی

مکمل پروبیوتیکی بیوآکوا از شرکت زیست دارمن ماهان (تهران، ایران) به دست آمد. این مکمل حاوی: *Enterococcus faecium*، *Bacillus subtilis*، *Lactobacillus plantarum*، *Lactobacillus casei*، *Pediococcus acidilactici*، *Lactobacillus acidophilus* ، *Lactobacillus rhamnosus*، *Bifidobacterium bifidum* و *Saccharomyces crevissiae* (باکتری ۳×۱۰۶CFU/g). در این مطالعه تیمار شامل: شاهد (۰ گرم در هکتارپروبیوتیک بیوآکوا) ، T1 (۲۵۰گرم در هکتار پروبیوتیک بیوآکوا) ، T2 (۳۵۰گرم در هکتار پروبیوتیک بیوآکوا) و T3 ( ۴۵۰گرم در هکتار پروبیوتیک بیوآکوا) که به آب استخرهای خاکی اضافه شدند. در دو ماه دوم، مقادیر این مکمل دو برابر شد (Al-Fargi *et al.*,2013). ماهیان با اکسترود مازندران (۴٪ از وزن بدن) چهار بار در روز و به مدت ۱۲۰ روز تغذیه شدند. جیره غذایی ماهی شامل ۱/۵± ۳۸/۷ ٪ پروتئین خام، ۰/۴± ۹/۱ ٪ چربی خام، ۰/۵± ۹/۲ ٪ رطوبت، ۰/۲± ۷/۰ ٪ خاکستر و ۲۰۸/۱± ۴۵۲۱/۳ کالری/گرم انرژی بود.

### ترکیب تقریبی ماهی

در پایان تعداد ۹ ماهی از هر تکرار از هر استخر خاکی به طور تصادفی انتخاب شدند. ترکیب تقریبی مطابق با روش های استاندارد توصیف شده توسط روش استاندارد (AOAC 2005) انجام شد. رطوبت با خشک کردن نمونه ها در کوره هوای گرم (Behr, Germany) در دمای ۱۰۵ درجه سانتی گراد تعیین شد. چربی خام، پروتئین و خاکستر به ترتیب با استخراج کلروفرم

متانول (نسبت حجمی ۱ به ۲)، روش کجلدال (N ×25/6) و سوزاندن در کوره در دمای ۵۰۰ درجه سانتیگراد به مدت ۶ ساعت تعیین شد (AOAC 2005).

**زیست سنجی**

تغذیه تمام ماهیان ۲۴ ساعت قبل از توزین و اندازه گیری قطع شد و مولفه های زیر در پایان دوره تغذیه بعد از ۴ ماه اندازه گیری شد.

وزن اکتسابی (WG)= وزن اولیه – وزن نهایی (گرم) (Tacon, 1990)

جایی که W1 وزن اولیه است ، W2 وزن نهایی است (Tacon, 1990).

نرخ رشد روزانه (DGR)= (وزن اولیه – وزن نهایی)/ طول دوره پرورش (Tacon, 1990)

جایی که ln = لگاریتم طبیعی، W2 = وزن نهایی در زمان t2، W1 = وزن اولیه در زمان t1. (Tacon, 1990)

ضریب تبدیل غذای (FCR)= (افزایش وزن/ غذای خورده شده) (Tacon, 1990)

ضریب رشد ویژه (SGR)= ((لگاریتم طبیعی وزن اولیه- لگاریتم طبیعی وزن ثانویه)/ (زمان اولیه– زمان ثانویه) × ۱۰۰ ( Tacon, 1990)

نرخ بقا (درصد بازماندگی)= (تعداد اولیه ماهیان-تعداد ماهیان موجود)× ۱۰۰ (Tacon, 1990)

**نمونه برداری خون**

بعد از ۱۲۰ روز، غذای ماهی ها ۲۴ ساعت قبل از نمونه گیری قطع شد و قبل از نمونه برداری، ماهیها با اسانس گل میخک (۱۰۰ میلی گرم در لیتر) بیهوش شدند (Soltani *et al.*, 2017). نمونه های خون (حدود ۱ میلی لیتر) از ورید ساقه دمی گرفته شده و بلافاصله برای جمع آوری سرم به لوله های غیر هپارینیزه منتقل شدند (۳۰ قطعه ماهی در هر گروه). نمونه های خون هفت ماهی از هر مخزن بلافاصله به دو قسمت تقسیم شدند. نیمی برای مطالعه آنالیز خون به لوله‌های حاوی ضد انعقاد (هپارین) منتقل و نیمی دیگر برای انجام مطالعات بیوشیمیایی به لوله های غیر هپارینیزه منتقل شدند. نمونه های سرم ها پس از سانتریفیوژ به مدت ۱۵ دقیقه در ۳۰۰۰ g گرم در دمای ۴ درجه سانتیگراد توسط نمونه های خون انعقادی به دست آمدند و تا زمان استفاده در دمای منهای ۸۰ درجه سانتیگراد ذخیره شد(Binaii *et al.*, 2014)

در انتهای دوره ۴ ماهه، جهت ارزیابی تأثیر سطوح مختلف پروبیوتیک بیوآکوا بر برخی شاخص‌های خون و مقایسه بین تیمارهای مختلف، ماهیان ابتدا با اسانس گل میخک بیهوش شده (Adel *et al.*, 2017). در ادامه از هر تیمار ۹ نمونه (هر تکرار ۳ نمونه) خون محیطی از ورید ساقه دمی به صورت تصادفی انجام شد و به ظروف حاوی ماده ضد انعقاد هپارین، منتقل شد (۱

قطره هپارین به ازای ۱ میلی لیتر خون). سپس نمونه ها در کنار یخ سریعا به آزمایشگاه خون شناسی و ایمنی شناسی استاندارد منتقل و شمارش گلبول قرمز (RBC)، شمارش گلبول سفید (WBC)، میزان هماتوکریت (Hct) و غلظت هموگلوبین (Hb) صورت گرفت.

**اندازه گیری مولفه های خونی**

گلبول های قرمز خون (RBC: $10^6$ $mm^{-3}$) و گلبول های سفید خون (WBC: $10^3$ $mm^{-3}$) توسط لام هماسیتومتر Neubauer با استفاده از مایعات رقیق کننده Hayemو Turck شمارش شدند (Blaxhall & Daisley, 1973)

هماتوکریت(Ht٪) با استفاده از روش میکروهماتوکریت استاندارد اندازه گیری و به صورت درصد بیان شد. اندازه گیری هموگلوبین (Hb ، g dl-1) مطابق روش سیانومت هموگلوبین انجام شد. بعلاوه ، سلول های لکوسیت با تهیه اسمیرهای آغشته به گیمسا اندازه گیری شدند. به منظور شمارش تعداد سلول های خونی ، اسمیرهای خون توسط میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرار گرفتند. در این روش با استفاده از لام نئوبار گلبول قرمز را در ۵ خانه از ۲۵ خانه مربوط به گلبول های قرمز را شمرده و سپس مجموع گلبول های قرمز شمارش شده در ۵ خانه را در عدد ۱۰/۰۰۰ ضرب کرده تا تعداد گلبول قرمز در یک میلیمتر مکعب خون محاسبه گردد. برای شمارش گلبول سفید، ۴ مربع ۱۶ تایی مربوط به گلبول های سفید شمارش شده و مجموع گلبول های سفید شمارش شده در عدد ۵۰ ضرب گردید. (Blaxhall & Daisley, 1973).

**آنالیز بیوشیمیایی**

فعالیت های آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) و آلانین آمینوترانسفراز (ALT) ، میزان آلبومین و پروتئین کل با استفاده از کیت های تجاری (شرکت پارس آزمون، تهران، ایران) و آنالایزر اتوماتیک بیوشیمیایی(Eurolyser, Belgium) تعیین شد .( Adel *et al*., 2015)

**آنالیز فیزیکوشیمیایی آب استخرهای پرورش ماهی**

نمونه برداری از آب استخرهای منتخب به صورت هفتگی انجام شد. بدین منظور ۴ نمونه از هر استخر (با سه تکرار) انجام گرفت. نمونه ها در حداقل زمان در کنار جعبه های یخ (۴ درجه سانتی گراد) به آزمایشگاه آب منتقل شدند همچنین دما به وسیله دماسنج جیوه ای، اکسیژن محلول به روش وینکلر اندازه گیری شد و مقدار اسیدیته آب، به کمک pH متر قابل حمل با الکترود حساس (مدل WTW-320) تعیین گردید (APHA، ۲۰۰۵). کل مواد جامد محلول (TDS) و کل مواد جامد معلق (TSS) از طریق روش وزنی، نیاز اکسیژن شیمیایی (COD) از طریق روش تیتراسیون، نیاز اکسیژنی بیولوژیک (BOD) از طریق دستگاه

BOD Track، قلیاییت و فسفات محلول از روش تیتراسیون، آمونیوم و نیتریت با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر اندازه‌گیری شد (Boyd & Gross, 1998).

### تجزیه وتحلیل آماری

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار نسخه ۲۰ SPSS (SPSS Inc ، Chicago، IL، USA)، با استفاده از تجزیه واریانس یک طرفه (One-way analysis of variance) و به دنبال آن آزمون های چند دامنه ای دانکن انجام شد. مقدار P <0.05 معنی دار در نظر گرفته شد. تمام داده ها در سه تکرار برای هر تیمار انجام شد.

## نتایج

### فاکتورهای رشد

نتایج مربوط به فاکتورهای رشد تیمارهای مختلف کپور نقره ای تغذیه شده با مکمل پروبیوتیکی بیوآکوا در انتهای دوره در جدول ۱ آمده است. بر اساس این نتایج میزان نرخ رشد ویژه (SGR)، وزن اکتسابی (WG) و ضریب تبدیل غذایی (FCR) در تیمار ۳ (۴۵۰ گرم در هکتار) نسبت به گروه شاهد و تیمارهای ۱ (۲۵۰ گرم در هکتار) و ۲ (۳۵۰ گرم در هکتار) اختلاف معنی داری را نشان داد (P<۰/۰۵). مطابق با نتایج به دست آمده با افزایش مقادیر بیوآکوا از ۲۵۰ به ۴۵۰ گرم در هکتار به میزان فاکتورهای مورد مطالعه (به استثنای FCR) افزوده شده است (P<۰/۰۵). همچنین بیشترین میزان زنده مانی در تیمار ۳ مشاهده شد که تفاوت معناداری با تیمارهای شاهد و ۱ داشت (P<۰/۰۵).

**جدول ۱. تاثیر مقادیر مختلف مکمل پروبیوتیکی بیوآکوا بر روی شاخص‌های رشد ماهی کپور نقره ای**

**Table 1: The effect of different amounts of Bioaqua probiotic on silver carp growth indices**

| مولفه | شاهد | تیمار۱ | تیمار۲ | تیمار۳ |
|---|---|---|---|---|
| وزن اکتسابی (WG) | ۴۰/۲۷±۰/۸$^{b}$ | ۴۳/۱۲±۰/۷$^{b}$ | ۴۸/۴۷±۰/۵$^{a}$ | ۵۰/۱۳±۰/۶$^{a}$ |
| نرخ رشد ویژه (SGR) | ۱/۲۷±۰/۰۳$^{c}$ | ۱/۴۳±۰/۰۲$^{b}$ | ۱/۷۴±۰/۰۱$^{a}$ | ۱/۸±۰/۰۲$^{a}$ |
| ضریب تبدیل غذایی (FCR) | ۲/۲۲±۰/۲$^{a}$ | ۲/۱۶±۰/۱$^{a}$ | ۲/۰۲±۰/۴$^{a}$ | ۱/۸۲±۰/۳$^{b}$ |
| درصد بازماندگی | ۷۲/۱±۲$^{c}$ | ۸۴±۱/۸$^{b}$ | ۹۱±۱$^{a}$ | ۹۳±۱/۵$^{a}$ |

حروف متفاوت در هر ردیف نشان دهنده تفاوت معنی دار بین تیمارهای مورد مطالعه است (P<۰/۰۵).

The different lowercase letter shows a significant difference (p< 0.05)

### نتایج ترکیبات شیمیایی لاشه

در جدول ۲ آنالیز ترکیب شیمیایی بدن ماهیان کپور نقره ای تغذیه شده با مقادیر مختلف مکمل پروبیوتیکی بیوآکوا در انتهای دوره نشان داده شده است. بررسی آماری نشان دهنده آن است که اختلاف معناداری در ترکیبات شیمیایی لاشه (درصد پروتئین خام و درصد رطوبت) میان ماهیان کپور نقره ای تغذیه شده با جیره ۳ (۴۵۰ گرم در هکتار) و ۲ (۳۵۰ گرم در هکتار)

با تیمارهای شاهد و ۱ (۲۵۰ گرم بیوآکوا در هکتار) وجود دارد (P<۰/۰۵). هر چند اختلاف معنی داری از نظر درصد چربی خام و خاکستر بین تیمارهای مختلف آزمایشی مشاهده نشد (P>۰/۰۵).

**جدول ۲_ تاثیر مقادیر مختلف مکمل پروبیوتیکی بیوآکوا روی ترکیبات شیمیایی لاشه کپور نقره ای**
**Table 2: The effect of different amounts of Bioaqua probiotic on silver carp body composition**

| مولفه (٪) | شاهد | تیمار۱ | تیمار۲ | تیمار۳ |
|---|---|---|---|---|
| پروتئین خام | ۱۴/۳±۰/۱ b | ۱۴/۹±۰/۲ b | ۱۵/۱±۰/۳ab | ۱۵/۹±۰/۲ a |
| چربی خام | ۲/۳±۰/۲ a | ۲/۲±۰/۱ a | ۲/۲±۰/۲ a | ۲/۰±۰/۱ a |
| خاکستر | ۲/۴±۰/۱ a | ۲/۳±۰/۱ a | ۲/۳±۰/۱ a | ۲/۱±۰/۱ a |
| رطوبت | ۷۹/۳±۰/۸ a | ۷۸/۷±۰/۹ a | ۷۸/۳±۰/۴ ab | ۷۷/۶±۰/۵ b |

حروف متفاوت در هر ردیف نشان دهنده تفاوت معنی دار بین تیمارهای مورد مطالعه است (P<۰/۰۵).
The different lowercase letter shows a significant difference (p< 0.05)

## مشخصات خون شناسی

تعداد گلبول های سفید خون در تیمارهای پروبیوتیکی بیوآکوا به طور قابل توجهی افزایش یافت (P <0.05) (جدول ۳). بیشترین تعداد گلبول سفید در تیمار T3 مشاهده شد که از نظر آماری تفاوت معنی داری با سایر تیمارها، به ویژه شاهد داشت (P<۰/۰۵). بر اساس نتایج، اختلاف معنی داری در درصد نوتروفیل و مونوسیت، هموگلوبین، مقدار هماتوکریت و تعداد RBC در T2 و T3 در مقایسه با شاهد و درمان T1 وجود داشت (P <0.05). اختلاف معنی داری در درصد ائوزینوفیل در تیمارهای مورد مطالعه مشاهده نشد (P>۰/۰۵).

**جدول ۳- تاثیر مقادیر مختلف مکمل پروبیوتیکی بیوآکوا بر روی شاخص‌های خونی کپور نقره ای**
**Table 3: The effect of different amounts of Bioaqua probiotic on silver carp hematological factors**

| مولفه | شاهد | تیمار۱ | تیمار۲ | تیمار۳ |
|---|---|---|---|---|
| RBC (× ۱۰^۶) | ۱/۱۹±۰/۰۲ b | ۱/۲۴±۰/۰۵ ab | ۱/۲۷±۰/۰۳ a | ۱/۳۳±۰/۰۴ a |
| WBC (× ۱۰^۳) | ۲۲/۴۳ ±۰/۷ d | ۲۴/۱۶ ±۰/۵ c | ۲۷/۵۹ ±۰/۳ b | ۲۹/۰۶ ±۰/۸ a |
| HCT (%) | ۲۶/۵۲±۰/۶۵ b | ۲۶/۶۳±۱/۱۳ b | ۲۸/۷۷±۱/۴۴ a | ۲۹/۳۵±۱/۹۴ a |
| Hb (g/dl) | ۷/۵۵ ±۰/۷ b | ۷/۷۲±۰/۱۸ b | ۸/۰۲±۰/۱۶ ab | ۸/۳۱±۰/۲۳ a |
| مونوسیت ٪ | ۳/۲۸±۰/۰۶ b | ۳/۳۸±۰/۰۴ b | ۳/۷۰±۰/۰۵ ab | ۴/۱۴±۰/۰۴ a |
| لنفوسیت ٪ | ۷۱/۰۹±۱/۱۷ a | ۶۷/۴۲±۱/۵۸ b | ۷۰/۸۰±۱/۳ a | ۶۸/۳۲±۱/۳ b |
| نوتروفیل ٪ | ۲۳/۴۲±۱/۲ b | ۲۲/۵۷±۰/۸ b | ۲۴/۱۸±۱/۰ a | ۲۵/۱۶±۱/۱ a |
| ائوزینوفیل ٪ | ۰/۵۲±۰/۰۸ a | ۰/۴۸±۰/۰۲ a | ۰/۵۳±۰/۰۳ a | ۰/۵۰±۰/۰۳ a |

حروف متفاوت در هر ردیف نشان دهنده تفاوت معنی دار بین تیمارهای مورد مطالعه است (P<۰/۰۵).
The different lowercase letter shows a significant difference (p< 0.05)

## مولفه های بیوشیمیایی

نتایج تجزیه و تحلیل بیوشیمیایی در جدول ۴ نشان داده شد. بر اساس این نتایج ، تفاوت معنی داری در فعالیت ALT ماهی کپور نقره‌ای در بین همه گروه های مورد مطالعه مشاهده نشد (جدول ۴). با این حال، تفاوت معنی داری در فعالیت ترانس آمیناز آسپارتات (AST) و سطح آلبومین سرم در T3 (۴۵۰ g/ha) با سایر تیمارها، به ویژه گروه شاهد وجود داشت (P <۰/۰۵).

همچنین اختلاف معنی داری بین T3 (۴۵۰ g/ha) و T2 (۳۵۰ g/ha) با شاهد و T1 (۲۵۰ g bioacoustics / ha) از نظر مقدار پروتئین کل وجود داشت (P <۰/۰۵).

**جدول ۴- تاثیر مقادیر مختلف مکمل پروبیوتیکی بیوآکوا بر روی شاخص‌های بیوشیمیایی کپور نقره ای**

**Table 4: The effect of different amounts of Bioaqua probiotic on silver carp biochemical factors**

| مولفه | شاهد | تیمار۱ | تیمار۲ | تیمار۳ |
|---|---|---|---|---|
| آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) | ۴±۳۱۸/۲ a | ۳±۳۱۵/۱ a | ۲±۳۰۱/۷ b | ۱±۲۸۷/۵ c |
| آلانین آمینوترانسفراز (ALT) | ۸/۰±۳۴/۸۲ a | ۸/۰±۴۲/۱۶ a | ۸/۰±۱۶/۱۹ a | ۸/۰±۴۱/۱۴ a |
| آلبومین (گرم/دسی لیتر) | ۰/۰±۶۷/۲ b | ۰/۰±۷۲/۱ b | ۰/۰±۸۱/۲ b | ۰/۰±۹۴/۱ a |
| پروتئین تام (گرم/دسی لیتر) | ۳/۰±۸/۲ b | ۳/۰±۷/۱ b | ۳/۰±۹/۱ ab | ۴/۰±۳/۱ a |

حروف متفاوت در هر ردیف نشان دهنده تفاوت معنی دار بین تیمارهای مورد مطالعه است (P<۰/۰۵).

The different lowercase letter shows a significant difference (p< 0.05)

## مولفه های فیزیکوشیمیایی آب استخرهای محیط پرورش

تاثیر مقادیر مختلف مکمل پروبیوتیکی بیوآکوا بر روی مولفه های فیزیکوشیمیایی آب استخرهای پرورشی به صورت خلاصه در جدول ۵ آمده است. نتایج نشان داد که استفاده از ۴۵۰ گرم بیوآکوا در هکتار (در تیمار ۳) موجب کاهش معنادار مقادیر TSS، BOD، COD، نیتریت و فسفات آب در مقایسه با سایر تیمارهای آزمایشی شده است (P<۰/۰۵). اگرچه نتایج نشان دهنده آن است که مقادیر مختلف مکمل پروبیوتیکی بیوآکوا بر روی شاخص‌های دما، pH، شوری، TDS و آمونیاک آب استخرهای پرورشی تاثیر معناداری نداشته است (P>۰/۰۵).

**جدول ۵- تاثیر مقادیر مختلف مکمل پروبیوتیکی بیوآکوا روی مولفه های فیزیکوشیمیایی آب استخرهای پرورش**

**Table 5: The effect of different amounts of Bioaqua probiotic supplement on the physicochemical parameters of carp culture pond water**

| مولفه | شاهد | تیمار۱ | تیمار۲ | تیمار۳ |
|---|---|---|---|---|
| دما (درجه سانتیگراد) | ۳۱/۰±۲/۳ a | ۳۱/۰±۵/۵ a | ۳۱/۰±۵/۲ a | ۳۱/۰±۶/۴ a |
| pH | ۸/۰±۵/۱ a | ۸/۰±۳/۲ a | ۸/۰±۴/۱ a | ۸/۰±۶/۱ a |
| شوری (ppt) | ۳/۰±۱/۰۷ a | ۳/۰±۲/۰۸ a | ۳/۰±۴/۰۵ a | ۳/۰±۲/۰۸ a |
| TDS (ppt) | ۲/۰±۴۸/۰۳ a | ۲/۰±۵/۰۱ a | ۲/۰±۶۱/۰۲ a | ۲/۰±۳۶/۰۳ a |
| TSS (میلی گرم/لیتر) | ۲۷۹/۵±۰/۲ a | ۲۶۸/۸±۵/۳ b | ۲۲۸/۷±۵/۴c | ۲۱۰/۵±۰/۰ d |
| BOD (میلی گرم/لیتر) | ۴/۰±۰/۱ a | ۳/۰±۷۵/۱۲ ab | ۳/۰±۵۵/۰۵ ab | ۳/۰±۱/۰۵ b |
| COD (میلی گرم/لیتر) | ۱۴/۰±۰/۸ a | ۱۳/۱±۳/۲ a | ۱۲/۱±۵/۲ ab | ۱۰/۱±۱۷/۲ b |
| آمونیاک (میلی گرم/لیتر) | ۰/۰±۱۹/۰۲ a | ۰/۰±۲/۰۱ a | ۰/۰±۱۹/۰۱ a | ۰/۰±۱۸/۰۱ a |
| نیتریت (میلی گرم/لیتر) | ۰/۰±۰۹/۰۲ a | ۰/۰±۱۰/۰۱ a | ۰/۰±۰۷/۰۱ ab | ۰/۰±۰۶/۰۱b |
| فسفات (میلی گرم/لیتر) | ۰/۰±۰۶۲/۰۲ a | ۰/۰±۰۶۰/۰۲ a | ۰/۰±۵۷۰/۰۲ a | ۰/۰±۰۳۴/۰۲ b |

حروف متفاوت در هر ردیف نشان دهنده تفاوت معنی دار بین تیمارهای مورد مطالعه است (P<۰/۰۵).

The different lowercase letter shows a significant difference (p< 0.05)

## بحث

بهینه سازی فاکتورهای تغذیه‌ای و ایمنی می‌تواند باعث سازگاری اکولوژیکی، رشد بهتر و کاهش تلفات سنگین در طی دوره پرورش در آبزیان گردد. یکی از مهم‌ترین ویژگی‌های پروبیوتیک‌ها، افزایش ارزش غذایی و نیز بهبود مولفههای رشد میزبان است. نتایج این مطالعه نشان داد که افزودن سطوح مختلف مکمل پروبیوتیکی بیواکوا به آب استخرهای خاکی تأثیر قابل توجهی بر عملکرد رشد ماهیان کپور نقره ای دارد. در انتهای مطالعه، تیمار T3 (۴۵۰گرم در هکتار) بالاترین افزایش وزن، فاکتور رشد خاص و میزان بقا را دارد. در مطالعه مشابه Akbari Nargesi و همکاران (۲۰۱۹) نشان داد که استفاده از پروبیوتیک تجاری بیوآکوا به میزان ۲ گرم در هر کیلوگرم جیره غذایی ماهی قزل آلای رنگین کمان منجر به بهبود شاخص های رشد ماهیان مانند افزایش وزن بدن، نرخ رشد ویژه و میانگین وزن نهایی، می‌شود. همچنین نشان داده شده اند که استفاده از اسپورهای باسیلوس های پروبیوتیکی *Bacillus latrospores* و *Bacillus licheniformis* که به آب مخزن پرورش داده می شود، رشد و بقای کپور نقره را بهبود می بخشد (Sahandi *et al.*, 2019). نتایج مشابهی توسط محققان دیگر در ماهی کپور گزارش شده است ( Renuka *et al.*, 2013, Wang *et al.*, 2014). Safari و همکاران (۲۰۱۶) نشان داد که تجویز پروبیوتیک *Enterococcus casseliflavus* در بچه ماهی قزل آلای رنگین کمان $10^8$ CFU/g و $10^9$ ، به طور قابل توجهی عملکرد رشد ماهی کفشک را افزایش می دهد. Sahandi و همکاران (۲۰۱۹) تایید کردند که سویه های بیفیدوباکتریوم می تواند در بچه ماهی قزل آلا باعث افزایش هضم و استفاده از مواد مغذی شود و عملکرد رشد ماهی را بهبود بخشد. پروبیوتیک ها با تولید ترکیبات بازدارنده، سهم آنزیمی در هضم، افزایش جمعیت باکتری های مثبت مانند LAB و تعدیل پاسخ های ایمنی و بهبود کیفیت آب می توانند عملکرد رشد ماهی را بهبود بخشند (Al-Faragi & Al-Saphar, 2013, Morshedi *et al.*, 2015, Zorriehzahra *et al.*, 2016). نتایج این مطالعه نشان داد که مکمل پروبیوتیکی بیواکوا میزان بقای کپور نقره را افزایش می دهد. بالاترین سطح میزان بقا در تیمار T3 مشاهده شد که تفاوت معنی داری با تیمارهای شاهد و T1 داشت. دلایل این افزایش ممکن است مربوط به از بین بردن باکتری های مضر توسط باکتری های مفید در این پروبیوتیک چند سویه به خصوص لاکتوباسیلوس پلانتاروم *L. plantarum* ، لاکتوباسیلوس کازیی *L. casei* ، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس *L. acidophilus* و*لاکتوباسیلوس* رامنوسوز *L. rhamnosus* باشد. Wang (۲۰۱۴) نشان داد که باکتری های اسید لاکتیک ترکیباتی مانند باکتریوسین تولید می کنند و با جلوگیری از رشد میکروارگانیسم های مضر در روده عمل می کنند. شاخص‌های خون‌شناسی به عنوان شاخص‌های زیستی ارزشمندی که نشان‌دهنده پاسخ به تنش‌های فیزیولوژیکی و هم‌چنین وضعیت سلامت عمومی هستند، بکار می روند. بر اساس نتایج، اختلاف معنی داری در درصد نوتروفیل و مونوسیت، هموگلوبین، هماتوکریت و تعداد RBC و WBC در تیمارهای T2 و T3 در مقایسه با شاهد و درمان T1 وجود داشت ($P < ۰/۰۵$). این نتایج بهبود سیستم ایمنی کپور نقره ای پرورش داده شده در آب غنی شده حاوی سطوح مختلف مکمل پروبیوتیکی بیواکوا پس از ۴ ماه است. در مطالعه مشابه، تعداد گلبول های قرمز (RBC)، هماتوکریت و هموگلوبین ماهی کپور

معمولی (*Cyprinus carpio*) در گروه های لاکتوباسیلوس پلانتاروم 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 ماهی هندی ( *Labeo rohita*) موجب تاثیر معنادار در تعداد گلبول های سفید خون، شاخص های ایمنی و افزایش بازماندگی ماهی در برابر باکتری آئروموناس هیدروفیلا می‌گردد. Al-dohail و همکاران (۲۰۰۹) نشان دادند اضافه‌کردن پروبیوتیک *L. acidophilus* به جیره گربه‌ماهی آفریقایی، *Clarias gariepinus*، باعث افزایش سطح هماتوکریت، هموگلوبین و هم‌چنین تعداد کل گلبول‌های قرمز و سفید شد. پروتئین تام پلاسما شامل پروتئین‌های آلبومین و گلوبولین است. تصور می‌شود که افزایش میزان آلبومین، گلوبولین و پروتئین سرم بیشتر در ارتباط با تحریک سیستم ایمنی غیراختصاصی میزبان باشد(de Paiva-Maia *et al*., 2013). در مطالعه حاضر افزایش معنی‌داری بین تیمار ۳ (۴۵۰ گرم در هکتار) و ۲ (۳۵۰ گرم در هکتار) با تیمارهای شاهد و ۱ (۲۵۰ گرم بیوآکوا در هکتار) از نظر میزان پروتئین تام سرم مشاهده شد (P<۰/۰۵). افزایش سطح پروتئین‌های سرم به عنوان شاخص مناسبی برای بررسی وضعیت دفاع ایمنی ماهی مطرح می‌باشد.در مطالعه مشابه ، Soltani و همکاران (۲۰۱۷) نشان دادند که ماهیان کپور تغذیه شده با غلظت های مختلف *L. plantarum* دارای سطح بالاتری از پروتئین کل سرم در مقایسه با شاهد است. Safari و همکاران (۲۰۱۶) تعداد نوتروفیل ها به طور قابل توجهی در تمام گروه های پروبیوتیک (*Enterococcus casseliflavus*) بچه ماهیان قزل آلای رنگین کمان در مقایسه با شاهد افزایش داشت. در مطالعه حاضر، فعالیت آنزیم های کبدی (ALT و AST) تحت تأثیر مقادیر مختلف مکمل پروبیوتیکی بیواکوا قرار نگرفته است. به طور کلی، افزایش فعالیت های ترانس آمیناز آلانین (ALT) و (AST) معمولا به عنوان شاخص آسیب کبدی در نظر گرفته می شود (Sheikhzadeh *et al*., 2012). بنابراین، این نتایج نشان می دهند که مکمل پروبیوتیکی بیواکوا برای سلامت کبد سمی نبوده است. در گزارش مشابه، اختلاف معنی داری در سطح آسپارتات آمینوترانسفراز (AST)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT) ، آلکالین فسفاتاز (ALP) و لاکتات دهیدروژناز (LDH) ماهی کپور تغذیه شده با غلظت های مختلف لاکتوباسیلوس پلانتاروم *L. Plantarum* دیده نشد.

بر اساس نتایج حاضر، تفاوت معنی داری در ترکیب شیمیایی ماهی کپور نقره ای (درصد پروتئین خام و میزان رطوبت) در T2 و T3 در مقایسه با شاهد و T1 وجود داشت (P <0.05). در مطالعه مشابه، Jafarian و همکاران (۲۰۱۴) تایید کردند که باسیل و *S. cerevisiae* جدا شده از روده بلوگا (*Huso huso*) به طور قابل توجهی باعث افزایش پروتئین لاشه در مقایسه با گروه کنترل می شوند. Kumar و همکاران در سال ۲۰۰۶ نشان داد که جنس باسیلوس جدا شده از روده ماهی کپور به عنوان پروبیوتیک باعث افزایش پروتئین خام راهو ، *Labeo rohita* می شود. Weifen و همکاران (۲۰۱۲) گزارش دادند که پروبیوتیک ها احتمالا سطح چربی لاشه را کاهش می دهند و از طریق افزایش قابلیت هضم چربی و پروتئین کیفیت آنها را افزایش می دهند. در آبزی پروری کیفیت آب نقش مهمی در سلامت ماهی، رشد و بقاء آن ایفا می‌کند. از جمله مزایای پروبیوتیک‌ها در استخرهای آبزی پروری افزایش تجزیه مواد آلی، بهبود رشد جلبکی، افزایش اکسیژن محلول، کنترل آمونیاک، نیتریت و سولفید

هیدروژن و کاهش شیوع بیماری و در نهایت افزایش تولید است (Boyd & Gross, 1998). در مطالعه حاضر بیوآکوا، در تیمار T3 به طور قابل توجهی TSS، BOD، COD، نیتریت و فسفات آب استخر پرورشی را در مقایسه با سایر تیمارها کاهش داد ( P <0.05). علت این امر وجود باکتری هایی با ویژگی پروبیوتیک در بسته تجاری بوده که وقتی که در غلظت های بالاتر مورد استفاده قرار می گیرند باعث تغییرات معنی دار در مولفه های شیمیایی آب می شوند. این باکتری ها بواسطه تولید آنزیم های مختلف باعث تجزیه نیتریت شده و یا آنکه با فعالیت بالایی که نشان می دهند میزان BOD و COD آب را کاهش می دهند. پروبیوتیک‌ها با تسریع فرایندهای طبیعی همچون نیتریفیکاسیون، آمونیفیکاسیون، دنتریفیکاسیون، اکسیداسیون سولفیدها و تجزیه ترکیبات سمی سبب بهبود کیفیت آب می‌شوند (Boyd & Gross, 1998). Zhou و همکاران (۲۰۰۹) و Wang و همکاران (۲۰۰۵) نشان دادند که استفاده از پروبیوتیک های تجاری میزان نیتروژن و فسفر استخر پرورشی را به طور قابل توجهی کاهش می دهند و ویژگی های کیفیت آب را بهبود می بخشند. Paiva-Maia و همکاران (۲۰۱۳) نشان دادند که استفاده از پروبیوتیک تجاری در آب استخرهای خاکی میگو پرورشی وانامی موجب افزایش تعداد کلی باکتری های هتروتروف محیط پرورشی می‌شوند. نتایج ذکر شده همسو با نتایج فعلی و تایید کننده اثرات مثبت مکمل پروبیوتیکی پرواکوا است. در نتیجه مکمل پروبیوتیکی بیوآکوا به ویژه در غلظت۴۵۰ گرم در هکتار بر روی شاخص‌های رشد، تغذیه، بازماندگی و ترکیبات لاشه کپور نقره ای و مولفه های فیزیکوشیمیایی آب پرورشی اثرات معنی داری دارند و استفاده از آن به پرورش دهندگان کپور ماهیان توصیه می‌شود. با این حال، برای بررسی تأثیر مکمل پروبیوتیکی بیوآکوا بر سیستم ایمنی بدن، مقاومت در برابر بیماری ها و فعالیت آنزیم های روده ماهی کپور نقره ای، مطالعات بیشتری لازم است.

**References**


Adel, M.;Lazado, C. C.;Safari, R.;Yeganeh, S. and Zorriehzahra, M. J. (2017). Aqualase®, a yeast-based in-feed probiotic, modulates intestinal microbiota, immunity and growth of rainbow trout Oncorhynchus mykiss. Aquaculture Research, 48(4): 1815-1826.

Adel, M.;Safari, R.;Pourgholam, R.;Zorriehzahra, J. and 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(1): 623-629.

Akbari Nargesi, E.;Falahatkar, B. and 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(3): 101-112

Al-Dohail, M. A.;Hashim, R. and 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(14): 1642-1652.

Al-Faragi, J. and Al-Saphar, S. (2013). Effect of local probiotic on common carp Cyprinus Carpio growth performance and survival rate. . Journal of Genetic and Environmental Resources Conservation, 1(2): 89-96.

Asadian, M.;Shahsavani, D. and Kazerani, H. (2015). Growth promoting effects of a multi-strain probiotic on common carp (*Cyprinus carpio*) fingerling. Iranian Journal of Veterinary Science and Technology, 7(2): 63-74.

Binaii, M.;Ghiasi, M.;Farabi, S. M. V.;Pourgholam, R.;Fazli, H.;Safari, R.;Alavi, S. E.;Taghavi, M. J. and 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(1): 46-51.

Boyd, C. and Gross, A. 1998. Use of probiotics for improving soil and water quality in aquaculture ponds. *Advances in shrimp biotechnology*. Bangkok: National Center for Genetic Engineering and Biotechnology,.

de Paiva-Maia, E.;Alves Modesto, G.;Otavio-Brito, L.;Olivera, A. and Vasconcelos-Gesteira, T. 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.

Kumar, R.;Mukherjee, S. C.;Prasad, K. P. and Pal, A. K. (2006). Evaluation of Bacillus subtilis as a probiotic to Indian major carp Labeo rohita (Ham.). Aquaculture Research, 37(12): 1215-1221.

Lazado, C. C. and Caipang, C. M. A. (2014). Atlantic cod in the dynamic probiotics research in aquaculture. Aquaculture, 424-425: 53-62.

Morshedi, V.;Nafisi Bahabadi, M.;Azodi, M.;Modaresi, M. and Cheraghi, S. (2015). Effects of dietary probiotic (*Lacrobacillus plantarum*) on body composition, serum biochemical parameters and liver enzymes of Asian sea bass (*Lates calcarifer*). Journal of Marine Science and Technology, 14(2): 1-14.

Nayak, S. K. (2010). Probiotics and immunity: A fish perspective. Fish & Shellfish Immunology, 29(1): 2-14.

Renuka, P.;Venkateshwarlu, M.;Ramachandra, T. and Murthappa, P. (2013). Influence Of Probiotics On Growth Performance And Digestive Enzyme Activity Of Common Carp (*Cyprinus carpio*). International Journal of Current Research, 5: 1696-1700.

Safari, R.;Adel, M.;Lazado, C. C.;Caipang, C. M. A. and 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.

Sahandi, J.;Jafaryan, H.;Soltani, M. and Ebrahimi, P. (2019). The Use of Two Bifidobacterium Strains Enhanced Growth Performance and Nutrient Utilization of Rainbow Trout (Oncorhynchus mykiss) Fry. Probiotics and Antimicrobial Proteins, 11(3): 966-972.

Sheikhzadeh, N.;Karimi Pashaki, A.;Nofouzi, K.;Heidarieh, M. and Tayefi-Nasrabadi, H. (2012). Effects of dietary Ergosan on cutaneous mucosal immune response in rainbow trout (Oncorhynchus mykiss). Fish & Shellfish Immunology, 32(3): 407-410.

Soltani, M.;Abdy, E.;Alishahi, M.;Mirghaed, A. T. and 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(5): 1913-1933.

Tacon, A. G. J. (1990). Standard Methods for the Nutrition and Feeding of Farmed Fish and Shrimp, Argent Laboratories Press.

Wang, F.-H.;Qiao, M.;Su, J.-Q.;Chen, Z.;Zhou, X. and Zhu, Y.-G. (2014). High Throughput Profiling of Antibiotic Resistance Genes in Urban Park Soils with Reclaimed Water Irrigation. Environmental Science & Technology, 48(16): 9079-9085.

Wang, Y.-B.;Xu, Z.-R. and Xia, M.-S. (2005). The effectiveness of commercial probiotics in northern white shrimp Penaeus vannamei ponds. Fisheries Science, 71(5): 1036-1041.

Wang, Y. (2011). Use of probiotics Bacillus coagulans, Rhodopseudomonas palustris and Lactobacillus acidophilus as growth promoters in grass carp (Ctenopharyngodon idella) fingerlings. Aquaculture Nutrition, 17(2): e372-e378.

Weifen, L.;Xiaoping, Z.;Wenhui, S.;Bin, D.;Quan, L.;Luoqin, F.;Jiajia, Z.;yue, W. and Dongyou, Y. (2012). Effects of Bacillus preparations on immunity and antioxidant activities in grass carp (Ctenopharyngodon idellus). Fish Physiology and Biochemistry, 38(6): 1585-1592.

Zhou, X.-x.;Wang, Y.-b. and Li, W. (2009). Effect of probiotic on larvae shrimp ( Penaeus vannamei) based on water quality, survival rate and digestive enzyme activities. Aquaculture, 287: 349-353.

Zorriehzahra, J.;Delshad, S.;Adel, M.;Tiwari, R.;Karthik, K.;Dhama, K. and Lazado, C. (2016). Probiotics as beneficial microbes in aquaculture: an update in their multiple modes of action: A review. The Veterinary quarterly, 36.

# Evaluation of Bio-Aqua probiotic on growth performances and survival, carcass quality, chemical composition, blood and biochemical parameters of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) and hysico-chemical factors of pond water

**O.Ramzannezhad[1], S. Vatandoust[2]* , R. Changizi[3]*, H. Manouchehri[4], R. Safari[5]**

## Abstract

This study was performed to investigate the effect of Bio-Aqua ® probiotic on growth performances, proximate factors, hematological and biochemical indices of silver carp and also physicochemical parameters of pond culture. Fish weighting 1±0.1g were reared in different ponds include 3 doses of Bio Aqua in each one during 4 months. The treatments were Control, (T1:250 g/ha), (T2:350 g/ha) and (T3:450 g/ha). The obtained results showed that SGR (Specific Growth Rate), DGR (Daily Growth Rate), WG (Weight Gain), FCR (Feed Conversion Ratio) and (Survival Rate) and blood and biochemical indices were significantly higher in treatment 3 (450 g/ha) ($p<0.05$). There was also a significant difference in carcass chemical composition (percentage of crude protein and moisture content) of silver carp in treatments 2 and 3 compared to the control and 1 ($p <0.05$). In addition, the use of 450 g of Bio-Aqu ® / ha (in treatment 3) caused a significant reduction in TSS, BOD, COD, nitrite and water phosphate compared to other experimental treatments ($p <0.05$). It was concluded that the effects of Bio-Aqua ® probiotics, especially in T3 (450 g/ha) on growth indices, survival, carcass quality, blood and biochemical indices as well as physicochemical indices of water are desirable and can be used in fish farming sites.

***Keywords**: BioAqua probiotics, Blood parameters, Body composition, Growth performances, Silver carp*

---

1PHD student, Department of Aquaculture, Babol branch, Islamic Azad University, Babol, Iran
2Assistant Professor, Department of Aquaculture, Babol branch, Islamic Azad University, Babol, Iran (* corresponding author: s.vatandoust@gmail.com)
3Assistant Professor, Department of Aquaculture, Babol branch, Islamic Azad University, Babol, Iran and
4Assistant Professor,Department of Aquaculture, Babol branch, Islamic Azad University, Babol, Iran
5. Associate Professor, Department of Feeding, Caspian Sea Ecological Research Center, Sari, Iran

## Introduction

Intensive fish culture has created a potential environmental stress for fish, which leads to high sensitivity to various disease factors such as bacteria, fungi, viruses, and parasites, and subsequently causes great economic losses.

Recently, the use of antibiotics has been banned due to the increasing resistance of most infectious bacteria as well as serious environmental risks. For this reason, the use of natural food additives that are used as growth promoters and immune system stimulants when supplementing aquatic foods is highly recommended.

Probiotics are complementary microorganisms such as bacteria, fungi and bacteria. The presence of probiotics in the digestive organs, especially the intestines, as a valuable factor, leads to make of a proper microbial balance in these organs.

The main aims of this study were to evaluate the effects of Bioaqua probiotic food supplement on growth performance, body composition, blood and biochemical indices of silver carp and physicochemical parameters of culture pond water.

## Materials and Methods

2400 healthy silver carp fish with an average weight of 1.1 ± 0.05 grams were prepared from one of the fish farms in Mazandaran province based on the appearance and morphology characteristics and the absence of skin lesions.

In order to adapt, the fish were kept in small ponds (500 cubic meters) for 2 weeks. Then the fish were randomly distributed in 12 small ponds (200 pieces in each one) and were fed with commercial diet for two weeks.

Bioaqua probiotic supplement was obtained from Mahan Bio Darman Company (Tehran, Iran).

Probiotics were added to the water of the pools in the following amounts:

Control (0 g/ha of Bioaqua probiotics)

T1 (250 g/ha of Bioaqua probiotics)

T2 (350 g/ha of Bioaqua probiotics)

T3 (450 g/ha of Bioaqua probiotics)

At the end, 9 fish from each replicate were randomly selected from each pool. The fish were fed with pellet feed four times a day for 120 days. After 240 days, growth factors such as Body Weight (BW), Specific Growth Rate (SGR), Food conservation Rate (FCR), and Protein Efficiency Rate (PER) were calculated.

Blood samples (about 1 ml) were taken from the caudal vein and immediately transferred to non-heparinized tubes for serum collection (30 pieces of fish in each group) then blood and biochemical parameters were measured.

Weekly water sampling of selected pools was performed to measure temperature, dissolved oxygen, pH, total dissolved solids (TDS) and total suspended solids (TSS), chemical oxygen demand (COD), biological oxygen demand (BOD), ammonium and nitrite.

Also, Data was analyzed for growth factors, body composition and gene expression in significant levels by using Duncan's statistical test with 95 percent confidence and One-Way ANOVA in SPSS 16 software.

## Results and discussion

The results related to the growth factors of different treatments of silver carp fed with Bioaqua probiotic supplement at the end of the period showed that the amount of specific growth rate (SGR), weight gain (WG) and food conversion ratio (FCR) in the treatment of 450 g/ha compared to other treatments have significant differences($P<0.05$).

Also, the results of analyzing the body chemical composition of silver carp fish fed with different amounts of Bioaqua probiotic supplement at the end of this treatment showed a significant difference in the body composition compared to other treatments($P<0.05$).
Blood and biochemical parameters of plasma also indicated the better conditions in the treatment of 450 g/ha. Also, this treatment showed the creation of more favorable conditions of the breeding water environment from the point of view of TSS, BOD, COD, nitrite and phosphate values ($P<0.05$).

**Conclusion**

As a result, the BioAqua probiotic supplement, especially at a concentration of 450 g/ha has significant effects on the indicators of growth, nutrition, survival, body composition of silver carp and the physicochemical parameters of breeding water, and its use is recommended to carp farming.