13 (3) 189-200, Autumn 2021

Journal of Animal Environment

(AEJ)

Journal homepage: http://www.aejournal.ir

Original Research Paper

Effects of dietary fermented red grape vinegar and *Lactobacillus acidophilus* on growth performance, morphology intestine and carcass composition of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)

Amir Hossein Omidi [1], Amir Houshang Bahri [1*], Maziar Yahyavi [1], Flora Mohammadi Zadeh [1], Seyed Pezhman Hosseini Shekarabi [2]

[1] Department of Fisheries Science, Bandar Abas Branch, Islamic Azad University, Bandar Abas, Iran

[2] Department of Fisheries Science, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Key Words

Lactobacillus acidophilus
Fermented red grape vinegar
Rainbow trout
Intestine morphology
Carcass composition

Abstract

Introduction: This study was conducted to evaluate the effect of different concentrations of *Lactobacillus acidophilus* and red grape vinegar on growth performance, morphology intestine and carcass composition of rainbow trout.

Materials & Methods: For this purpose rainbow trout with an average weight of 85±2 g were distributed in 24 fiberglass tanks with 30 rainbow trout density and were fed for 56 days with different concentrations of *Lactobacillus acidophilus* and red grape vinegar in eight groups with three replicate including 0 (control), T1 (%1 of red grape vinegar), T2 (%2 of red grape vinegar), T3 (%3 of red grape vinegar), T4 (*Lactobacillus acidophilus* CFU/g 8×10^6), T5 (*Lactobacillus acidophilus*+%1 of red grape vinegar), T6 (*Lactobacillus acidophilus*+%2 of red grape) and T7 (*Lactobacillus acidophilus*+%3 of red grape).

Result: The results showed that The highest final weight was observed in T7 treatment and the lowest values are observed control. In general, the effect of different *Lactobacillus acidophilus* red grape vinegar and *Lactobacillus acidophilus*, level of microspores and number of lactic bacteria (LogCFU/g) in Fish intestines survival and chemical composition was positively and significantly evaluated.

Conclusion: Considering the results of Growth factors, intestinal morphology and microbial flora of rainbow trout digestive system by *Lactobacillus acidophilus* red grape vinegar, it is recommended to use this supplement at a concentration of 3 percent.

* Corresponding Author's email: amirbahri52@yahoo.com

Received: 27 June 2020; Reviewed: 18 August 2020; Revised: 3 September 2020; Accepted: 11 October 2020

(DOI): (DOI): 10.22034/AEJ.2020.243461.2319

مقاله پژوهشی

مطالعه اثر توام سرکه انگور قرمز تخمیری و باکتری (*Lactobacillus acidophilus*) بر عملکرد رشد، مورفولوژی روده و کیفیت لاشه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان جوان (*Oncorhynchus mykiss*)

امیرحسین امیدی[۱]، امیرهوشنگ بحری‌شعبانی‌پور[۱]، مازیار یحیوی[۱]، فلورا محمدی‌زاده[۱]، سیدپژمان حسینی‌شکرابی[۲]*

[۱] گروه شیلات، واحد بندرعباس، دانشگاه آزاد اسلامی، بندرعباس، ایران
[۲] گروه شیلات، واحد علوم تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

کلمات کلیدی

لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس
سرکه تخمیری انگور قرمز
قزل‌آلای رنگین‌کمان
عملکرد رشد
کیفیت لاشه
مرفولوژی روده

چکیده

مقدمه: هدف مطالعه حاضر، بررسی اثر سطوح مختلف پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و افزودن توام آن با سرکه تخمیری انگور قرمز بر عملکرد رشد، مورفولوژی روده و کیفیت لاشه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) بود.

مواد و روش‌ها: ۸ تیمار آزمایشی حاوی مقادیر۰ (شاهد)، سرکه تخمیری انگورقرمز ۱، ۲ و ۳ درصد، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس $CFU/g۸\times۱۰^{۶}$، پروبیوتیک + سرکه تخمیری انگور ۱٪، پروبیوتیک + سرکه تخمیری انگور ۲٪ و پروبیوتیک + سرکه تخمیری انگور قرمز ۳٪ طراحی شد. برای این منظور ماهیان با میانگین وزنی (۸۵±۲ گرم) در ۲۴ مخازن فایبرگلاس با تراکم ۳۰ عدد ماهی د ر ۳ تکرار توزیع و طی مدت ۵۶ روز مورد تغذیه قرار گرفتند.

نتایج: نتایج نشان داد که بیش‌ترین وزن نهایی بدن (۲۳۰/۳±۴/۲ گرم) مربوط به تیمار ۳ درصد و کم‌ترین (۱۵۴/۲±۱ گرم) مربوط به تیمار شاهد بود ($P<۰/۰۵$). هم‌چنین ماهیان تغذیه شده با باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس+ سرکه تخمیری انگور قرمز ۳٪ بالاترین مقدار پروتئین خام و کم‌ترین درصد رطوبت و چربی خام را داشتند ($P<۰/۰۵$). افزودن سطوح مختلف باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و سرکه تخمیری انگور قرمز به جیره موجب افزایش معنی‌دار طول، عرض و سطح جذب میکروپرزها و تعداد باکتری‌های لاکتیک (Log CFU/g) روده ماهیان شد. به‌طوری‌که در گروه تغذیه شده با باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس+ سرکه تخمیری انگور قرمز ۳٪ بیش‌ترین افزایش و کم‌ترین هم در تیمار شاهد مشاهده شد ($P<۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری و بحث: نتایج این تحقیق نشان داد که افزودن پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس به سرکه تخمیری انگور قرمز ۳٪ تأثیر به‌سزایی بر فاکتورهای رشد، مورفولوژی روده و فلور میکروبی دستگاه گوارش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان خواهد داشت.

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: amirbahri52@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۷ تیر ۱۳۹۹؛ تاریخ داوری: ۲۸ مرداد ۱۳۹۹؛ تاریخ اصلاح: ۱۳ شهریور ۱۳۹۹؛ تاریخ پذیرش: ۲۰ مهر ۱۳۹۹
(DOI): 10.22034/AEJ.2020.243461.2319

مقدمه

روند توسعه آبزی‌پروری در کشور و پیش‌بینی میزان تولید آبزیان پرورشی طی برنامه توسعه اقتصادی– اجتماعی پنجم بیانگر روند افزایش تولید برای گروه‌های مختلف آبزیان می‌باشد. لیکن شیوع بیماری‌های مختلف در جمعیت آبزیان پرورشی چه به‌منظور تولید غذا و چه به منظور بازسازی ذخایر همواره تهدیدگر سرمایه‌های عظیم این زیر بخش‌ها می‌باشد. بنابراین به‌منظور کاهش ضررهای اقتصادی ناشی از این بیماری‌ها، بهبود و افزایش عملکرد سیستم ایمنی آبزیان بیش از پیش اهمیت می‌یابد (شیخ‌زاده و همکاران، ۱۳۸۸). استفاده بیش از حد آنتی‌بیوتیکی، منجر به ظهور عوامل بیماری‌زای مقاوم در برابر آن‌ها، برهم‌خوردن تعادل میکروبی معمول در دستگاه گوارش ماهی و هم‌چنین موجب اثرات سمی، واکنش‌های حساسیت‌زا، شیوع عفونت‌های ثانویه و اختلالات سوخت و سازی در انسان می‌گردد (Adel و همکاران، ۲۰۱۵). امروزه راهکارهای مختلفی برای کاهش نیاز به استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها مورد بررسی قرار گرفته است. یکی از این راه‌ها استفاده از مکمل‌های غذایی است که علاوه بر افزایش رشد، اثرات سودمندی بر ایمنی میزبان و ایجاد مقاومت در برابر عوامل بیماری‌زا دارند، ازجمله این مواد می‌توان به پروبیوتیک‌ها اشاره کرد. پروبیوتیک به معنی مکمل میکروبی زنده که با متعادل‌نمودن فلور میکروبی دستگاه گوارش، سلامت میزبان را افزایش داده و اثرات مفیدی بر واکنش‌های فیزیولوژیک موجود زنده دارد (Askarian و همکاران، ۲۰۱۱). میکروب‌های پروبیونت، با تقویت سیستم ایمنی و بالانس فلور نرمال بدن، مقاومت موجود را در برابر میکروب‌های بیماری‌زا افزایش می‌دهند (Nayak، ۲۰۱۰). مطالعات انجام‌گرفته توسط محققین مختلف، بر این مطلب تاکید دارد که یکی از روش‌های کاهش بیماری‌های میکروبی در ماهی، استفاده از پروبیوتیک‌ها (به عنوان ابزارهای بیولوژیک) می‌باشد (اکرمی و همکاران، ۱۳۸۷). لاکتوباسیلوس‌ها باکتری‌های گرم مثبت منظم و بلند هستند به‌طوری که طول آن‌ها به ۱۰ میکرون می‌رسد باکتری‌های این جنس بدون هاگ عمدتاً غیرمتحرک اما پر نیاز هستند. پلی‌مرفیک، بی‌هوازی و اختیاری هستند. بعضی از گونه‌ها بی‌هوازی اجباری‌اند و دارای متابولیسم تخمیری که از طریق تخمیر قندها تولید انرژی می‌کنند که حداقل نیمی از فراورده‌های آن اسیدلاکتیک است. بهترین pH برای رشد لاکتوباسیلوس ۵ تا ۶/۵ است. هم‌چنین تراکم ۵ درصد کربن دای اکسید تاثیر به‌سزایی بر رشد آن‌ها دارد. لاکتوباسیلوس‌ها در شرایط بی‌هوازی یا حداقل اکسیژن رشد دارند لاکتوباسیلوس‌ها باکتری‌های تخمیرکننده هستند (Kim و Austin، ۲۰۰۶) پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (*Lactobacillus acidophilus*) یک گونه از هشت جنس اصلی لاکتوباسیلوس است و شاید شناخته شده‌ترین گونه در بین لاکتوباسیلوس‌ها باشد (Buttris، ۱۹۹۷). سرکه تخمیری انگور قرمز و میوه‌های طعم‌های طبیعی در مقدار ۱ درصد اتانول در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد و حداقل ۴٪ اسیدیته فرار (Brasil و همکاران، ۲۰۱۲) به‌دست می‌آیند. سرکه یک اسیداستیک رقیق است که حاصل از تخمیر دوگانه، الکلی و استیک از هر سوبسترای قابل تخمیر است (Solieri و Giudici، ۲۰۰۸). به‌طور گسترده‌ای و به‌راحتی قابل دسترسی است، اما در مورد خواص و عملکرد آن‌ها اطلاعات بسیار کم وجود دارد. سرکه استفاده‌های مختلفی دارد که از زمان‌های قدیم در رژیم غذایی انسان به‌عنوان طعم‌دهنده و نگه‌دارنده مواد غذایی و هم‌چنین در داروهای مجزا برای انسان و حیوانات استفاده می‌شد (Solieri و Giudici، ۲۰۰۹). این محصول به‌صورت تخمیر شده نیز در بعضی از کشورها به‌عنوان یک نوشیدنی برای اهداف دارویی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Rainieri و Zambonelli، ۲۰۰۹). میکروارگانیسم‌های مسئول تخمیری استیک سرکه، علاوه بر اسید استیک، ترکیبات متابولیک مختلفی را ایجاد می‌کنند که عطر و طعم محصول را تغییر می‌دهند. بعضی از سرکه‌های میوه به‌طورکلی حاوی آنتی‌اکسیدان‌ها، ترکیبات ضد توموری و دیگر متابولیت‌های زیستی هستند که می‌توانند به اثرات بهداشتی آن کمک کنند (Vanin و همکاران، ۲۰۱۲). همان‌طورکه ذکر شد، سرکه سیب یک فرآورده حاصل از تخمیر سیب است که حاوی ترکیباتی چون فلانوئیدها، پلی فنوئیک، اسیدهای آلی، ویتامین‌ها و موادمعدنی است که دارای خواص درمانی بدون عوارض جانبی می‌باشد، هم‌چنین سرکه سیب در از بین بردن باکتری‌های مضر، خنثی کردن و از بین بردن سموم بدن نقش دارد(Azadikhah و همکاران، ۲۰۱۳).در این خصوص Safari و همکاران (۲۰۱۷) بررسی تأثیرات ایمنی و ارتقای سلامت در اثرات تجویز ترکیبی یا یکنواخت سرکه سیب و لاکتوباسیلوس کازئی (*Lactobacillus casei*) در رژیم غذایی ماهی کپورمعمولی (*Cyprinus carpio*)، وکیلی وهمکاران(۱۳۹۶)به تاثیر ارزیابی سطوح مختلف باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس به‌عنوان مکمل غذایی بر میزان رشد، بازماندگی، فراسنجه‌های خونی و فلور باکتریای روده ماهی گوپی (*Poecilia reticulata*)، جعفری و همکاران (۱۳۹۵) تاثیر لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس باعث بر وزن، درصد نرخ رشد ویژه و درصد افزایش وزن در بچه‌ماهیان کپورمعمولی، Pourmozaffar و همکاران(۲۰۱۶) بررسی اثر سطوح مختلف سرکه سیب و اسید پروپیونیک بر بیان ژن‌های مرتبط با ایمنی و عملکرد رشد در میگو سفید، Piccolo و همکاران (۲۰۱۴) اثرات لاکتو باسیلوس بر عملکرد رشد و پارامترهای خونی در ماهی سی‌باس اروپایی، Beck و همکاران (۲۰۱۵) تاثیر پروبیوتیک لاکتوکوکوس لاکتیس در ماهی کفشک (*Paralichthys olivaceus*)

و اسدی و همکاران (۱۳۹۸) اثر سرکه سیب بر عملکرد رشد در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) مبتلا به بیماری کبد چرب غیرالکلی را مورد آزمایش قرار دادند. ماهی قزل‌آلای رنگین کمان با نام علمی (*Oncorhynchus mykiss*) یکی از گونه‌های خانواده آزاد ماهیان می‌باشد. این ماهی گوشتخوار شکارچی با رژیم غذایی متنوع بوده و به‌راحتی به غذای دستی سازگار می‌شود (فریدپاک، ۱۳۶۵).هدف کلی این پژوهش بررسی تأثیر سطوح مختلف پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و افزودن توام آن با سرکه تخمیری انگور قرمز بر عملکرد رشد، ترکیبات لاشه، مورفولوژی روده و فلور باکتریایی روده در ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در پاییز سال ۱۳۹۷ در یکی از مزارع ماهیان سردابی شرکت آبزی اکسیر کوثر واقع در احمدآباد مستوفی در استان تهران انجام شد. تعداد کل ۷۲۰ عدد بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با میانگین‌وزنی (۲±۸۵گرم) از همان مرکز تهیه شدند و سپس ماهیان در ۸ تیمار آزمایشی حاوی مقادیر۰ (شاهد)، سرکه تخمیری انگور قرمز ۱، ۲ و ۳ درصد، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس $CFU/g8\times10^{6}$، پروبیوتیک+ سرکه‌تخمیری‌انگور ۱٪، پروبیوتیک+ سرکه‌تخمیری انگور ۲٪ و پروبیوتیک+ سرکه تخمیری انگور قرمز ۳٪ و ۳ تکرار در ۲۴ مخزن فایبرگلاس ۲۰۰۰ لیتری ذخیره‌سازی شدند (در هر مخزن ۳۰ عدد ماهی) (Adel و همکاران، ۲۰۱۷). ماهیان به‌مدت یک هفته با جیره تهیه شده از شرکت بیومار آداپته شدند. سپس به‌مدت ۵۶ روز تغذیه شدند. غذادهی در ۳ نوبت در روز در زمان‌های مشخص (۹:۰۰، ۱۳:۰۰و ۱۷:۰۰) انجام شد (Adel و همکاران، ۲۰۱۷).

آماده‌سازی جیره‌های غذایی: باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس از شرکت تک ژن (با کد *PTCC 1643*) به‌صورت لیوفیلیزه خریداری شد. به‌منظور تهیه‌غلظت باکتری مورد نظر، ابتدا سوسپانسیون باکتری مورد نظر بر روی محیط کشت تریپتیک سوی آگار (TSA) کشت داده شده و به‌مدت ۴۸ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد گرمخانه گذاری شد.سپس از کلنی‌های کشت داده شده، با استفاده از استاندارد نیم مک‌فارلند و دستگاه اسپکتوفتومتری میزان غلظت مورد نظر (8×10^{6} CFU/g) بر مبنای تعیین جذب نوری در طول موج ۶۰۰ نانومتر تعیین شد (Merrifield و همکاران، ۲۰۱۰). هم‌چنین سرکه تخمیری انگور قرمز از شرکت طراوت تهیه شد. ماهیان از نظر تغذیه‌ای به گروه شاهد با غذای معمولی و ۷ گروه آزمایشی با غذای حاوی مکمل‌های منتخب تغذیه شدند. تغذیه گروه شاهد با غذای تجاری‌فاقد مکمل‌صورت گرفت. جهت آماده‌سازی جیره‌های آزمایشی خوراک اکسترود تجاری ماهی قزل‌آلا (بیضاء، شیراز، ایران) فاقد هرگونه افزودنی به‌صورت تولید تازه تهیه شد و مکمل‌ها به‌صورت پوشش‌دهی باژلاتین به آن‌ها افزوده شد.

نمونه‌برداری: در پایان آزمایش به‌طور تصادفی ۳ عدد ماهی از هر مخزن انتخاب گردید. ابتدا ماهیان توسط پودر گل میخک (۱۲۵ میلی‌گرم در لیتر)، بی‌هوش شدند. سپس با ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم وزن شده و با قرار دادن ماهی‌ها در ورقه‌های آلومینیومی و سپس در کیسه‌های پلی‌اتیلنی علامت‌گذاری شدند و پس از قرار گرفتن در یخ خشک، به آزمایشگاه شیلات مجتمع آزمایشگاهی واحد علوم و تحقیقات منتقل گردیدند.

محاسبه شاخص‌های رشد ماهی:

$$\text{وزن بدن (BWG)} = \frac{\text{وزن اولیه(گرم)}-\text{وزن نهایی(گرم)}}{\text{وزن اولیه(گرم)}}$$

(Kestemont و همکاران، ۲۰۰۷)

$$\text{نرخ رشد ویژه (SGR)} = 100\frac{\ln W2-\ln W1}{\text{طول دوره پرورش(روز)}} \times$$

(Wootan، ۱۹۹۰)

$$\text{ضریب تبدیل غذایی (FCR)} = \frac{\text{مقدار غذای خورده شده(گرم)}}{\text{افزایش وزن بدن(گرم)}} \times 100$$

(Hevory و همکاران، ۲۰۰۵)

$$\text{درصد بازماندگی} = \frac{\text{تعداد نهایی}-\text{تعداد اولیه}}{\text{تعداد اولیه}} \times 100$$

(Qinghui و همکاران، ۲۰۰۴)

شاخص وضعیت (CF)=وزن/ طول۳ ×۱۰۰

(Kestemont و همکاران، ۲۰۰۷)

نسبت کارآیی پروتئین(PER)=وزن به‌دست‌آمده/گرم پروتئین خورده‌شده

(Luo و همکاران، ۲۰۱۰)

آنالیز ترکیبات شیمیایی لاشه: در انتهای آزمایش تعداد ۷۲ قطعه ماهی (تعداد ۳ ماهی از هر تکرار) به‌صورت تصادفی انتخاب و جهت تعیین تقریبی ترکیبات شیمیایی بدن در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد منجمد شد. تعیین ترکیب شیمیایی بدن در آزمایشگاه با استفاده از روش استاندارد AOAC (۲۰۰۰) انجام شد. اندازه‌گیری پروتئین‌خام با استفاده از دستگاه‌کجدال، چربی خام به‌روش سوکسله، رطوبت با استفاده از آون در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۴ ساعت و مقدار خاکستر با استفاده از کوره الکتریکی در دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴ ساعت صورت گرفت (AOAC، ۲۰۰۰).

بافت‌شناسی میکروپرزهای روده: در انتهای آزمایش به‌منظور بررسی تغییرات بافتی تعداد ۳ نمونه روده از هر تکرار به‌صورت تصادفی اخذ و طبق روش نعمت‌الهی و همکاران (۱۳۹۲) تهیه نمونه‌های هیستولوژی از روده ماهیان صورت گرفت. بدین‌منظور، بعد از مرگ آرام ماهی با دوز ppm۱۰۰ اسانس گل میخک، در ابتدا جهت آماده

سازی نمونه‌ها روده ماهیان جداسازی و به‌آرامی تخلیه شد. سپس به منظور عدم چسبندگی بافت روده و تخریب پرزهای روده با استفاده از نخ بخیه یک طرف روده را گره زده و با استفاده از سرنگ انسولین، درون بافت روده فرمالین ۱۰ درصد تزریق شد. در انتها دیگر روده نیز با نخ بخیه نیم میلی‌متری بسته شد. نمونه‌های روده درون لوله‌های حاوی فرمالین ۲۰ درصد قرار داده شد. سپس نمونه‌ها به‌مدت ۲۴ ساعت در محلول دیویدسون (شامل: اسیداستیک ۱۰۰ میلی‌لیتر، الکل ۹۵٪ ۳۰۰ میلی‌لیتر) فیکس شدند. پس از آن چندین مرتبه با اتانول ۷۰٪ مورد شستشو قرار گرفته، سپس نمونه‌ها توسط الکل اتانول ۹۵ و ۱۰۰ درصد و نهایتاً توسط الکل بوتانول (Merck, Germany) آبگیری شدند. نمونه‌ها پس از آن که به‌مدت سه ساعت در گزیلن به‌منظور پارافینه کردن قرار گرفتند پس از آن در داخل آون حاوی پارافین مایع قرار داده شده و پس از آن توسط پارافین (Merck, Germany) قالب‌گیری شدند. از بافت برش‌هایی به ضخامت چهار میکرومتر توسط میکروتوم (مدل Rotary ساخت کشور آمریکا) تهیه شد. لام‌ها پس از نگه‌داری در داخل آون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و پس از آن پارافین‌زدایی توسط گزیلن به‌روش هماتوکسیلین-فوشین رنگ‌آمیزی شده و توسط میکروسکوپ نوری با بزرگ‌نمایی مختلف (از بزرگ‌نمایی ۱۰ تا ۱۰۰) مورد مطالعه و عکس‌برداری قرار گرفتند (Khodabandeh و همکاران، ۲۰۰۶). پس از آن میانگین طولی و عرضی و تراکم سلول‌های جامی میکروپرزهای روده در ماهیان مورد مطالعه با استفاده از نرم‌افزار Image tools (2.0) اندازه‌گیری شد (Varsamos، ۲۰۰۲).

جداسازی و شناسایی بیوشیمیایی لاکتوباسیل‌ها: روده هر ماهی در شرایط استریل، در کنار شعله، خارج و در جهت طولی برش داده‌شد. محتویات روده دور ریخته شد و داخل روده با سرم فیزیولوژی شستشو گردید. مقدار ۱ گرم از بافت هموژن شده روده به ۹ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی اضافه شد تا سوسپانسیون ۱:۱۰ آن به‌دست آید. به همین ترتیب رقت‌های بر مبنای ده از نمونه اولیه تهیه گردید. بعد از مشخص شدن بهترین رقت، نمونه‌ها در محیط MRS آگار، کشت سفره‌ای داده شدند. پلیت‌ها به‌مدت ۲۴ تا ۷۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در شرایط بی‌هوازی گرمخانه‌گذاری شده و سپس از کلنی‌های مشکوک ساب کالچر تهیه شده و مراحل خالص‌سازی و شناسایی اولیه رنگ‌آمیزی گرم، آزمایش‌های اکسیداز و کاتالاز انجام گرفت. در پایان، شمارش کلنی (عکس‌ضریب رقت×تعداد کلنی حاصله = CFU) انجام گرفت (Quinn و همکاران، ۱۹۹۴).

فلور باکتریایی روده: به‌منظور بررسی تعداد باکتری‌های اسید لاکتیک و هم‌چنین تعداد کل باکتری‌های زیست‌پذیر موجود در میکروبیوتای روده ماهیان تغذیه شده با جیره‌های منتخب در انتهای دوره تعداد ۴ ماهی از هر تکرار به‌صورت تصادفی انتخاب شد (تغذیه ماهیان ۲۴ ساعت قبل از نمونه‌گیری از روده متوقف‌شد). پس از انتقال ماهیان به آزمایشگاه در شرایط استریل کالبدگشایی صورت گرفته، نمونه‌های روده پس از تخلیه کامل محتویات، توزین و به‌منظور هموژن نمودن به هاون‌های چینی استریل منتقل شد (Olsen و همکاران، ۲۰۰۱). پس از هموژن کردن نمونه‌های روده با استفاده از Nacl ۰/۸۷w/v درصد، رقت‌های 10^{-1} تا 10^{-6} تهیه گردید. در ادامه، ۰/۵ میلی‌لیتر از رقت‌های تهیه شده به محیط‌های کشت پلیت کانت آگار یا PCA (به‌منظور تعیین تعداد کل باکتری‌های موجود در میکروبیوتای روده) و به محیط کشت MRS یا DeMan Rogosa and sharpe (جهت تعیین تعداد باکتری‌های اسیدلاکتیک) منتقل و به‌صورت سطحی در پلیت کشت داده شد (Mahious و همکاران، ۲۰۰۵). سپس پلیت‌ها به‌مدت ۵ روز در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و در شرایط هوازی گرمخانه‌گذاری شد. در نهایت پس از سپری شدن زمان انکوباسیون، تعداد باکتری‌های هر پلت، بر حسب لگاریتم واحد کلنی (Log CFU) در گرم وزن روده شمارش شد (Bagheri و همکاران، ۲۰۰۸).

روش آنالیز آماری: در این تحقیق، هر تیمار به‌عنوان یک واحد آزمایشی در نظر گرفته شد در ابتدا کار نرمال‌سازی داده‌ها پس‌از تست Shapiro wilk صورت گرفت. در این مطالعه از طرح آماری در قالب طرح کاملاً" تصادفی Completely Randomized Design (CRD) در سه تکرار برای هر تیمار و شاهد استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS ۱۹ و با استفاده از تجزیه واریانس دوطرفه (Two-way analysis of varianc) صورت گرفت. مقایسه میانگین بین تیمارهای مختلف براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن (Duncans Multiple- range test) در سطح احتمال ۵ درصد تعیین شد ($P\leq ۰/۰۵$).

نتایج

شاخص‌های رشد و بازماندگی: نتایج مربوط به فاکتورهای رشد و بازماندگی تیمارهای مختلف تغذیه شده با سطوح مختلف باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و سرکه تخمیری انگور قرمز در انتهای دوره، در جدول ۱ آمده است. براساس این نتایج میزان افزایش وزن بدن، درصد افزایش وزن (BWI)، نرخ رشد ویژه (SGR)، نسبت کارایی پروتئین (PER)، فاکتور وضعیت (CF)، ضریب تبدیل غذایی (FCR) در تیمار ترکیبی باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و سرکه تخمیری انگور قرمز ۳٪ نسبت به سایر تیمارها به‌ویژه گروه شاهد اختلاف معنی‌داری را نشان داد ($P<۰/۰۵$). هم‌چنین نتایج این بررسی نشان‌داد که اختلاف معنی‌داری در درصد بازماندگی بین تیمار ترکیبی

باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و سرکه تخمیری انگور قرمز ۳٪ با سایر تیمارهای مختلف آزمایشی وجود دارد (P<۰/۰۵).

ترکیبات شیمیایی بدن: بررسی آماری آنالیز ترکیب شیمیایی بدن ماهیان قزل‌آلای تغذیه‌شده با سطوح مختلف باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و سرکه تخمیری انگور قرمز در انتهای دوره نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در ترکیبات شیمیایی لاشه ماهیان قزل‌آلای تغذیه شده با جیره حاوی باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس+سرکه تخمیری انگور قرمز ۳٪ با تیمار شاهد وجود دارد (P<۰/۰۵). در این بررسی ماهیان تغذیه‌شده با باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس+سرکه تخمیری انگور قرمز ۳٪ بالاترین مقدار پروتئین خام (۲۵/۰۴±۱۸/۰) و کم‌ترین درصد رطوبت (۹۱/۰۹±۷۳/۰) و چربی خام (۲۲/۰۸±۳/۰) را دارند. هم‌چنین از نظر درصد خاکستر اختلاف مشاهده شده در تیمار حاوی باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس+ سرکه تخمیری انگور قرمز ۳٪ با سایر تیمارها به‌ویژه تیمار شاهد معنی‌دار بود (P<۰/۰۵).

میکروپرزهای روده: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها و آزمون دانکن مقایسه میانگین طول و عرض میکروپرزهای روده، (جدول ۳) بیانگر وجود اختلاف معنی‌داری میان تیمارهای مختلف بود (P<۰/۰۵). ماهیان قزل‌آلای تغذیه شده با جیره حاوی باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس+ سرکه تخمیری انگور قرمز ۳٪ بیش‌ترین مقدار طول و عرض میکروپرزهای روده را دارا بوده و تیمار شاهد نیز دارای کم‌ترین میزان بودند. هم‌چنین از نظر طول و عرض میکروپرزهای روده اختلاف مشاهده شده در تیمار حاوی باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس+ سرکه تخمیری انگور قرمز ۳٪ با سایر تیمارها به ویژه تیمار شاهد معنی‌دار بود (P<۰/۰۵) (شکل ۱). هم‌چنین نتایج بیانگر آن است که اختلاف معنی‌داری در سطح جذب روده ماهی قزل‌آلای تغذیه شده با جیره حاوی باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس+ سرکه تخمیری انگور قرمز ۳٪ با سایر تیمارها به‌ویژه تیمار شاهد وجود دارد. در این مطالعه ماهیان تغذیه شده با باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس+ سرکه تخمیری انگور قرمز ۳٪ بالاترین میزان سطح جذب روده (۶۴۴۷۹/۲۱۴۶±۱/۵) را دارا بود و کم‌ترین میزان این پارامتر در تیمار شاهد(۴۰۱۲۱/۱۲۸۹±۵/۶) (میکرومتر مربع) مشاهده شد (P<۰/۰۵).

جدول ۱: میانگین شاخص‌های رشد و بازماندگی در ماهیان قزل‌آلای تغذیه شده با سطوح مختلف باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و سرکه تخمیری انگور قرمز

	شاهد	سرکه ۱٪	سرکه ۲٪	سرکه ۳٪	پروبیوتیک	پرو+ سرکه ۱٪	پرو+ سرکه ۲٪	پرو+ سرکه ۳٪
وزن اولیه	۸۵/۳±۰/۷^{a}	۸۶/۱±۰/۶^{a}	۸۵/۸ ±۰/۸^{a}	۸۶/۷±۰/۵^{a}	۸۴/۹±۰/۸^{a}	۸۵/۴±۰/۶^{a}	۸۵/۹±۰/۷^{a}	۸۶/۱±۰/۹^{a}
وزن نهایی	۱۵۴/۰±۱/۲^{e}	۱۶۸/۵±۲/۵^{d}	۱۶۵/۸±۱/۶^{d}	۱۷۰/۰±۳/۴^{d}	۱۹۳/۷±۲/۶^{c}	۱۸۹/۳±۳/۰^{c}	۲۰۴/۲±۲/۱^{b}	۲۳۰/۴±۳/۲^{a}
افزایش وزن	۶۹/۳±۱/۰^{e}	۸۳/۰±۲/۳^{d}	۷۹/۶±۱/۶^{d}	۸۴/۵±۱/۹^{d}	۱۰۹/۹±۲/۱^{c}	۱۰۶/۳±۱/۵^{c}	۱۱۸/۵±۱/۲^{b}	۱۴۵/۰±۲/۸^{a}
نرخ رشد ویژه	۱/۱۱±۰/۰۳^{e}	۱/۲۳±۰/۰۲^{d}	۱/۱۸±۰/۰۴^{d}	۱/۲۷±۰/۰۳^{d}	۱/۷۰±۰/۰۷^{c}	۱/۶۸±۰/۰۷^{c}	۱/۸۲±۰/۰۴^{b}	۲/۱۱±۰/۰۶^{a}
ضریب تبدیل غذایی	۱/۹۶±۰/۱^{a}	۱/۷۱±۰/۰۷^{b}	۱/۷۵±۰/۰۳^{b}	۱/۶۹±۰/۰۵^{b}	۱/۴۶±۰/۰۴^{c}	۱/۵۲±۰/۰۳^{c}	۱/۳۷±۰/۰۵^{d}	۱/۲۳±۰/۰۴^{e}
درصد بازماندگی	۸۶/۶±۱/۱^{c}	۹۰/۱±۱/۵^{bc}	۹۳/۴±۲/۵^{b}	۹۳/۶±۱/۷^{b}	۹۶/۱±۲/۱^{b}	۹۳/۳±۱/۶^{b}	۹۶/۳±۱/۷^{b}	۱۰۰/۰±۰/۰^{a}
شاخص وضعیت	۱/۱۹±۰/۰۲^{d}	۱/۲۷±۰/۰۳^{c}	۱/۲۵±۰/۰۲^{c}	۱/۳۱±۰/۰۱^{c}	۱/۳۸±۰/۰۵^{b}	۱/۳۵±۰/۰۳^{b}	۱/۴۴±۰/۰۴^{b}	۱/۶۷±۰/۰۲^{a}
نسبت کارایی پروتئین	۱/۴۰±۰/۰۴^{e}	۱/۶۵±۰/۰۶^{d}	۱/۵۸±۰/۰۵^{d}	۱/۶۸±۰/۰۵^{d}	۱/۹۴±۰/۱^{c}	۱/۸۹±۰/۰۹^{c}	۲/۰۶±۰/۱۲^{b}	۲/۲۱±۰/۰۸^{a}

حروف غیرهمسان در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد و داده‌ها به‌صورت میانگین± انحراف معیار می‌باشد.

جدول ۲: ترکیبات شیمیایی لاشه ماهیان قزل‌آلای تغذیه شده با سطوح مختلف باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و سرکه تخمیری انگور قرمز

	شاهد	سرکه ۱٪	سرکه ۲٪	سرکه ۳٪	پروبیوتیک	پرو+ سرکه ۱٪	پرو+ سرکه ۲٪	پرو+ سرکه ۳٪
پروتئین خام	۱۶/۶۸±۰/۱۴^{b}	۱۶/۷۷±۰/۰۵^{b}	۱۶/۹۹±۰/۰۷^{b}	۱۷/۷۵±۰/۴۱^{a}	۱۷/۷۷±۰/۱۵^{a}	۱۷/۹۳±۰/۱۳^{a}	۱۷/۸۵±۰/۷۲^{a}	۱۸/۲۵±۰/۰۴^{a}
چربی خام	۴/۰±۱۶/۰۴^{a}	۴/۰±۰۹/۰۴^{a}	۴/۰±۰۱/۰۲^{a}	۳/۸۴±۰/۰۶^{ab}	۳/۰±۴۲/۱۰^{b}	۳/۵۷±۰/۲۹^{b}	۳/۵۰±۰/۲۵^{b}	۳/۲۲±۰/۰۸^{c}
رطوبت	۷۵/۰±۹۴/۱۱^{a}	۷۵/۰±۶۳/۰۵^{a}	۷۴/۰±۹۳/۱۹^{ab}	۷۴/۰±۶۱/۰۵^{b}	۷۴/۰±۰۶/۱۴^{b}	۷۴/۰±۶۱/۰۹^{b}	۷۴/۰±۶۲/۲۱^{b}	۷۳/۰±۹۱/۰۹^{c}
خاکستر	۳/۴۶±۰/۰۴^{c}	۳/۳۳±۰/۰۱^{a}	۳/۳۷±۰/۰۴^{a}	۳/۴±۰/۰۸^{a}	۳/۲۶±۰/۰۲^{a}	۳/۲۲±۰/۰۸^{a}	۳/۲۶±۰/۱۶^{a}	۳/۰۸±۰/۰۳^{b}

حروف غیرهمسان در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد و داده‌ها به‌صورت میانگین± انحراف معیار می‌باشد.

فلور باکتریایی روده: نتایج تغییرات فلور باکتریایی روده ماهیان قزل‌آلای تغذیه شده با سطوح مختلف باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و سرکه تخمیری انگور قرمز نشان داد که که اختلاف معنی‌داری در تعداد کلی باکتری‌های روده در بین تیمارهای مختلف آزمایشی وجود ندارد(P≥۰/۰۵). از سوی دیگر اختلاف معنی‌داری در تعداد باکتری‌های لاکتیک (Log CFU/g) در روده ماهیان قزل‌آلای تغذیه شده با جیره حاوی باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس+ سرکه تخمیری انگور قرمز ۳٪ با سایر تیمارها به‌ویژه تیمار شاهد وجود دارد (P<۰/۰۵) (جدول۴).

جدول ۳: تغییرات فلور باکتریایی روده ماهیان قزل‌آلای تغذیه شده با سطوح مختلف باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و سرکه تخمیری انگور قرمز

	شاهد	سرکه ۱٪	سرکه ۲٪	سرکه ۳٪	پروبیوتیک	پرو+ سرکه ۱٪	پرو+ سرکه ۲٪	پرو+ سرکه ۳٪
طول میکروپرزهای روده (میکرومتر)	۳۴۰/۰۰±۰/۸^{e}	۳۴۳/۰±۰/۲^{e}	۳۹۵/۵±۰/۲۵^{b}	۳۵۴/۰±۰/۵^{d}	۳۷۸/۰±۰/۱۵^{c}	۳۹۵/۵±۰/۱۵^{b}	۳۹۵/۵±۰/۲۵^{b}	۴۲۵/۵±۰/۳۵^{a}
عرض میکروپرزهای روده (میکرومتر)	۹۶/۹۵±۰/۴^{d}	۹۸/۸۵±۱/۵۵^{d}	۹۸/۹±۰/۴^{d}	۹۸/۳۵±۰/۴۰^{d}	۱۰۳/۴۵±۰/۴۰^{c}	۱۰۶/۷±۱/۱^{b}	۱۰۲/۸±۰/۰۵^{c}	۱۱۳/۸±۰/۳۶^{a}
سطح جذب روده (میکرومتر مربع)	۴۰۱۲۱/۵±۱۲۸۹/۶^{d}	۴۲۱۵۹/۳±۱۳۸۶/۱^{d}	۴۳۲۹۳/۵±۱۱۲۴/۴^{d}	۴۲۱۷۳/۰±۱۲۸۹/۹^{d}	۴۷۵۸۱/۷±۲۰۱۳/۱^{c}	۵۱۸۷۶/۳±۳۴۱۶/۲^{b}	۴۶۶۳۹/۴±۴۱۲۶/۳^{b}	۶۴۴۷۹/۱±۲۱۴۶/۵^{a}

حروف غیرهمسان در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد می‌باشد (P<۰/۰۵).

جدول ۴: تغییرات فلور باکتریایی روده ماهیان قزل‌آلای تغذیه شده با سطوح مختلف باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و سرکه تخمیری انگور قرمز

	شاهد	سرکه ۱٪	سرکه ۲٪	سرکه ۳٪	پروبیوتیک	پرو+ سرکه ۱٪	پرو+ سرکه ۲٪	پرو+ سرکه ۳٪
باکتری‌های لاکتیک (LAB)	۱/۰±۳۹/۱^{c}	۱/۰±۵/۱۵^{c}	۱/۰±۴۲/۱۵^{c}	۱/۰±۵۶/۱۵^{c}	۱/۰±۷۷/۲۵^{b}	۱/۰±۶۵/۹۵^{b}	۱/۰±۷۶/۲^{b}	۱/۰±۹۵/۲^{a}
تعداد کلی باکتری‌های روده (TVAC)	۴/۰±۷۰/۷^{a}	۴/۰±۶۶/۳۵^{a}	۴/۰±۷۲/۲^{a}	۴/۰±۶۵/۷۵^{a}	۴/۰±۸۱/۶۰^{a}	۴/۰±۷۲/۱۵^{a}	۴/۰±۷۷/۷۵^{a}	۴/۰±۸۸/۲۵^{a}

حروف غیرهمسان در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد می‌باشد (P<۰/۰۵).

شکل ۱: افزایش معنی‌دار ضخامت و طول ویلای‌ها و تعداد گابلت سل‌ها در تیمار ترکیبی پروبیوتیک و سرکه ۳٪.

بحث

بهینه‌سازی فاکتورهای تغذیه‌ای و ایمنی می‌تواند باعث سازگاری اکولوژیکی، رشد بهتر و افزایش بازماندگی در طی دوره پرورش در آبزیان گردد (Adel و همکاران،۲۰۱۷). تغذیه یکی از جنبه‌های مهم تولید آبزیان است که قسمت اعظم هزینه پرورش آبزیان را به خود اختصاص داده است. یکی از مهم‌ترین مزایای پروبیوتیک‌ها، افزایش ارزش غذایی و نیز بهبود پارامترهای رشد است. نتایج مربوط به فاکتورهای رشد و بازماندگی تیمارهای مختلف تغذیه شده با سطوح مختلف باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و سرکه تخمیری انگور قرمز در انتهای دوره نشان داد که میزان افزایش وزن بدن، درصد افزایش وزن، نرخ رشد ویژه، نسبت کارایی پروتئین، فاکتور وضعیت و ضریب تبدیل غذایی در تیمار ترکیبی باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و سرکه تخمیری انگور قرمز ۳٪ نسبت به سایر تیمارها به‌ویژه گروه شاهد اختلاف معنی‌داری را نشان داد (P<۰/۰۵). مشابه با نتایج حاضر اثرات مفیدافزودن باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس بر شاخص‌های رشد در ماهیانی از قبیل گربه ماهی آفریقای (Al-Dohail و همکاران، ۲۰۰۹)، ماهی سورم طلایی (باقری و غفاری‌فارسانی، ۱۳۹۵)، ماهی دم شمشیری (Hoseinifar و همکاران، ۲۰۱۵) و ماهی تایگر بارب (روستا و همکاران، ۱۳۹۲) گزارش شده است. پروبیوتیک‌ها با افزایش فعالیت گوارشی، تحریک اشتها و قابلیت هضم مواد غذایی موجب رشد بهینه در میزبان می‌شوند. این امر از طریق بهبود فلور میکروبی روده، تولید ویتامین‌ها و ترشح آنزیم‌هایی مانند آمیلاز، لیپاز و پروتئاز انجام می‌گیرد که باعث تجزیه ترکیبات غیرقابل هضم و افزایش متابولیسم میکروبی و تحریک اشتها (Suzer و همکاران، ۲۰۰۸؛ Wang و Xu، ۲۰۰۶) و جذب مناسب‌تر مواد غذایی در میزبان می‌شوند (Bairagi و همکاران، ۲۰۰۳؛ Kim و Austin، ۲۰۰۶). اثر متقابل سرکه تخمیری انگور قرمز و باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس را این‌گونه می‌توان توضیح داد که افزودن سرکه تخمیری به جیره با ایجاد محیط اسیدی

مناسب مقدار بار آلودگی‌های میکروبی مضر خوراک را کاهش داده و از سوی دیگر دوام و پایداری میکروارگانیسم‌های مفید از قبیل پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس را در خوراک بهبود می‌دهد در نتیجه تعداد باکتری مذکور که از طریق مکمل‌سازی خوراک وارد دستگاه گوارش می‌شود بیش‌تر می‌گردد. در داخل دستگاه گوارش میکروارگانیسم‌های مفید با تولید اسیدهای آلی و باکتریوسین سبب کاهش باکتری‌های مضر و کلونیزه شدن آن‌ها می‌گردند و از این طریق باعث بهبود عملکرد رشد و ایمنی می‌شوند(Nava و همکاران، ۲۰۰۹). در مطالعات زیر نیز هم‌سو با مطالعه حاضر تاییدکننده اثرات مثبت سرکه تخمیری انگور قرمز بر عملکرد رشد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به‌ویژه در فرم ترکیبی آن با باکتری (لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس مخصوصا در سطح ۳٪) بوده است. Yoo و همکاران (۲۰۰۵) به بررسی تاثیر سطوح مختلف ترکیب زغال و سرکه چوب (۰، ۰/۵، ۱٪ و ۲٪) بر عملکرد رشد و تغذیه ماهی فلاندر (*Paralichrhys alivaceus*) پرداختند. در این مطالعه بهترین عملکرد رشد ماهی فلاندر در جیره حاوی سطوح ۰/۵ و ۱٪ ترکیب زغال و سرکه چوب گزارش شد. Seunghyung و همکاران (۲۰۰۸) به بررسی اثر سرکه چوب بر عملکرد رشد و پاسخ ایمنی ماهی انگشت‌قد *Paralichthys olivaceus* با شش سطح رژیم غذایی (۰/۰۱، ۰/۰۲۵، ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۲۵، ۰/۵ vw/ kg) پرداختند. نتایج نشان داد بهترین پاسخ در رژیم غذایی حاوی ۰/۰۵ ، ۰/۱ سرکه چوب حاصل شد. Rasha و همکاران (۲۰۱۶) نیز تأثیر رژیم غذایی اسیدی محتوی اسیدفرمیک، اسیدپروپیونیک و پروپینات کلسیم بر عملکرد رشد ماهی نیل تیلاپیا، در دو جیره مخلوط پروبیوتیک و نمک ۱ و ۲ گرم بر کیلوگرم پرداختند. نتایج نشان‌داد مکمل‌های غذایی ترکیبی محتوی پروبیوتیک و اسیدفرمیک، اسیدپروپیونیک و پروپینات کلسیم عملکرد تیلاپیای نیل را بهبود می‌بخشد که هم‌سو با نتایج حاضر است. درستی و همکاران (۱۳۹۶) نشان‌داد که‌استفاده از سرکه‌انگور قرمز به‌همراه پروبیوتیک پدیوکوکوس اسیدی لاکتیسی (PAL) در مقایسه با استفاده از آن‌ها به‌صورت مجزا تأثیر بهتری بر عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی داشته‌شد.نتایج بررسی حاضر نشان داد که اختلاف معنی‌داری در درصد بازماندگی بین تیمار ترکیبی باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و سرکه تخمیری انگور قرمز ۳٪ با سایر تیمارهای مختلف آزمایشی وجود دارد (P<۰/۰۵). دلایل این افزایش بازماندگی را شاید بتوان به از بین رفتن باکتری‌های مضر به‌وسیله باکتری‌های‌مفید(پروبیوتیک)مرتبط دانست.این احتمال وجود دارد که جمعیت‌های میکروبی برخی مواد شیمیایی آزاد کنند که بر جمعیت‌های میکروبی دیگر آثار ضدمیکروبی داشته باشند و بتوانند روابط بین جمعیتی را از طریق تحت تأثیر قرار دادن و رقابت برای جذب مواد شیمیایی یا انرژی موجود تغییر دهند (Jahangiri و ÁngelesEsteba، ۲۰۱۸).براساس گزارشی، باکتری‌های اسیدلاکتیک ازجمله باکتری‌هایی هستند که ترکیباتی همانند باکتریوسین‌ها را تولیدمی‌کنندو بدین‌طریق از رشدمیکروارگانیسم‌های دیگر جلوگیری کنند(Mehrabi و همکاران،۲۰۱۸).بررسی‌هانشان‌داده‌که پروبیوتیک‌ها با افزایش تعداد باکتری‌های مفید روده با تولید اسید لاکتیک و کاهش pH روده‌موجب‌توقف‌رشد پاتوژن‌ها در دستگاه‌گوارش‌شده‌و با تحریک سیستم ایمنی آبزیان مقاومت آن‌ها را علیه باکتری‌ها و ویروس‌ها و سایرعوامل‌استرس‌زا را به‌میزان‌معنی‌داری‌افزایش می‌دهند (Mehrabi و همکاران، ۲۰۱۸). مشابه با مطالعه حاضر، جعفری و همکاران (۱۳۹۵) نشان دادند که تیمار ۷ درصد وزن غذا لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در جیره غذایی بچه‌ماهیان کپور معمولی باعث افزایش نرخ بازماندگی شد. بررسی Gildberg و همکاران (۱۹۹۷) نشان‌دهنده اثرات مثبت باکتری‌های پروبیوتیکی در رشد و افزایش بازماندگی بچه‌ماهیان روغن‌ماهی (*Gadus morhua*) در سطوح ۱، ۲/۵ و ۵ درصد وزنی‌جیره در برابر باکتری Vibrio anguillarum بود. هم‌چنین، بررسی حیدریان و همکاران (۱۳۹۱) نشان داد که استفاده از باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس با غلظت 10^8 CFU/g منجر به بهبود شاخص‌های رشد و درصد بقاء میگوهای جوان وانامی گردید. درصد و مقدار غذادهی روزانه و ترکیب غذایی جیره ازجمله عوامل مؤثر در میزان ترکیبات شیمیایی لاشه هستند (Gawlicka و همکاران، ۲۰۰۲). بررسی آماری نشان‌دهنده آن است که اختلاف معنی‌داری در ترکیبات شیمیایی لاشه میان ماهی قزل آلای تغذیه شده با جیره حاوی باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس+ سرکه تخمیری انگور قرمز ۳٪با تیمار شاهد وجود دارد (P<۰/۰۵). در این بررسی ماهیان تغذیه شده با باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس+ سرکه تخمیری انگور قرمز ۳٪ بالاترین مقدار پروتئین خام (۲۵/۰۴±۱۸/۰) و کم‌ترین درصد رطوبت (۹۱/۰۹±۷۳/۰) و چربی خام (۲۲/۰۸±۳/۰) را دارند. هم‌چنین از نظر درصد خاکستر اختلاف مشاهده شده در تیمار حاوی باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس+ سرکه تخمیری انگور قرمز ۳٪ با سایر تیمارها به‌ویژه تیمار شاهد معنی‌دار بود(P<۰/۰۵).در بررسی‌مشابه نیز جعفریان و همکاران (۱۳۸۶) مشاهده کردند که افزودن باسیلوس‌های پروبیوتیکی به جیره قزل‌آلای رنگین‌کمان موجب افزایش معنی‌دار پروتئین خام و کاهش چربی خام در مقایسه با تیمار شاهد شده است. Ghosh و همکاران (۲۰۰۳) بیان کردند که پروبیوتیک‌ها احتمالاً از طریق افزایش قابلیت هضم چربی موجب کاهش ذخایر چربی لاشه و افزایش کیفیت آن شوند. Yoo و همکاران (۲۰۰۵) به بررسی تاثیر سطوح مختلف ترکیب زغال و سرکه چوب (۰، ۰/۵، ۱٪ و ۲٪) بر ترکیبات لاشه ماهی فلاندر (*Paralichrhys alivaceus*) پرداختند. نتایج بیانگر آن است که سطح چربی خام لاشه ماهی فلاندر در جیره

حاوی ۰/۵ و ۱٪ ترکیب زغال و سرکه چوب نسبت به تیمار شاهد کاهش یافت این در حالی است که در درصد رطوبت و پروتئین خام اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای مختلف گزرش نشد. Noveirian و Nasrollahzadeh (۲۰۱۲) در مطالعه مشابه با مطالعه حاضر بیان کردند که استفاده از بیوژن پروبیوتیک در سه سطح ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳ درصد در جیره غذایی بچه‌ماهی کپورمعمولی باعث افزایش میزان پروتئین خام جیره در مقایسه با تیمار شاهد شده است. همسان نبودن نتایج می‌تواند به‌علت تفاوت در مواد تشکیل‌دهنده و نحوه استفاده از ترکیبات در جیره غذایی، تفاوت گونه‌های ماهی مورد مطالعه، طول دوره استفاده از ترکیبات در جیره غذایی و شرایط متفاوت محیط آزمایشی باشد. بررسی طول، عرض و سطح جذب میکروپرزهای روده ماهیان در این آزمایش نشان داد که جیره حاوی باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس+ سرکه تخمیری انگور قرمز ۳٪ تفاوت معنی‌داری در طول، عرض و سطح جذب میکروپرزهای روده در مقایسه با سایر تیمارها داشته است (P<۰/۰۵). در حقیقت، طول پرز با ظرفیت جذب انتروسیت‌ها مرتبط است و هر چه طول پرزها بیش‌تر باشد ظرفیت جذبی روده بیش‌تر می‌شود (El-Rahim، ۲۰۰۶). در مطالعه‌مشابه Asaduzzaman و همکاران (۲۰۱۸) افزایش طول، عرض و سطح‌جذب میکروپرزهای‌ماهی را متعاقب مصرف مکمل پروبیوتیکی محتوی گونه‌های باکتریایی باسیلوس، شوانلا (*Shewanella* sp. AFG21) و آلکالیجنز (*Alcaligenes* sp.) در ماهی *Tor tambroides* گزارش نمودند. در مطالعه هم‌سو با نتایج حاضر، Pirarat و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند که استفاده از پروبیوتیک لاکتوباسیلوس رامنوز در جیره غذایی ماهی نیل تیلاپیا منجر به افزایش سطح معنی‌دار میکروپرزهای روده در مقایسه با گروه شاهد می‌شود. هم‌چنین بررسی عطایی و همکاران (۱۳۹۷) نشان داد که استفاده از پروبیوتیک پدیوکوکوس اسیدلاکتیک منجر به افزایش معنی‌دار عرض پرزهای روده ماهی قزل‌آلای زنگین‌کمان در مقایسه با تیمار شاهد شده است. بررسی متقی و همکاران (۱۳۸۹) نشان داد که استفاده ترکیبی از مکمل‌های پروبیوتیکی گالیپرو پربیوتیکی فرمکتو (حاوی باسیلوس سوبتیلیس *Bacillus subtilis*) در جیره غذایی سبب افزایش معنی‌دار طول پرزهای روده گردید. یافته‌های Tahmasebi و همکاران (۲۰۰۸) در خصوص تأثیر مثبت نوکلئوتیدها بر طول پرزهای روده ماهی قزل آلای رنگین‌کمان انگشت-قد و بهبود پارامترهای رشد ماهی، Olad و همکاران (۲۰۱۰) درخصوص تأثیر نوکلئوتیدها بر ساختار روده و افزایش طول پرزهای روده ماهی آزاد دریای خزر و Bello و همکاران (۲۰۱۲) در خصوص ترکیبات گیاهی بومی بر افزایش سطح جذب پرزهای روده از طریق تأثیر بر طول و عرض این پرزها با یافته‌های تحقیق حاضر مطابقت دارد. تغییرات فلور باکتریایی روده ماهیان قزل آلای تغذیه‌شده با سطوح مختلف باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و سرکه تخمیری انگور قرمز نشان داد که اختلاف معنی‌داری در تعداد کلی باکتری‌های روده در بین تیمارهای مختلف آزمایشی وجود ندارد (P≥۰/۰۵). از سوی دیگر اختلاف معنی‌داری در تعداد باکتری‌های لاکتیک (Log CFU/g) در روده ماهیان قزل‌آلای تغذیه شده با جیره حاوی باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس+ سرکه تخمیری انگور قرمز ۳٪ با سایر تیمارها به‌ویژه تیمار شاهد وجود دارد (P<۰/۰۵). هم‌چنین Jatobá و همکاران (۲۰۱۱) مشاهده کردند که پس از تغذیه ماهی نیل تیلاپیا با باکتری لاکتوباسیلوس پلانتاروم به‌مدت ۱۲ هفته، تعداد باکتری‌های هتروتروفیک روده ماهی کاهش یافته و تعداد باکتری‌های اسیدلاکتیکی افزایش یافت که هم‌سو با نتایج حاضر است. در بررسی هم‌سو با نتایج حاضرکردی و همکاران (۱۳۹۷) نشان دادند که استفاده از باکتری لاکتوباسیلوس پلانتاروم در سطوح 10^8 و 10^9 CFU/g در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان منجر به افزایش تعداد باکتری‌های اسیدلاکتیک در مقایسه با تیمار شاهد گردید. در مطالعه مشابه دیگر Hoseinifar و همکاران (۲۰۱۵) افزایش معنی‌دار تعداد‌باکتری‌های‌لاکتیک‌روده را در ماهی‌دم‌شمشیری متعاقب‌مصرف پروبیوتیک لاکتوباسیلوس‌اسیدوفیلوس گزارش‌نمودند. Lash‌وهمکاران (۲۰۰۵) بیان کردند که باکتری‌های لاکتیک با تولید باکتریوسین مانع رشد باکتری‌های مضر گرم مثبت و منفی روده و تقویت باکتری‌های مفید روده از قبیل باکتری‌های لاکتیک و لاکتوباسیل‌ها را موجب می‌شوند. استفاده از ترکیبات اسیدی موجب می‌گردد که با کمک کردن به افزایش جمعیت باکتری‌های مفید در ایجاد کلنی و غلبه بر جمعیت میکروب‌های مضر و ایجاد تعادل میکروبی در دستگاه گوارش اثرات مثبت خود را بر جای می‌گذارند و در نهایت باعث بهبود عملکرد رشدمی‌شوند(Ebrahimi و همکاران، ۲۰۱۷: Alp و همکاران، ۱۹۹۹). نتایج مطالعه Choi و همکاران (۲۰۰۹) نشان داد که استفاده از سرکه چوب (wood vinegar) در جیره غذایی خوک با افزایش قابلیت هضم پذیری مواد غذایی و کاهش جمعیت باکتری‌های مضر روده باعث ارتقا شاخص‌ها و عملکرد رشد در مقایسه با تیمار شاهد شده است. الهدو و همکاران (۱۳۹۵) نشان دادند که افزودن سرکه سیب به آب مصرفی جوجه‌های گوشتی با کاستن pH موجب افزایش جمعیت باکتری‌های لاکتیک می‌گردد که هم‌سو با نتایج حاضر است. نتایج این تحقیق نشان داد که افزودن پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس به سرکه تخمیری انگور قرمز ۳٪ تأثیر به‌سزایی بر فاکتورهای رشد، مورفولوژی روده و فلور میکروبی دستگاه گوارش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان خواهد داشت.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله نویسندگان از آقایان دکتر میلاد عادل و امین آوازه همکاران شرکت آبزی اکسیر کوثر که در انجام تحقیق حاضر مساعدت نمودند تقدیر و تشکر می‌نماید.

منابع

۱. **ابراهیمی، ا.؛ سبحانی‌راد. و زرقی، ح.، ۱۳۹۶** . اثر سطح تریتیکاله و مکمل آنزیمی در جیره رشد بر عملکرد، وزن نسبی مجرای گوارشی، ریخت‌شناسی ژژنوم و چربی خون بلدرچین ژاپنی. مجله بین‌المللی علوم و فناوری کشاورزی. دوره ۱۹، شماره ۳، صفحات ۵۶۹ تا ۵۸۰.

۲. **اسدی، س.؛ احمدی‌نیا، ح.؛ صفری، ا. و جوادمنش، ع.، ۱۳۹۸.** اثر سرکه سیب بر عملکرد رشد در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) مبتلا به بیماری کبد چرب غیرالکلی. کنفرانس ملی ماهی شناسی ایران- لرستان. صفحات ۱۱۳ تا ۱۱۶.

۳. **آزادیخواه، د.؛ نکوی‌فر، ع.؛ امنیت‌طلب، ا.؛ خدادادی، ا.؛ عزیزی، ر. و بهبودی، ن.، ۱۳۹۲** بررسی هیستوپاتولوژی بیماری لیپوئیدوزیس(کبد چرب) در مزارع پرورش قزل‌آلای رنگین‌کمان استان آذربایجان‌غربی. مجله پژوهش‌های بالینی دامپزشکی. دوره ۴، شماره ۱، صفحات ۱۹ تا ۲۷.

۴. **اکرمی، ر.؛ حاجی‌مرادلو، ع.؛ متین‌فر، ع.؛ عابدیان‌کناری، ع. و مازندانی، ر.، ۱۳۸۷.** تأثیر پربیوتیک (perbiotic) اینولین (*inulin*) بر روی شاخص‌های تولید و تراکم باکتریایی دستگاه گوارش فیل‌ماهیان (*Huso huso*) جوان پرورشی. مجله علمی شیلاتایران. دوره ۲، شماره ۲، صفحات ۱۲ تا ۱۷.

۵. **باقری، ط. و غفاری‌فارسانی، ح.، ۱۳۹۵.** اثر پروبیوتیک Lactobacillus acidophilus بر شاخص‌های رشد و کارایی تغذیه، خون‌شناسی و فعالیت آنزیم‌های گوارشی ماهی سورم طلایی *Heros severus* نشریه پژوهش‌های ماهی شناسی کاربردی. دوره ۴، شماره ۲، صفحات ۹۳ تا ۱۰۵.

۶. **جعفری، آ.؛ کمالی، ا. و شمسایی، م.، ۱۳۹۵.** تأثیر افزودن پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در جیره غذایی به‌عنوان مکمل، بر برخی شاخص‌های رشد بچه کپور معمولی. مجله تحقیقات منابع طبیعی تجدید شونده. دوره ۷، شماره ۴، صفحات ۱ تا ۸.

۷. **حیدریان، م.؛ آوخ‌کیسمی، م. و محمدی، غ.، ۱۳۹۱.** بررسی اثربخشی باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس دستگاه گوارش میگو پا سفید غربی روی درصد بقاء و رشد آن در شرایط آزمایشگاهی. زیست‌شناسی دریا. دوره ۴، شماره ۱۵، صفحات ۱ تا ۱۵.

۸. **روستا، ز. و حاجی‌مراد لو، ع.، ۱۳۹۲.** اثرات سطوح مختلف پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس بر فعالیت ضدباکتریایی و برخی‌شاخص‌های ایمنی‌موکوسی ماهی تایگر بارب. مجله بوم‌شناسی آبزیان. دوره ۳، شماره ۲، صفحات ۱۳ تا ۲۰.

۹. **شیخ‌زاده، ن.؛ سلطانی، م.؛ ابراهیم‌زاده‌موسوی، ح.؛ خسروی، ع.؛ باقری، ه.؛ فتحی، ع. و زرگر، ا.، ۱۳۸۸.** مطالعه اثر اسانس اکالیپتوس بر برخی فاکتورهای ایمنی ماهی کپورمعمولی. مجله تحقیقات دامپزشکی. دوره ۶۴، شماره ۱، صفحات ۴۷ تا ۵۴.

۱۰. **متقی، ا.، ۱۳۸۹.** اثر پروبیوتیک، پربیوتیک و ترکیب آن‌ها بر عملکرد رشد، مورفولوژی و فلور باکتریایی روده در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان. پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد. دانشگاه صنعتی اصفهان. ۸۹ صفحه.

۱۱. **وکیلی، ف.؛ فیروزبخش، ف. و یگانه، س.، ۱۳۹۶.** اثر مختلف سطوح لاکتو باسلوس اسیدو فیلوس (*Lactobacillus acidophilus*) بر عملکرد رشد فراسنجه‌های خونی و جمعیت باکتریایی روده ماهی ماهی گوپی (*Poecilia reticulate*). مجله زیست‌شناسی جانوری تجربی. شماره ۲۱، صفحات ۸۱ تا ۸۹.

۱۲. **اله‌دو، پ.؛ زرقی، ح.؛ کرمانشاهی، ح. و عدالتیان‌دوم، م.، ۱۳۹۷.** اثر افزودن سرکه سیب به آب مصرفی بر عملکرد رشد، pH محتویات گوارشی، جمعیت لاکتوباسیلوس ایلئوم و پاسخ ایمنی جوجه‌های گوشتی. پژوهش‌های تولیدات دامی. دوره ۸، شماره ۱۶، صفحات ۵۵ تا ۶۲.

13. **Adel, M.; Abedian Amiri, A.; Zorriehzahra, J.; Nematolahi, A. and Esteban, MÁ., 2015.** Effects of dietary peppermint (*Mentha piperita*) on growth performance, chemical body composition and hematological and immune parameters of fry Caspian white fish (*Rutilus frisii kutum*). Fish Shellfish Immunology. Vol. 45, pp: 841-847. DOI: 10.1016/j.fsi.2015.06.010.

14. **Adel, M.; Caipang, C.M.A. and Dawood, M.A., 2017.** Immunological responses and disease resistance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) juveniles following dietary administration of stinging nettle (*Urtica dioica*). Fish & shellfish immunology. Vol. 71, pp: 230-238. DOI: 10.1016/j.fsi.2017.10.016

15. **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. Vol. 40, No. 14, pp: 1642-1652. Doi:10.1111/j.1365-2109.2009. 02265.x

16. **Alp, M.; Kocabagli, N.; Kahraman, R. and Bostan, K., 1999.** Effects of dietary supplementation with organic acids and zinc bacitracin on ileal microflora, pH and performance in broilers. Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences. Vol. 23, No. 5, pp: 451-456.

17. **AOAC. 2000.** The official methods of analysis (17th ed.). Maryland,USA: Association of Official Analytical Chemists.

18. **Asaduzzaman, M.D.; Iehatab, Sh.; Aktera, S.; Abdul Kader, M.D.; Kumar Ghosha, S.; Nurul Absar Khan, M. and Abol-Munafi, A.B., 2018.** Effects of host gut-derived probiotic bacteria on gut morphology, microbiota composition and volatile short chain fatty acids production of Malaysian Mahseer *Tor tambroides.* Aquaculture Reports. Vol. 9, pp: 53-61. DOI: 10.1016/j.aqrep.2017.12.003

19. **Askarian, F.; Kousha, A.; Salma,, W. and Ringø, E., 2011.** The effect of lactic acid bacteria administration on growth, digestive enzyme activity and gut microbiota in Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) and beluga (*Huso huso*) fry. Aquaculture Nutrition. Vol. 17, pp: 488-497. Doi.org/10.1111/j.1365-2095.2010.00826.x

20. **Bagheri, T.; Hedayati, S.A.; Yavari, V.; Alizade, M. and Farzanfar, A., 2008.** Growth, survival and gut microbial load of Rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) fry given diet supplemented with probiotic during the two months of first feeding. Turkish Journal Fisheries Aquatic Sciences. Vol. 8, pp: 43-48. DOI:104194/1303-2712v14-2-26

21. **Bairagi, A.; Ghosh, K.S.; Sen, S.K. and Ray, A.K., 2002.** Enzyme producing bacterial flora isolated from fish digestive tracts. Aquaculture international. Vol. 10, No. 2, pp:109-121. DOI: 10.1023/A:1021355406412

22. **Beck, B.R.; Kim, D.; Jeon, J.; Lee, S.M.; Ki, H.K.; Kim, O.J.; LEE, J.I.; Suh, B.S.; Do, H.K. and Lee, K.H., 2015.** The effects of combined dietary probiotics *Lactococcus lactis* BFE920 and *Lactobacillus plantarum* FGL0001 on innate immunity and disease resistance in olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). Fish & shellfish immunology. Vol. 42, pp: 177-183. DOI: 10.1016/j.fsi.2014.10.035

23. **Bello, O.S. and Emikpe, B.O., 2012.** The body weight changes and gut merphometry of *Clarias gariepinus* juveniles on feeds supplemented with walnut (*Tetracarpidium conophorum*) leaf and onions (*Allium cepa*) bulb residues. International Journal of Morphology. Vol. 30, No. 1, pp: 253-257.

24. **Brasil Ministério da Agricultura, Pecuária e Abaste cimento. 2012.** Instrução Normativa n. 6, de 03 de abril de 2012. Aprova o regulamento técnico para fixação dos padrões de identidade e qualidade para fermentados acéticos. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília.

25. **Buttris, J., 1997.** Nutritional properties of fermented milk products. International Journal of Dairy Technology. Vol. 50, pp: 21-27. DOI:10.1111/j.1471-0307.1997.tb01731.x

26. **Choi, J.Y.; Shinde, P.L.; Kwon, I.K.; Song, Y.H. and Chae, B.J., 2009.** Effect of wood vinegar on the performance, nutrient digestibility and intestinal microflora in weanling pigs. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences. Vol. 22, No. 2, pp: 267-274. DOI: 10.5713/ajas.2009.80355

27. **El-Rahim, M.I., 2006.** Using some of unusual waste vegetable oils as fat supplements in fat sources on nutrient digestibility, serum lipids and growth performance in weanling pigs. Animal Science. Vol. 70, pp: 3473-3482.

28. **Gawlicka, A.; Herold, M.A.; Barrows, F.T.; De La Noue, J. and Hung, S.S.O., 2002.** Effects of dietary lipids on growth, fatty acid composition, intestinal absorption and hepatic storage in white sturgeon (*Acipenser transmontanus*) larvae. Journal of Applied Ichthyology. Vol. 18, pp: 673-681. DOI: 10.1046/j.1439-0426.2002.00371.x

29. **Ghosh, S.; Van Heel, D. and Playford, R.J., 2004.** Probiotics in inflammatory bowel disease: is it all gut flora modulation? Gut. Vol. 53, No. 5, pp: 620-622. http://dx.doi.org/10.1136/gut.2003.034249

30. **Gildberg, A.; Mikkelsen, H.; Sandaker, E. and Ringø, E., 1997.** Probiotic effect of lactic acid bacteria in the feed on growth and survival of fry of Atlantic cod (*Gadus morhua*). Hydrobiologia. Vol. 352, No. 1-3, pp: 279-285. DOI: 10.1023/A:1003052111938

31. **Hevory, E.M.; Espe, M.; Waagbo, R.; Sandness, K.; Rund, M. and Hemre, G.I., 2005.** Nutrition utilization in Atlantic salmon fed increased level of fish protein hydroly sate during a period of fast growth. Aquaculture nutrition. Vol.11,pp:301-313.DOI:10.1111/j.1365-2095.2005.00357.x

32. **Hoseinifar, S.H.; Mirvaghefi, A.; Amoozegar, M.A.; Sharifian, M. and Esteban, M.Á., 2015.** Modulation of innate immune response, mucosal parameters and disease resistance in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) upon synbiotic feeding. Fish & shellfish immunology. Vol. 45, No. 1, pp: 27-32. http://dx.doi.org/10.1016/j.fsi.2015.03.029

33. **Hoseinifar, S.H.; Sun, Y.Z.; Wang, A. and Zhou, Z., 2018.** Probiotics as means of diseases control in aquaculture, a review of current knowledge & future perspectives. Frontiers microbiology.Vol. 9,pp:2429.DOI:10.3389/fmicb.2018.02429

34. **Hoseinifar, S.H.; Roosta, Z.; Hajimoradloo, A. and Vakili, F., 2015.** The effects of *Lactobacillus acidophilus* as feed supplement on skin mucosal immune parameters, intestinal microbiota, stress resistance and growth performance of black swordtail (*Xiphophorus helleri*). Fish and Shellfish Immunology. Vol. 42, No. 2, pp: 533-538. DOI: 10.1016/j.fsi.2014.12.003

35. **Jahangiri, L. and Esteban, M.Á., 2018.** Administration of probiotics in the water in finfish aquaculture systems: a review. Fishes. Vol. 3, No. 3, pp: 33. DOI: 10.3390/fishes30 30033

36. **Jatobå, A.; Vieira, F.D.N.; Buglione-Neto, C.C.; Mourio, J.L.P.; Silva, B.C.; Seiftter, W.Q. and Andreatta, E.R., 2011.** Diet supplemented with probiotic for Nile tilapia in polyculture system with marine shrimp. Fish Physiology and Biochemistry. Vol. 37, No. 4, pp: 725-732. DOI: 10.1007/s10695-011-9472-5.

37. **Kestemont, P.; Xueliang, X.; Hamza, N.; Maboudou, J. and Toko, I.I., 2007.** Effect of weaning age and diet on pike perch larviculture. Aquaculture. Vol. 264, pp: 197-204. Doi:10.1016/j.aquaculture.2006.12.034

38. **Kim, D.H.and Austin, B., 2006** Innate immune responses in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) induced by probiotics. Fish Shellfish Immunol. Vol. 21, pp: 513-524. DOI: 10.1016/j.fsi.2006.02.007

39. **Lee, S.H.; Park, G.J. and Bai, S.C., 2008.** Effects of dietary wood vinegar supplementation on growth and immune responses of juvenile olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. Korean Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. Vol. 41, No. 4, pp: 248-252. Doi.org/10.5657/kfas.2008.41.4.248

40. **Luo, G.; Xu, J.; Teng, Y.; Ding, C. and Yan, B., 2010.** Effects of dietary lipid levels on the growth, digestive enzyme, feed utilization and fatty acid composition of Japanese sea bass (*Lateolabrax japonicus* L.) reared in freshwater. Aquaculture research. Vol. 41, No. 2, pp: 210-219. DOI: 10.1111/j.1365-2109.2009.02319.x

41. **Mahious, A.S.; Gatesoupe, F.J.; Hervi, M.; Metailler, R. and Ollevier, F., 2005.** Effect of dietary inulin and oligosaccharides as prebiotics for weaning turbot (*Psetta maxima*). Aquaculture Intternational. Vol. 14, pp: 219-229. DOI: 10.1007/s10499-005-9003-4

42. **Merrifield, D.; Dimitroglou, A.; Bradley, G.; Baker, R. and Davies, S., 2010.** Probiotic applications for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) effects on growth performance, feed utilization, intestinal microbiota and related health criteria. Aquaculture Nutrition. Vol. 16, pp: 504-510. DOI: 10.1111/j.1365-2095.2009.00689.x

43. **Nava, G.M.; Attene-Ramos, M.S.; Gaskins, H.R. and Richards, J.D., 2009.** Molecular analysis of microbial community structure in the chicken ileum following organic acid supplementation. Veterinary microbiology. Vol. 137, No. 3-4, pp: 345-353. DOI: 10.1016/j.vetmic.2009.01.037

44. **Nayak, S., 2010.** Probiotics and immunity: a fish perspective. Fish & shellfish immunology. Vol. 29, pp: 2-14.

45. **Noveirian, H.A. and Nasrollahzadeh, A., 2012.** The effects of different levels of biogen probiotic additives on growth indices and body composition of juvenile common carp (*Cyprinus carpio* L.). Caspian Journal of Environmental Sciences. Vol. 10, No. 1, pp: 115-121.

46. **Olad, S.; Khodabande, S.; Abedian, A. and Mah-moodi, N.A., 2010** Investigation on Salmo trut-ta caspius intestinal variations on different levels of dietary nucleotide. Journal of marine science and Technology. Vol. 10, pp: 37-49.

47. **Olsen, R.E.; Myklebust, R.; Kryvi, H.; Mayhew, T.M. and Ringø, E., 2001.** Damaging effect of dietary inulin on intestinal enterocytes in Arctic charr. Aquaculture research. Vol.32,pp:931-934.DOI:10.1046/j.1365.2109.2001.00626. x

48. **Piccolo, G.; Bovera, F.; Lombardi, P.; Mastellone, V.; Nizza, S.; Di Meo, C. and Nizza, A., 2015.** Effect of *Lactobacillus plantarum* on growth performance and hematological traits of European sea bass. Aquaculture international. Vol. 23, No. 4, pp: 1025-1032. DOI 10.1007/s10499-014-9861-8

49. **Pirarat, N.; Pinpimai, K.; Endo, M.; Katagiri, T.; Ponpornpisit, A.; Chansue, N. and Maita, M., 2011.** Modulation of intestinal morphology and immunity in nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) by Lactobacillus rhamnosus GG. Research in Veterinary Science. Vol. 91, pp: 92-97. DOI: 10.1016/j.rvsc.2011.02.014

50. **Pourmozaffar, S.; Hajimoradloo, A.; Paknejad, H. and Rameshi, H., 2019.** Effect of dietary supplementation with apple cider vinegar and propionic acid on hemolymph chemistry, intestinal microbiota and histological structure of hepatopancreas in white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. Fish and shellfish immunology. Vol. 86, pp: 900-905. DOI: 10.1016/j.fsi.2018.12.019

51. **Qinghui, A.; Kangsen, M.; Chunxiao, Z.; Qingyuan, D.; Beiping, T. and Zhiguo, L., 2004.** Effect of dietary vitamin C on growth immune response of Japanese Seabass (*Lateolabrax japonicas*). Aquaculture. Vol. 242, pp: 489-500. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2004.08.016

52. **Quinn, P.J.; Carter, M.E.; Markey, B.K. and Carter, G.R. 1994.** Clinical Veterinary Microbiology. Wolfe publication British Library.

53. **Rainieri, S. and Zambonelli, C., 2009.** Organisms associated with acetic acid bacteria in Vinegar Production. Vinegars of the World. Vol. 2, pp: 73-95. DOI: 10.1007/978-88-470-0866-3_5

54. **Reda, R.M.; Mahmoud, R.; Selim, K.M. and El-Araby, I.E., 2016.** Effects of dietary acidifiers on growth, hematology, immune response and disease resistance of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. Fish & shellfish immunology. Vol. 50, pp: 255-262. DOI: 10.1016/j.fsi.2016.01.040

55. **Safari, R.; Hoseinifar, S.H.; Nejadmoghadam, S. and Khalili, M., 2017.** Apple cider vinegar boosted immunomodulatory and health promoting effects of *Lactobacillus casei* in common carp (*Cyprinus carpio*). Fish

& shellfish immunology. Vol. 67, pp: 441-448. DOI: 10.1016/j.fsi.2017.06.017

56. **Solieri, L. and Giudici, P., 2009.** Vinegars of the world. In: Solieri, L. and Giudici, P., (Eds.), Vinegars of the world. Springer-Verlag, Milan, Italy. pp: 1-16. DOI: 10.1007/97888-470-0866-3_1

57. **Solieri, L. and Giudici, P., 2008.** Yeasts associated to traditional balsamic vinegar: ecological and tech-nological features. International Journal of Food Microbiology. Vol. 125, pp: 36-45. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2007.06.022

58. **Suzer, C.; Çoban, D.; Kamaci, H.O.; Saka, Ş.; Firat, K.; Otgucuoğlu, Ö. and Küçüksari, H., 2008.** *Lactobacillus* spp. bacteria as probiotics in gilthead sea bream (*Sparus aurata*, L.) larvae: effects on growth performance and digestive enzyme activities. Aquaculture. Vol. 280, No. 1-4, pp: 140-145. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2008.04.020

59. **Tahmasebi-Kohyani, A.; Keyvanshokooh, S.; Nematollahi, A.; Mahmoudi, N. and Pasha-Zanoosi, H., 2012.** Effects of dietary nucleotides supplementation on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) performance and acute stress response. Fish Physiology and Biochemistry. Vol. 38, No. 2, pp: 431-440. DOI: 10.1007/s10695-011-9524-x

60. **Vanin, A.M.; Salvador, M.; Ricalde, S.R. and Siviero, J., 2012.** Atividade antioxidante e perfil fenólico de diferentes tipos de vinagres comercializados na região sul do Brasil. Alimentos e Nutrição. Vol. 23, No. 2, pp: 251-257.

61. **Wootan, R.J., 1990.** Ecology of teleost fish. Chapman & Hall, London.

62. **Yoo, J.H.; Cheol, J.S. and Jeong, G.S., 2005.** Effect of Dietary Charcoal and Wood Vinegar Mixture (CV82) on Body Composition of Olive Flounder *Paralichthys alivaceus*. Journal of World Aquaculture Society. Vol. 6, No. 2, pp: 203-208. DOI: 10.1111/j.1749-7345.2005.tb00386.x