

مقاله پژوهشی

تاثیر بوتیرات منوگلیسیرید و پروبیوتیک *Bacillus* جیره غذایی بر رشد و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی ماهی تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*)

رضا باقرپور^۱، غلامرضا بادزهره^{۲*}، رضا داوودی^۲، احمد قاسمی^۳

DOI: 10.22124/japb.2022.22091.1461

تاریخ پذیرش: مهر ۱۴۰۱

تاریخ دریافت: فروردین ۱۴۰۱

چکیده

در این مطالعه تاثیر غنی‌سازی جیره غذایی با بوتیرات منوگلیسیرید و پروبیوتیک تجاری (*Bacillus subtilis* و *Bacillus licheniformis*) بر رشد و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی ماهی تیلاپیای نیل مورد بررسی قرار گرفت. برای این منظور، ماهیان در چهار تیمار آزمایشی (با سه تکرار) شامل تیمار شاهد، تیمار ۱۰ گرم در کیلوگرم بوتیرات منوگلیسیرید (AB1)، تیمار ۵ گرم در کیلوگرم پروبیوتیک *Bacillus* (AB2) و تیمار ۱۰ گرم در کیلوگرم بوتیرات منوگلیسیرید و ۵ گرم در کیلوگرم پروبیوتیک *Bacillus* (AB3) توزیع شدند. ۱۴۴ قطعه بچه ماهی با میانگین وزن $12/06 \pm 0/22$ گرم به مدت ۸ هفته با جیره‌های آزمایشی تغذیه شدند. این مطالعه نشان داد افزودن بوتیرات منوگلیسیرید و پروبیوتیک *Bacillus* در جیره غذایی ماهی تیلاپیای نیل باعث بهبود شاخص‌های وزن نهایی، میانگین افزایش وزن روزانه، کارایی پروتئین و ضریب تبدیل غذایی نسبت به شاهد می‌شود ($P < 0/05$). در تمامی تیمارهای مورد مطالعه فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، گلوکاتایون پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز بالاتر از تیمار شاهد بود ($P < 0/05$). بالاترین میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز هم در تیمار AB3 ثبت شد. مطالعه حاضر نشان داد استفاده از افزودنی بوتیرات منوگلیسیرید و پروبیوتیک *Bacillus* به صورت جداگانه و همزمان تاثیر مطلوب و معنی‌داری بر عملکرد رشد و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کبد و سرم ماهی تیلاپیای نیل دارد.

واژگان کلیدی: اسیدهای آلی، *Bacillus*، رشد، تیلاپیای نیل.

۱- کارشناس ارشد تکثیر و پرورش آبزیان، گروه شیلات، دانشکده علوم و فناوری نانو و زیستی، دانشگاه خلیج فارس، بوشهر، ایران.

۲- استادیار گروه شیلات، دانشکده علوم و فناوری نانو و زیستی، دانشگاه خلیج فارس، بوشهر، ایران.

۳- استادیار گروه شیلات و زیست‌شناسی، پژوهشکده خلیج فارس، دانشگاه خلیج فارس، بوشهر، ایران.

* نویسنده مسئول: badzohre@pgu.ac.ir

مقدمه

همچون پروبیوتیک، پری‌بیوتیک، اسیدهای آلی، عصاره‌های گیاهی و غیره به عنوان جایگزین آنتی‌بیوتیک‌ها استفاده می‌شود (Wang et al., 2008; Abu Elala and Ragaa, 2015; Abdel-Latif et al., 2020).

پروبیوتیک به میکروارگانیسم‌های زنده‌ای اطلاق می‌شود که به غذای یک موجود زنده افزوده شود تا با ایجاد تعادل میکروبی در دستگاه گوارش میزبان اثرات مفیدی برای آن ایجاد کند (Fuller, 1989). پروبیوتیک‌ها با تولید مواد ضد میکروبی، رقابت با باکتری‌های بیماری‌زا برای اتصال به روده یا همان رقابت مکانی و رقابت غذایی با عوامل بیماری‌زا و همچنین بهبود و افزایش فعالیت آنزیم‌های دستگاه گوارش و با بهبود هضم و جذب غذا به میزبان یاری می‌رسانند (Kesarcodi-Watson et al., 2008). از ویژگی‌های مهم یک پروبیوتیک خوب برای انتخاب در آبی‌پروری می‌توان به بیماری‌زا نبودن آن، تحمل شرایط اسیدی و یا قلیایی سیستم گوارش و ایجاد اثرات مفید در وضعیت سلامتی میزبان اشاره کرد (Mohapatra et al., 2013). باکتری‌های جنس *Bacillus* گروه مهمی از پروبیوتیک‌های مفید در آبی‌پروری هستند که به دلیل عدم

آبی‌پروری و صید دو راهکار مهم برای تولید و تامین آبزیان در دنیا است. در سال‌های اخیر علاوه بر افزایش تولید جهانی آبزیان در این دو بخش و دستیابی به تولید ۱۷۲/۶ میلیون تن، سهم آبی‌پروری نسبت به کل تولید آبزیان بیشترین افزایش (۴۶/۶ درصد) را در ۳۷ سال اخیر تجربه کرده است (FAO, 2017). این موضوع نشان از گسترش روزافزون صنعت آبی‌پروری در جهان دارد که به بهبود امنیت غذایی مردم دنیا و حفظ ذخایر آبزیان کمک زیادی خواهد کرد.

در مدیریت آبی‌پروری توجه به افزایش تولید و حفظ سلامتی ماهی نقش بسیار مهمی در سودآوری و جلوگیری از ضررهای اقتصادی مزارع آبزیان دارد. برای کمک به حفظ سلامتی آبزیان و مقابله با بیماری‌ها یکی از عمومی‌ترین ترکیبات مورد استفاده در آبی‌پروری آنتی‌بیوتیک‌ها هستند. متأسفانه مصرف این مواد در مزارع پرورش آبزیان ضمن به خطر انداختن سلامتی انسان‌ها موجب افزایش مقاومت باکتریایی شده و به این خاطر استفاده از این ترکیبات محدود و یا ممنوع شده است (Liu et al., 2012; Hoseinifar et al., 2017). امروزه از افزودنی‌های غذایی دوستدار طبیعت

بروز بیماری در موجودات آبی از سال‌های دور مورد توجه بوده‌اند (Brunt et al., 2007). آنها ساپروفیت، گرم مثبت و غیربیماری‌زا هستند و اسپور آنها در آب، هوا، خاک و رسوبات یافت می‌شود (Abriouel et al., 2011). *Bacillus* ها قادر به تحمل شرایط ناپایدار محیطی همچون دماهای بالا و شرایط خشکی هستند (Tseng et al., 2009). باکتری‌های جنس *Bacillus* جزو فلور طبیعی دستگاه گوارش آبزیان است و به دلیل تاثیر مفید روی رشد، ایمنی و مقاومت در برابر بیماری‌ها، افزودنی غذایی بسیار خوبی در جیره غذایی آبزیان محسوب می‌شود (Abarike et al., 2019; Soltani et al., 2018). آنها در دستگاه گوارش آبزیان قدرت تحمل شرایط اسیدی را دارند و قدرت بازماندگی خود را حفظ می‌کنند (Lee et al., 2013). به دلیل ایجاد فرم‌های اسپوری، قدرت بازماندگی آنها در فرآیند پلت‌سازی غذای آبزیان نیز زیاد است (El-Haroun et al., 2006). آنها با تغییر و اصلاح ترکیب باکتریایی دستگاه گوارش اثرات مفیدی در سلامتی آبزیان بجا می‌گذارند (Olmos Soto, 2017). باکتری‌های *Bacillus subtilis* و *Bacillus licheniformis* از گونه‌های بسیار مهم جنس *Bacillus* هستند و مطالعات انجام شده نشان می‌دهد که افزودن این گروه از پروبیوتیک‌ها در رژیم غذایی آبزیان باعث افزایش رشد در تیلاپای نیل (Oreochromis niloticus) (El-Haroun et al., 2006; Tang et al., 2017)، بهبود شاخص‌های ایمنی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) (کامگار و همکاران، ۱۳۹۱) و مقاومت در برابر بیماری در تیلاپای نیل (Abarike et al., 2018) می‌شود.

اسیدهای آلی گروه دیگری از افزودنی‌های غذایی هستند که در سال‌های اخیر مورد توجه پژوهشگران در حوزه آبی‌پروری قرار گرفته است (Ng and Koh, 2017). این ترکیبات به دلیل ایجاد خاصیت اسیدی، اثرات ضد میکروبی از خود نشان می‌دهند و در کنترل عوامل بیماری‌زا در دستگاه گوارش دام و آبزیان اثر گذارند (Jahanian and Golshadi, 2015; Luckstadt, 2008). اسیدهای آلی به صورت ترکیب اسیدی یا به شکل نمک‌های معدنی و اخیراً به صورت فرم گلیسیرید در جیره غذایی آبزیان قابل استفاده است (Bedford and Gong, 2018). مطالعات انجام شده در جیره غذایی آبزیان نشان دهنده آن است که این ترکیبات می‌توانند باعث بهبود هضم و جذب فسفر و کلسیم در توربوت (*Scophthalmus*

از گونه‌های بسیار پرطرفدار برای پرورش است (Abd El-Naby et al., 2019). تا کنون روی تاثیر متقابل بوتیرات منوگلیسیرید و باکتری‌های *Bacillus subtilis* و *Bacillus licheniformis* در ماهی تیلاپپای نیل مطالعه‌ای انجام نشده است. از این رو، هدف از این مطالعه بررسی تاثیر منفرد و همزمان بوتیرات منوگلیسیرید و پروبیوتیک‌های *B. subtilis* و *B. licheniformis* بر شاخص‌های رشد، تغذیه و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی ماهی تیلاپپای نیل بود.

مواد و روش‌ها

تهیه و نگهداری ماهیان

در این آزمایش ۱۴۴ قطعه بچه ماهی تیلاپپای نیل (*Oreochromis niloticus*) با میانگین وزن $12/06 \pm 0/22$ گرم از مرکز تحقیقات ماهیان شور یزد تهیه شد. قبل از شروع آزمایش برای سازگاری با شرایط پرورش، ماهیان به مدت دو هفته با استفاده از غذای تجاری (بیضا، ایران) تغذیه شدند و سپس در یک طرح کاملا تصادفی در قالب ۴ تیمار و سه تکرار بین ۱۲ آکواریوم شیشه‌ای توزیع شدند. تراکم ذخیره‌سازی ۱۲ قطعه ماهی سالم در هر آکواریوم ۸۵ لیتری بود. حجم آب آکواریوم در

(Dai et al., 2018) *maximus*، بهبود ضریب تبدیل غذایی در ماهی تیلاپپای نیل (Jesus et al., 2019)، افزایش رشد و بهبود جمعیت باکتریایی روده در ماهی باس دریایی اروپایی (*Dicentrarchus labrax*) (Franke et al., 2017) و تیلاپپای نیل (Abu Elala and Ragaa, 2015) و افزایش فعالیت آنزیمی در ماهی شوریده قرمز (*Sciaenops ocellatus*) (Castillo et al., 2014) شوند. اسید بوتیریک یکی از اسیدهای آلی بسیار مفید است که فرم‌های مختلف آن تاثیر بسیار مطلوبی روی دستگاه گوارش انسان و دام‌ها دارد (Bedford and Gong, 2018; Abdel-Latif et al., 2020). کاربرد اسید بوتیریک در جیره غذایی آبزیان نشان می‌دهد که این ترکیب در تقویت سیستم ایمنی، افزایش رشد، افزایش فعالیت آنزیمی، بهبود عملکرد رشد آبزیان مفید است (Volatiana et al., 2020).

ماهی تیلاپپای نیل یکی از گونه‌های مهم تجارتي در دنیا است که بعد از خانواده کپورماهیان بیشترین تولید را به خود اختصاص داده است (FAO, 2017). تیلاپپای نیل در سال‌های اخیر به صنعت آبی‌پروری کشور ایران نیز معرفی شده و به دلیل رشد خوب مقاومت به بیماری و تحمل شرایط نامطلوب محیطی یکی

آماده‌سازی، ساخت جیره‌های غذایی آزمایشی و تیمار بندی

در این مطالعه از جیره پایه تجاری (بیضا، ایران) برای تغذیه ماهی تیلاپای نیل استفاده شد (جدول ۱) و برای انجام آزمایش ماهیان در چهار تیمار با سه تکرار شامل تیمار شاهد (جیره پایه بدون افزودن بوتیرات منوگلیسیرید و پروبیوتیک)، تیمار غنی‌سازی شده با ۱۰ گرم بوتیرات منوگلیسیرید به ازای هر کیلوگرم جیره غذایی (AB1)، تیمار غنی‌سازی شده با ۵ گرم پروبیوتیک به ازای هر کیلوگرم جیره غذایی (AB2) و تیمار غنی‌سازی شده با ۱۰ گرم بوتیرات منوگلیسیرید به همراه ۵ گرم پروبیوتیک به ازای هر کیلوگرم جیره غذایی (AB3) به مدت ۸ هفته تغذیه شدند. افزودنی بوتیرات منوگلیسیرید (با نام تجاری C4®، Silco، آمریکا) دارای ساختار گلیسریدی بود. برای غنی‌سازی جیره مورد نظر ابتدا بوتیرات منوگلیسیرید در ۱۰۰ میلی‌لیتر کلروفورم حل و سپس به روی تیمارها اسپری شد (Zarei et al., 2021). برای اطمینان از خارج شدن کلروفورم از غذاهای تجاری، تمامی جیره‌ها به مدت ۸ ساعت در معرض هوا قرار گرفتند (Najdegerami et al., 2012).

مدت ۵۶ روز آزمایش ۷۵ لیتر بود. هر مخزن برای هوادهی دارای یک سنگ هواده به صورت جداگانه و یک بخاری برقی اکواریوم برای حفظ دمای ثابت در طول دوره پرورش بود. اکواریوم‌ها در محیط سرپوشیده قرار داشتند و چیدمان آنها به صورت کاملاً تصادفی انجام شد. از دوره نوری طبیعی با ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی در این مطالعه استفاده شد. در تمام طول دوره پرورش آب شیرین مورد استفاده از یک چاه نیمه عمیق تامین شد. شاخص‌های کیفی آب شامل درجه حرارت، هدایت الکتریکی، pH و اکسیژن محلول به صورت روزانه اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری دما با دماسنج جیوه‌ای، pH آب توسط pH متر (HI 81143، رومانی) اکسیژن محلول توسط اکسیژن‌متر (HI 9142، Hanna، رومانی) به صورت روزانه و هدایت الکتریکی نیز با دستگاه EC متر (WTW، Cond330i)، آلمان) اندازه‌گیری شدند. در طول دوره آزمایش میانگین دما ۲۸ درجه سانتی‌گراد، میانگین هدایت الکتریکی ۵۰۰۰ میکروموس بر سانتی‌متر، pH ۷-۸/۵ و اکسیژن محلول آب ۶/۵ میلی‌گرم در لیتر بود.

زیست‌سنجی و جمع‌آوری نمونه‌های خون در پایان دوره برای زیست‌سنجی و جمع‌آوری نمونه‌های خون، ابتدا غذادهی به ماهیان به مدت ۲۴ ساعت قطع شد. سپس ماهیان با محلول گل میخک (۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر) بیهوش شدند. ماهیان به صورت انفرادی توزین (با دقت ۰/۰۱ گرم) و طول نهایی (با دقت ۱ میلی‌متر) اندازه‌گیری شد. برای خونگیری نیز سه عدد ماهی از هر تیمار انتخاب شد. خونگیری از سیاهرگ دمی بچه ماهیان با استفاده از سرنگ انسولین صورت گرفت. سپس نمونه‌های خون در تیوب‌های اپندروف غیرهپارینه ذخیره شدند.

ارزیابی عملکرد شاخص‌های رشد

شاخص‌های زیستی و تغذیه‌ای از جمله افزایش وزن نهایی (Final Weight Gain: FWG)، افزایش طول نهایی (Final Length: FLG)، افزایش وزن روزانه (Gain: FLG Daily)، ضریب تبدیل غذایی (Weight Gain: DWG)، کارایی پروتئین (Protein Efficiency Ratio: PER) و درصد بقا (Survival Rate: SR) با استفاده از رابطه‌های ۱ تا ۶ محاسبه شد. (Hassaan et al., 2018).

پروبیوتیک تجارتهی دی‌پرو شامل مخلوط دو باکتری پروبیوتیک *Bacillus subtilis* و *Bacillus licheniformis* (تک ژن، ایران) با غلظت ۵ گرم در هر کیلوگرم جیره ابتدا در روغن حل و سپس بر روی غذای تجارتهی اسپری شد (Darafsh et al., 2020). برای جلوگیری از هدر رفت و خارج شدن افزودنی‌های استفاده شده در جیره‌های غذایی تمامی آنها، از جمله جیره شاهد، با ژلاتین (۳ درصد) پوشش‌دار شدند. میزان غذادهی به ماهیان ۳ درصد وزن توده زنده بود که در دو نوبت صبح و بعد از ظهر به ماهیان خورانده شد. غذای خورده نشده در حدود ۱ ساعت پس از غذادهی برای محاسبه شاخص‌های تغذیه و کارایی جیره غذایی از کف مخازن جمع‌آوری و پس از خشک کردن در آون با دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت، توزین (توسط ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم) شد. میزان تعویض روزانه آب در مخازن نیز ۳۰ درصد بود. زیست‌سنجی ماهیان در ابتدا و انتهای دوره پرورش برای تعیین شاخص‌های رشد و تغذیه و بررسی بازماندگی انجام شد. در طول مدت آزمایش ماهیان روزانه نظارت شدند و رفتار شنای آنها و وضعیت ظاهری (پوسیدگی باله، خونریزی و غیره) بررسی و تلفات در صورت وقوع ثبت شد.

رابطه ۱:

$$FWG (g) = W_f - W_i$$

W_i : وزن اولیه (گرم)؛ W_f : وزن نهایی (گرم).

رابطه ۲:

$$FLG (cm) = L_f - L_i$$

L_i : طول اولیه (سانتی‌متر)؛ L_f : طول نهایی (سانتی‌متر).

رابطه ۳:

$$DWG (g/day) = (W_f - W_i) / t$$

W_i : وزن اولیه (گرم)؛ W_f : وزن نهایی (گرم)؛ t : طول مدت پرورش (روز).

رابطه ۴:

$$FCR = F / (WG)$$

F : غذای خورده شده (گرم)؛ WG : افزایش وزن بدن (گرم).

رابطه ۵:

$$PER (\%) = (WG / P) \times 100$$

WG : افزایش وزن ماهی (گرم)؛ P : پروتئین مصرفی (گرم).

رابطه ۶:

$$SR (\%) = (N_i / N_f) \times 100$$

N_i : تعداد ماهیان در ابتدای؛ N_f : تعداد ماهیان در انتهای آزمایش.

تهیه سرم خون

برای جدا کردن سرم، نمونه‌های خون به مدت ۱۵ دقیقه با ۳۰۰۰ دور در دقیقه و

دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ (514R Cambi، کره جنوبی) شدند. سپس سرم توسط سمپلر جدا شده، به ویال‌های ۱/۵ میلی‌لیتری منتقل و در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (He et al., 2013).

تهیه عصاره کبدی

در پایان آزمایش پس از بیهوشی ماهیان کبد آنها جدا و پس از شستشو با آب سرد تا زمان آزمایش‌ها در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. برای تهیه عصاره کبدی ابتدا برای همگن کردن نمونه‌ها، ۱ گرم از نمونه‌های بافت کبد از هر تکرار توسط ترازو وزن و داخل یک فالکن قرار داده شد و به آن بافر فسفات سرد به نسبت ۱ به ۱۰ اضافه شد. سپس توسط دستگاه هموژنایزر (Wiggen, 500D، آلمان) عمل همگن‌سازی در مجاورت یخ و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد انجام شد. برای جداسازی فاز مایع از باقی مانده‌ها از سانتریفوژ با دور ۱۳۰۰۰ در دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد استفاده شد. بعد از عمل سانتریفوژ، مایع رویی توسط سمپلر جدا و تا زمان سنجش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (Abd El-Gawad et al., 2016; Peixoto et al., 2016).

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و گلوکز

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز (CAT)، گلوتاتیون پراکسیداز (GPX) و سوپراکسید دیسموتاز (SOD) کبد و سرم در این مطالعه اندازه‌گیری شد. سنجش آنزیم کاتالاز با روش Aebi (۱۹۸۴) انجام گرفت. به طور خلاصه، میزان ۵ میکرولیتر از عصاره بافت کبد در کووت دستگاه اسپکتروفوتومتر حاوی ۱/۹۹۵ میلی‌لیتر محلول ۵۰ میلی‌مولار بافر فسفات (۷ pH) ریخته شد. سپس ۱ میلی‌لیتر محلول تازه ۳۰ میلی‌مولار H_2O_2 به آن افزوده شد. آنزیم کاتالاز موجود در نمونه با تجزیه پراکسید هیدروژن به آب و اکسیژن باعث کاهش مقدار آن شد. تغییرات جذب پراکسید هیدروژن (کاهش مقدار پراکسید هیدروژن) در واحد زمان با استفاده از اسپکتروفوتومتر در طول موج ۲۴۰ نانومتر در مدت یک دقیقه مورد سنجش قرار گرفت. هر واحد فعالیت آنزیمی بر اساس میزان آنزیم مورد نیاز برای تجزیه هر میکرومول پراکسید هیدروژن در دقیقه و بر اساس واحد در میلی‌گرم پروتئین ثبت شد. مقدار گلوتاتیون پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز با استفاده از کیت تشخیصی (ZellBio، آلمان) طبق دستورالعمل شرکت سازنده و بر اساس روش Kuthan و

همکاران (۱۹۸۶) اندازه‌گیری شد. گلوتاتیون پراکسیداز به همراه گلوتاتیون بر روی ترکیبات پراکسید اثر کرده و منجر به تولید ترکیب گلوتاتیون دی‌سولفید می‌شود. فرایند بازگشت این واکنش و تولید مجدد گلوتاتیون در حضور آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز، گلوتاتیون ردوکتاز، NADPH و معرف کومن هیدروپراکسید انجام می‌گیرد. در سنجش گلوتاتیون پراکسیداز میزان مصرف NADPH در واکنش به عنوان شاخص تعیین کمی آن در طول موج ۳۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. بر اساس سنجش انجام شده هر واحد گلوتاتیون پراکسیداز معادل مقدار آنزیم مورد نیاز برای مصرف یک میکرومول NADPH در مدت یک دقیقه بود. همچنین یک واحد فعالیت آنزیمی سوپراکسید دیسموتاز نیز به صورت مقدار آنزیم مورد نیاز برای مهار ۵۰ درصد واکنش اتواکسیداسیون پیروگالول در مدت یک دقیقه ثبت شد. فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سرم نیز با استفاده از کیت تجاری (Ransod انگلستان) برحسب واحد در میلی‌لیتر اندازه‌گیری شد.

تجزیه و تحلیل آماری

داده‌های به دست آمده از آزمایش‌های مختلف با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲

است که بین تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P > 0/05$). بیشترین کارایی پروتئین در تیمار AB3 با مقدار ۲/۹۸ درصد ثبت شد. کمترین میزان کارایی جذب پروتئین نیز در تیمار شاهد با ۱/۳۲ درصد مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری با تیمارهای دیگر داشت ($P < 0/05$).

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کبد و سرم

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کبد و مقدار گلوکز در ماهی تیلاپیا در جدول ۲ ارائه شده است. کمترین میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و گلوکاتیون پراکسیداز در تیمار شاهد ثبت شد که با تیمارهای دیگر اختلاف معنی‌داری داشت ($P < 0/05$). نتایج این مطالعه نشان داد که افزودن پروبیوتیک و بوتیرات منوگلیسرید تأثیر معنی‌داری بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی ماهی تیلاپای نیل داشت ($P < 0/05$). بالاترین میزان فعالیت کاتالاز در تیمار مخلوط بوتیرات منوگلیسرید و پروبیوتیک *Bacillus* و بیشترین فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی گلوکاتیون پراکسیداز در تیمار پروبیوتیک *Bacillus* ثبت شد. این در حالی است که بین تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P > 0/05$).

پردازش شدند. نتایج به صورت میانگین سه تکرار به همراه خطای استاندارد گزارش شدند. نرمال بودن داده‌ها توسط آزمون Kolmogorov-Smirnov بررسی شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) و اختلاف بین میانگین‌ها به وسیله پس‌آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد ($P < 0/05$) استفاده شد.

نتایج

عملکرد رشد

نتایج بررسی شاخص‌های رشد در جدول ۱ نشان داده شده است. میزان افزایش وزن نهایی، ضریب تبدیل غذایی، افزایش وزن روزانه، کارایی پروتئین در تیمارهای آزمایشی نسبت به شاهد بهتر بود. بیشترین افزایش وزن نهایی در تیمار AB3 ثبت شد. این در حالی بود که بین تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P > 0/05$). کمترین میزان افزایش وزن روزانه در تیمار شاهد با مقدار ۰/۱۹ گرم در روز ثبت شد که اختلاف معنی‌داری با تیمارهای دیگر داشت ($P < 0/05$). بالاترین ضریب تبدیل غذایی در تیمار شاهد و کمترین ضریب تبدیل غذایی در تیمار AB1 ثبت شد. این در حالی

جدول ۱: شاخص‌های رشد تیلایپای نیل تغذیه شده با سطوح مختلف بوتیرات منوگلیسیرید و *Bacillus* های پروبیوتیکی در مدت ۸ هفته (میانگین \pm خطای استاندارد، $n=3$)

شاخص‌ها	تیمارها			شاهد
	AB3	AB2	AB1	
(g) FWG	۳۰/۰۷ \pm ۰/۹۶ ^b	۲۹/۰۸ \pm ۱/۰۱ ^b	۲۸/۴۵ \pm ۱/۲۳ ^b	۲۲/۸۸ \pm ۱/۱۰ ^a
(cm) FWL	۱۳/۸۸ \pm ۰/۳۳ ^a	۱۳/۳۲ \pm ۰/۳۴ ^a	۱۳/۵۵ \pm ۰/۶۲ ^a	۱۰/۹۵ \pm ۱/۰۵ ^a
FCR	۱/۶۲ \pm ۰/۰۴ ^a	۱/۵۶ \pm ۰/۱۱ ^a	۱/۵۳ \pm ۰/۰۳ ^a	۲/۱۲ \pm ۰/۰۱ ^b
(g/Day) DWG	۰/۳۲ \pm ۰/۰۷ ^b	۰/۳۰ \pm ۰/۰۱ ^b	۰/۲۹ \pm ۰/۰۹ ^b	۰/۱۹ \pm ۰/۰۴ ^a
(%) PER	۲/۹۸ \pm ۰/۰۳ ^b	۲/۹۳ \pm ۰/۱۰ ^b	۲/۵۴ \pm ۰/۰۶ ^b	۱/۳۲ \pm ۰/۰۳ ^a
(%) SR	۱۰۰ \pm ۰ ^a	۱۰۰ \pm ۰ ^a	۱۰۰ \pm ۰ ^a	۱۰۰ \pm ۰ ^a

حروف متفاوت در هر ردیف نشان دهنده معنی‌دار بودن اختلاف است ($P < 0.05$).

AB1: تیمار غنی شده با ۱۰ گرم در کیلوگرم بوتیرات منوگلیسیرید؛ AB2: تیمار غنی شده با ۵ گرم در کیلوگرم پروبیوتیک؛ AB3: تیمار غنی شده با ۱۰ گرم در کیلوگرم بوتیرات منوگلیسیرید و ۵ گرم در کیلوگرم پروبیوتیک؛ FWG: افزایش وزن نهایی؛ FLG: افزایش طول نهایی؛ FCR: ضریب تبدیل غذایی؛ DWG: افزایش وزن روزانه؛ PER: کارایی پروتئین؛ SR: درصد بقا.

جدول ۲: میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کبد و گلوکز بچه ماهیان تیلایپای نیل تغذیه شده در تیمارهای مختلف به مدت ۸ هفته (میانگین \pm خطای استاندارد، $n=3$)

تیمار	کاتالاز (U/mg Protein)	گلوکاتایون پراکسیداز (U/mg Protein)	سوپراکسید دیسموتاز (U/mg Protein)	گلوکز (mg/dL)
شاهد	۹۰/۳۶ \pm ۳/۵۳ ^a	۴۱/۷۳ \pm ۲/۳۹ ^a	۵۸/۰۰ \pm ۳/۹۲ ^a	۸۰/۰۰ \pm ۳/۴۹ ^b
AB1	۱۴۵/۵۴ \pm ۸/۳۴ ^b	۸۲/۷۶ \pm ۲/۳۳ ^b	۹۵/۰۰ \pm ۴/۶۲ ^b	۷۹/۰۰ \pm ۵/۰۲ ^b
AB2	۱۵۰/۷۵ \pm ۷/۲۱ ^b	۹۳/۳۳ \pm ۴/۱۲ ^b	۹۳/۰۰ \pm ۳/۴۲ ^b	۸۱/۰۰ \pm ۴/۲۶ ^b
AB3	۱۶۰/۳۰ \pm ۷/۳۱ ^b	۸۴/۳۴ \pm ۲/۰۴ ^b	۱۱۳/۰۰ \pm ۶/۱۲ ^c	۸۰/۰۰ \pm ۳/۱۱ ^b

حروف متفاوت در هر ردیف نشان دهنده معنی‌دار بودن اختلاف است ($P < 0.05$).

AB1: تیمار غنی شده با ۱۰ گرم در کیلوگرم بوتیرات منوگلیسیرید؛ AB2: تیمار غنی شده با ۵ گرم در کیلوگرم پروبیوتیک؛ AB3: تیمار غنی شده با ۱۰ گرم در کیلوگرم بوتیرات منوگلیسیرید و ۵ گرم در کیلوگرم پروبیوتیک.

بالاترین فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز منوگلیسیرید مشاهده شد که اختلاف در تیمار مخلوط پروبیوتیک و بوتیرات معنی‌داری با شاهد و دو تیمار بوتیرات

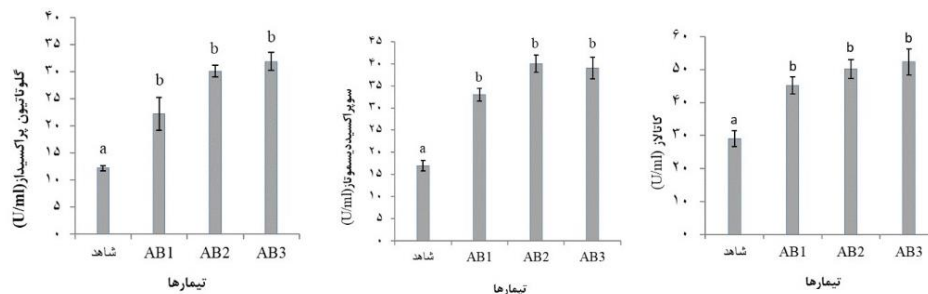
از نظر فعالیت این آنزیم‌ها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P > 0.05$).

بحث

در مطالعه حاضر سطوح مختلف بوتیرات منوگلیسیرید و *Bacillus*‌های پروبیوتیکی بر عملکرد رشد و شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی ماهی تیلاپای نیل در مقایسه با تیمار شاهد بررسی شد. نتایج مطالعه حاضر نشان داد افزودن بوتیرات منوگلیسیرید و پروبیوتیک *Bacillus* به صورت جداگانه و همزمان در جیره غذایی ماهی تیلاپای نیل می‌تواند باعث بهبود شاخص‌های وزن نهایی، میانگین افزایش وزن روزانه، کارایی پروتئین و ضریب تبدیل غذایی شده و همچنین باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی شود.

منوگلیسیرید (AB1) و پروبیوتیک *Bacillus* (AB2) داشت ($P < 0.05$). کمترین فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز با مقدار $58 \pm 3/92$ واحد در هر میلی‌گرم پروتئین در تیمار شاهد ثبت شد که اختلاف معنی‌داری با تیمارهای دیگر داشت ($P < 0.05$).

مقایسه فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سرم خون ماهیان تیلاپای نیل در شکل ۱ ارائه شده است. فعالیت آنزیم کاتالاز، گلوکاتایون پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز در تیمار شاهد به طور معنی‌داری پایین‌تر از تیمارهای دیگر بود ($P < 0.05$). این در حالی بود که بین تیمار AB1 (بوتیرات منو گلیسیرید)، AB2 (پروبیوتیک *Bacillus*) و AB3 (تیمار مخلوط بوتیرات منوگلیسیرید و پروبیوتیک *Bacillus*)



شکل ۱: فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سرم بچه ماهیان تیلاپای نیل تغذیه شده در تیمارهای مختلف به مدت ۸ هفته (میانگین \pm خطای استاندارد، $n = 3$). حروف متفاوت روی ستون‌های نمودار نشان دهنده معنی‌دار بودن اختلاف است ($P < 0.05$).

بوتیرات با وجود این که کمترین میزان غلظت را نسبت به اسیدهای آلی اصلی دیگر (استات، پروپیونات) در دستگاه گوارش دارد، اما عملکردهای محافظتی و ضدالتهابی مهمی را در روده چندین گونه ماهی انجام می‌دهد و در نهایت موجب بهبود سلامت روده و عملکرد ماهی می‌شود (Liu et al., 2014; Benedito-Palos et al., 2016; Rimoldi et al., 2016; Terova et al., 2016). بر طبق نتایج امیدوار کننده این ایده به وجود آمد که منوگلیسریدهای اسید بوتیریک به عنوان افزودنی خوراک یک راهکار موثر برای بهبود عملکرد رشد ماهی، ضریب تبدیل غذایی و مقاومت در برابر بیماری با ایجاد یک میکروبیوتای سالم روده‌ای است. در واقع، استریفیکاسیون همراه با گلیسرول از جذب اسید بوتیریک در قسمت‌های بالایی دستگاه گوارش محافظت می‌کند و در قسمت‌های عمیق‌تر روده آزاد می‌شود و بوتیرات وظایف اصلی خود را در این قسمت انجام می‌دهد (Bedford and Gong, 2018).

مشابه با نتایج حاضر ترکیب اسید بوتیریک در جیره غذایی، شاخص‌های رشد ماهی سیم سیاه دریایی (*Acanthopagrus schlegelii*) و سیم دریایی (*Sparus aurata*) (Robles et al., 2013; Volatiana et al., 2020) (Sadek, 2014)، آمو (Ctenopharyngodon idella) (Liu et al., 2017) و میگوی پاسفید غربی (*Litopenaeus vannamei*) (Silva et al., 2016) را به طور معنی‌داری افزایش داد. در مطالعات دیگری تاثیر مثبت غنی‌سازی جیره غذایی با اسید بوتیریک بر روی عملکرد رشد ماهی تیلاپیای نیل (Abd El-Naby et al., 2019; Dawood et al., 2020) و مارماهی باتلاقی آسیایی (Zhang et al., 2020) مشاهده شد. همچنین Reda و همکاران (۲۰۱۶) و Omosowone و همکاران (۲۰۱۸) دریافتند که گنجاندن سدیم بوتیرات در جیره غذایی ماهی تیلاپیای نیل به طور معنی‌داری وزن نهایی بدن، افزایش وزن، نسبت افزایش وزن، ضریب رشد ویژه، کارایی پروتئین و ضریب تبدیل غذایی را بهبود می‌بخشد. در آزمایشی دیگر Liu و همکاران (۲۰۱۴) بیان کردند که مکمل غذایی سدیم بوتیرات محافظت شده ضریب تبدیل غذایی را در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) بهبود بخشید. عملکرد رشد ماهی در پاسخ به مکمل غذایی سدیم بوتیرات ممکن است به دلیل افزایش خوش طعمی غذا، خواص فیزیکی خوراک

(Morken et al., 2011)، بهبود قابلیت هضم و فراهمی زیستی برخی از مواد معدنی مانند کلسیم، فسفر و روی باشد. علاوه بر این، مکمل غذایی سدیم بوتیرات ممکن است جذب برخی از آمینواسیدهای ضروری از روده را افزایش دهد و از اکسیداسیون آنها جلوگیری کند و به دنبال آن فراهمی زیستی آنها را در گردش خون افزایش دهد (Ng and Koh, 2017). اما در تضاد با مطالعه حاضر، استفاده از اسید بوتیریک در جیره غذایی تاس ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) (Najdegerami et al., 2012) و ماهی هامور (*Epinephelus lanceolatus*) (Lin and Cheng, 2017) تاثیری بر عملکرد رشد نشان نداد. در مطالعه مازندرانی و همکاران (۱۳۹۶) نیز افزودن اسید بوتیریک به جیره غذایی ماهی کلمه خزری (*Rutilus caspicus*) نه تنها سبب بهبود عملکرد رشد نشد، بلکه اثرات منفی بر روی شاخص‌های رشد داشت. دلیل عدم افزایش رشد در این مطالعه عدم غذاگیری بچه ماهیان کلمه از جیره‌های غنی‌سازی شده با اسید بوتیریک ذکر شد.

در مطالعه حاضر افزودن پروبیوتیک‌های باسیلوسی *B. subtilis* و *B. licheniformis* موجب بهبود شاخص‌های رشد در ماهی تیلاپای نیل شد که با مطالعات مشابه دیگر (Morken et al., 2011)، بهبود قابلیت هضم و فراهمی زیستی برخی از مواد معدنی مانند کلسیم، فسفر و روی باشد. علاوه بر این، مکمل غذایی سدیم بوتیرات ممکن است جذب برخی از آمینواسیدهای ضروری از روده را افزایش دهد و از اکسیداسیون آنها جلوگیری کند و به دنبال آن فراهمی زیستی آنها را در گردش خون افزایش دهد (Ng and Koh, 2017). اما در تضاد با مطالعه حاضر، استفاده از اسید بوتیریک در جیره غذایی تاس ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) (Najdegerami et al., 2012) و ماهی هامور (*Epinephelus lanceolatus*) (Lin and Cheng, 2017) تاثیری بر عملکرد رشد نشان نداد. در مطالعه مازندرانی و همکاران (۱۳۹۶) نیز افزودن اسید بوتیریک به جیره غذایی ماهی کلمه خزری (*Rutilus caspicus*) نه تنها سبب بهبود عملکرد رشد نشد، بلکه اثرات منفی بر روی شاخص‌های رشد داشت. دلیل عدم افزایش رشد در این مطالعه عدم غذاگیری بچه ماهیان کلمه از جیره‌های غنی‌سازی شده با اسید بوتیریک ذکر شد.

در مطالعه حاضر افزودن پروبیوتیک‌های باسیلوسی *B. subtilis* و *B. licheniformis* موجب بهبود شاخص‌های رشد در ماهی تیلاپای نیل شد که با مطالعات مشابه دیگر

مطابقت و هم‌خوانی داشت. به عنوان مثال، رژیم غذایی حاوی سطوح مختلف پروبیوتیک *B. subtilis* و *B. licheniformis* منجر به بهبود عملکرد رشد و ایمنی در ماهی کپور معمولی (خالقی و همکاران، ۱۳۹۷) و ماهی تیلاپای نیل (Abarike et al., 2018) شد. مطالعه Han و همکاران (۲۰۱۵) نیز نشان داد که پروبیوتیک *B. licheniformis* موجب افزایش رشد و بهبود پاسخ ایمنی در ماهی تیلاپای نیل می‌شود. در آزمایشی دیگر افزایش مقدار *B. subtilis* در خوراک ماهی تیلاپای *Oreochromis niloticus* Yoshitomi (GIFT) افزایش رشد و ضریب رشد ویژه را به دنبال داشت (Tang et al., 2017). Sun و همکاران (۲۰۱۰) گزارش دادند که استفاده خوراکی از *Bacillus*‌ها منجر به افزایش ضریب تبدیل غذایی در ماهیان انگشت‌قد هامور معمولی (*Epinephelus scoioides*) می‌شود. Hussein و همکاران (۲۰۱۶) نشان دادند استفاده همزمان از پروبیوتیک *Bacillus* به همراه آنزیم‌های هضمی (آمیلاز، لیپاز و پروتئاز) و پرولیتیکی می‌تواند وزن نهایی ماهی کپور معمولی را افزایش دهد. اثر مثبت *Bacillus*‌ها تنها محدود به ماهیان نمی‌شود و در میگوی سفید هندی (*Fenneropenaeus indicus*)،

گلوکوتانیون اس-ترانسفراز و غیره استفاده می‌کنند. در مطالعه حاضر میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کبد و سرم ماهی تیلاپیی نیل در تمامی تیمارهای مورد مطالعه افزایش معنی‌داری نسبت به شاهد نشان داد. شاخص‌های متفاوتی از جمله عوامل زنده یا غیرزنده مانند تغذیه، سن ماهی، بیماری، دما، ترکیبات سمی و غیره می‌تواند باعث تقویت یا تضعیف سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی در ماهی‌ها شوند (Martinez-Alvarez et al., 2005). مطالعات انجام شده بر روی تاثیر اسید بوتیریک در تغذیه آبزیان نشان می‌دهد که این ترکیب می‌تواند دسترسی به مواد معدنی (روی، مس، آهن و غیره) و آمینواسیدها را در ماهی‌ها افزایش دهد (Lin and Cheng, 2017). از طرفی سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی ماهی از پروتئین‌ها و آنزیم‌هایی تشکیل شده که عنصر روی یکی از اجزای مهم و کلیدی ساختار آنها است و در عملکردشان تاثیر مهمی دارد (Luo et al., 2021). بهبود جذب مواد معدنی می‌تواند مکانیسم احتمالی بهبود و افزایش فعالیت آنزیم‌هایی آنتی‌اکسیدانی در مطالعه حاضر باشد. از طرفی مطالعه Mirghaed و همکاران (۲۰۱۹) روی تاثیر اسید بوتیریک تجارتي Butirex بر ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان

میگوی وانامی (*Litopenaeus vannamei*) و میگوی آب شیرین (*Macrobrachium malcolmsonii*) نیز بهبود شاخص‌های رشد گزارش شده است (Yu et al., 2008; Zokaeifar et al., 2012; John et al., 2018). همچنین در مطالعه بادزهره و همکاران (۱۳۹۹) جیره غذایی حاوی اسید بوتیریک موجب افزایش رشد در ماهی شانک زرد باله (*Acanthopagrus latus*) شد.

سوخت و ساز سلولی جانداران با تولید انواع مختلف رادیکال‌های آزاد اکسیژن (Reactive Oxygen Species: ROS) همچون پراکسید هیدروژن، سوپراکسید، هیدروکسیل و غیره همراه است. این ترکیبات قدرت اکسیداسیونی قوی دارند و جزء عوامل بسیار مهم در آسیب رسیدن به سلول‌های مختلف بدن هستند. آنها با تخریب ترکیباتی همچون پروتئین‌ها، آمینواسیدها، DNA و غیره در ایجاد سرطان‌های سلولی نقش دارند. هرگاه تولید رادیکال‌های آزاد در بدن جانداران بیشتر از میزان حذف آنها باشد، استرس اکسیداتیو ایجاد می‌شود (Martinez-Alvarez et al., 2005). سلول‌ها برای مقابله با این ترکیبات و خنثی کردن آنها از سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی خود شامل آنزیم‌های کاتالاز، گلوکوتانیون ردوکتاز،

نشان داد که اسید بوتیریک موجب افزایش بیان ژن‌های کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و گلوکاتایون پراکسیداز روده شد و با بهبود پاسخ‌های فیزیولوژیکی دستگاه گوارش سطح فعالیت آنزیم‌های این سه آنزیم را نسبت به شاهد افزایش داد. در این راستا مطالعه Wu و همکاران (۲۰۱۸) بر روی تاثیر اسید بوتیریک در ماهی آمور نشان داد که افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی با سطح mRNA بافت‌های مورد مطالعه رابطه معنی‌داری وجود دارد. در مطابقت با مطالعه حاضر ترکیبات مختلف اسید بوتیریک، شاخص آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را در ماهی آمور (Liu et al., 2017)، تیلاپای نیل (Dawood et al., 2020)، مارماهی باتلاقی آسیایی (Zhang et al., 2020)، ماهی باس دریایی آسیایی (Lates et al., 2020) و ماهی شانک زرد باله (Zarei et al., 2021) به صورت معنی‌داری افزایش داد. در مقابل Zhu و همکاران (۲۰۱۴) نشان دادند که مخلوط فیتاز و اسیدهای آلی سطح فعالیت سوپراکسید دیسموتاز و گلوکاتایون پراکسیداز سرم گربه‌ماهی زرد (*Pelteobagrus fulvidraco*) را در مقایسه با شاهد کاهش می‌دهد. علت کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در این مطالعه نشان داد که اسید بوتیریک موجب افزایش بیان ژن‌های کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و گلوکاتایون پراکسیداز روده شد و با بهبود پاسخ‌های فیزیولوژیکی دستگاه گوارش سطح فعالیت آنزیم‌های این سه آنزیم را نسبت به شاهد افزایش داد. در این راستا مطالعه Wu و همکاران (۲۰۱۸) بر روی تاثیر اسید بوتیریک در ماهی آمور نشان داد که افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی با سطح mRNA بافت‌های مورد مطالعه رابطه معنی‌داری وجود دارد. در مطابقت با مطالعه حاضر ترکیبات مختلف اسید بوتیریک، شاخص آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را در ماهی آمور (Liu et al., 2017)، تیلاپای نیل (Dawood et al., 2020)، مارماهی باتلاقی آسیایی (Zhang et al., 2020)، ماهی باس دریایی آسیایی (Lates et al., 2020) و ماهی شانک زرد باله (Zarei et al., 2021) به صورت معنی‌داری افزایش داد. در مقابل Zhu و همکاران (۲۰۱۴) نشان دادند که مخلوط فیتاز و اسیدهای آلی سطح فعالیت سوپراکسید دیسموتاز و گلوکاتایون پراکسیداز سرم گربه‌ماهی زرد (*Pelteobagrus fulvidraco*) را در مقایسه با شاهد کاهش می‌دهد. علت کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در این مطالعه

افزایش فعالیت هوازی به دلیل استفاده از آنزیم فیتاز ذکر شده است (Zhu et al., 2014). همچنین Volatiana و همکاران (۲۰۲۰) نشان دادند با وجود این که سطوح مختلف گلیسرید بوتیرات تاثیر معنی‌داری بر سطح فعالیت آنزیم کاتالاز سرم ماهی سیاه نداشت، اما میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و گلوکاتایون پراکسیداز روند افزایشی و مالون دی‌آلدئید سرم روند کاهشی را نشان داد. مطالعات انجام شده بر روی آبزیان نشان می‌دهد پروبیوتیک‌های باسیلوسی نیز قادر به تغییر سطح فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در بافت، سرم و موکوس آبزیان هستند (Weifen et al., 2018; Vidhya Hindu et al., 2012). در مطابقت با مطالعه حاضر Zhou و همکاران (۲۰۱۰) در ماهی تیلاپای نیل نشان دادند که افزودن جداگانه پروبیوتیک‌های *Bacillus subtilis* و *B. subtilis coagulans* با غلظت نهایی 1×10^7 سلول در هر میلی‌لیتر آب در مقایسه با شاهد باعث افزایش معنی‌دار میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز سرم شد. در مطالعه دیگر تاثیر پروبیوتیک تجاری (*B. subtilis*) و *B. licheniformis* با غلظت‌های ۰، ۳، ۵، ۷ و

۱۰ گرم در هر کیلوگرم جیره غذایی ماهی تیلاپپای نیل فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز را در سرم نسبت به شاهد به طور معنی‌داری افزایش داد. در حالی که فعالیت این دو آنزیم به ترتیب در سرم و موکوس پوست تغییر معنی‌داری را نشان نداد (Abarike et al., 2018). در مطالعات مشابه دیگر نیز افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی با کاربرد پروبیوتیک‌های باسیلوسی در تاس‌ماهی دابری (*Acipenser dabryanus*) (Di et al., 2019)، ماهی آمور (Weifen et al., 2012) و میگوی وانامی (Won et al., 2020) نیز گزارش شده است. در مقابل نتایج مطالعه Park و همکاران (۲۰۲۰) بر روی تاثیر پروبیوتیک‌های *B. subtilis* KCTC 2217 و *B. licheniformis* KCCM 11775 در مارماهی ژاپنی (*Anguilla japonica*) نشان داد که فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و میلوپراکسیداز سرم نسبت به شاهد تغییر معنی‌داری نداشت. مشابه همین مطالعه تاثیر پروبیوتیک *Bacillus cereus* بر ماهی قرمز (*Carassius auratus*) نیز نشان داد افزایش غلظت پروبیوتیک *Bacillus* تاثیری بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز سرم نداشت، اما

فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلوکاتایون پراکسیداز بافت روده را به طور معنی‌داری افزایش داد (Yang et al., 2019). پروبیوتیک‌ها در بدن جانداران با مکانیسم‌های مختلفی همچون قدرت کلاته کردن عناصر اکسید کننده آهن و مس، تولید متابولیت‌هایی با خواص آنتی‌اکسیدانی (بوتیرات و گلوکاتایون)، بهبود بیان ژن‌های تقویت کننده فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، تاثیر بر فعالیت پروتئین‌های موثر (پروتئین کیناز، سیتوکروم و غیره) در مسیر متابولیسم آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در بدن باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌شود (Wang et al., 2017). در مورد مکانیسم اثر پروبیوتیک‌ها بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در آبزیان مطالعات بیشتری نیاز است، اما به نظر می‌رسد پروبیوتیک‌ها قادر هستند با ترشح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی خاص و تحریک متابولیسم تولید این آنزیم‌ها در آبزیان باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی شوند (Li et al., 2018; Vidhya Hindu et al., 2012). از طرف دیگر پروبیوتیک‌ها با بهبود هضم و جذب مواد مغذی جیره به فرایند تولید ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در بدن آبزیان کمک می‌کنند و باعث افزایش سطح فعالیت آنزیم‌های

منوگلیسیرید و پروبیوتیک تجارتي *Bacillus* به صورت جداگانه و مخلوط در خوراک می‌تواند باعث افزایش شاخص‌های رشد، ضریب تبدیل غذایی و کارایی پروتئین در ماهی تیلاپای نیل شود. همچنین این دو افزودنی به صورت جدا و ترکیب با هم باعث بهبود فعالیت آنزیم‌های کبدی و سرمی در این ماهی می‌شود. با این وجود، با توجه به نتایج مطالعه حاضر به نظر می‌رسد برای ارزیابی کاربرد این دو افزودنی غذایی به بررسی‌های بیشتری در دیگر زمینه‌های موثر بر رشد و تغذیه ماهی تیلاپای نیل نیاز باشد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله نویسندگان از معاونت پژوهشی و ریاست محترم دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه خلیج فارس بابت مساعدت در اجرای عملی این پژوهش کمال تشکر را دارند.

آنتی‌اکسیدانی می‌شوند (Kumar et al., 2018). به طور کلی تغییرات کمی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی به نوع، غلظت و مدت استفاده از پروبیوتیک نیز بستگی دارد (Liu et al., 2012). بر روی تاثیر توام بوتیرات منوگلیسیرید و پروبیوتیک *Bacillus* تاکنون مطالعه‌ای انجام نشده است. مطالعه مشابه بر روی تاثیر توام اسید مالیک و *B. subtilis* در ماهی تیلاپای نیل (Hassaan et al., 2018) و پروبیوتیک پریمالاک و پتاسیم دی‌فرمات در قزل‌آلای رنگین‌کمان (Naderi Farsani et al., 2020) نشان داد که شاخص‌های رشد بهبود یافت و سطح آنزیم‌های کبدی آلانین آمینوترانسفراز و آسپارات آمینوترانسفراز در این ماهی‌ها نسبت به شاهد کاهش معنی‌داری داشت.

در مجموع، نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که کاربرد دو افزودنی بوتیرات

منابع

- کامگار م.، قانع م.، پورغلام ر. و قیاسی م. ۱۳۹۱. تاثیر *Bacillus subtilis* به عنوان پروبیوتیک بر فاکتورهای هماتولوژی و بیوشیمیایی خون ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) به دنبال عفونت تجربی با *Streptococcus iniae*. توسعه آبی‌پروری، ۱۰۲-۹۱: (۱)۶.
- مازندرانی م.، سوداگر م.، جعفری و.، جعفرنوده ع. و بزی ف. ۱۳۹۶. اثرات تغذیه‌ای اسید بوتیریک خوراکی در ماهی کلمه خزری (*Rutilus caspicus*) در مواجهه با استرس شوری. آبزیان زینتی، ۴(۳): ۴۰-۳۱.
- Aalamifar H., Soltanian S., Vazirzadeh A., Akhlaghi M., Morshedi V., Gholamhosseini A. and Torfi Mozanadeh M. 2020. Dietary butyric acid improved growth, digestive enzyme activities and humoral immune parameters in Barramundi (*Lates calcarifer*). Aquaculture Nutrition, 26: 156-164.
- Abarike E.D., Cai J., Lu Y., Yu H., Chen L., Jian J., Jian J., Tang J., Jun J. and Kuebutornye F.K.A. 2018. Effects of a commercial probiotic BS containing *Bacillus subtilis* and *Bacillus licheniformis* on growth, immune response and disease resistance in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. Fish and Shellfish Immunology, 82: 229-238.
- Abd El-Gawad E.A., Abd El-Latif A.M. and Shourbela R.M. 2016. Enhancement of antioxidant activity, non-specific immunity and growth performance of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* by dietary fructooligosaccharide. Journal of Aquaculture Research and Development, 7(5): 1-7 (427).
- Abd El-Naby A.S., Khattaby A.E.R.A., Samir F., Awad S.M.M. and Abdel-Tawwab M. 2019. Stimulatory effect of dietary butyrate on growth, immune response, and resistance of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*.
- بادزهره غ.، زارعی ش.، داوودی ر.، نفیسی بهابادی م.، صالحی ف.، مرشدی و. و ستوده ا. ۱۳۹۹. تاثیر سطوح مختلف اسید بوتیریک در جیره غذایی بر برخی عملکرد رشد، ایمنی و فعالیت آنزیم‌های گوارشی ماهی شانک زرد باله (*Acanthopagrus latus* Houttuyn, 1782). تغذیه آبزیان، ۶(۳): ۶۷-۵۵.
- خالقی م.، سلطانی م. و حسینی شکرابی س.پ. ۱۳۹۷. اثر افزودن مخلوط پروبیوتیک *Bacillus subtilis* و *Bacillus licheniformis* (دی‌پرو آکوا) به جیره غذایی بر برخی شاخص‌های رشد، خونی و ایمنی ماهی کپور معمولی. زیست‌شناسی دریا، ۱۰(۳۸): ۲۰-۱۱.

- against *Aeromonas hydrophila* infection. *Animal Feed Science and Technology*, 254: 1–9 (114212).
- Abdel-Latif H.M.R., Abdel-Tawwab M., Dawood M.A.O., Menanteau-Ledouble S. and El-Matbouli M. 2020.** Benefits of dietary butyric acid, sodium butyrate, and their protected forms in aquafeeds: A review. *Reviews in Fisheries Science and Aquaculture*, 28: 421–448.
- Abriouel H., Franz C.M.A.P., Omar N.B. and Galvez A. 2011.** Diversity and applications of *Bacillus* bacteriocins. *FEMS Microbiology Reviews*, 35(1): 201–232.
- Abu Elala N.M. and Ragaa N.M. 2015.** Eubiotic effect of a dietary acidifier (potassium diformate) on the health status of cultured *Oreochromis niloticus*. *Journal of Advanced Research*, 6(4): 621–629.
- Aebi H. 1984.** Catalase in vitro. *Methods in Enzymology*, 105: 121–126.
- Ahmed H. and Mohamed Sadek K. 2014.** Impact of dietary supplementation of sodium butyrate and/or protexin on the growth performance, some blood parameters, and immune response of *Oreochromis niloticus*. *International Journal of Agriculture Innovations and Research*, 3(4): 985–991.
- Bedford A. and Gong J. 2018.** Implications of butyrate and its derivatives for gut health and animal production. *Animal Nutrition*, 4:151–159.
- Benedito-Palos L., Ballester-Lozano G.F., Simo P., Karalazos V., Ortiz A., Caldach-Giner J. and Perez-Sanchez J. 2016.** Lasting effects of butyrate and low FM/FO diets on growth performance, blood hematology/biochemistry and molecular growth-related markers in gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Aquaculture*, 454: 8–18.
- Brunt J., Newaj-Fyzul A. and Austin B. 2007.** The development of probiotics for the control of multiple bacterial diseases of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Journal of Fish Diseases*, 30(10): 573–579.
- Castillo S., Rosales M., Pohlenz C. and Gatlin D.M. 2014.** Effects of organic acids on growth performance and digestive enzyme activities of juvenile red drum *Sciaenops ocellatus*. *Aquaculture*, 433: 6–12.
- Da Silva B.C., Do Vieira F.N., Mourino J.L.P., Bolivar N. and Seiffert W.Q. 2016.** Butyrate and propionate improve the growth performance of *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture Research*, 47(2): 612–623.

- Dai J., Li Y., Yang P., Liu Y., Chen Z., Ou W., Ai Q., Zhang W., Zhang Y. and Mai K. 2018.** Citric acid as a functional supplement in diets for juvenile turbot, *Scophthalmus maximus* L.: Effects on phosphorus discharge, growth performance, and intestinal health. *Aquaculture*, 495: 643–653.
- Darafsh F., Soltani M., Abdolhay H.A. and Shamsaei Mehrejan M. 2020.** Improvement of growth performance, digestive enzymes and body composition of Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) following feeding on probiotics: *Bacillus licheniformis*, *Bacillus subtilis* and *Saccharomyces cerevisiae*. *Aquaculture Research*, 51(3): 957–964.
- Dawood M.A.O., Eweedah N.M., Elbially Z.I. and Abdelhamid A.I. 2020.** Dietary sodium butyrate ameliorated the blood stress biomarkers, heat shock proteins, and immune response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) exposed to heat stress. *Journal of Thermal Biology*, 88: 1–10 (102500).
- Di J., Chu Z., Zhang S., Huang J., Du H. and Wei Q. 2019.** Evaluation of the potential probiotic *Bacillus subtilis* isolated from two ancient sturgeons on growth performance, serum immunity and disease resistance of *Acipenser dabryanus*. *Fish and Shellfish Immunology*, 93: 711–719.
- El-Haroun E.R., Goda A.M.A.S. and Kabir Chowdhury M.A. 2006.** Effect of dietary probiotic Biogen supplementation as a growth promoter on growth performance and feed utilization of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (L.). *Aquaculture Research*, 37(14): 1473–1480.
- FAO (Food and Agricultural Organization) 2017.** FAO Yearbook: Statistics Fisheries and Aquaculture Statistics 2017/FAO Annuaire. FAO, Italy. 107P.
- Franke A., Roth O., De Schryver P., Bayer T., Garcia-Gonzalez L., Kunzel S., Bossier P., Miest J.J. and Clemmesen C. 2017.** Poly- β -hydroxybutyrate administration during early life: Effects on performance, immunity and microbial community of European sea bass yolk-sac larvae. *Scientific Reports*, 7(1): 1–11 (15022).
- Fuller R. 1989.** Probiotics in man and animals. *Journal of Applied Bacteriology*, 66: 365–378.
- Han B., Long W.Q., He J.Y., Liu Y.J., Si Y.Q. and Tian L.X. 2015.** Effects of dietary *Bacillus licheniformis* on growth performance, immunological parameters, intestinal morphology and resistance of juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) to challenge infections. *Fish and Shellfish Immunology*, 46(2): 225–231.

- Hassaan M.S., Soltan M.A., Jarmolowicz S. and Abdo H.S. 2018.** Combined effects of dietary malic acid and *Bacillus subtilis* on growth, gut microbiota and blood parameters of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture Nutrition*, 24(1): 83–93.
- He S., Zhang Y., Xu L., Yang Y., Marubashi T., Zhou Z. and Yao B. 2013.** Effects of dietary *Bacillus subtilis* C-3102 on the production, intestinal cytokine expression and autochthonous bacteria of hybrid tilapia *Oreochromis niloticus* ♂ × *Oreochromis aureus* ♀. *Aquaculture*, 412-413: 125–130.
- Hoseinifar S.H., Sun Y.Z. and Caipang C.M. 2017.** Short-chain fatty acids as feed supplements for sustainable aquaculture: An updated view. *Aquaculture Research*, 48: 1380–1391.
- Hussein M.S., Zaghlool A., El-Hakim N.F.A., El Nawsany M. and Abo-State H.A. 2016.** Effect of different growth promoters on growth performance, feed utilization and body composition of common carp (*Cyprinus carpio*). *Journal of Fisheries and Aquatic Science*, 11(5): 370–377.
- Jahanian R. and Golshadi M. 2015.** Effect of dietary supplementation of butyric acid glycerides on performance, immunological responses, ileal microflora, and nutrient digestibility in laying hens fed different basal diets. *Livestock Science*, 178: 228–236.
- Jesus G.F.A., Pereira S.A., Owatari M.S., Syracuse N., Silva B.C., Silva A., Pierr B.S., Lehmann N.B., Figueired H.C.P., Fracalossi D.M., Mourino J.L.P. and Martins M.L. 2019.** Protected forms of sodium butyrate improve the growth and health of Nile tilapia fingerlings during sexual reversion. *Aquaculture*, 499: 119–127.
- John G., Mohamed R.R., Kolanchina P. and Balasundar A. 2018.** Nutritional value of two bacterial strains *Bacillus subtilis* RCMB21 and *Pseudomonas fluorescens* RCMB39 as feed supplement for freshwater prawn *Macrobrachium malcolmsonii*. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*, 13(3): 282–294.
- Kesarcodi-Watson A., Kaspar H., Lategan M.J. and Gibson L. 2008.** Probiotics in aquaculture: The need, principles and mechanisms of action and screening processes. *Aquaculture*, 274(1): 1–14.
- Kumar P., Jain K.K. and Sardar P. 2018.** Effects of dietary synbiotic on innate immunity, antioxidant activity and disease resistance of *Cirrhinus mrigala* juveniles. *Fish and Shellfish Immunology*, 80: 124–132.

- Kuthan H., Hausmann H.J. and Werringloer J. 1986.** A spectrophotometric assay for superoxide dismutase activities in crude tissue fractions. *Biochemical Journal*, 237(1): 175–180.
- Lee B.J., Kim S.S., Song J.W., Oh D.H., Cha J.H., Jeong J.B., Heo M.S., Kim K.W. and Lee K.J. 2013.** Effects of dietary supplementation of citrus by-products fermented with a probiotic microbe on growth performance, innate immunity and disease resistance against *Edwardsiella tarda* in juvenile olive flounder, *Paralichthys olivaceus* (Temminck & Schlegel). *Journal of Fish Diseases*, 36(7): 617–628.
- Li W.F., Deng B., Cui Z.W., Fu L.Q., Chen N.N., Zhou X.X., Shen W.Y. and Yu D.Y. 2012.** Several indicators of immunity and antioxidant Activities improved in grass carp given a diet containing *Bacillus* additive. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 11: 2392–2397.
- Lin Y.H. and Cheng M.Y. 2017.** Effects of dietary organic acid supplementation on the growth, nutrient digestibility and intestinal histology of the giant grouper *Epinephelus lanceolatus* fed a diet with soybean meal. *Aquaculture*, 469: 106–111.
- Liu C.H., Chiu C.H., Wang S.W. and Cheng W. 2012.** Dietary administration of the probiotic, *Bacillus subtilis* E20, enhances the growth, innate immune responses, and disease resistance of the grouper, *Epinephelus coioides*. *Fish and Shellfish Immunology*, 33: 699–706.
- Liu M., Guo W., Wu F., Qu Q., Tan Q. and Gong W. 2017.** Dietary supplementation of sodium butyrate may benefit growth performance and intestinal function in juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*). *Aquaculture Research*, 48(8): 4102–4111.
- Liu W., Yang Y., Zhang J., Gatlin D.M., Ringo E. and Zhou Z. 2014.** Effects of dietary microencapsulated sodium butyrate on growth, intestinal mucosal morphology, immune response and adhesive bacteria in juvenile common carp (*Cyprinus carpio*) pre-fed with or without oxidized oil. *British Journal of Nutrition*, 112(1): 15–29.
- Luckstadt C. 2008.** The use of acidifiers in fish nutrition. *CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources*, 3: 1–8 (044).
- Luo F., Fu Z., Wang M., Ke Z., Wang M., Wang W., Hassan M. and Shu X. 2021.** Growth performance, tissue mineralization, antioxidant activity and immune response of *Oreochromis niloticus*

- fed with conventional and gluconic acid zinc dietary supplements. *Aquaculture Nutrition*, 27(3): 897–907.
- Martinez-Alvarez R.M., Morales A.E. and Sanz A. 2005.** Antioxidant defenses in fish: Biotic and abiotic factors. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 15(1-2): 75–88.
- Mirghaed A.T., Yarahmadi P., Soltani M., Paknejad H. and Hoseini S.M. 2019.** Dietary sodium butyrate (Butirex® C4) supplementation modulates intestinal transcriptomic responses and augments disease resistance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish and Shellfish Immunology*, 92: 621–628.
- Mohapatra S., Chakraborty T., Kumar V., DeBoeck G. and Mohanta K.N. 2013.** Aquaculture and stress management: A review of probiotic intervention. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 97(3): 405–430.
- Morken T., Kraugerud O.F., Barrows F.T., Sorensen M., Storebakken T. and Overland M. 2011.** Sodium diformate and extrusion temperature affect nutrient digestibility and physical quality of diets with fish meal and barley protein concentrate for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 317(1-4): 138–145.
- Naderi Farsani M., Bahrami Gorji S., Hoseinifar S.H., Rashidian G. and Van Doan H. 2020.** Combined and singular effects of dietary PrimaLac® and potassium diformate (KDF) on growth performance and some physiological parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 12(1): 236–245.
- Najdegerami E.H., Tran T.N., Defoirdt T., Marzorati M., Sorgeloos P., Boon N. and Bossier P. 2012.** Effects of poly- β -hydroxybutyrate (PHB) on Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*) fingerlings performance and its gastrointestinal tract microbial community. *FEMS Microbiology Ecology*, 79(1): 25–33.
- Ng W.K. and Koh C.B. 2017.** The utilization and mode of action of organic acids in the feeds of cultured aquatic animals. *Reviews in Aquaculture*, 9(4): 342–368.
- Olmos Soto J. 2017.** *Bacillus* probiotics enzymes: External auxiliary apparatus to avoid digestive deficiencies, water pollution, diseases, and economic problems in marine cultivated animals. *Advances in Food and Nutrition Research*, 80: 15–35.
- Omosowone O.O., Dada A.A. and Adeparusi E.O. 2018.** Comparison of dietary butyric acid

- supplementation effect on growth performance and body composition of *Clarias gariepinus* and *Oreochromis niloticus* fingerlings. Iranian Journal of Fisheries Sciences, 17(2): 403–412.
- Park Y., Kim H., Won S., Hamidoghli A., Hasan M.T., Kong I. and Bai S.C. 2020.** Effects of two dietary probiotics (*Bacillus subtilis* or *licheniformis*) with two prebiotics (mannan or fructo-oligosaccharide) in Japanese eel, *Anguilla japonica*. Aquaculture Nutrition, 26(2): 316–327.
- Peixoto M.J., Salas-Leiton E., Pereira L.F., Queiroz A., Magalhaes F., Pereira R., Abreu H., Reis P.A., Goncalves J.F.M. and De Almeida Ozorio R.O. 2016.** Role of dietary seaweed supplementation on growth performance, digestive capacity and immune and stress responsiveness in European seabass (*Dicentrarchus labrax*). Aquaculture Reports, 3: 189–197.
- 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 and Shellfish Immunology, 50: 255–262.
- Rimoldi S., Finzi G., Ceccotti C., Girardello R., Grimaldi A., Ascione C. and Terova G. 2016.** Butyrate and taurine exert a mitigating effect on the inflamed distal intestine of European sea bass fed with a high percentage of soybean meal. Fisheries and Aquatic Sciences, 19(1): 1–14 (40).
- Robles R., Lozano A.B., Sevilla A., Marquez L., Nuez-Ortin W. and Moyano F.J. 2013.** Effect of partially protected butyrate used as feed additive on growth and intestinal metabolism in sea bream (*Sparus aurata*). Fish Physiology and Biochemistry, 39(6): 1567–1580.
- Soltani M., Ghosh K., Hoseinifar S.H., Kumar V., Lymbery A.J., Roy S. and Ringo E. 2019.** Genus *Bacillus*, promising probiotics in aquaculture: Aquatic animal origin, bio-active components, bioremediation and efficacy in fish and shellfish. Reviews in Fisheries Science and Aquaculture, 27(3): 331–379.
- Sun Y.Z., Yang H.L., Ma R.L. and Lin W.Y. 2010.** Probiotic applications of two dominant gut *Bacillus* strains with antagonistic activity improved the growth performance and immune responses of grouper *Epinephelus coioides*. Fish and Shellfish Immunology, 29(5): 803–809.
- Tang L., Huang K., Xie J., Yu D., Sun L., Huang Q. and Bi Y. 2017.** 1-Deoxynojirimycin from *Bacillus subtilis* improves antioxidant and antibacterial activities of juvenile Yoshitomi tilapia. Electronic

- Journal of Biotechnology, 30: 39–47.
- Terova G., Diaz N., Rimoldi S., Ceccotti C., Gliozheni E. and Piferer F. 2016.** Effects of sodium butyrate treatment on histone modifications and the expression of genes related to epigenetic regulatory mechanisms and immune response in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed a plant-based diet. PLOS One, 11(7): 1–20 (0160332).
- Tseng D.Y., Ho P.L., Huang S.Y., Cheng S.C., Shiu Y.L., Chiu C.S. and Liu C.H. 2009.** Enhancement of immunity and disease resistance in the white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, by the probiotic, *Bacillus subtilis* E20. Fish and Shellfish Immunology, 26(2): 339–344.
- Vidhya Hindu S., Thanigaivel S., Vijayakumar S., Chandrasekaran N., Mukherjee A. and Thomas J. 2018.** Effect of microencapsulated probiotic *Bacillus vireti* 01-polysaccharide extract of *Gracilaria folifera* with alginate-chitosan on immunity, antioxidant activity and disease resistance of *Macrobrachium rosenbergii* against *Aeromonas hydrophila* infection. Fish and Shellfish Immunology, 73: 112–120.
- Volatiana J.A., Sagada G., Xu B., Zhang J., Ng W. and Shao Q. 2020.** Effects of butyrate glycerides supplementation in high soybean meal diet on growth performance, intestinal morphology and antioxidative status of juvenile black sea bream, *Acanthopagrus schlegelii*. Aquaculture Nutrition, 26(1): 15–25.
- Wang Y., Wu Y., Wang Y., Xu H., Mei X., Yu D., Wang Y. and Li W. 2017.** Antioxidant properties of probiotic bacteria. Nutrients, 9(5): 1–15 (9050521).
- Wang Y.B., Li J.R. and Lin J. 2008.** Probiotics in aquaculture: Challenges and outlook. Aquaculture, 281: 1–4.
- Weifen L., Xiaoping Z., Wenhui S., Bin D., Quan L., Luoqin F., Jiajia J., 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.
- Won S., Hamidoghli A., Choi W., Bae J., Jang W.J., Lee S. and Bai S.C. 2020.** Evaluation of potential probiotics *Bacillus subtilis* WB60, *Pediococcus pentosaceus*, and *Lactococcus lactis* on growth performance, immune response, gut histology and immune-related genes in whiteleg shrimp, *Litopenaeus vannamei*. Microorganisms, 8(2): 1–15 (8020281).
- Wu P., Tian L., Zhou X.Q., Jiang W.D., Liu Y., Jiang J., Xie F.,**

- Kuang S.Y., Tang L., Tang W.N., Yang J., Zhang Y.A., Shi H.Q. and Feng L. 2018.** Sodium butyrate enhanced physical barrier function referring to Nrf2, JNK and MLCK signaling pathways in the intestine of young grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Fish and Shellfish Immunology*, 73: 121–132.
- Yang G., Cao H., Jiang W., Hu B., Jian S., Wen C., Kajbaf K., Kumar V., Tao Z. and Peng M. 2019.** Dietary supplementation of *Bacillus cereus* as probiotics in Pengze crucian carp (*Carassius auratus* var. Pengze): Effects on growth performance, fillet quality, serum biochemical parameters and intestinal histology. *Aquaculture Research*, 50(8): 2207–2217.
- Yu M.C., Li Z.J., Lin H.Z., Wen G.L. and Ma S. 2008.** Effects of dietary *Bacillus* and medicinal herbs on the growth, digestive enzyme activity, and serum biochemical parameters of the shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture International*, 16(5): 471–480.
- Zarei S., Badzohreh G., Davoodi R., Nafisi Bahabadi M. and Salehi F. 2021.** Effects of dietary butyric acid glycerides on growth performance, haemato-immunological and antioxidant status of yellowfin seabream (*Acanthopagrus latus*) fingerlings. *Aquaculture Research*, 52(11): 5840–5848.
- Zhang J., Zhong L., Chi S., Chu W., Liu Y. and Hu Y. 2020.** Sodium butyrate supplementation in high-soybean meal diets for juvenile rice field eel (*Monopterus albus*): Effects on growth, immune response and intestinal health. *Aquaculture*, 520: 1–9 (734952).
- Zhou X., Tian Z., Wang Y. and Li W. 2010.** Effect of treatment with probiotics as water additives on tilapia (*Oreochromis niloticus*) growth performance and immune response. *Fish Physiology and Biochemistry*, 36(3): 501–509.
- Zhu Y., Qiu X., Ding Q., Duan M. and Wang C. 2014.** Combined effects of dietary phytase and organic acid on growth and phosphorus utilization of juvenile yellow catfish *Pelteobagrus fulvidraco*. *Aquaculture*, 430: 1–8.
- Zokaeifar H., Luis Balcazar J., Kamarudin M.S., Sijam K., Arshad A. and Saad C.R. 2012.** Selection and identification of non-pathogenic bacteria isolated from fermented pickles with antagonistic properties against two shrimp pathogens. *The Journal of Antibiotics*, 65: 289–294.



Research Paper

Effects of dietary butyrate monoglyceride and probiotic of *Bacillus* on growth performance and enzymatic antioxidant activity of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)

Reza Bagherpoor¹, Gholamreza Badzohreh^{2*}, Reza Davoodi², Ahmad Ghasemi³

DOI: 10.22124/japb.2022.22091.1461

Received: April 2022

Accepted: October 2022

Abstract

In this study, the effect of dietary butyrate monoglyceride and probiotic (*Bacillus subtilis* and *Bacillus licheniformis*) supplementation were evaluated on growth performance and the enzymatic antioxidant activity of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Fish were divided into 4 treatments with 3 replications including control, 10g/kg butyrate monoglyceride (AB1), 5g/kg probiotic *Bacillus* (AB2), 10g/kg butyrate monoglyceride and 5g/kg probiotic *Bacillus* (AB3). 144 fish with an average weight of 12 ± 0.58 g were fed for 8 weeks. This study showed that applying butyrate monoglyceride and probiotic *Bacillus* in the feeding of Nile tilapia significantly improved the growth indices of final weight gain (FWG), daily weight gain (DWG), protein efficiency ratio (PER), and FCR compared to control ($P < 0.05$). All experimental diets had higher levels of catalase, glutathione peroxidase and superoxide dismutase activity compared to control ($P < 0.05$). However, the highest levels of superoxide dismutase activity were measured in treatment AB3. The present study indicated that singular and combined dietary administration of butyrate monoglyceride and probiotic *Bacillus* had a significant impact on growth performance, and liver and serum enzymatic antioxidant activity of Nile tilapia.

Key words: *Organic Acids, Bacillus, Growth, Nile Tilapia.*

1- M.Sc. in Aquatic Breeding, Department of Fisheries, Faculty of Nano and Bioscience and Technology, Persian Gulf University, Bushehr, Iran.

2- Assistant Professor in Department of Fisheries, Faculty of Nano and Bioscience and Technology, Persian Gulf University, Bushehr, Iran.

3- Assistant Professor in Department of Fisheries and Biology, Persian Gulf Research Institute, Persian Gulf University, Bushehr, Iran.

*Corresponding Author: badzohre@pgu.ac.ir

