University of Tehran

Journal of Fisheries

Home Page: https://jfisheries.ut.ac.ir

Online ISSN: 2423-7809

Improvement of growth performance, digestive enzymes of common carp (*Cyprinus carpio*) and water quality using diets containing *Saccharomyces cerevisiae* yeast in a biofloc culture system

Hossein Adineh[1*] | Hojatallah Jafaryan[2] | Mohammad Farhangi[3] | Zahra Kohestani[4] | Seyed Amir Mehdi Hashemianfar[5]

1. Corresponding author, Department of Fisheries Department, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Gonbad Kavos University, Golestan, Iran. Email: adineh.h@gmail.com
2. Department of Fisheries Department, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Gonbad Kavos University, Golestan, Iran. Email: hojat.jafaryan@gmail.com
3. Department of Fisheries Department, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Gonbad Kavos University, Golestan, Iran. Email: s.farhangi@yahoo.com
4. Department of Fisheries Department, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Gonbad Kavos University, Golestan, Iran. Email: zwrww80@gmail.com
2. Department of Fisheries Department, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Gonbad Kavos University, Golestan, Iran. Email: samhashemianfar98@gmail.com

ARTICLE INFO

Article type:
Research Article

Article History:
Received: 18 May 2024
Revised: 23 July 2024
Accepted: 14 October 2024
Published online: 20 December 2024

Keywords:
Biofloc,
Common carp,
Growth performance,
Immune response,
Water quality,
Yeast.

ABSTRACT

In this study, the effects of low protein diet containing 0 (control), 2 (B1), 4 (B2) and 8% (B3) *Saccharomyces cerevisiae* on growth and immunity performance of common carp and water quality of culture system were evaluated for 56 days. The 204 fish with the mean weight of 13.14±0.33 g were distributed into 12 culture tanks in triplicates. The results showed that 2% of yeast in the diet (B1) can improve the final weight (25.05±0.92 g) (P<0.05) and reduce the food conversion ratio (1.21±0.08). Also, in the treatment of 2% yeast (B1), the activities of digestive enzymes amylase, lipase and protease intestinal had a statistically significant increase compared to other experimental treatments (P<0.05). The diet containing 2% yeast significantly increased the activity of lysozyme and total immunoglobulin in serum (26.47±0.42 u/ml/min and 16.02±0.11 mg/ml, respectively), while serum ACH50 had no statistically significant difference among treatments (P≥0.05). The total ammonia (TAN) concentration was significantly lower in B1 and B2 biofloc treatments compared to other experiments (P<0.05). Based on the present results, the diet containing 2% yeast in treatment B1 can improve the activity of digestive enzymes, growth performance and immune responses of common carp grown in biofloc environment.

Cite this article: Adineh, H., Jafaryan, H., Farhangi, M., Kohestani, Z., Hashemianfar, S.A.M. (2024). Improvement of growth performance, digestive enzymes of common carp (Cyprinus carpio) and water quality using diets containing *Saccharomyces cerevisiae* yeast in a biofloc culture system. *Journal of Fisheries*, 77 (4), 325-336. DOI: http//doi.org/10.22059/jfisheries.2024.376478.1425

© The Author(s) **Publisher:** University of Tehran Press.
DOI: http//doi.org/10.22059/jfisheries.2024.376478.1425

شیلات، مجله منابع طبیعی ایران
سایت نشریه: https://jfisheries.ut.ac.ir
شاپا الکترونیکی: ۷۸۰۹-۲۴۲۳
دانشگاه تهران

بهبود عملکرد رشد، آنزیم‌های گوارشی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) و کیفیت آب با استفاده از جیره‌های حاوی مخمر ساکارومایسس سرویزیه در سیستم پرورش بیوفلاک

حسین آدینه[1*] | حجت ا... جعفریان[2] | محمد فرهنگی[3] | زهرا کوهستانی[4] | سید امیرمهدی هاشمیان‌فر[5]

۱. نویسنده مسئول، گروه شیلات، دانشکدهٔ کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گلستان، ایران. رایانامه:adineh.h@gmail.com
۲. گروه شیلات، دانشکدهٔ کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گلستان، ایران. رایانامه:hojat.jafaryan@gmail.com
۳. گروه شیلات، دانشکدهٔ کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گلستان، ایران. رایانامه:s.farhangi@yahoo.com
۴. گروه شیلات، دانشکدهٔ کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گلستان، ایران. رایانامه:zwrww80@gmail.com
۵. گروه شیلات، دانشکدهٔ کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گلستان، ایران. رایانامه: samhashemianfar98@gmail.com

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:
پژوهشی

تاریخ‌های مقاله:
تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۲/۲۹
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳/۰۵/۰۲
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۷/۲۳
تاریخ انتشار: ۱۴۰۳/۰۹/۳۰

کلیدواژه:
بیوفلاک،
پاسخ ایمنی،
عملکرد رشد،
کیفیت آب،
ماهی کپور معمولی،
مخمر.

چکیده

در این مطالعه اثرات رژیم غذایی با سطح پایین پروتئین حاوی ۰ (شاهد)، ۲ (B1)، ۴ (B2) و ۸ (B3) درصد مخمر ساکارومایسس سرویزیه بر عملکرد رشد و ایمنی ماهی کپور معمولی و همچنین کیفیت آب محیط پرورش به‌مدت ۵۶ روز مورد ارزیابی قرار گرفت. تعداد ۲۰۴ قطعه ماهی با میانگین وزن (۰/۳۳±۱۳/۱۴ گرم) در ۱۲ مخزن (هر تیمار با ۳ تکرار) توزیع شدند. نتایج نشان داد که ۲ درصد مخمر در جیره غذایی (B1) می‌تواند باعث بهبود وزن نهایی (۰/۹۲±۲۵/۰۵ گرم) و کاهش ضریب تبدیل غذایی (۰/۰۸±۱/۲۱) شود ($P<0/05$). همچنین در تیمار ۲ درصد مخمر (B1) فعالیت‌های آنزیم‌های گوارشی آمیلاز، لیپاز و پروتئاز روده در مقایسه با سایر تیمارهای آزمایشی افزایش معنی‌دار آماری داشت ($P<0/05$). رژیم غذایی حاوی ۲ درصد مخمر به‌طور معنی‌داری فعالیت لیزوزیم و ایمونوگلوبولین کل سرم را افزایش داد (به‌ترتیب ۰/۴۲±۲۶/۴۷ واحد/میلی‌لیتر/ دقیقه و ۰/۱۱±۱۶/۰۲ میلی‌گرم/میلی‌لیتر)، درحالی‌که کمپلمان ۵۰ سرم تفاوت آماری معنی‌داری بین تیمارها نداشت ($P\geq0/05$). غلظت آمونیاک کل (TAN) در تیمارهای B1 و B2 بیوفلاکی به‌طور معنی‌داری در مقایسه با دیگر تیمارهای آزمایشی کمتر بود ($P<0/05$). براساس نتایج حاضر، رژیم غذایی حاوی ۲ درصد مخمر در تیمار B1 می‌تواند فعالیت آنزیم‌های گوارشی، عملکرد رشد و پاسخ‌های ایمنی ماهی کپور معمولی پرورش یافته در محیط بیوفلاک را بهبود بخشد.

استناد: آدینه، حسین؛ جعفریان، حجت ا...؛ فرهنگی، محمد؛ کوهستانی، زهرا؛ هاشمیان‌فر، سید امیرمهدی (۱۴۰۳). بهبود عملکرد رشد، آنزیم‌های گوارشی ماهی کپور معمولی (Cyprinus carpio) و کیفیت آب با استفاده از جیره‌های حاوی مخمر ساکارومایسس سرویزیه در سیستم پرورش بیوفلاک. *نشریهٔ شیلات، مجله منابع طبیعی ایران*، ۷۷ (۴)، ۳۳۶-۳۲۵. DOI: http//doi.org/10.22059/jfisheries.2024.376478.1425

© نویسندگان.
ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.
DOI: http//doi.org/10.22059/jfisheries.2024.376478.1425

۱. مقدمه

ماهی کپور معمولی یکی از گونه‌های مهم پرورشی در مناطق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری جهان به‌شمار می‌رود (Tokur *et al*., 2006). این گونه به‌دلیل مقاومت زیاد در برابر نوسانات محیطی و استفاده از محدوده وسیعی از مواد غذایی قابل دسترس، به‌عنوان یکی از گونه‌های مهم پرورشی در ایران محسوب می‌شود (Salehi, 2003). با افزایش تولید آبزیان، مقادیر زیادی از متابولیت‌های ماهی یا آبزی همچون مواد جامد و مواد مغذی مانند غذای خورده نشده، مدفوع و اوره و آمونیاک وارد محیط آبی می‌شوند (Sharrer *et al*., 2007). برای کاهش اثرات مضر این مواد و افزایش کارایی تغذیه در آبزیان سیستم‌های دوستدار محیط‌زیست مورد توجه محققین قرار گرفته است که یکی از این روش‌ها پرورش آبزیان با بهره‌گیری از سامانهٔ بیوفلاک است.

فناوری بیوفلاک به‌عنوان یکی از ابزارهای توسعهٔ آبزی‌پروری شناخته شده است که به‌طور همزمان بر شرایط محیطی و اقتصادی اثرگذار است (Crab *et al*., 2012). اساس کار این فناوری، تبدیل ترکیبات نیتروژن‌دار به زیست‌تودهٔ میکروبی (بیوفلاک) است که در محیط پرورش به‌عنوان منبع غذایی مورد استفاده ماهی قرار می‌گیرد (Avnimelech, 2009; Adineh *et al*., 2021). فلاک‌های میکروبی به‌طور مداوم در محیط پرورش، پروتئین (اسیدهای آمینه ضروری)، اسیدهای چرب اشباع نشده، ویتامین‌ها و مواد معدنی را تأمین می‌کنند (Khanjani *et al*., 2023). با توجه به اینکه حدود ۶۰ درصد از هزینه‌های تولید و پرورش را غذا و تغذیه شامل می‌شود، بنابراین یکی از مسائل قابل توجه در پرورش آبزیان، استفاده از پروتئین‌های میکروبی و کاهش مدت زمان تولید در جهت کاهش هزینه‌ها و بالا بردن بازدهی تولید است. در این راستا استفاده از بیوفلاک می‌تواند تأثیرات مفیدی بر فعالیت آنزیم‌های گوارشی همچون پروتئاز، آمیلاز، سلولاز و لیپاز در آبزیان داشته باشد (Xu *et al*., 2012; Adineh *et al*., 2022; Azim and Little, 2008; Liu *et al*., 2018) که منجر به افزایش بهره‌وری تولید می‌شود.

تغذیه پر هزینه‌ترین بخش اجرایی در پرورش آبزیان محسوب می‌شود. یافتن ترکیبات غذایی جایگزین و ارزان قیمت به توسعهٔ آبزی‌پروری به‌میزان زیاد کمک می‌کند. مخمر نانوایی (*Saccharomyces cerevisiae*) موجود زندهٔ تک‌سلولی از خانوادهٔ قارچ‌ها است که ضمن رشد و تولیدمثل، از طریق عمل تخمیر به زندگی خود ادامه می‌دهد (Tewary and Patra, 2011). مخمر نانوایی، منبع مناسبی از پروتئین، اسیدهای آمینهٔ ضروری و بسیاری از عناصر معدنی و غیر معدنی (سدیم، منیزیم، کلسیم، پتاسیم، آهن، روی، مس، کبالت، منگنز، گوگرد، فسفات، نیتروژن، ید) و غنی از ویتامین‌های گروه B (بیوتین، کولین، نیاسین، اسید فولیک، اسید پانتونیک، پیریدوکسین، ریبوفلاوین و تیامین) است (Ebrahim and Abou-Seif, 2008). پروبیوتیک‌ها میکروارگانیسم‌های زندهٔ مطلوبی‌اند که خود یا متابولیت آنها به‌عنوان مکمل‌های غذایی در مزارع پرورش حیوانات استفاده می‌شوند (Limbu *et al*., 2024). در سال‌های اخیر از مخمر به‌دلیل ارزش غذایی آن از قبیل پروتئین‌ها، ویتامین‌ها، رنگدانه‌ها و کربوهیدرات‌های بسیار پیچیده برای مثال بتا–۱، ۳ گلوکان، تری‌هالوز، مانان به‌عنوان مواد غذایی برای انسان و حیوانات استفاده شده است (Ravindra, 2000)، مانان‌مخمر به‌عنوان محرک ایمنی دارای خاصیت ضد توموری هستند و منجر به تحریک فعالیت ماکروفاژها می‌شود (Nakano *et al*., 1999). بنابراین استفاده از مخمر به‌عنوان محرک رشد و ایمنی در جیرهٔ غذایی ماهی کپور معمولی پرورش یافته در محیط بیوفلاک می‌تواند در تسریع تولید پروتئین میکروبی کمک نماید. از این‌رو در این تحقیق از سطوح مختلف مخمر نانوایی در جیرهٔ غذایی ماهی کپور استفاده شد. بنابراین، هدف از اجرای این تحقیق، بررسی اثرات سطوح مختلف مخمر ساکارومایسیس سرویزیا بر عملکرد فیزیولوژی رشد، گوارش و خون ماهی کپور معمولی تغذیه شده با سطح پایین پروتئین در محیط بیوفلاک بود.

۲. روش‌شناسی پژوهش

۲–۱. آماده‌سازی جیرهٔ غذایی حاوی مخمر

برای تهیهٔ جیرهٔ پایهٔ حاوی مخمر ساکارومایسس سرویزیه با سطح پاین پروتئین (Adineh *et al*., 2022) اقلام غذایی مانند پودر ماهی، پودر گوشت، آرد سویا، آرد و سبوس گندم، روغن ماهی، روغن سویا، لسیتین، متیونین، لایزین، مکمل معدنی و مکمل ویتامینه تهیه و توسط نرم‌افزار جیره‌نویسی UFFDA تنظیم گردید (جدول ۱). بعد از تهیهٔ اقلام غذایی، ابتدا مواد اولیه

آسیاب، سپس از الک ۱۰۰ میکرونی عبور داده تا مواد به‌صورت پودر و همگن درآید. برای تهیهٔ خمیر از آب استریل استفاده شد و سپس خمیر به ۴ قسمت مساوی تقسیم گردید. ۴ تیمار آزمایشی حاوی سطوح صفر (شاهد)، ۲، ۴ و ۸ درصد مخمر در کیلوگرم غذا به‌طور مجزا آماده گردید. خمیر آماده شده هر تیمار به‌طور مجزا از چرخ گوشت عبور داده شد تا رشته‌های غذایی تهیه شود و سپس توسط باد پنکه خشک گردید. غذای ساخته شده خرد، بسته‌بندی و در یخچال نگهداری شد.

جدول ۱- میزان مواد مصرفی در جیرهٔ پایهٔ ماهی کپور معمولی

اقلام غذایی	برحسب گرم	آنالیز تقریبی غذا	
پودر ماهی	۷۰	پروتئین (٪)	۲۴/۶۰
پودر گوشت	۱۲۰	چربی (٪)	۵/۰۲
آرد سویا	۱۲۰	ماده خشک (٪)	۸۹/۹۵
آرد گندم	۳۸۰	انرژی (kcal/Kg)	۴۰۳۷/۸۱
پودر ذرت	۲۷۹		
روغن ماهی	۷		
روغن سویا	۷		
لیزین	۷		
متیونین	۵		
مکمل ویتامینه	۲/۵		
مکمل معدنی	۲/۵		

۲-۲. تهیهٔ ماهی کپور معمولی

تعداد ۲۰۴ قطعه بچه ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) با شرایط آزمایشگاه شیلات دانشگاه گنبد کاووس به‌مدت ۱۴ روز سازگار شدند. در زمان سازگاری ماهیان با غذای تجاری بدون هیچ گونه افزودنی به میزان ۲/۵ درصد وزن بدن در ۲ وعدهٔ غذایی تغذیه شدند.

۲-۳. طرح و شرح آزمایش

برای تشکیل فلاک اولیه، دو مخزن با حجم آبگیری ۴۰ لیتر (۲۰ لیتر آب مزرعه پرورش ماهی و ۲۰ لیتر آب شهری کلرزدایی شده) تهیه و به‌منظور تسریع در تشکیل تودهٔ فلاک تعداد ۱۰ قطعه ماهی کپور در هر مخزن رهاسازی و روزانه به‌میزان ۲ درصد وزن بدن به‌مدت ۱۰ روز غذادهی شدند. دمای آب در محدودهٔ ۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد، برای تأمین اکسیژن و جلوگیری از رسوب فلاک هوادهی شدید انجام و به‌منظور تکثیر باکتری‌های نیتریفیکاسیون در کمترین زمان قسمت بالای مخزن با پلاستیک مشکی پوشانده شد. با توجه به مقادیر پروتئین جیرهٔ تجاری (۳۵ درصد) و تزریق منبع کربنی ساکارز (کربن حدود ۹۹٪) نسبت C:N در محدودهٔ ۱۵ تنظیم گردید. پس از اینکه مقادیر مواد جامد معلق کل در آب به حدود ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر رسید (Najdegerami *et al*., 2016)، هوادهی قطع و حجم بیوفلاک تشکیل شده از توری با چشمهٔ ۱۰ میکرومتر عبور داده شد. به هر مخزن در گروه آزمایشی بیوفلاک مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر در لیتر از حجم اولیهٔ بیوفلاک تزریق گردید (Xu and Pan, 2013).

ماهیان با میانگین وزن ۰/۳۳±۱۳/۱۴ گرم در ۴ تیمار آزمایشی و هر یک با ۳ تکرار در مجموع ۱۲ مخزن با حجم ۵۰ لیتر آب حاوی فلاک ذخیره‌سازی شدند. ماهیان به‌میزان ۲/۵ درصد وزن بدن به‌مدت ۸ هفته با سطوح مختلف مخمر به‌میزان ۰ (شاهد)، ۲، ۴ و ۸ درصد در جیرهٔ پایه در ۳ نوبت (۸:۳۰ صبح، ۱۳:۳۰ ظهر و ۱۹:۳۰ عصر) غذادهی گردید. در پایان دورهٔ آزمایش شاخص‌های رشد و تغذیهٔ بچه ماهیان در هر مخزن با ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۱ و طول آنها با استفاده از تختهٔ بیومتری با دقت ۰/۱ سانتی‌متر اندازه‌گیری تا شاخص‌هایی چون وزن و طول نهایی تعیین گردد و براساس معادلات ریاضی و روابط محاسباتی وزن نهایی، افزایش وزن، نرخ رشد ویژه، ضریب تبدیل غذایی، کارایی تبدیل غذا و کارایی تبدیل پروتئین به شرح ذیل محاسبه شود:

افزایش وزن (WG, g)= میانگین وزن نهایی (گرم)- میانگین وزن اولیه (گرم)

ضریب رشد ویژه ($SGR, \%day^{-1}$)= ((ln وزن نهایی (گرم)- ln وزن اولیه (گرم))/ مدت‌زمان پرورش (روز))× ۱۰۰

ضریب تبدیل غذایی (FCR)= [مقدار غذای مصرف‌شده (گرم)/ (وزن نهایی (گرم)− وزن اولیه (گرم))]
کارایی تبدیل غذا (FCE, %)= (وزن به‌دست آمده (گرم)/ مقدار غذای مصرف شده (گرم))× ۱۰۰
نسبت کارایی پروتئین (PER)= (وزن به‌دست آمده (گرم)/ مقدار مصرف پروتئین (گرم))

۲−۴. سنجش فعالیت‌های آنزیم‌های گوارشی

تعداد ۳ قطعه ماهی پایان دورهٔ آزمایش به‌طور تصادفی از هر تکرار صید گردید. ناحیهٔ شکم پس از خشک شدن با الکل ضدعفونی سپس روده به‌طور کامل از بدن خارج و با سرم فیزیولوژی شستشو و پس از آن بلافاصله در فریزر با دمای ۸۰− ذخیره شد. فعالیت آنزیم آمیلاز به روش دستی با استفاده از کیت‌های آزمایشگاهی و فعالیت آنزیم لیپاز به روش آنزیمی، کالریمتری با استفاده از کیت‌های آزمایشگاهی شرکت پارس آزمون و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر انجام شد. طبق دستورالعمل شرکت سازنده، آمیلاز و پروتئاز براساس روش ورتینگتون (Worthington, 1993) و فعالیت لیپاز با هیدرولیز ۰/۵ میلی‌مولار از p-nitrophenyl myristate، ۰/۲۵ میلی‌مولار از 2-methoxy ethanol، ۵ میلی‌مولار از sodium cholate و ۰/۲۵ مولار بافر Tris/Hcl مورد سنجش قرار گرفت (Iijima *et al*., 1998).

۲−۵. سنجش فاکتورهای ایمنی سرم خون

پایان دورهٔ آزمایش، تعداد ۳ قطعه ماهی از هر تکرار صید و توسط پودر گل میخک بیهوش و از ورید ساقهٔ دمی ماهیان توسط سرنگ خونگیری انجام شد. نمونهٔ خون هر تکرار در سانتریفیوژ یخچال‌دار با دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد به‌مدت ۱۰ دقیقه با دور ۳۰۰۰ قرار داده و تا اندازه‌گیرهای آزمایشگاهی در دمای ۸۰− درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری شد. برای تعیین میزان فعالیت لیزوزیم سرم از روش ارائه‌شده توسط ELLIS (۱۹۹۰) استفاده شد. بدین‌منظور مقدار ۲۵ میکرولیتر از پلاسما به پلیت‌های ۹۶ خانه‌ای شکل الایزا افزوده شد. سپس مقدار ۱۷۵ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتریایی میکروکوکوس لیزودیکتیکوس (*Micrococcus Lysodeikticus*) در غلظت ۰/۰۲ میلی‌گرم در لیتر در ۰/۵ مولار بافر فسفات با pH ۶/۲ اضافه شد. با استفاده از دستگاه الایزاریدر Bio-Tek آمریکا جذب نوری اولیه در طول‌موج ۵۳۰ nm قرائت و پس از یک‌ساعت نگهداری در دمای اتاق، مجدداً جذب نوری اندازه‌گیری شد. هر واحد از فعالیت لایزوزیم براساس کاهش جذب (۰/۰۰۱ در دقیقه) تعیین شد. میزان ایمنوگلوبولین توسط کیت مخصوص به روش کدورت‌سنجی و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر انجام شد. فعالیت مکمل alternative (ACH_{50}) به روش Sunyer و Tort (۱۹۹۵) تعیین شد، بدین‌منظور فعالیت مکمل براساس همولیز گلبول‌های قرمز خرگوش اندازه‌گیری گردید. گلبول‌های قرمز خرگوش سه مرتبه با بافر اتیلن گلیکول تترا استیک اسید−منیزیوم−ژلاتین ورنال شسته شده و تعداد سلول‌های آن به کمک لام نئوبار در هر میلی‌لیتر بافر ۲×۱۰^{۸} سلول در میلی‌لیتر تنظیم شد. ابتدا جذب نوری لیز ۱۰۰ درصد گلبول‌های قرمز خرگوش با افزودن ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون فوق به ۳/۴ میلی‌لیتر آب مقطر تعیین و سپس نمونه‌های سرم ۱۰۰ برابر با بافر فوق، رقیق شد و حجم‌های متفاوتی از آن در لولهٔ آزمایش استریل تهیه و حجم همهٔ لوله‌ها به کمک بافر به ۲۵۰ میکرولیتر رسانده شد. سرانجام به همهٔ لوله‌ها ۱۰۰ میکرولیتر گلبول قرمز خرگوش اضافه و مخلوط فوق در دمای ۲۰ درجهٔ سانتی‌گراد به‌مدت ۹۰ دقیقه قرار داده شد و در پایان به هر کدام از لوله‌ها ۳/۱۵ میلی‌لیتر محلول ۰/۸۵ درصد کلرید سدیم افزوده شد. سپس لوله‌ها در ۱۶۰۰ دور به‌مدت ۱۰ دقیقه و در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد سانتریفیوژ گردید و جذب نوری محلول رویی در طول موج ۴۱۴ نانومتر قرائت شد.

۲−۶. سنجش کیفیت آب محیط پرورش

کیفیت آب از قبیل دمای آب، شوری، میزان اکسیژن محلول و هدایت الکتریکی (EC) توسط دستگاه پورتابل کیفیت‌سنج آب ساخت شرکت هک آمریکا مدل D40 اندازه‌گیری شد. میزان pH آب با استفاده از pH متر مدل ۸۲۷ متروم ساخت سوئیس انجام و قلیائیت به روش تیتراسیون و غلظت نیتروژن غیر آلی محلول شامل آمونیاک کل (TAN)، نیترات ($NO3^-$) و فسفات با استفاده از اسپکتروفتومتر براساس استاندارد آزمایشگاه سنجش شد(APHA, 1998).

۲-۷. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

ابتدا نرمال بودن داده‌ها توسط آزمون شاپیرو-ولیک (Shapiro-Wilk Test) مورد بررسی قرار گرفت. جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها از تجزیه واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) و برای بررسی اختلاف میانگین‌ها، از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد ($P<$ ۰/۰۵) استفاده شد. رسم نمودارها در محیط Excel و تجزیه و تحلیل داده‌ها توسط نرم‌افزار SPSS صورت گرفت.

۳. یافته‌های پژوهش

نتایج تجزیه واریانس عملکرد رشد و تغذیهٔ ماهی کپور تغذیه‌شده با سطوح مختلف مخمر در سیستم بیوفلاک در جدول ۲ نشان داده شده است. پس از ۵۶ روز دورهٔ تغذیه نیز وزن نهایی و وزن به‌دست آمده در تیمار B1 در مقایسه با دیگر تیمارهای آزمایشی افزایش معنی‌دار آماری داشت ($P<$۰/۰۵). درصد افزایش وزن و نرخ رشد ویژه در تیمارهای B1 افزایش معنی‌دار و در تیمار BC شاهد کاهش معنی‌دار آماری داشت ($P<$۰/۰۵). کمترین و بیشترین مقدار ضریب تبدیل غذایی به‌ترتیب در تیمارهای B1 و BC به‌دست آمد درحالی‌که بین تیمارهای B2 و B3 تفاوت آماری نداشت ($P>$۰/۰۵). کارایی تبدیل غذایی در تیمار B1 در مقایسه با دیگر تیمارهای آزمایشی افزایش معنی‌دار آماری داشت ($P<$۰/۰۵). بیشترین مقدار کارایی پروتئین در تیمار B1 به‌دست آمد درحالی‌که بین دیگر تیمارهای آزمایشی اختلاف وجود نداشت ($P>$۰/۰۵).

جدول ۲- عملکرد رشد ماهی کپور معمولی تغذیه شده با مخمر در محیط بیوفلاک

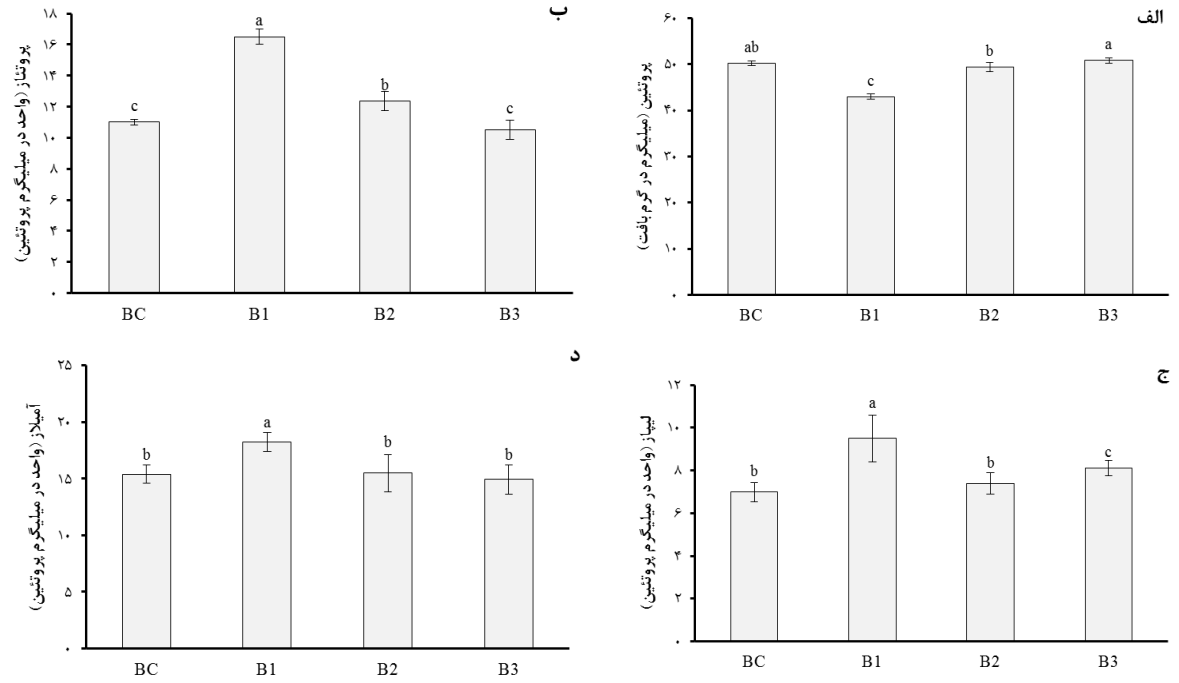
	BC (شاهد بدون مخمر)	B1 (۲٪ مخمر)	B2 (۴٪ مخمر)	B3 (۸٪ مخمر)
وزن اولیه (گرم)	۱۳/۲۱±۰/۳۴	۱۳/۰۰±۰/۲۹	۱۳/۰۴±۰/۴۲	۱۳/۳۲±۰/۳۲
وزن نهایی (گرم)	۲۲/۰۰±۱/۵۱^{b}	۲۵/۰۵±۰/۹۲^{a}	۲۳/۱۳±۱/۵۳^{b}	۲۳/۲۴±۰/۷۸^{b}
وزن بدست آمده (گرم)	۸/۷۹±۱/۵۰^{b}	۱۲/۰۴±۰/۷۹^{a}	۱۰/۰۸±۱/۶۳^{b}	۹/۹۱±۰/۸۶^{b}
افزایش وزن (درصد)	۶۶/۶۴±۱۱/۷۵^{c}	۹۲/۶۲±۵/۸۹^{a}	۷۷/۵۳±۱۳/۳۳^{b}	۷۴/۴۷±۷/۴۳^{bc}
نرخ رشد ویژه	۰/۹۰±۰/۱۲^{c}	۱/۱۶±۰/۰۵^{a}	۱/۰۲±۰/۱۳^{b}	۰/۹۹±۰/۰۷^{bc}
ضریب تبدیل غذایی	۱/۷۶±۰/۳۳^{a}	۱/۲۱±۰/۰۸^{c}	۱/۵۳±۰/۲۵^{b}	۱/۴۷±۰/۱۳^{b}
کارایی تبدیل غذا	۵۸/۱۶±۹/۹۸^{c}	۸۲/۷۴±۵/۴۷^{a}	۶۶/۷۲±۱۰/۷۸^{bc}	۶۸/۰۹±۵/۹۱^{b}
کارایی پروتئین	۰/۲۹±۰/۰۴^{b}	۰/۴۰±۰/۰۲^{a}	۰/۳۳±۰/۰۵^{b}	۰/۳۳±۰/۰۲^{b}

-حروف غیرمشابه در بالای اعداد در هر ردیف نشان از اختلاف معنی‌دار آماری بین تیمارهای آزمایشی است ($P<$۰/۰۵).

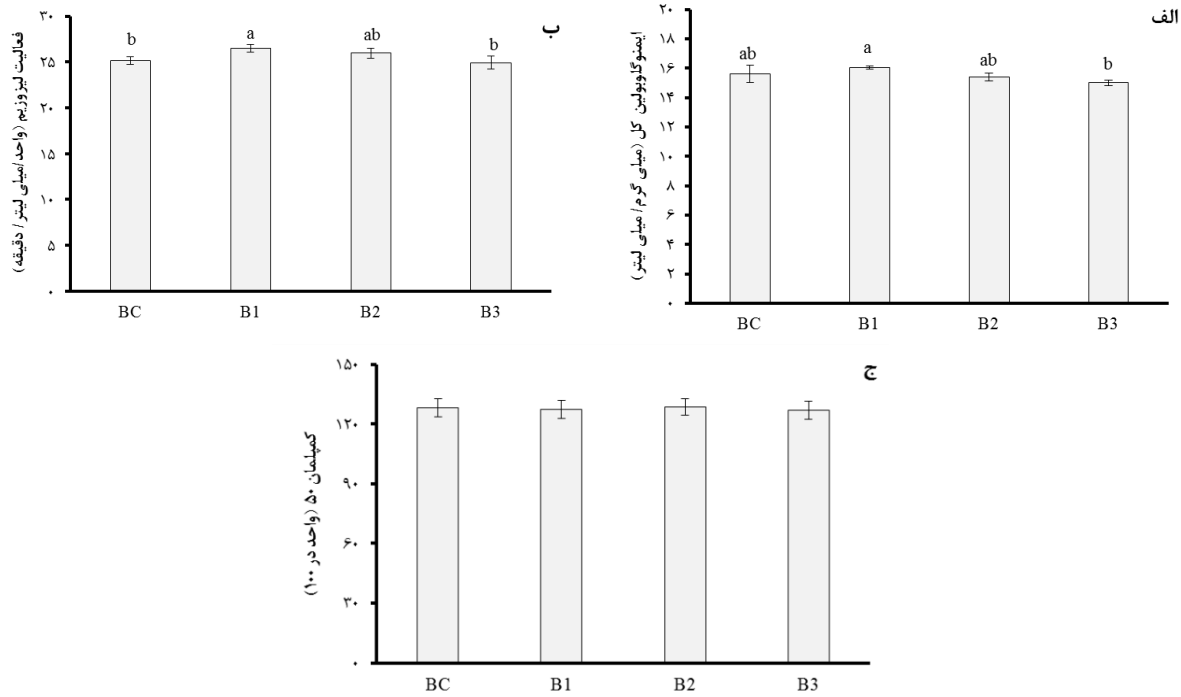
غلظت آنزیم‌های گوارشی ماهی کپور تغذیه شده با مخمر در محیط بیوفلاک بر حسب غلظت پروتئین روده در شکل ۱ نمایش داده شده است. غلظت پروتئاز در تیمار B1 در مقایسه با دیگر تیمارهای آزمایشی افزایش معنی‌دار آماری داشت ($P<$۰/۰۵). غلظت لیپاز در تیمار B1 افزایش و در تیمار B3 کاهش معنی‌داری داشت ($P<$۰/۰۵). غلظت آمیلاز در تیمار B1 افزایش معنی‌دار آماری نشان داد ($P<$۰/۰۵)، در حالی‌که در دیگر تیمارهای آزمایشی تفاوت مشاهده نشد ($P>$۰/۰۵).

شاخص‌های ایمنی سرم خون ماهی کپور تغذیه شده با سطوح مختلف مخمر در محیط بیوفلاک در نمودار شکل ۲ ارائه شده است. فعالیت لیزوزیم در تیمار B1 در مقایسه با دیگر تیمارهای آزمایشی افزایش معنی‌دار آماری داشت ($P<$۰/۰۵). ایمنوگلوبولین کل در سرم خون در تیمار B1 افزایش و در تیمار B3 کاهش نشان داد ($P<$۰/۰۵). فعالیت کمپلمان در تیمارهای مختلف تغذیه با سطوح مخمر در مقایسه با تیمار شاهد اختلاف آماری معنی‌داری نداشت ($P>$۰/۰۵).

آنالیز کیفیت آب محیط پرورش ماهی کپور تغذیه شده با مخمر در سیستم بیوفلاک در جدول ۳ ارائه شده است. مقادیر دمای آب، pH، اکسیژن محلول آب و هدایت الکتریکی در طول دورهٔ آزمایش بین تیمارهای مختلف آزمایشی اختلاف آماری نداشت ($P>$۰/۰۵). مقدار قلیائیت در تیمار B1 در مقایسه با دیگر تیمارهای آزمایشی افزایش داشت ($P<$۰/۰۵). غلظت آمونیاک در تیمار B3 در مقایسه با دیگر تیمارهای آزمایشی افزایش یافت در حالی‌که کمترین غلظت آن در تیمارهای B1 و B2 به‌دست آمد ($P<$۰/۰۵). غلظت نیترات و نیتریت در تیمارهای مختلف آزمایشی تفاوت آماری نداشت ($P>$۰/۰۵).



شکل ۱- نمودارهای فعالیت آنزیم‌های گوارشی ماهی کپور تغذیه شده با مخمر در محیط بیوفلاک. حروف غیرمشابه بر روی هر ستون نشان از تفاوت آماری بین تیمارهای آزمایشی است. علائم اختصاری BC، B1، B2 و B3 به‌ترتیب شامل (تیمار شاهد بدون مخمر، ۲، ۴ و ۸ درصد مخمر در جیرهٔ پایه)



شکل ۲- نمودارهای شاخص‌های ایمنی ماهی کپور تغذیه شده با مخمر در محیط بیوفلاک. حروف غیرمشابه بر روی هر ستون نشان از تفاوت آماری بین تیمارهای آزمایشی است. علائم اختصاری BC، B1، B2 و B3 به‌ترتیب شامل (تیمار شاهد بدون مخمر، ۲، ۴ و ۸ درصد مخمر در جیرهٔ پایه).

جدول ۳- شاخص‌های فیزیکو-شیمیایی آب محیط پرورش ماهی کپور تغذیه شده با مخمر در سیستم بیوفلاک

	BC (شاهد بدون مخمر)	B1 (۲٪ مخمر)	B2 (۴٪ مخمر)	B3 (۸٪ مخمر)
دما (سانتی‌گراد)	۲۵/۶۴±۰/۵۶	۲۵/۲۳±۰/۵۷	۲۵/۹۸±۰/۵۳	۲۵/۷۰±۰/۶۵
pH	۷/۶۸±۰/۵۵	۷/۸۵±۰/۱۱	۷/۹۴±۰/۱۰	۷/۹۹±۰/۱۱
اکسیژن محلول (میلی‌گرم در لیتر)	۷/۳۹±۰/۰۵	۷/۵۸±۰/۶۳	۷/۸۴±۰/۵۲	۷/۲۳±۰/۸۸
هدایت الکتریکی (میکروزیمنس بر سانتی‌متر)	۱۰۰۹/۸۰±۱۰۹/۳۸	۱۰۲۷/۶۰±۴۴/۳۴	۱۰۵۹/۵۷±۹۰/۹۹	۱۰۶۰/۵۰±۵۱/۹۶
قلیائیت (میلی‌گرم در لیتر کربنات کلسیم)	۳۲۷/۲۷±۲۰/۰۰^{ab}	۳۵۷/۳۰±۱۰/۴۵^{a}	۲۸۸/۱۹±۵/۵۰^{c}	۳۱۷/۰۷±۲۷/۸۵^{bc}
آمونیاک (میلی‌گرم در لیتر)	۰/۰۶۴±۰/۰۱۰^{b}	۰/۰۴۴±۰/۰۱۵^{c}	۰/۰۴۳±۰/۰۱۰^{c}	۰/۰۸۵±۰/۰۰۸^{a}
نیترات (میلی‌گرم در لیتر)	۵/۶۱±۱/۶۴	۶/۳۱±۱/۱۳	۶/۷۴±۱/۶۰	۵/۲۵±۱/۵۱
نیتریت (میلی‌گرم در لیتر)	۰/۱۲±۰/۰۵	۰/۰۷±۰/۰۷	۰/۰۷±۰/۰۴	۰/۱۴±۰/۰۹

حروف غیرمشابه در بالای اعداد در هر ردیف نشان از اختلاف معنی‌دار آماری بین تیمارهای آزمایشی است ($P<$۰/۰۵).

۴. بحث و نتیجه‌گیری نهایی

در صنعت آبزی‌پروری یکی از مهمترین روش‌های تحریک عملکرد رشد و بهبود وضعیت سلامت، استفاده از پروبیوتیک‌ها به‌عنوان مکمل‌های غذایی است که محافظ و دوستدار محیط‌زیست شناخته شده است (Das *et al*., 2013). مخمر ساکارومایسیس سرویزیا (*Saccharomyces cerevisiae*) به‌عنوان پروبیوتیک مخمری حاوی ترکیبات پروتئین و محرک‌های ایمنی همچون بتاگلوکان‌ها، اسیدهای نوکلئیک، الیگوساکاریدهای مانان و کیتین است که باعث افزایش عملکرد رشد و ایمنی می‌شود (Huang *et al*., 2015; Lu *et al*., 2019). از طرفی، در سال‌های اخیر بکارگیری فناوری بیوفلاک به‌منظور کاهش مصرف پروتئین جیرهٔ غذایی و استفاده از پروتئین میکروبی مورد توجه محققین قرار گرفته است (Adienh *et al*., 2022). استفاده از مخمر ساکارومایسس سرویزیه در جیرهٔ غذایی آبزیان دارای سابقهٔ تحقیقاتی زیادی است، درحالی‌که در مطالهٔ حاضر اثرات افزودن سطوح مختلف مخمر در جیرهٔ غذایی ماهی کپور پرورش یافته در محیط بیوفلاک مورد بررسی قرار گرفت. در مطالعهٔ حاضر نتایج به‌دست آمده از عملکرد رشد و تغذیهٔ ماهی کپور تغذیه شده با سطوح ۰ (شاهد)، ۲، ۴ و ۸ درصد مخمر در شرایط زیستی بیوفلاک نشان داد که ماهیان تغذیه شده با ۲ درصد مخمر در مقایسه با دیگر تیمارهای آزمایشی از بازدهی بهتری برخوردار بودند. بهبود عملکرد رشد در تیمار B1 با ۲ درصد مخمر را می‌توان درنتیجه وجود منابع ویتامین‌ها و کوآنزیم‌های تحریک‌کنندهٔ هورمون‌های رشد نسبت داد، از طرفی پلی‌آمین تولید شده توسط مخمرها پتانسیل چسبندگی قوی با موکوس روده دارند که نقش زیستی در متابولیسم سلول و سنتز پروتئین دارند و باعث بهبود عملکرد رشد و تغذیه می‌گردد (El-Bab *et al*., 2022; del Valle *et al*., 2023). مطالعات متعددی در خصوص بهبود عملکرد رشد و تغذیهٔ آبزیان تغذیه شده با مخمر ساکارومایسیس سرویزیا منتشر شده است (Hao *et al*., 2022; Anany *et al*., 2023; Perdichizzi *et al*., 2023)، درحالی‌که برخی از مطالعات دلالت بر عدم اثربخش بودن مخمر در جیرهٔ غذایی دارد که این اتفاق را می‌توان به طرح آزمایش، نوع رژیم غذایی، شرایط زیستی و فیزیولوژی آبزی نسبت داد (Rafiee and Vafadar, 2021).

فعالیت آنزیم‌های گوارشی تحت تأثیر تغذیه و شرایط زیستی تغییر می‌کند. در پژوهش حاضر، غلظت آنزیم‌های پروتئاز، آمیلاز و لیپاز در تیمار B1 در مقایسه با دیگر تیمارهای آزمایشی افزایش معنی‌دار آماری داشت. آنزیم‌های گوارشی گروهی از آنزیم‌ها هستند که ماکرومولکول‌ها را برای تسهیل جذب آن‌ها توسط بدن به عناصر سازندهٔ کوچک‌تر تجزیه می‌کنند. افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی در تیمار B1 نشان از این است که بکارگیری ۲ درصد مخمر در جیرهٔ غذایی ماهی کپور پرورش یافته در محیط بیوفلاک توصیه می‌شود. از طرفی بهبود شاخص‌های رشد و تغذیهٔ ماهی کپور در این تیمار می‌توان تأییدکنندهٔ این باشد که تیمار B1 در مقایسه با دیگر تیمارهای آزمایشی عملکرد بهتر دارد. این نتایج نشان می‌دهد که آنزیم‌های میکروبی می‌توانند

تجزیهٔ مواد مغذی موجود در غذا را بهبود بخشند و احتمالاً هضم و جذب غذا را تقویت می‌کنند (Luo *et al*., 2014). همچنین، بیوفلاک می‌تواند تأثیر تحریکی بر فعالیت آنزیم‌های گوارشی داشته باشد و از سویی، فلاک میکروبی استفاده از غذا را تسهیل کرده و رشد ماهی را در سیستم بیوفلاک افزایش می‌دهد (Long *et al*., 2015; Adineh *et al*., 2019).

از آنجا که یکی از اهداف مهم آبزی‌پروری در محیط بیوفلاک، استفاده از فلاک میکروبی به‌جای بخشی از غذای تجاری و همچنین کاهش سطح پروتئین جیرهٔ غذایی به‌منظور کاهش هزینهٔ تولید است. بنابراین در این مطالعه از جیرهٔ پایه با سطح پایین پروتئین استفاده شد. در خصوص کاهش غذادهی گزارش شده است، ماهی کپور معمولی پرورش یافته در محیط بیوفلاک می‌تواند کاهش نرخ غذادهی را تا ۲/۱۲ درصد وزن بدن را تحمل نماید (Adineh *et al*., 2021). در ارتباط با تعیین سطح مناسب پروتئین جیرهٔ غذایی بچه‌ماهیان کپور معمولی گزارش شده است که، زمانی‌که بچه‌ماهیان در سیستم بیوفلاک پرورش می‌یابند، می‌توان سطح پروتئین را از ۳۵ درصد به ۲۷ درصد کاهش داد که نشان از کمک بیوفلاک به سلامت فیزیولوژیک ماهی است (Mahmoudi Khoshdarehgi *et al*., 2019).

پری‌بیوتیک‌ها به‌عنوان منبع غذایی برای گسترش مجموعه باکتری‌های مفید در دستگاه گوارش باعث تحریک و بهبود عملکرد رشد می‌شود (Gibson and Roberfroid, 2008)، علاوه بر این، فلاک میکروبی با دارا بودن اسیدهای آمینهٔ ضروری، اسیدهای چرب غیر اشباع، ویتامین‌ها و مواد معدنی به‌عنوان منبع غذایی قابل دسترس برای آبزی محسوب می‌شود (Azim and Little, 2008; De Schryver *et al*., 2008). در همین ارتباط، برای ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بکارگیری مخمر ساکارومیسس سرویزیه در سطح ۲۸ و ۲۹ درصد جیره (Rafiee and Vafadar, 2021) و همچنین جایگزینی پروتئین تک‌یاختهٔ مخمر ساکارومیسس سرویزیه به‌مقدار حداقل ۲۵ درصد و حداکثر ۵۰ درصد پودر ماهی می‌تواند اثرات مثبتی بر شاخص‌های رشد و بازماندگی داشته باشد (Khosravi Farsani *et al*., 2022).

سیستم ایمنی غیر اختصاصی، مکانیسم دفاعی در برابر عوامل بیماری‌زا است که با استفاده از محرک‌های سودمند در جیرهٔ غذایی همچون پروبیوتیک‌ها می‌توان باعث ارتقاء سلامت آبزی شد (Zhang *et al*., 2012). سنجش پارامترهای خونی یکی از شاخص‌های مهم در بررسی وضعیت سلامت و فیزیولوژی ماهیان محسوب می‌شود (Řehulka *et al*., 2005)، از این‌رو در این مطالعه از سطوح مختلف مخمر ساکارومایسیس سرویزیا در جیرهٔ غذایی ماهی کپور معمولی استفاده شد. نتایج به‌دست آمده از فاکتورهای ایمنی سرم خون ماهی کپور نشان داد که بیشترین و کمترین فعالیت ایمنوگلوبولین کل و لیزوزیم سرم خون به‌ترتیب در تیمارهای B1 و B3 به‌دست آمد درحالی‌که فعالیت کمپلمان ۵۰ بین تیمارهای آزمایشی اختلاف آماری نداشت. ساکارومایسس سرویزیه یا مخمر نانوایی به‌عنوان یک پروبیوتیک در تغذیهٔ دام، طیور و آبزیان مورد استفاده قرار می‌گیرد (Saegusa *et al*., 2004). به‌نظر می‌رسد که این مخمر باعث بهبود رشد لاکتوباسیل‌ها و کاهش جمعیت باکتری‌های بیماری‌زا می‌شود. دیوارهٔ سلولی این مخمر حاوی کیتین، مانان و گلوکان بوده که اثرات آنها بر بهبود سیستم ایمنی ثابت شده است (Gatlin and Li, 2003). در این راستا گزارش شده، افزودن ۱ گرم مخمر ساکارومایسس سرویزیه جهت بهبود عملکرد جایگزینی میل‌ورم زرد (*Tenebrio molitor*) به‌جای پودر ماهی می‌تواند سلامت روده و پاسخ ایمنی و آنتی‌اکسیدانی ماهی تیلاپیا نیل (*Oreochromis niloticus*) اثرات مثبت داشته باشد (Anany *et al*., 2023). همچنین تغذیهٔ ماهی کفال خاکستری (*Mugil cephalus*) با سطوح مختلف مخمر نانوایی باعث بهبود فعالیت آنزیم‌های سرم خون و سیستم آنتی‌اکسیدانی کبد گردید (Akbary, 2021). مکمل‌های پروبیوتیک به‌دلیل نقش متعادل‌سازی سیستم ایمنی از طریق فعال کردن مستقیم ایمنی روده و سپس مخاط و بافت‌های لنفاوی مرتبط با روده حائز اهمیت می‌باشند (Siddik *et al*., 2022; Wang *et al*., 2023)، بنابراین بکارگیری آنها در جیرهٔ غذایی کاربردی زیادی دارد. بر این اساس، استفاده از ۱۳/۴ گرم مخمر در جیرهٔ پایهٔ ماهی (*Pseudobagrus ussuriensis*) منجر به تقویت سیستم ایمنی و مقاومت ماهی در برابر بیماری آئروموناس هیدروفیلا (*Aeromonas hydrophila*) شد (Hou *et al*., 2022). براساس نتایج به‌دست آمده در این مطالعه، رژیم غذایی حاوی ۲ درصد مخمر می‌تواند آنزیم‌های گوارشی، عملکرد رشد و پاسخ‌های ایمنی ماهی کپور معمولی پرورش یافته در محیط بیوفلاک را بهبود بخشد.

تشکر و قدردانی

مقالهٔ حاضر مستخرج از طرح تحقیقاتی به شماره ۶/۰۲/۱۲۴ مصوب شورای پژوهشی دانشگاه گنبد کاووس است. از زحمات همهٔ همکاران که ما را در اجرای این طرح یاری نمودند، کمال تشکر و قدردانی را دارم.

References

Adineh, H., jafaryan, H., Khademi Hamidi, M., Karimtabar, F.Z., Sedaghat, Z., 2021. The effects of reducing the feeding rates on growth and feed performance, blood biochemical parameters, and water quality in biofloc common carp (*Cyprinus carpio*) culture and clean systems. *Journal of Fisheries* 74(3), 453-466. DOI: 10.22059/jfisheries.2021.324020.1251(In Persian)

Adineh, H., Naderi, M., Hamidi, M.K., Harsij, M., 2019. Biofloc technology improves growth, innate immune responses, oxidative status, and resistance to acute stress in common carp (*Cyprinus carpio*) under high stocking density. *Fish and Shellfish Immunology* 95(1), 440-448. DOI: 10.1016/j.fsi.2019.10.057

Adineh, H., Naderi, M., Jafaryan, H., Khademi Hamidi, M., Yousefi, M., Ahmadifar, E., 2022. Effect of stocking density and dietary protein level in biofloc system on the growth, digestive and antioxidant enzyme activities, health, and resistance to acute crowding stress in juvenile common carp (*Cyprinus carpio*). *Aquaculture Nutrition* 1-15. DOI: 10.1155/2022/9344478

Akbary, P., 2021. Blood serum enzymes and antioxidant system of liver in grey mullet, *Mugil cephalus* Linnaeus 1758, fed with different levels of *Saccharomyces cerevisiae* yeast. *Journal of Aquaculture Development* 15(3), 1-11. DOI: 10.52547/aqudev.15.3.1(In Persian)

American Public Health Association (APHA). 1998. In: Clescert, L., Greenberg, A., Eaton, A. (Eds.), Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 20th edition. Washington, USA.

Anany, E.M., Ibrahim, M.A., El-Razek, I.M.A., El-Nabawy, E.S.M., Amer, A.A., Zaineldin, A.I., Dawood, M.A., 2023. Combined Effects of Yellow Mealworm (*Tenebrio molitor*) and *Saccharomyces cerevisiae* on the Growth Performance, Feed Utilization Intestinal Health, and Blood Biomarkers of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Fed Fish Meal-Free Diets. *Probiotics and Antimicrobial Proteins* 1-12. DOI: 10.1007/s12602-023-10199-8

Avnimelech, Y., 2009. Biofloc technology. A practical guide book. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, pp:182.

Azim, M.E., Little, D.C., 2008. The biofloc technology (BFT) in indoor tanks: water quality, biofloc composition, and growth and welfare of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture* 283(1-4), 29-35. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2008.06.036

Crab, R., Chielens, B., Wille, M., Bossier, P., Verstraete, W., 2010. The effect of different carbon sources on the nutritional value of bioflocs, a feed for *Macrobrachium rosenbergii* postlarvae. *Aquacultural Engineering* 41, 559-567. DOI: 10.1111/j.1365-2109.2009.02353.x

Das, A., Nakhro, K., Chowdhury, S. and Kamilya, D. 2013. Effects of potential probiotic *Bacillus amyloliquifaciens* FPTB16 on systemic and cutaneous mucosal immune responses and disease resistance of catla (*Catla catla*). *Fish and shellfish immunology* 35(5), 1547-1553. DOI: 10.1016/j.fsi.2013.08.022

De Schryver, P., Crab, R., Defoirdt, T., Boon, N., Verstraete, W., 2008. The basics of bio-flocs technology: the added value for aquaculture. *Aquaculture* 277(3-4), 125-137. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2008.02.019

del Valle, J.C., Bonadero, M.C., Gimenez, A.V.F., 2023. *Saccharomyces cerevisiae* as probiotic, prebiotic, synbiotic, postbiotics and parabiotics in aquaculture: An overview. *Aquaculture* 739342, DOI: 10.1016/j.aquaculture.2023.739342

Ebrahim, M., Abou-Seif, R., 2008. Fish meal replacement by yeast protei (*Saccharomyces cerevisiae*) supplemented with biogenic l-carnitin as a source of methionine plus lysine mixture in feed for Nile Tilapia. 8th international symposium on Tilapia in aquaculture. Central Laboratory for Aquaculture Research, Agriculture Research Center, Cairo, Egypt, pp: 999-1009.

El-Bab, A.F.F., Saghir, S.A., El-Naser, I.A.A., El-Kheir, S.M.A., Abdel-Kader, M.F., Alruhaimi, R.S., El-Raghi, A.A., 2022. The effect of dietary *saccharomyces cerevisiae* on growth performance, oxidative status, and immune response of sea bream (*Sparus aurata*). *Life* 12(7), 1013. DOI: 10.3390/life12071013

Ellis, A. E. 1990. Lysozyme Assays: In Stolen JS, Fletcher TC, Anderson DP, Roberson BS, Van Muiswinkel WB, editors. Techniques in: Fish Immunology. Fair Haven. NJ: SOS Publications, 101-103.

Gibson, G.R., 2008. Prebiotics as gut microflora management tools. *Journal of clinical gastroenterology* 42, S75-S79. DOI: 10.1097/MCG.0b013e31815ed097

Hao, Q., Xia, R., Zhang, Q., Xie, Y., Ran, C., Yang, Y., Zhou, Z., 2022. Partially replacing dietary fish meal by *Saccharomyces cerevisiae* culture improves growth performance, immunity, disease resistance, composition

and function of intestinal microbiota in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Fish and Shellfish Immunology* 125, 220-229. DOI: 10.1016/j.fsi.2022.05.014

Hou, X., Sun, L., Li, Z., Deng, X., Guan, H., Luo, C., Li, X., 2022. An Evaluation of Yeast Culture Supplementation in the Diet of *Pseudobagrus ussuriensis*: Growth, Antioxidant Activity, Nonspecific Immunity, and Disease Resistance to *Aeromonas hydrophila*. *Aquaculture Nutrition* 9739586, 1-10. DOI: 10.1155/2022/9739586

Huang, L., Ran, C., He, S., Ren, P., Hu, J., Zhao, X., Zhou, Z., 2015. Effects of dietary *Saccharomyces cerevisiae* culture or live cells with Bacillus amyloliquefaciens spores on growth performance, gut mucosal morphology, hsp70 gene expression, and disease resistance of juvenile common carp (*Cyprinus carpio*). *Aquaculture* 438, 33-38. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2014.12.029

Iijima, N., Tanaka, S., Ota, Y., 1998. Purfication and characterization of bile salt activated Lipase from the hepatopancreas of red sea bream (*Pagrus major*). *Journal of Fish Physiology and Biochemistry* 18, 59-69. DOI: 10.1023/A:1007725513389

Khanjani, M.H., Mozanzadeh, M.T., Sharifinia, M., Emerenciano, M.G.C., 2023. Biofloc: A sustainable dietary supplement, nutritional value and functional properties. *Aquaculture* 562, 738757. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2022.738757

Khosravi Farsani, A., Hashemzadeh, I., Pirali, E., 2022. Effects of dietary fish meal replacement with Yeast (*Saccharomyces cervisiae*) on growth and feeding indices rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Aquaculture Development* 15 (4), 57-69. DOI: 10.52547/aqudev.15.4.57 (In Persian)

Li, P., Gatlin III, D.M., 2004. Dietary brewer's yeast and the prebiotic Grobiotic™ AE influence growth performance, immune responses and resistance of hybrid striped bass (*Morone chrysops*× *M. saxatilis*) to *Streptococcus iniae* infection. *Aquaculture* 231(1-4), 445-456. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2003.08.021

Limbu, D., Sarkar, B.R., Adhikari, M.D., 2024. Role of Probiotics and Prebiotics in Animal Nutrition. Sustainable Agriculture Reviews: *Animal Biotechnology for Livestock Production* 4, 173-204. DOI: 10.1007/978-3-031-54372-2_6

Liu, G., Ye, Z., Liu, D., Zhao, J., Sivaramasamy, E., Deng, Y., Zhu, S., 2018. Influence of stocking density on growth, digestive enzyme activities, immune responses, antioxidant of *Oreochromis niloticus* fingerlings in biofloc systems. *Fish and shellfish immunology* 81, 416-422. DOI: 10.1016/j.fsi.2018.07.047

Long, L., Yang, J., Li, Y., Guan, C., Wu, F., 2015. Effect of biofloc technology on growth, digestive enzyme activity, hematology, and immune response of genetically improved farmed tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture* 448, 135-141. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2015.05.017

Lu, J., Qi, C., Limbu, S.M., Han, F., Yang, L., Wang, X., Chen, L., 2019. Dietary mannan oligosaccharide (MOS) improves growth performance, antioxidant capacity, non-specific immunity and intestinal histology of juvenile Chinese mitten crabs (*Eriocheir sinensis*). *Aquaculture* 510, 337-346. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2019.05.048

Luo, G., Gao, Q., Wang, C., Liu, W., Sun, D., Li, L., Tan, H., 2014. Growth, digestive activity, welfare, and partial cost-effectiveness of genetically improved farmed tilapia (*Oreochromis niloticus*) cultured in a recirculating aquaculture system and an indoor biofloc system. *Aquaculture* 422, 1-7. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2013.11.023

Mahmoudi Khoshdarehgi, M., Haji Moradloo, A., Dastar, B., 2019. Determining the appropriate level of protein in diet of *Cyprinus carpio* fry based on some parameters of growth, blood and serum biochemistry in biofloc system. *Journal of Applied Ichthyological Research* 7 (1), 61-84 (In Persian)

Najdegerami, E.H., Bakhshi, F., Lakani, F.B., 2016. Effects of biofloc on growth performance, digestive enzyme activities and liver histology of common carp (*Cyprinus carpio* L.) fingerlings in zero-water exchange system. *Fish Physiology and Biochemistry* 42(2), 457-465. DOI: 10.1007/s10695-015-0151-9

Nakano, T., Kanmuri, T., Sato, M., Takeuchi, M., 1999. Effect of astaxanthin rich red yeast (*Phaffia rhodozyma*) on oxidative stress in rainbow trout. *Biochimistry Biophysic Acta* 1426, 119-125. DOI: 10.1016/S0304-4165(98)00145-7

Perdichizzi, A., Meola, M., Caccamo, L., Caruso, G., Gai, F., Maricchiolo, G., 2023. Live Yeast (*Saccharomyces cerevisiae* var. boulardii) Supplementation in a European Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*) Diet: Effects on the Growth and Immune Response Parameters. *Animals* 13(21), 3383. DOI: 10.3390/ani13213383

Rafiee, G., Vafadar, A., 2021. The effect of substituting different levels of *Saccharomyces cerevisiae* yeast in the diet of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) to reduce the consumption of fish meal and their effect on growth indices, survival and carcass composition. *Journal of Animal Environment* 13(3), 201-208.DOI: 10.22034/aej.2020.247470.2346 (In Persian)

Ravindra, P., 2000. Value-added food: Single cell protein. *Biotechnology Advances* 18(6), 459-479. DOI: 10.1016/S0734-9750(00)00045-8

Řehulka, J., Minařík, B., Adamec, V., Řehulková, E., 2005. Investigations of physiological and pathological levels of total plasma protein in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture Research* 36(1), 22-32. DOI: 10.1111/j.1365-2109.2004.01177.x

Saegusa, S., Totsuka, M., Kaminogawa, S., Hosoi, T., 2004. *Candida albicans* and *Saccharomyces cerevisiae* induce interleukin-8 production from intestinal epithelial-like Caco-2 cells in the presence of butyric acid. *FEMS Immunology & Medical Microbiology* 41(3), 227-235. DOI: 10.1016/j.femsim.2004.03.006

Salehi, H. 2003. Market perspective on cultured carp products in Iran. Asia Pacific Conference on Aquaculture. Bangkok, Thailand. 45 p.

Sharrer, M.J., Tal, Y., Ferrier, D., Hankins, J.A., Summerfelt, S.T., 2007. Membrane biological reactor treatment of a saline backwash flow from a recirculating aquaculture system. *Aquaculture Engineering* 36, 159–176. DOI: 10.1016/j.aquaeng.2006.10.003

Siddik, M.A., Foysal, M.J., Fotedar, R., Francis, D.S., Gupta, S.K., 2022. Probiotic yeast Saccharomyces cerevisiae coupled with Lactobacillus casei modulates physiological performance and promotes gut microbiota in juvenile barramundi, Lates calcarifer. *Aquaculture* 546, 737346. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2021.737346

Sunyer, J.O., Tort, L., 1995. Natural hemolytic and bactericidal activities of sea bream *Sparus aurata* serum are affected by the alternative complement pathway. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 45, 333-345. DOI: 10.1016/0165-2427(94)05430-Z

Tewary, A., Patra, B.C., 2011. Oral administration of baker's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) acts as a growth promoter and immunomodulator in *Labeo rohita* (Ham.). *Journal of Aquaculture Research and Development* 2(1), 1-7.

Tokur, B., Ozkutuk, S., Atici, E., Ozyurt, G., Ozyurt, C.E., 2006. Chemical and sensory quality changes of fish fingers, made from mirror carp (*Cyprinus carpio* L., 1758), during frozen storage (-18C). *Food Chemistry* 99, 335-341. DOI: 10.1016/j.foodchem.2005.07.044

Wang, B., Thompson, K.D., Wangkahart, E., Yamkasem, J., Bondad-Reantaso, M.G., Tattiyapong, P., Surachetpong, W., 2023. Strategies to enhance tilapia immunity to improve their health in aquaculture. *Reviews in Aquaculture* 15, 41-56. DOI: 10.1111/raq.12731

Worthington, C.C., 1993. Worthington Enzyme Manual. Enzymes and related Biochemicals Worthington Chemical. New Jersey. USA. 730 p.

Xu, W.J., Pan, L.Q., 2012. Effects of bioflocs on growth performance, digestive enzyme activity and body composition of juvenile *Litopenaeus vannamei* in zero-water exchange tanks manipulating C/N ratio in feed. *Aquaculture* 356, 147-152. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2012.05.022

Xu, W.J., Pan, L.Q., 2013. Enhancement of immune response and antioxidant status of *Litopenaeus vannamei* juvenile in biofloc-based culture tanks manipulating high C/N ratio of feed input. *Aquaculture* 412, 117-124.

Zhang, J., Liu, Y., Tian, L., Yang, H., Liang, G., Xu, D., 2012. Effects of dietary mannan oligosaccharide on growth performance, gut morphology and stress tolerance of juvenile Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Fish and Shellfish Immunology* 33(4), 1027-1032. DOI: 10.1016/j.fsi.2012.05.001