



University of Guilan

University of Guilan with collaboration of Iranian
Aquaculture Society

Aquatic Animals Nutrition

Vol. 7, No. 4, 2022, pages: 61-79

DOI: 10.22124/janb.2022.22593.1173



Effect of *Lactobacillus plantarum* probiotic and different levels of soybean meal on growth and intestinal histomorphometry in rainbow trout diet

Asal Dabbagh^{*1}, Hosein Oraji¹, Abdolsamad Keramat Amirkolaie¹, Zarbakht Ansari²

1- Department of Fisheries, Faculty of Animal Sciences and Fisheries, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Mazandaran, Iran

2- Department of animal science, Faculty of animal science and fisheries, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Mazandaran, Iran

Received 03 August 2021

Revised 17 December 2021

Accepted 21 December 2021

KEYWORDS

Soybean meal
Probiotic
Growth
Intestinal sub-acute inflammation
Rainbow trout

ABSTRACT

The present study was performed to examine the effects of probiotic addition to diet containing soybean meal (SBM) on growth and intestinal histomorphometry of rainbow trout. A total of 300 fry with mean initial weight of 20.05 ± 0.20 g were distributed to 12 tanks for 90 days. Experimental diets were included control (SBM 0 + probiotic 0), SBM 0 + probiotic 1, SBM 20% + probiotic 0, SBM 20% + probiotic 1, SBM 40% + probiotic 0 and SBM 40% + probiotic 1. On the 30th day, the highest body weight increasing rate (BWI %) and specific growth rate (SGR) were observed in diet containing SBM 0 (0 and probiotic 1) and SBM 20% + probiotic. On the 60th day, adding probiotic to SBM 0 and SBM 20% led to the highest BWI ($p < 0.05$). The lowest values of final weight, BWI (%) and SGR were achieved in SBM 40% without probiotic ($p < 0.05$). Feed efficiency ratio was elevated in diets containing SBM 40% ($p < 0.05$). On the 90th day, final weight, final length and SGR were highest in fish fed SBM 0 (0 and 1 probiotic) and SBM 20% containing probiotic ($p < 0.05$). According to intestinal histomorphometry, on the 60th day, the highest villus height was found by supplementation of probiotic to SBM 0 ($p < 0.05$). Epithelium thickness was significantly reduced by increasing SBM level to 40% ($p < 0.05$). The greatest mucous thickness and goblet cells were observed in SBM 0 (0 and 1 probiotic) and SBM 20% containing probiotic groups ($p < 0.05$). According to results on the 90th day, villus height was significantly decreased by SBM level increasing ($p < 0.05$). Epithelium thickness, mucous thickness and goblet cell in diet containing SBM 40% were lower than those in the other treatments ($p < 0.05$). Considering present study, addition of probiotic to SBM 20% is beneficent to improve growth rate and intestinal histology.

*Corresponding author: a.dabbagh1401@yahoo.com



"مقاله پژوهشی"

تأثیر پروبیوتیک *Lactobacillus plantarum* در جیره حاوی سطوح مختلف کنجاله سویا بر رشد و ریخت‌سنجی بافتی روده قزل‌آلای رنگین‌کمان

عسل دباغ^{۱*}، حسین اورجی^۱، عبدالصمد کرامت امیرکلایی^۱، زربخت انصاری^۲

۱- گروه شیلات، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، مازندران

۲- گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، مازندران

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۹/۳۰

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۰/۰۹/۲۶

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۵/۱۲

کلمات کلیدی

چکیده

مطالعه حاضر به منظور بررسی اثرات افزودن پروبیوتیک در جیره حاوی آرد سویا بر رشد و ریخت‌سنجی بافتی (هیستومورفومتری) روده قزل‌آلای رنگین‌کمان انجام شد. ۳۰۰ عدد بچه‌ماهی با وزن متوسط اولیه 0.2 ± 0.05 گرم در ۱۲ واحد آزمایشی به مدت ۹۰ روز توزیع شدند. جیره‌های آزمایشی شامل شاهد (سویای صفر + پروبیوتیک صفر)، سویای صفر + پروبیوتیک ۱، سویای ۲۰٪ + پروبیوتیک صفر، سویای ۲۰٪ + پروبیوتیک ۱، سویای ۴۰٪ + پروبیوتیک صفر و سویای ۴۰٪ + پروبیوتیک ۱ بودند. در روز ۳۰، بالاترین درصد افزایش وزن بدن و نرخ رشد ویژه در جیره‌های صفر (پروبیوتیک صفر و ۱) و ۲۰٪ سویا حاوی پروبیوتیک مشاهده شد ($p < 0.05$). در روز ۶۰، افزودن پروبیوتیک به سویای صفر و ۲۰٪ منجر به بالاترین افزایش وزن بدن شد ($p < 0.05$). کمترین مقادیر وزن نهایی، افزایش وزن بدن و نرخ رشد ویژه در سویای ۴۰٪ فاقد پروبیوتیک به دست آمد ($p < 0.05$). ضریب تبدیل غذایی در جیره‌های حاوی ۴۰٪ سویا افزایش یافت ($p < 0.05$). در روز ۹۰، وزن نهایی، درازای نهایی و نرخ رشد ویژه در ماهیان تغذیه‌شده با سویای صفر (پروبیوتیک صفر و ۱) و سویای ۲۰٪ حاوی پروبیوتیک بالاترین مقدار را نشان داد ($p < 0.05$). طبق مطالعات ریخت‌سنجی بافتی روده، در روز ۶۰، بالاترین ارتفاع پرز با افزودن پروبیوتیک به سویای صفر مشاهده شد. ضخامت بافت پوششی روده با افزایش سطح سویا به ۴۰٪ به طور معنی‌دار کاهش یافت ($p < 0.05$). بیشترین ضخامت مخاط و یاخته‌های جامی در تیمارهای سویای صفر (پروبیوتیک صفر و ۱) و سویای ۲۰٪ حاوی پروبیوتیک مشاهده شد ($p < 0.05$). طبق نتایج روز ۹۰، با افزایش سطح سویا، ارتفاع پرز به طور معنی‌دار کاهش یافت ($p < 0.05$). ضخامت بافت پوششی روده، ضخامت مخاط و تعداد یاخته جامی در تیمارهای حاوی ۴۰٪ سویا کمتر از دیگر تیمارها بود ($p < 0.05$). با توجه به مطالعه حاضر افزودن پروبیوتیک به سطح ۲۰٪ سویا برای بهبود رشد و بافت‌شناسی روده مفید است.

مقدمه

غلظت بالای مواد مغذی به خصوص پروتئین در آرد ماهی و همچنین کاهش آن در بازار جهانی باعث شده است که این خوراک غذایی به عنوان یک ترکیب غذایی گران قیمت محسوب شود (Lin and Mui, 2017). از طرفی، تأمین آرد ماهی به صید ماهی وابسته است و این امر منجر به کاهش دسترسی این منبع می شود. به دلیل افزایش تقاضای آرد ماهی برای تهیه جیره و در دسترس نبودن همیشگی آن به عنوان یک منبع پایدار و کیفیت متفاوت، تحقیقات زیادی برای جایگزین کردن این منبع پروتئینی با منابع دیگر تأمین کننده پروتئین با قابلیت دسترسی بیشتر و قیمت ارزان تر انجام شده است (El-Sayed, 1999). منابع پروتئینی گیاهی، فراوان و در دسترس هستند. تهیه این منابع به راحتی امکان پذیر است، از قیمت ارزانی برخوردارند که سبب کاهش قیمت نهایی جیره می شود و با محیط زیست مغایرتی ندارند. آرد سویا در میان پروتئین های گیاهی، مهم ترین منبع پروتئینی محسوب می شود که به علت داشتن الگوی اسید آمینه شبیه به آرد ماهی می توان استفاده کرد (Storebakken et al. 2000). آرد سویا در دسترس بوده و به دلیل داشتن قیمت پایین تر نسبت به آرد ماهی از لحاظ اقتصادی برای پرورش دهندگان حائز اهمیت است. اگرچه، استفاده از این منبع به دلیل داشتن ترکیبات ضد مغذی و اثرات سوء بر روده ماهیان به خصوص آزاد ماهیان محدود است (Bakke-McKellep et al. 2000).

از عوامل ضد تغذیه ای سویا می توان به بازدارنده های پروتئازی، کربوهیدرات های غیرقابل هضم، لکترین ها و ساپونین ها اشاره کرد. پلی ساکاریدهای غیرنشاسته ای از دیگر ترکیبات ضد مغذی موجود در سویاست که سبب کاهش دسترسی مواد و کارایی غذا می شود. تأثیرات عوامل ضد تغذیه ای بر رشد، مصرف غذا، هضم و جذب مواد مغذی است (Francis et al. 2001). علاوه بر این، متیونین موجود در سویا بسیار کم است و عدم تعادل اسیدهای آمینه سبب کمبود اسیدهای آمینه ضروری شده و محدودیت رشد را در پی دارد. همچنین، وجود آرد سویا در جیره باعث پاسخ التهابی در بخش انتهایی روده آزاد ماهیان می شود (Baeverfjord and Krogdahl et al. 1996; Bakke-McKellep et al.

2000). Baeverfjord و Krogdahl (۱۹۶۶) این وضعیت را به عنوان التهاب غیر عفونی نیمه حاد یا انتریتیس (تورم روده) در روده خلفی شرح دادند. عوامل مختلف بر ایجاد و شدت تورم روده، وجود سطوح بالای از عوامل ضد تغذیه ای در سویا مانند ساپونین، منابع مختلف سویا و سطوح مختلف آن در جیره غذایی است (Uran, 2008).

تخمیر سویا توسط پروبیوتیک، به افزایش قابلیت استفاده از آرد سویا و تجزیه ترکیبات ضد تغذیه ای منجر می شود (Su et al, 2018). باکتری لاکتوباسیلوس پلانتاروم یک باکتری گرم مثبت، میله ای شکل و تولید کننده لاکتیک اسید به حساب می آید (Zheng et al. 2020). تجمع چنین گونه های پروبیوتیکی در لوله گوارش ماهی ممکن است موجب بهبود واکنش التهابی روده ای ماهی قزل آلا تحت تأثیر جیره حاوی آرد سویا شود. Wang و همکاران (۲۰۱۶) نشان دادند که افزودن پروبیوتیک *Lactobacillus plantarum* در توربوت (*Scophthalmus maximus* L.) تغذیه شده با جیره حاوی آرد سویا منجر به بهبود عملکرد رشد و جبران اثر تخریبی آرد سویا بر روده می شود. بنابراین، در مطالعه کنونی اثرات پروبیوتیک *Lactobacillus plantarum* بر رشد و ریخت سنجی بافتی (هیستومورفومتری) روده قزل آلائی رنگین کمان تغذیه شده با آرد سویا بررسی شد.

مواد و روش ها

آماده سازی مخازن و شرایط آزمایشی

تعداد ۳۰۰ عدد بچه ماهی قزل آلائی رنگین کمان از مرکز پرورش ماهی واقع در ساری خریداری و به مرکز پرورش واقع در روستای دراز محله ساری منتقل شدند. ماهیان پس از ۱۰ روز سازگاری با محیط در مخازن پرورشی توزیع شدند. طی این مدت، تغذیه با جیره غذایی تجاری (شرکت به دانه، ایران) انجام شد. در هر مخزن آزمایشی ۲۵ عدد بچه ماهی با میانگین وزن و درازای اولیه $20/05 \pm 0/2$ گرم و $12/3 \pm 0/08$ سانتی متر به مدت ۹۰ روز قرار گرفت. برای پرورش از مخازن فایبرگلاس ۳۰۰ لیتری استفاده شد که مجموعاً با توجه به ۶ تیمار و ۲ تکرار، ۱۲ مخزن به این منظور اختصاص داده شد و با حجم ۲۵۰ لیتر از منبع آب چاه آب گیری شد. تعویض آب مخازن به صورت روزانه یکبار به میزان ۱۰۰٪ انجام شد

و ۱۵٪ در نظر گرفته شدند (Halver and Hardy, 2002). تیمارهای مختلف آزمایشی بر اساس سطوح مختلف آرد سویا (صفر، ۲۰ و ۴۰٪) همراه با سطح صفر (فاقد پروبیوتیک) و ۱ پروبیوتیک (10^9 CFU) تهیه شدند (Uran, 2008). پروبیوتیک به شکل آرد از شرکت زیست-درمان تهیه و با روغن جیره مخلوط شد. غذادهی در حد اشباع به مدت ۹۰ روز انجام شد.

تیمارهای آزمایشی شامل تیمار ۱: جیره کنترل حاوی آرد ماهی (آرد سویا صفر و پروبیوتیک صفر)، تیمار ۲: جیره حاوی آرد سویا صفر + پروبیوتیک ۱، تیمار ۳: جیره حاوی آرد سویا ۲۰٪ + پروبیوتیک صفر، تیمار ۴: جیره حاوی آرد سویا ۲۰٪ + پروبیوتیک ۱، تیمار ۵: جیره حاوی آرد سویا ۴۰٪ + پروبیوتیک صفر، تیمار ۶: جیره حاوی آرد سویا ۴۰٪ + پروبیوتیک ۱.

و شستشوی روزانه مخازن با برس بود. فراسنجه‌های کیفی آب به صورت هفتگی کنترل شدند: میانگین دما $17.25 \pm$ ، pH 7.39 ± 0.08 ، اکسیژن محلول 7.55 ± 0.39 میلی‌گرم در لیتر، هدایت الکتریکی 212 ± 502.20 مو بر سانتی‌متر، شوری 0.25 ppt و TDS 3.33 ± 256.2 میلی‌گرم در لیتر.

ساخت جیره و تیمار بندی

ترکیب مواد اولیه خوراکی در جدول ۱ ارائه شده است. غذاسازی با مخلوط کردن نسبت معین از اقلام غذایی، افزودن آب و رد شدن از چرخ گوشت با اندازه چشمه ۲/۵ میلی‌متر برای تهیه پلت انجام شد. میزان پروتئین و چربی غذای پایه بر حسب نیاز بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان به ترتیب ۴۴

جدول ۱ مواد اولیه جیره‌های آزمایشی بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان

اقلام اولیه	شاهد (سویا صفر)	سویا ۲۰٪	سویا ۴۰٪
پودر ذرت	۱۰	۷	۴/۱
گلوتن گندم	۱۲/۲	۱۵/۹	۳۰
پودر ماهی	۵۰	۳۲	۰
آرد گندم	۱۵	۱۰	۷
پودر سویا	۰	۲۰	۴۰
روغن ماهی	۸	۱۰	۸
ویتامین C	۰/۲	۰/۲	۰/۲
دی‌کلسیم فسفات	۱	۱	۱
کولین کلراید	۰/۶	۰/۶	۰/۶
L-lysine	۰	۰/۳	۱/۷
DL-methionin	۰	۰	۰/۴
مکمل معدنی ^۱	۱/۵	۱/۵	۱/۵
مکمل ویتامینی ^۲	۱/۵	۱/۵	۱/۵

^۱ مکمل معدنی تشکیل شده از ۲۶۰۰ میلی‌گرم منگنز، ۶۰۰ میلی‌گرم مس، ۶۰۰۰ میلی‌گرم آهن، ۴۶۰۰ میلی‌گرم روی، ۵۰ میلی‌گرم سلنیوم، ۱۰۰ میلی‌گرم ید، ۵۰ میلی‌گرم کبالت، ۱۰۰۰۰۰ میلی‌گرم کولین کلراید.

^۲ مکمل ویتامینی تشکیل شده از ۱۲۰۰۰۰۰ واحد ویتامین A، ۴۰۰۰۰۰ واحد ویتامین D₃، ۳۰۰۰ واحد ویتامین E، ۵۴۰۰ میلی‌گرم ویتامین C، ۲۰۰ میلی‌گرم ویتامین B₁، ۳۳۶۰ میلی‌گرم ویتامین B₂، ۷۲۰۰ میلی‌گرم ویتامین B₃، ۹۰۰۰ میلی‌گرم ویتامین B₅، ۲۴۰۰ میلی‌گرم ویتامین B₆، ۶۰۰ میلی‌گرم ویتامین B₉، ۴ میلی‌گرم ویتامین B₁₂.

سنجش شاخص‌های رشد و تغذیه‌ای

در ابتدای پرورش، روزهای ۳۰، ۶۰ و انتهای دوره ۹۰ روزه، ماهیان هر مخزن به‌طور انفرادی توزین شدند و طول آنها با

استفاده از کولیس اندازه‌گیری شد. شاخص‌های رشد شامل افزایش وزن بدن، نرخ رشد ویژه، ضریب تبدیل غذایی، درصد افزایش وزن بدن و میزان بازماندگی در پایان آزمایش از طریق روابط زیر محاسبه شدند (Wang et al. 2016).

وزن اولیه / (وزن اولیه - وزن نهایی) × ۱۰۰ = درصد افزایش وزن
 زمان دوره آزمایش / (لگاریتم وزن اولیه - لگاریتم وزن نهایی) × ۱۰۰ = نرخ رشد ویژه (درصد/روز)
 (افزایش وزن ماهی / غذای خورده شده در طول دوره پرورش (گرم)) = ضریب تبدیل غذایی
 (تعداد اولیه ماهیان / تعداد نهایی ماهیان) × ۱۰۰ = میزان بازماندگی

ریخت‌شناسی و بافت‌شناسی دستگاه گوارش

مطالعات ریخت‌سنجی بافتی (هیستومورفومتری) توسط دوربین دیجیتالی Dino-Lite lens (ساخت کشور تایوان) و برنامه Dino-capture 2 software انجام شد (Kalantari et al. 2015; Shahrooz et al. 2018). در روزهای ۳۰، ۶۰ و ۹۰ روز از هر مخزن، ۳ ماهی به‌طور تصادفی صید شدند و پس از کالبدشکافی، دومین قسمت از روده هر ماهی را جدا کردیم. ۲ سانتی‌متر از قسمت دیستال روده در مخلوط فرمالین تثبیت شد. نمونه‌ها پس از آبیگری (دهیدراسیون) مطابق با شیوه‌های استاندارد در پارافین خوابانده شد. ۳ الی ۴ سطح مقطع با ضخامت ۵ میکرومتر رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین انجام شد. برای شمارش یاخته‌های جامی از روش رنگ آمیزی PAS استفاده کردیم و در طول ۲۰۰ میکرومتر از چین شمارش شد. ریخت‌شناسی چین‌های مخاطی، فراوانی یاخته‌های جامی، میزان گستردگی لامینا پروپریا و میزان ضخامت مخاط زیر اپی‌تلیال قطعات پس از عکس‌برداری در زیر میکروسکوپ نوری (MEDIC M-107 BN, China) بررسی شد (Uran, 2008).

نتایج

نتایج فراسنجه‌های رشد و بازماندگی تیمارهای تغذیه‌شده با سطوح مختلف کنجاله سویا و پروبیوتیک در روزهای صفر، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ در جدول ۱ آورده شده است. در روز ۳۰، وزن نهایی و درازای نهایی به‌طور معنی‌دار در ماهیان تغذیه‌شده با ۴۰٪ سویا کاهش یافتند ($p < 0.05$)، در حالی که ضریب تبدیل غذایی به‌طور معکوس در تیمارهای مذکور افزایش یافت ($p < 0.05$). بالاترین درصد افزایش وزن و نرخ رشد ویژه در جیره‌های حاوی صفر (پروبیوتیک صفر و ۱) و ۲۰٪ سویا حاوی پروبیوتیک مشاهده شد ($p < 0.05$)، در حالی که وزن اولیه، درازای اولیه و بازماندگی تفاوت معنی‌داری را بین تیمارها نشان ندادند ($p > 0.05$). در روز ۶۰، وزن نهایی در ماهیان تغذیه‌شده با سویا صفر (پروبیوتیک ۱) به‌طور معنی‌دار بالاتر از دیگر تیمارها بود ($p < 0.05$). بالاترین درصد افزایش وزن با افزودن پروبیوتیک به سویا صفر و ۲۰٪ به‌دست آمد ($p < 0.05$). کمترین مقادیر وزن نهایی، درصد افزایش وزن و نرخ رشد ویژه در سویای ۴۰٪ فاقد پروبیوتیک مشاهده شد ($p < 0.05$). ضریب تبدیل غذایی در جیره‌های حاوی ۴۰٪ سویا (پروبیوتیک صفر و ۱) به‌طور معنی‌دار افزایش یافت ($p < 0.05$). بازماندگی با افزودن پروبیوتیک به سویای ۲۰٪ به‌طور معنی‌دار بالاتر از سویای ۴۰٪ (پروبیوتیک صفر) بود ($p < 0.05$) و با دیگر تیمارهای آزمایشی تفاوت معنی‌داری نداشت ($p > 0.05$). همچنین، درازای نهایی تحت تأثیر سطوح سویا و پروبیوتیک قرار نگرفت ($p > 0.05$). طبق نتایج روز ۹۰، وزن نهایی، درازای نهایی و نرخ رشد ویژه در ماهیان تغذیه

تجزیه و تحلیل آماری

نرمال‌بودن داده‌ها از روش کولموگروف-اسمیرنوف به کمک نرم افزار آماری SPSS نسخه ۲۲ انجام شد. مقایسه میانگین تیمارها به کمک آزمون چند دامنه‌ای دانکن با درصد خطای ۵٪ انجام شد. داده‌ها با استفاده از روش آزمون واریانس دو طرفه در قالب 2×3 فاکتوریل به برای تعیین اثر متقابل سطوح پروبیوتیک و سطوح آرد سویا تجزیه و تحلیل شدند.

سویای ۲۰٪ حاوی پروبیوتیک مشاهده شد، در حالی که کمترین مقادیر در ماهیان تغذیه شده با سویای ۴۰٪ بدون پروبیوتیک به دست آمد ($p < 0/05$). همچنین، ضخامت پرز، ضخامت پارین و ضخامت لایه عضلانی تحت تأثیر تیمارهای مختلف قرار نگرفتند ($p > 0/05$). طبق نتایج روز ۹۰، ارتفاع پرز در جیره سویای صفر حاوی پروبیوتیک به طور معنی دار بالاتر از دیگر تیمارها بود، ولی با تیمار سویای صفر (بدون پروبیوتیک) تفاوت معنی دار نداشت ($p > 0/05$). همچنین، با افزایش سطح سویا ارتفاع پرز به طور معنی دار کاهش یافت ($p < 0/05$). ضخامت بافت پوششی روده، ضخامت مخاط و تعداد یاخته جامی در تیمارهای حاوی ۴۰٪ سویا (پروبیوتیک صفر و ۱) به طور معنی دار کمتر از دیگر تیمارها بود ($p < 0/05$). بالاترین ضخامت مخاط و تعداد یاخته جامی در سویای صفر (پروبیوتیک صفر و ۱) و سویای ۲۰٪ حاوی پروبیوتیک به دست آمد ($p < 0/05$). همچنین، ضخامت مخاط در روز ۹۰ اثر متقابلی بین سطح سویا و پروبیوتیک نشان داد ($p < 0/05$). ضخامت مخاط با افزایش سطح سویا در جیره به استثنای سطح ۲۰٪ حاوی پروبیوتیک به طور معنی دار کاهش یافت ($p < 0/05$). این در حالی است که ضخامت پرز، ضخامت پارین و ضخامت لایه عضلانی تحت تأثیر تیمارهای مختلف قرار نگرفتند ($p > 0/05$).

شده با سویای صفر (پروبیوتیک صفر و ۱) و سویای ۲۰٪ حاوی پروبیوتیک بالاترین مقدار بود ($p < 0/05$). ضریب تبدیل غذایی بیشترین و کمترین مقادیر را به ترتیب در جیره-های سویای ۴۰٪ (بدون پروبیوتیک) و سویای صفر حاوی پروبیوتیک نشان دادند ($p < 0/05$). همچنین، بازماندگی با افزودن پروبیوتیک به سویای صفر و ۲۰٪ به طور معنی دار بالاتر از سویای ۴۰٪ (پروبیوتیک صفر) بود ($p < 0/05$). علاوه بر این، آزمون فاکتوریل طبق جدول ۳ نشان داد در شاخص‌های درازای نهایی و درصد افزایش وزن بدن در روز ۹۰ بین سطوح سویا و پروبیوتیک اثر متقابل وجود داشت ($p < 0/05$). ریخت‌سنجی بافتی (هیستومورفومتری) روده ماهیان تغذیه شده با سطوح مختلف سویا و پروبیوتیک (جدول ۴) نشان داد، در روز ۳۰ شاخص‌های اندازه‌گیری شده روده از جمله ارتفاع پرز، ضخامت پرز، ضخامت بافت پوششی (اپی‌تلیوم) روده، ضخامت مخاط، ضخامت پارین، ضخامت لایه عضلانی و تعداد یاخته‌های جامی اختلاف معنی دار بین تیمارهای آزمایشی نداشتند ($p > 0/05$). در روز ۶۰، بالاترین ارتفاع پرز با افزودن پروبیوتیک به سویای صفر مشاهده شد و تفاوت معنی‌داری با سویای صفر (بدون پروبیوتیک) و سویای ۲۰٪ حاوی پروبیوتیک نداشت ($p > 0/05$). ضخامت بافت پوششی روده با افزایش سطح سویا به ۴۰٪ به طور معنی دار کاهش یافت ($p < 0/05$). بیشترین ضخامت مخاط و تعداد یاخته‌های جامی در تیمارهای سویای صفر (پروبیوتیک صفر و ۱) و

جدول ۲ شاخص‌های رشد و بازماندگی ماهیان قزل‌آلائی رنگین‌کمان تغذیه‌شده با سطوح مختلف کنجاله سویا (صفر، ۲۰ و ۴۰٪) و پروبیوتیک (صفر و ۱) به مدت ۹۰ روز.

جیره	شاهد	سویای صفر + پروبیوتیک ۱	سویای ۲۰٪ + پروبیوتیک صفر	سویای ۲۰٪ + پروبیوتیک ۱	سویای ۴۰٪ + پروبیوتیک صفر	سویای ۴۰٪ + پروبیوتیک ۱
روز ۳۰						
وزن اولیه (گرم)	۲۰/۰۲ ± ۰/۲۴	۲۰/۱۲ ± ۰/۲۴	۲۰/۰۷ ± ۰/۲۴	۱۹/۹۵ ± ۰/۲۱	۲۰/۷ ± ۰/۲۴	۲۰/۰۵ ± ۰/۳۵
وزن نهایی (گرم)	۳۷/۵ ± ۱/۴۱ ^a	۳۷/۷۵ ± ۱/۷۶ ^a	۳۶/۵ ± ۱/۴۱ ^a	۳۹/۷۵ ± ۱/۰۶ ^a	۳۱/۲۵ ± ۰/۳۵ ^b	۳۲ ± ۱/۴۱ ^b
درصد افزایش وزن	۸۷/۳۲ ± ۹/۳۷ ^{ab}	۸۷/۵۳ ± ۶/۴۷ ^{ab}	۸۱/۷۸ ± ۴/۸۰ ^b	۹۹/۲۳ ± ۳/۱۹ ^a	۵۵/۶۶ ± ۰/۱۵ ^c	۵۹/۵۶ ± ۴/۲۳ ^c
نرخ رشد ویژه (درصد بر روز)	۲/۰۹ ± ۰/۱۶ ^{ab}	۲/۰۹ ± ۰/۱۱ ^{ab}	۱/۹۹ ± ۰/۰۸ ^b	۲/۲۹ ± ۰/۰۵ ^a	۱/۴۷ ± ۰/۰۱ ^c	۱/۵۵ ± ۰/۰۸ ^c
ضریب تبدیل غذایی	۱/۷۶ ± ۰/۱۵ ^b	۱/۶۳ ± ۰/۱۶ ^b	۱/۶ ± ۰/۱۴ ^b	۱/۴۵ ± ۰/۰۷ ^b	۲/۵ ± ۰/۱۴ ^a	۲/۵۵ ± ۰/۰۷ ^a
درازای اولیه (سانتی‌متر)	۱۲/۲ ± ۰/۰۰ ^a	۱۲/۳۵ ± ۰/۰۰ ^a	۱۲/۳ ± ۰/۱۴ ^a	۱۲/۲۵ ± ۰/۰۷ ^a	۱۲/۳۵ ± ۰/۰۷ ^a	۱۲/۳۵ ± ۰/۰۷ ^a
درازای نهایی (سانتی‌متر)	۱۴/۴ ± ۰/۰۰ ^a	۱۴/۵۰ ± ۰/۱۴ ^a	۱۴/۴ ± ۰/۱۴ ^a	۱۴/۶۰ ± ۰/۰۰ ^a	۱۴/۰۵ ± ۰/۰۷ ^b	۱۴/۰۵ ± ۰/۰۷ ^b
بازماندگی (درصد)	۹۶ ± ۰/۰۰ ^a	۹۸ ± ۲/۸۲ ^a	۹۴ ± ۲/۸۲ ^a	۹۸ ± ۲/۸۲ ^a	۹۲ ± ۰/۰۰ ^a	۹۴ ± ۲/۸۲ ^a
روز ۶۰						
وزن نهایی (گرم)	۶۳ ± ۰/۷۰ ^b	۶۸ ± ۲/۸۲ ^a	۵۸/۵ ± ۰/۷۰ ^c	۶۴/۲۵ ± ۱/۰۶ ^b	۵۳/۵ ± ۰/۷ ^d	۵۸ ± ۰/۷۰ ^c
درصد افزایش وزن	۲۱۴/۶ ± ۰/۳۵ ^b	۲۳۸/۰۱ ± ۱۸/۲۱ ^a	۱۹۱/۴۵ ± ۷/۱۱ ^c	۲۲۲/۰۴ ± ۱/۸۹ ^{ab}	۱۶۶/۵۴ ± ۶/۸ ^d	۱۸۹/۳۵ ± ۸/۶۲ ^c
نرخ رشد ویژه (درصد بر روز)	۱/۹۱ ± ۰/۰۱ ^a	۲/۰۲ ± ۰/۰۸ ^a	۱/۷۸ ± ۰/۰۴ ^b	۱/۹۴ ± ۰/۰۱ ^a	۱/۶۳ ± ۰/۰۴ ^c	۱/۷۷ ± ۰/۰۴ ^b
ضریب تبدیل غذایی	۱/۶۸ ± ۰/۰۲ ^{cd}	۱/۲۸ ± ۰/۰۷ ^e	۱/۹۵ ± ۰/۰۷ ^{bc}	۱/۶ ± ۰/۱۴ ^d	۲/۴۵ ± ۰/۲۱ ^a	۲/۲ ± ۰/۱۴ ^{ab}
طول نهایی (سانتی‌متر)	۱۷/۲۵ ± ۰/۰۷ ^a	۱۷/۱۵ ± ۰/۲۱ ^a	۱۷ ± ۰/۲۸ ^a	۱۷/۳ ± ۰/۱۴ ^a	۱۷/۳۵ ± ۰/۰۷ ^a	۱۶/۹۵ ± ۰/۰۷ ^a
بازماندگی (درصد)	۹۶ ± ۰/۰۰ ^{ab}	۹۶ ± ۰/۰۰ ^{ab}	۹۴ ± ۲/۸۲ ^{ab}	۹۸ ± ۲/۸۲ ^a	۹۲ ± ۰/۰۰ ^b	۹۴ ± ۲/۸۲ ^{ab}
روز ۹۰						
وزن نهایی (گرم)	۹۸/۷۵ ± ۱/۰۶ ^a	۱۰۵/۵ ± ۴/۹۴ ^a	۹۰/۵ ± ۳/۵۳ ^b	۱۰۳/۵ ± ۲/۱۲ ^a	۷۴/۷۵ ± ۰/۳۵ ^c	۷۷/۵ ± ۳/۵۳ ^c
درصد افزایش وزن	۲۱۰/۰۱ ± ۴/۴۳ ^b	۲۲۶/۱۱ ± ۱/۸۶ ^a	۱۹۲/۹۱ ± ۱/۵۳ ^c	۲۱۰/۱۹ ± ۰/۸۰ ^b	۱۷۴/۹۸ ± ۳/۹۰ ^d	۱۷۹/۴۸ ± ۲/۰۱ ^d
نرخ رشد ویژه (درصد بر روز)	۱/۷۷ ± ۰/۰۲ ^a	۱/۸۴ ± ۰/۰۳ ^a	۱/۶۷ ± ۰/۰۲ ^b	۱/۸۲ ± ۰/۰۱ ^a	۱/۴۶ ± ۰/۰۱ ^c	۱/۵ ± ۰/۰۳ ^c
ضریب تبدیل غذایی	۱/۶۹ ± ۰/۰۳ ^d	۱/۳۳ ± ۰/۰۹ ^e	۲ ± ۰/۱۴ ^c	۱/۶۵ ± ۰/۰۷ ^d	۲/۵۵ ± ۰/۰۷ ^a	۲/۳ ± ۰/۰۰ ^b
طول نهایی (سانتی‌متر)	۲۰/۲۵ ± ۰/۰۷ ^a	۲۰/۲ ± ۰/۰۰ ^a	۱۹/۷۰ ± ۰/۱۴ ^{cd}	۲۰/۱ ± ۰/۰۰ ^a	۱۹/۸۵ ± ۰/۰۷ ^{bc}	۱۹/۵۵ ± ۰/۲۱ ^d
بازماندگی (درصد)	۹۴ ± ۲/۸۲ ^{ab}	۹۶ ± ۰/۰۰ ^a	۹۲ ± ۰/۰۰ ^{ab}	۹۶ ± ۰/۰۰ ^a	۹۰ ± ۲/۸۲ ^b	۹۲ ± ۰/۰۰ ^{ab}

میانگین (± انحراف معیار)، حروف غیرمشابه در هر سطر نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار است (p < ۰/۰۵).

جدول ۳ اثرات متقابل سطوح مختلف کنجاله سویا (صفر، ۲۰ و ۴۰٪) و پروبیوتیک (صفر و ۱) بر شاخص‌های رشد و بازماندگی ماهیان قزل آلی رنگین کمان.

سویا	پروبیوتیک	سویا × پروبیوتیک		سویا	پروبیوتیک	سویا × پروبیوتیک		سویا	پروبیوتیک
		روز ۹۰	روز ۶۰			روز ۳۰	روز ۹۰		
۰/۱۳۲	۰/۰۰۵	۰/۰۰۰	۰/۸۱۴	۰/۰۰۱	۰/۰۰۰	۰/۲۹۷	۰/۱۱۱	۰/۰۰۱	وزن نهایی
۰/۰۳۱	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۸۰۷	۰/۰۰۳	۰/۰۰۱	۰/۱۴۴	۰/۰۶۴	۰/۰۰۰	درصد افزایش وزن
۰/۰۵۵	۰/۰۰۱	۰/۰۰۰	۰/۷۸۵	۰/۰۰۲	۰/۰۰۱	۰/۱۶۶	۰/۰۶۳	۰/۰۰۰	نرخ رشد ویژه
۰/۵۹۳	۰/۰۰۱	۰/۰۰۰	۰/۶۹۴	۰/۰۰۴	۰/۰۰۰	۰/۶۳۰	۰/۳۵۵	۰/۰۰۰	ضریب تبدیل غذایی
۰/۰۱۲	۰/۸۰۵	۰/۰۰۲	۰/۰۶۱	۰/۵۰۶	۰/۸۸۵	۰/۳۶۴	۰/۱۰۷	۰/۰۰۱	درازای نهایی
۰/۶۳۰	۰/۰۳۰	۰/۰۳۱	۰/۴۲۲	۰/۱۳۴	۰/۱۲۵	۰/۷۸۷	۰/۰۹۲	۰/۱۱۱	بازماندگی

اعداد کمتر از ۰/۰۵ نشان‌دهنده اثر معنی‌دار هستند. در غیر این صورت، اثر انفرادی یا متقابل معنی‌دار نیستند ($p > 0.05$).

جدول ۴ ریخت سنجی بافتی روده ماهیان قزل آلابی رنگین کمان تغذیه شده با سطوح مختلف کنجاله سویا (صفر، ۲۰ و ۴۰٪) و پروبیوتیک (صفر و ۱ درصد) به مدت ۹۰ روز.

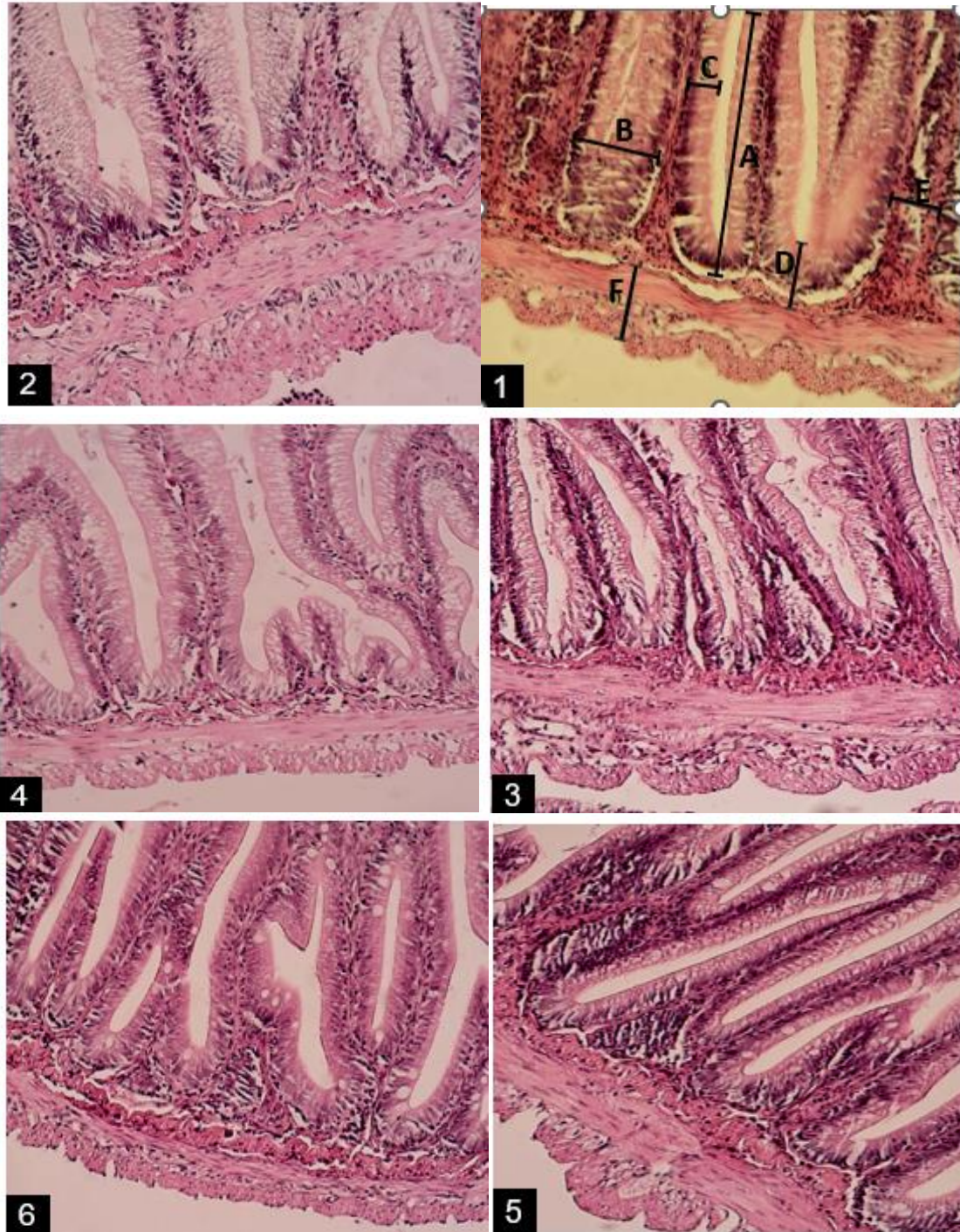
جیره	شاهد	سویای صفر + پروبیوتیک	سویای ۲۰٪ + پروبیوتیک	سویای ۴۰٪ + پروبیوتیک	سویای ۲۰٪ + پروبیوتیک	سویای ۴۰٪ + پروبیوتیک	سویای ۱ درصد + پروبیوتیک
		۱	صفر	۱	صفر	۱	صفر
روز ۳۰							
ارتفاع پرز (μm)	۵۶۳/۲۲ ± ۶۹/۷۱ ^a	۶۰۴/۱۹ ± ۴۱/۰۱ ^a	۵۶۲/۹۸ ± ۴۹/۶۵ ^a	۵۸۳/۳۲ ± ۲۳/۱۳ ^a	۵۱۷/۰۰ ± ۶۴/۱۸ ^a	۵۶۲/۶۸ ± ۴۸/۵۷ ^a	
ضخامت پرز (μm)	۹۱/۲۸ ± ۲۷/۴۱ ^a	۸۷/۷۸ ± ۱۴/۶۲ ^a	۸۴/۹۴ ± ۱/۵۰ ^a	۹۴/۶۶ ± ۱۶/۱۹ ^a	۷۸/۲۰ ± ۴/۱۸ ^a	۸۱/۶۸ ± ۱۲/۱۸ ^a	
ضخامت بافت پوششی (μm)	۲۷/۴۸ ± ۰/۹۴ ^a	۲۵/۲۵ ± ۵/۳۵ ^a	۲۹/۸۲ ± ۰/۷۴ ^a	۲۷/۶۴ ± ۶۶/۰۴ ^a	۲۸/۵۳ ± ۱/۵۹ ^a	۲۵/۹۲ ± ۰/۱۹ ^a	
ضخامت مخاط (μm)	۶۵/۲۲ ± ۶/۷۵ ^a	۶۶/۰۰ ± ۵/۰۵ ^a	۶۲/۷۶ ± ۰/۰۱ ^a	۶۵/۰۰ ± ۳/۶۲ ^a	۶۰/۹۹ ± ۱/۵۰ ^a	۶۵/۴۴ ± ۶/۵۵ ^a	
ضخامت پارین (μm)	۲۹/۲۰ ± ۵/۲۴ ^a	۲۸/۹۵ ± ۳/۰۳ ^a	۲۶/۱۳ ± ۳/۰۶ ^a	۲۷/۶۹ ± ۶/۰۳ ^a	۲۷/۴۴ ± ۳/۷۴ ^a	۲۷/۶۹ ± ۶/۰۳ ^a	
ضخامت لایه عضلانی (μm)	۸۸/۹۸ ± ۲۷/۳۸ ^a	۹۴/۷۰ ± ۹/۹۱ ^a	۶۹/۴۲ ± ۱۱/۸۴ ^a	۶۸/۶۲ ± ۴/۸۰ ^a	۶۵/۰۳ ± ۱/۲۱ ^a	۷۴/۳۹ ± ۱۸/۳۹ ^a	
تعداد یاخته جامی	۵/۷۵ ± ۰/۳۵ ^a	۵/۷۵ ± ۰/۷۰ ^a	۶/۰۰ ± ۱/۰۶ ^a	۴/۸۷ ± ۱/۵۹ ^a	۴/۸۷ ± ۲/۲۹ ^a	۵/۰۵ ± ۰/۷۷ ^a	
روز ۶۰							
ارتفاع پرز (μm)	۸۲۵/۴۴ ± ۸۳/۵۳ ^{ab}	۹۴۸/۹۳ ± ۴۴/۰۱ ^a	۷۵۵/۵۹ ± ۳۷/۸۰ ^b	۸۲۷/۶۹ ± ۲/۶۴ ^{ab}	۷۲۷/۷۶ ± ۵۱/۴۵ ^b	۷۶۳/۷۸ ± ۷۳/۲۳ ^b	
ضخامت پرز (μm)	۱۰۴/۳۳ ± ۹/۸۶ ^a	۱۱۱/۸۱ ± ۱۵/۹۱ ^a	۹۶/۷۰ ± ۵/۹۹ ^a	۱۰۷/۶۷ ± ۰/۷۴ ^a	۸۵/۲۲ ± ۱۸/۳۴ ^a	۹۵/۵۸ ± ۱۳/۸۶ ^a	
ضخامت اپی تلیوم (μm)	۵۶/۷۸ ± ۷/۳۱ ^a	۵۴/۵۸ ± ۱۰/۶۲ ^a	۵۱/۶۴ ± ۱/۲۷ ^a	۵۷/۰۲ ± ۲/۶۷ ^a	۲۵/۷۰ ± ۳/۲۵ ^b	۳۵/۰۸ ± ۲/۶۹ ^b	
ضخامت مخاط (μm)	۱۸۳/۳۴ ± ۲۵/۹۷ ^a	۱۹۰/۷۶ ± ۹/۲۶ ^a	۱۱۹/۵۳ ± ۶/۹۹ ^b	۱۸۱/۹۰ ± ۴/۱۰ ^a	۷۴/۱۱ ± ۱۰/۸۰ ^c	۹۹/۴۸ ± ۱۹/۴۰ ^{bc}	
ضخامت پارین (μm)	۴۵/۹۹ ± ۲/۹۷ ^a	۴۵/۱۹ ± ۱۶/۰۶ ^a	۳۶/۱۲ ± ۱۶/۹۱ ^a	۴۱/۸۵ ± ۱۸/۰۸ ^a	۳۲/۶۷ ± ۱۶/۳۹ ^a	۳۴/۲۶ ± ۱۹/۸۷ ^a	
ضخامت لایه عضلانی (μm)	۱۴۸/۵۵ ± ۹/۲۶ ^a	۱۴۴/۵۳ ± ۲۲/۴۷ ^a	۱۳۶/۵۲ ± ۲۴/۰۸ ^a	۱۴۴/۸۱ ± ۳۹/۱۶ ^a	۱۲۹/۳۱ ± ۱۴/۵۶ ^a	۱۳۸/۲۶ ± ۳۹/۵۶ ^a	
تعداد یاخته جامی	۶/۲۵ ± ۰/۳۵ ^{ab}	۷/۳۳ ± ۰/۰۰ ^a	۵/۴۱ ± ۰/۱۱ ^{bc}	۶/۷۵ ± ۰/۷۰ ^a	۴/۵ ± ۰/۰۰ ^c	۵/۵ ± ۰/۷۰ ^{bc}	
روز ۹۰							
ارتفاع پرز (μm)	۸۳۵/۶۷ ± ۲۷/۸۰ ^{ab}	۸۹۲/۴۶ ± ۳۳/۲۰ ^a	۷۲۸/۹ ± ۳۴/۷۰ ^c	۸۳۲/۳۷ ± ۱۳/۹۴ ^b	۶۱۵/۲۴ ± ۵۱/۴ ^d	۶۵۴/۳ ± ۳/۲۶ ^d	
ضخامت پرز (μm)	۱۰۲/۰۳ ± ۱/۰۱ ^a	۹۴/۱۵ ± ۱۸/۵۹ ^a	۹۱/۲۷ ± ۴/۶۵ ^a	۹۸/۰۷ ± ۵/۹۸ ^a	۹۳/۸۳ ± ۲۱/۰۸ ^a	۸۸/۳ ± ۱/۰۹ ^a	
ضخامت اپی تلیوم (μm)	۴۹/۵۰ ± ۲/۹۲ ^a	۴۹/۸۷ ± ۲/۸۷ ^a	۴۵/۳۹ ± ۱/۱۳ ^a	۴۹/۳۱ ± ۰/۸۲ ^a	۳۲/۲۲ ± ۰/۸۸ ^b	۳۴/۷ ± ۱/۱۰ ^b	
ضخامت مخاط (μm)	۷۵/۸۴ ± ۳/۴۹ ^a	۷۶/۶۹ ± ۰/۲۲ ^a	۶۸/۰۹ ± ۲/۰۳ ^b	۷۷/۷۳ ± ۰/۶۱ ^a	۵۷/۸۴ ± ۲/۸۳ ^c	۵۸/۴۵ ± ۱/۴۲ ^c	
ضخامت پارین (μm)	۱۲ ± ۱/۹۳ ^a	۱۴/۴۶ ± ۱/۹۱ ^a	۱۱/۸۴ ± ۰/۸۹ ^a	۱۳/۱۶ ± ۵/۴۰ ^a	۱۱/۰۸ ± ۰/۹۳ ^a	۱۳/۱۳ ± ۵/۳۵ ^a	
ضخامت لایه عضلانی (μm)	۸۷/۲۶ ± ۱۶/۴۱ ^a	۹۱/۹۳ ± ۱۹/۰۶ ^a	۸۳/۸۶ ± ۵/۸۲ ^a	۸۰/۹۱ ± ۴۵/۷۰ ^a	۷۸/۷۳ ± ۷/۳۶ ^a	۸۰/۳۳ ± ۲۶/۶۴ ^a	
تعداد یاخته جامی	۶/۸۲ ± ۰/۱۰ ^a	۷/۰۰ ± ۰/۳۵ ^a	۶/۰۲ ± ۰/۱۷ ^b	۶/۷۵ ± ۰/۳۵ ^{ab}	۵/۱۰ ± ۰/۴۹ ^c	۵/۲۵ ± ۰/۰۰ ^c	

میانگین (± انحراف معیار)، حروف غیرمشابه در هر سطر نشان دهنده تفاوت معنی دار است (p < ۰/۰۵).

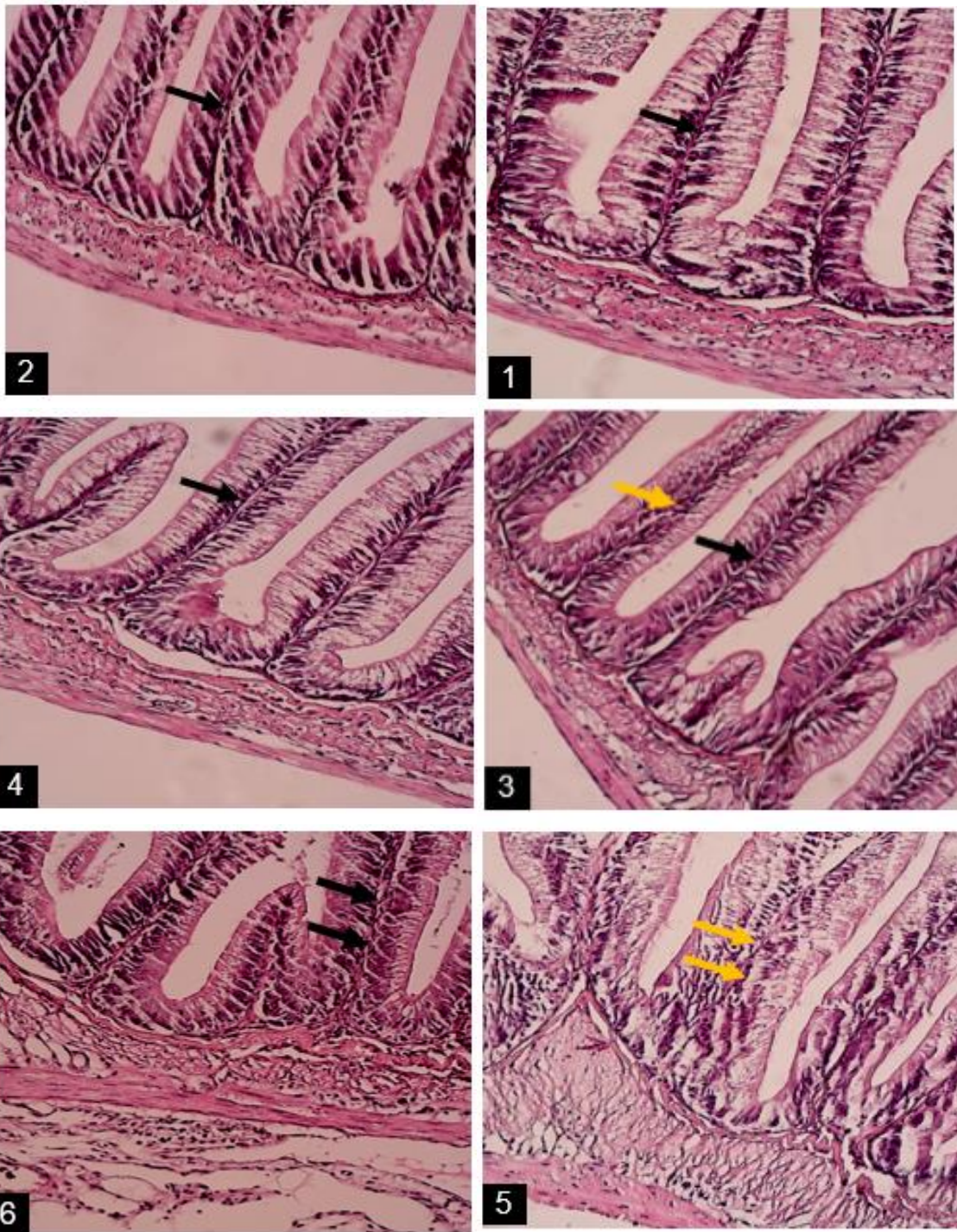
جدول ۵ اثرات متقابل سطوح مختلف کنجاله سویا (صفر، ۲۰ و ۴۰٪) و پروبیوتیک (صفر و ۱) بر ریخت سنجی بافتی روده ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان.

سویا	پروبیوتیک	روز ۳۰				روز ۶۰				سویا × پروبیوتیک
		سویا	پروبیوتیک	سویا × پروبیوتیک	سویا	پروبیوتیک	سویا × پروبیوتیک	سویا	پروبیوتیک	
۰/۳۸۶	۰/۳۶۶	۰/۹۶۴	۰/۰۲۹	۰/۰۵۲	۰/۵۶۴	۰/۰۰۰	۰/۰۰۳	۰/۲۱۵	ارتفاع پرز	
۰/۶۰۷	۰/۷۲۶	۰/۸۳۳	۰/۲۰۱	۰/۲۲۷	۰/۹۷۸	۰/۷۱۹	۰/۷۵۹	۰/۶۶۴	ضخامت پرز	
۰/۶۳۱	۰/۲۷۸	۰/۹۹۵	۰/۰۰۱	۰/۲۴۸	۰/۳۹۹	۰/۰۰۰	۰/۰۰۸	۰/۴۵	ضخامت اپی‌تلیوم	
۰/۷۶۲	۰/۳۸۹	۰/۸۵۷	۰/۰۰۰	۰/۰۱۰	۰/۰۹۵	۰/۰۰۰	۰/۰۲۳	۰/۰۳۸	ضخامت مخاط	
۰/۷۶۱	۰/۸۱۱	۰/۹۳۶	۰/۶۶۷	۰/۸۴۵	۰/۹۶۹	۰/۸۹۲	۰/۳۵۲	۰/۹۷۱	ضخامت پارین	
۰/۱۲۶	۰/۶۰۲	۰/۸۹۱	۰/۸۲۳	۰/۷۹۷	۰/۹۳۷	۰/۸۳۷	۰/۹۴	۰/۹۷۵	ضخامت لایه عضلانی	
۰/۷۰۵	۰/۶۸۸	۰/۷۵۶	۰/۰۰۳	۰/۰۰۴	۰/۸۵۷	۰/۰۰۰	۰/۰۸۹	۰/۳۷۰	تعداد یاخته جامی	

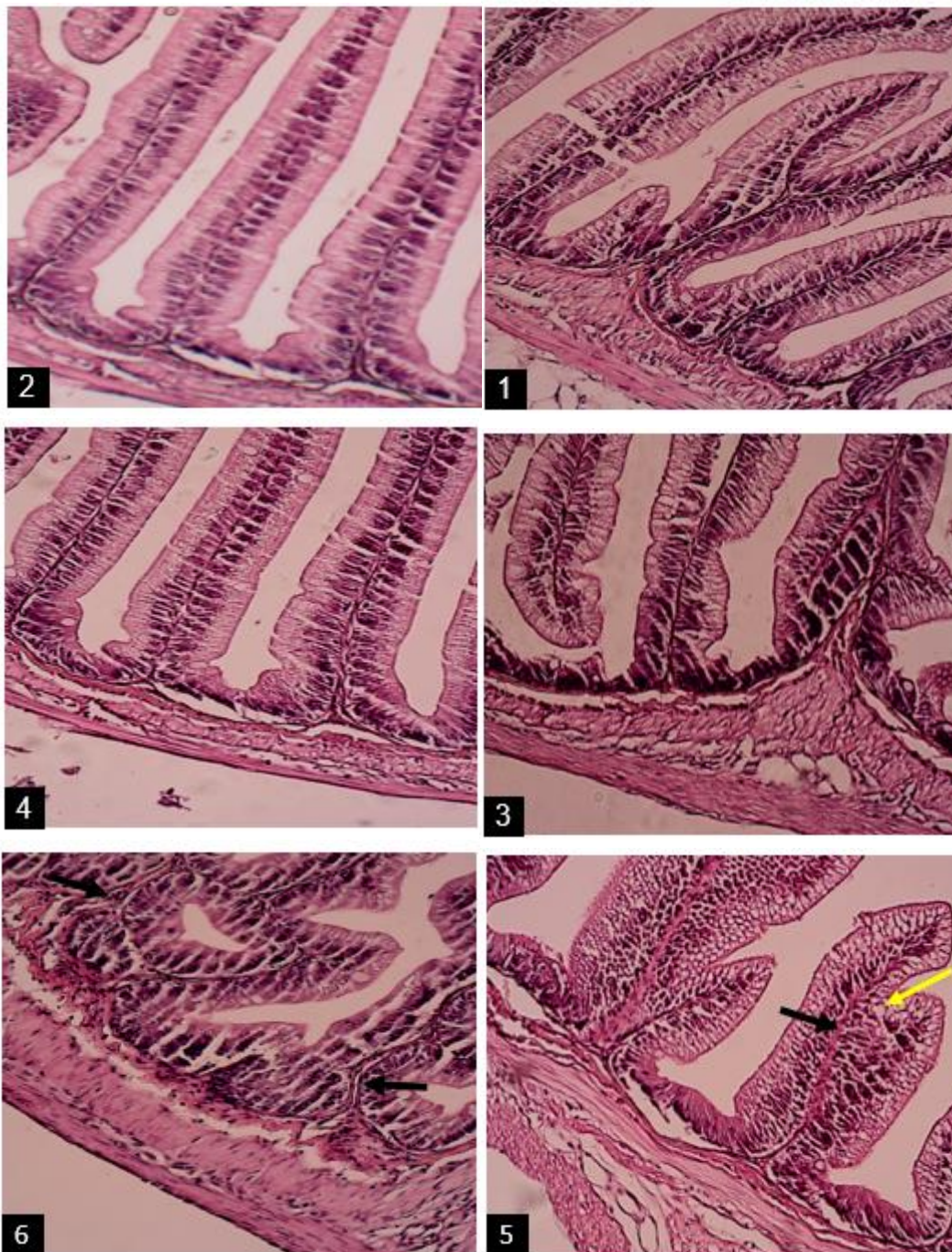
اعداد کمتر از ۰/۰۵ نشان‌دهنده اثر معنی‌دار هستند. در غیر این صورت، اثر انفرادی یا متقابل معنی‌دار نیستند ($p > 0.05$).



شکل ۱ مقطع از بافت روده در روز ۳۰ اعداد ۱ الی ۶ به ترتیب تیمارهای تغذیه شده با سویای صفر بدون پروبیوتیک، سویای صفر پروبیوتیک ۱، سویای ۲۰٪ بدون پروبیوتیک، سویای ۲۰٪ با پروبیوتیک ۱، سویای ۴۰٪ بدون پروبیوتیک و سویای ۴۰٪ با پروبیوتیک ۱ را نشان می دهند (رنگ آمیزی هماتوکسیلین ائوزین $\times 40$). حرف A ارتفاع چین، حرف B: ضخامت چین، حرف C: ارتفاع بافت پوششی روده، حرف D: ضخامت مخاط، حرف E: ضخامت پارین، حرف F: ضخامت لایه عضلانی. بافت پوششی روده، زیرمخاط و لامبنا پروپریا طبیعی بوده و آثار التهابی در تیمارها هنوز مشهود نیست.



شکل ۲ مقاطع از بافت روده در روز ۶۰ اعداد ۱ الی ۶ به ترتیب تیمارهای تغذیه شده با سویای صفر بدون پروبیوتیک، سویای صفر با پروبیوتیک ۱، سویای ۲۰٪ بدون پروبیوتیک، سویای ۲۰٪ با پروبیوتیک ۱، سویای ۴۰٪ بدون پروبیوتیک و سویای ۴۰٪ با پروبیوتیک ۱ را نشان می‌دهند (رنگ آمیزی هماتوکسیلین ائوزین $\times 40$). پیکان مشکی نشان‌دهنده لامینا پروپریای طبیعی است. نفوذ یاخته‌های التهابی به داخل لامینا پروپریا در ماهیان تغذیه شده با ۴۰٪ سویا مشهود است (پیکان‌های زرد). در حالی که افزودن پروبیوتیک به سویای ۴۰٪ سبب کاهش نفوذ یاخته‌های التهابی به این بخش شده است (پیکان سیاه). در تیمار ۲۰٪ سویا بدون پروبیوتیک حالت بینابینی مشاهده شده و نفوذ یاخته‌های التهابی در بخشی از پرزها وجود دارد (پیکان زرد).



شکل ۳ مقاطع بافت روده در روز ۹۰: اعداد ۱ الی ۶ به ترتیب تیمارهای تغذیه شده با سویای صفر بدون پروبیوتیک، سویای صفر با پروبیوتیک ۱، سویای ۲۰٪ بدون پروبیوتیک، سویای ۲۰٪ با پروبیوتیک ۱، سویای ۴۰٪ بدون پروبیوتیک و سویای ۴۰٪ با پروبیوتیک ۱ را نشان می‌دهند (رنگ آمیزی هماتوکسیلین ائوزین $\times 40$). نفوذ یاخته‌های التهابی به لامینا پروپریا (پیکان سیاه)، کوتاه‌شدگی پرزها در روده ماهیان تغذیه شده با ۴۰٪ سویا مشهود است. افزایش واکوئول‌های جذبی در بافت پوششی یاخته‌های روده‌ای تیمار تغذیه شده با ۴۰٪ سویا بدون پروبیوتیک مشاهده شد (روز ۹۰، پیکان زرد). در ماهیان تغذیه شده با سویای صفر (پروبیوتیک صفر و یک) و سویای ۲۰٪ حاوی پروبیوتیک یاخته‌های بافت پوششی به صورت منظم قرار گرفته‌اند و لایه مخاطی مرز مشخصی دارد.

بحث و نتیجه‌گیری

طبق نتایج مطالعه کنونی، عملکرد رشد با افزایش سطح سویا در جیره کاهش یافت، در حالی که افزودن پروبیوتیک توانست سبب بهبود نسبی برخی شاخصه‌ها مانند درصد افزایش وزن بدن و ضریب تبدیل غذایی به‌خصوص در روزهای ۶۰ و ۹۰ شود. کنجاله سویا دارای عوامل ضدتغذیه‌ای است که سبب شده تا استفاده از سویا به عنوان منبع پروتئینی در جیره محدود شود. تحقیقات نشان داد مصرف بالای ۲۰٪ سویا در جیره قزل‌آلای رنگین‌کمان و آزاد اطلس سبب کاهش رشد و کارایی غذا می‌شود (Rumsey et al. 1994; Olli and Krogdahl, 1995; Olli et al. 1995). آرد سویا حاوی ترکیباتی مانند ساپونین است که منجر به اختلال در هضم و جذب پروتئین و چربی می‌شود (Francis et al. 2002). Krogdahl و همکاران (۲۰۱۵) مشکلات روده‌ای ناشی از جایگزینی آرد سویا مانند کوتاه‌شدگی چین‌های موکوسی و کاهش تعداد واکوئول‌های جذبی در یاخته‌های روده‌ای (انتروسیت‌ها) را دلیل کاهش سطوح جذبی روده برشمردند. عوامل ضد تغذیه‌ای دیگر موجود در سویا شامل فیتات است. مقدار مجاز مصرف فیتات در آزاد ماهیان محدود بوده و بالاتر از آن منجر به اختلال در هضم و جذب پروتئین از طریق ایجاد کمپلکس فایتیک اسید-پروتئین می‌شود. همچنین، با شلات کردن (Chelating) مواد معدنی به‌خصوص فسفر آنها را از دسترس خارج می‌کنند (Duffus and Duffus, 1991). باکتری‌های پروبیوتیکی با فرآیند تخمیر در روده می‌توانند سبب کاهش اثرات منفی عوامل ضد مغذی موجود در سویا شده و اختلال در رشد را جبران کنند (Verschuere et al., 2000). علاوه بر این، مصرف پروبیوتیک‌ها منجر به تحریک آنزیم‌های گوارشی، افزایش فلور میکروبی مفید در روده، شکستن مولکول‌های بزرگ پروتئین و صرف انرژی کمتر در مسیر سوختن می‌شود و در نهایت، افزایش کارایی غذا را در پی دارد. این امر، بهبود رشد با افزودن پروبیوتیک در تحقیق حاضر را توجیه می‌کند. علاوه بر این، گزارش شده برخی مخمرها و باکتری‌های لاکتیک اسید توانایی تولید فیتاز را دارند که می‌توانند تأثیر منفی فیتات را خنثی کنند (Duffus and Duffus, 1991). در تحقیق کنونی به نظر می‌رسد تأثیر پروبیوتیک در سطح ۴۰٪ سویا کمتر از دیگر

سطوح بود که ممکن است به علت کم بودن پروبیوتیک‌ها و نیاز بالاتر پروبیوتیک در سطح بالای سویا باشد. Davood و همکاران (۲۰۱۴) صفر و ۱٪ *L. plantarum* کشته‌شده با گرما را بر جیره حاوی سطوح صفر، ۱۵، ۳۰ و ۴۵٪ آرد سویا در Amberjack (*Seriola dumerili*) به مدت ۵۶ روز آزمایش کردند و نشان دادند که ماهیان حاوی ۳۰٪ سویا همراه با باکتری، بیشترین رشد، دریافت غذا و ابقای پروتئین را داشتند. به‌طور مشابه، باکتری پروبیوتیکی *L. plantarum* در جیره توربوت حاوی سطوح مختلف آرد سویا پس از ۶۶ روز سبب کاهش رشد در ماهیان تغذیه‌شده با ۶۰٪ آرد سویا در حضور و عدم حضور پروبیوتیک شد، در حالی که در سطح ۴۵٪، مکمل پروبیوتیک سبب افزایش رشد شد (Wang et al. 2016). بنابراین، سطح استفاده از سویا در تأثیر پروبیوتیک حائز اهمیت است. در مطالعه حاضر، سطوح بالاتر پروبیوتیک استفاده نشد و ممکن است عملکرد رشد تیمارهای تغذیه‌شده با سطوح ۴۰٪ سویا در حضور سطح بالاتر پروبیوتیک به‌طور کامل جبران شود و رشدی معادل شاهد داشته باشد. در تحقیق حاضر، پروبیوتیک سبب افزایش نسبی رشد در سطح ۴۰٪ شد، ولی رشد به شاهد نرسید. نتیجه مشابهی توسط Rahimnejad و همکاران (۲۰۱۸) در باس دریایی ژاپنی (*Lateolabrax japonicus*) تغذیه-شده با ۴۰ و ۸۰٪ آرد سویای تخمیر شده توسط *Bacillus pumillus* و *Pseudozyma aphidis* پس از ۸ هفته گزارش شد. Li و همکاران (۲۰۲۰) تأثیر استفاده از آرد سویای تخمیر شده با باکتری *Enterococcus faecium* را به مدت ۷۹ روز در توربوت بررسی کردند. در این مطالعه کمترین رشد مربوط به ماهیان تغذیه‌شده با آرد سویا در مقایسه با جیره‌های حاوی ۴۵٪ آرد ماهی و ۴۵٪ سویای تخمیر شده بود. مطالعه حاضر با گزارش این محققان مطابقت داشت و نشان‌دهنده تأثیر مثبت پروبیوتیک *L. plantarum* در جیره حاوی سویا بود. کنجاله سویا حاوی عوامل ضدتغذیه-ای مانند بازدارنده تریپسین و فایتیک اسید بوده که دسترسی به پروتئین و برخی عناصر معدنی را کاهش می‌دهد. به نظر می‌رسد فرآیند تخمیر توسط باکتری‌های لاکتیک اسید می‌تواند تأثیر عوامل ضدتغذیه‌ای را جبران و رشد را بهبود بخشد. همچنین، Ramos و همکاران (۲۰۱۶) استفاده از سطوح

پایین آنزیم خارجی در رژیم غذایی کفال را در زمانی که آرد سویا به عنوان منبع اصلی پروتئین استفاده شد، توصیه کردند. به نظر می‌رسد جایگزینی سطح بالای سویا بدون استفاده از مکمل‌ها و پروبیوتیک‌ها امکان‌پذیر نبوده و سبب اختلال در رشد ماهی خواهد شد. در مطالعه Abedi و همکاران (۲۰۲۲) پروبیوتیک لاکتوباسیلوس واحد فعالیت فیتاز به جیره قزل‌آلا حاوی سویای ۴۰٪ پس از ۸ هفته توانست تأثیر منفی جایگزینی سویا بر رشد، هضم‌پذیری پروتئین، چربی، کلسیم و منیزیم را خنثی کند. استفاده از پروبیوتیک علاوه بر بهبود رشد از طریق رقابت با باکتری‌های بیماری‌زا سبب کاهش این عوامل و افزایش بازماندگی در ماهی می‌شود. علاوه بر این، تولید ویتامین‌ها توسط برخی جوامع میکروبی دستگاه گوارش می‌تواند در بهبود سلامت بازماندگی تأثیرگذار باشد (Wache et al. 2006). در مطالعه کنونی بالاترین بازماندگی با افزودن پروبیوتیک به سطح صفر و ۲۰٪ سویا در روز ۹۰ مشاهده شد و در سطح ۴۰٪ نیز افزودن پروبیوتیک سبب افزایش بازماندگی ماهیان شد. این امر نشان‌دهنده مزایای پروبیوتیک مصرف‌شده بر سلامت ماهیان است. علاوه بر این، ضریب تبدیل غذایی در جیره‌های حاوی ۴۰٪ سویا بالاتر از دیگر تیمارها بود و در روزهای ۶۰ و ۹۰ افزودن پروبیوتیک سبب بهبود این شاخص شد. این امر نشان‌دهنده افزایش قابلیت استفاده از سویا با افزودن پروبیوتیک است. ضریب تبدیل غذایی با افزودن پروبیوتیک به جیره حاوی ۲۰٪ سویا تفاوتی با سویای صفر بدون پروبیوتیک نداشت، اگرچه کمترین ضریب تبدیل غذایی در تیمار کنترل مثبت (سویای صفر حاوی پروبیوتیک) مشاهده شد. به‌طور مشابه، افزایش ضریب تبدیل غذایی با مصرف درصدهای بالای آرد سویا و آرد سویای تخمیر شده (۸۰٪) نسبت به تیمارهای تغذیه‌شده با آرد ماهی در باس دریایی گزارش شد (Rahimnejad et al. 2018). Zhang و همکاران (۲۰۱۴) نتیجه مشابهی را با جایگزینی ۷۵٪ آرد ماهی با سویا و سویای تخمیر شده در باس دریایی ژاپنی مشاهده کردند. همچنین، در تحقیق دیگر جایگزینی بالاتر از ۵۰٪ سویای تخمیر شده در باس دریایی سبب افزایش ضریب تبدیل غذایی شد که علت آن، کاهش هضم‌پذیری پروتئین عنوان شد (Liang et al. 2017). در

تحقیق حاضر با افزایش سطح سویا در درازمدت، افزایش ضریب تبدیل غذایی مشاهده شد و با این نتایج مطابقت داشت. طبق نتایج مطالعه کنونی، تأثیر سویا بر شاخص‌های ریخت-سنجی بافتی روده در روز ۳۰ مشهود بود و با افزایش دوره مصرف سویا تغییرات بافتی در روده مشاهده شد. در روز ۶۰ و ۹۰، با افزایش سطح سویا ارتفاع پرز، به‌طور معنی‌دار کاهش یافت و کمترین ضخامت بافت پوششی روده، ضخامت مخاط و تعداد یاخته‌های جامی در تیمارهای حاوی ۴۰٪ سویا (پروبیوتیک صفر و ۱) مشاهده شد. کوتاه‌شدن پرز و لایه موکوسی از نشانه‌های ایجاد التهاب روده‌ای تحت‌حاد است که به ساپونین سویا نسبت داده شده است (Krogdahl et al. 2015). علت کوتاه‌شدن می‌تواند به اختلال در خون‌رسانی و کوچک‌شدن اندازه یاخته به دلیل کاهش مواد یاخته‌ای مربوط باشد. طول پرز روده، عامل مهم تعیین‌کننده نرخ جذب مواد غذایی بوده و ارتباطی بین ریخت‌شناسی روده‌ای و عملکرد گوارشی نشان می‌دهد (Aly et al. 2008). یکی از این عوامل ضد تغذیه‌ای فیتات است. تاثیراتی چون ناهنجاری شکلی در روده، تأثیر سمی بر لایه بافت پوششی روده و واکوئول‌سازی در سیتوپلاسم یاخته‌های پوششی روده به واسطه فیتات موجود در سویا گزارش شده است (Francis et al. 2001). این در حالی است که افزودن فیتاز به ترکیبات حاوی فیتات، منجر به خنثی کردن فعالیت فیتات و کاهش تخریب روده می‌شود. از ترکیبات دیگر، ساپونین است که اثر تخریبی بر غشای روده دارد (Francis et al. 2001). همچنین، ترکیبات گلاسیسینین و بتا کونگلاسیسینین موجود در سویا به‌عنوان آلرژن مطرح هستند و اثر آنتی‌ژنیک دارند؛ این اثرات سبب ایجاد جراحات موکوس روده و غیر طبیعی‌شدن پرز روده می‌شوند (D'Mello, 1991). مقادیر تحمل هر یک از این ترکیبات ضد مغذی ممکن است با توجه به گونه و سن ماهی تغییر یابد (Francis et al. 2001). بنابراین، ممکن است مشاهدات مختلف در مطالعات گوناگون وجود داشته باشد. Heikkinen و همکاران (۲۰۰۶) در بررسی اثرات مصرف آرد سویا بر دستگاه گوارش بچه‌ماهیان قزل‌آلا رنگین‌کمان گزارش کردند که میانگین ارتفاع چین‌های موکوسی روده در ماهیان تغذیه شده با آرد سویا نسبت به ماهیان تغذیه شده با آرد ماهی کوتاه‌تر بود. چین‌های

مشاهده نشد (Wang et al. 2016). در مطالعه Rahimnejad و همکاران (۲۰۱۸)، کاهش تخریب روده باس دریایی ژاپنی با تخمیر آرد سویا به کمک باکتری‌های پروبیوتیک گزارش شد و جایگزینی با ۴۰ و ۸۰٪ آرد سویای تخمیر شده توسط پروبیوتیک‌های *B. pumillus* و *P. aphidis* پس از ۸ هفته انجام شد. نتیجه مشابهی توسط Li و همکاران (۲۰۲۰) با باکتری *E. faecium* به مدت ۷۹ روز در توربوت تغذیه شده با ۴۵٪ آرد سویا مشاهده شد. به طور مشابه، Ramos و همکاران (۲۰۱۶) با استفاده از کمپلکس آنزیمی خارجی، کاهش تورم روده ناشی از کنجاله آرد سویا را در ماهی کفال (*Mugil liza*) تغذیه شده با آرد سویا نشان دادند. مطالعه حاضر با این مطالعات مطابقت دارد و افزودن مکمل‌هایی مانند پروبیوتیک‌ها و آنزیم‌ها در جیره حاوی مقادیر بالای سویا به خصوص در جیره آزاد ماهیان به منظور کاهش اثرات مخرب سویا بر روده ضروری به نظر می‌رسد. در مطالعه کنونی، افزودن پروبیوتیک علاوه بر افزایش بازماندگی ماهیان از طریق افزایش طول پرز سبب افزایش کارایی غذا و عملکرد رشد شد. همچنین، تأثیر منفی آرد سویا بر روده قزل‌آلای رنگین‌کمان به کمک پروبیوتیک تا حدودی جبران شد. اگرچه، استفاده از سطوح بالای آرد سویا در جیره و حذف کامل آرد ماهی، آثار تخریبی بر روده داشته و ممکن است نیازمند سطوح بالاتر پروبیوتیک باشد. به طور کلی، بدون به کار بردن مکمل‌هایی مانند پروبیوتیک‌ها، جایگزینی بخش زیادی از آرد ماهی امکان‌پذیر نیست. با توجه به مطالعه کنونی، افزودن پروبیوتیک به سطح ۲۰٪ سویا برای بهبود رشد و بافت‌شناسی روده مفید است.

منابع

Abedi, S.Z., Yeganeh, S., Moradian, F., Ouraji, H. 2022. The influence of probiotic (isolated based on phytase activity) on growth performance, body composition, and digestibility of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Journal of the World Aquaculture Society 53: 1-25.

موکوسی دایره‌ای شکل بودند و به طور نامنظم قرار گرفتند. همچنین، یاخته‌های جامی پدیدار شدند. یاخته‌های ملتهب شده هم تا حدودی گسترش پیدا کردند. Krogdahl و همکاران (۲۰۱۵) با روش میکروآری نشان دادند که ساپونین سویا پس از ۱۰ هفته تغذیه در ماهی آزاد اطلس ایجاد التهاب روده‌ای می‌کند. مشکلات روده‌ای ناشی از جایگزینی آرد سویا سبب تورم روده (انتریتیس) تحت حاد، کوتاه شدگی چین-های موکوسی، نفوذ یاخته‌های ملتهب مختلف در لامینا پروپیا و کاهش تعداد واکوئول‌های جذبی در یاخته‌های روده‌ای شد که عوامل ضد تغذیه‌ای محلول در سویا به خصوص ساپونین، دلیل اصلی این موضوع عنوان شد. علاوه بر این، جایگزینی سویا سبب هایپرپلازی و هایپرتروفی یاخته‌های جامی (van den Ingh et al. 1991) و اختلال در غشای بافت پوششی روده در ماهی آزاد اطلس (Knudsen et al. 2008)، تخریب روده‌ای و غیرطبیعی شدن بافت روده (Iwashita et al. 2009) و افزایش واکوئول‌سازی در بافت پوششی روده قزل‌آلای رنگین‌کمان شد (Rumsey et al. 1994). این محققان مواد ضد مغذی را دلیل عمده این نتایج اعلام کردند و نتایج تحقیق کنونی با این مطالعات هم‌راستا بود. از طرفی، افزودن پروبیوتیک به استثنای روز ۳۰، در جیره حاوی صفر و ۲۰٪ سویا سبب افزایش ارتفاع پرز شد. این در حالی است که در سطح ۴۰٪ تغییری ایجاد نکرد، ولی به صورت عددی افزایش یافت. افزایش ارتفاع پرز به بهبود سطوح جذب و افزایش جذب مواد غذایی منجر می‌شود. پروبیوتیک از طریق افزایش جمعیت میکروبی مفید، به کاهش تأثیر مواد ضد مغذی و کاهش تخریب و التهاب روده کمک می‌کند. تأثیر *L. plantarum* بر روی توربوت تغذیه شده با سطوح ۱۵، ۳۰، ۴۵ و ۶۰٪ آرد سویا به مدت ۶۶ روز، نشان‌دهنده تغییرات آسیب‌شناسی در روده ماهیان تغذیه شده با ۴۵ و ۶۰٪ آرد سویا بود، در حالی که در حضور پروبیوتیک این تغییرات

Aly, S.M., Ahmed, Y.A., Ghareeb, A.A., Mohamed, M.F. 2008. Studies on *Bacillus subtilis* and *Lactobacillus acidophilus*, as potential probiotics, on the immune response and resistance of *Tilapia nilotica* (*Oreochromis niloticus*) to challenge

- infections. Fish and Shellfish Immunology 25: 128-136.
- Baeverfjord, G., Krogdahl, A. 1996. Development and regression of soybean meal induced enteritis in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.), distal intestine: a comparison with the intestines of fasted fish. Journal of Fish Disease 19: 375-387.
- Bakke-McKellep, A.M., Press, C.M., Baeverfjord, G., Krogdahl, A., Landsverk, T. 2000. Changes in immune and enzyme histochemical phenotypes of cells in the intestinal mucosa of Atlantic salmon, *Salmo salar* L., with soybean meal-induced enteritis. Journal of Fish Disease 23: 27-115.
- D'Mello, F.J.P. 1991. Antigenic proteins. In: D'Mello, F.J.P., Duffus, C.M., Duffus, J.H. Eds., Toxic Substances in Crop Plants. The Royal Society of Chemistry, Thomas Graham House, Science Park, Cambridge CB4 4WF, Cambridge 108-125.
- Dawood, A.O.M., Shunsuke, K., Ishikawa, M., Yokoyama, S. 2015. Effects of partial substitution of fish meal by soybean meal with or without heat-killed *Lactobacillus plantarum* (LP20) on growth performance, digestibility, and immune response of Amberjack, *Seriola dumerili* juveniles. BioMed Research International 11: 1-11.
- Duffus, C.M., Duffus, J.H. 1991. In: D'Mello, F.J.P., Duffus, C.M., Duffus, J.H. Eds., Toxic Substances in Crop Plants. The Royal Society of Chemistry, Thomas Graham House, Science Park, Cambridge CB4 4WF, Cambridge 1-21.
- El-sayed, A.F.M. 1999. Alternative dietary protein sources for farmed tilapia, *Oreochromis* spp. Aquaculture 179: 149-168.
- Francis, G., Makkar, H.P., Becker, K. 2001. Antinutritional factors present in plant derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. Aquaculture 199: 197-227.
- Halver, J.E., Hardy, R.W. 2002. Fish nutrition, Academic press.
- Heikkinen, J., Vielma, J., Kemiläinen, O., Tirola, T., Eskelinen, P., Kiuru, T., Navia-Paldanius, D., Wright, A. V. 2006. Effects of soybean meal-based diet on growth performance, gut histopathology and intestinal microbiota of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture 261: 259-268.
- Iwashita, Y., Suzuki, N., Matsunari, H., Sugita, T., Yamamoto, T. 2009. Influence of soya saponin, soya lectin, and cholytaurine supplemented to a casein-based semi purified diet on intestinal morphology and biliary bile status in fingerling rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. Fishery Science 75: 1307-1315.
- Kalantari Hesari, A., Shahrooz, R., Ahmadi, A., Malekinejad, H., Saboory, E. 2015. Crocin prevention of anemia-induced changes in structural and functional parameters of mice testes. Journal of Applied Biomedicine 53: 213-223.
- Knudsen, D., Ura, n. P., Arnous, A., Koppe, W., Frøkiær, H. 2007. Saponin-containing subfractions of soybean molasses induce enteritis in the distal intestine of Atlantic salmon. Journal of Agriculture Food Chemistry 55: 2261-2267.
- Krogdahl, A., Gajardo, K., Kortner, T. M., Penn, M., Gu, M., Berge, G. M., Bakke, A. M. 2015. Soya Saponins Induce Enteritis in Atlantic Salmon (*Salmo salar* L.). Journal of Agricultural and Food Chemistry 63: 3887-3902.
- Li, C., Zhang, B., Liu, C., Zhou, H., Wang, X., Mai, K., He, G. 2020. Effects of dietary raw or Enterococcus faecium fermented soybean meal on growth, antioxidant status, intestinal microbiota, morphology, and inflammatory responses in turbot (*Scophthalmus maximus* L.). Fish and Shellfish Immunology 100: 261-271.
- Liang, X., Hu, L., Dong, Y., Wu, X., Qin, Y., Zheng, Y., Shi, D., Xue, M. 2017.

- Substitution of fish meal by fermented soybean meal affects the growth performance and flesh quality of Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*). *Animal Feed Science and Technology* 229: 1-12.
- Lin, Y.H., Mui, J.J. 2017. Comparison of dietary inclusion of commercial and fermented soybean meal on oxidative status and non-specific immune responses in white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, *Fish and Shellfish Immunology* 63: 208-212.
- Olli, J., Krogdahl, A. 1995. Alcohol soluble components of soybeans seem to reduce fat digestibility in fish-meal-based diets for Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Aquaculture Research* 26: 831-835.
- Olli, J., Krogdahl, A., Vabeno, A. 1995. Dehulled, solvent-extracted soybean meal as a protein source in diets for Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Aquaculture Research* 26: 167-177.
- Rahimnejad, S., Lu, K., Wang, L., Song, K., Mai, K., Davis, D.A., Zhang, C. 2018. Replacement of fish meal with *Bacillus pumillus* SE5 and *Pseudozyma aphidis* ZR1 fermented soybean meal in diets for Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*). *Fish and Shellfish Immunology* 84: 987-997.
- Ramos, L.R., Pedrosa, V.F., Mori, A., Andrade, C.F.D., Romano, L.A., Abreu, P.C., Tesser, M.B. 2017. Exogenous enzyme complex prevents intestinal soybean meal-induced enteritis in *Mugiliza* (Valenciennes, 1836) juvenile. *Anais da Academia Brasileira de Ciências* 89: 341-353.
- Rasoul, Sh., Agh, N., Jafari, N., Kalantari, A., Jalili, R., Karimi, A. 2018. Effects of fish oil replacement with vegetable oils in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) fingerlings diet on growth performance and foregut histology. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 18: 825-832.
- Rumsey, G.L., Siwicki, A.K., Anderson, D.P., Bowser, P.R. 1994. Effect of soybean protein on serological response, non-specific defense mechanisms, growth and protein utilization in rainbow trout. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 41: 323-339.
- Storebakken, T., Refstie, S., Ruyter, B. 2000. Soy products as fat and protein sources in fish feeds for intensive aquaculture. In: Drackley, J. K., Ed., *Soy in Animal Nutrition*, Federation of Animal Science Societies, Champaign 127-170.
- Su, L. W., Cheng, Y.H., Hsiao, F.S.H., Han, J.C., Yu, Y.H. 2018. Optimization of Mixed Solid-state Fermentation of Soybean Meal by Species and. *Polish Journal of Microbiology* 67: 297-305.
- Uran, P.A. 2008. Etiology of soybean-induced enteritis in fish. Ph.D. Thesis. Wageningen University, The Netherlands. 174 p.
- van den Ingh, T.S.G.A.M., Olli, J.J., Krogdahl, A. 1996. Alcohol-soluble components in soybeans cause morphological changes in the distal intestine of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Journal of Fish Disease* 19: 47-53.
- Verschuere, L., Rombaut, G., Sorgeloos, P., Verstraete, W. 2000. Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 64: 655-671.
- Wache, Y., Auffray, F., Gatesoupe, F.J., Zambonino, J., Gayet, V., Labbe, L., Quentel, C. 2006. Cross effects of the strain of dietary *Saccharomyces cerevisiae* and rearing conditions on the onset of intestinal microbiota and digestive enzymes in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, fry. *Aquaculture* 258: 470-478.
- Wang, L., Zhou, H., He, R., Xu, W., Mai, K., He, G. 2016. Effects of soybean meal fermentation by *Lactobacillus plantarum* P8 on growth, immune responses, and intestinal morphology in juvenile turbot

(*Scophthalmus maximus* L.). Aquaculture 464: 87-94.

Zhang, Y. Wu, Y. Jiang, D. Qin, J., Wang, Y. 2014. Gamma-irradiated soybean meal replaced more fish meal in the diets of Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*). Animal Feed Science Technology 197: 155-163.

Zheng, J., Wittouck, S., Salvetti, E., Franz, C.M., Harris, H.M., Mattarelli, P. 2020. A

taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae*. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 70: 2782-2858.