Journal of Aquaculture Development
Vol. 19, No. 2, 2025, Pages: 49-65
DOI: 10.71901/jad-2025-2-846

RESEARCH PAPER **OPEN ACCESS**

Effect of *Lactobacillus plantarum* and *Bacillus subtilis* bacteria on growth and hematological indices of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fry immunized with bivalent *streptococcosis/lactococcosis* vaccine and *yersiniosis* vaccine

Darvishi Mejareh, M.[1], Firouzbakhsh, F.[1*], Yeganeh, S.[1], Safari, R.[2]

1- Department of Fisheries, Faculty of Animal Sciences and Fisheries, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran.
2- Fisheries Department, Faculty of Fisheries and Environment, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.

Received: 4 March 2025 **Accepted: 12 April 2025**

Abstract:

Introduction: The development of intensive aquaculture has led to the emergence of various bacterial diseases, the outbreak of which in fish farms may be caused by single or multiple pathogens. Considering that infectious diseases are known as a big obstacle in the direction of aquaculture and its supply to the world market, for the prevention and control of disease, veterinary drugs and recently vaccination are mainly used in aquaculture farms.

Material and Methods: This research was conducted to investigate the effect of *Lactobacillus plantarum* and *Bacillus subtilis* bacteria as probiotics, both alone and in conjunction with a bivalent vaccine for *streptococcosis/lactococcosis* and a *yersiniosis* vaccine in rainbow trout fry with an average weight of 3.35 ± 0.3 grams, across 4 treatments and 3 repetitions over a period of 60 days. The experimental groups included the first treatment (control) consisting of fish fed a basal diet without vaccine administration, the second treatment with fish fed a diet containing 1 gram of probiotic per kilogram of feed without vaccine administration, the third treatment with fish fed a basal diet along with vaccine administration, and the fourth treatment with fish fed a diet containing 1 gram of probiotic per kilogram of feed along with vaccine administration.

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-06]

[DOI: 10.71901/jad-2025-2-846]

Result and Discusion: The results showed that the growth indices and survival rates of the fed fish did not have a significant difference compared to the control group (P>0.05). In the results of the samples taken on day 30, no significant differences were observed in the factors of RBC, Hb, HCT, MCV, MCH, and MCHC compared to the control group (P>0.05). In the results of the samples taken on day 60, the number of red blood cells (RBC) in treatments 3 and 4 was lower than that of the control group (P<0.05), while the MCV levels in groups 3 and 4 on day 60 showed an increase compared to the control group (P<0.05). On day 30, the percentage of lymphocytes in the vaccinated groups showed a significant increase compared to the control group (P<0.05), while no significant changes were observed in the percentage of neutrophils, monocytes, and eosinophils at 30 and 60 minutes (P>0.05).

Conclution; Based on the results obtained from the present study, it can be concluded that the administration of 1 gram of the specified probiotic in fish vaccinated with two types of bivalent vaccines for *streptococcosis/lactococcosis* and *yersiniosis* did not have a significant positive effect on growth and hematological indices.

Keywords: *Lactobacillus plantarum*, *Bacillus subtilis*, Growth, hematological, vaccine.

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-06]

* *Corresponding Author: f.firouzbakhsh@sanru.ac.ir*

[DOI: 10.71901/jad-2025-2-846]

نشریه توسعه آبزی‌پروری، سال نوزدهم، شماره دوم، تابستان ۱۴۰۴، صفحه های ۶۵-۴۹
DOI: 10.71901/jad-2025-2-846

"مقاله پژوهشی"

تأثیر باکتری‌های *Lactobacillus plantarum* و *Bacillus subtilis* بر شاخص‌های رشد و هماتولوژیک بچه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) ایمن شده با واکسن دو ظرفیتی استرپتوکوکوزیس/لاکتوکوکوزیس و واکسن یرسینیوزیس

معصومه درویشی مجره[۱]، فرید فیروزبخش[۱*]، سکینه یگانه[۱]، رقیه صفری[۲]

۱-گروه شیلات، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران
۲-گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۲/۱۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۱/۲۳

چکیده

این تحقیق با هدف بررسی اثر باکتری‌های *Lactobacillus plantarum* و *Bacillus subtilis* به عنوان پروبیوتیک به تنهایی و همزمان با واکسن دو ظرفیتی استرپتوکوکوزیس/لاکتوکوکوزیس و واکسن یرسینیوزیس در بچه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با میانگین وزنی ۰/۳±۳/۳۵ گرم در ۴ تیمار و ۳ تکرار در مدت ۶۰ روز انجام شد. گروه‌های آزمایشی شامل تیمار اول (کنترل) شامل ماهیان تغذیه شده با جیره پایه بدون تجویز واکسن، تیمار دوم ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی ۱ گرم پروبیوتیک در هر کیلوگرم غذا بدون تجویز واکسن، تیمار سوم ماهیان تغذیه شده با جیره پایه همراه با تجویز واکسن و تیمار چهارم ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی ۱ گرم پروبیوتیک در هر کیلوگرم غذا همراه با تجویز واکسن بودند. نتایج نشان داد که شاخص‌های رشد و میزان بازماندگی ماهیان تغذیه شده تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل نداشتند ($p>0.05$). در نتایج نمونه‌های روز ۳۰، اختلاف معنی‌داری در فاکتورهای RBC, Hb, HCT, MCV, MCH و MCHC نسبت به گروه کنترل مشاهده نشد ($p>0.05$). در نتایج نمونه‌های روز ۶۰، تعداد گلبول‌های قرمز (RBC) در تیمارهای ۳ و ۴ نسبت به گروه کنترل کمتر بود ($p<0.05$)، درحالیکه میزان MCV گروه ۳ و ۴ در روز ۶۰ نسبت به گروه کنترل افزایش نشان داد ($p<0.05$). درصد لنفوسیت در روز۳۰، در تیمارهای واکسینه شده نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری نشان داد ($p<0.05$)، درحالیکه هیچگونه تغییر معنی‌داری در درصد نوتروفیل، مونوسیت و ائوزینوفیل در زمان‌های ۳۰ و ۶۰ مشاهده نشد ($p>0.05$). با توجه به نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر می‌توان نتیجه گرفت که تجویز ۱ گرم پروبیوتیک موردنظر در ماهی‌های واکسینه شده با دو نوع واکسن دو ظرفیتی استرپتوکوکوزیس/لاکتوکوکوزیس و واکسن یرسینیوزیس نتوانسته اثر مثبت معنی‌داری بر شاخص‌های رشد و هماتولوژیک ایجاد کند.

کلمات کلیدی: *Lactobacillus plantarum*، *Bacillus subtilis*، رشد، هماتولوژیک، واکسن

* عهده‌دار مکاتبات: f.firouzbakhsh@sanru.ac.ir

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-06]

[DOI: 10.71901/jad-2025-2-846]

مقدمه

آبزی‌پروری مدرن نیازمند راه‌حل‌هایی جهت دستیابی به عملکرد رشد بهتر و پیشگیری از بیماری‌های عفونی می‌باشد (Guimarães *et al*., 2022). جهت پیشگیری و کنترل بیماری، داروهای دامپزشکی و اخیرا واکسیناسیون به طور عمده در مزارع پرورش آبزیان مورد استفاده قرار می‌گیرد. استفاده بیش از حد از آنتی‌بیوتیک‌ها و داروهای شیمیایی منجر به اثرات منفی متعددی از جمله تولید سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک، مشکلات مربوط به محیط زیست و ایمنی غذا برای انسان می‌شود (Cabello *et al*., 2013). برای گونه‌های آبزی‌پروری از جمله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)، رشد و مقاومت در برابر بیماری، پارامترهای اصلی اهمیت تجاری هستند. بهبود ژنتیکی عملکرد رشد و مقاومت در برابر بیماری از طریق اصلاح نژاد انتخابی به عنوان یک استراتژی موثر و پایدار در آبزی‌پروری مورد تایید قرارگرفته است. با این حال، این رویکرد پر زحمت، پرهزینه و زمان‌بر می‌باشد (Li *et al*., 2021). بنابراین، توسعه جایگزین ایمن و پایدار مواد شیمیایی و آنتی‌بیوتیک‌های دامپزشکی در مدیریت سلامت آبزی‌پروری مورد توجه قرارگرفته است (Lee *et al*., 2017).

واکسن یک فرآورده‌ی بیولوژیک می‌باشد که نسبت به یک بیماری مشخص ایمنی ایجاد کرده و معمولاً دارای ترکیب یا عواملی مشابه میکروارگانیسم عامل بیماری بوده که اغلب از میکروب کشته یا تضعیف شده به دست می‌آید. این عامل سیستم ایمنی بدن را جهت شناسایی عوامل خارجی، از بین بردن آن و ایجاد خاطره تحریک می‌کند. در ایران طی دو دهه اخیر، صنعت آبزی‌پروری رشد مناسبی داشته است، اما متاسفانه بروز برخی بیماری‌ها و مشکلات بهداشتی از جمله بیماری استرپتوکوکوزیس و لاکتوکوکوزیس و همچنین بیماری پرسینیوزیس موجب بروز خسارت و زیان‌های فراوانی به صنعت قزل‌آلای کشور شده است (Soltani *et al*., 2017). از سال ۱۳۸۵ که اولین واکسن به درخواست اداره کل دامپزشکی استان فارس وارد کشور شد، تاکنون ۷ واکسن در ماهیان سردآبی در سطح تجاری در ایران استفاده شده است، که تاکنون نتایج دلگرم کننده‌ای به همراه داشته‌اند (Soltani *et al*., 2019a). علاوه بر واکسیناسیون، استفاده از پروبیوتیک به جای آنتی‌بیوتیک، به طور فزآینده‌ای جهت کنترل عوامل بیماری‌زا در آبزی‌پروری مورد پذیرش قرار گرفته‌است (Sheehan *et al*., 2009; Raissy *et al*., 2018). پروبیوتیک‌ها با ممانعت از رشد میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا، شرکت در هضم به وسیله فعالیت‌های آنزیمی، تولید ترکیبات بازدارنده، رقابت برای مواد شیمیایی و محل‌های چسبندگی، بهبود پاسخ ایمنی، بهبود تعادل میکروبی و افزایش خواص ضد ویروسی برای میزبان مفید هستند (Lee *et al*., 2017). همه این مزایا منجر به عملکرد بهتر شاخص‌های رشد می‌شود. در دهه‌های گذشته، باکتری‌های اسید لاکتیک (LAB) به عنوان ارگانیسم‌های ایمن شناخته شده (Steidler *et al*., 2009; Bahey-El-Din *et al*., 2010)، و به طور گسترده در صنایع غذایی استفاده می‌شوند. با توجه به مطالعات متعدد قبلی، به طور گسترده پذیرفته شده که باکتری‌های اسید لاکتیک (به عنوان مثال، گونه‌های لاکتوباسیلوس) و گونه‌های باسیلوس رایج‌ترین پروبیوتیک‌های مورد استفاده در فعالیت‌های آبزی‌پروری از جمله ماهی و بی‌مهرگان هستند، که طبق دستورالعمل شورای EEC/۵۲۴/۷۰ به

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-06]

[DOI: 10.71901/jad-2025-2-846]

عنوان خوراک مجاز می‌باشند (Li *et al*., 2021; Balcázar *et al*., 2006). *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* (*Lactobacillus plantarum*) یک باکتری گرم مثبت همه کاره با خواص بی‌هوازی متحمل هوا و تولید اسید لاکتیک، یکی از اعضای هشت جنس اصلی LAB می‌باشد، که به عنوان پروبیوتیک جهت افزایش مقاومت به بیماری، دفاع ایمنی غیر اختصاصی و عملکرد رشد در ماهی استفاده شده است. این پروبیوتیک به تولید مواد ضد میکروبی مانند پلانتاریسین که در برابر پاتوژن‌های خاص فعال هستند، معروف می‌باشد (Enferadi *et al*., 2018). همچنین باکتری *باسیلوس سابتیلیس* (*Bacillus subtilis*) نیز یک باکتری گرم مثبت و میله‌ای شکل است که در خاک و دستگاه گوارش بسیاری از حیوانات زندگی کرده و بسیاری از آنزیم‌های مفید را فراهم می‌کند (Lee *et al*., 2017). این باکتری یکی از پروبیوتیک‌هایی می باشد که به طور گسترده در موجودات آبزی مورد مطالعه قرار گرفته و اثرات مثبت زیادی در رژیم غذایی ماهی و میگو از طریق تحریک ایمنی، مقاومت در برابر بیماری و افزایش رشد دارد (Sun *et al*., 2010; Westers *et al*., 2014). گزارش های مختلفی در مهره‌داران نشان داده‌اند که افزایش پاسخ ایمنی موجب اثرات نامطلوب بر عملکردهای بیولوژیکی می‌شود، که احتمالاً ممکن است از طریق افزایش سرعت متابولیسم باشد (Soltani *et al*., 2019a). با توجه به همبستگی منفی بین عملکرد رشد و سرعت متابولیسم، پروبیوتیک‌ها ممکن است به جبران این کمبود در ماهیان واکسینه شده کمک کنند. در حالی‌که کارهای فردی بسیاری در مورد بررسی اثرات واکسیناسیون و رژیم‌های غذایی پروبیوتیک بر پاسخ ایمنی و عملکرد رشد ماهیان انجام شده است، مطالعات کمی تجویز رژیم غذایی پروبیوتیک را به تنهایی و همزمان با واکسن بررسی کرده‌اند. در همین راستا مطالعه حاضر با هدف بررسی اثرات باکتری‌های *L. plantarum* و *B. subtilis* به عنوان پروبیوتیک به تنهایی و همزمان با واکسن دو ظرفیتی استرپتوکوکوزیس/لاکتوکوکوزیس و واکسن یرسینیوزیس تولید جهاد دانشگاهی تهران بر پارامترهای هماتولوژیک و عملکرد شاخص‌های رشد در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*O. mykiss*) انجام شد.

مواد و روش‌ها

تهیه ماهی و تیماربندی

مطالعه حاضر در ماهی‌سرای کرج (شرکت پرورش و تکثیر ماهی البرز کاسپین) انجام‌گرفت. به همین منظور تعداد ۲۴۰۰ قطعه بچه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) پس از دو هفته سازگاری با محیط، با میانگین وزنی ۰/۳±۳/۳۵ گرم به صورت تصادفی در ۱۲ وان پلی اتیلنی با حجم ۵۰۰ لیتر آب و با تعداد ۲۰۰ قطعه در هر وان تقسیم شدند. آزمایش با ۴ تیمار و هر تیمار با ۳ تکرار مورد بررسی قرارگرفت. در جیره‌غذایی (غذای تجاری شرکت ۲۱ بیضاء، ایران) حاوی پروبیوتیک، از پروبیوتیک تجاری تهیه شده از شرکت دانش بنیان زیست ماهان شامل باکتری‌های *L. plantarum* و *B. subtilis* با نسبت برابر و با غلظت 10^9 CFU/g استفاده شد. به این ترتیب که مقدار ۱ گرم از پروبیوتیک به ازای هر کیلوگرم غذا در ظروف استریل توزین شده و سپس ۱۰ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی استریل به ازای هر کیلوگرم جیره به آن اضافه شده و بر روی غذا اسپری شد. همچنین جهت

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-06]

[DOI: 10.71901/jad-2025-2-846]

پوشش‌دار کردن و جلوگیری از هدر رفتن باکتری‌ها ژلاتین ۵ درصد نیز بر روی غذا اسپری شد (Hassaninia *et al*., 2021). جهت یکسان بودن شرایط تیمارهای فاقد پروبیوتیک با تیمارهای دیگر، به جیره غذایی آن‌ها نیز سرم فیزیولوژی بدون باکتری و همچنین ژلاتین اسپری شد. پروتکل گروه‌های آزمایشی در جدول ۱ آورده شده است. متوسط دمای آب در طول دوره‌ی ۶۰ روزه ۰/۲±۱۶/۵ درجه سانتی‌گراد و pH=۷/۴ ثبت شد. دفعات غذادهی بر اساس جدول استاندارد غذادهی ۳ مرتبه در روز، میزان آن بر اساس ۳ درصد وزن بدن، ۶ روز در هفته و به مدت ۶۰ روز انجام گرفت.

جدول ۱: پروتکل تیمارهای آزمایشی در پژوهش حاضر

Table 1: Protocol of experimental Treatments in the present study

Treatments	Immunization regime	Feeding regime
1	Unvaccinated fish	Normal diet without probiotic
2	Unvaccinated fish	Probiotic (1g/ kg food)*
3	Vaccinated fish	Normal diet without probiotic
4	Vaccinated fish	Probiotic (1g/ kg food)*

* *Lactobacillus plantarum* and *Bacillus subtilis* bacteria in equal proportions and at a concentration of 10^9CFU/g

روش واکسیناسیون

به جهت ایمن‌سازی بچه ماهیان، تیمار ۳ و ۴ با استفاده از واکسن‌های تهیه شده از جهاد دانشگاهی تهران، به روش غوطه‌وری حمام داده‌شدند. محلول واکسن طبق دستورالعمل شرکت سازنده به صورت ۱ لیتر واکسن یرسینیوزیس و ۱ لیتر واکسن دوگانه‌ی استرپتوکوکوزیس/ لاکتوکوکوزیس در ۱۰ لیتر آب که برای واکسینه کردن حدود ۱۰۰ کیلوگرم ماهی کافی می‌باشد تهیه شد. بچه ماهی‌ها به مدت ۹۰ ثانیه همراه با هوادهی مطلوب در این محلول حمام واکسن داده شدند. ماهیان تیمار ۱ و ۲ نیز به جهت یکسان بودن شرایط استرس القا شده به بچه ماهی‌ها با محلول سرم فیزیولوژی استریل تهیه شده به روش محلول واکسن به مدت ۹۰ ثانیه حمام داده شدند. واکسن یادآور ۳۰ روز بعد به همین روش انجام گرفت (Tehran University Jihad, 2023).

شاخص‌های رشد

در طول دوره‌ی پرورش تمام اطلاعات اعم از میزان غذای مصرفی توسط هر تیمار، تلفات و بیومتری به جهت محاسبه‌ی فاکتورهای رشد از جمله درصد افزایش وزن (WG%)، نرخ رشد ویژه (SGR)، ضریب تبدیل غذایی (FCR)، نرخ کارایی پروتئین (PER)، نرخ کارایی غذا (FER) و بقا ثبت گردید. این محاسبه در دو نوبت، روز ۳۰ ام دوره، قبل از واکسن یادآور و در روز۶۰ ام دوره طبق رابطه‌های زیر انجام شد (El Basuini *et al*., 2020).

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-06]

[DOI: 10.71901/jad-2025-2-846]

۱۰۰× (میانگین وزن اولیه به گرم ÷ (میانگین وزن اولیه به گرم – میانگین وزن نهایی به گرم)) =WG%

۱۰۰× (مدت زمان آزمایش ÷ (لگاریتم وزن اولیه – لگاریتم وزن نهایی)) =SGR

(افزایش وزن ماهی به گرم ÷ غذای خورده شده در طول دوره پرورش به گرم) =FCR

غذای خورده شده (گرم) ÷ افزایش وزن کسب شده (گرم) =FER

پروتئین خورده شده (گرم) ÷ افزایش وزن کسب شده (گرم) =PER

۱۰۰× (تعداد ماهیان در شروع آزمایش ÷ تعداد ماهیان زنده در آخر آزمایش) =درصد بقا

شاخص‌های هماتولوژیک

در روز ۳۰ دوره، قبل از واکسیناسیون یادآور و روز ۶۰ (پایان دوره‌ی آزمایش) خون‌گیری به جهت بررسی پارامترهای خونی انجام شد. از هر تکرار ۳ ماهی به صورت تصادفی انتخاب و سپس با ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسانس میخک بیهوش شده و خون‌گیری از طریق ساقه دمی انجام و در ظرف‌های پلاستیکی هپارینه ریخته و جهت مطالعات خون‌شناسی استفاده‌شد (Stolen *et al*., 1992).

میانگین تعداد گلبول‌های قرمز (RBC) و سفید (WBC) با استفاده از لام نئوبار و شمارش افتراقی گلبول‌های سفید با تهیه گسترش و شمارش درصد انواع گلبول‌های سفید انجام گرفت. اندازه‌گیری هماتوکریت (HCT) با استفاده از روش لوله‌های میکروهماتوکریت و سنجش هموگلوبین (Hb) با استفاده از روش سیان مت هموگلوبین انجام شد (Blaxhall, 1972). اندیس‌های خونی مانند حجم متوسط گلبول قرمز (MCV)، هموگلوبین متوسط گلبول قرمز (MCH) و غلظت متوسط هموگلوبین گلبول قرمز (MCHC) نیز براساس روابط مربوط محاسبه شدند (Svobodova *et al*., 1991).

۱۰× (مقدار هماتوکریت ÷ گلبول قرمز در میلیون) = MCV

۱۰ × (مقدار هموگلوبین ÷ گلبول قرمز در میلیون) = MCH

۱۰۰× (مقدار هموگلوبین ÷ مقدار هماتوکریت) = MCHC

تجزیه و تحلیل داده ها

داده‌های رشد و خون‌شناسی پس از بررسی نرمالیتی با آزمون کولوموگروف اسمیرنوف و بررسی برابری واریانس‌ها با آزمون لون، با کمک آنالیز واریانس یک طرفه در نرم افزار آماری IBM® SPSS® نسخه ۲۲ (SPSS Inc.، IL، USA) تجزیه و تحلیل شدند. جهت مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن استفاده شد (Livak *et al*., 2001).

نتایج

عملکرد رشد

افزایش وزن، نرخ رشد ویژه، نرخ کارایی غذا، نرخ کارایی پروتئین و ضریب تبدیل غذایی در دو نوبت (روز ۳۰ و روز ۶۰) هیچگونه اختلاف معنی‌داری را نسبت به گروه کنترل نشان نداند ($p>0.05$)، ولی در تیمار ۴ در روز ۳۰ نسبت به گروه کنترل و سایر تیمارها بیشتر بوده است. همچنین نتایج داده‌ها نشان داد که افزایش وزن، نرخ کارایی غذا و نرخ کارایی پروتئین در روز ۶۰ در تیمار ۲ که به تنهایی پروبیوتیک مصرف کرده بود نسبت به گروه کنترل و سایر تیمارها بیشتر بود، اما این افزایش‌ها نیز معنی‌دار نبوده است ($p>0.05$). درصد بقا در هیچکدام از تیمارها در روزهای ۳۰ و ۶۰ نسبت به گروه کنترل اختلاف معنی‌داری را از خود نشان نداد ($p>0.05$) (جدول ۲).

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-06]

[DOI: 10.71901/jad-2025-2-846]

جدول ۲: میانگین ± انحراف معیار عملکرد رشد و پارامترهای مصرف خوراک در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در تیمارهای مختلف

Table 2: Mean ± SD of growth performance and feed utilization parameters in rainbow trout in different treatments

Growth factor	C (control)	P	V	V+P
30 Days				
Initial weight (g)	3.2±0.2[a]	3.4±0.26[a]	3.2±0.2[a]	3.4±0.15[a]
Final weight (g)	9.74±0.64[a]	9.59±0.46[a]	9.82±0.24[a]	9.88±0.98[a]
WG%	173.53±16.44[a]	168.65±14.07[a]	177.15±11.34[a]	179.35±31.08[a]
SGR%	7.13±0.25[a]	7.07±0.18[a]	7.17±0.09[a]	7.18±0.37[a]
FCR	0.79±0.06[a]	0.79±0.03[a]	0.8±0.01[a]	0.79±0.1[a]
PER	2.51±0.19[a]	2.48±0.09[a]	2.47±0.04[a]	2.52±0.33[a]
FER	1.25±0.1[a]	1.23±0.04[a]	1.23±0.02[a]	1.25±0.16[a]
Survival rate%	94.16±1.52[a]	93.83±1.75[a]	94.5±1.73[a]	94.66±1.15[a]
60 Days				
Initial weight (g)	9.74±0.64[a]	9.59±0.46[a]	9.82±0.24[a]	9.88±0.98[a]
Final weight (g)	23.28±0.64[a]	23.35±0.72[a]	24.04±0.4[a]	23.59±0.73[a]
WG%	130.03±15.69[a]	136.21±3.7[a]	134.9±8.23[a]	131.34±14.15[a]
SGR%	10.14±0.1[a]	10.16±0.1[a]	10.26±0.06[a]	10.19±0.1[a]
FCR	0.71±0.08[a]	0.69±0.04[a]	0.7±0.04[a]	0.71±0.08[a]
PER	2.79±0.33[a]	2.85±0.2[a]	2.8±0.14[a]	2.8±0.33[a]
FER	1.39±0.16[a]	1.42±0.1[a]	1.4±0.07[a]	1.4±0.16[a]
Survival rate%	95.9±0.6[a]	96.76±2.72[a]	95.8±1.21[a]	96.43±2.28[a]

P: fish fed with probiotic, V: fish immunized with vaccine, P+V: fish fed with Probiotic and immunized with vaccine. Values (Mean±SE) containing different superscripts in the same row denotes significant difference between the treatments (p<0.05).

شاخص‌های هماتولوژیک

در نوبت اول نمونه برداری (روز ۳۰)، در هیچکدام از فاکتورهای RBC, Hb, HCT, MCV, MCH و MCHC اختلاف معنی‌داری نسبت به گروه کنترل مشاهده نشد (p>0.05). در روز ۶۰ تعداد RBC در تیمارهای واکسن و واکسن+پروبیوتیک بطور معنی داری نسبت به گروه کنترل کمتر بود (p<0.05). همچنین نتایج نشان داد که مقدار MCV تیمارهای واکسن و واکسن+پروبیوتیک در روز ۶۰ نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری داشته است (p<0.05). در مقادیرHb, HCT, MCH و MCHC در روز ۶۰ هیچگونه اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (p>0.05) (جدول ۳).

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-06]

[DOI: 10.71901/jad-2025-2-846]

جدول ۳: میانگین ± انحراف معیار پارامترهای خونی در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در تیمارهای مختلف

Table 3: Mean ± SD hematological parameters in rainbow trout in different treatments

hematological parameters	C (control)	P	V	V+P
30 Day				
RBC*10^6(mm^3)	6.46±1.55^a	6.86±1.83^a	6.56±1.91^a	6.8±2.2^a
Hb (g/dl)	13.93±3.26^a	13.7±1.86^a	13.16±3.01^a	13.76±1.77^a
HCT (%)	19.66±5.03^a	20.66±4.04^a	21±3.6^a	21.66±4.04^a
MCV (FL)	30.35±1.04^a	30.53±2.8^a	32.73±4.63^a	30.1±0.95^a
MCH (pg)	21.55±0.39^a	20.54±3.31^a	20.3±2.06^a	21.37±5.56^a
MCHC (g/dl)	71.1±3.77^a	67±6.11^a	62.31±3.95^a	66.75±5.19^a
60 Day				
RBC*10^6(mm^3)	10.73±2.12^b	8.6±1.63^{ab}	6.1±1.57^a	6.53±1.68^a
Hb (g/dl)	10.26±0.75^a	9.5±1.73^a	8.26±1.55^a	8.26±1.74^a
HCT (%)	27.33±1.52^a	25.1±2.53^a	24±2.64^a	24±2.64^a
MCV (FL)	26.07±4.72^a	29.8±5.27^{ab}	40.29±5.92^b	37.87±6.71^b
MCH (pg)	9.75±1.64^a	11.2±2.26^a	13.8±2.42^a	12.95±2.77^a
MCHC (g/dl)	37.53±0.87^a	37.65±2.96^a	34.27±3.31^a	34.27±4.33^a

P: fish fed with probiotic, V: fish immunized with vaccine, P+V: fish fed with Probiotic and immunized with vaccine. Values (Mean±SE) containing different superscripts in the same row denotes significant difference between the treatments (p<0.05).

در رابطه با WBC، میانگین تعداد آن در روز ۳۰ در تیمار واکسن+پروبیوتیک و سپس تیمار واکسن نسبت به سایر تیمارها بیشتر بود اما این افزایش به لحاظ آماری معنی‌دار نبود (p>0.05). در روز ۶۰ میانگین تعداد WBC در تیمار واکسن و تیمار واکسن+پروبیوتیک به طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل کاهش داشته و تعداد WBC در گروه کنترل از بقیه تیمارها بیشتر بوده است (p<0.05). درصد لنفوسیت در روز ۳۰، در تیمار واکسن نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری داشته است (p<0.05). در روز ۶۰، بیشترین درصد لنفوسیت متعلق به تیمار واکسن+پروبیوتیک و سپس تیمار واکسن بود، اما معنی‌دار نبود (p>0.05). هیچگونه تغییر معنی‌داری در درصد نوتروفیل، مونوسیت و ائوزینوفیل در روزهای ۳۰ و ۶۰ مشاهده نشد (p>0.05) (جدول ۴).

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-06]

[DOI: 10.71901/jad-2025-2-846]

جدول ۴: میانگین ± انحراف معیار گلبول‌های سفید و شمارش افتراقی آن‌ها در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در تیمارهای مختلف

Table 4: Mean ± WBC and their differential count in rainbow trout in different treatments

parameters	C (control)	P	V	V+P
30 Day				
WBC*10^3(mm^3)	6.64±2.72^a	6.92±3.01^a	7.28±2.79^a	7.49±2.93^a
Neutrophil%	17±4.35^a	14±2^a	12.66±1.15^a	14.33±3.51^a
Lymphocytes%	76±4.35^a	82.33±3.21^{ab}	85.33±2.88^b	81.66±2.88^{ab}
Monocyte%	6±1^b	3.33±1.15^a	1.66±1.15^a	3±1^a
Eosinophil%	1±1^a	0.33±0.57^a	0.33±0.57^a	1±1^a
60 Day				
WBC*10^3(mm^3)	546.66±82.54^b	346.33±89.76^{ab}	292.66±181.26^a	256.66±63.87^a
Neutrophil%	6.33±2.51^a	7.33±2.88^a	9.33±3.78^a	6.66±3.05^a
Lymphocytes%	68±13.07^a	71±11.53^a	71.66±6.02^a	75.33±6.11^a
Monocyte%	25±9.64^a	20.66±7.37^a	18.66±2.88^a	17.33±5.77^a
Eosinophil%	1±1.73^a	1.33±1.52^a	0.33±0.57^a	0.33±0.57^a

P: fish fed with probiotic, V: fish immunized with vaccine, P+V: fish fed with Probiotic and immunized with vaccine. Values (Mean±SE) containing different superscripts in the same row denotes significant difference between the treatments (p<0.05).

بحث

نتایج حاصل از بررسی اثر رژیم غذایی پروبیوتیک حاوی باکتری‌های *L. plantarum* و *B. subtilis*، به تنهایی و همزمان با واکسن دوگانه‌ی استرپتوکوکوزیس/لاکتوکوکوزیس و واکسن یرسینیوزیس بر فاکتورهای رشد، هیچگونه تفاوت معنی‌داری نسبت به گروه کنترل از خود نشان ندادند. با این وجود اعداد میانگین فاکتورهای افزایش وزن، نرخ رشد ویژه، نرخ کارایی غذا و نرخ کارایی پروتئین در تیمار واکسن+پروبیوتیک در روز ۳۰ نسبت به گروه کنترل و سایر تیمارها افزایش غیرمعنی‌داری داشته‌اند. با توجه به اینکه هنگامی که یک جمعیت ماهی با یک آنتی‌ژن یا واکسن ایمن‌سازی می‌شود، افزایش پاسخ ایمنی موجب اثرات نامطلوب بر عملکردهای بیولوژیکی می‌شود، که احتمالاً ممکن است از طریق افزایش سرعت متابولیسم باشد (Soltani *et al.*, 2019b)، شرایط رشد می‌تواند حداقل برای مدت کوتاهی تحت تاثیر آن قرارگرفته و منفی شود. بنابراین، استفاده از پروبیوتیک در جیره ماهیان ایمن‌سازی شده و ایجاد اثر هم‌افزایی بین واکسن و پروبیوتیک‌ها می‌تواند از چنین اثرات منفی بر وضعیت رشد جلوگیری کند. شاخص‌های رشدی کمی بهتر در ماهیان واکسینه نشده و تغذیه شده با پروبیوتیک نسبت به ماهیان واکسینه تغذیه شده با پروبیوتیک می‌تواند به دلیل افزایش مصرف انرژی در سیستم ایمنی ماهی پس از واکسیناسیون و یا القای استرس ناشی از واکسیناسیون باشد. با این حال همه این تفاوت‌های مشاهده شده در مطالعه ما ناچیز بود. در مطالعه Koskela و همکاران (۲۰۰۴) که به بررسی دو واکسن تجاری (Apoject 1800 and Lipogen duo) به صورت خوراکی در سفید ماهی اروپایی (*Coregonus lavaretus L.*) پرداخته بودند، عدم تاثیر واکسن بر رشد ماهی مشاهده

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-06]

[DOI: 10.71901/jad-2025-2-846]

شده است، که با نتایج مطالعه ما همخوانی داشت. کاهش رشد به علت واکسیناسیون در آزمایش‌های کوتاه مدت روی سایر آزاد ماهیان نیز مشاهده شده است (Pylkkö *et al*., 2000). در مطالعه‌ای که Soltani و همکاران (۲۰۱۹a) در رابطه با بررسی تاثیر پروبیوتیک *L. plantarum* بر شاخص‌های رشد قزل‌آلای رنگین‌کمان واکسینه شده با واکسن دوگانه استرپتوکوکوزیس/لاکتوکوکوزیس انجام دادند، عملکرد رشد در تمامی گروه‌های تیمار شده افزایش معنی‌داری را نسبت به گروه کنترل از خود نشان دادند. بطوری‌که بیشترین مقدار آن در ماهیان واکسینه تغذیه شده با پروبیوتیک بود. همچنین Soltani و همکاران (۲۰۱۹b) نتیجه مشابهی از بهبود فاکتورهای رشد در قزل‌آلای رنگین‌کمان واکسینه شده با *Yersinia ruckeri* و تغذیه شده با پروبیوتیک *L. plantarum* مشاهده کردند. بهبود فاکتورهای رشد در قزل‌آلای رنگین‌کمان ایمن شده با واکسن استرپتوکوکوزیس و تغذیه شده با محرک ایمنی بتاگلوکان در مطالعه‌ی Babzahreh و همکاران (۲۰۱۲) مشاهده شده است. Khaj و همکاران (۲۰۱۸) طی بررسی که انجام دادند دریافتند که استفاده از واکسن دوگانه‌ی استرپتوکوکوزیس/لاکتوکوکوزیس شرکت Aquavac Garvetil ضریب رشد قزل‌آلای رنگین‌کمان را افزایش می‌دهد. این اختلاف در نتایج به دست آمده در مطالعه‌ی ما با سایر مطالعات ممکن است به دلیل نوع پروبیوتیک، رژیم غذایی، مدت زمان مصرف پروبیوتیک و یا تعیین دوز بهینه ی مصرفی آن، طول دوره پرورش، شرایط محیطی، گونه ماهی و سن آن است، که همه این عوامل می‌توانند در ایجاد میزان اثر هم‌افزایی بین واکسن و پروبیوتیک موثر باشند (Soleimani *et al*., 2012; Geraylou *et al*., 2012). با این حال، درک بهتر مکانیسم‌های دخیل در اثر هم‌افزایی احتمالی واکسن و پروبیوتیک به مطالعات بیشتری نیاز دارد.

پس از آنالیز داده‌های خون، مشاهده شد که تعداد گلبول قرمز، هموگلوبین، غلظت متوسط هموگلوبین در هر گلبول قرمز، میانگین غلظت هموگلوبین گلبول قرمز و حجم متوسط گلبول‌های قرمز خون در مطالعه‌ی ما در روز ۳۰ هیچگونه تغییر معناداری را از خود نشان ندادند. در روز ۶۰ نمونه برداری، گلبول‌های قرمز تیمار واکسن و تیمار واکسن+ پروبیوتیک به طور معناداری نسبت به گروه کنترل کاهش داشته و در مقابل میزان متوسط هموگلوبین در هر گلبول قرمز در این دو تیمار (واکسن، واکسن+ پروبیوتیک) نسبت به گروه کنترل افزایش معناداری را از خود نشان دادند. این افزایش حجم متوسط هموگلوبین می‌تواند دلیلی بر کاهش تعداد گلبول‌های قرمز باشد. Soltani و همکاران (۲۰۱۹a) طی مطالعه‌ای که بر روی تاثیر پروبیوتیک *L. plantarum* بر روی قزل‌آلای رنگین‌کمان ایمن شده با واکسن دوگانه‌ی استرپتوکوکوزیس/لاکتوکوکوزیس داشتند، افزایش جزئی میزان گلبول‌های قرمز و Hb را در تیمار واکسن+ پروبیوتیک مشاهده کردند که معنی‌دار نبود. آن‌ها علت چنین تغییری را افزایش نرخ متابولیت در پاسخ به ایمن‌سازی با واکسن بیان کردند. همچنین آن‌ها در مطالعه‌ای دیگر که به بررسی اثر پروبیوتیک *L. plantarum* بر قزل‌آلای رنگین‌کمان واکسینه شده با *Y. ruckeri* پرداخته بودند، هیچگونه تفاوت معنی‌داری را در سطح هماتولوژیک مشاهده نکردند (Soltani *et al*., 2019b). Alishahi و همکاران (۲۰۱۰) عدم تاثیر واکسن *Aeromonas*

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-06]

[DOI: 10.71901/jad-2025-2-846]

hydrophila در ماهی کپورمعمولی بر فاکتورهای خونی Hb، HCT، RBC و ایندکس‌های گلبولی و همچنین عدم اثرگزاری واکسن *A. hydrophila* و ادجوان نانوکیتوزان در ماهی کپور معمولی بر فاکتور-های خونی را گزارش کردند. Pourmozafar و همکاران (۲۰۱۵) که به بررسی تاثیر ماکروگارد بر قزل‌آلای رنگین‌کمان ایمن شده با واکسن استرپتوکوکوزیس پرداخته بودند، به این نتیجه رسیدند که ماکروگارد تاثیر چندانی بر فاکتورهای Hb, HCT, MCV, MCH و MCHC ندارد. در مطالعه‌ای دیگر که توسط Faqani و همکاران (۲۰۰۸) انجام شد هیچگونه تغییر معنی‌داری در فاکتورهای خونی قزل‌آلای رنگین‌کمان واکسینه شده با استرپتوکوکوزیس به همراه آلژنیک اسید مشاهده نکردند. همچنین ارزیابی اثر آرگوسان و واکسن استرپتوکوکوزیس نیز بر فاکتورهای RBC, HCT, MCV, MCH و MCHC در قزل‌آلای رنگین‌کمان تغییر چندانی را نشان نداد (Faqani *et al*., 2009). در مقابل افزایش RBC و Hb در مطالعات Andrews و همکاران (۲۰۰۹)، Taati و همکاران (۲۰۱۳)، Akrami و همکاران (۲۰۱۱) و Hosseinifar و همکاران (۲۰۱۱) که به ترتیب به بررسی تاثیر مانان الیگوساکارید در کپورماهی هندی، تغذیه فیل ماهی جوان با پروبیوتیک ایمنواستر، تاثیر اینولین و الیگوفروکتوز در فیل ماهی پرداخته بودند مشاهده شده است. هرچند که مکانیسم دقیق اثر آنها نامشخص بوده و نیازمند مطالعات بیشتر است، اما از عدم تغییر فاکتورهای خونی RBC در بررسی ما و مطالعات مشابه می‌توان نتیجه‌گرفت که فاکتورهای خونی مربوط به گلبول‌های قرمز تحت تاثیر ایمن‌سازی قرار نگرفته و احتمالا ایمن‌سازی، در مراحل خون‌سازی بافت‌های خون‌ساز (هماتوپوئیتیک) و هم چنین طول عمر گلبول‌های قرمز نقشی ندارد. از طرفی این فاکتورها در ماهیان می‌تواند تحت تاثیر عوامل محیطی (دوره نوری، تراکم و درجه حرارت) و عوامل فیزیولوژیکی (گونه، سن، جنس و شرایط تغذیه‌ای) قراربگیرند (Brunt and Austin, 2005).

تعداد گلبول‌های سفید در مطالعه ما در روز ۳۰ در تیمار واکسن+ پروبیوتیک و تیمار واکسن بالاتر از سایر تیمارها مشاهده شد. در روز ۶۰ میانگین تعداد گلبول‌های سفید در تیمارهای واکسن و واکسن+ پروبیوتیک به طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل کاهش داشته و تعداد گلبول‌های سفید در گروه کنترل از بقیه تیمارها بیشتر بوده است. درصد لنفوسیت در روز ۳۰، در تیمار واکسن نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری داشته است. در روز ۶۰، بیشترین درصد لنفوسیت متعلق به تیمار واکسن + پروبیوتیک و سپس تیمار واکسن بود، اما معنی‌دار نبود. هیچگونه تغییر معنی‌داری در درصد نوتروفیل، مونوسیت و ائوزینوفیل در زمان‌های ۳۰ و ۶۰ مشاهده نشد. طبق نتایج بدست آمده، هیچ اثر هم افزایی بین فاکتورهای واکسیناسیون و تغذیه پروبیوتیک بر روی فاکتورهای خونی ما وجود نداشت. مطابق با نتایج ما، در مطالعه ی Pereira و همکاران (2016) که به بررسی اثر هم افزایی یک رژیم غذایی مکمل با باکتری پروبیوتیک *Weissella cibaria* در ماهی هیبرید سوبریم (*Pseudoplatystoma reticulatum*♀ *x P. corruscans*♂) واکسینه شده علیه *A. hydrophila* پرداخته بودند، هیچگونه تغییری در میزان WBC در گروه های تیمار شده مشاهده نشد. همچنین میزان لنفوسیت ها در خون تیمار واکسن و تیمار واکسن+

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-06]

[DOI: 10.71901/jad-2025-2-846]

پروبیوتیک در مقایسه با ماهی های واکسینه نشده کمتر بود. در این گونه موارد کاهش لنفوسیت ها و فاکتورهای خونی می تواند به دلیل مهاجرت آن ها به بافت ها در پاسخ به واکسیناسیون باشد. در ماهی های واکسینه شده، انتظار می رود که تعداد گلبول های سفید خون تغییر کند. با این حال، در مطالعه (Pereira *et al.*, 2016) و همچنین مطالعه ما مکمل پروبیوتیک نتوانسته تعداد سلول ها را بهبود بخشد. Yaziki و همکاران (۲۰۱۵) تاثیری از *L. plantarum* بر لکوسیت‌های قزل‌آلای رنگین‌کمان مشاهده نکردند. در مطالعه Morshedi و همکاران (۲۰۱۵) که به بررسی اثر پروبیوتیک زایلواولیگوساکارید بر سیستم ایمنی بچه ماهی صبیتی (*Sparidentex hasta*) پرداخته بودند نیز هیچگونه اختلاف معنی‌داری در میزان گلبول‌های سفید مشاهده نکردند.

در مقابل تعداد گلبول‌های سفید در قزل‌آلای رنگین‌کمان واکسینه شده با یا بدون پروبیوتیک *L. plantarum* در مطالعه Soltani و همکاران (۲۰۱۹a) به طور معنی‌داری از سایر گروه‌ها بالاتر مشاهده شده است. در مطالعه Venkatalakshmi و Ebanasar در سال ۲۰۱۵، تیلاپیا واکسینه شده با باکتری *A. hydrophila* و تغذیه شده با لاکتوباسیلوس در غلظت‌های مختلف، نوتروفیل‌ها و لنفوسیت‌ها را در مقایسه با گروهی که واکسن به تنهایی استفاده شده بود فعال کرد. در ماهی تیلاپیا نیل (*Oreochromis niloticus*) و ماهیان خاویاری (*Huso huso*) واکسینه شده در مواجهه با *A. hydrophila* و ماهی *O. mykiss* واکسینه شده با واکسن چند ظرفیتی به جهت مواجهه با سه گونه بیماری‌زا نیز افزایش تعداد گلبول‌های سفید گزارش شده است (Nikoskelainen *et al.*, 2007; Khoshbavar-Rostami *et al.*, 2007; Silva *et al.*, 2009). افزایش تعداد گلبول‌های سفید نشان دهنده تاثیر واکسن بر تحریک سیستم ایمنی غیراختصاصی و اختصاصی می‌باشد. افزایش جمعیت کل گلبول‌های سفید در گروه‌های ایمن شده با باکتری فرمالینه *streptococcus iniae* به روش تزریقی و غوطه‌وری در قزل‌آلای رنگین‌کمان تا ۶ هفته در مطالعه Soltani و همکاران (۲۰۰۷) و همچنین در ماهی تیلاپیا ایمن شده با باکترین *S. iniae* تا یک ماه بعد از واکسیناسیون گزارش شده‌است (McNulty *et al.*, 2003). لنفوسیت‌ها یکی از مهم‌ترین فاکتورهای ایمنی ماهی در برابر عوامل میکروبی می‌باشد و McNulty و همکاران (۲۰۰۳) افزایش تعداد آن‌ها را در افزایش تعداد کل گلبول‌های سفید موثر دانسته‌اند.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج به دست آمده از مطالعه‌ی حاضر می‌توان نتیجه گرفت که تجویز پروبیوتیک باکتری‌های لاکتوباسیلوس پلانتاروم و باسیلوس سابتیلیس (۱ گرم در هر کیلوگرم غذا) در ماهی‌های واکسینه شده با دو نوع واکسن (استرپتوکوکوزیس/لاکتوکوکوزیس و واکسن یرسینیوزیس) نتوانسته اثر مثبت معنادار و قابل قبولی بر شاخص‌های رشد و هماتولوژیک ایجاد کند. بر اساس اطلاعات ما، این اولین مطالعه‌ای است که به بررسی بی‌اثر بودن پروبیوتیک بر ماهیان واکسینه شده پرداخته است.

سپاسگزاری

نویسندگان نهایت تشکر و قدردانی خود را از مدیریت و پرسنل شرکت پرورش و تکثیر ماهی البرز کاسپین (ماهی‌سرای کرج) به جهت همکاری و

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-06]

[DOI: 10.71901/jad-2025-2-846]

مساعدت در انجام این پژوهش، شرکت دانش بنیان زیست ماهان (تولیدکننده مکمل های پروبیوتیک دام، طیور و آبزیان) به جهت تامین پروبیوتیک مصرفی و همچنین از جهاد دانشگاهی تهران به جهت حمایت و فراهم نمودن واکسن‌های مورد نیاز اعلام می‌دارند.

سپاسگزاری

از کمک‌ها و مساعدت دوستان گرامی برای انجام این تحقیق سپاسگزاری می‌نماییم.

منابع

1. Akrami, R., Gholichi, A. and Ahmadi, A., 2011. The effect of dietary probiotic inulin on hematological and biochemical serum parameters of young farmed elephantfish (*Huso huso*). *Journal of Veterinary Research, 66*(2), pp.131-136. [In Persian]
2. Alishahi, M., Ranjbar, M.M., Ghorbanpour, M., Peyghan, R., Mesbah, M. and Razi, J.M., 2010. Effects of dietary Aloe vera on some specific and nonspecific immunity in the common carp (*Cyprinus carpio*). *Journal of Veterinary Researches, 4*(3), pp.85-91. [In Persian]
3. Andrews, S.R., Sahu, N. P., Pal, A.K. and Kumar, S., 2009. Haematological modulation and growth of *Labeo rohita* fingerlings: effect of dietary mannan oligosaccharide, yeast extract, protein hydrolysate and chlorella. *Aquaculture Research, 41*(1), pp.61-69. DOI: 10.1111/j.1365-2109.2009.02304.x
4. Badzahreh, G., Soltani, M., Shahhosseini, G.R. and Nafisi Bahabadi, M., 2012. The effect of glucan on growth, survival and efficacy of anti-streptococcosis vaccine in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Veterinary Research, 67*(1), pp.11-17. [In Persian]
5. Bahey-El-Din, M., Gahan, C.G. and Griffin, B.T., 2010. *Lactococcus lactis* as a cell factory for delivery of therapeutic proteins. *Current Gene Therapy, 10*(1), pp.34-45. DOI: 10.2174/156652310790945557
6. Balcázar, J.L., De Blas, I., Ruiz-Zarzuela, I., Cunningham, D., Vendrell, D. and Múzquiz, J.L., 2006. The role of probiotics in aquaculture. *Veterinary Microbiology, 114*(3-4), pp.173-186. DOI:10.1016/j.vetmic.2006.01.009
7. Blaxhall, P.C., 1972. The haematological assessment of the health of freshwater fish: a review of selected literature. *Journal of Fish Biology, 4*(4), pp.593-604. DOI: 10.1111/j.1095-8649.1972.tb05704.x
8. Brunt, J. and Austin, B., 2005. Use of a probiotic to control lactococcosis and streptococcosis in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Journal of Fish Diseases, 28*(12), pp.693-701. DOI: 10.1111/j.1365-2761.2005.00672.x
9. Cabello, F. C., Godfrey, H. P., Tomova, A., Ivanova, L., Dölz, H., Millanao, A. and Buschmann, A. H., 2013. Antimicrobial use in aquaculture re-examined: its relevance to antimicrobial resistance and to animal and human health. *Environmental Microbiology, 15*(7), pp.1917-1942. DOI: 10.1111/1462-2920.12134
10. El Basuini, M.F., Teiba, I.I., Zaki, M.A., Alabssawy, A.N., El-Hais, A.M., Gabr, A.A., Dawood, M.A.O., Zaineldin, A.I., Mzengereza, K., Shadrack, R.S. and Dossou, S., 2020. Assessing the effectiveness of CoQ10 dietary supplementation on growth performance, digestive enzymes, blood health, immune response, and oxidative-related genes expression of Nile tilapia *(Oreochromis niloticus*). *Fish and Shellfish Immunology, 98*, pp.420-428. DOI: 10.1016/j.fsi.2020.01.052
11. Enferadi, M.H.N., Mohammadizadeh, F., Soltani, M., Bahri, A.H. and Sheikhzadeh, N., 2018. Effects of *LactoBacillus plantarum* on growth performance, proteolytic enzymes activity and intestine morphology in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 18*(2), pp.351-356. DOI:10.4194/1303-2712-v18_2_14
12. Faqani, T., Azari Takami, G., Kousha, A. and Faghani, S., 2008. Surveying on

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-06]

[DOI: 10.71901/jad-2025-2-846]

alginic acid and anti-streptococcus vaccine effects on the growth performance, survival rate, hematological parameters in rainbow trout (*Oncorhynchos mykiss*). *World Journal of Zoology, 3*(2), pp.54-58.

13. Faqani, T., Azari-Takami, Q., Ghiyasi, M., Faqani, S. and Ahmadifar, A., 2009. Evaluation of the effect of Argosan and anti-streptococcus vaccine on blood parameters of rainbow trout. *Journal of Fisheries, University of Tehran, 3*(2), pp.57-62. [In Persian]
14. Geraylou, Z., Souffreau, C., Rurangwa, E., D'Hondt, S., Callewaert, L., Courtin, C. M., Delcour, J.A., Buyse, J. and Ollevier., F., 2012. Effects of arabinoxylan-oligosaccharides (AXOS) on juvenile Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*) performance, immune responses and gastrointestinal microbial community. *Fish and Shellfish Immunology, 33*(4), pp.718-724. DOI: 10.1016/j.fsi.2012.06.010
15. Guimarães, M.C., Cerezo, I.M., Fernandez-Alarcon, M. F., Natori, M. M., Sato, L.Y., Kato, C.A.T., Moriñigo, M.A., Tapia-Paniagua, S., Dias, D.D.C., Ishikawa, C.M., Ranzani-Paiva, M.J.T., Cassiano, L.L., Bach, E.E., Clissa, P.B., Orefice, D.P. and Tachibana, L., 2022. Oral administration of probiotics (*Bacillus subtilis* and *Lactobacillus plantarum*) in nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) vaccinated and challenged with *Streptococcus agalactiae*. *Fishes, 7*(4), pp.1-18. DOI:10.3390/fishes7040211
16. Hassaninia, A., Vahabzadeh Roudsari, H., Khara, H., Shenavr Masouleh, A.R. and Ahmadnejad. M., 2002. Effects of diet containing *Lactococcus lactis* and *Bacillus subtilis* bacteria on growth indices and liver enzymes of tiger oscar fish (*Astronotus ocellatus*). *Journal of Aquatic Physiology and Biotechnology, 9*(2), pp.58-39. DOI: 10.22124/japb.2021.17971.1398 [In Persian]
17. Hosseinifar, H., Mirvaqefi, A., Majazi Amiri, B., Khoshbavar Rostami, H. and Darvish Bastami, K., 2011. he effects of prebiotic oligofructose on hematological, serum biochemical parameters and liver enzymes of juvenile beluga (Huso huso). *Iranian Scientific Fisheries Journal, 20*(2), pp.27-36. DOI: 10.22092/ISFJ.2017.109989 [In Persian]
18. Khaj, H., Mesbah, M., Tabande, M.R. and Mohamadian, T., Dadar, M., 2018. Comparative effects of Aquavac and Iranian streptococcus/lactococcus vaccine on Health Factors in rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss)*. *Iranian Veterinary Journal, 13*(4), pp.28-42. DOI: 10.22055/ivj.2017.48182.1696 [In Persian]
19. Khoshbavar Rostami, H.A., Soltani, M. and Hassan, H.M.D., 2007. Immune responses of great sturgeon *Huso huso* to *Aeromonas hydrophila* bacterin. *Journal of Fish Biology, 70*(6), pp.1931-1938. DOI:1095-8649.2007.01468.x
20. Koskela, J., Rahkonen, R., Pasternack, M. and Knuutinen, H., 2004. Effect of immunization with two commercial vaccines on feed intake, growth, and lysozyme activity in European whitefish (*Coregonus lavaretus* L.). *Aquaculture, 234*(1-4), pp.41-50. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2003.11.036
21. Lee, S., Katya, K., Park, Y., Won, S., Seong, M. and Bai, S.C., 2017. Comparative evaluation of dietary probiotics *Bacillus subtilis* WB60 and *Lactobacillus plantarum* KCTC3928 on the growth performance, immunological parameters, gut morphology and disease resistance in Japanese eel, Anguilla japonica. *Fish and Shellfish Immunology, 61*, pp.201-210. DOI: 10.1016/j.fsi.2016.12.035
22. Li, Y., Yang, Y., Song, L., Wang, J., Hu, Y., Yang, Q., Cheng , P. and Li, J., 2021. Effects of dietary supplementation of *Lactobacillus plantarum* and *Bacillus subtilis* on growth performance, survival, immune response, antioxidant capacity and digestive enzyme activity in olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Aquaculture and Fisheries, 6*(3), pp.283-288. DOI: 10.1016/j.aaf.2020.10.006
23. Livak, K.J. and Schmittgen, T.D., 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-06]

[DOI: 10.71901/jad-2025-2-846]

2− ΔΔCT method. *Methods, 25*(4), pp.402-408. DOI:10.1006/meth.2001

24. McNulty, S.T., Klesius, P.H., Shoemaker, C.A. and Evans, J.J., 2003. Hematological changes in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) infected with *Streptococcus iniae* by nare inoculation. *Journal of the World Aquaculture Society, 34*(3), pp.418-422. DOI: 10.1111/j.1749-7345.2003.tb00080.x
25. Morshedi, V., Agh, N., Mormazi, J., Nouri, F. and Mohammadian, T., 2015. Effects of dietary xylo-oligosaccharide probiotics on growth and feeding performance, blood factors and non-specific immune response of juvenile sabiti (*Sparidentex hasta*). *Journal of Marine Biology, 7*(26), pp.69-82. [In Persian]
26. Nikoskelainen, S., Verho, S., Järvinen, S., Madetoja, J., Wiklund, T. and Lilius, E.M., 2007. Multiple whole bacterial antigens in polyvalent vaccine may result in inhibition of specific responses in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss). Fish & Shellfish Immunology, 22*(3), pp.206-217. DOI: 10.1016/j.fsi.2006.04.010
27. Pereira, G.D.V., Jesus, G.F.A., Vieira, F.D. N., Pereira, S.A., Ushizima, T.T., Mouriño, J.L.P. and Martins, M.L., 2016. Probiotic supplementation in diet and vaccination of hybrid surubim (*Pseudoplatystoma reticulatum*♀ *x P. corruscans*♂). *Ciência Rural*, *46*(2), pp.348-353. DOI: 10.1590/0103-8478cr20150543
28. Pourmozafar, S., Soltani, M., Nafisi Bahabadi, M., Mohajeri, J., Mohammadi, M. and Pazir, K., 2015. Study of the effect of Macroguard on the efficacy of anti-streptococcosis vaccine and some blood and growth indices of rainbow trout (*Oncorhunchus mykiss*). *Iranian Veterinary Journal, 11*(2). pp.45-53. DOI: 10.22055/ivj.2015.10111 [In Persian]
29. Pylkkö, P., Lyytikäinen, T., Ritola, O. and Pelkonen, S., 2000. Vaccination influences growth of Arctic charr. *Diseases of Aquatic Organisms, 43*(1), pp.77-80. DOI: 10.3354/dao043077
30. Raissy, M., Hashemi, S., Roushan, M., Jafarian, M., Momtaz, H., Soltani, M. and Pirali Kheirabad, E., 2018. Effects of essential oils of Satureja bachtiarica and Nigella sativa on the efficacy of lactococcosis vaccine in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Iranian Journal of Fisheries Science, 17*(1), pp.95-106. DOI: 0.22092/IJFS.2018.115587
31. Sheehan, B., Labrie, L., Lee, Y., Lim, W., Wong, F., Chan, J., Komar, C., Wendover, N. and Grisez, L., 2009. Streptococcal diseases in farmed tilapia. *Aquaculture Asia Pacific, 5*(6), pp.26-29.
32. Silva, B.C., Martins, M.L., Jatobá, A., Buglione Neto, C.C., Vieira, F.N., Pereira, G.V., Jerônimo, G.T., Seiffert, W.Q. and Mouriño, J.L.P., 2009. Hematological and immunological responses of Nile tilapia after polyvalent vaccine administration by different routes. *Pesquisa Veterinária Brasileira, 29*(11), pp.874-880. DOI: 10.1590/S0100-736X2009001100002
33. Soleimani, N., Hoseinifar, S.H., Merrifield, D.L., Barati, M. and Abadi, Z.H., 2012. Dietary supplementation of fructooligosaccharide (FOS) improves the innate immune response, stress resistance, digestive enzyme activities and growth performance of Caspian roach (*Rutilus rutilus*) fry. *Fish and Shellfish Immunology, 32*(2), pp.316-321. DOI: 10.1016/j.fsi.2011.11.023
34. Soltani, M., Alishahi, M., Khozainia, P., Rabbani, M. and Sattari, A., 2007. Study of some immune responses of rainbow trout to some antigens of *Streptococcus inei*. *Journal of Veterinary Research, 62*(1), pp.1-9. [In Persian]
35. Soltani, M., Emami, A.R., Taheri, M.A., Moghani, M. and Shahbazi, M., 2017. The effect of macroguard immunostimulatory on the effectiveness of double *lactococcosis /streptococcosis* vaccine in rainbow trout fry. *Journal of Aquaculture Development, 11*(2), pp.61-67. [In Persian]
36. Soltani, M., Kane, A., Taheri-Mirghaed, A., Pakzad, K. and Hosseini-Shekarabi, P., 2019. Effect of the probiotic, *Lactobacillus plantarum* on growth performance and haematological indices of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) immunized with bivalent *streptococcosis/lactococcosis*

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-06]

[DOI: 10.71901/jad-2025-2-846]

vaccine. *Iranian Journal of Fisheries Sciences, 18*(2), pp.283-295. DOI:10.22092/ijfs.2018.117757

37. Soltani, M., Pakzad, K., Taheri-Mirghaed, A., Mirzargar, S., Shekarabi, S.P. H., Yosefi, P. and Soleymani, N., 2019. Dietary application of the probiotic *Lactobacillus plantarum* 426951 enhances immune status and growth of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) vaccinated against *Yersinia ruckeri*. *Probiotics and Antimicrobial Proteins, 11*, pp.207-219. DOI: 10.1007/s12602-017-9376-5
38. Steidler, L., Rottiers, P. and Coulie, B., 2009. Actobiotics™ as a Novel Method for Cytokine Delivery: The Interleukin-10 Case. *Annals of the New York Academy of Sciences, 1182*(1), pp.135-145. DOI: 10.1111/j.1749-6632.2009.05067.x
39. Stolen, J.S., Fletcher, T.C., Anderson, D.P., Kaattari, S.L. and Rowley, A.F., 1992. Techniques in fish immunology. USGS Publications Warehouse, 196 P.
40. 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 & Shellfish Immunology, 29*(5), pp.803-809. DOI:10.1016/j.fsi.2010.07.018
41. Svobodova, Z., Fravda, D. and Palakova, J., 1991. Unified methods of haematological examination of Research institute of fish culture and hydrobiology. Research Institute of fish culture and hydrobiology, Vodnany, Czechoslovekia, 31 P.
42. Taati, R., Tatina, M. and Bahmani, M., 2013. Effect of immunostimulants Immunoaster and Immunoval on blood, biochemical and immune indices of young farmed elephantfish (*Huso huso*). *Journal of Veterinary Research, 68*(2), pp.175-182. DOI: 10.22059/jvr.2013.31965 [In Persian]
43. Venkatalakshmi, S., Ebanasar, J., 2015. Immunostimulatory effect of Lactobacillus sporogenes on the nonspecific defense mechanisms of *Oreochromis mossambicus* (Peters). *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies, 2*(4), pp.362-369.
44. Westers, L., Westers, H. and Quax, W.J., 2004. *Bacillus subtilis* as cell factory for pharmaceutical proteins: a biotechnological approach to optimize the host organism. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research, 1694*(1-3), pp.299-310. DOI: 10.1016/j.bbamcr.2004.02.011
45. Yaziki, I.S., Hisar, O., Yilmaz, S. and Yigit, M., 2015. Effects of different probiotic bacteria on growth, body composition, immune response and hematological parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) under sublethal water temperature. *Marine Science and Technology Bulletin, 4*(2), pp.21-28.

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-06]

[DOI: 10.71901/jad-2025-2-846]