"مقاله پژوهشی"

تأثیر مقادیر مختلف پروبیوتیک *Enterococcus faecium* بر برخی شاخص‌های ایمنی سرم خون و موکوس پوست بچه ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

حسین اکبری[۱]، سید پژمان حسینی شکرابی *[۱] ، مهدی سلطانی[۲]، مهدی شمسایی مهرجان[۱]

۱. گروه شیلات، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
۲. گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۲/۲۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۴/۹

چکیده

اثر غلظت‌های متفاوت باکتری *انتروکوکوس فسیوم* در خوراک بر برخی شاخص‌های ایمنی بچه ماهی کپور معمولی در سال ۱۳۹۸ در مزرعه احمدآباد مستوفی صورت گرفت. برای این هدف، بچه ماهیانی با میانگین وزنی ۰/۵±۱۱/۰ گرم در ۱۲ مخزن پلاستیکی با تراکم ۵۰ عدد در هر مخزن توزیع شده و طی مدت ۵۶ روز با غلظت‌های مختلفی از باکتری *انتروکوکوس فسیوم* شامل [۰ (شاهد)، 1×10^{7} CFU/g (تیمار ۱)، 1×10^{8} CFU/g (تیمار ۲) و 1×10^{9} CFU/g (تیمار ۳)] غذادهی شدند. نتایج آزمایش حاکی از آن بود که بیشترین میزان لیزوزیم در سرم خون (۱/۷±۴۶/۲ واحد/میلی لیتر) و ایمونوگلوبولین M (۰/۹±۴۰/۰ میلی گرم /دسی لیتر) و اجزای سیستم کمپلمان شامل C3 (۰/۶±۲۵/۱ میلی گرم /دسی‌لیتر) و C4 (۰/۴±۱۱/۱۰ میلی گرم /دسی‌لیتر) متعلق به تیمار ۳ بود (P<۰/۰۵). در میان تیمارهای مختلف، بیشترین فعالیت لیزوزیم و فعالیت پروتئاز موکوس در ماهیان تیمار ۳ اندازه گیری گردید (P<۰/۰۵). اما سطح فعالیت آلکالین فسفاتاز موکوس جلدی، فاقد اختلافات معنی‌دار در میان تیمارهای آزمایشی مختلف بود (P>۰/۰۵). بر اساس نتایج حاصله به نظر می‌رسد که به کارگیری مقدار 1×10^{9} CFU/g از باکتری *انتروکوکوس فسیوم* در جیره بچه ماهی کپور معمولی بتواند اثرات مثبتی بر برخی پاسخ‌های ایمنی سرم خون و شاخص‌های موکوس پوست برجای گذارد.

کلمات کلیدی: *انتروکوکوس فسیوم*، ایمنی خون، موکوس پوست، کپور معمولی

* عهده‌دار مکاتبات (✉). hosseini@srbiau.ac.ir

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-06]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1400.15.2.10.7]
[DOI: 10.52547/aqudev.15.2.15]

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

[DOR: 20.1001.1.23223545.1400.15.2.10.7]
[DOI: 10.52547/aqudev.15.2.15]

مقدمه

مکمل‌های خوراکی مختلفی برای بهینه سازی فلور باکتریایی دستگاه گوارش بسیاری از جانوران از جمله آبزیان مورد مطالعه قرار گرفته‌اند که هدف آنها بهبود رشد، بهبود فعالیت‌های دستگاه گوارش، سیستم ایمنی و بقاء در ارگانیسم‌های آزمایشی بوده است (Dawood *et al.*, 2018). پیشترها، نخستین گزینه را به کارگیری آنتی بیوتیک‌ها تشکیل می‌داد به نحوی که به محض مشاهده بیماری‌های عفونی در مزارع، آبزی پروران و دامپزشکان به استفاده از این مواد متوسل می‌شدند (Okocha *et al.*, 2018). اما این موضوع در دراز مدت، با ایجاد سویه های پاتوژن مقاوم به آنتی‌بیوتیک، مشکلات عدیده را به همراه‌داشت (Rico *et al.*, 2017; Lulijwa *et al.*, 2020). بنابراین، یافتن جایگزینی مناسب برای آنتی بیوتیک‌ها همواره مد نظر محققان بوده است (Vaseeharan and Thaya, 2014; Dawood *et al.*, 2018).

در عین حال، استفاده از تکنولوژی‌های نوین در کاهش هزینه‌های تولید آبزی پروری بسیار مورد توجهِ فعالان این صنعت بوده و یکی از این تکنیک ها به کارگیری مکمل‌های میکروبی زنده (پروبیوتیک) در تغذیه آبزیان است (Van Doan *et al.*, 2020). این کار به منظور افزایش و بهبود فلور باکتری های مفید دستگاه گوارش و جلوگیری از رشد باکتری های مضر و بیماریزا در روده انجام می‌گیرد و مواد پروبیوتیکی بر اساس تعریف پذیرفته شده عبارتند از مکمل های غذایی زنده‌ای که از طریق بهبود تعادل میکروبی روده، آثار سودمندی در سیستم ایمنی غیر اختصاصی ماهیان به جای می‌گذارند (Ringø *et al.*, 2014). پروبیوتیک‌ها می‌توانند سبب پاسخ‌های ایمنی در میزبان شده که در نتیجه با افزایش مقاومت ماهیان در مقابل عوامل عفونی و استرس میزان بقا را افزایش می‌دهند (Van Doan *et al.*, 2020; El-Saadony et al., 2021).

از مهمترین باکتری‌های پروبیوتیکی مورد استفاده در صنعت آبزی پروری می‌توان به اعضای جنس لاکتوباسیلوس‌ها، انتروکوکوس‌ها، کارنوباکتریوم و بیفیدوباکتریوم اشاره کرد (Ringø *et al.*, 2014). در این میان، گونه *انتروکوکوس فسیوم* (*Enterococcus faecium*) باکتری‌های گرم مثبت، بی‌هوازی اختیاری و کاتالاز منفی هستند که قادرند در محیط حاوی ۶/۵ درصد کلرید سدیم ، ۴۰ درصد صفرا محدوده pH برابر ۶ تا ۹ و دمای ۱۰-۴۵ درجه سانتیگراد رشد کند (Alipour *et al.*, 2014). این باکتری‌ها به طور طبیعی در دستگاه گوارش انسان و برخی حیوانات، مواد غذایی و همچنین در خاک و آب یافت می‌گردد و کاربرد آن در درمان التهاب معده و روده در انسان‌ها و حیوانات تأیید شده است (Tian *et al.*, 2016). از طرفی باکتری گونه *انتروکوکوس کاسلی فلاووس* از دستگاه گوارش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان و کپور معمولی جداسازی و اثرات پروبیوتیکی آن به اثبات رسیده است (Safari *et al.*, 2016; Akbari *et al.*, 2021). اگرچه برخلاف سایرگونه‌های پروبیوتیکی مثل گونه‌های متعلق به جنس *باسیلوس*، اثرات خوراکی گونه‌های جنس *انتروکوکوس* در بهبود عملکرد رشد و سیستم ایمنی ماهیان محدود بوده و می‌توان به تحقیقات انجام شده روی ماهی تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) تغذیه شده با *انتروکوکوس فسیوم* (Wang *et al.*, 2008) و ماهیان سیم و بأس دریایی تغذیه شده با *انتروکوکوس گالیناروم* (Roman *et al.*, 2015) و

ماهی قزل‌آلا تغذیه شده با *انتروکوکوس کاسلی فلاووس* (Safari *et al.*, 2016) اشاره کرد. همچنین Sun و همکاران (۲۰۱۲) نشان دادند بکارگیری 1×10^{8} CFU/g باکتری *انتروکوکوس فسیوم* در جیره ماهی هامور (*Epinephelus coioides*) سبب ارتقاء فعالیت بیگانه‌خواری و سیستم کمپلکمان سرم شد.

گونه آبزی مورد مطالعه در این مطالعه ماهی کپور معمولی است که پرورش آن بسیار متداول است. این ماهی در سال ۲۰۱۷ با ۳ میلیون تن تولید، رتبه هفتم آبزیان پرورشی دنیا را به خود اختصاص داد (FAO, 2018). لذا با توجه به اهمیت جایگاه ماهی کپور معمولی در میان آبزیان پرورشی و با عنایت به نتایج مثبت کاربرد گونه‌های جنس *انتروکوکوس* در جیره بر شاخص‌های رشد و ایمنی آبزیان، سعی گردید تا در تحقیق حاضر، اثر سطوح مختلف باکتری *انتروکوکوس فسیوم* در جیره بر برخی شاخص‌های سرم خون و ایمنی در موکوس بچه ماهی کپور معمولی ارزیابی گردد.

مواد و روش‌ها

بخش اجرایی این پژوهش، طی یک دوره ۵۶ روزه در مزرعه شرکت آبزی اکسیر کوثر واقع در احمدآباد مستوفی استان تهران در سال ۱۳۹۸ انجام گرفت. در ابتدای آزمایش به منظور سازگاری بچه ماهیان با شرایط محیط آزمایش، ۶۰۰ ماهی کپور معمولی با میانگین وزنی ۰/۵±۱۱ گرم در ۱۲ مخزن پلاستیکی (هر تانک ۵۰ عدد ماهی) با شرایط یکسان توزیع و به مدت ۲۴ ساعت قطع غذادهی گردیدند. سپس به مدت ۱۴ روز با جیره پایه تغذیه شدند تا کاملا به شرایط محیط جدید عادت نمایند. در این مطالعه میانگین دما و اکسیژن به صورت روزانه ثبت می‌شد. میزان pH، نیتریت، نیترات و آمونیاک آب نیز هفته‌ای یک بار اندازه گیری و ثبت می‌گردید (جدول ۱).

جدول ۱: میانگین فاکتورهای کیفی آب در طی دوره پرورش (میانگین±انحراف معیار).

pH	اکسیژن محلول (mg/l)	درجه حرارت (^{0}C)	نیتریت (میلی‌گرم در لیتر)	آمونیاک (میلی‌گرم در لیتر)
۷/۶±۰/۱	۵/۸±۰/۲	۲۵/۰±۰/۸	۰/۰±۰/۰۳	۰/۰±۰/۰۳

تهیه مکمل میکروبی

در این بررسی باکتری انتروکوکوس *فسیوم* از روده ماهی کپور معمولی طبق روش توصیه شده توسط Jackson و همکاران (۲۰۰۴) جدا شده و به وسیله آزمایشات مولکولی (PCR) به تأیید رسید. مشخصات پرایمر مورد استفاده جهت شناسایی مولکولی باکتری در این تحقیق براساس ژن RNA ریبوزومی (۱۶ S rRNA) با استفاده از روش PCR در جدول ۲ نشان داده شده است (Jackson *et al.*, 2014). باکتری جدا شده در بانک ژن مشابه باکتری جدا شده از روده کپور ماهی با کد دسترسی MF171187 بدست آمد.

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-06]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1400.15.2.10.7]
[DOI: 10.52547/aqudev.15.2.15]

جدول ۲: آغازگراستفاده شده در این مطالعه.

آغازگر مورد استفاده	نقطه ذوب (°C)	اندازه پرایمر (bp)
F: AGTGCTAAGTGTTGGAGGGTT R: CGCGTTGCTTCGAATTAAACC	۵۹	۱۵۳

F: پرایمر پیشرو. R: پرایمر معکوس.

به منظور تهیه غلظت‌های باکتری مورد نظر، ابتدا سوسپانسیون باکتری مورد نظر روی محیط کشت تریپتیک سوی آگار (TSA) کشت داده شد و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد گرم‌خانه گذاری‌گردید. سپس از کلنی‌های کشت داده شده، با استفاده از استاندارد نیم مک فارلند و دستگاه اسپکتوفتومتر، میزان غلظت‌های مورد نظر بر مبنای CFU برگرم با تعیین جذب نوری در طول موج ۶۰۰ نانومتر تعیین‌گردید (Beck *et al.*, 2015).

تهیه و آماده سازی جیره های منتخب

به منظور تهیه جیره‌های آزمایشی، مقادیر صفر (تیمار شاهد)، 1×10^{7} CFU/g، 1×10^{8} CFU/g و 1×10^{9} CFU/g *انتروکوکوس فسیوم* به خوراک آماده کارخانه‌ای (غذای اکسترود ماهی قزل‌آلا شرکت کیمیاگران، شهرکرد) اضافه شد. دلیل انتخاب دوزهای مورد استفاده براساس نتایج تحقیقات صورت گرفته روی گونه *انتروکوکوس فسیوم* به عنوان مکمل پروبیوتیکی در جیره غذایی گونه‌های مختلف ماهی بود (Wang et al., 2008; Sun *et al.*, 2012). خوراک پایه حاوی ۳۸ پروتئین، ۸ چربی، ۱۰ خاکستر و ۹ درصد رطوبت بود. برای افزودن باکتری به خوراک از ژلاتین (۲ درصد) به عنوان بایندر استفاده شد. میزان غذادهی بصورت روزانه براساس دمای آب و جدول غذادهی در حد سیر شدن بچه ماهیان انجام می‌گرفت. ماهی‌ها به مدت ۵۶ روز و روزی ۴ بار در ساعات ۸:۰۰، ۱۲:۰۰، ۱۶:۰۰ و ۱۸:۰۰ با جیره‌های منتخب به صورت دستی تغذیه می‌شدند. در این آزمایش، مواد دفعی ماهی‌ها هر روز از کف مخازن سیفون می‌گردید. برای جلوگیری از بروز استرس ناشی از کاهش عمق آب در ظروف پرورشی، در هنگام سیفون کردن آب، ورودی آب تازه هر مخزن باز می‌شد تا سطح آب به کمک آب ورودی و سطح تراز آب در لوله خروجی، همواره ثابت بماند.

نمونه‌گیری در انتهای روز ۵۷ آزمایش و ۲۴ ساعت پس از قطع غذادهی و دفع محتویات لوله گوارش بچه ماهیان، صورت گرفت. برای این منظور ابتدا ماهی‌ها با پودر گل میخک (۱۵۰ میلی‌گرم درلیتر)، بیهوش شده (Hoseini and Nodeh, 2013) و عملیات خونگیری از آنها با سرنگ و از سیاهرگ دمی در ناحیه مخرج صورت می‌گرفت. نمونه‌های خون پس از جمع‌آوری در تیوب‌های اپندروف فاقد هپارین به مدت ۲ ساعت در یخچال نگهداری و سپس با استفاده از سانتریفیوژ (۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتیگراد)، سرم آنها جدا می‌گردید. سرم‌های تهیه شده تا قبل از انجام آزمایشات ایمنی در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری می‌شدند.

اندازه‌گیری شاخص‌های ایمنی سرم

اندازه‌گیری شاخص‌های گلوکز، C3 و C4 نمونه‌های سرم با استفاده از کیت‌های آزمایشگاهی (شرکت پارس آزمون، تهران) و بوسیله دستگاه

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-06]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1400.15.2.10.7]
[DOI: 10.52547/aqudev.15.2.15]

اتوآنالایزر مجتمع آزمایشگاهی رازی در واحد علوم و تحقیقات (Prestige 24i, Tokyo Boeki Medical System, Japan) انجام گرفت (Rashmeei *et al.*, 2020). اندازه گیری IgM بر اساس روش ایمونوتوربیدی متریک انجام شد (Cuesta *et al.*, 2014). برای تعیین میزان فعالیت لیزوزیم سرم نیز از روش ارائه شده توسط Adel و همکاران (۲۰۱۵) با مختصر تغییرات استفاده شد. بدین منظور، ۲۵ میکرولیتر سرم با ۷۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر باکتری *Micrococcus lysodeikticus* لئو فیلیزه (سیگما، آلمان) تهیه شده در بافر فسفات سیترات ۰/۱ مولار،۸/۵ pH در گودهای پلیت الیزای ۹۶ خانه‌ای مخلوط گردید و جذب نوری در طول موج ۴۵۰ نانومتر قرائت شد. مقداری از سرم که سبب کاهش میزان جذب نوری به میزان ۰/۰۰۱ در دقیقه شده به عنوان یک واحد فعالیت لیزوزیم در نظر گرفته شده و بصورت واحد در لیتر نشان داده شد. در این مطالعه از لیزوزیم سفیده تخم مرغ لیوفیلیزه شده (سیگما) به منظور ترسیم منحنی استاندارد استفاده شد.

جمع آوری و آماده سازی موکوس پوست

برای جمع آوری موکوس پوست، هر یک از ماهی‌ها پس از بیهوشی، داخل کیسه فریزر قرار داده شده و با مالش دادن ملایم موکوس پوستشان جمع‌آوری‌گردید. سپس نمونه‌ها با ۴ برابر حجم بافر تریس (۵۰ میلی‌مولار Tris-Hcl و ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم در pH ۸) هموژن شده در ۴۰۰۰ دور سانتریفوژ شده و در نهایت مایع روئی جمع آوری و با استفاده از جریان ملایم گاز ازت تغلیظ گردید. ماده حاصله پس از عبور از *فیلتر* غشایی *میلی‌پور* (ساخت شرکت *میلی‌پور* کشور آمریکا، مش ۰/۳ میکرون) به عنوان عصاره مخاطی تا زمان استفاده فریز گردید (Hoseinifar *et al.*, 2016). حدوداً ۳۰۰ میلی‌گرم از عصاره مخاطی وزن شده به داخل تیوب‌ها ریخته شد. سپس حدود ۱۰۰۰ میکرولیتر بافر تریس (نسبت ۳۰۰ به ۱۰۰۰) به هر کدام از تیوب‌ها افزوده شده و تیوب‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در ۴۰۰۰ دور، سانتریفوژ گردیدند. پس از سانتریفوژ، مایع روئی به داخل میکروتیوپ‌ها ریخته شد و نمونه‌ها تا زمان انجام آزمایشات در داخل فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری‌گردید.

شاخص‌های ایمنی موکوس

در این بررسی شاخص‌های مختلفی همچون لیزوزیم و ایمونوگلوبولین تام در موکوس اندازه‌گیری‌شدند. اندازه‌گیری فعالیت آنزیم لیزوزیم موکوس به روش کدورت‌سنجی و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر انجام شد. برای این منظور ۲۰ میکرولیتر نمونه موکوس با ۹۸۰ میکرولیتر از کیت ترکیب شده و جذب نوری آن در طول موج ۵۶۰ نانومتر ثبت گردید (Hoseinifar *et al.*, 2016). میزان ایمونوگلوبولین کل از تفریق غلظت پروتئین نمونه اولیه و غلظت پروتئین پس از افزودن پلی اتیلن گلایکول محاسبه گردید (Siwicki and Anderson, 1993).

تجزیه و تحلیل‌های آماری

این آزمایش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام گرفت. ابتدا نرمال بودن داده‌ها با آزمون کولموگروف–اسمیرنف سنجش شد. سپس داده‌ها با استفاده از تجزیه واریانس یک طرفه داده‌ها (one-way analysis of varianc) آنالیز شده و مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تعیین‌گردید ($P<0.05$). تجزیه و

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-06]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1400.15.2.10.7]
[DOI: 10.52547/aqudev.15.2.15]

تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS ورژن ۱۸ صورت گرفت.

نتایج

تغییرات سطوح فاکتورهای ایمنی سرم خون ماهیان کپور معمولی تغذیه شده با مقادیر مختلف باکتری *انتروکوکوس فسیوم* در جدول ۳ خلاصه شده است. نتایج نشان داد که اختلافات معنی‌داری در میزان فاکتورهای C3 و IgM در ماهیان تغذیه شده با تیمارهای میکروبی مختلف وجود داشت و جیره حاوی ۱×۱۰^{۹} CFU/g باکتری *انتروکوکوس فسیوم* با سایر تیمارها به ویژه تیمار شاهد اختلاف فاحشی داشت (P<۰/۰۵). کمترین میزان C4 در تیمار شاهد برابر با ۸/۸±۰/۴ (میلی‌گرم/ دسی‌لیتر) و بیشترین میزان آن در تیمار حاوی ۱×۱۰^{۹} CFU/g *انتروکوکوس فسیوم* برابر با ۱۱/۱±۰/۴ (میلی‌گرم/ دسی‌لیتر) به‌دست آمد هر چند اختلاف مشاهده شده معنی‌داری نبود (P>۰/۰۵). همچنین نتایج این بررسی نشان داد که اختلاف معنی-داری در میزان فعالیت لیزوزیم سرم بین تیمارهای ۱×۱۰^{۹} CFU/g و ۱×۱۰^{۸} CFU/g *انتروکوکوس فسیوم* با تیمارهای دیگر وجود داشت (P<۰/۰۵).

جدول ۳: تغییرات سطوح فاکتورهای ایمنی ماهیان کپور معمولی تغذیه شده با مقادیر مختلف باکتری *انتروکوکوس فسیوم*.

پارامتر	تیمارها			
	شاهد	۱×۱۰^{۷} CFU/g	۱×۱۰^{۸} CFU/g	۱×۱۰^{۹} CFU/g
لیزوزیم (واحد/میلی‌لیتر)	^{c}۳۸/۷±۰/۴	^{b}۴۱/۹±۰/۶	^{a}۴۵/۲±۱/۹	^{a}۴۶/۲±۱/۷
C3 (میلی گرم/دسی لیتر)	^{c}۱۸/۱±۰/۲	^{b}۲۲/۳±۰/۷	^{b}۲۲/۹±۰/۴	^{a}۲۵/۱±۰/۶
C4 (میلی گرم/دسی لیتر)	^{a}۸/۸±۰/۳	^{a}۱۰/۶±۰/۴	^{a}۱۰/۰±۰/۳	^{a}۱۱/۱±۰/۴
IgM (میلی گرم/دسی لیتر)	^{c}۳۲/۸±۰/۹	^{c}۳۳/۴±۰/۵	^{b}۳۷/۷±۰/۲	^{a}۴۰/۰±۰/۹

حروف غیرهمسان در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی داری در سطح ۵ درصد می‌باشد (P<۰/۰۵).

در جدول ۴ مقدار فاکتورهای اندازه گیری شده در موکوس کپور ماهیان تغذیه شده با غلظت‌های مختلف باکتری *انتروکوکوس فسیوم* قابل مشاهده است. نتایج نشان می‌دهد که فعالیت لیزوزیم در گروه تغذیه شده با تیمارهای باکتریایی واجد ۱×۱۰^{۹} CFU/g و ۱×۱۰^{۸} CFU/g *انتروکوکوس فسیوم*، اختلاف معنی‌داری با تیمارهای دیگر داشته‌اند (P<۰/۰۵). همچنین فعالیت پروتئاز موکوس در ماهیان دریافت کننده غلظت ۱×۱۰^{۹} CFU/g باکتری *انتروکوکوس فسیوم* اختلاف معنی‌داری را با سایر تیمارها به ویژه تیمار شاهد نشان داده است (P<۰/۰۵). البته میزان فعالیت آلکالین فسفاتاز موکوس پوست در میان تیمارهای مختلف فاقد اختلافات معنی‌دار بود (P>۰/۰۵).

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-06]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1400.15.2.10.7]
[DOI: 10.52547/aqudev.15.2.15]

جدول ۴: تأثیر تیمارهای مختلف باکتری *انتروکوکوس فسیوم* روی شاخص‌های ایمنی موکوس کپور معمولی.

پارامتر	تیمارها			
	شاهد	۱×۱۰^{۷} CFU/g	۱×۱۰^{۸} CFU/g	۱×۱۰^{۹} CFU/g
لیزوزیم (واحد/میلی گرم پروتئین)	^{b}۳۱/۸±۰/۴	^{b}۳۴/۱±۰/۶	^{a}۳۹/۲±۰/۵	^{a}۴۲/۴±۰/۸
آلکالین فسفاتاز (واحد/لیتر)	^{a}۶/۲±۰/۰۲	^{a}۶/۰±۰/۲۱	^{a}۶/۷±۰/۱۶	^{a}۶/۸±۰/۲۱
پروتئاز (واحد/میلی گرم پروتئین)	^{d}۱۹/۰±۰/۷	^{c}۲۱/۹±۰/۳	^{b}۲۷/۱±۰/۲	^{a}۳۳/۳±۰/۶

حروف متفاوت در هر ردیف نشان دهنده تفاوت معنی دار بین تیمارهای مورد مطالعه است (P<۰/۰۵).

بحث

بهینه‌سازی فاکتورهای تغذیه‌ای و ایمنی می‌تواند باعث سازگاری اکولوژیکی، رشد بهتر و کاهش تلفات در طی دوره پرورش در آبزیان گردد. روند تولید ایمونوگلوبولین‌ها در ماهی وقوع مجموعه‌ای از واکنش‌ها بین سلول ارائه‌دهنده آنتی ژن، سلول‌های T کمک‌کننده فعال‌شده و اینترلوکین‌ها سبب تحریک لنفوسیت‌های B می‌شوند (Iwama and Nakanishi, 1996). ایمونوگلوبولین‌ها جزء مهمی از پروتئین‌های سرم هستند که در ایجاد پاسخ ایمنی هومورال در بدن نقش کلیدی دارند (Rauta *et al.*, 2012). براساس نتایج به دست آمده در این مطالعه، روند صعودی افزایش ایمونوگلوبولین سرم با افزایش مقدار پروبیوتیک در جیره بچه ماهیان کپور ثبت‌گردید. لیزوزیم نیز از مهمترین اجزای ایمنی غیراختصاصی ماهی محسوب می‌شود که موجب تخریب جداره باکتری‌ها، فعال سازی کمپلمان و افزایش فعالیت بیگانه خواری در ماهی می‌شود (Esteban *et al.*, 2001). بنابراین، افزایش میزان فعالیت لیزوزیم سرم گویای بهبود وضعیت ایمنی ذاتی ماهی است و افزایش آن به مقابله بهتر سیستم ایمنی ماهی در برابر عوامل عفونی و استرس‌زا کمک می‌نماید (Saurabh and Sahoo, 2008). درخصوص میزان فعالیت لیزوزیم سرم، نتایج تحقیق حاضر نشان داد که مقدار این آنزیم در تیمارهای ۱×۱۰^{۹} CFU/g و ۱×۱۰^{۸} CFU/g *انتروکوکوس* فسیوم حداکثر است. بطور مشابه سایر تحقیقات تجویز برخی محرک‌های ایمنی، پروبیوتیک‌ها و برخی پربیوتیک‌ها در ماهی، افزایش فعالیت لیزوزیم مشاهده شده است (Alishahi *et al.*, 2010). نتایج همچنین حاکی از آن بود که فاکتورهای C3 و IgM در کپورهای تغذیه شده با جیره حاوی ۱×۱۰^{۹} CFU/g *باکتری انتروکوکوس* فسیوم با سایر تیمارها به ویژه تیمار شاهد اختلافات معنی‌داری داشتند (P<۰/۰۵). کمترین میزان C4 در تیمار شاهد برابر با ۸/۸±۰/۳ (میلی گرم/ دسی‌لیتر) و بیشترین میزان آن در تیمار حاوی حاوی ۱×۱۰^{۹} CFU/g *انتروکوکوس فسیوم* برابر با ۱۱/۱±۰/۴ (میلی‌گرم/ دسی‌لیتر) به‌دست آمد هر چند اختلافات مشاهده شده معنی‌داری نبود.

کمپلمان C3 یکی از اجزای اصلی تحریک کننده سیستم ایمنی هومورال و سلولی در ماهی‌ها است (Holland and Lambris, 2002). این کمپلمان هم از طریق کلاسیک و هم از راه آلترناتیو موجب تحریک سنتز سایر اجزاء کپلمان می‌گردد. به هنگامی‌که کمپلمان از راه کلاسیک خود فعال شود تحریک تولید آنتی بادی را سبب شده و در این مورد به طور اختصاصی عمل می‌کند. به نحوی که بعنوان یکی از

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-06]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1400.15.2.10.7]
[DOI: 10.52547/aqudev.15.2.15]

پارامترهای سیستم ایمنی همورال در نظر گرفته می‌شود. اما زمانیکه این کمپلمان از راه آلترناتیو وارد عمل شود عملکرد خود را در سیستم ایمنی ذاتی نشان داده و به صورت غیر اختصاصی عمل می‌نماید. در مطالعه همسو با نتایج حاضر، Wang و همکاران (۲۰۰۸) نشان دادند که استفاده از *انتروکوکوس فسیوم* در جیره ماهی تیلاپیای نیل منجر به افزایش معنی‌دار شاخص‌های ایمنی کمپلمان، انفجار تنفسی و فاگوسیتوز در ماهیان دریافت کننده این پروبیتیک در مقایسه با تیمار شاهد گردید. همچنین *علیزاده رودپشتی و همکاران (۱۳۹۶) نیز طی مطالعه‌ای نشان دادند که استفاده از پروبیوتیک* انتروکوکوس فسیوم *منجر به افزایش معنی‌دار* لیزوزیم سرم و IgM در بچه تاس ماهی ایرانی می‌گردد. در مطالعه Sun و همکاران (۲۰۱۲) نیز استفاده از پروبیوتیک *انتروکوکوس فسیوم* و *لاکتوکوکوس لاکتیس* در جیره غذایی ماهی شانک، موجب افزایش معنی‌دار کمپلمان C_3 شد. Roman و همکاران (۲۰۱۵) نیز گزارش کردند که استفاده از پروبیوتیک *انتروکوکوس گالیناروم* منجر به بهبود ایمنی غیر اختصاصی (انفجار تنفسی) ماهیان سیم دریایی و بأس دریایی می‌گردد. نتایج مطالعه Kazun و همکاران (۲۰۱۸) نیز حاکی از آن بود که وجود *پروبیوتیک* لاکتوباسیلوس پلانتاروم در جیره ماهی کپور معمولی منجر به بهبود شاخص‌های ایمنی فاگوسیتوز، انفجار تنفسی و فعالیت لیزوزیم سرم و افزایش میزان پروتئین تام سرم می‌گردد. در بررسی‌های زیر نیز نتایج مشابهی گزارش شده است:

نقش محافظتی موکوس پوست ماهی به عنوان اولین خط دفاعی بر علیه پاتوژن ها بسیار واضح و مبرهن است. موکوس به طور دائمی از لایه‌های سطحی بدن ماهی تولید می‌شود که علاوه بر نقش محافظتی، نقش جلوگیری از از اتصال عوامل پاتوژن به اپی تلیوم پوست را بعهده دارد (Cone, 2009). همچنین موکوس شامل مواد گوناگونی با خاصیت آنتی میکروبی از قبیل لیزوزیم، فسفاتازهای قلیایی و اسیدی، لکتین‌ها و ایمونوگلوبولین می‌باشد که این مواد نقش اساسی در سیستم دفاعی ماهی بعهده دارند (Jung *et al.*, 2012). پروتئاز به عنوان یک عامل ضدباکتریایی محسوب می‌شود که با افزایش فعالیت هیدرولیکی منجر به افزایش اثرات ضدباکتریایی و مقاومت ماهی در برابر عوامل بیماریزایی مختلف می‌گردد (Iger and Abraham, 1990) پروتئاز موکوس پوست در مقاومت طبیعی در برابر عفونت‌های پوست ماهی نقش دارد. ترشح پروتئازها در موکوس پوست مستقیماً بر پاتوژن ها (باکتری‌ها را از طریق شکستن پروتئین‌ها از بین می‌برند) عمل کرده یا ممکن است به طور غیر مستقیم از طریق تغییر غلظت موکوس علیه پاتوژن ها عمل نماید (Esteban, 2012).

فعالیت باکتری کشی لیزوزیم در موکوس پوست ماهی و سایر بافت ها به عنوان یک مکانیسم دفاعی مهم در برابر باکتری‌های بیماریزا تلقی می‌گردد. تفاوت چشمگیری در سطوح آنزیم لیزوزیم در موکوس پوست ماهی‌های مختلف مشاهده شده است که وابسته به گونه ماهی مورد مطالعه، جیره غذایی و همچنین شرایط محیط پرورشی است (Esteban, 2012). در مطالعه حاضر، میزان فعالیت لیزوزیم در ماهیان کپور معمولی تغذیه شده با 1×10^{9} CFU/g و 1×10^{8} CFU/g *انتروکوکوس* فسیوم اختلاف معنی‌داری با تیمارهای دیگر داشت. همچنین فعالیت پروتئاز موکوس در ماهیان دریافت کننده غلظت1×10^{9} CFU/g باکتری

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-06]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1400.15.2.10.7]
[DOI: 10.52547/aqudev.15.2.15]

انتروکوکوس فسیوم اختلاف معنی‌داری را با سایر تیمارها به ویژه تیمار شاهد نشان داده است. هر چند که از نظر میزان فعالیت آلکالین فسفاتاز موکوس پوست اختلاف معنی‌داری بین تیمار شاهد و سایر گروه‌های دریافت کننده باکتری *انتروکوکوس فسیوم* مشاهده نشد. هرچند که مکانیسم دقیق پروبیوتیک بر بهبود شاخص‌های ایمنی موکوس پوست ماهیان شناخته نشده است ولی Kiron (۲۰۱۲) بیان کرد که استفاده از پروبیوتیک و پربیوتیک در جیره می‌تواند از طریق متعادل کردن فعالیت بافت‌های لنفوییدی در ارتباط با دستگاه گوارش و سیستم ایمنی باعث بهبود عملکرد و فعالیت سیستم ایمنی ذاتی و موکوسی میزبان گردد.

آنزیم فسفاتاز قلیایی به عنوان یک عامل ضد باکتریایی ضروری شناخته شده و عملکرد محافظتی در بهبود زخم، عفونت انگلی و استرس‌ها دارد (Iger and Abraham, 1990). اختلافات معنی داری در فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی در میان تیمارهای مختلف تحقیق حاضر مشاهده نشد. در مطالعات مشابه، Modanlo و همکاران (۲۰۱۷) نشان دادند که استفاده از پروبیوتیک *پدیوکوکوس اسیدلاکتیکی* (*Pediococcus acidilactici*) در جیره ماهی کپور معمولی موجب افزایش معنی‌دار ایمونوگلوبین موکوس ماهیان انگشت قد گردید، هر چند که اختلاف معنی‌داری در میزان فعالیت پروتئاز موکوس مشاهده نشد. در بررسی همسو کریمی و همکاران (۱۳۹۸) نشان دادند که استفاده از پربیوتیک تجاری رافینوز در جیره ماهی کپور معمولی در سطوح ۳ و ۴ درصد موجب افزایش فعالیت آنزیم لیزوزیم موکوس و میزان ایمونوگلوبولین موکوس پوست نسبت به تیمار شاهد گردید. همچنین سپهرفر و همکاران (۱۳۹۷) گزارش دادند که استفاده از پروبیوتیک *پدیوکوکوس اسیدلاکتیکی* به میزان ۱۰۷ × ۱ CFU/g در جیره ماهی کپور معمولی موجب افزایش معنی‌دار در فعالیت آنزیم لیزوزیم موکوس، میزان ایمونوگلوبولین و پروتئین محلول موکوس پوست در مقایسه با تیمار شاهد می‌گردد که این موضوع همسو با نتایج تحقیق حاضر است. Hoseinifar و همکاران (۲۰۱۵) نیز نشان دادند که استفاده از غلظت‌های 10^8 ×۱/۵، 10^8 × ۳ CFU/ml پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در خوراک کپور معمولی، سبب افزایش معنی دار فعالیت ضدباکتریایی موکوس، پروتئین محلول و آنزیم آلکالین فسفاتاز قلیایی ماهی تایگر بارب می‌گردد. در مطالعه همسو، Pirarat و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند که استفاده از پروبیوتیک لاکتوباسیلوس رامنوز در جیره غذایی ماهی تیلاپیای نیل نیز منجر به افزایش بیان ژن‌های ایمنی سرم و موکوس در ماهیان دریافت کننده پروبیوتیک در مقایسه با گروه شاهد گردید.

با توجه به نتایج بدست آمده از این تحقیق و نظر به اینکه کپور معمولی یکی از مهمترین گونه‌های گرمابی کشور است، پژوهش حاضر نشان داد که باکتری *انتروکوکوس فسیوم* به عنوان یک پروبیوتیک بالقوه بویژه در سطح 1×10^9 CFU/g روی شاخص‌های ایمنی سرم و موکوس ماهی کپور معمولی اثر کاملاً مثبت و معنی داری دارد. هر چند که انجام مطالعات تکمیلی جهت بررسی آزمایشات تکمیلی ایمن بودن این باکتری بر ماهی و همچنین اثرات خوراکی آن بر شاخص‌های رشد، جمعیت باکتریایی روده و میزان مقاومت ماهی کپور در برابر عوامل بیماریزای عفونی شایع ضروری به نظر می‌رسد.

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-06]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1400.15.2.10.7]
[DOI: 10.52547/aqudev.15.2.15]

سپاسگزاری

نویسندگان مقاله بر خود واجب می‌دانند تا از تلاش-ها و زحمات پرسنل آزمایشگاه شیلات دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات و آزمایشگاه ویرومد (گیلان، ایران) تشکر و قدردانی نمایند.

منابع

۱. سپهرفر، د.، سروی مغانلو، ک.، حسینی فر، س.ح.، پاک نژاد، ح.، جافرنوده، ع.، ۱۳۹۷. تأثیر استفاده مجزا و تلفیقی پروبیوتیک *Pediococcus acidilactici* و پودر *Agaricus bisporus* جیره بر شاخص‌های ایمنی موکوس و هیستومورفولوژی روده در بچه ماهی کپور معمولی. فصلنامه فیزیولوژی و تکوین جانوری، ۱۱(۲)، ۲۷-۳۵.

۲. کریمی، م.، پاک نژاد، ح.، حسینی فر، س. ح.، شعبانی، ع.، ۱۳۹۸. تأثیر سطوح مختلف پریبیوتیک رافینوز بر عملکرد رشد و شاخص‌های ایمنی موکوس در بچه ماهی کپور معمولی. بهره برداری و پرورش آبزیان، ۸(۱)، ۳۱-۴۰.

۳. علیزاده رودپشتی، م.، شناور ماسوله، ع.، جلیل پور، ج.، معصوم زاده، م.، بازاری مقدم، س.، یگانه، ه.، عزیزاده، ل.، ۱۳۹۶. اثر *انتروکوکوس فکالیس* به عنوان پروبیوتیک بر شاخص‌های خونی و سرمی بچه تاس ماهیان ایرانی (*Acipencer persicus*). نشریه توسعه آبزی پروری، ۱۱(۱)، ۸۳-۱۰۳.

4. Adel, M., Abedian Amiri, A., Zorriehzahra, J., Nematolahi, A., Esteban, M.Á., 2015. Effects of dietary peppermint (*Mentha piperita*) on growth performance, chemical body composition and hematological and immune parameters of fry Caspian white fish (*Rutilus frisii kutum*). Fish and Shellfish Immunology, 45, 841–847.

5. Akbari, H., Shekrabi, S. P. H., Soltani, M., Mehrgan, M. S., 2021. Effects of potential probiotic *Enterococcus casseliflavus* (EC-001) on growth performance, immunity, and resistance to *Aeromonas hydrophila* infection in common Carp (*Cyprinus carpio*). Probiotics and Antimicrobial Proteins, 1-10.

6. Alipour, M., Hajiesmaili, R., Talebjannat, M., Yahyapour, Y., 2014. Identification and antimicrobial resistance of *Enterococcus* spp. isolated from the river and coastal waters in northern Iran. The Scientific World Journal, 14, 1-5.

7. Alishahi, M., Tulaby Dezfuly, Z., Mesbah, M., Mohammadian. T., 2018. Effects of two probiotics, Lactobacillus Plantarum and Lactobacillus Bulgaricus on growth performance and intestinal Lactic Acid bacteria of *Cyprinus carpio*. Iranian Journal of Veterinary Medicine, 12(3), 207-217.

8. Beck, B. R., Kim, D., Jeon, J., Lee, S. M., Ki, H. K., Kim, O.J., Lee, J. I., Suh, B. S., Do, H. K. Lee, K. H., 2015. The effects of combined dietary probiotics *Lactococcus lactis* BFE920 and *Lactobacillus plantarum* FGL0001 on innate immunity and disease resistance in olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). Fish and Shellfish Immunology, 42(1), 177-183.

9. Buntin, N., Chanthachum, S., Hongpattarakere, T., 2008. Screening of lactic acid bacteria from gastrointestinal tracts of marine fish for their potential use as probiotics. Songklanakarin Journal of Science Technology, 30(1), 141-148.

10. Cone, R. A., 2009. Barrier properties of mucus. Advanced Drug Delivery Reviews, 61, 75-85.

11. Cuesta, A., Meseguer, J., Esteban, M. A., 2004. Total serum immunoglobulin M levels are affected by immunomodulators in seabream (*Sparus aurata* L.). Veterinary Immunology and Immunopathology, 101(3-4), 203-210.

12. Dawood, M. A., Koshio, S., Esteban, M. Á., 2018. Beneficial roles of feed additives as immunostimulants in

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-06]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1400.15.2.10.7]
[DOI: 10.52547/aqudev.15.2.15]

aquaculture: a review. Reviews in Aquaculture, 10(4), 950-974.
13. El-Saadony, M. T., Alagawany, M., Patra, A. K., Kar, I., Tiwari, R., Dawood, M. A., Abdel-Latif, H. M., 2021). The functionality of probiotics in aquaculture: An overview. Fish and Shellfish Immunology. 117, 36-52.
14. Esteban, M. A., Cuesta, A., Ortuno, J., Meseguer, J., 2001. Immunomodulatory effects of dietary intake of chitin on gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) innate immune system. Fish and Shellfish Immunology, 11(4), 303-315.
15. FAO., 2018. The State of World Fisheries and Aquaculture 2018-Meeting the sustainable development goals. Food and Agriculture Organization, Rome, 210 p.
16. Holland, M. C., Lambris, J.D., 2002. The complement system of teleosts. Fish and Shellfish Immunology, 12, 399–420.
17. Hoseini, S. M., Nodeh, A. J., 2013. Changes in blood biochemistry of common carp *Cyprinus carpio* (Linnaeus), following exposure to different concentrations of clove solution. Comparative Clinical Pathology, 22(1), 9-13.
18. Hoseinifar, S.H., Roosta, Z., Hajimoradloo, A., Vakili, F., 2015. The effects of Lactobacillus acidophilus as feed supplement on skin mucosal immune parameters, intestinal microbiota, stress resistance and growth performance of black swordtail (*Xiphophorus helleri*). Fish and Shellfish Immunology, 42(2), 533-538.
19. Hoseinifar, S.H., Zoheiri, F., Caipang, C.M., 2016. Dietary sodium propionate improved performance, mucosal and humoral immune responses in Caspian white fish (*Rutilus frisii kutum*) fry. Fish and Shellfish Immunology, 55, 523-528.
20. Iger, Y., Abraham, M., 1990. The process of skin healing in experimentally wounded carp. Journal of Fish Biology, 22, 124-122.
21. Iwama, G., Nakanishi, T., 1996. The fish immune system. Academic Press, London. Chapter 3: innate Immunity in fish, 114 p.
22. Jackson, C.R., Fedorka-Cray, P.J., Barrett, J.B., 2004. Use of genus- and species-specific multiplex PCR for identification of enterococci. Journal of Clinical Microbiology, 42(5), 3558-3565.
23. Jung, T. S., del Castillo, C. S., Javaregowda, P. K., Dalvi, R. S., Nho, S. W., Park, S. B., Aoki, T. 2012. Seasonal variation and comparative analysis of non-specific humoral immune substances in the skin mucus of olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). Developmental and Comparative Immunology 38: 295-301.
24. Kazun, B., Joanna Małaczewska, Krzysztof Kazuń, Żylińska-Urban, J., Siwicki, A.K., 2018. Immune-enhancing Activity of Potential Probiotic Strains of Lactobacillus Plantarum in the Common carp (*Cyprinus Carpio*) Fingerling. Journal of Veterinary Research, 62(4), 485–492.
25. Kiron, V., 2012. Fish immune system and its nutritional modulation for preventive healthcare. Animal Feed Science and Technology, 173, 111-133.
26. Lulijwa, R., Rupia, E. J., Alfaro, A. C., 2020. Antibiotic use in aquaculture, policies and regulation, health and environmental risks: a review of the top 15 major producers. Reviews in Aquaculture, 12(2), 640-663.
27. Modanlo, M., Soltanian, S., Akhlaghi, M., Hoseinifar, S.H., 2017. The effects of single or combined administration of *galactooligosaccharide* and *Pediococcus acidilactici* on cutaneous mucus immune parameters, humoral immune responses and immune related genes expression in common carp (*Cyprinus carpio*) fingerlings. Fish and Shellfish Immunology, 70, 391-397.
28. Okocha, R. C., Olatoye, I. O., Adedeji, O. B., 2018. Food safety impacts of antimicrobial use and their residues in aquaculture. Public health reviews, 39(1), 1-22.
29. Pirarat, N., Pinpimai, K., Endo, M., Katagiri, T., Ponpornpisit, A., Chansue

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-06]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1400.15.2.10.7]
[DOI: 10.52547/aqudev.15.2.15]

N., 2011. Modulation of intestinal morphology and immunity in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) by *Lactobacillus rhamnosus* GG. Research in Veterinary Science, 4, 91: 92-97.

30. Rashmeei, M., Shekarabi, S. P. H., Mehrgan, M. S., Paknejad, H., 2020. Stimulatory effect of dietary chasteberry (*Vitex agnus-castus*) extract on immunity, some immune-related gene expression, and resistance against *Aeromonas hydrophila* infection in goldfish (*Carassius auratus*). Fish and Shellfish Immunology, 107, 129-136.
31. Rauta, P. R., Nayak, B., Das, S., 2012. Immune system and immune responses in fish and their role in comparative immunity study: a model for higher organisms. Immunology Letters, 148(1), 23-33.
32. Rico, A., Jacobs, R., Van den Brink, P. J., Tello, A., 2017. A probabilistic approach to assess antibiotic resistance development risks in environmental compartments and its application to an intensive aquaculture production scenario. Environmental Pollution, 231, 918-928.
33. Ringø, E., Dimitroglou, A., Hosseinifar, S.H., Davies, S.J., 2014. Prebiotics in Finfish: an update. Aquaculture Nutrition: Gut Health, Probiotics and Prebiotics, 14(1), 360-400.
34. Roman, L. D., Padilla, F., Acosta, L., Sorroza, E., Fatima, S., Deniz, A., 2015. The effect of probiotic *Enterococcus gallinarum* L-1 on the innate immune parameters of outstanding species to marine aquaculture. Journal of Applied Animal Research, 4(1): 177-183.
35. Safari, R., Adel, M., Lazado, C.C., Marlowe A. Caipang, C., Dadar, M., 2016. Host-derived probiotics *Enterococcus casseliflavus* improves resistance against *Streptococcus iniae* infection in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) via immunomodulation. Fish and Shellfish Immunology, 52(1), 198-205.
36. Saurabh, S., Sahoo, P. K., 2008. Lysozyme: an important defence molecule of fish innate immune system. Aquaculture Research, 39(3), 223-239.
37. Siwicki, A.K., Anderson, D.P., 1993. Nonspecific defense mechanisms assay in fish. In: Disease diagnosis and prevention methods. IFI Olsztyn, Poland, 112p.
38. Sun, Y.Z., Yang, H.L., Ma, R.L., Song, K., Li, J.S., 2012. Effect of *Lactococcus lactis* and *Enterococcus faecium* on growth performance, digestive enzymes and immune response of grouper *Epinephelus coioides*. Aquaculture Nutrition, 18(1), 281-289.
39. Tian, Z., Yang, L., Li, P., Xiao, Y., Peng, J., Wang, X., Li, Z., Liu, M., Bi, D., Shi, D., 2016). The inflammation regulation effects of *Enterococcus faecium* HDRsEf1 on human enterocyte-like HT-29 cells. Animal Cells and Systems, 20(2), 70-76.
40. Van Doan, H., Hoseinifar, S. H., Ringø, E., Ángeles Esteban, M., Dadar, M., Dawood, M. A., Faggio, C., 2020. Host-associated probiotics: a key factor in sustainable aquaculture. Reviews in Fisheries Science and Aquaculture, 28(1), 16-42.
41. Vaseeharan, B., Thaya, R., 2014. Medicinal plant derivatives as immunostimulants: an alternative to chemotherapeutics and antibiotics in aquaculture. Aquaculture International, 22(3), 1079-1091.
42. Wang, W.B., Tian, Z.Q., Yao, J.T., Li, W., 2008. Effect of probiotics, *Enterococcus faecium*, on tilapia (*Oreochromis niloticus*) growth performance and immune response. Aquaculture, 277(3), 203-207.

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-06]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1400.15.2.10.7]
[DOI: 10.52547/aqudev.15.2.15]