

"مقاله پژوهشی"

اثرات پروبیوتیک اختصاصی بر عملکرد رشد، آنزیم های کبدی و شاخص های ایمنی تاسماهی سبیری (*Acipenser baerii*) جوان پرورشی

سهیل بازاری مقدم^۱، علیرضا شناور ماسوله^{۱*}، جلیل جلیل پور^۱، رضوان اله کاظمی^۱

مهدی علیزاده^۱، مجید پورصفر^۱

۱- انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۷/۲۶

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۴/۸

چکیده

با توسعه پرورش ماهیان خاویاری در کشور می توان بروز و افزایش انواع بیماری های عفونی را در مزارع پرورشی انتظار داشت. در این راستا مصرف پروبیوتیک های اختصاصی در ارتقای سلامت این ماهیان حائز اهمیت خواهند بود. در این تحقیق که در انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری (گیلان- رشت) انجام گردید مجموعاً ۵۰۰ عدد تاسماهی سبیری با میانگین وزنی $84/08 \pm 3/12$ گرم به صورت تصادفی در ۱۲ وان فایبرگلاس (با حجم کلی ۵۰۰ لیتر و حجم آبیگری ۳۰۰ لیتر) توزیع شدند. به طوری که ماهیان در تیمار شاهد (جیره پایه بدون باکتری های پروبیوتیک) و تیمارهای حاوی پروبیوتیک اختصاصی با مقادیر ۱۵۰ میلی گرم (تیمار ۱)، ۳۰۰ میلی گرم (تیمار ۲) و ۴۵۰ میلی گرم (تیمار ۳) به ازای هر کیلوگرم غذا به مدت ۱۰ هفته مورد تغذیه قرار گرفتند و سپس اثرات افزودن ترکیب دو سویه پروبیوتیکی جداشده از روده تاسماهی سبیری (*Weissella confusa* و *Lactococcus lactis*) بر شاخص های رشد، آنزیم های کبدی و شاخص های ایمنی تعیین گردید. نتایج این پژوهش نشان داد که با افزودن پروبیوتیک اختلاف معنی داری در ضریب تبدیل غذایی مشاهده شد ($p < 0/05$). اما افزایش رشد روزانه، نرخ رشد ویژه، درصد افزایش وزن بدن و ضریب چاقی بین تیمارها و گروه شاهد فاقد اختلاف معنی دار بود ($p > 0/05$). بیشترین و کمترین مقادیر ایمونوگلوبولین M و لیزوزیم نیز با اختلاف معنی دار به ترتیب در تیمارهای ۱ و ۳ مشاهده گردید ($p < 0/05$). بر اساس نتایج این پژوهش می توان بیان داشت که بهینه تراکم کلنی های فلورباکتریایی اختصاصی مورد استفاده در جیره غذایی تاسماهی سبیری به منظور بهبود شاخص های رشد و ایمنی معادل ۳۰۰ میلی گرم در کیلوگرم غذا می باشد.

کلمات کلیدی: تاسماهی سبیری، پروبیوتیک های اختصاصی، شاخص های رشد، ایمنی.

مقدمه

تاسماهیان گونه‌هایی ارزشمند از دیدگاه اقتصادی برای آبی‌پروری محسوب می‌گردند (Hung, 2017). با توسعه پرورش ماهیان خاویاری در کشور انتظار می‌رود که این ماهیان نیز در روند پرورش با انواع بیماری‌های عفونی و غیرعفونی مواجه شوند. علاوه بر هزینه‌های درمانی، به‌کارگیری آنتی‌بیوتیک‌ها در کنترل بیماری‌های عفونی نیز می‌تواند به بروز مقاومت طبیعی در باکتری‌ها کمک نماید. امروزه استفاده از پروبیوتیک‌ها و واکسن‌ها به عنوان جایگزین آنتی‌بیوتیک‌ها در پرورش آبزیان مطرح بوده و در افزایش رشد و پیشگیری از بسیاری از بیماری‌های عفونی مطرح می‌باشند. توازن باکتری‌های اسید لاکتیک (پروبیوتیک‌ها) به فاکتورهای مختلفی نظیر غذا، فاکتورهای ایمنولوژیک و همچنین فیزیولوژی موجود بستگی دارد (Gatesoup and Ringo, 1998; Moslehi et al., 2016). بر این اساس می‌توان تنوعی از این گروه باکتری‌ها را در انواع ماهیان خاویاری و نیز به‌طور خاص در هر گونه انتظار داشت. استفاده از باکتری‌های انتخابی برای رشد و بهبود جمعیت میکروبی میزبان از جمله ایده‌هایی است که از طریق دستکاری جمعیت باکتریایی در آبزیان انجام می‌گیرد. همچنین مصرف این باکتری‌ها در جیره‌های غذایی آبزیان پرورشی موجب بهینه‌سازی تعادل جمعیت میکروبی دستگاه گوارش شده و تاثیرات بسیار مطلوبی را بر رشد و بقاء آن‌ها ایجاد می‌نماید (Fuller, 1989; Moslehi et al., 2016).

پروبیوتیک‌ها از یک سو با بهینه‌سازی فاکتورهای کیفی آب موجب ایجاد شرایط مناسب زیستی برای آبزیان پرورشی شده و از سوی دیگر با ترشح برخی

مواد خارج سلولی از جمله آنزیم‌های گوارشی، موجب هضم و جذب بهتر مواد غذایی خورده‌شده را برای آبی‌پروری فراهم می‌کنند (Kim and Austin, 2006). همچنین با تحریک سیستم ایمنی ماهیان میزان بقاء را تا حد زیادی افزایش می‌دهند (Kim and Austin, 2006)، بنابراین تمامی این عملکرد به صورت کارآیی بالای تغذیه، رشد بهتر، بقاء و سازگاری بیشتر با محیط آبی (Nikoskelainen et al., 2003) و کاهش هزینه‌های تولید (Yanbo and Zirong, 2006) نمایان می‌شود که در آبی‌پروری پایدار می‌تواند به عنوان یک امتیاز بارز قلمداد گردد.

به‌کارگیری پروبیوتیک‌ها در ماهیان، قابلیت بهره‌برداری از غذاهای زنده مورد استفاده توسط آن‌ها را بالا برده و راندمان پرورش را ارتقاء می‌دهد، در این راستا به‌کارگیری باسیلوس‌های پروبیوتیکی سبب غنی‌سازی ناپلی آرتمیا اورمیانان جهت تغذیه لارو تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) (جعفریان، ۱۳۸۵) و تغذیه لارو فیل‌ماهی (*Huso huso*) شده (جعفریان و همکاران، ۱۳۸۶، Jafaryan and Makhtomii, 2011) و تغذیه لاروهای تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) از دافنی ماگنای غنی‌شده با لاکتوباسیلوس‌های پروبیوتیکی (جعفریان و همکاران، ۱۳۸۷) نیز از آن جمله می‌باشد. در مراحل جوان و رشد پرورش ماهیان، باکتری‌های پروبیوتیکی در ماهیان خاویاری مورد بررسی قرار گرفته‌اند که در این خصوص می‌توان به مطالعات هاشمی مفرد و همکاران (۱۳۹۵) و نیز شکوریان و همکاران (۱۳۹۹) اشاره نمود. در مطالعه دیگری استفاده از باکتری *Pediococcus pentosaceus* در جیره تاسماهی سبیری

اثر مثبتی بر ترکیب بدن و فلور میکروبی روده این ماهی داشته است (Moslehi et al., 2016).

در حال حاضر فرآورده های میکروبی تجاری در قالب باکتری های غیر بومی و غیر اختصاصی، مورد استفاده آبی پروران قرار می گیرد، در حالی که خالص سازی و تولید انبوه پروبیوتیک های بومی و اختصاصی به ویژه برای گونه های مختلف ماهیان خاویاری، ضمن همسو بودن با اصول بوم شناختی، می تواند در راستای صنعت آبی پروری پایدار و تولید بیشتر محصولات آبی، مفید واقع شده و موجب استفاده بهینه و پایدار از منابع آبی کشور گردد. در همین راستا این پژوهش، با استفاده از پروبیوتیک بومی و اختصاصی تاسماهی سبیری و بررسی اثر آن بر روی شاخص های رشد و ایمنی این گونه با ارزش انجام گرفت.

مواد و روش ها

این پژوهش در انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری انجام پذیرفت. در این مطالعه ۵۰۰ عدد تاسماهی سبیری با میانگین وزنی $3/12 \pm 84/08$ گرم جهت پرورش تا مرحله جوان بطور تصادفی انتخاب و در ۴ تیمار (هر تیمار با ۳ تکرار) مورد بررسی قرار گرفتند. این بررسی به مدت ۱۰ هفته طراحی گردید. در ابتدا ماهیان طی یک هفته در مخازن پرورشی سازگار گردیده و سپس روزانه در سه نوبت به میزان ۲-۳ درصد وزن بدن غذادهی شدند. زیست سنجی ها در فواصل دو هفته ای به وسیله ترازوی دیجیتالی با دقت $0/001$ کیلوگرم و تخته بیومتری با دقت $0/1$ سانتی متر انجام پذیرفت. ضمناً نمونه برداری ها جهت انجام سایر مطالعات در انتهای دوره پرورش انجام گردید. میزان

مصرف پروبیوتیک ها در مقادیر ۰ (شاهد)، ۱۵۰، ۳۰۰ و ۴۵۰ میلی گرم در یک کیلوگرم غذا در نظر گرفته شد. جهت غنی سازی غذای ماهیان، مقادیر مورد نظر از پودر مخلوط باکتری های بومی تاسماهی سبیری (با نسبت های مساوی از هر باکتری) شامل *Weissella confusa* و *Lactococcus lactis* (شناور ماسوله و همکاران، ۱۳۹۷) بر اساس تیمارهای فوق در زیر هود لامینار در ظروف پلاستیکی استریل توزین شده و سپس ۵۰ میلی لیتر سرم فیزیولوژی استریل به آن اضافه گردید و پس از آن جهت اسپری به ازای هر کیلوگرم از غذا استفاده شد. غذای مورد استفاده حاوی ترکیبات زیر با مقادیر مربوطه بوده است: پروتئین خام ۴۲ درصد، چربی خام ۱۸ درصد، فیبر خام $3/5$ درصد، خاکستر ۱۰ درصد و رطوبت ۱۰ درصد.

در این تحقیق پارامترهای رشد، آنزیم های کبدی و شاخص های ایمنی در ماهیان مورد ارزیابی قرار گرفتند. خصوصیات آب و شرایط محیطی شامل درجه حرارت آب (برحسب درجه سانتی گراد) و اکسیژن محلول (میلی گرم در لیتر) با استفاده از دستگاه اکسیژن متر (WTW, Germany) و pH با استفاده از pH متر مدل Eutech اندازه گیری شدند. در این بررسی میانگین دمای آب $19/87 \pm 0/91$ درجه سانتیگراد، اکسیژن محلول $7/34 \pm 0/52$ میلی گرم در لیتر و pH معادل $8/23 \pm 0/33$ تعیین گردید.

شاخص های رشد مورد محاسبه شامل افزایش وزن نهایی (WG)، نرخ رشد ویژه (SGR)، درصد افزایش وزن بدن (BWI)، ضریب تبدیل غذایی (FCR) بوده که بر اساس فرمول های زیر محاسبه گردیدند (Raghavan et al., 2011; Mohseni et al., 2014):

$$WG (g) = W_t - W_0$$

آزمون (Pars Azmoon Co.) و در واحد بین المللی (u/l) به دست آمد (غفاری و خسروانی زاده، ۱۳۹۱).

اندازه گیری ایمنوگلوبولین M (IgM) با روش ایمنوتوربیدی متری Immunoturbidimetric صورت پذیرفت (سقا و سروش نیا، ۱۳۸۲). ضمناً سنجش میزان لیروزیم سرم با استفاده از دستگاه Elisa reader (Awariness, USA) مدل ۲۱۰۰-Statfax و به روش Turbidimetric (کدورت سنجی) از طریق تحلیل تدریجی باکتری های گرم مثبت Micrococcus lysodeikticus (Sigma, USA) انجام گردید (Ellis, 1990).

تجزیه و تحلیل آماری

به منظور جمع آوری داده ها، تجزیه و تحلیل آماری و رسم نمودارهای مربوطه از نرم افزارهای SPSS و Excel و آزمون های T-test، One Way Anova، آزمون ضریب همبستگی Spearman's Rank، Pearson و Mann-Whitney استفاده گردید.

نتایج

شاخص های رشد

نتایج این تحقیق نشان داد که با افزودن پروبیوتیک به جیره غذایی، شاخص های وزن نهایی، درصد افزایش وزن، ضریب چاقی، نرخ رشد روزانه در تیمار ۲ (۳۰۰ میلی گرم پروبیوتیک در کیلوگرم غذا) نسبت به سایر تیمارها و گروه شاهد افزایش یافته است (جدول ۱). در این تحقیق مقادیر ضریب تبدیل غذایی در تیمار ۲ به طور معنی داری نسبت به سایر تیمارهای حاوی پروبیوتیک و نیز گروه شاهد کاهش داشته است ($p < 0.05$).

WG = Weight Gain, Wt = وزن نهایی، W0 = وزن اولیه)

$$SGR \left(\frac{\text{days}}{\%} \right) = (\text{Ln Wt} - \text{Ln W0}) \times 100 / t$$

(تعداد روز = t، لگاریتم نپین وزن اولیه = Ln

W0، لگاریتم نپین وزن نهایی = Ln Wt)

= (درصد افزایش وزن) BWI

$$= \frac{\text{Final Body Weight} - \text{Initial Body Weight}}{\text{Initial Body Weight}} \times 100$$

FCR = weight of feed (ضریب تبدیل غذایی) consumed / increase in biomass

پس از پایان ۱۰ هفته تغذیه به منظور زیست سنجی نهایی و کاهش استرس به ماهی، غذادهی به مدت ۲۴ ساعت قبل از زیست سنجی قطع گردید. بدین منظور تمامی ماهیان موجود در هر وان با پودر گل میخک بیهوش شدند (Mohseni et al., 2008). پس از پایان دوره پرورش از ۳۰ درصد جمعیت نمونه سرم خون تهیه شد. جهت انجام مطالعات ایمنی شناسی و آنزیم های کبدی، پس از بیهوشی ماهیان، با استفاده از سرنگ ۱/۵^{cc} غیر هپارینه، نمونه خون از سیاهرگ دمی (Caudal vein) اخذ گردید. نمونه های خون با استفاده از سانتریفوژ مدل Labofuge ساخت شرکت Heraeus sepatch (آلمان) با سرعت ۳۰۰۰ g به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شد (رخشان و همکاران، ۱۳۷۹). سپس سرم جدا گردیده و با سمپلر به تیوب های اپندورف انتقال یافته و در دمای ۸۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند. اندازه گیری شاخص های ایمنی و آنزیم های کبدی در آزمایشگاه تخصصی و استاندارد و پروم (رشت) انجام گرفت. برای اندازه گیری میزان آنزیم های کبدی (ALT AST، LDH و ALP) با استفاده از کیت های سنجش ساخت شرکت پارس

جدول ۱: شاخص های رشد تاسماهی سبیری در پایان دوره پرورش

شاخص ها	شاهد	تیمار ۱ (۱۵۰ میلی گرم در کیلوگرم)	تیمار ۲ (۳۰۰ میلی گرم در کیلوگرم)	تیمار ۳ (۴۵۰ میلی گرم در کیلوگرم)
وزن اولیه (W ₁) (گرم)	۳±/۳۰ ^a ۸۲/۰۵	۸۳/۲۰ ۴±/۹۸ ^a	۸۶/۴۶ ۶±/۶۸ ^a	۸۴/۶۱ ± ۲/۴۵ ^a
وزن نهایی (W ₂) (گرم)	۵±/۹۸ ^a ۲۰۷/۱۷	۲۰۷/۵۱ ۶±/۳۸ ^a	۲۱۶/۷۲ ۳±/۷۸ ^a	۲۰۵/۶۶ ± ۱۰/۱۴ ^a
طول اولیه (TL ₁)	۰±/۳۹ ^a ۳۰/۳۹	۳۰/۶۹ ۰±/۵۳ ^a	۳۰/۸۳ ۰±/۷۱ ^a	۳۰/۳۷ ± ۰/۲۹ ^a
طول نهایی (TL ₂)	۰±/۶۰ ^a ۴۰/۱۲	۳۹/۹۱ ۰±/۶۳ ^a	۴۰/۲۰ ۰±/۳۳ ^a	۳۹/۷۸ ± ۰/۴۲ ^a
ضریب چاقی (K)	۰±/۰۰۷ ^a ۰/۳۲	۰/۳۲ ± ۰/۰۰۵ ^a	۰/۳۳ ± ۰/۰۰۳ ^a	۰/۳۲ ± ۰/۰۰۶ ^a
(BWI) درصد افزایش وزن	۳±/۷۹ ^a ۱۵۲/۷۳	۱۵۰/۳۳ ۸±/۶۳ ^a	۱۵۳/۱۵ ۱۶±/۲۵ ^a	۱۴۲/۷۹ ± ۲/۰۴ ^a
ضریب رشد ویژه (SGR)	۰±/۰۰۶ ^a ۱/۳۸	۱/۳۷ ۰±/۰۰۳ ^a	۱/۳۸ ۰±/۰۰۱ ^a	۱/۳۲ ± ۰/۰۰۵ ^a
نرخ رشد روزانه (GR)	۰±/۰۰۶ ^a ۲/۲۷	۲/۲۴ ۰±/۰۱۳ ^a	۲/۲۸ ۰±/۰۲۴ ^a	۲/۱۳ ± ۰/۰۰۸ ^a
ضریب تبدیل غذایی (FCR)	۰±/۰۳۵ ^{bc} ۱/۶۲	۱/۶۴ ۰±/۰۰۵ ^{ab}	۱/۳۹ ۰±/۰۰۶ ^c	۱/۸۳ ± ۰/۰۰۱ ^a

حروف غیرهمنام کوچک نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار آماری می باشد ($p < 0.05$).

آنزیم های کبدی

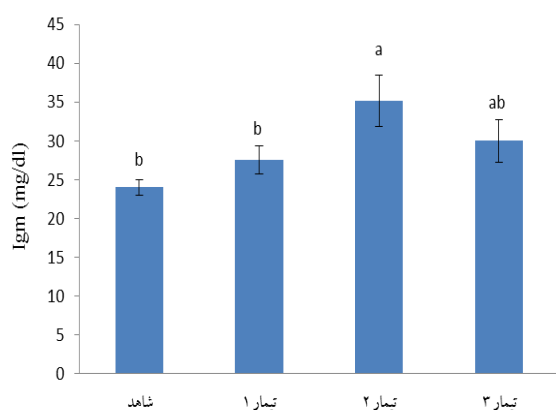
شاهد کمترین و در تیمار ۳ بیشترین میزان بود. آنزیم AST در تیمار شاهد بیشترین میزان و در تیمار ۲ کمترین مقدار را داشته است. آنزیم LDH در تیمار ۱ بیشترین و در تیمار ۲ کمترین بود. آنزیم ALP در تیمار ۱ کمترین مقدار و در تیمار ۳ از بیشترین میزان برخوردار بود.

در خاتمه دوره پرورش و تغذیه ماهیان با جیره های تهیه شده، در میزان آلانین آمینوترانسفراز (ALT) اختلاف معنی داری مشاهده نگردید ($p > 0.05$). ولی در مقادیر آنزیم های آسپاراتات آمینو ترانسفراز (AST)، لاکتات دهیدروژناز (LDH) و آلکالین فسفاتاز (ALP) سرم خون تاسماهی سبیری در بین تیمارها اختلاف معنی داری مشاهده شد ($p < 0.05$). میزان ALT در تیمار

جدول ۲: آنزیم‌های کبدی خون تاسماهی سبیری در خاتمه دوره پرورش

شاخص‌ها	شاهد	تیمار ۱ (۱۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم)	تیمار ۲ (۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم)	تیمار ۳ (۴۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم)
آلانین آمینوترانسفراز (ALT)	۲۳/۶۷۳±/۹۵ ^a	۲۶۱±/۵۱ ^a	۲۳/۸۳۳±/۵۱ ^a	۳۲/۸۳۶±/۲۹ ^a
آسپارات آمینو ترانسفراز (AST)	۶۶۶۵۷±/۰۹ ^a	۵۹۴/۵۲۶±/۳۸ ^b	۵۱۷/۶۷۲۱±/۶۸ ^{ab}	۵۷۲/۵۰۰۷۵۴± ^b
آلکالین فسفاتاز (ALP)	۱۳۴/۸۳۵±/۰۵ ^a	۱۲۶/۳۳۲۶±/۲۱ ^a	۱۲۹/۶۷۱۴±/۲۶ ^a	۱۳۵/۳۳۲۷±/۸۹ ^a
لاکتات دهیدروژناز (LDH)	۱۱۶۰/۵۱۳۴±/۴۶ ^a	۱۱۳۸/۸۳۷۲±/۷۲ ^a	۱۰۶۸/۸۳۳۵±/۰۳ ^a	۱۰۷۳/۸۳۴۴±/۶۶ ^a

حروف غیر همنام کوچک نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی دار آماری می‌باشد ($p < 0.05$).



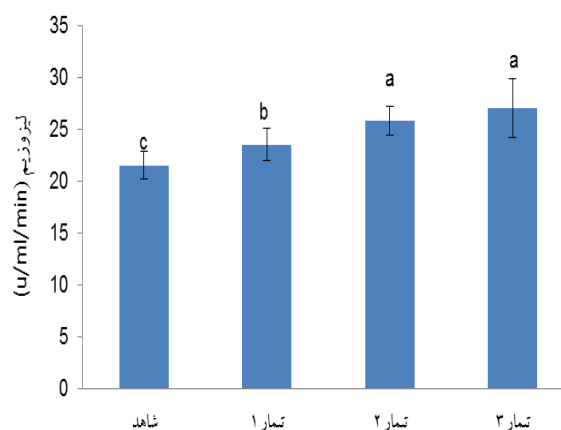
شکل ۲: مقایسه میزان IgM خون ماهیان در تیمارهای مختلف

بحث

امروزه به‌کارگیری پروبیوتیک‌ها را می‌توان به عنوان مکانیسمی ارزشمند به‌منظور افزایش رشد و میزان بازماندگی در ماهیان به‌شمار آورد. پروبیوتیک‌ها توسط سم‌زدایی ترکیبات مضر غذایی و تغییر ماهیت ترکیبات غیر هضمی توسط آنزیم‌های هیدرولیتیک شامل آمیلاز، پروتئاز و تولید ویتامین‌ها نظیر بیوتین و ویتامین B12 سبب بهبود تغذیه می‌شوند (El-Haroun *et al.*, 2006).

شاخص‌های ایمنی

در این تحقیق، افزودن پروبیوتیک به جیره موجب افزایش ترشح لیزوزیم و IgM در ماهیان تغذیه شده با جیره‌های حاوی پروبیوتیک شده و تمامی این تیمارها نسبت به شاهد دارای اختلاف معنی دار آماری بودند ($p < 0.05$). به‌طوریکه بیشترین مقدار لیزوزیم در تیمار ۳ و بیشترین مقدار IgM در تیمار ۲ مشاهده گردید.



شکل ۱: مقایسه میزان لیزوزیم خون ماهیان در تیمارهای مختلف

بعضی از آنها نیز این توانایی را دارند که با چسبیدن به موکوس روده مانع از ورود بسیاری از پاتوژن های عفونت زای روده ای شوند (Ringo *et al.*, 2010; Gatesoupe, 1999). پاتوژن های دستگاه گوارش این توانایی را دارند که با یورش خود در اپیتلیوم میزبان در لایه موکوسی غالب شده و تشکیل کلونی دهند (Merrifield *et al.*, 2010) و در نهایت سبب کاهش توانایی گوارش غذا شوند (Ringo and Birkbeck, 1999). پروبیوتیک ها علاوه بر چسبیدن رقابتی به بافت های گوارشی برای جلوگیری از کلونیزه شدن میکروارگانیسم های پاتوژن، تحریک کننده اشتها نیز هستند (McDonald *et al.*, 2002; Lalles *et al.*, 2010; Ringo *et al.*, 2007). آنها از این طریق موجب بهبود عملکرد تغذیه به دلیل تولید ویتامین ها، دفع سموم جیره و شکستن ترکیبات غیرقابل گوارش غذا (Abdelhamid *et al.*, 2009) شده، در نهایت روی شاخص های رشد به دلیل مصرف بهتر کربوهیدرات، پروتئین و انرژی اثر مثبت می گذارند. لذا به نظر می رسد که افزایش رشد ماهی موجب افزایش ترشح آنزیم شده و این امر باعث بهبود سلامتی ماهی و در نتیجه کنترل عفونت و افزایش قابلیت گوارش مواد غذایی می گردد (Gatesoup and Ringo, 1998).

به طور کلی شاخص های سرمی خون ماهیان مصرف کننده پروبیوتیک تحت تاثیر عوامل گوناگونی نظیر گونه ماهی، ساختار ژنتیکی، مدت و مقدار غذای مصرفی حاوی پروبیوتیک، نوع و منشا نژادهای پروبیوتیکی می تواند متفاوت باشد (Kim and Austin, 2006; Pieters *et al.*, 2008; Son *et al.*, 2009; Soltani *et al.*, 2015).

مطالعه حاضر با تغذیه تاسماهی سیبری جوان به وسیله پروبیوتیک بومی و اختصاصی (ترکیب مساوی از گونه های *Lactococcus lactis* و *Weissella confusa*) حاکی از اثر بخشی آن و بهبود عملکرد و افزایش شاخص های وزن نهایی، درصد افزایش وزن، ضریب چاقی، نرخ رشد روزانه در تیمار ۲ (۳۰۰ میلی گرم پروبیوتیک در کیلوگرم غذا) نسبت به سایر تیمارها و گروه شاهد افزایش بوده اما اختلاف معنی داری مشاهده نگردید. همچنین ضریب تبدیل غذایی در ماهیان تیمار ۲ که با پروبیوتیک اختصاصی تغذیه شده بودند به طور معنی داری نسبت به سایر تیمارها کاهش نشان داد. این موضوع بیانگر این است که استفاده از این پروبیوتیک ها در کاهش مقدار غذای مصرفی به منظور رشد ماهی موثر واقع شده و این امر می تواند منجر به کاهش هزینه های غذا طی دوره پرورش شود (Lara-Flores *et al.*, 2003). نتایج این تحقیق با مطالعات Soltani و همکاران (۲۰۱۵)، Bagheri و همکاران (۲۰۰۸) و نیز هاشمی مفرد و همکاران (۱۳۹۵) مطابقت دارد. در تاثیر به کارگیری پروبیوتیک ها بر فاکتورهای رشد در انواع ماهیان متفاوت می باشد که خود ممکن است به دلیل اختلاف در نوع پروبیوتیک مصرفی استفاده شده باشد (Ferguson *et al.*, 2010). نتایج مطالعه بقائی بهمبری و همکاران (۱۳۹۲) نشان داد که افزودن سطوح مختلف پروبیوتیک Bactocell به جیره بیجه فیل ماهیان اثرات معنی داری بر شاخص های رشد این گونه داشت و موجب بهبود برخی از شاخص های رشد و ضریب تبدیل غذایی گردید. مطالعات گوناگون نشان داده اند که پروبیوتیک ها از خود مواد بازدارنده ای تولید می کنند که اثر آنتاگونیستی بر رشد پاتوژن ها در روده داشته،

acidilactici در تیلایپای قرمز، لیزوزیم بطور معنی دار در تیمارها نیز بیشتر از کنترل بوده است. لازم به ذکر است که به کارگیری *Lactobacillus rhamnosus* به مدت ۳۰ روز در تیلایپای نیل لیزوزیم را بطور معنی داری را افزایش داد (Pirarat et al., 2011).

تعدادی از مطالعات نشان داده اند که فعالیت لیزوزیم سرم پس از مصرف پروبیوتیک ها افزایش داشته است (Balcazar et al., 2007; Panigrahi et al., 2004). در برخی از مطالعات بیان گردید که باکتری های اسید لاکتیک سبب افزایش ایمنوگلوبولین ها شده اند (Panigrahi et al., 2004)، در این مطالعه نیز با افزایش دوز پروبیوتیکی در تیمارها میزان ایمنوگلوبولین IgM نسبت به کنترل افزایش داشته است که با مطالعه Soltani و همکاران (۲۰۱۵) مطابقت دارد. ایمنوگلوبولین های سرم ترکیب اصلی سیستم ایمنی هومورال بوده و IgM ایمنوگلوبولین اصلی در ماهی است (Wilson et al., 1995). مطالعات گذشته نشان داده است که باکتری های پروبیوتیک می توانند تولید ایمنوگلوبولین را در ماهی تحریک کنند (Nayak et al., 2007; Panigrahi et al., 2004; Nikoskelainen et al., 2003; Soltani et al., 2015). نتایج این تحقیق حاکی از آن است که افزودن پروبیوتیک های بومی و اختصاصی تاسماهی سبیری می تواند بر روی ضریب رشد، وزن نهایی و کاهش ضریب تبدیل غذایی پس از ۱۰ هفته تاثیر مثبتی داشته باشد. بطوریکه بیشترین تاثیر گذاری در تیمار تغذیه شده با میزان ۳۰۰ میلی گرم پروبیوتیک در یک کیلوگرم غذا بوده است.

فرمولاسیون جیره های غذایی، نوع و درجه خلوص پروبیوتیک مصرفی و روش افزودن پروبیوتیک به جیره به طور قابل ملاحظه ای می توانند بر ویژگی های خون اثر گذار باشند (رضوانی و همکاران، ۱۳۹۵).

اصولاً آنزیم های کبدی ALT، AST، ALP از آنزیم های مهم در تعیین وضعیت سلامت ماهیان به-شمار می آیند، سلول های کبدی غنی از این آنزیم ها بوده و LDH نیز جهت بررسی آسیب های بافتی کبد مورد استفاده قرار می گیرد، تغییرات آنزیم های سرمی در انواعی از بیماری ها، آلودگی های انگلی و مسمومیت ها گزارش می شود (اکرمی و همکاران، ۱۳۹۰). در مطالعه حاضر مقادیر ALT، AST و LDH اختلاف معنی داری نداشت که با مطالعه Soltani و همکاران (۲۰۱۵) مطابقت دارد. کبد از لحاظ SGOT و SGPT بسیار غنی بوده و آسیب کبدی باعث می شود که مقادیر این آنزیم ها در سرم بالا رود (Vaglio and Landtiscina, 1999)، بنابراین عدم افزایش آنزیم های کبدی در تحقیق حاضر نشان دهنده عدم تاثیر سوء این باکتری بر کبد تاسماهی سبیری می-باشد.

لیزوزیم از فاکتورهای قابل بررسی به منظور ارزیابی وضعیت سلامت آبزیان در جهت ایمنی ذاتی محسوب می شود (علیزاده و همکاران، ۱۳۹۶)، در تحقیق حاضر با افزایش دوز باکتری اسید لاکتیک مورد مطالعه در غذا، میزان لیزوزیم سرم افزایش یافت و در همه تیمارها به طور معنی داری نسبت به کنترل دارای اختلاف معنی-دار آماری بوده است این در حالی است که نتایج این پژوهش با مطالعه Soltani و همکاران (۲۰۱۵) و نیز علیزاده و همکاران (۱۳۹۶) مطابقت دارد. در مطالعه Ferguson و همکاران (۲۰۱۰) با استفاده از تغذیه *P.*

سپاسگزاری

بدینوسیله از مساعدت کلیه کارشناسان محترم بخش های آبی پروری، بهداشت و بیماری ها و فیزیولوژی و بیوشیمی انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری در انجام این تحقیق سپاسگزاری می گردد.

منابع

۱. اکرمی، ر.، قلیچی، ا.، احمدی، ا.، ۱۳۹۰. تاثیر پروبیوتیک اینولین جیره غذایی بر پارامترهای هماتولوژی و بیوشیمی سرم خون فیل ماهیان (*Huso huso*) جوان پرورشی. مجله تحقیقات دامپزشکی، ۶۶ (۲)، ۱۳۶-۱۳۲.
۲. جعفریان، ح.، ۱۳۸۵. تاثیر باکتری های باسیلوسی به عنوان پروبیوتیک بر رشد، بازماندگی و فعالیت آنزیم های گوارشی در لارو تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) در طول دوره پرورش لاروی از طریق غنی سازی با آرتما اورمیانا. رساله دکتری. دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان. ۱۰۳ صفحه.
۳. جعفریان، ح.، سلطان، م.، عابدیان، ع.، ۱۳۸۶. تاثیر برخی پروبیوتیک های باسیلی بر کارآیی تغذیه و ترکیبات مغذی بدن لارو فیلماهی (*Huso huso*). مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ۱۴، ۶۰-۷۱.
۴. جعفریان، ح.، ناصری، ا.، میری، س.م.، مختومی، ن.، قیاسی، ی.، ۱۳۸۷. کارآیی تغذیه و ترکیبات بدن لارو تاس ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) از طریق غنی سازی دافنی (*Daphnia magna*) با لاکتوباسیلوس های پروبیوتیکی.

- نخستین همایش ملی منابع شیلاتی دریای خزر، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ۲۷ و ۲۸ آبان ماه. صفحه ۵۶.
۵. رخشان، م.، احمدی، ک.، مجتهدزاده، ر.آ.، ۱۳۷۹. خون شناسی، انعقاد و طب انتقال خون - تشخیص و پیگیری بالینی بیماری ها به کمک روش های آزمایشگاهی هنری (دیویدسن). تألیف: جان برنارد هنری. (۱۹۹۶). انتشارات تیمور زاده، تهران، ۳۳-۱۵.
 ۶. رضوانی گیل کلایی، ع.، شعبی، ب.، صفری، ر.، مشایخی، ف.، ۱۳۹۵. اثر پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلاتتاروم (*Lactobacillus plantarum*) بر پاره ای از فاکتورهای خونی تاسماهی سبیری (*Acipenser baerii*). محیط زیست جانوری، ۹ (۲)، ۱۶۹-۱۷۴.
 ۷. سقا، حمید رضا و محسن سروش نیا.، ۱۳۸۲. کتاب جامع تجهیزات و فرآورده های آزمایشگاهی. انتشارات کتاب میر. ۲۸۶ صفحه.
 ۸. شکوریان، م.، علیپور، ع.، یزدانی ساداتی، م.، باقرزاده، ف.، حسین پور زلثی، ع.، سید حسنی، م. ح.، ۱۳۹۹. اثر سطوح مختلف پروبیوتیک های تجاری بومی سوپر زیست بر شاخص های رشد، کارایی تغذیه و بقای تاسماهی سبیری (*Acipenser baerii*) جوان. توسعه آبی پروری، ۱۴ (۴)، ۶۷-۵۵.
 ۹. شناور ماسوله، ع.، پور کاظمی، م.، سلطانی، م.، یارمحمدی، م.، یزدانی ساداتی، م.ع.، علیزاده رودپشتی، م.، جلیل پور، ج.، بازاری مقدم، س.، معصوم زاده، م.، حسینی فر، س.ح.، اسماعیلی، پ. و بنی اسماعیلی، ی.، ۱۳۹۷. جداسازی و شناسایی مولکولی باکتریهای تولید کننده اسید لاکتیک از

- humoral immune response following probiotic administration in brown trout (*Salmo trutta*). *Journal of Nutrition*, 97, 522-7.
16. El-Haroun, E.R., Goda, A.S., Kabir, A.M., Chowdhury, M.A., 2006. Effect of dietary probiotic Biogen supplementation as a growth promoter on growth performance and feed utilization of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). *Aquaculture Research*, 37, 1473-1480.
17. Ellis, A.E., 1990. Lysozyme assays. In: Stolen JS, Fletcher TC, Anderson BS, Van Muiswinkel WB, editors. *Techniques in fish immunology*. Fair Haven (NJ, USA): SOS Publications, pp. 101-103.
18. Ferguson, R.M.W., Merrifield, D.L., Harper, G.M., Rawling, M.D., Mustafa, S., Picchietti S., Balcazar, J.L., Davies, S.J., 2010. The effect of *Pediococcus acidilactici* on the gut microbiota and immune status of on-growing red tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Applied Microbiology* 109, 851-862.
19. Fuller, R., 1989. Probiotics in man and animals. *Journal of Applied Bacteriology*. 66, 365-378.
20. Gatesoupe, F.J., 1999. The use of probiotics in aquaculture- a review. *Aquaculture*, 180, 147-165.
21. Gatesoupe, F. J., Ringo, E., 1998. Lactic acid bacteria in fish: a review. *Aquaculture*, 160, 177-203.
22. Hung, S.S.O., 2017. Recent advances in sturgeon nutrition. *Animal Nutrition*, 3, 191-204.
23. Jafaryan, H., Soltani, M., Taati, M., Nazarpour, A., Morovat, R., 2011. The comparison of performance of isolated sturgeon gut bacillus (*Acipenser persicus* and *Huso huso*) with commercial microbial products on growth and survival of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) larvae. *Journal of Veterinary Research*, 66(1), 39-46.
24. Kim, D., Austin B., 2006. Innate immune responses in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) induced by probiotics. *Fish & Shellfish Immunology*, 21, 513-524.
25. Lalles, J.P., Bosi, P., Smidt, H., Stokes, C.R., 2007. Weaning- A challenge to gut روده تاسماهی سبیری (*Acipenser baerii*). *مجله علمی شیلات ایران*، ۲۷(۵)، ۱۹-۲۸.
۱۰. عزیززاده، م.، شناورماسوله، ع.، جلیل‌پور، ج.، معصوم‌زاده، م.، بازاری مقدم، یگانه، ی.، عزیززاده، ل.، ۱۳۹۶. اثر آنتروکوکوسفالکیس (*Enterococcus faecalis*) بر شاخص‌های خونی و سرمی بچه تاسماهیان ایرانی (*Acipenser baerii*). *توسعه آبی‌پروری*، ۱۱(۱)، ۸۳-۱۰۳.
۱۱. غفاری، م.، خسروانی زاده، ع.، ۱۳۹۱. اثر اسانس گل میخک (*Eugenia caryophyllata*) بارگذاری شده بر نانو ذرات آهن روی شاخص‌های آنزیمی و بافت شناسی ماهی قزل‌آلای رنگین-کمان (*Oncorhynchus mykiss*). *پاتولوژی مقایسه ای*، ۹(۴)، ۸۳۶-۸۲۷.
۱۲. هاشمی مفرد، م.، ستاری، م.، خوش‌خلق، م.، ر.، شناور ماسوله، ع.، عباسعلی‌زاده، ع.، ۱۳۹۵. مطالعه تأثیر باکتری ویسلا سبیریا (*Weissella cibaria*) بر فاکتورهای رشد در تاسماهی سبیری (*Acipenser baerii*). *مجله علمی شیلات ایران*، ۲۵(۲)، ۱۷-۲۷.
13. Abdelhamid, A.M., Mehrim, A.I., El-barbary, M.I., Ibrahim, S.M., Abd El-wahab, A.I., 2009. Evaluation of a new Egyptian probiotic by African catfish fingerlings. *Journal of Environment Science and Technology*, 3, 133-145.
14. Bagheri, T., Hedayati, S.A., Yavari, V., Alizadeh, M., Farzanfar, A., 2008. Growth, Survival and Gut Microbial Load of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Fry Given Diet Supplemented with Probiotic during the Two Months of First Feeding. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 8, 43-88.
15. Balcazar, J.L., de Blas, I., Ruiz-Zarzuela, I., Vendrell, D., Calvo, A.C., Marquez, I., 2007. Changes in intestinal microbiota and

- rhamnosus*. Fish and Shellfish Immunology, 15, 443-452.
34. Panigrahi, A., Kiron, V., Kobayshi, T., Puangkaew, J., Satoh, S., Sugita, H., 2004. Immune responses in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* induced by a potential probiotics bacteria *Lactobacillus rhamnosus* JCM 1136. Fish and Shellfish Immunology, 102, 379-388.
 35. Pieters, N., Brunt, J., Austin, B., Lyndon, A.R., 2008. Efficacy of in-feed probiotics against *Aeromonas bestiarum* and *Ichthyophthirius multifiliis* skin infections in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum). Journal of Applied Microbiology, 105, 723-732.
 36. Pirarat, N., Pinpimai, K., Endo, M., Katagiri, T., Ponpornpisit, A., Chansue, N., Maita, M., 2011. Modulation of intestinal morphology and immunity in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) by *Lactobacillus rhamnosus* GG. Research in Veterinary Science. 91, 92-97.
 37. Raghavan, R., Zhu, X., Lei, W., Han, D., Yang, Y. And Xie, S., 2011. Low level of Aflatoxin B1 could cause mortalities in juvenile hybrid sturgeon, *Acipenser ruthenus* ♂ × *A. baeri* ♀. Aquaculture Nutrition, 17, 39-47.
 38. Ringo, E., Birkbeck, T.H., 1999. Intestinal microflora of fish larvae and fry. Aquaculture Research, 30, 73-93.
 39. Ringo, E., Lovmo, L., Kristiansen, M., Bakken, Y., Salinas, I., Myklebust, R., Olsen, R.E., Mayhew, T.M., 2010. Lactic acid bacteria vs. pathogens in the gastro-intestine of fish: a review. Aquaculture Research, 41, 451-467.
 40. Soltani, M., Shenavar Masouleh A., Ahmadi, M., Pourkazemi, M., Taherimirghaed, A., 2015. Antibacterial activity, antibiotic susceptibility and probiotic use of lactic acid bacteria (LAB) in Persian sturgeon (*Acipenser persicus*). Iranian Journal of Aquatic Animal Health, 2(1), 54-65.
 41. Son, V.M., Chang, C., Wu, M., Guu, Y., Chiu, C., Cheng, W., 2009. Dietary administration of the probiotic, *Lactobacillus plantarum*, enhanced the growth, innate immune responses, and physiologists. Livestock Science, 108, 82-93.
 26. Lara-Flores, M., Olvera-Novoa, M.A., Guzman-Mendez, B.E., Lopez-Madrid, W., 2003. Use of the bacteria *Streptococcus faecium* and *Lactobacillus acidophilus*, and the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as growth promoters in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. Aquaculture, 216, 193-201.
 27. McDonald, P., Edwards, R.A., Greenhalgh, J.F.D., Morgan, C.A., 2002. Animal Nutrition Sixth Ed., Pearson Education Limited (Prentice Hall) U.K. pp. 693. ISBN 0-582-41906-9.
 28. Merrifield, D.L., Harper, G.M., Dimitroglou, A., Ringo, E., Davies, S.J., 2010. Possible influence of probiotic adhesion to intestinal mucosa on the activity and morphology of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* enterocytes. Aquaculture Research, 41, 1268-1272.
 29. Mohseni, M., Ozorio R.O.A., Pourkazemi M., Bai, S.C., 2008. Effects of dietary L_ Carnitine supplements on growth and body in beluga sturgeon (*Huso huso*) juveniles. Journal of Applied Ichthyology, 24, 646-649.
 30. Mohseni, M., Pourali, H. R., Kazemi, R., Bai, S.C., 2014. Evaluation of the optimum dietary protein level for the maximum growth of juvenile beluga (*Huso huso* L. 1758). Aquaculture Research, 45, 1832-1841.
 31. Moslehi, F., Sattari, M., Shenavar Masouleh, A., 2016. Effects of *Pediococcus pentosaceus* as a probiotic on intestinal microbiota and body composition of Siberian sturgeon, *Acipenser baerii* Brandt, 1869. International Journal of Aquatic Biology, 4(1), 10-15.
 32. Nayak, S.K., Swain, B., Mukherjee, S.C., 2007. Effect of dietary probiotic and vitamin C on the immune response of India major carp *Labeo rohita* (Ham). Fish and Shellfish Immunology, 23, 892-896.
 33. Nikoskelainen, S., Ouwehand, A.C., Bylund, G., Salminen, S., Lilius, E.M., 2003. Immune enhancement in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* by potential probiotic bacteria, *Lactobacillus*

- disease resistance of the grouper *Epinephelus coioides*. *Fish and Shellfish Immunology*, 26(5), 691–698.
42. Vaglio, A, Landtiscina, C., 1999. Changes in liver enzyme activity in the teleost *Sparus aurata* in response to cadmium intoxication. *Ecotoxicology Environment*, 43,111-116.
43. Wilson, M.R, van Ravenstein, E., Miller, N.W., Clem, L.W., Middleton, D.L, Warr, G.W., 1995. cDNA sequences and organization of IgM heavy chain genes in two holostean fish. *Journal of Immunology*, 19,153-164.
44. Yanbo, W., Zirong, X., 2006. Effect of probiotics for common carp (*Cyprinus carpio*) based on growth performance and digestive enzyme activities. *Animal Feed Science and Technology*, 127, 283–292.