

"مقاله پژوهشی"

تأثیر پروبیوتیک بومی بر برخی از شاخص‌های رشد، خون و ایمنی بچه فیل ماهی
(*Huso huso*) پرورشیهوشنگ یگانه راسته کناری*، رضوان‌اله کاظمی^۱، علیرضا شناور ماسوله^۱، میرحامد سیدحسینی^۱، ایوب یوسفی
جوردهی^۱، علی حسین پور زلتی^۱، رضا قربانی^۱

۱. موسسه تحقیقات بین‌المللی تاسماهیان دریای خزر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۴/۵

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۲/۱۳

چکیده

تأثیر پروبیوتیک بومی ماهیان خاویاری (آمیخته‌ای از گونه‌های *Weissella confusa* و *Lactococcus lactis*) بر شاخص‌های رشد و برخی از پاراسنج‌های خونی و ایمنی فیل ماهی جوان (*Huso huso*) پرورشی مورد آزمایش قرار گرفت. ۴۸۰ قطعه فیل ماهی با متوسط وزن $2/92 \pm 0/016$ گرم با جیره شرکت بیومار (حاوی ۴۷ درصد پروتئین، ۱۶ درصد چربی و ۲/۳ درصد کربوهیدرات) که به آنها پروبیوتیک در سطوح (۰، ۱۵۰، ۳۰۰ و ۴۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) (PB_0 ، PB_{150} ، PB_{300} و PB_{450}) اضافه شده بود در ۱۲ مخزن فایبرگلاس نیم تنی به مدت ۸ هفته تغذیه شدند. در پایان دوره پرورش از ماهیان نمونه خون و سرم تهیه شد. نتایج نشان داد که با افزودن پروبیوتیک به جیره‌های غذایی، شاخص‌های وزن نهایی، افزایش وزن، درصد افزایش وزن، ضریب رشد ویژه و رشد روزانه ماهیان به طور معنی‌داری افزایش، اما ضریب تبدیل غذا کاهش یافت ($P < 0.05$). بیشترین شاخص‌های رشد از آن ماهیان تغذیه شده با جیره PB_{300} بود. اضافه کردن پروبیوتیک در سطوح ۱۵۰ و ۴۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره نیز به ترتیب موجب افزایش معنی‌دار گلبول سفید و کمپلمان (C_3) در مقایسه با تیمار شاهد گردید ($P < 0.05$). بنابراین به نظر می‌رسد استفاده از غلظت‌های ۳۰۰ و ۴۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره می‌تواند در پرورش مرحله انگشت‌قندی فیل ماهی سودمند باشد.

کلمات کلیدی: بچه فیل ماهی، پروبیوتیک، رشد، هماتولوژی، سیستم ایمنی

مقدمه

تاسماهیان گونه‌هایی ارزشمند از دیدگاه اقتصادی برای آبی پروری به‌شمار می‌آیند (Hung, 2017). صید بی‌رویه (Khodorevskaya, 2002)، صید غیرقانونی (Khodorevskaya and Novikova, 1995)، تخریب زیستگاه و مسیر مهاجرت مولدین به مکان‌های تخم‌ریزی و وجود آلاینده‌ها در زیستگاه‌های طبیعی (Ivanov, 2000) منجر به کاهش شدید جمعیت آن‌ها شده است. این عوامل سبب ممنوعیت صید تجاری و قرار گرفتن در لیست قرمز (Pourkazemi, 2006) و پرورش آن‌ها در محیط‌های محصور گردیده است (Hung, 2017). فیل ماهی (*Huso huso*) گونه بومی دریای خزر، دریای سیاه و دریای آزوف و بزرگ‌ترین ماهی آب شیرین است (Doroshov, 1985). این ماهی به دلیل رشد سریع، تحمل شرایط نامساعد محیطی (Mohseni et al., 2007)، ارزش بالای گوشت و خاویار در روسیه و اروپای غربی در سطحی وسیع پرورش داده می‌شود (Feist et al., 2004). صنعت پرورش ماهیان خاویاری در کشور صنعتی جوان اما به سرعت در حال رشد است (سیدحسینی و همکاران، ۱۳۹۸). در حال حاضر گونه فیل ماهی به همراه تاسماهی سبیری از گونه‌های اصلی پرورشی در استخرهای بتنی ایران به‌شمار می‌آیند (Kalbassi et al., 2013). به طوری که با توجه به گستردگی مزارع پرورشی ماهیان خاویاری و کمبود مولد در کشور، نیاز شدید به تولید بچه فیل ماهی جهت عرضه به مزارع خصوصی احساس می‌شود. اما در تولید بچه ماهی در تراکم بالا باید عوامل تاثیرگذار در کاهش مرگ و میر ناشی از عوامل بیماری‌زا، افزایش بهره‌وری از غذا و رشد مد نظر قرار گیرد (Nayak et al., 2007). پروبیوتیک‌ها موجودات

زنده و یا یاخته‌های میکروبی مرده‌ای هستند که به غذا و یا محیط پرورش با هدف افزایش رشد و پایداری آبی در مقابل شرایط نامساعد محیطی افزوده می‌شوند تا از طریق بهبود تعادل میکروبی در اندام گوارشی و یا محیط پرورش (Merrifield et al., 2010b; Balakrishna and Keerthi, 2012)، قابلیت گوارش و تقویت سیستم ایمنی غیراختصاصی (Gatesoupe et al., 2008) را ارتقاء بخشند. همچنین پروبیوتیک‌ها موجب افزایش اشتها، مصرف غذا، رشد، کیفیت گوشت (Broch et al. 2015) و در نهایت موجب افزایش تولید محصولات آبی پروری می‌شوند (شکوریان و همکاران، ۱۳۹۹). پروبیوتیک‌های *Lactobacillus spp.*, *Bacillus spp.*, *Vibrio spp.* از *Saccharomyces spp.* and *Enterococcus spp* متداول‌ترین پروبیوتیک‌های مورد استفاده در صنعت آبی پروری هستند (Kumar et al., 2008). غلظت و گونه مورد استفاده این میکروارگانیسم‌ها با توجه به نوع و گونه ماهی (آب شیرین یا آب شور) متفاوت است. بنابراین تفاوت گونه‌ای نقش مهمی در بازده و کارکرد این میکروارگانیسم‌ها در میکروفلور روده گونه دیگر به عنوان یک محصول پروبیوتیک دارد (Ringo, 2004). Askarian و همکاران (۲۰۱۱) باکتریهای اسید لاکتیک را در گونه تاسماهی ایرانی و فیل ماهی مورد مطالعه قرار دادند. در مطالعه فوق مشخص شد که گونه‌های مورد بررسی در اوزان بالای ۱۰۰ گرم و لاروی از تنوع یکسانی ۲۳ به ترتیب با شمارش تقریبی $10^5 - 10^6$ (CFU g^{-1}) روده و 10^6 (CFU $Larvae g^{-1}$) شامل باکتری‌های *Enterococcus L. mesenteroides* و *seriolicida*

حاصل به غذای مربوطه اسپری و تا زمان استفاده در یخچال ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. در این آزمایش از چهار تیمار (PB₀، PB₁₅₀، PB₃₀₀ و PB₄₅₀) (به ترتیب جیره فاقد پروبیوتیک، جیره دارای ۱۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم پروبیوتیک، جیره دارای ۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم پروبیوتیک و جیره دارای ۴۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم پروبیوتیک) استفاده شد (شناور و همکاران، ۱۳۹۱).

بچه فیل ماهی مورد استفاده در آزمایش از بخش آبرزی پروری موسسه تحقیقات بین‌المللی تاسماهیان دریای خزر تأمین شد. ۴۸۰ قطعه بچه فیل ماهی با میانگین وزن ۰/۱۶±۰/۹۲۲ گرم در ۱۲ مخزن فایبرگلاس نیم‌تنی با ابعاد (۱۰۵×۱۰۲×۵۳ سانتی‌متر) بدون دارا بودن اختلاف معنی‌دار در شاخص‌های طول و وزن توزیع شدند. آب مورد نیاز سیستم پرورش از رودخانه سفیدرود تأمین و پس از ورود به حوضچه‌های رسوب گیر، به وسیله دستگاه پمپاژ به مخازن فایبرگلاس انتقال یافت. دوره تاریکی و روشنائی براساس فتوپریود طبیعی در فصل تابستان (۱۴ ساعت روشنائی و ۱۰ ساعت تاریکی) تنظیم گردید. جهت متعادل نگاه داشتن دما به منظور تغذیه مطلوب ماهیان (Shi et al., 2009) از مخلوطی از آب چاه و رودخانه با دبی ۳ لیتر در دقیقه استفاده شد. ماهیان در چهار وعده غذایی به مدت ۸ هفته، روزانه به میزان ۳ درصد وزن بدن تغذیه شدند (محسنی و همکاران، ۱۳۸۴). ویژگی‌های آب و شرایط محیطی شامل درجه حرارت (۱±۲۳/۵) درجه سانتی‌گراد و اکسیژن محلول (۵۸±۰/۲۳ میلی‌گرم در لیتر) با استفاده از دستگاه اکسیژن‌متر (823 pH – Germany) و pH با استفاده از pH متر مدل Eutech اندازه‌گیری شد.

درگونه تاسماهی ایرانی و باکتری‌های *Lactococcus*، *Lactobacillus curvatus*، *L. lactis*، *raffinolactis* و *Streptococcus sp.* در فیل ماهیان برخوردارند که لزوم بررسی دقیق‌تری را در زمینه غلظت باکتری‌های اسید لاکتیک بومی ماهیان خاویاری را نمایان می‌سازد. تحقیقات شناور و همکاران (۱۳۹۱) منجر به تولید پروبیوتیک اختصاصی برگرفته از میکروفولور روده ماهیان خاویاری شد. اگرچه مطالعات زیادی در خصوص تأثیر پروبیوتیک‌ها بر بهبود رشد، کارایی غذا، قابلیت گوارش، پایداری در برابر میکروب‌ها و سیستم دفاع غیراختصاصی ماهیان صورت گرفته است (Gatespoup, 2008; Kesorcodi et al., 2008; Merrifield et al., 2010a, b; Nayak, 2010). اما فقط در دهه اخیر به نقش و اهمیت پروبیوتیک‌های برگرفته از میکروفولور یک گونه و تأثیر آن بر شاخص‌های رشد ماهی و سیستم ایمنی همان گونه توجه شده است (Burr et al., 2005). پژوهش حاضر به تأثیر پروبیوتیک بومی (مخلوطی از گونه‌های *Lactococcus lactis* و *Weissella confuse*) برخی از شاخص‌های رشد، خونی و ایمنی بچه فیل ماهی (*Huso huso*) پرورشی پرداخته است.

مواد و روش‌ها

جیره مورد استفاده در این آزمایش جیره‌های Biomar, inico plus 1.5 و Biomar, inico plus 1.9 بود (جدول ۱). جهت غنی‌سازی جیره‌های غذایی، نخست به ازای هر کیلوگرم غذا به صورت جداگانه، مقادیر ۱۵۰، ۳۰۰ و ۴۵۰ میلی‌گرم پودر پروبیوتیک توزین و به آن ۵۰ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی اضافه شد (هاشمی مفرد و همکاران، ۱۳۹۵). سپس هر محلول

از دستگاه Auto Analyzer Technicon R.A.100, (Tecnicon company, Made in USA) و کیت‌های پارس آزمون نوع ISC و ILT و کمپلمان‌های (CH₅₀)، C₃ و C₄ با آنتی بادی ضد آن سنجش شدند.

به منظور مقایسه آماری داده‌های حاصل از شاخص‌های رشد، شاخص‌های خونی و سیستم ایمنی تیمارهای مورد نظر، از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (Oneway Anova) و آزمون دانکن و برای بررسی توزیع نرمال داده‌ها در تیمارها از آزمون Kolmogorov-Smirnov استفاده شد. کلیه آنالیزهای آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ صورت گرفت.

جدول ۱: ترکیب بیوشیمیایی جیره‌های مورد استفاده در آزمایش

نوع جیره	Biomar , Inico Plus 1.9	Biomar , Inico Pplus 1.5
ترکیب بیوشیمیایی	مقدار(درصد)	مقدار(درصد)
پروتئین	۴۶	۴۷
چربی خام	۱۶	۱۶
فیبرخام	۳	۲/۳
خاکستر	۱۰/۵	۱۰/۸
عصاره عاری از ازت	۱۰	۱۰

نتایج

بیشترین وزن نهایی و درصد افزایش در تیمار حاوی ۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم پروبیوتیک (PB₃₀₀) مشاهده شد. در پایان دوره آزمایش، متوسط وزن نهایی

پس از پایان ۸ هفته تغذیه به منظور کاهش استرس وارد شده به ماهی، غذادهی ۲۴ ساعت قبل از زیست‌سنجی قطع شد (Mohseni *et al.*, 2008). کلیه ماهیان موجود در هر وان خارج و با محلول ۳۰۰ پ.پ.م پودر گل میخک بیهوش شدند (بهمنی و کاظمی، ۱۳۷۷). سپس وزن کل با استفاده از ترازوی دیجیتال (مدل محک، ایران) با دقت ۰/۱ گرم و طول کل با استفاده از متر نواری با دقت ۰/۱ سانتی‌متر اندازه‌گیری گردید. پس از پایان دوره پرورش از ۳۰ درصد جمعیت باقیمانده نمونه خون تهیه شد. جهت انجام مطالعات خون‌شناسی، پس از بیهوشی ماهیان، با سرنگ ۲ سی‌سی از سیاهرگ دمی (Caudal vein) نمونه خون برداشت شد. ۰/۵ سی‌سی به تیوب‌های اپندورف آغشته به ماده ضد انعقاد (هپارین) جهت انجام مطالعات فاکتورهای خونی منتقل و ۱/۵ سی‌سی به تیوب‌های اپندورف غیر هپارینه منتقل گردید. نمونه خون‌های هپارینه در دور ۳۰۰۰ g به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید (رخشان، ۱۳۷۹). سپس سرم خون استحصالی جهت آنالیز به آزمایشگاه منتقل شد. برای شمارش یاخته‌های قرمز و سفید خون، پس از رقیق و همگن‌سازی نمونه‌ها با پپت ملانژور و محلول رقیق‌کننده رنگی ریس، با استفاده از لام هموسیتومتر ثوبار دو حجره‌ای، تعداد یاخته‌های قرمز و سفید در میلی‌متر مکعب خون محاسبه شد. همچنین جهت شمارش افتراقی یاخته‌های سفید و محاسبه درصد فراوانی هر گروه از آنها (یاخته‌های نوتروفیل، ائوزینوفیل، لنفوسیت و مونوسیت) از روش زیگزراگ شد. به این ترتیب که هر نمونه خون دو اسلاید و از هر اسلاید ۲۰۰ یاخته سفید مورد شمارش قرار گرفت (Gao *et al.*, 2007). سطوح لایزوزیم پلاسما با استفاده

و درصد افزایش وزن در این تیمار به ترتیب $98/1 \pm 1/17$ و $3257/44 \pm 5/7$ درصد بود که در مقایسه با وزن نهایی و درصد افزایش وزن ماهیان تغذیه شده با سطوح مختلف پروبیوتیک و تیمار شاهد (فاقد پروبیوتیک) از اختلاف معنی دار برخوردار بود ($P < 0.05$). ماهیان تیمار شاهد (تیمار فاقد پروبیوتیک) کمترین وزن و افزایش وزن نهایی را دارا بودند ($71/5 \pm 2/00$ و $68/6 \pm 1/99$ گرم). بررسی داده‌های به دست آمده از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (Oneway Anova) و آزمون دانکن نشان داد که در روند مشابه‌ای، شاخص ضریب رشد ویژه ماهیان تغذیه شده از جیره حاوی 300 میلی گرم در کیلوگرم پروبیوتیک ($4/9 \pm 0/02$ درصد در روز) در مقایسه با ماهیان تیمار شاهد، تیمار 150 و 450 میلی گرم در کیلوگرم ($4/5 \pm 0/035$ ، $4/18 \pm 0/02$ و $4/8 \pm 0/02$ درصد در روز) به طور معنی داری بیشتر بود ($P > 0.05$). افزایش پروبیوتیک در جیره غذایی به میزان 150 و 450 میلی گرم در کیلوگرم موجب شد تا نسبت بازده پروتئین ماهیان در مقایسه با تیمار شاهد به طور معنی داری افزایش یابد. بالاترین نسبت بازده پروتئین در بچه فیل ماهیان تیمار PB_{300} مشاهده شد که با سایر تیمارها دارای اختلاف معنی داری بود ($P < 0.05$). همچنین ماهیان تیمار PB_{300} کمترین ضریب تبدیل غذایی را داشتند که با ضریب تبدیل غذایی ثبت شده ماهیان تیمارهای دیگر دارای اختلاف معنی دار بود ($P < 0.05$).

افزودن پروبیوتیک به جیره غذایی سبب افزایش معنی دار درصد هماتوکریت در تیمارهای آزمایشی در مقایسه با تیمار شاهد شد (جدول ۲). بالاترین درصد

هماتوکریت متعلق به ماهیان تیمار شاهد (فاقد پروبیوتیک) بود ($25/00 \pm 3/00$ درصد) که با درصد هماتوکریت ماهیان تیمارهای دارای اختلاف معنی دار نبود ($P > 0.05$). اگرچه بیشترین میزان هموگلوبین در سرم خون ماهیان تغذیه شده با تیمار PB_{300} ثبت گردید، اما اختلاف معنی دار در میان گروه‌های آزمایشی مشاهده نشد ($P > 0.05$). در روندی مشابه بیشترین تعداد یاخته قرمز ($12529/96 \pm 556000/00$ به ازای هر میلی متر مربع) در ماهیان تیمار PB_{300} ثبت گردید. اما فاقد اختلاف معنی دار با سایر تیمارهای آزمایشی بود ($P > 0.05$). تعداد یاخته‌های سفید از سطوح پروبیوتیک افزوده شده به جیره غذایی تاثیر پذیرفت به طوری که بیشترین تعداد یاخته سفید ($1929/59 \pm 11033/3$ عدد در هر میلی متر مربع) در ماهیان تیمار PB_{150} مشاهده شد که به طور معنی داری بیشتر از ماهیان تیمار شاهد و تیمار (PB_{300}) بود ($P < 0.05$). درصد یاخته‌های سفید نوتروفیل، لنفوسیت و مونوسیت در تیمارهای آزمایشی از سطوح منظم کاهشی و یا افزایشی پیروی نکرد، اما بیشترین درصد آنها به ترتیب در تیمارهای PB_{150} ، PB_{300} و شاهد مشاهده شد ($P > 0.05$). افزودن پروبیوتیک به جیره موجب افزایش ترشح لایزوزیم و کمپلمان (C_4) در ماهیان تغذیه شده با جیره PB_{300} گردید ($26/33 \pm 5/3$ u/ml/min و $129/66 \pm 7/37$ U%)، اما با سایر تیمارهای آزمایشی فاقد اختلاف معنی دار بود ($P > 0.05$). میزان کمپلمان (C_3) در ماهیان تغذیه شده از جیره حاوی 300 میلی گرم در کیلوگرم پروبیوتیک به طور معنی داری از میزان کمپلمان (C_3) ماهیان تیمار شاهد بیشتر بود ($P < 0.05$).

جدول ۲: شاخص های رشد فیل ماهی تغذیه شده با سطوح مختلف مکمل پروبیوتیک (دوره ۸ هفته ای)

شاخص ها	جیره ۱ (PB0) (۰ درصد)	جیره ۲ (PB150) (۱۵۰ میلی-)	جیره ۳ (PB300) (۳۰۰ میلی گرم در کیلو گرم)	جیره ۴ (PB450) (۴۵۰ میلی گرم در کیلو گرم)
وزن اولیه (W ₁) (گرم)	۲/۹۲±۰/۱۵ ^a	۲/۹۳±۰/۰۱ ^a	۲/۹۲±۰/۰۳ ^a	۲/۹۲±۰/۱۶ ^a
وزن نهایی (W ₂) (گرم)	۷۱/۵۶±۲/۰۰ ^d	۸۹/۶۱±۱/۱۵ ^c	۹۸/۱۵±۱/۱۷ ^a	۹۲/۶۹±۱/۶۱ ^b
طول اولیه (TL ₁)	۷/۶۹±۰/۰۶ ^a	۷/۲۷±۰/۵۸ ^a	۷/۶۹±۰/۲۰ ^a	۷/۶۵±۰/۰۳ ^a
طول نهایی (TL ₂)	۲۵/۴۰±۰/۸۶ ^b	۲۸/۰۶±۰/۲۳ ^a	۲۸/۹۷±۰/۷۵ ^a	۲۸/۳۸±۰/۲۶ ^a
ضریب چاقی (K)	۰/۴۳±۰/۰۳ ^a	۰/۴۰±۰/۰۱ ^a	۰/۴۰±۰/۰۳ ^a	۰/۴۰±۰/۰۰ ^a
درصد افزایش وزن (BWI)	۲۳۴۵/۰۰±۶۱/۴۷ ^d	۲۹۵۸/۶۸±۴۸/۲۳ ^c	۳۲۵۷/۴۴±۵۰/۷ ^a	۳۰۷۴/۵۵±۵۴/۹۰ ^b
ضریب رشد ویژه (SGR) (درصد در روز)	۴/۵±۰/۰۳ ^c	۴/۸±۰/۰۲ ^d	۴/۹±۰/۰۰ ^b	۴/۸±۰/۰۲ ^a
رشد روزانه (گرم در روز)	۰/۹۶±۰/۰۲ ^d	۱/۲۲±۰/۰۱ ^c	۱/۳۴±۰/۰۱ ^a	۱/۲۶±۰/۰۲ ^b
ضریب تبدیل غذا (FCR)	۰/۸۲±۰/۰۱ ^b	۰/۷۰±۰/۰۰ ^a	۰/۶۵±۰/۰۰ ^a	۰/۶۸±۰/۰۱ ^a
نسبت بازده پروتئین (PER)	۵/۴±۰/۱۳ ^c	۶/۲۹±۰/۰۸ ^b	۶/۷۳±۰/۰۳ ^a	۶/۴۶±۰/۱۵ ^b

حروف انگلیسی غیرمشترک در هر ردیف نشان دهنده معنی دار بودن در سطح ۰/۰۵ می باشد (P<۰/۰۵).

جدول ۳: شاخص های خونی و ایمنی بچه فیل ماهی تغذیه شده با سطوح مختلف مکمل پروبیوتیک (دوره ۸ هفته ای)

شاخص ها	جیره ۱ (PB0) (۰ درصد)	جیره ۲ (PB150) (۱۵۰ میلی گرم در کیلو گرم)	جیره ۳ (PB300) (۳۰۰ میلی گرم در کیلو گرم)	جیره ۴ (PB450) (۴۵۰ میلی گرم در کیلو گرم)
هماتوکریت (%)	۲۵/۰۰±۳/۰۰ ^a	۲۲/۳±۳/۲۱ ^a	۲۳/۰۰±۱/۷۳ ^a	۲۴/۶±۱/۵۲ ^a
گلبول سفید (mm ³)	۸۸۳۳/۳±۹۰۷/۳۷ ^b	۱۱۰۳۳/۳±۱۹۲۹/۵۹ ^a	۸۸۰۰/۰±۵۰۰/۰ ^b	۹۶۳۳/۳±۱۵۲/۷۵ ^{ab}
هموگلوبین (g/dl)	۴/۹۶±۰/۵ ^a	۴/۵۳±۰/۶۶ ^a	۵/۲±۰/۱ ^a	۴/۹۶±۰/۲۵ ^a
گلبول قرمز (mm ³)	۵۴۱۶۶۶/۶۶±۵۵۳۰۲/۲ ^a	۴۹۸۳۳۳/۳۳±۷۱۱۲۱/۹ ^a	۵۵۶۰۰۰/۰±۱۲۵۲۹/۹۶ ^a	۵۳۸۳۳۳/۳۳±۲۵۶۵۸ ^a
نوتروفیل (%)	۱۷/۳۳±۲/۵ ^a	۱۹/۰۰±۳/۰۰ ^a	۱۷/۳۳±۰/۵۷ ^a	۱۸/۶۶±۱/۱۵ ^a
لمفوسیت (%)	۷۷/۳۳±۴/۰۴ ^a	۷۶/۳۳±۲/۳۰ ^a	۷۸/۶۶±۰/۵۷ ^a	۷۶/۶۶±۰/۶۶ ^a
مونوسیت (%)	۵/۰۰±۱/۰۰ ^a	۴/۳۳±۱/۱۵ ^a	۳/۶±۰/۵۷ ^a	۴/۳۳±۱/۱۵ ^a
لیزوزیم (u/ml/min)	۲۴/۰۰±۸/۸۹ ^a	۲۰/۰۰±۱/۰۰ ^a	۲۶/۳۳±۵/۳ ^a	۲۳/۶۶±۱۱/۵۹ ^a
کمپلمان (C ₃) (mg/l)	۳۶/۹±۶۶/۶ ^b	۴۲/۵±۶۶/۰۳ ^{ab}	۴۴/۷±۳۳/۰۹ ^{ab}	۵۵/۴±۳۳/۷۵ ^a
کمپلمان (C ₄) (mg/l)	۲۱/۱۱±۳۳/۳۷ ^a	۱۸/۵±۳۳/۱ ^a	۲۰/۳±۶۶/۰۵ ^a	۲۶/۳±۰/۱۵ ^a
کمپلمان (ACH50) (U%)	۱۲۶/۳۳±۸/۵ ^a	۱۲۸/۰۰±۴/۵ ^a	۱۲۹/۶۶±۷/۳۷ ^a	۱۲۷/۶۶±۲/۰۸ ^a

حروف انگلیسی غیرمشترک در هر ردیف نشان دهنده معنی دار بودن در سطح ۰/۰۵ می باشد (P<۰/۰۵).

بحث

نتایج این پژوهش نشان داد که پروبیوتیک بومی دستگاه گوارش فیل ماهی (مخلوطی از گونه‌های *Lactococcus lactis* و *Weissella confusa*) می‌تواند شاخص‌های رشد (وزن نهایی، درصد افزایش وزن و رشد ویژه) را در تیمارهای تحت تاثیر به طور معنی‌داری افزایش دهد. همچنین ضریب تبدیل غذایی در تیمارهای تغذیه شده با پروبیوتیک بومی بهبود یافته بود. این بدان معناست که استفاده از این پروبیوتیک‌ها در کاهش مقدار غذای مصرفی برای رشد ماهی موثر بوده، می‌تواند منجر به کاهش هزینه‌های پرورش شود (Lara-Flores et al., 2003). در تأیید نتایج این تحقیق، مطالعه بقائی بهمبری و همکاران (۱۳۹۲) نشان داد که افزودن سطوح مختلف پروبیوتیک Bactocell به جیره بچه فیل - ماهیان اثرات معنی‌داری بر شاخص‌های رشد این گونه داشت و موجب بهبود معنی‌دار شاخص‌های رشد و ضریب تبدیل غذا گردید. نتایج مشابهی نیز از پورفتاحی و همکاران (۱۳۹۴) در مورد مخمر ترکیبی *saccharomyces cerevisiae* و *Aspergillus niger* و Hoseinifar و همکاران (۲۰۱۱) در مورد مخمر *Saccharomyces cerevisiae* و تاثیر آنها بر بهبود معنی‌دار شاخص‌های رشد و ضریب تبدیل غذا در همین گونه گزارش شد. مطالعات زیادی نشان داد که پروبیوتیک‌ها مواد بازدارنده‌ای تولید می‌کنند که اثر آنتاگونیستی بر رشد پاتوژن‌ها در روده داشته و بعضی از سویه‌های آنها این توانایی را دارند که با چسبیدن به موکوس روده مانع از ورود پاتوژن‌های عفونت‌زا شوند (Ringo et al., 2010; Gatesoupe, 1999). پاتوژن‌های دستگاه گوارش این توانایی را دارند که با یورش، فعل و انفعال و یا تولید عفونت در اپیتلیوم میزبان در لایه

موکوسی غالب شده و تشکیل کلونی (Merrifield et al., 2010a) دهند و در نهایت سبب کاهش گوارش غذا شوند (Ringo and Birkbeck, 1999). ولی پروبیوتیک‌ها علاوه بر رقابت جهت چسبیدن به بافت دستگاه‌های گوارشی و جلوگیری از کلونیزه شدن میکروارگانیسم‌های پاتوژن (Barth et al., 2009; Lalles et al., 2007; Ringo et al., 2010; Gatesoupe, 1999). تحریک‌کننده اشتها نیز هستند. آنها از این طریق موجب بهبود تغذیه از طریق تولید ویتامین، دفع سموم جیره و شکستن ترکیبات غیرقابل گوارش غذا (Abdelhamid et al., 2009) شده و در نهایت بر شاخص‌های رشد به دلیل مصرف بهتر کربوهیدرات، پروتئین و انرژی (Austin, 2002) اثر مثبت خواهند گذاشت. در تحقیق حاضر تیمارهای PB₁₅₀، PB₃₀₀ و PB₄₅₀ ضریب تبدیل غذایی و بازده مصرف پروتئین بهتری نسبت به گروه شاهد داشتند که در این میان بهترین نسبت بازده پروتئین و کمترین ضریب تبدیل غذا متعلق به تیمار PB₃₀₀ بود. بهبود شاخص‌های مزبور در تیمارهای حاوی پروبیوتیک را می‌توان به بهتر شدن فعالیت آنزیم‌های گوارشی چون پروتئازها (در جذب بیشتر مواد غذایی تاثیر دارند) و یا ترشح برخی مواد سودمند برای گوارش بهتر مواد غذایی نسبت داد (بقایی بهمبری و همکاران، ۱۳۹۲). در مطالعه انجام شده توسط نیکخو و همکاران (۱۳۸۸) نیز افزودن پروبیوتیک Aqualase به جیره بچه کپورماهیان، گوارش پروتئین را بهبود بخشید. Ollivier و Deschriver (۲۰۰۲) گزارش دادند که تغذیه کفشک ماهی *Vibrio proteolyticus* (Scophthalmus maximus) با پروبیوتیک اثر مثبت بر قابلیت هضم ظاهری پروتئین داشت. به نظر می‌رسد که افزایش پروبیوتیک در دستگاه

طور معنی‌داری بیشتر از تیمار شاهد گزارش شد. به نظر می‌رسد تفاوت گونه‌ای و ساختار ژنتیکی، مدت و مقدار غذای حاوی پروبیوتیک و نوع و منشاء پروبیوتیک فاکتورهای تأثیرگذار بر شاخص‌های مربوطه باشد (Nikoskelainen *et al.*, 2003; Son *et al.*, 2009) و بعضی محققین نیز بیان کردند که دلیل خاصی نمی‌توان برای این اختلافات اعلام کرد (Merrifield *et al.*, 2011). اما در تحقیق حاضر اختلاف معنی‌داری در تعداد کل یاخته‌های سفید خون با افزایش غلظت پروبیوتیک به میزان ۱۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره مشاهده شد در حالی که تیمار شاهد کمترین تعداد یاخته سفید را دارا بود. لیزوزیم که از فاکتورهای قابل بررسی برای ارزیابی وضعیت سلامت آبزیان در جهت ایمنی ذاتی محسوب می‌شود (علیزاده و همکاران، ۱۳۹۶)، آنزیمی باکتری کش است که به طور گسترده در بدن به عنوان بخشی از مکانیسم سیستم دفاعی غیراختصاصی در بسیاری از جانوران عمل می‌کند (Grinde *et al.*, 1988; Lie *et al.*, 1989). در مطالعه حاضر سطوح مختلف پروبیوتیک تأثیری بر افزایش و کاهش معنی‌داری لیزوزیم نداشت. اما میزان کمپلمان (C₃) در ماهیان تغذیه‌شده با جیره PB₄₅₀ به طور معنی‌داری بیشتر از ماهیان تیمار شاهد بود. سیستم کمپلمان در برگیرنده ترکیبات پروتئینی و غیرپروتئینی است که هم در مکانیسم سیستم دفاع ذاتی و سیستم دفاعی تطبیقی نقش دارند که عموماً این نقش از طریق چسبیدن به آنتی‌بادی‌ها در دیواره سلولی (Holland and Lambris, 2002)، به عنوان مسیر جانشین (که وابسته به آنتی‌بادی‌ها بوده و به طور مستقیم به وسیله میکروارگانیسم‌های خارجی فعال می‌شود) و مسیر لکتین (پیوند لکتین به یک ترکیب پروتئینی مرکب از

گوارش ماهی، موجب افزایش ترشح آنزیم شده و این امر باعث بهبود سلامت ماهی، در نتیجه کنترل عفونت و افزایش قابلیت گوارش مواد غذایی می‌گردد (Gatesoup and Ringo, 1998) که افزایش نسبت بازده پروتئین و کاهش ضریب تبدیل غذا در مطالعه حاضر را توجیه می‌کند.

شاخص‌های خونی در ماهیان می‌تواند متأثر از گونه پرورشی، اندازه، سن، وضعیت فیزیولوژیکی، شرایط محیطی و رژیم غذایی باشد (Burnt *et al.*, 2005). مطالعاتی نشان داده است که فرمولاسیون جیره های غذایی، نوع و درجه خلوص پروبیوتیک مصرفی و روش افزودن پروبیوتیک به جیره به طور قابل ملاحظه ای می‌تواند بر ویژگی‌های خون اثرگذار باشند (رضوانی و همکاران، ۱۳۹۵). در مطالعه حاضر افزودن پروبیوتیک به جیره، موجب افزایش معنی‌داری در درصد هماتوکریت، غلظت هموگلوبین و تعداد یاخته قرمز نشد. نتایج مطالعات رضوانی و همکاران (۱۳۹۵) روی تاسماهی سبیری (*Acipenser baerii*) نیز نشان داد که افزودن سطوح مختلف پروبیوتیک *Lactobacillus plantarum* به جیره غذایی سبب اختلاف معنی‌داری در درصد هماتوکریت و لنفوسیت بین تیمارهای آزمایشی و تیمار شاهد نشد که دلیل آن را به وضعیت غذایی و بهداشتی ماهیان و در نتیجه کاهش حجم خون ماهیان نسبت دادند. این در حالی است که نتایج پژوهش شناور و همکاران (۱۳۹۱) در مورد تأثیر باکتری *Enterococcus faecalis* روی فاکتورهای خونی بچه تاسماهی ایرانی نشان از کاهش معنی‌داری در درصد هماتوکریت در تیمارهای آزمایشی نسبت به تیمار شاهد و وزن متوسط هموگلوبین موجود در یک گلبول قرمز داشت. همچنین غلظت هموگلوبین و یاخته‌های قرمز به

۲. پورفتاحی، آ.، جعفریان، ح.آ.، خسروی، ع.، ۱۳۹۴. اثرات ترکیبی مخمر ساکارومایسس سرویزیا و اسپرژیلوس نایجر بر پارامترهای هماتولوژی و بیوشیمیایی سرم خون فیل ماهیان جوان پرورشی (*Huso huso*). مجله تحقیقات دامپزشکی، ۷۰ (۴)، ۴۶۳-۴۷۳.
۳. رضوانی گیل کلایی، ع.، شعیی، ب.، صفری، ر.، مشایخی، ف.، ۱۳۹۵. اثر پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلانتاروم (*Lactobacillus plantarum*) بر پاره‌ای از فاکتورهای خونی تاسماهی سبیری (*Acipenser baerii*). فصلنامه علمی پژوهشی محیط زیست جانوری، ۹ (۲)، ۱۶۹-۱۷۴.
۴. رخشان، م.، احمدی، ک.، مجتهدزاده، ر.آ.، ۱۳۷۹. خون شناسی، انعقاد و طب انتقال خون - تشخیص و پیگیری بالینی بیماری‌ها به کمک روش‌های آزمایشگاهی هنری (دیویدسن). تألیف: جان برنارد هنری. (۱۹۹۶). انتشارات تیمور زاده، تهران، صفحات ۳۳-۱۵.
۵. سید حسنی م.ح.، یزدانی ساداتی، م.ح.، حلاجیان، ع.، یوسفی، آ.، ۱۳۹۸. تأثیر جایگزینی پودر ضایعات مرغ بجای پودر ماهی بر شاخصهای رشد، ترکیب لاشه و برخی شاخص‌های سیستم ایمنی فیلماهی (*Huso huso*) در دوران رشد. نشریه توسعه آبزی پروری، ۱۳ (۱)، ۴۳-۵۹.
۶. شکوریان، م.، علیپور، ع.ع.، یزدانی ساداتی، م.ح.، باقرزاده، ف.، حسین پور زلتی، ع.، سید حسنی، م.ح.، ۱۳۹۹. اثر سطوح مختلف پروبیوتیک تجاری بومی سوپرزیست بر شاخص‌های رشد، کارایی تغذیه و بقای تاسماهی سبیری (*Acipenser baerii*) جوان. نشریه توسعه آبزی پروری، ۱۴ (۴)، ۵۵-۶۷.
۷. شناورماسوله، ع.، ر.، ۱۳۹۱. شناسایی باکتریهای (*Acipenser persicus*) اسیدلاکتیک

مانوز/مانان که به همراهی یاخته‌های باکتریایی این مسیر را فعال می‌سازد) (Sakai, 1992) صورت می‌پذیرد. فعالیت کمپلمان به عنوان یک ویروس کش در گونه‌های زیادی مانند کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) (Matsuyama et al., 1992)، گربه ماهی (Jenkins and Ourth, 1993) و ماهیان آزاد (Lammens et al., 2000) به اثبات رسیده است.

نتایج این مطالعه نشان داد که پروبیوتیک استخراج شده از روده فیل ماهی می‌تواند موجب بهبود معنی‌دار شاخص‌های رشد این گونه شود. اگر چه شاخص‌های سیتولوژیک خون به استثنای تعداد کل گلبول سفید خون بچه فیل ماهیان تحت تیمار نتوانست از پروبیوتیک متأثر گردد، اما موجب بهبود نسبی فعالیت سیستم ایمنی بدن آنها شد. بنابراین استفاده از غلظت‌های ۳۰۰ و ۴۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره می‌تواند در پرورش مرحله انگشت‌قد این گونه سودمند باشد.

سپاسگزاری

نگارندگان مراتب سپاسگزاری خود را از کلیه همکاران بخش‌های آبزی پروری و فیزیولوژی و بیوشیمی موسسه بویژه آقایان محسن هوشیار و آرش شهبازی که پرورش و تغذیه بچه ماهیان را بر عهده داشتند، ابراز می‌دارند.

منابع

۱. بقائی بهمیری، م.ب.، فغانی لنگرودی، ل.، طلوعی، م.ح.، سمیعی اردکانی، م.، ۱۳۹۲. بررسی اثر پروبیوتیک باکتوسل بر فاکتورهای زیستی بچه فیلماهیان (*Huso huso*)، فصلنامه علوم تکثیر و آبزی پروری، ۱ (۱)، ۲۱-۳۴.

- use in piglets: evidence for intestinal colonization. *Journal of Applied Microbiology*, 107, 1697-1710.
15. Balakrishna, A., Keerthi, T.R., 2012. Screening of potential aquatic probiotics from the major microflora of guppies (*Poecilia reticulata*). *Frontiers of Chemical Science and Engineering*, 6(2), 163 – 173.
 16. Borch, K., Pederson, I.E., Hogmo, R.O., 2015. The use of probiotics in fish feed for intensive aquaculture to promote healthy guts. *International Scholars Journal*, 3, 264-273.
 17. Brunt, J., Austin, B., 2015. Use of a probiotic to control lactococcosis and streptococcosis in rainbow trout, *Onchorhynchus mykiss* (Walbaum). *Journal of Fish Disease*, 92, 222-710.
 18. Burr, G., Gatlin, D., Ricke, S., 2005. Microbial ecology of the gastrointestinal tract of fish and the potential application of prebiotics and probiotics in finfish aquaculture. *Journal of World Aquaculture Society*, 36,425-436.
 19. DeSchrijver, R., Ollevier, F., 2000. Protein digestion in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*) and effects of dietary administration of *Vibrio*. *Aquaculture*, 186,107–118.
 20. Doroshov, S.I., 1985. Biology and Culture of Sturgeon: *Acipenseriformes*. In: Mui, J.F, Roberts, R.J, (Eds.) *Advances in Aquaculture*, vol. 2. Boulder, CA: Westview Press; p. 251.
 21. Feist, G., Van Eenennaam, J.P., Doroshov, S.I., Schreck, C.B., Schneider, R.P., Fitzpatrick, M.S., 2004. Early identification of sex in cultured white sturgeon (*Acipenser transmontanus*) using plasma steroid levels. *Aquaculture*, 232, 581-590.
 22. Gao, H., McDonnell, A., Harrison, DA., Moore, T., Adam, S., Daly, K., Esmonde, L., Goldhill, DR., Parry, GJ., Rashidian, A., Subbe, C.P., Harvey S., 2007. Systematic review and evaluation of physiological track and trigger warning systems for identifying at-risk patients on the ward. *Intensive Care Medicine*, 33(4), 667-79.
- روده بچه تاسماهیان ایرانی و کارایی آنها بر برخی فاکتورهای رشد و ایمنوفیزیولوژی. پایان نامه دکترای تخصصی دامپزشکی در رشته بهداشت آبزیان. دانشگاه تهران، ۱۴۰، صفحه.
۸. علیزاده، م.، شناورماسوله، ع.، جلیل پور، ج.، معصوم-زاده، م.، بازاری مقدم، یگانه، ی.، عزیززاده، ل.، ۱۳۹۶. اثر آنتروکوکوسفالکیس (*Enterococcus faecalis*) بر شاخص‌های خونی و سرمی بچه تاسماهیان ایرانی (*Acipenser baerii*). *نشریه توسعه آبی پروری*، ۱۱ (۱)، ۸۳-۱۰۳.
 ۹. نیکخو، م.، یوسفیان، م.، وثوقی، ع.، صفری، ر.، ۱۳۸۸. تاثیر پروبیوتیک Aqualase بر رشد و بازماندگی بچه ماهی کپور وحشی (*Cyprinus carpio*). *مجله پژوهش‌های علوم و فنون دریایی*، ۴ (۴)، ۲۶-۳۶.
 ۱۰. هاشمی مفرد، م.، ستاری، م.، خوش خلق، م.، ر.، ماسوله، ع. ش.، عباسعلی زاده، ع.، ۱۳۹۵. مطالعه تأثیر باکتری ویسلا سیریا (*Weissella cibaria*) بر فاکتورهای رشد در تاسماهی سیریا (*Acipenser baerii*). *مجله علمی شیلات ایران*، ۲۵ (۲)، ۹۳-۱۰۲.
 11. Abdelhamid, A.M., Mehrim, A.I., Elbarbary, M.I., Ibrahim, S.M., Abd Elwahab, A.I., 2009. Evaluation of a new Egyptian probiotic by African catfish fingerlings. *Journal of Environment Science Technology*, 3,133-145.
 12. Askarian, F., Kousha, A., Salma, W., RINGØ, E., 2011. The effect of lactic acid bacteria administration on growth, digestive enzyme activity and gut microbiota in Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) and beluga (*Huso huso*) fry. *Aquaculture Nutrition*, 17(5), 488-497.
 13. Austen, B., 2002. Use of probiotic to control Frunclosis in rainbow trout, *Onchorhynchus mykiss* (Walbum). *Journal of Fish Disease*, 25, 333-342.
 14. Barth, S., Duncker, S., Hempe, J., Breves, G., Baljer, G., Bauerfeind, R., 2009. *Escherichia coli* Nissle 1917 for probiotic

33. Kesarcodi-Watson, A., Haspar, H., Lategan, M. J., Gibson, L., 2008. Probiotics in aquaculture: the need, principles and mechanisms of action and screening processes. *Aquaculture*, 274, 1-14.
34. Khodorevskaya, R.P., Nivikova, A.S., 1995. Current state of commercial beluga stocks on the Caspian Basin (Sovremennoye sostoyaniye promysloykh zapasov kaspyskoi beluga). *Voprosy Ikhtologii*. 35 (5), 621-627 [In Russian].
35. Khodorevskaya, R.P., 2002. Behaviour, distribution and migration of sturgeon in the Volga-Caspian basin (Povedeniye, reprodeleniye i igrarsi osetrovyykh v Volga-Kaspiyskom raione basseine), Extended Abstract odd Doctoral (Biol). Dssertation. Moscow: IPPRAN: 49PP. [IN Russian].
36. Kumar, R., Mukherjee, S.C., Ranjan, R., Nayak, S.K., 2008. Enhanced innate immune parameters in *Labeo rohita* (Ham.) following oral administration of *Bacillus subtilis*. *Fish and Shellfish Immunology*, 24, 168-172.
37. Lalles, J.P., Bosi, P., Smidt, H., Stokes, C.R., 2007. Weaning- A challenge to gut physiologists. *Livestock Science*, 108, 82-93.
38. Lammens, M., Decostere, A., Haesebrouck, F., 2000. Effect of *Flavobacterium psychrophilum* strains and their metabolites on the oxidative activity of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* phagocytes. *Diseases of aquatic organisms*, 41, 173-179.
39. 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.
40. Lie, O., Evensen, O., Sorensen, A., Froyssadal, E., 1989. Study on lysozyme activity in some fish species. *Disease of Aquatic Organism*, 6, 1-5.
41. Merrifield, D.L., Harper, G.M., Dimitroglou, A., Ringo, E., Davies, S.J., 2010a. Possible influence of probiotic
23. Gatesoup, F. J., Ringo, E. 1998. Lactic acid bacteria in fish: a review. *Aquaculture*, 160, 177 -203.
24. Gatesoupe, F.J., 1999. The use of probiotics in aquaculture- a review. *Aquaculture*, 180, 147-165.
25. Gatesoupe, F.J., 2008. Updating the importance of lactic acid bacteria in fish farming: natural occurrence and probiotic treatments. *Journal of Molecular Microbiology*, 14, 107-14.
26. Grinde, B., Lie, O., Poppe, T., Salte, R., 1988. Species and individual variation in lysozyme activity in fish of interest in aquaculture. *Aquaculture*, 68, 299-304.
27. Holland, M. C. H., Lambris, J.D., 2002. The complement system in teleosts. *Fish Shellfish Immunol*, 12: 399-420.
28. Hoseinifar, H., Mirvaghefi, A., Merrifield, D.L., 2011. The effects of dietary inactive brewer's yeast *Saccharomyces cerevisiae* var. *ellipsoideus* on the growth, physiological responses and gut microbiota of juvenile beluga (*Huso huso*). *Aquaculture*, 318, 90-94.
29. Hung, S.S.O., 2017. Recent advances in sturgeon nutrition. *Animal Nutrition*, 3, 191-204. Lee, R.G., Foerster, J., Jukens, J., Paraskevas, F., Greer, J.P. & Rodgers, G.M., 1998. *Wintrobe's clinical hematology*. 10th ed. New York: Lippincott Williams & Wilkins.
30. Jenkins, J. A., Ourth, D. D., 1993. Opsonic effect of the alternative complement pathway on channel catfish peripheral blood phagocytes. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 39, 447-459.
31. Ivanov, V.P., 2000. Critical endangered status and conservation of Caspian sturgeon (Kriticheskoye sostoyaniye kaspyskikh osetrovyykh i pupty ikh sorkhraneniya). In: *Osetrovye na rubezhe xxi veka. Tez.dok I. mezhdunar knof. (Sturgeon at the Threshold of the XXI Century. Abstract International Conference Astrakhan: KaspNIRKH. Pp.6-7 [In Russian].*
32. Kalbassi, M.R., Abdollahzadeh, E.A., Salari-Joo, H., 2013. A review on aquaculture development in Iran. *Journal of Ecopersica*, 1, 159-178.

51. Ringo, E., 2004. Lactic acid bacteria in fish and fish farming- in Lactic acid bacteria- Microbiological and functional aspects edited by Salminen, S. von Wright, A. and Ouwehand, A. 3rd ed. Marcel Dekker Inc., New York. p. 779.
52. 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.
53. Sakai, D. K., 1992. Repertoire of complement in immunological defense mechanisms of fish. *Annual Review of Fish Diseases*, 2, 223-247.
54. Shi, X., Zhuang, P., Zhang, L., Feng, G., Chen, L., Liu, j., Wang, R., 2008. Growth inhibition of Siberian sturgeon, *Acipenser baerii* from dietary and waterborne fluoride. Research report Fluoride 42 (2), 137-141.
55. 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 disease resistance of the grouper *Epinephelus coioides*. *Fish and Shellfish Immunology*, 26(5), 691-698.
56. Yano, T., 1992. Assays of hemolytic complement activity. In: *Techniques in Fish Immunology*. Stolen, S.J., Fletcher, T.C., Anderson, D.P., Kaattari, S.L., Rowley, A.F. (eds.). SOS Publications, Fair Haven, New Jersey, USA. 2, 131-141., S., 2006.
- adhesion to intestinal mucosa on the activity and morphology of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* enterocytes. *Aquaculture Research*, 41, 1268-1272.
42. Matsuyama, H., Yano, T., Yamakawa, T., Nakao, M., 1992. Opsonic effect of the third complement component (C3) of carp (*Cyprinus carpio*) on phagocytosis by neutrophils. *Fish & Shellfish Immunology*, 2, 69-78.
43. Merrifield, DL., Dimitroglou, A., Foey, A., Davies, S.J., Baker, R.M.T., Bogwald, J., Castex, M., Ringo, E., 2010c. The current status and future focus of probiotic and prebiotic applications for salmonids. *Aquaculture*, 302, 1-18.
44. Mohseni, M., Sajjadi, M., Pourkazemi, M., 2007. Growth performance and body composition of sub-yearling Persian sturgeon, (*Acipenser persicus*, Borodin, 1897), fed different dietary protein and lipid levels. *Journal of Applied Ichthyology*, 23, 204-208.
45. 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.
46. 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.
47. Nayak, S.K., 2010. Role of gastrointestinal microbiota in fish. *Aquaculture Research*, 41, 1553-1573.
48. 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 rhamnosus*. *Fish Shellfish Immunology*, 15, 443-452.
49. Pourkazemi, M., 2006. Caspian Sea sturgeon conservation and fisheries: past, present and future. *Journal of Applied Ichthyology*, 22, 12-16.
50. Ringo, E., Birkbeck, T.H., 1999. Intestinal microflora of fish larvae and fry. *Aquaculture Research*, 30, 73-93.