"مقاله پژوهشی"

تأثیر پروبیوتیک بومی بر برخی از شاخص‌های رشد، خون و ایمنی بچه فیل‌ماهی پرورشی (*Huso huso*)

هوشنگ یگانه راسته کناری*[۱]، رضوان‌اله کاظمی[۱]، علیرضا شناور ماسوله[۱]، میرحامد سیدحسنی[۱]، ایوب یوسفی جوردهی[۱]، علی حسین‌پور زلتی[۱]، رضا قربانی[۱]

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

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۲/۱۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۴/۵

چکیده

تأثیر پروبیوتیک بومی ماهیان خاویاری (آمیخته‌ای از گونه‌های *Lactococcus lactis* و *Weissella confusa*) بر شاخص‌های رشد وبرخی از پاراسنجه‌های خونی و ایمنی فیل‌ماهی جوان (*Huso huso*) پرورشی موردآزمایش قرارگرفت. ۴۸۰ قطعه فیل‌ماهی با متوسط وزن ۰/۰۱۶± ۲/۹۲ گرم با جیره شرکت بیومار (حاوی۴۷ درصد پروتئین، ۱۶درصد چربی و ۲/۳درصد 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 ۱۲مخزن 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 معنی¬داری 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 انگشت‌قدی فیل‌ماهی سودمند باشد.

کلمات کلیدی: بچه فیل‌ماهی، پروبیوتیک، رشد، هماتولوژی، سیستم ایمنی

* عهده‌دار مکاتبات (✉). hooshang.yegane@yahoo.com

مقدمه

تاسماهیان گونه‌هایی ارزشمند از دیدگاه اقتصادی برای آبزی‌پروری 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). فیل‌ماهی (*Huso huso*) گونه بومی دریای خزر، دریای سیاه و دریای آزوف و بزرگ‌ترین ماهی آب شیرین است (Doroshov, 1985). این ماهی به‌دلیل 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 (سیدحسنی و همکاران، ۱۳۹۸). در حال حاضر گونه فیل‌ماهی به‌همراه تاسماهی سیبری از گونه‌های اصلی پرورشی در استخرهای بتنی ایران به شمار می‌آیند (Kalbassi *et al*., 2013). به‌طوری که با توجه به گستردگی مزارع پرورشی ماهیان خاویاری و کمبود مولد در کشور، نیاز شدید به تولید بچه فیل‌ماهی جهت عرضه به مزارع خصوصی احساس می‌شود. اما در تولید بچه‌ماهی 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 آبزی 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 آبزی‌پروری می‌شوند (شکوریان و همکاران، ۱۳۹۹). پروبیوتیک‌های *Lactobacillus* spp., *Bacillus* spp., *Vibrio* spp. *Saccharomyces* spp. and *Enterococcus* spp, از متداول‌ترین پروبیوتیک‌های مورد استفاده در صنعت آبزی‌پروری هستند (Kumar *et al*., 2008). غلظت و گونه مورد استفاده این میکروارگانیسم‌ها با توجه به نوع و گونه ماهی (آب‌شیرین یا آب‌شور) 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 یکسانی۲۳ به ترتیب با شمارش تقریبی $10^6 - 10^5$ (CFU g^{-1}) روده و 10^6 (CFU Larvae g^{-1}) شامل باکتری‌های *Enterococcus seriolicida*، *L. mesenteroides*

درگونه تاسماهی ایرانی و باکتری‌های *Lactobacillus curvatus*، *Lactococcus raffinolactis*، *L. lactis* 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 میکروفلور روده ماهیان خاویاری شد. اگرچه مطالعات زیادی در خصوص تاثیر 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 میکروفلور یک گونه و تاثیر آن بر شاخص‌های رشد ماهی و سیستم ایمنی همان گونه توجه شده است (Burr *et al*., 2005). پژوهش حاضر به تاثیر پروبیوتیک بومی (مخلوطی ازگونه‌های *Lactococcus lactis* و *Weissella confuse*) برخی از شاخص‌های رشد، خونی و ایمنی بچه فیل‌ماهی (*Huso huso*) پرورشی پرداخته است.

مواد و روش‌ها

جیره مورد استفاده در این آزمایش جیره‌های Biomar, inico plus 1.5و Biomar, inico plus 1.9 بود (جدول ۱). جهت غنی‌سازی جیره‌های غذایی، نخست به ازای هرکیلوگرم 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 حاصل به غذای مربوطه اسپری و تا زمان استفاده در یخچال ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. در این آزمایش از چهار تیمار (PB_0، PB_{150}، PB_{300} و PB_{450}) (به ترتیب جیره فاقد پروبیوتیک، جیره دارای ۱۵۰ میلی‌گرم درکیلوگرم پروبیوتیک، جیره دارای ۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم پروبیوتیک و جیره دارای ۴۵۰ میلی‌گرم درکیلوگرم پروبیوتیک) استفاده شد (شناورو همکاران، ۱۳۹۱).

بچه فیل‌ماهی مورد استفاده در آزمایش از بخش آبزی‌پروری موسسه تحقیقات بین‌المللی تاسماهیان دریای خزر تأمین شد. ۴۸۰ قطعه بچه فیل‌ماهی با میانگین وزن ۰/۰۱۶±۲/۹۲ گرم در ۱۲ مخزن فایبرگلاس نیم‌تنی با ابعاد (۵۳×۱۰۲×۱۰۵ 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 رسوب‌گیر، به وسیله دستگاه پمپاژ به مخازن فایبرگلاس انتقال یافت. دوره تاریکی و روشنایی براساس فتوپریود طبیعی در فصل تابستان (۱۴ ساعت روشنایی و ۱۰ ساعت تاریکی) تنظیم گردید. جهت متعادل نگاه داشتن دما به‌منظور تغذیه مطلوب ماهیان (Shi *et al*., 2009) از مخلوطی از آب چاه و رودخانه با دبی۳ 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 (۰/۵۸±۲۳/۵ میلی‌گرم در لیتر) با استفاده از دستگاه اکسیژن‌متر(, 823 WTW –Germany) و pH با استفاده ازpH متر مدل Eutechاندازه‌گیری شد.

پس از پایان ۸ هفته تغذیه به‌منظور کاهش استرس واردشده به ماهی، غذادهی۲۴ ساعت قبل از زیست‌سنجی قطع شد (Mohseni *et al*., 2008). کلیه ماهیان موجود در هر وان خارج و با محلول ۳۰۰ پ.پ.م پودرگل 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 سرنگ۲ 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 مدت۱۰ 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 پیپت ملانژور و محلول رقیق‌کننده رنگی ریس، با استفاده از لام هموسیتومتر نئوبار 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 (یاخته های نوتروفیل، ائوزینوفیل، لنفوسیت و مونوسیت) از روش زیگزاگ شد. به این ترتیب که هر نمونه خون دو اسلاید و از هر اسلاید۲۰۰ یاخته سفید مورد شمارش قرار گرفت (Gao *et al*., 2007). سطوح لایزوزیم پلاسما با استفاده از دستگاه Auto Analyzer Technicon R.A.100, (Tecnicon company, Made in USA) وکیت‌های پارس‌آزمون نوع ISC وILT وکمپلمان‌های (CH_{50})، C_3 و C_4 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) وآزمون دانکن و برای بررسی توزیع نرمال داده‌ها درتیمارها از آزمون Kolmogorov-Smirnov استفاده شد. کلیه آنالیزهای آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ صورت گرفت.

جدول۱: ترکیب بیوشیمیایی جیره های مورد استفاده در آزمایش

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

نتایج

بیشترین وزن نهایی و درصد افزایش در تیمار حاوی ۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم پروبیوتیک (PB_{300}) مشاهده شد. در پایان دوره آزمایش، متوسط وزن نهایی

و درصد افزایش وزن در این تیمار به‌ترتیب ۱/۱۷±۹۸/۱ گرم و۵/۷±۳۲۵۷/۴۴ درصد بود که در مقایسه با وزن نهایی و درصد افزایش وزن ماهیان تغذیه‌شده با سطوح مختلف پروبیوتیک و تیمار شاهد (فاقد پروبیوتیک) از اختلاف معنی‌دار برخوردار بود (P<0.05). ماهیان تیمار شاهد (تیمار فاقد پروبیوتیک) کمترین وزن و افزایش وزن نهایی را دارا بودند (۲/۰۰±۷۱/۵ و ۱/۹۹±۶۸/۶ گرم). بررسی داده‌های به دست‌آمده از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (Oneway Anova) و آزمون دانکن نشان داد که در روند مشابه‌ای، شاخص ضریب رشد ویژه ماهیان تغذیه شده از جیره حاوی ۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم پروبیوتیک (۰/۰۲±۴/۹ درصد در روز) در مقایسه با ماهیان تیمار شاهد، تیمار ۱۵۰ و ۴۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم (۰۳۵ /۰±۴/۵، ۰/۰۲±۴/۱۸ و ۰/۰۲±۴/۸ درصد در روز) به طور معنی¬داری بیشتر بود (P>0.05). افزایش پروبیوتیک در جیره غذایی به میزان ۱۵۰ و ۴۵۰ میلی‌گرم 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 فیل‌ماهیان تیمار PB_{300} مشاهده شد که با سایر تیمارها دارای اختلاف معنی‌داری بود (P<0.05). همچنین ماهیان تیمار PB_{300} کمترین ضریب تبدیل غذایی را داشتند که باضریب تبدیل غذایی ثبت شده ماهیان تیمارهای دیگر دارای اختلاف معنی‌دار بود (P<0.05).

افزودن پروبیوتیک به جیره غذایی سبب افزایش معنی‌دار درصد هماتوکریت در تیمارهای آزمایشی در مقایسه با تیمار شاهد شد (جدول ۲). بالاترین درصد هماتوکریت متعلق به ماهیان تیمار شاهد (فاقد پروبیوتیک) بود (۳/۰۰±۲۵/۰۰ 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 معنی‌دار در میان گروه‌های آزمایشی مشاهده نشد (P>0.05). در روندی مشابه بیشترین تعداد یاخته قرمز (۱۲۵۲۹/۹۶±۵۵۶۰۰۰/۰۰ به ازای هر میلی‌متر مربع) در ماهیان تیمار PB_{300} ثبت گردید. اما فاقد اختلاف معنی‌دار 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 (۱۹۲۹/۵۹±۱۱۰۳۳/۳ عدد در هر میلی‌متر مربع) در ماهیان تیمار PB_{150} مشاهده شد که به طور معنی‌داری 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 (۵/۳±۲۶/۳۳ u/ml/min و ۷/۳۷±۱۲۹/۶۶ U%)، اما با سایر تیمارهای آزمایشی فاقد اختلاف معنی¬دار بود (P>0.05). میزان کمپلمان (C_3) در ماهیان تغذیه‌شده از جیره حاوی ۳۰۰ میلی گرم در کیلوگرم پروبیوتیک به طور معنا داری از میزان کمپلمان (C_3) ماهیان تیمار شاهد بیشتر بود (P<0.05).

جدول۲: شاخص‌های رشد فیل‌ماهی تغذیه شده با سطوح مختلف مکمل پروبیوتیک (دوره ۸ هفته‌ای)

شاخص ها	جیره ۱ (PB_0) (۰ درصد)	جیره ۲ (PB_{150}) (۱۵۰ میلی-گرم در کیلو گرم)	جیره ۳ (PB_{300}) (۳۰۰ میلی‌گرم در کیلو گرم)	جیره ۴ (PB_{450}) (۴۵۰ میلی گرم درکیلوگرم)
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}
(K) ضریب چاقی	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±۵/۰۷^{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 نشان‌دندهٔ معنی‌دار بودن در سطح ۰/۰۵ می‌باشد ($P<0/05$).

جدول ۳: شاخص‌های خونی و ایمنی بچه فیل‌ماهی تغذیه شده با سطوح مختلف مکمل پروبیوتیک (دوره ۸ هفته ای)

شاخص ها	جیره ۱ (PB_0) (۰ درصد)	جیره ۲ (PB_{150}) (۱۵۰ میلی‌گرم در کیلو گرم)	جیره ۳ (PB_{300}) (۳۰۰ میلی گرم درکیلو گرم)	جیره ۴ (PB_{450}) (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}	^{b}۸۸۰۰/۰۰±۵۰۰/۰	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}	۵۵۶۰۰۰/۰۰±۱۲۵۲۹/۹۶^{a}	۵۳۸۳۳۳/۳۳±۲۵۶۵۸a
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}	^{a}۲۶/۳۳±۵/ ۳	۲۳/۶۶±۱۱/۵۹^{a}
کمپلمان (C_3)(mg/1)	۳۶/۹±۶۶/۶^{b}	۴۲/۵±۶۶/۰۳^{ab}	^{ab}۴۴/۷±۳۳/ ۰۹	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±۰۰/۱۵^{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 نشان‌دندهٔ معنی‌دار بودن در سطح ۰/۰۵ می‌باشد ($P<0/05$).

بحث

نتایج این پژوهش نشان داد که پروبیوتیک بومی دستگاه گوارش فیل‌ماهی(مخلوطی ازگونه‌های *Lactococcus lactis* و *Weissella confusa*) می‌تواند شاخص‌های رشد (وزن نهایی، درصد افزایش وزن و رشد ویژه) را در تیمارهای تحت تاثیر به طور معنی-داری 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 معنی¬دار 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 معنی¬دار شاخص‌های رشد و ضریب تبدیل غذا در همین گونه گزارش شد. مطالعات زیادی نشان داد که پروبیوتیک‌ها مواد بازدارنده‌ای تولید می‌کنند که اثر آنتاگوانیستی 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 دستگاه های گوارشی وجلوگیری 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 PB_{150}، PB_{300} و PB_{450} ضریب تبدیل غذایی و بازده مصرف پروتئین بهتری نسبت به گروه شاهد داشتندکه در این میان بهترین نسبت بازده پروتئین وکمترین ضریب تبدیل غذا متعلق به تیمارPB_{300} بود. بهبود شاخص‌های مزبوردر تیمارهای حاوی پروبیوتیک را می‌توان به بهتر شدن فعالیت آنزیم‌های گوارشی چون پروتئازها (در جذب بیشتر مواد غذایی تأثیر 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. Deschriver و Ollivr (۲۰۰۲) گزارش دادند که تغذیه کفشک ماهی (*Scophthalmus maximus*) با پروبیوتیک *Vibrio proteolyticus* اثر مثبت بر قابلیت هضم ظاهری پروتئین داشت. به نظر می‌رسد که افزایش پروبیوتیک در دستگاه

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 متاثر 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 معنی¬دار درصد هماتوکریت، غلظت هموگلوبین و تعداد یاخته قرمز نشد. نتایج مطالعات رضوانی و همکاران (۱۳۹۵) روی تاسماهی سیبری (*Acipenser baerii*) نیز نشان داد که افزودن سطوح مختلف پروبیوتیک *Lactobacillus plantarum* به جیره غذایی سبب اختلاف معنی¬دار 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 تاثیر باکتری *Enterococcus faecalis* روی فاکتورهای خونی بچه‌تاسماهی ایرانی نشان از کاهش معنی‌دار 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 طور معنی¬داری بیشتر از تیمار شاهد گزارش شد. به نظر می‌رسد تفاوت گونه‌ای و ساختار ژنتیکی، مدت و مقدار غذای حاوی پروبیوتیک و نوع و منشاء‌پروبیوتیک فاکتور های تاثیرگذار 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 باکتری‌کش 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 تاثیری بر افزایش و کاهش معنی¬دار لیزوزیم نداشت. اما میزان کمپلمان (C_3) در ماهیان تغذیه‌شده با جیره PB_{450} به طور معنی¬داری 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 آنتی بادی‌ها بوده و به طور مستقیم به وسیله میکروارگانیسم‌های خارجی فعال می‌شود) و مسیر لکتین (پیوند لکتین به یک ترکیب پروتئینی مرکب از

مانوز/مانان که به همراهی یاخته‌های باکتریایی این مسیر را فعال می‌سازد) (Sakai, 1992) صورت می‌پذیرد. فعالیت کمپلمان به عنوان یک ویروس‌کش 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 فیل‌ماهی می‌تواند موجب بهبود معنی‌دار شاخص‌های رشد این گونه شود. اگر چه شاخص‌های سیتولوژیک خون به استثنای تعداد کل گلبول سفید خون بچه فیل‌ماهیان 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 آبزی‌پروری 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 بهمبری، 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.

۲. پورفتاحی، آ.، جعفریان، ح.آ.، خسروی، ع.، ۱۳۹۴. اثرات ترکیبی مخمر ساکارومایسس سرویزیا و آسپرژیلوس نایجر بر پارامترهای هماتولوژی و بیوشیمیایی سرم خون فیل ماهیان جوان پرورشی (*Huso huso*). مجله تحقیقات دامپزشکی، ۷۰ (۴)، ۴۶۳-۴۷۳.

۳. رضوانی گیل‌کلایی، ع.، شعیبی، ب.، صفری، ر.، مشایخی، ف.، ۱۳۹۵. اثر پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلانتاروم (*Lactobacillus plantarum*) بر پاره‌ای از فاکتورهای خونی تاسماهی سیبری (*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 بیماری ها به کمک روش‌های آزمایشگاهی هنری (دیویدسن). تألیف: جان برناردهنری. (۱۹۹۶). انتشارات تیمور زاده، تهران، صفحات ۳۳-۱۵.

۵. سید حسنی م.ح.، یزدانی ساداتی، م.ح.، حلاجیان، ع.، یوسفی، آ.، ۱۳۹۸. تاثیرجایگزینی پودرضایعات مرغ بجای پودر ماهی بر شاخصهای رشد، ترکیب لاشه و برخی شاخص‌های سیستم ایمنی فیلماهی (*Huso huso*) در دوران رشد .نشریه توسعه آبزی‌پروری،۱۳ (۱)، ۴۳-۵۹.

۶. شکوریان، م.، علیپور، ع.ع.، یزدانی ساداتی، م.ح.، باقرزاده، ف.، حسین‌پور زلتی، ع.، سید حسنی ، م.ح.، ۱۳۹۹. اثر سطوح مختلف پروبیوتیک تجاری بومی سوپرزیست بر شاخص‌های رشد، کارایی تغذیه و بقای تاسماهی سیبری (*Acipenser baerii*) جوان. نشریه توسعه آبزی‌پروری، ۱۴ (۴)، ۵۵-۶۷.

۷. شناورماسوله، ع. ر.، ۱۳۹۱ شناسایی باکتریهای (*Acipenser persicus*) اسیدلاکتیک

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.، جلیل‌پور، ج.، معصوم-زاده، م.، بازاری مقدم.، یگانه، ی.، عزیززاده، ل.، ۱۳۹۶. اثر آنتروکوکوسفالکیس(*Entrococus faecalis*) بر شاخص‌های خونی و سرمی بچه تاسماهیان ایرانی (*Acipenser baerii*). نشریه توسعه آبزی‌پروری، 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)، ۲۶-۳۶.

۱۰. هاشمی مفرد، م.، ستاری، م .، خوش خلق، م. ر.، ماسوله ، ع . ش.، عباسعلی زاده، ع.، ۱۳۹۵. مطالعه تأثیر باکتری ویسلا سیبریا (*Weissella cibaria*) بر فاکتورهای رشد در تاسماهی سیبری (*Acipenser baerii*). مجله علمی شیلات ایران، ۲۵ (۲)، ۹۳-۱۰۲.

11. 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 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 Nutrion, 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 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 reticulate*). 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., 2115. Use of a probiotic to control lactococcosis and streptococcosis in rainbow trout, *Oncorhynchus 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 (*Scophthalmu maximums*) 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.

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 in¬terest 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 kaspiyskokh osetrovykh I pupti ikh sorkhraneniya). In: Osetrovye na rubezhe xxi veka. Tez.dok l. 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.
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 sostoyniye promysloykh zapasov kaspyiskoi beluga). Voproch Ikhtiology. 35 (5), 621-627 [In Russia].
35. Khodorevskaya, R.P., 2002. Behaviour, distrubtion and migration of sturgeon in the Volga-Caspian basin (Povedeniye, repredeleneniye I igrarsi osetrovykh v Volga-Kaspyiskom 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, 24,168e72.
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., Froysadal, 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

adhesion to intestinal mucosa on the activity and morphology of rainbow trout, *Oncorhyncus 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 trouta, *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.
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.