"مقاله پژوهشی"

اثرات پروبیوتیک اختصاصی بر عملکرد رشد، آنزیم های کبدی و شاخص‌های ایمنی تاسماهی سیبری (*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 دریافت: ۱۴۰۱/۴/۸ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۷/۲۶

چکیده

با توسعه پرورش ماهیان خاویاری در کشور می‌توان بروز و افزایش انواع بیماری‌های عفونی را در مزارع پرورشی انتظار داشت. در این راستا مصرف پروبیوتیک‌های 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 سیبری با میانگین وزنی ۳/۱۲ ± ۸۴/۰۸ گرم به صورت تصادفی در ۱۲ وان فایبرگلاس (با حجم کلی ۵۰۰ لیتر و حجم آبگیری ۳۰۰ لیتر) توزیع شدند. به‌طوری‌که ماهیان در تیمار شاهد (جیره پایه بدون باکتری‌های پروبیوتیک) و تیمارهای حاوی پروبیوبیوتیک اختصاصی با مقادیر ۱۵۰ میلی‌گرم (تیمار۱)، ۳۰۰ میلی‌گرم (تیمار ۲) و ۴۵۰ میلی‌گرم (تیمار ۳) به ازای هر کیلوگرم غذا به مدت۱۰ هفته مورد تغذیه قرار گرفتند و سپس اثرات افزودن ترکیب دو سویه پروبیوتیکی جداشده از روده تاسماهی سیبری (*Weissella confusa* و *Lactococcus lactis*) بر شاخص‌های رشد، آنزیم‌های کبدی و شاخص‌های ایمنی تعیین گردید. نتایج این پژوهش نشان داد که با افزودن پروبیوتیک اختلاف معنی‌داری در ضریب تبدیل غذایی مشاهده شد ($p<۰/۰۵$). اما افزایش رشد روزانه، نرخ رشد ویژه، درصد افزایش وزن بدن و ضریب چاقی بین تیمارها و گروه شاهد فاقد اختلاف معنی‌دار بود ($p>۰/۰۵$). بیشترین و کمترین مقادیر ایمنوگلوبولین M و لیزوزیم نیز با اختلاف معنی‌دار به ترتیب در تیمارهای ۱ و۳ مشاهده گردید ($p<۰/۰۵$). بر اساس نتایج این پژوهش می‌توان بیان داشت که بهینه تراکم کلنی‌های فلورباکتریایی اختصاصی مورد استفاده در جیره غذایی تاسماهی سیبری به منظور بهبود شاخص‌های رشد و ایمنی معادل ۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم غذا می‌باشد.

کلمات کلیدی: تاسماهی سیبری، پروبیوتیک‌های اختصاصی، شاخص‌های رشد، ایمنی.

* عهده‌دار مکاتبات: Shenavar1969@gmail.com

مقدمه

تاسماهیان گونه‌هایی ارزشمند از دیدگاه اقتصادی برای آبزی‌پروری 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 آنتی بیوتیک‌ها در کنترل بیماری‌های عفونی نیز می‌تواند به بروز مقاومت طبیعی در باکتری‌ها کمک نماید. امروزه استفاده از پروبیوتیک‌ها و واکسن‌ها به عنوان جایگزین آنتی بیوتیک‌ها 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 درانواع ماهیان خاویاری و نیز به‌طور خاص درهر 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 گوارش‌شده و تاثیرات بسیار مطلوبی را بر رشد و بقاء آن ها ایجاد می‌نماید (Fuller, 1989; Moslehi *et al*., 2016).

پروبیوتیک‌ها از یک سو با بهینه‌سازی فاکتورهای کیفی آب موجب ایجاد شرایط مناسب زیستی برای آبزیان پرورشی‌شده و از سوی دیگر با ترشح برخی مواد خارج سلولی از جمله آنزیم‌های گوارشی، موجب هضم و جذب بهتر مواد غذایی خورده‌شده را برای آبزی 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 ; Kim and Austin, 2006) و کاهش هزینه های تولید (Yanbo and Zirong, 2006) نمایان می‌شود که در آبزی پروری پایدار می‌تواند به عنوان یک امتیاز بارز قلمداد گردد.

به‌کارگیری پروبیوتیک‌ها در ماهیان، قابلیت بهره برداری از غذاهای زنده مورد استفاده توسط آن‌ها را بالا برده و راندمان پرورش را ارتقاء می‌دهد، در این راستا به‌کارگیری باسیلوس‌های پروبیوتیکی سبب غنی سازی ناپلی آرتمیا اورمیانا 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 لاکتوباسیلوس های پروبیوتیکی (جعفریان و همکاران، ۱۳۸۷) نیز از آن جمله می باشد. در مراحل جوان و رشد پرورش ماهیان، باکتری های پروبیوتیکی در ماهیان خاویاری مورد بررسی قرار گرفته‌اند که در این‌خصوص 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 سیبری

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

در حال حاضر فرآورده‌های میکروبی تجاری در قالب باکتری‌های غیر بومی و غیر اختصاصی، مورد استفاده آبزی‌پروران قرار می‌گیرد، در حالی که خالص‌سازی و تولید انبوه پروبیوتیک‌های بومی و اختصاصی به ویژه برای گونه‌های مختلف ماهیان خاویاری، ضمن همسو بودن با اصول بوم شناختی، می‌تواند در راستای صنعت آبزی پروری پایدار و تولید بیشتر محصولات آبزی، 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 سیبری و بررسی اثر آن بر روی شاخص های رشد و ایمنی این گونه با ارزش انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری انجام پذیرفت. در این مطالعه ۵۰۰ عدد تاسماهی سیبری با میانگین وزنی۳/۱۲ ± ۸۴/۰۸ گرم جهت پرورش تا مرحله جوان بطور تصادفی انتخاب و در ۴ تیمار (هر تیمار با ۳ تکرار) مورد بررسی قرار گرفتند. این بررسی به‌مدت ۱۰ هفته طراحی گردید. در ابتدا ماهیان طی یک هفته در مخازن پرورشی سازگار گردیده و سپس روزانه در سه نوبت به میزان ۳-۲ درصد وزن بدن غذادهی شدند. زیست سنجی‌ها در فواصل دو هفته‌ای به وسیله ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۱ کیلوگرم و تخته بیومتری با دقت ۰/۱ سانتی متر انجام پذیرفت. ضمناً نمونه برداری‌ها جهت انجام سایر مطالعات در انتهای دوره پرورش انجام گردید. میزان مصرف پروبیوتیک‌ها درمقادیر ۰ (شاهد) ،۱۵۰ ،۳۰۰ و ۴۵۰ میلی گرم در یک کیلوگرم غذا در نظرگرفته شد. جهت غنی سازی غذای ماهیان، مقادیر موردنظر از پودر مخلوط باکتری‌های بومی تاسماهی سیبری (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 توزین‌شده 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 ۳/۵ 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 سانتی‌گراد) و اکسیژن محلول (میلی‌گرم در لیتر) با استفاده از دستگاه اکسیژن‌متر(WTW , Germany) و pH با استفاده از pH متر مدل Eutech اندازه‌گیری شدند. در این بررسی میانگین دمای آب ۰/۹۱ ± ۱۹/۸۷ درجه سانتیگراد، اکسیژن محلول ۰/۵۲ ± ۷/۳۴ میلی گرم در لیتر و pH معادل ۰/۳۳ ± ۸/۲۳ تعیین گردید.

شاخص‌های 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) :

$$WG\ (g) = Wt - W0$$

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

$$SGR\ (\frac{days}{\%}) = (\ln Wt - \ln W0) \times 100/t)$$

(تعداد روز= t ، لگاریتم نپرین وزن اولیه = Ln W0 ، لگاریتم نپرین وزن نهایی = Ln Wt)

BWI = (درصد افزایش وزن)

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

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

پس از پایان ۱۰ هفته تغذیه به منظور زیست سنجی نهایی و کاهش استرس به ماهی، غذادهی به‌مدت ۲۴ ساعت قبل از زیست‌سنجی قطع گردید. بدین منظور تمامی ماهیان موجود در هر وان با پودرگل 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 آنزیم‌های کبدی، پس از بیهوشی ماهیان، با استفاده از سرنگ ۱/۵^{cc} غیر هپارینه، نمونه خون از سیاهرگ دمی (Caudal vein) اخذ گردید. نمونه‌های 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 انتقال‌یافته و در دمای ۸۰ – درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. اندازه‌گیری شاخص‌های ایمنی و آنزیم‌های کبدی در آزمایشگاه تخصصی و استاندارد ویرومد (رشت) انجام گرفت. برای اندازه گیری میزان آنزیم‌های کبدی (ALT AST، LDH و ALP) با استفاده از کیت‌های سنجش ساخت شرکت پارس آزمون (Pars Azmoon Co.) و در واحد بین الملل (u/l) به‌دست آمد (غفاری و خسروانی زاده، ۱۳۹۱).

اندازه‌گیری ایمنوگلوبولین M (IgM) با روش ایمونوتوربیدی متری Immunoturbidimetric صورت پذیرفت (سقا و سروش نیا، ۱۳۸۲). ضمناً سنجش میزان لیزوزیم سرم با استفاده از دستگاه Elisa reader (Awarness, USA) مدل ۲۱۰۰ -Statfax و به روش Turbidomertric (کدورت سنجی) از طریق تحلیل تدریجی باکتری های گرم مثبت Micrococus lysodeikticus (Sigma,USA) انجام گردید (Ellis, 1990).

تجزیه و تحلیل آماری

به‌منظور جمع‌آوری داده‌ها، تجزیه و تحلیل آماری و رسم نمودارهای مربوطه از نرم افزارهای SPSS و Excel و آزمون‌های T- test، One Way Anova، آزمون ضریب همبستگی Spearman's Rank، Pearson و Mann- Whitney استفاده گردید.

نتایج

شاخص‌های رشد

نتایج این تحقیق نشان داد که با افزودن پروبیوتیک به جیره غذایی، شاخص‌های وزن نهایی، درصد افزایش وزن، ضریب چاقی، نرخ رشد روزانه در تیمار ۲ (۳۰۰ میلی‌گرم 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 به‌طور معنی‌داری نسبت به سایر تیمارهای حاوی پروبیوتیک و نیز گروه شاهد کاهش داشته است ($p<0.05$).

جدول ۱ : شاخص‌های رشد تاسماهی سیبری در پایان دوره پرورش

شاخص‌ها	شاهد	تیمار ۱ (۱۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم)	تیمار ۲ (۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم)	تیمار ۳ (۴۵۰ میلی‌گرم 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}
(K) ضریب چاقی	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±/۰۶ ^{a} ۱/۳۸	۱/۳۷ ۰±/۰۳ ^{a}	۱/۳۸ ۰±/۰۱ ^{a}	۱/۳۲ ± ۰/۰۵ ^{a}
نرخ رشد روزانه (GR)	۰±/۰۶ ^{a} ۲/۲۷	۲/۲۴ ۰±/۱۳ ^{a}	۲/۲۸ ۰±/۲۴ ^{a}	۲/۱۳ ± ۰/۰۸ ^{a}
ضریب تبدیل غذایی (FCR)	۰±/۰۳۵^{bc} ۱/۶۲	۱/۶۴ ۰±/۰۵^{ab}	۱/۳۹ ۰±/۰۶^{c}	۱/۸۳ ± ۰/۰۱^{a}

حروف غیرهمنام کوچک نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار آماری می‌باشد ($p<0.05$).

آنزیم‌های کبدی

در خاتمه دوره پرورش و تغذیه ماهیان با جیره‌های تهیه‌شده، در میزان آلانین آمینوترانسفراز(ALT) اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید ($p>0.05$). ولی درمقادیر آنزیم‌های آسپارتات آمینو ترانسفراز (AST)، لاکتات دهیدروژناز (LDH) و آلکالین فسفاتاز (ALP) سرم خون تاسماهی سیبری در بین تیمارها اختلاف معنی‌داری مشاهده‌شد ($p<0.05$). میزان ALT در تیمار شاهد کمترین و در تیمار ۳ بیشترین میزان بود. آنزیم AST در تیمار شاهد بیشترین میزان و در تیمار۲ کمترین مقدار را داشته است. آنزیم LDH در تیمار۱ بیشترین و در تیمار ۲کمترین بود. آنزیم ALP در تیمار ۱ کمترین مقدار و در تیمار ۳ از بیشترین میزان برخوردار بود.

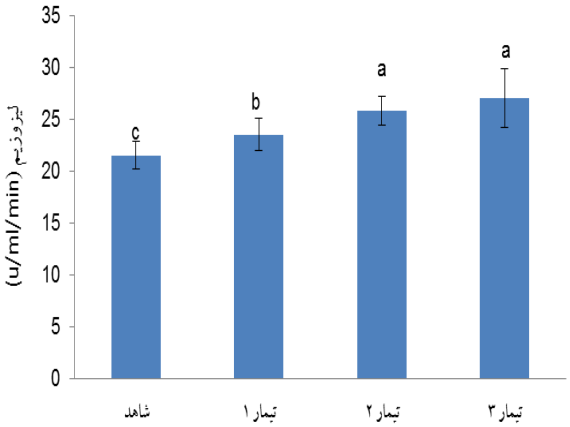
جدول ۲: آنزیم‌های کبدی خون تاسماهی سیبری در خاتمه دوره پرورش

شاخص‌ها	شاهد	تیمار ۱ (۱۵۰ میلی گرم در کیلوگرم)	تیمار ۲ (۳۰۰ میلی گرم در کیلوگرم)	تیمار ۳ (۴۵۰ میلی گرم در کیلوگرم)
آلانین آمینوترانسفراز (ALT)	۲۳/۶۷ ۳±/۹۵^{a}	۲۶ ۱±/۵۱^{a}	۲۳/۸۳ ۳±/۵۱^{a}	۳۲/۸۳ ۶±/۲۹^{a}
آسپارتات آمینو ترانسفراز (AST)	۶۶۶ ۵۷±/۰۹ ^{a}	۵۹۴/۵ ۲۶±/۳۸^{b}	۵۱۷/۶۷ ۲۱±/۶۸^{ab}	۵۷۲/۵۰ ۰۷۵۴±^{b}
آلکالین فسفاتاز (ALP)	۱۳۴/۸۳ ۵±/۰۵^{a}	۱۲۶/۳۳ ۲۶±/۲۱^{a}	۱۲۹/۶۷ ۱۴±/۲۶^{a}	۱۳۵/۳۳ ۲۷±/۸۹^{a}
لاکتات دهیدروژناز (LDH)	۱۱۶۰/۵ ۱۳۴±/۴۶ ^{a}	۱۱۳۸/۸۳ ۷۲±/۷۲ ^{a}	۱۰۶۸/۸۳ ۳۵±/۰۳ ^{a}	۱۰۷۳/۸۳ ۴۴±/۶۶ ^{a}

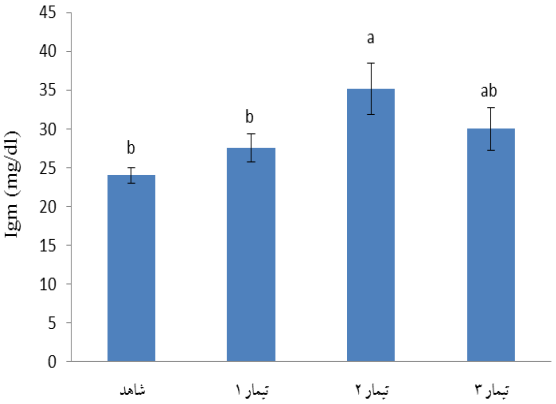
حروف غیر همنام کوچک نشاندهنده وجود اختلاف معنی دار آماری می‌باشد ($p<0.05$).

شاخص‌های ایمنی

در این تحقیق، افزودن پروبیوتیک به جیره موجب افزایش ترشح لیزوزیم و IgM در ماهیان تغذیه شده با جیره های 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



شکل ۲: مقایسه میزان IgM خون ماهیان در تیمارهای مختلف

بحث

امروزه به‌کارگیری پروبیوتیک ها 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 ویتامین ها نظیر بیوتین و ویتامین B12 سبب بهبود تغذیه می‌شوند (El-Haroun *et al.*, 2006).

مطالعه حاضر با تغذیه تاسماهی سیبری جوان به‌وسیله پروبیوتیک بومی و اختصاصی (ترکیب مساوی از گونه‌های *Lactococcus lactis* و *Weissella confusa*) حاکی از اثر بخشی آن و بهبود عملکرد و افزایش شاخص‌های 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 درماهیان تیمار ۲ که با پروبیوتیک اختصاصی تغذیه شده بودند به‌طور معنی داری نسبت به سایر تیمارها کاهش نشان داد. این موضوع بیانگر این است که استفاده از این پروبیوتیک‌ها در کاهش مقدار غذای مصرفی به منظور رشد ماهی موثّر واقع شده و این امر می‌تواند منجر به کاهش هزینه‌های 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 به‌کارگیری پروبیک‌ها 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 بچه فیل‌ماهیان اثرات معنی‌داری بر شاخص‌های رشد این گونه داشت و موجب بهبود برخی از شاخص‌های رشد و ضریب تبدیل غذایی گردید. مطالعات گوناگون نشان داده‌اند که پروبیوتیک‌ها از خود مواد بازدارنده‌ای تولید می‌کنند که اثر آنتاگونیستی بر رشد پاتوژن‌ها در روده داشته، بعضی از آنها نیز این توانایی را دارند که با چسبیدن به موکوس روده مانع از ورود بسیاری از پاتوژن‌های عفونت‌زای روده‌ای شوند (Ringo *et al*., 2010; Gatesoupe, 1999). پاتوژن‌های 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). پروبیوتیک‌ها علاوه بر چسبیدن رقابتی به بافت‌های گوارشی برای جلوگیری از کلونیزه شدن میکروارگانیسم‌های پاتوژن ، تحریک‌کننده اشتها نیز هستند (McDonald *et al*., 2002; Lalles *et al*., 2007; Ringo *et al*., 2010). آنها از این طریق موجب بهبود عملکرد تغذیه به دلیل تولید ویتامین‌ها، دفع سموم جیره و شکستن ترکیبات غیرقابل گوارش غذا (Abdelhamid *et al*., 2009) شده، در نهایت روی شاخص‌های رشد به دلیل مصرف بهتر کربوهیدرات، پروتئین و انرژی اثر مثبت می‌گذارند. لذا به نظر می‌رسد 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 می‌گردد (Gatesoup and Ringo, 1998) .

به‌طورکلی شاخص‌های 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 می‌تواند متفاوت باشد (Kim and Austin 2006; Pieters *et al*., 2008; Son *et al*., 2009; Soltani *et al*., 2015).

فرمولاسیون جیره‌های غذایی، نوع و درجه خلوص پروبیوتیک مصرفی و روش افزودن پروبیوتیک به جیره به طور قابل ملاحظه‌ای می‌توانند بر ویژگی‌های خون اثرگذار باشند (رضوانی و همکاران، ۱۳۹۵).

اصولاً آنزیم‌های کبدی ALT ، AST ، ALP از آنزیم های مهم در تعیین وضعیت سلامت ماهیان به‌شمار می‌آیند، سلول‌های کبدی غنی از این آنزیم‌ها بوده و LDH نیز جهت بررسی آسیب‌های بافتی کبد مورد استفاده قرار می‌گیرد، تغییرات آنزیم‌های سرمی در انواعی از بیماری‌ها، آلودگی‌های انگلی و مسمومیت‌ها 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 می‌شود 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 سیبری می‌باشد.

لیزوزیم از فاکتورهای قابل بررسی به منظور ارزیابی وضعیت سلامت آبزیان در جهت ایمنی ذاتی محسوب می‌شود (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 به‌طور معنی‌داری نسبت به کنترل دارای اختلاف معنی‌دار 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. acidilactici* در تیلاپیای قرمز، لیزوزیم بطور معنی‌دار در تیمارها نیز بیشتر از کنترل بوده است. لازم به‌ذکر است که به‌کارگیری *Lactobacillus rhamnosus* به مدت ۳۰ روز در تیلاپیای نیل لیزوزیم را بطور معنی داری را افزایش داد (Pirarat *et al*., 2011).

تعدادی از مطالعات نشان داده‌اند 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 باکتری‌های اسید لاکتیک سبب افزایش ایمنوگلوبولین‌ها شده‌اند (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 باکتری‌های پروبیوتیک می‌توانند 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 پروبیوتیک‌های بومی و اختصاصی تاسماهی سیبری می‌تواند بر روی ضریب رشد، وزن نهایی و کاهش ضریب تبدیل غذایی پس از ۱۰ هفته تاثیر مثبتی داشته باشد. بطوریکه بیشترین تاثیرگذاری در تیمار تغذیه شده با میزان ۳۰۰ میلی‌گرم پروبیوتیک در یک کیلوگرم غذا بوده است.

سپاسگزاری

بدینوسیله از مساعدت کلیه کارشناسان محترم بخش‌های آبزی پروری، بهداشت و بیماری‌ها 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 پربیوتیک 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 ازطریق غنی سازی با آرتمیا اورمیانا. رساله دکتری. دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان. ۱۰۳ صفحه.

۳. جعفریان، ح .، سلطا نی، م .، عابدیان، ع.، ۱۳۸۶. تاثیر برخی پروبیوتیک های باسیلی برکارآیی تغذیه و ترکیبات مغذی بدن لارو فیلماهی (*Huso huso*). مجله علوم کشاورزی ومنابع 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 غنیسازی 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 روش‌های آزمایشگاهی هنری (دیویدسن). تألیف: جان برناردهنری. (۱۹۹۶). انتشارات تیمور زاده، تهران، ۳۳-۱۵.

۶. 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*). 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 زلتی، ع.، سید حسنی، م. ح.، ۱۳۹۹. اثر سطوح مختلف پروبیوتیک های تجاری بومی سوپر زیست بر شاخص های رشد، کارایی تغذیه و بقای تاسماهی سیبری (*Acipenser baerii*) جوان. توسعه آبزی پروری، ۱۴ (۴)، ۶۷-۵۵.

۹. شناور ماسوله، ع.، پورکاظمی، م.، سلطانی، م.، یارمحمدی، م.، یزدانی ساداتی، م.ع.، علیزاده رودپشتی، م.، جلیل‌پور، ج.، بازاری مقدم، س.، معصوم‌زاده، م.، حسینی فر، س.ح.، اسماعیلی، پ. و بنی‌اسماعیلی، ی.، ۱۳۹۷. جداسازی و شناسایی مولکولی باکتریهای تولید کننده اسید لاکتیک از

روده تاسماهی سیبری (*Acipenser baerii*). مجله علمی شیلات ایران، ۲۷(۵)، ۲۸-۱۹.

۱۰. علیزاده، م.، شناورماسوله، ع.، جلیل‌پور، ج.، معصوم‌زاده، م.، بازاری مقدم.، یگانه، ی.، عزیززاده، ل.، ۱۳۹۶. اثر آنتروکوکوسفالکیس (*Entrococus faecalis*) بر شاخص‌های خونی و سرمی بچه تاسماهیان ایرانی (*Acipenser baerii*). توسعه آبزی‌پروری، ۱۱ (۱)، ۸۳-۱۰۳.

۱۱. غفاری، م .، خسروانی زاده، ع.، ۱۳۹۱. اثر اسانس گل میخک (*Eugenia cairyophillata*) بارگذاری شده بر نانو ذرات آهن روی شاخص های 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 سیبریا (*Weissella cibaria*) بر فاکتورهای رشد در تاسماهی سیبری (*Acipenser baerii*). مجله علمی شیلات ایران، ۲۵(۲)، ۲۷-۱۷.

13. Abdelhamid, A.M., Mehrim, A.I., El. barbary, M.I., Ibrahim, S.M., Abd El-wahab, AI., 2009. Evaluation of a new Egyptian probiotic by African catfish fingerlings. Journal of Enviroment 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 (*Onchorhynchus 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 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 Ressearch, 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. Gatesoup, 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., Nazarpoor, A., Morovat, R., 2011. The comparision of performance of isolated sturgeon gut bacillus (*Acipernser 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

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, *Oncorhyncus 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 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

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. Ecotoxicolgy 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.