

"مقاله پژوهشی"

اثرات تلفیقی و مجزای پودر آلوئه‌ورا (*Aloe barbadensis*) و باکتری (*Pediococcus acidilactici*) بر شاخص‌های رشد، خون‌شناسی و جمعیت باکتریایی روده فیل ماهی (*Huso huso*)

فائقه نوری^۱، فرید فیروزبخش^{*}، سکینه یگانه^۱، خسرو جانی خلیلی^۱

۱. گروه شیلات، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۴/۱۹

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۲/۲۰

چکیده

هدف از این تحقیق بررسی اثر پروبیوتیک *Pediococcus acidilactici* و پودر آلوئه‌ورا (*Aloe barbadensis*) در جیره غذایی بر شاخص‌های رشد، فاکتورهای خونی و جمعیت میکروبی روده فیل ماهی (*Huso huso*) است. بعد از دو هفته سازگاری، ۷۲۰ عدد بچه ماهی با میانگین وزنی 10.63 ± 0.51 گرم در ۱۸ حوضچه مدور (۴۰ عدد ماهی در هر حوضچه) توزیع شدند. سپس در قالب یک طرح کاملاً تصادفی به مدت ۲ ماه در ۶ تیمار شامل غذای تجاری فاقد مکمل (تیمار ۱، گروه شاهد)، غذای مکمل شده با ۱۵ گرم پودر آلوئه‌ورا (تیمار ۲)، غذای مکمل شده با ۰/۱ گرم پروبیوتیک (تیمار ۳)، غذای مکمل شده با ۰/۲ گرم پروبیوتیک (تیمار ۴)، غذای مکمل شده با ۱۵ گرم آلوئه‌ورا و ۰/۱ گرم پروبیوتیک (تیمار ۵) و غذای مکمل شده با ۱۵ گرم آلوئه‌ورا و ۰/۲ گرم پروبیوتیک (تیمار ۶) به ازای یک کیلوگرم غذای خشک پرورش یافتند. نتایج نشان داد بهترین شاخص وزن نهایی، ضریب تبدیل غذایی و ضریب رشد ویژه در تیمارهای ترکیبی و شماره ۴ بدست آمد که با تیمار شاهد اختلاف معنی داری داشتند ($P < 0.05$). از نظر شاخص‌های خونی و بیوشیمیایی سرم، بیشترین تعداد گلبول‌های قرمز، سفید، لنفوسیت و مقادیر آلبومین و پروتئین تام سرم در تیمارهای ترکیبی بدست آمد. در پایان دوره، شمارش باکتریهای کل و اسیدلاکتیک روده در تیمارهای آزمایشی با گروه شاهد اختلاف معنی داری را نشان دادند ($P < 0.05$). براساس نتایج حاصله، با توجه به اثرات مثبت تیمارهای ترکیبی بر فاکتورهای رشد و عدم اختلاف معنی دار آن با تیمار ۴، چنانچه هدف از پرورش تنها افزایش رشد ماهیان باشد استفاده از ۰/۲ گرم پروبیوتیک و چنانچه افزایش رشد و افزایش ایمنی ماهیان مدنظر باشد استفاده از ۰/۲ گرم پروبیوتیک به همراه ۱۵ گرم آلوئه‌ورا در جیره ماهیان پیشنهاد می‌گردد.

کلمات کلیدی: آلوئه‌ورا، *Pediococcus acidilactici*، رشد، جمعیت باکتریایی روده، فیل ماهی

مقدمه

به دلیل ارزش اقتصادی و غذایی بسیار زیاد و کاهش میزان ذخایر طبیعی ماهیان خاویاری، سبب شد تا تکثیر و پرورش و بازسازی ذخایر آن‌ها مورد توجه بسیاری از کشورهای جهان قرار گیرد (Mohseni et al., 2008). فیل ماهی یکی از گونه‌های ماهیان خاویاری است که بدلیل رشد سریع، سازگاری با شرایط پرورشی و ارزش خاویار آن، گزینه بسیار مناسبی برای پرورش می باشد. لذا ضرورت دارد که برای افزایش مقاومت آن‌ها در برابر بیماری‌ها و همچنین افزایش رشد و بازماندگی تحت شرایط استرس‌زا از ترکیبات مناسبی در تغذیه این گونه ماهیان استفاده شود (Ahmadifar, 2009). افزودنی‌های غذایی گیاهی می‌توانند با تأثیر بر شاخص‌های نظیر قابلیت هضم، کارایی تغذیه و طعم غذا، میزان رشد در آبزیان را تحت تأثیر قرار دهند. این مکمل‌های خوراکی علاوه بر رشد، منجر به تحریک سیستم ایمنی غیر اختصاصی، افزایش تحمل تنش‌های محیطی و مقاومت در برابر برخی بیماری‌های عفونی آبزیان می‌گردند که همه این عوامل در نهایت منجر به اقتصادی‌تر شدن تولید آبزیان پرورشی می‌گردد (Rao et al., 2006). یکی از ارزشمندترین این گیاهان، آلوئه‌ورا است. این گیاه دارای بیش از 75 ماده مغذی، 200 ترکیب فعال، 20 نوع ماده معدنی، 18 نوع آمینواسید و 12 نوع ویتامین و ترکیباتی نظیر آلونین، فامودین، آنتراکینون، ایزوباربالوئین (Mandrioli, et al., 2011) است. در مطالعه‌ای نشان داده شده است که تغذیه با آلوئه‌ورا موجب افزایش پاسخ‌های ایمنی اختصاصی و غیر اختصاصی در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) می‌شود (Alishahi et al., 2010). در مطالعه‌ای دیگر توسط Wang و همکاران

(۲۰۱۱) مشخص گردید که کاربرد سطوح بالایی از آلوئه‌ورا در غذای ماهی قزل‌آلای رنگین کمان اثر مثبتی بر عملکرد رشد این ماهی داشته است.

پروبیوتیک‌ها میکروارگانیسم‌هایی هستند که به منظور پایداری جمعیت میکروبی مفید و مقابله با میکروب‌های بیماری‌زای دستگاه گوارش در تغذیه جانوران به کار می‌روند. این ترکیبات با تغییر فلور میکروبی روده به سود باکتری‌های سودمند و همزمان با کاهش باکتری‌های بیماری‌زا و زیان‌آور، عملکرد روده را بهبود می‌بخشند (Fazlolahzadeh, 2011). باکتوسل به عنوان یک ترکیب پروبیوتیکی تجاری قابل دسترس است که حاوی تعداد 1×10^{10} باکتری *Pedococcus acidilactici* MA می‌باشد (Fuller, 1989). این باکتری اثر آنتاگونیستی علیه میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا دارد و این اثر را از طریق تولید اسید (لاکتیکو باکتریوسین پدیوسین) اعمال می‌کند و بدین ترتیب بهبود وزن بدن و ضریب تبدیل خوراک صورت می‌گیرد (Lee et al., 2007). تحقیقاتی در خصوص مصرف پروبیوتیک *P. acidilactici* MA در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (Mai et al., 2005) و تیلایپای نیل (Ferguson et al., 2010) انجام شده است که اثرات سودمندی بر شاخص‌های رشد، ایمنی غیراختصاصی، میکروبیوتای روده‌ای و مقاومت ماهیان در برابر عوامل بیماری‌زا داشت. با توجه به منافع بالقوه ترکیبات موجود در آلوئه‌ورا و اثرات مثبت پروبیوتیک‌ها، این مطالعه به ارزیابی اثرات این گیاه دارویی با پروبیوتیک بصورت تلفیقی و به تنهایی در مدت هشت هفته غذادهی بر عملکرد رشد و برخی شاخص‌های خونی و ایمنی فیل ماهی پرداخته است.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر در مرکز تکثیر و بازسازی ذخایر آبریان شهید رجایی واقع در منطقه سمسکنده شهرستان ساری انجام پذیرفت. بدین منظور ۷۲۰ عدد بچه فیل ماهی پرورشی با میانگین وزنی $10/63 \pm 0/51$ گرم پس از یک دوره سازگاری (۱۴ روز) بطور تصادفی در ۱۸ حوضچه فایبرگلاس انتقال داده شدند. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی به مدت ۲ ماه در ۶ تیمار شامل غذای تجاری فاقد مکمل (تیمار ۱، گروه شاهد)، غذای مکمل شده با ۱۵ گرم پودر آلوئه‌ورا (تیمار ۲)، غذای مکمل شده با ۰/۱ گرم پروبیوتیک (تیمار ۳)، غذای مکمل شده با ۰/۲ گرم پروبیوتیک (تیمار ۴)، غذای مکمل شده با ۱۵ گرم آلوئه‌ورا و ۰/۱ گرم پروبیوتیک (تیمار ۵) و غذای مکمل شده با ۱۵ گرم آلوئه‌ورا و ۰/۲ گرم پروبیوتیک (تیمار ۶) به ازای یک کیلوگرم غذای خشک در ۳ تکرار پرورش یافتند. بدین منظور در هر حوضچه ۴۰ عدد بچه ماهی رهاسازی و به مدت ۸ هفته و روزانه به میزان ۵ درصد وزن بدن و در سه نوبت مورد تغذیه قرار گرفتند. برای تهیه غذا از پلیت تجاری کوپنز آلمان (پروتئین خام ۴۹٪، چربی خام ۱۵٪، فیبر ۲٫۵٪، فسفر ۱٫۲۴٪ و خاکستر ۸٫۷٪) استفاده شد. پروبیوتیک مورد استفاده در این تحقیق پروبیوتیک تجاری باکتوسل (حاوی باکتری پدیوکوکوس اسیدی لاکتیکی از خانواده لاکتوباسیلوس‌ها) ساخت شرکت لالمند فرانسه با غلظت 1×10^{10} cfu/g بود که در دو سطح ۰/۱ و ۰/۲ گرم بر کیلوگرم غذا مورد استفاده قرار گرفت. پودر ژل آلوئه‌ورا از شرکت گیاه سلامت نسیم فراز تهیه شد که در سطح ۱/۵ درصد استفاده شد. به منظور تهیه جیره‌های غذایی مورد آزمایش، پودر ژل آلوئه‌ورا و یا

پروبیوتیک در مقدار کمی آب مقطر استریل حل و در سطح غذا اسپری شد. سپس به منظور تثبیت ترکیبات در سطح غذا عمل روغن پوشانی انجام گرفت. غذاهای تهیه شده بر روی سینی‌های مجزا بمدت ۲۴ ساعت خشک و سپس در ظروف ویژه درب‌دار ریخته و تا زمان مصرف در دمای ۴-۶ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (Cerezuela et al., 2015). برای حفظ کیفیت، عمل غذاسازی هر دو هفته یکبار پس از زیست سنجی ماهیان انجام تکرار می‌شد. پارامترهای فیزیکیوشیمیایی آب در طول دوره پرورش بصورت روزانه سنجش شدند بطوریکه در طول دوره پرورش دمای آب $25 \pm 1/1$ درجه سانتی‌گراد، اکسیژن محلول در آب $5/8 \pm 0/8$ میلی گرم در لیتر و PH آب بین ۷/۸ تا ۸/۲ در نوسان بود. مدفوع و دیگر مواد باقیمانده هر روز صبح از مخازن سیفون می‌شدند. ماهیان تلف شده نیز در طول دوره بصورت روزانه جمع آوری و اطلاعات مربوطه ثبت شد.

ارزیابی فاکتورهای رشد

به منظور بررسی اثرات مجزا و ترکیبی پودر آلوئه‌ورا و پروبیوتیک بر شاخص‌های رشد ماهیان و مقایسه بین تیمارهای مختلف، به فاصله زمانی هر ۱۴ روز، وزن ماهیان با ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۱ و طول آنها با خط کش اندازه گیری و شاخص‌های رشد شامل ضریب تبدیل غذایی (FCR)، ضریب رشد ویژه (SGR)، افزایش وزن بدن (WG) و درصد بازماندگی (SR) طبق روابط زیر محاسبه شد (Huang, et al., 2003):

وزن اولیه (g) - وزن نهایی (g) = (WG) افزایش وزن بدن

$100 \times (\text{طول دوره پرورش} / \text{وزن اولیه } Ln - \text{وزن نهایی } Ln) = (SGR)$ ضریب رشد ویژه

(g) وزن اضافه شده / (g) غذای خشک داده شده = (FCR) ضریب تبدیل غذایی

$100 \times (\text{تعداد ماهیان اولیه} / \text{تعداد ماهیان باقیمانده}) = (SR\%)$ درصد بازماندگی

از هر تکرار به طور تصادفی انتخاب (قطع غذایی ۲۴ ساعت قبل) و به منظور آغاز عملیات نمونه برداری و کشت (پس از بیهوشی ماهیان با استفاده از عصاره گل میخک به میزان ۲۵ میلی گرم در لیتر) ناحیه شکمی ماهیان به وسیله پنبه الک ۷۰ درصد ضد عفونی کرده و در شرایط استریل توسط تیغ اسکالپل استریل برش و روده خارج گردید. نمونه های روده پس از تخلیه کامل محتویات، توزین و پس از شستشو توسط سرم فیزیولوژی استریل، به منظور هموژن نمودن، به ظروف استریل مجزا منتقل شدند. پس از تهیه محلول هموژن به منظور شمارش باکتری های هوازی و بی-هوازی (باکتری های اسیدلاکتیک) تلقیح انجام و پس از سپری شدن زمان گرمخانه گذاری باکتری های هر پلیت بر حسب واحد کلنی (CFU) در گرم، مورد شمارش قرار گرفتند (Peter and Sneath, 1986).

تجزیه و تحلیل آماری

این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. جهت انجام محاسبات آماری از نرم افزار SPSS نسخه ۲۲ استفاده گردید. ابتدا وضعیت داده ها با استفاده از آزمون Kolmogorov-smirnov برای طبیعی بودن داده ها و آزمون Leven برای همگنی واریانس ها بررسی شد. پس از اطمینان از طبیعی بودن داده ها، برای تجزیه و تحلیل داده ها از آنالیز واریانس یک طرفه (One Way ANOVA) استفاده و مقایسه بین میانگین ها به روش آزمون آماری دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد ($P < 0.05$) بررسی شد.

تعیین فاکتورهای خونی و بیوشیمیایی سرم

در طول دوره پرورشی دو بار (هر ۴ هفته) و در هر بار به طور تصادفی ۱۵ عدد بچه ماهی (از هر تکرار ۵ ماهی) انتخاب و به منظور خونگیری ماهیان، ۲۴ ساعت قبل غذایی قطع و سپس با عصاره گل میخک به میزان ۲۵ میلی گرم در لیتر (Gholipour et al., 2011) بیهوش و سپس خونگیری از ساقه دمی انجام شد. نمونه ها در کنار یخ سریعاً به آزمایشگاه منتقل و فاکتورهای خونی شامل شمارش گلبول های قرمز و سفید به روش دستی و با استفاده از لام هموسیتومتر نتوبار و محلول نات-هریک (Stoskopf, 1993)، غلظت هموگلوبین بر اساس روش درابکین و میزان هماتوکریت از روش میکروهماتوکریت (Borges et al., 2004) و شمارش افتراقی گلبول های سفید پس از تهیه گسترش خونی و رنگ آمیزی آن با گیمسا، درصد فراوانی انواع لکوسیت ها محاسبه شد. سنجش مقدار گلوکز به روش گلوکز اکسیداز و مقادیر پروتئین تام و آلبومین به روش برادفورد و توسط کیت های تجاری انجام شد.

بررسی میکروفلور روده

برای شمارش تعداد کل باکتری ها و باکتری های اسید لاکتیک در روده بچه ماهیان تغذیه شده با پروبیوتیک و گیاه آلونه ورا از روش توصیه شده توسط Merrifield و همکاران (۲۰۱۱) استفاده شده است. در میانه و انتهای دوره پرورش (روز ۳۰ و ۶۰ پس از شروع آزمایش)، ۵ عدد ماهی

نتایج

در جدول ۱ اثرات افزودن مجزا و تلفیقی مکمل های غذایی پروبیوتیک *P. acidilactici* و پودر آلئوئه-ورا بر شاخص های رشد بچه فیل ماهیان ارائه شده است. همانطور که در جدول مشخص شده بیشترین میزان افزایش وزن و نرخ رشد ویژه و کمترین ضریب تبدیل غذایی در تیمارهای ترکیبی (۵ و ۶) مشاهده شد که با گروه شاهد اختلاف معنی داری داشت

($P < 0.05$). از طرفی در پارامترهای ذکر شده اختلاف معنی داری بین گروه های تغذیه شده با مکمل های ترکیبی و تیمار حاوی مکمل مجزا پروبیوتیک با دز ۰/۲ گرم بر کیلوگرم جیره (تیمار ۴) مشاهده نشد ($P > 0.05$). از نظر درصد میزان بازماندگی تمامی تیمارها اختلاف معنی داری با تیمار شاهد نشان دادند ($P < 0.05$).

جدول ۱. میانگین شاخص های رشد فیل ماهیان تغذیه شده با پودر آلئوئه‌ورا و پروبیوتیک

شاخص	تیمار					
	۱ (شاهد)	۲	۳	۴	۵	۶
وزن اولیه (g)	۱۰/۷۸ ± ۰/۴۹ ^a	۱۰/۶۱ ± ۰/۷۱ ^a	۱۰/۵۴ ± ۰/۸۳ ^a	۱۰/۵۸ ± ۰/۲۰ ^a	۱۰/۷۳ ± ۰/۵۹ ^a	۱۰/۶۳ ± ۰/۵۷ ^a
افزایش وزن بدن (g)	۱۲۰/۰۰ ± ۰/۸۷ ^a	۱۲۴/۳۲ ± ۲/۰۲ ^a	۱۴۹/۳۶ ± ۲/۴۳ ^b	۱۵۷/۷۷ ± ۳/۰۱ ^c	۱۶۱/۲۵ ± ۱/۶۲ ^{cd}	۱۶۵/۷۹ ± ۵/۰۶ ^d
ضریب تبدیل غذایی	۰/۸۱ ± ۰/۰۳ ^b	۰/۸۰ ± ۰/۰۳ ^{ab}	۰/۷۶ ± ۰/۰۲ ^{ab}	۰/۷۶ ± ۰/۰۲ ^{ab}	۰/۷۵ ± ۰/۰۰ ^{ab}	۰/۷۴ ± ۰/۰۴ ^a
نرخ رشد ویژه (%day ⁻¹)	۴/۱۳ ± ۰/۰۸ ^a	۴/۲۴ ± ۰/۰۸ ^a	۴/۲۲ ± ۰/۳۹ ^a	۴/۶۰ ± ۰/۰۶ ^b	۴/۶۲ ± ۰/۰۸ ^b	۴/۶۹ ± ۰/۱۳ ^b
درصد بازماندگی (%)	۷۷/۵۰ ± ۲/۵۰ ^a	۹۰/۰۰ ± ۲/۵۰ ^c	۸۳/۳۳ ± ۱/۴۴ ^b	۸۶/۶۶ ± ۳/۸۱ ^{bc}	۸۸/۳۳ ± ۱/۴۴ ^{bc}	۹۰/۸۳ ± ۳/۸۱ ^c

حروف غیر همنام در هر ردیف نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح ۰/۰۵ است.

نتایج فراسنجه های خون شناسی افزایش معنی دار تعداد گلبول های قرمز را در تیمارهای ترکیبی و تیمار حاوی مکمل پودر آلئوئه‌ورا (تیمار ۲) در روز ۳۰ نمونه برداری نسبت به تیمارهای دیگر نشان می دهد ($P < 0.05$) و در پایان دوره تمامی تیمارها بجز تیمار حاوی ۰/۱ گرم پروبیوتیک اختلاف معنی داری با تیمار شاهد داشتند ($P < 0.05$). از نظر تعداد گلبول های سفید اگرچه تمامی تیمارها در وسط دوره پرورش با گروه شاهد اختلاف معنی داری داشتند ($P < 0.05$). ولی بیشترین تعداد آن در تیمارهای ترکیبی مشاهده گردید. در پایان دوره نیز تمامی تیمارها بجز تیمار شماره ۳ با

گروه شاهد اختلاف معنی داری داشتند ($P < 0.05$). بیشترین میزان غلظت هموگلوبین در وسط و پایان دوره پرورش مربوط به تیمارهای ترکیبی ۵ و ۶ بود که نسبت به تیمارهای دیگر اختلاف معنی داری نشان دادند ($P < 0.05$). درصد هماتوکریت در هر دو زمان نمونه برداری روز ۳۰ و ۶۰ در تیمارهای تغذیه شده ترکیبی و تیمار حاوی پودر آلئوئه‌ورا بطور معنی داری بالاتر از تیمارهای دیگر بود ($P < 0.05$) (جدول ۲).

جدول ۲. میانگین فراسنجه‌های خون‌شناسی فیل ماهیان تغذیه شده با پودر آلئوئورا و پروبیوتیک

روز غذادهی				
پارامتر	تیمار	۳۰	۶۰	
گلبول قرمز ($10^4 \times \text{mm}^3$)	۱	0.59 ± 0.02^a	0.79 ± 0.01^a	
	۲	0.69 ± 0.01^b	0.87 ± 0.04^{bc}	
	۳	0.61 ± 0.02^a	0.82 ± 0.03^{ab}	
	۴	0.62 ± 0.01^a	0.86 ± 0.03^{bc}	
	۵	0.69 ± 0.01^b	0.90 ± 0.03^c	
	۶	0.67 ± 0.03^b	0.91 ± 0.02^c	
گلبول سفید ($10^3 \times \text{mm}^3$)	۱	9.62 ± 0.38^a	13.49 ± 0.62^a	
	۲	12.13 ± 0.21^c	15.48 ± 0.33^b	
	۳	11.43 ± 0.33^{bc}	14.16 ± 0.82^a	
	۴	11.16 ± 0.91^b	15.26 ± 0.44^b	
	۵	13.14 ± 0.39^d	17.55 ± 0.42^c	
	۶	13.25 ± 0.47^d	17.89 ± 0.61^c	
هموگلوبین (g/dL)	۱	4.24 ± 0.23^a	4.32 ± 0.27^a	
	۲	4.91 ± 0.20^{bc}	5.74 ± 0.36^c	
	۳	4.40 ± 0.24^a	5.07 ± 0.13^b	
	۴	4.56 ± 0.32^{ab}	5.09 ± 0.14^b	
	۵	5.16 ± 0.22^{cd}	6.17 ± 0.23^d	
	۶	5.46 ± 0.29^d	6.43 ± 0.24^d	
هماتوکریت (%)	۱	19.06 ± 0.35^a	21.83 ± 0.25^a	
	۲	20.86 ± 0.20^{cd}	23.10 ± 0.40^b	
	۳	20.23 ± 0.30^b	22.10 ± 0.20^a	
	۴	20.53 ± 0.15^{bc}	22.26 ± 0.20^a	
	۵	21.10 ± 0.36^d	23.13 ± 0.25^b	
	۶	21.90 ± 0.20^e	23.60 ± 0.26^b	

حروف غیر همنام در هر ستون نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح ۰/۰۵ است.

تیمارها می‌باشد و کمترین تعداد نوتروفیل و ائوزینوفیل در تیمارهای ترکیبی مشاهده شد. از نظر تعداد مونوسیت بین تیمارهای مختلف آزمایشی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۳).

نتایج سنجش شمارش تفریقی گلبول‌های سفید نشان می‌دهد که روند تغییرات تعداد لنفوسیت‌ها به نحوی است که میزان آنها در تیمارهای ترکیبی و تیمار شماره ۲ که حاوی پودر آلئوئورا است بیشتر از سایر

جدول ۳. مقایسه میانگین لکوسیت‌های شاخص در فیل ماهیان تغذیه شده با پودر آلوتئورا و پروبیوتیک

روز غذادهی		تیمار	پارامتر
۶۰	۳۰		
$62/66 \pm 0/57^a$	$59/66 \pm 1/52^a$	۱	لنفوسیت (%)
$70/00 \pm 1/00^b$	$66/66 \pm 1/52^b$	۲	
$64/33 \pm 2/51^a$	$59/33 \pm 1/52^a$	۳	
$69/33 \pm 1/15^b$	$60/33 \pm 1/52^a$	۴	
$74/66 \pm 1/52^c$	$69/66 \pm 1/52^c$	۵	
$78/00 \pm 2/00^d$	$72/00 \pm 2/00^c$	۶	
$24/66 \pm 1/52^c$	$27/33 \pm 0/57^d$	۱	نوتروفیل (%)
$18/66 \pm 2/08^b$	$22/66 \pm 1/52^{bc}$	۲	
$21/33 \pm 1/52^b$	$26/00 \pm 1/73^d$	۳	
$18/66 \pm 1/52^b$	$25/00 \pm 1/73^{cd}$	۴	
$15/00 \pm 1/00^a$	$21/00 \pm 1/00^b$	۵	
$13/00 \pm 1/00^a$	$17/66 \pm 1/52^a$	۶	
$1/33 \pm 0/57^b$	$0/66 \pm 0/57^a$	۱	مونوسیت (%)
$1/00 \pm 1/00^{ab}$	$0/33 \pm 0/57^a$	۲	
$1/66 \pm 0/57^b$	$1/00 \pm 1/00^a$	۳	
$0/66 \pm 0/57^{ab}$	$0/66 \pm 0/57^a$	۴	
$0/66 \pm 0/57^{ab}$	$0/33 \pm 0/57^a$	۵	
$0/00 \pm 0/00^a$	$0/00 \pm 0/00^a$	۶	
$11/33 \pm 1/52^{bc}$	$12/33 \pm 0/57^b$	۱	اِئوزینوفیل (%)
$10/33 \pm 1/52^{ab}$	$10/33 \pm 1/52^a$	۲	
$12/66 \pm 0/57^c$	$13/66 \pm 0/57^b$	۳	
$11/33 \pm 1/15^{bc}$	$14/00 \pm 1/00^b$	۴	
$9/66 \pm 0/57^{ab}$	$9/00 \pm 1/00^a$	۵	
$9/00 \pm 1/00^a$	$10/33 \pm 0/57^a$	۶	

حروف غیر همنام در هر ستون نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح ۰/۰۵ است.

مقادیر برخی از شاخص‌های بیوشیمیایی سرم خون فیل ماهیان جوان تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی در جدول ۴ آمده است. بررسی آماری نشان دهنده آن است که اختلاف معنی داری بین مقادیر شاخص‌های بیوشیمیایی از جمله گلوکز، آلبومین و پروتئین تام در تیمارهای مختلف وجود داشت ($P < 0/05$). بیشترین مقدار آلبومین و پروتئین تام و کمترین مقدار گلوکز از تیمارهای ترکیبی بدست آمده است.

جدول ۴. پارامترهای بیوشیمیایی سرم در فیل ماهیان تغذیه شده با پودر آلئوئورا و پروبیوتیک

روز غذادهی		تیمار	پارامتر
۶۰	۳۰		
$1/14 \pm 0/03^a$	$1/09 \pm 0/05^a$	۱	آلبومین (g/dL)
$1/56 \pm 0/04^c$	$1/39 \pm 0/02^b$	۲	
$1/42 \pm 0/04^b$	$1/36 \pm 0/05^b$	۳	
$1/60 \pm 0/04^c$	$1/60 \pm 0/07^c$	۴	
$1/73 \pm 0/05^d$	$1/60 \pm 0/03^c$	۵	
$1/80 \pm 0/06^d$	$1/77 \pm 0/02^d$	۶	
$1/86 \pm 0/04^a$	$1/83 \pm 0/07^a$	۱	پروتئین تام (g/dL)
$2/18 \pm 0/04^{bc}$	$2/13 \pm 0/04^b$	۲	
$2/10 \pm 0/07^b$	$2/15 \pm 0/03^b$	۳	
$2/20 \pm 0/04^c$	$2/26 \pm 0/05^c$	۴	
$2/35 \pm 0/01^d$	$2/23 \pm 0/04^{bc}$	۵	
$2/46 \pm 0/05^e$	$2/46 \pm 0/06^d$	۶	
$89/66 \pm 1/52^c$	$72/00 \pm 2/64^b$	۱	گلوکز (mg/dL)
$75/00 \pm 1/00^a$	$68/33 \pm 3/05^{ab}$	۲	
$83/66 \pm 1/52^b$	$70/33 \pm 2/08^b$	۳	
$87/33 \pm 0/57^{bc}$	$71/33 \pm 3/05^b$	۴	
$78/00 \pm 4/35^a$	$67/66 \pm 2/51^{ab}$	۵	
$76/66 \pm 1/52^a$	$64/66 \pm 0/57^a$	۶	

حروف غیر همنام در هر ستون نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح ۰/۰۵ است.

نتایج شمارش کل باکتری‌های روده فیل ماهیان نشان داد که میزان این باکتری‌ها در نمونه برداری روز ۳۰ اختلاف معنی داری بین تیمارهای شاهد، تیمار حاوی آلئوئورا و تیمار حاوی ۰/۱ گرم پروبیوتیک وجود نداشت ($P < 0/05$). ولی این تیمارها با تیمارهای ترکیبی و تیمار حاوی ۰/۲ گرم پروبیوتیک اختلاف معنی داری را نشان دادند ($P < 0/05$). این در حالی است که کل باکتری‌های اسیدلاکتیک در نمونه برداری روز ۳۰ در تمامی تیمارهای آزمایشی بجز تیمار شماره ۲

اختلاف معنی داری با تیمار شاهد داشته است ($P < 0/05$). اگرچه بین تیمارهای شاهد و تیمار حاوی پودر آلئوئورا (تیمار ۲) اختلاف معنی دار مشاهده نشد ($P < 0/05$). ولی در نمونه برداری پایان دوره شمارش کل باکتری‌های روده و شمارش باکتری‌های اسیدلاکتیک در تمامی تیمارهای آزمایشی با گروه شاهد اختلاف معنی داری را نشان داده‌اند ($P < 0/05$). بیشترین تعداد باکتری‌ها از تیمارهای ترکیبی ۵ و ۶ بدست آمده است (جدول ۵).

جدول ۵. اثر تیمارهای آزمایشی بر شمارش کل باکتری‌ها و باکتری‌های اسیدلاکتیک (log cfu/gr) روده فیل ماهیان

روز نمونه برداری		تیمار	پارامتر
۶۰	۳۰		
۵/۹۸±۰/۰۰۲ ^a	۵/۹۵±۰/۰۰۲ ^a	۱	مجموع باکتری‌ها
۵/۹۹±۰/۰۰۲ ^b	۵/۹۵±۰/۰۰۴ ^a	۲	
۶/۰۰±۰/۰۰۴ ^b	۵/۹۵±۰/۰۰۴ ^a	۳	
۶/۱۲±۰/۰۰۴ ^c	۵/۹۶±۰/۰۰۲ ^b	۴	
۶/۱۶±۰/۰۰۷ ^d	۵/۹۷±۰/۰۰۳ ^b	۵	
۶/۱۷±۰/۰۰۳ ^e	۵/۹۸±۰/۰۰۴ ^c	۶	
۳/۷۸±۰/۰۱۲ ^a	۳/۷۷±۰/۰۱۵ ^a	۱	باکتری‌های اسید لاکتیکی
۴/۰۴±۰/۰۱۰ ^b	۳/۷۹±۰/۰۲۷ ^a	۲	
۴/۲۶±۰/۰۲۲ ^c	۴/۰۴±۰/۰۱۰ ^b	۳	
۴/۴۸±۰/۰۰۹ ^d	۴/۱۹±۰/۰۱۷ ^c	۴	
۴/۵۸±۰/۰۰۸ ^e	۴/۲۰±۰/۰۱۴ ^c	۵	
۴/۷۲±۰/۰۰۳ ^f	۴/۳۹±۰/۰۰۷ ^d	۶	

حروف غیر همنام در هر ستون نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است.

بحث

بود (تیمار ۶) مشاهده گردید. همچنین در مطالعه‌ای که توسط Hoseinifar و همکاران (۲۰۱۱) بر روی فیل ماهی انجام شد نشان داد که استفاده از مخمر ساکارومایسیس سرویزیا به عنوان پروبیوتیک منجر به افزایش معنی‌دار شاخص رشد ویژه، درصد افزایش وزن بدن و وزن نهایی و همچنین کاهش معنی‌دار ضریب تبدیل غذایی ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی مخمر در مقایسه با تیمار شاهد شد. در حالیکه مصرف پروبیوتیک سوپریست در تاس ماهی سیبری طی ۶۸ روز تغییر معنی‌داری در فاکتورهای رشد ماهی ایجاد نکرد (شکوریان و همکاران، ۱۳۹۹). در تحقیق حاضر بکارگیری جیره‌های آزمایشی در تغذیه فیل ماهیان سبب گردید که درصد بقاء نسبت به گروه شاهد بهبود نسبی داشته باشد. عموماً "پروبیوتیک‌های مختلف از جمله باکتوسل با ترشح ترکیبات خارج سلولی موجب افزایش پاسخ ایمنی میزبان نسبت به محرک‌های می-

با توجه به عدم اختلاف معنی‌دار از نظر پارامترهای رشد بین تیمارهای ترکیبی و تیمار مجزا حاوی ۰/۲ گرم پروبیوتیک و از طرفی اختلاف معنی‌دار تیمارهای ترکیبی با تیمار حاوی آلونئورا به تنهایی (تیمار ۲) می‌توان اینگونه استنباط کرد که پروبیوتیک عامل اصلی افزایش دهنده رشد در ماهیان می‌باشد و گیاه آلونئورا به تنهایی تاثیر چندانی روی پارامترهای رشد ندارد. Austin و Irianto (۲۰۰۲) عنوان کردند که اضافه کردن پروبیوتیک‌ها به غذای ماهی باعث افزایش فعالیت‌های گوارشی، آنزیمی و تحریک اشتها و نهایتاً افزایش رشد می‌شوند. همچنین ثابت شده است که استفاده از سویه *P. acidilactici* در ماهی قزل آلا منجر به بهبود افزایش وزن شد (Aubin et al., 2005). در تحقیق حاضر کمترین ضریب تبدیل غذایی (۰/۷۴±۰/۰۴) در تیماری که حداکثر وزن را دارا

شوند و در نتیجه میزان مقاومت در برابر استرس و نرخ بقا و بازماندگی افزایش می‌یابد (Irianto and Austine, 2002).

ژل گیاه آلوئه‌ورا عمدتاً از آب و پلی ساکاریدها تشکیل شده است که خصوصیتی مشابه با ترکیبات پری‌بیوتیکی دارند (Willis et al., 2009). Zhao و Li (۲۰۱۰) گزارش نمودند که گیاهان داروئی حاوی پلی ساکاریدهایی هستند که بطور معنی داری می‌توانند رشد پروبیوتیک‌ها را تحریک کنند. این پلی ساکاریدها بر روی متابولیسم گلوکز و استفاده از قندها تاثیر می‌گذارند. بنابراین می‌توان اینگونه بیان نمود که برخی ترکیبات گیاه آلوئه‌ورا می‌تواند بعنوان یک پری بیوتیک عمل نموده و با افزایش باکتری‌های روده، درصد بقا را در ماهیان افزایش دهد. همچنین می‌توان اینطور استنباط نمود که استفاده ترکیبی از پروبیوتیک و گیاه آلوئه‌ورا بصورت یک ترکیب سینبیوتیک عمل نموده و اثر هم افزایی بر هم داشته و باعث تحریک رشد باکتری‌های مفید، بهبود عملکرد روده و افزایش مقاومت در برابر بیماری‌ها می‌شوند (Roberfroid, 1998). نتایج این تحقیق نشان داد که بیشترین تعداد گلبول‌های قرمز مربوط به تیمارهای ترکیبی و تیمار حاوی پودر آلوئه‌ورا بود. تحقیقات نشان داده‌اند که پلی‌ساکاریدهای موجود در ژل آلوئه‌ورا محرک خون-سازی و افزایش تعداد گلبول‌های قرمز هستند (Channa et al., 2014). چنین نتایجی را محرابی و همکاران (۱۳۹۶) متعاقب تجویز پودر آلوئه‌ورا در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان نیز گزارش نمودند. از آنجا که گلبول‌های سفید نقشی مهم در دفاع غیر اختصاصی دارند و به عنوان شاخصی برای سلامتی شناخته شده‌اند (Fazlollahzade et al., 2011)، افزایش

تعداد گلبول‌های سفید در تیمارهای ترکیبی و تیمار حاوی پودر آلوئه‌ورا می‌تواند نشانگر افزایش ایمنی غیر اختصاصی و بهبود هر چه بیشتر سلامتی ماهیان در این تیمارها باشد. عقیده بر این است که افزایش این تعداد در تیمار حاوی آلوئه‌ورا مربوط به ترکیب آسمانان موجود در ژل آلوئه‌ورا می‌باشد که با افزایش تعداد گلبول‌های سفید خون خصوصاً ماکروفاژها نقش مهمی در افزایش ایمنی در برابر بیماری‌ها دارد (Channa et al., 2014). نتایج بدست آمده از بررسی ترکیب سینبیوتیکی با یومین ایمبو بر شاخص‌های خونی فیل ماهی و افزایش معنی دار تعداد گلبول‌های سفید و هموگلوبین نیز نقش ترکیب پرو و پری بیوتیک را تایید می‌کند (Akrami et al., 2015). یگانه راسته کناری و همکاران (۱۴۰۰) نیز با مصرف پروبیوتیک بومی در فیل ماهی افزایش معنی‌دار تعداد گلبول سفید را در غلظت ۴۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلو غذا مشاهده کردند. نتایج سنجش شمارش تفریقی گلبول‌های سفید نشان داد که بیشترین مقدار لنفوسیت و کمترین مقدار نوتروفیل و ائوزینوفیل خون در تیمارهای ترکیبی و تیمار شماره ۲ که حاوی پودر آلوئه‌ورا مشاهده شده است. به نظر می‌رسد این تغییرات ناشی از اثرات محرک ایمنی ترکیبات بیوشیمیایی سازنده آلوئه‌ورا باشد. احتمالاً این ترکیبات قادرند ایمنی غیر اختصاصی بدن را با افزایش تعداد کل سلول‌های فاگوسیت‌کننده و تحریک عمل فاگوسیتوز ارتقا دهند (Choi and Chung, 2003). میزان هموگلوبین تابعی از تغییرات گلبول قرمز بوده و با آن رابطه مستقیم دارد. بررسی روند تغییرات میانگین هموگلوبین در تیمارها که نشان دهنده غلظت بیشتر هموگلوبین در تیمار تغذیه شده با جیره حاوی آلوئه‌ورا و تیمار ترکیبی می‌باشد

نشان دهنده برتری وضعیت تنفسی در این تیمارها است زیرا بالا رفتن میزان هموگلوبین باعث افزایش انتقال گازهای تنفسی می‌شود. براساس نتایج بدست آمده از این تحقیق، بیشترین میزان درصد هماتوکریت در تیمارهای ترکیبی و تیمار حاوی پودر آلوئه‌ورا بدست آمده است. طبق نظر Franklin و همکاران (۱۹۹۲) افزایش سطح هماتوکریت می‌تواند عکس‌العملی بر پاسخ به استرس و همچنین بیانگر افزایش ظرفیت انتقال اکسیژن در خون باشد. افزایش سطح پروتئین‌های سرم به عنوان شاخص مناسبی برای بررسی وضعیت دفاع ایمنی ماهی مطرح می‌باشد. تصور می‌شود که افزایش میزان آلبومین و پروتئین سرم بیشتر در ارتباط با تحریک سیستم ایمنی غیراختصاصی می‌باشد (Wiegertjes et al., 1996). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که متعاقب مصرف جیره‌های آزمایشی با تیمارهای ترکیبی افزایش معنی‌داری در سطح پروتئین تام سرم دیده می‌شود که نشان دهنده افزایش قدرت پاسخ دفاعی می‌باشد. گزارشاتی از افزایش پروتئین تام متعاقب استفاده از محرک‌های ایمنی وجود دارد که با نتایج این تحقیق همخوانی دارد (Alishahi et al., 2004; Vasudeva et al., 2011). در مطالعه حاضر افزایش معنی‌داری در مقادیر باکتری‌های اسید لاکتیک در پایان دوره آزمایش در تیمارهای آزمایشی نسبت به تیمار گروه شاهد مشاهده و بیشترین تعداد آن در تیمارهای ترکیبی بدست آمده است. نتایج حاصل تایید کننده این مطلب است که پروبیوتیک‌ها بوسیله ترکیبات پریبیوتیکی تحریک می‌شوند و در نتیجه ترکیب بصورت سینبیوتیک اثرگذاری بیشتری بر روی فلور میکروبی روده نسبت به اثر پروبیوتیک و پری-بیوتیک به تنهایی دارد (Saulnier et al., 2008). به

نظر می‌رسد افزایش میزان باکتری‌های اسید لاکتیک در تیمارهای ترکیبی، احتمالاً "تحت تاثیر مواد غذایی موجود در پودر گیاه آلوئه‌ورا باشد. در مطالعه‌ای که توسط بازاری مقدم و همکاران در سال ۱۳۹۵ بر روی تاثیر عصاره آلوئه‌ورا بر فلور باکتریایی روده تاسماهی سیری (*Acipenser baerii*) انجام شد افزایش معنی‌داری در مقادیر باکتری‌های اسید لاکتیک در تیمارهای حاوی عصاره آلوئه‌ورا نسبت به گروه شاهد مشاهده گردید. همراستا با یافته‌های مطالعه حاضر بکارگیری سطوح مختلف پریبیوتیک مانان الیگوساکارید و فروکتوالیگوساکارید به طور معنی‌داری سبب افزایش تعداد باکتری‌های اسید لاکتیک در میکروبیوتای روده ای‌فیل ماهی و ازون برون شد (Razeghi Mansour et al., 2012). تاثیرات افزایش میزان باکتری‌های اسید لاکتیک روده در ایجاد تعادل میکروبی روده، ساختن ترکیبات مفید از جمله ویتامین‌ها و برخی از آنزیم‌ها، تحریک و افزایش کارایی سیستم ایمنی، افزایش فعالیت‌های گوارشی و آنزیمی و به دنبال آن افزایش رشد و توسعه سطوح غذایی را بدنبال دارد (Kim and Austin, 2006). بطور کلی نتایج مطالعه حاضر موید این امر بود که با توجه به اثرات مثبت تیمارهای ترکیبی بر فاکتورهای رشد و عدم اختلاف معنی‌دار آن با تیمار شماره ۴ که حاوی ۰/۲ گرم پروبیوتیک به ازای کیلوگرم غذای خشک بوده، چنانچه هدف از پرورش تنها افزایش رشد ماهیان باشد استفاده از تیمار حاوی ۰/۲ گرم پروبیوتیک پیشنهاد ولی چنانچه افزایش رشد همراه با افزایش مقاومت و ایمنی ماهیان و بهبود وضعیت میکروفلور روده ماهیان مدنظر باشد استفاده از تیمار ترکیبی شماره ۶ (۰/۲ گرم پروبیوتیک به همراه

۴. یگانه راسته کناری، ه.، کاظمی، ر.، شناور ماسوله، ع.، سیدحسینی، م.، یوسفی جوردهی، ا.، حسین پور زلتی، ع.، قربانی، ر.، ۱۴۰۰. تاثیر پروبیوتیک بومی بر برخی از شاخص های رشد، خون و ایمنی بچه فیل- ماهی. نشریه توسعه آبزی پروری، ۱۵(۱)، ۱۲۶-۱۲۵.

5. Ahmadifar, E., Azari Takami, G.h., Sudagar, M., 2009. Growth performance, survival and immunostimulation, of beluga (*Huso huso*) juvenile following dietary administration of alginic acid (Ergosan). Pakistan Journal of Nutrition, 8(3), 227-232.
6. Akrami, R., Gharaei, A., Razeghi Mansour, M., Galeshi, A., 2015. Effects of dietary onion (*Allium cepa*) powder on growth, innate immune response and hemato biochemical parameters of beluga juvenile. Fish&Shell fish Immunology, 45, 828-834.
7. Alishahi, M., Soltani, M., Mesbah, M., Esmaeili Rad, A., 2011. Effects of dietary *Silybum marianum* extract on immune parameters of the Common carp (*Cyprinus carpio*). Journal of Veterinary Research, 66, 3, 255-263.
8. Aubin, J., Gatesoupe, F.J., Labbe, L., Lebrun, L., 2005. Trial of probiotics to prevent the vertebral column compression syndrome in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss walbaum*). Aquaculture research, 36, 758-767.
9. Borges, A., Scotti, L., Siqueira, D.R., Jurinitz, D.F., Wasserman, G.F., 2004. Hematologic and serum biochemical values for hundi. Fish physiology and Biochemistry, 30, 21-25.
10. Channa, A.A., Qazi, I.H., Soomro, A.S., Shah, A.H., Gandahi, J.A., Korejo, A.R., Shah, I.A., kalhor, N.A., Khaskeli, B., 2014. Effect of oral supplementation of Aloe vera extract on haematology indices and immune cells of blood in rabbit. African journal of pharmacy and pharmacology, 8, 497-501.
11. Cerezuela, R., Guardiola, F., Cuesta, A., Esteban, M.A., 2015. Enrichment of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) diet with palm fruit extract and probiotics: effects on skin mucosal immunity. Fish and Shellfish Immunology, 47, 706-711.

۱۵ گرم آلوه ورا) به عنوان یک ماده افزودنی در جیره غذایی فیل ماهیان پیشنهاد می گردد.

سپاسگزاری

بدینوسیله مراتب قدردانی و سپاس را از مساعدت و همکاری صمیمانه مدیر کل محترم دفتر بازسازی ذخایر آبزیان سازمان شیلات ایران، مدیر کل محترم شیلات استان مازندران و ریاست محترم کارگاه تکثیر و بازسازی ذخایر شهید رجایی ساری اعلام می نمایم.

منابع

۱. بازاری مقدم، س.، حقیقی، م.، شریف روحانی، م.، حمیدی، م.، قاسمی، م.، ۱۳۹۵. بررسی اثرات عصاره آلوه ورا (*Aloe vera*) بر شاخص های رشد، ترکیب لاشه و فلور باکتریایی روده تاسماهی سیری (*Acipenser baerii*). مجله علمی شیلات ایران، ۲۵(۱)، ۳۹-۵۲.
۲. شکوریان، م.، علیپور جورشری، ع.، ر.، باقرزاده لاکانی، ف.، یزدانی ساداتی، م.، ع.، حسین پور زلتی، ع.، سیدحسینی، ح.، ۱۳۹۹. اثر سطوح مختلف پروبیوتیک تجاری بومی (سوپرزیست) بر شاخص های رشد، کارایی تغذیه و بقای تاسماهی سیری (*Acipenser baerii*) جوان. نشریه توسعه آبزی پروری، ۱۴ (۴)، ۶۷-۵۵.
۳. محرابی، ز.، فیروزبخش، ف.، رحیمی، ف.، کلنگی، ح.، ۱۳۹۶. بررسی تاثیر افزودن آلوه ورا به جیره غذایی بر عملکرد رشد و برخی شاخص های خونی و سرمی ماهی قزل آلا رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در چالش با ساپروولگنیا پارازیتیکا. مجله منابع طبیعی ایران، ۷۰ (۱)، ۶۰-۶۹.

21. Kim, D.H., Austin, B., 2006. Innate immune responses in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) induced by probiotics. *Fish and Shellfish Immunology*, 21, 513–524.
22. Lee, H., Dellatore, S.M., Miller, W.M., Messersmith, P.B., 2007. Mussel-inspired surface chemistry for multifunctional coatings. *Science*, 318(5849), 426–430.
23. Li, p., Zhao, C., 2010. Antibacteria test of aqueous extract and ethanol extract of flos *loniceræ Japonica*. *China modern medicine*, 17, 48–48.
24. Mai, K., Yu, H., Duan, Q., Gisbert, E., Infante, J.L., 2005. A histological study on the development of the digestive system of *Pseudosciaenacrocea* larvae and juveniles. *Journal of Fish Biology*, 67(4), 1094–1106.
25. Mandrioli, R., Mercolini, L., Ferranti, A., Fanali, S., Raggi, M.R., 2011. Determination of aloe emodin in Aloe vera extracts and commercial formulations by HPLC with tandem UV absorption and fluorescence detection. *Food Chemistry*, 126, 387–393.
26. Merrifield, D.L., Bradley, G., Harper, G.M., Baker, R.T.M., Munn, C.B. and Davies, S.J., 2011. Assessment of the effects of vegetative and lyophilized *Pediococcus acidilactici* on growth, feed utilization, intestinal colonization and health parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum). *Aquaculture Nutrition*, 17, 73–79.
27. Mohseni, M., Ozorio, R.O.A., Pourkazemi, M., Bai S.C., 2008. Effects of dietary L-carnitine supplements on growth and body composition in beluga sturgeon (*Huso huso*) juveniles. *Journal of Applied Ichthyology*, 24, 646–649.
28. Peter, H., Sneath, A., 1986. *Bergeys manual of systematic Bacteriology*. 2, 1104–1154.
29. Rao, M. S., & Jacobson, M. (Eds.), 2006. *Developmental neurobiology*. Springer Science & Business Media.
30. Razeghi Mansour, M., Akrami, R., Ghobadi, S.H., Amani Denji, K., Ezatrahimi, N., Gharaei, A., 2012. Effect of dietary mannan oligosaccharide on growth
12. Choi, S., Chung, M., H., 2003. A review on the relationship between aloe vera components and their biologic effects. *Seminars in integrative medicine*, 53–62.
13. Fazlollahzadeh, F., Keramati, k., Nazifi, S., Shirian, S., Seifi, S., 2011. Effect of Garlic (*Allium sativum*) on Hematological Parameters and Plasma Activities of ALT and AST of *Rainbow trout* in Temperature Stress. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 5(9), 84–90.
14. Ferguson, R., Merrifield, D.L., Harper, G.M., 2010. The effect of *Pediococcus acidilacti* on the gut microbiota and immune status of on-growing red tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Applied Microbiology*, 1, 851–862.
15. Franklin, C.E., Forster, M.E., Davision, W., 1992. Plasma cortisol and osmoregulatory changes in sockeye salmon transferred to sea water: comparison between successful and unsuccessful adaptation. *Journal of fish Biology*, 41(1), 113–122.
16. Fuller, R., 1989. Probiotics in man and animal. *Journal of Applied Bacteriology*, 66, 365–378.
17. Gholipour, A., Estroff, J.A., Barnewolt, C. E., Connolly, S.A., Warfield, S.K., 2011. Fetal brain volumetry through MRI volumetric reconstruction and segmentation. *International journal of computer assisted radiology and surgery*, 6(3), 329–339.
18. Hoseinifar, S.H., Mirvaghefi, A., Merrifield, D.L., 2011. The effects of dietary inactive brewers yeast *Saccharomyces cerevisiae* var *ellipsoideus* on the growth, physiological responses and gut microbiota of juvenile beluga (*Huso huso*). *Aquaculture*, 318, 90–94.
19. Huang, C.H., Chang, R.J., Huang, S.L., Chen, W., 2003. Dietary vitamin E supplementation affects tissue lipid peroxidation of hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* × *O. aureus*. *Comparative Biochemistry Physiology*, Part B; 134, 265–270.
20. Irianto, A., Austine, B., 2002. Probiotics in aquaculture. *Journal of Fish Diseases*, 25, 633–642.

- performance, survival, body composition, and some hematological parameters in giant sturgeon juvenile. *Fish physiology and Biochemistry*, 38, 829-835.
31. Roberfroid, M.B., 1998. Prebiotics and synbiotics: concepts and nutritional properties. *British Journal of Nutrition* 80: Suppl. 2, 197-202.
 32. Saulnier, DM., Gibson, GR., Kolida, S., 2008. In vitro effects of selected synbiotics on the human faecal microbiota composition. Food Microbial Sciences Unit, Department of Food Biosciences.
 33. Stoskopf, M.K., 1993. *Fish Medicine*, W.B. Sanders, Philadelphia, USA.
 34. Vasudeva, Y., Romesh, M., Singh Chakrabarti, R., 2004. Potentiation of antibody production in Indian major carp *labeo rohita*, rohu, by *Achyranthes aspera* as a herbal feed ingredient. *Aquaculture*, 238, 67-73.
 35. Wang, C., Xu, Q.Y., Xu, H., Zhu, Q., Zheng, Q.S., Sun, D.J., 2011. Effects of aloe powder on the growth performance and plasma indices of sturgeon (*Acipenser baerii* Brandt). *Journal of Shanghai Ocean University*, 4, 123-132.
 36. Wiegertjes, G.F., Stet, R.J.M., Parmentier, H.K., Van Muiswinkel, W.B., 1996. Immunogenetics of disease resistance in fish, a comparable approach. *Development comparative Immunology*, 20, 365-371.
 37. Willis, W.L., King K, Isikhuemhen, O.S., Ibrahim, S., 2009. Administration of mushroom extract to broiler chickens for bifidobacteria enhancement and salmonella reduction. *The Journal of Applied Poultry Research*. 18, 658-664.