

اثر پروبیوتیکی مخمر ساکارومایسیس سرویزیا (*Saccharomyces cerevisiae*) و

آسپرژیلوس نایجر (*Aspergillus niger*) بر رشد و پاره‌ای از شاخص‌های ایمنی

فیل ماهیان جوان (*Huso huso*) پرورشی

احمد حسن پور فتاحی^{(۱)*}، حجت الله جعفریان^(۱)، علیرضا خسروی^(۲)، داریوش عبداللهی آرپناهی^(۱)

* a.hasanpourf@gmail.com

۱- دانشکده علوم کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس

۲- گروه قارچ شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران

تاریخ پذیرش: شهریور ۱۳۹۳

تاریخ دریافت: بهمن ۱۳۹۲

چکیده

هدف از این تحقیق، ارزیابی اثرات پروبیوتیکی مخمر ساکارومایسیس سرویزیا و آسپرژیلوس نایجر بر رشد و بازماندگی، نرخ ترشح آمونیاک، برخی از پارامترهای ایمنی و میکروبیوتای روده فیل ماهیان جوان (*Huso huso*) پرورشی بود. این پژوهش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با ۴ تیمار و ۳ تکرار انجام شد که شامل تغذیه فیل ماهیان جوان با جیره‌های غذایی حاوی 2×10^6 ، 4×10^6 و 6×10^6 سلول در گرم غذای پروبیوتیک و تیمار شاهد با جیره پایه بدون پروبیوتیک بود. فیل ماهیان با میانگین وزنی $31/8 \pm 2/81$ گرم (\pm خطای استاندارد) به صورت تصادفی در ۱۲ حوضچه فایبرگلاس ۱۰۰۰ لیتری با تراکم ۳۰ قطعه ماهی در هر تانک توزیع گشتند. پس از ۸ هفته غذادهی با جیره‌های آزمایشی در انتهای دوره، شاخص‌های رشد و زنده‌مانی، ایمنی، نرخ ترشح آمونیاک و میکروبیوتای روده‌ای بررسی شد. نتایج بدست آمده نشان داد که جیره غذایی مکمل سازی شده با 6×10^6 سلول در گرم غذا قارچ‌های پروبیوتیکی، بطور معنی‌داری شاخص‌های رشد، ایمنی، نرخ بقاء و نرخ ترشح آمونیاک را نسبت به گروه شاهد بهبود دادند. بررسی تراکم کل پروبیوتیک‌های قارچی و لاکتوباسیلوس‌های میکروبیوتای روده نیز مؤید افزایش معنی‌دار سطوح این میکروارگانیسم‌ها در روده بود. مطالعه حاضر نشان داد که افزودن ترکیبی پروبیوتیک‌های ساکارومایسیس سرویزیا و آسپرژیلوس نایجر (با غلظت 6×10^6 سلول در گرم غذا)، می‌تواند تأثیر مطلوبی بر فاکتورهای رشد و ایمنی فیل ماهیان جوان پرورشی داشته باشد.

نکات کلیدی: فیلماهی، شاخص‌های رشد، پارامترهای ایمنی، ساکارومایسیس سرویزیا، آسپرژیلوس نایجر.

*نویسنده مسئول

مقدمه

ماهیان خاویاری از جمله ماهیان ارزشمند اقتصادی هستند که امروزه به دلیل صید غیر مجاز، آلوده شدن محیط زیست و از بین رفتن زیستگاه‌های تکثیر، در معرض خطر انقراض قرار دارند (Carmona et al., 2009). لذا پرورش ماهیان خاویاری جهت تولید گوشت و خاویار و همچنین به دلیل اهمیت آن در کاهش فشار به ذخایر طبیعی مورد توجه بوده و توسعه یافته است (Pourkazemi, 1997). فیل ماهی یکی از گونه‌های ماهیان خاویاری است که بدلیل رشد سریع، سازگاری با شرایط پرورشی و ارزش خاویار آن، گزینه مناسبی برای پرورش می‌باشد (Mohseni et al., 2008) و با توجه به اینکه بخش عمده‌ای از هزینه‌های پرورشی مربوط به غذا می‌باشد، لذا بهبود وضعیت تغذیه‌ای منتج به سودمند شدن پرورش ماهیان خواهد گردید (Sudagar et al., 2008). استفاده از مکمل‌های غذایی مانند پروبیوتیک‌ها به منظور افزایش رشد و بهبود ایمنی یکی از ایده‌های مطرح می‌باشد (Hoseinifar et al., 2010). مخمر ساکارومایسس سرویزیا (*Saccharomyces cerevisiae*)، گونه مهمی از میکروارگانیسم‌های زیست‌یاری می‌باشد که بعنوان مکمل غذایی برای جانوران مختلفی استفاده شده است (Li & Gatlin, 2003; 2005). محققین مختلفی اثرات سودمند مخمر ساکارومایسس سرویزیا را بر گونه‌های مختلف ماهی و میگو گزارش کرده‌اند (Li & Gatlin, 2003). گونه دیگر پروبیوتیک مورد استفاده در این تحقیق آسپرژیلوس نایجر (*Aspergillus niger*) می‌باشد. آسپرژیلوس نایجر قارچی است که ظرفیت تولید آنزیم‌هایی مانند همی سلولاز، هیدرولاز، پکتیناز، پروتئاز، آمیلاز، لیپاز و تانناز را دارد (Mathivanan et al., 2006). همچنین محققین مختلفی اثبات کرده‌اند که آسپرژیلوس نایجر به عنوان یک محرک رشد عمل می‌کند و سبب افزایش تولید آنزیم‌های هضم کربوهیدرات و پروتئین در بدن می‌شود (Grasia et al., 2003). مطالعات متعددی نشان داده است که مخمر ساکارومایسس سرویزیا می‌تواند فاکتورهای خونی را تحت تأثیر قرار دهد و سبب افزایش ایمنی غیراختصاصی ماهی

شود که جزء شاخص‌های سلامتی ماهی به حساب می‌آیند (Andrews et al., 2011; Abdel-Tawwab et al., 2008)، این عملکرد در مورد آسپرژیلوس نایجر نیز توسط Al-Kassie و همکاران (۲۰۰۸) و Saleh و همکاران (۲۰۱۰) به اثبات رسیده است. Abdel-Tawwab و همکاران (۲۰۰۸) در نتایج تحقیقات خود، بهبود معنی‌دار شاخص‌های رشد و ایمنی ماهی تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) تغذیه شده با جیره‌های غذایی حاوی مخمر ساکارومایسس سرویزیا را گزارش کردند. نتایج مطالعات Vijayakumar و همکاران (۲۰۰۹) نیز حاکی از بهبود معنی‌دار شاخص‌های خونی و رشد پست لاروهای میگوی ببری سیاه (*Penaeus monodon*) تغذیه شده با جیره‌های غذایی حاوی آسپرژیلوس نایجر بود. با این حال، اطلاعات بسیار معدودی در زمینه اثر قارچ پروبیوتیکی آسپرژیلوس نایجر بعنوان پروبیوتیک بر عملکرد رشد و ایمنی ماهی وجود دارد. لذا هدف از تحقیق حاضر ارزیابی اثرات سطوح مختلف مخمر ساکارومایسس سرویزیا و آسپرژیلوس نایجر به صورت ترکیبی، بر شاخص‌های رشد و ایمنی، بازماندگی، نرخ ترشح آمونیاک و تراکم سطوح قارچ‌ها و لاکتوباسیلوس‌های پروبیوتیکی روده فیل ماهیان جوان به منظور افزایش زنده‌مانی و تولید طراحی شد.

مواد و روش‌ها

بدین منظور از مرکز تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید مرجانی گرگان، یک عدد مولد فیل ماهی با ظاهری سالم به طور تصادفی انتخاب شد و سپس نمونه دستگاه گوارش فیل ماهی در کنار یخ و در شرایط استریل به آزمایشگاه قارچ شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران انتقال یافت. در آزمایشگاه از مخاط روده نمونه اخذ شد و در محیط سابورو دکستروز آگار حاوی و بدون سیکلوهگزامید به روش خطی کشت داده شد و در انکوباتور با دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت هفت روز گرمخانه‌گذاری گردید. پس از آن، با بررسی خصوصیات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی کلنی‌های قارچی رشد کرده،

گردیدند. در طول دوره آزمایش فیل ماهیان روزانه به میزان ۵٪ وزن بدن در ۴ نوبت غذایی شدند (Sudagar *et al.*, 2004) (جدول ۱).

جدول ۱. تجزیه تقریبی جیره پایه (درصد از ماده خشک)

۴۳	پروتئین
۱۷	چربی
۲/۵	فیبر
۱۲	خاکستر
۱۰	رطوبت
۴۳۰۰	انرژی (کالری در گرم)

زیست سنجی فیل ماهیان جوان هر ۱۰ روز یکبار صورت پذیرفت. اندازه‌گیری وزن فیل ماهیان و وزن جیره مورد استفاده با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم و اندازه‌گیری طول با کولیس با دقت ۰/۰۱ میلی‌متر انجام شد. به‌منظور اندازه‌گیری آمونیاک ترشحی ماهیان، ابتدا تانک‌های فایبرگلاس ۲۰۰ لیتری به مدت ۲۴ ساعت هوادهی شدند. سپس ۹ عدد ماهی از هر تیمار آزمایشی (۳ عدد ماهی از هر تکرار) بعد از بیومتری، به تانک‌ها انتقال داده شدند. نمونه آب جهت برآورد آمونیاک اولیه قبل از انتقال و بعد از انتقال فیل ماهیان به تانک‌ها، برداشته شده و به آزمایشگاه آب دانشگاه گنبد کاووس انتقال یافت. براساس داده‌های بدست آمده شاخص‌های رشد و نرخ ترشح آمونیاک بصورت زیر تعیین شد: (De *et al.*, 1992; silva & Anderson., 2005; Hevroy *et al.*, 2005). نمونه‌گیری از فیل ماهیان جوان جهت آزمایش‌های خونی در انتهای دوره پرورش صورت گرفت. بیست و چهار ساعت قبل از خون‌گیری، تغذیه ماهیان قطع گردید و سپس با عصاره گل میخک به میزان ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر ماهیان را بیهوش کرده (Peik Mousavi *et al.*, 2011) و ۳۶ عدد ماهی (۳ ماهی به ازای هر تکرار) با ظاهر سالم به طور تصادفی انتخاب شدند و از ورید ساقه دمی آن‌ها خون‌گیری به عمل آمد.

و مشاهده مستقیم میکروسکوپی و کیت تشخیص و شناسایی مخمر (RapID™)، گونه‌های پروبیوتیکی مورد شناسایی قرار گرفتند (Khosravi, 2003).

پس از جداسازی قارچ‌های پروبیوتیکی و انتقال به آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشگاه گنبد کاووس، این قارچ‌ها روی محیط کشت سابوردکستروز آگار (Sabouraud Dextrose Agar: SDA) حاوی کلرامفنیکل به صورت جداگانه کشت داده شده و به مدت ۷۲ ساعت در انکوباتور با دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. پس از طی شدن مدت زمان انکوباسیون و رشد سلول‌های قارچی، از آن‌ها جداگانه به صورت سوسپانسیون تهیه شد. بدین ترتیب که ابتدا در یک میکروتیوب یک میلی‌لیتری مقدار ۵۰۰ میکرولیتر بافر فسفات سالین (Phosphate Buffered saline: PBS) با pH=۷/۲ استریل ریخته شد. سپس با آنس (سوزن کشت) استریل شده مقدار کمی از کلنی‌های رشد یافته به PBS اضافه گردید. پس از مخلوط شدن هر کدام از قارچ‌ها در بافر، با استفاده از لام نئوبار (Neubar lam) تعداد سلول‌ها در زیر میکروسکوپ نوری شمارش شد و از آن‌ها سوسپانسیون سلولی با تراکم‌های 2×10^6 ، 4×10^6 و 6×10^6 (سلول در میلی‌لیتر) به صورت ترکیبی از هر دو گونه قارچ پروبیوتیکی با نسبت یکسان، به ترتیب برای تیمار اول، دوم و سوم تهیه شد (Zhang *et al.*, 2006; 2012).

این مطالعه در کارگاه تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید مرجانی گرگان به مدت ۸ هفته انجام شد. فیل ماهیان جوان از همین کارگاه تأمین و پس از سازگاری اولیه ۳۶۰ عدد بچه فیل ماهی (df=۳۵۶) در ۱۲ حوضچه فایبرگلاس ۱۰۰۰ لیتری با میانگین (\pm خطای استاندارد) وزنی $31/8 \pm 2/81$ گرم و طولی $19/20 \pm 0/21$ سانتی‌متر ذخیره سازی شدند. این تحقیق در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تیمار ذکر شده در فوق و یک تیمار شاهد هر کدام با ۳ تکرار (هر تکرار ۳۰ عدد و هر تیمار ۹۰ عدد بچه ماهی) صورت پذیرفت. سوسپانسیون‌های پروبیوتیکی آماده سازی شده در سطوح مختلف، مطابق روش مورد استفاده توسط Chang و Liu (۲۰۰۲)، روی غذا اسپری

وزن اولیه (گرم) - وزن ثانویه (گرم) = افزایش وزن بدن (گرم)
 (وزن اولیه به گرم / (وزن اولیه به گرم - وزن نهایی به گرم)) $\times 100$ = نرخ وزن نسبی بدست آمده
 طول دوره پرورش / (لگاریتم طبیعی وزن اولیه - لگاریتم طبیعی وزن ثانویه) $\times 100$ = نرخ رشد ویژه
 افزایش وزن بدن (گرم) / مقدار غذای خورده شده (گرم) = ضریب تبدیل غذایی
 (مقدار غذای خورده شده به گرم / افزایش وزن بدن به گرم) $\times 100$ = کارایی تبدیل غذا (درصد)
 ((10^3 طول نهایی به سانتی متر) / (وزن نهایی به گرم)) $\times 100$ = فاکتور وضعیت (ضریب چاقی)
 (میانگین درجه حرارت به سانتی گراد \times زمان) / (وزن توده زنده اولیه ماهی به گرم - وزن توده زنده نهایی ماهی به گرم) = ضریب رشد حرارتی
 طول دوره آزمایشی / (وزن اولیه ماهی به توان یک سوم - وزن نهایی ماهی به توان یک سوم) $\times 100$ = ضریب رشد روزانه
 (میانگین وزن اولیه به گرم + میانگین وزن نهایی به گرم) \times طول دوره پرورش / (میانگین وزن اولیه به گرم - میانگین وزن نهایی به گرم) $\times 2$ $\times 100$
 100 = سرعت رشد وزنی
 (میانگین وزن اولیه به سانتی متر + میانگین وزن نهایی به سانتی متر) \times طول دوره / (میانگین طول اولیه به سانتی متر - میانگین طول نهایی به سانتی متر) $\times 100$ = سرعت رشد طولی
 (میانگین وزن نهایی به گرم / انحراف معیار وزن نهایی ماهیان) $\times 100$ = ضریب تغییرات وزنی
 (میانگین طول نهایی به سانتی متر / انحراف معیار طول نهایی ماهیان) $\times 100$ = ضریب تغییرات طولی
 (تعداد ماهیان اولیه / تعداد نهایی ماهیان) $\times 100$ = درصد بازماندگی
 ۶/۲۵ / (درصد پروتئین \times درصد ماده خشک \times غذای خورده شده) = نیتروژن دریافت شده (میلی گرم به کیلوگرم)
 انرژی \times ماده خشک \times وزن غذای خورده شده = انرژی دریافت شده (کیلوژول بر کیلوگرم در روز)
 (وزن ماهی موجود در هر تانک / حجم آب) \times (آمونیاک اولیه - آمونیاک نهایی) = آمونیاک مترشحه (میلی گرم بر کیلوگرم در روز)
 آمونیاک مترشحه \times (گرم / کیلوژول) = ۲۴/۰۸ = انرژی تلف شده بر اساس آمونیاک مترشحه (کیلوژول بر کیلوگرم در روز)
 (انرژی خورده شده / مجموع انرژی تلف شده بر اساس آمونیاک) $\times 100$ = انرژی کل تلف شده به دریافت شده (درصد)

باکتری‌های موجود در سطح خارجی بدن فیل ماهیان، به مدت ۶۰ ثانیه در محلول نمکی بنزالکونیوم کلراید (Benzalkonium chloride) ۰/۱ درصد شسته شده و سپس آب نمونه‌ها پس از مدتی گرفته شد (Olsen et al., 2001). پس از ضدعفونی کردن و شستشو با آب مقطر، روده آن‌ها خارج شد. نمونه‌های روده پس از تخلیه کامل محتویات، توزین و به منظور هموژن نمودن به هاون‌های چینی استریل منتقل گردید. پس از هموژن نمودن نمونه‌های روده با استفاده از محلول نمکی استریل (NaCl ۰/۸۷ w/v درصد) رقت‌های 10^{-1} تا 10^{-7} تهیه گردید. از رقت‌های تهیه شده، تحت شرایط کاملاً ضد عفونی، حجمی معادل ۰/۱ میلی‌لیتر برداشته شد و به محیط‌های کشت سابورو دکستروز آگار یا SDA (به منظور تعیین تعداد کل قارچ‌های موجود در میکروبیوتای روده) و MRS (جهت تعیین تعداد باکتری‌های اسید لاکتیک) منتقل و در سطح پلت‌ها پخش شدند (Mahious et al., 2006). پس از

از نمونه‌های خون جمع آوری شده، مقدار ۱ سی‌سی از هر ماهی برای جداسازی سرم به لوله‌های سرولوژی فاقد ماده ضد انعقاد انتقال گردید و سپس با استفاده از سانتریفیوژ به مدت ۱۰ دقیقه در دمای 20°C با دور ۵۰۰۰ دور در دقیقه سرم جدا و با سمپلر به لوله‌های کوچک تخلیه و در مجاورت یخ به آزمایشگاه انتقال داده شد (جلالی و همکاران، ۱۳۸۸). برای اندازه‌گیری شاخص‌های ایمنی در این آزمایش شامل کمپلمان‌های C_3 و C_4 با روش ارائه شده توسط (1998) Labor و ایمونوگلوبولین M (IgM) با روش تشریح شده توسط Zilva و Pannall (۱۹۸۴) اندازه‌گیری شد.

میکروبیوتای روده: به منظور بررسی تعداد قارچ‌های پروبیوتیکی و لاکتوباسیلوس‌های موجود در میکروبیوتای بومی روده فیل ماهیان، در انتهای دوره به طور تصادفی نمونه برداری از ماهیان (تعداد ۳ عدد ماهی از هر تکرار) انجام شد. پس از انتقال ماهیان به آزمایشگاه، فیل ماهیان با آب استریل شستشو داده شدند. جهت از بین بردن کامل

مشاهده شد ($P \leq 0/05$). بیشترین میانگین بازماندگی در فیل ماهیان تغذیه شده با 6×10^6 سلول در گرم غذا مشاهده شد که $97/77 \pm 2/22$ درصد بود. آنالیز آماری داده‌ها اختلاف معنی‌داری بین میانگین بازماندگی ماهیان این تیمار و گروه شاهد نشان نداد ($P > 0/05$).

نتایج بدست آمده از تأثیر پروبیوتیک‌ها بر نرخ ترشح نیتروژن دفعی در جدول ۳ ذکر شده است. میزان نیتروژن که بر اساس پروتئین خام جیره بدست آمده است و میزان انرژی دریافت شده در همه‌ی تیمارهای آزمایشی برابر است. در این مطالعه مشخص شد بیشترین مقدار آمونیاک مترشحه در گروه شاهد و کمترین آن در تیمار آزمایشی سوم بود ($P \leq 0/05$). همچنین کمترین میزان انرژی تلف شده بر اساس آمونیاک مترشحه و انرژی کل تلف شده به دریافت شده نیز در تیمار آزمایشی سوم مشاهده گردید که کاهش معنی‌داری را با گروه شاهد نشان دادند ($P \leq 0/05$). بررسی نتایج شاخص‌های ایمنی خون نیز بیانگر افزایش معنی‌دار میزان کمپلمان ۳ و ایمونوگلوبولین M در تیمارهای آزمایشی بود ($P \leq 0/05$) و بیشترین مقدار پارامترهای ایمنی در تیمار آزمایشی سوم مشاهده گردید (جدول ۴).

تعداد کل قارچ‌های پروبیوتیکی و لاکتوباسیلوس‌های میکروبیوتای روده در تمامی تیمارها طی دوره پرورش افزایش یافته و اختلاف معنی‌داری بین تیمارها و گروه شاهد مشاهده گردید ($P \leq 0/05$) و بیشترین تعداد پروبیوتیک‌های قارچی و لاکتوباسیلوس‌های شمارش گردیده، در تیمار سوم آزمایشی نمایان بود (جدول ۵). با توجه به وجود یکسان بودن شرایط در تمامی ونیروها و جریان دائم آب ورودی تفاوت چندانی بین واحدهای آزمایشی از نظر فاکتورهای کیفی آب نبود.

میانگین (\pm خطای استاندارد) اکسیژن محلول بطور متوسط در طول دوره پرورش $6/11 \pm 0/03$ میلی گرم در لیتر، دمای آب $27/84 \pm 0/16$ درجه سانتی‌گراد، pH آب $8/08 \pm 0/02$ و شوری آب $1/13 \pm 0/02$ گرم بر لیتر در نوسان بود.

انجام عمل کشت، انکوباسیون به مدت ۳ روز در انکوباتور و در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد صورت پذیرفت. پس از سپری شدن زمان انکوباسیون، قارچ‌ها و باکتری‌های موجود در هر پلیت بر حسب لگاریتم واحد کلنی در گرم وزن روده براساس مشخصات فنوتیپی شناسایی و شمارش شدند (Peter & Sneath., 1986).

تجزیه و تحلیل داده‌ها: پس از ثبت داده‌های بدست آمده از تغییرات معیارهای رشد، بقاء، فاکتورهای ایمنی سرم خون، ترشح آمونیاک و میکروبیوتای روده در انتهای دوره، همگنی آن‌ها با استفاده از Kolmogorove-Smirnove بررسی شد و از طریق واریانس یک طرفه و بر اساس آزمون LSD SPSS, 16.0 در سطح خطای ۰/۰۵، با استفاده از نرم افزار SPSS, 16.0 مورد آنالیز قرار گرفت.

نتایج

اثرات سطوح مختلف مخمر ساکارومایسس سرویزیا و اسپرژیلوس نایجر بر شاخص‌های رشد فیل ماهیان در جدول ۲ ارائه شده است. در ابتدای دوره، اختلاف معنی‌داری بین تیمارها از نظر وزن و طول وجود نداشت ($P > 0/05$). بررسی شاخص‌های رشد در انتهای دوره نشان داد افزودن سطوح مختلف قارچ‌های پروبیوتیکی به جیره فیل ماهیان بطور معنی‌داری سبب افزایش این شاخص‌ها می‌شود ($P \leq 0/05$). به‌طوریکه بچه ماهیان تغذیه شده با سطوح مختلف پروبیوتیک، بیشترین میزان افزایش رشد وزن و طول را نشان دادند. سایر شاخص‌های رشد نیز همچون نرخ رشد ویژه، شاخص وضعیت، ضریب رشد حرارتی، ضریب رشد روزانه و سرعت رشد وزنی و طولی در فیل ماهیان، بیانگر افزایش معنی‌داری این پارامترها در تیمارهای آزمایشی بود ($P \leq 0/05$). با این حال ضریب تغییرات طولی و وزنی ماهیان کاهش معنی‌داری را در تیمارهای آزمایشی نشان دادند ($P \leq 0/05$). فیل ماهیان تغذیه شده با جیره غذایی فاقد پروبیوتیک (شاهد) ضریب تبدیل غذایی بیشتر معنی‌داری نسبت به تیمارهای حاوی پروبیوتیک داشتند و بهبود معنی‌داری در تیمارهای آزمایشی نسبت به گروه شاهد

جدول ۲: مقایسه میانگین (\pm خطای استاندارد) شاخص‌های رشد فیلماهیان تغذیه شده با سطوح مختلف قارچ‌های پروبیوتیکی

شاخص‌های رشد	شاهد	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳
وزن نهایی (گرم)	۱۷۰/۵۸ \pm ۳۳/۰۳ ^c	۱۹۴/۱۱ \pm ۲۵/۱۶ ^b	۱۹۲/۲۲ \pm ۲۶/۷۵ ^b	۲۱۳/۲۵ \pm ۲۹/۳۳ ^a
طول نهایی (سانتی‌متر)	۳۴/۹ \pm ۲/۴۱ ^c	۳۶/۲۱ \pm ۱/۶۲ ^b	۳۶/۲۴ \pm ۱/۴۹ ^b	۳۶/۹۲ \pm ۱/۴۸ ^a
افزایش وزن بدن (گرم)	۱۳۹/۷۹ \pm ۳/۴۸ ^c	۱۶۲/۳۱ \pm ۲/۶۵ ^b	۱۶۰/۴۲ \pm ۲/۸۱ ^b	۱۸۱/۴۵ \pm ۳/۰۹ ^a
نرخ وزن نسبی بدست آمده	۴۳۹/۵۸ \pm ۱۰/۹۴ ^c	۵۱۰/۴۲ \pm ۸/۳۴ ^b	۵۰۴/۴۸ \pm ۸/۸۶ ^b	۵۷۰/۶۰ \pm ۹/۷۲ ^a
نرخ رشد ویژه	۲/۵۶ \pm ۰/۳۳ ^c	۲/۷۷ \pm ۰/۲ ^b	۲/۷۵ \pm ۰/۲۱ ^b	۲/۹۱ \pm ۰/۲۱ ^a
ضریب تبدیل غذایی	۱/۸۲ \pm ۰/۰۵ ^a	۱/۵۶ \pm ۰/۰۲ ^b	۱/۵۸ \pm ۰/۰۲ ^b	۱/۴۲ \pm ۰/۰۲ ^c
کارایی تبدیل غذا (درصد)	۵۷/۵۸ \pm ۱/۱۶ ^c	۶۵/۱۳ \pm ۰/۸۹ ^b	۶۴/۵۰ \pm ۰/۹۴ ^b	۷۱/۵۶ \pm ۱/۰۳ ^a
غذای خورده شده روزانه (درصد در روز)	۳/۶۷ \pm ۰/۰۶ ^a	۳/۳۳ \pm ۰/۰۲ ^b	۳/۳۶ \pm ۰/۰۱ ^b	۳/۰۷ \pm ۰/۰۱ ^c
شاخص وضعیت (ضریب چاقی)	۰/۳۹ \pm ۰/۰۳ ^b	۰/۴۰ \pm ۰/۰۴ ^b	۰/۴۰ \pm ۰/۰۴ ^b	۰/۴۲ \pm ۰/۰۳ ^a
ضریب رشد حرارتی (درصد)	۶۰/۲۱ \pm ۱/۴۹ ^c	۶۹/۹۲ \pm ۱/۱۴ ^b	۶۹/۱۰ \pm ۱/۲۱ ^b	۷۸/۱۶ \pm ۱/۳۳ ^a
ضریب رشد روزانه (درصد)	۳/۶۲ \pm ۰/۵۸ ^c	۴/۰ \pm ۰/۳۸ ^b	۳/۹۷ \pm ۰/۴۱ ^b	۴/۲۸ \pm ۰/۴۲ ^a
سرعت رشد وزنی	۸۸/۰۵ \pm ۰/۸۸ ^c	۹۲/۹۳ \pm ۰/۴۴ ^b	۹۲/۵۶ \pm ۰/۴۸ ^b	۹۵/۷۵ \pm ۰/۴۵ ^a
سرعت رشد طولی	۱۸/۶۶ \pm ۰/۲۳ ^c	۱۹/۸۱ \pm ۰/۱۳ ^b	۱۹/۸۴ \pm ۰/۱۳ ^b	۲۰/۳۹ \pm ۰/۱۲ ^a
ضریب تغییرات وزنی	۲۰/۱۵ \pm ۰/۶۸ ^a	۱۳/۲۰ \pm ۰/۲۶ ^b	۱۴/۳۰ \pm ۰/۲۶ ^b	۱۴/۱۲ \pm ۰/۲۶ ^b
ضریب تغییرات طولی	۶/۸۰ \pm ۰/۱۶ ^a	۴/۴۷ \pm ۰/۰۷ ^b	۴/۱۳ \pm ۰/۰۱ ^c	۴/۰۱ \pm ۰/۰۳ ^c
نرخ بقا (درصد)	۹۲/۲۲ \pm ۱/۱۱	۹۶/۶۶ \pm ۱/۹۲	۹۴/۴۴ \pm ۱/۱۱	۹۷/۷۷ \pm ۲/۲۲

حروف نامشابه نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها می‌باشد ($P \leq 0.05$).جدول ۳: مقایسه میانگین (\pm خطای استاندارد) نرخ ترشح آمونیاک فیلماهیان تغذیه شده با سطوح مختلف قارچ‌های پروبیوتیکی

پارامتر	شاهد	تیمار اول	تیمار دوم	تیمار سوم
نیتروژن دریافت شده (mg/kg)	۵۴۳۹	۵۴۳۹	۵۴۳۹	۵۴۳۹
انرژی دریافت شده (kj/kg/day)	۱۴۲۲	۱۴۲۲	۱۴۲۲	۱۴۲۲
آمونیاک مترشحه (mg/kg/day)	۷۸/۶۶ \pm ۰/۴۱ ^a	۷۴/۵۷ \pm ۰/۸۱ ^{bc}	۷۵/۹۱ \pm ۰/۵۲ ^b	۷۳/۶۴ \pm ۰/۶۹ ^c
انرژی تلف شده بر اساس آمونیاک مترشحه (kj/kg/day)	۱/۸۹ \pm ۰/۰۱ ^a	۱/۷۹ \pm ۰/۰۱ ^{bc}	۱/۸۲ \pm ۰/۰۱ ^b	۱/۷۷ \pm ۰/۰۱ ^c
انرژی کل تلف شده به دریافت شده (/)	۴/۴۰ \pm ۰/۰۲ ^a	۴/۱۷ \pm ۰/۰۴ ^{bc}	۴/۲۵ \pm ۰/۰۲ ^b	۴/۱۲ \pm ۰/۰۳ ^c

حروف نامشابه نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها می‌باشد ($P \leq 0.05$).جدول ۴: مقایسه میانگین (\pm خطای استاندارد) پارامترهای ایمنی سرم خون فیلماهیان جوان تغذیه شده با

سطوح مختلف قارچ‌های پروبیوتیکی

پارامتر	کمیلان ۳ (C ₃) (mg dl ⁻¹)	کمیلان ۴ (C ₄) (mg dl ⁻¹)	ایمونوگلوبولین M (IgM) (g dl ⁻¹)
شاهد	۰/۲۷ \pm ۰/۰۵ ^b	۰/۰۷ \pm ۰/۰۲	۰/۲۴ \pm ۰/۰۳ ^d
تیمار ۱	۰/۲۸ \pm ۰/۰۲ ^a	۰/۰۷ \pm ۰/۰۱	۰/۲۷ \pm ۰/۰۱ ^b
تیمار ۲	۰/۲۸ \pm ۰/۰۶ ^a	۰/۰۷ \pm ۰/۰۱	۰/۲۵ \pm ۰/۰۱ ^c
تیمار ۳	۰/۲۹ \pm ۰/۰۲ ^a	۰/۰۷ \pm ۰/۰۱	۰/۲۸ \pm ۰/۰۱ ^a

حروف نامشابه نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها می‌باشد ($P \leq 0.05$).

جدول ۵. مقایسه میانگین تعداد کل قارچ های پروبیوتیکی و سطوح لاکتوباسیلوس های شمارش شده در

میکروبیوتای روده فیل ماهیان (Log CFU/g)

پارامتر	شاهد	تیمار اول	تیمار دوم	تیمار سوم
تعداد کل قارچ های پروبیوتیکی	۳/۰۳±۰/۱۵ ^c	۵/۹۸±۰/۳۴ ^b	۵/۹۵±۰/۵۴ ^b	۶/۹۲±۰/۰۳ ^a
تعداد لاکتوباسیلوس ها	۳/۹۱±۰/۰۹ ^c	۴/۸۳±۰/۱۱ ^a	۴/۳۵±۰/۰۵ ^b	۵/۱۸±۰/۱۸ ^a

حروف نامشابه نشان دهنده اختلاف معنی دار بین میانگین ها می باشد ($P \leq 0.05$). داده های جدول شامل میانگین داده ها ± خطای استاندارد می باشد.

بحث

پروبیوتیک ها در بسیاری از موارد قادر به تاثیرگذاری بسیار بالایی بر فاکتورهای رشد در ماهیان می باشند که این تاثیرات از طریق فعالیت های متابولیکی آن ها در بدن میزبان می باشد (Verschuere et al., 2000). تاثیرات پروبیوتیک ها بر ارتقاء عملکرد رشد در آبزیان توسط محققین مختلفی گزارش شده است (Ghosh et al., 2008). در این مطالعه قارچ های اسپرژیلوس نایجر و ساکارومایسس سرویزیا به عنوان مکمل پروبیوتیکی در جیره غذایی فیل ماهیان جوان، موجب بهینه شدن و افزایش راندمان رشد شدند. نتایج حاصل از زیست سنجی فیل ماهیان نشان داد که مکمل پروبیوتیک قارچی در این تحقیق معیارهای رشد نظیر وزن و طول نهایی، نرخ وزن نسبی بدست آمده، شاخص وضعیت و نرخ رشد ویژه را در تیمارهای تحت تأثیر، به طور معنی داری افزایش داد. افزایش رشد در نتیجه استفاده از مخمر می تواند به دلیل تولید پلی آمین توسط مخمر (Peulen et al., 2002) و یا به دلیل بهبود هضم مواد مغذی جیره باشد (Wache et al., 2006). در تأیید نتایج این تحقیق، مطالعه Hoseinifar و همکاران (۲۰۱۱) نشان داد که افزودن سطوح مختلف ساکارومایسس سرویزیا به جیره بچه فیل ماهیان اثرات معنی داری بر شاخص های رشد دارد و موجب افزایش معنی داری در طول و وزن ماهیان گردید. نتایج مشابهی را Vijayakumar و همکاران (۲۰۰۹) در پست لاروهای میگوی ببری سیاه (*Penaeus monodon*) تغذیه شده با جیره غذایی حاوی اسپرژیلوس نایجر مشاهده کردند.

یکی از عوامل اقتصادی بودن پرورش آبزیان، ضریب تبدیل غذا است، چرا که علاوه بر کاهش هزینه های غذا و غذادهی، به سبب مقدار کمتر غذادهی، از آلودگی ثانویه

آب محیط پرورش و به تبع آن کاهش پارامترهای کیفی آب جلوگیری خواهد کرد (Falahatkar et al., 2006). در این مطالعه حداقل مقدار ضریب تبدیل غذایی و غذای خورده شده روزانه در تیمار آزمایشی سوم مشاهده گردید و اختلاف معنی داری را با گروه شاهد نشان داد. همسوی با نتایج این تحقیق، Abdel-Tawwab و همکاران (۲۰۰۸) مشاهده نمودند که مخمر ساکارومایسس سرویزیا در جیره تیلایپای هیبرید (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*) سبب کاهش مقدار ضریب تبدیل غذایی از ۱/۷۲ در گروه شاهد به ۱/۳۵ در تیمار با مقدار ۵ گرم مخمر در یک کیلوگرم جیره گردید.

ضریب رشد حرارتی از جمله معیارهای رشد می باشد که نشان می دهد میزان تغییرات رشد ماهی به ازای مجموع تغییرات درجه حرارت آب محیط پرورشی در طول دوره پرورش چقدر بوده است. این معیار رشد در تیمارهای آزمایشی از افزایش بسیار خوبی برخوردار بوده و اختلاف معنی داری را با گروه شاهد نشان داد. همچنین بالاترین مقدار سرعت رشد طولی و وزنی و ضریب رشد روزانه در تیمار آزمایشی سوم مشاهده گردید. ضریب تغییرات طولی و وزنی ماهیان از جمله معیارهایی هستند که نشان دهنده پراکنش وزنی و طولی جمعیت ماهی پرورش یافته می باشد که در مطالعه حاضر کاهش معنی دار این دو پارامتر در تیمارهای آزمایشی مشاهده گردید. پایین بودن این دو معیار دلیلی بر یک دست بودن جمعیت ماهی از نظر وزنی و طولی است (Ricker, 1979). در این تحقیق بکارگیری قارچ های پروبیوتیکی در جیره غذایی فیل ماهیان سبب گردید که درصد بقاء در تیمارهای آزمایشی نسبت به گروه شاهد بهبود نسبی داشته باشد. عموماً پروبیوتیک های مختلف از جمله مخمرها با ترشح بسیاری از ترکیبات خارج سلولی موجب می گردند که پاسخ ایمنی

جانور هدف نسبت به محرک‌های محیطی افزایش یافته و در نتیجه میزان مقاومت جانور هدف ارتقاء و نرخ بقاء و بازماندگی افزایش یابد (Irianto & Austin, 2002).

ماهیان نیتروژن دفعی را به شکل‌های مختلف از جمله آمونیاک، اوره، آمین‌ها و آمینواسیدها دفع می‌کنند (Wood, 1958) که سهم زیادی از این نیتروژن دفعی را آمونیاک تشکیل می‌دهد (Wood, 1993). آمونیاک برای ماهیان سمی بوده و به عنوان مهمترین عامل محدود کننده تراکم در پرورش ماهیان محسوب می‌شود (Cai & Summerfelt, 1992). لذا اندازه‌گیری آمونیاک ترشحی به عنوان شاخصی برای سنجش میزان اثر عوامل مختلف محیطی و تغذیه‌ای در متابولیسم پروتئین به کار گرفته می‌شود (Rychly & Marina, 1977). که در مطالعه حاضر، کاهش معنی‌دار میزان آمونیاک مترشحه و انرژی تلف شده بر اساس آمونیاک مترشحه در تیمارهای آزمایشی نسبت به گروه شاهد مشاهده گردید. نتایج مشابهی را Lashkarbolouki و همکاران (۲۰۱۱) در لاروهای تاس ماهی ایرانی تغذیه شده با مخمر ساکارومایسس سرویزیا مشاهده کردند. همچنین Faramarzi و همکاران (۲۰۱۲) در نتایج تحقیقات خود کاهش معنی‌دار میزان آمونیاک مترشحه لاروهای تاس ماهی ایرانی تغذیه شده با پروبیوتیک‌های باسیلوسی را گزارش کردند.

افزایش ایمنی به عنوان یک استراتژی مهم در آبی پروری مطرح می‌باشد. کمپلمان‌ها یکی از فاکتورهای ایمنی غیراختصاصی هستند که تأثیر بسزایی در پاسخ ایمنی ماهی دارند. افزایش فعالیت کمپلمان به دنبال استفاده از محرک‌های ایمنی به کرات گزارش شده است (Swain *et al.*, 2006). تغییرات کمپلمان سرم در حفاظت از سیستم ایمنی غیر اختصاصی در ماهیان بسیار مهم می‌باشد و بالا بودن سطوح C₃ و C₄ پلاسما در سلامتی ماهیان موثراست (Yano, 1992). در تحقیق حاضر بهبود معنی‌دار میزان C₃ و IgM سرم خون ماهیان تغذیه شده با پروبیوتیک نسبت به گروه شاهد مشاهده شد که با نتایج Taati و همکاران (2011) هم خوانی دارد. آنها گزارش کردند که سطوح IgM سرم خون فیل ماهیان جوان

تغذیه شده با تیمار حاوی ۱٪ پری‌بیوتیک مانان الیگوساکارید، به طور معنی‌داری بالاتر از ماهیان گروه شاهد بود. شاخص‌های خونی در ماهیان می‌تواند متأثر از مواردی چون نوع گونه پرورشی، اندازه، سن، وضعیت فیزیولوژیکی، شرایط محیطی و رژیم غذایی باشد (Brunt *et al.*, 2007). همچنین نوع پروبیوتیک، غلظت محرک مورد استفاده و روش‌های مدیریت در پرورش ماهی، فاکتورهای اساسی می‌باشند که پاسخ‌های ایمنی ماهی را تحت تأثیر قرار می‌دهند (Vollstad *et al.*, 2006). نتایج مطالعات امیری و همکاران (۲۰۱۱) نیز حاکی از بهبود معنی‌دار میزان IgM سرم خون ماهی قزل‌آلای رنگین کمان تغذیه شده با پری‌بیوتیک اینولین در مقایسه با گروه شاهد بود. لازم به ذکر است که مطالعات ایمنی شناسی تحت تأثیر پروبیوتیک در مورد ماهیان خاویاری محدود می‌باشد و بیشتر مطالعات در مورد کپور ماهیان و آزاد ماهیان صورت گرفته است (Khoshbavar-Rostami *et al.*, 2007).

نتایج بدست آمده از بررسی میکروبیوتای روده‌ای فیل ماهیان در این تحقیق، حاکی از افزایش معنی‌دار تعداد کل قارچ‌های پروبیوتیکی و لاکتوباسیلوس‌های روده به موازات افزایش سطح بکارگیری پروبیوتیک‌ها در جیره غذایی تیمارهای آزمایشی بود. احتمالاً یکی از دلایل بهبود رشد در فیل ماهیان می‌تواند افزایش تعداد لاکتوباسیلوس‌های روده‌ای به موازات افزایش سطح مخمر در نتیجه تامین مواد غذایی مورد نیاز این باکتری‌های مفید روده‌ای توسط مخمر در ماهیان تیمارهای آزمایشی باشد. در صورتی که مواد غذایی مورد نیاز برای لاکتوباسیلوس‌ها فراهم شود، آنها به سرعت رشد یافته و تعدادشان افزایش می‌یابد (Hoseinifar *et al.*, 2011) که چنین روندی در مطالعه حاضر احتمال داده می‌شود. همسوی با نتایج این تحقیق، در مطالعه Hoseinifar و همکاران (۲۰۱۱) بررسی میکروبیوتای روده فیل ماهیان تغذیه شده با مخمر ساکارومایسس سرویزیا، نشان داد که سطح باکتری‌های اسید لاکتیک روده به طور قابل توجهی افزایش یافته بود. همچنین صفابخش و همکاران (۱۳۹۲) با استناد به نتایج بدست آمده از پژوهش خود، گزارش

ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی، سال سیزدهم، شماره چهل و هفتم، صفحات ۱۰۵ تا ۱۱۵.

صفا بخش، م.ر.؛ متین فر، ع. و زمینی، ع.، ۱۳۹۲. تأثیر پربیوتیک دیواره سلولی مخمر (*Saccharomyces cerevisiae*) بر شاخص میکروفلور طبیعی دستگاه گوارش فیل ماهی انگشت قد پرورشی (*Huso huso*). مجله زیست شناسی دریا، سال پنجم، شماره هفدهم، صفحات ۸۷ تا ۹۶.

Abdel-Tawwab M., Abdel-Rahman A.M., and Ismael N.E.M., 2008. Evaluation of commercial live bakers yeast, *Saccharomyces cerevisiae* as a growth and immunity promoter for Fry Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) challenged in with *Aeromonas hydrophila*. Aquaculture, 280(1): 185-189.

Al-Kassie G.A.M., Al-jumaa Y.M.F., and Jameel Y.J., 2008. Effect of Probiotic (*Aspergillus niger*) and Prebiotic (*Taraxacum officinale*) on blood Picture and Biochemical Properties of Broiler Chicks. International Journal of Poultry Science, 7(12): 1182-1184.

Andrews S.R., Sahu N.P., Pal A.K., Mukherjee S.C., and Kumar S., 2011. Yeast extract, brewer's yeast and spirulina in diets for *Labeo rohita* fingerlings affect haemato immunological responses and survival following *Aeromonas hydrophila* challenge. Research in Veterinary Science, 91(1): 103-109.

Brunt J., Newaj-Fyzul A., and Austin B., 2007. The development of probiotics for

کردند که پربیوتیک دیواره سلولی مخمر ساکارومایسس سرویزیا می‌تواند باعث بهبود میکروفلور روده فیل ماهیان انگشت قد پرورشی شود.

در مجموع نتایج مطالعه حاضر حاکی از آن است که استفاده از قارچ‌های پربیوتیکی ساکارومایسس سرویزیا و اسپرژیلوس نایجر در سطوح مورد مطالعه، قابلیت تأثیر گذاری بالایی بر ارتقاء عملکرد رشد و برخی از شاخص‌های ایمنی سرم فیل ماهیان جوان پرورشی را دارند و این پربیوتیک‌ها می‌توانند به صورت ترکیبی، به عنوان متعادل کننده فلور میکروبی روده، مکمل مناسبی برای جیره غذایی فیل ماهیان باشند.

تشکر و قدردانی

مؤلفین برخورد لازم می‌دانند که از مدیریت و کارکنان محترم مرکز تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید مرجانی آق‌قلا (گرگان) بویژه مهندس مخدومی و قمصری به جهت فراهم آوردن تسهیلات لازم در اجرای طرح سپاسگزاری نمایند. همچنین از کارشناسان محترم مرکز تحقیقات قارچ شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، مهندس بلال، دکتر واحدی و دکتر شریف زاده به خاطر مساعدت در اجرای طرح و کلیه عزیزانی که در مسیر انجام این پروژه از مساعدت آن‌ها برخوردار بودیم تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

امیری، م.؛ یوسفیان، م.؛ یاوری، و.؛ صفری، ر. و قیاسی، م.، ۱۳۹۰. بررسی تأثیر پربیوتیک اینولین بر فاکتورهای سیستم ایمنی و مقاومت ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum, 1972) در برابر باکتری بیماری‌زای استرپتوکوک. مجله زیست شناسی ایران، سال دوم، شماره بیست و چهارم، صفحات ۳۰۳ تا ۳۱۲.

جلالی حاجی‌آبادی، م.ع.؛ صادقی، ع.ا.؛ محبوبی صوفیانی، ن.؛ چمنی، م. و ریاضی، غ.، ۱۳۸۸. اثر مکمل ال کارنیتین بر فراسنجه‌های خونی و رشد

- the control of multiple bacterial diseases of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Fish Disease*, 30: 573-579.
- Cai Y.J., and Summerfelt R.C., 1992.** Effects of temperature and size on oxygen consumption and ammonia excretion in walleye. *Aquaculture*, 104: 127-138.
- Carmona R., Domezain A., Garcia-Gallego M., Antonio Hernando J., Rodriguez F., and Ruiz-Rejon M., 2009.** Biology, conservation and sustainable development of sturgeons. Springer Publication, 467 P.
- Chang C.I.W. and Liu W.Y., 2002.** An evaluation of two bacterial strains, *Enterococcus faecium* SF68 and *Bacillus toyoi*, for reducing *Edwardsiella ictaluri* in cultured European eel, *Anguilla anguilla* L. *Journal of Fish Diseases*, 25: 311-315.
- De Silva S.S., and Anderson T.A., 1995.** Fish nutrition in aquaculture. Chapman and Hall, London. 319 P.
- Falahatkar B., Soltani M., Abtahi B., Kalbassi M.R., Pourkazemi M., and Yasemi M., 2006.** Effect of vitamin C on some growth parameters, survival and hepatosomatic index in juvenile cultured beluga (*Huso huso*). *Pajouheshva-Sazandegi*, 72: 98-103.
- Faramarzi M., Jafaryan H., Rozbehfar R., Jafari M., and Biria M., 2012.** Influences of Probiotic Bacilli on Ammonia and Urea Excretion in Two Conditions of Starvation and Satiation in Persian Sturgeon (*Acipenser persicus*) Larvae. *Global Veterinaria*, 8: 185-189.
- Ghosh S., Sinha A., and Sahu C., 2008.** Dietary probiotic supplementation in growth and health of live-bearing ornamental fishes. *Aquaculture Nutrition*, 14(4): 289-299.
- Gracia M.I., Aranibar M.J., Lazaro R., Medel P., and Mateos G.G., 2003.** A-Amylase supplementation of broiler diets based on corn. *Poultry Science*, 82: 436-442.
- Hevroy E.M., Espe M., Waagbo R., Sandness K., Rund M., and Hemre G.I 2005.** Nutrition utilization in atlantic salmon (*Salmo salar*) fed increased level of fish protein hydrolysate during a period of fast growth. *Aquaculture Nutrition*, 11: 301-313.
- Hoseinifar S.H., Mirvaghefi A.R., Mojazi Amiri B., Khoshbavar Rostami H.A., Poor Amini M., and Darvish Bastami K., 2011.** The probiotic effects of dietary inactive yeast *Saccharomyces cerevisiae* var. ellipsoideus on growth factors, survival, body composition and intestinal microbiota of juvenile Beluga (*Huso huso*), *Iranian Scientific Fisheries Journal*, 19(4): 55-66.
- Hosseiniifar S.H., Zare P., and Merrifield D.L., 2010.** The effects of inulin on growth factors and survival of the Indian white shrimp larvae and post-

- larvae (*Fenneropenaeus indicus*).
Aquaculture Research, 41(9): 348-352.
- Irianto A., and Austin B., 2002.** Probiotic in aquaculture, Journal of Fish Diseases, 25: 1-10.
- Khosbavar-Rostami H.A., Soltani M., and Hassan H.M.D., 2007.** Immune responses of great sturgeon *Huso huso* to *Aeromonas hydrophila* bacterin. Journal of Fish Biology, 70: 1931-1938.
- Khosravi A., 2003.** Medical Mycology, University Jihad Organization Publications of Tehran, 400 P.
- Labor T., 1998.** In Clinical Laboratory Diagnostics, use and assessment of Clinical Laboratory Results, Edition, 696 P.
- Lashkarbolouki M., Jafaryan H., Faramarzi M., Zabihi A., and Adineh H., 2011.** The effect of feeding with *Saccharomyces cerevisiae* extract (Amax) on ammonia and urea excretion in Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) larvae by bioenrichment of *Daphnia magna*. Journal of Research in Biology, 2: 110-115.
- Li P., and Gatlin III D.M., 2003.** Evaluation of brewer's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) as a feed supplement for hybrid striped bass (*Morone chrysops* × *M. saxatilis*). Aquaculture, 219: 681-692.
- Li P., and Gatlin III D.M., 2005.** Evaluation of the prebiotic Grobiotic-A and brewer's yeast as dietary supplements for sub-adult hybrid striped bass (*Morone chrysops* × *M. saxatilis*). Aquaculture, 248: 197-205.
- Mahious A.S., Gatesoupe F.J., Hervi M., Metailler R., and Ollevier F., 2006.** Effect of dietary inulin and oligosaccharides as prebiotics for weaning turbot, *Psetta maxima*. Aquaculture International, 14: 219-229.
- Mathivanan R., Selvaraj P., and Nanjappan K., 2006.** Feeding of fermented soybean meal on broiler performance. International Journal Poultry Science, 5: 868-872.
- Mohseni M., Ozorio R.O.A., Pourkazemi M., and Bai S.C., 2008.** Effects of dietary Lcarnitine supplements on growth and body in beluga sturgeon (*Huso huso*) juveniles. Journal of Applied Ichthyology, 24(6): 646-649.
- Olsen R.E., Myklebust R., Kryvi H., Mayhew T.M., and Ringo E., 2001.** Damaging effect of dietary inulin on intestinal enterocytes in Arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.). Aquaculture Research, 32: 931-934.
- Peik Mousavi M., Bahmani M., Savari A., Mohseni M., and Haghi N., 2011.** Consider of different levels of methionine amino acid on growth indices and whole body composition of Juveniles *Huso huso* (Bluga). Veterinary Research, 89: 12-19.
- Peter H., and Sneath A., 1986.** Bergeys manual of systematic Bacteriology, 2: 1104-1154.

- Peulen O., Deloyer P., and Dandrifosse G., 2002.** Maturation of intestinal digestive and immune systems by food polyamines. In: Zabielski R, Gregory PS, & Westrom B (eds.), *Biology of the intestine in growing animals*, Elsevier, Amsterdam. 1: 145-167.
- Pourkazemi M., 1997.** The survey status of sturgeon fishes and their conservation in the Caspian Sea. *Iranian Journal of Fisheries Science*, 3: 13-22.
- Ricker W.E., 1979.** Growth rate and models. In: Hoar WH, Randall DL, Brett IR (Eds.), and *Fish Physiology*, Vol. VIII. Academic press. Orlando, Fl. Pp: 677-737.
- Rychly J., and Marina A.B., 1977.** The ammonia excretion of trout during a 24-hour period. *Aquaculture*, 11: 173-178.
- Saleh A.A., Eid Y.Z., Ebeid T.A., Amber k., Badawi N., and Hayashi K., 2010.** Effect of *Aspergillus niger* on broilers performance. *Egypt Poultry Science*, 30(4): 1017-1029.
- Sudagar M., Gafari Shamushaki V., Hosseini S.A., Gorgin S., and Aghili k., 2008.** Effect of Amino acids Aspartic and Alanine as a feed attractant affecting growth and feed conversion of juvenile beluga (*Huso huso* Linnaeus 1758). *Journal of Agriculture Science and Natural Resources*, 15(1): 44-53.
- Sudagar M., Imanpoor M., and Hoseinifar S.H., 2004.** Effect of optimum (Ascogen or Vannagen) growth stimulant supplementation on the growth and survival rate of grand beluga juvenile (*Huso huso*). *Iran Journal of Marine Science*, 3: 33-38.
- Swain P.S., Dash P.K., Sahoo P., Routray S.K., Sahoo S.D., Gupta P.K., and Meher N., 2006.** Nonspecific immune parameters of brood Indian major carp *Labeo rohita* and their seasonal variations. *Fish and Shellfish Immunology*, 22: 38-43.
- Taati R., Soltani M., Bahmani M., and Zamini A.A., 2011.** Growth performance, carcass composition immunophysiological indices in juvenile great sturgeon (*Huso huso*) fed on commercial prebiotic, *Immunoster*. *Iranian Journal of Fisheries Science*, 10: 324-335.
- Verschuere L., Rombaut G., Sorgeloos P., and Verstraete W., 2000.** Probiotic bacteria as Biological Control Agents in Aquaculture. *Microbiology and Molecular Biology Reviews Applied microbiology*, 64: 655-671.
- Vijayakumar M., Hoseph I., and Paulraj R., 2009.** Efficacy of fermented product as fishmeal replacement in the diet of *Penaeus monodon* Fabricius post-larvae. *Indian Journal of Fish*, 56(2): 115-121.
- Vollstad D., Bogwald J., Gaserod O., and Ra D., 2006.** Influence of high-M alginate on the growth and survival of Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) and spotted wolffish (*Anarhichas minor*) fry. *Fish and Shellfish Immunology*, 20:

- 548-561.
- Wache Y., Auffray F., Gatesoupe F.J., Zambonino J., Gayet V., Labbe L., and Quentel C., 2006.** Cross effects of the strain of dietary *Saccharomyces cerevisiae* and rearing conditions on the onset of intestinal microbiota and digestive enzymes in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, fry. *Aquaculture*, 258: 470-478.
- Wood C.M., 1993.** Ammonia and urea metabolism and excretion. In: Evans DH (ed.), *Physiology of Fishes*, CRC Press, Boca Raton, Pp: 379-425.
- Wood J.D., 1958.** Nitrogen excretion in some marine teleosts. *Can. Journal of Biochem Physiology*, 36: 1237-1242.
- Yano T., 1992.** Assays of hemolytic complement activity. In: Stolen SJ, Fletcher TC, Anderson DP, Kaattari SL, & Rowley AF (Eds), *Techniques in Fish Immunology*, SOS Publications, Fair Haven, NJ, Pp. 131-141.
- Zhang H., Chen F., Wang X., and Yao H.Y., 2006.** Evaluation of antioxidant activity of parsley (*Petroselinum crispum*) essential oil and identification of its antioxidant constituents. *Food Research*, 39(8): 833-839.
- Zhang X., Cao F., Sun Zh., Yu W., Zhao L., Wang G., and Wangd T., 2012.** Effect of feeding *Aspergillus niger*-fermented Ginkgo biloba-leaves on growth, small intestinal structure and function of broiler chicks. *Livestock Science*, 147: 170-180.
- Zilva J.F., and pannall P.R., 1984.** *Clinical chemistry in diagnosis and treatment*. Publ. Lloyd-Luke. Medical books. Ltd. London. Pp. 348-352.

The probiotic effects of dietary *Saccharomyces cerevisiae* and *Aspergillus niger* on the growth and some immunity factors of cultured juvenile beluga sturgeon (*Huso huso*)

Hasanpour Fattahi A. ^{(1)*}, Jafaryan H. ⁽¹⁾, Khosravi A. ⁽²⁾,
Abdollahi Arpanahi D. ⁽¹⁾

* a.hasanpourf@gmail.com

- 1) Faculty of natural resource, Gonbad Kavous University
2) Faculty of Veterinary, University of Tehran

Key words: *Huso huso*, Growth indicators, immunity parameters, *Saccharomyces cerevisiae*, *Aspergillus niger*

Abstract

This study was conducted to evaluate the effects of dietary autochthonous *Saccharomyces cerevisiae* and *Aspergillus niger* on the growth performance, survival rate, ammonia excretion, immune response and the intestinal microbiota of juvenile beluga sturgeon (*Huso huso*). Beluga juveniles with average (\pm SD) weight of 31.8 ± 2.81 g were randomly allocated into 12 oval tanks (1000 l) at a density of 30 fish per tank and triplicate groups and were fed either with a basal control diet (no supplemented with probiotic) or with the basal diet supplemented with *S. cerevisiae* and *A. niger* (2×10^6 , 4×10^6 and 6×10^6 cells g^{-1}). After 8 weeks of feeding on the experimental diets, growth factors, survival rate, ammonia excretion, immunity parameters and gut microbiota were measured. The results indicated that dietary supplementation of 6×10^6 (cells g^{-1}) *S. cerevisiae* and *A. niger* significantly improved growth indicators, survival rate, immune parameters and ammonia excretion compared to the control treatment. Additionally, total autochthonous intestinal fungus probiotic and *Lactobacillus* spp. counts were affected by dietary treatment. The results showed that dietary supplementation of *S. cerevisiae* and *A. niger* (6×10^6 cells g^{-1}) had positive effects on growth and immunity factors in cultured juveniles beluga.

*Corresponding author