مقاله کامل علمی- پژوهشی

بهره‌برداری و پرورش آبزیان
جلد دهم، شماره دوم، تابستان ۱۴۰۰
۲۳-۴۱
http://japu.gau.ac.ir
DOI: 10.22069/japu.2021.19241.1592

تأثیر پروبیوتیک تپاکس آبزیان (AQUALASE) بر رشد، بقاء و فاکتورهای خونی ماهی بنی (*Mesopotamichthys sharpeyi*)

علی ناصری[۱]، مژگان خدادادی*[۲] و مهران جواهری بابلی[۲]

[۱]دانشجوی کارشناسی‌ارشد، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران،
[۲]دانشیار گروه شیلات، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۳/۲۸؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۵/۲۱

چکیده

مخمرها منبع پروتئین و متشکل از مجموع گروه‌های ویتامین B هستند و این گروه به‌طور موفقیت‌آمیزی به‌عنوان مکمل در جیره ماهیان به‌کار می‌روند. ازاین‌رو، هدف از این پژوهش ارزیابی اثرات پروبیوتیکی تپاکس آبزیان، بر روی رشد، بازماندگی، پارامترهای خونی و ایمنی در ماهی بنی (*Mesopotamichthys sharpeyi*) بود. این پژوهش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با ٤ تیمار و ۳ تکرار در تابستان ۱۳۹۵ و در مرکز تحقیقات تکثیر و پرورش آبزیان دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز انجام شد که شامل تغذیه ماهیان بنی با جیره‌های غذایی حاوی صفر (تیمار شاهد)، ۰/۰۵ (تیمار ۱)، ۰/۱ (تیمار ۲)، ۰/۱۵ (تیمار ۳) درصد پروبیوتیک بود. ماهیان بنی با میانگین وزن ۰/۹۵±۱۶/۲۲ گرم به‌صورت تصادفی در ۱۲ تانک ۳۰۰ لیتری با تراکم ۳۰ ماهی در هر تانک توزیع شدند. پس از ٦۰ روز غذادهی با جیره‌های آزمایشی در انتهای دوره شاخص‌های رشد و زنده‌مانی و شاخص‌های خونی بررسی شدند. نتایج به‌دست آمده نشان داد که این پروبیوتیک به‌طور معنی‌داری شاخص‌های رشدی مانند وزن (بالاترین میزان ۲٤/۳۷)، ضریب رشد ویژه (بالاترین میزان ۱/٤۹)، ضریب تبدیل غذایی (بالاترین میزان ۱/۲۹)، نسبت بازده غذایی (بالاترین میزان ۰/۷۷)، نسبت بازده پروتئین (بالاترین میزان ۲/۱٦) و ضریب رشد روزانه (۲/۲ بالاترین میزان) را بهبود داده و بهترین عملکرد را در تیمار ۳ با ۱/۵ درصد پروبیوتیک نشان داد. در مورد شاخص‌های خونی هموگلوبین (۱۲/٤۲ g/dl)، MCH (۱/۷۷ 10^{-1} μm^3) و MCHC (۷/۰۷ 10^{-1} μm^3) در تیمار ۳ تحت‌تأثیر پروبیوتیک مورد بررسی افزایش نشان دادند. با توجه به تأثیر مثبت پروبیوتیک تپاکس آبزیان بر روی شاخص‌های رشدی و نیز بر هموگلوبین خون ماهی بنی، می‌توان نتیجه گرفت این پروبیوتیک می‌تواند به‌عنوان یک بهبوددهنده رشد (به‌خصوص در دوز ۱/۵ درصد) در پرورش ماهی بنی استفاده شود.

واژه‌های کلیدی: بقا، پروبیوتیک تپاکس آبزیان، رشد، فاکتورهای خونی، ماهی بنی

* مسئول مکاتبه: mjkhodadadi@gmail.com

مقدمه

ماهی بنی با نام علمی (*Mesopotamichthys sharpeyi*) از خانواده کپور ماهیان و جزء ماهیان تجاری تالاب‌های استان خوزستان می‌باشد که به‌دلیل رشد نسبتاً مناسب، تحمل شرایط نامساعد محیطی و ارزش اقتصادی بالای آن برای پرورش در بین ماهیان بومی از اهمیت زیادی برخوردار است و دارای طعم لذیذی می‌باشد. ماهی بنی دارای بدنی کشیده و دوکی‌شکل بوده و از دو طرف نسبتاً پهن شده است و فاقد سبیلک و باله چربی می‌باشد (احمدی و همکاران، ۲۰۱٤).

بیش‌ترین تلاش‌ها جهت آبزی‌پروری پایدار، در ارتباط با استراتژی‌های تغذیه‌ای و بهینه‌سازی ترکیبات غذایی برای گونه‌های مهم ماهیان تجاری قابل پرورش می‌باشد. مطالعاتی در جهت افزایش کارایی ترکیبات مغذی مانند پروتئین، چربی و افزایش قابلیت هضم آن‌ها انجام شده است (گفارت و همکاران، ۲۰۲۰). بهبود وضعیت تغذیه‌ای می‌تواند باعث سازگاری اکولوژیک، رشد بهتر و کاهش تلفات سنگین پرورش آبزیان گردد که در نهایت منجر به سودمند شدن پرورش ماهیان خواهد شد (سمپن تامیت و همکاران، ۲۰۲۰). استفاده از مکمل‌های غذایی مانند پروبیوتیک‌ها به‌منظور افزایش رشد و کارایی مصرف جیره یکی از ایده‌های مطرح‌شده در آبزی‌پروری تجاری می‌باشد (حسینی‌فر و همکاران، ۲۰۱۱). پروبیوتیک‌ها به‌عنوان بخش غیرقابل‌هضم جیره غذایی هستند که تأثیرات مثبتی بر روی رشد و یا سلامتی ماهیان گذاشته و نتایج مثبتی از خود در جیره غذایی آبزیان نشان داده‌اند (کنیپ و همکاران، ۲۰۲۱). پروبیوتیک‌ها با تولید ویتامین‌ها، ترکیبات مسمومیت‌زدا در جیره غذایی و تجزیه ذرات غیرقابل‌هضم موجب تحریک اشتها و بهبود تغذیه در میزبان می‌گردند (آمنیجوب و همکاران، ۲۰۲۰). عملکرد مخمر اضافه‌شده به جیره غذایی به نوع سویه آن بستگی داشته و روی بازماندگی، رشد و سازش با شرایط محیطی در ماهیان مؤثر است (پاک‌بین و همکاران، ۲۰۲۱).

تپاکس، سلول‌های مخمر تحت کنترل درآمده، غیرفعال و پوشش‌دار ساکارومایسیس سروایسیه (*Saccharomyces cerevisiae*) است که حاوی برخی مواد معدنی، اسیدهای آمینه و ویتامین‌های گروه B می‌باشد (کوم پریچ توا، ۲۰۰۰). تکثیر میکروارگانیسم‌های مفید روده به‌ویژه لاکتوباسیل‌ها در معرض مخمر ساکارومیس سروایسیه تحریک می‌شود. لاکتوباسیل‌ها با تولید اسیدلاکتیک سبب کاهش pH محتویات دستگاه گوارش و مانع استقرار باکتری‌های بیماری‌زا می‌گردند (ویلیامز و همکاران، ۲۰۰۱؛ آهیر و همکاران، ۲۰۲۱). مطالعات متعددی بر روی این مخمر و تأثیرات آن بر روی رشد، ایمنی و پارامترهای خونی انجام گرفته است. ازجمله می‌توان به مطالعات ابول رحمان و احمد (۲۰۱۵)، تأثیر پروبیوتیک‌های *Saccharomyces cerevisiae* و *Fructooligosaccharidefos* و ترکیب هر دو پروبیوتیک در کپور معمولی، مطالعه اعتصام‌پور و همکاران (۲۰۱٤)، بررسی پارامترهای خونی در قزل‌آلای رنگین‌کمان تحت تیمار *Saccharomyces cerevisia*، مطالعه کفیل‌زاده و همکاران (۲۰۱۳)، تأثیر مخمر *Saccharomyces cerevisiae* بر روی پارامترهای رشد *Astronotus ocellatus* و بررسی حسن‌پور فتاحی و همکاران (۱۳۹۳)، اثر پروبیوتیکی مخمر ساکارومایسس سرویزیا (*Saccharomyces cerevisiae*) و آسپرژیلوس نایجر (*Aspergillus niger*) بر رشد فیل‌ماهی Huso *huso* اشاره نمود. اثر سطوح مختلف پروبیوتیک تجاری بومی (سوپرزیست) بر شاخص‌های رشد، کارایی تغذیه و بقای تاسماهی سیبری (*Acipenser baerii*) جوان، اثر پروبیوتیک باسیلاکت بر عملکرد رشد و بهره‌وری

غذایی، بازماندگی و ترکیب لاشه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان و تأثیر پروبیوتیک بومی بر برخی از شاخص‌های رشد، خون و ایمنی بچه فیل‌ماهی (*Huso huso*) پرورشی (یگانه و همکاران، ۱٤۰۰) نیز از دیگر مطالعات جدید در سال‌های اخیر در زمینه پروبیوتیک‌ها می‌باشند.

هدف از این مطالعه، ارزیابی پتانسیل پروبیوتیک تپاکس آبزیان، حاوی دیواره سلولی مخمر *Saccharomyces cerevisiae*، بر کارایی تغذیه، آنزیم‌های سرم خون و شاخص‌های خونی در ماهی بنی بوده است.

مواد و روش‌ها

این بررسی در تابستان ۱۳۹۵ و به مدت ٦۷ روز (هفت روز تغذیه با جیره پایه جهت سازگاری و شصت روز تغذیه با جیره حاوی پروبیوتیک) در مرکز تحقیقات تکثیر و پرورش آبزیان دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز اجراشده است. در این پژوهش از ۱۲ عدد تانک پلاستیکی ۳۰۰ لیتری استفاده شد. در هر تانک ۳۰ عدد ماهی بنی با وزن اولیه ۰/۹۵±۱٦/۲۲ گرم (خریداری‌شده از شرکت آبزی کارون) و درمجموع در ۱۲ تانک ۳٦۰ ماهی قرار داده شد. ۳ تانک به‌عنوان تانک‌های شاهد در نظر گرفته شد. میانگین دمای آب در استخرهای پرورشی معادل ۱/۷۸±۲۵ درجه سانتی‌گراد، تعویض آب به‌صورت یک روز در میان انجام شد (دفاعی و همکاران، ۱۳۹۵). هوادهی از طریق موتور برق و کانال‌کشی جهت انتقال هوا به داخل تانک‌ها انجام شد.

به‌منظور آماده‌سازی جیره مخصوص هر یک از تیمارها، اجزای جیره (خریداری‌شده از شرکت خوراک آبزیان جنوب) مربوطه به کمک ترازوی دیجیتالی وزن شدند که پس از وزن کردن اجزای جیره (جدول ۱)، هر تیمار به‌صورت جداگانه، باهم مخلوط گردید و با کمک همزن برقی و به همره روغن ماهی و آب خمیر مناسب تهیه شد. سپس خمیر به کمک چرخ‌گوشت پارس خزر، با قطر شبکه خروجی ۲ میلی‌متر به‌صورت رشته درآمد. این پلت پس از پهن شدن بر روی تورهای آلومینومی در سایه‌خشک شد. غذاهای خشک‌شده پس از خرد شدن با دست، درون ظروف پلاستیکی مخصوص نگهداری جیره ماهی ریخته شده و در محیطی خشک و خنک نگهداری شدند (روفچائی و همکاران، ۲۰۱۲).

برای تهیه جیره‌هایی با سطوح مختلف پروبیوتیک، مقادیر ۰/۰۵ درصد، ۰/۱ درصد و ۰/۱۵ درصد پروبیوتیک از پروبیوتیک AQUALASE (تپاکس آبزیان)، خریداری‌شده از شرکت داروسازی دکتر مریدی استفاده شد. هم‌چنین یک جیره بدون پروبیوتیک به‌عنوان جیره شاهد در نظر گرفته شد. در جدول ۳ آنالیز غذای مصرفی نشان داده شده است (عاشوریان و همکاران، ۲۰۱۱). برحسب نوع جیره آزمایشی سطوح مختلف پروبیوتیک به‌صورت پودر به جیره اضافه و همراه سایر مواد خمیر شد. در پایان پلت‌های آماده‌شده تا زمان استفاده در یخچال نگهداری شدند. هر گرم از پروبیوتیک تپاکس دارای حداقل ۱۰ بیلیون کلنی فعال از مخمر ساکارومایس سرویسیه است (اطلاعات کارخانه سازنده). اطلاعات ترکیبات مغذی موجود در عصاره مخمر (*Saccharomyces cerevisiae*) در جدول ۲ آورده شده است. در این پژوهش میزان دفعات تغذیه در چهار نوبت و در ساعت‌های ۷، ۱۱، ۱۵ و ۱۹ بود (قبادی و همکاران، ۲۰۱٤). میزان غذادهی بر اساس وزن بدن ماهی بنی انجام شد.

جدول ۱- آنالیز جیره ساخته‌شده در چهار تیمار آزمایشی.

مواد	تیمار شاهد (صفر درصد)	تیمار اول (۰/۰۵ درصد)	تیمار دوم (۰/۱ درصد)	تیمار سوم (۰/۱۵ درصد)
آرد ماهی	۲۵ درصد	۲۵ درصد	۲۵ درصد	۲۵ درصد
آرد سویا	٤۰ درصد	۳۹/۹۵ درصد	۳۹/۹ درصد	۳۹/۸۵ درصد
آرد گندم	۲۰ درصد	۲۰ درصد	۲۰ درصد	۲۰ درصد
روغن ماهی	۸ درصد	۸ درصد	۸ درصد	۸ درصد
پروبیوتیک	۰ درصد	۰/۰۵ درصد	۰/۱ درصد	۰/۱۵ درصد
ملاس	٤ درصد	٤ درصد	٤ درصد	٤ درصد
پرمیکس ویتامین	۱/۵ درصد	۱/۵ درصد	۱/۵ درصد	۱/۵ درصد
پرمیکس مواد معدنی	۱/۵ درصد	۱/۵ درصد	۱/۵ درصد	۱/۵ درصد
پروتئین	۳۵/۷۸	۳۵/۷۸	۳۵/۷۸	۳۵/۷۷
چربی	۱۳/۳٦	۱۳/۳۳	۱۳/۳۳	۱۳/۳۰
انرژی (کیلوکالری/کیلوگرم)	۳٦۸۹/۹	۳٦۸۹	۳٦۸۸/٦	۳٦۸۸/۲

جدول ۳- ترکیبات مغذی موجود در عصاره مخمر (*Saccharomyces cerevisiae*) بر اساس ماده خشک.

مواد مغذی	مقدار (برحسب درصد)
پروتئین خام	۲۵/۷۷
چربی خام	۲/۳٤
خاکستر	۳۰/۵۵
نشاسته	۱۰/٤٤
فیبر خام	۱۲/۳۳
کلسیم	۰/۱۳
فسفر	۰/٦٤

به‌منظور بررسی میزان رشد بچه‌ماهیان، ۳ بار در طول دوره ٦۰ روزه (روز صفر، ۳۰ و ٦۰) زیست‌سنجی بچه‌ماهی‌ها انجام شد. در هر مرحله برای بیهوشی از پودر گل میخک به میزان ppm ۱۵۰-۳۰۰ استفاده شد (عالیشاهی و همکاران، ۲۰۱۲). بدین‌ترتیب که ٦ نمونه بچه‌ماهی از هر یک از تانک‌ها به‌صورت تصادفی صیدشده و طول آن‌ها با استفاده از تخته زیست‌سنجی و وزن با استفاده از ترازو با دقت یک گرم تعیین گردید. سپس متوسط وزنی و طولی بچه‌ماهیان هر تکرار محاسبه و ثبت شد. شاخص‌های رشد تیمارهای آزمایشی در روزهای صفر و ٦۰ بر اساس رابطه‌های زیر اندازه‌گیری شدند. ضریب رشد ویژه (Specific Growth Ratio)، افزایش رشد روزانه را به درصد بیان نموده و نشان می‌دهد که در

طول دوره آزمایش، ماهی‌های هر تیمار به‌طور متوسط چند درصد اضافه رشد روزانه داشته‌اند.

ضریب رشد ویژه به کمک رابطه ۱ محاسبه شد (بگنال، ۱۹۷۸):

(۱) دوره پرورش به‌روز / (لگاریتم وزن اولیه-لگاریتم وزن ثانویه)۱۰۰=SGR

ضریب تبدیل غذایی (Feed Conversation Ratio)، مقدار غذای مصرف‌شده که صرف افزایش وزن ماهی

شده است را نشان می‌دهد و از رابطه ۲ محاسبه‌شده است (بگنال، ۱۹۷۸):

(۲) افزایش وزن بدن به گرم / مقدار غذای خورده شده به گرم = FCR

ضریب چاقی یا فاکتور وضعیت (Condition factor)، نشان‌دهنده شرایط زیستی آبزی و چاق و لاغر بودن ماهی در طول دوره و در انتهای دوره

می‌باشد. برای محاسبه این شاخص نیاز است تا وزن کل و طول کل نمونه‌ها محاسبه شود. فاکتور وضعیت با استفاده از رابطه ۳ محاسبه شد (بگنال، ۱۹۷۸):

(۳) $CF = [$وزن ماهی برحسب گرم$]$ / $($طول کل ماهی برحسب سانتی‌متر$)^3] \times ۱۰۰$

نسبت بازده غذایی (Food Efficiency Ratio) شاخصی است که در آن نسبت غذای مصرفی به

افزایش وزن بدن مشخص می‌گردد. این شاخص به کمک رابطه ٤ محاسبه گردید (بگنال، ۱۹۷۸):

(٤) مقدار غذای خورده شده به گرم / افزایش وزن بدن به گرم= FER

نسبت بازده پروتئینی (Protein Efficiency Ratio) شاخصی است که در آن نسبت افزایش وزن بدن به‌میزان پروتئین مصرفی در غذا مشخص می‌گردد. این

شاخص به کمک رابطه ۵ محاسبه گردیده است (بگنال، ۱۹۷۸):

(۵) مقدار پروتئین مصرفی به گرم / افزایش وزن بدن به گرم = PER

درصد میزان بقاء (Survival rate) یا بازمانی

ماهیان از رابطه ٦ محاسبه شد (بگنال، ۱۹۷۸):

(٦) درصد میزان بقاء= تعداد ماهیان زنده مانده / تعداد ماهیان اولیه × ۱۰۰

میزان افزایش وزن روزانه (DGR)، در پایان هر دوره زیست‌سنجی توسط توزین بچه‌ماهی‌ها، در ابتدا

و انتهای دوره پرورش صورت گرفت و به کمک رابطه ۷ محاسبه شد (بگنال، ۱۹۷۸):

$$DGR=\left(\frac{BWf-BWi}{BWi\times T}\right)\times 100 \quad (۷)$$

که در آن، BWi متوسط وزن اولیه (برحسب گرم)، BWf متوسط وزن انتهایی (برحسب گرم)، T تعداد روزهای پرورش.

پس از زیست‌سنجی، خون‌گیری از سیاهرگ دمی و با استفاده از سرنگ ۱ سی‌سی انجام شد (بگنی، ۲۰۰۵). به‌منظور تعیین شاخص‌های خونی، خون اتخاذشده به درون لوله‌های هپارینه کشیده شد. شمارش کلی گلبول‌های سفید به روش مستقیم با استفاده از لام هموسیتومتر یا نئوبار و با رقیق کردن خون به نسبت ۱ به ۲۰۰ با محلول رقیق‌کننده داسیس صورت گرفت. پس از انتقال نمونه رقیق‌شده به لام هموسیتومتر تعداد گلبول‌های سفید در ٤ مربع بزرگ اطرافی شمارش گردید و سپس تعداد کل گلبول‌های سفید در میلی‌مترمکعب خون محاسبه شد (عالیشاهی و همکاران، ۲۰۱۲). برای شمارش تفریقی گلبول‌های سفید اقدام به تهیه گسترش خون شد. برای این کار و قبل از مخلوط نمودن نمونه خون با ماده ضد انعقاد مستقیماً یک قطره خون بر روی لام قرار داده شد و گسترش تهیه گردید. گسترش‌های تهیه‌شده با الکل متیلیک تثبیت (فیکس) و سپس با استفاده از رنگ گیمسا به مدت ۲۰ دقیقه رنگ‌آمیزی شدند و پس از پایان رنگ‌آمیزی و شستشوی لام و خشک شدن گسترش با عدسی روغنی تعداد یک‌صد سلول سفید مورد شمارش و درصد هر یک از سلول‌ها محاسبه و ثبت گردید (یوان و همکاران، ۲۰۰۷). گلبول‌های قرمز با استفاده از محلول دایسیس با رقیق کردن خون با غلظت ۵۰:۱ از طریق لام هموسیتومتر انجام پذیرفت. هموگلوبین به روش استاندارد سیانومت‌هموگلوبین اندازه‌گیری شد. پس از مخلوط کردن ۰/۰۲ میلی‌لیتر خون با ۵ سی‌سی محلول تجارتی درابکین (معرف سیانومت‌هموگلوبین) و پس از گذشت ۱۰ دقیقه، نمونه مخلوط شده به مدت ۱۰ دقیقه به‌منظور رسوب ذرات هسته با سرعت ۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد. سپس جذب نوری محلول فوقانی در طول‌موج ٥٤٠ نانومتر به‌وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری و میزان هموگلوبین برحسب گرم در دسی‌لیتر محاسبه گردید. برای این مهم از لوله میکروهماتوکریت استفاده شد. ابتدا ۳/٤ لوله هماتوکریت را از نمونه خون پرکرده و پس از مسدود نمودن آن با خمیر هماتوکریت، لوله را در دستگاه میکروسانتریفیوژ با دور ۱۲۰۰۰–۱۵۰۰۰ دور در دقیقه قرار داده و به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید. سپس میزان هماتوکریت با استفاده از خط‌کش مخصوص هماتوکریت اندازه‌گیری شد. متوسط حجم گلبولی که واحد آن نانومتر مکعب یا فمتولیتر بوده و با استفاده از رابطه ۸ به‌دست آمد (حقیقی، ۲۰۰۹):

$$MCV = \frac{\text{مقدار هماتوکریت} \times ۱۰}{\text{تعداد گلبول‌های قرمز بر حسب میلیون}} \quad (۸)$$

متوسط وزن هموگلوبین گلبولی: واحد آن پیکوگرم و با استفاده از رابطه ۹ به‌دست آمد:

$$MCH = \frac{\text{مقدار هموگلوبین} \times ۱۰}{\text{تعداد گلبول‌های قرمز بر حسب میلیون}} \quad (۹)$$

متوسط غلظت هموگلوبین گلبولی: برحسب درصد بیان و از رابطه ۱۰ به‌دست آمد:

$$MCHC = \frac{\text{مقدار هموگلوبین} \times ۱۰۰}{\text{مقدار هماتوکریت}} \quad (۱۰)$$

جهت اندازه‌گیری فعالیت کمپلمان از آزمایش همولیز در ژل آگار بهره‌گیری شد. ابتدا آگارز ۱/۵ درصد در بافر فسفات (pH=۷/۲ حاوی ۰/۵ میلی‌مول کلرید منیزیم و ۱/۵ میلی‌مول کلرید کلسیم) تهیه شد. در دمای ۵۵–۵۰ درجه سانتی‌گراد به میزان ۱/۵ درصد از گلبول قرمز خرگوش شسته شده با بافر فسفات (با تراکم ۱×۱۰^{۸} سلول در هر میلی‌لیتر) به آگارز اضافه شد. مخلوط آگارز حاوی گلبول‌های قرمز خرگوش داخل پلیت توزیع گردید. پلیت‌ها به مدت یک‌شب در یخچال ٤ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و سپس حفرات به قطر ۳ میلی‌متر و بافاصله ۲ سانتی‌متر از هم در پلیت‌ها ایجادشده و به هر گوده میزان ۲۰ میکرولیتر از سرم نمونه اضافه شد. پلیت‌ها در محیط مرطوب و دمای ۲۵ درجه به‌مدت ٤۸ ساعت انکوبه شده و قطر هاله لیز گلبولی اندازه‌گیری شد.

برای سنجش فعالیت آنزیمی لایزوزیم سرم از روش آگارز لیزوپلیت و پودر باکتری میکروکوکوس لیزودایکتیکوس (سیگما) استفاده گردید. برای اندازه‌گیری قدرت باکتری‌کشی سرم ابتدا باکتری آئروموناس‌هیدروفیلا به‌مدت ٤۸ ساعت در محیط TSB کشت داده شد و سپس سلول‌های باکتریایی با سانتریفوژ ۳۰۰۰ دور در دقیقه به‌مدت ۱۵ دقیقه جمع‌آوری و با افزودن مقداری بافر فسفات سدیم استریل به آن‌ها جذب نوری سوسپانسیون حاصله در طول‌موج ٥٤۰ نانومتر برابر ۱ تنظیم گردید. تعداد باکتری در سوسپانسیون حاصل شمارش‌شده و با استفاده از روش تهیه رقت‌های متوالی بر مبنای ده، سوسپانسیون $۱۰^{٥}$ cfu/ml باکتری در ژلاتین ورونال بافر ۰/۱ درصد استریل (pH=۷/۵ و حاوی ۰/۵ میلی‌مول در میلی‌لیتر یون کلسیم و ۰/۱۵ میلی‌مول در میلی‌لیتر یون منیزیم) تهیه گردید. نمونه‌های سرمی به نسبت ۱:۳ با بافر فوق رقیق گردیدند. سوسپانسیون باکتریایی حاصل به نسبت ۱:۱ با سرم رقیق‌شده مخلوط شده و به مدت ۹۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد با حرکت ملایم انکوبه گردیدند. علاوه بر نمونه‌های فعال، همان مقدار سرم از هر نمونه در بن‌ماری در دمای ٦٥ درجه غیرفعال شده و همان روش برای نمونه‌های غیرفعال نیز انجام شد، سپس یک لوپ کامل از مخلوط سرم و باکتری در محیط کشت TSA کشت داده شد. تمامی مراحل در زیر هود و کنار شعله انجام شد. محیط‌ها به مدت ٢٤ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردیده و سپس به کمک دستگاه کلونی‌کانتر تعداد پرگنه باکتریایی رشد یافته در روی محیط کشت شمارش گردید. نتایج به‌صورت متوسط تعداد باکتری شمارش‌شده برای هر نمونه مشخص‌شده و تعداد باکتری شمارش‌شده در هر تیمار نسبت به تیمار شاهد مقایسه گردید (ترال، ۲۰۰٤).

داده‌های حاصل از این پژوهش با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۸ و با استفاده از آزمون آنالیز واریانس و تست تکمیلی دانکن و با استفاده از نرم‌افزار اکسل ۲۰۰۷ انجام شد.

نتایج و بحث

تأثیر پروبیوتیک تپاکس بر شاخص‌های رشد و بقا: بر اساس نتایج پژوهش حاضر، شاخص‌های وزن،

افزایش وزن، درصد افزایش وزن، ضریب رشد ویژه، نسبت بازده غذایی، نسبت بازده پروتئین، درصد افزایش رشد روزانه و فاکتور وضعیت ماهی بنی تحت تأثیر مثبت پروبیوتیک تپاکس آبزیان قرار گرفتند و بالاترین مقدار این شاخص‌ها در تیمارهایی با بالاترین سطح پروبیوتیک (تیمار ۳) اندازه‌گیری شد (P<۰/۰۵). هم‌چنین ضریب تبدیل غذایی تحت‌تأثیر پروبیوتیک بهبود یافت و بهترین ضریب تبدیل غذایی در تیمار ۳ مشاهده شد. تیمار شاهد با (۲/۱۵) کم‌ترین مقدار این پارامتر و تیمار ۳ با (۱/۲۹) بیش‌ترین مقدار ضریب تبدیل غذایی را نشان داد. شاخص ضریب رشد ویژه در تمام تیمارها اختلاف معنی‌دار داشت (P<۰/۰۵). تیمار ۳ با (۱/٤۹ درصد/روز) بالاترین مقدار این پارامتر و تیمار شاهد با (۱/۰٤ درصد/روز) کم‌ترین مقدار این پارامتر را نشان داد. ضریب افزایش رشد ویژه در ٤ تیمار اختلاف معنی‌دار داشت (P<۰/۰۵). تیمار ۳ با (۲/۲ درصد) بالاترین مقدار این پارامتر و تیمار شاهد با (۱/٤۵ درصد) کم‌ترین مقدار این پارامتر را نشان داد. فاکتور وضعیت در دو تیمار ۲ و ۳ اختلاف معنی‌دار نداشت (P>۰/۰۵). دو تیمار ۱ و شاهد اختلاف معنی‌دار داشتند (P<۰/۰۵). تیمار شاهد با (۰/۹۲ درصد) کم‌ترین مقدار این پارامتر و تیمار ۳ با (۱/۱۷ درصد) کم‌ترین مقدار این پارامتر را نشان داد. بقا در تیمارهای موردمطالعه اختلاف معنی‌داری نداشت (P>۰/۰۵) (جدول ۳).

جدول ۳- نتایج تأثیر پروبیوتیک تپاکس آبزیان بر روی شاخص‌های رشد ماهی بنی (*Mesopotamichthys sharpeyi*).

	شاهد	تیمار ۱ (۰/۰۵ درصد)	تیمار ۲ (۰/۱ درصد)	تیمار ۳ (۰/۱۵ درصد)
وزن (گرم)	۳۱/۲٦±۰/۳۱ a	۳٤/٦۰±۰/۱۵ b	۳۷/٤٦±۰/٦۸ c	٤۱/۱۰±۰/٦۳ d
طول استاندارد (سانتی‌متر)	۱۵±۰/۱۷ a	۱۵/۱۳±۰/۱۷ a	۱۵/۳۳±۰/۱۰ a	۱۵/٦٦±۰/۱۰ a
افزایش وزن (گرم)	۱٤/۰±٦۰/۲۹ a	۱۸/۰±۲/٦٤ b	۲۰/۰±۸۱/٦۰ c	۲٤/۰±۳۷/۱۷ d
درصد افزایش وزن (٪)	۸۷/۵۹±٦/٦۷ a	۱۰۱/۸±۹/۳٦ a	۱۲٤/۹٦±۸/۳۱ b	۱٤۵/۷٦±۸/۵۹ c
ضریب رشد ویژه (درصد)	۱/۰±۰٤/۰۲ a	۱/۲٤±۲٤/۰٤ b	۱/۰±۳۵/۰۱ c	۱/۰±٤۹/۰۳ d
ضریب تبدیل غذایی	۲/۰±۱۵/۰۷ a	۱/۰±۷۳/۰۵ b	۱/۰±۱+۵/۰۷ c	۱/۰±۲۹/۰۱ d
نسبت بازده غذایی	۰/۰±٤٦/۰۳ a	۰/۰±۵۷/۰۱ b	۰/۰±٦٦/۰۳ c	۰/۰±۷۷/۰۲ d
نسبت بازده پروتئین (٪)	۱/۰±۲۹/۰۲ a	۱/۰±٦۱/۰۵ b	۱/۰±۸۵/۰۵ c	۲/۰±۱٦/۰۱ d
درصد افزایش رشد روزانه (درصد/روز)	۱/۰±٤۵/۰٦ a	۱/۰±۸۵/۰۵ b	۲/۰±۰۸/۰۲ c	۲/۰±۲/۰۲ d
فاکتور وضعیت	۰/۹۲ ± ۰/۰٤ a	۰/۹٦ ± ۰/۰۲ a	۱/۰±۰٤/۰۳ b	۱/۰±۱۷/۰۲ c
بقا (٪)	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰

حروف غیرمشابه (a، b، c، d) به معنی اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است.

بررسی تأثیر پروبیوتیک تپاکس بر روی شاخص‌های رشدی ماهی بنی نشان‌دهنده تأثیر مثبت بر وزن در این ماهی در ۳ تیمار پروبیوتیکی است، به‌گونه‌ای که هر سه تیمار با اختلاف معنی‌دار نسبت به شاهد مقادیر بالاتری از وزن را نشان دادند، البته در بین تیمارهای پروبیوتیکی تیمار ۳ بالاترین وزن کسب‌شده را نشان داد. در مورد شاخص افزایش وزن، درصد افزایش وزن، ضریب رشد ویژه، نسبت بازده

غذایی، بالاترین بازده پروتئین، بالاترین افزایش رشد ویژه و بالاترین فاکتور وضعیت بالاترین مقادیر مربوط به تیمار ۳، در مورد ضریب تبدیل غذایی پایین‌ترین ضریب تبدیل با اختلاف معنی‌دار نسبت به شاهد و سایر تیمارها مربوط به تیمار ۳ با بالاترین سطح پروبیوتیک تپاکس بود. ابومراد و همکاران (۲۰۱٤)، تأثیر پروبیوتیک *Enterococcus faecalis* را بر روی پارامترهای رشد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان موردبررسی قراردادند. در انتهای تغذیه، ماهیان تغذیه کرده SGR و PER و وزن‌گیری بهتری را نشان دادند که مشابه نتایج پژوهش حاضر است. نتایج بالا نشان‌دهنده تأثیر بسیار مثبت این پروبیوتیک بر پارامترهای رشد و ضرایب غذایی است. هم‌چنین ارتقا نسبت کارایی پروتئین نشان از عملکرد مناسب این پروبیوتیک دارد. به‌نحوی‌که ماهیان توانسته‌اند از منابع پروتئین جیره غذایی خورده شده به‌خوبی بهره‌برداری نموده که این موضوع در کاهش هزینه پرورش آبزیان اهمیت دارد (حسن‌پور فتاحی و همکاران، ۲۰۱٤). یکی از عوامل اقتصادی بودن پرورش آبزیان، ضریب تبدیل غذا است، زیرا علاوه بر کاهش هزینه‌های غذا و غذادهی به سبب مصرف مقدار کمتر غذادهی، از آلودگی ثانویه آب محیط پرورش و به‌تبع آن کاهش پارامترهای کیفی آب جلوگیری خواهد کرد (سم پن تامیت و همکاران، ۲۰۲۰؛ کنیپ و همکاران، ۲۰۲۱) که در این پژوهش کاهش ضریب تبدیل غذایی در هر ۳ تیمار پروبیوتیکی مشاهده‌شده است و نشان می‌دهد این پروبیوتیک با بهبود ضریب تغذیه، می‌تواند در کاهش هزینه‌های پرورش نیز مؤثر باشد.

محمدنژاد شموشکی و مازینی (۲۰۱۲) تأثیر پروبیوتیک مخمر نانوایی یا *Saccharomyces* sp. را بر روی رشد و بازماندگی بچه‌ماهی کلمه (*Rutilus rutilus caspicus*) بررسی نمودند. در پژوهش آن‌ها مشابه پژوهش حاضر افزایش وزن و طول بچه‌ماهیان با افزودن مخمر مشاهده شد، اما افزایش سطح این مخمر برخلاف پژوهش حاضر منجر به افزایش وزن نشد. هم‌چنین در پژوهش آن‌ها اختلاف معنی‌داری در میزان FCR و CF بین تیمارها مشاهده نشد، اما ضریب رشد ویژه افزایشی مشابه پژوهش حاضر نشان داد. در پژوهش دیگری رحمان و همکاران (۲۰۲۱) گزارش کردند که پروبیوتیک باسیلوس باعث رشد و تغذیه ماهی *Oreochromis mossambicus* شده است. پژوهشگران دیگر نیز در پژوهش‌های خود بیان کردند که یکی از مهم‌ترین پیامدهای استفاده از پروبیوتیک‌ها، تأثیر مستقیم پروبیوتیک بر عملکرد رشد ماهی است. یا این‌که با افزایش مستقیم جذب مواد تغذیه‌شده یا تأمین مواد مغذی همراه است (ریدها و آزاد، ۲۰۱۲؛ روکه جوئل و همکاران، ۲۰۲۰) که این افزایش قابل‌توجه و عملکرد در رشد توسط پروبیوتیک‌ها ممکن است به‌دلیل افزایش آنزیم‌های گوارشی، تولید ویتامین‌ها، تجزیه اجزای هضم نشده و هم‌چنین بهبود مورفولوژی روده باشد (وان دوان و همکاران، ۲۰۱۸). در پژوهش‌های ذکرشده و پژوهش حاضر مقادیر پروبیوتیک استفاده‌شده متفاوت است، اما آن‌چه مهم است این است که در اکثر بررسی‌های صورت گرفته به افزایش رشد ماهیان در اثر استفاده از این مخمر و پروبیوتیک‌ها اشاره شده است.

پروبیوتیک‌ها با تولید ویتامین‌ها، ترکیبات مسمومیت‌زدا در جیره غذایی و تجزیه ذرات غیرقابل‌هضم موجب تحریک اشتها و بهبود تغذیه در میزبان می‌گردند (اول سن و همکاران، ۲۰۰۱) که در پژوهش حاضر نیز این امر تأیید می‌گردد. فلور باکتریایی روده ماهی شامل مجموعه پیچیده‌ای از انواع باکتری‌های هوازی، بی‌هوازی، بی‌هوازی اختیاری و بی‌هوازی اجباری می‌باشد. باکتری‌های موجود در میکروبیوتای روده‌ای به شکل بومی یا موقت و گذار هستند (پاک‌بین و همکاران، ۲۰۲۱). باکتری‌های

اسیدلاکتیک ازجمله باکتری‌های مفید روده‌ای هستند که امروزه اهمیت بسیار زیادی در به‌کارگیری به‌عنوان پروبیوتیک دارند (شلی و فیلد، ۲۰۰۲). تولید اسیدهای چرب زنجیره کوتاه مانند استات، چروپیرنات، بوتیرات و اسیدلاکتیک ناشی از تخمیر پروبیوتیک، منجر به کاهش pH روده می‌شود که شرایط مناسب برای رشد باکتری‌های اسیدلاکتیک را فراهم می‌کند که با افزایش این باکتری‌ها قدرت هضم و جذب غذا افزایش‌یافته و رشد افزایش می‌یابد (حسینی‌فر و همکاران، ۲۰۱۱). با توجه به این‌که باکتری‌های اسیدلاکتیکی قادر به تولید آنزیم‌های تجزیه‌کننده خارج سلولی نیستند بنابراین آن‌ها برای رشد وابسته به میکرواورگانیزم دیگری هستند تا بر مولکول‌های پیچیده عمل کرده و مواد غذایی خاصی را برای آن‌ها فراهم کنند (شلی و فیلد، ۲۰۰۲؛ کوکروسکا، ۲۰۲۱). درصورتی‌که مواد غذایی موردنیاز برای باکتری‌های اسیدلاکتیک فراهم شود، آن‌ها به‌سرعت رشد یافته و تعداد آن‌ها افزایش می‌یابد که نتیجه آن بهبود استفاده از غذا و رشد بهتر است. حسینی‌فر و همکاران (۲۰۱۰)، در بررسی میکروبیوتای روده فیل‌ماهی تغذیه‌شده با مخمر ساکارومایسس سرویزیا نشان دادند که سطح باکتری‌های اسیدلاکتیک روده به‌طور قابل‌توجهی در اثر تغذیه با ساکارومایسس سرویزیا افزایش‌یافته بود. آن‌ها عنوان کردند که افزایش تعداد باکتری‌های اسیدلاکتیک پس از به‌کارگیری مخمر ساکارومایسیس سرویز و فروکتوالیگوساکارید احتمالاً، درنتیجه تأمین مواد غذایی موردنیاز این باکتری‌های مفید روده‌ای می‌باشد. مخمر ساکارومایسیس سرویزیا منبع غنی از آنزیم‌ها، نوکلئوتیدهای آزاد، ویتامین‌های گروه ب و آمینواسیدها بوده و می‌تواند نیازهای غذایی لاکتوباسیلوس‌ها را فراهم کند و سبب رشد و افزایش تعداد آن‌ها در میکروبیوتای بومی روده ماهی شود (حسینی‌فر و همکاران، ۲۰۱۱؛ آهیره، ۲۰۲۱) و بیان نمودند که این امر عاملی برای بهبود جذب مواد غذایی و درنتیجه رشد محسوب می‌شود. در این پژوهش نیز مطابق با نتیجه بررسی آن‌ها، استفاده از پروبیوتیک تپاکس توانسته بر روی رشد ماهی بنی تأثیر مثبت داشته باشد. گوبی و همکاران (۲۰۱۸) نیز گزارش دادند که پروبیوتیک *Bacillus licheniformis* به‌طور قابل‌توجهی عملکرد رشد ماهی *Oreochromis mossambicus* را بهبود بخشیده به‌طوری‌که پارامترهای رشد شامل وزن نهایی، نرخ رشد ویژه (SGR) و نسبت تبدیل خوراک (FCR) به‌طور قابل‌توجهی افزایش‌یافته است که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد.

در پژوهش حاضر بقا تحت‌تأثیر پروبیوتیک‌ها قرار نگرفته و درواقع هیچ‌گونه تلفاتی در تیمارها مشاهده نشد. گزارش‌هایی وجود دارد که نشان می‌دهد پروبیوتیک‌ها باعث افزایش مقاومت آبزیان در برابر استرس‌های محیطی شده‌اند (ورس چوره و همکاران، ۲۰۰۰). در مطالعه امتیاز جو و همکاران (۲۰۰۹) به‌کارگیری مخمر *Saccharomyces cerevisiae* به مقدار 10^8 در هر گرم غذای ماهی اثر مثبت و معنی‌داری بر درصد بقا بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان داشت که اثبات این امر در مورد ماهی بنی نیازمند پژوهش‌های بیش‌تر و انجام آزمایش‌های مقاومت در برابر شوری و غیره جهت سنجش تأثیر این مخمر بر روی بهبود بقا است، اما در مقالات مختلف ذکرشده است که پلی‌آمین‌های مترشحه از مخمرها موجب افزایش مقاومت میزبان در مقابله با استرس‌های محیطی و درنتیجه افزایش بقا می‌شوند (احمدی‌فر و همکاران، ۲۰۱۱). این افزایش بقا که نیاز به تأیید و آزمایش‌های تکمیلی دارد، در کنار بهبود شاخص‌های رشد که در پژوهش حاضر و در اثر مصرف پروبیوتیک ساکارومایسس ایجادشده است، نشان می‌دهد این پروبیوتیک می‌توان نقش مهمی در

بهبود رشد و وزن گیری ماهی بنی در شرایط پرورشی اعمال نماید (درفش و همکاران، ۲۰۲۰؛ سوتهی و تایموانگ‌فول، ۲۰۲۰).

تأثیر پروبیوتیک تپاکس بر شاخص‌های خونی: فاکتور خونی گلبول‌های قرمز در تیمار ۲ و ۱ اختلاف معنی‌دار نداشتند (P>۰/۰۵). تیمار شاهد با (10^6 cell.mm^{-3}) ۱/۵۹ بالاترین مقدار این پارامتر و تیمار ۱ با (10^6 cell.mm^{-3}) ۱/۳٤ کم‌ترین مقدار این پارامتر را نشان داد. هموگلوبین در تیمارهای مختلف باهم مقایسه شده است، بر اساس این نمودار چهار تیمار با یکدیگر اختلاف معنی‌دار داشتند (P<۰/۰۵). تیمار ۳ با (g/dI) ۱۲/٤۲ بالاترین مقدار این پارامتر و تیمار ۱ با (g/dI) ٦/٦٥ کم‌ترین مقدار این پارامتر را نشان داد. فاکتور خونی هماتوکریت در چهار تیمار اختلاف معنی‌دار نداشت (P>۰/۰۵). فاکتور خونی MCH در تمام تیمارها اختلاف معنی‌دار داشت (P<۰/۰۵). تیمار ۳ با (10^{-1}(μm^3) ۱/۷۷) بالاترین مقدار این پارامتر و تیمار ۱ با (10^{-1}(μm^3) ۰/۹۱) کم‌ترین مقدار این پارامتر را نشان داد. فاکتور خونی MCHC در تیمار ۱ و شاهد اختلاف معنی‌دار نداشت (P>۰/۰۵)؛ اما سایر تیمارها با یکدیگر و دو تیمار ۱ و شاهد اختلاف معنی‌دار داشتند (P<۰/۰۵). تیمار ۳ با 10^{-1} (μm^3) ٦/۱۷ بالاترین مقدار این پارامتر و تیمار ۱ با 10^{-1} (μm^3) ۳/۲۱ کم‌ترین مقدار این پارامتر را نشان داد. گلبول‌های سفید در تمام تیمارها اختلاف معنی‌دار داشتند (P<۰/۰۵). تیمار شاهد با (10^3cell.mm^{-3}) ۲۹/۳۳ بالاترین مقدار این پارامتر و تیمار ۱ با (10^3cell.mm^{-3}) ۱٦ کم‌ترین مقدار این پارامتر را نشان داد. درصد لنفوسیت‌ها در چهار تیمار با یکدیگر اختلاف معنی‌دار نداشتند (P>۰/۰۵). درصد هتروفیل‌ها تیمار شاهد با تیمار ۱ اختلاف معنی‌دار نداشت (P>۰/۰۵) ولی با تیمار ۲ و ۳ اختلاف معنی‌دار داشت (P<۰/۰۵). تیمار ۳ با ۱۱/۷۵ درصد بالاترین مقدار این پارامتر و تیمار ۱ با ٤/٦٦ درصد کم‌ترین مقدار این پارامتر را نشان داد. میزان منوسیت‌ها در تیمار شاهد با تیمارهای ۱ و ۳ اختلاف معنی‌داری نداشت ولی تیمار ۲ با ۵/٤۵ بالاترین میزان منوسیت و با تیمار ۱ و ۳ و تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری را نشان داد (جدول ٤).

جدول ٤- نتایج تأثیر پروبیوتیک تپاکس آبزیان بر روی شاخص‌های خونی ماهی بنی (*Mesopotamichthys sharpeyi*).

	شاهد	تیمار ۱ (۰/۰۵ درصد)	تیمار ۲ (۰/۱ درصد)	تیمار ۳ (۰/۱۵ درصد)
گلبول‌های قرمز (10^6 cell.nm^{-3})	۱/۰±۵۹/۰٤^{c}	۱/۰±۳٤/۰۳^{a}	۱/۰±۳۷/۰۲^{a}	۱/۰±٤۳/۰۱^{b}
هموگلوبین (g/dI)	۷/۰±٤۸/۲٦^{d}	٦/۰±٦۵/۱۱^{a}	۱۰/۰±٤٦/۰٦^{b}	۱۲/۰±٤۲/۰۸^{c}
هماتوکریت (درصد)	٤۷/۰±۸۳/۹٤^{a}	٤۸/۱±۱٦/۸۱^{a}	٤۸/۱±۸۳/۹۵^{a}	٤۹/۱±٦٦/۹٦^{a}
MCH (10^{-1} μm^3)	۱/۰±۱۹/۱۰^{d}	۰/۰±۹۱/۱۵^{a}	۱/۱±٤٤/۱۰^{b}	۱/۱±۷۷/۱٦^{c}
MCV (10^{-1} μm^3)	۷/۰±٦۰/٤۷^{a}	٦/۰±٤۸/۹۲^{a}	٦/۰±۷۵/٦۱^{a}	۷/۰±۰۷/٦۳^{a}
MCHC (10^{-1} μm^3)	۳/۰±۵۱/۱۸^{a}	۳/۰±۲۱/۲۸^{a}	۵/۰±۱۰/۲۰^{b}	٦/۰±۱۷/۵۰^{c}
گلبول‌های سفید (10^3cell.nm^{-3})	۲۹/۰±۳۳/۱۱^{d}	۰±۱٦/۲۳^{a}	۱۸/۰±۵۰/۲۲^{b}	۰±۲۲/۱۳^{c}
لنفوسیت (٪)	۹٤/۱٦±۷/۷٦^{a}	۹۳/۲±٦/۵۳^{a}	۸٦/۲۵±۸/۲۲^{a}	۸۷/۱٦±۲۵/۳۸^{a}
هتروفیل (٪)	٤/۰±۲/۷٦^{ab}	٤/٦٦ ۱±/٤۱^{a}	۷/۰±۷۵/۹۳^{b}	۱۱/٦±٦۳/۸۰^{c}
منوسیت (٪)	۱/۰±۱/۷٦^{a}	۱/۷٤ ± ۰/٤۱^{a}	۵/۰±٤۵/۸۳^{b}	۱/۰۵±۱۲/۷٤^{a}

حروف غیرمشابه (a، b، c، d) به معنی اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است.

در مورد نتایج تأثیر پربیوتیک تپاکس آبزیان بر روی شاخص‌های خونی همان‌طور که نتایج نشان می‌دهند، این پروبیوتیک بر روی گلبول‌های سفید و گلبول‌های قرمز تأثیر منفی داشته به‌گونه‌ای که شاهد در مقایسه با ۳ تیمار پروبیوتیک مقادیر بالاتری از گلبول‌های قرمز و سفید را نشان دادند. هموگلوبین تحت‌تأثیر مثبت پروبیوتیک قرار گرفت. بالاترین سطح هموگلوبین در تیمار ۳ با اختلاف معنی‌دار نسبت به سایر تیمارها مشاهده شد ($P<۰/۰۵$). هم‌چنین هماتوکریت و میزان لنفوسیت‌ها تحت‌تأثیر معنی‌دار پروبیوتیک قرار نگرفتند. شاخص خونی هموگلوبین بالاترین سطح خود را در تیمار ۳ نشان داد و تیمار ۲ نیز نسبت به شاهد افزایش معنی‌دار داشت اما تیمار ۱ کم‌ترین مقدار هموگلوبین را در بین تیمارهای پروبیوتیکی و هم‌چنین شاهد داشت. در مورد فاکتورهای خونی، فاکتور MCH، MCHC در تیمار ۳ و ۲ بالاترین مقدار خود را نشان دادند، اما در هر دو فاکتور تیمار ۱ کم‌ترین مقدار را نشان داد که با توجه به بالا بودن غلظت هموگلوبین و این‌که این دو فاکتور، فاکتورهایی هستند که تحت‌تأثیر مستقیم غلظت هموگلوبین قرار دارند، طبیعی و دارای هم‌خوانی با مقادیر هموگلوبین است. تعداد گلبول‌های سفید بالاترین مقدار خود را در تیمار شاهد ۲۹/۳۳ ($10^3 cell.nm^{-3}$) داشت و سایر تیمارها تعداد گلبول‌های کم‌تری نسبت به شاهد داشتند، اما در تیمارهای پروبیوتیکی با افزایش سطح پروبیوتیک تعداد گلبول‌های سفید به شکل معنی‌دار افزایش پیدا کرد. گلبول‌های قرمز نیز روندی مشابه داشتند. در پژوهش تواری و پترا (۲۰۱۱)، در اثر افزودن مخمر *Saccharomyces cerevisiae* به جیره غذایی *Labeo rohita*، هموگلوبین، گلبول‌های سفید و هماتوکریت افزایش پیدا کرد که در مورد هموگلوبین مشابه یافته‌های پژوهش حاضر است، اما در مورد گلبول‌های سفید و هماتوکریت هماهنگی ندارد.

در این پژوهش در پی اضافه کردن پروبیوتیک، گلبول‌های سفید و قرمز در تیمارهای تغذیه‌کننده از پروبیوتیک ابتداً کاهش پیدا می‌کنند، اما سطح کاهش با افزایش سطح پروبیوتیک کم‌تر خود را نشان می‌دهد. این امر ممکن است ناشی از اثرات اولیه کاهشی افزودن پروبیوتیک در گونه بنی باشد؛ به‌عبارت‌دیگر این‌گونه بومی منطقه استان خوزستان و جنوب غرب ایران بوده و با توجه به سازگاری‌های ویژه با منطقه ممکن است واکنش‌های متفاوتی داشته باشد (خدادادی و همکاران، ۲۰۱۱؛ احمدی و همکاران، ۲۰۱٤)، به‌گونه‌ای که در ابتدا شوک ایجادشده سبب کاهش سطح این گلبول‌ها شده، اما باگذشت زمان این شوک بهبود می‌یابد و هر چه سطح پروبیوتیک در جیره بالاتر باشد این بهبودی سریع‌تر رخ می‌دهد و سبب بالاتر رفتن سطح گلبول‌ها می‌شود که در پژوهش حاضر نیز مشاهده می‌شود و تیمار ۳ با بالاترین سطح پروبیوتیک بالاترین سطح گلبول‌های قرمز و سفید را نشان می‌دهد، هرچند تعداد کم‌تر از شاهد است، اما تأیید این نکته نیازمند طولانی‌تر شدن مدت آزمایش و هم‌چنین انجام بافت‌شناسی جهت بررسی اثرات احتمالی افزودن این پروبیوتیک بر روی مراحل ساخت و بافت‌های تولیدکننده گلبول‌های قرمز و سفید دارد. در مورد هتروفیل بالاترین سطح در تیمار ۳ مشاهده شد، اما بدون اختلاف معنی‌دار با تیمار ۲ و تیمار شاهد و تیمار ۱ نیز کم‌ترین تعداد لنفوسیت را در میان ٤ تیمار داشت. میزان هتروفیل‌ها در تیمارهای پروبیوتیکی نسبت به تیمار شاهد افزایش معنی‌داری را نشان داد و با توجه به نقش نوتروفیل‌ها در سیستم ایمنی می‌توان به اثر پروبیوتیک اضافه‌شده در جیره غذایی اشاره نمود. نوتروفیل‌ها به‌عنوان اولین نوع از سلول‌های لوکوسیت می‌باشند که در دفاع

میزبان نقش دارند (هاویکس بک و همکاران، ۲۰۱۵). میزان لنفوسیت‌ها هیچ اختلاف معنی‌داری بین تیمارها نداشت. لنفوسیت‌ها یکی از مهم‌ترین سلول‌هایی هستند که می‌تواند بر روی پاسخ ایمنی در ماهیان مؤثر باشند، این سلول‌ها آنتی‌بادی تولید کرده و سطح فاگوسیتوزی را افزایش می‌دهند (الیس، ۱۹۹۷) که در پژوهش حاضر نه‌تنها این سلول‌ها بلکه سایر گلبول‌ها نسبت به شاهد با اختلاف معنی‌داری برتری نداشتند که می‌توان گفت این پروبیوتیک بر روی پارامترهای خونی به‌جز هموگلوبین (تیمار ۱/۵ درصد) مؤثر نبوده است. گوبی و همکاران (۲۰۱۸) گزارش دادند که پروبیوتیک *Bacillus licheniformis* به‌طور قابل‌توجهی بر فاکتورهای خونی و سیستم ایمنی ماهی *Oreochromis mossambicus* تأثیر دارد که با نتایج این پژوهش مطابقت ندارد. هم‌چنین رحمان و همکاران (۲۰۲۱) نیز گزارش کردند که پروبیوتیک باسیلوس باعث بهبود سیستم ایمنی و فاکتورهای خونی ماهی *Oreochromis mossambicus* شده است که با نتایج پژوهش حاضر هم‌خوانی ندارد.

تأثیر پروبیوتیک بر فعالیت کمپلمان و قدرت باکتری‌کشی: کمپلمان در تیمارهای مختلف باهم مقایسه شده است، بر اساس این نمودار تیمارهای ۱ و ۳ با اختلاف معنی‌دار نداشتند (P>۰/۰۵). تیمار ۲ با ۲۳۷/۵(g/dI) بالاترین مقدار این پارامتر و تیمار شاهد با (g/dI) ۱۵۰ کم‌ترین مقدار این پارامتر را نشان داد. قدرت باکتری‌کشی در تیمارهای مختلف باهم مقایسه شده است، بر اساس این نمودار تیمار شاهد با تمام تیمارها اختلاف معنی‌دار داشت (P<۰/۰۵). تیمار ۳ با ۱٦٤(g/dI) بالاترین مقدار این پارامتر و تیمار شاهد با (g/dI) ۱۳۸/٦٦ کم‌ترین مقدار این پارامتر را نشان داد. لیزوزیم در تیمارهای مختلف باهم مقایسه شده است، بر اساس این نمودار تیمار شاهد با تیمارهای ۱،۲ و ۳ با اختلاف معنی‌دار نداشت (P>۰/۰۵). تیمار ۱ با ۳٦/۳۱(g/dI) بالاترین مقدار این پارامتر و تیمار ۳ با (g/dI) ۲۷/۷٦ کم‌ترین مقدار این پارامتر را نشان داد (جدول ۵).

جدول ۵- نتایج تأثیر پروبیوتیک تپاکس آبزیان بر روی فاکتورهای ایمنی ماهی بنی (*Mesopotamichthys sharpeyi*).

	شاهد	تیمار ۱ (۰/۵ درصد)	تیمار ۲ (۱ درصد)	تیمار ۳ (۱/۵ درصد)
کمپلمان (g/dI)	۰±۱۵۰/۰۳ ^{a}	۱۸۱/۱۰±۲۵/٤٥ ^{b}	۲۳۷/۱۰±٥/۷۸ ^{c}	۱۷٥/۳ ۹±/٤٥ ^{b}
قدرت باکتری‌کشی (g/dI)	۱۳۸/۷±٦٦/۰۷^{a}	۱٦۲/۱۱±٦٦/۲۳^{b}	۱۷۸/۲۲±۳۳/٥٤^{b}	۱٦٤/۳ ۱٦± /٥۲^{b}
لیزوزیم (g/dI)	۳٤/٤±۱۷/۷۸ ^{ab}	۳٦/۳±۳۱/۷۰^{a}	۳۳/۳±٥۳/۰۲^{ab}	۲۷/۳±۷٦/۷۰^{b}

حروف غیرمشابه (a، b، c، d) به معنی اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است.

پروبیوتیک‌ها از طریق بهبود فلور باکتریایی روده، آثار زیان‌بار عوامل عفونت‌زا را کاهش و میزان بازماندگی در مواجهه با عوامل بیماری‌زا را افزایش می‌دهند (شلی و فیلد، ۲۰۰۲). عموماً، پروبیوتیک‌های مختلف ازجمله مخمرها با ترشح بسیاری از ترکیبات خارج سلولی موجب می‌گردند که پاسخ ایمنی جانور هدف نسبت به محرک‌های محیطی افزایش‌یافته و درنتیجه میزان مقاومت افزایش یابد (ایرانتو و آستین، ۲۰۰۲). در پژوهش حاضر نیز چنین امری مشاهده شده است، به‌گونه‌ای که کمپلمان و باکتری‌کشی

تحت‌تأثیر مثبت پروبیوتیک در تمام تیمارها نسبت به شاهد افزایش پیدا کردند، اما بهترین عملکرد خود را در تیمار ۲ نشان دادند. در مورد باکتری‌کشی تیمار ۲ بدون اختلاف معنی‌دار در مقایسه با تیمارهای ۱ و ۳ بالاترین مقدار خود را نشان داد. افزودن پروبیوتیک‌ها در جیره غذایی می‌تواند باعث بهبود ایمنی و محافظت در برابر چندین عامل بیماری‌زا در ماهیان گردد که نتایج این پژوهش را تأیید می‌کند. گزارش‌هایی مبنی بر استفاده از پروبیوتیک‌ها برای محافظت از ماهیان *Labeo rohita*، *Oreochromis niloticus*، *Epinephelus bruneus*، *Cyprinus carpio* و *Oncorhynchus mykiss* در برابر عفونت‌های باکتریایی گزارش شده است (چا و همکاران، ۲۰۱۳؛ گری و همکاران، ۲۰۱٤؛ ساپوترا و همکاران، ۲۰۱٦). افزایش ایمنی به‌عنوان یک استراتژی مهم در آبزی‌پروری مطرح می‌باشد و کمپلمان‌ها یکی از فاکتورهای ایمنی غیراختصاصی هستند که تأثیر به‌سزایی در پاسخ ایمنی غیراختصاصی دارند (سویان، ۲۰۰٦)، افزایش این پارامتر در کنار باکتری‌کشی نشان‌دهنده بهبود ایمنی غیراختصاصی در ماهی بنی در اثر مصرف این پروبیوتیک است. لیزوزیم تحت‌تأثیر پروبیوتیک قرار نگرفت و در تیمارهای شاهد، ۱ و ۲ بدون اختلاف معنی‌دار و در تیمار ۳ کم‌ترین مقدار را بدون اختلاف معنی‌دار با تیمارهای شاهد و تیمار ۲ نشان داد. با توجه به این‌که بخش اعظمی از لیزوزیم توسط هتروفیل‌ها و منوسیت‌ها تولید می‌شود (اعتصام‌پور و همکاران ۲۰۱٤) در این بررسی باوجود افزایش در میزان سلول‌های هتروفیل در تیمارهای پروبیوتیکی نسبت به تیمار شاهد، کاهش در میزان لیزوزیم در تیمارهای پروبیوتیکی نسبت به تیمار شاهد مشاهده شده است.

پژوهشگران نشان دادند که پروبیوتیک *Enterococcus faecium* به‌طور معنی‌داری بر روی فعالیت لیزوزیم، آلبومین، گلوبولین در نیل تیلاپیا مؤثر است (ونگ و همکاران، ۲۰۰٦) که با نتایج پژوهش حاضر مغایرت دارد. در مطالعه‌ای بر روی ماهی تیلاپیا (*Oreochromis niloticus*) با وزن متوسط ۳۳۰ گرم و تیمارهای ۰/۰۲۵، ۰/۵۰، ۱، ۲ و ۵ گرم انجام شد مشخص گردید که زمانی که در جیره غذایی این ماهیان ۱ گرم مخمر استفاده شد، این ماهیان در مقابل باکتری آئروموناس هیدروفیلا مقاومت بیش‌تری خواهند داشت (عبدل تواب و همکاران، ۲۰۰۸).

بررسی‌ها نشان می‌دهد، احتمالاً زیست‌پذیری مخمر بر تحریک ایمنی اثری نداشته و به نظر می‌رسد که ایمنی‌سازی به‌واسطه ترکیبات دیواره سلولی صورت می‌گیرد و سایر ترکیبات نیز مانند پلی‌آمین‌ها، آنزیم‌ها و عوامل قابل‌حل در این مورد مشارکت دارند (فریتز و همکاران، ۲۰۰۵). هم‌چنین وجود ترکیباتی مانند بتا-گلوکان‌ها که افزایش‌دهنده سطح ایمنی بوده، نوکلئوتیدها که اخیراً به‌عنوان بهبوددهنده مقاومت در ماهی سالمون و کپور معمولی معرفی‌شده‌اند و کتین که دارای تأثیرات بهبوددهنده ایمنی در سیم دریایی است (بیسواس و همکاران، ۲۰۱۲؛ ریس، ۲۰۱۳) در مخمر وجود داشته و هم‌چنین مطالعات نشان می‌دهد که گلایسین خارج‌شده از دیواره سلولی این مخمر، سبب افزایش مقاومت به بیماری‌های باکتریایی در ماهی اطلس سالمون می‌شوند. پروبیوتیک‌ها در حیوانات میزبان در روده مستقرشده و با تولید مواد بازدارنده، سیستم ایمنی را تحریک می‌کنند که ازجمله دلایل بهبود ایمنی در اثر مصرف مخمر محسوب می‌شوند (ایستبان و همکاران، ۲۰۰۱). در موجوداتی با سیستم ایمنی اولیه که در محیطی با انواع عوامل بیماری‌زا زندگی می‌کنند، تحریک سیستم غیراختصاصی به‌عنوان اولین خط دفاعی نقش مهمی در حفظ

سلامت موجود دارد که با توجه به تحریک دو خط کمپلمان و باکتری‌کشی توسط مخمر، می‌توان گفت، پروبیوتیک تپاکس آبزیان می‌تواند یک بهبوددهنده ایمنی در ماهی بنی باشد. حسن‌پور فتاحی و همکاران (۲۰۱٤)، اثر پروبیوتیکی مخمر ساکارومایسس سرویزیا (*Saccharomyces cerevisiae*) و آسپرژیلوس نایجر (*Aspergillus niger*) را بر روی رشد و پاره‌ای از شاخص‌های ایمنی فیل‌ماهی *Huso huso* پرورشی را موردبررسی قراردادند. نتایج نشان داد که افزودن این دو پروبیوتیک می‌تواند تأثیر مطلوبی بر فاکتورهای ایمنی فیل‌ماهی جوان پرورشی داشته باشد. درمجموع در پژوهش حاضر نیز افزایش کمپلمان و باکتری‌کشی نشان‌دهنده بهبود سیستم ایمنی است.

نتیجه‌گیری

درمجموع نتایج این پژوهش نشان‌دهنده تأثیرات مثبت پروبیوتیک تپاکس آبزیان که حاوی مخمر *Saccharomyces cerevisiae* است (دوز ۱/۵ درصد پروبیوتیک)، بر روی تمامی فاکتورهای رشد به‌جز طول است. برخلاف رشد، پارامترهای خونی در اکثر مواقع نه‌تنها واکنش مثبت نشان ندادند، بلکه کاهش داشتند و فقط هموگلوبین افزایش نشان داد. هم‌چنین شاخص‌های ایمنی غیراختصاصی باکتری‌کشی و کمپلمان در اثر افزودن این پروبیوتیک افزایش نشان داد اما لیزوزوم تحت‌تأثیر قرار نگرفت. برخلاف رشد و ایمنی، پارامترهای خونی در اکثر مواقع نه‌تنها واکنش مثبت نشان ندادند، بلکه کاهش داشتند هرچند اختلاف معنی‌داری را در مقایسه با شاهد نشان ندادند و فقط هموگلوبین افزایش نشان داد.

منابع

Abdel-Tawwab, M., Abdel-Rahman, A.M., and Ismael, N.E.M. 2008. Evaluation of commercial live baker's yeast, *Saccharomyces cerevisiae* as a growth and immunity promoter for fry Nile tilapia, O*reochromis niloticus* (L.) challenged in situ with *Aeromonas hydrophila*. Aquaculture, 280: 185-189. https://doi.org/ 10.1111/ j.1365-2109. 2011.02899.x.

Abdulrahman, N., and Ahmed, V. 2015. Comparative Effect of Probiotic (*Saccharomyces Cerevisiae*), Prebiotic (Fructooligosaccharide Fos) And Their Combination On Some Differential White Blood Cells In Young Common Carp (*Cyprinus Carpio* L.), Asian Journal of Science and Technology, 6: 1136-1140. DOI: https://doi.org/ 10.30539/iraqijvm.v40i1.131.

Abumourad, I.M.K., Kenwy, A.M., Ibrahim, T.B., and Hanna, M.W.S.S. 2014. Enterococcus fawcium probiotic as a growth promoter and its impact on the expression of the host innate immune in cultured Oreochromis niloticus. Research journal of Pharmaceutical Biological and Chemical Science, 2: 1747-1761. PMID: 25519527 DOI: 10.3920/BM2014.0052.

Ahire, J.J., Jakkamsetty, C., Kashikar, M.S., Lakshmi, S.G., and Madempudi, R.S. 2021. In Vitro Evaluation of Probiotic Properties of *Lactobacillus plantarum* UBLP40 Isolated from Traditional Indigenous Fermented Food. Probiotics and antimicrobial proteins, pp. 1-12.

Ahmadi, S., Khodadadi, M., Roomiani, L., and Hakimi Mofrad R. 2014. The embryonic development and formation of Bunnei (*Barbus sharpeyi* Gunther, 1874). Iranian Sceinctific Fisheries Journal, 22: 4. 1-12.

Ahmadifar, E., Akrami, R., Ghelichi, A., and Zarejabad, A.M. 2011. Effects of different dietary prebiotic inulin levels on blood serum enzymes, hematologic, and biochemical parameters of great sturgeon (*Huso huso*) juveniles, Comparitive Clinical Pathology, 20: 447-451.

Alishahi, M., Mesbah, M., Namjooyan, F., Sabzevarizadeh, M., and Razi Jalali, M. 2012. Comparison of the effect of some chemical and plant immune stimuli in Oscar (*Astronotus ocellatus*). Iranian Journal of Veterinary Medicine, 8: 2. 58-68.

Amenyogbe, E., Chen, G., Wang, Z., Huang, J., Huang, B., and Li, H. 2020. The exploitation of probiotics, prebiotics and synbiotics in aquaculture: present study, limitations and future directions.: a review. *Aquaculture Int.* 28: 1-25.

Ashourpour, A., Zamini, A., Yazdani Sadati, M.A., and Masouleh float, A. 2011. Effect of Saccharomyces cerevisiae yeast cell wall probiotics on growth indices of Acipensernu diventris. Journal of Aquaculture and Fisheries, 2: 8. 61-53.

Bagenal, T. 1978. Methods for assessmet of fish production in fresh waters, Blackwall Scientific pub. Oxf. London.

Bagni, M., Romano, M.G., Finoia, L., and Abelli, G. 2005. Short and long-term effects of a dietary yeast β-1,3-glucan (Macrogard) and alginic acid (Ergosan) preparation on immune response in sea bass (*Dicentrarchus labrax*). Fish Shellfish Immunology Journal, 18: 4. 311-325.

Biswas, G., Korenaga, H., Takayama, H., Kono, T., Shimokawa, H., and Sakai, M. 2012. Cytokine responses in the common carp, *Cyprinus carpio* L. treated with baker's yeast extract. Aquaculture, 356: 169-175.

Cha, J.H., Rahimnejad, S., Yang, S.Y., Kim, K.W., and Lee, K.J. 2013. Evaluations of Bacillus spp. as dietary additives on growth performance, innate immunity and disease resistance of olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) against Streptococcus iniae and as water additives. Aquaculture, 402: 50-57.

Cukrowska, B., Ceregra, A., Maciorkowska, E., Surowska, B., Zegadło-Mylik, M.A., Konopka, E., Trojanowska, I., Zakrzewska, M., Bierła, J.B., Zakrzewski, M., and Kanarek, E., 2021. The Effectiveness of Probiotic Lactobacillus rhamnosus and Lactobacillus casei Strains in Children with Atopic Dermatitis and Cow's Milk Protein Allergy: A Multicenter, Randomized, Double Blind, Placebo Controlled Study. Nutrients, 13: 4. 1169.

Darafsh, F., Soltani, M., Abdolhay, H.A., and Shamsaei Mehrejan, M. 2020. Efficacy of dietary supplementation of Bacillus licheniformis and Bacillus. subtilis probiotics and Saccharomyces cerevisiae (yeast) on the hematological, immune response, and biochemical features of Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) fingerlings. Iranian Journal of Fisheries Sciences, 19: 4. 2024-2038.

Defaei, S., Falahatkar, B., and Effatpanah, I. 2016. Effects of digestrom P.E.P on growth and some hematological parameters of juveniles Beluga sturgeon (*Huso huso*). Journal of Fisheries Science and Technology, 5: 1. 83-95.

Eills, A.E. 1997. The leucocyte of fish: A review. Journal of fish Biology, 11: 5. 453-491.

Emtiazjoo, M., Hosseinzadeh Sahafi, H., Zargham, D., Bashti, T., and Razmi, K. 2009. The probiotic effect of Saccharomyces cerevisiae on increasing the survival rate of rainbow trout (*Onchorynchus mykiss*). Marine Science and Technology Research. 4: 1. 58-66.

Esteban, M.A., Cuesta, A., Ortuno, J., and Meseguer, J. 2001. Immunomodulatory effects of dietary intake of chitin on gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) innate immune system. Fish and Shellfish Immunology, 11: 303-315.

Etisamipour, M., Zamini, A., and Farokhrooz, M. 2014. Comparsion of Growth Indices, Some Blood ParametersAnd Immune System Among Juvenile Rainbow Trout Fishes (*Oncorhynchus Mykiss*) Fed Up With Different Levels Of Prebiotic Of Yeast Cell Wall (*Saccharomyces Cerevisia*). Indian Journal of Fundamental and Applied Life Sciences, 4: 3. 438-448.

Freitas, M., Axelsson, L.G., Cayuela, C., Midtvedt, T., and Trugnan, G. 2005. Indigenous microbes and their soluble factors differentially modulate intestinal glycosylation steps in vivo. Use of a

"lectin assay" to survey in vivo glycosylation changes. Histochem. Cell. Biol. 124: 423-433.

Gephart, J.A., Golden, C.D., Asche, F., Belton, B., Brugere, C., Froehlich, H.E., Fry, J.P., Halpern, B.S., Hicks, C.C., Jones, R.C., and Klinger, D.H. 2020. Scenarios for global aquaculture and its role in human nutrition. Reviews in Fisheries Science and Aquaculture, 3: 1-7.

Ghobadi, Sh., Tavakoli, H., and Majazi Amiri, B. 2014. Effect of different levels of Bactocell probiotic on some growth indices, survival and body composition of common carp (*Cyprinus carpio*). Journal of Aquaculture Development, 8: 4. 87-77.

Giri, S.S., Sukumaran, V., Sen, S.S., and Jena, P.K. 2014. Effects of dietary supplementation of potential probiotic Bacillus subtilis VSG 1 singularly or in combination with Lactobacillus plantarum VSG 3 or/and Pseudomonas aeruginosa VSG 2 on the growth, immunity and disease resistance of Labeo rohita. Aquaculture Nutrition, 20: 2. 163-171.

Gobi, N., et al. Dietary supplementation of probiotic Bacillus licheniformis Dahb1 improves growth performance, mucus and serum immune parameters, antioxidant enzyme activity as well as resistance against Aeromonas hydrophila in tilapia Oreochromis mossambicus. Fish & Shellfish Immunology, 74: 501-508.

Haghighi, M. 2009. Laboratory methods of fish hematology. Aquatic Science Publications. 83p.

Hassanpour Fattahi, A., Jafarian, H., Khosravi, A., and Pourkenani, H. 2014. Effect of Saccharomyces cerevisiae and Aspergillus niger yeast isolated from the digestive tract of adult elephants on the nutritional efficiency and serum enzymes of young elephantfish (*Huso huso*). Journal of Fisheries Science and Technology, 3: 1. 1-13.

Havixbeck, J.J., Rieger, A.M., Wong, M.E., Hodgkinson, J.W., and Barreda, D.R. 2015. Neutrophil contributions to the induction and regulation of the acute inflammatory response in teleost fish. Journal Leukocyte. Biology.

Hoseini Far, S.H., Mirvaghefi, A., and Mojazi Amiri, B. 2011. Khoshbavar Rostami, H. and Merrifield, D, The effects of Oligofructose on growth performance, survival, intestinal microbiota and liver histology of endangered great sturgeon (*Huso huso*) juvenile. Aquaculture Nutrition, 17: 5. 498-504.

Irianto, A., and Austin, B. 2002. Probiotic in aquaculture. Journal of Fish Diseases, 25: 1-10.

Kafilzadeh, R., Mousavi, S.M., and Javaheri Baboli, M. 2013. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* (Saccharomycetes: Saccharomycetaceae) on *Astronotus ocellatus* as growth promoter and immuno stimulant. Aquaculture, Aquarium, Conservation and Legislation International. Journal of the Bioflux Society, 6: 6. 587-598.

Khodadadi, M., Ahmadi, S., and Dezfoulyian, A. 2011. Morphological changes of Bunni (*Barbus sharpeyi*) larvae in laboratory conditions. Iranian Sceinctific Fisheries Journal, 20: 3. 173-178.

Knipe, H., Temperton, B., Lange, A., Bass, D., and Tyler, C.R. 2021. Probiotics and competitive exclusion of pathogens in shrimp aquaculture. Reviews in Aquaculture, 13: 1. 324-352.

Kumprechtova, D., Zobac, P., and Kumprecht, I. 2000. The effect of Saccharomyces cervisiae Sc47 on chicken broiler performance and nitrogen output. Journal of Animal Science, 12: 45. 169-177.

Mohammad Nejad Shamushki, M., and Maini, M. 2012. The effect of bakery yeast probiotic (*Saccharomyces cerevisiae*) on the growth and survival of Rutilus rutilus caspicus. Journal of Aquaculture Development, 6: 1. 103-111.

Olsen, R.E., Myklebust, R., Kryvi, H., Mayhew, T.M., and Ringø, E. 2001. Damaging effect of dietary inulin on intestinal enterocytes in Arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.). Aquaculture Research, 32: 11. 931-934.

Pakbin, B., Pishkhan Dibazar, S., Allahyari, S., Javadi, M., Farasat, A., and Darzi, S. 2021. Probiotic Saccharomyces cerevisiae var. boulardii supernatant inhibits survivin gene expression and induces apoptosis in human gastric cancer cells. Food Science & Nutrition, 9: 2. 692-700.

Rahman, A., Shefat, S.H.T., and Chowdhury, M.A. 2021. Effects of Probiotic *Bacillus* on Growth Performance, Immune Response and Disease Resistance in Aquaculture. Preprints, 2021030075.

Rayes, A.H. 2013. Study on the effect of dietary probiotic bacteria *Arthrobacter* species, *β*-1,3 glucan and *Moringaoleifera* leaf on protection of *Penaeus indicus* Juveniles from pathogenic *Vibrio harveyi*. Researcher, 5: 1. 24-31.

Ridha, M.T., and Azad, I.S. 2012. Preliminary evaluation of growth performance and immune response of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* supplemented with two putative probiotic bacteria. Aquaculture Research, 43: 843852. https://doi.org/10.1111/ j.1365-2109.2011.02899.x.

Roque Joel, C., Vera Cruz Emmanuel, C., and Reyes Alvin, T. 2020. Growth, length-weight relationship and condition factor of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) fed with probiotic bacterium (*Bacillus amyloliquifaciens*) supplemented diet. International Journal of Fisheries and Aquatic Research, 5: 1. 34-38.

Rufchaie, R., Hoseinifar, S., Sayad Borani, M., Maghsodie Kohan, H., Zamini, A., and Faeed, M. 2012. The effects of glucan on hematological parameters, immune response and intestinal microbiota of Rutilus frisii kutum fry. Iranian Sceinctific Fisheries Journal, 21: 3. 73-84.

Sampantamit, T., Ho, L., Lachat, C., Sutummawong, N., Sorgeloos, P., and Goethals, P. 2020. Aquaculture production and its environmental sustainability in Thailand: challenges and potential solutions. Sustainability, 12(5), 2010. https://doi.org/ 10.3390/ su12052010.

Saputra, F., Shiu, Y.L., Chen, Y.C., Puspitasari, A.W., Danata, R.H., Liu, C.H., and Hu, S.Y. 2016. Dietary supplementation with xylanase-expressing B. amyloliquefaciens R8 improves growth performance and enhances immunity against Aeromonas hydrophila in Nile tilapia (Oreochromis niloticus). Fish & shellfish immunology, 58: 397-405. DOI: 10.1016/ j.fsi. 2016. 09.046.

Schley, P., and Field, C. 2002. The immune enhancing effects of dietary fibers and prebiotics. British Journal of Nutrition, 87: 2. 221-230. DOI: 10.1079/BJNBJN/2002541.

Sutthi, N., and Thaimuangphol, W. 2020. Effects of yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) on growth performances, body composition and blood chemistry of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1758) under different salinity conditions. Iranian Journal of Fisheries Sciences, 19: 3. 1428-1446. DOI: 10.22092/ IJFS.2019.119254

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. DOI: 10. 1016/ j.fsi.2006.03.010

Tewary, A., and Patra, B. 2011. Oral administration of bakers yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) acts as a growth promoter ans immunomodulator in *Labeo rohita*. Journal of Aquaculture Research and Development, 2: 109. DOI:10.4172/2155-9546.1000109.

Thrall, M.A. 2004. Veterinary Hematology and Clinical Chemistry, Lppincott Williams & Wilkins, USA, pp: 241, 277-288, 402.

Van Doan, H., Hoseinifar, S.H., Khanongnuch, C., Kanpiengjai, A., Unban, K., and Srichaiyo, S. 2018. Host-associated probiotics boosted mucosal and serum immunity, disease resistance and growth performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Aquaculture, 491: 94-100. DOI:10.1016/ j.aquaculture.2018.03.019.

Verschuere, L., Dhont, J., Sorgeloos, P., and Verstraete, W. 2000. Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 64: 4. 655-671. doi: 10.1128/mmbr.64.4.655-671.2000.

Wang, Y.B., Tian, Z.O., Yao, J.T., and Li, W. 2008. Effect of probiotics, *Enteroccus faecium*, on tilapia (*Oreochromis niloticus*) growth performance and immune response. Aquaculture, 277: 203-207.

Williams, B., Verstegen, M.W.A., and Tamminga, S. 2001. Fermentation in the large intestine of single-stomached animals and its relationship to animal health. Nutrition Research Reviews, 14: 2. 207-227. DOI: 10.1079/ NRR200127.

Yarahmadi, B., Mohamadi Saei, M., and Mehrabi, F. 2021. Effect of probiotic (Bacilact) on growth performance, feed restriction and compensatory growth after re-feeding in rainbow trout. Journal of Aquaculture Development, 14: 4. 119-132.

Yegane, H., Kazemi, R., Shenavar Masoule, A., Sayed Hassani, H., Yousefi Jourdehi, A., Ali hosseinpour Zelti, A., and Ghorbani Vagheyei, R. 2021. The effect of native probiotic on growth rate and some of the hematological and immune system parameters of Huso huso fingerling. Journal of Aquaculture Development, 15: 1. 1-13.

Yuan, C., Li, D., Chen, W., and Sun, F. 2007. Administration of a herbal immunoregulation mixture enhance some immune parameters in carp (*Cyprinus carpio*). Journal of Fish Physiology and Biochemistery, 10: 1007-1120. DOI: 10.1007/s10695-006-9120-7.