تاثیر پربیوتیک ایمونوژن بر شاخص‌های رشد، بقاء، برخی شاخص‌های خونی و فلور باکتریایی روده بچه ماهی قره‌برون (*Acipenser persicus* Borodin, 1897)

- **علی جافرنوده:** گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، صندوق پستی: ۳۸٦
- **محمد سوداگر*:** گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، صندوق پستی: ۳۸٦

تاریخ دریافت: آبان ۱۳۹۱ تاریخ پذیرش: دی۱۳۹۱

کلمات کلیدی: پربیوتیک، ایمونوژن، قره‌برون، شاخص‌های رشد، شاخص‌های خونی

آبزی‌پروری در جهان یکی از سریع‌الرشدترین بخش‌های تولید غذا بوده، به‌طوری‌که این بخش از سال ۱۹۸۴ تا ۱۹۹۵ با نرخ سالانه ۱۰ درصد رشد نموده، درحالی‌که نرخ رشد سالانه تولید گوشت قرمز برابر ۳ درصد و نرخ رشد سالانه صید آبزیان برابر ۶/۱ درصد بوده است(۳۲). علی‌رغم رشد قابل توجه، این صنعت همواره با مشکلاتی روبرو بوده است که از آن جمله می‌توان به تغییر کیفیت آب و شیوع بیماری اشاره کرد، که مورد اخیر به‌عنوان مشکل اساسی آبزی‌پروری، گسترش اقتصادی این صنعت را در بسیاری از کشورهای جهان تحت تاثیر قرار داده است. به‌منظور کنترل بیماری‌ها، استفاده از داروهای ضدمیکروبی (آنتی‌بیوتیک‌ها) مطرح گردید که پس از سال‌ها این داروها خود مشکلاتی عدیده از جمله مقاوم شدن پاتوژن‌ها، تجمع در بافت، مسایل زیست محیطی و هزینه‌های بالا و.... را ایجاد نموده، به‌طوری‌که امروزه در اغلب کشورها، استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها ممنوع و یا با محدودیت‌های شدیدی مواجه گردیده است. از دیگر مشکلات اساسی در پرورش مصنوعی آبزیان بحث استرس‌های محیطی در شرایط پرورشی مصنوعی است که به‌نوبه خود بخش زیادی از انرژی را که باید به مصرف تولید گوشت برسد، از دسترس خارج می‌کند. لذا رشد سریع ماهی،کارائی تغذیه و افزایش مقاومت در برابر

بیماری‌ها از اهداف مهم در صنعت آبزی‌پروری محسوب می‌شود.

تاس‌ماهیان جزء ماهیان غضروفی- استخوانی بوده که حدود ۲۰۰ میلیون سال پیش، از ماهیان استخوانی جدا شدند و با از دست دادن بسیاری از اختصاصات خود به شکل امروزی باقی مانده‌اند (۱ و ۵). در حدود دو قرن پیش، این ماهیان در بسیاری از حوضه‌های آبی جهان وجود داشتند لیکن، به‌دلیل صید بی‌رویه، مدیریت ضعیف صید، محدود شدن محیط‌های زیست، تخم‌ریزی طبیعی آن‌ها، آلودگی‌های زیست محیطی، ساخت سد در روی رودخانه‌ها و پرتولید شدن محیط-های زیست، زیستگاه‌های این ماهیان محدود گردیده است (۲۰).

به‌دلیل ارزش غذایی و اقتصادی بسیار بالای گوشت و خاویارماهیان خاویاری از یک سو و کاهش میزان ذخایر این ماهیان در زیستگاه‌های طبیعی آن‌ها از سوی دیگر، تکثیر و پرورش مصنوعی آن‌ها از سال‌ها پیش مورد توجه قرار گرفته و پیشرفت‌های چشمگیری را به‌همراه داشته است لذا، پرورش ماهیان خاویاری در سال‌های اخیر مورد توجه قرار گرفته ولی، اطلاعات کافی در مورد شرایط بهینه محیط پرورش، نیازهای غذایی، فرموله کردن غذاهای مصنوعی مورد نیاز آن‌ها وجود ندارد (۲۶، ۲۵ و ۲۰).

در حال حاضر چالش عمده آبزی‌پروری تجاری، بهبود جیره‌های غذایی فرموله شده برای بهینه‌سازی رشد و ارتقاء سلامت ماهیان می‌باشد. در سال‌های اخیر تحقیقات فراوانی بر روی ترکیبات و مکمل‌های غذایی که در بالا بردن سلامت موجود و کارائی تغذیه نقش دارند، صورت گرفته است. محققین تغذیه بر این باورند که افزایش کارآیی تولید آبزیان به فرمولاسیون جیره غذایی و روش تولید آن وابسته است که به

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: Sudagar_m@yahoo.com

عواملی هم‌چون انرژی، ترکیبات غذایی موجود، پروتئین، چربی، ویتامین، مواد معدنی، ماهیت ترکیبات، قیمت و دسترسی مداوم به آن‌ها بستگی دارد. با توجه به این‌که در پرورش آبزیان ۵۰ تا ۶۰ درصد هزینه‌های جاری مربوط به غذا می‌باشد لذا، سودمند کردن پرورش تاسماهیان به‌دقت جدی در مراحل غذادهی و استفاده از غذاهای مصنوعی نیاز دارد (۴). به‌علاوه ماهیان خاویاری به‌خاطر رفتار خاص فیزیولوژیکی در تغذیه و استفاده از گیرنده‌های شیمیایی، یافتن غذا در این ماهیان همواره با مشکلات فراوانی توام می‌باشد، به‌طوری‌که این ماهیان کم‌تر از حس بینایی خود و بیش‌تر از حواس بویایی و چشایی خود برای گرفتن غذا استفاده می‌کنند (۲۲). امروزه جهت بهبود کیفیت غذای ماهی از ترکیبات مختلفی مانند ویتامین‌ها، پروبیوتیک‌ها، پربیوتیک‌ها و غیره استفاده می‌شود که هر یک دارای عملکردهای خاصی بر شاخص‌های رشد، بقاء، شاخص‌های استرس، ترکیبات لاشه و سایر فاکتورهای زیستی می‌باشد. در سال‌های اخیر استفاده از پربیوتیک‌ها در جیره آبزیان رواج زیادی پیدا کرده است.

پربیوتیک ماده غذایی غیرقابل هضمی است که از طریق تحریک رشد و فعالیت یک یا تعداد محدودی از باکتری‌های موجود در روده اثرات سودمندی برای میزبان داشته و می‌تواند سلامتی میزبان را بهبود بخشد(۱۶). براین اساس هر ماده غذایی که به روده می‌رسد مثل: کربوهیدرات‌های غیرقابل هضم، بعضی از پپتیدها و پروتئین‌ها و نیز برخی از چربی‌ها می‌توانند به‌عنوان یک پربیوتیک مورد استفاده قرار گیرند (۱۴). تحقیقات انجام شده نشان داده که استفاده از پربیوتیک‌ها روش مناسبی برای دستکاری میکروفلور روده می‌باشد (۱۶). لذا پربیوتیک‌ها با بهبود و تعادل میکروفلور روده و افزایش مکانیسم دفاعی میزبان می‌تواند نقش موثری را ایفاء کنند. با توجه به این تعریف ماده‌ای که به‌عنوان پربیوتیک در نظرگرفته می‌شود باید ترجیحاً علاوه بر تحریک رشد باکتری‌های مفید روده‌ای، مواد مفید تخمیری نیز تولید کرده (Mahious و همکاران، ۲۰۰۵) که حجم گازهای تولید شده توسط روده و تولید اسیدهای چرب زنجیره کوتاه به‌عنوان معیاری برای اندازه‌گیری تخمیر میکروبی کربوهیدرات‌ها در نظر گرفته می‌شود (۲۳).

پربیوتیک ایمونوژن به‌عنوان یک مکمل غذایی دارای ترکیبات متعددی است. این ماده از دیواره سلولی سویه‌ای از مخمر ساکارومایسس سرویزیا (*Saccharomyces cervisiae*) خلیص شده است. ایمونوژن دارای دو ترکیب اصلی شامل مانان‌الیگوساکارید و (۱و۳-۱و۶) بتاگلوکان بوده که نسبت به سایر ترکیبات موجود در دیواره سلولی مخمر بیش‌ترین اثر را در افزایش توان ایمنی ماهیان دارد (۱۵).که هر دوی این مواد جزء کربوهیدرات‌ها بوده و جزء مواد پربیوتیکی محسوب می‌شوند (۳۴ و ۱۰). در سال‌های اخیر استفاده از پروبیوتیک‌ها و پربیوتیک‌ها در جیره غذایی ماهیان رونق پیدا نموده است تا ازاین طریق بتوان با بهبود شاخص‌های رشد، سبب افزایش بقاء در آن‌ها شد. به‌دنبال شناسایی باکتری‌های اسید لاکتیک در فلور باکتریایی روده ماهی و میگو در دهه اخیر و مشخص شدن نقش آن‌ها در سلامتی و رشد، تحقیقات به‌سمت معرفی مکمل‌هایی در این زمینه سوق پیدا کرده است (۲۶ و ۲۳)

این تحقیق به‌مدت ۲ ماه در مرکز تحقیقات آبزی‌پروری دانشکده شیلات و محیط‌زیست دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شد. در این آزمایش ۱۲ عدد حوضچه تقریباً مدور ۵۰۰ لیتری با ابعاد (۱×۱×۰/۵) متر به‌عنوان محل پرورش استفاده شد. حجم آب داخل هر مخزن ۲۰۰ لیتر بود که در هر ۲۴ ساعت حدود ۸۰٪ آب تعویض می‌شد. داخل هر مخزن یک عدد سنگ هوا کار گذاشته شد تا اکسیژن مورد نیاز تأمین گردد.

در ابتدا و قبل از انجام آزمایش اصلی، بچه ماهیان با میانگین وزنی حدود ۳ گرم از کارگاه شهید مرجانی تحویل گرفته شد و در حوضچه‌های ۵۰۰ لیتری با حجم آبی حدود ۳۵۰ لیتر با تراکم ۱۰۰ عدد در هر حوضچه مورد تغذیه قرار گرفتند. سازگار نمودن بچه‌ماهیان با غذای دستی بدین شکل بود که ابتدا به‌مدت چند روز اول از دافنی منجمدشده و آرتمیای مولد استفاده شد و بعد از آن از غذای بیومار با اندازه ۰/۵ میلی‌متر (به‌وسیله ویتامین C با دوز ppm ۵۰۰ و عصاره آرتمیا اسپری شده بود)، به‌شکل یک در میان (وعده‌های غذایی) با غذای زنده و غذای بیومار[1] انجام شد. عمل سازگاری بچه‌ماهیان حدود ۳۰ روز به‌طول انجامید و پس از آن به‌مدت ۲ ماه بچه ماهیان به میانگین وزن ۲۷ گرم رسیدند که آزمایش اصلی از این زمان شروع شد که تعداد ۱۲ عدد بچه ماهی پس از زیست‌سنجی و اندازه‌گیری طول و وزن آن‌ها با میانگین وزن ابتدایی (۲۷±۰/۴۷) گرم به‌طور کاملاً تصادفی در هر حوضچه، ذخیره شد.

از آن‌جایی‌که سطوح بهینه پروتئین، کربوهیدرات و چربی در جیره غذایی بچه ماهیان قره‌برون در رشد مطلوب آن‌ها از نقش مهمی برخوردار است، لذا اساس تنظیم جیره‌های غذایی

1- Biomar

بر تأمین سطوح بهینه این مواد غذایی و با در نظر گرفتن احتیاجات غذایی بچه ماهی قره‌برون صورت گرفت. برای اطمینان از اثر یکسان مواد تشکیل‌دهنده جیره‌های غذایی در نتایج تحقیق و یکسان بودن اثر عوامل ناشناخته مؤثر در رشد مانند، انواع مواد معدنی سعی گردید نسبت استفاده از اقلام اصلی جیره‌های غذایی در تمام آن‌ها تقریباً یکسان در نظر گرفته شود و پربیوتیک ایمونوژن به نسبتی که شرکت مورد نظر در نظر گرفته بود در جیره قرار داده شد. بالانس جیره با استفاده از نرم‌افزار UFFDA انجام شد.

پس از مشخص شدن فرمول جیره غذایی و آماده کردن اقلام غذایی مورد نیاز آن‌ها، ابتدا مواد اولیه خشک (شامل: پودر ماهی، آرد گندم، آرد جو، آرد سویا، آرد ذرت، مکمل معدنی و ویتامینی، پربیوتیک ایمونوژن و ضد قارچ) برای ساخت هر یک از جیره‌های غذایی اقلام غذایی به کمک ترازوی آزمایشگاهی با دقت ۰/۰۱ گرم توزین شده و این اقلام خوب با هم مخلوط گردیدند. پس از ۲۰ دقیقه مخلوط کردن اقلام غذایی، روغن ماهی، روغن سویا وروغن کلزا در حین مخلوط کردن بتدریج افزوده شد. پس از ۲۰ دقیقه هم زدن به تدریج آب (تا حدی که مخلوط حاصل شکل پذیری مناسبی را برای پلت شدن حاصل نماید) اضافه شد، سپس مخلوط حاصل به کمک چرخ گوشت صنعتی به‌صورت پلت‌هایی به قطر ۳ میلی‌متر در آمد. رشته‌های خارج شده از چرخ گوشت روی سینی‌های توری گسترده شده و در فضای اتاق به‌مدت ۲۴ ساعت کاملاً خشک شد و پس از خشک کردن، پلت‌ها شکسته شده تا اندازه مناسب (طول ۳ میلی‌متر و قطر متوسط ۳ میلی‌متر با توجه به اندازه دهان ماهی) پیدا نمایند. در پایان پلت‌ها در بسته‌های مناسب بسته‌بندی و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. به منظور اطلاع از ترکیب شیمیایی جیره‌های ساخته شده ۲ نمونه از هریک از آن‌ها در آزمایشگاه مورد تجزیه قرار گرفت که نتایج حاصل در جدول (۱) آورده شده است.

برای پی بردن به عملکرد جیره غذایی و چگونگی رشد بچه ماهی‌ها، هر دو هفته یکبار تمام ماهیان با ترازویی با دقت ۰/۰۱ گرم توزین شده و با خط‌کش دقت یک میلی‌متر، طول کل آن‌ها اندازه‌گیری می‌شد. لازم به‌ذکر است ۲۴ ساعت قبل و بعد از زیست‌سنجی غذادهی قطع می‌گردید و در زمان زیست سنجی حوضچه‌ها، شیلنگ‌ها و سنگ‌های هوا به‌طور کامل تمیز می‌شدند.

هنگام تغذیه بچه ماهیان ابتدا هوادهی قطع، سپس با توجه به نتایج حاصل از زیست‌سنجی هر یک از حوضچه‌های پرورشی، غذای مورد نیاز هر حوضچه محاسبه و برای ۲ هفته بعد تنظیم می‌شد. غذادهی در ابتدا ۳/۵ درصد وزن زنده و سپس بر اساس تغییرات وزن به ۳ ٪، ۲/۵٪ و ۲ ٪ و غذادهی به صورت دستی انجام می‌گرفت. ماهیان روزانه در ۲ وعده (ساعت ۸ صبح و ۴ بعدازظهر) غذادهی شدند. طول دوره آزمایش بر اساس منابع علمی حدود ۲ ماه به‌طول انجامید.

جدول ۱: ترکیب جیره‌های غذایی آزمایشی به درصد برای بچه ماهی قره برون پرورشی

مواد جیره	تیمار			
	شاهد	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ۴
پودر ماهی کیلکا	٪۶۵	٪۶۵	٪۶۵	٪۶۵
آرد گندم	٪۵	٪۵	٪۵	٪۵
آرد جو	٪۳	٪۳	٪۳	٪۳
آردسویا	٪۱۰	٪۱۰	٪۱۰	٪۱۰
آرد ذرت	٪۳	٪۳	٪۳	٪۳
روغن ماهی	٪۵	٪۵	٪۵	٪۵
روغن سویا	٪۲	٪۲	٪۲	٪۲
روغن کلزا	٪۲	٪۲	٪۲	٪۲
لیستین	٪۲	٪۲	٪۲	٪۲
مکمل معدنی	٪۱	٪۱	٪۱	٪۱
مکمل ویتامینی	٪۱	٪۱	٪۱	٪۱
دی‌کلسیم فسفات	٪۰/۷۵	٪۰/۷۵	٪۰/۷۵	٪۰/۷۵
ضد قارچ	٪۰/۲۵	٪۰/۲۵	٪۰/۲۵	٪۰/۲۵
پربیوتیک ایمونوژن	۰	٪۰/۰۵	٪۰/۱	٪۰/۲

جدول۲: ترکیب شیمیایی جیره‌های غذایی

ترکیب شیمیایی جیره	تیمارها			
	شاهد	تیمار ۰/۰۵	تیمار ۰/۱	تیمار ۰/۲
پروتئین(درصد)	۴۲/۱±۰/۵	۴۲/۱۸±۰/۲	۴۲/۹۸±۰/۴	۴۲/۲±۰/۳
چربی (درصد)	۱۶/۸±۰/۳	۱۶/۲۵±۰/۲	۱۶/۱۷±۰/۴	۱۶/۱۹±۰/۳
خاکستر(درصد)	۱۰/۸±۰/۰۶	۱۰/۹۵±۰/۰۷	۱۰/۶۸±۰/۰۵	۱۰/۷۵±۰/۰۷
رطوبت درصد)	۷/۷۳±۰/۱	۷/۶۵±۰/۳	۷/۵۸±۰/۲	۷/۶۸±۰/۴
انرژی خام (کالری بر گرم)	۵۴۸۰±۵۸	۵۴۸۵±۶۸	۵۴۷۵±۶۱	۵۴۷۸±۷۰

اعداد (SD ± میانگین با ۲ تکرار)

به‌منظور هوادهی محیط پرورشی جهت ایجاد شرایط مطلوب در محیط پرورش بچه ماهیان، در هر یک از حوضچه‌ها، هوادهی مناسب از طریق سنگ هوای متصل به یک کمپرسور مرکزی برقرار شده بود. نظر به اهمیت پارامترهای محیطی در پرورش بچه ماهیان، عوامل مختلف از جمله میانگین درجه حرارت، اکسیژن محلول، pH، با استفاده از دستگاه واترچکر مدل هانا (Hana) به‌طور هفتگی اندازه‌گیری و ثبت می‌گردید. میانگین دما درحوضچه‌های پرورش بچه ماهیان در حدود ۲۲/۳۵ درجه سانتی‌گراد بود. منبع آب مورد استفاده برای پرورش، از آب شهری (کلرزدایی شده با هوادهی و تیو سولفات سدیم) بود.

نمونه‌گیری در بچه ماهیان به‌وسیله قطع ساقه دمی انجام گرفت. نمونه خون گرفته شده تا رسیدن به آزمایشگاه درون لوله‌های حاوی ماده ضد انعقاد EDTA[1] در مجاورت یخ نگهداری شدند.

برای اندازه‌گیری هموگلوبین از روش سیان مت‌هموگلوبین به‌شرح زیر استفاده گردید (۳۵). ۲۰ میکرولیتر خون را توسط پیپت سمپلر (پیپت سالی) کشیده و با ۵ میلی‌لیتر محلول در آبکین (محلول درآبکین از انحلال ۰/۲ گرم فری سیانیر پتاسیم و ۰/۰۵ گرم سیانیر پتاسیم و ۰/۱۴ گرم فسفات دی هیدروژن پتاسیم در ۱۰۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر تهیه شد) رقیق و به‌مدت ۱۰ دقیقه در تاریکی گذاشته تا دیواره گلبول‌های قرمز از بین برود (گلبول‌های قرمز لیز شود) پس از لیز شدن با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر با طول موج ۵۴۶-۵۴۰ جذب نوری تست و استاندارد را در مقابل شاهد خوانده و غلظت هموگلوبین بر حسب گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر (g/dl) محاسبه گردید (مدت زمان نگهداری خون برای اندازه‌گیری هموگلوبین، ۲۴ ساعت)(۳).

مقدار هماتوکریت بیان کننده حجم گلبول‌های قرمز کل خون است. تعیین هماتوکریت نیز با روش میکروهماتوکریت و با سانتریفوژ و خط‌کش مخصوص هماتوکریت خوان سنجیده شد (۳). بدین ترتیب که پس از همگن کردن خون، لوله میکروپیپت هماتوکریت را از خون پر کرده (این لوله‌ها به طول ۷/۵ سانتی‌متر بوده که حدود دوسوم این لوله را از خون پر می‌کنند)، با دستگاه سانتریفوژ هماتوکریت با دور ۸۰۰۰ دور در دقیقه به‌مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ کرده و در انتها میزان گلبول قرمز بر حسب درصد با خط‌کش میکروهماتوکریت تعیین گردید.

از آن‌جایی که گلبول قرمز ماهیان هسته‌دار است برای شمارش آن‌ها از محلولی استفاده می‌شود که گلبول‌های سفید و قرمز با آن رنگ‌های متفاوتی گرفته و شمارش آن‌ها به سهولت انجام می گیرد. این محلول باید روزانه و قبل از شمارش تهیه شود. ترکیب این محلول شامل دی کلرید جیوه ۰/۲۵ گرم، سولفات سدیم ۲/۵ گرم و ۰/۵ گرم کلرید سدیم و ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر می‌باشد (۲). خون به‌وسیله لوله پلاستیکی (مکنده) متصل به پیپت ملانژور تا خط ۰/۵ با دقت پر شد. سپس خون اطراف پیپت به‌وسیله پارچه تمیز کاملاً پاک شده و محلول رقیق‌کننده گلبول قرمز تا درجه ۱۰۱ پر گردید و نمونه به نسبت یک‌دویستم ۱/۲۰۰ رقیق شد (۲). سپس محتویات پیپت به‌مدت ۳ دقیقه توسط شیکر مخلوط شد. چهار قطره اول سرم را دور ریخته و سپس یک قطره روی لام نئوبار ریخته شد. برای شمارش ابتدا توسط عدسی ۱۰، منطقه مخصوص شمارش تعیین شد و گلبول‌ها در ۵ مربع کوچک و در مجموع در ۲۵ مربع مخصوص شمارش گلبول‌های قرمز (۴ مربع در گوشه و

1- Ethylen Diamine Tetra-acetic Acide

یک مربع در مرکز لام نئوبار) شمارش شدند و در انتها از رابطه ۱۰۰۰۰ × X = ۱۰ × ۲۰۰ × ۵ × X (تعداد اریتروسیت‌های شمارش شده در ۵ خانه = X) استفاده شد تا تعداد اریتروسیت-ها در یک میلی‌متر مکعب خون محاسبه شود.

برای تعیین اندیس‌های خونی با استفاده از میزان هماتوکریت (PCV) و تعداد اریتروسیت‌ها (RBC) از روابط ریاضی زیر استفاده شد (۲).

حجم متوسط گلبولی[1] (MCV): $MCV = \frac{PCV \times 10}{RBC}$

بر حسب فمتولیتر (fl)، RBC بر حسب میلیون

هموگلوبین متوسط گلبولی[2] (MCH): $MCH = \frac{Hb \times 10}{RBC}$

بر حسب پیکوگرم (pg)، RBC بر حسب میلیون

غلظت متوسط هموگلوبین گلبول‌های قرمز[3] (MCHC): $MCHC = \frac{Hb \times 100}{PCV}$ بر حسب درصد

شمارش گلبول‌های سفید در خون ماهی با رقیق کردن خون هپارینه توسط محلول‌ها نیز میسر است. محلول به‌کار برده شده برای رقیق کردن خون، محلول ریس بود که از مواد زیر تشکیل شده است (۳):

رنگ Brilliantcresyl / Blue ۰/۱ گرم، سیترات سدیم ۳/۸ گرم، فرمالین ۴۰ درصد ۰/۲ میلی‌مترمکعب (سی‌سی)، آب مقطر تا ۱۰۰ میلی‌مترمکعب (سی‌سی)

خون به‌وسیله لوله پلاستیکی (مکنده) متصل به پیپت ملانژور تا خط ۰/۵ با دقت پر شد. سپس خون اطراف پیپت به‌وسیله پارچه تمیز کاملاً پاک شده و محلول رقیق‌کننده گلبول قرمز تا درجه ۱۰۱ پر گردید و نمونه به نسبت یک‌دویستم ۱/۲۰۰ رقیق شد (۲). سپس به مدت ۳۰ ثانیه در دستگاه ویبراتور (یا توسط دست) به خوبی مخلوط شد. چند قطره اول دور ریخته شد و سپس یک قطره روی لام نئوبار ریخته شد و با درشت‌نمایی ۴۰، گلبول‌های سفید در ۴ مربع بزرگ ۱۶ تایی شمارش گردید.

برای شمارش افتراقی (Diff) گلبول‌های سفید گسترش ثابت تهیه شد و برای رنگ‌آمیزی از محلول گیمسا[4] (ساخت شرکت مرک آلمان) با رقت ۰/۱ استفاده شد و بسته به نوع واکنش سلول‌ها با رنگ، انواع گلبول‌های سفید (گرانولوسیت‌ها شامل بازوفیل، ائوزینوفیل و نوتروفیل و آگرانولوسیت‌ها شامل لنفوسیت و مونوسیت) از یکدیگر متمایز و شمارش شدند.

این بررسی روی خون فاقد ماده ضد انعقاد هپارین انجام گرفت. برای اندازه‌گیری غیرالکترولیت‌ها، سرم خون جداسازی شد. در این مطالعه سنجش کلسترول، پروتئین تام و آلبومین به‌وسیله دستگاه بیوشیمی آنالایزر ساخت شرکت اپندورف آلمان طبق دستورالعمل شرکت سازنده با استفاده از کیت‌های آزمایشگاهی (پارس آزمون، تهران، ایران) مورد سنجش قرار گرفت. کورتیزول با استفاده از روش ELISA و کیت آزمایشگاهی (IBL، هامبورگ، آلمان) اندازه‌گیری شد.

به‌منظور بررسی قابلیت تشکیل کلنی و تثبیت لاکتوباسیلوس‌ها در روده بچه ماهیان قره‌برون تغذیه شده با سطوح مختلف پربیوتیک ایمونوژن در انتهای دوره به‌طور تصادفی از ماهیان نمونه‌برداری انجام گرفت. نمونه‌ها درمجاورت یخ به آزمایشگاه برده شدند. در آزمایشگاه ابتدا طول و وزن آن‌ها با استفاده از خط‌کش و ترازوی دیجیتالی اندازه‌گیری شد. برای از بین بردن باکتری‌های سطح بدن ماهی، نمونه ماهی در ابتدا در محلول بنزالکونیوم کلراید ۰/۱ درصد به‌مدت ۱ دقیقه قرار گرفته(۲۸) و سپس ناحیه شکمی ماهی با استفاده از تیغ جراحی استریل شکافته و روده آن‌ها پس از جداسازی برای هموژن‌سازی به هاون چینی استریل منتقل گردید.

پس ازتهیه نمونه هموژن با استفاده محلول نمکی استریل نرمال (Nac w/v ۰/۸۷ درصد) رقت‌های مختلف در دامنه 10^{-1}تا 10^{-8} تهیه گردید. از رقت‌های مورد نظر تحت شرایط ضدعفونی حجمی معادل ۰/۱ میلی‌لیتر برداشته و به پلیت حاوی محیط کشت نوترینت آگار (NA) برای کل باکتری‌ها و محیط کشت ام.آر.اس برای لاکتو باسیلوس منتقل و در سطح آن پخش گردید (۲۹).

انکوباسیون پلیت‌ها به‌مدت ۷۲ ساعت در دمای اتاق و در شرایط هوازی انجام شد. تعداد باکتری‌ها در هر یک نمونه‌ها براساس‌لگاریتم واحدکلنی (تعداد کلنی × عکس ضریب رقیق‌سازی =CFU و CFU/g intestine) شمارش وتعیین گردیدند (۳۱).

تمامی آزمایش‌های باکتریایی در آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشکده علوم، دانشگاه منابع طبیعی گرگان انجام گردید.

1- Mean Corpuscular Volume
2- Mean Corpuscular Hemoglobin
3- Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration
4 - Gimesa

افزایش وزن بدن[1] (۳۶):

$BWI = Wt_2 - Wt_1$

Wt_1 = گرم وزن اولیه ماهی

Wt_2 = گرم وزن نهایی ماهی

درصد افزایش وزن بدن[2] (۸):

$PBWI\ (\%) = [(Wt_2 - Wt_1) / Wt_1] \times 100$

Wt_1 = گرم وزن اولیه ماهی

Wt_2 = گرم وزن نهایی ماهی

نرخ رشد ویژه[3] (درصد در روز)(۱۹):

$SGR(\%\ /day) = [(LnWt_2 - LnWt_1) / t_2 - t_1] \times 100$

$LnWt_1$ = لگاریتم طبیعی وزن اولیه ماهی

$LnWt_2$ = لگاریتم طبیعی نهایی ماهی

$t_2 - t_1$ = طول دوره آزمایش

فاکتور وضعیت[4] (۲۱):

$CF = [W / L^3] \times 100$

W= وزن ماهی بر حسب گرم

L = طول کل ماهی بر حسب سانتی متر

تولید خالص[5] (۱۲):

$BWG = (Wt_2 - Wt_1) \times N$

Wt_1 = گرم وزن اولیه ماهی

Wt_2 = گرم وزن نهایی ماهی

N = تعداد ماهی باقی مانده در انتهای دوره

ضریب تبدیل غذایی[6] (۱۹):

در این تحقیق بیش‌تر نشان‌دهنده مقدار غذای مورد استفاده در هر یک از حوضچه‌ها می‌باشد، زیرا اطمینان از این‌که تمام غذای داده شده مورد مصرف ماهیان قرار گرفته است وجود ندارد.

FCR = dry feed eaten (g) / live weight gain (g)

dry feed eaten (g) = غذای خورده شده (گرم)

live weight gain (g) = گرم وزن به‌دست آمده ماهی

غذای خورده شده روزانه[7] (درصد در روز) (۲۱):

$Feeding\ rate\ (\%\ /\ day) = 100 \times I_d \times 2 / ((W_t + W_0) \times t)$

I = کل غذای خورده شده بر حسب گرم

Wt_0 = گرم وزن اولیه ماهی

W_t = گرم وزن نهایی ماهی

$t_2 - t_1$ = طول دوره آزمایش

نسبت کارایی پروتئین[8] (۱۸):

به‌صورت گرم اضافه وزن بر گرم پروتئین مصرف شده بیان می شود و مشخص می‌نماید به ازاء هر واحد از وزن پروتئین غذای خورده شده چه مقدار به وزن ماهی اضافه شده است.

PER (g/g) = live weight gain (g) / protein intake in fish (g)

live weight gain (g) = وزن به‌دست آمده (گرم)

protein intake in fish (g) = پروتئین خورده شده (گرم)

(مقدار غذای خورده شده × درصد پروتئین غذای خورده شده)

درصد بقاء[9] جهت بررسی اثر پربیوتیک ایمونوژن بر روی بقاء، شاخص درصد مورد اندازه‌گیری قرار گرفت که برآورد بقاء در پایان دوره آزمایش و بر اساس تعداد بچه ماهیان زنده مانده صورت گرفت.

$Survival\ Rate = (N_t / N_0) \times 100$

N_0= تعداد ماهیان در ابتدای دوره آزمایش

N_t = تعداد ماهیان در انتهای دوره آزمایش

تعداد ۱۴۴ قطعه بچه ماهی‌قره برون جامعه آماری تحقیق مورد نظر را تشکیل می‌دهد. در ابتدا آزمون نرمالیتی[10] به‌وسیله آزمون شاپیرو ویلک[11] انجام شد. تجزیه و تحلیل بر روی داده-های مربوط به تغییرات معیارهای رشد و فاکتورهای تغذیه‌ای ماهیان از طریق آزمون تجزیه واریانس یک‌طرفه[12] و مقایسه میانگین بین تیمارها بر اساس آزمون چنددامنه‌ای (تست جداساز) دانکن مورد استفاده قرار گرفت. وجود یا عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ با استفاده از نرم‌افزارهای SPSS و Excel در محیط ویندوز انجام شد. مقادیر $P<۰/۰۵$ معنی‌دار تلقی گردید.

با توجه این‌که هر ۲۴ ساعت یک‌بار حدود ۸۰ درصد آب تعویض می‌شد، فاکتورهای کمّی و کیفی در حوضچه‌های پرورشی تیمارهای آزمایشی و شاهد به‌صورت هفتگی اندازه‌گیری شده و اختلاف محسوسی بین آن‌ها دیده نشد. فاکتورهای کیفی آب که در طول مدت آزمایش مورد اندازه‌گیری قرار

1 - Body Weight Increase
2- Percent body Weight Increase
3 - Specific Growth Rate
4- Condition Factor
5- Body Weight Gain
6 - Feed Conversion Ratio
7 - Feeding rate
8- Protein Efficiency Rate
9- Survival Rate
10- Normality
11- Shapiro-Wilk
12- one-way analysis of variance ANOVA

گرفتند شامل میانگین‌های: اکسیژن محلول ۰/۶۵± ۵/۹ میلی‌گرم در لیتر، دما ۰/۶۹± ۲۲/۳۵ درجه سانتی‌گراد و pH آب ۰/۰۸± ۸/۰۴ در نوسان بود.

اکسیژن محلول در آب یکی از فاکتورهای مهم جهت پرورش محسوب می‌شود و در این آزمایش میانگین آن ۰/۶۵± ۵/۹ میلی‌گرم در لیتر مشخص شد. در این آزمایش به‌دلیل هوادهی مستمر، بچه‌ماهیان دچار کمبود اکسیژن نشدند. میزان اکسیژن محلول در طول دوره آزمایش ۵/۲۵ تا ۶/۵۵ میلی‌گرم در لیتر در نوسان بود.

میانگین دمای آب حوضچه‌ها در طول دوره آزمایش به‌طور میانگین ۰/۶۹± ۲۲/۳۵ درجه سانتی‌گراد به‌دست آمد. دمای آب در طول دوره پرورش از حداقل ۲۱/۳ درجه سانتی‌گراد تا حداکثر ۲۳/۵ درجه سانتی‌گراد در نوسان بود.

میانگین اسیدیته آب در حوضچه‌های ونیرو در محدوده ۰/۰۸± ۸/۰۴ قرار داشت. میزان اسیدیته آب در طول دوره پرورش از حداقل ۷/۸۸ تا حداکثر ۸/۳۲ در نوسان بود.

به‌دلیل این‌که منبع آب مورد استفاده ما از آب شهری کلرزدایی شده بود میزان شوری آب تغییرات محسوس نداشت و میزان آن در کل دوره پرورش تقریبا ثابت و ۰/۱ ppt ثبت گردید. تأثیر سطوح متفاوت پربیوتیک ایمونوژن بر معیارهای رشد در جدول۳ ارائه شده است.

جدول۳: تاثیر سطوح مختلف ایمونوژن بر شاخص‌های رشد و تغذیه بچه‌ماهی قره‌برون

فاکتورها	تیمار			
	تیمار شاهد	۰/۰۵٪ ایمونوژن	۰/۱٪ ایمونوژن	۰/۲٪ ایمونوژن
میانگین وزن اولیه(گرم)	۲۶/۶۲±۰/۲۷ a	۲۶/۰۱±۰/۵۴ a	۲۷/۰۴±۱/۰۸ a	۲۷/۲۸±۰/۵۶ a
میانگین وزن نهایی(گرم)	۱۲۸/۸±۲/۹۵ b	۱۴۰/۱۲±۴/۱۱ ab	۱۴۸/۵۴±۲/۹۵ a	۱۴۸/۶۷±۷/۰۹ a
میانگین طول اولیه(سانتی‌متر)	۲۰/۱۲±۰/۲۲ a	۲۰/۲±۰/۱۵ a	۲۰/۹۲±۰/۲۱ a	۲۱/۰۶±۰/۲۷ a
میانگین طول نهایی(سانتی‌متر)	۳۳/۴۶±۰/۹۷ b	۳۴/۲۶±۰/۳ ab	۳۵/۱۲±۰/۷۷ a	۳۵/۲±۱/۰۳ a
فاکتور وضعیت اولیه	۰/۳۱±۰/۰۵ a	۰/۳۲±۰/۰۲ a	۰/۳۲±۰/۰۲ a	۰/۳۰±۰/۰۲ a
فاکتور وضعیت نهایی	۰/۳۴±۰/۰۳ a	۰/۳۴±۰/۰۶ a	۰/۳۴±۰/۰۵ a	۰/۳۴±۰/۰۱ a
افزایش وزن (گرم)	۱۰۲/۱۸±۵/۵۷ b	۱۱۴/۱۱±۴/۴۸ ab	۱۲۱/۵۰±۲/۵۶ a	۱۲۱/۳۹±۶/۳۰ a
درصد افزایش وزن	۳۸۳/۳۷±۳۸/۶۵ b	۴۳۸/۱۹±۲۵/۴۴ ab	۴۴۹/۸۵±۳۰/۱۵ a	۴۴۳/۹۳±۳۲/۷۹ a
نرخ رشد ویژه (درصد در روز)	۲/۸۸±۰/۰۴ b	۲/۹۴±۰/۰۸ ab	۲/۹۵±۰/۰۲ ab	۲/۹۷±۰/۰۵ a
غذای خورده شده روزانه (٪ درروز)	۲/۲۲±۰/۰۴ a	۲/۲۲±۰/۱۵ a	۲/۲۷±۰/۰۳ a	۲/۳۰±۰/۰۶ a
ضریب تبدیل غذایی	۱/۲۱±۰/۰۲ a	۰/۹۹±۰/۰۱ ab	۰/۸۵±۰/۰۱ b	۰/۸۴±۰/۰۲ b
کارائی پروتئین (گرم/گرم)	۲/۸۴±۰/۳۹ a	۳/۱۲±۰/۳۲ a	۳/۰۳±۰/۲۶ a	۳/۱۵±۰/۱۱ a
تولید خالص ماهی (گرم)	۱۲۳۸/۳±۱۱۵ b	۱۳۵۷/۵±۹۳ ab	۱۴۳۸/۴±۵۳ ab	۱۴۴۶/۸±۱۳۱ a
شاخص کبدی	۲/۳۰±۰/۲۶ a	۲/۳۹±۰/۳۳ a	۲/۲۴±۰/۱۴ a	۲/۴۵±۰/۵۰ a
شاخص قیمت (ریال)	۱۴۰۰۰±۵۱۳ a	۱۲۳۷۵±۷۸۶ ab	۱۰۶۲۵±۳۴۱ b	۱۰۵۰۰±۵۳۰ b
بقاء	۱۰۰ a	۱۰۰ a	۱۰۰ a	۱۰۰ a

اعداد (SD ± میانگین با ۳ تکرار) در یک ردیف با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌داری هستند (P<۰/۰۵).

تأثیر سطوح متفاوت پربیوتیک ایمونوژن بر معیارهای فاکتورهای هماتولوژی و سرم خون در جدول‌های ۴و ۵ نشان داده شده است.

جدول۴: نتایج فاکتورهای هماتولوژی خون بچه ماهی قره‌برون

فاکتورها	تیمار			
	تیمار شاهد	۰/۰۵٪ ایمونوژن	۰/۱٪ ایمونوژن	۰/۲٪ ایمونوژن
گلبول سفید (تعداد در میلی‌لیتر)	۸۱۶۶± ۹۴۳ ^{c}	۹۶۶۶±۲۷۷۹ ^{b}	۹۸۳۳±۲۵۲ ^{b}	۱۱۲۶۶±۳۷۲۹ ^{a}
نوتروفیل(%)	۱۵/۳۳±۲/۵۱ ^{a}	۱۴/۳۳±۵/۵۰ ^{a}	۱۶/۳۳±۴/۱۶ ^{a}	۱۷±۷ ^{a}
لنفوسیت(%)	۸۲± ۴ ^{a}	۸۴/۳۳±۵/۵۰ ^{a}	۸۰/۳۳±۲/۳۰ ^{a}	۸۲±۷/۹۳ ^{a}
ائوزینوفیل(%)	۲±۱ ^{a}	۱±۱ ^{a}	۲/۶۶±۲/۰۸ ^{a}	۰/۶۶±۰/۵۷ ^{a}
مونوسیت(%)	۰/۶۶±۰/۵۷ ^{a}	۰/۳۳±۰/۵۷ ^{a}	۰/۳۳±۰/۵۷ ^{a}	۰/۳۳±۰/۵۷ ^{a}
گلبول قرمز(ml)	۸۴۷۹۷۳/۷±۱۷۷۸/۹ ^{a}	۸۴۱۶۸۳/۳±۳۲۳۳۶/۶ ^{a}	۸۵۳۶۵۴/۳±۴۱۱۰۹/۸ ^{a}	۸۴۲۸۳۲/۸±۲۹۳۱۹/۶ ^{a}
هموگلوبین(gr/dl)	۱۴/۳۷±۰/۳ ^{a}	۱۴/۲۶±۰/۷ ^{a}	۱۴/۶۷±۱/۲ ^{a}	۱۴/۳۳±۰/۹ ^{a}
هماتوکریت(%)	۴۴/۱۷±۲/۳۰ ^{a}	۴۴/۰۱±۲/۳ ^{a}	۴۴/۴۶±۳/۸ ^{a}	۴۴/۰۹±۱/۹ ^{a}
(fl) MCV	۵۲۰/۶±۱۸/۹۸ ^{a}	۵۰۹/۳±۹ ^{a}	۵۳۸/۷±۲۵/۵۶ ^{a}	۵۱۸/۴±۲۷/۲۴ ^{a}
(pg) MCH	۱۶۹/۴۴±۱/۸ ^{a}	۱۵۷/۰۸±۱/۸۶ ^{a}	۱۸۱/۲۵±۷/۹۵ ^{a}	۱۶۳/۲۴±۱۰/۴۸ ^{a}
(%) MCHC	۳۲/۶۱±۰/۹۳ ^{a}	۳۲/۱۴±۰/۲۱ ^{a}	۳۳/۰۲±۰/۱۵ ^{a}	۳۲/۳۴±۰/۴۹ ^{a}

اعداد (SD ± میانگین با ۳ تکرار) در یک ردیف با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌داری هستند (P<۰/۰۵).

جدول۵: نتایج فاکتورهای سرم خون بچه ماهی قره برون

فاکتورها	تیمار			
	تیمار شاهد	۰/۰۵٪ ایمونوژن	۰/۱٪ ایمونوژن	۰/۲٪ ایمونوژن
آلبومین (gr/dl)	۱/۲۳±۰/۰۸ ^{a}	۱/۳±۰/۰۵ ^{a}	۱/۳±۰/۰۶ ^{a}	۱/۵۳±۰/۱ ^{a}
گلوبولین (gr/dl)	۰/۹۳±۰/۱ ^{a}	۱/۰۳±۰/۱ ^{a}	۱/۰۷±۰/۱ ^{a}	۱/۰۷±۰/۰۵ ^{a}
گلوکز(mgr/dl)	۸۸/۳۳±۱۱/۳۵ ^{a}	۸۹±۷/۷۶ ^{a}	۸۷/۶۷±۴/۶۶ ^{a}	۸۱±۸/۱۸ ^{a}
کلسترول (mgr/dl)	۱۷۲/۶۷±۳۶/۲۸ ^{a}	۱۲۰/۳۳±۲۱/۲۷ ^{b}	۱۳۸±۵/۵۰ ^{ab}	۱۵۲±۴/۶۲ ^{ab}
پرتئین کل(gr/dl)	۲/۱۵±۰/۰۴ ^{a}	۲/۳۲±۰/۳ ^{a}	۲/۳۶±۰/۱۱ ^{a}	۲/۵۸±۰/۰۳ ^{a}
کورتیزول (µgr/dl)	۴۱/۲۷±۸/۶۲ ^{a}	۳۳/۲±۴/۰۶ ^{ab}	۱۵/۹۳±۳/۰۹ ^{b}	۱۵/۳±۱/۸۵ ^{b}

اعداد (SD ± میانگین با ۳ تکرار) در یک ردیف با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌داری هستند (P<۰/۰۵).

نتایج مربوط به اثر سطوح مختلف ایمونوژن بر ترکیبات لاشه بدن بچه قره‌برون در جدول۶ نشان داده شده است

جدول۶: مقایسه میانگین ترکیبات بدن بچه ماهی قره برون (درصد) نسبت به اثر سطوح مختلف ایمونوژن

ترکیبات لاشه تر	ترکیبات لاشه	تیمار			
	اولیه تر	شاهد	۰/۰۵٪ ایمونوژن	۰/۱٪ ایمونوژن	۰/۲٪ ایمونوژن
پروتئین(درصد)	۱۷/۸۴	۱۷/۶۰±۰/۰۸ ^{a}	۱۸/۱۸±۰/۴۳ ^{a}	۱۸/۰۱±۰/۴۸ ^{a}	۱۷/۵۱±۰/۴۳ ^{a}
چربی(درصد)	۴/۴۷	۶/۴۵±۰/۷۵ ^{a}	۶/۸۰±۰/۳۵ ^{a}	۶/۰۹±۰/۴۹ ^{a}	۶/۱۰±۰/۳۵ ^{a}
رطوبت(درصد)	۷۷/۸۳	۷۵/۳۷±۰/۵۴ ^{a}	۷۴/۵۷±۰/۶۹ ^{a}	۷۵/۷۹±۰/۷۴ ^{a}	۷۵/۹۲±۰/۴۱ ^{a}
خاکستر (درصد)	۳/۹	۴/۵۶±۰/۱۱ ^{a}	۵±۰/۷۹ ^{a}	۵/۲۶±۰/۷۵ ^{a}	۵/۲۳±۰/۵۵ ^{a}
انرژی لاشه (کالری/گرم)	۵۷۵۷	۶۲۹۷±۶۸ ^{a}	۶۳۲۷/۳±۹۹/۸۴ ^{a}	۶۲۵۱/۶۶±۷۲/۲۷ ^{a}	۶۱۹۲±۵۶/۵۵ ^{a}

اعداد (SD ± میانگین با ۳ تکرار) در یک ردیف با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌داری هستند (P<۰/۰۵).

(p=۰/۱۹۲) پروتئین لاشه، (p=۰/۳۳) چربی لاشه، (p=۰/۰۹۸) رطوبت لاشه، (p=۰/۵۱۸) خاکستر لاشه، (p=۰/۲۲۴) انرژی لاشه

آزمایشات باکتریایی در بچه ماهی قره‌برون پرورشی تغذیه شده با سطوح مختلف ایمونوژن، مشخص کرد که این ترکیب به خوبی توانسته در روده این ماهی جایگزین گشته و بر تراکم جمعیت میکروبی به‌خصوص لاکتوباسیلوس‌ها تاثیر بگذارد. نتایج مربوط به اثر سطوح مختلف ایمونوژن بر فلور باکتریایی روده بچه ماهی قره‌برون در جدول۷ نشان داده شده است.

جدول۷: شمارش باکتریایی(روده logCFU/gr) در بچه‌ماهی‌قره‌برون تغذیه شده با سطوح مختلف ایمونوژن

باکتری	تیمار			
	شاهد	۰/۰۵٪ ایمونوژن	۰/۱٪ ایمونوژن	۰/۲٪ ایمونوژن
CFU کل باکتری روده	۸/۸۱±۱/۱۴ a	۶/۵۳±۱/۰۴ b	۶/۴۵±۱/۸۵ b	۵/۶۲±۱/۴۸ b
CFU لاکتوباسیلوس‌های روده	۱/۱۳±۱/۰۴ b	۳/۱۰±۰/۹۵ a	۳/۸۳±۱/۰۲ a	۴/۵۹±۰/۳۷ a

اعداد (SD ± میانگین با ۵ تکرار) در یک ردیف با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌داری هستند (P<۰/۰۵).

کم‌ترین لگاریتم واحد کلنی کل باکتری‌ها مربوط به تیمار ۰/۲ درصد ایمونوژن بود و بیش‌ترین آن مربوط به گروه شاهد بود که بین این دو اختلاف معنی‌دار وجود داشت(P<۰/۰۵)، در مجموع بین گروه شاهد و تیمارهای ایمونوژن اختلاف معنی‌دار بود (P<۰/۰۵)، ولی بین تیمارهای ایمونوژن اختلاف معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵).

کم‌ترین لگاریتم واحد کلنی لاکتوباسیلوس‌ها مربوط به گروه شاهد بود و بیش‌ترین آن مربوط به تیمار ۰/۲ درصد ایمونوژن بود که بین این دو اختلاف معنی‌دار وجود داشت (P<۰/۰۵)، در مجموع بین گروه شاهد و تیمارهای ایمونوژن اختلاف معنی‌دار بود(P<۰/۰۵)، ولی بین خود تیمارهای ایمونوژن اختلاف معنی‌دار وجود نداشت(P>۰/۰۵)، که در جداول ۴ و ۵ نشان داده شده است.

کربوهیدرات‌های غیرقابل هضم موجود در ایمونوژن عبارتند از: بتاگلوکان و مانان‌الیگوساکارید که هر دو دارای نقش پربیوتیکی هستند. الیگوساکاریدهای غیرقابل هضم موجود در جیره غذایی سبب تحریک رشد باکتری‌های مفید روده می‌شوند. این الیگوساکاریدها به‌دلیل ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی خاص و فقدان آنزیم‌های هیدرولیزکننده‌ی اتصالات نوع β بین واحدهای منوساکاریدی، توسط بسیاری از موجودات از جمله ماهی‌ها قابل جذب نمی‌باشند، لذا در برابر فرایند گوارش مقاومت کرده و تنها توسط برخی باکتری‌های موجود در دستگاه گوارش قابلیت تجزیه شدن را دارند. این باکتری‌ها بیش‌تر شامل بایفیدوباکترها، لاکتوباسیلوس‌ها و بسیاری از باکتری‌های اسیدلاکتیک هستند که قادر به تخمیر از الیگوساکاریدها بوده و در نهایت اثرات مفیدی برای میزبان به همراه داشته باشند. بنابراین تغذیه ماهی با این نوع کربوهیدرات‌ها می‌تواند سبب افزایش جمعیت باکتری‌های مفید روده به‌ویژه بایفیدوباکترها و سایر باکتری‌های اسیدلاکتیک شود. این باکتری‌های پروبیوتیکی باعث تولید آنزیم‌های ویژه (آمیلاز، پروتئاز و لیپاز) می‌شوند (۲۱). به‌علاوه باکتری‌های پروبیوتیکی موجود در دستگاه گوارش ماهی سبب افزایش ساخت و ترشح آنزیم‌های گوارشی در میزبان نیز می‌شوند (۳۷). این آنزیم‌ها در نهایت منجر به افزایش قابلیت هضم چربی‌ها و پروتئین‌های موجود در جیره غذایی شده و کارایی تغذیه و متعاقب آن، رشد را در ماهی میزبان به‌طور قابل‌توجهی افزایش می‌دهند (۱۱). به‌علاوه به‌دلیل کاهش pH روده در نتیجه‌ی ایجاد شرایط تخمیری و تولید اسید، مانع از فعالیت باکتری‌های بیماریزا و مضر در میزبان می‌شوند. هم‌چنین افزایش جذب مواد معدنی را نیز به‌دنبال خواهد داشت (۳۳). بنابراین پربیوتیک ایمونوژن نیز احتمالاً از طریق متعادل ساختن فلور طبیعی روده، از بین بردن یا کاهش تراکم باکتری‌های بیماری‌زای موجود در دستگاه گوارش، افزایش جمعیت باکتری‌های مفید روده و نیز تقویت سیستم ایمنی بدن، در مجموع توانسته است سبب بهبود وضعیت سلامت ماهی و نیز افزایش کارایی هضم و جذب غذا در دستگاه گوارش شود و در نهایت منجر به بهبود عملکرد رشد و تغذیه در بچه ماهی قره‌برون شود.

نتایج مطالعه حاضر با نتایج مطالعات Peng و همکاران (۲۰۰۴) که برروی پربیوتیک تجاری گروبیوتیک[1] AE و مخمر آبجو (۲۷) که بر روی مخمر آبجو خشک شده و پربیوتیک تجاری گروبیوتیک AE، پربیوتیک تجاری گروبیوتیک[2] A که ترکیبات آن مشابه ایمونوژن است هم‌خوانی دارد ولی درصد بقاء با نتایج این محققین هم‌خوانی ندارد.

1- Grobiotic™ AE
2- Grobiotic®

عواملی که در اختلاف موجود بین نتایج محققین در استفاده از پربیوتیک‌ها موثر هست، عبارتند از: نوع گونه پرورشی، اندازه و سن گونه پرورشی، طول دوره پرورش، شرایط بهداشتی محیطی و سیستم پرورشی، رفتارهای تغذیه‌ای، خصوصیات فیزیولوژیک گونه، نوع مواد اولیه به‌کار رفته در تهیه جیره و کمّیت و کیفیت آن‌ها، فرمولاسیون جیره‌های غذایی، نوع پربیوتیک مصرفی، درجه خلوص آن و میزان مورد استفاده آن در جیره.

یکی از عوامل اقتصادی بودن پرورش آبزیان مقدار ضریب تبدیل غذایی است چرا که علاوه بر کاهش هزینه‌های 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. در این مطالعه حداقل مقدار این فاکتور در تیمار ۰/۲ درصد ایمونوژن مشاهده گردید که با سایر تیمارهای ایمونوژن اختلاف معنی‌دار نبود ($P>0/05$)، ولی با گروه شاهد اختلاف معنی‌دار بود ($P<0/05$). توضیح این که همیشه بخشی از غذا، قابل دسترس برای ماهی نیست یعنی همه پروتئین و چربی و کربوهیدرات وسایر اقلام غذایی، مورد استفاده ماهی قرار نمی‌گیرد و بخشی از آن به شکل پرت از دسترس ماهی خارج می‌شود، استفاده از پربیوتیک ایمونوژن باعث ازدیاد باکتری‌های پروبیوتیکی شده و با توجه به عملکرد این باکتری‌ها در تولید آنزیم‌ها از جمله آمیلاز و لیپاز و پروتئاز و تحریک دستگاه گوارش به ترشح آنزیم‌ها، در نهایت قابلیت هضم و جذب مواد غذایی را افزایش داده و احتمالاً به این دلیل ضریب تبدیل غذایی کاهش یافته است.

در ارتباط با بقاء همان‌طور که از نتایج مشخص شد بقاء برای تمام تیمارها ۱۰۰ درصد بود با توجه به این‌که بقاء متاثر از فاکتورهایی نظیر فاکتورهای محیطی و تغذیه‌ایی است، به نظر می‌رسد یا جیره غذایی بالانس شده و شرایط محیطی (شرایط کیفی آب) توانسته نیازهای ماهی مورد آزمایش را تامین کند و یا این‌که با توجه به این‌که دوره پرورش ماهی خاویاری طولانی است شاید مدت ۲ ماه برای قضاوت اثر ماده مورد نظر بر بقاء کافی نباشد.

نتایج حاصل از آنالیز لاشه در این تحقیق نشان داد که استفاده از پربیوتیک ایمونوژن تاثیر معنی‌داری بر کیفیت لاشه اعم از پروتئین، چربی، خاکستر، رطوبت و انرژی نداشته است. هر چند میزان پروتئین و چربی لاشه در تیمار ۰/۰۵ درصد ایمونوژن بیش‌تر از سایرین بود که می‌تواند به‌علت بالاتر بودن بازده پروتئینی و ابقاء پروتئین در این سطح باشد.

نتایج این تحقیق نشان داد که استفاده از ایمونوژن در جیره به میزان ۰/۱ و ۰/۲ درصد باعث کاهش هزینه تمام شده تولید گردید. دلیل این کاهش هزینه (با توجه به ثابت بودن میزان غذادهی در دوره و یکسان بودن هزینه غذاهای مختلف) به دلیل بهبود عملکرد رشد در این تیمارها می‌باشد. در این دو تیمار ضریب تبدیل غذایی نسبت به شاهد بهتر بوده که می‌تواند به‌دلیل جذب بیش‌تر مواد غذایی در این تیمارها نسبت به شاهد باشد.

بررسی فاکتورهای بیوشیمیایی و خون‌شناسی می‌تواند نقش مهمی در تشخیص بیماری‌های عفونی، خونی و مسمومیت‌ها آبزیان داشته باشد. به‌طورکلی محققین بر این باورند که فاکتورهای خونی و سرمی در ماهیان مختلف با هم تفاوت دارد و ارتباط زیادی با شرایط محیط پرورش، اندازه و سن ماهی، نوع گونه، کمیت و کیفیت غذا دارند، بنابراین برای هر گونه ماهی در شرایط اقلیمی هر منطقه مقادیر طبیعی این فاکتورها وجود دارد. با توجه به دوره پرورش بالای ماهیان خاویاری آگاهی از فاکتورهای خونی و بیوشیمیایی این ماهیان ضروری می‌باشد تا با داشتن اطلاعات خون‌شناسی در حالت طبیعی و مقایسه‌ای با اطلاعاتی که در حالات و شرایط بیماری به‌دست می‌آید به تشخیص بیماری، درمان و در نهایت پیشگیری و کنترل آن جهت هدایت مدیریت بهداشتی و افزایش تولید پرداخت.

گلوکز خون یکی از پارامترهای متغیر است که به میزان بسیار زیادی تحت تأثیر استرس دستکاری و حمل، استرس محیطی، تغییرات فصلی، وضعیت تغذیه‌ای و بلوغ جنسی قرار دارد (۲۴). میزان گلوکز سرم خون در تیمارها از یک روند کاهشی برخوردار بوده ولی این اختلاف معنی‌دار نبود، کورتیزول از جمله هورمون‌هایی است که باعث متابولیسم گلیکوژن در کبد و بافت‌های عضلانی می‌شود، زمانی که میزان آن زیاد می‌شود این متابولیسم گلیکوژن خودش را به شکل افزایش گلوکز در سرم خون نشان می‌دهد ولی از آن‌جایی که میزان کورتیزول در سرم کاهش یافته، میزان گلوکز هم تغییر نکرده. یعنی بین افزایش میزان کورتیزول و افزایش گلوکز سرم خون یک ارتباط مثبت وجود دارد.

نتایج نشان داد میزان گلبول قرمز و هموگلوبین و هماتوکریت، MCV، MCH و MCHC در بین گروه شاهد و تیمارهای ایمونوژن از تفاوت معنی‌داری برخوردار نبود. به‌نظر می‌رسد استفاده از این پربیوتیک تاثیری روی این فاکتورها نداشته است. پارامترهای هماتولوژی ماهیان تا حد

زیادی در پاسخ به فاکتورهای بیولوژیکی و محیطی مرتبط می-باشد (۱۳).

فلور میکروبی ماهیان شامل مجموعه‌ای از باکتری‌ها می‌باشد که نقش مهمی را در هضم غذا و کنترل بیماری‌ها بر عهده دارند. فلور باکتریایی دستگاه گوارش ماهیان شامل باکتری‌های دائم، موقت و در حال عبور (که جزء فلور ثابت نیستند) می‌باشد.

Yoshimize و همکاران (۱۹۸۰) اظهار کردند که اکوسیستم روده ماهیان میکروفلور چندان ثابتی ندارد، گرچه دستگاه گوارش ماهیان اکوسیستم متفاوتی را نسبت به آب محیط پرورش فراهم می‌کند. حضور باکتری‌های اسیدلاکتیک به‌عنوان باکتری‌های دائم در اکوسیستم روده ماهیان از جمله ماهی کاد اقیانوسی اطلس، قزل‌آلای رنگین‌کمان و چار قطبی ثابت شده است اما جزء فلور غالب نیستند، هم‌چنین در جداسازی باکتری‌های اسیدلاکتیک فاکتورهایی نظیر نوع محیط کشت، دمای انکوباسیون و طول مدت انکوباسیون بسیار مهم هستند (۱۷).

باکتری‌های اسیدلاکتیک به‌واسطه تولید باکتریوسین‌ها مانع از رشد باکتری‌های بیماریزا می‌شوند و بدین ترتیب اثرات مثبتی بر میکرو فلور روده ماهی می‌گذارند. در بررسی حاضر لگاریتم واحد کلنی(CFU) کل باکتری‌ها از گروه شاهد به سمت تیمارهای ایمونوژن از یک روند کاهشی برخوردار بوده که بین تیمارهای ایمونوژن و گروه شاهد این اختلاف معنی‌داربود ($P<۰/۰۵$)، ولی در بین تیمارهای ایمونوژن این اختلاف معنی‌دار نبود ($P>۰/۰۵$). از طرفی لگاریتم واحد کلنی(CFU) لاکتوباسیلوس‌ها از گروه شاهد به سمت تیمارهای ایمونوژن از یک روند افزایشی برخوردار بوده که بین گروه شاهد و تیمارهای ایمونوژن اختلاف معنی‌دار بوده ($P<۰/۰۵$)، ولی بین تیمارهای ایمونوژن اختلاف معنی‌دار نبوده است($P>۰/۰۵$). به‌نظر می‌رسد پربیوتیک ایمونوژن توانسته مورد استفاده و تخمیر باکتری‌های اسیدلاکتیک قرا رگیرد و تعداد آن‌ها را افزایش و در نهایت فلور روده را به سمت افزایش این باکتری‌ها سوق دهد، که ماحصل آن به‌شکل افزایش تعداد لاکتوباسیلوس‌ها خودش را نشان داده است. در تیمارهای ایمونوژن، لگاریتم واحد کلنی(CFU) کل باکتری کاهش پیدا کرده، به‌نظر می‌رسد که افزایش تکثیر لاکتوباسیلوس‌ها به‌واسطه تخمیر سوبسترای رشد آن‌ها (ایمونوژن) باعث گسترش آن‌ها شده و فضای تشکیل کلونی را برای سایر باکتری‌ها محدود کرده و از طرفی باکتریوسین‌های تولید شده توسط لاکتوباسیلوس‌ها و هم‌چنین اسیدهای چرب کوتاه زنجیره که ماحصل تخمیر این پربیوتیک بوده، محیط کلون را اسیدی کرده و pH اسیدی برای باکتری‌های بیماری‌زا مضر و احتمالاً باعث ریزش باکتری‌های بیماری‌زا شده که در نهایت توانسته از تثبیت این باکتری‌ها جلوگیری کرده، به همین جهت لگاریتم واحد کلنی(CFU)کل باکتری‌ها از یک روند رو به کاهش برخوردار بوده است.

Mahious و همکاران (۲۰۰۵) در مطالعه‌ای تاثیراینولین، الیگوفروکتوز و لاکتوسوکروز به‌عنوان پربیوتیک روی رشد و فلور باکتریایی روده در لارو ماهی دریایی گوشت‌خوار توربوت (*Psetta maxima*) را مورد بررسی قرار دادند. در این تحقیق لارو ماهی توربوت (در سن ۲۹ روزگی تا ۵۵ روزگی) با جیره‌های آزمایشی در سطح ۲ درصد(۲۰ گرم در کیلوگرم) از پربیوتیک مذکور و گروه شاهد نیز به میزان ۲ درصد سلولز به عنوان منبع کربوهیدرات مورد تغذیه قرار گرفتند. در گروه تغذیه شده با الیگوفروکتوز، حدود ۱۴٪ کل فلور باکتریایی جدا شده از روده سویه باسیلوس تعلق داشت. این سویه توانسته بود الیگوفروکتوز را به‌عنوان تنها منبع کربن مصرف کند و نتیجه گرفتند این پربیوتیک می‌تواند نقش مفیدی در رشد ماهی توربوت داشته باشد.

Burr و همکاران (۲۰۰۶) اثرات ترکیبی از مخمر آبجو، فروکتوالیگوساکارید (پربیوتیک) و محصول تجاری پربیوتیکی Grobiotic-A (ترکیب ایمونوژن با پربیوتیکGrobiotic- A و مخمر آبجو تقریباً مشابه است) را بر جمعیت میکروبی دستگاه گوارش ماهی (*Sciaenops ocellatus*) Red drum، مورد مطالعه قرار دادند. بدین منظور آن‌ها روده ماهیان را جدا کرده و سپس محتویات آن را رقیق و با تیمارهای مورد نظر به‌مدت ۲۴ و ۴۸ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد انکوباسیون کردند. نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که محتویات روده انکوباته شده با Grobiotic-A در مدت ۴۸ ساعت، استات و اسیدهای چرب فرار بیش‌تری (که ماحصل تخمیر این پربیوتیک‌ها بوده) در مقایسه با تیمارهای دیگر تولید کرد و هم‌چنین جمعیت میکروبی توسط تیمار Grobiotic-A و مخمر آبجو به‌طور معنی‌داری سبب تغییر جمعیت میکروبی شد که با نتایج ما مطابقت دارد.

Askarian و همکاران (۲۰۰۷) در مطالعه‌ای حضور باکتری‌های اسیدلاکتیک به‌عنوان باکتری‌های پروبیوتیکی در دستگاه گوارش تاس‌ماهی ایرانی و فیل ماهی را مورد بررسی قرار دادند. نتایج باکتریایی در محیط کشتMRS و TSA تحت شرایط هوازی نشان داد که جنس لاکتوباسیلوس از مری، معده و روده بزرگ ماهی جدا شده، این باکتری در شرایط بی‌هوازی علاوه بر

بخش‌های مذکور از روده کوچک نیز جدا شد. هم‌چنین کلنی قابل شمارش باکتریایی در دو گونه مذکور مشابه نبود و در فیل‌ماهی به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از تاس‌ماهی ایرانی بود. نتایج مطالعه حاضر نیز حضور باکتری‌های اسیدلاکتیک را در روده ماهی قره‌برون تایید می‌کند.

تحقیق حاضر یک مطالعه مقدماتی بوده که نیازمند تحقیقات بیش‌تر در زمینه کاربرد استفاده از پربیوتیک‌ها در جیره غذایی ماهیان می‌باشد. در مجموع نتایج مطالعه حاضر حاکی از آن بود که پربیوتیک ایمونوژن در سطوح مورد مطالعه و با این جیره غذایی قابلیت تاثیرگذاری بالایی بر عملکرد رشد و تغذیه قره‌برون جوان پرورشی را دارد، با توجه به این‌که افزایش رشد، کارایی تغذیه وافزایش ایمنی از اهداف آبزی پروری بوده، از طرفی تلفات ماهیان عمدتاً در دوران لاروی بوده و در زمان رهاسازی ماهیان خاویاری تلفات خیلی بالا می‌باشد و هم‌چنین برای حفظ بقاء ماهیان خاویاری نیاز به پرورش گسترده این ماهیان در مراکز پرورش ماهی بوده، لذا به‌نظر می‌رسد با استفاده از این مکمل می‌توان به اهداف مربوطه نزدیک شد و از این پربیوتیک برای جیره غذایی بچه‌ماهی قره‌برون استفاده کرد.

منابع

۱- **ابراهیمی، ع.، ۱۳۸۳.** سطوح مختلف پروتئین و چربی بر رشد وکیفیت لاشه بچه ماهیان انگشت قد ماهی قره‌برون و تاس‌ماهی ایرانی. رساله دکتری شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ۱۱۳صفحه.

۲- **جواهری، ح.، ۱۳۶۱.** اصول تکنیک‌های خون‌شناسی. مرکز کتاب گلگشت. ۱۲۶ صفحه.

۳- **سعیدی، ع.؛ پورغلام، ر.؛ رضایی نصرآباد، ع. و کامکار، م.، ۱۳۸۲.** مقایسه برخی پارامترهای هماتولوژیکال و بیوکمیکال در بچه‌ماهی قره‌برون در درجه حرارت‌های مختلف و مولدین قره‌برون در شرایط دریا. ویژه‌نامه اولین سمپوزیوم ملی ماهیان خاویاری. صفحات ۹۹ تا ۲۳۳.

۴- **سوداگر، م.؛ آذری‌تاکامی، ق.؛ پانوماریف، س.؛ عابدیان، ع. و حسینی، ع.، ۱۳۸۴.** بررسی اثرات سطوح مختلف بتائین و متیونین به‌عنوان جاذب بر شاخص‌های رشد و بقاء فیل‌ماهیان جوان (*Huso huso*) مجله علمی شیلات ایران. شماره سوم، صفحات ۳۳ تا ۳۸.

۵- **عقیلی‌نژاد، م.، ۱۳۷۳.** بررسی مورفوبیولوژیک فیل‌ماهی سواحل جنوبی دریای خزر. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه تهران، ۱۴۳صفحه.

6- **Ai, Q.; Mai, K. ; Tan, B. ; Xu, W. ; Duan, Q.; Ma, H. and Zhang, L., 2006**. Replacement of fish meal by meat and bone meal in diets forlargeYellow croaker (*Pseudosciaena crocea*). Aquaculture. 260: 255-263.

7- **Askarian, F. and Kousha, A., 2007.** Introduce of Belugatex® as natural probiotic isolate from Beluga (*Huso huso*) and Persian sturgeon (*Acipenser persicus*). International Training Course on Fish Nutrition Disease. pp.: 26.

8- **Bekcan, S.; Dogankaya, L. and Cakirogullari, G.C., 2006.** Growth and body composition of European catfish (*Silurus glanis*) fed diet containing different percentages of protein. The Israeli Journal of Aquaculture Bamidgeh. 58: 137-142.

9- **Burr, G.; Hume, Ricke. and Gatlin, D., 2006**. Evaluations of Grobiotic-A, Brewer yeast and Fructo- oligosaccharide as Prebiotic for the Red drum (*Sciaenops ocellatus*). Aquaculture America. Meeting Abstract.

10- **Couso, N.; Castro, R.; Magarinos, B.; Obach, A. and Lamas, J., 2003.** Effect of oral administration of glucan on the resistance of gilthead seabream to pasteurellosis. Aquaculture. 219: 99-109.

11- **De Schrijver, R. and Ollevier, F., 2000.** Protein digestion in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*) and effects of dietary administration of Vibrio proteolyticus. Aquaculture. 186: 107-116.

12- **De Silva, S.S. and Anderson, T.A., 1995.** In: Fish nutrition in aquaculture. Chapman & Hall, London. 319 p.

13- **Fernandes, M.N. and Mazon, A.F., 2003.** Environmental pollution and fish gill morphology. In: Val AL, Kapoor BG (Eds) Fish adaptation. Science, Enfield. pp.: 203–231.

14- **Fooks, L.J.; Fuller, R. and Gibson G.R., 1999**. Prebiotics, probiotics and human gut microbiology. International Dairy Journal. 9: 53-61.

15- **Gatesoupe, F.J., 2007.** Live yeasts in the gut: Natural occurrence, dietary introduction, and their effects on fish health and development. Aquaculture. 267: 20-30.

16- **Gibson, G.R. and Roberfroid, M.B., 1995**.

Techniques for Enrichment of Live Food for Use in Larviculture. pp.: 17-26.

29- **Mahious, A.S.; Gatesoupe, F.J.; Hervi, M.; Metailler, R. and Ollevier, F., 2005**. Effect of dietary inulin and oligosaccharides as prebiotics for weaning Turbot (*Psetta maxima*). Aquaculture International. 14: 219-229.

30- **Peng, L.; Delbert, M. and Gatlin, D.M., 2004**. Dietary brewers yeast and the prebiotic Grobiotic^{TM} AE influence growth performance, immune responses and resistance of hybrid striped bass (*Morone chrysops*×*M. saxatilis*) to *Streptococcus iniae* infection. Aquaculture. 231: 445–456.

31- **Peter, H. and Sneath, A., 1986**. Bergeys Manual of Systematic Bacteriology. 2: 1104-1154.

32- **Rana, K.J., 1997**. Satus of global production and production trends. In Review of the State of the World Aquaculture, FAO Fisheries Circular. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy.

33- **Ringo, E.; Bendiksen, H.R.; Gausen, S.J.; Sundsfjord, A. and Olsen, R.E., 1998**. The effect of dietary fatty acids on lactic acid bacteria associated with the epithelial mucosa and from faecalia of Arctic charr, Salvelinus alpines L. J. Appl. Microbiol. 85: 855– 864.

34- **Salze, G.; Mclean, E.; Schwars, M.H. and Craig, S.R., 2008**. Dietary mannan oligosaccharide enhances Salinity tolerance and gut development of larval cobia. Aquaculture. 274: 148-152.

35- **Stoskopf, M.K., 1993.** Fish medicine. Saunders Company. 882 P.

36- **Tacon, A.G.J., 1990**. Standard methods for the nutrition and feeding of famed fish and shrimp. Argent Laboratories Press. pp.: 4- 24.

37- **Tovar D.; Zbonino, J., Cahu, C.; Gatesoupe, F.J., Vazquez- Juarez, R. and Lesel, R., 2002**. Effect of yeast incorporation in compound diet on digestive enzyme activity in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. Aquaculture. 204: 113-123.

38- **Yoshimize, M.; Kimura, T. and Sakai, M., 1980**. Microflora of the embryo and the fry of salmonids. Bull.Jpn. Sco.Sci.Fish. 46: 967-975.

Dietary modulation of the colonic microbiota. Introducing the concept of prebiotics. Journal of nutrition. 125: 1401-1412.

17- **Hagi, T.; Tanaka, D.; Iwamura, Y. and Hoshino, T., 2004.** Diversity and seasonal changes in lactic acid bacteria in intestinal tract of cultured fish. Aquaculture. 234: 335-346.

18- **Helland, S.J.; Grisdale, B. and Nerland, S., 1996**. Asimple method for the measurement of daily feed intake of groups of fish in tanks. Aquaculture. 139: 157-163.

19- **Hevroy, E.M.; Espe, M.; Waagbo, R.; Sandness, K.; Rund, M. and Hemer, 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.

20- **Hung, S.S.O., 1989**. Choline requirement of hatchery produced juvenile white sturgeon (*Acipenser transmontanus*). Aqauaculture. 78: 183-194.

21- **Irianto, A. and Austin, B., 2002**. Use of probiotics to control furunculosis in rainbow trout, (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum). J. Fish Dis. 25: 1–10.

22- **Kasumyan, A.O., 1994**. Olfactory sensitivity of the sturgeon to free amino acids. Journal of Ichthyology. 77-93.

23- **Kihara, M. and Sakata, T., 2001**. Effects of rearing temperature and dietary on the production of gases and organic acids by gut microbes of an omnivorous teleost, carp (*Cyprinus carpio*), inmicro- scale batch cultures. Suisanzoshoku. 49: 329- 338.

24- **Khanna, S.S. and Singh, T., 1971**. Studies on the blood glucose level in Channa punctatus (Bloch). Acta Zool. 52: 97–101.

25- **Lane, D.E., 1985.** A bibliography on the Waite sturgeon (*Acipenser transmontanus*) Richardson, 1836. Canadian manuscript report of fishies and aquatic scince. No, 1828.

26- **Lindberg, J.C. and Doroshov, S.L., 1986**. Effect of diet switch between natural and propared foods on growth and survival white sturgeon juremles. Trans. Am. fish. Soc. 115: 166-171.

27- **Li, P. and Gatlin, D.M., 2005**. Evaluation of the prebiotic GroBioticTM AE and brewers yeast as dietary supplements for Sub-adult hybrid Striped bass (*Morone chrysops*× *M.saxatilis*) challenged in situ with (*Mycobacterium marinum*) Aquacultur. Vol. 24, No. 8, pp.: 197-205.

28- **Mahious, A.S. and Ollevier, F., 2005**. Probiotics and prebiotics in aquaculture: Review. 1st Regional Workshop on

Effect of prebiotic Immunogen on the growth performance, hematological parameters and intestinal microbial balance of *Acipenser persicus*

- **Ali Jafar Nodeh:** Department of Fisheries, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, P.O.Box: 49138-15739 Gorgan, Iran
- **Mohammad Sudagar*:** Department of Fisheries, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, P.O.Box: 49138-15739 Gorgan, Iran

Received: November 2012 Accepted: January 2012

Key words: Prebiotic, Immunogen, *Acipenser persicus*, Growth performance, Hematological parameters

Abstract

A study to determine the effect of varying dietary prebiotic Immunogen levels on the growth performance, hematological parameters and intestinal microbial balance of (*Acipenser persicus*), was carried out. The commercial prebiotic, Immunogen, were mixed thoroughly with the artificial feeds at concentration of 0.0 (control), 0.5, 1 and 2 g kg^{-1} dry diet and fed to healthy fish (27±0.45 g) at 2 - 3.5 % of their body weight daily in two split doses for 8 weeks. The trail was carried out in 12PVC tanks 500 liter which was filled with about 200 liter of water. That all tanks 12 juvenile Persian sturgeon were stocked. During the experimental period, weight and length of fish were recorded at an interval of 14 days. We studied also hematological parameters and intestinal microbial balance of fish at the end of the experiment. Results showed that specific growth rate (SGR), food conversion ratio (FCR), feed efficiency (FE), body weight gain (BW %) and net production (NP) were significantly ($P<0.05$) different among the experimental groups. no significant difference were observed in body composition ($P>0.05$). There were no significant differences ($P>0.05$) in the haematocrite, hemoglobin, total protein, glucose, albumin and globulin among the treatments. Results also showed that white blood cell (WBC), cholesterol and cortisol levels were significantly ($P<0.05$) different among the experimental groups. In addition, microbial analysis showed that colony forming units (CFU) and intestine *Lactobasilus* were significantly ($P<0.05$) different between control and other experimental groups.

* Corresponding Author's email: Sudagar_m@yahoo.com