

تأثیر دو سویه باکتری پروبیوتیکی (*Weissella confusa* و *Lactococcus lactis*) بر فلورروده، فاکتورهای بیوشیمیایی، شاخص های ایمنی و رشد فیل ماهی (*Huso huso*) جوان

پرورشی

رضا قربانی واقعی^۱، علیرضا شناور ماسوله^۱، رضوان اله کاظمی^۱، هوشنگ یگانه^۱، جلیل جلیل پور^۱ و علی حسین پور^۱^۱ مؤسسه تحقیقات بین المللی تاس ماهیان دریای خزر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی (AREEO)، رشت، ایران، ص.پ:

۴۱۶۳۴ ۳۴۶۴

چکیده

تأثیر افزودن دو سویه باکتری (*Weissella confusa* و *Lactococcus lactis*) جدا شده از روده فیل ماهی، بر فاکتورهای بیوشیمیایی، شاخص های رشد، ایمنی و فلور روده فیل ماهیان جوان به مدت ۲ ماه تعیین گردید. بطور کلی پروبیوتیک ها مکمل های غذایی هستند که به طور مؤثر و سودمند بر میزبان تأثیر گذاشته و موجب بهبود تعادل و توازن فلور روده می گردند. با توجه به اینکه، محیط کشت MRS یک محیط کشت اصلاح شده برای لاکتوباسیل ها (باکتری های مفید بی هوازی اختیاری و برخی گونه ها اجباری) می باشد، افزایش تعداد کلنی این نوع باکتری ها در روده، نشانگر نقش مفید سویه های باکتریایی افزوده شده به جیره غذایی فیل ماهی بود. در محیط کشت TSA تعداد کل باکتری در غذاهای حاوی پروبیوتیک بطور معنی داری کمتر بود. محیط کشت TSA، نوعی محیط عمومی و غیر انتخابی است که مواد مغذی کافی را برای رشد طیف گسترده ای از میکروارگانیسم ها (گرم مثبت و گرم منفی) فراهم می کنند. لذا کمتر بودن تعداد کلنی باکتری ها در محیط کشت TSA در غذاهای حاوی پروبیوتیک، نشانگر بهتر بودن شرایط فلور روده در تیمار های حاوی پروبیوتیک بود. افزایش فلور باکتریایی مفید در نتیجه استفاده از پروبیوتیک ها در جیره غذایی آبزیان توسط تعداد زیادی از محققین مورد تأیید قرار گرفته است. همچنین افزایش پروبیوتیک در مجموع موجب افزایش عملکرد سیستم ایمنی و فاکتورهای بیوشیمیایی گردید. تأثیر افزودن پروبیوتیک بر شاخص های رشد ماهی، با توجه به مرحله رشد ماهی و نوع پروبیوتیک مورد استفاده، می تواند متفاوت باشد.

واژگان کلیدی: فیل ماهی جوان، شاخص های ایمنی و بیوشیمیایی، شاخص های رشد، فلور روده

^۱ نویسنده مسئول: ghorbani_v2@yahoo.com

مقدمه

وسیلا کانفوزا به عنوان یک سویه پروبیوتیکی در جیره غذایی تاس ماهی سیبری (*Acipenser baerii*) استفاده شده است (هاشمی مفرد و همکاران، ۱۳۹۵).

بطور کلی، برای انتخاب پروبیوتیک جهت افزودن به جیره غذایی دو راه وجود دارد. اول استفاده از باکتری بومی و جدا شده از ماهی میزبان و دوم استفاده از پروبیوتیک‌های تجاری موجود. انتخاب اول ممکن است به دلیل قابلیت کلنی شدن در سطح بافت پوششی روده، رشد در داخل مخاط روده، بقاء در دستگاه گوارش میزبان، غیر بیماریزا بودن برای میزبان و سازگاری با محیط زیست، معقول‌تر و از پتانسیل موفقیت بیشتری برخوردار باشد. فلور میکروبی سیستم گوارش دارای چندین عملکرد می‌باشد که برای سلامت میزبان از طریق بهبود عرضه مواد مغذی، ارتقای عملکرد ایمنی، جلوگیری از تشکیل کلنی توسط میکروب‌های بیماریزا، تعادل انرژی، یکپارچگی مخاط و عملکرد آن مفیداند (Welker and Lim, 2011).

در ارزی‌پروری، پروبیوتیک‌ها به عنوان یک فاکتور مهم تغذیه‌ای مؤثر بر عملکرد و فیزیولوژی سیستم گوارش معرفی شده‌اند. نشان داده شده است که، استفاده مناسب از پروبیوتیک موجب بهبود تعادل میکروبی روده و در نتیجه منجر به بهبود جذب مواد مغذی، فعالیت آنزیم‌های گوارشی و کاهش مشکلات بیماریزایی در سیستم گوارش می‌گردد. پروبیوتیک‌ها باید قادر به تولید مواد ضد میکروبی بوده، در برابر محیط اسیدی دستگاه گوارش میزبان مقاومت نموده و به تعداد زیاد تکثیر نمایند. می‌توان پروبیوتیک‌ها را به صورت تک سویه یا چند سویه (ترکیبی) از طریق افزودن به آب یا غذا مورد استفاده قرار داد. پروبیوتیک‌ها به طرور مختلف، خشک شده در انجماد (Freeze-dried)، تولید شده از طریق تخمیر و به شکل زنده با تعیین تاریخ انقضاء تهیه می‌شوند (Yanbo and Zirong, 2006).

روش تحقیق

تحقیق در بخش ارزی‌پروری مؤسسه تحقیقات بین‌المللی تاس ماهیان دریای خزر (ایران- گیلان) انجام گردید. تأثیر افزودن دو سویه باکتری (*Lactococcus lactis*) و *Weissella confusa* جدا شده از روده فیل ماهی به غذای پلت فیل ماهیان جوان به مدت ۲ ماه تعیین گردید. شمارش تفریقی گلبول‌های سفید انجام و شاخص‌های ایمنی و

واژه پروبیوتیک، به معنای برای زندگی می‌باشد. پروبیوتیک‌ها مکمل‌های غذایی هستند که به طور مؤثر و سودمند بر میزبان تأثیر گذاشته و تعادل فلور میکروبی روده را بهبود می‌بخشند. به طور خلاصه، پروبیوتیک‌ها میکروارگانیسم‌هایی هستند که به صورت تک گونه‌ای یا چند گونه‌ای و ترکیبی ایجاد شده و به طور مستقیم به غذا یا محیط آبی اضافه می‌شوند تا به صورت رقابتی از رشد عوامل بیماریزا جلوگیری و یا موجب بهبود وضعیت آب شوند. پروبیوتیک‌ها، پروبیونت، باکتری‌های پروبیوتیک و یا باکتری‌های سودمند واژه‌ها و اصطلاحاتی هستند که بطور هم معنا برای این قبیل میکروارگانیسم‌ها به کار می‌روند (قشقای و لایق، ۱۳۸۳).

شروع استفاده از باکتری اسید لاکتیک در انسان، که در حال حاضر پروبیوتیک نامیده می‌شود، به سال ۱۹۰۸ بر می‌گردد. لذا بیش از ۱۰۰ سال است که سودمندی‌های میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک شناخته شده است. در سال ۱۹۷۰ از باکتری پروبیوتیک در غذای حیوانات استفاده شد. افزودن پروبیوتیک‌ها به غذا برای بهبود رشد، سلامت میزبان و افزایش مقاومت اش نسبت به بیماریها انجام شده است. باکتری‌های اسید لاکتیک، مهم‌ترین گروه باکتری هستند که در تغذیه حیوانات مورد استفاده قرار می‌گیرند (Allameh et al., 2017).

یکی از سویه‌های باکتریایی مورد استفاده در تحقیق حاضر لاکتوکوکوس لاکتیس (*Lactococcus lactis*) می‌باشد. این سویه یک باکتری گرم مثبت است که بطور گسترده‌ای در صنایع غذایی جهت تولید کره و پنیر مورد استفاده قرار می‌گیرد. در همین ارتباط Soltani و همکاران (۲۰۱۶) گزارش نمودند که لاکتوکوکوس لاکتیس می‌تواند به عنوان یک پروبیوتیک مثبت در تاس ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) عمل نماید. باکتری دیگر مورد استفاده در تحقیق حاضر وسیلا کانفوزا (*Weissella confusa*) یک باکتری گرم مثبت می‌باشد. Sharma و همکاران (۲۰۱۸)، ویژگی‌های پروبیوتیکی باکتری وسیلا کانفوزا را مورد بررسی قرار داده و گزارش نمودند که این باکتری دارای رشد و بازماندگی خوب در سیستم گوارشی می‌باشد. در مقابل محیط اسیدی، لیزوزوم و حرارت مقاوم بوده و دارای قابلیت اتصال به سیستم گوارش می‌باشد. همچنین دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی و بتا-گالاکتوسیدازی و انتقال کلسترول بوده و در نتیجه موجب ارتقای سلامت می‌گردد. از باکتری

تأثیر قرار دهد. ماهیان نسبت به پستانداران با شدت بیشتری به مکانیزم دفاع غیر اختصاصی وابستگی دارند. پروبیوتیک ها نقش مهمی در توسعه ایمنی ذاتی در ماهیان بر عهده داشته و لذا به آنها در مقابله با باکتری‌های بیماریزا و محرک‌های تنش‌زای محیطی کمک می‌کنند (Yanbo and Zirong, 2006). سیستم ایمنی می‌تواند به دو طریق یکی از طریق آنتی‌بادی و کمپلمان، دیگری با واسطه سلول‌های سیتوتوکسیک موجب کشته‌شدن سلول‌ها شود. کمپلمان‌ها تقریباً شامل ۲۰ پروتئین حساس به حرارت می‌باشند که در سرم طبیعی خون وجود دارند. این پروتئین‌ها قادرند به همراه آنتی‌بادی‌های متصل شده به سلول و طی یک روند هماهنگ، آثار بیولوژیکی متعددی را در سطح سلول ایجاد کنند. یکی از این آثار، لیز سلول‌ها (تخریب یک سلول به دلیل از میان رفتن غشای بیرونی آن) یا میکروارگانیسم‌ها می‌باشد. سیستم کمپلمان، آغازگر پاسخ‌های التهابی است. همچنین برای اتصال باکتری‌های خارج سلولی به سلول‌های بیگانه خوار، به مکانیسم‌های ایمنی اختصاصی نیاز است. این مکانیسم‌ها شامل تولید آنتی‌بادی از کلاس IgM و فعالیت کمپلمان می‌باشد. در مجموع از مولکول‌های مهم طبیعی ایمنی می‌توان به لیزوزوم، کمپلمان و از مولکول‌های مهم اکتسابی به آنتی‌بادی‌ها و سایتوکاین‌های (دسته‌ای از ولکول‌های پروتئینی محلول در آب، که از یاخته‌های گوناگون و بیشتر در پاسخ به یک تحریک، ترشح شده و وظیفه انتقال پیام بین یاخته‌ها را برعهده دارند) حاصل از لنفوسیت‌ها اشاره نمود. مقایسه ویژگی‌های ایمنی طبیعی و اکتسابی در جدول ۱ ارائه شده است (موسوی، ۱۳۸۳).

پارامترهای بیوشیمیایی اندازه‌گیری شد. برای افزودن پروبیوتیک به غذای تجاری (بطور میانگین حاوی ۴۲ درصد پروتئین خام، ۱۸ درصد چربی خام ۳٫۵ درصد فیبر خام، ۱۰ درصد خاکستر و ۱۰ درصد رطوبت)، پروبیوتیک مورد نیاز ابتدا توزین و به ازای هر کیلوگرم غذا در ۵۰ میلی لیتر سرم فیزیولوژی حل و سپس بر روی غذا اسپری گردید. خارج نمودن روده ماهی جهت کشت باکتریایی، خون‌گیری از ماهی و انکوباسیون کشت باکتریایی برترتیب در شکل‌های ۱، ۲ و ۳ ارائه شده است.



شکل ۱- خارج نمودن روده ماهی جهت تعیین فلور روده

تأثیر بر شاخص‌های ایمنی

بطور کلی، سیستم ایمنی موجودات آبی با تغییرات دوره‌ای و پیش بینی نشده محیط زیست آنها تحت تأثیر قرار می‌گیرد. شرایط نامطلوب محیطی می‌تواند موجب بروز استرس در ماهی گشته و پارامترهای بیوشیمیایی و پاسخ‌های ایمنی ذاتی (غیر اختصاصی یا طبیعی) و ایمنی اکتسابی (اختصاصی) آنها را تحت

جدول ۱- مقایسه ویژگی‌های ایمنی طبیعی و اکتسابی

خصوصیات	ایمنی طبیعی	ایمنی اکتسابی
مقاومت	در اثر تکرار عفونت تغییر نمی‌کند	در اثر عفونت بهبود حاصل می‌شود
ویژگی	معمولاً بر علیه ارگانیسم‌ها موثر است.	برای ارگانیسم تحریک کننده اختصاصی است
سلول‌های مهم	بیگانه خوارها، سلول‌های کشنده طبیعی	لنفوسیت‌ها
مولکول‌های مهم	لیزوزوم، کمپلمان، پروتئین‌های فاز حاد، اینترفرون‌ها	آنتی‌بادی‌ها، سایتوکاین‌های حاصل از لنفوسیت‌ها

افزایش فعالیت سیستم ایمنی به دلیل نیاز به تعدیل و تنظیم فعالیت های فیزیولوژیکی دشوار است. در همین ارتباط افزایش تعداد گلبول های سفید، به عنوان یک واکنش سیستم ایمنی غیر اختصاصی مطرح و ناشی از مصرف پروبیوتیک ها دانسته شده و انتظار می رود که ماهیان از مقاومت بیشتری نسبت به عوامل استرس زا و بیماریها برخوردار باشند. در این تحقیق نتایج حاصله در مجموع، نشانگر افزایش عملکرد سیستم ایمنی در نتیجه افزودن پروبیوتیک بود.



شکل ۲ - خون گیری از ماهیان

تأثیر بر شاخص های بیوشیمیایی

گلوکز یکی از مهمترین پارامترهای فیزیولوژیکی بوده که به عنوان شاخصی از پاسخ به استرس در ماهیان مطرح می باشد. غلظت کل پروتئین پلاسما به عنوان یک شاخص بالینی در سنجش میزان سلامتی، استرس و وضعیت بدنی ارگانسیم های آبی به کار برده می شود. افزایش میزان پروتئین تام سرم می تواند به دلیل پاسخ های غیر اختصاصی قوی ماهی باشد (پور فتاحی و همکاران، ۱۳۹۴).

آنزیم های آسپارات ترانس آمیناز (AST) و آلانین آمینوترانسفراز (ALT) در بافت های مختلفی نظیر کبد، قلب، ماهیچه های اسکلتی، کلیه، پانکراس، طحال، گلبول های قرمز و آبشش ماهی ها یافت می شوند. همچنین آلکالین فسفاتاز (ALP)، آنزیمی است که در اپی تلیوم مجاری صفراوی، سلول های کبدی و در مخاط روده و کلیه ها یافت می گردد. این آنزیم-

در بیان اهمیت مونسیت ها گزارش گردیده که، آنها گویچه های سفیدی از دستگاه ایمنی بدن هستند و پروتازها را از لیزوزومها آزاد می کنند. همچنین آنها رادیکال اکسیژن و اکسید نیتروژن تولید می کنند که عوامل عفونی را از بین می برند. مونسیت ها همچنین سیتوکین تولید می کنند که لنفوسیت ها را فعال و روند التهاب را تحریک می کند. مونسیت ها در مراحل اولیه واکنش ایمنی در بیگانه خواری (فاگوسیتوز) شرکت دارند. همسو با اثرات مثبت پروبیوتیک ها بر شاخص های ایمنی ماهی در تحقیق حاضر، Allameh و همکاران (۲۰۱۷)، گزارش نموده اند که، پروبیوتیک ها می توانند موجب تحریک سیستم های ایمنی اختصاصی و غیر اختصاصی شوند.

Lim و Welker (۲۰۱۱) در بحث استفاده از پروبیوتیک ها در جیره غذایی ماهی تیلاپیا گزارش نموده اند که، شواهدی وجود دارد که افزودن پروبیوتیک ها بصورت انفرادی و ترکیبی می تواند سیستم ایمنی سیستمیک و موضعی را در ماهی تیلاپیا بهبود بخشد. همچنین گزارش نموده اند که، افزودن باکتری باسیلوس پامیلوس (*Bacillus pumilus*) در مقدار ۱۰۱۲ سلول بر گرم، موجب افزایش مقاومت ماهی تیلاپیا نیل در برابر آئروموناس هیدروفیلا در مدت زمان های ۱ و ۲ ماه شده ولی مقدار کمتر پروبیوتیک (۱۰۶ سلول بر گرم) مقاومتی را ایجاد نموده بود. در همین ارتباط ایمان پور و روحی (۱۳۹۴) گزارش نموده اند که، لیزوزیم یک وسیله دفاعی در برابر هجوم میکروبی به شمار می روند. این آنزیم ها پلیمرهای کمپلکس آمینواسیدها و قندهای آمینه موجود در دیواره سلولی را هیدرولیز می کنند. در باکتریهای گرم مثبت، لیزوزوم با تخریب پیوندهای دیواره پپتید و گلیکان باکتری عمل می کند.

در شمارش افتراقی گلبول های سفید مشاهده شده که تأثیر مکمل پروبیوتیک باعث افزایش معنی دار تعداد نوتروفیل و مونسیت و کاهش لنفوسیت ها می شود (اسدی خمایی و همکاران، ۱۳۹۶). اگر مقدار گلبول سفید بصورت غیر عادی افزایش یابد، می تواند نشانگر بیماری های عفونی یا درگیری سیستم ایمنی باشد. از عوامل کاهش تعداد گلبول های سفید می توان ابتدا به بیماری های ویروسی، کمبود ویتامین ها و عفونت های خونی را برشمرد. در این بین در صورتی که گونه باکتری پروبیوتیکی مورد استفاده بصورت مناسبی انتخاب شده باشد، می تواند موجب ارتقای عملکرد سیستم ایمنی ماهی گردد. . البته Soltani و همکاران (۲۰۱۹) گزارش نمودند که حفظ و

پروبیوتیک بود. افزایش فلور باکتریایی مفید در نتیجه استفاده از پروبیوتیک‌ها در جیره غذایی آبزیان توسط تعداد زیادی از محققین مورد تأیید قرار گرفته است.



شکل ۳- انکوباسیون کشت‌های باکتریایی

ها غالباً در داخل میتوکندری سلول‌ها به ویژه در سلول‌های کبدی قرار دارند. لذا هر گونه آسیب خفیف، التهاب یا نکروز سلول‌های کبدی موجب آزاد شدن این آنزیم‌ها و افزایش سطح آنها در پلاسما می‌گردد (پورفتاحی و همکاران، ۱۳۹۴). همچنین این آنزیم‌ها جزو آنزیم‌های با اهمیت در بررسی سلامتی ماهیان هستند. در این تحقیق، نتایج حاصله در مجموع، نشانگر بهبود شاخص‌های بیوشیمیایی در نتیجه افزودن پروبیوتیک به جیره غذایی بود.

تأثیر بر شاخص‌های رشد

در نتیجه افزودن دو سویه باکتری به غذای پلت فیله ماهی، از نظر شاخص‌های رشد، از نظر افزایش بیومس، ضریب چاقی، ضریب رشد ویژه، افزایش وزن روزانه و درصد افزایش وزن بین تیمارها اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده نگردید.

Soltani و همکاران (۲۰۱۶)، در بررسی تأثیر پروبیوتیک *Lactococcus lactis* بر شاخص‌های رشد تاس‌ماهی ایرانی از ۳ تیمار حاوی پروبیوتیک بجز در تیمار ۳ در سایر تیمارها میزان افزایش وزن، ضریب تبدیل غذایی، ضریب رشد ویژه و نسبت بازده پروتئینی کمتر از تیمار شاهد اندازه‌گیری شده بود. در مجموع، تأثیر افزودن پروبیوتیک بر شاخص‌های رشد ماهی، با توجه به مرحله رشد ماهی و نوع پروبیوتیک مورد استفاده، می‌تواند متفاوت باشد.

تأثیر بر باکتری‌های روده

محیط کشت MRS یک محیط کشت اصلاح شده برای لاکتوباسیل‌ها (باکتری‌های مفید بی‌هوازی اختیاری و برخی گونه‌ها اجباری) می‌باشد. لذا افزایش تعداد باکتری در محیط کشت MRS، نشانگر نقش مفید سویه‌های باکتریایی افزوده شده به جیره غذایی فیله ماهی بر فلور روده بود. در محیط کشت TSA تعداد کل باکتری در تیمارهای حاوی باکتری بطور معنی‌داری کمتر بود. محیط کشت باکتریایی TSA، نوعی محیط عمومی و غیرانتخابی هستند که مواد مغذی کافی را برای رشد طیف گسترده‌ای از میکروارگانیسم‌ها (گرم مثبت و هم گرم منفی) فراهم کنند. لذا کمتر بودن کلنی باکتری‌ها در محیط کشت TSA در تیمارهای حاوی پروبیوتیک، نسبت به سایر تیمارها، نشانگر بهتر بودن شرایط فلور روده در تیمارهای حاوی

توصیه‌های ترویجی:

- افزودن دو سویه باکتری (*Lactococcus lactis* و *Weissella confusa*) در مقادیر $1/5 \times 10^9$ و 3×10^9 سلول بر گرم به ازای هر کیلوگرم غذای پلت، موجب بهبود شاخص‌های ایمنی و پارامترهای بیوشیمیایی می‌گردد.
- افزودن دو سویه باکتری در مقادیر ذکر شده به غذای پلت، موجب افزایش جمعیت باکتری‌های مفید (لاکتوباسیل‌ها) روده می‌گردد.
- بمنظور حفظ اثرات مثبت پروبیوتیک‌ها بر ماهی، بصورت روزانه از جیره‌های حاوی پروبیوتیک جهت تغذیه ماهیان استفاده شود.

منابع:

ایمانپور، م. ر و روحی، ز.، ۱۳۹۴. اثر پروبیوتیک چند سویه (پریمالاک) بر عملکرد رشد، پارامترهای بیوشیمیایی خون، بازماندگی و مقاومت در برابر تنش شوری در بچه ماهیان سفید. مجله علمی شیلات ایران. سال بیست و چهارم، شماره ۲.

- Sharma S. Kandasamy S. Kavitate D. Shetty P. h. 2018. Probiotic characterization and antioxidant properties of Weissella confuse KR780676, isolated from an Indian fermented food. 97: 53-60.
- Soltani M. Kane A. Taheri-Mirghaed A. Pakzad K and Hosseini-Shekarabi P. 2019. Effect of the probiotic, Lactobacillus plantarum on growth performance and haematological indices of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) immunized with bivalent Streptococcosis / lactococcosis vaccine. Iranian Journal of Fisheries Sciences, 18(2): 283-295.
- Soltani M A. Shenavar Masouleh A. Ahmadi M. Pourkazemi M and Taherimirghaed A. 2016. Antibacterial activity, antibiotic susceptibility and probiotic use of lactic acid bacteria (LAB) in Persian sturgeon (*Acipenser persicus*). Iranian Journal of Aquatic Animal Health. 2 (1), 54-65.
- Welker T L and Lim C. 2011. Use of Probiotics in Diets of Tilapia. Aquaculture Research and Development journal. An open access journal. 8 p.
- Yanbo W and Zirong X. 2006. Effects of probiotics for common carp (*Cyprinus carpio*) based on growth performance and digestive enzyme activities. Journal of Animal Feed Science and Technology. 127: 283-292.
- اسدی خمایی، س.، مورکی، ن و ولی پور، ع.، ۱۳۹۶. تأثیر پروبیوتیک *Pediococcus acidilactici* بر رشد و شاخص-های خونی بچه ماهی سیم *Abramis brama orientalis* فصلنامه علمی- پژوهشی علوم و فنون شیلات. دوره ۶، شماره ۱، ۱-۱۲.
- پورفتاحی، ا. ح.، جعفریان، ح. ا. و خسروی، ع.، ۱۳۹۴. اثرات ترکیبی مخمر ساکارومایسس سرویزیا و آسپرژیلوس نایجر بر پارامترهای هماتولوژی و بیوشیمیایی سرم خون فیل ماهیان جوان پرورشی. مجله تحقیقات دامپزشکی، دوره ۷۰، شماره ۴، ۴۶۳-۴۷۳.
- قشقای، ر و لایق، م.، ۱۳۸۳. پروبیوتیکها (تکنولوژی نوین در آبنزی پروری). انتشارات نقش مهر. ۸۳ ص.
- موسوی، ط.، ۱۳۸۳. ایمنی شناسی. انتشارات موسسه آموزش عالی علمی کاربردی جهاد کشاورزی. ۲۰۲ ص.
- هاشمی مفرد، س. م.، ستاری، م.، خوش خلق، م. ر.، شناور ماسوله، ع و عباسعلی زاده، ع.، ۱۳۹۵. مطالعه تأثیر باکتری ویسلا سبیریا (*Weissella cibaria*) بر فاکتورهای رشد تاسماهی سبیری (*Acipenser baerii*). مجله علمی شیلات ایران. سال بیستم پنجم، شماره ۲، صفحات ۲۸-۱۷.
- Alishahi. M. Tulaby Dezfuly Z. Mesbah M. Mohammadian, T., 2018. Effects of Two Probiotics, Lactobacillus Plantarum and Lactobacillus Bulgaricus on Growth Performance and Intestinal Lactic Acid Bacteria of Cyprinus Carpio. Iranian Journal of Veterinary Medicine. 12(3): 207-217.
- Allameh S K. Noaman V and Nahavandi R. 2017. Effects of Probiotic Bacteria on Fish Performance. Advanced Techniques in Clinical Microbiology. 1 (2:11): 5 p.