



University of Hormozgan



## Cultivation of Chironomid larvae (DIPTERA) using different levels of prebiotics and its effect on growth performance of Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*) fingerlings

Mohammad Amini Vishekai<sup>1</sup>, Majidreza Khoshkholgh<sup>1✉</sup>, Bahram Falahatkar<sup>1</sup>, Zabiollah Pazhand<sup>2</sup>

1. Fisheries Department, Faculty of Natural Resources, University of Guilan, Sowme Sara, Guilan, Iran.
2. Iranian Fisheries Science Research Institute (IFSRI), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Rasht, Iran.

### Article Info

#### Article type:

Research Article

#### Article history:

Received: 26 February 2025

Accepted: 25 April 2025

Published: 15 May 2025

#### ✉ Corresponding Author:

[majidreza@guilan.ac.ir](mailto:majidreza@guilan.ac.ir)

#### Keywords:

Beta glucan,  
Blood worm,  
Live food,  
Mannan oligosaccharide.

### ABSTRACT

The use of prebiotics in aquaculture has been shown to enhance growth performance, improve immune function, and increase disease resistance by modulating the gut microbiota. This study aimed to investigate the effects of the prebiotic *Prodi 450* (containing mannan oligosaccharides and beta-glucans) on the growth performance and total biomass of chironomid larvae, which were used as food for Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*) fingerlings. The study was conducted in two phases: first, to assess the impact of different prebiotic levels on chironomid larvae, and second, to evaluate the subsequent effects on sturgeon growth. Four treatment groups were prepared, each with a different dosage of Prodi 450: control (0 mg), P250 (250 mg), P500 (500 mg), and P750 (750 mg) per kg of chicken manure. This manure was used as a substrate for rearing chironomid larvae, with three replicates per treatment. After 10 days of cultivation at  $25.71 \pm 0.79^\circ\text{C}$ , the larvae were harvested. The larvae were then fed to Siberian sturgeon fingerlings (initial average weight of  $1.14 \pm 0.04$  g) for 14 days to evaluate the effects on their growth performance and immune indicators. The results showed that the highest average larval weight was observed in the P250 treatment ( $8.50 \pm 0.50$  mg). The P500 treatment exhibited the second-best growth performance, which was not significantly different from P250 but significantly higher than the control and P750 treatments ( $p < 0.05$ ). There were no significant differences in total biomass per unit area among the treatments ( $p > 0.05$ ). For the Siberian sturgeon, there were no significant differences in growth indices ( $p > 0.05$ ), although the P500 treatment exhibited slightly higher growth in most indices. In conclusion, while the prebiotic supplementation did not significantly increase the total biomass of chironomid larvae per unit area, it did produce heavier larvae, particularly at the P250 and P500 levels. However, the prebiotic supplementation did not significantly affect the growth performance of Siberian sturgeon fingerlings over the 14-day feeding period.



Publisher: University of Hormozgan.

## EXTENDED ABSTRACT

### Introduction

As global environmental challenges intensify and the demand for protein-rich food sources increases, securing sustainable food resources becomes a pressing issue. Fisheries and aquaculture have emerged as viable solutions, but they face challenges such as disease outbreaks and overreliance on antibiotics. Prebiotics, which can modulate the gut microbiota, offer a promising approach to improve the health and growth of aquatic animals. This study investigates the effects of a prebiotic mixture containing mannan oligosaccharides and  $\beta$ -glucans on the production of chironomid larvae and the growth performance of Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*) fingerlings.

### Materials and Methods

This study was conducted in two phases. In the first phase, we assessed the effects of the prebiotic *Prodi 450* (containing mannan oligosaccharides and  $\beta$ -glucans) on the growth performance and total biomass of chironomid larvae. Four prebiotic treatment levels were prepared: control (0 mg), P250 (250 mg), P500 (500 mg), and P750 (750 mg), which were incorporated into one kilogram of chicken manure. This treated manure served as the substrate for rearing chironomid larvae in triplicate. The larvae were cultivated for ten days at a temperature of  $25.71 \pm 0.79$  °C, after which they were harvested. In the second phase, the harvested chironomid larvae were used as feed for Siberian sturgeon fingerlings, which had an initial average weight of  $1.14 \pm 0.04$  g. The larvae, each treated with different prebiotic levels, were fed to the sturgeon for 14 days. The goal was to assess the impact of prebiotic supplementation on the growth performance of the fingerlings. Each treatment was replicated three times.

### Results

The growth performance of the chironomid larvae showed that the P250 treatment resulted in the highest larval weight ( $8.50 \pm 0.50$  mg), followed by P500, which showed similar growth performance but was significantly different from the control and P750 treatments ( $p < 0.05$ ). However, no significant differences in total biomass per unit area were observed among the treatments ( $p > 0.05$ ). The P250 treatment also yielded the highest number of chironomid larvae per box and the most larvae per cocoon, with significant differences from the other treatments ( $p < 0.05$ ). For the Siberian sturgeon, no significant differences were found in growth indices ( $p > 0.05$ ) across treatments. However, the P500 treatment exhibited slightly higher numerical values in most growth parameters, suggesting a trend of improved performance, though not statistically significant.

### Conclusion

The findings of this study suggest that the prebiotic supplementation, at the doses used, did not significantly increase the biomass of chironomid larvae per unit area. This lack of a significant effect could be attributed to factors such as the limited availability and utilization of prebiotics by the chironomid larvae, and the potential interference of bacteria in the culture medium. Furthermore, the short feeding duration of chironomid larvae by the sturgeon, along with the timing of prebiotic addition, may have influenced the results. The study indicates that further

research is needed to explore the optimal conditions for prebiotic application, particularly regarding the timing and effectiveness of prebiotic delivery in aquaculture systems.



## پرورش لارو شیرونومیده (DIPTERA) با استفاده از سطوح مختلف پری‌بیوتیک و تاثیر آن بر عملکرد رشد تاسماهی سبیری (*Acipenser baerii*) انگشت قد

محمد امینی ویشکائی<sup>۱</sup> | مجیدرضا خوش خلق<sup>۱</sup> | بهرام فلاحتکار<sup>۱</sup> | ذبیح‌الله پژند<sup>۲</sup>

۱. گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه سرا، گیلان، ایران.  
۲. موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، ایران.

### چکیده

### اطلاعات مقاله

نوع مقاله:

مقاله پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۲/۰۸

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۲/۰۵

تاریخ انتشار: ۱۴۰۴/۰۲/۲۵

✉ نویسنده مسئول:

majidreza@guilan.ac.ir

کلیدواژه‌ها:

بتاگلوکان،

غذای زنده،

کرم خونی،

مانان الیگوساکارید.

استفاده از پری‌بیوتیک‌ها در آبی‌پروری موجب بهبود عملکرد رشد، تقویت سیستم ایمنی، و افزایش مقاومت در برابر بیماری‌ها از طریق تعدیل میکروبیوتای روده می‌شود. این مطالعه در دو مرحله در ابتدا به منظور بررسی استفاده از پری‌بیوتیک پرودی ۴۵۰ (حاوی مانان الیگوساکارید و بتاگلوکان) بر روی عملکرد رشد و مقدار کل زی‌توده در واحد سطح لارو شیرونومیده انجام شد. به این منظور، چهار سطح (تیمار) مختلف از پری‌بیوتیک شامل صفر (شاهد)، ۲۵۰ (P250)، ۵۰۰ (P500) و ۷۵۰ (P750) میلی‌گرم تهیه شد و به یک کیلوگرم کود مرغی اضافه و سپس از این کود مرغی به عنوان بستر پرورش لارو شیرونومید در ۳ تکرار استفاده شد. لاروها پس از ده روز پرورش در دمای ۲۵/۷۱ ± ۰/۷۹ درجه سانتی‌گراد، صید شدند. در ادامه به مدت ۱۴ روز به عنوان غذای تاسماهی سبیری انگشت قد (*Acipenser baerii*) با میانگین وزن اولیه ۰/۰۴ ± ۱/۱۴ گرم و با هدف بررسی تأثیر پری‌بیوتیک بر عملکرد رشد و برخی شاخص‌های ایمنی تاسماهی با همان تیمارها و در سه تکرار، استفاده شدند. پس از اندازه‌گیری شاخص‌های رشد در لاروهای شیرونومیده، مشخص شد که بیشترین وزن لارو را تیمار P250 دارا بود (۰/۵۰ ± ۸/۵۰ میلی‌گرم) همچنین بعد از آن تیمار P500 بهترین عملکرد رشد را دارا بود که با تیمار P250 اختلاف معنی دار نداشت ولی با تیمارهای P750 و شاهد دارای اختلاف معنی دار بود ( $p < 0.05$ ). در مقدار کل زی‌توده در واحد سطح بین تیمارها، اختلاف معنی داری وجود نداشت ( $p > 0.05$ ). در انتهای پرورش تاسماهی سبیری، شاخص‌های رشد هیچ اختلاف معنی داری نشان نداد ( $p > 0.05$ )؛ اما در اغلب شاخص‌ها تیمار P500 با اختلاف اندکی بالاتر بود. نتایج این تحقیق نشان داد که پری‌بیوتیک و دوز استفاده شده آن در این مطالعه نمی‌تواند باعث افزایش معنی داری در زی‌توده لارو شیرونومید در واحد سطح شود اما می‌توان لاروهایی با وزن بیشتر تولید کند، همچنین نتایج نشان دهنده عدم تاثیر پذیری تاسماهی سبیری انگشت قد از لاروهای شیرونومید تغذیه شده از پری‌بیوتیک با این سطوح در دوره زمانی ۱۴ روزه است.



ناشر: دانشگاه هرمزگان.

## مقدمه

امروزه با وجود پیشرفت‌های علمی، بحران‌های زیست محیطی و نیاز فزاینده جوامع به منابع غذایی، به‌ویژه پروتئین، چالش‌های زیادی در تأمین این منابع وجود دارد. یکی از راه‌حل‌ها، تمرکز بر شیلات و آبزی‌پروری است. صنعت آبزی‌پروری در سال‌های اخیر به سرعت رشد کرده اما به علت پرورش متراکم و مدیریت نادرست، بروز بیماری‌ها افزایش یافته و متعاقب آن استفاده بی‌رویه از آنتی‌بیوتیک‌ها باعث مقاومت آنتی‌بیوتیکی در عوامل بیماری‌زا شده است. استفاده از محرک‌های ایمنی و مکمل‌های خوراکی به عنوان جایگزین‌های پایدار برای آنتی‌بیوتیک‌ها جهت بهبود سلامت و بهره‌وری آبزیان ضروری است (Yousefi *et al.*, 2020). شیخ‌زاده و سولتانی (Sheikhzadeh and Soltani, 2022)؛ پری‌بیوتیک‌ها ترکیباتی هستند که در دستگاه گوارش هضم نمی‌شوند، اما با تأثیر مستقیم بر جمعیت میکروارگانیسم‌های مفید روده، سبب ارتقای عملکرد متابولیکی و تقویت سلامت عمومی موجود زنده می‌گردند (Yousefi *et al.*, 2020). یکی از انواع پری‌بیوتیک‌ها مانان اولیگوساکاریدها هستند که از دیواره سلول مخمر (*Saccharomyces cerevisiae*) به دست می‌آیند و می‌توانند بهبود عملکرد ایمنی و کارایی واکسن‌ها را در آبزیان تسهیل کنند (Sheikhzadeh and Soltani, 2022). بتاگلوکان‌ها نیز به عنوان پری‌بیوتیک‌های جدید شناخته می‌شوند که با فعال کردن سلول‌های ایمنی، پاسخ ایمنی را تقویت می‌کنند (Kibenge *et al.*, 2020).

ماهیان خاوباری که به عنوان فسیل زنده نیز شناخته می‌شوند، از نظر تولید پروتئین و محصولات شیلاتی بسیار ارزشمند هستند (Chebanov and Galich, 2013). با این حال، به دلیل عدم حفاظت و آلودگی‌های زیست محیطی، جمعیت این ماهیان در حال کاهش است و برخی از گونه‌های این ماهیان در شرف انقراض هستند (Bronzi *et al.*, 1999). در سال ۱۴۰۲، صید ماهیان خاوباری از دریای خزر تنها ۱۴ تن گزارش شده است (Statistical Yearbook of the Iranian Fisheries, 2024). پرورش این ماهیان به عنوان گزینه‌ای برای کاهش فشار بر ذخایر طبیعی و پاسخگویی به تقاضا برای گوشت و خاوبار در حال افزایش است (Chebanov and Galich, 2013). تاسماهی سبیری (*Acipenser baerii*)، یکی از گونه‌های اصلی ماهیان خاوباری و با ارزش تجاری است که به دلیل رشد سریع، کوتاه بودن دوره رسیدگی بلوغ جنسی، گسترده‌ی مقاومت به عوامل تنش‌زا و تنوع در رژیم غذایی سبب شده است که به عنوان یکی از گونه‌های با ارزش در پرورش ماهیان خاوباری آب شیرین معرفی گردد (Falahatkar, 2018a). آگاهی از رژیم غذایی ماهیان برای موفقیت در پرورش آن‌ها اهمیت به‌سزایی دارد (Nahavandi *et al.*, 2022). تاسماهی سبیری در مراحل لاروی عمدتاً از موجودات بستر (مانند لارو شیرونومید و کرم تویفکس) تغذیه می‌کند و رابطه مستقیمی بین محتویات معده و ترکیب موجودات بستر مشاهده شده است (Williot *et al.*, 2018).

در پرورش ماهیان، استفاده از غذاهایی مشابه غذای طبیعی آن‌ها ضروری است (Nahavandi *et al.*, 2022). یکی از چالش‌ها در تغذیه لاروی ماهیان خاوباری، انتقال از تغذیه داخلی به خارجی است که به دلیل عدم تکامل کافی دستگاه گوارش، مصرف غذاهای فرموله شده می‌تواند منجر به کاهش رشد و بازماندگی شود. بنابراین، تولید غذاهای زنده مناسب برای این مرحله اهمیت زیادی دارد (Pan *et al.*, 2022). تغذیه با غذاهای زنده به افزایش ارزش غذایی، بهبود هضم و جذب، افزایش بازماندگی و مقاومت در برابر بیماری‌ها کمک می‌کند (Nahavandi *et al.*, 2022).

لارو پشه شیرونومید نیز یکی از غذاهای زنده شناخته شده و اولین غذای ترجیحی بچه ماهیان نارس خاوباری در استخرها می‌باشد (Efatpanah *et al.*, 2021). شیرونومیدها (*Chironomidae*) فراوان‌ترین و متنوع‌ترین حشرات آبزی هستند. این موجودات در هر محیط آبی یافت شده و گفته می‌شود که ۵۰٪ غنای گونه‌های این محیط‌ها مربوط به این حشرات است (Imanpour, 2018). ارزش غذایی لارو شیرونومید بسیار مناسب بوده و تجزیه شیمیایی آن نشان داده که ۶۲/۵٪ پروتئین در ماده

خشک، وجود دارد. این در حالی است که حشرات آبی میانگین ۵۵٪ پروتئین در وزن خشک خود دارند. ماهیان در اثر تغذیه از این لاروها سریع‌تر رشد نموده و زودتر به بلوغ می‌رسند. افزایش جمعیت این لاروها در استخرهای پرورش ماهی می‌تواند متضمن افزایش تولید و ارتقای کیفیت گوشت ماهیان پرورشی باشد. پرورش لارو شیرونومید سابقه‌ای ۵۰ ساله دارد و در کشورهای مختلفی مانند هنگ کنگ انجام می‌شود (Sahragard and Rafatifard, 2006).

تحقیقات نشان داده‌اند که پری‌بیوتیک‌ها بر رشد ماهیان نیز تأثیر مثبتی دارند (Momeni-Reda and Selim, 2013; Adel et al., 2016; Ramezani et al., 2015; Moghaddam et al., 2015)، اما مطالعات محدودی در مورد تأثیر آن‌ها بر تاسماهیان (al., 2018) و لارو شیرونومید وجود دارد. هدف این پژوهش بررسی تأثیر تغذیه با پری‌بیوتیک حاوی مانان الیگوساکارید و بتاگلوکان بر تولید لارو شیرونومید و عملکرد رشد تاسماهی سبیری است.

### مواد و روش‌ها

این تحقیق در دو مرحله شامل: تولید لارو شیرونومید با استفاده از جیره مبتنی بر پری‌بیوتیک و تغذیه تاسماهی سبیری انگشت قد از لارو شیرونومید انجام شد. در این مطالعه از پری‌بیوتیک پرودی ۴۵۰ (Prodi 450) تهیه شده از شرکت کاوشگر سپهر جوان (تهران، ایران) استخراج شده از دیواره مخمر که آنالیز مواد مغذی آن شامل به ترتیب ۵۰، ۱۰ و ۱۵ درصد پروتئین خام، مانان الیگوساکارید و بتاگلوکان و همچنین دارای ۹۰ ppm آهن و ۰/۱۹ ppm سلنیوم می‌باشد، استفاده شد.

پرورش لارو در جعبه‌های زرد رنگ مستطیلی پلاستیکی با ابعاد ۳۴ × ۵۴ و ارتفاع ۳۰ سانتی متر انجام گرفت. جعبه‌ها توسط آب چاه، تا عمق ۱۰ سانتی متر پر شدند به طوری که هر جعبه حدود ۱۸/۴ لیتر آب را در خود جای داد. برای کنترل دمایی آب جعبه‌ها از دامسنج جیوه‌ای استفاده شد. همچنین شرایط فیزیکی‌شیمیایی پرورش لارو شیرونومید در جدول ۱ آمده است. هوادهی به صورت مداوم در جعبه‌ها توسط پمپ هواده مرکزی (هایلا مدل VB125G CE، چین) انجام شد. سطوح مختلف شامل صفر (P<sub>0</sub>)، ۲۵۰ (P<sub>250</sub>)، ۵۰۰ (P<sub>500</sub>) و ۷۵۰ (P<sub>750</sub>) میلی گرم پری‌بیوتیک پرودی ۴۵۰ به صورت خشک (Amlashi et al., 2014) به هر کیلوگرم کود مرغی (تهیه شده از مرغداری گوشتی ققنوس سفید گیلان، سنگر، ایران) الک شده (با اندازه چشمه ۱ میلی متر) اضافه و به خوبی مخلوط شده و ۱۲۶ گرم (۶۸۷ گرم به ازای هر متر مربع) از آن به جعبه‌ها اضافه شد (Hamidoghli et al., 2014). کوکون‌ها (توده‌های تخمی) هنگام صبح از روی طناب‌ها و اجسامی که از قبل در امتداد دیواره استخر جایگذاری شده بود جدا شد و در ظرف یک لیتری (حاوی ۲۰۰ میلی لیتر آب) جمع آوری و سپس تعداد ۱۴ کوکون به هر کدام از جعبه‌ها اضافه شد. طراحی آزمایش به صورت تصادفی و هر تیمار در ۳ تکرار انجام شد.

جدول ۱- شرایط فیزیکی‌شیمیایی محیا شده برای پرورش لارو شیرونومید و تاسماهی سبیری انگشت قد. داده‌ها بر حسب میانگین (±SE) می‌باشند.

عامل	لارو شیرونومید	تاسماهی سبیری
دما (°C)	۲۵/۷۱ ± ۰/۷۹	۲۰/۳۳ ± ۰/۳
pH	۷/۱ ± ۰/۸۲	۸/۰۷ ± ۰/۰۵
اکسیژن محلول (mg/L)	۴/۶ ± ۰/۱۳	۸/۹۸ ± ۰/۰۶
دوره نوری (ساعت)	۱۲D : ۱۲L	۱۲D : ۱۲L

طبق روش حمیداوغلی (۲۰۱۴)، برداشت زمانی انجام گرفت که لاروها بیشترین رشد خود را بدست آورده و طولی برابر ۱ تا ۱/۵ سانتی متر داشتند که در دمای  $2 \pm 25/71$  درجه سانتی گراد، این زمان حدود ۱۰ روز طول کشید. با استفاده از یک ساچوک، با اندازه چشمه ۲ میلی متر بستر کشت به همراه کرم‌های نقب زده صید و به آرامی در آب تکان داده شدند تا ذرات ریز شسته شد. سپس کرم‌ها و باقی مانده بستر را در تشتک ۵ لیتری حاوی محلول آب و نمک (غلظت ۴۰ گرم در لیتر) ریخته، به علت اختلاف چگالی، تمامی کرم‌ها به سطح آب آمده و باقی مانده بستر، ته نشین شد سپس با ساچوک به آرامی کرم‌ها از روی سطح آب برداشت شدند.

کل زیتوده برداشت شده از هر جعبه به یک کاغذ صافی منتقل شده (Sulistiyarto and Bakrie, 2023) و توسط ترازوی دیجیتال با دقت ۱ میلی گرم وزن شدند. سپس با استفاده از پلاستیک‌های زیپدار بسته بندی شده و در فریزر (دمای ۱۸- درجه سانتی گراد) تا زمان غذادهی تاسماهیان نگهداری شدند. میانگین نرخ رشد (AGR) و زیتوده تولید شده در متر مربع (B) به ترتیب توسط روابط ۱ و ۲ محاسبه شدند (Hamidoghli et al., 2014).

$$\text{AGR (mg/day)} = \text{کل روزهای آزمایش} / \text{وزن هر لارو} \quad \text{رابطه (۱)}$$

$$\text{B (g/m}^2\text{)} = \text{سطح مقطع جعبه} / \text{زیتوده کل} \quad \text{رابطه (۲)}$$

تغذیه تاسماهیان سیبری انگشت قد در بخش تکثیر و پرورش موسسه تحقیقات بین‌المللی تاسماهیان دریای خزر (رشت، گیلان، ایران) و به مدت ۱۴ روز انجام شد. در ابتدای کار تاسماهیان سیبری انگشت قد که در حوضچه‌های مدور بودند و از بیومس آرتمیا و گاماروس تغذیه شده بودند، به تعداد ۱۵ عدد با میانگین وزن  $0/02 \pm 0/94$  گرم به ۱۲ مخزن پلاستیکی مدور با مساحت تقریبی ۲۵۰ سانتی متر مربع که به اندازه چهل لیتر آب گیری شده بودند منتقل گردیدند و برای سازگاری با شرایط جدید به مدت چهار روز با شیرونومیده غنی نشده به میزان اشتها، سه نوبت در شبانه روز مورد تغذیه قرار گرفتند. تعداد تلفات نیز روزانه ثبت می‌شد. برای این آزمایش از آب چاه استفاده شد که بعد از عبور از برج هواده وارد بخش تکثیر موسسه می‌شد همچنین سیستم جریان مستقیم (Flow Through) برای تمامی مخازن در نظر گرفته شد. عوامل فیزیکوشیمیایی آب مانند دما، اکسیژن (WTW-823، آلمان) و pH (Eutech، آلمان) سنجیده شد (جدول ۱). لاروهای شیرونومیده در ظروف پلاستیکی تقسیم بندی و در یخچال در دمای ۱۸- درجه سانتی گراد قرار داده شدند هر روز از این ظروف شیرونومیده برداشت و به صورت کامل (بدون خرد کردن) به مخازن اضافه می‌شدند. تاسماهیان سیبری از لاروهای شیرونومید تغذیه شده با مقادیر مختلف پری‌بیوتیک شامل تیمارهای ذکر شده  $P_0$ ،  $P_{250}$ ،  $P_{500}$  و  $P_{750}$  هر کدام در سه تکرار، روزانه سه مرتبه در ساعات ۶ و ۱۲ و ۲۰ به میزان اشتهای تاسماهیان (۲۰)، به مدت دو هفته تغذیه شدند. شایان ذکر است که در این آزمایش از طراحی کاملاً تصادفی استفاده شد.

زیست‌سنجی تاسماهیان در ابتدا و انتهای دوره پرورش ۱۴ روزه انجام شد. به منظور اندازه‌گیری وزن و طول از ترازوی دیجیتال با دقت ۱ میلی‌گرم و تخته زیست‌سنجی با دقت ۱ میلی‌متر استفاده شد. ارزیابی روند رشد و عملکرد تغذیه‌ای تاسماهیان توسط روابط و فرمول‌های ۱۰-۳ انجام شد (Falahatkar, 2018b).

رابطه ۳) وزن کسب شده (Weight Gain):

$$\text{WG (g)} = \text{وزن نهایی} - \text{وزن ابتدایی}$$

رابطه ۴) طول کسب شده (Length Gain):

طول ابتدایی - طول نهایی = LG (mm)

رابطه ۵) افزایش وزن بدن (Body Weight Increase):

$BWI (\%) = 100 \times (\text{وزن ابتدایی} / \text{وزن کسب شده})$

رابطه ۶) نرخ رشد ویژه (Specific Growth Rate):

$SGR (\%/day) = 100 \times [\text{کل روزهای آزمایش} / (\text{وزن ابتدایی} - \text{Ln وزن نهایی})]$

رابطه ۷) میانگین رشد روزانه (Average Daily Growth):

کل روزهای آزمایش / میزان افزایش وزن = ADG (g/fish/day)

رابطه ۸) کارایی غذا (Food Efficiency):

$FE (\%) = 100 \times (\text{میزان غذای داده شده} / \text{میزان افزایش وزن})$

رابطه ۹) فاکتور وضعیت (Condition Factor):

$CF = 100 \times [\text{طول کل} / \text{وزن مرطوب}]^3$

رابطه ۱۰) نرخ بقا (Survival Rate):

$SR (\%) = 100 \times [\text{تعداد ماهی در ابتدای دوره} / (\text{تعداد ماهی در انتهای دوره} - \text{تعداد ماهی در ابتدای دوره})]$

داده‌های ثبت شده در هر آزمایش پس از بررسی توزیع نرمال توسط آزمون Kolmogorov-Smirnov، توسط آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) آنالیز و مقایسه میانگین داده‌ها از طریق تست Tukey با سطح معنی دار  $p < 0.05$  ارزیابی شد. برای تجزیه و تحلیل کلیه داده‌ها از نرم‌افزار SPSS (IBM SPSS Statistics V.27, Armonk, USA) و برای رسم نمودارها از برنامه Excel استفاده شد.

## نتایج

نتایج مربوط به شاخص‌های رشد لارو شیرونومید از قبیل وزن کل، وزن و طول هر لارو، میانگین نرخ رشد (AGR) و زیتوده تولید شده در متر مربع (B) بعد از ۱۰ روز پرورش با استفاده از سطوح مختلف پری‌بیوتیک مخلوط شده با کود مرغی، در جدول ۲ آورده شده است. در وزن کل، طول هر لارو، میانگین نرخ رشد و زیتوده تولید شده در متر مربع اختلاف معنی داری دیده نشد ( $p > 0.05$ ). در تیمار حاوی سطح ۲۵۰ میلی گرم در کیلوگرم پری‌بیوتیک که بیشترین میانگین وزن هر لارو و AGR را دارا بود، اختلاف معنی داری با تیمارها  $P_0$  و  $P_{750}$  مشاهده شد ( $p < 0.05$ ) ولی با تیمار  $P_{500}$  اختلاف معنی داری دیده نشد ( $p > 0.05$ ). همچنین تیمارهای  $P_0$  و  $P_{750}$  اختلاف معنی داری با هم نداشتند ( $p > 0.05$ ). در مورد تعداد لارو در هر جعبه، تعداد لارو در هر متر مربع و تعداد لارو به‌دست آمده از هر کوکون در انتهای دوره پرورش نیز تیمار  $P_{250}$  دارای اختلاف معنی با دیگر تیمارها بود ( $p < 0.05$ ) همچنین تیمار  $P_{750}$  در هر سه مورد بیشترین تعداد را دارا بود (شکل ۱ و ۲).

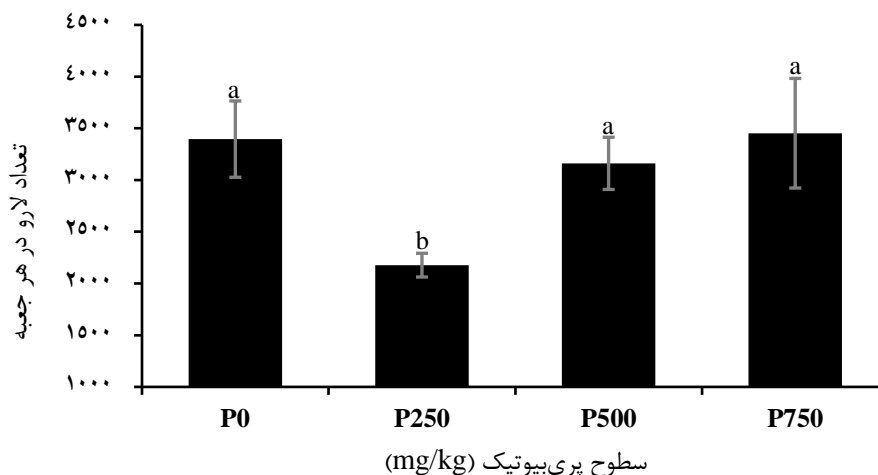
جدول ۲- وزن کل، وزن و طول هر لارو شیرونومید، میانگین نرخ رشد (AGR) و بیومس تولید شده در متر مربع (B) بعد از ۱۰ روز پرورش با استفاده از سطوح مختلف پری‌بیوتیک مخلوط شده با کود مرغی. داده‌ها بر حسب میانگین ( $\pm SE$ ) سه تکرار آورده شده‌اند:

سطوح پری‌بیوتیک (mg/kg)				شاخص
$P_{750}$	$P_{500}$	$P_{250}$	$P_0$	
$19/66 \pm 4/04$	$19/23 \pm 4/67$	$17/52 \pm 1/58$	$19/50 \pm 1/56$	وزن کل (g)
$6/92 \pm 0/58^{ab}$	$7/92 \pm 0/42^{bc}$	$8/50 \pm 0/50^c$	$6/13 \pm 0/13^a$	وزن هر لارو (mg)

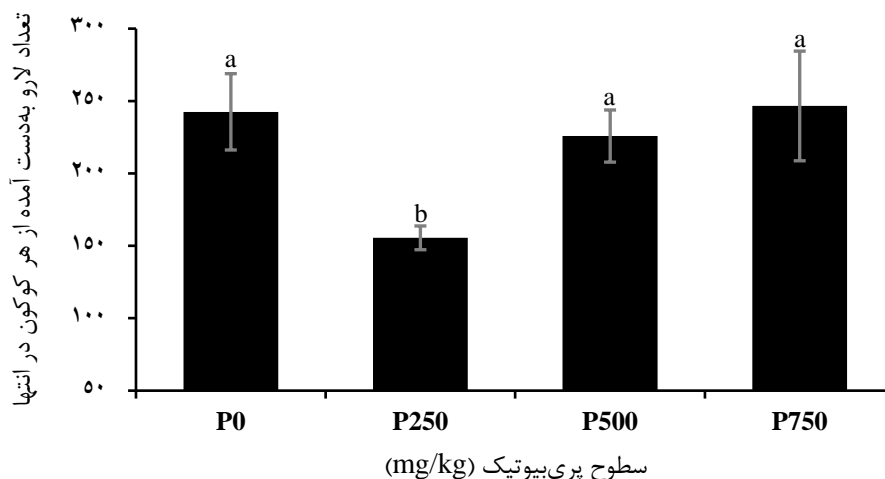
$۱/۶۱ \pm ۰/۰۴$	$۱/۶۲ \pm ۰/۰۵$	$۱/۵۶ \pm ۰/۰۴$	$۱/۵۷ \pm ۰/۰۴$	طول هر لارو (mm)
$۱۰۷/۱۰ \pm ۳۵/۷۵$	$۱۰۴/۷۴ \pm ۳۶/۶۸$	$۹۵/۴۶ \pm ۲۸/۴۴$	$۱۰۶/۲۳ \pm ۸/۴۷$	B ( $g/m^2$ )
$۰/۶۹ \pm ۰/۰۳^{ab}$	$۰/۷۹ \pm ۰/۰۲^{bc}$	$۰/۸۵ \pm ۰/۰۳^c$	$۰/۶۱ \pm ۰/۰۱^a$	AGR (mg/day)

حروف انگلیسی غیر مشابه در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای مختلف است. ( $p < ۰/۰۵$ )

B: زیتوده تولید شده در متر مربع، AGR: میانگین نرخ رشد



شکل ۱- میانگین تعداد لارو شیرونومید در هر جعبه (با مساحت تقریبی ۰/۱۸) بعد از ۱۰ روز پرورش با استفاده از سطوح مختلف پری‌بیوتیک مخلوط شده با کود مرغی. داده‌ها بر حسب میانگین ( $\pm SE$ ) سه تکرار آورده شده‌اند و حروف انگلیسی غیر مشابه روی هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای مختلف است ( $p < ۰/۰۵$ ).



شکل ۲- میانگین تعداد لارو به دست آمده از هر کوکون در انتهای ۱۰ روز پرورش با استفاده از سطوح مختلف پری‌بیوتیک مخلوط شده با کود مرغی. داده‌ها بر حسب میانگین ( $\pm SE$ ) سه تکرار آورده شده‌اند و حروف انگلیسی غیر مشابه روی هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای مختلف است ( $p < ۰/۰۵$ ).

نتایج مربوط به شاخص‌های رشد تاسماهی سبیری انگشت قد بعد از ۱۴ روز تغذیه با لارو شیرونومید حاوی سطوح مختلف پری‌بیوتیک در جدول شماره ۲ آمده است. به طور کلی در تمامی شاخص‌ها هیچ تفاوت معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد ( $p > ۰/۰۵$ ), اما تیمار P500 در همه شاخص‌ها به جز در CF نسبت به بقیه تیمارها عملکرد بهتری داشته است.

جدول ۲- شاخص‌های رشد در تاسماهی سیبری انگشت قد تغذیه شده با لاروهای شیرونومید حاوی مقادیر مختلف پری بیوتیک به مدت ۱۴ روز. داده‌ها بر حسب میانگین ( $\pm$ SE) سه تکرار آورده شده‌اند.

سطوح پری بیوتیک (mg/kg)				شاخص
P <sub>750</sub>	P <sub>500</sub>	P <sub>250</sub>	P <sub>0</sub>	
۱/۱۳ ± ۰/۰۲	۱/۱۴ ± ۰/۰	۱/۱۴ ± ۰/۰۱	۱/۱۵ ± ۰/۰۳	وزن ابتدایی (g)
۶/۴۶ ± ۰/۰۳	۶/۵۸ ± ۰/۰۹	۶/۵۷ ± ۰/۱۰	۶/۵۷ ± ۰/۰۶	طول ابتدایی (cm)
۱/۶۷ ± ۰/۰۶	۱/۸۲ ± ۰/۰۷	۱/۷۱ ± ۰/۰۹	۱/۷۲ ± ۰/۰۲	وزن انتهایی (g)
۷/۱۹ ± ۰/۱۳	۷/۴۵ ± ۰/۰۲	۷/۲۸ ± ۰/۱۲	۷/۳۴ ± ۰/۰۵	طول انتهایی (cm)
۰/۴۵ ± ۰/۰۱	۰/۴۴ ± ۰/۰۲	۰/۴۴ ± ۰/۰۱	۰/۴۴ ± ۰/۰۱	CF
۰/۵۵ ± ۰/۰۵	۰/۶۸ ± ۰/۰۷	۰/۵۷ ± ۰/۱۰	۰/۵۷ ± ۰/۰۱	WG (g)
۰/۷۴ ± ۰/۲۱	۰/۸۷ ± ۰/۰۹	۰/۷۱ ± ۰/۰۹	۰/۷۷ ± ۰/۱۱	LG (cm)
۲/۸۳ ± ۰/۱۲	۳/۳۳ ± ۰/۲۷	۲/۹۲ ± ۰/۴۶	۲/۸۹ ± ۰/۰۷	SGR (%/day)
۰/۰۴ ± ۰/۰	۰/۰۵ ± ۰/۰۱	۰/۰۴ ± ۰/۰۱	۰/۰۴ ± ۰/۰	ADG (g/fish/day)
۴۸/۴۳ ± ۳/۵۲	۵۹/۴۸ ± ۶/۱۷	۵۰/۶۷ ± ۹/۹۲	۴۹/۹۱ ± ۱/۴۵	BWI (%)
۲۱/۱۹ ± ۱/۸۱	۲۶/۳۶ ± ۲/۷۱	۲۲/۲۲ ± ۴/۰۶	۲۲/۲۲ ± ۰/۲۶	FE (%)
۸۴/۴۵ ± ۲/۲۲	۹۱/۱۱ ± ۵/۸۸	۸۶/۶۷ ± ۳/۸۵	۹۱/۱۱ ± ۴/۴۴	SR (%)

CF: شاخص وضعیت، WG: وزن کسب شده، LG: طول کسب شده، SGR<sub>W</sub>: نرخ رشد ویژه وزنی، SGR<sub>L</sub>: نرخ رشد ویژه طولی، ADG<sub>W</sub>: میانگین رشد روزانه وزنی، ADG<sub>L</sub>: میانگین رشد روزانه طولی، BWI: افزایش وزن بدن، FE: کارایی غذا، SR: نرخ بقا

## بحث

تعداد تولید نسل شیرونومید در طول سال به درجه حرارت بستگی دارد. در مخازن آبی نه چندان بزرگ و گرم، چرخه زندگی شیرونومید کوتاه‌تر شده و تا شروع سرمای پاییزی از آن‌ها می‌توان ۴ تا ۵ نسل را مشاهده نمود (Aslanparviz and Vahdat, 2014). در تحقیق حاضر در دمای  $0.79 \pm 25.71$  درجه سانتی گراد بعد از تقریباً ۱۰ روز، برداشت لارو شیرونومید انجام شد بایستی اشاره شود که بعد از یازدهمین روز، پشه‌های بالغ روی جعبه‌ها دیده می‌شدند. Sahragard و Rafatifard (۲۰۰۶) در میانگین دمای ۲۶ درجه سانتی گراد، بعد از ۱۳ روز لاروها را برداشت کردند. Widanarni و همکاران (۲۰۰۷)، گزارش کردند که در میانگین دمای ۲۶ درجه سانتی گراد، ۳۵ روز برای پرورش لارو *Chironomus sp.* نیاز است. این در حالی است که طبق بررسی Pourali Foshtomi و همکاران (۲۰۱۶)، در دمای ۲۳ درجه سانتی گراد، ۲۳ روز زمان برای رسیدن به اندازه مناسب برداشت نیاز بود. Rajabipour و همکاران (۲۰۱۱) بعد از اضافه نمودن کوکون‌ها به آب لب شور استان یزد و در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد بعد از ۲۳ روز شاهد تخم‌گذاری تخم‌ها بودند. همچنین با تحقیقات Rocha و Fonseca (۲۰۰۴)، Hamidoghli و همکاران (۲۰۱۴) و Maier و همکاران (۱۹۹۰) تفاوت فاحشی وجود دارد که می‌تواند به علت پرورش جنس‌ها و گونه‌های متفاوت از خانواده Chironomidae، تفاوت در کمیت و کیفیت غذا، تابش نور باشد (Pourali Foshtomi et al., 2016).

کود مرغی به عنوان بستر پرورش لارو شیرونومید در چند تحقیق استفاده شده است؛ مانند Hamidoghli و همکاران (۲۰۱۴) که توانستند از هر متر مربع حداکثر ۱۰/۲۲ گرم بیومس برداشت کنند، همچنین وزن و طول هر لارو به ترتیب ۲/۷۲ گرم و ۱۰/۵۴ میلی‌متر بود. در تحقیقی دیگر، Sulistiyarto و Bakrie (۲۰۲۳) با استفاده از کود مرغی به عنوان بستر پرورش، طول هر لارو به ۱۰/۴۱ میلی‌متر رسید. همچنین Alston و Dendy (۱۹۷۴)، لاروهای شیرونومید را در حوضچه‌های مدور با مساحت ۱/۲۵ متر مربع پرورش دادند که استفاده از کود مرغی بیومسی به مقدار ۲۲۴ گرم در متر مربع به همراه داشت. روش دیگری توسط

Sahragard و Rafatifard (۲۰۰۶) با پرورش در محیط نیمه بسته گلخانه و استفاده از ۱۳۹ گرم در متر مربع کود مرغی انجام شد که در نتیجه آن ۹۸/۰۵ گرم از هر متر مربع برداشت شد. این در حالی است که در تحقیق حاضر در تیمار شاهد و با استفاده از ۶۸۷ گرم کود مرغی در هر متر مربع و بدون استفاده از پری‌بیوتیک، میزان تولید برای هر متر مربع  $۱۹/۳۴ \pm ۱۰۶/۲۳$  گرم و با استفاده از پری‌بیوتیک در تیمارهای P<sub>250</sub>، P<sub>500</sub> و P<sub>750</sub> به ترتیب  $۱۴/۹۱ \pm ۹۵/۴۶$ ،  $۴۴/۰۶ \pm ۱۰۴/۷۴$  و  $۳۸/۰۹ \pm ۱۰۷/۱۰$  گرم و بیشترین میانگین طول و وزن هر لارو به ترتیب مربوط به تیمار P<sub>500</sub> با  $۰/۱۳ \pm ۱۶/۲$  میلی متر و  $۰/۵۰ \pm ۸/۵۰$  میلی گرم بود. علت اختلاف وزن و طول هر لارو، همچنین میزان تولید در هر متر مربع، با مطالعات ذکر شده با اینکه از یک نوع بستر پرورش استفاده شده است می‌تواند به علت تنوع در سیستم استفاده شده برای پرورش لارو شیرونومید (Hamidoghli et al., 2014)، گونه‌های متفاوت از خانواده Chironomidae، تابش نور، دما، غلظت اکسیژن محلول (Konstantinov, 1952)، تعداد و کیفیت کوکون اضافه شده به مکان پرورش (امکان دارد هنگام براشت کوکون، دچار نقصان شود) (Brovini et al., 2023) و اندازه و جنس ظرف استفاده شده برای پرورش باشد. همچنین ثابت شده است که وجود یون آهن در محیط کشت لارو شیرونومید باعث افزایش زیتوده در مترمربع می‌شود (McLarney et al., 1974) که این عامل نیز می‌تواند باعث وجود اختلاف در نتایج باشد. در تحقیق حاضر، بیشترین میانگین طول هر لارو مربوط به تیمار P<sub>500</sub> با  $۰/۱۳ \pm ۱۶/۲$  میلی متر بود که تقریباً با مطالعه Podder و همکاران (۲۰۲۰) مطابقت دارد و با تحقیق Hamidoghli و همکاران (۲۰۱۴) متفاوت است که می‌تواند به همان دلایل ذکر شده در بالا باشد.

لارو شیرونومید تا حد زیادی تحت تاثیر ترکیبات بستر محیط زندگی خود هستند (Kiyashko et al., 2004) تا به امروز در میکروبیوم گونه‌های مختلف شیرونومید باکتری‌هایی از جنس *Aeromonas*، *Acinetobacter*، *Acidovorax*، *Citrobacter*، *Chryseobacterium*، *Cetobacterium*، *Brevundimonas*، *Bacillus*، *Aquabacterium*، *Yersinia*، *Nogesella*، *Stenotrophomonas*، *Oceanobacillus chironomi* همچنین از کوکون نیز گونه‌های *Brachymonas chironomid* و *Leucobacter chironomi* شناسایی شدند (Laviad and Halpern, 2016) از طرفی دیگر ثابت شده است که لارو شیرونومید منجمد می‌تواند انتقال دهنده بیماری باکتریایی میکوباکتریوم به ماهیان باشد (Bassleer, 2006). با توجه به اینکه پری‌بیوتیک‌ها توسط باکتری‌ها مصرف می‌شوند (Yousefi et al., 2018) بنابراین این احتمال وجود دارد که باکتری‌های موجود در میکروبیوم لارو شیرونومید و یا کوکون‌ها از پری‌بیوتیک پرودی ۴۵۰ تغذیه کردند و اصلاً به تاسماهی منتقل نشده باشد. از طرفی دیگر ممکن است باکتری‌های موجود در کود مرغی با تغذیه از پری‌بیوتیک حاضر از لحاظ کیفیت و کمیت رشد کرده و لارو شیرونومید با تغذیه از این باکتری‌ها (Sahragard and Rafatifard, 2006) و نه تغذیه مستقیم از پری‌بیوتیک، باعث افزایش زیتوده نسبت به تیمار شاهد شده است. افزودن پری‌بیوتیک GroBiotic-A به محیط کشت روتیفر، باعث تغییر میکروبیوم روتیفر شده است (Clark, 2020). با توجه به اینکه آزمونی جهت اثبات تغذیه لارو شیرونومید از پری‌بیوتیک انجام نشده است نمی‌توان در این مورد با اطمینان اظهار قطعی نظر نمود.

تعداد تخم در داخل کوکون ارتباط مستقیمی با اندازه جنس ماده دارد، به طوری که این تعداد می‌تواند بین ۴۰۰ تا ۱۵۰۰ عدد تخم در هر کوکون بسته به اندازه ماده‌های گونه‌های مختلف شیرونومید در نوسان باشد (Aslanparviz and Vahdat, 2014). در تحقیق حاضر بیشترین تعداد لارو در هر جعبه و در هر متر مربع به ترتیب  $۷۵۰ \pm ۳۴۵۳$  و  $۴۰۸۲ \pm ۱۸۸۰۵$  متعلق به تیمار P<sub>500</sub> بود که با سایر تیمارها اختلاف معنی‌دار داشت و در مقایسه با مطالعه Hamidoghli و همکاران (۲۰۱۴) که با تعداد کوکون اضافه شده مشابه، بیشترین میانگین تعداد لارو در هر متر مربع ۲۸۸۷۹ عدد بود، متفاوت است که می‌تواند به علت گونه‌های

متفاوت از خانواده Chironomidae، تابش نور، دما (Pourali Foshtomi *et al.*, 2016)، کیفیت کوکون و یا نحوه جمع آوری و اضافه کردن آن به جعبه‌ها (در اینجا کوکون‌ها با استفاده از پنس اضافه شد) (Bronzi *et al.*, 1999) و جنس بستر مورد استفاده باشد به طوری که Konstantinov (۱۹۵۲) هنگام استفاده از شن‌های درشت به عنوان بستر کشت و همچنین مخمر به عنوان غذای دائمی لاروها در روز پانزدهم پرورش تلفات ۸۸ درصدی را ثبت کرد در حالیکه میزان تلفات در بستر کشت لجن‌های شنی ۱۶ درصد بود. همچنین افزودن پری‌بیوتیک بر تعداد روتیفرها بررسی شده است؛ Clark (۲۰۲۰) با افزودن پری‌بیوتیک Grobiotic-A به غلظت ۴/۵ میلی گرم در لیتر به محیط کشت روتیفر مشاهده کرد که تعداد روتیفرها نسبت به تیمار شاهد (فاقد پری‌بیوتیک) افزایش معنی داری داشت او دلیل این اتفاق را مخمر موجود در GroBiotic-A دانست که احتمالاً منجر به افزایش تعداد روتیفرها شد.

لارو تاسماهی ایرانی ۴۵ میلی گرمی تغذیه شده با لارو شیرونومید منجمد به مدت یازده روز، کارایی غذای معادل ۱۳/۶۶ درصد داشت. همچنین طی همین مدت با تغذیه از آرتمیا (۳ روز اول) و لارو شیرونومید منجمد کارایی غذای آن ۱۳/۳۳ درصد بود (Efatpanah *et al.*, 2021). این در حالیست که Hamidoghli و همکاران (۲۰۱۴) پس از ۱۴ روز تغذیه لارو تاسماهی ایرانی ۳۰۷ میلی گرمی با لارو شیرونومید، میانگین کارایی غذایی معادل ۵۳/۳۳ درصد بدست آوردند. در مطالعه حاضر پس از ۱۴ روز تغذیه تاسماهی سبیری انگشت قد مقدار حداکثر این شاخص برابر با  $2/71 \pm 26/36$  درصد در تیمار P<sub>500</sub> بود که اختلاف معنی داری با سایر تیمارها نداشت. این اختلاف در نتایج می‌تواند به علت گونه و سن تاسماهی، عوامل محیطی و میزان لارو شیرونومید استفاده شده برای تغذیه تاسماهیان باشد. همچنین متفاوت بودن مواد مغذی موجود در لارو شیرونومید مانند اسیدهای چرب و آمینه نیز تاثیرگذار است در بین گونه‌های مختلف شیرونومید پروفایل اسید چرب متفاوتی وجود دارد (Bogut *et al.*, 2007)؛ (Kara *et al.*, 2012). همچنین ثابت شده است که کمیت و کیفیت مواد مغذی موجود در لارو شیرونومید به شدت بستگی به ترکیبات بستر پرورش یا زندگی لارو دارد (Habib *et al.*, 1997 ; Kiyashko *et al.*, 2004) حتی از یک گونه، در فصول مختلف یک سال نیز اختلاف معنی داری در پروفایل اسید چرب گزارش شده است (Kara *et al.*, 2012).

میانگین نرخ بقا در بین تیمارها اختلاف معنی داری نداشت (در تیمار شاهد برابر با  $4/44 \pm 91/11$  درصد) که از لحاظ استفاده غذای زنده، به ویژه لارو شیرونومید مناسب بود و از نرخ بقای تاسماهی ایرانی بعد از تغذیه ۲۱ روزه از لارو شیرونومید که برابر  $0/99 \pm 77/22$  درصد بود، بیشتر است (Efatpanah *et al.*, 2021). البته در ماهی سوف حاج طرخان (*Perca fluviatilis*) Falahatkar *et al.*, (۲۰۲۳) و Yousefi و همکاران (۲۰۲۵) با استفاده از لارو منجمد شیرونومید در تغذیه لاروی فیل‌ماهی (*Huso huso*)  $0/41$  گرمی، نرخ بقایی برابر با  $98/33$  درصد بدست آوردند. استفاده از پری‌بیوتیک در اکثر مطالعات تاثیر معنی داری بر روی بقای ماهیان نداشته است (Adel *et al.*, 2016 ; Azimirad *et al.*, 2016 ; Yousefi *et al.*, 2018). Samrongpan و همکاران (۲۰۰۸) پس از اضافه کردن سطوح مختلف پری‌بیوتیک مانان الیگوساکارید (۲، ۴ و ۶ گرم در کیلوگرم) به غذای لارو تیلاپپای نیل ( $0/82$  گرمی) در نرخ بقا هیچ تغییر معنی داری مشاهده نکردند. اما Daniels و همکاران (۲۰۱۰)، بعد از غنی سازی آرتمیا با پری‌بیوتیک حاوی مانان الیگوساکارید به غلظت ۱۲ میلی گرم در لیتر و تغذیه لارو شاه‌میگو اروپایی (*Homagrus gammarus*) از آن، شاهد افزایش معنی دار نرخ بقا در لاروها بودند. به طور کلی تأثیر پری‌بیوتیک‌ها بر درصد بقای آبزیان به عوامل متعددی بستگی دارد که شامل نوع پری‌بیوتیک، گونه آبزی، شرایط محیطی، دوز مصرفی می‌شود (Ringø *et al.*, 2010).

اثر پری‌بیوتیک‌های مختلف بر عملکرد رشد تاسماهیان به طور کامل مطالعه نشده است. تجزیه و تخمیر ترکیبات پری‌بیوتیک در روده توسط باکتری‌های مفید، منجر به سنتز متابولیت‌های مهمی نظیر اسیدهای چرب کوتاه زنجیر (استات، پروپیونات و بوتیرات) و اسید لاکتیک می‌گردد. این ترکیبات با ایجاد اسیدیته مناسب در محیط روده، بستری ایده‌آل برای تکثیر و فعالیت میکروارگانیسم‌های مفید فراهم می‌کنند. از سوی دیگر، افزایش جمعیت باکتری‌های تولیدکننده اسید لاکتیک موجب رقابت موثر با پاتوژن‌ها از طریق دو مکانیسم رقابت برای جذب مواد مغذی ضروری و اشغال جایگاه‌های اتصال در دیواره روده می‌شود، این پدیده‌های رقابتی نهایتاً منجر به بهبود شاخص‌های رشد و تقویت مکانیسم‌های دفاعی میزبان در برابر عوامل بیماری‌زا می‌گردد (Yousefi *et al.*, 2020). اما برخی از پژوهشگران بر این باورند که تفاوت در نتایج بدست آمده در مطالعات می‌تواند به علت انواع و ساختار پری‌بیوتیک، متفاوت بودن جیره پایه، مدت زمان آزمایش، سن و گونه ماهی، دمای محیط پرورش، دوز مورد استفاده، قابلیت تخمیر پذیری پری‌بیوتیک‌ها و تفاوت مورفولوژیک دستگاه گوارش و باکتری‌های ساکن در روده میزبان باشد (Hoseinifar *et al.*, 2018 ; Yousefi *et al.*, 2018). افزایش و بهبود در عملکرد رشد ماهیان را می‌توان به کاهش pH روده در نتیجه تخمیر پری‌بیوتیک و تولید اسید که از فعالیت باکتری‌های پاتوژن در میزبان (ماهی) جلوگیری کرده و نیز سبب جذب مواد معدنی می‌شود نسبت داد (Yousefi *et al.*, 2020 ; Yousefi *et al.*, 2018). از طرفی دیگر ممکن است به دلیل استفاده بیش از حد از پری‌بیوتیک‌ها در جیره منجر به هدر رفت آن‌ها در آب و کاهش دسترسی ماهیان شود (Akrami *et al.*, 2018).

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تغذیه از لارو شیرونومید پرورش داده شده با سطوح مختلف پری‌بیوتیک مانان الیگوساکارید به همراه بتاگلوکان اثر معنی داری بر شاخص‌های رشد و تغذیه تاسماهی سبیری انگشت قد نداشت. Yousefi و همکاران (۲۰۲۰) دریافتند که مصرف جیره حاوی دو سطح متفاوت (۵ و ۱۰ گرم در کیلوگرم غذا) پری‌بیوتیک ایمنووال (ترکیبی از مانان الیگوساکارید و بتا گلوکان) اثر معنی داری بر بهبود عملکرد رشد تاسماهیان جوان ایرانی نداشت. Momeni-Moghaddam و همکاران (۲۰۱۵) گزارش کردند که افزودن پری‌بیوتیک مانان الیگوساکارید در سطوح صفر، ۰/۵، ۱ و ۲ گرم در کیلوگرم به جیره، اثر معنی داری در بهبود شاخص‌های رشد ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) نداشت و فقط باعث کاهش ضریب تبدیل غذا شد. Geraylou و همکاران (۲۰۱۲) تحقیقی جهت بررسی تأثیر دو نوع پری‌بیوتیک آرابینوکیسلانو-الیگوساکارید (AXOS) بر بچه تاسماهی سبیری ۲۵ گرمی انجام دادند که تأثیری معنی داری بر شاخص‌های رشد نداشت. در مطالعه‌ای دیگر که توسط Li و Gatlin (۲۰۰۴) با استفاده از Grobiotic-A انجام شد، بهبود عملکرد معنی داری در شاخص‌های رشد در ماهیان هیبرید باس سفید × باس مخطط (*Morone chrysops* × *M. saxatilis*) مشاهده نگردید که دلیل این امر را تفاوت‌های بیولوژیک بین گونه‌های مختلف و مدت زمان مصرف پری‌بیوتیک در جیره آن‌ها ذکر کردند.

از طرفی دیگر در بعضی از مطالعاتی که بر روی تاسماهیان انجام شد، Taati و همکاران (۲۰۱۲) نشان دادند که پری‌بیوتیک ایمنووال تأثیر معنی داری بر شاخص‌های رشد و تغذیه فیله‌های جوان داشت. همچنین Ramezani و همکاران (۲۰۱۸) با استفاده از این پری‌بیوتیک در جیره تاسماهی سبیری جوان افزایش معنی داری در شاخص‌های رشد گزارش کردند. Adel و همکاران (۲۰۱۶) نیز با استفاده از مکمل پری‌بیوتیک Grobiotic-A در جیره غذایی فیله‌های جوان افزایش معنی داری در شاخص‌های رشد در تیمارهای حاوی ۱۰ و ۲۰ گرم در کیلوگرم پری‌بیوتیک مشاهده کردند.

همچنین در مورد اثر پری‌بیوتیک در لارو ماهیان نیز Samrongpan و همکاران (۲۰۰۸) پس از افزودن ۴ گرم در کیلوگرم خوراک لارو تیلاپپای نیل شاهد افزایش معنی داری در وزن نهایی و وزن کسب شده بودند. اما مطالعاتی که در آن‌ها غذاهای زنده

توسط پری بیوتیک غنی سازی شده و سپس مورد تغذیه آبی قرار گرفته است بسیار محدود هستند و در هیچکدام از آن‌ها آزمون‌های سنجش پری بیوتیک موجود در غذای زنده پس از غنی سازی انجام نشده است.

استفاده از آرتمیای غنی شده توسط شبه پری بیوتیک PHB به عنوان غذای دوره لاروی تاسماهی سبیری باعث کاهش معنادار رشد شد (Najdegerami *et al.*, 2015). Azimirad و همکاران (۲۰۱۶) ابتدا آرتمیا را با پری بیوتیک فروکتوالیگوساکارید با سطح ۱۰۰ میلی گرم در لیتر غنی سازی کرده و سپس توسط ماهی آنجل (*Pterophyllum scalare*) مورد تغذیه قرار گرفتند که باعث بهبود معنی دار شاخص‌های رشد در ماهی شد. Daniels و همکاران (۲۰۱۰) نشان دادند که با غنی سازی آرتمیا توسط مانان الیگوساکارید و استفاده از آرتمیای غنی شده به عنوان غذا در لابستر اروپایی شاخص‌های رشد افزایش معنی داری داشت. در مطالعه‌ای دیگر، Amlashi و همکاران (۲۰۱۴) بهبود معنی داری در شاخص‌های رشد ماهی اسکار تغذیه شده با آرتمیای غنی شده با استفاده از مانان الیگوساکارید با سطوح مختلف ۲۰۵، ۵۰۰ و ۷۵۰ میلی گرم در لیتر مشاهده کردند. همانطور که در بالا نیز ذکر شد در مطالعه حاضر اثر معنی داری در شاخص‌های رشد رویت نشد که این اختلاف در نتایج می‌تواند به علت استفاده از غذای زنده متفاوت نسبت به مطالعات ذکر شده، سطوح مختلف پری بیوتیک، مدت زمان اضافه کردن پری بیوتیک به محیط پرورش غذای زنده و گونه ماهی متفاوت باشد (Yousefi *et al.*, 2018).

### نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که سطوح مختلف ۲۵۰، ۵۰۰ و ۷۵۰ میلی گرم در کیلوگرم کود مرغی پری بیوتیک پرودی ۴۵۰ (حاوی مانان الیگوساکارید و بتاگلوکان) به طور کلی باعث افزایش زیتوده لارو شیرونومید در واحد سطح نمی‌شود اما سطح ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی گرم پری بیوتیک باعث افزایش معنی‌دار وزن هر لارو شد. به نظر می‌رسد این نتیجه را می‌توان به میزان استفاده و مقدار در دسترس بودن پری بیوتیک برای لارو شیرونومید نسبت داد. از طرفی استفاده از لارو شیرونومید تغذیه شده با پری بیوتیک پرودی ۴۵۰ برای تغذیه تاسماهی سبیری انگشت قد هیچ تفاوت معنی داری در بهبود عملکرد رشد تاسماهی سبیری ایجاد نکرد که دلیل این امر نیز می‌تواند مدت زمان کم تغذیه لارو توسط لارو شیرونومید، عدم تغذیه مستقیم لارو شیرونومید از پری بیوتیک در اثر استفاده باکتری‌های موجود در محیط کشت، مقدار کم در دسترس پری بیوتیک بر لارو شیرونومید و زمان اضافه کردن پری بیوتیک به محیط کشت باشد که نیاز به تحقیقات و مطالعات بیشتری در این زمینه دارد.

### ملاحظات اخلاقی

این پژوهش کد اخلاق را به شماره IR.GUILAN.REC.1403.152 از کمیته اخلاق دانشگاه گیلان دریافت کرده است. نویسندگان اصول اخلاقی را در انجام و انتشار این پژوهش علمی رعایت نموده‌اند و این موضوع مورد تأیید همه آنهاست.

### سپاسگزاری

بدینوسیله از جناب آقای دکتر سجادی از دانشگاه گیلان به علت کمک در امر پژوهش، آقای مهندس هوشنگ یگانه و سایر کارکنان موسسه بین‌المللی تحقیقات تاسماهیان دریای خزر به دلیل حمایت و مساعدت بی‌دریغشان، تشکر و قدردانی نموده و از آقای مهندس ملکی بابت کمک در انجام آزمایش‌ها کمال تشکر را داشته و از سایر عزیزانی که در این پژوهش ما را یاری نمودند، سپاسگزاریم.

## References

- Adel, M., Nayak, S., Lazado, C.C., and Yeganeh, S., 2016. Effects of dietary prebiotic GroBiotic®-A on growth performance, plasma thyroid hormones and mucosal immunity of great sturgeon, *Huso huso* (Linnaeus, 1758). *Journal of Applied Ichthyology*, 32(5), pp. 825-831. <https://doi.org/10.1111/jai.13153>
- Akrami, R., Chitsaz, H., and Lakzaei, F., 2018. Effect of dietary A-Max supplementation as a prebiotic on growth performance and hemato-immunological parameters of great sturgeon (*Huso huso* Linnaeus, 1758) juveniles. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 17(2), pp. 251-266. <https://jifro.ir/article-1-3348-fa.html>
- Alston, D.E., and Dendy, J.S., 1974. Progress report on outdoor culture and harvest of midge (Chironomidae: Diptera) larvae for fish food. *Journal of World Aquaculture*, 5, pp. 403-409.
- Amlashi, F.S., Zamini, A., and Zarrabi, S., 2014. Assessing indices of growth of Oscar fry (*Astronotus ocellatus*) fed up with nauplius of Artemia enriched with MOS extracted from yeast cell wall (*Saccharomyces cerevisiae*). *Biological Forum an International Journal*, 6(2), pp. 24-29. <https://citeseerx.ist.psu.edu/document?repid=rep1&type=pdf&doi=e0fb9c3d663359718884611876df109c2efe1e4e>
- Aslanparviz, H., and Vahdat, S., 2014. *Biological Basis and Culture of Aquatic and land Living Food Animals*. Aquatic Scientific Publications, Tehran. 623 p. (in Persian)
- Azimirad, M., Meshkini, S., Ahmadifard, N., and Hoseinifar, S.H., 2016. The effects of feeding with synbiotic (*Pediococcus acidilactici* and fructooligosaccharide) enriched adult Artemia on skin mucus immune responses, stress resistance, intestinal microbiota and performance of angelfish (*Pterophyllum scalare*). *Fish and Shellfish Immunology*, 54, pp. 516-522. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2016.05.001>
- Bassleer, G., 2006. *The New Illustrated Guide to Fish Disease* (in ornamental tropical and pond fish). 2nd edition. Gerald Bassleer Publication, 211 p. <https://agris.fao.org/search/en/providers/122621/records/647396913ed73003714cd01e>
- Bogut, I., Has-Schon, E., Adamek, Z., Rajković V., and Rajković, V., 2007. *Chironomus plumosus* larvae - A suitable nutrient for freshwater farmed fish. *Poljoprivreda*, 13(1), pp. 159-162.
- Bronzi, P., Rosenthal, H., Arlati, G., and Williot, P., 1999. A brief overview on the status and prospects of sturgeon farming in Western and Central Europe. *Journal of Applied Ichthyology*, 15(4-5), pp. 224-227. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0426.1999.tb00239.x>
- Brovini, E.M., Lobo, H., Mendonça, R.F., Botta, C.M.R., Lima, A.L.R.L., de Deus, B.C.T., and Cardoso, S.J., 2023. *Chironomus sancticaroli* (Diptera: Chironomidae) in ecotoxicology: laboratory cultures and tests. *Ecotoxicology*, 32 (2), pp. 223-233. <https://doi.org/10.1007/s10646-023-02631-0>
- Chebanov, M., and Galich, A., 2013. *Sturgeon Hatchery Manual*. FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper 558, Food and Aquaculture Organization of the United Nations. Ankara 325 p.

- Clark, G.M., 2020. Evaluating the Effect of Prebiotics and Probiotics on Rotifer and Juvenile Red Drum (*Sciaenops ocellatus*) Production. Master of Science Thesis. Texas AandM University. 52 p.
- Daniels, C.L., Merrifield, D.L., Boothroyd, D.P., Davies, S.J., Factor, J.R., and Arnold, K.E., 2010. Effect of dietary *Bacillus* sp. and mannan oligosaccharides (MOS) on European lobster (*Homarus gammarus* L.) larvae growth performance, gut morphology and gut microbiota. *Aquaculture*, 304(1-4), pp. 49-57. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.03.018>
- Efatpanah, I., Falahatkar, B., Sajjadi, M., and Monsef Shokri, M., 2021. Initial feeding of Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) with various live foods on growth parameters, survival, carcass analysis and fatty acids profile in adaptation to artificial feed using chironomid. *Fisheries*, 74(1), pp. 119-137. (in Persian) <https://doi.org/10.22059/jfisheries.2021.315468.1215>
- Falahatkar, B., 2018a. Nutritional requirements of the Siberian sturgeon: an updated synthesis. In: The Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*, Brandt, 1869) Vol. 1 Biology, P. Williot, G. Nonnotte, D. Vizziano-Cantonnet, M. Chebanov (eds). Springer International Publishing, Cham, 207-228.
- Falahatkar, B., 2018b. *Feeding and Feed Formulation in Aquatic Organisms*. Jihad Agriculture. Tehran. 334 p. (in Persian)
- Falahatkar, B., Mortezaei, F., Abedini, V., and Rahmati, M., 2023. Effects of using Chironomid larvae and Artemia biomass on growth performance and body composition of juvenile Eurasian perch (*Perca fluviatilis*) during adaptation to formulated diet. *Aquaculture Sciences*, 11(20), pp. 163-173. (in Persian) <https://dor.isc.ac/dor/20.1001.1.23225351.1402.11.1.16.7>
- Fonseca, A., and Rocha, O., 2004. Laboratory cultures of the native species *Chironomus xanthus* Rempel, 1939 (Diptera, Chironomidae). *Acta Limnologica Brasiliensia*, 16(2), pp. 153-161. <https://actalb.org/article/627b1134782aad05cd1891c9/pdf/alb-16-2-153.pdf>
- Geraylou, Z., Souffreau, C., Rurangwa, E., D'Hondt, S., Callewaert, L., Courtin, C. M., Delcour, J.A., Buyse, J., and Ollevier, F., 2012. Effects of arabinoxylan-oligosaccharides (AXOS) on juvenile Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*) performance, immune responses and gastrointestinal microbial community. *Fish and Shellfish Immunology*, 33(3), pp. 718-724. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2013.06.014>
- Habib, M.A.B., Yusoff, F.M., Phang, S.M., Ang, K.J., and Mohamed, S., 1997. Nutritional values of Chironomid larvae grown in palm oil mill effluent and algal culture. *Aquaculture*, 158(1-2), pp. 95-105. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(97\)00176-2](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(97)00176-2)
- Hamidoghli, A., Falahatkar, B., Khoshkholgh, M., and Sahragard, A., 2014. Production and enrichment of chironomid larva with different levels of vitamin C and effects on performance of persian Sturgeon larvae. *North American Journal of Aquaculture*, 76(3), pp. 289-295. <https://doi.org/10.1080/15222055.2014.911224>
- Hoseinifar, S.H., Roosta, Z., Hajimoradloo, A., and Vakili, F., 2015. The effects of *Lactobacillus acidophilus* as feed supplement on skin mucosal immune parameters, intestinal microbiota, stress

- resistance and growth performance of black swordtail (*Xiphophorus helleri*). *Fish and Shellfish Immunology*, 42(2), pp. 533-538. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2014.12.003>
- Imanpour Namin, J., 2018. *Identification Guide to Running Water Macroinvertebrates*. University of Guilan Press. 414 p. (in Persian)
- Kara, T., Tellioglu, A., and Aydin, S., 2012. Fatty acid composition of chironomidae larvae in different seasons. *Asian Journal of Chemistry* 24(11), pp. 5309-5312. <https://asianpubs.org/index.php/ajchem/article/view/9842>
- Kibenge, F.S.B., Baldisserotto, B., and Chong, R.S.M., 2020. *Aquaculture Pharmacology*. Elsevier, Amsterdam, 412 p.
- Kiyashko, S.I., Imbs, A.B., Naritab, T., Svetashev, V.I., and Wada, E., 2004. Fatty acid composition of aquatic insect larvae *Stictochironomus pictulus* (Diptera: Chironomidae): evidence of feeding upon methanotrophic bacteria. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 139(4), pp. 705-711. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2004.08.013>
- Konstantinov, A.S., 1952. Semi-commercial breeding of chironomidae larvae. *Journal of Fishery Industries*, 6.
- Laviad, S., and Halpern, M., 2016. Chironomids' Relationship with *Aeromonas* Species. *Frontiers in Microbiology*, 7, pp. 1-7. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00736>
- Li, P., and Gatlin, D.M., 2004. Dietary brewer's yeast and the prebiotic Grobionic®-Ainfluence growth performance, immune responses and resistance of hybrid striped bass (*Morone chrysops* × *M. saxatilis*) to *Streptococcus iniae* infection. *Aquaculture*. 231(1-4), pp. 445-456. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2003.08.021>
- Maier, K.J., Kosalwat, P., and Knight, A.W., 1990. Culture of *Chironomus decorus* (Diptera: Chironomidae) and the effect of temperature on its life history. *Environmental Entomology*, 19(6), pp. 1681-1688. <https://doi.org/10.1093/ee/19.6.1681>
- McLarney, W.O., Henderson, S., and Sherman, M.M., 1974. A new method for culturing *Chironomus tentans fabricius* larvae using burlap substrate in fertilized pools. *Aquaculture*, 4, pp. 67-76. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(74\)90039-8](https://doi.org/10.1016/0044-8486(74)90039-8)
- Momeni-Moghaddam, P., Keyvanshokoh, S., Ziaei-Nejad, S., Salati, P.A., and Pasha-Zanoosi, H., 2015. Effects of mannan oligosaccharide supplementation on growth, some immune responses and gut lactic acid bacteria of common carp (*Cyprinus carpio*) fingerlings. *Veterinary Research Forum: An International Quarterly Journal*, 6(3), pp. 239-244. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4611979/>
- Nahavandi, R., Nekouei Fard, A., and Karimifar, B., 2022. *A New and Practical Approach to the Live Food Ornamental Fish*. Nourbakhsh Press, Tehran. 146 p. (in Persian)
- Najdegerami, E.H., Baruah, K., Shiri, A., Rekecki, A., Van den Broeck, W., Sorgeloos, P., Boon, N., Bossier, P., and De Schryver, P., 2015. Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*) larvae fed *Artemia nauplii* enriched with poly-β-hydroxybutyrate (PHB): effect on growth performance, body

- composition, digestive enzymes, gut microbial community, gut histology and stress tests. *Aquaculture Research*, 46(4), pp. 801-812. <https://doi.org/10.1111/are.12231>
- Pan, Y.J., Dahms, H.U., Hwang, J.S., and Souissi, S., 2022. Recent Trends in Live Feeds for Marine Larviculture: A Mini Review. *Frontiers in Marine Science*, 9, p. 864165. <https://doi.org/10.3389/fmars.2022.864165>
- Podder, R., Nath, S., and Modak, B.K., 2020. An Approach to Measure the Biomass of Bloodworms (Diptera: Chironomidae) in Different Nutrients. *Proceedings of the Zoological Society*, 73(1), pp. 95-98. <https://doi.org/10.1007/s12595-019-00301-w>
- Pourali Foshtomi H., Alimoradi, M., Padjand, Z., Yeganeh Rasteh Kenari, H., and Soheil Naghshi, S., 2016. Breeding and mass production of chironomid (*Chironomus albidus*) larvae under rearing conditions . *Journal of Aquaculture Development*, 10(3), pp. 69-81. (in Persian) <https://aquadev.liiau.ac.ir/article-1-405-fa.pdf>
- Rajabipour, F., Mashaii, N., Saresangi, H., and Bitaraf, A., 2011. *Chironomus aprilius* Meigen production in underground brackish waters in Iran. *Academic Journal of Entomology*, 4 (2), pp. 41-46. [https://www.idosi.org/aje/4\(2\)11/2.pdf](https://www.idosi.org/aje/4(2)11/2.pdf)
- Ramezani, S., Eshaghzadeh, H., Saeimee, H., and Darvishi, S., 2018. Subyearling Siberian sturgeon *Acipenser baerii* fed a diet supplemented with immunogen: effects on growth performance, body composition, and hematological and serum biochemical parameters. *Journal of Aquatic Animal Health*, 30(2), pp. 155-163. <https://doi.org/10.1002/aah.10019>
- Reda, R.M., and Selim, K.M., 2013. Enhancement of growth, immunity and disease resistant to *Yersinia ruckeri* in *Oreochromis niloticus* fingerlings by oral administration of prebiotic (Immunowall®). *Abbassa International Journal Aquaculture*, 6(2), pp. 426-449.
- Ringø, E., Olsen, R.E., Gifstad, T.Ø., Dalmo, R.A., Amlund, H., Hemre, G.I., and Bakke, A.M., 2010. Prebiotics in aquaculture: a review. *Aquaculture Nutrition*, 16(2), pp. 117-136. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2009.00731.x>
- Sahragard, A., and Rafatifard M., 2006. Mass rearing of the larvae of *Chironomus riparius* (Dip.: Chironomidae), *Journal of Entomological Society of Iran*, 26(1), pp. 45-55. (in Persian) [https://jesi.areeo.ac.ir/article\\_105380.html](https://jesi.areeo.ac.ir/article_105380.html)
- Samrongpan, C., Areechon, N., Yoonpundh, R., and Srisapoome, P., 2008. Effects of mannan-oligosaccharide on growth, survival and disease resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus linnaeus*) fry. in 8th International Symposium on Tilapia in Aquaculture.
- Sheikhzadeh, N., and Soltani, M., 2022. *Immunostimulants in Aquaculture*. University of Tehran Press, Tehran. 185 p. (in Persian)
- Statistical Yearbook of the Iranian Fisheries Organization 2019-2023., 2024. Iranian Fisheries Organization, Tehran. 64 p. (in Persian)

- Sulistiyarto, B., and Bakrie, R., 2023. The growth of bloodworm, Chironomidae larvae (Diptera) fed with fish waste and chicken manure. *Acta Entomology and Zoology*, 4(2), pp. 1-5. <https://doi.org/10.33545/27080013.2023.v4.i2a.106>
- Taati, R., Abolghasemi, S.J., Tatina, M., and Tajan, M.N., 2012. Influence of prebiotic Immunowall on growth performance, body composition and immunophysiological variables in juvenile great sturgeon, *Huso huso*. *Annals of Biological Research*, 3(9), pp. 4435-4441.
- Widanarni, W., Mailana, D.D., and Carman, O., 2007. Effect of different medium on survival rate and growth of *Chironomus* sp. larvae. *Journal Akuakultur Indonesia*, 5(2), pp. 113-118. <https://doi.org/10.19027/jai.5.113-118>
- Williot, P., Nonnotte, G., and Chebanov, M. 2018. *The Siberian sturgeon (Acipenser baerii, Brandt, 1869)*. (Vol. 1), Springer Nature Publishing House, Berlin, 590 p.
- Yousefi, S., Hoseinifar, S.H., Paknejad, H., and Hajimoradloo, A., 2018. The effects of dietary supplement of galactooligosaccharide on innate immunity, immune related genes expression and growth performance in zebrafish (*Danio rerio*). *Fish and Shellfish Immunology*, 73, pp. 192-196. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2017.12.022>
- Yousefi, S., Monsef Shokri, M., Allaf Navirian, H., and Hoseinifar, S.H., 2020. Effects of yeast cell membrane prebiotic (immunowall®) on growth performance and hematological parameters in juvenile Persian sturgeon (*Acipenser persicus*). *Journal of Animal Environment*, 12, pp. 221-228. (in Persian) <http://dx.doi.org/10.22034/aej.2020.115584>
- Yousefi, S., Khoshkholgh, M., Pajand, Z., Monsef Shokri, M., and Allaf Noverian, H., 2025. Effects of different co-feeding strategies on growth, body chemical composition, digestive enzymes, and expression of gh and igf-1 genes in Beluga sturgeon (*Huso huso*) larvae. *Aquaculture Reports*, 42, pp. 102812. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2025.102812>