

## اثر پروبیوتیک (Saccharomyces cerevisiae PTCC5052) بر افزایش نرخ ماندگاری (Onchorhyncus mykiss) بچه ماهی قزل آلای رنگین کمان

مژگان امتیاز جو<sup>۱\*</sup>; همایون حسین زاده صحافی<sup>۲</sup>, داود ضرغام<sup>۱</sup>, طبیبه باشتی<sup>۳</sup> و کمیل رزمی<sup>۱</sup>

۱- دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال

۲- موسسه تحقیقات شیلات ایران

۳- مرکز تکثیر و پرورش ماهیان سردابی شهید مطهری یاسوج

### The effect of probiotic *Saccharomyces cerevisiae* PTCC5052 on enhancing survival of Rainbow trout (*Onchorhyncus mykiss*) larvae.

Emtyazjoo\*, M.; Hosseinzade sahhafi, H.; Zargham, D.; Bashti, T. & Razmi, K.

1. Faculty of Marine Science and Technology, Islamic Azad University, North Tehran Branch
2. Iranian Fisheries Research Organization
3. Shahid Mottahary Coldwater aquaculture center (yasouj)

#### Abstract

The present study that was done in winter 2008 in shahid Mottahary Aquaculture Center, the effect of *Saccharomyces cerevisiae* PTCC5052 was investigated as a probiotic increasing of survival and enhancing the growth of Rainbow trout larvae. 8400 yolk sac larvae were devided in to 4 treatments with 3 replicates. The ratio of yeast in 3 treatments were 106, 107, 108 yeast per gram food of fish for A,B,C treatments, respectively. Mean survival for treatments were 87.8% in control group , 92.8% in treatment A, 93% in treatment B and 95.4% in treatment C. After analysis of data, in comparison to control group, significance difference was observed only in treatment C ( $P<0.05$ ).

**Keywords:** Probiotic, *Saccharomyces cerevisiae*, Rainbow trout (*Onchorhyncus mykiss*), survival

#### چکیده

در تحقیق حاضر که در زمستان سال ۱۳۸۶ در مرکز تکثیر و پرورش ماهیان سردابی شهید مطهری یاسوج به مدت ۵۰ روز انجام شد، اثر مخمر *Saccharomyces cerevisiae* PTCC 5052 به طور خالص به عنوان پروبیوتیک در کاهش نرخ تلفات و افزایش درصد بقاء لاروهای قزل آلای رنگین کمان (*Onchorhyncus mykiss*) مورد بررسی قرار گرفت. برای انجام این تحقیق ۸۴۰۰ لارو دارای کیسه زرده در ۴ تیمار و ۳ تکرار به مدت ۵۰ روز بررسی شدند. نسبت مخمر موجود در ۳ تیمار آزمایش به ترتیب  $10^7$ ,  $10^8$  و  $10^9$  مخمر در هر گرم غذای ماهی برای تیمارهای A, B و C مورد استفاده قرار گرفت. نتایج نشان دادند که میانگین ماندگاری تیمارها برای تیمار شاهد ۸۷/۸ درصد، تیمار A ۹۲/۸ درصد، تیمار B ۹۳ درصد و تیمار C ۹۵/۴ درصد می باشد. پس از آنالیز آماری دادهها تنها بین تیمار شاهد و تیمار C اختلاف معنی دار مشاهده شد ( $P<0.05$ ). به کارگیری مخمر *Saccharomyces cerevisiae* PTCC 5052 به مقدار  $10^9$  مخمر در هر گرم غذای ماهی اثر مثبت و معنی داری بر درصد بقا بچه ماهیان قزل آلای رنگین کمان دارد.

#### واژگان کلیدی

قزل آلای رنگین کمان، (*Onchorhyncus mykiss*), *Saccharomyces cerevisiae* پروبیوتیک، ماندگاری،

\* مسئول مکاتبات Moz\_emtyazjoo@yahoo.com

**مقدمه**

قزلآلای رنگین‌کمان نخستین گونه از خانواده آزاد ماهیان است که به عنوان غذای اصلی انسان پرورش یافت. در حال حاضر این ماهی سهم با ارزشی در تامین غذای انسان دارد. ماهی‌های خانواده آزاد ماهیان غنی از چربی‌های اشباع نشده‌ای هستند که وجودشان در غذای سالم ضروری است. در پرورش قزلآلای و به طور کلی همه آبزیان، پرورش دهنده‌گانی موفق‌ترند که بتوانند با برنامه‌ریزی مناسب، ماهی بازاری را در زمان مناسب و با قیمت مناسب به بازار عرضه کنند و با هزینه تولید پایین‌تر به سود بیشتری دست یابند (سدویک، ۱۳۷۹).

استفاده از پروپیوتوک‌ها را می‌توان یکی از دستاوردهای مثبت پژوهشگران دانست که به صورت بیولوژیک و طبیعی باعث افزایش تولید در واحد سطح می‌شود (قشقایی و لایق، ۱۳۸۳). طی ۵۰ سال گذشته پروپیوتوک‌ها به منظور ارتقاء تعادل میکروبی روده به کار گرفته شده‌اند.

(Rengpipat *et al.*, 2000; Tovar-Ramirez *et al.*, 2004; Ringo *et al.*, 1995; Siwicki *et al.*, 1994; Jorgensen *et al.*, 1993).

پروپیوتوک‌ها در تعداد زیادی از گونه‌ها برای ارتقاء رشد، جذب نوترینتها، افزایش ایمنی و نیز بالا بردن بقاء مؤثر هستند (Macey & Coyne, 2005). نتایج تحقیقات گذشته امیدوارکننده بوده و نوید پیشرفت‌های بهتری در به کارگیری پروپیوتوک‌ها می‌دهد (Rengpipat *et al.*, 1998).

در پرورش قزلآلای و به طور کلی همه انواع آبزیان پرورشی، حساس‌ترین دوران پرورش مربوط به اوایل زندگی موجود و دوران لاروی می‌باشد و بیشترین تلفات نیز در این دوران دیده می‌شود. در تحقیق حاضر اثر مخمر *Saccharomyces cerevisiae* PTCC 5052 خالص به عنوان پروپیوتوک در افزایش درصد بقای لاروهای قزلآلای رنگین‌کمان مورد بررسی قرار گرفت.

زیست‌پذیری پروپیوتوک‌ها در روده ماهی تأثیر مهمی بر پاسخ‌های ایمنی در برابر عوامل بیماری‌زا و استرس‌زا دارد (Irianto & Austin, 2003).

Macey و همکاران در سال ۲۰۰۵ این تئوری را پیشنهاد کردند که حضور میکروارگانیسم‌های پروپیوتوکی در روده می‌تواند از رشد بی‌رویه باکتری‌ها در شکم صدف آبالون و در نتیجه بروز بیماری در سیستم گوارشی صدف جلوگیری کنند. بنابراین هدف از انجام این پژوهش طبق این نظریه چنین می‌توان فرض نمود که حضور *Saccharomyces cerevisiae* در روده بچه ماهی‌ها مانع ورود و جایگزینی باکتری‌های غیر مفید و یا مضر در روده خواهد شد.

**مواد و روش کار**

این تحقیق در زمستان سال ۱۳۸۶، در مرکز تکثیر و پرورش ماهیان سردابی شهید مطهری یاسوج واقع در منطقه دشت روم در ۲۶ کیلومتری جنوب شهر یاسوج انجام شد.

برای انجام این تحقیق تعداد ۸۴۰۰ لارو دارای کیسه زرده ماهی قزلآلای رنگین‌کمان (*Onchorhyncus mykiss*) جدا گردید. این لاروها در ۴ تیمار تقسیم شدند و برای هر تیمار ۳ تکرار در نظر گرفته شد. لاروها به آرامی به داخل سینی‌های پرورش لارو قزلآلای منتقل شدند. بدین ترتیب ۱۲ سینی و در هر سینی ۷۰۰ بچه ماهی آماده شد. بچه ماهی‌های مورد استفاده، حاصل تکثیر مخلوط چند مولد نر و چند مولد ماده بودند تا بدین وسیله از درصد خطای آزمایش کاسته شود. طی اندازه‌گیری‌های متعدد در طول آزمایش، دمای آب تقریباً ثابت و در حدود ۱۰/۵ درجه سانتیگراد و pH نیز ثابت و برابر با ۸ بود. اکسیژن محلول در آب بین ۶/۲ تا ۷/۵ میلی‌گرم در لیتر متغیر بود.

مخمر ۵۰۵۲ *Saccharomyces cerevisiae* PTCC از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران بصورت آمپول لیوفیلیزه تهیه گردید. ابتدا سینتیک رشد مخمر بررسی شد. بدین منظور مخمر در محیط کشت اختصاصی این

مخمر به نام YMA (Yeast mold agar) کشت داده شد و در فواصل یک ساعته، میزان جذب توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۵۵۰ نانومتر اندازه‌گیری و یادداشت گردید.

(Tovar-Ramirez *et al.*, 2002). به طور همزمان تعداد مخمرها در واحد حجم با استفاده از لام هموسیتومتری Neobar شمارش و ثبت شد.

پس از ۲۷ ساعت از رشد مخمر، نمودار رشد مخمر ترسیم گردید. برای این آزمایش مخمری که در شروع فاز ثابت رشد قرار دارد، مدنظر بود. بنابراین مخمر در محیط کشت YMA به طور انبوی کشت داده شد و پس از رسیدن به فاز ثابت، با غذای ماهی ترکیب شد. برای این آزمایش ۳ تیمار و یک تیمار شاهد در نظر گرفته شد. نسبت مخمر موجود در ۳ تیمار آزمایش به ترتیب  $^{10.5}$ ,  $^{10.7}$ ,  $^{10.8}$  مخمر در هر گرم غذای ماهی برای تیمارهای C, B, A, Tovar-Ramirez *et al.*, 2002; Gatesoupe, 2007; Ziaenejad *et al.*, 2006) غذای تیمار شاهد فاقد مخمر بود.

بلافاصله پس از شروع شناخته ماهی‌ها و آمادگی برای تغذیه، غذای مورد نظر در اختیار آنها قرار گرفت. غذاده‌ی ۸ بار در روز انجام شد. مدت زمان آزمایش ۵۰ روز در نظر گرفته شد (Li & Gutlin, 2003; Tovar-

Ramirez *et al.*, 2002)

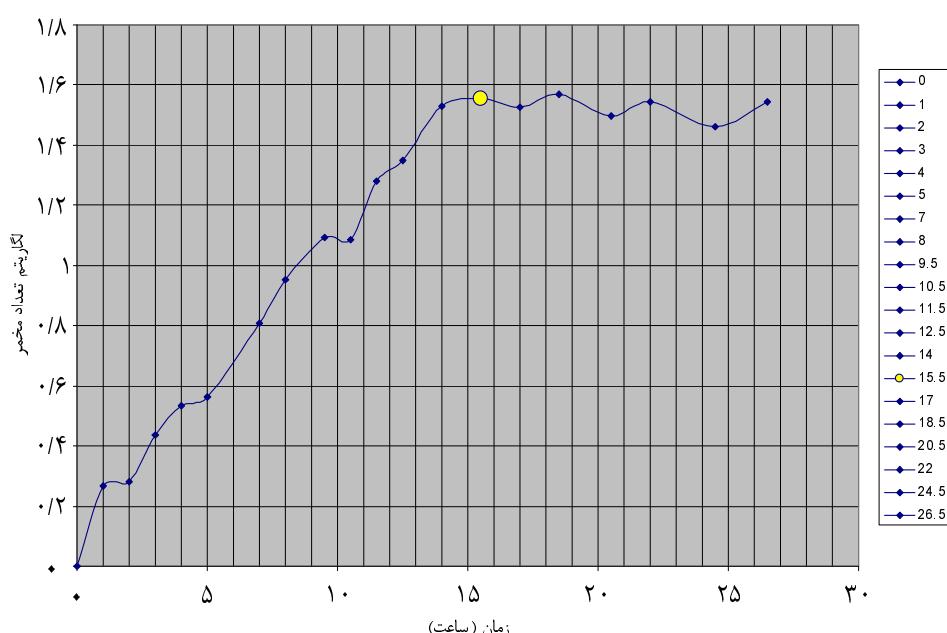
تلفات روزانه هر سینی در ابتدای صبح هر روز برداشته شد و تعداد آنها به تفکیک هر سینی ثبت گردید. در نهایت پس از ۵۰ روز تعداد ماهی‌های باقیمانده هر تیمار و هر تکرار مشخص گردید. نمونه‌ها در دوره‌های ۱۰ روزه بررسی شد (Tovar-Ramirez *et al.*, 2002).

نتایج حاصله با استفاده از برنامه نرم‌افزاری Spss و تست آنالیز واریانس یکطرفه در سطح ۹۵ درصد بررسی گردید. برای مقایسه جدگانه تیمارها، از تست دانکن استفاده شد.

## نتایج

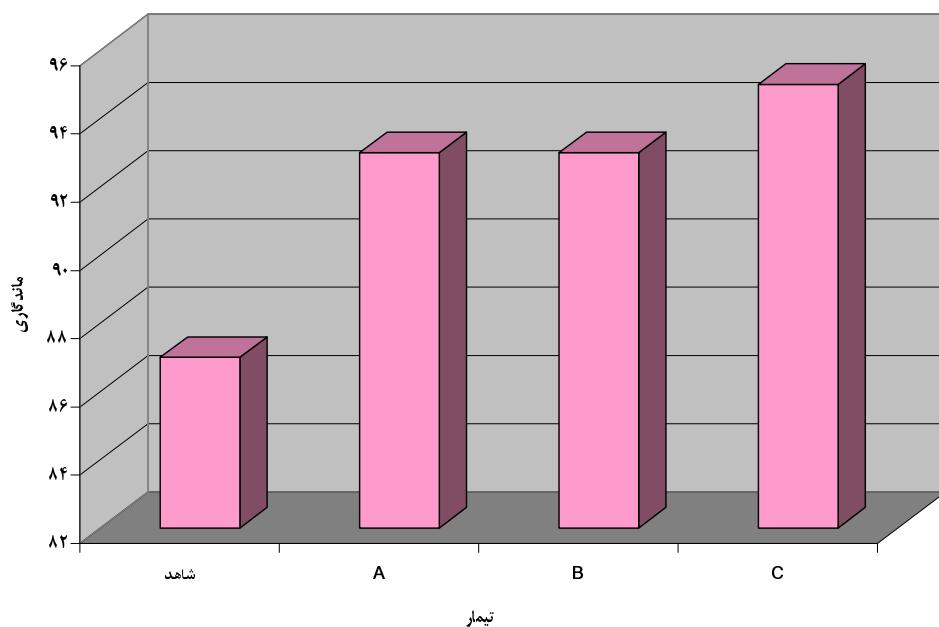
### نمودار رشد مخمر

نمودار رشد مخمر ۵۰۵۲ *Saccharomyces cerevisiae* PTCC ۵۰۵۲ پس از گذشت ۲۷ ساعت از شروع کشت ترسیم گردید (شکل ۱).



شکل ۱ - منحنی رشد مخمر ۵۰۵۲ *Saccharomyces cerevisiae* PTCC ۵۰۵۲. شروع فاز رشد ثابت در منحنی به شکل متفاوت علامت گذاری شده است.

نتایج ماندگاری تیمارها طبق شکل (۲) به دست آمد:



شکل ۲ - نمودار میانگین درصد ماندگاری تیمارهای بچه ماهی‌های قزل‌آلای رنگین‌کمان (طی مدت ۵۰ روز)

درصد میانگین ماندگاری تیمارها شامل: تیمار شاهد ۸۷/۸ درصد، تیمار A ۹۲/۸ درصد، تیمار B ۹۳/۰ درصد و تیمار C ۹۵/۴ درصد به دست آمد.

نتایج آنالیز واریانس یکطرفه (One Way ANOVA) به همراه تست دانکن به منظور مقایسه آماری تیمارها نشان داد که:

اختلاف معنی‌داری در سطح بالاتر از ۹۵ درصد بین همه تیمارها وجود دارد. برای مشخص شدن جزئیات این آنالیز، از تست دانکن استفاده شد تا هر تیمار به طور مجزا با سایر تیمارها مقایسه شود. بین تیمار شاهد و تیمار C اختلاف معنی‌داری مشاهده شد ( $P < 0.05$ ). ولی بین تیمار شاهد و تیمار A و بین تیمار شاهد و تیمار B همچنین بین تیمارهای A و B تفاوت معنی‌داری وجود نداشت ( $P \geq 0.05$ ).

## بحث و نتیجه‌گیری

نتایج نشان داد که مخمر *Saccharomyces cerevisiae* موجود در غذای تیمارها، در افزایش زمان ماندگاری بچه ماهی‌ها مؤثر بوده است، به طوری که تیمار A و B نسبت به تیمار شاهد تلفات کمتری را طی دوره ۵۰ روز آزمایش متحمل شدند ولی این تغییرات معنی‌دار نبود. اما در مورد تیمار C که مقادیر بالاتر مخمر ( $10^4$  عدد مخمر در هر گرم غذا) را در خود داشت این تغییرات در سطح ۹۵ درصد معنی‌دار بود ( $P < 0.05$ ).

Shawad زیادی بیانگر این مطلب هستند که هم سلامتی و هم ماندگاری موجودات در سیستم‌های متراکم پرورش توسط دستکاری فلور میکروبی روده با افزودن «پروبیوتیک‌ها» و پری بیوتیک‌ها به غذا بالا می‌رود (Quentel et al., 2004) و دیگران در سال ۱۹۹۵ به این نتیجه رسیدند که مخمر جداسازی شده از قزل‌آلای رنگین‌کمان با توجه به قابلیت چسبندگی و کلونی شدن در روده توان افزایش سلامتی قزل‌آلای را بالا می‌برد. Gatlin Li نیز در سال ۲۰۰۳ به نتیجه مشابهی دست پیدا کردند. آنها سه تیمار حاوی ۱، ۲ و ۴ درصد *Saccharomyces cerevisiae* را در غذای باس هیبرید راه راه بررسی کردند. نتیجه آزمایش آنها نشان داد که

مخصوصاً در مورد تیماری که حاوی ۱ درصد مخمر در غذا بود مشهودتر بود. در این آزمایش، دوز پایین‌تر مخمر، اثر بهتری داشت. البته حدود وزن مخمر تیمار C در پژوهش حاضر در حدود ۱ درصد وزن غذا بود و از این لحاظ بین این دو تحقیق همخوانی وجود دارد. سایر تیمارهای آزمایشی Li و (2003) Gatlin، دارای میزان مخمر بیش از تمايز آزمایش حاضر بودند. (2003) Lara-Flores و دیگران نیز به اثر مثبت *Saccharomyces cerevisiae* بر روی تیلا *Lactobacillus acidophilus* و باکتری *Streptococcus faecium* و باکتری *Streptococcus iniae*، متعلق به غذای حاوی چوساز را بر روی ماهی مقایسه کردند بهترین ماندگاری بین تیمارهای آزمایشی، متعلق به غذای حاوی چوساز را بر روی ماهی Saccharomyces cerevisiae همراه با ۴۰ درصد پروتئین و تراکم پایین ماهی بود.

Li و (2003) Gatlin نیز اثر این مخمر را روی ارتقاء سیستم ایمنی باس هیبرید راه را در مقابل باکتری بیماری زا آزمایش کردند. آنها به این نتیجه رسیدند که پس از ۱۹ روز از معرفی این باکتری تیمارهای پروبیوتیکی، ماندگاری معنی‌داری در سطح ۱/۰۱ نسبت به تیمار شاهد در ماهی‌ها ایجاد کردند.

Tovar-Ramirez و دیگران نیز در سال ۲۰۰۴ اثر مخمر دیگری به نام *Debaryomyces hansenii* را روی باس دریایی اروپایی در دوران لاروی آزمایش کردند. در این آزمایش در لاروهایی که با ۱/۱ درصد مخمر طی ۳۶ روز تغذیه شده بودند، ماندگاری به طور معنی‌داری نسبت به شاهد بالاتر بود. تیماری که حاوی ۵/۷ درصد مخمر بود نیز ماندگاری بالاتری نسبت به شاهد دارا بود ولی این میزان معنی‌دار نبود. میزان نقص عضو تیمار ۱/۱ درصد نسبت به تیمار شاهد و تیمار ۵/۷ درصد کمتر بود. نقص عضو تیمار شاهد ۶/۵+۲/۸ درصد، نقص عضو تیمار ۱/۱ درصد برابر ۱/۱+۱/۶۳ درصد، و نقص عضو تیمار ۵/۷ درصد ۱۳/۶ درصد بود. بدین ترتیب دور مناسب در این آزمایش ۱/۱ درصد برآورد شد.

علت بالاتر رفتن ماندگاری و سلامتی بدن ماهی را می‌توان در خاصیت تغذیه‌ای مخمر ترکیبات تولید شده توسط آن جستجو کرد.

Rumsey و دیگران در سال ۱۹۹۲، مخمر آب جو را دارای پتانسیل جایگزینی به جای آرد ماهی معرفی کرد. مخمرهای آب جو به عنوان یک منبع پروتئین غذایی که حاوی فرمول غذایی تجاری مناسبی برای انواع ماهی‌ها و مخصوصاً خانواده آزاد ماهیان است، قابل استفاده است (National Research Council, 1993) دیوارهای سلولی مخمر همچنین می‌توانند ترکیبات تغذیه‌ای بسیار مهمی را که برای سلامتی ماهی مؤثر است مانند Mannoprotein گلوکان‌ها، کیتین در مقیاس کم و پلی‌آمین و نیز اسیدهای نوکلئیک تولید کند (Rumsey et al., 1992). گلوکان یکی از ترکیبات موجود در پلی‌ساقاریدهای تولید شده توسط مخمرهای آب چوساز است. تأثیر مثبت گلوکان‌ها بر روی گونه‌های زیادی از ماهیان بررسی شده است. همچنین ارتقاء پاسخ‌های ایمنی نظیر Respiratory burst نیز توسط کیتین تولید شده توسط مخمر گزارش شده است (Esteban et al., 2001).

Rumsey و همکاران در سال ۱۹۹۲ بیان کردند که سلول‌های مخمر حدود ۷/۷ درصد گلوکان خام و ۱ درصد کیتین تولید می‌کنند. تأثیر بتا ۱ و ۳ گلوکان در عملکرد سیستم ایمنی بسیاری از ماهیان مانند گربه ماهی آفریقایی (Yoshida et al., 1992) ماهی آزاد آتلانتیک (Engstad et al., 1992) بررسی شده است، به گونه‌ای که گلوکان توانایی بالا بردن پاسخ‌های ایمنی درونی از قبیل Respiratory burst ماکرو‌فازهای فوق کلیوی، فعالیت پادتن‌های سرم، و نیز لیزوژیم سرم را دارد (Engested et al., 1992 و Jorgensen et al., 1993). البته آنها زمانی که مخمر به ماهی تزریق شده بود چنین نتایجی را به دست آورند. اگر چه افزایش لیزوژیم سرم در ماهی‌ها زمانی که گلوکان یا کیتین به طور خواهی وارد شدند، دیده نشده است، (Li and Gatlin et al.; 2001, Ortuno et al., 2001). فعالیت لیزوژیم سرم باس هیبرید راه را در آزمایش Gatlin و Ni در سال ۲۰۰۴، بین ماهی‌ها تفاوت زیادی داشت.

آنها نتایجی مشابه این نتیجه را نیز در مورد مخمر *Saccharomyces cerevisiae* بعد از ۱۶ هفته به دست آوردند. در سال (Jorgensen *et al.*, 1993) و همکاران به این نتیجه رسیدند که در قزلآلای رنگین‌کمان زمانی که ۱ درصد بتا ۱ و ۳ گلوکان به آن تزریق شد، به طور معنی‌داری تولید آنیون سوپر اکسید برون سلولی سلول‌های فوق کلیوی بالا رفت. Li و Gatlin نیز در سال ۲۰۰۴ به این نتیجه رسیدند که تجویز خوراکی گلوکان و کیتین جدا شده از مخمر آب جوساز نیز می‌تواند ماکرو فازهای فوق کلیوی باس هیبرید راه را فعال کند.

Rumsey و همکاران در سال ۱۹۹۲ توانستند اسیدهای نوکلئیک که حدود ۲۰-۱۲ درصد کل نیتروژن مخمر را دارا می‌باشند را در بازهای پورین و پرمیدین نوکلئوپروتئین‌های مخمر برای اولین بار شناسایی کنند. آنها همچنین مشاهده کردند که فرآورده عصاره RNA مخمر آب جوساز سطح اسیدهای نوکلئیک کبدی قزلآلای رنگین‌کمان را بالا برده و چنین فرض کردند که اسیدهای نوکلئیک خوراکی در ساختن شبکه بافتی ماهی مشارکت کرده است. پدر سال‌های اخیر زیادی بیانگر این مطلب بوده که تجویز شکل خوراکیب نوکلئوتیدها نیز قادر به بالا بردن پاسخ‌های ایمنی و توان مقابله با بیماری از گونه‌های ماهی است (Sakai, *et al.*, 2001 و Burrells *et al.*, 2001) Sakai و همکاران در سال ۲۰۰۱ در این سال گزارش کردند که نوکلئوتیدهای متعلق به RNA مخمر آب جوساز می‌تواند فعالیت‌های اکسیدکنندگی و فاگوسیتوزکنندگی سلول‌های فاگوسیتوزکننده فوق کلیوی لیزوژیم سرم را در کپور معمولی بالا ببرد. اگر چه تشریح اینکه کدام RNA مخمر در تأثیر مثبت مخمر خوراکی بر روی واکنش‌های ایمنی مؤثر است امکان‌پذیر نیست (Li & Gatlin, 2003). مکانیسم عمل اختصاصی این ترکیبات که از آن طریق تأثیر مثبت مخمر را روی ماهی اعمال می‌کنند، ناشناخته مانده است. اگر چه فلور میکروبی روده به عنوان عامل اصلی ارتقاء سیستم ایمنی شناخته شده است. فلور میکروبی روده مخصوصاً زمانی که پروبیوتیک در آن غالباً شده باشد به علت که باعث رسیدگی روده و پانکراس می‌شود، اهمیت دارد. فاکتورهای غذایی متعددی مخصوصاً پلی‌آمین‌ها باعث رسیدگی روده در پستانداران (Dufour *et al.*, 1988) و لارو باس دریایی (Peres *et al.*, 1997) می‌شود.

Wache و همکاران در سال ۲۰۰۶ زمان اوج چسبندگی *Saccharomyces cerevisiae* در روده بچه ماهی قزلآلای رنگین‌کمان را محدود به ماه اول می‌دانند نتایج آنها با نتایج Gatesoup و همکاران در سال ۲۰۰۷ مطابقت دارد. Tovar و دیگران نیز زمان چسبندگی مخمر را در روده باس دریایی در روز ۴۱ بیان می‌کنند. این نتایج را می‌توان به عنوان دلیلی برای اثر مثبت *Saccharomyces cerevisiae* بر روی ماندگاری لارو قزلآلای در ۵۰ روز اول تغذیه در آزمایش ما ارائه کرد.

Ringo و همکاران در سال ۱۹۹۵ طی آزمایشی که انجام دادند به این نتیجه رسیدند که در شرایطی که پروتئین غذا پایین و تراکم ماهی‌ها بالا بود (شرایط استرس‌زا) بالا رفتن ارزش زیستی و میزان پروبیوتیک در غذاهای فراوری شده، راندمان تیمارها را در مقابله با استرس بالا بردا.

Siwiki و همکاران در سال ۱۹۹۴ بیان کردند که سطح ایمونوگلوبین خون قزلآلای تحت تأثیر تجویز خوراکی مخمر آب جو بالا رفت. اما سطح لیزوژیم سرم و آنیون سوپر اکسید سلول‌های فاگوسیتوزکننده در ماهی‌ها تفاوت معنی‌داری نداشت. پس به احتمال فراوان در آزمایش ما یکی از مکانیسم‌های اثر مخمر، بالا بردن ایمونوگلوبین خون بوده است.

Andlid و دیگران در سال ۱۹۹۵ نیز پیشنهاد کردند که روده محل بسیار مناسبی برای تولیدمثل مخمر است و مخمر از موکوس روده به عنوان منبع غذایی استفاده می‌کنند. این عامل سبب افزایش تعداد مخمر در روده و به تبع آن افزایش ترشح پلی‌آمین می‌شود.

Cahu & Zambonino infanee., 2001 ر سیدگی زودرس پانکرس و روده بر اثر فعالیت مخمر *Saccharomyces cerevisian* را باعث افزایش ماندگاری می‌دانند. پلی‌آمین خالص‌سازی شده و با ترشح شده از مخمر زنده بر روی تمایز سلولی روده لارو ماهی و یا موجود بالغ تأثیر می‌گذارد (Buts *et al.* 1993) و در ماهی جوان، تمایز سلولی باعث بلوغ روده و پانکراس در مورد عملکرد هضمی می‌شود (Peres *et al.*, 1997). بلوغ روده در این آزمایش‌ها و نیز تحقیق حاضر به معنی تکمیل میکروفلور روده است، و در صورتی که پروبیوتیک‌ها گونه غالب این میکروفلور باشند، می‌توانند اثرات مفید خود را اعمال کنند.

در نهایت Macey و همکاران در سال ۲۰۰۵ بیان داشتند که رابطه معنی‌داری بین استرس و میزان سیستم ایمنی حیوان برقرار است؛ همچنین اظهار داشتند که حیواناتی که سیستم ایمنی آنها توسط پروبیوتیک متحرک و تقویت شده است بسیار سریع‌تر از حیواناتی که سیستم ایمنی آنها تقویت نشده، قادر به پاسخ‌گویی به استرس محیطی و عوامل بیماری‌زا هستند. پس در تحقیق حاضر نیز، یکی از اثرات پروبیوتیک، افزایش امکان مقابله با استرس می‌تواند باشد.

### تشکر و قدر دانی

از ریاست محترم مرکز تکثیر و پرورش ماهیان سرداری شهید مطهری یاسوج جناب آقای دکتر عین‌ا... گرجی‌پور و پرسنل آن مرکز تشکر و قدردانی می‌گردد. همچنین از جناب آقای دکتر امیرعبدالله... مهرداد شریف سرپرست وقت دانشکده علوم و فنون دریایی دانشگاه آزاد اسلامی صمیمانه تشکر و قدردانی می‌گردد.

### فهرست منابع

- سدویک، استفان دروموند. ۱۳۷۹. راهنمای پرورش و تکثیر ماهی قزل‌آل. مترجم عبدالمشایی، م. انتشارات نوربخش. تهران. ایران.
- قشقایی، رضا و لایق، مهدی. ۱۳۸۳. پروبیوتیک‌ها. انتشارات نقش مهر. تهران. ایران.
- Andlid, T.; Jurez, R.V. & Gustafsson, L. 1995. Yeast colonization of the intestine of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) and turbot (*Scophthalmus maximus*). *MicrobEcol.*, 30: 321-334.
- Burrells, C.; William, P.D. & Forno, P.F. 2001. Dietary nucleotides: a novel supplement in fish feeds 1. Effects on resistance to diseases in salmonids. *Aquaculture*, 199: 159-169.
- Buts, J.P.; De keiser, N.; Kolano whki, J.; Sokal, E. & Van Hoof, F. 1993. Maturation of villus and crypt cell functions in rat small intestine. Role of dietary polyamines. *Dig Dis. Sci.*, 38: 1091-1098.
- Cahu, C.L. & Zambonino-infante, J.L. 2001. Substitution of live food by formulated diets in marine fish larvae. *Aquaculture*, 200: 161-180.
- Dufour, C.; Dandrifosse, G.; Forget, P.; Vermesse, F.; Romani, N. & Lepoint, P. 1988. Spermine and spermidine induce intestinal maturation in the rat. *Gastroenterology*, 95: 112-116.
- Engstad, R.E.; Robertsen, B. & Frivold, E. 1992. Yeast glucan induces increase in activity of lysozyme and complement-mediated haemolytic activity in Atlantic salmon blood. *Fish Shellfish Immunology*, 2: 287-297.
- Esteban, M.A.; Guesta, A.; Ortuno, I. & Meseguer, J. 2001. Immunomodulatory effect of dietary intake of chitin in gilthead sea bream innate immune response. *Fish and shellfish immunol.*, 11: 305-315.
- Nicoli, J.R. & Castro, I.M. 2004. Molecular and physiological comparisons between *Saccharomyces*

- cerevisiae* and *Saccharomyces boulardii*. Can. J. Microbiology, 50: 615-621.
- 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.
- Jorgensen, J.B.; Lunde, H. & Robertsen, B. 1993. Peritoneal and head kidney cell response to intraperitoneally injected yeast glucan in Atlantic salmon. J. Fish Disease, 16: 313-325.
- Jorgensen, J.B.; Sharp, J.E.; Secombes, C.J. & Robertsen, B. 1993. Effect of a yeast-cell-wall glucan on the bactericidal activity of rainbow trout macrophages. Fish Shellfish Immunology, 3: 267-277.
- Lara-Flores, M.; Olvera-Novoa, M.A.; Guzman-Mendez, B.E. & Madrid, W. 2003. Use of the bacteria *streptococcus faecium* and *Lactobacillus acidophilus*, *Saccharomyces cerevisiae* as growth promoters in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Aquaculture, 216: 193-201.
- Li, P. & Gatlin, D.M. 2003. Evaluation of brewers yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) as a feed supplement for hybrid striped bass (*Morone chrysops* *M. saxatilis*). Aquaculture, 219: 681-692.
- Li, P. & Gatlin, D.M. 2004. Dietary brewers yeast and the prebiotic Probiotic AE influence growth performance, Immune responses and resistance of hybrid striped bass (*Morone chrysops*  $\times$  *M. saxatilis*) to *Streptococcus iniae* infection. Aquaculture, 231: 445-456.
- Macey, B.M. & Coyne, V.E. 2005. Improved growth rate and disease resistance in farmed *Haliotis midae* through probiotic treatment. Aquaculture, 245: 249-261.
- McIntosh, D.; Samocha, T.M.; Jones, E.R.; Lawrence, A.L.; McKee, D.A.; Horowitz, S. & Horowitz, A. 2000. The effect of a commercial bacterial supplement on the high-density culturing of *Litopenaeus vannamei* with a low-protein diet in an outdoor tank system and no water exchange. Aquaculture, 21: 215-227.
- Michelle, J.; Pond, M.; Stone, D. & Alderman, J. 2006. Comparison of conventional and molecular techniques to investigate the intestinal microflora of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), Aquaculture, 261: 194-203.
- National research council. 1993. Nutrient requirements of fish. National Academy Press. Washington, DC.
- Ortuno, J.; Cuesta, A.; Rodry'guez, A.; Esteban, M.A. & Meseguer, J. 2002. Oral administration of yeast, *Saccharomyces cerevisiae*, enhances the cellular innate immune response of gilt-head seabream (*Sparus aurata* L.). Vet. Immunol. Immunopathol., 85: 41-50.
- Peres, A.; Cahu, C.L. & Zambonion Infante, J.L. 1997. Dietary spermine supplementation induces intestinal maturation in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) Larvae. Fish physiol. Biochem, 16: 479-485.
- Quentel, C.; Gatesoupe, F.j.; Lamaur, F.; Abiven, A.; Baud, M. & Aubin, J. 2004. Effects of oral administration of probiotics on the resistance of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, against *Yersinia ruckeri*, asymptomatic carriers and humoral immune Parameters. 6<sup>th</sup> symposium of Fish Immunology, 26-29 May 2004, The Nordic Society of Fish immunology Turk, Finland.
- Rengipat, S.; Rukpratanporn, S.; Piyatiratitivorakul, S. & Menasaveta, P. 2000. Immunity enhancement in Black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) by a probiotic bacterium (*Bacillus S11*). Aquaculture, 191: 271-288.
- Ringo, E.; Strom, E. & Tabachek, J.A. 1995. Intestinal microflora of salmonids: a review. Aquaculture Res., 26: 773-789.
- Rumsey, G.L.; Winfree, R.A. & Hughes, S.G. 1992. Nutritional values of dietary nucleic acids and purine bases to Rainbow trout. Aquaculture, 108: 97-110.

- Sakai, M.; Taniguchi, K.; Mamoto, K.; Ogawa, H. & Tabata, M. 2001. Immunostimulant effects of nucleotide isolated from yeast RNA on carp, *Cyprinus carpio* L. J. Fish Disease, 24: 433-438.
- Shariff, M.; Yusoff, F.M.; Devaraja, T.N. & Srinivasa Rao, S.P. 2001. The effectiveness of a commercial microbial product in poorly prepared tiger shrimp, *Penaeus monodon* (Fabricius), ponds. Aquaculture Res., 32: 181-187.
- Siwicki, A.K.; Anderson, D.P. & Rumsey, G.L. 1994. Dietary intake of immunostimulants by Rainbow trout affects non-specific immunity and protection against furunculosis. Vet. Immunol. Immunopathology, 41: 125-139.
- Tovar-Ramírez, D.; Zambonino, J., Cahu, C.; Gatesoupe, F.J. & Vázquez-Juárez, R. 2004. Influence of dietary live yeast on European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larval development. Aquaculture, 234: 415-427.
- Tovar-Ramírez, D.; Zambonino, J.; Cahu, C.; Gatesoupe, F.J.; Vázquez-Juárez, R. & Lésel, R. 2002. Effect of live yeast incorporation in compound diet on digestive enzyme activity in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. Aquaculture, 204: 113-123.
- Waché, Y.; Auffray, F.; Gatesoupe, F.J.; Zambonino, J.; Gayet, V.; Labbé, L. & Quentel, C. 2006. Cross effects of the strain of dietary *Saccharomyces cerevisiae* and rearing conditions on the onset of intestinal microbiota and digestive enzymes in Rainbow trout *Onchorhynchus mykiss*, fry. Aquaculture, 258: 470-478.
- Yoshida, T.; Kruger, R. & Inglis, V. 1995. Augmentation of non-specific protection in African catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell), by the long-term oral administration of immunostimulants. J. Fish Disease, 18: 195-198.
- Ziaeı-Nejad, S.; Habibi Rezaei, M.; Azari Takami, Lovett, L.; Mirvaghefi, A.R. & Shakouri, M. 2006. The effect of *Bacillus* spp. bacteria used as probiotics on digestive enzyme activity, survival and growth in the Indian white shrimp *Fenneropenaeus indicus*. Aquaculture, 252: 516-524.