مجله شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد آزادشهر / ISSN: 2008-0026 سال هشتم، شماره چهارم، زمستان ۹۳ / صفحات: ۳۴-۲۳

بررسی اثر پری‌بیوتیک تجاری ایمونوژن بر روی برخی فاکتورهای سیستم ایمنی ماهی شیربت *Barbus grypus*

*سیامک روحانی‌زاده[۱]، مهرزاد مصباح[۲]، مجتبی علیشاهی[۲]، تکاور محمدیان[۳]، سیدمحمد مکی‌نیا[۴] و پرسام علیزاده[۱]

[۱]دانشجوی کارشناسی‌ارشد واحد علوم و تحقیقات خوزستان، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران، [۲]عضو هیأت علمی دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران، [۳]دانشجوی دکتری گروه بهداشت آبزیان، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران، [۴]رئیس اداره بهداشت و مدیریت بیماری‌های آبزیان، اداره کل دامپزشکی خوزستان، ایران

تاریخ دریافت: ۹۱/۱۰/۵ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۲/۱۰/۸

چکیده

ایمونوژن پری‌بیوتیکی تجاری است که محصول یک ترکیب طبیعی شامل چندین ماده محرک مانند بتاگلوکان و مانان‌الیگوساکارید که به‌عنوان مکمل غذایی در آبزی‌پروری مورد استفاده قرار می‌گیرد. این پژوهش که به‌منظور بررسی برخی پارامترهای ایمنی ماهی شیربت (*Barbus grypus*) صورت پذیرفت، تعداد ۳۶۰ قطعه بچه‌ماهی شیربت با وزن متوسط ۲±۳۵ گرم به‌طور تصادفی به ٤ تیمار (هر تیمار در ۳ تکرار) تقسیم گردیدند، تیمارها به‌ترتیب با خوراک شامل ایمونوژن با سطوح، صفر، ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد به‌مدت ۹۰ روز تغذیه شدند و در روزهای ۳۰، ٦۰ و ۹۰ اقدام به خون‌گیری و اندازه‌گیری میزان لایزوزیم سرم، قدرت باکتری‌کشی سرم و میزان ایمونوگلبولین تام سرم گردید. بررسی فعالیت لایزوزیم سرم ماهیان نشان داد که فعالیت لایزوزیم سرم ماهیان تیمار تغذیه شده با ۱ و ۱/۵ درصد ایمونوژن نسبت به گروه شاهد افزایش داشت اما از نظر آماری معنی‌دار نبود ($P>0/05$). میزان قدرت باکتری‌کشی سرم نیز در تیمار ۱/۵ درصد ایمونوژن در برخی مراحل نمونه‌گیری نسبت به تیمار کنترل افزایش معنی‌داری داشت ($P<0/05$). اما بررسی میزان ایمونوگلبولین تام سرم هیچ‌گونه تفاوت معنی‌داری را نشان نداد ($P>0/05$). نتایج این مطالعه نشان داد که برخی سطوح مختلف پری‌بیوتیک، بهبود پاسخ ایمنی ماهی (افزایش فعالیت لیزوزیم و قدرت باکتری‌کشی سرم) را به دنبال دارد اما مطالعات بیش‌تر، در زمینه استفاده از سطوح دیگر ایمنوژن لازم است تا این پری‌بیوتیک بتواند به‌عنوان مکمل غذایی مناسب در جیره غذایی ماهی شیربت استفاده گردد.

واژه‌های کلیدی: ایمونوژن، پری‌بیوتیک، لایزوزیم، پاسخ ایمنی، ایمونوگلبولین، شیربت (*Barbus grypus*)

مقدمه

ماهی شیربت یکی از مهم‌ترین ماهیان آب شیرین جنوب کشورمان می‌باشد که کیفیت گوشت و بازارپسندی بالایی دارد (نیک‌پی و همکاران، ۱۳۷۵) و در آخر امکان پرورش آن در حوضچه‌های خاکی در حال بررسی است (محمدیان و همکاران، ۱۳۸۸).

نگرانی‌های ناشی از استفاده‌های مکرر و طولانی‌مدت آنتی‌بیوتیک‌ها چه از نظر مقاومت‌زایی و از چه نظر ایجاد گونه‌های بیماری‌زای جدید، موجب شروع تلاش‌هایی در جهت عدم یا کاهش استفاده از این گونه مواد شیمیایی شده است (Mesalhyand و همکاران، ۲۰۰۸). استفاده از پری‌بیوتیک‌ها را می‌توان یکی از دستاوردهای مثبت پژوهشگران دانست که

*مسئول مکاتبه: sk.rohani@gmail.com

Archive of SID
www.SID.ir

به‌صورت بیولوژیک و طبیعی از طریق مکانیسم‌های متعددی باعث کنترل بیماری‌های آبزیان و کاهش هزینه‌های جانبی می‌شود به همین دلیل پری‌بیوتیک‌ها به‌عنوان یک شیوه جایگزین برای درمان آنتی‌بیوتیکی بسیار مورد توجه قرار دارند (میرزایی، ۱۳۸۳). استفاده از پری‌بیوتیک‌ها به‌عنوان مواد مغذی غیرقابل هضم در سطوح بالای دستگاه گوارش که به‌طور مؤثری سلامتی میزبان را از طریق تحریک و یا محدود کردن رشد باکتری‌های موجود در روده تحت‌تأثیر قرار می‌دهند، ایده جدیدی است که در آبزی‌پروری شکل گرفته است. ایمونوژن، پری‌بیوتیکی تجاری است که محصول یک ترکیب طبیعی شامل چندین ماده محرک مانند بتاگلوکان و مانان‌الیگوساکارید است که به‌عنوان مکمل غذایی در آبزی‌پروری مورد استفاده قرار می‌گیرد (مهاجر استرآبادی و همکاران، ۱۳۸۹). بتاگلوکان‌ها و مانان‌الیگوساکاریدها، پلی‌ساکاریدهایی متشکل از واحدهای گلوکز هستند که از دیواره سلولی مخمرها، قارچ‌ها و جلبک‌های بزرگ به‌دست می‌آیند (سالز و همکاران، ۲۰۰۸؛ اسکیجرمو و همکاران، ۱۹۹۷). مانان‌الیگوساکارید ترکیب گلوکومانوپروتئینی مشتق شده از دیواره سلولی مخمر *Saccharomyces cerevisiae* است و بتاگلوکان ترکیب کربوهیدراته مشتق شده از مخمر قارچ می‌باشد (وکر و همکاران، ۲۰۰۷). ترکیب پری‌بیوتیک تجاری ایمونوژن شامل ۳±۳۰ درصد (۱-۳ و ۱-۶) بتاگلوکان، ۳±۱۸ درصد مانان‌الیگوساکارید، ۳۲ درصد پروتئین، ۸ درصد خاکستر، ۸ درصد رطوبت و ۱/٤ درصد فیبر می‌باشد (مهاجر استرآبادی و همکاران، ۱۳۸۹). مصرف این محصول به‌طورکلی باعث پیش‌گیری از اسهال، ایمنی‌زا، جایگزین آنتی‌بیوتیک، محرک رشد و جاذب مایکوتوکسین می‌شود. این ترکیب غذایی شامل بتاگلوکان و مانان‌الیگوساکارید مانع از تجمع و اتصال باکتری‌های بیماری‌زا مانند سالمونلاها، کلوستردیوم و ایکولای در روده می‌گردد و سبب افزایش ترشح ایمونوگلبولین‌های IgA، IgG و IgM شده که مانع اتصال باکتری‌ها یا سموم باکتری‌ها در اپی‌تلیوم روده می‌شود، به این ترتیب مانع اسهال می‌گردد (Yuji sado و همکاران، ۲۰۰۸). مانان‌الیگوساکارید منبع تغذیه‌ای مناسب برای رشد و فعالیت باکتری‌های فلور دستگاه گوارش (لاکتوباسیل‌ها و بیفیدوباکترها) است که در نهایت باعث افزایش تعداد جمعیت باکتری‌های فلور روده شده و کاهش اسیدیته روده را به دنبال دارد که به‌صورت غیرمستقیم در تنظیم سیستم ایمنی بدن دخالت دارد (Pryor و همکاران، ۲۰۰۳؛ Vendemiatti و همکاران، ۲۰۰۳). در این‌حال پری‌بیوتیک‌ها بیش‌تر براساس توانایی‌شان در افزایش رشد میکروارگانیسم‌های تولیدکننده اسیدلاکتیک انتخاب می‌شوند. جیره‌های غذایی شامل پری‌بیوتیک، نه تنها مواد مغذی ضروری برای جانور تغذیه‌کننده را فراهم می‌کنند، بلکه می‌توانند به‌عنوان یکی از بهترین راهکارها برای حفظ سلامت آبزیان پرورشی و افزایش مقاومت آن‌ها در برابر استرس و عوامل بیماری‌زا قلمداد شوند (گاتلین، ۲۰۰۲). در زمینه استفاده از پری‌بیوتیک به‌عنوان مکمل غذایی مطالعاتی توسط شیخ‌الاسلامی و همکاران (۱۳۸۷)، ماهیوس و همکاران (۲۰۰۵) بور و همکاران (۲۰۰۵)، پریور و همکاران (۲۰۰۳)، دنیلز و همکاران (۲۰۰۷) و ایلماز و همکاران (۲۰۰۷)، انجام گردید. همچنین مهاجر استرآبادی و همکاران (۱۳۸۹) از پری‌بیوتیک ایمونوژن در سطوح پایین به‌عنوان مکمل غذایی در جیره غذایی فیل‌ماهی پرورشی برای افزایش رشد و بازماندگی استفاده کردند. واکر و همکاران (۲۰۰۷)، در مطالعه‌ای، از سطح ۲ درصد مانان‌الیگوساکارید به‌عنوان پری‌بیوتیک در جیره گربه‌ماهی روگاهی (*Ictalurus punctatus*) استفاده نموده و اثرات آن را بر فاکتورهای خونی ماهی مورد ارزیابی قرار

Archive of SID

www.SID.ir

دادند. یوجی‌سادو و دآلمیدا (۲۰۰۸)، اثرات ٦ سطح مانان‌الیگوساکارید را در جیره بر فاکتورهای خونی و شاخص عملکرد تیلاپیای رود نیل (*Oreochromis niloticus*) بررسی نمودند. گریسدال- هلاند و همکاران (۲۰۰۹)، به بررسی اثرات چند پری‌بیوتیک (مانان‌الیگوساکارید، فروکتو الیگوساکارید و گالاکتو الیگوساکارید) بر فاکتورهای رشد، مصرف جیره غذایی و ایمنی آزادماهی اقیانوس اطلس پرداختند. وان‌های و همکاران (۲۰۰۹)، از دو نوع پروبیوتیک *Pseudomonas synxantba* و *P. aeruginosa* به همراه یک نوع پری‌بیوتیک تجاری و یک محرک ایمنی (Bio-Mos® و ۳ و ۱- β- گلوکان) در پرورش شاه‌میگوی آب شیرین غربی (*Penaeus latisulcatus*) استفاده نموده و اثرات آن را بر بازماندگی و ایمنی بررسی کردند. با توجه به نبود اطلاعات در مورد استفاده از پری‌بیوتیک‌ها در ماهیان بومی استان خوزستان و افزایش گرایش به استفاده از این مواد در آبزی‌پروری کل جهان، مطالعه‌ای با هدف بررسی اثر ایمونوژن بر برخی فاکتورهای ایمنی ماهی شیربت انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

تأمین بچه‌ماهی و معرفی آن‌ها به محیط آزمایشی: تعداد ۳٦۰ قطعه بچه‌ماهی با وزن ابتدایی حدود ۲±۳۵ گرم از مرکز تکثیر ماهیان گرمابی شهید ملکی اهواز برای این آزمایش‌ها تهیه شده و با ماشین مخصوص حمل ماهی زنده به سالن آکواریوم دانشکده دامپزشکی منتقل گردیده و ۲ هفته قبل از آغاز مطالعه با شرایط بخش سازگار شدند.

گروه‌های آزمایشی: بچه‌ماهی‌ها به‌صورت کاملاً تصادفی به ٤ تیمار در ۳ تکرار تقسیم شده به‌طوری‌که هر تکرار شامل ۳۰ قطعه بچه‌ماهی بود. تیمارها شامل:

جدول ۱- لیست تیمارهای مورد استفاده.

نام گروه	نوع غذا	تعداد ماهی
گروه شاهد	خوراک بدون ایمونوژن	۳۰ قطعه (در ۳ تکرار)
تیمار ۱	خوراک شامل ۰/۵ درصد ایمونوژن در هر کیلوگرم خوراک	۳۰ قطعه (در ۳ تکرار)
تیمار ۲	خوراک شامل ۱ درصد ایمونوژن در هر کیلوگرم خوراک	۳۰ قطعه (در ۳ تکرار)
تیمار ۳	خوراک شامل ۱/۵ درصد ایمونوژن در هر کیلوگرم خوراک	۳۰ قطعه (در ۳ تکرار)

طول دوره پژوهش ۱۲ هفته بوده و در روزهای ۳۰، ٦۰ و انتهای دوره از ماهی‌ها خون‌گیری شده و فاکتورهای ایمنی به شرحی که در ادامه ذکر شده بین تیمارها مقایسه گردید.

تهیه غذا: بچه‌ماهی‌ها در طول دوره پژوهش با خوراک ماهی (ساخت شرکت ماهی کارون) با ترکیب غذایی ۲۱/۵ درصد پروتئین، ٤/۲ درصد چربی، ۵ درصد خاکستر و ۱۰/٦۲ درصد رطوبت تغذیه شدند. ابتدا مواد خشک غذا و پری‌بیوتیک ایمونوژن با نسبت‌های از پیش تعیین شده برای گروه‌های آزمایشی به‌وسیله ترازوی دیجیتال توزین و به‌مدت ۳۰ دقیقه به‌وسیله همزن برقی مخلوط شدند. سپس مقداری آب به مواد اضافه شده (۱۰۰ سی‌سی) و به‌مدت ۱۵ دقیقه دیگر مخلوط کردن ادامه پیدا کرد. سپس با استفاده از چرخ گوشت صنعتی به قطر ۳ میلی‌متر به رشته‌های بلند تبدیل شده و در ادامه برای خشک شدن در دستگاه خشک‌کن به‌مدت ۷ ساعت در دمای ٦۰-۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده

Archive of SID

www.SID.ir

شد. پس از آن در اندازه مناسب (۸ میلی‌متر و قطر ۳ میلی‌متر) به‌صورت پلت (قطر پلت‌ها با توجه به اندازه دهان ماهی انتخاب شد) تهیه گردید (سوداگر و همکاران، ۱۳۸٤).

تغذیه ماهی‌ها با جیره‌های آزمایشی: بچه‌ماهی‌ها در طول دوره پژوهش با خوراک ماهی (ساخت شرکت ماهی کارون) با ترکیب غذایی ۲۱/۵ درصد پروتئین، ٤/۲ درصد چربی، ۵ درصد خاکستر و ۱۰/٦۲ درصد رطوبت تغذیه شدند. غذادهی بچه‌ماهی‌ها به‌طور روزانه و در ۳ نوبت در ساعت‌های ۸ صبح، ۱۲ ظهر و ۱٦ عصر انجام گرفت. میزان غذادهی حداکثر ۳ درصد وزن بیوماس به‌صورت روزانه تعیین گردید (زاکارات، ۱۹۹٦) و قطر پلت‌ها برای تمام جیره‌ها ۳ میلی‌متر در نظر گرفته شده بود (کیم و کاوشیک، ۱۹۹۲) بنابراین اتلاف غذایی در حد زیادی کنترل گردید. غذادهی در طول دوره پرورش بدون وقفه ادامه داشت و تنها در روزهای زیست‌سنجی قطع می‌شد.

اندازه‌گیری و ثبت عوامل فیزیکی و شیمیایی آب: کیفیت آب در طول دوره پرورش در حدی قابل‌قبول و تقریباً ثابت بود. شستشوی مخازن نیز به‌طور روزانه صورت گرفت. پارامترهای فیزیکوشیمیایی آب مانند اکسیژن، دما، pH و شوری به‌صورت روزانه اندازه‌گیری و ثبت شد. پارامترهای کیفی آب مانند آمونیاک، نیترات نیز به‌صورت هفتگی مورد ارزیابی قرار گرفت. دمای آب حوضچه‌ها در طول دوره پرورش در دامنه ۲۹-۲۷ درجه سانتی‌گراد، pH معادل ۸/۳-۷/۵ و شوری ۱/۰۲-۰/۷۵۲ گرم در لیتر قرار داشت.

نمونه‌گیری خون ماهیان تیمارهای آزمایشی: تعداد ٦ قطعه ماهی به‌طور تصادفی از هر تیمار آزمایشی در روزهای ۳۰، ٦۰ و ۹۰ انتخاب شده توسط ماده بی‌هوشی MS_{222} (۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر) بی‌هوش و سپس با سرنگ ۲ سی‌سی از ورید ساقه دمی خون‌گیری انجام گردید و در میکروتیوپ‌های شامل ماده ضدانعقاد هپارین منتقل نموده و پس از آن نمونه‌های خون برای جداسازی پلاسما درون دستگاه سانتریفوژ مدل eppendorf 5415D با سرعت ۳٦۰۰ دور در ثانیه به‌مدت ۱۰ قرار داده شدند پس از جداسازی، پلاسما فوراً به فریزر در دمای ۲۰- منتقل و تا زمان انجام آزمایش‌ها نگهداری گردیدند (Alishahi و همکاران، ۲۰۱۰).

غلظت ایمنوگلوبولین کل: سرم خون ماهیان به‌منظور تعیین Total IgM با کیت شرکت پارس آزمون و با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر مدل Eurolyser ساخت کشور اتریش استفاده گردید غلظت ایمنوگلوبولین کل براساس روش شرح داده شده توسط سویکی و اندرسن (۱۹۹۳) اندازه‌گیری شد. به‌طور خلاصه ابتدا پروتئین تام پلاسما اندازه‌گیری می‌گردد. سپس ایمونوگلوبولین سرم به روش ترسیب نمکی رسوب داده شده و میزان پروتئین مایع رویی اندازه‌گیری می‌گردد. در نهایت میزان ایمونوگلوبولین تام سرم با تفریق پروتئین مایع رویی از پروتئین تام محاسبه خواهد شد (Abd El-Rhman و همکاران، ۲۰۰۹).

پروتئین کل تیمار شده با PEG- پروتئین کل نمونه پلاسما = ایمونوگلوبولین (میلی‌گرم در میلی‌لیتر)

اندازه‌گیری میزان فعالیت باکتری‌کشی پلاسما: برای اندازه‌گیری قدرت باکتری‌کشی پلاسما از روش توصیه شده توسط کاجیتا و همکاران (۱۹۹۰) با کمی تغییرات استفاده گردید (کاجیتا و همکاران، ۱۹۹۰). نتایج به‌صورت متوسط تعداد باکتری شمارش شده در هر ۳ تکرار برای هر نمونه گزارش شد.

Archive of SID

www.SID.ir

بررسی فعالیت لیزوزیم پلاسما: برای تعیین میزان لیزوزیم از روش ارایه شده توسط ساهو و همکاران (۲۰۰۵) استفاده شد. به این منظور ۱۵ میکرولیتر سرم به پلیت‌های ۹۶ خانه‌ای شکل الایزا، افزوده شد. سپس ۱۵۰ میکرولیتر سوسپانسیون باکتری میکروکوکوس لیزودیکتیکوس[1] (سیگما) تهیه شده در بافر سیترات سدیم ۰/۰۲ مولار و pH برابر ۵/۵ به‌میزان ۰/۰۲ میلی‌گرم در لیتر اضافه گردید و جذب نوری اولیه در طول موج ۴۵۰ نانومتر توسط دستگاه الایزا ریدر مارک Bio-Tek ساخت کشور آمریکا اندازه‌گیری شد و پس از یک ساعت نگهداری در دمای اتاق، دوباره جذب نوری اندازه‌گیری شد. لیزوزیم سفیده تخم‌مرغ لیوفلیزه شده (سیگما) نیز به‌منظور ترسیم منحنی استاندارد استفاده گردید.

روش‌ها و ابزار تجزیه و تحلیل داده‌ها: برای آنالیز اطلاعات از نرم‌افزار آماری SPSS16 استفاده شد و تأثیر پری‌بیوتیک بر فاکتورهای ایمنی با استفاده از تفاوت میانگین فاکتورهای ایمنی مورد بررسی بین ٤ تیمار توسط آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه مورد بررسی قرار گرفت. همچنین برای بررسی معنی‌دار بودن تفاوت میانگین‌ها از آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ درصد استفاده شد. ترسیم نمودار در فضای نرم‌افزار Excel (نسخه ۲۰۰۷) انجام گرفت.

نتایج

یافته‌های ایمنی‌شناسی

میزان ایمنوگلوبولین تام پلاسما: نتایج مربوط به مقایسه میزان ایمونوگلبولین سرم در تیمارهای مورد بررسی در زمان‌های مختلف پژوهش در جدول ۲ آورده شده است.

جدول ۲- مقادیر ایمونوگلبولین سرم، قدرت باکتری‌کشی و فعالیت لیزوزیم در تیمارها و زمان‌های مختلف.

زمان (روز)	تیمار	ایمنوگلوبولین (میلی‌گرم در میلی‌لیتر)	قدرت باکتری‌کشی (تعداد کلنی)	لیزوزیم
۳۰	شاهد	۱/٦۳	۱۰	۰/۰۰۸
	۰/۵ درصد ایمونوژن	۱/۷	۱۳	۰/۰۰۷۷
	۱ درصد ایمونوژن	۱/٦۷	۱۳	۰/۰۱٤۷
	۱/۵ درصد ایمونوژن	۱/۷۳	۱۲	۰/۰۱۱۲
٦۰	شاهد	۱/۷۷	۱٤	۰/۰۳۵
	۰/۵ درصد ایمونوژن	۱/۸۳	۸	۰/۰۵۸
	۱ درصد ایمونوژن	۱/۸۳	۱۱	۰/۰٤۳
	۱/۵ درصد ایمونوژن	۱/۷۳	٦	۰/۰۳٦٤
۹۰	شاهد	۱/۷٦	۸	۰/۰۱٤
	۰/۵ درصد ایمونوژن	۱/۷۱	۱۳	۰/۰۳۹۳
	۱ درصد ایمونوژن	۱/٦۳	۱۰	۰/۰٦٤٤
	۱/۵ درصد ایمونوژن	۱/۵۳	۷	۰/۰۵۷٦

1- *Micrococcus lysodeikticus*

Archive of SID

www.SID.ir

مطابق با جدول ۲، میزان ایمونوگلبولین تام پلاسما در بین تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری با گروه کنترل نداشت (P>۰/۰۵). هر چند تفاوت نسبی در برخی مراحل نمونه‌گیری با گروه کنترل مشاهده گردید، به‌طوری‌که در روز ۳۰ بیش‌ترین مقدار ایمونوگلبولین در گروه ۱/۵ درصد (۰/۵۹±۱/۷۳) و در روز ۶۰ بیش‌ترین مقدار در گروه ۰/۵ و ۱ درصد و در روز ۹۰ میزان ایمنوگلبولین تیمارهای مختلف ایمونوژن نسبت به گروه کنترل میزان کم‌تری را نشان داد.

قدرت باکتری‌کشی سرم: در جدول ۲ نتایج مقایسه قدرت باکتری‌کشی سرم را در گروه‌های تغذیه شده با سطوح مختلف ایمونوژن در زمان‌های متفاوت آزمایش نشان می‌دهد. همان‌گونه که مشاهده می‌شود قدرت باکتری‌کشی سرم تیمارهایی که دزهای متفاوت ایمونوژن را دریافت کرده بودند، در روزهای ۶۰ و ۹۰ آزمایش در مقایسه با گروه کنترل افزایش داشته به‌طوری‌که در روز ۶۰ تیمار ۱/۵ درصد ایمونوژن اختلاف معنی‌داری (P<۰/۰۵) نسبت به سایر تیمارها و گروه کنترل داشت. هرچه تعداد کلنی‌های شمارش شده کم‌تر باشد، قدرت باکتری‌کشی سرم بیش‌تر بوده است.

فعالیت لیزوزیم سرم: مطابق با جدول ۲، میزان فعالیت آنزیم لیزوزیم سرم تیمارهای ۱ و ۱/۵ درصد نسبت به تیمار شاهد در روزهای ۶۰ و ۹۰ پس از مصرف پری‌بیوتیک ایمونوژن افزایش داشته، اما از نظر آماری معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵).

بحث و نتیجه‌گیری

اثرات سلامتی بخش بتاگلوکان و مانان‌اولیگوساکارید توسط پژوهش‌های متعدد که بر روی انسان و حیوانات خشکی‌زی انجام شده است، ثابت گردیده است (گیبسون، ۱۹۹۹). اما اطلاعات کمی در مورد اثرات سلامتی بخش آن‌ها در آبزی‌پروری و به‌ویژه ماهیان بومی استان خوزستان از جمله باربوس ماهیان موجود است. نقش ایمنوگلبولین‌ها در محافظت انسان و حیوانات در برابر عوامل بیماری‌زا بر کسی پوشیده نیست، طبق بررسی‌های انجام گرفته مشخص شده است، که باکتری‌های لاکتیک اسید قادرند سنتز ایمنوگلوبولین‌ها را نیز تحریک کنند. در این پژوهش میزان ایمونوگلبولین تام پلاسما در بین تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری با گروه کنترل نداشت (P>۰/۰۵) هر چند افزایش نسبی در برخی مراحل نمونه‌گیری با گروه کنترل مشاهده گردید. در روز ۶۰ آزمایش بیش‌ترین میزان در در تیمارهای ۰/۵ و ۱ مشاهده گردید. نیکوسکلاینن و همکاران (۲۰۰۳) مشاهده کردند، اگر لاکتوباسیلوس رامنوسوس[1] با دز $۲/۸\times۱۰^{۸}$ CUF/g همراه غذا به ماهی قزل‌آلا تجویز شود، میزان ایمنوگلبولین پلاسما یک هفته پس از تغذیه با پروبیوتیک افزایش معنی‌داری نسبت به ماهیان شاهد نشان می‌دهد. همچنین بیان نمود که میزان ایمونوگلبولین تام پس از قطع غذادهی با پروبیوتیک به‌طور معنی‌داری کاهش می‌یابد. در بررسی توکمه‌چی (۱۳۸۷) میزان ایمنوگلبولین پلاسما ۱۰ روز پس از تغذیه با باکتری *Lactobacillus delbrueckii* تحت گونه *بولگاریکوس* افزایش معنی‌داری را نسبت به تیمار شاهد نشان می‌دهد. در ضمن ماهیانی که دز ۵×۱۰^{۷} CUF/g باکتری را همراه با غذا دریافت کردند، نسبت به بقیه تیمارها دارای بالاترین میزان ایمنوگلوبولین در پلاسمای خود بودند. کوئستا و همکاران (۲۰۰۴) اثرات چند ماده تأثیرگذار بر سیستم ایمنی (ویتامین E، کیتین، مخمر و لوامیزول) را در ماهی شانک *Sparus aurata* بررسی کردند. سطوح مختلف ایمنوگلوبولین- ام سرم در ماهیانی که از این محرک‌های سیستم ایمنی تغذیه

1- *Lactobacillus rhamnosus*

Archive of SID

www.SID.ir

کرده بودند در مقایسه با ماهیان تغذیه شده با غذای شاهد به‌طور معناداری بالاتر بود. در بین ماهیان تغذیه شده با این محرک‌های سیستم ایمنی، سطوح ایمنوگلوبولین- ام در ماهیانی که از لوامیزول تغذیه کرده بودند نسبت به گروه‌های دیگر در سطح بالاتری قرار داشت. در مطالعه شیخ‌الاسلامی (۱۳۸۷) سطوح ایمنوگلوبولین- ام در اولین خون‌گیری در تمامی تیمارها تغذیه شده با مقادیر مختلف اینولین تقریباً در یک سطح قرار داشت و تفاوت معنی‌داری در بین تیمارها مشاهده نشد. اما پس از دومین خون‌گیری سطح ایمنوگلوبولین- ام سرم در ماهیان تغذیه شده با اینولین ۲ درصد به‌طور معناداری با ماهیان تیمار شاهد و تیمار اینولین ۰/۵ درصد تفاوت داشت. که نتایج پژوهش‌های بالا با این مطالعه مطابقت ندارند. با توجه به این‌که میزان ایمونوگلبولین از تفریق آلبومین از پروتئین تام به‌دست می‌آید، چنین به‌نظر می‌رسد که احتمالاً دیگر پروتئین‌های سرم نیز در تیمارهای مختلف ایمونوژن افزایش یافته‌اند که در این آزمایش مورد اندازه‌گیری و تحلیل قرار نگرفته‌اند. در بررسی سان و همکاران (۲۰۱۱) در تیمار پروبیوتیکی شامل *Enterococcus faecium* افزایش معنی‌داری را در میزان ایمونوگلبولین سرم، در مقایسه با تیمار تغذیه شده با غذای بدون پروبیوتیک در ماهی *Epinephelus coioides* مشاهده نکردند. پانیگراهی و همکاران (۲۰۰۵) بیان نموده‌اند که استعمال پروبیوتیک *Lactobacillus rhamnosus* بعد از یک هفته، مقادیر ایمونوگلبولین در ماهی *O. mykiss* را تحت‌تأثیر قرار داد، اما مقادیر ایمونوگلبولین کل در تمامی گروه‌های پروبیوتیکی بعد از ۵۳ روز غذادهی کاهش یافت و به مقادیر مشابه تیمار شاهد رسید. چنین نتایجی نیز در گروه‌های تیماری تغذیه شده با ایمونوژن در این پژوهش مشاهده شد به‌طوری‌که میزان ایمنوگلوبولین از روز ٦٠ به بعد روند کاهشی را نسبت به گروه شاهد داشت. بنابراین، باید توجه بیش‌تری به بررسی اثرات تقابلی بین مدت زمان و رژیم غذایی بر پاسخ‌های ایمنی در مطالعات پروبیوتیکی و پری‌بیوتیکی صورت پذیرد. احتمالاً بنا به نتایج بالا در این مطالعه نبود افزایش معنی‌دار ایمنوگلوبولین- ام در بین تیمارها مربوط به‌مدت زمان استفاده ایمونوژن و یا رژیم غذایی و یا سایر عوامل ناشناخته بوده است. قدرت باکتری‌کشی سرم نشان‌دهنده ایمنی هومورال غیراختصاصی ماهی می‌باشد و دفاع غیراختصاصی سرم در برابر عفونت‌های باکتریایی را نمایان می‌نماید. در این پژوهش، قدرت باکتری‌کشی سرم تیمارهایی که دزهای متفاوت ایمونوژن را دریافت کرده بودند، در روزهای ٦٠ و ٩٠ آزمایش در مقایسه با گروه کنترل افزایش داشته به‌طوری‌که در روز ٦٠ تیمار ۱/۵ درصد ایمونوژن اختلاف معنی‌داری ($P<0/05$) نسبت به سایر تیمارها و گروه کنترل داشت. برخی گزارش‌ها بیانگر تأثیر نداشتن افزایش قدرت باکتری‌کشی سرم بعد از تجویز محرک‌های ایمنی است، گریسدال- هلاند و همکاران (۲۰۰۹)، به بررسی اثرات چند پری‌بیوتیک (مانان‌الیگوساکارید، فروکتو الیگوساکارید و گالاکتو الیگوساکارید) بر فاکتورهای رشد و ایمنی آزادماهی اقیانوس اطلس پرداختند. این مطالعه به‌مدت ٤ ماه انجام شده و ماهی‌ها تنها با یک سطح (۱۰ گرم به‌ازای کیلوگرم) پری‌بیوتیک تغذیه شدند. نتایج این مطالعه اثرات معنی‌داری بر فاکتورهای نام‌برده نشان نداد که پژوهش‌های انجام شده در این مطالعه همخوانی ندارند. علیشاهی و همکاران (۱۳۸۸) تجویز عصاره گیاهی اکیناسه[1] چه به روش خوراکی و چه به روش تزریقی، را باعث افزایش قدرت باکتری‌کشی سرم در ماهی کپور علفخوار گزارش نمودند. همچنین علیشاهی و همکاران (۲۰۱۰) به‌ترتیب تجویز عصاره

1- *Echinacea purpurea*

Archive of SID
www.SID.ir

گیاه داروا‌ش و عصاره گیاه آلوئه‌ورا را به‌عنوان یک ماده محرک ایمنی در افزایش قدرت باکتری‌کشی سرم ماهی کپور معمولی مؤثر دانستند. برخی گزارش‌ها بیانگر تأثیر افزایش قدرت باکتری‌کشی سرم بعد از تجویز محرک‌های ایمنی است که نتایج این پژوهش با آن‌ها انطباق دارد.

لیزوزیم یک پارامتر مهم دفاعی هم در مهره‌داران و هم در بی‌مهرگان می‌باشد. لیزوزیم یک آنزیم ضدباکتریایی است که توسط لوکوسیت‌ها و به‌خصوص مونوسیت‌ها، ماکروفاژها و نوتروفیل‌ها تولید می‌شود (علیشاهی، ۱۳۸۸). این آنزیم پپتیدوگلیکان را در دیواره باکتری‌ها می‌شکند و به این ترتیب به‌طور غیراختصاصی از رشد میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا جلوگیری می‌کند. لیزوزیم در اپسونیزاسیون[1] (تسهیل در بیگانه‌خواری) نیز مشارکت دارد که این فرایند پاسخ ایمنی می‌باشد که سبب تسهیل عمل فاگوسیتوز می‌گردد. همچنین به‌نظر می‌رسد این آنزیم فعالیت ضدویروسی داشته و در نتیجه به‌عنوان یک بخش مهم از مکانیزم دفاع غیراختصاصی به‌شمار می‌رود (چوهی و همکاران، ۲۰۰۸). همچنین دیده شده ماهیانی که فعالیت لیزوزیم در خون آن‌ها بالاتر است، فعالیت ضدباکتریایی بیش‌تری در برابر باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت دارند (گریند، ۱۹۸۹؛ الکساندر و اینگرام، ۱۹۹۲) در بدن بیش‌تر گونه‌های ماهی لیزوزیم در موکوس، بافت‌های لنفی، سرم و سایر مایعات بدن یافت می‌شود (علیشاهی، ۱۳۸۸). الیس (۱۹۸۲) بیان نموده، افزایش فعایت لیزوزیم همراه با افزایش تعداد لوکوسیت‌ها می‌باشد و افزایش فعالیت لیزوزیم خون همراه با افزایش تیتر آنتی‌بادی است. استفاده از مواد محرک سیستم ایمنی در تغذیه ماهی سبب افزایش فعالیت لیزوزیم در خون ماهی می‌شود (الیس، ۱۹۸۲). در این پژوهش میزان فعالیت آنزیم لیزوزیم سرم تیمارهای ۱ و ۱/۵ درصد نسبت به تیمار شاهد در روزهای ۶۰ و ۹۰ پس از مصرف پری‌بیوتیک ایمونوژن افزایش نشان داد اما از نظر آماری معنی‌دار نبود ($P>0/05$). در مطالعات قبل در تیمارهای بلندمدت، سطوح لیزوزیم، افزایش نشان داده است (باگنی، ۲۰۰۴). یوشیدا و همکاران (۱۹۹۵)، در مطالعه‌ای اثرات گلوکان و مانان‌الیگوساکارید را بر ایمنی و فاکتورهای رشد گربه‌ماهی آفریقایی[2] بررسی کردند. براساس نتایج این مطالعه در پایان دوره ماهی‌های تغذیه شده با مانان‌الیگوساکارید (به‌میزان ۱۰ گرم بر کیلوگرم)، لیزوزیم سرم بیش‌تری نسبت به شاهد داشتند اما این روند در مورد تعداد نوتروفیل‌های فعال شده مشاهده نشد. در بررسی توکمه‌چی (۱۳۸۷)، افزایش میزان فعالیت لیزوزیم سرم متعاقب مصرف باکتری ل.بولگاریکوس همراه با غذا در ماهی قزل‌آلا نشان می‌دهد که پروبیوتیک نام‌برده توانسته است فعالیت این جزء مهم دفاع هومورال را تحریک نماید به‌طوری‌که افزایش معنی‌دار ($P<0/05$) فعالیت لیزوزیم را در روزهای ۲۰، ۳۰ (پس از تغذیه با پروبیوتیک) و ۱۵ (پس از قطع مصرف یعنی روز ۴۵) مشاهده شد. پانیگراهی و همکاران (۲۰۰۵) با تجویز خوراکی دزهای مختلف و شکل‌های متفاوت ل.رامنوسوس (JCM1136) در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بیش‌ترین میزان فعالیت لیزوزیم را در اشکال زنده باکتری و از روز ۱۰ پس از تغذیه تا روز ۳۰ مشاهده نمود. گوپالاکانان و آرول (۲۰۰۶) گزارش کردند استفاده از لوامیزول و کیتوزان به‌عنوان محرک‌های ایمنی سبب بالا رفتن فعالیت لیزوزیم سرم خون می‌شود. استفاده از داروهای سنتی چینی در غذای کپور معمولی سبب گشت تا با گذشت زمان فعالیت لیزوزیم خون بالا رود. همچنین در مطالعه‌ای بر روی ماهی هامور معمولی

1- Opsonization

2- *Clarias gariepinus*

Archive of SID

www.SID.ir

(*Epinephelus coioides*) مشاهده شده است که افزودن خوراکی پروبیوتیک *Lactococcus lactis* به‌میزان 1×10^{8} CUF/g در هر گرم غذا، توانسته میزان قابل‌توجهی مقادیر لیزوزیم سرم را نسبت به تیمار شاهد (جیره بدون پروبیوتیک) افزایش دهد ($P<0/05$). در حالی‌که افزودن خوراکی *E. faecium* با غلظت 1×10^{8} CUF/g به هر گرم غذا، کاهش معنی‌دار فعالیت لیزوزیم را نسبت به گروه شاهد نشان داده است ($P<0/05$) (سان و همکاران، ۲۰۱۱). در پژوهش شیخ‌الاسلامی (۱۳۸۷) مکمل کردن جیره با اینولین در ۳۰ روز اول (اولین خون‌گیری) باعث افزایش سطح لیزوزیم خون نشد. اما در پایان دوره تغذیه (روز ٦٠) سطوح لیزوزیم خون در ماهیان تغذیه شده با اینولین به‌طور معناداری در مقایسه با گروه شاهد در سطح بالاتری قرار داشت. ونگ و همکاران (۲۰۰۸) تغییر میزان لیزوزیم را به‌واسطه افزودن پروبیوتیک *E. faecium* در ماهی *O. niloticus* مشاهده کردند، اما این افزایش از نظر آماری تفاوت معنی‌داری را نشان نداد. یافته‌های این پژوهش در مورد میزان لیزوزیم سرم با یافته‌های مطالعات بالا هم‌سو می‌باشد. کرزولا و همکاران (۲۰۰۸) اینولین را به جیره شانک سر طلایی *Sparus aurata* با دو دوز ۰/۵ و ۱ درصد به‌مدت ۲-۱ هفته اضافه کردند. به‌نظر می‌رسد پری‌بیوتیک مانان‌الیگوساکارید و بتاگلوکان (ایمونوژن) با افزایش فعالیت در دستگاه گوارش بچه‌ماهیان شیربت باعث افزایش سیستم ایمنی می‌شود. یافته‌های این پژوهش نشان می‌دهد که استفاده از سطح ۱/۵ درصد روی برخی از عوامل دستگاه ایمنی این ماهی مؤثر بوده است. هر چند طبق یافته‌های این پژوهش، به‌طور قطع نمی‌توان از بهبود در ایمنی ماهی شیربت سخن گفت، ولی احتمالاً ایمونوژن توانسته اثراتی را بر دستگاه ایمنی اعمال نماید. با توجه به نتایج حاصل از این پژوهش به‌نظر می‌رسد استفاده از این مکمل غذایی در فواصل دوره‌های ٦٠-۳۰ روزه مؤثرتر می‌باشد.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله بر خود لازم می‌دانم از اداره کل دامپزشکی استان خوزستان سپاسگزاری می‌نمایم.

منابع

۱- توکمه‌چی، ا.، ۱۳۸۷. بررسی تأثیر لاکتوباسیلوس دلبروکئی تحت گونه بولگاریکوس (به‌عنوان یک پروبیوتیک) بر روی برخی از پارامترهای پاسخ ایمنی در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان. رساله دکترای تخصصی، دانشگاه ارومیه.

۲- سوداگر، م.، آذری‌تاکامی، ق.، آلکسویچ پانوماریف، س.، محمدزاده، ه.، عابدیان، ع.، و حسینی، ع.، ۱۳۸٤. بررسی مقایسه‌ای تأثیرافزایش برخی از مواد جاذب بتائین، متیونین و مخلوط بتائین + متیونین در جیره غذایی فیل‌ماهیان پرورشی به‌منظور افزایش تحریک غذاگیری و بالا بردن میزان رشد و بازماندگی). رساله دکتری شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ص ۷۹.

۳- شیخ‌الاسلامی‌امیری، م.، یاوری، و.، محمدیان، ت.، ابهری، ح.، و گواران، ح.، ۱۳۸۷. تحریک سیستم ایمنی قزل‌آلای رنگین‌کمان *Oncorhynchus mykiss* و افزایش مقاومت در برابر استرپتوکوک با افزودن پربیوتیک اینولین به جیره غذایی. خلاصه مقالات اولین همایش ملی منابع شیلاتی دریای خزر، صفحه ٦٨.

٤- علیشاهی، م.، ۱۳۸۳. نقش محرک‌های ایمنی در آبزی‌پروری، مجله سازمان نظام دامپزشکی کشور، سال چهارم، شماره سوم، ص ۳۸-۳۳.

۵- علیشاهی، م.، ۱۳۸۸. مقدمه‌ای بر ایمنی‌شناسی آبزیان، تالیف سوآین، پی، ساهو، پی. کی.، آیاپان، اس. انتشارات دانشگاه شهید چمران اهواز، ٤۹۹ ص.

Archive of SID

www.SID.ir

٦- محمدیان، ت.، کوچنین، پ.، نیکو، س.، شیخ‌الاسلامی، م.، سراج، ب.، اسکندری، غ.، و ابهری‌سه‌گنبد، ح.، ۱۳۸۸. مقایسه تأثیر آنالوگ هورمون GnRH همراه با آنتی‌دوپامین دامپریدون (Ova-fact) به روش لینپه، با عصاره هیپوفیز ماهی کپور معمولی (CPE) بر شاخص‌های رسید جنسی ماهی بنی (*Barbus sharpeyi*)، مجله دامپزشکی ایران، سال پنجم، شماره دوم، صفحات ۸۰-۷۱.

۷- مهاجر استرآبادی، م.، وهاب‌زاده، ح.، زمینی، ع.ع.، سوداگر، م.، و قربانی، ر.، ۱۳۸۹. تأثیر پربیوتیک ایمنوژن در جیره غذایی بر شاخص‌های رشد و بازماندگی فیل‌ماهیان جوان پرورشی (*Huso huso*). مجله شیلات دانشگاه آزاد اسلامی واحد آزاد شهر. سال چهارم، شماره سوم، صفحه ۷۳-٦۱.

۸- میرزایی، ح. ۱۳۸۳. پروبیوتیک‌ها و مقدمه‌ای بر کاربرد آن‌ها در تأمین سلامت انسان، صفحات: ٤-۱ (انتشارات دانشگاه آزاد اسلامی تبریز).

۹- نیک‌پی، م.، اسکندری، غ.، و دهقان‌مدیسه، س.، ۱۳۷۵. گزارش نهایی پروژه بررسی بیولوژیک ماهی شیربت و ماهی بنی. مؤسسه تحقیقات شیلات ایران، صفحات: ۱۰-۱، ٦٤-۵۲.

10. Abd El-Rhman, A.M., Khattab, Y.A.E., and Shalaby, A.M.E., 2009. *Micrococcus luteus* and *Pseudomonas* species as probiotics for promoting the growth performance and health of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. Fish & Shell fish immunology, 27, 175-180.
11. Alexander, J.B., and Ingram, G.A., 1992. No cellular nonspecific defense mechanisms of fish. Ann. Rev. Fish. Dis. 2, 249-79.
12. Alishahi, M., Ranjbar, M.M., Ghorbanpour, M., Peyghan, R., Mesbah, M., and Razi Jalali, M., 2010: Effects of dietary *Aloe vera* on specific and nonspecific immunity of Common carp (*Cyprinus carpio*). J. Vet. Res. 4 (3), 85-91.
13. Bagni, M., Romano, N., Finoia; M.G., Abelli, L., Scapigliati, G., Tiscar, P., Sarti, M., and Marino, G., 2005. Short and long term effects of a dietary yeast b-glucan (Macrogard) and alginic acid (Ergosan) preparation on immune response in sea bass (*Dicentrarchus labvrax*). Fish & Shellfish Immunology, 18, 311-325.
14. Burr, G., Gatlin, D.M., and Ricke, S., 2005. Microbial Ecology of the Gastrointestinal Tract of Fish and Potential Application of Prebiotics and probiotics in Finfish culture, J. World Aquacul. Soc. 36 (4), 425-436.
15. Choi, S.H., Park, K.H., Yoon, T.J., Kim, J.B., Jang, Y.S., and Choe, C.H., 2008. Dietary Korean mistletoe enhances cellular non-specific immune responses and survival of Japanese eel (*Anguilla japonica*), 24, 67-73.
16. Cerezuela, R., Cuesta, A., Meseguer, J., and Esteban, M.A., 2008. Effects of inulin on gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) innate immune parameters, Fish & Shellfish Immunology, 24, 663-668.
17. Cuesta, A., Meseguer, J., and Esteban, M.A., 2004. Total serum immunoglobulin M levels are affected by immunomodulators in sea bream (*Sparus aurata* L.), Veterinary Immunology and Immunopathology, 101, 203-210.
18. Daniels, C., Boothroyd, D., Davies, S., Pryor, R., Taylor, D., and Wells, C., 2006. Bio-Mos improve growth and survival of cultured lobsters. Shellfish News, 21, 23-25.
19. Ellis, A.E., 1982. Differences between the Immune Mechanism of Fish and Higher Vertebrates. In: Roberts, R.J. (Eds.), Microbial Disease of Fish, Vol. 1. Academic press INC, London, UK, pp. 1-46.
20. Gatlin, D.M., 2002. Nutrition and fish health. In: Fish Nutrition. (ed. By J.E. Halver and R.W. Hardy), P 671-702. Academic Press, San Diego, CA.
21. Gibson, G.R., 1999. Dietary Modulation of the Human Gut Micro flora Using the Prebiotics Oligo-fructose and Inulin, J. Nutr. 129, 1438-1441.

Archive of SID

www.SID.ir

22. Gopalakannan, A., and Arul, V., 2006. Immunomodulatory effects of dietary intake of chitin, chitosan and levamisole on the immune system of *Cyprinus carpio* and control of *Aeromonas hydrophila* infection in ponds, Aquaculture, 255, 179-187.
23. Grinde, B., 1989. Lysozyme from rainbow trout Salmo gairdneri Richardson, as an antibacterial agent against fish pathogen. J. Fish Dis. 12, 95-104.
24. Grisdale-Helland, B., Helland, S.J., and Gatlin, D.M., 2009. The effects of dietary supplementation with mannanoligosaccharide, fructooligosaccharide or galactooligosaccharide on the growth and feed utilization of Atlantic salmon (*Salmo salar*). Aquaculture, 283, 163-167.
25. Kajita, Y., Sakai, M., Atsuta, S., and Kobayash, M., 1990. The immunonodulatory effects of levamisole on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Fish Pathology, 25, 93.
26. Kim, J.D., and Kaushik, S.J., 1992. Contribution of digestible energy from carbohydrate and estimation of protein / energy requirements for growth of rainbow trout. Aquaculture, 106, 161-169.
27. Mahious, A.S., Gatesoupe, F.J., Hervi, M., Metailler, R., and Ollevier, F., 2005. Effect of dietary inulin and oligosaccharides as prebiotics for weaning turbot, *Psetta maxima* (Linnaeus, C. 1758). Aquaculture International, 14 (3), 219-229.
28. Mesalhy aly, S., Azza, M., Rahman, A., John, G., and Mohamed, M., 2008. Characterization of some bacteria isolated from *Oreochromis niloticus* and their potential use as probiotics. Aquaculture. 277, 1-8.
29. Nikoskelainen, S., Ouwehand, A.C., Bylund, G., Salminen, S., and Lilius, E.M., 2003. Immune enhancement in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) by potential bacteria (*Lactobacilus rhamnosus*). Fish and Shellfish Immunology. 15, 443-452.
30. Panigrahi, A., Kiron, V., Puangkaew, J., Kobayashi, T., Satoh, S., and Sugita, H., 2005. The viability of probiotic bacteria as a factor influencing the immune response in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. Aquaculture, 243, 241-254.
31. Pryor, G.S., Royes, J.B., Chapman, F.A., and Miles, D., 2003. Mannan oligosaccharides in Fish Nutrition: Effects of Dietary Supplementation on Growth and Gastrointestinal Villi Structure in Gulf of Mexico Sturgeon. North Amer. J. Aquacul. 65, 106-110.
32. Sahoo, P.K., 2006. Immune competent organs in teleost. In: Swain, P., Sahoo, P.K., & Ayyappan, S. (Eds) Fish & shellfish immunology, Navendra Publishing House, Dehli. pp. 1-12.
33. Salze, G., McLean, E., Schwarz, M.H., and Craig, S.R., 2008. Dietary mannan oligosaccharide enhances salinity tolerance and gut development of larval cobia. Aquaculture, 274, 148-152.
34. Siwicki, A.K., Anderson, D.P., and Rumsey, G.L., 1994. Dietary intake of immunes imulants by rainbow trout affects non-specific immunity and protection against furunclosis. Veterinary Immunology and Immunopathology, 41, 125-139.
35. Skejermo, J., Salvesen, I., Oie, G., Olsen, Y., and Vadstein, O., 1997. Microbially matured water: a technique for selection of a no opportunistic bacterial flora in water that may improve performance of marine larvae. Aquacul. Int. 5, 13-28.
36. Sun, Y.Z., Yang, H.L., Ma, R.L., Song, K., and Li, J.S., 2011. Effect of *Lactococcus lactis* and *Enterococcus faecium* on growth performance, digestive enzymes and immune response of grouper *Epinephelus coioides*. Aquaculture Nutrition.
37. Van Hai, N., and Fotedar, R., 2009. Comparison of the effects of the prebiotics (BioMos® and β-1,3-D-glucan) and the customized probiotics (*Pseudomonas synxantha* and *P. aeruginosa*) on the culture of juvenile western king prawns (*Penaeus latisulcatus* Kishinouye, 1896). Aquaculture, 289, 310-316.
38. Vendemiatti, J.A., Costa, A.B., and Cyrino, J.E.P., 2003. Mananoligossacarıide os alimentares (MOS) comoagentes profila´ticos das infeccxo˜es por *Edwardsiella tarda* em Tila´pia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). J. World Aquacul. Soc. pp. 132-140.
39. Wang, Y.B., Tian, Z., Yao, J., and Li, W., 2008. Effect of probiotics, *Enteroccus faecium*, on tilapia (*Oreochromis niloticus*) growth performance and immune response. Aquaculture, 277, 203-207.

Archive of SID

www.SID.ir

40. Welker, T.L., Lim, C., Yildirim-Aksoy, M., Shelby, R., and Klesius, P.H., 2007. Immune response and resistance to stress and *Edwardsiella ictaluri*, fed diets containing commercial whole cell yeast or yeast subcomponents. J. World Aquacul. Soc. 38 (1), 24-35.
41. Yilmaz, E., Genc, M., and Genc, E., 2007. Effects of dietary Mannan-oligosaccharide on growth, intestine and liver histology of the Rain bow trout, *Oncorhynchus mykiss*. The Israeli J. Aquacul. Bamidgeh. 59 (3), 182-188.
42. Yoshida, T., Kruger, R., and Inglis, V., 1995. Augmentation of non-specific protection in African catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell), by the long-term oral administration of immunostimulants. J. Fish Dis. 18, 195-198.
43. Yuji sado, R., and De Almeida, A.J., 2008. Feeding dietary mannan oligosaccharides to juvenile Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, has no effect on hematological parameters and showed decreased feed consumption. J. World Aquacul. Soc. 39 (6), 821-827.
44. Zaccorate, I., Gasco, L., Sicuro, B., Palmegiano, G.B., and Luzzana, U., 1996. Use of by-product frpm poultry slaughtering in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Rivista Italiana Diaquacoltura. 31, 145-156.

Archive of SID

www.SID.ir