

بررسی اثر پری بیوتیک دیواره سلولی مخمر (*Saccharomyces cerevisia*) بر تغییرات شاخص‌های خونی و ایمنی بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین- کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

محمد اعتصامی پور¹، عباسعلی زمینی²، مسعود فرخ روز²

1- دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، دانشکده منابع طبیعی، دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه شیلات، لاهیجان، ایران.
Mohammadeatisamipour@gmail.com

2- دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، دانشکده منابع طبیعی، استادیار گروه شیلات، لاهیجان، ایران.

تاریخ دریافت: 93/1/16 تاریخ پذیرش: 93/2/27

چکیده

زمینه و هدف: پری بیوتیک‌ها مکمل‌های غذایی بالقوه‌ای هستند که اثرات زیان بار عوامل عفونت‌زا را کاهش و تأثیرات مفیدی بر سلامتی میزبان دارند. هدف از این تحقیق بررسی اثر پری بیوتیک دیواره سلولی مخمر (*Saccharomyces cerevisia*) بر شاخص‌های خونی و ایمنی بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان است.

روش کار: برای انجام تحقیق 120 قطعه بچه ماهی قزل‌آلای رنگین کمان با میانگین وزنی $3/61 \pm 0/12$ گرم به مدت 8 هفته به صورت تصادفی در سه تیمار 1/1، 1/5، 2/2 پری بیوتیک و شاهد، با 3 تکرار پرورش داده شدند. در پایان دوره پرورش شاخص‌های خونی و ایمنی بچه ماهیان مورد مطالعه قرار گرفت.

یافته‌ها: اختلاف معنی داری در میزان گلبول‌های سفید، گلبول‌های قرمز، هموگلوبین، هماتوکریت و نوتروفیل بین تیمار 2/2 و سایر تیمارها و گروه شاهد مشاهده گردید ($P < 0/05$). در فاکتورهای میانگین حجم گلبول قرمز و سایر فاکتورهای خونی اختلاف معنی داری در تیمارها دیده نشد ($P > 0/05$). همچنین نتایج نشان داد که شاخص‌های ایمنی غیر اختصاصی در خون نظیر لیزوزیم و ایمنی اختصاصی نظیر IgM و IgA اختلاف معنی داری بین گروه تیماری تغذیه شده با 2/2 پری بیوتیک دیواره سلولی مخمر با سایر تیمارها و گروه شاهد داشتند ($P < 0/05$).

نتیجه‌گیری: پری بیوتیک دیواره سلولی مخمر در سطح 2/2 به کار رفته در جیره غذایی به دلیل افزایش قابل توجه در شاخص‌های ایمنی و برخی از پارامترهای خونی مورد بررسی، می‌تواند نقش مهمی در عملکرد ایمنی و بهبود شاخص‌های خونی بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان ایفا نماید.

واژه‌های کلیدی: قزل‌آلای رنگین کمان، پری بیوتیک، دیواره سلولی مخمر، شاخص‌های خونی، شاخص‌های ایمنی.

مقدمه

علاوه بر تأمین مواد مغذی لازم می‌توانند در افزایش سلامت، مقاومت نسبت به استرس و عوامل بیماری‌زا مفید واقع شوند (43). در این رابطه، ترکیباتی که مورد استفاده قرار می‌گیرند، زیست یارهای غیر حیاتی هستند که پری بیوتیک نامیده می‌شوند. این ترکیبات به عنوان مواد غذایی تخمیر پذیر و غیر قابل هضم به طور مؤثری از طریق تحریک یا محدود کردن رشد و فعالیت باکتری‌ها بر سلامت میزبان اثر می‌گذارد (4، 5). بنابراین هر ماده غذایی که به روده می‌رسد مثل کربوهیدرات-

قزل‌آلای رنگین کمان نخستین گونه از خانواده آزاد ماهیان است که به عنوان غذای اصلی انسان پرورش یافته و در حال حاضر سهم با ارزشی در تأمین غذای انسان دارد (35). در مراحل ابتدایی رشد این ماهی شرایطی ویژه و بحرانی وجود دارد. ایجاد شرایط مناسب در این مراحل می‌تواند ضامن سلامت ماهی در مراحل بعدی پرورش باشد (3). در سال‌های اخیر استفاده از مکمل‌های غذایی که در بالا بردن سیستم ایمنی نقش دارند از جمله راه کارهایی می‌باشند که

منظم بر اساس دمای آب، وزن ماهیان و بیوماس و زیست سنجی هر تکرار در هر 2 هفته یکبار و ساخت غذا به منظور جلوگیری از افت کیفیت آن هر ماه انجام گرفت. در حقیقت بچه ماهیان به مدت 8 هفته تغذیه شدند و عملیات محاسبه میزان و درصد غذا بر اساس اندازه گیری بیوماس به ترتیب در ابتدای دوره با 5% توده زنده در هر تیمار و در انتهای دوره با 3% توده زنده به طور کاملاً دستی انجام پذیرفت (30، 9، 6). پارامترهای کیفی آب نیز مانند اکسیژن محلول توسط اکسیژن متر WTW مدل 330i ساخت شرکت Weilheim آلمان با دقت 0/01، درجه حرارت توسط دماسنج دیجیتال 300 ساخت شرکت HM کره جنوبی به صورت روزانه اندازه گیری شدند. پس از اتمام طول دوره پرورش به منظور بررسی تاثیر پری بیوتیک استفاده شده در بهبود شاخص های خونی و ایمنی پس از 24 ساعت و اطمینان از تخلیه کامل محتویات شکمی ماهیان، از هر تیمار و تکرار، 3 عدد به صورت تصادفی انتخاب شده و خون گیری از ورید ساقه دمی با سرنگ cc 2 انجام گرفت. در هنگام فرآیند خون گیری از مواد بیهوش کننده به علت احتمال تاثیر بر شاخص های خونی استفاده نشد (40). نمونه ها جهت تعیین سطوح ایمنی، شاخص های خونی و تشخیص افتراقی گلبول های سفید بچه ماهیان به آزمایشگاه تشخیص طبی منتقل گردید. حجم خون برداشت شده به ازاء هر تکرار 1 cc که 0/5 سی سی در ایندورف های فاقد هپارین برای جداسازی سرم خون و 0/5 سی سی حاوی ماده ی هپارین ریخته شد (39). به منظور اندازه گیری ایمونوگلوبین از روش الایزا با دستگاه Awareness, USA مدل Stat Fax- 2100 استفاده شد. مقدار ایمونوگلوبین کل با پروتئین به دست آمده از سرم خون که با پلی اتیلن گلیکول سانتریفوژ شده برحسب (mg/ml) به دست آمد (40)، روش مورد استفاده برای اندازه گیری

آلای رنگین کمان پس از مدت 1 هفته سازگاری به شرایط کارگاهی، به تعداد 120 قطعه با میانگین وزنی $3/61 \pm 0/12$ گرم و با تراکم 10 قطعه در هر یک از وان ها با حجم 100 لیتر آب رهاسازی شدند. تحقیق با 4 تیمار و 3 تکرار در هر تیمار، در 12 وان فایبرگلاس هر یک با 100 لیتر آب تازه انجام گردید. در مدت تحقیق به طور روزانه نسبت به برداشت فضولات و پس مانده های غذایی از هر یک از مخازن نگهداری اقدام می شد. در این بررسی، تیمارها شامل جیره غذایی حاوی 1/1، 1/5 و 2/2 پری بیوتیک دیواره سلولی مخمر و تیمار شاهد (بدون افزودن پری بیوتیک به جیره) و هر یک در سه تکرار مورد آزمایش قرار گرفتند. برای تهیه جیره های مورد نظر ابتدا غذا را با آسیاب به صورت پودر درآورده و بعد از محاسبه و اضافه نمودن پری بیوتیک مورد نظر با دستگاه میکسر (همزن) براساس مقدار مصرف همراه با مقداری آب به صورت خمیر درآورده و بعد آن را از یک چرخ گوشت عبور داده تا به شکل رشته های شبیه به ماکارونی درآمد و در نهایت پلت ها را در آون (Binder, Germany) قرار داده تا در دمای 30 درجه سانتی گراد به مدت 24 ساعت خشک شده و سپس از آن رشته ها، پلت هایی با قطر متناسب با دهان بچه ماهیان درآورده و در کیسه های مناسب و غیر قابل نفوذ در دمای 15- درجه سانتی گراد نگهداری و یک ساعت قبل از توزیع غذا در وان ها، از فریزر خارج و در دمای اتاق نگهداری شدند و پس از متعادل شدن درجه حرارت پلت ها، با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت 0/01 گرم (Shinko Radwag مدل WTB ساخت کشور ژاپن) توزین شده و با توجه به تیمارهای مورد نظر، غذاهای آن ها بر اساس مشاهدات و رفتارهای تغذیه ای بچه ماهیان قزل-آلای به میزان 5-3% وزن زنده آن ها روزانه در 3 نوبت (ساعات 8، 14، 20) در طول شبانه روز، در دفعات

اختلاف معنی داری در میانگین تعداد گلبول های سفید و نوتروفیل وجود داشت ($P < 0/05$) (جدول 1). در مقایسه دو به دو گروه ها با یک دیگر میزان گلبول های سفید خون بچه ماهیان در تیمار 3 ($9500 \pm 655/74$ mm³) بیشتر از شاهد و سایر تیمارها، میانگین نوتروفیل خون بچه ماهیان در تیمار 3 ($39/33 \pm 0/88$ درصد) از بیشترین میزان برخوردار بوده و تیمار 2 ($1/20 \pm 30/33$ درصد) نیز در جایگاه بعدی قرار دارد و به طور کلی میانگین نوتروفیل به ترتیب در تیمار 3 و 2 بیشتر از تیمار 1 و شاهد بود. در بررسی میزان لنفوسیت، مونوسیت و ائوزینوفیل از نظر آماری اختلاف معنی دار مشاهده نگردید ($P > 0/05$) (جدول 1). در این میان تیمار 2 از وضعیت بهتری در میزان لنفوسیت ($3/84 \pm 50/67$ درصد)، مونوسیت ($4 \pm 0/57$ درصد) و ائوزینوفیل با میزان ($1/33 \pm 0/33$ درصد) نسبت به بقیه تیمارهای آزمایشی و گروه شاهد برخوردار بوده است. بنابراین شاخص های افتراقی گلبول های سفید در تیمار 2 پری بیوتیک نسبت به تیمار شاهد و سایر تیمارهای آزمایشی بهبود یافته است. در بررسی سایر شاخص های خونی مورد مطالعه در تحقیق و با توجه به نتایج حاصله از آنالیزهای آماری در میانگین تعداد گلبول های قرمز بچه ماهیان، میزان هموگلوبین و میزان هماتوکریت اختلاف معنی دار مشاهده گردید ($P < 0/05$). در مقایسه دو به دو گروه ها با یک دیگر میزان گلبول های قرمز خون بچه ماهیان در تیمار 3 ($800000 \pm 39849/72$ mm³) و تیمار 2 ($717000 \pm 18036/99$ mm³) بیشتر از تیمار 1 و شاهد، هموگلوبین خون بچه ماهیان در تیمار 2 ($6 \pm 0/15$ gr/dl) و تیمار 3 ($6/5 \pm 0/15$ gr/dl) و هماتوکریت خون بچه ماهیان در تیمار 1 ($4/77 \pm 0/26$ درصد) و شاهد کمتر ($4/4 \pm 0/2$ درصد) از تیمار 2 و 3 بوده است. اما در بررسی میزان حجم متوسط گلبولی خون بچه ماهیان (MCV)، میزان غلظت متوسط

ایمونوگلوبین M روش Nephelometry می باشد. در این روش IgM موجود در سرم با آنتی بادی پلی کلونال موجود در محلول های تامپون تشکیل کمپلکس داده و باعث کدر شدن محلول می شود. شدت کدورت ایجاد شده با مقدار IgM رابطه مستقیم داشته و توسط دستگاه اسپکتروفتومتر Minineph (Binding site U)، در طول موج 340nm خوانده شد. در واقع نفلومتر نور تک رنگ موازی در طول موج های بین 400 تا 800 نانومتر به این محلول تابانده که پس از برخورد به کمپلکس آنتی بادی و آنتی ژن متفرق شده که میزان تفرق با مقدار IgM نسبت مستقیم دارد (7، 23، 45). برای اندازه گیری میزان فعالیت لیزوزیم از دستگاه Stat Fax- Elisa Reader (Awareness, USA) مدل 2100 و به روش کدورت سنجی استفاده شد. نتایج از طریق تحلیل باکتری های گرم مثبت به دست آمد و بر حسب (mg/ml^{-1}) محاسبه گردید (27). در پایان کلیه داده های خام به منظور بررسی توزیع نرمال داده ها در گروه ها و تکرارها جهت تشکیل تیمارها از آزمون Shapiro-Wilk و رسم نمودار هیستوگرام و جهت مقایسه میانگین گروه ها با یک دیگر از آزمون دانکن با سطح اطمینان 5% استفاده شد. کلیه تحلیل های آماری با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه 17 و جهت رسم نمودارها از نرم افزار Excel 2003 استفاده شد.

نتایج

بر اساس اندازه گیری روزانه فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب میانگین درجه حرارت در طول دوره پرورش $17/75 \pm 3/11$ درجه سانتی گراد، pH $0/41 \pm 7/35$ ، اکسیژن $1/2 \pm 7/2$ میلی گرم در لیتر و سختی آب $282/5 \pm 0/52$ میلی گرم در لیتر کربنات کلسیم بودند. با توجه به نتایج و آنالیزهای آماری در پایان تحقیق مشاهده گردید که از شاخص های مورد بررسی در تشخیص افتراقی گلبول های سفید خون بچه ماهیان،

میزان (MCH) در تیمار 1/5% ($83/33 \pm 0/33$) و میزان (MCHC) در تیمار 1% ($20/36 \pm 0/43$) بیشتر از سایر گروه‌های تیماری بوده است.

هموگلوبین در گلبول قرمز (MCH) و میزان غلظت متوسط هموگلوبین گلبول‌های قرمز (MCHC) اختلاف معنی دار مشاهده نگردید ($P > 0/05$) (جدول 2). میزان (MCV) در تیمار 1/5% با ($418/33 \pm 5/04$).

جدول 1- مقایسه میانگین تعداد گلبول سفید، نوتروفیل، مونوسیت، لنفوسیت و ائوزینوفیل بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان در پایان هشت هفته تغذیه با پری‌بیوتیک دیواره سلولی مخمر

شاخص	تیمار	شاهد	1	2	3
گلبول سفید (میلی متر مکعب)	5250 ± 250^a	$5800 \pm 208/16^a$	$7533/33 \pm 240/37^b$	$9500 \pm 655/74^c$	
درصد نوتروفیل	20 ± 1^a	$21 \pm 0/57^a$	$30/33 \pm 1/20^b$	$39/33 \pm 0/88^c$	
درصد لنفوسیت	78 ± 1	$73/33 \pm 3/28$	$67 \pm 1/15$	$50/67 \pm 3/84$	
درصد مونوسیت	$1/5 \pm 0/5$	$1/66 \pm 0/33$	$2/33 \pm 0/33$	$4 \pm 0/57$	
درصد ائوزینوفیل	$0/33 \pm 0/33$	$0/66 \pm 0/33$	$0/33 \pm 0/33$	$1/33 \pm 0/33$	

حروف لاتین غیر مشترک نشان دهنده اختلاف معنی دار در آزمون دانکن در سطح 5 درصد است

جدول 2- مقایسه میانگین تعداد گلبول قرمز، میزان هموگلوبین، میزان هماتوکریت، حجم متوسط گلبولی خون، غلظت متوسط هموگلوبین در گلبول قرمز و غلظت متوسط هموگلوبین گلبول‌های قرمز بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان در پایان هشت هفته تغذیه با پری‌بیوتیک دیواره سلولی مخمر

شاخص	تیمار	شاهد	1	2	3
گلبول قرمز (میلی متر مکعب)	$541250 \pm 45706/26^a$	$586666/67 \pm 10837/18^a$	$717000 \pm 18036/99^{ab}$	$800000 \pm 39849/72^b$	
میانگین هموگلوبین (gr.dcl)	$4/4 \pm 0/2^a$	$4/77 \pm 0/26^a$	$6 \pm 0/15^b$	$6/5 \pm 0/15^b$	
درصد هماتوکریت	$23/50 \pm 0/5^a$	$23/33 \pm 0/88^a$	$30 \pm 0/58^b$	$32/67 \pm 1/33^b$	
حجم متوسط گلبولی (فمتولتر)	$414/5 \pm 1/5$	$397 \pm 10/26$	$418/33 \pm 5/04$	$408/33 \pm 10/39$	
غلظت هموگلوبین در گلبول قرمز (pp)	82 ± 1	$80/66 \pm 3/84$	$83/33 \pm 0/33$	$81 \pm 2/08$	
غلظت هموگلوبین در گلبول‌های قرمز (gr.dcl)	19 ± 1	$20/36 \pm 0/43$	$19/96 \pm 0/20$	$19/9 \pm 0/36$	

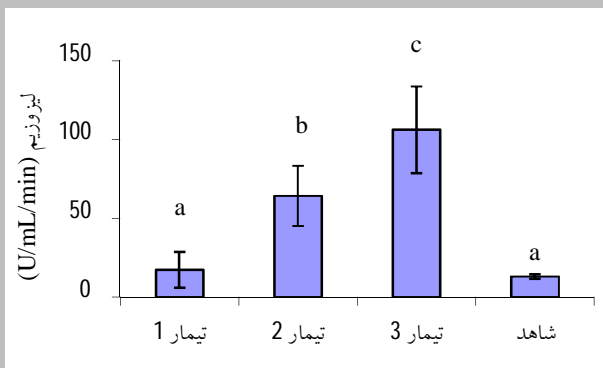
حروف لاتین غیر مشترک نشان دهنده اختلاف معنی دار آماری در آزمون دانکن در سطح 5 درصد است

در بررسی نتایج حاصل از تحلیل‌های آماری، بین تیمارها و گروه شاهد از نظر میزان لیزوزیم اختلاف معنی داری وجود دارد (نمودار 1)، به طوری که بیشترین میزان لیزوزیم در تیمار 2% با $106 \pm 15/82$ U/ml/min و کم‌ترین میزان در گروه شاهد با 13 ± 1 U/ml/min بوده است و به لحاظ آماری اختلاف معنی دار بین شاهد با تیمار 1/5% و 2% درصد مشاهده گردید ($P < 0/05$).

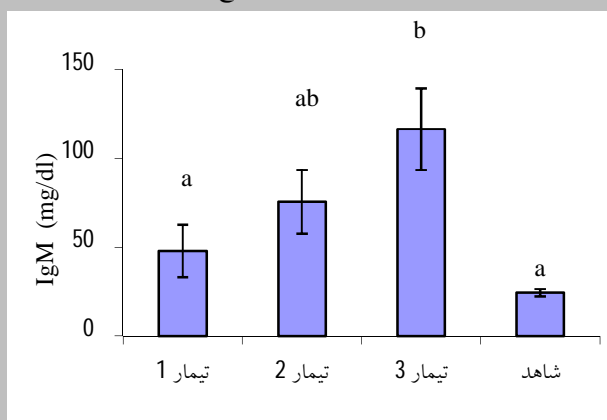
در بررسی ایمونوگلوبین M (IgM) اختلاف معنی داری بین تیمارها و گروه شاهد مشاهده گردید (نمودار 2). بیشترین میزان IgM در تیمار 2% با $167 \pm 19/06$ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر و کم‌ترین میزان آن در تیمار شاهد با $24/5$ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر بوده و به لحاظ آماری اختلاف معنی داری بین تیمار 3 با شاهد و سایر تیمارها مشاهده شد.

بر اساس تحلیل های آماری در میزان ایمونوگلوبین کل (Ig) اختلاف معنی داری بین تیمارها و گروه شاهد وجود دارد (نمودار 3). بیشترین میزان Ig در تیمار 2 با $22/33 \pm 1/85$ میلی گرم بر میلی لیتر و کم ترین میزان آن در تیمار شاهد با 16 میلی گرم بر میلی لیتر ($P < 0/05$).

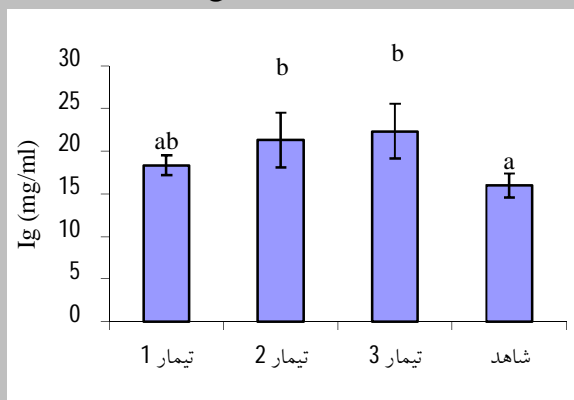
بر اساس تحلیل های آماری در میزان ایمونوگلوبین کل (Ig) اختلاف معنی داری بین تیمارها و گروه شاهد وجود دارد (نمودار 3). بیشترین میزان Ig در تیمار 2 با $22/33 \pm 1/85$ میلی گرم بر میلی لیتر و کم ترین میزان آن در تیمار شاهد با 16 میلی گرم بر میلی لیتر ($P < 0/05$).



نمودار 1- مقایسه میانگین میزان لیزوزیم در بچه ماهیان قزل آلائی تغذیه شده با پری بیوتیک دیواره سلولی مخمر (حروف لاتین غیر مشترک نشان دهنده اختلاف معنی دار آماری در آزمون دانکن در سطح 5 درصد است)



نمودار 2- مقایسه میانگین میزان IgM در بچه ماهیان قزل آلائی تغذیه شده با پری بیوتیک دیواره سلولی مخمر (حروف لاتین غیر مشترک نشان دهنده اختلاف معنی دار آماری در آزمون دانکن در سطح 5 درصد است)



نمودار 3- مقایسه میانگین میزان Ig در بچه ماهیان قزل آلائی تغذیه شده با پری بیوتیک دیواره سلولی مخمر (حروف لاتین غیر مشترک نشان دهنده اختلاف معنی دار آماری در آزمون دانکن در سطح 5 درصد است)

بحث و نتیجه گیری

تغذیه شده با این پری بیوتیک افزایش غیر معنی داری را در یاخته های سفید فاگوسیتوزکننده نسبت به تیمار شاهد داشتند که این خود باعث افزایش بیگانه خواری و تحریک سیستم ایمنی غیر اختصاصی در ماهیان شده است. پارامترهای خون شناسی به طور معنی داری تحت تأثیر فاکتورهای محیطی و بیولوژیک می باشند، لذا آگاهی از اثر فاکتورهای مذکور بر پارامترهای خون-شناسی در موقع تفسیر نتایج ضرورت دارد (25). تعداد گلبول های قرمز در تیمار 2٪ اختلاف معنی داری را با شاهد و تیمار 1 درصد داشت که نشان دهنده تأثیر پری بیوتیک در بهبود اکسیژن رسانی به بافت ها و فرآیند سوخت و ساز و انتقال CO_2 از بافت ها به بیرون بدن می باشد (12). از آنجایی که هموگلوبین پروتئینی است که 95 درصد گلبول قرمز را تشکیل می دهد، نتایج هموگلوبین با تعداد گلبول قرمز مطابقت دارد (44). هماتوکریت نیز تابعی از گلبول قرمز بوده و رابطه ای مستقیمی با آن دارد (38). میزان هماتوکریت در شاهد اختلاف معنی داری را با سایر تیمارها نشان داده است که می توان نتیجه گرفت که مواد محرک ایمنی می تواند اثر معنی داری بر شاخص های هماتولوژیک داشته باشند (38). شاخص های $MCHC$ ، MCH ، MCV تغییرات معنی داری را در تیمارها از خود نشان ندادند ($P > 0/05$). شاخص میانگین حجم گلبول قرمز (MCV) در تیمارهای تغذیه شده با پری بیوتیک دیواره سلولی مخمر در برخی موارد روند کاهشی نسبت به شاهد داشتند که کاهش حجم گلبول های قرمز نشان دهنده ی عدم وجود التهاب است که سبب تسهیل حرکت و تعلیق گلبول های قرمز شده و سرعت رسوب آنها و تشکیل لخته های درون رگی را کاهش می دهد که یک ویژگی مثبت در فیزیولوژی دستگاه گردش خون محسوب می شود. اما همان گونه که از نتایج مشاهده شد، میزان هموگلوبین در گلبول قرمز (MCH)

شناخت فاکتورهای خونی در شناخت بیماری ها و تعیین سلامت ماهی مفید است (14). در تحقیق حاضر اختلاف معنی داری را در تعداد کل گلبول های سفید مشاهده گردید که با افزایش مقدار دوز پری بیوتیک (2٪) این مقدار بیشتر شده و تیمار شاهد کم ترین تعداد گلبول سفید را دارا بوده و این خود بیان گر تحریک سیستم ایمنی و ارتقاء آن می باشد. تعداد گلبول های سفید و نسبت انواع آنها یکی از شاخص های مهم سلامتی و وضعیت سیستم ایمنی در جانوران است (36). با توجه به نتایج به دست آمده از تحقیق اختلاف معنی داری در بین انواع گلبول های سفید (لنفوسیت، مونوسیت و ائوزینوفیل) در بین تیمارها در مقایسه با گروه شاهد مشاهده نشد ($P > 0/05$). اما از نظر میانگین نوتروفیل در بین تیمارها افزایش معنی دار آماری نسبت به گروه شاهد مشاهده گردید که خود می تواند نشان از تأثیر مثبت این دسته از گرانولوسیت ها در ایمنی غیر اختصاصی و پاسخ التهابی باشد و در واقع این یاخته ها نسبت به سایر گرانولوسیت ها بسیار بیگانه خوارترند و عمده ترین فعالیت نوتروفیل ها انجام عمل فاگوسیتوز فعال می باشد (12). در واقع تمام تیمارهای پری بیوتیکی، دارای تعداد بیشتری از نوتروفیل در مقایسه با شاهد می باشند که این مقدار در تیمار 2٪ بیشتر از سایر گروه ها است. هم چنین مقدار لنفوسیت در شاهد بیشتر از تیمارهای دیگر است، این کم بودن یا ناشی از استرس های مزمن است و یا به علت قدرت عوامل ایجاد کننده ایمنی غیر اختصاصی است (تا دیگر نیاز به تولید بیشتر لنفوسیت نباشد). قدرت بیگانه خواری ائوزینوفیل ها در مقایسه با یاخته های نوتروفیلی کمتر بود ولی نقش بسیار مهمی در از بین بردن انگل های بافتی دارند (12). میزان ائوزینوفیل ها در تیمار 3 (2٪) دارای بیشترین مقدار است. همان طور که از این نتایج مشاهده شد، تیمارهای

آنوروموناس هیدروفیلا و ادواردزیلاتاردا می‌شود (28). همچنین اضافه کردن MOS به جیره‌های غذایی تأثیرات متفاوتی بر روی ماهیان مختلف گذاشت (32). در گربه ماهی کانال فاکتورهای ایمنی و هماتولوژی و مقاومت در برابر *Edwardsiella ictaluri* اختلاف معنی‌داری با شاهد نداشتند (29، 44). ولی در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان فعالیت لیزوزیم و آنتی‌بادی افزایش معنی‌داری یافت (37). میزان فعالیت لیزوزیم سرم به عنوان یک معرف با اهمیت ایمنی غیر اختصاصی در ماهی می‌باشد (31). افزایش آن پس از مصرف مواد محرک ایمنی مانند گلوکان‌ها و تحریک آنتی‌ژنی افزایش می‌یابد (8). میزان فعالیت لیزوزیم در تیمار 3 (2٪) پری‌بیوتیک افزایش معنی‌داری را نسبت به شاهد داشته که می‌توان علت آن را این طور تفسیر نمود که منشاء بیشترین مقدار تولیدی لیزوزیم از نوتروفیل‌ها و مونوسیت‌ها می‌باشد، حال همان طور که نتایج پیداست بیشترین مقدار این یاخته‌های بیگانه‌خوار در تیمار 2٪ هستند و همچنین بتاگلوکان و مانان اولیگوساکارید طبق گزارشاتی بر فعالیت لیزوزیم تأثیرگذار می‌باشند (32، 16). در تحقیق دیگری تأثیر مخمر *S. cerevisiae* و بتاگلوکان را بر روی فاکتورهای ایمنی تیلاپیاهای 100-800 گرمی به مدت 21 روز مورد بررسی قرار دادند و مشاهده نمودند که اختلاف معنی‌داری در میزان لیزوزیم سرم خون وجود ندارد ($P > 0/05$) (17، 18). طی تحقیقی بر روی بچه ماهیان انگشت قد کپور معمولی تغذیه شده با سطوح مختلف پری‌بیوتیک دیواره سلولی مخمر، شاخص‌های خونی و ایمنی نظیر لیزوزیم، Ig و IgM بررسی گردید و نتایج نشان داد که افزایش این پری‌بیوتیک در سطح 3٪ جیره غذایی می‌تواند باعث افزایش سطوح ایمنی در بچه ماهیان کپور معمولی گردد و نیز در تیمارها به جز میانگین ائوزینوفیل اختلاف معنی‌داری با شاهد مشاهده

در تیمارهای حاوی پری‌بیوتیک افزایش یافته است که نشان دهنده‌ی اثر مثبت پری‌بیوتیک بر میزان هموگلوبین و قابلیت انتقال گازهای تنفسی توسط هموگلوبین است (38). طبق نتایج به دست آمده میزان لنفوسیت‌ها اختلاف معنی‌داری با شاهد نداشته و ایمونوگلوبین (Ig) و ایمونوگلوبین M (IgM) بین تیمارها و شاهد اختلاف معنی‌داری داشته است ($P < 0/05$). در واقع تأثیر بتاگلوکان استخراج شده از دیواره سلولی مخمر باعث افزایش فعالیت ایمنی در تیمارهای تغذیه شده با این پری‌بیوتیک شده است. طی مطالعه‌ی تأثیر دیواره سلولی مخمر را بر روی فاکتورهای خونی قزل‌آلای رنگین‌کمان در یک دوره 30 روزه بررسی گردید و مشاهده شد که نوتروفیل، لنفوسیت، مونوسیت، میزان لیزوزیم، Ig، تعداد گلبول‌های سفید، تعداد گلبول‌های قرمز، هماتوکریت و هموگلوبین در تیمارهای حاوی دیواره سلولی مخمر آبدو در جیره، اختلاف معنی‌داری با جیره‌ی شاهد نداشتند که با نتایج تحقیق حاضر به جز تعداد گلبول‌های سفید و میانگین نوتروفیل مطابقت دارد (41). این اختلاف مربوط به تفاوت در نوع گونه، جیره مصرفی، طول دوره و تأثیر فاکتورهای محیطی بر پارامترهای خون‌شناسی می‌باشد (25). تأثیر مخمر *S. cerevisiae* در سطوح 5، 7/5 و 10 درصد بر روی فاکتورهای خونی کپور ماهی هندی روهو *Labeo rohita* بررسی و مشخص شد که در تعداد گلبول‌های سفید و قرمز اختلاف معنی‌داری در تیمارهای آزمایشی با گروه شاهد وجود دارد (39). در تحقیقی اثرات سطوح 100، 250، 500 میلی‌گرم در کیلوگرم بتاگلوکان را بر سیستم ایمنی، رشد و بقای بچه ماهیان انگشت قد روهو *Labeo rohita* مورد مطالعه قرار گرفت و ثابت شد که 3 بار تزریق، 1 میلی‌گرم در وزن بدن، بتاگلوکان باعث ارتقاء سیستم ایمنی و افزایش مقاومت در باکتری‌های

شده با MOS افزایشی نسبت به گروه شاهد داشت (40). این افزایش می‌تواند به دلیل حضور گیرنده‌های مانوز باشد. گیرنده‌ی مانوز یک گیرنده‌ی داخل سلولی ماکروفاژها و سلول‌های اندوتلیال بوده که لیگاند‌های حاوی مانوز با سایر گیرنده‌ها متصل شده و سبب فعال شدن گلبول‌های سفید و تولید سیتوکین‌های ضد التهابی می‌شوند (24). نتایج حاصل از تحقیق نشان می‌دهد که افزایش پری‌بیوتیک دیواره سلولی مخمر در سطح 2% جیره غذایی بچه ماهیان انگشت قد قزل‌آلای رنگین-کمان می‌تواند باعث بالا رفتن شاخص‌های ایمنی نظیر لیزوزیم، Ig و IgM و تاثیر مثبت بر شاخص‌های افتراقی گلبول‌های سفید و بهبود شاخص‌های خونی گردد که خود سیستم ایمنی این ماهیان را تحریک می‌کند. در مجموع اختلافات موجود در نتایج این تحقیق را با یافته‌های دیگر محققان را می‌توان به عوامل محیطی خصوصاً به علت خونسرد بودن ماهی نظیر (فصول، سال، شوری، دوره نوری، درجه حرارت، تراکم)، عوامل فیزیولوژیکی (گونه آبی، سیکل تولید مثلی و وضعیت بلوغ، سن، جنس و شرایط تغذیه‌ای) و ژنتیکی، زمان نمونه‌گیری، فرمولاسیون جیره‌های غذایی، نوع پری‌بیوتیک، درجه خلوص آن و میزان استفاده از آن در جیره، روش‌های مختلف اضافه کردن به جیره، دقت و حساسیت روش‌های اندازه‌گیری، ربط داد. این عوامل خود می‌تواند بر فعالیت شاخص‌های خونی، بیوشیمیایی و ایمنی تأثیر گذاشته و باعث اختلاف در تفسیر نتایج محققین شوند (2، 42). بنابراین هر چند در برخی از پارامترها اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده نشد، اما مشاهدات نشان می‌دهد که کاربرد پری‌بیوتیک دیواره سلولی مخمر در جیره غذایی بچه ماهیان انگشت قد قزل‌آلای رنگین‌کمان تاثیر مثبت بر شاخص‌های خونی به‌خصوص گلبول‌های سفید خون و شاخص‌های ایمنی بچه ماهیان گذاشته که با توجه به

شد (P<0/05) (13). طی مطالعه 8 هفته‌ای بر روی بچه ماهیان شیب تغذیه شده با دیواره سلولی مخمر مشاهده شد، که در شاخص‌های خونی و ایمنی به‌جز میانگین گلبول‌های سفید و قرمز شاخص‌هایی نظیر میانگین هموگلوبین و هماتوکریت، حجم متوسط گلبولی، میانگین هموگلوبین گلبول قرمز، غلظت هموگلوبین سلولی، شاخص‌های افتراقی گلبول سفید و فاکتورهای ایمنی نظیر لیزوزیم، Ig و IgM اختلاف معنی‌دار آماری بین گروه‌های تیماری با شاهد وجود نداشت که در برخی شاخص‌ها با نتایج تحقیق مطابقت دارد و این مسئله حاکی از آن است که افزایش میزان پری‌بیوتیک دیواره سلولی مخمر در جیره غذایی می‌تواند باعث افزایش سطوح ایمنی گردد (11). طی بررسی 4 هفته‌ای خوراکی 1، 5 و 10 gr/kg مخمر آبجو در ماهی سیم دریایی (*Sparus aurata*) 100 تا 200 گرمی، میزان IgM خون بالا رفت. نتیجه این که مخمر به دلیل دارا بودن بتاگلوکان، باعث افزایش سیستم ایمنی اختصاصی در این ماهی شده است (14). البته باید در نظر داشت که مقدار IgM با توجه به اندازه، سن ماهی، شرایط محیطی یا وجود بیماری تغییر می‌کند (26). هم‌چنین در تحقیقی تأثیر مخمر آبجو در سطوح 0، 1 و 2 درصد جیره بر روی بچه فیل ماهیان به مدت 60 روز بر روی فاکتورهای خونی مورد بررسی قرار گرفته شد و مشخص گردید که در میزان هموگلوبین، هماتوکریت، MCH، MCV، MCHC و تشخیص افتراقی گلبول‌های سفید، گلوکز و پروتئین کل هیچ اختلاف معنی‌دار آماری بین تیمارها و گروه شاهد مشاهده نشده است که برخی از آن‌ها با یافته‌های این تحقیق مطابقت دارد (21). با افزودن سطوح 2، 4 و 6 گرم در کیلوگرم MOS در جیره غذایی ماهی باس دریایی (*D. labrax*) با میانگین وزنی 60 گرم طی مدت 8 هفته گزارش کردند که فعالیت بیگانه‌خواری در گروه‌های تغذیه

پرورش سایر آزیان و تاثیرات پری بیوتیک ها را بر روی دوران مختلف ماهی قزل آلاهی رنگین کمان و یا سایر ماهیان اقتصادی پیشنهاد نمود.

تشکر و قدردانی

از همکاری آقایان دکتر علیرضا شناور ماسوله، دکتر جوادی و مهندس جلیل پور قدردانی می نمایم. از شرکت شفق داروی پاریسیان بابت در اختیار گذاشتن فضای کارگاهی و پری بیوتیک مصرفی نیز سپاسگزاری می نمایم.

8-سلطانی، م. 1387. ایمنی شناسی ماهیان و سخت پوستان. انتشارات دانشگاه تهران. 264 صفحه.

9-سوداگر، م.، آذری تاکامی، ق.، پانوماریف، س.، محمدزاده، ه.، عابدیان، ع.، حسینی، ع. 1384. بررسی سطوح مختلف بتائین و متیونین به عنوان جاذب بر شاخص های رشد و بازماندگی فیل ماهیان جوان و مجله علمی شیلات ایران. شماره 2، صفحات 41 تا 49.

10-طاعتی، ر. 1389. مطالعه مقایسه ایی محرک های ایمنی Immunoster و Immunowall بر شاخص های خونی، شیمیایی و رشد بچه فیل ماهیان پرورشی. رساله دکتری دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران. 126 صفحه.

11- عاشورپور، ع.، 1390. تاثیر پری بیوتیک دیواره سلولی مخمر (*Saccharomyces cerevisiae*) بر شاخص های رشد، فاکتورهای خونی و فراوانی باکتری های اسید لاکتیک روده ی ماهیان انگشت قد شیب (*Acipenser nudiventris*). پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه آزاد لاهیجان. 100 صفحه.

12- کاظمی، ر.، ا.، پوردهقانی، م.، یوسفی، ا.، یارمحمدی، م.، نصری تجن، م. 1389. فیزیولوژی دستگاه گردش خون آزیان و فنون کاربردی خون شناسی ماهیان. انتشارات بازرگان. 194 صفحه.

13-میزانی، ف.، 1390. تعیین اثرات پری بیوتیکی دیواره سلولی مخمر بر شاخص های رشد، فاکتورهای خونی و

روند افزایشی پارامترهای بررسی شده در تیمار 3 تحقیق می توان دوز دیواره سلولی مخمر در جیره غذایی بچه ماهیان انگشت قد قزل آلاهی رنگین کمان را 2% پیشنهاد نمود و با توجه به بهبود قابل ملاحظه این شاخص ها می توان استفاده از این ترکیب را از نظر اقتصادی توجیه نمود. هم چنین می توان در تحقیقات دیگر بررسی تاثیرات این پری بیوتیک و پری بیوتیک های دیگر، استخراج و خالص سازی گلوکان و مانان اولیگوساکارید از سایر مواد طبیعی، کاربرد آن ها در

منابع

1-اکرمی، ر.، قلیچی، ا.، منوچهری، ح. 1386. تأثیر اینولین به عنوان پری بیوتیک بر عملکرد رشد و زنده مانی ماهی قزل آلاهی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*). مجله علوم و فنون دریایی، صفحات 1 تا 9.

2-اکرمی، ر.، قلیچی، ا.، قوایی، ا. 1389. کاربرد پری بیوتیک ها در آزی پروری. مجله شیلات. شماره (1). 9 صفحه.

3-افشار، م. 1381. راهنمای عملی تغذیه و نهاده های غذایی و دارویی آزیان در ایران. انتشارات نوربخش. صفحات 10 تا 17.

4-پورامینی، م.، حسینی فر، ح. 1386. کاربرد پری بیوتیک ها و پری بیوتیک ها در آزی پروری. انتشارات موج سبز. 104 صفحه.

5-پورامینی، م. 1387. بررسی اثر تغذیه با مخمر ساکارومایسس سروزی بر رشد و بازماندگی لارو ماهی قزل آلاهی رنگی کمان. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان. 101 صفحه.

6-پور علی، ح. ر.، محسنی، م.، آق تومان، و.، توکلیف، م. 1382. پرورش بچه ماهیان با درصدهای مختلف غذای کنسانتر فرموله شده. مجله علمی شیلات ایران. ویژه نامه اولین سمپوزیوم ملی ماهیان خاویاری. صفحات 37 تا 48.

7-سقا، ح. ر. سروش نیا، م. 1382. تجهیزات و فرآورده های آزمایشگاهی. انتشارات کتاب میر. 268 صفحه.

26. Magnadottir, B., Jonsdottir, H., helgason, S., Bjornsson, B., T.O. Jorgensen, T.O., pilstrom, L. (1999). Humoral immune parameters of Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Vomparative Biochemistry and physiology*, 122B; 173-188.
27. Malin, M., Suomalainen, H., Saxelin, M., Isolauri, E. (1996). Promotion of IgA immune response in patients with Crohns disease by oral bacteriotherapy with lactobacillus GC. *Annual nutrition and metabolism*, 40; 137-45.
28. Merrifield, D.L., Bradley, G., Baker, R.T.M., Dimitroglou, A., Davies, S.J. (2009). Probiotic applications for Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss Walbaum*) I. Effects on growth performance, feed utilization, intestinal microbiota and related health criteria. *Aqua. Nutr.*, Doi, 10.1111/j.1365-2095.2009.00689.x. Accepted.
29. Misra, CK., Das, BK., Mukherjee, SC., Pattnaik, P. (2006). Effect of long term administration of dietary β -Glucan on immunity. Growth and survival of *Labeo rohita* fingerling. *Aquaculturer*, 255; 82-84.
30. Mohseni, M., Pourkazemi, M., Bahmani, M., Falahatkar, B., Pourali, H.R., Salehpour, M. (2006). Effects of feeding rate and frequency on growth performance of yearling great sturgeon, *Huso huso*. *Journal of Applied Ichthyology*, 22; 278-282.
31. Peter, H., Sneath, A. (1986). *Bergeys manual of systematic. Bacteriology*, 2; 1104-1154.
32. Ringo, E., Olsen, R.E., Gifstad, T.O., Dalmo, R.A., Amlund, H., Hemre, G.I., Bake, A.M. (2010). Prebiotics in aquaculture Nutrition, 16; 117-136.
33. Roberts, R.J., Shepherd. C.J. (1997). *Handbook of trout and Salmon diseases*. Fishing News Books.
34. Sado, R.Y., Almeida Bicudo, A.J.D., Cyriono, J.E.P. (2008). Feeding dietary mannan oligosaccharides to juvenile tilapia, *Oreochromis niloticus*, has no effect hematological parameters and showed decreased feed consumption. *Journal of World Aquaculture Society*, 39(60); 821-826.
35. Sedwick, S.D. (1990). *Trout farming handbook*, Fifth edition, Fishing News Book.
36. Shalaby, A.M., Khatib, Y.A., Abdel Rahman, A.M. (2006). Effects of Garlic (*Allium sativum*) and chloramphenicol on growth performance, physiological parameters and survival of Nile tilapia (*Oreochromis mosambicus*). *J. Venom. Anim. Toxins incl. Trop. Dis*, 12; 172-201.
37. Staykov, Y., Spring, P., Denev, S., Sweetman, J. (2007). Effect of a manna oligosaccharide on growth performance and immunestatus of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture. Int.*, 15; 153-161.
38. Tangestani, R., Alizadeh Doughikollae, E., Ebrahimi, E., Zare, P. (2011). Effects of Garlic essential oils an Immunostimulant on فلور میکروبی روده ماهیان انگشت قد کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه آزاد لاهیجان. 90 صفحه.
14. Bahmani, M., Kazemi, R., Donskaya, P. (2001). Acomparative study of in young reared sturgeons (*Acipenser persicus* and *Huso huso*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 24; 135-140.
15. Cuesta, A., Meseguer, J., Esteban, M.A. (2004). Total serum immunoglobulin M levels are affected by immunomodulators in sea bream (*Sparus aurateus*). *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 101; 203-210.
16. Dalmo, A.R., Bogwald, J. (2008). β -glucans as conductors of immune symphonies. *Fish and Sellfish Immunology*, 25; 384-396.
17. David, J.A., Jenkiss, Cyril, W.C., Vladimir, V. (1999). Inuline oligofructose and intestinal function. *J. Nutr.* 129; 1431-1433.
18. EL-Boshy, M.E., El-Ashram, A.M., Abdel hamid, F.M., Gadalla, H.A. (2010). Immunomodulatory effect of dietary *Saccharomyces cerevisiae*, β -Glucan and laminaran in mercuric chloride treated Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and experimentally infected with *Aeromonas hydrophila*. *Fish & Sell fish Immunology*, 28; 802-808.
19. Gang, L., Huang, G.L. (2008). Extraction of two active polysaccharides from the Yeast cell wall. *Z. Naturforsch*, 63c; 919-921.
20. Gibson, G.R. (1998). Dietary modulation of the human gut microflora using prebiotics. *British Journal of Nutrition*, 80(2); S209-S212.
21. Hoseinifar, S.H., Mirvaghefi, A.R., Mojazi Amiri, B., Khoshbavar, H.A., Pooramini, M., Bastami, D. (2011). The probiotic effect of dietary inactive yeast *Saccharomyces cerevisiae var ellipsoideus* on growth factors, survival, body composition and intestinal microbiota of Beluga juvenile (*Huso huso*). *K-Iranian Scientific Fisheries Journal*, 19(4); 55-66.
22. Huang, S.S.O., Lutes, P.B., Storebakken, T. (1989). Growth and feed efficiency of white sturgeon (*Acipenser transmontanus*) sub0 yearling at different feeding f\rates. *Aquaculturer*, 80; 147-153.
23. Khoshbavar- Rostami, H.A., Soltani, M. Kazemi, B., Hassan, M.D. (2003). Immune responses of great sturgeon (*Huso huso*) to *Aeromonas hydrophial bacterin*. *Journal of Fish Biology*, 70; 931-938.
24. Linehan, S.A., Martinez-Pomares, L., Gordon, S. (2000). Macrophage lectins in host defence. *Microbes and Infection*, 2; 279-288.
25. Luskova, V. (1998). Factors affecting hematological indices in free-living fish populations. *Acta Vet*, 67; 249-255.

Hematological indices of juvenile beluga (*Huso huso*). Journal of Veterinary Research, 66(3); 209-216.

39. Tewary. A., Patra, B.C. (2011). Oral administration of baker's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) acts as a growth promoter and immunomodulator in *Labeo rohita* (Ham). J. Aqua. Res. Development, 2; 109.7 p.doi:10.4172/2155-9546.1000109.

40. Torrecillas, S., Makol, A., Caballero, M.J., Montero, D., Gines, R., Sweetman, J., Izquierdo, M.S. (2010). Improved feed utilization, intestinal mucus production and Immune parameters in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed mannan oligosaccharides (MOS). Aquaculture Nutrition, (In press).

41. Tukmechi, A., Rahmati, H.R., Manaffar, R., Sheikzadeh, N. (2011). Dietary administration of beta-mercapto-ethanol treated *Saccharomyces cerevisiae* enhanced the growth, innate immune response and disease. Fish & Shellfish Immunology, 30; 923- 928.

42. Verdegem, M.C.J., Hilbrands, A.D., Boon, J.H. (1997). Influence of salinity and dietary composition on blood parameter values of hybrid red tilapia (*Oreochromis niloticus*) & (*Oreochromis mosambicus*). Aquaculture. Res, 28; 453-459.

43. Vulevic, J., Rastall, R.A., Gibson, G.R. (2004). Developing a quantitative approach for determining the in Vitro prebiotic potential of dietary oligosaccharides. FEMS Microbiology letters, 236; 153-159.

44. Welker, T., Lim, C., Yildirim- Aksoy, M., Sheby, R., Klesius, P.G. (2007). Immune response and resistance to stress and *Edwardsiella ictaluri* challenge in channel catfish, *Ictalurus punctatus*, fed diets containing commercial whole - cell yeast or subcomponents. Journal of the World Aquaculture Society, 38(1); 24-35.

45. Zilva, J.F., Pannall, P.R. (1984). Clinical chemistry in diagnosis and treatment. Publ. Lloyd-Luke (medical Books) Ltd. London PP348-35.

Archive of SID