بررسی اثر سطوح مختلف بتاگلوکان بر ماهی قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) مواجهه یافته با باکتری استرپتوکوکوس اینیایی (*Streptococcus iniae*).

چکیده: هدف از این مطالعه ارزیابی اثر تجویز خوراکی بتاگلوکان استخراج شده از مخمر ساکارومایسس سروزیه به میزان ۱و ۲ گرم به ازای هر کیلوگرم غذا بر فاکتورهای رشدی و پارامترهای خونی شامل میزان هماتوکریت، هموگلوبین، MCV ، MCH ، MCHC و تعداد کلی گویچه های قرمز و سفید ماهی قزل آلای رنگین کمان (۲/۵۰±۲۸/۲۰ گرم) می باشد. ماهیان انتخابی به ۳ تیمار که شامل تیمار شاهد و تیمارهای ماکروگارد تقسیم شدند. در پایان دوره آزمایش (۴۵ روز) خون گیری از ماهیان به عمل آمد و پارامترهای خونی مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج حاصله نشان داد که وزن نهایی و ضریب تبدیل غذایی در تیمارهای حاوی ماکروگارد نسبت به تیمار شاهد اثر مثبت و معنی داری داشت ($p<0/05$). سنجش پارامترهای خونی همچون هماتوکریت، هموگلوبین، MCV ، MCH و MCHC تفاوت معنی داری با تیمار شاهد نداشت ($p>0/05$). افزایش معنی دار تعداد گویچه های سفید در تیمارها نسبت به تیمار شاهد مشاهده شد ($p<0/05$). در شمارش افتراقی گویچه های سفید، تعداد نوتروفیل ها در تیمارهای حاوی ماکروگارد اختلاف معنی داری با تیمار شاهد نشان داد ($p<0/05$). نتایج حاصل از این مطالعه نشان می دهد که تجویز خوراکی ماکروگارد موجب افزایش رشد و بهبود پاسخ های ایمنی ماهی از طریق تکثیر گویچه های سفید خون به خصوص جمعیت نوتروفیلی قزل آلای رنگین کمان شده و مقاومت در برابر استرس های محیطی و عوامل بیماری زا می گردد.

واژگان کلیدی: ساکارومایسس سروزیه، نوتروفیل، فاکتورهای رشد، ماهی قزل آلای رنگین کمان.

مقدمه

ماهی قزل آلای رنگین کمان یکی از گونه های مهم اقتصادی است که در اکثر نقاط دنیا پرورش داده می شود. لیکن پرورش متراکم این ماهی با استرس ها ی مختلف همراه می باشد که ماهی ر ا در برابر بیمار ی ها ی مختلف (ویروسی، باکتریایی، انگلی و قارچی) مستعد می نماید (Bahram و همکاران، ۲۰۰۵). محرک های ایمنی موجب افزایش سود و کاهش پاسخ های مضر نسبت به فعالیت یا سرکوب سیستم ایمنی می شود (Djordjevic و همکاران، ۲۰۰۹؛ Russo و همکاران، ۲۰۰۶؛ Vetvicka و همکاران، ۲۰۰۴؛ Whittington و همکاران، ۲۰۰۵).

یکی از موادی که امروزه به عنوان محرک ایمنی مورد استفاده قرار گیرد، مخمرها است که به شکل زنده جهت تغذیه ارگانیزم های غذایی زنده به عنوان پروبیوتیک و یا پس از فرآوری به صورت اجزای غذایی استفاده می گردد. بتاگلوکان ها مهمترین ترکیب استخراج شده از مخمرها می باشد. سویه ساکارومایسس سروزیه در قزل آلای رنگین کمان تغذیه شده به صورت روزانه موجب تحریک واکنش های ایمنی غیر اختصاصی مانند فاگوسیتوزیس، بهبود مقاومت ماهی در برابر استرس های محیطی و پاتوژن ها می شود (Bagni و

همکاران، ۲۰۰۵). عملکرد مخمر ساکارومایسس سروزیه به نوع سویه مورد استفاده، بستگی دارد (Fietto و همکاران، ۲۰۰۵). در این راستا هدف از مطالعه بررسی، تجویز غذایی بتاگلوکان استخراج شده از مخمر بر روی رشد و فاکتورهای خونی ماهی قزل آلای رنگین کمان است.

مواد و روش کار

تأمین ماهی: نمونه آماری این طرح ماهیان قزل آلای رنگین کمان به ظاهر سالم با وزن تقریبی۲/۵۰±۲۸/۲۰ که از مزارع تکثیر و پرورش استان اصفهان خریداری و در تانک های مخصوص حمل ماهی با تزریق اکسیژن خالص به محل اجرای پروژه (دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه خلیج فارس بوشهر) انتقال داده شد. ماهیان در آکواریوم های ۶۴ لیتری (با ابعاد ۴۰ × ۴۰ سانتی متر طول و عرض و ارتفاع آبگیری ۴۰ سانتی متر) نگهداری شدند.

فاکتورهای کیفی آب: عوامل فیزیکو شیمیایی آب شامل درجه حرارت، اکسیژن محلول و pH همه روزه به وسیله دستگاههای دیجیتال قابل حمل مارک WTW با دقت اندازه گیری ۰/۰۱ اندازه گیری شد. اکسیژن محلول بین ۹-۷ میلی گرم در لیتر ثبت شد. pHآب حدود ۸/۱۵- ۷/۲۵ قرار داشت. دامنه تغییرات درجه حرارت آب نیز بین ۲۰-۱۱ سانتیگراد ثبت گردید.

غذادهی: جیره غذایی به صورت اکسترودر[1] با علامت اختصاری (EX-TG) از شرکت تعاونی ۲۱ بیضاء خریداری و مورد استفاده قرار گرفت. متوسط ترکیبات غذایی، پروتئین خام ۴۵٪، چربی خام ۱۴٪، فیبر خام ۲٪، رطوبت ۱۰٪ و قطر خوراک ۲/۲- ۲/۴ میلیمتر می باشد. ماهیان ۱/۵ درصد وزن توده زنده (Biomass) که در دو نوبت صبح و بعد از ظهر به ماهیان خورانده می شد. بتاگلوکان (محرک ایمنی) استفاده شده در این پژوهش مخمر ساکارومایسس سروزیه با نام تجاری ماکروگارد[2] ساخت شرکت ساخت شرکت (Biotec pharmacon ASA, Troms, Norway) بود، که به روش خوراکی تجویز شد. ۱ و ۲ گرم مخمر به ازای هر کیلوگرم غذا با روغن ماهی کاد (۳۲ میلی لیتر به ازای هر کیلوگرم غذا) پوشش دار شد و سپس سوسپانسیون مخمر و روغن به غذا اسپری گردید (Couso ۲۰۰۳؛ Mirsa و همکاران، ۲۰۰۶؛ Wache و همکاران، ۲۰۰۶).

خون گیری: نمونه گیری از خون ماهیان بی هوش شده (از هر تکرار ۲ عدد) با عصاره گل میخک بعد از زیست سنجی با فروبردن سرنگ ۲/۵ میلی لیتری آغشته به ماده ضد انعقاد هپارین در سیاهرگ دمی[3] به روش حذفی و ۴۵ روز بعد از تجویز ماکروگارد انجام پذیرفت. شمارش گلبول های سفید[4] و گلبول های قرمز[5] با استفاده از محلول دایسیس[6] با رقیق کردن خون با غلظت ۱:۵۰ از طریق لام هموسیتومتر انجام پذیرفت. شمارش افتراقی گلبول های سفید با تهیه اسمیر[7] (گسترش خونی) و با استفاده از گیمسا ۵ درصد (ARJ:1013) به مدت ۴۵ دقیقه انجام شد (حقیقی،۱۳۸۸).

بیماری زایی و تعیین درصد بقاء: پس از گذشت ۴۵ روز، به منظور ارزیابی میزان مقاومت ماهیان و تأثیر ماکروگارد به مدت ۵ دقیقه در حمام باکتریایی استرپتوکوکوس اینیایی با غلظت 10^8 سلول در هر میلی لیتر قرار داده شدند. سپس از ماهیان به مدت ۱۰روز نگهداری و تلفات روزانه ثبت گردید.

1-Extroder
2-Macrogard
3- Caudal vein
4- WBC (White Blood Cell)
5- RBC (Red Blood Cell)
6- Dacies fluid
7 - Smear

اندازه گیری هماتوکریت: برای اندازه گیری هماتوکریت از لوله میکروهماتوکریت استفاده شد که ابتدا لوله هماتوکریت را ۳/۴ از نمونه خون پر کرده و پس از مسدود نمودن آن با خمیر هماتوکریت لوله را در دستگاه میکروسانتریفیوژ با دور ۱۵۰۰۰-۱۲۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس میزان هماتوکریت با استفاده از خط کش مخصوص هماتوکریت اندازه گیری شد (حقیقی،۱۳۸۸).

متوسط حجم گلبول های قرمز : واحد آن نانومتر مکعب یا فمتولیتر بوده و با استفاده از رابطه زیر بدست می آید:

$$MCV = \frac{\text{هماتوکریت} \times ۱۰}{\text{تعداد گلبول های قرمز بر حسب میلیون}}$$

متوسط وزن هموگلوبین گلبول های قرمز : واحد ان پیکوگرم بوده و بااستفاده از رابطه زیر بدست می آید:

$$MCH = \frac{\text{هموگلوبین} \times ۱۰}{\text{تعداد گلبول های قرمز بر حسب میلیون}}$$

متوسط غلظت هموگلوبین سلولی : بر حسب درصد بیان می شود و از رابطه زیر بدست می آید:

$$MCHC = \frac{\text{هموگلوبین} \times ۱۰۰}{\text{هماتوکریت}}$$

اندازه گیری هموگلوبین: اندازه گیری هموگلوبین به روش سیان مت هموگلوبین بر مبنای همولیز گلبول قرمز در محلول درآبکین[8] (ترکیبی از ۲۰۰ میلی گرم فری سیاناید پتاسیم، ۵۰ میلی گرم سیاناید پتاسیم و ۱۰۰۰ میلی گرم بی کربنات سدیم در یک لیتر آب مقطر) و آزاد شدن هموگلوبین است. برای این کار ابتدا ۲۰ میکرولیتر از نمونه خون به ۵ میلی لیتر محلول درآبکین اضافه و مخلوط شد. پس از ۱۰ دقیقه میزان جذب نوری در طول موج ۵۴۰ نانومتر در دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد (حقیقی،۱۳۸۸).

اندازه گیری شاخص های رشد:

وزن هر ماهی با استفاده از ترازوی دیجیتال AND مدل C0006 با دقت ۰/۰۱ گرم ساخت کشور ژاپن مورد اندازه گیری شد. طول متوسط، وزن متوسط، میزان رشد روزانه، ضریب رشد ویژه[9]، راندمان تبدیل غذایی و ضریب تبدیل غذایی[10] از جمله مهمترین فاکتور هایی بودند مورد بررسی قرار گرفت.

تعداد ماهیها / وزن کل ماهیها= وزن متوسط

تعداد روزهای پرورش / افزایش وزن متوسط ماهیها= میزان رشد یا افزایش وزن روزانه

۱۰۰*[تعداد روزهای پرورش / (لگاریتم طبیعی وزن اولیه - لگاریتم طبیعی وزن نهایی)]= ضریب رشد ویژه

افزایش وزن توده زنده / مقدار غذای مصرفی = ضریب تبدیل غذایی

روش آماری مورد استفاده

---

8 -Drabkin
2 -Specific Growth Rate
3- Feed Conversion Rate

پراکنش نرمال بودن داده ها با استفاده از آزمون کلموگراف-اسمیرنوف مورد سنجش قرار گرفت.اختلاف موجود بین تیمارها در قالب یک طرح کاملاً تصادفی در ۴ تیمار و ۳ تکرار تعیین شد و نتایج حاصله با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (One Way ANOVA) با استفاده از نرم افزار SPSS 16 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. جهت مقایسه میانگین ها از تست چند دامنه دانکن در سطح احتمال ۹۵ درصد استفاده شد.

نتایج

نتایج حاصل از رشد بچه ماهیان در تیمارهای مختلف در طی یک دوره ۴۵ روزه در جدول ۲ نمایش داده شده است. براساس نتایج مذکور بیشترین رشد ثانویه در تیمار های حاوی ماکروگارد مشاهده شد ($p<۰/۰۵$).. بیشترین افزایش رشد روزانه در تیمار حاوی ۲ گرم ماکروگارد ثبت گردید و کمترین میزان در تیمار شاهد بود ($p<۰/۰۵$). از نظر ضریب رشد ویژه تفاوت معنی داری بین میان تیمارها مشاهده نگردید ($p>۰/۰۵$). کاهش معنی داری از لحاظ ضریب تبدیل غذایی در تیمار حاوی ۲ گرم ماکروگارد نسبت به تیمار شاهد ثبت شد ($p<۰/۰۵$).

بازماندگی و درصد بقاء بعد از مقابله با باکتری استرپتوکوکوس اینیایی

بعد از حمام باکتریایی و نگهداری ماهیان به میزان ۱۰ روز، میزان بقاء در تیمار شاهد ۴۸٪ در حالی که در تیمار ۲ گرم ماکروگارد ۶۲ درصد به ثبت رسید که تفاوت معنی داری با تیمار شاهد داشت ($p<۰/۰۵$). همچنین میزان بقاء در تیمار حاوی ۱ گرم ماکروگارد ۵۱٪ فاقد اختلاف معنی دار با تیمار شاهد بود ($p>۰/۰۵$) (جدول۱).

جدول۱: مقایسه میانگین(± انحراف معیار) برخی از شاخص های رشد قزل آلای رنگین کمان در طول دوره پرورش (n=۱۵)

	تیمار شاهد	تیمار ۱ گرم ماکروگارد	تیمار ۲ گرم ماکروگارد
وزن اولیه (gr)	۳۰/۱۰±۱/۷۴ a	۲۷/۶۱±۴/۱۱ a	۲۶/۳۱±۰/۵۴ a
وزن نهایی (gr)	۴۶/۷۲±۰/۵۹a	۴۸/۱۴±۱/۳۹b	۴۹/۲۴±۰/۳۸b
افزایش وزن (gr)	۱۶/۶۲±۱/۶۲b	۲۰/۵۳±۴/۲۱a	۲۲/۹۳±۰/۹۱a
رشد روزانه (gr)	۰/۳۷±۰/۰۳۷b	۰/۴۶±۰/۱۲b	۰/۵۱±۰/۰۲a
ضریب رشد ویژه	۰/۹۸±۰/۱۲ a	۱/۲۵±۰/۳۹ a	۱/۳۹±۰/۰۶ a
ضریب تبدیل غذایی	۱/۱۶±۰/۱۱b	۱/۱۲±۰/۲۹b	۰/۸۸±۰/۰۳a
بازماندگی بعد از بیماری (٪)	۴۸/۶۷±۱۴ b	۵۱±۶/۵۱ b	۶۲/۶۷±۳/۴۶ a

شمارش لکوسیتی

نتایج حاصل از شمارش گویچه های قرمز و سفید، اندازه گیری هماتوکریت، هموگلوبین، متوسط حجم گلبول های قرمز، وزن هموگلوبین داخل گویچه، متوسط غلظت هموگلوبین سلولی و شمارش افتراقی گلبولهای سفید در جدول ۲ نمایش داده شده است. نتایج به دست آمده در تیمارهای ماکروگارد نشان می دهد پارامترهای خونی شامل هماتوکریت، هموگلوبین، متوسط حجم گلبول های قرمز، وزن هموگلوبین داخل گویچه، متوسط غلظت هموگلوبین سلولی با استفاده از آزمون چند دامنه دانکن اختلاف معنی داری را با تیمار شاهد نداشتند ($p>۰/۰۵$). گویچه های سفید در تیمارها نسبت به تیمار شاهد افزایش معنی داری نشان داد ($p<۰/۰۵$). در شمارش افتراقی گویچه های سفید، تعداد نوتروفیل ها در تیمارهای ماکروگارد افزایش و اختلاف معنی داری با تیمار شاهد نشان داد ($p<۰/۰۵$).

جدول۲: مقایسه میانگین(± انحراف معیار) شاخص های خونی قزل آلای رنگین کمان در طول دوره پرورش (n=۱۵)

	تیمار شاهد	تیمار ۱ گرم ماکروگارد	تیمار ۲ گرم ماکروگارد
گویچه قرمز × ($۱۰^۳$) عدد در هر میلی متر مکعب	۸۴۷±۹۲/۰۴^{b}	۸۸۶±۴۰/ ۲۸^{ab}	۹۱۶/۶۷± ۲۳/ ۵۹^{a}
گویچه سفید قرمز × ($۱۰^۳$) عدد در هر میلی متر مکعب	۱۲/۳±۲/۱۳^{b}	۱۳/۵۰±۱/۲۱^{a}	۱۲/۷۳±۲/۴۸^{ab}
هماتوکریت (درصد)	۳۵/۶۶±۵/۲۸ ^{a}	۳۳/۵±۲/۴۱ ^{a}	۳۶±۱/۴۲ ^{a}
هموگلوبین (گرم بر دسی لیتر)	۷/۲۲±۱/۷۶ ^{a}	۶/۵±۰/۸۱ ^{a}	۷/۴۱±۰/۵۸ ^{a}
حجم گویچه های قرمز	۳۹۶/۷۵±۲۱/۴۵ ^{a}	۳۵۹/۵±۳۷/۵۵ ^{a}	۳۹۴/۳۶±۵/۳۴ ^{a}
وزن هموگلوبین گویچه ها	۷۹/۶۵±۱۱/۶۳ ^{a}	۷۴/۴۴±۵/۹۵ ^{a}	۸۱/۰۸±۴/۲۹ ^{a}
درصد غلظت هموگلوبین گویچه	۲۰/۰۵±۱/۹۳ ^{a}	۱۹/۳۵±۱/۰۵ ^{a}	۲۰/۵۵±۰/۸۱ ^{a}
درصد لنفوسیت	۹۰/۳۳±۴/۰۴^{a}	۹۱/۶۶±۲/۵۲^{a}	۹۱/۶۶±۴/۵۱^{a}
درصد نوتروفیل	۳/۶۷±۲/۸۹^{b}	۶/۵۳±۲/۵۲^{a}	۷±۴/۵۸^{a}

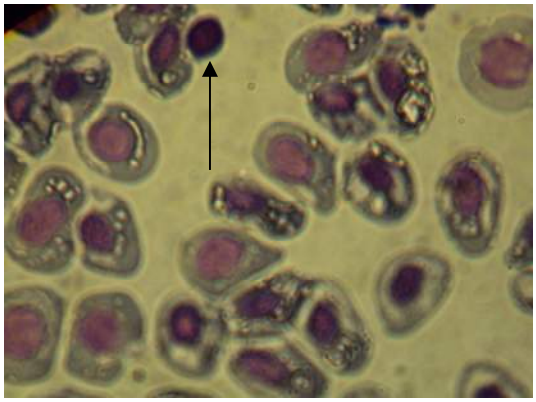
بحث

در این مطالعه تجویز خوراکی بتاگلوکان (۱و ۲ گرم به ازای هر کیلوگرم غذا) موجب افزایش رشد نهایی، تحریک برخی از پاسخ های ایمنی نسبت به گروه شاهد شد. ضریب تبدیل غذایی در تیمارهای حاوی ماکروگارد نسبت به تیمار شاهد کاهش معنی داری را نشان داد (جدول۲). در ارتباط با تأثیر بتاگلوکان بر روی فاکتورهای رشدی نتایج این مطالعه با سایر محققین تطابق دارد. تجویز خوراکی

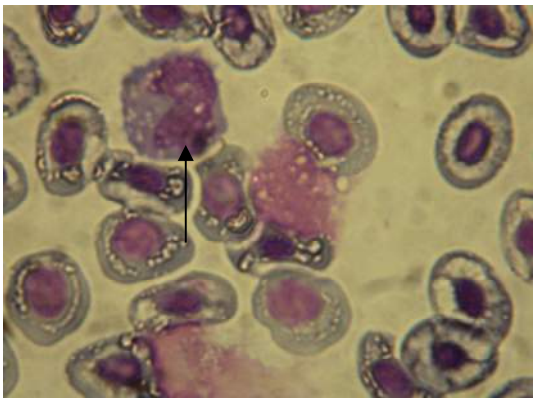
بتاگلوکان اثر مثبتی بر روی فاکتورهای رشدی، ایمنی و بقای بچه ماهی کپور هندی در برابر اواردوزیلا تاردا[11] و آئروموناس هیدروفیلا[12] دارد (Misra و همکاران، ۲۰۰۶).

افزایش رشد با تجویز خوراکی بتاگلوکان در ماهی اسنپر[13] گزارش شده است(Cook و همکاران، ۲۰۰۳). همچنین نتایج نشان می دهد که تجویز بتاگلوکان ممکن است بر روی فاکتورهای رشد و راندمان تبدیل غذایی در هیبرید ماهی باس راه راه[14] تأثیر گذار باشد (Jaramillo and Gatlin، ۲۰۰۴). از طرفی، در تحقیقی دیگر افزایش رشد میگوی مونودون تغذیه شده با بتاگلوکان به ثبت رسید (Chang و همکاران، ۲۰۰۰). بنابراین علی رغم تأثیر متبت گلوکان در رشد آبزیان، دلیل افزایش وزن ناشی از گلوکان هنوز مشخص نشده است (Ai و همکاران، ۲۰۰۷). همچنین نتایج سایر مطالعات انجام شده نشان می دهد که رژیم های غذایی حاوی مواد محرک ایمنی (نظیر ویتامین C و E، بتاگلوکان و ارگوسان) در پارامترهای رشد ماهی سی باس[15] ، ماهی شانک[16] و ماهی آزاد اقیانوس اطلس[17] افزایش معنی داری نداشته است(Bagni و همکاران، ۲۰۰۵؛ Efthimiou، ۱۹۹۶؛ Hardie، ۱۹۹۰ و ۱۹۹۱).

با توجه به نتایج به دست آمده، بتاگلوکان (ماکروگارد) تأثیر چندانی بر هماتوکریت، هموگلوبین، MCV، MCH و MCHC نداشت. افزایش تعداد گویچه های قرمز در تیمار ۲ گرم ماکروگارد مشاهده گردید ($p<0/05$). این فرضیه مطرح است که مواد محرک ایمنی موجب افزایش متابولیسم در ماهی شده در نتیجه تعداد و ظرفیت حمل اکسیژن در گویچه های قرمز افزایش می یابد (Irianto and Austin، ۲۰۰۲). تغذیه ماهی اسکار[18] با مخمر موجب افزایش معنی داری در تعداد گویچه های قرمز گردید (Firouzbakhsh و همکاران، ۲۰۱۱) که با نتایج پژوهش مطابقت و همخوانی دارد. همچنین مصرف ماکروگارد در تیمارهای مختلف موجب افزایش معنی دار جمعیت نوتروفیل های خونی در مقایسه با تیمار شاهد گردید ولی در جمعیت لنفوسیتی تفاوت معنی داری مشاهده نشد. در مطالعه ای مصرف خوراکی بتاگلوکان در ماهی قزل آلای رنگین کمان موجب افزایش معنی دار جمعیت نوتروفیل های خونی و کاهش لنفوسیت ها گردید (Jeney و همکاران، ۱۹۹۷).



شکل۱. لنفوسیت (فلش) قزل آلای رنگین کمان با بزرگنمایی(7000x).



شکل۲ .نوتروفیل (فلش) قزل آلای رنگین کمان با بزرگنمایی(7000x).

1- *Edwardsiella tarda*
2- *Aeromonas hydrophila*
1- *Pagrus auratus*
2- *Morone chrysops* M. saxatilis*
3- *Dicentrarchus labrax*
4- *Dentex dentex*
5- *Salmo salar*
6- *Astronotus ocellatus*

همچنین بیشتر مطالعات گذشته نشان می دهد که استفاده خوراکی از بتاگلوکان موجب افزایش توانایی ماکرفاژها در محیط طبیعی و آزمایشگاهی، مهاجرت نوتروفیلی و فاگوسیتوز می شود (Duncan and Klesius ، ۱۹۹۶؛ Jorgensen و همکاران، ۱۹۹۵؛ Secombes و همکاران، ۱۹۹۴؛ Wang و همکاران، ۱۹۹۶). زمانی که بتاگلوکان ها به گیرنده های بتاگلوکانی موجود در ماکروفاژها و نوتروفیل ها متصل می شود موجب تولید رادیکال های آزاد اکسیژن و افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی آنزیم ها می شود که در نتیجه فعالیت ضد استرس و هجوم به عوامل باکتریایی افزایش پیدا می کند (Kim و همکاران، ۲۰۰۹). در تحقیقی دیگر سیستم ایمنی اختصاصی با تجویز خوراکی بتاگلوکان ها به طور غیر مستقیم موجب تحریک فعالیت های لنفوسیتی در ماهی توربت و قزل آلای رنگین کمان شد (DeBaulny و همکاران ، ۱۹۹۶؛ Verlhac و همکاران، ۱۹۹۸b) . بنابراین تجویز بتاگلوکان ها در رژیم غذایی موجب افزایش مقاومت گونه های ماهی در برابر آلودگی های باکتریایی یا پروتوزایی می شود (Efthimiou ، ۱۹۹۶؛ Robertsen، ۱۹۹۹). در این مطالعه درصد بازماندگی ماهیان پس از آلودگی به بیماری اختلاف معنی داری را نشان داد به طوری که تیمار ۲ گرم ماکروگارد با دارا بودن ۶۲ درصد بیشترین بازماندگی را دارا بود. در مطالعه ای، کمترین میزان مرگ و میر ماهی سیم دریایی در مقابل بیماری Pasteurellosis با اضافه کردن یک گرم بتاگلوکان در جیره غذایی به دست آمد (Couso، ۲۰۰۳). اما در برخی از موارد مصرف گلوکان در گربه ماهی تأثیر چندانی بر بقای این ماهی در مقابل آلودگی ادوارد زیلا نداشته است (DeBaulny و همکاران، ۱۹۹۶). همچنین بتاگلوکان به تنهایی در بهبود پاسخ های ایمنی و مقاومت ماهی تیلاپیا در برابر آلودگی با استرپتوکوکوزیس مفید نیست بلکه بهترین مکمل واکسن استرپتوکوکوزیس در افزایش واکنش های ایمنی در تیلاپیا در مقابل آلودگی باکتریایی است (Whittington و همکاران، ۲۰۰۵).

نتیجه گیری نهایی

نتایج حاصل از این مطالعه نشان می دهد که تجویز خوراکی ماکروگارد موجب افزایش رشد و بهبود پاسخ های ایمنی ماهی از طریق تکثیر گویچه های سفید خون به خصوص جمعیت نوتروفیلی قزل آلای رنگین کمان شده و موجب افزایش مقاومت در برابر استرس های محیطی و عوامل بیماری زا می گردد. به هر حال میزان این نوع تأثیرات بستگی به شرایط پرورشی و نگهداری ماهیان دارد زیرا فاکتورهای زیادی از قبیل دمای آب، تغذیه و شرایط نگهداری در کارایی مواد محرک ایمنی اثرات قابل توجهی دارند.

تشکر و سپاسگزاری

بدین وسیله از ریاست محترم دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه خلیج فارس بوشهر تقدیر و تشکر نموده و همچنین از مدیر گروه محترم شیلات جناب آقای دکتر داوودی برای همکاری صمیمانه ایشان در اجرای این طرح کمال تشکر و قدردانی دارم.

منابع

حقیقی، م.،(۱۳۸۸). روش های آزمایشگاهی خون شناسی ماهی. انتشارات علمی آبزیان، ۸۳ صفحه.

Ai,Q., Mai, K., Zhang, L., Tan, B., Zhang, W., Xu, (2007). Effects of dietary B-1, 3 glucan on innate immune response of large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*). Fish Shellfish Immunology.22,394-402.

Austin, B., Austin, D.A., (1987). Bacterial fish pathogen species in farmed and wild fish. In: (Eds.), Ellis Horwood series in aquaculture and fisheries support. university of Aberdeen, pp. 97-111.

Bahram, s., Roodsari, H., Nazari, R.M., Javadian, R., (2005). Efect of Levamisole on survival rate of the Persian Sturgeon (*Acipenser persicus*) fry. Journal of marine science and technology 4, 1-9.

Bagni, M., Romano, M.G., Finoia, L., Abelli, G., (2005). Short and long-term effects of a dietary yeast β-1,3-glucan (Macrogard) and alginic acid (Ergosan) preparation on immune response in sea bass (*Dicentrarchus labrax*). Fish Shellfish Immunol 18, 311-325.

Chang, C., Chen, H.Y., Su, MS. (2000).Immunomodulation by dietary in the brooders of the grass prawn (*Penaeus monodon*). Fish Shellfish Immunol. 10,505-514.

Cook, M.T., Hayball, P.J., Hutchinson, W., Nowak, B.F., Hayball, J.D., (2003). Administration of a commercial immunostimulant preparation, Ecoactiva as a feed supplement enhances macrophase respiratory burst and the growth rate of snapper (*Pagrus auratus*), Sparidae (*Bloch and Schneider*) in winter. Fish Shellfish Immunology 14, 333-345.

Couso, N. (2003). Effect of oral administration of glucans on theresistance of ilthead seabream to pasteurellosis. Aquaculture. 219, 99-109.

DeBaulny, M., Quentel, C., Fournier, V., Lamour, F., Le Gouvello, R., (1996). Effect of long-term oral administrationn of b-glucan as an immunostimulant or an adjuvant on some non-specific parameters of the immune response of turbot (*Scophthalmus maximus*). Disease of Aquatic Organism 26, 139-147.

Djordjevic, B., kugor, S., Jorgensen, S., overland, M., Mydland, L., Krasnov, A., (2009). Modulation of splenic immune responses to bacterial lipopolysaccharide in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed lentinan, a beta-glucan from mushroom Lentinula edodes. Fish & Shellfish Immunology 26, 201-209.

Duncan, P.L., Klesius, P.H., (1996). Dietary immunostimulants enhance non-specific immune responses in channel catfish but not resistance to *Edwardsiella ictaluri*. Aquatic Animal Health 8, 241-248.

Efthimiou, S., (1996). Dietary intake of β-1,3/1,6 glucans in juvenile dentex (*Dentex dentex*), Sparidae effects on growth performance,mortalities and non-specific defense mechanisms. Applied Ichthyology 12, 1-7.

FAO, (2009). Yearbook of fishery statistics. Report number: 1-107 p.

Fietto, J.L.R., Araujo, R.S., Valadao, F.N., Fietto, L.G., Brandao, R.L., Neves, M.J., Gomes, F.C.O., Nicoli, J.R., Castro, I.M., (2004). Molecular and physiological comparisons between *Saccharomyces cerevisiae* and *Saccharomyces boulardii*. Canadian Journal of Microbiology 50, 615-621.

Firouzbakhsh, F., Noori, f., Khalesi, M.K., Jani-Khalili, K., (2011). Effects of a probiotic, protexin, on the growth performance and hematological parameters in the Oscar (*Astronotus ocellatus*) fingerlings. Fish Physiology and Biochemistry 37, 833-842.

Hardie, L., Fletcher, T., Secombes, C., (1990). The effect of dietary vitamin C on the immune response of Atlantic salmon (*Salmo salar*). Aquaculture 87, 1-13.

Hardie, L., Fletcher, T., Secombes, C., (1991). The effect of dietary vitamin E on the immune response of Atlantic salmon (*Salmo salar*). Aquaculture 95, 201-214.

Irianto, A., Austin, B., (2002). Probiotic in aquaculture. Fish Disease 25, 1-10.

Jaramillo, J.F., Gatlin, D.M., (2004). Comparison of purified and practical diets supplemented with or without β-glucan and selenium on resistance of hybrid striped bass (*Morone chrysops* M. saxatilis*) to Streptococcus iniae infection. World Aquaculture Society 35, 245-252.

Jeney, G., Galeotti, M. Volpatti, D. Jeney, Z., Anderson, D. P. (1997). Prevention of stress in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed diets containing different doses of glucan. Aquaculture. 154, 1-15.

Jorgensen, J.B., Robertsen, B., (1995). Yeast β-glucan stimulates respiratory burst activity of Atlantic salmon (*Salmo salar*) macrophages. Developmental & Comparative Immunology 19, 43-57.

Kim, Y.S., Ki, F., Zhang. Q.Y. (2009). Effect of b-glucan on activity of ntioxidant enzymes and Mx gene expression in virus infected grass carp. Fish and Shellfish Immunology 27, 336-340.

Mirsa, C.K., Das, B.K., Mukherjee, S.C., Pattnaik, P., (2006). Efect of multiple injections of β-glucan on non-specifc immune response and disease resistance in (*Labeo rohita*) fingerlings. Fish Shellfish Immunology 20, 305-319.

Robertsen, B., (1999). Modulation of the non-specific defense of fish by structurally conserved microbial polymers. Fish Shellfish Immunology 9, 269-290.

Russo, R., Mitchell, H., Roy, P., Yanong, E., (2006). Characterization of Streptococcus iniae isolated from ornamental cyprinid fishes and development of challenge models. Aquaculture 256, 105-110.

Secombes, C., (1994). Macrophage activation in fish. SOS Publications Fair Haven, New Jersey USA, 49-57 p.

Verlhac, V., Obach, A., Gabaudan, J., Schuep, W., Hole, R., (1998_b). Immunomodulation by dietary vitamin C and glucan in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Fish Shellfish Immunology 8, 409-424.

Vetvicka, V., Yvin, J.C., (2004). Effects of marine β-1,3 glucan on immune reactions. International Immunopharmacology 4, 721-730.

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.

Wang, W., Wang, D., (1996). Use of glycans to increase resistance of bighead carp, (*Aristichthys nobilis*), and milkfish, Chanos chanos, to bacterial infections. Taiwan Veterinary Medicine Animal 66, 83-91.

Whittington, R., Lim, C., Klesius., P.H., (2005). Effect of dietary h-glucan levels on the growth response and efficacy of Streptococcus iniae vaccine in Nile tilapia,(*Oreochromis niloticus*). Aquaculture 248, 217-225.

Effects of different levels β-glucan on of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) Challenged with *Streptococcus iniae*.

Abstract: The purpose of this study was to evaluate the effects of orally administered β-glucan (Macrogard) extracted from *Saccharomyces cerevisiae* (1 and 2 gr per kg of feed) on growth factors and hematological parameters including hematocrit, hemoglobin, MCV, MCH, MCHC, total red and white blood cells of rainbow trout (28.20± 2.50 gr). Choice of fish to three treatments included control and Macrogards . At the end of the experimental period (45 days) Blood was taken and blood parameters were evaluated. The results showed that the fish growth and FCR in Macrogard treatments was Positive and significant effect compared to control (p< 0/05). Measurement of blood parameters such as hematocrit, hemoglobin, MCV, MCH, MCHC was not significantly different from control (p>0/05). Significant increased number of white blood cells was observed compared with the control treatment (p<0/05). The white cell differential counts, neutrophils of the Macrogard treatments showed significant difference with control (p<0/05). The results of this study showed that oral administration of Macrogard enhances growth and improves the immune responses of fish, through proliferation white blood cells particularly neutrophil and resistance rainbow trout against environmental stress and disease agents.

Key words: *Saccharomyces cerevisiae*, neutrophil, growth parameter, rainbow trout.