بررسی اثر پری بیوتیک دیواره سلولی مخمر (*Saccharomyces cerevisia*)
بر تغییرات شاخص های خونی و ایمنی بچه ماهیان قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

محمد اعتصامی پور[*1]، عباسعلی زمینی[2]، مسعود فرخ روز[2]

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد شیلات ، دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان ، دانشکده منابع طبیعی، گروه شیلات ، لاهیجان ، ایران ، صندوق پستی: ۱٦۱٦

۲- استادیار و عضو هیئت علمی ، دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان ، دانشکده منابع طبیعی، گروه شیلات ، لاهیجان ، ایران ، صندوق پستی : ۱٦۱٦

(*عهده دار مکاتبات –Mohammadeatisamipour@gmail.com)

چکیده

پری بیوتیک ها مکمل های غذایی بالقوه ای هستند که اثرات زیان بار عوامل عفونت زا را کاهش و تاثیرات مفیدی بر سلامتی میزبان دارند. در این تحقیق ، از پری بیوتیک دیواره سلولی مخمر *Saccharomyces cerevisia* در سطوح مختلف برای بررسی شاخص های خونی و ایمنی بچه ماهیان قزل آلای رنگین کمان استفاده شد. برای انجام تحقیق ۱۲۰ قطعه بچه ماهی قزل آلای رنگین کمان با میانگین وزنی ۰/۱۲±۳/٦۱ گرم به مدت ۸ هفته به صورت تصادفی در ۱۲ وان فایبرگلاس با حجم آبگیری ۱۰۰ لیتر توزیع و پرورش داده شدند. این آزمایش تغذیه ای برای تعیین اثر و سطح مطلوب پری بیوتیک دیواره سلولی مخمر اضافه شده در جیره غذایی بچه ماهیان قزل آلای رنگین کمان در سه تیمار ۱٪ پری بیوتیک ، ۱/۵٪ پری بیوتیک ، ۲٪ پری بیوتیک و شاهد ، با ۳ تکرار در یک طرح متعادل مورد بررسی قرار گرفت. در پایان دوره پرورش شاخص های خونی و ایمنی بچه ماهیان مورد مطالعه قرار گرفت. در بررسی نتایج برخی از شاخص های خونی نظیر میزان گلبول های سفید ، گلبول های قرمز ، هموگلوبین و هماتوکریت و میزان نوتروفیل اختلاف معنی دار آماری بین تیمار ۲٪ و سایر تیمارهای آزمایشی و گروه شاهد مشاهده گردید (P<۰/۰۵). در فاکتورهای میانگین حجم گلبول قرمز و سایر فاکتورهای خونی اختلاف معنی دار آماری در تیمارها دیده نشد (P>۰/۰۵). همچنین نتایج نشان داد که شاخص های ایمنی غیر اختصاصی در خون نظیر لیزوزیم و ایمنی اختصاصی نظیر IgM و Ig اختلاف معنی دار آماری بین گروه تیماری تغذیه شده با ۲٪ پری بیوتیک دیواره سلولی مخمر با سایر تیمارها و گروه شاهد داشتند (P<۰/۰۵). لذا با توجه به نتایج بدست آمده می توان اظهار نمود که پری بیوتیک دیواره سلولی مخمر در سطح ۲٪ بکار رفته در جیره غذایی بدلیل افزایش قابل توجه در شاخص های ایمنی و برخی از پارامترهای خونی مورد بررسی ، می تواند نقش مهمی در عملکرد ایمنی و بهبود شاخص های خونی بچه ماهیان قزل آلای رنگین کمان ایفا نماید.

کلمات کلیدی : قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) ، پری بیوتیک ، دیواره سلولی مخمر (*Saccharomyces cerevisia*) ، شاخص خونی ، شاخص ایمنی

مقدمه

قزل آلای 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 تامین غذای انسان دارد(۳۵). در مراحل ابتدایی رشد این ماهی شرایطی ویژه و بحرانی وجود دارد دارد. ایجاد شرایط مناسب در این مراحل می تواند ضامن سلامت ماهی در مراحل بعدی پرورش باشد(۳). در سال های اخیر استفاده از مکمل های غذایی که در بالا بردن سیستم ایمنی نقش دارند از جمله راه کارهایی می باشند که علاوه بر تأمین مواد مغذی لازم می توانند در افزایش سلامت ، مقاومت نسبت به استرس و عوامل بیماریزا مفید واقع شوند(٤٣). در این رابطه ، ترکیباتی که مورد استفاده قرار می گیرند ، زیست یارهای غیر حیاتی هستند که پری بیوتیک نامیده می شوند. این ترکیبات به عنوان مواد غذایی تخمیر پذیر و غیر قابل هضم بطور مؤثری از طریق تحریک یا محدود کردن رشد و فعالیت باکتری ها بر سلامت میزبان اثر می گذارد(٤). بنابراین هر ماده غذایی که به روده می رسد مثل کربوهیدرات های غیر قابل هضم ، بعضی از پپتیدها و پروتئین ها می توانند کاندیدایی مناسب برای پری بیوتیک باشند(۲۰). پری بیوتیک دیواره سلولی مخمر در واقع دیواره سلولی استخراج شده از مخمر *Saccharomyces cerevisia* می باشد. دیواره سلولی مخمر، منشأ دو ماده ای Immunostimulant (محرک ایمنی) مهم به نام بتا گلوکان β-Glucan (۳→۱) و مانان الیگوساکارید Mannan oligosaccharide یا (MOS) می باشند(۱۹). تحقیقات نشان داده است که بتا گلوکان و مانان الیگوساکارید باعث افزایش فعالیت سلول های بیگانه خوار نظیر نوتروفیل ها ، فعال سازی گلبول های سفید ، ماکروفاژها ، اینترفرون ها و لیزوزیم ها و در نهایت افزایش سطح ایمنی سلول های بدن می شود(١٦). گزارش های متعددی نشان داده اند که گیرنده های گلوکان در ماهیان روی ماکروفاژها قرار داشته و قادرند از طریق فعال سازی مستقیم ماکروفاژها باعث ارتقاء ایمنی غیر اختصاصی شوند(۳۳).

تاثیر پری بیوتیک دیواره سلولی مخمر بر شاخص های خون و ایمنی بچه ماهیان انگشت قد کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) بررسی گردید. این پری بیوتیک در سه سطح ۱ ،۲ و ۳٪ به جیره غذایی بچه ماهیان در ۸ هفته اضافه شد. در انتهای دوره شاخص های خون و ایمنی رشد قابل ملاحظه ای را در تیمار ۳٪ نشان دادند(۱۳). در تحقیقی سطوح ۱ ، ۲ ،۳٪ پری بیوتیک اینولین در جیره غذایی قزل آلای رنگین کمان مورد سنجش قرار گرفت. پس از ۸ هفته تغذیه نتایج نشان داد اختلاف معنی دار آماری در میزان فعالیت آنزیم های سرم خون در تیمارهای آزمایشی با گروه شاهد وجود ندارد (P>۰/۰۵)(۱). در مطالعه دیگری اثرات سطوح ۱ ، ۵ ، ۱۰٪ گرم در کیلوگرم مخمر آبجو(*S.cerevisiae*) در جیره غذایی ماهی سیم دریایی(*Sparus aurata*) بر میزان IgM سرم خون آزمایش گردید و مشاهده شد که مخمر به دلیل داشتن بتاگلوکان باعث افزایش سیستم ایمنی اختصاصی و IgM در این ماهی می شود. استفاده از سطوح پایین تر این پری بیوتیک توصیه شد(۱۵). در طی یک مطالعه ، سطوح ۰، ۰/۵ ،۱ و ۱/۵٪ پری بیوتیک دیواره سلولی مخمر *Saccharomyces cerevisiae* در جیره غذایی بچه ماهیان انگشت قد شیپ مورد آزمایش قرار گرفت. پس از ۸ هفته تغذیه تاثیر این پری بیوتیک بر روی پارامترهای خونی و ایمنی بررسی شد. نتایج نشان داد که در تیمار ۱/۵٪ شاخص های خونی و پارامترهای ایمنی بهبود یافته بودند(۱۱).

طی تحقیقی با استفاده از سطوح مختلف ۰/۲، ۰/٤ ، ۰/٦ ،۰/۸ و ۱٪ مانان الیگوساکارید (MOS) در جیره غذایی تیلاپیاهای جوان پرورشی مورد بررسی قرار گرفت که در نهایت فاکتورهای خونی را تغییر نداد(۳٤). همچنین طی ۸ هفته ، مطالعه بر روی بچه فیل ماهیان ۹۵ گرمی تغذیه شده با دوزهای ۱ و۳ ٪ محرک ایمنی ایمنواستر و ایمنووال حاوی (MOS و بتاگلوکان) به بررسی فاکتورهای خونی آنها پرداخته و مشاهده شد که دوز ۳٪ ایمنواستر و ایمنووال دوز مناسبی برای پرورش

می باشد(۱۰). بچه ماهیان روهو *Labeo rohita* به مدت ۸ هفته با جیره حاوی ۰ ، ۵ ، ۷/۵ و ۱۰ درصد مخمر نانوایی آزمایش شدند و نتایج نشان داد که مخمر استفاده شده در جیره غذایی ماهیان به عنوان یک شبیه ساز ایمنی (Immunostimulant) به خوبی واکنش های ایمنی را پشتیبانی می کند(۳۹). بنابراین هدف از انجام این مطالعه ایجاد یک ایمنی بالاتر ، سطوح مناسب در شاخص های خونی و شرایطی مناسب در مراحل ابتدایی رشد ماهی قزل آلای رنگین کمان و نیز تعیین سطح مؤثر پری بیوتیک دیواره سلولی مخمر اضافه شده به جیره غذایی بچه ماهیان قزل آلا در روند ایمنی و سلامت آنها می باشد.

مواد و روش ها

این تحقیق به مدت ۸ هفته در کارگاه تکثیر و پرورش قزل آلای رنگین کمان متعلق به شرکت شفق داروی پارسیان واقع در شهرستان صومعه سرا در تابستان ۱۳۹۱ صورت پذیرفت. برای انجام تحقیق ، بچه ماهیان قزل آلای رنگین کمان پس از مدت ۱ هفته سازگاری به شرایط کارگاهی ، به تعداد ۱۲۰ قطعه با میانگین وزنی ۰/۱۲±۳/۶۱ گرم و با تراکم ۱۰ قطعه در هر یک از وان ها با حجم ۱۰۰ لیتر آب رها سازی شدند. تحقیق با ٤ تیمار و ۳ تکرار در هر تیمار در ۱۲ وان فایبرگلاس هر یک با ۱۰۰ لیتر آب تازه انجام شد. 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 ۱٪ ، ۱/۵٪ و ۲٪ 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 در آورده و بعد از محاسبه و اضافه نمودن پری بیوتیک مورد نظر با دستگاه میکسر (همزن) بر اساس مقدار مصرف همراه با مقداری آب به صورت خمیر در آورده و بعد آن را از یک چرخ گوشت عبور داده تا به شکل رشته های شبیه به ماکارونی در آمد و در نهایت پلت ها را در آون (Binder, Germany) قرار داده تا در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد به مدت ٢٤ 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 ۱۵- درجه سانتی گراد نگه داری شدند. یک ساعت قبل از توزیع غذا در وان ها ، جیره های ساخته شده از فریزر خارج و در دمای اتاق نگه داری شدند و پس از متعادل شدن درجه حرارت پلت ها ، با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم (Shinko Radwag مدلWTB ساخت کشور ژاپن) توزین شده و با توجه به تیمارهای مورد نظر ، غذادهی آنها بر اساس مشاهدات و رفتارهای تغذیه ای بچه ماهیان قزل آلا به میزان ۵-۳٪ وزن زنده آنها روزانه در ۳ نوبت (ساعات ۸ ، ١٤ ، ۲۰) تغذیه شدند ، این عمل در طول شبانه روز ، در دفعات منظم بر اساس دمای آب ، وزن ماهیان و بیوماس و زیست سنجی هر تکرار در هر ۲ هفته یکبار انجام شد. ساخت غذا به منظور جلوگیری از افت کیفیت آن به طور ماهیانه انجام گرفت. در حقیقت بچه ماهیان به مدت ۸ هفته تغذیه شدند و عملیات محاسبه میزان و درصد غذا بر اساس اندازه گیری بیوماس به ترتیب در ابتدای دوره با ۵٪ توده زنده در هر تیمار و در انتهای دوره با ۳٪ توده زنده به طور کاملا دستی انجام پذیرفت (۹ ؛ ٦ ؛ ۳۰). پارامترهای کیفی آب نیز مانند اکسیژن محلول توسط اکسیژن متر WTW مدل 330i ساخت شرکت Weilheim آلمان با دقت ۰/۰۱ ، درجه حرارت توسط دماسنج دیجیتال 300 ساخت شرکت HM کره جنوبی به صورت روزانه اندازه گیری شد. پس از اتمام طول دوره پرورش به منظور بررسی تاثیر پری بیوتیک استفاده شده در بهبود شاخص های خونی و ایمنی پس از ٢٤ ساعت و اطمینان از تخلیه کامل محتویات شکمی ماهیان ، از هر تیمار و تکرار ، ۳ عدد به صورت تصادفی انتخاب شده و خون گیری از ورید ساقه دمی به وسیله سرنگ cc ۲ انجام گرفت. در هنگام فرآیند خون گیری از مواد بیهوش کننده به علت احتمال تاثیر بر شاخص های خونی استفاده نشد(٤۰). 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 cc ۱ که ۰/۵ سی سی در اپندورف های فاقد هپارین برای جداسازی سرم خون و ۰/۵ سی سی حاوی ماده ی هپارین ریخته شد (۳۹).

به منظور اندازه گیری Ig از روش Elisa استفاده شد. دستگاه مورد استفاده (Awareness, USA) مدل Stat Fax-2100 بود. مقدار ایمنوگلوبولین کل با پروتئین بدست آمده از سرم خون که با پلی اتیلن گلیکول سانتریفوژ شده برحسب (mg/ml) بدست آمد (۲۲ ؛ ٤۰).

روش مورد استفاده برای اندازه گیری ایمنوگلوبولین 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 اسپکتوفتومتر Minineph ساخت (Binding site UK) ، در طول موج ۳٤۰nm خوانده شد. در واقع نفلومتر نور تک رنگ موازی در طول موج های بین ٤۰۰ تا ۸۰۰ 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 (۲۳ ؛ ۷ ؛٤٥).

برای اندازه گیری میزان فعالیت لیزوزیم از دستگاه Elisa Reader (Awareness, USA) مدل Stat Fax-2100 و به روش Turbidimetric (کدورت سنجی) استفاده شد. نتایج از طریق تحلیل باکتریهای گرم مثبت بدست آمد و بر حسب (mg/ ml^{-1}) محاسبه گردید (۲۷).

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 استفاده شد. و جهت مقایسه میانگین گروه ها با یکدیگر از آزمون دانکن با سطح اطمینان ٥٪ استفاده شد. کلیه آنالیز های آماری با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۷ 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 پرورش۳/۱۱ ± ۱۷/۷٥ درجه سانتی گراد ، pH ۰/٤۱ ± ۷/۳٥ ، اکسیژن ۱/۲ ± ۷/۲ میلی گرم در لیتر و سختی آب ۰/٥۲ ± ۲۸۲/٥ 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 ، اختلاف معنی دار آماری در میانگین تعداد گلبولهای سفید و نوتروفیل وجود داشت($P<۰/۰٥$) (جدول. ۱). در مقایسه دو به دو گروه ها با یکدیگر میزان گلبول های سفید خون بچه ماهیان در تیمار ۳ (٦٥٥/٧٤±۹٥۰۰ mm^3) بیشتر از شاهد و سایر تیمارها ، میانگین نوتروفیل خون بچه ماهیان در تیمار ۳ (۰/۸۸ ± ۳۹/۳۳ درصد) از بیشترین میزان برخوردار بوده و تیمار ۲ (۲۰/ ۱ ± ۳۰/۳۳ درصد) نیز در جایگاه بعدی قرار دارد و به طور کلی میانگین نوتروفیل به ترتیب در تیمار ۳ و ۲ بیشتر از تیمار ۱ و شاهد بوده است. در بررسی میزان لنفوسیت ، مونوسیت و ائوزینوفیل از نظر آماری اختلاف معنی دار نبود($P>۰/۰٥$) (جدول. ۱). در این میان تیمار ۲٪ از وضعیت بهتری در میزان لنفوسیت (۳/۸٤± ٥۰/٦۷ درصد) ، مونوسیت (۰/٥۷± ٤ درصد) و ائوزینوفیل با میزان (۰/۳۳± ۱/۳۳ درصد) نسبت به بقیه تیمارهای آزمایشی و گروه شاهد برخوردار بوده است. بنابراین شاخص های افتراقی گلبول های سفید در تیمار ۲٪ پری بیوتیک نسبت به تیمار شاهد و سایر تیمارهای آزمایشی بهبود یافته است.

جدول ۱: مقایسه میانگین تعداد گلبول سفید ، نوتروفیل ، مونوسیت ، لنفوسیت و ائوزینوفیل بچه ماهیان قزل آلای رنگین کمان در پایان هشت هفته تغذیه با پری بیوتیک دیواره سلولی مخمر

شاخص / تیمار	شاهد بدون استفاده از پری بیوتیک	تیمار۱ ۱٪ پری بیوتیک	تیمار۲ ۱/۵٪ پری بیوتیک	تیمار۳ ۲٪ پری بیوتیک
گلبول سفید(میلی متر مکعب)	۵۲۵۰ ± ۲۵۰ ^{a}	۵۸۰۰ ± ۲۰۸ /۱۶ ^{a}	۷۵۳۳/۳۳ ± ۲٤۰/۳۷ ^{b}	۹۵۰۰ ± ٦۵۵/۷٤ ^{c}
درصد نوتروفیل	۲۰ ±۱ ^{a}	۲۱ ± ۰/۵۷ ^{a}	۳۰/۳۳ ± ۱/۲۰ ^{b}	۳۹/۳۳ ± ۰/۸۸ ^{c}
درصد لنفوسیت	۷۸ ± ۱	۷۳/۳۳ ± ۳/۲۸	٦۷ ± ۱/۱۵	۵۰/٦۷ ± ۳/۸٤
درصد مونوسیت	۱/۵ ± ۰/۵	۱/٦٦ ± ۰/۳۳	۲/۳۳ ±۰/۳۳	٤ ± ۰/۵۷
درصد ائوزینوفیل	۰/۳۳ ± ۰/۳۳	۰/٦٦ ± ۰/۳۳	۰/۳۳ ± ۰/۳۳	۱/۳۳ ± ۰/۳۳

حروف لاتین غیر مشترک نشان دهنده اختلاف معنی دار آماری در آزمون دانکن در سطح ۵ درصد است

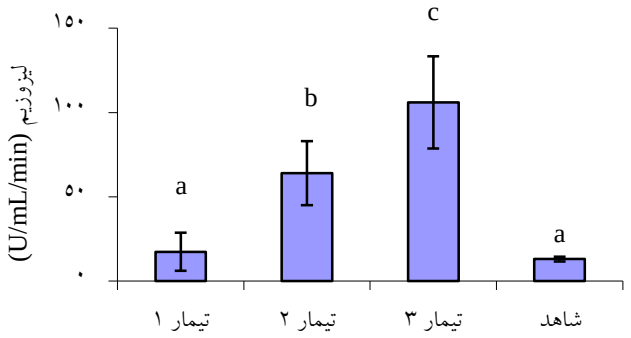
در بررسی سایر شاخص های خونی مورد مطالعه در تحقیق و با توجه به نتایج حاصله از آنالیزهای آماری در میانگین تعداد گلبول های قرمز بچه ماهیان ، میزان هموگلوبین و میزان هماتوکریت اختلاف معنی دار آماری مشاهده گردید($P<۰/۰۵$). در مقایسه دو به دو گروه ها با یکدیگر میزان گلبول های قرمز خون بچه ماهیان در تیمار۳ (۳۹۸٤۹/۷۲± ۸۰۰۰۰۰ mm^3) و ۲ (۱۸۰۳٦/۹۹± ۷۱۷۰۰۰ mm^3) بیشتر از تیمار ۱ و شاهد ، هموگلوبین خون بچه ماهیان در تیمار۲ (۰/۱۵± ٦ gr/dl) و ۳ (۰/۱۵± ٦/۵ gr/dl) و هماتوکریت خون بچه ماهیان در تیمار ۱ (۰/۲٦± ٤/۷۷ درصد) و شاهد کمتر (۰/۲± ٤/٤ درصد) از تیمار ۲ و ۳ بوده است. اما در بررسی میزان حجم متوسط گلبولی خون بچه ماهیان (MCV) ، میزان غلظت متوسط هموگلوبین در گلبول قرمز(MCH) و میزان غلظت متوسط هموگلوبین گلبول های قرمز (MCHC) اختلاف معنی دار آماری مشاهده نگردید($P>۰/۰۵$) (جدول. ۲). میزان (MCV) در تیمار ۱/۵٪ با (٤۱۸/۳۳± ۵/۰٤) ، میزان (MCH) در تیمار۱/۵٪ (۰/۳۳ ± ۸۳/۳۳) و میزان (MCHC) در تیمار ۱٪ (۰/٤۳ ± ۲۰/۳٦) بیشتر از سایر گروه های تیماری بوده است.

جدول ۲: مقایسه میانگین تعداد گلبول قرمز ، میزان هموگلوبین ، میزان هماتوکریت ، حجم متوسط گلبولی خون ، غلظت متوسط هموگلوبین در گلبول قرمز و غلظت متوسط هموگلوبین گلبول های قرمز بچه ماهیان قزل آلای رنگین کمان در پایان هشت هفته تغذیه با پری بیوتیک دیواره سلولی مخمر

شاخص / تیمار	شاهد بدون استفاده از پری بیوتیک	تیمار۱ ۱٪ پری بیوتیک	تیمار۲ ۱/۵٪ پری بیوتیک	تیمار۳ ۲٪ پری بیوتیک
گلبول قرمز(میلی متر مکعب)	۵٤۱۲۵۰ ± ٤۵۷۰٦/۲٦ ^{a}	۵۸٦٦٦٦/٦۷ ±۱۰۸۳۷/۱۸ ^{a}	۷۱۷۰۰۰ ±۱۸۰۳٦/۹۹ ^{ab}	۸۰۰۰۰۰ ±۳۹۸٤۹/۷۲ ^{b}
میانگین هموگلوبین(گرم در دسی لیتر)	٤/٤ ±۰/۲ ^{a}	٤/۷۷ ±۰/۲٦ ^{a}	٦ ±۰/۱۵ ^{b}	٦/۵ ±۰/۱۵ ^{b}
درصد هماتوکریت	۲۳/۵۰ ± ۰/۵ ^{a}	۲۳/۳۳ ±۰/۸۸ ^{a}	۳۰ ±۰/۵۸ ^{b}	۳۲/٦۷ ±۱/۳۳ ^{b}
حجم متوسط گلبولی(فمتولیتر)	٤۱٤/۵ ± ۱/۵	۳۹۷ ± ۱۰/۲٦	٤۱۸/۳۳± ۵/۰٤	٤۰۸/۳۳ ± ۱۰/۳۹
غلظت هموگلوبین در گلبول قرمز(پیکوگرم)	۸۲ ±۱	۸۰/٦٦ ± ۳/۸٤	۸۳/۳۳ ± ۰/۳۳	۸۱ ± ۲/۰۸
غلظت هموگلوبین گلبول های قرمز (گرم در دسی لیتر)	۱۹ ± ۱	۲۰/۳٦ ±۰/٤۳	۱۹/۹٦ ±۰/۲۰	۱۹/۹ ± ۰/۳٦

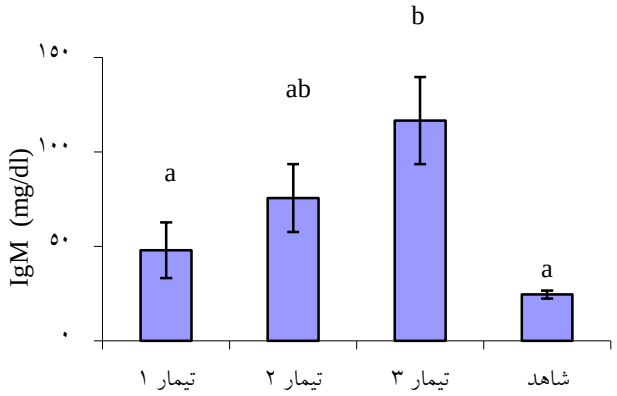
حروف لاتین غیر مشترک نشان دهنده اختلاف معنی دار آماری در آزمون دانکن در سطح ۵ درصد است

در بررسی نتایج حاصل از آنالیزهای آماری ، بین تیمارها و گروه شاهد از نظر میزان لیزوزیم اختلاف معنی دار آماری وجود دارد (شکل. ۱) بطوریکه بیشترین میزان لیزوزیم در تیمار ۲٪ با ۱۵/۸۲± ۱۰۶U/ml/min و کمترین میزان در گروه شاهد با ۱ ± ۱۳U/ml/min بوده است و به لحاظ آماری اختلاف معنی دار بین شاهد با تیمار ۱/۵٪ و ۲٪ درصد مشاهده شده گردید (P<۰/۰۵).



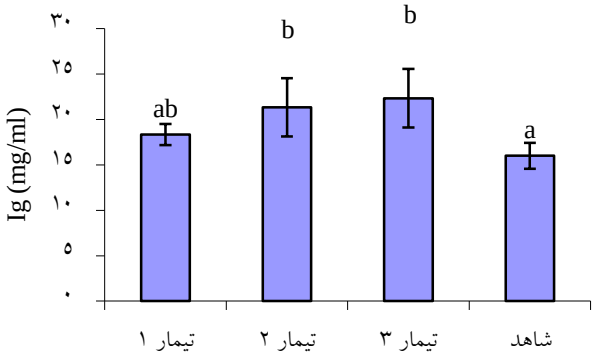
شکل ۱ : مقایسه میانگین میزان لیزوزیم در بچه ماهیان قزل آلای تغذیه شده با پری بیوتیک دیواره سلولی مخمر به مدت هشت هفته
(حروف لاتین غیر مشترک نشان دهنده اختلاف معنی دار آماری در آزمون دانکن در سطح ۵ درصد است)

در بررسی ایمنوگلوبولین M (IgM) اختلاف معنی دار آماری بین تیمارها و گروه شاهد مشاهده گردید (شکل. ۲). بیشترین میزان IgM در تیمار ۲٪ با ۱۹/۰۶± ۱۱۶ /۶۷ میلی گرم بر دسی لیتر و کمترین میزان آن در تیمار شاهد با ۲٤/۵ میلی گرم بر دسی لیتر بوده و به لحاظ آماری اختلاف معنی دار بین تیمار ۳ با شاهد ، و سایر تیمارها مشاهده گردید (P<۰/۰۵).



شکل ۲ : مقایسه میانگین میزان IgM در بچه ماهیان قزل آلای تغذیه شده با پری بیوتیک دیواره سلولی مخمر به مدت هشت هفته
(حروف لاتین غیر مشترک نشان دهنده اختلاف معنی دار آماری در آزمون دانکن در سطح ۵ درصد است)

بر اساس آنالیزهای آماری میزان ایمنوگلوبولین کل (Ig) اختلاف معنی دار آماری بین تیمارها و گروه شاهد وجود دارد (شکل. ۳). بیشترین میزان Ig در تیمار ۲٪ با ۱/۸۵± ۲۲/۳۳ میلی گرم بر میلی لیتر و کمترین میزان آن در تیمار شاهد با ۱٦ میلی گرم بر میلی لیتر بوده که به لحاظ آماری اختلاف معنی دار مشاهده شد (P<۰/۰۵).



شکل ۳ : مقایسه میانگین میزان Ig در بچه ماهیان قزل آلای تغذیه شده با پری بیوتیک دیواره سلولی مخمر به مدت هشت هفته (حروف لاتین غیر مشترک نشان دهنده اختلاف معنی دار آماری در آزمون دانکن در سطح ۵ درصد است)

بحث

شناخت فاکتورهای خونی در شناخت بیماری ها و تعیین سلامت ماهی مفید است(١٤). در تحقیق حاضر اختلاف معنی داری را در تعداد کل گلبول های سفید می بینیم که با افزایش مقدار دوز پری بیوتیک (٢٪) این مقدار بیشتر شده و تیمار شاهد کمترین تعداد گلبول سفید را دارا می باشد و این خود بیانگر 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 (٣٦).

با توجه به نتایج بدست 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>۰/۰۵). اما از نظر میانگین نوتروفیل در بین تیمارها افزایش معنی دار آماری نسبت به گروه شاهد مشاهده گردید که خود می تواند نشان از تاثیر 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 خوار ترند. عمده ترین فعالیت نوتروفیل ها انجام عمل فاگوسیتوز فعال می باشد(١٢). در واقع تمام تیمارهای پری بیوتیکی ، دارای تعداد بیشتری از نوتروفیل در مقایسه با شاهد می باشند که این مقدار در تیمار ٢٪ بیشتر از سایر گروه ها است. همچنین 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 (١٢). میزان ائوزینوفیل ها در تیمار ٣ (٢٪) دارای بیشترین مقدار است. همانطور که از این نتایج مشاهده شد ، تیمارهای تغذیه شده با این پری بیوتیک افزایش غیر معنی داری را در یاخته های سفید فاگوسیتوز کننده 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 (٢٥).

تعداد گلبول های قرمز در تیمار ۲٪ اختلاف معنی داری را با شاهد و تیمار ۱ درصد داشت که نشان دهنده ی تأثیر این 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 (۱۲). از آنجایی که هموگلوبین پروتئینی است که ۹۵ درصد گلبول قرمز را تشکیل می دهد ، نتایج هموگلوبین با تعداد گلبول قرمز مطابقت دارد(٤٤). هماتوکریت نیز تابعی از گلبول قرمز بوده و رابطه ی مستقیمی با آن دارد (۳۸). میزان هماتوکریت در شاهد اختلاف معنی داری را با سایر تیمارها ایجاد کرده است که می توان نتیجه گرفت که مواد محرک ایمنی می تواند اثر معنی داری بر شاخص های هماتولوژیک داشته باشند(۳۸). شاخص هایMCV ، MCH ، MCHC تغییرات معنی داری را در تیمارها از خود نشان ندادند(P>۰/۰۵). 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 همانگونه که از نتایج مشاهده شد ، میزان هموگلوبین در گلبول قرمز (MCH) در تیمارهای حاوی پری بیوتیک افزایش یافته است که نشان دهنده ی اثر مثبت پری بیوتیک بر میزان هموگلوبین و قابلیت انتقال گازهای تنفسی توسط هموگلوبین است (۳۸). طبق نتایج بدست آمده میزان لنفوسیت ها اختلاف معنی دار آماری با شاهد نداشته و ایمنوگلوبولین (Ig) و ایمنوگلوبولینM (IgM) بین تیمارها و شاهد اختلاف معنی دار آماری داشته است (P<۰/۰۵). در واقع تاثیر بتاگلوکان استخراج شده از دیواره سلولی مخمر باعث افزایش فعالیت ایمنی در تیمارهای تغذیه شده با این پری بیوتیک شده است.

طی مطالعه ای تأثیر دیواره سلولی مخمر را بر روی فاکتورهای خونی قزل آلای رنگین کمان در یک دوره ی ۳۰ روزه بررسی گردید و مشاهده شد که نوتروفیل ، لنفوسیت ، مونوسیت ، میزان لیزوزیم ، Ig ، تعداد گلبول های سفید ، تعداد گلبولهای قرمز ، هماتوکریت و هموگلوبین در تیمارهای حاوی دیواره سلولی مخمر آبجو در جیره ، اختلاف معنی داری با جیره ی شاهد نداشتند که با نتایج تحقیق حاضر بجز تعداد گلبول های سفید و میانگین نوتروفیل مطابقت دارد(٤١). این اختلاف مربوط به تفاوت در نوع گونه ، جیره مصرفی ، طول دوره و تأثیر فاکتورهای محیطی بر پارامترهای خون شناسی می باشد(۲۵). تأثیر مخمر *S. cerevisiae* در سطوح ۵ ، ۷/۵ و ۱۰ درصد بر روی فاکتورهای خونی کپور ماهی هندی روهو *Labeo rohita* بررسی شد و مشخص شد که در تعداد گلبول های سفید و قرمز اختلاف معنی دار در تیمارهای آزمایشی با گروه شاهد وجود دارد (۳۹). در تحقیقی اثرات سطوح ۱۰۰، ۲۵۰ ، ۵۰۰ میلی گرم در کیلوگرم بتا گلوکان را بر سیستم ایمنی ، رشد و بقای بچه ماهیان انگشت قد روهو *Labeo rohita* مورد مطالعه قرار گرفت و ثابت شد که ۳ بار تزریق ، ۱ میلی گرم در وزن بدن ، بتاگلوکان باعث ارتقاء سیستم ایمنی و افزایش مقاومت در باکتری های آئوروموناس هیدروفیلا و ادواردزیلاتاردا می شود (۲۸). همچنین اضافه کردن MOS به جیره های غذایی تأثیرات متفاوتی بر روی ماهیان مختلف گذاشت(۳۲). در گربه ماهی کانال فاکتورهای ایمنی و هماتولوژی و مقاومت در برابر *Edwardsiella ictaluri* اختلاف معنی داری با شاهد نداشتند (٤٤ ؛ ۲۹). ولی در ماهی قزل آلای رنگین کمان فعالیت لیزوزیم و آنتی بادی افزایش معنی داری یافت (۳۷).

میزان فعالیت لیزوزیم سرم به عنوان یک معرف با اهمیت ایمنی غیر اختصاصی در ماهی می باشد(۳۱). افزایش آن پس از مصرف مواد محرک ایمنی مانند گلوکان ها و تحریک آنتی ژنی افزایش می یابد (۸).

میزان فعالیت لیزوزیم در تیمار۳ (۲٪) پری بیوتیک افزایش معنی دار آماری را نسبت به شاهد داشته که می توان علت آنرا این طور تفسیر کرد که منشاء بیشترین مقدار تولیدی لیزوزیم از نوتروفیل ها و مونوسیت ها می باشد ، حال همان طور که نتایج پیداست بیشترین مقدار این یاخته های بیگانه خوار در تیمار ۲٪ هستند و همچنین بتاگلوکان و مانان الیگوساکارید طبق

گزارشاتی بر فعالیت لیزوزیم تأثیر گذار می باشند (١٦ ؛ ٣٢). در تحقیق دیگری تاثیر مخمر *S.cerevisiae* و بتاگلوکان β-Glucan را بر روی فاکتورهای ایمنی تیلاپیاهای ١٠٠–٨٠٠ گرمی به مدت ٢١ روز مورد بررسی قرار دادند و بدست آوردند که اختلاف معنی داری در میزان لیزوزیم سرم خون وجود ندارد (P>٠/٠٥) (١٧ ؛ ١٨).

طی تحقیقی بر روی بچه ماهیان انگشت قد کپور معمولی تغذیه شده با سطوح مختلف پری بیوتیک دیواره سلولی مخمر ، شاخص های خونی و ایمنی نظیر لیزوزیم ، Ig و IgM بررسی گردید و نتایج نشان داد که افزایش این پری بیوتیک در سطح ٣٪ جیره غذایی می تواند باعث افزایش سطوح ایمنی در بچه ماهیان کپور معمولی گردد و نیز در تیمارها به جز میانگین ائوزینوفیل اختلاف معنی دار آماری را با شاهد مشاهده شد (P<٠/٠٥) (١٣). طی مطالعه ٨ هفته ای بر روی بچه ماهیان شیپ تغذیه شده با دیواره سلولی مخمر مشاهده شد ، که در شاخص های خونی و ایمنی بجز میانگین گلبول های سفید و قرمز شاخص هایی نظیر میانگین هموگلوبین و هماتوکریت ، حجم متوسط گلبولی ، میانگین هموگلوبین گلبول قرمز ، غلظت هموگلوبین سلولی ، شاخص های افتراقی گلبول سفید و فاکتورهای ایمنی نظیر لیزوزیم ، Ig و IgM اختلاف معنی دار آماری بین گروههای تیماری با شاهد وجود نداشت که در برخی شاخص ها با نتایج تحقیق مطابقت دارد و این مسئله حاکی از آن است که افزایش میزان پری بیوتیک دیواره سلولی مخمر در جیره غذایی می تواند باعث افزایش سطوح ایمنی گردد(١١). طی بررسی ٤ هفته ای خوراکی ١ ، ٥ و ١٠ gr/kg مخمر آبجو در ماهی سیم دریایی(*Sparus aurata*)١٠٠ تا ٢٠٠ 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(١٤). البته باید در نظر داشت که مقدار IgM با توجه به اندازه ، سن ماهی ، شرایط محیطی یا وجود بیماری تغییر می کند (٢٦).

همچنین در تحقیقی تأثیر مخمر آبجو در سطوح ٠ ، ١ و ٢ درصد جیره بر روی بچه فیل ماهیان به مدت ٦٠ روز بر روی فاکتورهای خونی مورد بررسی قرار گرفته شد و مشخص شد که در میزان هموگلوبین ، هماتوکریت ، MCH ، MCV ، MCHC و تشخیص افتراقی گلبول های سفید ، گلوکز و پروتئین کل هیچ اختلاف معنی دار آماری بین تیمارها و گروه شاهد مشاهده نشده است که برخی از آنها با یافته های این تحقیق مطابقت دارد (٢١). با افزودن سطوح ٢ ، ٤ و ٦ گرم در کیلوگرم MOS در جیره غذایی ماهی باس دریایی(*D. labrax*) با میانگین وزنی ٦٠ گرم طی مدت ٨ هفته گزارش کردند که فعالیت بیگانه خواری در گروه های تغذیه شده با MOS افزایشی نسبت به گروه شاهد داشت(٤٠). این افزایش می تواند به دلیل حضور گیرنده های مانوز باشد. گیرنده ی مانوز یک گیرنده ی داخل سلولی ماکروفاژها و سلول های اندوتلیال بوده که لیگاندهای حاوی مانوز با سایر گیرنده ها متصل شده و سبب فعال شدن گلبول های سفید و تولید سیتوکین های ضد التهابی می شوند (٢٤).

نتایج حاصل از تحقیق نشان می دهد که افزایش پری بیوتیک دیواره سلولی مخمر در سطح ٢٪ جیره غذایی بچه ماهیان انگشت قد قزل آلای رنگین کمان می تواند باعث بالا رفتن شاخص های ایمنی نظیر لیزوزیم ، Ig و IgM و تاثیر مثبت بر شاخص های افتراقی گلبول های سفید و بهبود شاخص های خونی گردد که خود سیستم ایمنی این ماهیان را تحریک می کند. در مجموع اختلافات موجود در نتایج این تحقیق را با یافته های دیگر محققان را می توان به عوامل محیطی خصوصاً به علت خونسرد بودن ماهی نظیر (فصول ، سال ، شوری ، دوره نوری ، درجه حرارت ، تراکم) ، عوامل فیزیولوژیکی (گونه آبزی ، سیکل تولید مثلی و وضعیت بلوغ ، سن ، جنس و شرایط تغذیه ای) و ژنتیکی ، زمان نمونه گیری ، فرمولاسیون جیره های غذایی ، نوع پری بیوتیک ، درجه خلوص آن و میزان استفاده از آن در جیره ، روش های مختلف اضافه کردن به جیره ، دقت و حساسیت روش های اندازه گیری ، ربط داد. این عوامل خود می تواند بر فعالیت شاخص های خونی ، بیوشیمیایی و ایمنی تأثیر گذاشته و باعث اختلاف در تفسیر نتایج محققین شوند(٤٢ ؛ ٢). بنابراین هر چند در برخی از پارامترها اختلاف

معنی دار آماری مشاهده نشد ، اما مشاهدات نشان می دهد که کاربرد پری بیوتیک دیواره سلولی مخمر در جیره غذایی بچه ماهیان انگشت قد قزل آلای رنگین کمان تاثیر مثبت بر شاخص های خونی بخصوص گلبول های سفید خون و شاخص های ایمنی بچه ماهیان گذاشته که با توجه به روند افزایشی پارامترهای بررسی شده در تیمار ۳ تحقیق می توان دوز دیواره سلولی مخمر در جیره غذایی بچه ماهیان انگشت قد قزل آلای رنگین کمان را ۲٪ پیشنهاد نمود و با توجه به بهبود قابل ملاحظه این شاخص ها می توان استفاده از این ترکیب را از نظر اقتصادی توجیه نمود. همچنین می توان در تحقیقات دیگر بررسی تاثیرات این پری بیوتیک و پری بیوتیک های دیگر ، استخراج و خالص سازی گلوکان و مانان الیگوساکارید از سایر مواد طبیعی ، کاربرد آنها در پرورش سایر آبزیان و تاثیرات پری بیوتیک ها را بر روی دوران مختلف ماهی قزل آلای رنگین کمان و یا سایر ماهیان اقتصادی پیشنهاد نمود.

سپاسگزاری

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

منابع

۱- اکرمی، ر.، قلیچی ، ا.، منوچهری ، ح. ۱۳۸٦. تأثیر اینولین به عنوان پربیوتیک بر عملکرد رشد و زنده مانی ماهی قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*). مجله علوم و فنون دریایی ، صفحات ۱ تا ۹.

۲- اکرمی، ر.، قلیچی ، ا.، قوایی، ا. ۱۳۸۹. کاربرد پربیوتیک ها در آبزی پروری. مجله شیلات . شماره(۱). ۹ صفحه.

۳- افشار، م.،۱۳۸۱.راهنمای عملی تغذیه و نهاده های غذایی و دارویی آبزیان در ایران. انتشارات نوربخش.صفحات۱۰ تا ۱۷.

٤- پورامینی،م.، حسینی فر،ح. ۱۳۸٦. کاربرد پروبیوتیک ها و پربیوتیک ها در آبزی پروری. انتشارات موج سبز. ۱۰٤ صفحه.

۵- پورامینی،م. ۱۳۸۷. بررسی اثر تغذیه با مخمر ساکارومایسس سروزیا بر رشد و بازماندگی لارو ماهی قزل آلای رنگین کمان. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان. ۱۰۱ صفحه.

٦- پور علی، ح.ر.، محسنی، م.، آق تومان، و.، توکلیف ،م. ۱۳۸۲. پرورش بچه ماهیان با درصدهای مختلف غذای کنسانتره فرموله شده . مجله علمی شیلات ایران . ویژه نامه اولین سمپوزیوم ملی ماهیان خاویاری. صفحات ۳۷ تا ٤۸ .

۷- سقا ، ح. ر. سروش نیا، م. ۱۳۸۲. تجهیزات و فرآورده های آزمایشگاهی . انتشارات کتاب میر. ۲٦۸ صفحه.

۸- سلطانی،م. ۱۳۸۷. ایمنی شناسی ماهیان و سخت پوستان. انتشارات دانشگاه تهران. ۲٦٤ صفحه.

۹- سوداگر، م.، آذری تاکامی، ق.، پانوماریف، س.، محمدزاده، ه.، عابدیان، ع.، حسینی، ع. ۱۳۸٤. بررسی سطوح مختلف بتائین و متیونین بعنوان جاذب بر شاخص های رشد و بازماندگی فیل ماهیان جوان و مجله علمی شیلات ایران. شماره ۲، صفحات ٤۱ تا ٤۹.

۱۰- طاعتی، ر. ۱۳۸۹. مطالعه مقایسه ای 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، ۱۲٦ صفحه.

۱۱- عاشورپور، ع.، ۱۳۹۰. 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 شیپ(*Acipenser nudiventris*)
.پایان نامه کارشناسی ارشد . دانشگاه آزاد لاهیجان. ۱۰۰ صفحه.

۱۲- کاظمی، ر.، ا.، پوردهقانی، م.، یوسفی ، ا.، یارمحمدی، م.، نصری تجن،م. ۱۳۸۹. فیزیولوژی دستگاه گردش خون آبزیان و فنون کاربردی خون شناسی ماهیان. انتشارات بازرگان. ۱۹٤ صفحه.

۱۳- میزانی، ف.، ۱۳۹۰. تعیین اثرات پری بیوتیکی دیواره سلولی مخمر بر شاخص های رشد ، فاکتورهای خونی و فلور میکروبی روده ماهیان انگشت قد کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه آزاد لاهیجان. ۹۰ صفحه.

14- Bahmani, M., Kazemi, R. and 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. and Esteban, M.A . 2004. Total serum immunologlobulin M levels are affected by immunomodulators in sea bream (*Sparus auratea*). Veterinary Immunology and Immunopathology. 101: 203-210.

16- Dalmo, A.R. and Bogwald, J. 2008. β-glucans as conductors of immune symphonies. Fish and Sellfish Immunology. 25: 384-396.

17- David, J.A., Jenkiss, Cyrill, W.C., Kendall and Vladimir Vuksan. 1999. Inuline, Oligofructose and intestinal function. J. Nutr. 129: 1431-1433.

18- EL-Boshy, M.E., El-Ashramb, 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. 1998 . 80,Suppl. 2, S209-S212.

21- Hoseinifar, S.H., Mirvaghefi, A.R., Mojazi Amiri, B., Khoshbavar & Rostami, H.A., Pooramini, M., and 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 Vol. 19, No. 4,55-66.

22- Huang, S.S.O.,Lutes,P.B. and Storebakken, T.1989. Growth and feed efficiency of white sturgeon (*Acipenser transmontanus*) sub0yearling at different feeding f\rates. Aquacultuer 80: 147-153.

23- Khoshbavar- Rostami, H.A., Soltani, M. Kazemi, B. and 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. and 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.

26- Magnadottir, B., Jonsdottir, H., helgason, S., Bjornsson, B., T.O. Jorgensen, T.O.,

pilstrom,L. 1999. Humoral immune parameters of Atlantic cod (*Gadus morhue*). 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. Effect of long term administration of dietary β-Glucan on immunity. Growth and survival of *Labeo rohita* fingerling. Aquacultuer . 2006. 255:82-4.
30- Mohseni, M., pourkazemi, M., Bahmani, M., Falahatkar, B., Pourali, H.R. and Salehpour, M., 2006. Effects of feeing rate and frequency on growth performance of yearling great sturgeon, *Huso huso*. Journal of Applied Ichthyology. 22: 278-282.
31- Peter, H., and Sneath, A. 1986. Bergeys manual of systematic Bacteriology. Vol 2: 1104-1154.
32- Ringo, E., Olsen, R.E., gifstad, T.O., Dalmo, R.A., Amlund, H., Hemre, G.I. and 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. and 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., Khattab, 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 Doughikollaee, E., Ebrahimi, E. and Zare, P. 2011. Effects of Garlic essential oils an Immunostimulant on 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 prometer and immunodulator 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. and Izquierdo, M.S. 2010. Improved feed utilization, intestinal micus production and Immune parameters in sea bass (*Dicentrachus labrax*) fed mannan oligosaccharides (MOS). Aquaculture Nutrition. (In press).
41- Tukmechi, A., Rahmati, H.R., Manaffar, R., & Sheikhzadeh, 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., and Gibson, G.R. 2004. Developing aquantitative approach for determining the in Vitro prebiotic potential of dietary oligosaccharides. FENS Microbiology letters 236, 153-159.
44- Welker, T., Lim, C., Yildirim- Aksoy, M., Sheby, R. and Klesius, P.G. 2007. Immune response and resistance to stress and *Edwardsiella ictaluri* challenge in channel catfish, *Ictalutus punctatus*, fed diets containing commercial whole - cell yeast or subcomponets. Journal of the World Aquaculture Society. 38(1): 24-35.
45- Zilva , JF & Pannall , PR. 1984. Clinical chemistry in diagnosis and treatment. Publ. Lioyd-Luke (medical Books) Ltd. London PP348-35.

Deliberation of Effect of prebiotic yeast cell wall (*Saccharomyces cerevisia*) On changes in Indicators of hematological and immune of rainbow trout fry (*Oncorhynchus mykiss*)

Mohammad eatisamipour [*1], Abbas-Ali Zamini [2], Masoud Farokhroz [3]

1- M.S.c. graduated in fisheries, Lahijan Branch, Islamic Azad University, faculty of Natural Resources, Dept. of Fisheries, Lahijan, Iran, POBox: 1616

2&3- Assistant Professor and Faculty member, Lahijan Branch, Islamic Azad University, faculty of Natural Resources, Dept. of Fisheries, Lahijan, Iran, POBox: 1616

([*]Corresponding Author - Mohammadeatisamipour@gmail.com)

Abstract

Prebiotic dietary supplements that have the potential to reduce the harmful effects of infectious agents and have beneficial effects on host health. In this study, the prebiotic of yeast cell wall *Saccharomyces cerevisia* at different levels to evaluate the blood indices and immune indices in rainbow trout juveniles were used. To conduct this study, 120 rainbow trout fry with a mean weight 3.61± 0.12 gr were randomly assigned into 12 fiberglass tub drainage volume of 100 ml distribution and breeding were given. An experiment to determine the optimum level of prebiotic effect of dietary yeast cell wall in the diet of rainbow trout fry in 1% prebiotic treatments, 1.5% prebiotic, 2% prebiotic prebiotic-free control, in a balanced design with three replications each were studied. At the end of the period rearing, blood indices and immune indices juveniles were studied. The results of some blood indices such as levels of White blood cells, Red blood cells, hemoglobin and hematocrit levels and neutrophil counts were not significantly different between the treatment and control groups were observed in 2% and other treatments ($P<0.05$).The factors mean corpuscular volume and the other blood factors statistically significant difference was not observed between the treatments ($P>0.05$). The results showed that non-specific immune indices in blood, such as lysozyme and specific immune IgM and Ig statistically significant difference between treatment groups fed with 2 % prebiotic yeast cell wall with the other treatments and the control group ($P<0.05$). Based on these results it can be stated that the level of 2% prebiotic yeast cell wall used in the diet caused a significant increase in immune indices , and some blood parameters of studied, An important role in immune function and improve blood indices of rainbow trout fry can play.

Keywords: Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), prebiotic, yeast cell wall (*Saccharomyces cerevisia*), Blood indice, Immune indice