بررسی فاکتورهای خونی وایمنی دربچه‌ماهیان اسکار(*Astronotus ocellatus*) تغذیه-شده‌باناپلی آرتمیای‌غنی‌سازی‌شده باپربیوتیک‌مانان‌الیگوساکاریدوپربیوتیک‌دیواره‌ی-سلولی‌مخمرنانوایی (*Saccharomyces cerevisiae*)

عباسعلی زمینی[۱]؛ فائزه سمیع املشی[۲]*

Faezeh_samie@yahoo.com

۱-استادیارگروه شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، ایران. صندوق‌پستی ۱۶۱۶.

۲-عضو باشگاه پژوهشگران جوان، شعبه لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی ، لاهیجان، ایران.

تاریخ دریافت: مهر۱۳۹۲ تاریخ پذیرش: دی ۱۳۹۲

چکیده

این تحقیق درخردادماه سال۱۳۹۲درمرکز تحقیقات، علوم شیلاتی و فنون دریائی‌دکترکیوان در بندر چمخاله با هدف تعیین تاثیر سطوح متفاوت پری بیوتیک مانان الیگوساکارید و پری بیوتیک دیواره سلولی مخمر نانوایی برفاکتورهای خونی و ایمنی بچه‌ماهیان اسکار(*Astronouts ocellatus*) به مدت ۸ هفته انجام پذیرفت. پس‌از یک هفته سازگاری با شرایط پرورشی ۱۰۰عدد بچه ماهی اسکار با میانگین وزنی ۰/۳۵گرم بصورت تصادفی به۴ آکواریوم با تراکم۲۵ عدد در هرآکواریوم به مدت ۸ هفته با توجه به دمای‌آب-به میزان۱۰در صد زیتوده تغذیه شدند. در این آزمایش باغنی سازی ناپلی‌آرتمیا با پری بیوتیک مانان الیگوساکارید در سه تیمار ۷۵۰،۵۰۰،۲۵۰میلی گرم در لیتر و یک‌گروه شاهد(هریک باسه‌تکرار) به مدت سه هفته، معادل بیست ویک روزبچه ماهیان اسکارمورد تغذیه قرارگرفتند واز ابتدای هفته چهارم تا انتهای هفته هشتم نیز با افزودن پری‌بیوتیک دیواره سلولی‌مخمردرسه تیمار ۱،۲،۳درصد ویک‌گروه شاهد به میزان‌صفر(هریک با سه تکرار) با غذای‌آغازین بچه ماهی اسکارکه از شرکت بیومار تهیه شده بود، مورد تغذیه قرارگرفتند. در پایان دوره‌گلبول‌های سفید و قرمزخون، هماتوکریت، هموگلوبین، نوتروفیل،مونوسیت بین تیمارها و شاهد اختلاف-معنی‌دارآماری مشاهد شد ودر تیمارها افزایش معنی‌داری نسبت به شاهدداشته‌است، اما لنفوسیت در شاهد بیشترازکلیه تیمارها بوده‌است ($P\leq0.05$). غلظت متوسط هموگلوبین درگلبول‌قرمزخون(MCH)، میزان حجم متوسط‌گلبولی خون ماهیان(MCV)، غلظت متوسط هموگلوبین‌گلبوهای قرمز خون،(MCHC) و ائوزینوفیل مورد بررسی بین تیمار ها و شاهد اختلاف‌معنی دارآماری مشاهده نشد($P>0.05$). دربررسی‌فاکتورهای‌ایمنی، لیزوزیم خون، IgM در تمامی گروه‌های تیماری بیشترازگروه شاهد بوده‌است و به لحاظ آماری اختلاف معنی‌دار مشاهده گردید ($P<0.05$). میزان ایمنوگلوبولین‌کل بین تیمارها اختلاف معنی دارآماری مشاهده شدودر-تیمار٪۱و٪ ۳بیشتراز شاهد و تیمار٪۲بوده است.

کلمات کلیدی:ماهی‌اسکار(*Astronotus ocellatus*)، پربیوتیک‌دیواره سلولی‌مخمرنانوایی، مانان‌الیگوساکارید، ناپلی‌آرتمیا، شاخص‌های‌خونی و ایمنی.

*نویسنده مسئول

۱.مقدمه

اهمیت دانش خون شناسی به عنوان دانشی برای دستیابی به-وضعیت فیزیولوژی مناسب بمنظورارتقا، توسعه و بهبود پرورش، بهداشت، سلامت و فیزیولوژی تولیدمثل و تکثیرآبزیان و به‌ویژه ماهیان بسیار واضح و مبرهن می‌باشد. زیرا با بکارگیری این - شاخه از دانش‌می‌توان به کیفیت و سلامت‌آبزیان پی‌برد و به - واکنش‌های فیزیولوژیک آبزیان در برابر تغییرات پیرامونی نظیر بروزاسترس‌ها و بیماری‌ها آگاه شد. یافته‌های حاصل از پژوهش‌های خون‌شناسی آبزیان می‌تواند ما را در یافتن اثرات-سمی مواد روی آبزیان، ارزیابی وضعیت سلامت آبزیان، ارزیابی مقاومت غیراختصاصی آبزیان مولد و جداسازی‌آنها وآبزیان هم سن، ارزیابی مناسب از اثرات تغذیه و پلت‌های - تغذیه‌ای مخلوط، جداسازی‌گله های مناسب به منظورتولید نوزادان سالم، قوی‌ومقاوم تر و... یاری نماید. بافت خون، بافتی مناسب برای مطالعات تعیین‌سلامت و یا بیماری ماهیان‌است. خون‌می تواند به عنوان یک تابلوی بهداشتی و سلامتی نیزعمل-کند، زیرا خون‌با عبور از همه اندامها، بافتها و یاخته‌های بدن، موادمغذی واکسیژن‌را به آنها می‌رساند و موادزاید مختلف را جمع‌آوری می‌کند و تحت‌تاثیر فرایندهای مختلف متابولیک - قرارگرفته، هرگونه‌تغییرات آن را نسبت به حالت طبیعی بازتاب می‌دهد و نیز بسیاری از آثار عوامل بیماری‌زایی‌که سایر بافت هارا تحت تاثیرقرار می‌دهند، می‌توانند آثار بیماری را درخود نشان‌دهند. پارامترها یا شاخص‌های‌خونی باتوجه به اندازه، سن، وضعیت‌سلامتی، عوامل محیطی و نیز قرارگرفتن در مراحل-مختلف‌رسیدگی جنسی، متغیرمی‌باشند (۷). مهم‌ترین اندام‌ها و بافت‌های سیستم ایمنی ماهیان عبارت است‌از تیموس،کلیه، طحال،کبد، پوست، فلس، خون، روده، ترشحات موکوسی-وصفراوی، آبشش‌ها،گره‌های لنفاوی. ایمنی درماهیان به‌دو شکل‌اختصاصی و غیراختصاصی‌می‌باشد (۴). اثرات پریبیوتیک-هاتاثیر بر ترکیبات مغذی بدن آبزیان، تأثیر بر فلورباکتریایی-روده‌آبزیان بوده که استفاده ازمکمل‌های غذایی پربیوتیکی در-جیره آبزیان پرورشی‌منجربه کاهش فعالیت باکتری‌های - نامطلوب و بهینه‌سازی تعادل جمعیت میکروبی دستگاه گوارش شده و تأثیرمطلوبی بر رشد و بقاء آنها ایجاد می نماید. و همچنین ازاثرات دیگر پربیوتیک‌ها تأثیر بر سیستم ایمنی آبزیان می‌باشدکه اختلال در سیستم ایمنی ماهیان به واسطه عوامل استرس‌زای محیطی، منجر به حساسیت بیشتر به انواع بیماری‌ها - می شودکه‌توسعه اقتصادی آبزی پروری را محدود می‌نماید. استفاده از مکمل‌های غذایی‌که در افزایش رشد و بالا بردن - سیستم ایمنی‌نقش دارند از جمله راهکارهایی می باشند که افزایش سلامت، مقاومت نسبت به استرس و عوامل بیماری‌زا می‌توانند مفید واقع شوند (۱). جیره‌های غذایی حاوی پربیوتیک، نه تنها مواد مغذی ضروری برای جانور تغذیه‌کننده را تأمین می‌نمایند بلکه می‌توانند به عنوان یکی‌از بهترین راهکارها برای حفظ سلامت آبزیان پرورشی و افزایش مقاومت آنها در - برابر استرس و عوامل بیماریزا قلمداد شوند (۱۱). پری‌بیوتیک ماده غذایی غیرقابل هضمی‌است که از طریق تحریک رشد و فعالیت یک یا تعداد محدودی از باکتری‌های موجود در روده اثرات سودمندی برای میزبان داشته و می‌تواند سلامتی میزبان را بهبود بخشد دیواره سلولی مخمر، منشاء دو ماده‌ی محرک ایمنی مهم به نام بتاگلوکان و مانان‌الیگو ساکارید می باشند. مانان الیگو ساکارید و بتاگلوکان، اصلی‌ترین ماده‌ی مؤثراکثر پر بیوتیک‌ها می باشد (۱۳). دیواره سلولی مخمراز ۶۰ – ۳۰ ٪ پلی‌ساکارید(-مانان الیگو ساکارید و بتاگلوکان)،۳۰ – ۱۵٪ پروتئین،۲۰– ۵٪ لیپید و مقداری‌کتین تشکیل شده‌است (۱۲).

مانان الیگوساکاریدها گلوکومانو پروتئین‌های غیرقابل هضمی-هستندکه بسترها یا محل استقرار مانوزها را روی پرزهای مخملی روده فراهم آورده و مانع اتصال باکتری‌های بیماری‌زا به -

سلولهای انتروسیت (سلولهای پوششی جاذب) روده شده، همچنین مانع شکل گیری‌کلونی‌های باکتریایی و جلوگیری از عفونت سلولهای میزبان می‌شوندکه این خود منجربه افزایش- انسجام پرزهای مخملی روده به منظور بهبود و افزایش‌کارایی روده و بهره برداری بیشتر و بهتر ازمواد مغذی می‌شود.(۱۸و۱۷). این ماهی با اسم علمی(*Astronotus ocellatus*) و به - خانواده سیکلیده تعلق دارد تجهیزات و فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی‌آب مورد نیاز برای نگهداری ماهی‌اسکار بصورت زیر است به‌گونه‌ای‌که دمای‌آب آنها ۲۵ درجه سانتیگراد، سختی- آب-۱۰ dH=۱۵ وpH=۷/۵ باید باشد. طول بدن آنها حداکثر ۴۵ سانتی‌متر و در تمام‌سطح آب شنامی‌کنند. طول عمر آنها حداکثر۱۳سال بوده منشاءآنها در آمریکای جنوبی، حوزه‌های رودخانه آمازون و شاخه‌های فرعی‌آن می باشد. مکان های جاگیری این ماهیان‌میان تخته سنگ‌ها و گیاهان آبزی است. - اندازه تانک آنها حداقل ۱۲۰لیتر و نور مناسب آنها روشن، بدون تابش مستقیم آفتاب می‌باشد. سازگار با همنوعان خود و ماهیان نسبتا بزرگ بوده و از غذای زنده وگوشتی منجمد و خشک – شده تغذیه می‌کند (۵). با توجه به اثرات مثبت پری بیوتیک مانان‌الیگوساکارید و تاثیردیواره سلولی مخمر در جیره غذایی- ماهی مذکور را با هدف بهبود فاکتورهای خونی و ایمنی مدنظردارد.

۲. مواد و روش ها

پری بیوتیک دیواره سلولی مخمر(Bionyc YCW)، این ماده در واقع دیواره سلولی استخراج شده از مخمر *Saccharomyces cerevisiae* می باشدکه توسط شرکت- *Bioncy Orange Natural Company* واقع در کشور- استرالیا تولید واز شرکت شفق داروی پارسیان نماینده رسمی این شرکت در ایران جهت انجام پروژه تهیه شده است.(۱۰).

تعداد صد عدد بچه ماهی اسکار(*Astronotus ocellatus*) پس‌از زیست سنجی (اندازه‌گیری وزن و طول) و تعیین زیتوده با میانگین وزنی ٪۳۵ گرم و طول حداقل۱/۲۵و حداکثر۲/۵ سا نتی متر و با تراکم ۲۵ عدد به۴ عدد آکواریوم ۶۰ لیتری معرفی شدند. سپس‌کار سازگاری بچه ماهیان با جیره پایه که (غذای- استاندارد Biomar) بود، براساس۱۰- ۸ درصد وزن بدن در ۳ نوبت(۱۰صبح، ۱۲ظهر، ۱۵عصر) به مدت یک هفته صورت - گرفت(۲و۱۶). پس از گذشت ۱ هفته از سازگاری بچه ماهیان اسکار و زیست سنجی تمام جمعیت مورد مطالعه این تحقیق به مدت ۲۱ روز (سه هفته) در سه گروه تیماری و یک گروه - شاهد که هر یک با سه تکرار صورت گرفت که شامل، ماهیانی که با ناپلی آرتمیا بدون غنی سازی با MOS تغذیه – شدند (گروه شاهد)، ماهیانی که با ناپلی آرتمیا غنی سازی شده با MOS ۲۵۰ میلی گرم در لیتر تغذیه شدند (تیمار اول)، ماهیانی که با ناپلی آرتمیا غنی سازی شده با MOS ۵۰۰ میلی - گرم در لیتر تغذیه شدند. (تیمار دوم) و ماهیانی که با ناپلی - آرتمیا غنی سازی شده باMOS ۷۵۰ میلی‌گرم درلیتر تغذیه شدند.(تیمار سوم). تیمارهای هفته چهارم تا انتهای هفته هشتم به قرار زیر بود، ماهیانی که با غذای بیومار تغذیه شدند (گروه شاهد) ، ماهیانی‌که با ترکیب غذا یبیومار با پری بیوتیک دیواره سلولی مخمر ۱٪ تغذیه شدند. (تیماراول)، ماهیانی که با ترکیب غذای بیومار با پری بیوتیک دیواره سلولی مخمر ۲٪ تغذیه - شدند.(تیمار دوم) وماهیانی که باترکیب غذای بیومار با پری - بیوتیک دیواره سلولی مخمر۳ ٪ تغذیه شدند. (تیمار سوم). درانتهای هفته سوم، شصت قطعه از ماهیان با ترازوی دیجیتالی با دقت۰/۰۱. درصد وزنشان و با خط کشی با دقت میلی متر طول - کل این ماهیان اندازه گیری شد. قبل از انجام زیست سنجی، بچه ماهیان‌گرسنه نگه داشته شدند تا لوله‌ی‌گوارش‌آنها به طور کامل تخلیه گردد. (۲و۴). از هفته چهارم تا پایان هفته هشتم،

ماهیان با پری بیوتیک دیواره سلولی مخمر۱٪ ،۲٪ و۳٪ در ترکیب با غذای – بیومار در ۴ نوبت (۱۰صبح،۱۲ظهر، ۳عصر، ۷غروب) و یک‌گروه شاهدکه فقط با غذای بیومار تغذیه شدند. در طی این دوره نیز دو بار زیست سنجی(اندازه‌گیری طول و وزن) انجام پذیرفت و در هر بیومتری از شصت عدد از ماهیان استفاده شد. نیم ساعت پس از اولین دوره غذادهی روزانه عمل سیفون کردن مواد غذایی باقی مانده وبرداشتن فضولات - انجام شد. شستشوی فیلترها و سنگ‌های آکواریوم نیز در طول هفته یکبار انجام پذیرفت. اندازه‌گیری فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب شامل دما با ترمومتر جیوه ای، pH آب نیز با pH متر دیجیتال مدل Eco و میزان اکسیژن محلول با استفاده - ازاکسی متر دیجیتال Eutech، به طور روزانه انجام وداده‌ها ثبت شدند. میانگین دما،۳۰-۲۸ درجه سانتی گراد، میانگین اکسیژن ppm۶/۶۲ و میانگین pH نیز۷ /۸ ، درطول دوره پرورش بودند،که فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی مذکور درطول دوره پرورش دارای اختلاف معنی داری نبودند. در پایان هفته هشتم خونگیری انجام پذیرفت بطوری که ۲۴ساعت قبل از خونگیری غذادهی انجام نشد. ۴۸عدد ماهی و از هر گروه۱۲ عدد(۴ عدد به ازای هر تکرار) بصورت کاملا تصادفی انتخاب و محل ساقه ی دمی ماهی مورد نظر با یک حوله تمیز خشک گردید، همچنین در هنگام عملیات خونگیری روی آبشش ماهی یک حوله مرطوب قرار داده شد. خونگیری از ورید ساقه‌ی دمی به وسیله‌ی سرنگ cc ۲ویا به‌کمک سرنگ انسولین انجام گرفت. در هنگام فرآیند خون گیری از مواد بیهوش‌کننده به علت احتمال تاثیر بر شاخص های خونی استفاده نشد (۲۰). حجم خون برداشت شده به ازای خون ۴ عدد ماهی در یک لوله‌ی اپندورف (لوله ویوله) حاوی ماده ضد انعقاد هپارین ریخته شد. سانتریفوژ مورد استفاده مدل Labofuge ساخت Heraeus آلمان بود.

به منظور بررسی توزیع نرمال داده‌ها در گروه ها وتکرارها جهت تشکیل تیمارها از آزمون Wilk-Shapiro و رسم نمودار هیستوگرام استفاده شد در صورت نرمال بودن داده‌ها به منظور مقایسه آماری بین گروه‌ها در تیمارها از آزمون آنالیز واریانس یکطرفه(Oneway ANOVA) و جهت بررسی اثرات متقابل از آزمون آنالیز واریانس دو طرفه(2- way Anova) و پس از انجام آزمونHomogeneity of Variances Test of جهت مقایسه گروه‌ها با یکدیگراز آزمون دانکن استفاده شد. کلیه آنالیزهای آماری با استفاده ازنرم‌افزارSPSS نسخه ۱۷و - جهت رسم نمودار ها از نرم‌افزار۲۰۰۳ Excel استفاده شد.

۳.نتایج

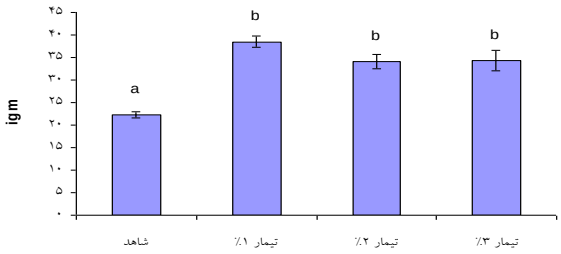
نتایج نشان داد، از فاکتورهای خون مورد بررسی به جز حجم - متوسط گلبولی خون (MCV)، غلظت متوسط هموگلوبین در گلبول قرمز خون (MCH)، غلظت متوسط هموگلوبین‌گلبول- های قرمز خون(MCHC)، ائوزینوفیل ولنفوسیت خون ، در سایر فاکتورهای خونی و ایمنی بچه ماهیان اسکار بین همه - تیمارها با تیمار شاهد اختلاف معنی دارآماری مشاهده شد. درهمه تیمارهای ٪ ۱افزایش معنی دارآماری نسبت به تیمار شاهد و سایر تیمارها در این آزمایش مشاهده شد.در گلبول های سفید خون (CBC)بین تیمارها با شاهد اختلاف معنی دار آماری - مشاهده گشت. میزان‌گلبول های سفید در تیمار های ٪ ۱و٪ ۳بیش از سایر تیمارها و تیمار شاهد بوده ودرکلیه تیمارها نسبت به تیما شاهدافزایش‌معنی دار آماری مشاهده گردید. در گلبول های قرمز خون(RBC) بین تیمارها با شاهداختلاف معنی- دارآماری مشاهده گشت. تعداد گلبول های قرمزدر تیمار ٪ ۱بیش از سایر تیمارها وتیمار شاهد بوده و درکلیه تیمارها نسبت به تیمار شاهد افزایش معنی دار آماری مشاهده‌گردید. در هموگلوبین خون بچه ماهیان بین تیمارها با شاهد اختلاف معنی

دارآماری مشاهده گشت، و میزان در تیمار ٪۱ بیش از سایر تیمارها وتیمار شاهد بوده ودرکلیه تیمارها نسبت به تیمار شاهد افزایش معنی‌دارآماری مشاهده گردید. در هماتوکریت خون - بچه ماهیان بین تیمارها با شاهد اختلاف معنی دارآماری - مشاهده‌گشت، و میزان آن در تیمار شاهدکمتراز سایر تیمارها بوده و درکلیه تیمارها نسبت به تیمار شاهد افزایش‌معنی داری - دیده شد. تعداد نوتروفیل خون بچه ماهیان بین تیمارها با شاهداختلاف معنی‌دارآماری مشاهده گشت. در لنفوسیت خون ماهیان کاهش معنی‌دارآماری مشاهده گشت بطوری‌که لنفوسیت خون در تیمار شاهد بیش از کلیه تیمارها بوده‌است واختلاف معنی‌دارآماری شاهد نسبت به‌کلیه تیمارها مشاهده شد، و در تیمار شاهد کمتر ازسایر تیمارها بوده ودرکلیه تیمارها افزایش معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد مشاهده شد.میزان مونوسیت خون بچه ماهیان بین تیمارها با شاهداختلاف معنی-دارآماری مشاهده گشت، و در تیمار شاهدکمتراز سایر تیمارها بوده و در تیمارهای ٪۱ و ٪۳ بیش از سایر تیمارها و تیمار شاهد بوده ودرکلیه تیمارها نسبت به تیمار شاهد افزایش معنی-دارآماری مشاهده گردید ($P<0.05$). در حجم متوسط گلبولی خون(MCV)، غلظت متوسط هموگلوبین در گلبول قرمز خون(MCH)، غلظت متوسط هموگلوبین گلبول های قرمز خون(MCHC) و ائوزینوفیل در کلیه تیمارها نسبت به تیمار شاهد هیچ گونه اختلاف معنی‌دارآماری مشاهده نگشت (-$P>0.05$).

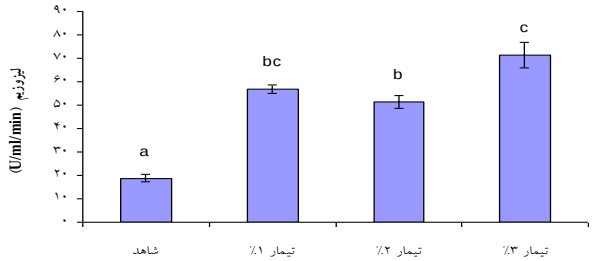
جدول۱.مقایسه میانگین فاکتورهای خونی بچه ماهی‌اسکار تغذیه شده با مانان الیگوساکارید و دیواره سلولی مخمر طی ۶۰روز پرورش

تیمار / شاخص	شاهد	۲۵۰میلی گرم و۱٪MOSدرلیتر دیواره سلولی مخمر	۵۰۰میلی گرم و۲٪MOSدرلیتر دیواره سلولی مخمر	۷۵۰میلی گرم و۳٪MOSدرلیتر دیواره سلولی مخمر
تعدادگلبول های سفید	^{a}۸۷۵۰ ± ۲۳۲ /۷۳	^{c}۱۲۵۵۰ ±۳۵۹ /۳۹	^{b}۱۰۷۵۰ ±۲۰۲/۰۷	^{c}۱۱۳۲۵ ± ۱۵۴/۷۸
تعدادگلبول های قرمز	^{a}۱۸۹۹۵۰۰ ±۲۲۸۶۳/۷۳	^{b}۲۰۸۸۵۰۰ ±۳۰۵۴۶/۴۱	^{a}۱۹۷۲۲۵۰ ±۱۹۰۴۵/۴۵	^{a}۱۹۸۲۷۵۰ ± ۴۳۴۰۱/۹۵
هموگلوبین	^{a}۷/۶ ±۰/۱۴	^{b}۸/۲۲ ±۰/۱۵	^{a}۷/۸۷ ±۰/۰۵	^{a}۸/۱ ±۰/۱۴
هماتوکریت	^{a}۲۹/۵ ±۰/۲۹	^{b}۳۳/۲۵ ±۰/۸۵	^{b} ۳۲ ±۰/۴۰	^{b}۳۱/۷۵ ± ۰/۵
MCV	۱۵۵/۲۵ ± ۱ /۳۸	۱۵۹ ± ۲/۱۶	۱۶۲ ± ۱/۴۷	۱۵۸/۷۵ ± ۲/۰۱
MCH	۴۰ ± ۰ /۷۰	۳۹/۲۵ ± ۰/۲۵	۳۹/۷۵ ± ۰/۲۵	۳۹/۲۵ ± ۰/۷۵
MCHC	۲۵/۵ ± ۰ /۲۹	۲۴/۲۵ ±۰/۲۵	۲۴/۲۵ ± ۰/۲۵	۲۴/۵ ± ۰/۲۸
نوتروفیل	^{a}۳۰/۵ ± ۰ /۵	^{b}۳۷/۷۵ ± ۰ /۸۵	^{b} ۳۵/۲۵ ± ۰/۶۳	^{b}۳۶/۵ ± ۰/۶۵
لنفوسیت	^{b}۶۵/۷۵ ± ۰ /۷۵	^{a} ۵۵ ±۳/۶۹	^{a}۶۰ ±۰/۷۰	^{a}۵۸/۷۵ ± ۱/۰۳
مونوسیت	^{a}۲/۵ ± ۰ /۲۹	^{b}±۰/۴۰	^{ab} ۳/۲۵ ±۰/۲۵	^{b}۴ ± ۰/۴۰
ائوزینوفیل	۱/۶۷ ± ۰ /۳۳	۱/۵ ±۰/۵	۱/۵ ±۰/۲۹	۱/۵ ± ۰/۵

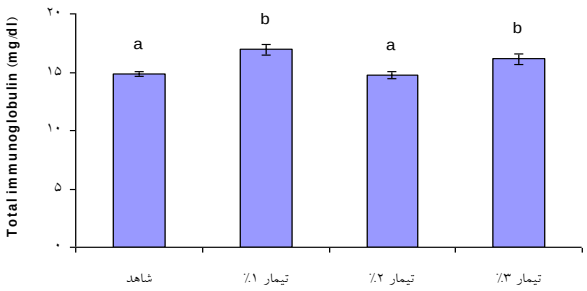
میزان لیزوزیم خون بچه‌ماهیان بین تیمارها با شاهد اختلاف معنی دارآماری مشاهده‌گشت و در تیمار شاهد کمتر از سایر تیمارها بوده ودر تیمار ٪۳ افزایش‌معنی‌دارآماری نسبت به تیمار شاهد و سایر تیمارها مشاهده‌شد. میزان IgM خون بچه ماهیان بین تیمارها با شاهداختلاف –٪۱ افزایش معنی‌دارآماری نسبت به تیمار شاهد و سایر تیمارها مشاهده شد میزان Total Immunoglobulin خون بچه ماهیان بین تیمارها با شاهد اختلاف معنی دارآماری مشاهده‌گشت و در تیمار شاهدکمتراز سایر تیمارها بوده و در تیمارهای ٪۱ و ٪ ۳بیش از سایر تیمارها و تیمار شاهد بوده و بیشترین میزان آن در خون بچه ماهیان در تیمار ٪۱ دیده شد و به لحاظ‌آماری اختلاف معنی‌دارآماری با تیمار شاهد و تیمار ٪۲ مشاهده شد.($P<0.05$). تاثیر سطوح مختلف مانان‌الیگوساکارید ودیواره سلولی‌مخمر بر شاخص های ایمنی بچه ماهی‌اسکار درجدول ۲ارایه شده است.



شکل۱-مقایسه میانگین میزان IgM شاهد باتیمارهای مختلف



شکل۲-مقایسه میانگین میزان لیزوزیم شاهد باتیمارهای مختلف



شکل۳-مقایسه میانگین میزان‌ایمنوگلوبولین‌کل شاهد با - تیمارهای مختلف

۴.بحث

به کارگیری سطوح متفاوت پری بیوتیک مانان الیگوساکارید و دیواره سلولی مخمرقابلیت تاثیرگذاری بالایی بربهبود فاکتورهای خونی و شاخص های ایمنی دربچه ماهی اسکار داشت. در مقایسه بین سطوح متفاوت پری بیوتیک مانان الیگوساکارید و دیواره سلولی مخمر درجیره، سطوح ۲٪ و۳ ٪ از کارایی بیشتری در بهبود فاکتورهای خونی و ایمنی بچه ماهی اسکار برخوردار بودند. فاکتورهایی مانند عوامل محیطی خصوصاً به علت خونسرد بودن ماهی‌ها (فصول سال، شوری، دوره نوری، درجه حرارت، تراکم)، عوامل فیزیولوژیک (گونه آبزی، چرخه تولید مثلی و وضعیت بلوغ، سن، جنس، وشرایط - تغذیه ای)، زمان نمونه‌گیری، چگونگی تهیه نمونه، دقت و- حساسیت روش‌های اندازه‌گیری بر فعالیت شاخص‌های رشد وبقاء می توانند تأثیر بگذارند و باعث اختلاف در تفسیر نتایج محققین شوند. (۲۱).

Welker و همکاران (۲۰۰۷) نیز با افزودن MOS به میزان- g/kg ۲ غذا، هیچ اختلاف معنی‌داری را از نظر پارامترهای هماتولوژیک درگربه ماهی کانالی(*Ictalur uspunctatus*)- تغذیه شده باMOS وگروه شاهد مشاهده نکردند. ($P<۰/۰۵$)،که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت نداشت.(۲۲).

Tukmechiو همکاران درسال (۲۰۱۱) تأثیر دیواره‌ی سلولی - مخمر را برروی فاکتورهای خونی قزل آلای رنگین

کمان(*oncorhynchus mykiss*) در یک دوره ی۳۰ روزه بررسی کرد و مشاهده نمودکه هماتوکریت، نوتروفیل، لنفوسیت، مونوسیت، میزان‌لیزوزیم، AcH_{5O} و Ig و تعدادکل گلبولهای سفید درتیمارهای حاوی دیواره‌ی سلولی مخمر آبجو در جیره،- اختلاف معنی‌داری با جیره‌ی شاهد نداشتند که این نتایج به جز- عدم تفاوت معنی‌دار داشتن درACH_{50} و تعداد کل گلبول‌های سفید با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد (۱۹).

طاعتی(۱۳۸۹) بیان داشت که اضافه‌کردن پربیوتیک ایمنواستر و ایمنووال به جیره‌ی بچه فیل ماهیان(*Huso huso*) اختلاف معنی‌داری در هماتوکریت، هموگلبین،MCH،MCHC،- نوتروفیل، پروتئین‌کل، IgM و لیزوزیم بین تیمارها و شاهد - ایجاد نکرد که با یافته‌های این تحقیق مطابقت ندارد.(۶).

تأثیر تغذیه‌کپور معمولی(*Cyprinus carpio*) با افزودن سطح- ۱درصد β–(1,3)glucan ومخمر *Saccharomyces uvarum* به مدت۶۰روز به جیره غذایی، نشان دادکه‌تغذیه- β– (1,3) glucan درانتهای دوره تعدادگلبولهای سفید خون را به طورمعنی‌داری‌درمقایسه باگروه شاهدوگروه تغذیه‌شده با- مخمر *S.uvarum* افزایش داد.($P <$۰/۰۵)، این در حالی بود که فعالیت فاگوسیتوزی نوتروفیل‌ها در تیمارهای‌آزمایشی تغذیه شده با مخمرافزایش قابل توجهی یافت(۱۱).که با یافته‌های ما مطابقت دارد (۹).

در مجموع تفاوت های موجود در نتایج‌گزارش شده توسط- محققین مختلف در بکارگیری انواع پربیوتیک ها درگونه های مختلف آبزیان پرورشی را احتمالاً بایستی به نوع‌گونه پرورشی،- شرایط محیطی، رفتارهای تغذیه‌ای و خصوصیات فیزیولوژیک - آبزی پرورشی مرتبط دانست. همچنین تأثیرات متفاوت پربیوتیک‌ها رامی‌توان بر مبنای‌کمیت وکیفیت جیره غذایی، نوع پربیوتیک مصرفی، درجه خلوص و میزان مورد استفاده آن در- جیره واحتمالاًجمعیت‌های میکروبی ویژه قادر به استفاده از انواع مختلف پربیوتیک، ارزیابی نمود.

منابع

۱-اکرمی، ر.، قلیچی، الف.، قرایی، الف. ۱۳۸۹. کاربرد پربیوتیک ها در آبزی پروری. مجله شیلات، سال چهارم، شماره اول، ۹-۱۴ صفحه.

۲-ابراهیمی، ع.، پوررضا، ج.، پاناماریوف، س.و.، کمالی،ا، و حسینی،ع.۱۳۸۳ .اثر مقادیر مختلف پروتئین وچربی بر شاخص های رشد وترکیب لاشه بچه ماهیان انگشت قد فیل ماهی. مجله علوم وفنون کشاورزی ومنابع طبیعی دانشگاه گرگان. سال هشتم، شماره دوم، صفحات۲۲۹تا۲۴۱.

۳-پورعلی،ح.ر.، محسنی،م.، آق تومان،و.، وتوکلی م.۱۳۸۲ .پرورش بچه ماهیان با درصدهای مختلف غذای کنسانتره فرموله شده. مجله علمی شیلات ایران. ویژه نامه اولین سمپوزیوم ملی ماهیان خاویاری، صفحات۳۷تا۴۸.

۴-حسینی فر،ح.، میرواقفی،ع.، مجازی،ب.، خوشباور،ح.، پورامینی،م.، درویش بسطامی،ک. ۱۳۸۹. بررسی اثرات مخمر *Saccharomyces cerevisiae* غیرفعال بر برخی شاخص های رشد، مصرف جیره، بازماندگی ومیکروبیوتای روده بچه فیل ماهی(*Huso huso*). مجله علمی شیلات ایران. سال نوزدهم، شماره ۴،۱۲صفحه.

۵-سقا،ح.ر. وسروش نیا،م.۱۳۸۲.کتاب جامعه تجهیزات وفرآورده های ازمایشگاهی. انتشارات کتاب میر.۲۶۸۷ صفحه

۶- سلطانی، م. ۱۳۸۷. ایمنی شناسی ماهیان و سخت پوستان. انتشارات دانشگاه تهران. ۲۶۴ صفحه.

۷-شاطریان،ر.۱۳۹۱.آکواریوم. انتشارات‌آییژتهران. ۴۶۸صفحه

۸- طاعتی، ر. ۱۳۸۹. مطالعه مقایسه ای محرک های ایمنی Immunoster و Immunowall بر برخی شاخص های خونی، شیمیایی و رشد بچه فیل ماهیان *Huso huso* پرورشی. رساله دکترای تخصصی شیلات دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم تحقیقات تهران. ۱۲۶ صفحه.

۹-کاظمی‌ر.; پوردهقانی‌م.; یوسفی‌جوردهی‌ا.; یارمحمدی-م.۱۳۸۹. فیزیولوژی دستگاه گردش‌خون آبزیان و فنون کاربردی خون شنا سی ماهیان. انتشارات بازرگان.۱۹۴صفحه

۱۰-یوسفی، م.، ابطحی، ب.، و ع.م.، عابدیان کناری، ۱۳۸۷. تأثیر نوکلئوتید جیره بر پارامترهای هماتولوژی فیل ماهیان جوان (*Huso huso*). اولین همایش علمی دانشجویی علوم شیلاتی، ۳۰ اردیبهشت ۱۳۸۸، ساری، صفحه ۴۰۲-۴۰۷.

11-Gopalakannan,A.,and Arul,V.,2009.Enhancement of the innate immune system and disease-resistant activity in *Cyprinus carpio* by oral administration of Beta–glucan and whole cell yeast.Aquaculture Research.journal Compilalation 2009 Black well Publishing Ltd.

12-Gibson GR, Roberfroid MB.,1995 Dietary modulation of human colonic microbiota, introducing the concept of prebiotics. J Nutr 125:1401–1412

13-Gatlin D.M., 2002. Nutrition and fish health. In: Fish Nutrition. (ed. By J.. Halver and R. W. Hardy), pp. 671-702, Academic Press. SanDiege. CA.

14-Huang G.L.,Liu M.X.,and Mie X.Y.,2004, Synthesis, (1-3)-beta-delta glucanse-binding ability,and phytoalexin –elicitor activity of a mixture of 3, 4-epoxybutyl (1-3)-B-D-oligosaccharides.Carbohydr. Res. 339,1453-1457

15-Huang G.L.,2008.Extraction of Two Active Polysaccharides from the Yeast Cell Wall.z.Naturforsch.63c,919-92

16-Khoshbavar–Rostami H.A. Soltani. M. Kazemi,B.and Hassan,M.D.2006. purification and partial characterization of serum immunoglobulins from Caspian. Sea strugenons. Bulletin European association fish phathology. 26: 58-62

17-Linehan,S.A., Martinez-Pomares, L.and Gordon,S., 2000. Macrophage lectins in host Defence.Microbes and Infection.2:279-288.

18-Mohseni,M., pourkazemi,M., Bahmani, M.,Falahatkar,B.,Pourali,H.R.andSalehpour, M.,2006.Effects of dietary immunogen prebiotic on growth performance of yearling great sturgeon(*Huso huso* Linne,1758 juveniles.Journal of Fisheries Islamic Azad university ,Azadshahr Brench Vol.4,No.3,61-73.

19-Newman,K., 2007.From follows function in picking MOS product Feedstuffs.79(4):1-2.

20-Pryor,G.S.,Royes,j.B.,Chapman,F.A.,and Miles,R.D.,2003. Mannan oligosaccharides in fish nutrition:effects of dietary supplementation on growth and gastrointestinal villi structure in Gulf of Mexico sturgeon.North American journal of Aquaculture.65:106-111.

21-Tukmechi,a.,Rahmati,H.R.,Manaffar,R.,& Sheikhzadeh,N. 2011Dietary administration of beta-mercapto-ethanol treated *Saccharomyces cervisiae* enhanced the growth ,innate immune response and disease.Fish & Shellfish Immunology 30,923-928.

22-Torrecillas S. Makol A. caballero , M.J. Montero, D. Robaina, L. Real F & Sweetman J 2010 immune stimulation and improved infection resistance in European sea bass *(Dicentrarchus labrax*) fed mannan oligosaccharides. Fish Shellfish immunol, 23 , 969-981

23-Verdegem,M.C.j., Hilbrands, A.D.,Boon ,j.H 1997.Influence of salinity and dietary

hybrid red tilapia(*Oreochromis niloticus* & *Oreochromis.mossambicus*).Aquacult.Res.28: 453-459.

24_Welker,T.,Lim,C.,YildirimAksoy,M.,Shelby,R.and Klesius,P.G.,2007.Immune response and composition on blood parameter values of resistance to stress and *Edwardsiella ictaluri* Challenge in channel catfish,*ictalurus punctatus*,fed diets containing commercial whole-cell yeast or yeast subcomponets.journal of the world Aquaculture Society.38(1):24-35.

Assessing of blood factors and immune of Oscar fry(*Astronotus ocellatus*) fed up with Napoli Artemia enriched with MOS prebiotic and effect cell wall of yeast(*Saccharomyces cervisiae*)

Zamini A.[(1)]; Samie Amlashi F.[(2)*]

Faezeh_Samie@yahoo.com

1-Assistant professor and faculty member of the department of fishery group at Islamic Azad University,Lahijanbranch,Iran,P.O.Box:1616.

2-IT,Young Researchers and Elite club,Lahijan Branch,Islamic Azad University ,Lahijan,Iran.

Received: October 2013 Accepted: January2013

Abstract

This research was performed in June of 2012 in research center and technology fishery Dktr kyvan in Bndrchmkhalh the aim to determine the effect of different levele MOS prebiotic and Yeast cell wall on blood factors and immune of Oscar(Astronotus ocellatus) fingerlings for 8 weeks. after one week adaptating with cultural condition, 100 Oscar fingerling with weight average of 0/35 gr randomly to 4 aquarium for 8 week with attention to water temperature according to 10% of biomass fed.in this experiment with enrichment artemia nauplii with MOS prebiotic in tree experimental treatments 250,500.750 mg/l and one control group (each with 3 replicates) 3 weeks Equivalent to 21 days the Oscar fish was feeding and the beginning of the fourth week to the end of the eighth week too with add Saccharomyces serevisiae prebiotie the tree treatments 1%,2% and 3% and one control group (each with 3 replicates) the feed opening Oscar fingerling with name Biomar was designed. at the end of trial White Blood Cells (W.B.C) and Red Blood Cells (R.B.C), Hematocrit, Hemoglobin, Neutrophils and Monocytes between treatments and control group significant difference was observed and in all treatments there is a significant increase compared to control ,but Lymphocyte in control group was most of the all treatments .($P\leq0.05$). blood factors like MCH,MCV, MCHC and Investigated Eosinophils between treatments and control group significant difference was not observed. ($P<0.05$). in survey immune factors Serum lysozyme, IGM in all treatments was higher than the control group and had Statistically significant difference Compared to the control group. ($P>0.05$). Total Immunoglobulin between treatments significant difference was observed and in treatments 1,3% was higher of control group and treatment 2%.

Keywords: Oscar fish(*Astronotus ocellatus*), Saccharomyces serevisiae prebiotic, Mannan

*Corresponding author