JVM Journal of Veterinary Microbiology

نشریه میکربیولوژی دامپزشکی/ دوره چهاردهم، شماره دوم، ۱۳۹۷، پیاپی ۳۷: ۱۲۱-۱۰۹

تأثیر پری‌بیوتیک دیواره سلولی مخمر *Saccharomyces cerevisia* بر شاخص‌های خون‌شناختی و آنزیم‌های کبدی بچه ماهیان انگشت قد کپور معمولی (*Cyprinus carpio* Linnaeus. 1758)

حجت‌الله جعفریان*[۱]، محمدرضا بیواره[۲]، سمیرا جعفریان[۳]

۱- دانشیار گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبدکاووس، بخش آبزی‌پروری، گنبدکاووس، ایران

۲- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبدکاووس، گنبد کاووس، ایران

۳- دانشجوی دکتری گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبدکاووس، گنبد کاووس، ایران

تاریخ دریافت: ۹۶/۲/۱ تاریخ پذیرش: ۹۷/۲/۱

چکیده

مطالعه حاضر باهدف بررسی تأثیر سطوح مختلف پری‌بیوتیک دیواره سلولی مخمر *Saccharomyces cerevisiae* بر برخی از شاخص‌های خون‌شناختی و آنزیم‌های کبدی بچه ماهیان انگشت قد کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) انجام شد. بدین منظور تعداد ۶۰۰ قطعه بچه ماهی کپور معمولی با میانگین وزنی ۰/۸۵±۵/۱ گرم تهیه و پس از انتقال به آزمایشگاه با گذراندن یک دوره یک‌هفته‌ای جهت سازگاری با شرایط جدید، به‌طور تصادفی در ۱۲ مخزن پلی‌اتیلنی با تراکم ۵۰ قطعه بچه ماهی در هر تیمار توزیع و طی مدت ۶۰ روز، در قالب چهار جیره آزمایشی حاوی سطوح صفر (شاهد)، (F1) ۰/۴، (F2) ۰/۸ و (F3) ۱/۲ گرم پری‌بیوتیک در هر کیلوگرم جیره غذایی به‌طور جداگانه در چهار تیمار هرکدام با سه تکرار تغذیه شدند. در انتهای دوره، مقایسه آماری نتایج به‌دست‌آمده از نمونه‌های خون جمع‌آوری‌شده از ۱۵ عدد ماهی به‌ظاهر سالم (با میانگین وزنی ۱/۳±۲۵) موجود در هر مخزن به روش خون‌گیری از ساقه دمی نشان داد، با این‌که پری‌بیوتیک دیواره سلولی مخمر تأثیری در تعداد مونوسیت، لنفوسیت و حجم متوسط گلبولی نداشت ($p>0/05$)، اما باعث ایجاد اختلاف معنی‌دار در تعداد گلبول‌های سفید، گلبول‌های قرمز، میزان هموگلوبین، درصد هماتوکریت، میزان متوسط هموگلوبین گلبولی، غلظت متوسط هموگلوبین گلبولی قرمز و تعداد نوتروفیل در نمونه‌های خون بچه ماهیان انگشت قد کپور معمولی در تیمارهای آزمایشی در مقایسه با تیمار شاهد شد ($p<0/05$)؛ همچنین بررسی آنزیم‌های کبدی نیز اختلاف معنی‌داری در میزان فعالیت آنزیم‌های آلانین آمینوترانسفراز و آلکالین فسفاتاز در تیمارهای حاوی پری‌بیوتیک در مقایسه با تیمار شاهد نشان داد ($p<0/05$)، درحالی‌که تجزیه و تحلیل‌های آماری هیچ‌گونه تأثیر معنی‌داری بین مقادیر آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز در تیمارهای آزمایشی و تیمار شاهد نشان ندادند ($p>0/05$). بر اساس این نتایج می‌توان این چنین بیان نمود که استفاده از پربیوتیک دیواره سلولی مخمر *S. cerevisiae* در جیره‌های غذایی بچه ماهیان انگشت قد کپور معمولی دارای عملکردهای متفاوتی بر شاخص‌های خون‌شناختی بوده و احتمالاً دارای اثرات تقویت‌کننده سیستم ایمنی غیراختصاصی در این‌گونه می‌باشد.

کلمات کلیدی: پری‌بیوتیک، مخمر، شاخص‌های خون‌شناختی، آنزیم‌های کبدی، کپور معمولی.

* نویسنده مسئول: حجت الله جعفریان

آدرس: گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبدکاووس، بخش آبزی‌پروری، گنبدکاووس، ایران. تلفن: ۰۹۱۱۱۷۶۶۷۹۸

پست الکترونیک: Hojat.Jafaryan@gmail.com

مقدمه

استفاده بی‌رویه از آنتی‌بیوتیک‌ها به‌عنوان یک ماده افزودنی در جیره غذایی آبزیان جهت کنترل و پیشگیری بیماری‌های شایع به‌خصوص در کشورهای درحال‌توسعه عوارضی همچون مسائل زیست‌محیطی (۴)، حساسیت‌زایی در انسان، سمیت ناشی از پسماندهای آنتی‌بیوتیکی و مهم‌تر از همه مقاوم شدن عوامل بیماری‌زا را ایجاد نموده است (۶). این درحالیست که توسعه روزافزون آبزی‌پروری در بسیاری از مناطق دنیا منجر به افزایش تقاضا در به‌کارگیری افزودنی‌های غذایی مختلف برای مکمل سازی جیره‌های غذایی شده است. به‌طوری‌که در طول سال‌های اخیر استفاده از این ترکیبات و مکمل‌های غذایی که در بالا بردن سلامت موجود زنده و کارایی تغذیه آن‌ها نقش دارند، همواره تحت مطالعات دقیق قرارگرفته تا ازنظر جنبه‌های مختلف اقتصادی و دامنه سلامتی طبقه‌بندی و در آبزی‌پروری مورداستفاده قرار گیرند (۱ و ۲۱)، ازجمله این ترکیبات می‌توان به پری-بیوتیک، پروبیوتیک و سین بیوتیک‌ها اشاره کرد. پری-بیوتیک‌ها ترکیبات غذایی غیرقابل‌هضمی برای میزبان هستند که از طریق تحریک رشد و فعالیت یک یا تعداد محدودی از باکتری‌های موجود در روده اثرات سودمندی بر میزبان داشته و سلامت آنرا بهبود می‌بخشند (۲۴).

با توجه به مشکلات مربوط به بروز بیماری‌های مختلف در طول سال‌های اخیر در صنعت پرورش کپور ماهیان و ظهور تلفات عظیم اقتصادی در این حوضه (۱۷) و اهمیت بررسی پارامترهای خون‌شناختی به‌عنوان ابزاری ارزشمند جهت بررسی وضعیت فیزیولوژیکی، استرس، سوخت‌وساز سلولی، و سلامت گونه‌های آبزی (۴۱ و ۴۳) و نقش مهم آنزیم‌های کبدی و وضعیت آن‌ها در سرم خون به‌عنوان شاخصی جهت پایش وضعیت سلامت و عملکرد بهینه کبد (۲۵ و ۳۹) که می‌توانند به شکل مؤثری تحت تأثیر متابولیت‌های حاصل از تخمیر پری‌بیوتیک‌ها ازجمله اسیدهای چرب زنجیره کوتاهی که از طریق خون از روده به کبد انتقال داده شوند (۱۸). و نبود اطلاعات کافی در زمینه تأثیر پری-بیوتیک‌ها بر پارامترهای خون‌شناختی کپور ماهیان بخصوص در مراحل اولیه زیست آن‌ها مطالعه حاضر باهدف بررسی تأثیر پری‌بیوتیک دیواره سلولی مخمر *S. cerevisiae* با توجه به اثرات محدود کننده این پربیوتیک بر عوامل بیماری‌زا و اثرات غیرمستقیم آن بر سلامت میزبان از طریق کمک به افزایش جمعیت میکربی مفید روده (۲) بر پروفایل هماتولوژی و وضعیت آنزیم‌های کبدی بچه ماهیان انگشت قد کپور معمولی در طی یک دوره پرورش ۶۰ روزه مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روش کار

انجام آزمایش

مطالعه حاضر طی ماه‌های تیر و مرداد سال ۱۳۹۵، به مدت ۶۰ روز در آزمایشگاه آبزی‌پروری دانشگاه گنبدکاووس انجام شد. بدین منظور، برای شروع کار تعداد ۶۰۰ قطعه بچه ماهی کپور معمولی (*C. carpio*) که ازنظر شرایط ظاهری سالم به نظر می‌رسیدند، با میانگین وزنی ۰/۸۵±۵/۱ گرم از مرکز تکثیر و پرورش ماهیان گرمابی شهید چمران (گلستان، ایران) تهیه و پس از انتقال به آزمایشگاه باگذشت یک دوره یک‌هفته‌ای جهت آداپتاسیون بچه ماهیان به شرایط جدید و جیره پایه، به‌صورت تصادفی در ۱۲ مخزن مدور از جنس پلی‌اتیلن با ظرفیت ۲۰ لیتر و حجم آبگیری ۱۶ لیتر با تراکم ۵۰ قطعه بچه ماهی در هر تکرار (۳-۲ قطعه در هر لیتر) توزیع شدند. لازم به ذکر است آب

مورداستفاده برای پرورش بچه ماهیان در طول دوره پرورش ازنقطه‌نظر اکسیژن محلول، قابلیت هدایت الکتریکی، شوری، pH و کدورت با استفاده از دستگاه واترچکر HANNA مدل HI 83200، به‌صورت روزانه و دمای آب با استفاده از دماسنج جیوه‌ای به‌صورت روزانه سه مرتبه و قبل از غذادهی مورد پایش قرار گرفت که نتایج به‌دست‌آمده در قالب مقادیر میانگین در جدول-۱ ارائه‌شده است. همچنین در طول دوره آزمایش به‌منظور هوادهی و تأمین نیاز اکسیژنی بچه ماهیان نیز در هریک از مخازن یک عدد سنگ هوا که به منبع هواده الکتریکی (مدل Haila) متصل بود قرار داده شد.

جدول ۱- دامنه تغییرات پارامترهای کیفی آب مخازن پرورش بچه ماهیان کپور معمولی در طول دوره آزمایش

اکسیژن محلول (mg/L)	قابلیت هدایت الکتریکی (mµ/s)	شوری (mg/L)	کدورت (NTU)	دما (C°)	pH
۷/۶±۰/۶۹	۸۴۱/۲۴±۷۸/۵۷	۵۲۶±۴۲/۳۶	۷/۴±۰/۷۲	۲۵/۶±۱/۴۲	۷/۶±۰/۱۴

تیمارهای مورد استفاده

به‌منظور تغذیه بچه ماهیان در تیمارهای مورد استفاده در تحقیق حاضر از چهار نوع جیره مختلف شامل یک تیمار شاهد بدون افزودن پری‌بیوتیک و سه تیمار آزمایشی به ترتیب حاوی ۰/۴ گرم پری‌بیوتیک تحت عنوان تیمار F1، ۰/۸ گرم پری‌بیوتیک تحت عنوان تیمار F2 و ۱/۲ گرم پری‌بیوتیک تحت عنوان تیمار F3 به ازای هر کیلوگرم جیره غذایی با سه تکرار برای هر تیمار طی یک دوره پرورش ۶۰ روزه مورد استفاده قرار گرفت.

پری‌بیوتیک مورد استفاده

پربیوتیک مورد استفاده در مطالعه حاضر، دیواره سلولی مخمر *S. cerevisiae* تهیه شده از شرکت Arm & Hammer Animal Nutrition Co. (USA) است که مهم‌ترین اجزاء تشکیل‌دهنده آن می‌توان به الیگوساکایدهای مانان (MOS)، فروکتوز (FOS) و بتاگلوکان (β-Glucan) اشاره کرد. این پری‌بیوتیک از محتویات مخمر *S. cerevisiae* سویه 1077 I و محیط کشت حاوی سوکورز، ملاس و عصاره ذرت تشکیل شده و حاوی ۳۸-۲۳٪ پروتئین، ویتامین‌های گروه B و انواع اسیدهای آمینه و مواد معدنی است.

تهیه و آماده‌سازی جیره‌های غذایی

به‌منظور آماده‌سازی جیره‌های غذایی ابتدا مقدار غذای مورد نیاز برای کل دوره پرورش (۶۰ روز) برای هر تیمار (غذای کنسانتره تهیه‌شده از شرکت تولیدی فرادانه (تهران) در سایز آغازین شامل ۴۱-۳۸ درصد پروتئین خام، ۸-۴ درصد چربی خام، ۶-۳ درصد فیبر خام، ۱۱-۷ درصد خاکستر، ۱۱-۵ درصد رطوبت و ۱/۵-۱ درصد فسفر) توزین گردید. سپس مقدار پری-بیوتیک محاسبه‌شده برای هر تیمار با یک کیلوگرم غذا مخلوط و با اضافه نمودن مقدار مشخصی آب مقطر (۴۰ mL) غذا به حالت خمیری تبدیل شد. سپس با استفاده از دستگاه چرخ‌گوشت با اندازه چشمه ۰/۸(mm) خمیر آماده شده به رشته‌های بلند تبدیل‌شده (۱۶) و به مدت ۵ ساعت درون انکوباتور در دمای ۴۰C° خشک شده (۲۰) و در اندازه مناسب به‌صورت پلت تهیه شدند. در پایان جیره‌ها در بسته‌های مناسب بسته‌بندی و تا زمان استفاده در فریزر با دمای ۲۰C°- نگهداری شدند. مقدار غذای روزانه مورد نیاز بچه ماهیان با توجه درصد وزن بدن (توده زنده) محاسبه و در سه نوبت صبح (۸) ظهر (۱۴) و شب (۲۰) به میزان ۵ درصد وزن بدن و تا حد سیری در اختیار بچه ماهیان

قرار می‌گرفت (۲۷ و ۴۶). عمل سیفون کردن نیز به شکل روزانه انجام و باقیمانده غذا و مدفوع ماهی‌ها از مخازن خارج می‌گردید.

نمونه‌برداری و خون‌گیری

در پایان دوره آزمایش، خون‌گیری از بچه ماهیان به‌منظور بررسی‌های خون‌شناختی و بیوشیمیایی انجام شد. بدین منظور به جهت جلوگیری از بروز استرس در بچه ماهیان، ۲۴ ساعت قبل از انجام عملیات خون‌گیری تغذیه بچه ماهیان به‌طور کامل قطع شد. سپس بچه ماهیان با استفاده از مقدار ppm ۲۰۰ پودر گل میخک (۴۲) به‌طور کامل بیهوش شدند. در ادامه از ۱۸۰ قطعه بچه ماهی به‌ظاهر سالم (۱۵ عدد از هر تکرار) با میانگین وزنی ۱/۳±۲۵ گرم که به‌طور تصادفی انتخاب شده بودند، مقدار ۲ سی‌سی خون از طریق ورید ساقه دمی گرفته شد. لازم به ذکر است قبل از انجام خون‌گیری به‌منظور جلوگیری از ورود موکوس و آب به نمونه‌های خون، سطح بدن بچه ماهیان به‌طور کامل خشک شد. از هر نمونه خون جمع‌آوری‌شده به‌صورت تقریباً مساوی معادل ۱ سی‌سی به لوله‌های سرولوژی فاقد ماده ضد انعقاد برای جداسازی سرم و سنجش آنزیم‌های کبدی و مقدار ۱ سی‌سی به ظروف حاوی ماده ضد انعقاد هپارین انتقال یافت. برای جداسازی سرم تیوپ‌های حاوی خون بدون هپارین به مدت ۲۴ ساعت در یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند. پس از ته‌نشین شدن لخته، نمونه‌های خون برای جداسازی پلاسما درون دستگاه سانتریفیوژ مدل eppendorf 5415D ساخت کشور آلمان با سرعت ۳۰۰۰ دور در ثانیه (rpm) به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند. درنهایت سرم از لخته جدا و به تیوپ‌های جدید منتقل و تا زمان شروع آزمایشات مربوط به بررسی پارامترهای بیوشیمیایی سرم خون در شرایط فریزر (در دمای ۲۰ – درجه سانتی‌گراد) نگه‌داری شدند.

سنجش پارامترهای خونی

آزمایشات خون‌شناختی روی خون حاوی ماده ضد انعقاد هپارین انجام گرفت. در این مطالعه کل گلبول‌های قرمز (RBC) و کل گلبول‌های سفید (WBC) به روش دستی از طریق لام هموسیتومتر نئوبار و میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی ۴۰۰ پس از رقیق‌سازی خون به‌وسیله بافر فسفات نمکی انجام شد. درصد هماتوکریت (PCV) به روش متداول میکروهماتوکریت با استفاده از لوله‌های موئین میکروهماتوکریت و دستگاه سانتریفیوژ، و میزان هموگلوبین (Hb) به روش سیانومت هموگلوبین معین شد. میزان حجم متوسط گلبولی (MCV)، هموگلوبین متوسط گلبولی (MCH) و غلظت متوسط هموگلوبین گلبول‌های قرمز (MCHC) خون نیز از طریق فرمول‌های مربوطه اندازه‌گیری شدند (۱۱). همچنین شمارش افتراقی گلبول‌های سفید شامل مونوسیت، نوتروفیل (هتروفیل) و لنفوسیت نیز با تهیه گسترش خون و طبق روش توصیه‌شده توسط بورگز و همکاران (۲۰۰۴) انجام شد (۱۴).

$$MCV = (Hct \times ۱۰۰۰) / RBC\ (۱۰^{۶} mm^{-۳})$$

$$MCH = Hb\ (gdl^{-۱}) / RBC\ (۱۰^{۶}\ mm^{-۳})$$

$$MCHC = Hb / Hct$$

سنجش آنزیم‌های کبدی

سنجش آنزیم‌های سرمی کبد با استفاده از دستگاه Autoanalyser طبق دستورالعمل شرکت سازنده با استفاده از کیت‌های آزمایشگاهی از نوع Biochemical شرکت پارس آزمون انجام شد. سنجش آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) و آلانین آمینوترانسفراز (AST) به روش رنگ سنجی کینتیک و

آلکالین فسفاتاز (ALP) به روش آنزیماتیک کینتیک صورت گرفت (۳۹).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

تحقیق حاضر در قالب یک طرح کاملاً تصادفی برنامه‌ریزی و اجرا شد. تجزیه و تحلیل آماری داده‌های به‌دست‌آمده شامل محاسبه میانگین، انحراف معیار، آنالیز رگرسیون و ضرایب همبستگی با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS(v.19) انجام شد. بطوریکه برای مقایسه واریانس تیمارها از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA one-way) و برای بررسی اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن (Duncans Multiple Range test) استفاده شد و مقادیر $p<۰/۰۵$ معنی‌دار تلقی گردید. همچنین به‌منظور تعیین همبستگی بین شاخص‌های خونی اندازه‌گیری شده و سطوح مختلف پری‌بیوتیک مورد استفاده نیز از آزمون رگرسیون خطی استفاده شد.

نتایج

تأثیر پری‌بیوتیک دیواره سلولی مخمر *Saccharomyces cerevisiae* بر پارامترهای خون‌شناختی

جدول-۲ تأثیر جیره‌های غذایی مکمل سازی شده توسط سطوح مختلف پری‌بیوتیک دیواره سلولی مخمر *S. cerevisiae* را بر برخی از پارامترهای خون‌شناختی اندازه‌گیری شده در بچه ماهیان انگشت قد کپور معمولی نشان می‌دهد. مطابق نتایج به‌دست‌آمده مشخص شد که افزودن پری‌بیوتیک تأثیر معنی‌داری بر میزان حجم متوسط گلبولی (MCV) و تعداد مونوسیت و لنفوسیت در تیمارهای آزمایشی در مقایسه با تیمار شاهد نداشته است ($p>۰/۰۵$). اما تعداد گلبول‌های سفید و قرمز خون در تیمار حاوی ۱/۲ گرم پری‌بیوتیک (F3) در مقایسه با تیمار شاهد از افزایش معنی‌داری برخوردار بوده است ($p<۰/۰۵$). همچنین اندازه‌گیری میزان هموگلوبین و درصد هماتوکریت خون بچه ماهیان انگشت قد کپور معمولی نشان داد که استفاده از این پری‌بیوتیک باعث کاهش معنی‌داری سطح این شاخص‌ها در تیمارهای دریافت‌کننده پری‌بیوتیک در مقایسه با تیمار شاهد شده است ($p<۰/۰۵$). با اندازه‌گیری میزان متوسط هموگلوبین گلبولی (MCH) خون بچه ماهیان نیز در پایان دوره غذادهی در تیمارهای شاهد، F1، F2 و F3 سطح این شاخص در این تیمارها به ترتیب معادل ۷۳/۹، ۷۳، ۷۱/۹۵ و ۴۴/۳۵ پیکوگرم به دست آمد. بر اساس این نتایج بالاترین سطح این شاخص در تیمار شاهد و کمترین مقدار آن در تیمار F3 مشاهده شد ($p<۰/۰۵$). همچنین سطح این شاخص در تیمار F2 نیز در مقایسه با تیمار شاهد کاهش معنی‌داری نشان داد ($p<۰/۰۵$). بررسی نتایج به‌دست‌آمده به‌صورت درون‌گروهی نیز نشان‌دهنده کاهش سطح این شاخص همراه با افزایش سطح پری-بیوتیک در جیره غذایی بچه ماهیان بود. اندازه‌گیری میزان غلظت متوسط هموگلوبین گلبولی (MCHC) خون بچه ماهیان انگشت قد کپور معمولی نیز در تیمار F3 در مقایسه با سایر تیمارها افزایش معنی‌داری نشان داد ($p<۰/۰۵$). بالاترین سطح این شاخص معادل ۳۳/۱ درصد در تیمار F3 و کمترین مقدار آن معادل ۳۲/۷۰ درصد در تیمار F2 ثبت شد. همچنین آنالیز لکوسیت‌های خون بچه ماهیان در انتهای دوره پرورش نیز بیشترین تعداد نوتروفیل را در تیمار حاوی ۱/۲ گرم پری‌بیوتیک (F3) نشان داد که در مقایسه با سایر تیمارهای آزمایشی و تیمار شاهد از اختلاف معنی‌داری برخوردار بود ($p<۰/۰۵$).

بررسی نتایج حاصل از آنالیز رگرسیون خطی نیز نشان داد که همبستگی مثبت و معنی‌داری بین افزایش سطح

پری‌بیوتیک جیره و تعداد گلبول‌های سفید (P=۰/۰۰۲؛ r=۰/۷۹۸)، تعداد گلبول‌های قرمز (P=۰/۰۰۵؛ r=۰/۷۵۴) و تعداد نوتروفیل ها (P=۰/۰۰۲؛ r=۰/۷۹۶) وجود داشت، اما در خصوص میزان هموگلوبین (P=۰/۰۰۶؛ r= −۰/۷۳۷)، هماتوکریت (P=۰/۰۰۱؛ r= −۰/۸۳۳) و هموگلوبین متوسط گلبولی (P=۰/۰۰۱؛ r= −۰/۸۰۸) همبستگی مشاهده‌شده منفی و معنی‌داری بود.

تأثیر پری‌بیوتیک دیواره سلولی مخمر *Saccharomyces cerevisiae* بر آنزیم‌های کبدی

مقادیر برخی از آنزیم‌های سرمی خون بچه ماهیان انگشت قد کپور معمولی تغذیه‌شده با سطوح مختلف پری‌بیوتیک در جدول-۳ ارائه‌شده است. نتایج به‌دست‌آمده نشان‌دهنده افزایش معنی‌دار میزان فعالیت آنزیم‌های آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و آلکالین فسفاتاز (ALP) در تیمار حاوی ۱/۲ گرم پری‌بیوتیک در مقایسه با سایر تیمارهای آزمایشی و تیمار شاهد بود ($p<۰/۰۵$)، اما در خصوص میزان فعالیت آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای حاوی پربیوتیک و تیمار شاهد مشاهده نشد ($p>۰/۰۵$). ضمن آنکه بررسی نتایج به‌دست‌آمده به‌صورت درون‌گروهی نشان داد که با افزایش سطح پربیوتیک در جیره غذایی میزان فعالیت آنزیم ALT سرم خون نیز در تیمارهای آزمایشی روندی صعودی داشته است. بطوریکه کمترین میزان فعالیت این آنزیم معادل (IU/L) ۱۸/۵ در تیمار F1 و بالاترین میزان فعالیت آن معادل (IU/L) ۴۳ در تیمار F3 ثبت شد. نتایج حاصل از آنالیز رگرسیون خطی نیز تنها حاکی از وجود همبستگی مثبت و معنی‌دار (P=۰/۶۶۵؛ r=۰/۰۱۸) بین افزایش سطح پری‌بیوتیک جیره و مقادیر آنزیم آلکالین فسفاتاز بود.

جدول ۲- تأثیر سطوح مختلف پری‌بیوتیک دیواره سلولی مخمر *S. cerevisiae* بر شاخص‌های خون‌شناختی بچه ماهیان انگشت قد کپور معمولی

شاخص‌های خونی	گروه شاهد (فاقد پربیوتیک)	F_1 g/Kg۰/۴	F_2 g/Kg ۰/۸	F_3 g/Kg ۱/۲
گلبول سفید (هزار در میلی‌متر مکعب)	^{c}۵/۵±۲/۰	^{b}۶/۰±۱/۰	^{b}۵/۸±۱/۰	^{a}۶/۲ ±۲/۵
گلبول قرمز (میلیون در میلی‌متر مکعب)	^{b}۱/۲۱±۰/۰۰۵	^{c}۱/۲۰±۰/۰۰۶	^{d}۱/۱۸±۰/۰۰۱	^{a}۱/۹۷±۰/۰۰۲
هموگلوبین (گرم در دسی لیتر)	^{a}۹/۲±۰/۱	^{b}۸/۸±۰/۱	^{c}۸/۵±۰/۰۵	^{b}۸/۶۵±۰/۰۵
هماتوکریت (درصد)	^{a}۲۷/۳۵±۰/۱۵	^{b}۲۶/۷±۰/۴	^{c}۲۶/۱۵±۰/۰۵	^{ab}۲۶/۴±۰/۱
حجم متوسط گلبولی (فمتولیتر)	^{a}۹۵/۵±۰/۱۵	^{a}۹۵±۱	^{a}۹۴/۵±۰/۵	^{a}۹۴/۷۵±۰/۲۵
متوسط هموگلوبین گلبولی (پیکوگرم)	^{a}۷۳/۹±۰/۵	^{a}۷۳±۰/۴	^{b}۷۱/۹۵±۰/۳۵	^{c}۴۴/۳۵±۰/۱۵
غلظت متوسط هموگلوبین گلبولی قرمز (درصد)	^{ab}۳۲/۹۰ ±۰/۲	^{ab}۳۲/۹۵±۰/۱۵	^{b}۳۲/۷۰±۰/۱	^{a}۳۳/۱ ±۰/۲۵
لنفوسیت. (میلیون در میلی‌متر مکعب)	^{a}۴/۵۳±۰/۲۱	^{a}۴/۷۶±۰/۱۱	^{a}۴/۷۱±۰/۰۱	^{a}۴/۷۵±۰/۱۰
مونوسیت (میلیون در میلی‌متر مکعب)	^{a}۰/۲۶±۰/۰۲	^{a}۰/۲۹±۰/۰۵	^{a}۰/۲۷±۰/۰۱	^{a}۰/۲۸±۰/۰۱
نوتروفیل (میلیون در میلی‌متر مکعب)	^{c}۱/۹۲±۰/۰۲	^{b}۲/۱۴	^{c}۲±۰/۰۹	^{a}۳/۲۲±۰/۱۱

*حروف مشابه در هر ردیف بیانگر نبود اختلاف معنی‌دار است

جدول ۳- تأثیر سطوح مختلف پری‌بیوتیک دیواره سلولی مخمر *S. cerevisiae* بر آنزیم‌های کبدی بچه ماهیان انگشت قد کپور معمولی

تیمار / پارامتر	شاهد (فاقد پربیوتیک)	F_1 g/Kg۰/۴	F_2 g/Kg ۰/۸	F_3 g/Kg ۱/۲
AST (IU/L)	^{a}۳۸۷/۵±۸۲/۵	^{a}۲۴۳/۵±۲۸/۵	^{a}۲۸۷/۵±۶۲/۵	^{a}۳۵۳±۱۴۰
ALT (IU/L)	^{ab}۳۱±۴	^{b}۱۸/۵±۰/۵	^{b}۲۴±۳	^{a}۴۳±۱۴
ALP (IU/L)	^{b}۲۵±۱۸	^{ab}۱۰۷/۵±۴۵/۵	^{ab}۸۵/۵±۱۵/۵	^{a}۱۷۸/۵±۲۰/۵

*حروف مشابه در هر ردیف بیانگر نبود اختلاف معنی‌دار است

بحث و نتیجه‌گیری

بررسی شاخص‌های خونی همواره به‌عنوان ابزاری مفید برای نظارت بر رشد و سلامت آبزیان مطرح بوده‌اند که توسط عوامل داخلی و خارجی مختلفی مانند میزان سوخت‌وساز بدن، درجه حرارت آب، تغذیه و دیگر شرایط تحت تأثیر قرار می‌گیرند (۱۲). امروزه به‌منظور افزایش مقاومت در برابر ابتلا به بیماری‌های مختلف و کاهش میزان مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها، افزودن محرک‌های ایمنی به غذا به امری رایج تبدیل‌شده است. این افزودنی‌ها موجب فعال شدن گلبول‌های سفید و افزایش سلامت روده در موجود میزبان می‌شوند (۳۵).

شاخص‌های مربوط به بررسی‌های خون‌شناختی مانند شمارش تعداد گلبول‌های سفید، تعداد گلبول‌های قرمز و لکوسیت‌ها یکی از بخش‌های اصلی سیستم ایمنی غیراختصاصی سلول‌اند که نوسان در تعداد آن‌ها می‌تواند به‌منزله شاخصی مناسب در زمینه پاسخ ماهیان به عوامل استرس‌زا مطرح باشد (۴۱)، بنابراین ازجمله ارزیابی‌هایی که بایستی پس از به‌کارگیری محرک‌های ایمنی انجام داد، شمارش تعداد کل لکوسیت‌ها و اریتروسیت‌ها و میزان سنتز لنفوسیت‌ها در خون موجودات مورد آزمایش است (۹). در این رابطه، نتایج آماری به‌دست‌آمده در خصوص بررسی پارامترهای خون شناختی و آنزیم‌های سرمی خون بچه ماهیان انگشت قد کپور معمولی در مطالعه حاضر نشان داد که استفاده از مخمر *S. cerevisiae* به دلیل دارا بودن ترکیبات تحریک‌کننده ایمنی از قبیل بتاگلوکان، اسیدهای نوکلئیک و همچنین الیگوساکاریدهای مانان (۲۸)، باعث افزایش معنی‌دار تعداد گلبول‌های سفید، گلبول‌های قرمز، نوتروفیل و درصد غلظت متوسط هموگلوبین گلبولی (MCHC) در تیمارهای حاوی پری‌بیوتیک بخصوص تیمار F3 در مقایسه با تیمار شاهد گردید. لازم به ذکر است اگرچه تعداد گلبول‌های قرمز در تیمار F3 در سطح ۱/۲ گرم پری‌بیوتیک در مقایسه با تیمار شاهد از افزایش معنی‌داری برخوردار بود، اما سطح این شاخص در تیمارهای F1 و F2 که به ترتیب حاوی مقادیر ۰/۴ و ۰/۸ گرم پری‌بیوتیک در هر کیلوگرم جیره غذایی بودند در مقایسه با تیمار شاهد کاهش معنی‌داری را نشان دادند.

در توجیه افزایش معنی‌دار تعداد گلبول‌های سفید در مطالعه حاضر در تیمارهای تحت تأثیر پری‌بیوتیک در مقایسه با تیمار شاهد می‌توان گفت در پاسخ به استرس‌های موجود در محیط آبی، کاهش تعداد این سلول‌ها می‌تواند بیانگر سرکوب سیستم ایمنی و افزایش تعداد آن‌ها نشان‌دهنده پاسخ به استرس یا عفونت باشد (۷). درواقع تعداد کل گلبول‌های سفید و نوع آن‌ها از طریق تأثیر در عمل فاگوسیتوز و کمک به تولید آنتی‌بادی‌ها می‌تواند نقش عمده‌ای در بهبود سطح دفاع غیراختصاصی بدن داشته باشند (۳۶). با توجه به نقش گلبول‌های قرمز در انتقال اکسیژن از طریق هموگلوبین، مشاهده افزایش معنی‌دار در تعداد این سلول‌ها در تیمار F3 را نیز می‌توان پاسخی به تقاضای بالای نیاز اکسیژنی موجود زنده برای دست‌یابی به سطح اکسیژن بیشتر جهت انجام سوخت‌وساز بالاتر در بدن (۴۷، ۳۷) و همچنین افزایش ظرفیت حمل اکسیژن و کمک به پایداری انتقال گازها در بافت خون (۲۲) نسبت داد. ضمن آنکه بررسی این سلول‌ها به‌عنوان شاخص در معرض قرارگیری مواد سمی نیز مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱۳ و ۲۶). در خصوص کاهش معنی‌دار تعداد این سلول‌ها همانند تعداد گلبول‌های سفید در تیمارهای F1 و F2 در مقایسه با تیمار شاهد، این کاهش می‌تواند به دلیل افت

سنتز و یا تخریب این سلول‌ها باشد (۳۰). ضمن آنکه بایستی به این موضوع نیز توجه داشت که سرعت حرکت ماهی، مرحله رسیدگی جنسی، فعالیت زیاد و شکل بدن نیز با تعداد گلبول‌های قرمز خون ارتباط دارد (۳۷). بطوریکه با افزایش سن، طول، مرحله جنسی و تغذیه ماهی تعداد گلبول‌های قرمز خون نیز افزایش میابد (۲۳). با توجه به اینکه یکی از وظایف عمده نوتروفیل‌ها، افزایش در پاسخ به استرس، عفونت‌های باکتریایی، پرتوزایی و التهاب، است (۴۳)؛ به علت وجود ترکیبات غیرمغذی مهم ازجمله: مانوپروتئین‌ها، بتاگلوکان، کیتین (۱۵) و اسیدهای نوکلئیک (۳۴)، در ساختار دیواره سلولی مخمر *S. cerevisiae*، افزایش تعداد نوتروفیل‌ها در مطالعه حاضر متعاقب مصرف این محرک پری‌بیوتیکی را می‌توان به علت حضور این ترکیبات در ساختار این پری‌بیوتیک بخصوص بتاگلوکان، به علت توانایی این ترکیبات در شناسایی گیرنده‌های ویژه در سطح گلبول‌های سفید خون نسبت داد (۱۰). بطوریکه وقتی این گیرنده‌ها توسط گلوکان‌ها اشغال می‌شوند، فعالیت گلبول‌های سفید خون در احاطه کردن، کشتن و هضم باکتری‌های بیماری‌زا نیز افزایش می‌یابد (۱۰). در تائید نتایج به‌دست‌آمده در مطالعه حاضر، امانی دنجی و همکاران (۱۳۹۴) گزارش دادند که استفاده از ۱ گرم پری-بیوتیک مانان الیگوساکارید در جیره غذایی بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) باعث افزایش معنی‌دار تعداد گلبول‌های سفید در مقایسه با تیمار شاهد می‌گردد (۳). همچنین سلواراج و همکاران (۲۰۰۵) نیز گزارش دادند که استفاده از گلوکان به دست آمد از مخمر *S. cerevisiae* به‌عنوان یک تحریک‌کننده ایمنی، اثرات مثبتی بر پارامترهای خونی داشته و باعث افزایش معنی‌دار تعداد گلبول‌های سفید، گلبول‌های قرمز و نوتروفیل‌ها در بچه ماهیان انگشت قد کپور معمولی می‌گردد (۳۸). اعتصامی پور و همکاران (۲۰۱۴) نیز در مطالعه خود گزارش دادند که استفاده از سطوح مختلف پری‌بیوتیک دیواره سلولی مخمر (*S. cerevisiae*) در جیره غذایی بچه ماهیان جوان قزل‌آلای رنگین‌کمان اثرات مثبت و معنی‌داری در افزایش تعداد گلبول‌های سفید و قرمز خون دارد (۱۹). نتایج به‌دست‌آمده در خصوص کاهش درصد هماتوکریت و میزان غلظت هموگلوبین خون در بچه ماهیان انگشت قد کپور معمولی در مطالعه حاضر می‌تواند نشان‌دهنده تأثیر سوء به‌کارگیری پری‌بیوتیک مورد استفاده در این مطالعه بر روی این پارامترها باشد. در توجیه این موضوع بالاتر بودن میزان غلظت هموگلوبین خون بچه ماهیان کپور معمولی در تیمار شاهد میتواند نشان‌دهنده برتری تنفسی بچه ماهیان در مقایسه با تیمارهای حاوی پری‌بیوتیک باشد. زیرا بالا رفتن میزان هموگلوبین باعث افزایش ظرفیت انتقال گازهای تنفسی می‌شود (۳۰). در تائید این نتایج جواهری بابلی و دائر (۱۳۹۳) نیز با بکار گیری پری-بیوتیک دیواره سلولی مخمر *S. cerevisiae* در جیره غذایی بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان باوجود مشاهده عدم تفاوت معنی‌دار در میزان هماتوکریت خون بچه ماهیان تحت آزمایش، شاهد کاهش معنی‌دار غلظت هموگلوبین خون در تیمارهای حاوی پری-بیوتیک در مقایسه با تیمار شاهد بودند (۵).

منشأ سنتز و فعالیت آنزیم‌های LDH، AST، ALT و ALP کبد است و در مواقع بیماری یا تخریب بافتی مشخص‌شده که سطح این آنزیم‌ها در سرم افزایش می‌یابد .با این توصیف می‌توان گفت سطح آنزیم‌های ذکرشده در سرم در ارتباط با وضعیت سلامتی و فعالیت کبد می‌باشد (۲۵). گزارشات متعددی در

خصوص افزایش سطح این آنزیم‌ها در سرم ماهیان در مواجه با آلودگی‌ها و بیماری‌های مختلف ارائه‌شده است. برای مثال، در ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان مواجه تجربی با باکتری *آئروموناس هیدروفیلا* و در بیماری سپتی سمی هموراژیک ویروسی افزایش سطح این آنزیم‌ها (۳۳، ۳۲) و در مواجهه با سموم و آلودگی باکتریای افزایش سطح LDH را در سرم خون این‌گونه به دنبال داشته است (۳۰). در همین راستا باوجود کاهش سطح آنزیم AST در تیمارهای آزمایشی در مقایسه با تیمار شاهد نتایج مطالعه حاضر اختلاف معنی‌داری را در خصوص میزان فعالیت آنزیم AST در تیمارهای آزمایشی در مقایسه با تیمار شاهد نشان داد؛ اما مقادیر دو آنزیم ALT و ALP در تیمار F3 در سطح ۱/۲ گرم پری‌بیوتیک در هر کیلوگرم جیره غذایی دارای بالاترین میزان فعالیت بوده و در مقایسه با سایر تیمارهای آزمایشی و تیمار شاهد از اختلاف معنی‌داری برخوردار بودند. بر اساس نتایج به‌دست‌آمده میزان فعالیت آنزیم ALT در دو تیمار F1 و F2 در مقایسه با تیمار شاهد به شکل معنی‌داری کاهش و میزان فعالیت آنزیم ALP در این دو تیمار آزمایشی در مقایسه با تیمار شاهد به شکل معنی‌داری افزایش‌یافته بود. در بین آنزیم‌های کبدی مختلف دو آنزیم AST و ALT نقش بسیار مهمی در خنثی‌سازی عوامل سمی و نیز فعالیت‌های متابولیکی کبد داشته و به‌عنوان آنزیم‌های کلیدی برای تعیین عملکرد کبد شناخته می‌شوند. اصولاً کاهش این عوامل نشان‌دهنده ضایعات کبدی و بروز اختلال در عملکرد این عضو مهم محسوب می‌گردد. افزایش سطح این آنزیم‌ها خصوصاً AST نیز یکی از فاکتورهای مهم در بررسی‌های پاراکلینیکی کبد است که سطح کارایی آن را نشان می‌دهد. بطوریکه در عفونت‌هایی که آسیب کبدی را با خود به همراه دارند مقدار این آنزیم کاهش می‌یابد (۴۰). آنزیم ALP نیز به‌عنوان یکی از آنزیم‌های کبدی شناخته می‌شود که دارای نقش‌های چندگانه ازجمله ایمنی است (۴۵). مشاهده‌شده که به دنبال آلودگی با عوامل بیماری‌زا سطح این آنزیم کاهش‌یافته که این موضوع می‌تواند با سرکوب سیستم ایمنی در ارتباط باشد (۴۵). در مطالعه حاضر با توجه به نتایج به‌دست‌آمده مشخص شد که در تیمارهای تغذیه‌شده با سطوح مختلف پری‌بیوتیک سطح آنزیم AST تمایل به کاهش و سطح آنزیم‌های ALT و ALP تمایل به افزایش داشته است که با توجه به مطالب ذکرشده می‌توان این موضوع را در ارتباط با عملکرد بهتر بافت کبد در اثر متابولیت‌های حاصل از تخمیر پری‌بیوتیک مصرفی مانند اسیدهای چرب کوتاه زنجیر و انتقال آن‌ها از طریق خون به بافت کبد دانست (۱۸).

به‌عنوان نتیجه‌گیری کلی، نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که استفاده از پری‌بیوتیک دیواره سلولی مخمر *S. cerevisiae* دارای اثرات متفاوتی بر پارامترهای خون‌شناختی و میزان فعالیت آنزیم‌های کبدی سرم خون بچه ماهیان انگشت قد کپور معمولی می‌باشد. بطوریکه با افزایش سطح این پری‌بیوتیک در جیره غذایی سطح برخی از این شاخص‌ها تمایل به افزایش و برخی تمایل به کاهش داشتند. ضمن آنکه سطح برخی از این شاخص‌ها نیز بدون تغییر باقی ماند. با توجه به محدودیت منابع و اطلاعات نسبتاً اندک در زمینه شناخت مکانیسم عمل پری‌بیوتیک‌ها بر پارامترهای خون‌شناختی و آنزیم‌های کبدی بر وضعیت سلامت گونه‌های مختلف ماهیان بخصوص در مراحل اولیه زیست آن‌ها و همچنین گسترش روزافزون صنعت آبزی‌پروری به نظر می‌رسد بایستی مطالعات بیشتری در ارتباط با بررسی پارامترهای خونی و سرمی و نقش

آن‌ها در شرایط مختلف فیزیولوژیکی و پاتولوژیکی صورت گیرد تا به‌موازات گسترش این صنعت بتوان پاسخگوی نیازهای علمی در زمینه پیشگیری، تشخیص و درمان بیماری‌های آن نیز بود (۸).

منابع:

۱- اکرمی، ر.، قلیچی، ا.، حمدی، ا. (۱۳۸۹). تأثیر پریبیوتیک اینولین بر پارامترهای هماتولوژی و بیوشیمی سرم خون فیل‌ماهیان (*Huso huso*) جوان پرورشی. *مجله تحقیقات دامپزشکی*، دوره ۶۶، شماره ۲، ۱۳۶-۱۳۱.

۲- اکرمی، ر.، چیت‌ساز، ح.، رزاقی منصور، م.، قاسم پور علمدار، ا. (۱۳۹۲). تأثیر پریبیوتیک ایمکس (A-Max) بر شاخص‌های رشد، بازماندگی و ترکیب بدن قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). *فصلنامه علوم تکثیر و آبزی‌پروری*، سال اول، پیش‌شماره اول، صفحات ۲۰-۹.

۳- امانی دنجی، ک.، رزاقی منصور، م.، قبادی، ش.، اکرمی، ر.، صالحی، م. (۱۳۹۴). تأثیر سطوح مختلف پریبیوتیک مانان الیگوساکارید جیره غذایی در برخی پیراسنجه های هماتولوژیک و بیوشیمی سرم خون بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). *مجله منابع طبیعی ایران، شیلات*، دوره ۶۸، شماره ۲، صفحات ۱۸۶-۱۷۷.

۴- پورداود، م.، سجادی، م.م.، بحریف، ا.ه. (۱۳۸۹). بررسی اثرات جیره‌های غذایی حاوی مخمر *ساکارومایسیس سرویزیا* بر رشد، زنده‌مانی و مقاومت در برابر استرس‌های محیطی ماهی سوروم (*Heros severus*). *مجله علمی آبزیان و شیلات*، سال اول، پیش‌شماره ۱، صفحات ۳۱-۲۱,

۵- جواهری بابلی، م.، دائر، ن. (۱۳۹۳). اثر سطوح مختلف پریبیوتیک دیواره سلولی مخمر *Saccharomyces cerevisiae* در رشد، بقا، بازماندگی و شاخص‌های خونی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). *مجله منابع طبیعی ایران، شیلات*، دوره ۶۷، شماره ۴، صفحات ۵۲۲-۵۱۱,

۶- ناصری، س. (۱۳۸۷). بررسی تأثیر پروبیوتیک و آهن بر رشد و بازماندگی لارو قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss, Walbaum, 1792*). پایان‌نامه کارشناسی ارشد شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، ۱۵۴ صفحه.

7. Adams, S.M. (2002). *Biological Indicators of Aquatic Ecosystem Stress. American Fisheries Society*, Bethesda, MD: 644 pp.
8. Affonso, E. G., Polez, V. L. P., Correa, C. F., Mazoa, A. F., Araujo, M. R. R., Moraes, G. (2002). Blood parameters and metabolites in teleost fish *Colosso mamacro pomum* exposed to sulfide or hypoxia. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C Toxicology & Pharmacology* **33**: 375-382.
9. Ahmdifar, E., Akrami, R., Ghelichi, A., Zarejabad, A.M. (2011). Effects of different dietary prebiotic inulin levels on blood serum enzymes, hematologic, and biochemical parameters of great sturgeon (*Huso huso*) juveniles. *Comparative Clinical Pathology* **20**: 447-451.
10. Andrews, S.R., Sahu, N.P., Pal, A.K., Kumar, S. (2009). Hematological modulation and growth of Labeo rohita fingerlings: effect of dietary mannan oligosaccharide, yeast extract, protein hydrolysate and chlorella. *Aquaculture Research* **41**: 61-69.
11. Asadi, M., Mirvaghefei, A., Nematollahi, M., Banaee, M., Ahmadi, K. (2012). Effects of Watercress (*Nasturtium nasturtium*) extract on selected immunological parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Open Veterinary Journal* **2**: 32-39.
12. Ballarin, L., Dalloro, M., Bertotto, D., Libertini, A., Francescon, A., Barbaro, A. (2004). Haematological parameters in *Umbrianacirrosa* (Teleostei, Scianidae): a comparison between diploid andtriploid specimen. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part A: Molecular & Integrative Physiology* **183**:45-51.
13. Bombail, V., Aw, D., Gordon, E., Batty, J. (2001). Application of the comet and micronucleus assays to butterfish (*Pholis gunnelus*) erythrocytes from the Firth of Forth. *Scotland, Chemosphere* **44**: 383-392.
14. Borges, A., Scotti, L.V., Siqueira, D.R., Jurinitz, D.F., Wassermann, G.F. (2004). Hematologic and serum biochemical values for jundia (*Rhamdia quelen*). *Fish Physiology and Biochemistry* **30**: 21-25.
15. Cabib, E., Roberts, R., Bowers, B. (1982). Synthesis of the yeast cell wall and its

regulation. *Annual Review of Biochemistry* **51**: 763-793.
16. Chitsaz, H., Akrami, R., Arab Arkadeh, M. (2016). Effect of dietary synbiotics on growth, immune response and body composition of Caspian roach (*Rutilus rutilus*). *Iranian Journal Fisheries Sciences* **15**: 170-182.
17. Dawood, M. A.O., Koshio, Sh. (2016). Recent advances in the role of probiotics and prebiotics in carp aquaculture: A review. *Aquaculture* **454**: 243–251.
18. Demigné, C., Rémésy, C. (1985). Stimulation of absorption of volatile fatty acids and minerals in the cecum of rats adapted to a very high fiber diet. *The Journal of Nutrition* **115**: 53-60.
19. Etisamipour, M., Zamini, A., Farokhrooz, M. (2014). Comparison of growth indices, some blood parameters and immune system among juvenile Rainbow trout fishes (*Oncorhynchus mykiss*) feed up with different levels of prebiotic of yeast cell wall (*Saccharomyces cerevisiae*). *Indian Journal of Fundamental and Applied Life Sciences* **4**: 438- 448.
20. Ghosh, K., Sen, S.K., Ray, A.K. (2003). Supplementation of an isolated fish guts bacterium, Bacillus circulance, in formulated diets for rohu, *Labeo rohita*, fingerling. *The Israeli Journal of Aquaculture - Bamidgeh* **55**: 13-21.
21. Gibson, G.R., Roberfroid, M. B. (1995). Dietary modulation of the colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *Journal of Nutrition* **125:** 1401-1412.
22. Jee, J.H., Masroor, F., Kang, J.C. (2005). Responses of cypermethrin-induced stress in hematological parameters of Korean rockfish, *Sebastes schlegeli* (Hilgendorf). *Aquaculture Research* **36**: 898-905.
23. Kori-Siakpere, O., Ake, J.E.G., Idoge, E. (2005). Hematological characteristics of the African snakehead (*Parachanna obscura*). *African Journal of Biotechnology* **4**: 527-530.
24. Mahious, A. S., Gatesoupe, F. J., Hervi, M., Metailler, R., Ollevier, F. (2005) Effect of dietaryinulin and oligosaccharides as prebiotics for weaning Turbot (*Psetta maxima*). *Aquaculture International* **14**:219-229.
25. Martin, O., Okolie, P. (2012). N-nitrosodimethylamine (NDMA), Liver Function Enzymes, Renal Function Parameters and Oxidative Stress Parameters: A Review. *British Journal of Pharmacology and Toxicology* **3**:165-176.
26. Mitchelmore, C.L., Chipman, J.K. (1998). DNA strand breakage in aquatic organisms and the potential value of the comet assay in environmental monitoring. *Mutation Research* **399**: 135-147.
27. Mohamadi-Azarrm, H., Abedian, A., Abtahi, B. (2004). Effects of probiotic on growth and survival in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Marine Science* **2-3**: 69-75.
28. Ortuno, J., Cuesta, A., Rodriguez, A., Esteban, M.A., Meseguer, J. (2002). Oral administration of yeast, *Saccharomyces cerevisiae*, enhances the cellular innate immune response of gilthead sea bream (*Sparus aurata* L). *Veterinary Immunology and Immunopathology* **85**: 41-50.
29. Pourgholam R. (2002). Effects of environmental conditions on hematological and biochemical factors in sturgeon fishes. Published by Organization of Iran Fisheries. Tehran, Iran.
30. Racicot, J. G., Gaudet, M., leray, C. (1975) Blood and liver enzymes in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) with emphasis on their diagnostic use: study of CC l4 toxicity and a case of Aeromonas infection. *Journal of Fish Biology* **7**: 825-835.
31. Reddy, P.M., Bashamohideen, M. (1989). Fenvalerate and cypermethrin induced changes in the haematological parameters of *Cyprinus carpio*. *Acta Hydrochimica et Hydrobiologica* **17**: 101-107.
32. Řehulka, J. (2002). *Aeromonas* Causes Severe Skin Lesions in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*): Clinical Pathology, Hematology, and Biochemistry. *Acta Veterinaria Brno*. **71**: 351-360.
33. Rehulka, J. (2003). Hematological analyses in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* affected by viral hemorrhagic septicemia (VHS). *Diseases of aquatic organisms* **56**: 185-193.
34. Rumsey, G.L., Kinsella, J.E., Shetty, K.J., Hughes, S.G. (1991). Effect of high dietary concentrations of brewer's dried yeast on growth performance and liver uricase in

rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Animal Feed Science and Technology* **33**: 177-183.
35. Sado, R., Bicudo, A., Cyrino, J. (2008). Feeding dietary mannan oligosaccharides to juvenile Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, has no effect on hematological parameters and showed decreased feed consumption. *Journal of the World Aquaculture Society* **39**: 821-827.
36. Sakai, M. (1999). Current research status of fish immunostimulants. *Aquaculture* **172**:63–92.
37. Satheeshkumar, P. Ananthan, G. Kumar, D. S., Jagadeesan, L. (2012). Hematology and biochemical parameters of different feeding behaviour of teleost fishes from Vellar estuary, India. *Comparative Clinical Pathology* **21**: 1187-1191.
38. Selvaraj, V., Sampath, K., Sekar, V. (2005). Use of glucan from *Saccharomyces cerevisiae* an immunostimulant in Carp: impact on hematology, phagocyte function and infection with *Aeromonas hedrophila*. *The Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh* **57**: 39-48.
39. Shahsavani, D., Mohri, M., Kanani, H.G. (2010). Determination of normal values of some blood serum enzymes in *Acipenser stellatus Pallas*. *Fish Physiology and Biochemistry* **36:** 39-43.
40. Shariffi, M., Jayawardena, P. A., Yusoff, F. M., Subasinghe, R. (2001). Immunological parameters of Javanese carp *Puntius gonionotu*s (Bleeker) exposed to copper and challengedwith *Aeromonas hydrophila*. *Fish & Shellfish Immunology* **11**: 281–291.
41. Stoskopf, M.K. (1993). *Fish medicine*. WB Saunders Company, Philadelphia, Pennsylvania: 882 pp.
42. Tukmechi, A., Bandboni, M. (2014). Effects of Saccharomyces cerevisiae supplementation on immune response, hematological parameters, body composition and disease resistance in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792). *Applied Ichthyology* **30**: 55- 61.
43. Tukmechi, A., Rahmati Andani, H.R., Manaffar, R., Sheikhzadeh, N. (2011). Dietary administration of beta-mercapto-ethanol treated Saccharomyces cerevisiae enhanced the growth, innate immune response and disease resistance of the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Fish & Shellfish Immunology* **30**: 923-928.
44. 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* & *O. mossambicus*). *Aquaculture Reserch* **28**: 453-459.
45. Waagbø, R., Sandnes, K., Espelid, S., Lie, Ø. (1988). Hematological and biochemical analyses of Atlantic salmon, *Salmo solar L*., suffering from cold water vibriosis ('Hitra disease'). *Journal of Fish Diseases* **11**: 417-423.
46. Zaccorate, I., Gasco, L., Sicuro, B., Palmegiano, G. B., Luzzana, U. (1996). Use of by-product from poultry slaughtering in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Rivista Italiana Diaquacoltura* **31**: 145-156.
47. Zhou, X., Li, M., Abbas, K., Wang, W. (2009). Comparison of haematology and serum biochemistry of cultured and wild Dojo loach *Misgurnus anguillicaudatus*. *Fish Physiology and Biochemistry* **35**: 435-441.

Journal of Veterinary Microbiology, Volume 14, Issue 2, 2018

Effects of Prebiotic Yeast, *Saccharomyces Cerevisiae* Cell Wall on Some Hematological Parameters and Liver Enzymes in Common Carp Fingerlings (*Cyprinus Carpi*o Linnaeus. 1758)

Jafaryan, H.*[1], Bivareh, M.R.[2], Jafaryan, S.[3]

1- Associate professor fisheries group, Faculty of natural resource, Gonbad Kavous University, Gonbad-e Kavous, Iran

2- Graduated Master Science of Fisheries Group, Faculty of Natural Resource, Gonbad Kavous University, Gonbad-e Kavous, Iran

3- Doctor Student of Fisheries Group, Faculty of Natural Resource, Gonbad Kavous University, Gonbad-e Kavous, Iran

Received: 21 April 2017 Accepted: 21 April 2018

Abstract

The aim of this study was to investigate the effects of different levels of the cell wall of yeast Saccharomyces cerevisiae as a supplementary prebiotic in experimental diets on some of the blood indices and liver enzymes of Cyprinus carpio fingerlings. For this purpose, a number of 600 fish fry with an average mean (±SD) weight of 5.1±0.85 g were obtained and transferred to the laboratory. After 7 days adaptation to the new conditions the fish fry were randomly divided into 12 polyethylene tanks and kept at a density of 50 fish fry in per tank for 60 days. Four levels of cell wall of yeast S. cerevisiae as 0 (Control), 0.4 (F1), 0.8 (F2) and 1.2 (F3) $g.kg^{-1}$ were used with triplicates. At the end of the experiment, blood samples were collected from the caudal vein of 15 fish (with average mean weight of 25±1.3 g) of every tank apparently healthy fish to determine some of hematologic parameters and serum enzymes (alkaline phosphatase, alanine aminotransferase and aspartate aminotransferase) in different groups and compared to one another. Our results showed that the cell wall of yeast S. cerevisiae had no significant discrepancy was observed in monocyte, lymphocyte counts and MCV value between the prebiotic treatment and control group ($p>0.05$). Nevertheless, leucocyte counts (WBC), red blood cell counts (RBC), hemoglobin (Hb), hematocrit (HCT), MCH, MCHC values and neutrophil counts, in fish fry fed cell wall of yeast S. cerevisiae as a prebiotic were significantly compared with the control group ($p<0.05$). Also, the result showed that the cell wall of yeast S. cerevisiae had significant effects on serum alanine aminotransferase and alkaline phosphatase compared with the control group ($p<0.05$). While, analyses of the results did not show any significant differences in the amount of aspartate aminotransferase enzyme in experimental treatments and control group ($p>0.05$). Based on these results, we could claim that the use of the cell wall of yeast S. cerevisiae in experimental diets of fingerlings carps have different performance on hematology parameters and may enhance the non-specific immune system of the immunomodulatory effect on fingerlings carp.

Keywords: Prebiotic, Yeast, Hematological indices, Liver enzymes, Common carp.

**Corresponding author: Jafaryan, H.*

Address: fisheries group, Faculty of natural resource, Gonbad Kavous University, Gonbad-e Kavous, Iran. Tel: +989111766798

E-mail address: Hojat.Jafaryan@gmail.com