

بررسی تغذیه با مخمر ساکارومایسس سروزیا (*Saccharomyces cerevisiae*) به عنوان پروبیوتیک، بر مقاومت در برابر تنش با شوری و بافت شناسی دستگاه گوارش بچه ماهیان نارس قزل آلاهی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

ملوک پورامینی^۱، ابوالقاسم کمالی^۲، عبدالمجید حاجی مرادلو^۳، رسول قربانی^۲ و مرتضی علیزاده^۳

^۱دانش آموخته کارشناسی ارشد دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان،

^۲اعضای هیأت علمی دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، مرکز تحقیقات شیلات ایران، استان یزد

Email: mpooramini@gmail.com

چکیده

بهبود رشد و مقاومت در برابر استرس‌های محیطی از ویژگی‌های مهم سویه‌های پروبیوتیکی محسوب می‌گردد. در این تحقیق اثر استفاده از مخمر ساکارومایسس سروزیا سویه الیپسویئیدوس، *Saccharomyces cerevisiae* var. *ellipsoidus*، به عنوان پروبیوتیک در جیره غذایی بچه ماهی نارس قزل آلاهی رنگین کمان، در زمان شروع تغذیه فعال ($163 \pm 26/27$ میلی گرم) تا ۲۵ روز پس از جذب کیسه زرده مورد مطالعه قرار گرفت. این مخمر در سه سطح ۱، ۵ و ۱۰ درصد وزنی / وزنی و در سه تکرار به پلت‌های غذایی اضافه گردید، همچنین از تیمار حاوی روغن ماهی (بدون مخمر)، استفاده و نتایج با گروه شاهد مقایسه گردید. اثر مخمر بر مرگ و میر بچه ماهیان نارس در طی دوره پرورش معنی‌دار نبود. همچنین از نظر بافت‌شناسی، تفاوتی در بین تیمارهای مذکور مشاهده نگردید. در آزمایش مقابله بچه ماهیان با شوری‌های ۱۰ و ۱۵ ppt پس از طی ۲۴ ساعت، تیمارهای حاوی مخمر از بازماندگی ۱۰۰ درصدی برخوردار بودند ($P > 0/05$) و با تیمارهای حاوی روغن ماهی (بدون مخمر) و شاهد اختلاف معنی‌دار داشتند ($P < 0/05$).

واژه‌های کلیدی: بافت شناسی، بچه ماهی نارس قزل آلاهی رنگین کمان، مخمر ساکارومایسس سروزیا سویه الیپسویئیدوس، مقاومت

مقدمه

تغذیه آغازین و پس از جذب کیسه زرده، استقرار فلور میکروبی اولیه در روده را تحت تاثیر قرار می‌دهد. بنابراین افزودن پروبیوتیک بلافاصله پس از تفریح و به منظور تثبیت و کلنی‌سازی در روده لاروهای ماهی بسیار حائز اهمیت است (۲۰).

قزل آلاهی رنگین کمان، *Oncorhynchus mykiss* از مهمترین گونه‌های تجاری آزاد ماهیان در ایران است. از نکات مهم در پرورش لاروی این ماهی اعمال مدیریت صحیح تغذیه و بالا بردن درصد بقاء است.

ظاهراً مخمرها در قزل آلاهی رنگین کمان پایا بوده (۳) و توانایی بالای الحاق و کلنی‌سازی در روده ماهیان را دارا

پروبیوتیک‌ها مکمل‌های غذایی میکروبی هستند که از طریق بهبود تعادل میکروبی روده تاثیرات سودمندی بر میزبان دارند (۹). بهبود رشد و مقاومت در برابر استرس‌های دمایی و محیطی از ویژگی‌های مهم سویه‌های پروبیوتیکی محسوب می‌گردد به نحوی که پلی‌آمین‌های مترشحه از مخمرها افزایش بقاء لاروها و مقاومت آنها را در مقابله با استرس‌های محیطی موجب می‌شوند. لارو ماهی می‌تواند مقادیر زیادی باکتری بخورد، بطوری‌که خوردن باکتری‌ها و سایر میکروارگانیسم‌ها، به‌ویژه پس از

مقاوم‌سازی بچه ماهیان نورس قزل‌آلای رنگین کمان در برابر تنش‌های شوری مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش کار

تهیه بچه ماهی نورس: لارو دارای کیسه زرده قزل‌آلای رنگین کمان از کارگاه ماهیان سردابی ضمیری واقع در ۵۰ کیلومتری غرب گرگان تامین گردید و به مرکز تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید مرجانی منتقل شد. لاروها در مرحله خوابیده در کف بوده و به مدت ۲ هفته در حوضچه فایبر گلاس (با ابعاد ۲×۲ متر و با عمق ۵۰ سانتی‌متر) با شرایط جدید سازگار شدند. پس از جذب کیسه زرده و شروع شنای فعال، به مدت سه روز به‌منظور تکامل روده و سازگاری با غذای دستی با ناپلی آرتیمیا تغذیه شدند و سپس به ۱۵ مخزن ۲۰ لیتری با تراکم ۵ ماهی در لیتر به‌عنوان واحد آزمایشی (تیمار) انتقال یافتند. جیره غذایی مورد استفاده در این مطالعه جیره آغازین شرکت بیومار^۱ با اندازه ۰/۵ میلی‌متر (با ترکیب ۵۸ درصد پروتئین خام، ۱۵ درصد لیپید خام، ۱۱ درصد خاکستر و ۴ درصد فیبر خام) بود.

تهیه پلت های حاوی مخمر: مخمر ساکارومایسس *Saccharomyces* سروزیای سویه الیپسویئیدوس، *cerevisiae* var *ellipsoidous* (تحت عنوان تجاری AQUALASE (تپاکس آبزیان) با میزان ۳۰۰۰ کلونی و تعداد ۱۰ میلیارد سلول در هر گرم، تهیه شده از شرکت داکسال، ایتالیا، وارداتی توسط شرکت داروسازان ایران) نوعی افزودنی غذایی بر پایه سلول‌های گزینشی، غیرفعال و تثبیت شده است. جهت تهیه پلت‌های حاوی مخمر، از روش Waché و همکاران (۲۰۰۶) استفاده شد که مطابق با این روش مخمر در میزان‌های وزنی مورد نظر ۱ درصد، ۵ درصد و ۱۰ درصد وزن غذا، توسط روغن ماهی کاد (۳۲ ml به ازاء هر کیلوگرم غذا) پوشش‌دار شد و سوسپانسیون حاوی مخمر و روغن ماهی کاد به غذا اسپری گردید (۳۱). جهت اطمینان از حضور مخمر در

می‌باشند که بسیاری از این سویه‌ها دارای عملکرد ضد پاتوزنی هستند (۱۳ و ۲۲). استفاده از چندین سویه از مخمرهای پروبیوتیکی تحریک دستگاه ایمنی قزل‌آلای رنگین کمان را در پی داشته (۱۲) و می‌تواند در بهبود سلامتی میزبان موثر باشد (۳).

عملکرد مخمر ساکارومایسس سروزیای به نوع سویه آن بستگی دارد (۷) به‌نحوی که مخمر ساکارومایسس سروزیای سویه بولاردی، *Saccharomyces* var. *boulardii* *cerevisiae*، بر متابولیسم ماهی قزل‌آلای رنگین کمان موثر بوده و سبب افزایش چربی و رنگدانه‌های قرمز عضله گردید (۴) و از زمان تغذیه آغازین تا ۱۰ روز بعد، فعالیت سه آنزیم را در غشاء انتروسیت‌ها تحریک نمود (۳۱). افزایش مقاومت قزل‌آلا در برابر عامل بیماری باکتریایی دهان قرمز از دیگر اثرات این مخمر پروبیوتیکی بود (۱۹). افزودن ۰/۱ درصد مخمر ساکارومایسس سروزیای به جیره غذایی بچه ماهی نورس تیلاپیای نیل نیز بهبود رشد را در پی داشته و کاهش در تاثیر عوامل استرس‌زا را موجب شد (۱۴). استفاده از سویه‌های پروبیوتیکی بر ایمنی شناسی بافتی ماهی شانک دریایی نیز مورد بررسی قرار گرفت و بین تیمارها اختلافی مشاهده نشد (۱۸).

آزمایشات مقاومت در برابر استرس بر اساس قرار دادن لاروها در معرض یک وضعیت نامتعادل فیزیکی، شیمیایی و یا زیستی و در یک دوره زمانی کوتاه استوار است (۲۵). در مطالعات تغذیه‌ای به‌منظور برآورد وضعیت فیزیولوژیکی لاروها، آزمایش تنش شوری می‌تواند اطلاعات مفیدی مبنی بر نیاز لاروها به ترکیبات ضروری در اختیار محققین قرار می‌دهد (۵ و ۶).

در ایران تحقیقات کمی پیرامون بکارگیری مخمرها به‌عنوان پروبیوتیک در زمینه آبی‌پروری صورت گرفته است. در مطالعه حاضر تاثیر استفاده از سویه پروبیوتیکی ساکارومایسس سروزیای سویه الیپسویئیدوس به‌عنوان مکمل غذایی بر بافت‌شناسی دستگاه گوارش و تاثیر آن بر

غذا از محیط کشت سابارو دکستروز آگار (YSA) استفاده شد و از طریق رنگ آمیزی گرم (جهت رنگ آمیزی نمونه های مخمر و باکتری) و مشاهده زیر میکروسکوپ، حضور مخمر در غذا اثبات گردید.

طرح آزمایش: با شروع دوره آزمایش، بچه ماهیان نارس با ترازویی با دقت ۰/۰۱ گرم توزین شده ($26/27 \pm 163$ میلی گرم) و به تعداد ۱۰۰ عدد در هر یک از مخازن ۲۰ لیتری (تراکم ۵ عدد در لیتر) ذخیره سازی شدند. جریان آب ورودی، دائمی و با دبی ۰/۵ لیتر در دقیقه بود که به شکل فواره ای و از طریق یک لوله سوراخ دار تعبیه شده بالای مخازن تامین می شد. این مطالعه شامل ۵ تیمار آزمایشی (میزان مخمر در سوسپانسیون های روغنی براساس تیمارهای تعریف شده شامل ۱ درصد (D₁), ۵ درصد (D₅) و ۱۰ درصد (D₁₀) وزن غذا (بصورت w/w) بود، ۱ تیمار که تنها توسط روغن ماهی (بدون مخمر) پوشش دار گردید (D₀) و تیمار شاهد (C) بود و در ۳ تکرار در نظر گرفته شد. (۱۶).

غذادهی: میزان غذادهی روزانه بچه ماهیان نارس برحسب میانگین دمای محیط نگهداری آنها (۱۲-۷/۵ درجه سانتی گراد)، بر اساس درصد وزن ماهیان موجود (۶-۵ درصد) محاسبه (۱۵) و بصورت ۵ نوبت در روز و در ساعت های مشخص (۸، ۱۲، ۱۶، ۲۰ و ۲۴) مطابق برنامه غذایی به مدت ۲۵ روز، پس از جذب کیسه زرده، تغذیه شدند. علاوه بر این دیواره داخلی، کف و توری های اتصال بطور دستی نظافت شده و پس از خارج نمودن بچه ماهیان نارس تلف شده، تلفات بطور دقیق شمارش و ثبت گردید.

تست استرس با شوری: در این مطالعه در پایان دوره پرورش، از شوری ۱۰ppt و ۱۵ppt جهت آزمایش

مقاومت بچه ماهیان نارس استفاده شد. جهت انجام آزمایش، تعداد ۲۰ عدد بچه ماهی نارس از هر تکرار توسط ساچوک صید شده و به ظروف آزمایش مجهز به هواده منتقل شدند. تلفات بچه ماهیان نارس پس از گذشت ۲۴ ساعت بدون غذادهی، شمارش و بازماندگی آنها محاسبه گردید.

ارزیابی مقاطع بافتی: جهت بررسی اثرات حاصل از مصرف جیره غذایی حاوی مخمر روی دستگاه گوارش بچه ماهیان نارس، در آخر دوره از دستگاه گوارش هر تیمار مقطع بافتی تهیه گردید. بدین گونه که از نمونه های نگهداری شده در فرمالین ۴ درصد، پس از طی مراحل آماده سازی و تهیه بلوک های پارافینی، از بافت مورد نظر برشهایی به ضخامت ۵-۴ میکرون توسط دستگاه میکروتوم تهیه شد. برشهای حاصل پس از قرار گرفتن روی لام با روش هماتوکسیلین و اتوزین رنگ آمیزی شده و با بررسی های میکروسکوپی مورد ارزیابی و مطالعه قرار گرفت (۱).

تجزیه و تحلیل آماری داده ها: تجزیه و تحلیل آماری داده های حاصل از بررسی اثر مخمر بر بازماندگی بچه ماهیان نارس قزل آلائی رنگین کمان با استفاده از آنالیز واریانس یکطرفه و آزمون دانکن در بسته نرم افزار آماری SPSS در سطح احتمال $\alpha=5$ درصد انجام گرفت.

نتایج

بازماندگی: تاثیر تیمارهای مورد بررسی بر بازماندگی بچه ماهیان نارس با ثبت تعداد تلفات بصورت روزانه محاسبه گردید (جدول ۱). شواهد نشان دهنده عدم معنی دار بودن تیمارهای مختلف بر بازماندگی بود ($P>0/05$).

جدول ۱- نتایج حاصل از اثر تیمارهای مختلف بر درصد بازماندگی در طی سه هفته بررسی.

تیمار	D ₁	D ₅	D ₁₀	D ₀	C
زیست سنجی	$97/22 \pm 2/22$	$97/67 \pm 2/6$	$96/56 \pm 4/82$	$97/44 \pm 2/45$	$96/78 \pm 4/42$
بازماندگی	$97/22 \pm 2/22$	$97/67 \pm 2/6$	$96/56 \pm 4/82$	$97/44 \pm 2/45$	$96/78 \pm 4/42$

*حروف لاتین مشابه در بالای اعداد، نشانه معنی دار نبودن پارامتر مورد بررسی می باشد ($P>0/05$).

ساکارومایسس سروزیبا بر بازماندگی در شوری‌های ۱۰ و ۱۵ گرم در لیتر می باشد (جدول ۲).

تست شوری: نتایج بدست آمده بیانگر معنی‌دار بودن تاثیر تغذیه بچه ماهیان نورس با مخمر پروبیوتیکی

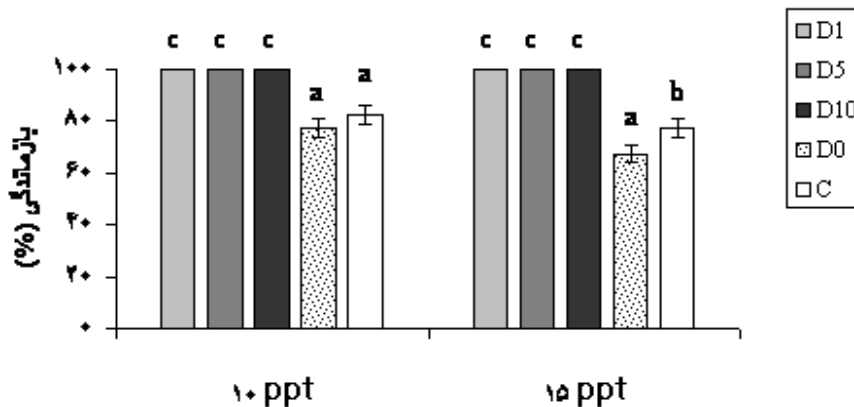
جدول ۲- نتایج آنالیز واریانس اثر شوری‌های مختلف بر بازماندگی بچه ماهیان نورس قزل‌آلای رنگین کمان

Sig.	F	MS	df	SS	
.۰/۰***	۴۹/۲۵۰	۲۴۶/۲۵۰	۴	۹۸۵/۰	بین گروهی
			۵	۲۵/۰	شوری ۱۰ppt درون گروهی
			۹	۱۰۱۰/۰	کل
.۰/۰***	۹۵/۷۵۰	۴۷۸/۷۵۰	۴	۱۹۱۵/۰	بین گروهی
			۵	۲۵/۰	شوری ۱۵ppt درون گروهی
			۹	۱۹۴۰/۰	کل

تذکر: *** تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۰۱

معنی‌دار داشت ($P < 0.05$) (شکل ۱). تیمار D₀ از کمترین بازماندگی برخوردار بود ($P < 0.05$). همچنین بین تیمارهای غنی شده با درصد‌های مختلف پروبیوتیک تفاوت معنی‌دار مشاهده نگردید ($P > 0.05$).

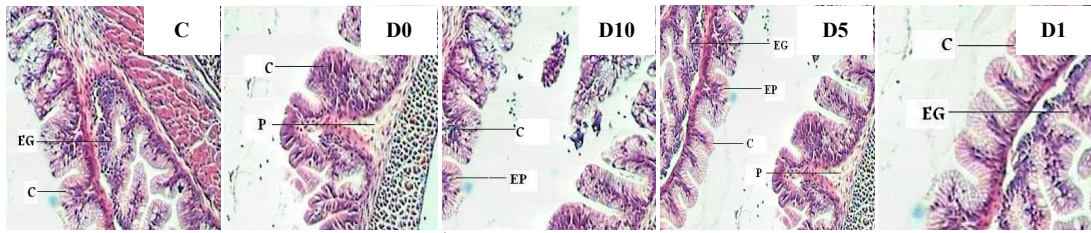
نتایج حاصل از آزمون دانکن در مقایسه بین تیمارهای آزمایشی از نظر مقاومت بچه ماهیان نورس در برابر تنش با شوری ۱۰ و ۱۵ گرم بر لیتر، بیانگر بازماندگی ۱۰۰ درصد بچه ماهیان نورس تغذیه شده با تیمارهای پروبیوتیکی بود و با تیمارهای D₀ و شاهد تفاوت



شکل ۱- درصد بازماندگی تیمارهای آزمایشی در برابر تنش با شوری ۱۰ و ۱۵ گرم بر لیتر

مری: در تمام تیمارها اپیتلیوم بافت پوششی سنگفرشی مشاهده گردید. نمونه‌ها با افزایش حجم و اندازه مری، ناشی از افزایش سن، چین خوردگی‌های مخاطی فراوان را در برداشتند (شکل ۲).

بافت شناسی: در ارزیابی مقاطع بافتی از دستگاه گوارش، اختلافاتی از نظر بافت‌شناسی در تیمارهای مورد بررسی مشاهده نگردید. ارزیابی بافت‌شناسی قسمت‌های مختلف دستگاه گوارش به شرح زیر بود:



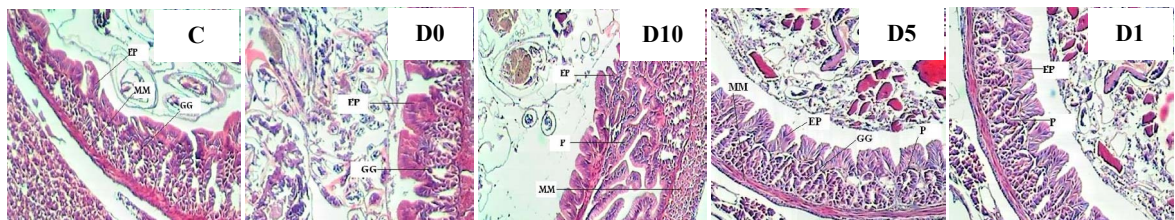
شکل ۲- برش طولی بخش انتهایی مری بچه ماهیان نارس قزل آرای رنگین کمان در هفته سوم (۴۰×)

EG: غدد مری EP: بافت پوششی C: مزه P: پارین

(D0, D10, D5, D1) و C به ترتیب جیره های غذایی حاوی ۱ درصد، ۵ درصد، ۱۰ درصد مخمر، روغن به تنهایی و شاهد)

زیادی سلول های غددی در تمامی تیمارها مشاهده گردید (شکل ۳).

معده: در معده ماهیان غذا به وفور یافت شد و مخاط معده از چین ها و غدد ترشحي فراوان در پایه چین ها تشکیل شده بود. لایه های عضلانی، بافت پیوندی و تعداد



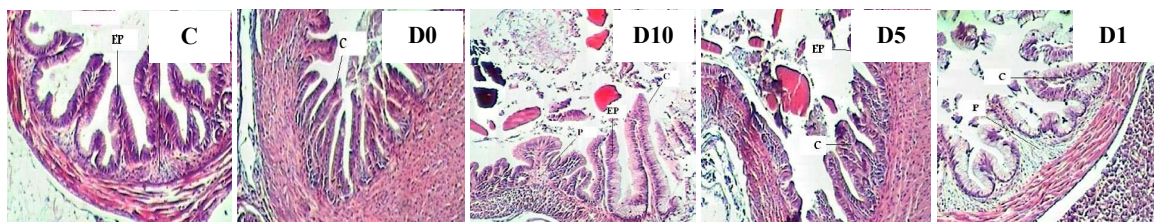
شکل ۳- برش عرضی معده بچه ماهیان نارس قزل آرای رنگین کمان در هفته سوم (۴۰×)

EP: بافت پوششی GG: غدد معدی P: پارین MM: ماهیچه مخاطی

(D0, D10, D5, D1) و C به ترتیب جیره های غذایی حاوی ۱ درصد، ۵ درصد، ۱۰ درصد مخمر، روغن به تنهایی و شاهد)

می گیرد از لایه اپیتلیومی استوانه ای ساده تشکیل شده بود. اندازه کرک های روده ۱۵۰ تا ۲۰۰ میکرون بود (شکل ۴).

روده: در تمامی تیمارها مقاطع بافتی بافت شناسی روده مشابه بوده و مخاط روده که پرزهای آن را نیز در بر



شکل ۴- برش طولی روده بچه ماهیان نارس قزل آرای رنگین کمان در هفته سوم (۴۰×)

C: پرزهای روده ای EP: بافت پوششی P: پارین

(D0, D10, D5, D1) و C به ترتیب جیره های غذایی حاوی ۱ درصد، ۵ درصد، ۱۰ درصد مخمر، روغن به تنهایی و شاهد)

می گردند (۲۴). عملکرد مخمر اضافه شده به جیره غذایی به نوع سویه آن بستگی داشته و روی بازماندگی، رشد و سازش با شرایط محیطی در ماهیان مختلف موثر است (۷). Waché و همکاران در سال ۲۰۰۶ نیز گزارش

بحث و نتیجه گیری

پروبیوتیک ها با تولید ویتامین ها، ترکیبات مسمومیت زدا در جیره غذایی و تجزیه ذرات غیر قابل هضم موجب تحریک اشتها و بهبود تغذیه در میزبان

نمودند که جیره غذایی حاوی ساکارومایسس سروزیا سویه بولاردی تاثیر قابل توجهی بر مرگ و میر و تلفات بچه ماهیان نارس قزل آلی رنگین کمان نداشت (۳۱). در پرورش لاروی آبزیان بالا بردن توان مقاومت لارو از اهمیت زیادی برخوردار است (۱۷). گزارشاتی وجود دارد که نشان می‌دهد که پروبیوتیک‌ها باعث افزایش مقاومت لارو آبزیان در برابر استرس‌های محیطی شده‌اند (۳۰ و ۱۱). در این مطالعه، استفاده از سطوح مختلف مخمر ساکارومایسس سروزیا سویه الپسوتیدوس بر بازماندگی بچه ماهیان نارس قزل آلی رنگین کمان تاثیر معنی‌داری در پی نداشت ($P > 0.05$). اصولاً پلی‌آمین‌های مترشحه از مخمرها موجب افزایش مقاومت میزبان در مقابله با استرس‌های محیطی می‌گردد (۲۸). عموماً با اندازه‌گیری مقاومت لاروها و میزان بازماندگی آنها در مقابله با استرس‌های ایجاد شده می‌توان تاثیر مواد غذایی تغذیه شده و در نهایت کیفیت لاروهای تولیدی را با استفاده از یک آزمایش سریع و ساده مشخص نمود. در واقع در این دسته آزمایشات، وضعیت فیزیولوژیکی ماهیان تعیین کننده شانس بازماندگی آنها خواهد بود. با توجه به اینکه بچه ماهیان نارس قزل آلی رنگین کمان ممکن است در معرض انواع شرایط و استرس‌های سخت محیطی قرار گیرند، بنابراین بکارگیری تکنیک‌هایی که بتواند این نیاز مهم را تامین نماید از مهمترین موارد قابل توجه محسوب می‌شود.

در این مطالعه استفاده از سطوح مختلف مخمر توان مقاومت بچه ماهیان نارس قزل آلی رنگین کمان را در برابر تنش با شوری ۱۰ و ۱۵ گرم بر لیتر بالا برد و بیانگر بازماندگی ۱۰۰ درصد بچه ماهیان نارس قزل آلی رنگین کمان تغذیه شده با تیمارهای پروبیوتیکی بود که با تیمارهای بدون مخمر (تیمار D_0 و شاهد) اختلاف معنی‌دار داشتند ($P < 0.05$). در مطالعه صورت گرفته توسط جعفریان (۱۳۸۶) نیز باسیلوس‌های پروبیوتیکی توان مقاومت لاروهای تاسماهی ایران را در برابر استرس شوری (شوری ۰/۵ درصد و ۱ درصد) افزایش دادند (۲).

در بررسی تاثیر سه نوع پروبیوتیک شامل دو نوع باکتری *Streptococcus* و *Lactobacillus acidophilus* و یک نوع مخمر (*Saccharomyces faecium*) در جیره غذایی تیلایپسای نیل (*cerevisiae*) در جیره غذایی تیلایپسای نیل (*Oreochromis niloticus*) توسط Lara-Flores و همکاران در سال ۲۰۰۳ از دو نوع جیره یکی با ۴۰ درصد پروتئین و دیگری با ۲۷ درصد پروتئین به‌عنوان شوک تغییر جیره‌ای و همچنین ۲ سطح تراکم ۱۰ و ۲۰ قطعه ماهی در لیتر به‌عنوان شوک تراکم استفاده گردید. نتایج نشان داد که میزان رشد و مقاومت به استرس‌های محیطی در تیمارهای پروبیوتیکی در مقایسه با شاهد بیشتر است، بهترین نتیجه در سطح پروتئینی ۴۰ درصد به همراه مخمر بدست آمد (۱۴). استفاده از دو سویه باکتری پروبیوتیکی در جیره غذایی بچه ماهی نارس شانک دریایی، *Sparus aurata*، نیز تلفات تجمعی بچه ماهیان را به هنگام پاسخ به استرس pH، به‌طور معنی‌داری کاهش داد (۲۳). به‌نظر می‌رسد هنگامی که لاروهای حاصل از تیمارهای مختلف در معرض آزمایشات استرس قرار می‌گیرند، دستخوش یک سری تغییرات فیزیولوژیکی شده و تحت تاثیر شرایط استرس لاروهای ضعیف سریعتر از لاروهای سالم و قوی، به شرایط نامتعادل ایجاد شده پاسخ می‌دهند در نتیجه لاروهایی که ضعیف یا بیمار بوده و از وضعیت زیستی و بیولوژیکی مناسبی برخوردار نمی‌باشند به سرعت از لاروهای سالم متمایز و مشخص می‌شوند. همان‌طور که ذکر شد بطور کلی فرآورده‌های پروبیوتیکی سبب افزایش میزان مقاومت و بقاء ماهیان نسبت به انواع استرس‌ها می‌گردد و بدین‌صورت به بهبود وضعیت سلامتی و رشد بهتر ماهیان کمک می‌کند.

Ringo و همکاران در سال ۲۰۰۷ در بررسی تاثیر سویه پروبیوتیکی کارنوباکتریوم دایورجنس، *Carnobacterium divergens*، بر تغییرات بافت شناسی آزاد ماهی اقیانوس اطلس، *Salmo salar*، تفاوتی مشاهده نمودند (۲۱). در این مطالعه نیز تاثیر تیمارها بر دستگاه گوارش از طریق تهیه مقطع بافتی و

بررسی توصیفی نمونه‌ها صورت گرفت که نتایج مبین عدم اختلافات بافت‌شناسی در تیمارهای پروبیوتیکی و شاهد بود. این نتایج با شواهد حاصل از پژوهش Picchietti و همکاران در سال ۲۰۰۷ روی بافت‌شناسی لارو ماهی شانک دریایی بهنگام استفاده از سویه‌های پروبیوتیکی در مرحله لاروی آن نیز مطابقت داشت (۱۸). احتمالاً زیست‌پذیری مخمر بر تحریک ایمنی میزبان اثری نداشته و به نظر می‌رسد که ایمنی‌سازی بواسطه ترکیبات دیواره سلولی صورت می‌گیرد و سایر ترکیبات نیز مانند پلی‌آمین‌ها (۲۶)، آنزیم‌ها (۱۰) و عوامل قابل حل (۸) در این مورد مشارکت دارند. لارو بسیاری از جانوران آبزی (ماهیان و نرم تنان صدف دار) در مراحل رشد اولیه، به محیط خارج رها می‌شوند. این لاروها از لحاظ فلور میکروبی روده‌ای در معرض تغییرات و نوسانات زیادی قرار دارند. زیرا به هنگام شروع تغذیه، حتی لوله گوارش آنها بطور کامل

توسعه نیافته است (۲۷)، هرچند سیستم ایمنی نیز هنوز ناقص است (۲۹) بر این اساس تیمارهای پروبیوتیک، به‌ویژه در دوران اولیه زندگی ماهی بسیار مطلوبند. با توجه به نتایج حاصله و تاثیر بهینه این مخمر بر بازماندگی و مقاومت در برابر عوامل استرس‌زای محیطی استفاده از مخمر پروبیوتیکی از طریق الحاق به جیره غذایی بچه‌ماهیان نارس قزل‌آلای رنگین‌کمان و در سطوح مورد مطالعه توصیه می‌گردد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از آقایان دکتر بایرامی، ریاست محترم شرکت داروسازان ایران، مهندس علی محمدی، ریاست محترم مرکز تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید مرجانی و خانم مهندس رشیدی به جهت همکاری صمیمانه شان نهایت تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

- ۱-پوستی، ا.، صدیق مروستی، ع. ۱۳۷۸. اطلس بافت‌شناسی ماهی. موسسه انتشارات و چاپ دانشگاه تهران. ۳۲۸ ص.
- ۲-جعفریان، ح. ۱۳۸۵. تاثیر باکتری‌های باسیلوس به عنوان پروبیوتیک بر رشد، بازماندگی و فعالیت آنزیم‌های گوارشی در لارو ماهی قره برون، در طول دوره پرورش لاروی، از طریق غنی‌سازی آرتیمیای ارومیه (*Artemiana urmiana*)، رساله دکتری شیلات، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی گرگان. ۱۰۳ص.
3. Andlid, T., Vazquez-Juarez, R., and Gustafsson, L. 1995. Yeast colonizing the intestine of rainbow trout, *Salmo gairdneri* and turbot, *Scophthalmus maximus*. Microb. Ecol. 30: 321-334.
4. Aubin, J., Gatesoupe, F.J., Quentel, C., Labbé, L., and Forraz, M. 2005. Ofimer probiotic study on rainbow trout. III. Flesh quality assessment of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) submitted to probiotic treatment with *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii*. In: Howell, B., Flos, R. (Eds.), Lessons from the Past to Optimise the Future, Aquaculture Europe. 2005, Trondheim, Norway, 5-9 August 2005. EAS Special Publication, Vol. 35. European Aquaculture Society, Oostende, Belgium, pp. 115-116.
5. Dhert, P.H., Lavens, P., and Sorgeloos, P. 1992. A simple test for quality evaluation of cultured fry of marine fish. Med. Fac. Landbouw. Univ. Gent, 57/ 4b, pp. 2135- 3142.
6. Dhert, P.H., Lavens, P., and Sorgeloos, P. 1994. Stress Evaluation: A tool for quality control of hatchery- produced shrimp and fish fry. Aquaculture Europe. 20: 6-10.
7. Fietto, J.L.R., Araujo, R.S., Valadao, F.N., Fietto, L.G., Brandao, R.L., Neves, M.J., Gomes, F.C.O., Nicoli, J.R., and Castro, I.M. 2004. Molecular and physiological comparisons between *Saccharomyces cerevisiae* and *Saccharomyces boulardii*. Can. J. Microbiol. 50: 615-621.
8. Freitas, M., Axelsson L. G., Cayuela, C., Midtvedt, T., and Trugnan, G. 2005. Indigenous microbes and their soluble factors differentially modulate intestinal glycosylation steps in vivo. Use of a "lectin assay" to survey in vivo glycosylation changes. Histochem. Cell. Biol. 124: 423-433.
9. Fuller, R., 1989. Probiotics in man and animals. J. Appl. Bacteriol. 66: 365-378.
10. Garcia-Gonzalez, A., and Ochoa, J.L. 1999. Anti-inflammatory activity of *Debaryomyces hansenii* Cu,Zn-SOD. Arch. Med. Res. 30: 69-73.

11. Gatesoupe, F.J. 1999. The use of probiotics in aquaculture. *Aquaculture*. 180: 147-165.
12. Irianto, A., and Austin, B. 2002. Probiotics in aquaculture. *J. Fish Dis.* 25: 633-642.
13. Jöborn, A., Olsson, J.C., Westerdahl, A., Conway, P.L., and Kjelleberg, S. 1997. Colonization in the fish intestinal tract and production of inhibitory substances in intestinal mucus and faecal extracts by *Carnobacterium* sp. strain K1. *J. Fish. Dis.* 20: 383- 392.
14. Lara-Flores, M., Olvera-Novoa, M.A., Guzman-Méndez, B.E., and Lopez-Madrid, W. 2003. Use of the bacteria *Streptococcus faecium* and *Lactobacillus acidophilus*, and the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as growth promoters in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*. 216: 193–201.
15. Lovell, T. 1993. Nutrition and feeding of fish. Published by Van Nostrand Reinhold. New York. 185- 203.
16. Medri, V., Pereira, G.V., Leonhardt, J.H. 2000. Growth of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* fed with different levels of alcohol yeast. *Brasil. Biol.* 60: 113- 121.
17. Moriarty, D.J.W. 1998. Control of luminous *Vibrio* species in penaeid aquaculture pond. *Aquaculture*. 164: 351-358.
18. Picchiatti, S., Mazzini, M., Taddei, A.R., Renna, R., Fausto, A.M., Mulero, V., Carnevali, O., Cresci, A., and Alelli, L. 2007. Effects of administration of probiotic strains on GALT of larval gilthead seabream: Immunohistochemical and trastructural studies. *Fish and Shelfish*. 22: 57-67.
19. Quentel, C., Gatesoupe, F.J., Aubin, J., Lamour, F., Abiven, A., Baud, M., Labbé, L., and Forraz, M. 2005. Ofimer probiotic study on rainbow trout. I. Resistance against *Yersinia ruckeri* and humoral immune response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) submitted to probiotic treatment with *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii*. In: Howell, B., Flos, R. (Eds.), *Lessons from the Past to Optimise the Future, Aquaculture Europe 2005*, Trondheim, Norway, 5-9 August 2005. EAS Special Publication, Vol. 35. European Aquaculture Society, Oostende, Belgium, pp. 380-381.
20. Ringo, E., and Vadstein, O. 1998. Colonization of *Vibrio pelagius* and *Aeromonas caviae* in early developing turbot *Scophthalmus maximus* L. larvae. *J. Appl. Microbiol.* 84: 227-233.
21. Ringo, E., Salinas, I., Olsen, R.E., Nyhaug, A., Myklebust, R., and Mayhew, T.M. 2007. Histological changes in intestine of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) following in vitro exposure to pathogenic and probiotic bacterial strains. *Cell and Tissue Research*. 328: 109-116.
22. Robertson, P.A.W., O'Dowd, C., Burrells, C., Williams, P., and Austin, B. 2000. Use of *Carnobacterium* sp. as a probiotic for Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum). *Aquacult.* 185: 235-243.
23. Rollo, A., Sulpizio, R., Nardi, M., Silvi, S., Orpianesi, C., Caggiano, M., Cresci, A., and Carnevali, O. 2006. Live microbial feed supplement in aquaculture for improvement of stress tolerance. *Fish Physiology and Biochemistry*. 32: 167-177.
24. Salminen, S., Ouwehand, A., Benno, Y., and Lee, Y.K. 1999. Probiotics: how should they be defined? *Trends in Food Science & Technology*. 10: 107–110.
25. Tackert, W., Abelin, P., and Sorgeloos, P. 1989. Stress resistance in postlarval penaeid shrimp reared under different feeding procedure, *J. World. Aquacult. Soc.*, 20:74A.
26. Ter Steege, J.C.A., Forget, P.P., and Buurman, W.A. 1999. Oral spermine administration inhibits nitric oxide-mediated intestinal damage and levels of systemic inflammatory mediators in a mouse endotoxin model. *Shock*. 11: 115-119.
27. Timmermans, L.P.M. 1987. Early development and differentiation in fish. *Sarsia*. 72: 331–339.
28. Tovar-Ramirez, D., Zambonino, J., Cahu, C., Gatesoupe, F.J., Vazquez-Juarez, R., and Lésel, R. 2002. Effect of live yeast incorporation in compound diet on digestive enzyme activity in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. *Aquaculture*. 204:113-123.
29. Vazquez-Juarez, R., Andlid, T., Gustafsson, L., and Wadstrom, T. 1993. The expression of potential colonization factors of yeasts isolated from fish during different growth conditions. *Can. J. Microbiol.* 39: 1135-1141.
30. Verschuere, L., Dhont, J., Sorgeloos, P., and Verstraete, W. 2000. Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 64: 655-671.
31. Waché, Y., Auffray, F., Gatesoupe, F.J., Zambonino, J., Gayet, V., Labbé, L., and Quentel, C. 2006. Cross effects of the strain of dietary *Saccharomyces cerevisiae* and rearing conditions on the onset of intestinal microbiota and digestive enzymes in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, fry. *Aquaculture*. 258: 470-478.

Effect of feeding by yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) as a probiotic, in contrast with salinity stress and on intestinal histology in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fry

M. Pooramini¹, A. Kamali², A. Hajimoradloo², R. Ghorbani² and M. Alizadeh³

¹M.Sc. student Dept. of Fisheries and Environmental Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran, ²Faculty member Dept. of Fisheries and Environmental, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran, ³Fisheries Research Center of Iran, Yazd

Email: mpooramini@gmail.com

Abstract

Improvement of growth and resistance against the environmental stress is one of the main functions of probiotics. In this study, the strain of *Saccharomyces cerevisiae* var. *elipsoidous* was tested as a probiotic in the diet of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fry (163 ± 26.27 mg) during 25 days after yolk absorption. The yeast was added to the diet plates in three levels (1, 5, 10% w/w) and with three replications. Besides, a treatment with cod oil (without yeast) was used and the results were compared with that of control group. The yeast effect on rainbow trout fry mortality was not significant along the rearing period. Histological finding showed no difference in the treatments too. Challenging with different levels of salinity after 24 hours showed that treatments contained yeast as a probiotic had 100% survival ($p>0.05$) and showed significant differences with cod oil treatment (without yeast) and control ($p<0.05$).

Keywords: Histology; Probiotic; Rainbow trout; Resistance; *Saccharomyces cerevisiae* var. *elipsoidous*