

اثر پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلانتاروم (*Lactobacillus plantarum*) بر پارهای از فاکتورهای خونی تاس‌ماهی سبیری (*Acipenser baerii*)

- علیرضا رضوانی گیل‌کلانی*: گروه بهداشت، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج، کرج
- بابک شعبی عمرانی: گروه بهداشت، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج، کرج
- رضا صفری: پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، فرح‌آباد، ساری، صندوق پستی: 961
- فرناز مشایخی: گروه صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات مازندران، ساری

تاریخ پذیرش: مرداد 1395

تاریخ دریافت: اردیبهشت 1395

چکیده

هدف از این مطالعه، ارزیابی اثرات پروبیوتیکی باکتری لاکتوباسیلوس پلانتاروم بر برخی از پارامترهای خونی تاس‌ماهی سبیری با وزن 35-40 گرم بود. تعداد 240 عدد ماهی به صورت کاملاً تصادفی در 12 ونبرو توزیع و با چهار تیمار غذایی حاوی 10^7 ، 10^8 ، 10^9 سلول پروبیوتیک در هر گرم جیره و تیمار شاهد فاقد پروبیوتیک در سه تکرار به مدت 60 روز تغذیه شدند و در روزهای 30 و 60 مورد آزمایش قرار گرفتند. ارزیابی پارامترهای خونی نشان داد که در اکثر تیمارها افزایش در برخی پارامترهای مربوط به گلبول قرمز مثل هماتوکریت (HCT)، هموگلوبین (HB) و متوسط حجم گلبول‌های قرمز (MCV) مشاهده شده، ولی اختلاف معنی‌دار وجود نداشته است. تعداد گلبول‌های سفید (WBC) و میزان لنفوسیت (LYM) در همه تیمارها و تیمار شاهد بعد از 60 روز کاهش یافت و بیشترین میزان کاهش مربوط به تیمار حاوی لوگ 8 باکتری بود. به هنگام استفاده از لوگ 8 پلانتاروم، میزان MCH و MCHC کاهش داشته که فاقد اختلاف معنی‌دار بوده است. بنابراین مطالعه حاضر نشان داد که افزودن باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلانتاروم به جیره غذایی تاس‌ماهی سبیری می‌تواند اثر مطلوبی بر فاکتورهای خونی آن‌ها داشته باشد.

کلمات کلیدی: تاس‌ماهی سبیری، فاکتورهای خونی، لاکتوباسیلوس پلانتاروم، پروبیوتیک

مقدمه

در سال‌های اخیر آبی پروری به یک فعالیت مهم اقتصادی در بسیاری از کشورها تبدیل شده است. همراه با رشد آبی-پروری، مشکلاتی نظیر شیوع بیماری، اختلالات فیزیولوژیک، کنترل کیفیت آب بوجود آمد. از روش‌های سنتی به منظور کنترل بیماری‌ها، استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها، واکسن‌ها و مواد شیمیایی است. مطالعات صورت گرفته در سال‌های اخیر نشان داد که آنتی‌بیوتیک‌ها خود باعث بروز مشکلاتی نظیر بالا رفتن هزینه تولید (AI-Dohail و همکاران، 2009)، انباشتگی در محیط و در نتیجه آلوده کردن محیط (AI-Dohail و همکاران، 2009؛ Wang و همکاران، 2008)، انباشتگی در بدن آبی (Nik Khoo و همکاران، 2010) و در نهایت به ایجاد سویه‌های مقاوم در بدن میزبان (He و همکاران، 2011) اشاره کرد. علاوه بر موارد مذکور، استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها، واکسن‌ها و مواد شیمیایی سبب

استرس‌های زیاد در آبزیان می‌گردد (Son و همکاران، 2009). به همین دلیل در دهه‌های اخیر به جای استفاده از داروها و آنتی-بیوتیک‌ها از مکمل‌های غذایی از جمله پروبیوتیک‌ها استفاده می‌کنند. در واقع پروبیوتیک‌ها مکمل غذایی میکروبی زنده است که با بهبود تعادل میکروارگانیسم‌های روده، اثرات مفیدی بر میزبان دارد (Wang و همکاران، 2008؛ Fuller، 1987). از پروبیوتیک‌ها در مزارع پرورش آبزیان (نرم‌تنان، سخت پوستان، ماهی) برای بهتر کردن کیفیت محیط زیست آبی، افزایش میکروفلورهای مفید در لوله‌گوارش ماهی و از نظر تغذیه‌ای به منظور بهبود جذب غذا با تولید آنزیم‌های خارج سلولی و ویتامین‌ها استفاده می‌شود (Iranito و Austin، 2002). پروبیوتیک‌ها با کاهش میزان بیماری‌ها و دوره‌های آن‌ها و همچنین بالابردن سیستم ایمنی بدن و خاصیت ضدپروسی که دارند موجب کاهش تلفات و جلوگیری از ضرر و زیان اقتصادی

لوگ‌های 7، 8 و 9 باکتری را تهیه کرده و به جیره غذایی ماهی اضافه می‌کنیم.

تهیه جیره: برای انجام این آزمایش از خوراک ماهی اکسترود GF₁ استفاده شد. این جیره برای ماهیان قزل آلا طراحی شده بود، اما از آنجا که پلت‌ها حالت فروروندگی سریع داشتند و مهم تر اینکه ارزش غذایی این جیره مناسب بود، بنابراین برای پیشبرد سریع‌تر کار از آن استفاده شد.

برای تهیه جیره آزمایشی، میزان تعیین شده از سوسپانسیون باکتری پروبیوتیک، بر روی جیره غذای ماهیان اسپری شد. در حین اسپری کردن محلول سوسپانسیون بر روی غذا، با قاشق‌های پلاستیکی مخلوط شد تا باکتری‌ها توزیع یکنواختی در غذا داشته باشند.

طراحی آزمایش: تعداد 240 عدد ماهی خاویاری سبیری با متوسط وزن 35-40 گرم در 12 ونیرو تهیه گردید (20 قطعه بچه ماهی در هر ونیرو). به منظور بررسی فاکتورهای خونی، ابتدا سوسپانسیونی از باکتری لاکتوباسیلوس پلانناروم تهیه شده و پس از مقایسه با لوله‌های استاندارد 0/5 مک فارلند، لوگ‌های 7، 8 و 9 باکتری تهیه شد و به جیره غذایی ماهی اضافه شد. باید دقت نمود که دوز نهایی باکتری در هر گرم از غذای ماهی به حدود لوگ 7، 8 و 9 برسد (سه تیمار). برای هر تیمار 3 تکرار در نظر گرفته شد. غذایی به صورت 2 بار در روز صورت می‌گرفت. ماهیان به میزان 2 درصد وزن بدنشان تغذیه می‌شدند. پس از اضافه نمودن پروبیوتیک به غذا، تغییرات فاکتورهای خونی تا 60 روز و به فواصل زمانی 30 روز مورد بررسی قرار گرفت.

اندازه‌گیری فاکتورهای هماتولوژی: در روز 30 و 60 از آزمایش، به صورت کاملاً تصادفی از هر وان 5 عدد ماهی برای خون‌گیری خارج شد. خون‌گیری به وسیله سرنگ 2 سی‌سی از قسمت ورید دمی ماهیان صورت گرفت. سپس درون تیوب‌های اپندروف غیر هیپارینه برای انجام مطالعات منتقل شدند. نمونه‌های خون به آزمایشگاه خون‌شناسی پژوهشگاه اکولوژی آبزیان دریای خزر برای ارزیابی شاخص‌های خونی که شامل اندازه‌گیری پارامترهای مربوط به گلبول‌های قرمز و گلبول‌های سفید انتقال یافت.

تعداد گلبول‌های سفید (WBC) از طریق لام نوبار و میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی 400 پس از رقیق‌سازی خون به وسیله بافر فسفات نمکی شمارش شدند. برای اندازه‌گیری هماتوکریت (HCT) از لوله‌های موبین هماتوکریت و دستگاه سانتریفیوژ هماتوکریت استفاده شد. میزان متوسط حجم گلبول‌های قرمز (MCV)، متوسط وزن هموگلوبین در هر گلبول‌های قرمز (MCH) و متوسط غلظت هموگلوبین سلولی (MCHC) از طریق فرمول محاسبه شدند (Asadi et al., 2012). هموگلوبین (HB) به وسیله کیت مخصوص شرکت پارس آزموون و به روش کلرومتریک با طول موج 540 نانومتر در دستگاه اسپکتوفتومتر اندازه‌گیری شد.

فرمول محاسبه میزان متوسط حجم گلبول‌های قرمز

$$MCV = (Hct \times 1000) / RBC (10^6 \text{ mm}^{-3})$$
 فرمول محاسبه متوسط هموگلوبین گلبول‌های قرمز

می‌گردند (Fuller, 1989). پروبیوتیک‌ها انواع مختلفی دارند که از آن‌ها می‌توان به برخی از باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی، مخمرها و باکتریوفاژها اشاره کرد (Austin و Iranito, 2002). پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلانناروم باکتری گرم مثبت است که جزو گروه باکتری‌های اسیدلاکتیک طبقه‌بندی می‌شود که در این تحقیق از این باکتری به عنوان پروبیوتیک استفاده شده است.

ماهیان خاویاری یکی از با ارزش‌ترین گونه‌های آبزیان به شمار می‌رود به دلیل اینکه هم از نظر گوشت و هم خاویار ماهیان با ارزشی به شمار می‌روند. تاس ماهی سبیری یک گونه وارداتی است و به آسانی با شرایط اسارت و پرورش سازگار می‌شود. سرعت رشد بالایی دارد و به خوبی تغییرات را تحمل می‌کند. تاس‌ماهی سبیری به راحتی غذای دستی را می‌پذیرد و در سن پایین بالغ می‌شود، از این‌رو خاویاردهی سریعی دارد (Pyka و Kolman, 2003).

در این تحقیق به بررسی شاخص‌های خونی پرداختیم که بررسی این شاخص‌ها روش مناسبی به منظور ارزیابی وضعیت سلامت ماهیان می‌باشند (Houston, 1997; Asadi و همکاران, 2006) و بر اساس یافته‌های حاصل از مطالعات انجام گرفته متأثر از مکمل‌های غذایی مانند پروبیوتیک‌ها هستند (Iranito و Austin, 2002; Brunt و Austin, 2005). علاوه بر این بررسی شاخص‌های خونی به عنوان ابزاری در شناسایی بیماری‌ها و تعیین وضعیت بهداشتی و سلامت ماهیان می‌تواند به کار رود (جمیلی و همکاران, 1387).

از جمله پژوهش‌های انجام گرفته در خصوص اثرات جیره غذایی حاوی سطوح متفاوت پروبیوتیک‌ها روی فاکتورهای خونی ماهیان می‌توان به تحقیقات ناصری و همکاران (1387) در لارو ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (18)، بینایی و همکاران (1390) در فیل ماهی پرورشی، حسینی و همکاران (1393) در بچه ماهیان آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*)، کامکار و همکاران (1394) در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان، Al-Dohail (2009) در گربه ماهی آفریقای پرداختند اشاره کرد.

مواد و روش‌ها

تهیه پروبیوتیک: پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلانناروم باکتری‌های اسیدلاکتیک است. سویه لاکتوباسیلوس پلانناروم مورد استفاده در این آزمایش PTCC 1058 است. این باکتری به صورت تجاری (لیوفیلیزه) تهیه گردید. استوک مورد استفاده برای آزمایشات لاکتوباسیلوس پلانناروم بوده که از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه می‌شود.

برای تهیه لگاریتم‌های مور نظر، باکتری پروبیوتیک پودر شده را به محیط کشت مایع TSB اضافه می‌کنیم. سپس آن را در انکوباتور با دمای 37 درجه سانتیگراد به مدت 18 ساعت قرار داده تا کدر شود و بعد آن را در سانتریفیوژ با دور 5000 به مدت 15 دقیقه قرار می‌دهیم. مایع باقی مانده رویی را دور می‌ریزیم و 3 بار دیگر سانتریفیوژ کرده و در مرحله آخر مقداری سرم فیزیولوژی به آن اضافه می‌کنیم تا سوسپانسیون شود و به رنگ کدر در آید. سپس با استفاده از لوله‌های استاندارد 0/5 مک فارلند ($1/5 \times 10^8$) واحد تشکیل‌دهنده کلنی در هر میلی‌لیتر)



هموگلوبین (HB)، متوسط حجم گلبول‌های قرمز (MCV)، متوسط وزن هموگلوبین در هر گلبول‌های قرمز (MCH) و متوسط غلظت هموگلوبین سلولی (MCHC) مربوط به گلبول قرمز در جدول شماره 1 نشان داده شده است.

نتایج بدست آمده از بررسی تیمارهای حاوی لوگ 8 باکتری نشان‌دهنده آن است که میزان Hb، HCT، MCV و افزایش نسبی داشته و میزان MCH و MCHC کاهش داشته‌اند ولی با این وجود اختلاف معنی‌دار در ماه‌های اول و دوم آزمایش مشاهده نشده است ($p>0/05$). بررسی تیمار حاوی لوگ 7 باکتری نشان داد که تمامی پارامترها دارای روند صعودی بوده ولی با این وجود اختلاف موجود در ماه‌های اول و دوم معنی‌دار نبوده است ($p>0/05$). بررسی تیمار حاوی لوگ 9 باکتری، نشان داد که تمامی پارامترها دارای روند صعودی بودند و اختلاف ما بین MCV، MCH و MCHC در ماه‌های اول و دوم معنی‌دار بوده است ($p<0/05$). بررسی تیمار شاهد نشان داد که تمامی پارامترها بطور جزئی افزایش داشتند ولی اختلاف معنی‌داری بین داده‌ها در ماه‌های اول و دوم مشاهده نشد ($p>0/05$).

$MCH=Hb(gdl^{-1})/RBC(10^6mm^{-3})$ فرمول

محاسبه متوسط غلظت هموگلوبین سلولی
 $MCHC=Hb/Hct$

تجزیه و تحلیل آماری: برای تجزیه و تحلیل داده‌ها ابتدا از آزمون شاپیرو ویلک (Shapiro wilk) به منظور آزمون نرمال بودن داده‌ها استفاده شده و با توجه به نرمال بودن داده‌ها، از آزمون آنالیز واریانس یکطرفه Anova جهت ارتباط معنی‌داری ما بین داده‌های هر گروه و از آزمون Duncan جهت تأیید نهایی تست آنالیز واریانس استفاده گردید. وجود یا عدم وجود اختلاف معنی‌دار با ضریب اطمینان 95 و 99 درصد و ارزش P در محدوده 0/01 و 0/05 تعیین گردید.

نتایج

برای نشان دادن اثر پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلانتروم بر فاکتورهای خونی تاس ماهی سیبری، فاکتورهای مربوط به گلبول‌های قرمز و گلبول‌های سفید محاسبه شد.

نتایج فاکتور خونی مربوط به گلبول قرمز: نتایج آنالیز پارامترهای هماتولوژی که شامل میزان هماتوکریت (HCT)،

جدول 1: پارامترهای مربوط به گلبول قرمز در تیمارهای مختلف ماهی سیبری در پایان آزمایش

شاخص‌ها	لوگ 7	لوگ 8	لوگ 9	شاهد
هماتوکریت (گرم در دسی‌لیتر)	32/3±67/13	2±35/64	34/3±67/51	34/2±67/3
هموگلوبین (گرم در دسی‌لیتر)	8/0±08/31	5/0±06/41	5/0±74/36	4/0±75/37
متوسط حجم گلبول‌های قرمز (فمتولیتر)	295/38±75/09	305/34±67/45	363/39±38/02	352/36±33/03
متوسط وزن هموگلوبین در هر گلبول‌های قرمز (پیکوگرم)	72/4±06/33	44/4±2/34	60/5±29/13	48/6±35/08
متوسط غلظت هموگلوبین سلولی (درصد)	25/0±08/32	14/0±57/14	16/0±60/79	13/0±71/16

7 باکتری نشان داد که، مقادیر تعداد گلبول سفید روند کاهشی داشته ولی میزان رادیکال آزاد افزایش معنی‌دار داشته است ($p<0/05$). در تیمار حاوی لوگ 9 باکتری نتایج حاکی از افزایش معنی‌دار نوتروفیل و رادیکال آزاد اکسیژن بوده است ($p<0/05$). در تیمار شاهد کاهش و یا افزایش نسبی برخی از پارامترها در ماه دوم معنی‌دار نبوده است.

نتایج فاکتور خونی مربوط به گلبول سفید: نتایج آنالیز پارامترهای هماتولوژی که شامل میزان تعداد گلبول‌های سفید (WBC)، لنفوسیت (Lym)، نوتروفیل (Neut)، رادیکال آزاد اکسیژن (O⁻) در جدول 2 نشان داده شده است. بررسی نتایج بدست آمده از تیمار حاوی لوگ 8 باکتری نشان داد که تعداد نوتروفیل و رادیکال آزاد اکسیژن بطور معنی‌داری افزایش داشته است ($p<0/05$). بررسی نتایج بدست آمده از تیمار حاوی لوگ

جدول 2: پارامترهای مربوط به گلبول سفید در تیمارهای مختلف ماهی سیبری در پایان آزمایش

شاخص‌ها	لوگ 7	لوگ 8	لوگ 9	شاهد
تعداد گلبول‌های سفید (سلول در هر میلی‌لیتر)	612±15067	631±15067	523±12733	504±10267
لنفوسیت (درصد)	3±98/16	3±95/19	96/3±33/02	98/3±66/4
نوتروفیل (درصد)	1±2/04	0±5/91	3/1±66/06	1/0±33/05
رادیکال آزاد اکسیژن (واحد نسبی نور در ثانیه)	2914/161±2/13	2680/167±4/71	1965/172±2/65	1292/174±9/51

بحث

خون، به عنوان یک بافت سیال یکی از مهمترین مایعات بیولوژیک بدن بوده که تحت تأثیر حالات مختلف فیزیولوژیک و

پاتولوژیک، ترکیبات آن دستخوش نوسان و تغییر می‌گردند (حسینی و همکاران، 1393). لذا در اختیار داشتن مقادیر طبیعی پارامترهای خونی و بررسی چگونگی تغییرات آن‌ها در



سوبتیلیس در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان بر میزان گلبول‌های قرمز، هماتوکریت، هموگلوبین، متوسط حجم گلبول‌های قرمز، متوسط هموگلوبین گلبول‌های قرمز و متوسط غلظت هموگلوبین سلولی تأثیری نداشت و بین میزان فاکتورهای مذکور در دو گروه اختلاف معنی‌دار نبود ($p>0/05$) در حالی که در یافته‌های حاصل از مطالعه حاضر، میزان هموگلوبین، هماتوکریت، متوسط حجم گلبول‌های قرمز در همه تیمارها افزایش داشته و میزان گلبول‌های قرمز به جز در تیمار حاوی لگاریتم 9 در بقیه تیمارها افزایش داشته و میزان متوسط هموگلوبین گلبول‌های قرمز و متوسط غلظت هموگلوبین سلولی به جز در تیمار حاوی لگاریتم 8 در بقیه تیمارها افزایش داشته است. همچنین نتایج حاصل از بررسی تأثیر باسیلوس سوبتیلیس نشان داد که تعداد گلبول‌های سفید، لنفوسیت در گروه تیمار به طور معنی‌داری بزرگتر از گروه شاهد بود ($p<0/05$) و درصد نوتروفیل و مونوسیت در گروه شاهد به طور معنی‌داری بزرگتر از گروه تیمار بود ($p>0/05$). اما در تحقیق حاضر، تعداد گلبول‌های سفید، آلبومین و نوتروفیل در گروه تیمارها بیشتر از گروه شاهد بود و میزان لنفوسیت در گروه شاهد بیشتر از تیمارها بود و مونوسیت هم در تیمارها مشاهده نشد.

در بررسی صورت گرفته توسط بینایی و همکاران (1390)، 240 عدد فیل ماهی یک ساله در یک دوره 12 هفته با دوزهای 100، 200 و 300 میلی‌گرمی به ازای هر کیلوگرم وزن جیره با پروبیوتیک تجاری باکتوسل (Bactocell®) تغذیه شده و فاکتورهای خونی و بیوشیمیایی فیل ماهی پرورشی مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که تعداد کل گلبول‌های قرمز، میزان هموگلوبین و هماتوکریت در دوزهای 100 و 200 میلی‌گرم در مقایسه با شاهد از افزایش معنی‌داری برخوردار بوده است، لیکن میزان گلبول‌های سفید در دوز 200 و 300 میلی‌گرم افزایش معنی‌داری در مقایسه با شاهد داشت.

در مطالعه‌ای اثر پدیوکوکوس اسیدی لاکتیسی بر پارامترهای خونی فیل ماهی جوان پرورشی که توسط حمیدیان و همکاران 1392 انجام شد به این نتیجه رسیدند که سطوح مختلف پدیوکوکوس اسیدی لاکتیسی تأثیری بر پارامترهای خونی ندارد، حمیدیان و همکاران نشان دادند که با افزایش میزان پروبیوتیک تعداد گلبول‌های قرمز و گلبول‌های سفید افزایش می‌یابد، انتی‌بادی‌های مخاط تأثیری ندارد که با مطالعه حاضر در تضاد بود. در مطالعه حاضر با افزودن پروبیوتیک به جیره بعد از 60 روز افزایش قابل توجهی در تعداد لنفوسیت‌ها مشاهده شد، با این حال این روند افزایش در مقایسه با گروه شاهد معنی‌دار نبود.

همچنین مطالعات بیشتری می‌بایست به منظور تعیین اثرات پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلانناروم بر فیزیولوژی دستگاه گوارش و آنزیم‌های گوارشی از جمله آمیلاز، پروتئاز و لیپاز صورت پذیرد.

تشکر و قدردانی

از پژوهشکده اکولوژی دریای خزر و مجتمع بازسازی ذخایر شهید رجایی _ ساری که در طول انجام این تحقیق امکانات

بیماریهای مختلف همواره از ابزارهای مهم تشخیص در بسیاری از بیماری‌های آبزیان بوده است. شاخص‌های خونی در ماهیان می‌تواند متاثر از مواردی چون گونه پرورشی، اندازه، سن، وضعیت فیزیولوژیکی، شرایط محیطی و رژیم غذایی باشد (Brunt و همکاران، 2005). فرمولاسیون جیره‌های غذایی، نوع پروبیوتیک مصرفی، درجه خلوص پروبیوتیک مصرفی، روش‌های مختلف اضافه کردن به جیره به طور قابل ملاحظه‌ای بر خصوصیات ریخت‌شناسی خون اثر می‌گذارند.

نتایج این مطالعه نشان داد که افزودن سطوح مختلف پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلانناروم به جیره غذایی تاس ماهی سبیری از نظر میزان HCT و Lym بین تیمارهای آزمایشی با گروه شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. احتمالاً عدم معنی‌داری درصد هماتوکریت در تیمارها با گروه شاهد در وضعیت غذایی و بهداشتی ماهیان و در نتیجه کاهش حجم خون ماهیان توجیه کرد (ستاری، 1381).

از نظر تعداد گلبول سفید تیمارهای آزمایشی با مصرف پروبیوتیک سیستم ایمنی آن‌ها تحریک می‌شود و بیشترین میزان گلبول‌های سفید مربوط به تیمارهای 7 و 8 باکتری بود و در پایان دوره آزمایش بین تیمار شاهد و سایر تیمارها اختلاف معنی‌دار مشاهده شد. از نظر میزان هموگلوبین بین تیمار شاهد و تیمار حاوی لوگ 7 و 9 باکتری اختلاف معنی‌دار مشاهده شد و بیشترین میزان هموگلوبین در تیمار حاوی لوگ 7 باکتری مشاهده شد. از نظر میزان MCHC بین تیمار شاهد و تیمار حاوی لوگ 8 باکتری اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ولی سایر تیمارها با گروه شاهد دارای اختلاف معنی‌دار بودند.

مطالعات انجام گرفته توسط Brunt و همکاران در سال 2005، نشان داد که با افزودن پروبیوتیک باعث افزایش گلبول‌های سفید می‌شود. بنابراین نوع باکتری مورد استفاده و ویژگی‌های آن تأثیر متفاوتی بر تعداد گلبول‌های سفید خواهند داشت.

در مطالعه حاضر تیمارهای حاوی لوگ‌های مختلف لاکتوباسیلوس پلانناروم باعث افزایش رادیکال آزاد اکسیژن نسبت به تیمار شاهد شدند. رادیکال آزاد اکسیژن در ارتباط مستقیم با انفجار تنفسی در نوتروفیل‌ها می‌باشد. بنابراین متعاقب افزایش نوتروفیل‌ها رادیکال آزاد اکسیژن نیز افزایش می‌باشد.

در مطالعه مروری که توسط Nayak ارائه شده، گزارش شد که پروبیوتیک‌های مختلف که بصورت ترکیبی و یا منفرد مورد استفاده قرار می‌گیرند باعث افزایش انفجار تنفسی نوتروفیل‌ها، فاگوسیتوزیس شده و در حقیقت سیستم ایمنی ذاتی را تحت تأثیر قرار می‌دهد. مطالعات مختلف نشان داد که به دنبال استفاده از باکتری‌های دارای خواص پروبیوتیک نظیر باسیلوس‌ها و باکتری‌های گروه لاکتیک، فعالیت انفجار تنفسی افزایش می‌یابد (Xu و همکاران، 2009; Salinas و همکاران، 2005; Nikoskelainen و همکاران، 2003).

کامکار و همکاران در سال 1391 به بررسی تأثیر باسیلوس سوبتیلیس به عنوان پروبیوتیک بر فاکتورهای هماتولوژی و بیوشیمیایی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان پرداختند. به طوری که از 2 گروه شامل کنترل و تیمار استفاده شد. در گروه کنترل، پروبیوتیک تجویز نشد اما در گروه تیمار، باسیلوس سوبتیلیس با دوز 124 سلول به ازای هر گرم غذا تجویز گردید. پس از انجام آزمایشات، تجزیه و تحلیل یافته‌ها نشان داد که افزودن باسیلوس



10. **Brunt, J. and Austin, B., 2005.** Use of a probiotic to control lactococcosis and streptococcosis in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Journal of Fish Disease, Vol. 28, pp: 693-701.
11. **Fuller, R., 1989.** Probiotics in man and animals. J. Appl. Bacteriol. Vol. 66, pp: 365-378.
12. **Fuller, and Wayne, A., 1987.** Measurement Error Models. John Wiley and Sons, New York.
13. **He, S.; Liu, W.; Zhou, Zh.; Wei Mao, W.; Ren, P.; Marubashi, T. and Ringo, E., 2011.** Evaluation of probiotic strain *Bacillus subtilis* C-3102 as a feed supplement for koi carp (*Cyprinus carpio*). Aquaculture research & development.
14. **Houston, H., 1997.** Are the classical hematological variables acceptable indicators of fish health? American Fish Society, Vol. 126, pp: 879-894.
15. **Irianto, A. and Austin, B., 2002.** Use of probiotics to control furunculosis in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). J. Fish Dis. Vol. 25, pp: 333-342.
16. **Nayak, S.K.; Swain, P. and Mukherjee, S.C., 2007.** Effect of dietary supplementation of probiotic and vitamin C on the immune response of indian major carp, *Labeo rohita* (Ham): Fish & Shellfish Immunology, Vol. 23, pp: 892-896.
17. **Nikkhoo, M.; Yusefiyan, M. and Safari, R., 2010.** Effect of aqualase as a probiotic on growth and survival of Cyprinidae (*Cyprinus carpio*). Marine science and technology. (translated in Persian)
18. **Nikoskelainen, S.; Ouwehand, A.C.; Bylund, G.; Salminen, S. and Lilius, E.M., 2003.** Immune enhancement in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) by potential probiotic bacteria (*Lactobacillus rhamnosus*). Fish Shellfish Immunol. Vol. 15, pp: 443-452.
19. **Pyka, J. and Kolman, R., 2003.** Feeding intensity and growth of Siberian sturgeon *Acipenser baerii* Brandet in pond cultivation. Archives of Polish Fisheries, Vol. 11, pp: 287-294.
20. **Salinas, I.; Cuesta, A.; Esteban, M.A. and Meseguer, J., 2005.** Dietary administration of *Lactobacillus delbriekii* and *Bacillus subtilis*, single or combined, on gilthead seabream cellular innate immune responses. Fish Shellfish Immunol. Vol. 19, pp: 67-77.
21. **Son, V.M.; Chang, Ch.Ch.; Wu, M.Ch.; Guu, Y.K.; Chiu, Ch.H. and Cheng, W., 2009.** Dietary administration of the probiotic, *Lactobacillus plantarum*, enhanced the growth, innate immune responses, and disease resistance of the grouper *Epinephelus coioides*. Fish & Shellfish Immunology. Vol. 26, pp: 691-698.
22. **Wang, Y.B.; Li, J.R. and Lin, J., 2008.** Probiotics in aquaculture: Challenges and outlook. Aquaculture, Vol. 281, pp: 1-4.
23. **Xu, B.; Wang, Y.; Li, L. and Lin, Q., 2009.** Effect of prebiotic xylooligosaccharides on growth performances and digestive enzyme activities of allogynogenetic crucian carp (*Carassius auratus gibelio*). Fish Physiology Biochem. Vol. 35, pp: 351-357.

و شرایط مناسب را برای اجرای موفقیت آمیز این پروژه فراهم نمودند تشکر و سپاسگزاری می‌نمایم.

منابع

1. **بنیایی، م.؛ قیاسی، م.؛ پورغلام، ر.؛ نقوی، ع. ر. و سعیدی، ع. ا.، 1390.** بررسی فاکتورهای خونی، بیوشیمیایی و ایمنی فیل ماهی پرورشی تغذیه شده با پروبیوتیک باکتوسل (Bactocell®). کتابچه خلاصه مقالات، اولین همایش ملی آبی‌پروری ایران، بندر انزلی، 461 صفحه.
2. **جمیلی، ش.؛ ماشینیان مرادی، ع.؛ بهمنی، م. و کیانی ضیابری، ک.، 1387.** بررسی و شناخت فاکتورهای خونی اردک ماهی تالاب انزلی، اولین همایش ملی علوم و شیلات و آبیان ایران، لاهیجان، صفحات 37 تا 39.
3. **حسینی، ع.؛ اورجی، ح.؛ یگانه، س. و شهابی، ع.، 1393.** تأثیر پروبیوتیک پدیوکوکوس اسیدی لاکتیسی روی رشد، فاکتورهای خونی و سرمی در ماهی آزاد دریای خزر. مجله علمی شیلات ایران. سال 23، شماره 2، صفحات 35 تا 45.
4. **حمیدیان، ن.، 1392.** ارزیابی اثر *Pediococcus acidilactici* بر شاخص‌های رشد و پارامترهای خونی فیل ماهی (*Huso huso*). همایش ملی علوم جانوران آبی، رشت، دانشگاه گیلان، صفحات 231 تا 245.
5. **ستاری، م.، 1381.** کتاب ماهی‌شناسی (1) تشریح و فیزیولوژی. انتشارات نقش مهر دانشگاه گیلان. صفحات 105 تا 176.
6. **کامکار، م.؛ قانع، م.؛ پورغلام، ر. و قیاسی، م.، 1394.** تأثیر *Bacillus subtilis* به عنوان پروبیوتیک بر فاکتورهای هماتولوژی و بیوشیمیایی خون ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) به دنبال عفونت تجربی با *Streptococcus iniae*. نشریه توسعه آبی‌پروری دانشگاه آزاد لاهیجان. سال 6، شماره 1، صفحات 91 تا 102.
7. **ناصری، س.، 1387.** بررسی تأثیر پروبیوتیک‌ها و آهن بر رشد و بازماندگی لارو ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان. پایان‌نامه کارشناسی ارشد شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان. 125 صفحه.
8. **Al-Dohail, M.A.; Hashim, R. and Aliyu-Paiko, M., 2009.** Effects of the probiotic, *Lactobacillus acidophilus*, on the growth performance, haematology parameters and immunoglobulin concentration in African Catfish (*Clarias gariepinus*, Burchell 1822) fingerling. Aquaculture Research, Vol. 40, pp: 1642-1652
9. **Asadi, F.; Rostami, A.; Pourkabir, M. and Shahriari, A., 2006.** Serum lipid and lipoprotein profile of Asian tortoise (*Agriemys horsfieldi*) in prehibernation state. Comparative Clinical Pathology. Vol. 16, No. 3, pp: 193-195.

