

تأثیر خوراکی لاکتوباسیلوس کازئی و سطوح مختلف ایمونوژن بر عملکرد فاکتورهای ایمنی و خونی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

محبوبه کاهکش^۱، لاله رومیانی^{*}

*l.roomiani@yahoo.com

۱-گروه شیلات، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران

تاریخ دریافت: بهمن ۱۳۹۵

تاریخ پذیرش: بهمن ۱۳۹۶

چکیده

پژوهش حاضر به منظور ارزیابی اثرات سین بیوتیک لاکتوباسیلوس کازئی (PTCC 1608) به همراه پروبیوتیک ایمونوژن بر روی فاکتورهای خونی و ایمنی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) انجام گرفت. بدین منظور تعداد 300 قطعه بچه ماهی کپور معمولی (با وزن متوسط حدود 40 گرم) به ترتیب با جیره های حاوی 5/0 درصد (گروه A)، 1 درصد (گروه B) و 5/1 درصد (گروه C) ایمونوژن به همراه پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازئی با غلظت 5×10^7 CFUg⁻¹ در گرم، 5×10^7 CFUg⁻¹ پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازئی به تنهایی (گروه D) و تیمار شاهد فاقد سین بیوتیک (گروه E) به مدت 75 روز غذایی شدند. نتایج نشان داد که در روز 60 میزان گلبول های سفید در تیمارهای A، B و C نسبت به روز صفر و گروه کنترل اختلاف معنی داری ایجاد نمودند ($p < 0/05$). تعداد گلبول های قرمز در گروه A، B، C و D در روز 30 دارای بیشترین میزان بود و نسبت به روز صفر و گروه کنترل اختلاف معنی داری داشت ($P < 0/05$). میزان لایزوزیم سرم در تیمارهای B و D تا روز سیام و در تمامی تیمارها تا روز شصتم با گروه کنترل اختلاف معنی داری داشت ($p < 0/05$). تجویز سین بیوتیک در تیمارهای C و D بر روی میزان انفجار تنفسی در روز 30 و تیمارهای سین بیوتیکی تا روز 60 و در میزان کمپلمان تیمار A در روز 60 اختلاف معنی داری را نسبت به روز صفر و گروه شاهد ایجاد نمود ($p < 0/05$). لذا می توان نتیجه گرفت که تجویز خوراکی سین بیوتیک باعث بهبود برخی از فاکتورهای ایمنی و خونی می شود و بهترین سطح ایمونوژن در ترکیب سین بیوتیک این مطالعه تیمار یک درصد می باشد.

لغات کلیدی: لاکتوباسیلوس کازئی، ایمونوژن، فاکتورهای خونی، فاکتورهای ایمنی، کپور معمولی

*نویسنده مسئول

مقدمه

در بسیاری از کشورها پرورش آبزیان به یک فعالیت اقتصادی مهم تبدیل شده است. در یک دهه گذشته وقوع و اهمیت بیماری‌هایی که در تأسیسات پرورش ماهی دیده می‌شوند، ممکن است در نتیجه افزایش تراکم ماهیان و شرایط نامطلوب باشد که می‌تواند سبب پیدایش بیماری‌های خاص شود (Giri et al., 2013). پیشگیری و کنترل بیماری‌ها نیز در دهه گذشته اهمیت بیشتری پیدا کرده است و در این ارتباط کاربرد داروهای ضد میکروبی به عنوان یک شیوه کنترلی مد نظر می‌باشد. نگرانی‌های ناشی از استفاده‌های مکرر و طولانی مدت آنتی‌بیوتیک‌ها چه از نظر مقاومت زایی و چه از نظر ایجاد گونه‌های بیماری‌زای جدید، موجب شروع تلاش‌هایی در جهت عدم یا کاهش استفاده از این قبیل مواد شیمیایی شده است (Yarahmadi et al., 2016). سین‌بیوتیک‌ها ترکیبی از پروبیوتیک و پریبیوتیک هستند که ترکیب این دو ماده با هم موجب سودرسانی به میزبان می‌شود که موجب افزایش زنده ماندن و القاء مکمل‌های رژیمی میکروبی در مجرای گوارشی می‌شود (Hoseinifar et al., 2015). پریبیوتیک‌ها اجزاء غذایی غیرقابل هضم هستند که سبب رشد میزبان و مقاومت آن در برابر بیماری‌های باکتریایی (Derome et al., 2016) و باعث بهبود و تعادل میکروفلور روده و افزایش مکانیسم دفاعی میزبان می‌شوند (Khani et al., 2015; Mohajer Esterabadi et al., 2012). در راستای بهبود وضعیت بهداشتی ماهیان در مزارع آبی پروری، پریبیوتیک‌ها روی رشد، ترکیب بدن و استفاده از غذا می‌توانند تأثیرگذار باشند (Grisdale-Helland et al., 2008). ایمونوژن پریبیوتیکی تجاری است که محصول یک ترکیب طبیعی شامل چندین ماده محرک مانند بتاگلوکان و مانان الیگوساکارید می‌باشد که به عنوان مکمل غذایی در آبی پروری مورد استفاده قرار می‌گیرد (Ebrahimi et al., 2012). مطالعات انجام شده درباره تأثیرات ایمونوژن در لارو میگوی وانامی (Zhou et al., 2009)، فیل ماهی (Hosseini et al., 2011)، کپور معمولی (Ebrahimi et al., 2012)، شیربت (روحانی زاده و

همکاران، ۱۳۹۳)، محمدیان و همکاران (۱۳۹۴) و قزل‌آلای رنگین کمان (Yarahmadi et al., 2016) نشان داده است که باعث افزایش رشد، توازن میکروفلور روده و افزایش ایمنی می‌شود. مطالعه حاضر با هدف ارزیابی تأثیر سطوح مختلف پریبیوتیک ایمونوژن به همراه لاکتوباسیلوس کازئی بر فاکتورهای خونی و ایمنی کپور معمولی انجام شد.

مواد و روش کار

تعداد ۳۰۰ قطعه بچه ماهی کپور معمولی با میانگین وزنی حدود ۴۰ گرم از مرکز تکثیر شهید ملکی تهیه و به مدت سه هفته جهت سازگاری با شرایط آزمایشگاهی در سه حوضچه ۱۰۰۰ لیتری از جنس فایبرگلاس در دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز نگهداری شدند. پس از سازگاری، بچه ماهیان به ۵ گروه با سه تکرار تقسیم شدند (جدول ۱). طول دوره تحقیق دوازده هفته و در روزهای ۰، ۳۰، ۶۰ و ۷۵ ماهیان بیومتری شدند. نحوه چیدن حوضچه‌ها به صورت بلوک‌های تصادفی بود. تغذیه ماهیان براساس بیوماس و درجه حرارت آب و طبق توصیه کارخانه سازنده خوراک (بیضا بیست و یک) به مدت شصت روز صورت گرفت. ایمونوژن تجاری مورد استفاده از نوع بتوگلوکان بود. جهت آماده‌سازی باکتری‌های لاکتوباسیلوس و افزودن آنها به غذای ماهیان از روش در شرایط بی‌هوازی کشت داده (MRS) استفاده شد. باکتری‌ها در محیط آبگوشت شدند (Planas et al., 2004; Vine et al., 2004). پس از رشد، باکتری‌ها با سانتریفیوژ جداسازی و شست و شو شدند و به کمک لوله‌های استاندارد مک‌فارلند غلظت آنها بر روی CFU/ml 5×10^7 تنظیم شد. هر کدام از پروبیوتیک‌ها با غلظت CFU/ml 5×10^7 به هر گرم غذا اسپری شدند. جهت اطمینان از تعداد باکتری‌های زنده موجود در غذا، نمونه برداری و شمارش باکتریایی غذای حاصل انجام شد. بر روی غذای گروه شاهد فقط سرم فیزیولوژی استریل اسپری شد.

جدول ۱- تیمارهای مورد آزمایش

Table 1: Treatments tested

تیمار	نوع غذا
شاهد	تغذیه شده با خوراک فاقد سین بیوتیک
A	تغذیه شده با خوراک حاوی 0/5 درصد ایمونوژن و 5×10^7 CFU/g لاکتوباسیلوس کازئی در گرم خوراک
B	تغذیه شده با خوراک حاوی 1 درصد ایمونوژن و 5×10^7 CFU/g لاکتوباسیلوس کازئی در گرم خوراک
C	تغذیه شده با خوراک حاوی 1/5 درصد ایمونوژن و 5×10^7 CFU/g لاکتوباسیلوس کازئی در گرم خوراک
D	تغذیه شده با 5×10^7 CFU/g لاکتوباسیلوس کازئی در گرم خوراک

محیط کشت شمارش گردید. نتایج به صورت متوسط تعداد باکتری شمارش شده برای هر نمونه مشخص شد و تعداد باکتری شمارش شده در هر تیمار نسبت به تیمار شاهد مقایسه گردید. جهت اندازه‌گیری فعالیت کمپلمان از آزمایش همولیز در ژل آگارز استفاده شد (Nayak et al., 2010).

آنالیز آماری

تاثیر سین بیوتیک بر فاکتورهای ایمنی و شاخص‌های خونی با استفاده از آزمون آنالیز واریانس (ANOVA) مورد بررسی قرار گرفت. با استفاده از Tukey test میانگین فاکتورهای خونی با گروه شاهد به صورت دو به دو با هم مقایسه شدند. همچنین حدود اطمینان ۹۵ درصد برای میانگین فاکتورهای فوق محاسبه شد. از نرم افزار آماری (IBM® PASW/SPSS® Statistics 20.0, 2009) جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده شد.

نتایج

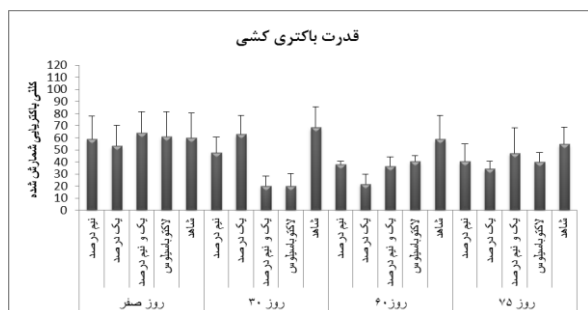
فاکتورهای ایمنی

لایزوزیم (Lysozyme)

در روز سیام در تیمار یک درصد ایمونوژن میزان لایزوزیم سرم هر چند که از تیمار شاهد بیشتر بود اما اختلاف معنی داری مشاهده نشد ($p > 0.05$). در روز شصت نیز تمامی تیمارها اختلاف معنی داری با گروه شاهد داشتند ($p < 0.05$) و بیشترین میزان مربوط به تیمار یک درصد بود. بررسی میزان لایزوزیم سرم در روز ۷۵ نشان داد که در تیمارهای لاکتوباسیلوس و 0/5 درصد ایمونوژن در ۱۴۱

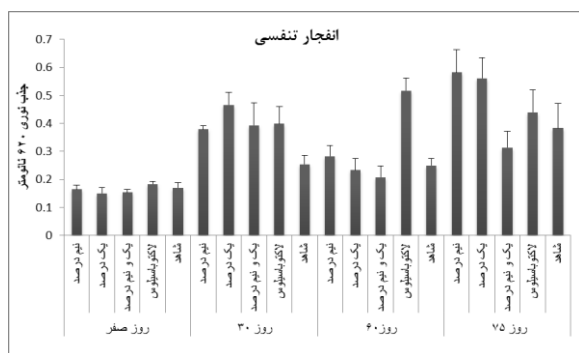
در این مطالعه پارامترهای خونی شامل گلبول‌های قرمز (RBC)، تعداد گلبول‌های سفید (WBC)، میزان هموگلوبین (Hb)، میزان هماتوکریت (PCV)، میانگین هموگلوبین سلولی (MCH)، میانگین حجم سلولی (MCV) و میانگین غلظت هموگلوبین سلول (MCHC) مورد بررسی قرار گرفتند (Kim and Kaushik, 1992). برای اندازه‌گیری میزان فعالیت لایزوزیم سرم از روش کدورت سنجی که توسط (Safari et al., 2016) توصیه شده است، استفاده گردید. میزان فعالیت لایزوزیم سرم با توجه به منحنی استاندارد مربوط به لایزوزیم سفیده تخم مرغ سیگما تعیین شد. برای اندازه‌گیری قدرت باکتری کشی سرم از روش (Kajita et al., 1990) با کمی تغییرات استفاده شد. برای این کار ابتدا باکتری آئروموناس هیدروفیلا به مدت ۶ ساعت در محیط TSB کشت داده شد و سپس از آن رقت 2×10^{-5} تهیه گردید. نمونه‌های سرمی نیز به نسبت 1:3 با بافر فسفات رقیق شدند. سوسپانسیون باکتریایی حاصل در میکروتیوب‌های استریل به نسبت 1:1 با سرم رقیق شده، مخلوط شدند و به مدت ۹۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد با حرکت ملایم انکوبه شدند. علاوه بر نمونه‌های فعال، آزمایش با سرم غیر فعال شده (سرم قرار گرفته حرارت دیده در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه) نیز انجام شد. سپس ۱۰ میکرولیتر از مخلوط سرم و باکتری در محیط کشت TSA کشت شد. تمامی مراحل در زیر هود و کنار شعله انجام شد. محیط‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردیدند و سپس به کمک دستگاه کلونی کانتر تعداد پرگنه باکتریایی رشد یافته در روی

درصد از بقیه گروه ها بهتر بود. در روز شصتم فقط در گروه لاکتوباسیلوس اختلاف معنی داری نسبت به گروه شاهد مشاهده شد ($p < 0.05$). تیمارهای آزمایشی در روز هفتاد و پنجم نسبت به گروه کنترل اختلاف معنی داری نشان دادند ($p < 0.05$) و در گروه های ۰/۵ و ۱ درصد ایمونوژن عملکرد بهتری مشاهده شد (شکل ۳).



شکل ۲: تاثیر لاکتوباسیلوس کازئی و سطوح مختلف پریبیوتیک ایمونوژن بر میزان قدرت باکتری کشی در کپور معمولی

Figure 2: The effect of *Lactobacillus casei* and different levels of immunogen perbiotic on bactericidal in common carp



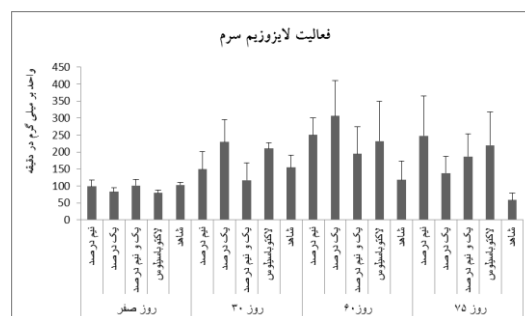
شکل ۳: تاثیر لاکتوباسیلوس کازئی و سطوح مختلف پریبیوتیک ایمونوژن بر میزان انفجار تنفسی در کپور معمولی

Figure 3: The effect of *Lactobacillus casei* and different levels of immunogen perbiotic on respiratory burst in common carp

کمپلمان (Complement)

میزان کمپلمان در روز سیام آزمایش در گروه های ۰/۵ و ۱ درصد ایمونوژن نسبت به گروه شاهد دارای اختلاف معنی داری بودند ($p < 0.05$), اما سایر گروه ها با گروه شاهد اختلاف معنی داری نداشتند ($p > 0.05$). در روز

مقایسه با تیمار شاهد افزایش معنی داری به لحاظ آماری داشته اند ($p < 0.05$), اما در گروه های ۱ و ۱/۵ درصد اختلاف معنی داری نسبت به گروه شاهد مشاهده نشد ($p > 0.05$) اما نسبت به گروه کنترل درصد بالاتری داشتند (شکل ۱).



شکل ۱: تاثیر لاکتوباسیلوس کازئی و سطوح مختلف پریبیوتیک ایمونوژن بر میزان فعالیت لایزوزیم سرم در کپور معمولی

Figure 1: The effect of *Lactobacillus casei* and different levels of immunogen perbiotic on serum lysozyme activity in common carp

فعالیت باکتری کشی (Bactericidal Activity)

در روز صفر هیچ گونه اختلاف معنی داری بین تیمارهای آزمایشی و گروه کنترل مشاهده نشد ($p > 0.05$). اما عملکرد تیمار یک درصد ایمونوژن از بقیه تیمارها بالاتر بود. در روز سیام در گروه های ۰/۵ و ۱/۵ درصد ایمونوژن و لاکتوباسیلوس در مقایسه با گروه شاهد اختلاف معنی داری داشتند ($p < 0.05$). بررسی ها در روز شصتم نشان داد که تمامی گروه ها در مقایسه با گروه کنترل اختلاف معنی داری داشتند ($p < 0.05$). روز ۷۵ در هیچ یک از گروه ها اختلاف معنی داری در مقایسه با گروه شاهد مشاهده نشد ($p > 0.05$) (شکل ۲).

بررسی میزان انفجار تنفسی (Respiratory burst)

با توجه به تجزیه و تحلیل نتایج آزمایش چنین استنباط می گردد که در روز صفر اختلاف معنی داری بین گروه های آزمایشی وجود نداشت ($p > 0.05$). در روز سیام در تیمارهای سین بیوتیکی اختلاف معنی داری نسبت به گروه کنترل دیده شد ($p < 0.05$) و عملکرد گروه یک

گروه شاهد شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده شد ($p < 0.05$). در روز شصتم فقط در گروه یک درصد ایمونوژن اختلاف معنی‌داری مشاهده گردید ($p < 0.05$) و در بقیه گروه‌ها نسبت به گروه شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($p > 0.05$) (جدول ۲).

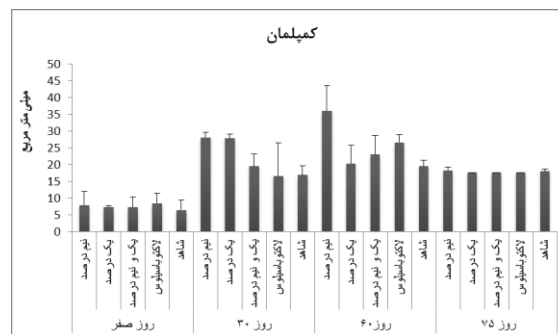
میزان گلبول‌های سفید

بررسی‌ها مشخص کرد که میزان WBC در تیمارهای آزمایشی روزهای صفر و سی‌ام اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد مشاهده نشد ($p > 0.05$). اما در روز شصتم (در جیره‌های حاوی ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد ایمونوژن) اختلاف معنی‌داری در مقایسه با تیمار شاهد داشتند ($p < 0.05$), اما در جیره حاوی لاکتوباسیلوس کازئی هر چند بیشتر از گروه شاهد بود، اما اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد مشاهده نشد ($p > 0.05$). بعد از دوره قطع مکمل غذایی میزان گلبول‌های سفید در تمام تیمارها (بجز تیمار لاکتوباسیلوس) کاهش معنی‌داری داشت ($p < 0.05$). نتایج میانگین حجم سلولی، هموگلوبین سلولی و غلظت هموگلوبین سلول نشان داد که تفاوت معنی‌دار آماری بین تیمارها در طی دوره پرورش مشاهده نگردید ($p > 0.05$) (جدول ۲).

بحث

استفاده از مواد تحریک کننده سیستم ایمنی در تغذیه ماهی سبب افزایش فعالیت لایزوزیم در خون ماهی می‌شود (Singh et al., 2011). در تحقیق حاضر میزان فعالیت آنزیم لایزوزیم سرم تیمارهای سین بیوتیک یک درصد (B) و پروبیوتیک (D) نسبت به تیمار شاهد در روز 30 افزایش داشته بطوریکه این اختلاف در گروه (B) معنی‌دار بود ($p < 0.05$) اما در گروه (D) این افزایش به صورت معنی‌دار با گروه کنترل نبود ($p > 0.05$). در روز شصت تیمار (B) دارای بیشترین میزان فعالیت لایزوزیم بود که با گروه شاهد و دیگر تیمارهای سین بیوتیکی و پروبیوتیکی اختلاف معنی‌داری داشت ($p < 0.05$).

شصتم در گروه ۰/۵ درصد نسبت به گروه شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده شد ($p < 0.05$). پس از قطع مکمل میزان فعالیت کمپلمان سرم در تمامی گروه‌ها کاهش یافت (شکل ۴).



شکل ۴: تاثیر لاکتوباسیلوس کازئی و سطوح مختلف پریبیوتیک ایمونوژن بر میزان کمپلمان در کپور معمولی

Figure 4: The effect of *Lactobacillus casei* and different levels of immunogen perbiotic on Complement in common carp

فاکتورهای خونی

میزان هماتوکریت

آنالیز آماری نتایج حاصله از سنجش میزان هماتوکریت در انتهای دوره نشان داد که میزان این آنزیم در تیمارهای خورنده شده با جیره حاوی سین بیوتیک در مقایسه با تیمار شاهد در هیچ یک از روزهای صفر، سی‌ام، شصتم و هفتاد و پنجم هیچ گونه اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($p > 0.05$) (جدول ۲).

میزان هموگلوبین

بررسی‌ها مشخص کرد که سنجش میزان هموگلوبین بین هیچ کدام از تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی‌داری نداشته است ($p > 0.05$) (جدول ۲).

میزان شمارش گلبول‌های قرمز

در تیمارهای آزمایشی روز صفر هیچ گونه اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد مشاهده نشد ($p > 0.05$). اما در روز سی‌ام (در هر یک از تیمارهای ۰/۵، ۱ و ۱/۵) نسبت به

جدول ۲- نتایج تاثیر لاکتوباسیلوس کازئی و سطوح مختلف پریبیوتیک ایمونوژن بر فاکتورهای خونی کبوتر معمولی
Table 2: The effects of *Lactobacillus casei* and different levels of immunogen probiotic on haemal factors of common carp

فاکتور خونی	تیمار	روز صفر	روز ۳۰	روز ۶۰	روز ۷۵
هماتوکریت (PCV%)	شاهد	۴۱/۳۷±۶/۱۶ ^{aA}	۳۲/۶۰±۱/۱۴ ^{aA}	۳۹/۲۰±۵/۴۷ ^{aA}	۳۷/۲۰±۳/۸۳ ^{aA}
	A	۳۸/۶۲±۷/۷۰ ^{aA}	۴۰/۴۰±۱/۵۱ ^{aA}	۳۵/۲۰±۱/۷۸ ^{aA}	۴۰/۴۲±۶/۱۶ ^{aA}
	B	۳۹/۳۷±۵/۲۸ ^{aA}	۳۵/۴۰±۱/۱۴ ^{aA}	۳۴/۸۰±۴/۳۲ ^{aA}	۳۸/۰۰±۵/۳۳ ^{aA}
	C	۳۹/۸۵±۵/۶۹ ^{aA}	۳۶/۸۰±۲/۴۸ ^{aA}	۳۸/۰۰±۱/۰۰ ^{aA}	۴۳/۴۰±۴/۰۳ ^{aA}
	D	۴۰/۴۲±۶/۱۶ ^{aA}	۳۳/۸۰±۲/۱۶ ^{aA}	۳۹/۳۶±۷/۲۴ ^{aA}	۴۲/۲۵±۶/۷۰ ^{aA}
هموگلوبین (Hb) (g/dl)	شاهد	۷/۸۷±۱/۱۹ ^{aA}	۵/۳۱±۰/۵۴ ^{aA}	۶/۸۶±۰/۱۳ ^{aA}	۷/۸۲±۱/۳۹ ^{aA}
	A	۸/۸۶±۰/۶۳ ^{aA}	۶/۵۵±۰/۴۱ ^{aA}	۵/۷۴±۱/۲۵ ^{aA}	۷/۷۵±۲/۹۰ ^{aA}
	B	۶/۳۶±۰/۵۴ ^{aA}	۶/۲۷±۰/۴۵ ^{aA}	۵/۴۰±۰/۷۱ ^{aA}	۶/۸۱±۱/۸۶ ^{aA}
	C	۷/۲۶±۰/۷۱ ^{aA}	۵/۳۶±۰/۹۰ ^{aA}	۶/۹۴±۰/۸۱ ^{aA}	۷/۲۰±۰/۸۱ ^{aA}
	D	۸/۰۶±۱/۱۹ ^{aA}	۵/۲۹±۰/۵۱ ^{aA}	۶/۶۶±۰/۳۴ ^{aA}	۵/۹۱±۰/۳۳ ^{aA}
گلبول قرمز (RBC) ×۱۰ ^۶	شاهد	۷۱/۵±۱۷/۰۷ ^{aA}	۸۱/۸۰±۱۰/۷۵ ^{aA}	۷۹/۷۵±۱۲/۱۴ ^{aB}	۷۲/۶۰±۱۶/۰۰ ^{aB}
	A	۷۱/۸۸±۱۳/۴۱ ^{bA}	۱۹۴/۰۰±۱۳/۸۷ ^{aB}	۱۱۵/۰۰±۱۱/۱۸ ^{abAB}	۱۵۸/۴۰±۱۶/۵۱ ^{aA}
	B	۶۴/۱۶±۱۴/۲۰ ^{cA}	۱۶۷/۰۰±۱۹/۸۷ ^{bA}	۲۵۱/۶۰±۱۰/۲۱ ^{aA}	۱۷۷/۲۰±۳۰/۱۶ ^{bA}
	C	۷۵/۲۵±۱۴/۲۲ ^{cA}	۲۲۴/۰۰±۳۰/۴۹ ^{aA}	۱۱۸/۴۰±۱۴/۲۲ ^{bAB}	۱۶۵/۶۰±۳۰/۵۲ ^{abA}
	D	۶۴/۰۰±۱۷/۰۷ ^{bA}	۲۰۳/۰۰±۱۳/۰۳ ^{aA}	۹۵/۰۰±۴/۳۰ ^{bAB}	۱۲۹/۶۰±۲۲/۸۱ ^{abA}
گلبول سفید (WBC) ×۱۰۰۰	شاهد	۱۵/۸۲±۰/۴۱ ^{aA}	۱۴/۶۰±۱/۱۴ ^{aA}	۲۴/۰۰±۲/۰۰ ^{aB}	۱/۱۶±۰/۵۰ ^{aB}
	A	۱۶/۶۶±۱/۳۶ ^{cA}	۱۷/۰۰±۰/۷۰ ^{cA}	۹۹/۷۵±۱۶/۷۴ ^{aA}	۰/۴۸±۰/۱۷ ^{bB}
	B	۱۶/۴۱±۱/۹۰ ^{bA}	۱۸/۴۰±۰/۵۴ ^{bA}	۱۰۴/۵۰±۱۰/۳۷ ^{aA}	۲۹/۴۰±۲/۹۶ ^{bB}
	C	۱۵/۸۳±۱/۴۷ ^{bA}	۱۸/۴۰±۰/۵۴ ^{bA}	۴۹/۶۰±۶/۱۰ ^{aB}	۳۱/۶۶±۶/۶۵ ^{abB}
	D	۱۵/۷۳±۰/۴۱ ^{bA}	۱۵/۶۰±۱/۱۴ ^{bA}	۲۷/۸۰±۶/۳۴ ^{bB}	۰/۴۶±۰/۰۶ ^{aB}
میانگین هموگلوبین سلولی (پیکوگرم)	شاهد	۱/۱۲±۰/۲۲ ^a	۰/۶۶±۰/۱۲ ^a	۰/۸۹±۰/۱۵ ^a	۱/۱۶±۰/۵۰ ^a
	A	۱/۱۹±۰/۲۲ ^{ab}	۰/۳۳±۰/۳۳ ^a	۰/۴۹±۰/۰۹ ^a	۰/۴۸±۰/۱۷ ^a
	B	۰/۹۲±۰/۱۶ ^a	۰/۳۸±۰/۰۵ ^a	۰/۲۱±۰/۰۳ ^a	۰/۴۱±۰/۰۹ ^a
	C	۰/۹۳±۰/۱۸ ^a	۰/۲۴±۰/۰۶ ^{ab}	۰/۵۹±۰/۱۰ ^a	۰/۴۵±۰/۱۲ ^a
	D	۱/۳۴±۰/۴۰ ^a	۰/۲۶±۰/۰۳ ^a	۰/۷۰±۰/۰۵ ^a	۰/۴۶±۰/۰۶ ^a
میانگین حجم سلولی (MCV) فمتولیت	شاهد	۵/۹۱±۱/۰۳ ^a	۴/۰۴±۰/۵۶ ^a	۴/۶۳±۰/۰۱ ^a	۵/۲۷±۰/۸۹ ^a
	A	۵/۷۲±۱/۵۴ ^a	۲/۰۹±۰/۱۶ ^{ab}	۳/۰۸±۰/۳۸ ^a	۲/۷۸±۰/۳۸ ^a
	B	۶/۱۸±۱/۵۹ ^a	۲/۱۴±۰/۲۷ ^a	۱/۳۸±۰/۱۵ ^a	۲/۳۴±۰/۵۹ ^a
	C	۴/۷۰±۱/۱۵ ^a	۱/۶۵±۰/۱۱ ^a	۳/۲۴±۰/۳۹ ^a	۲/۸۰±۰/۴۰ ^a
	D	۷/۱۰±۲/۳۶ ^a	۱/۶۶±۰/۱۲ ^{ab}	۳/۸۳±۰/۸۹ ^{ab}	۲/۸۱±۲/۰۶ ^a
میانگین غلظت هموگلوبین سلول (MCHC%)	شاهد	۲۰/۵۴±۵/۵۶ ^a	۱۶/۲۸±۱/۳۳ ^a	۱۸/۳۸±۴/۱۲ ^a	۲۱/۴۶±۶/۲۳ ^a
	A	۲۱/۱۸±۲/۵۸ ^a	۱۶/۲۴±۱/۴۰ ^a	۱۶/۳۹±۳/۹۴ ^a	۱۹/۵۵±۵/۳۱ ^a
	B	۱۶/۱۳±۴/۳۷ ^a	۱۷/۶۹±۰/۸۰ ^a	۱۵/۶۵±۲/۲۲ ^a	۱۷/۲۶±۴/۳۶ ^a
	C	۲۰/۵۱±۰/۲۸ ^a	۱۴/۶۶±۲/۹۶ ^a	۱۸/۲۷±۱/۹۵ ^a	۱۷/۳۳±۲/۲۷ ^a
	D	۲۱/۰۹±۵/۰۴ ^a	۱۵/۷۰±۱/۸۰ ^{ab}	۱۹/۳۵±۶/۰۹ ^a	۱۳/۰۵±۱/۵۷ ^{ab}

(Kesarcodi-Watson *et al.*, 2008). در این تحقیق قدرت باکتری کشی سرم تیمارهایی که سین بیوتیک و پروبیوتیک دریافت کرده بودند در روزهای ۳۰، ۶۰ و ۷۵ آزمایش در مقایسه با گروه کنترل افزایش داشت بطوریکه در روز ۳۰ تیمار C و D و در روز ۶۰ تیمار B بیشترین فعالیت را نسبت به سایر تیمارها و گروه کنترل نشان دادند. پس از قطع مکمل غذایی میزان فعالیت باکتری کشی سرم در تمامی تیمارهای سین بیوتیکی و پروبیوتیکی به میزان کمی کاهش یافت اما همچنان نسبت به گروه کنترل بیشتر بود. بررسی اثرات چند پروبیوتیک (مانان، الیگوساکارید، فروکتوالیگوساکارید و گالاتوالیگوساکارید) بر فاکتورهای رشد و ایمنی آزاد ماهی اقیانوس اطلس مورد مطالعه قرار گرفت (Grisdale-Helland *et al.*, 2008). ماهی‌ها تنها با یک سطح (۱۰ گرم به ازاء هر کیلوگرم) پروبیوتیک تغذیه شدند. نتایج مطالعه اثرات معنی‌داری بر فاکتورهای مذکور نشان نداد که تحقیقات انجام شده فوق با این مطالعه همخوانی ندارند. اما نتایج آنها ثابت کرد که تغذیه با فروکتوالیگوساکارید و مانان الیگوساکارید برای ماهی سالمون اثربخش تر بود. در تحقیقات Ebrahimi و همکاران (۲۰۱۲) تأثیر مثبت پروبیوتیک ایمونوژن بر قدرت باکتری کشی سرم در ماهیان کپور معمولی انگشت قدی که با سطح ایمونوژن ۲/۵ کیلوگرم بر گرم تغذیه شده بودند، نشان داده شد که نتایج حاصل از تحقیق با پژوهش حاضر تطابق دارد. Dawood و همکاران (۲۰۱۶) نشان داد که رژیم غذایی با دو گونه لاکتوباسیلوس در سطوح مختلف، موجب اختلاف معنی‌داری در قدرت باکتری کشی سرم شد اما هیچ یک از این رژیم‌های غذایی فاکتور موثری بر باکتری کشی موکوس نبودند.

در بررسی Mohammadian و همکاران (۲۰۱۶) دریافتند که ترکیب لاکتوباسیلوس دلیروکی و لاکتوباسیلوس پلانتاروم در ماهی شیریت موجب بهبود عملکرد انفجار تنفسی شد. افزودن لاکتوباسیلوس لاکتیس در غذای بچه ماهی خاویاری می‌تواند سبب افزایش فعالیت انفجار تنفسی شود که با نتایج این آزمایش مطابقت دارد. به نظر می‌رسد که این فرایند توسط ۱۴۵

سایر گروه‌ها نیز دارای اختلاف معنی‌دار با گروه شاهد بودند و پس از قطع مصرف مکمل غذایی فعالیت این آنزیم در تمامی تیمارهای سین بیوتیکی و پروبیوتیکی، به جز گروه (B) کاهش نیافت ($p < 0.05$) ($P < 0.05$). Giri و همکاران (۲۰۱۳) با مطالعه اثر غلظت‌های مختلف باکتری لاکتوباسیلوس پلانتاروم بر روی *Labeo rohita* نتیجه گرفتند که میزان لایزوزیم سرم در تمام دوره پرورش (شصت روز) افزایش معنی‌داری داشته است که با یافته‌های بررسی حاضر در مورد تیمار لاکتوباسیلوس کازئی مطابقت دارد. نتایج مشابهی توسط Wang و همکاران (۲۰۱۰) بر روی کپور معمولی، Son و همکاران (۲۰۰۹) بر روی (*Epinephelus coioides*) و Harikrishnan و همکاران (۲۰۱۰) بر روی (*Epinephelus bruneus*) بدست آمد. اما بر روی فعالیت آنزیم لایزوزیم بعد از دو هفته استفاده از جیره غذایی حاوی باکتری اسید لاکتیک بر روی قزل‌آلای رنگین کمان که توسط Balcazar و همکاران (۲۰۰۸) انجام شد، تغییرات معنی‌داری مشاهده نشد و با نتایج مطالعات فوق مغایرت داشت. در بررسی جنبی حق پرست و همکاران (۱۳۹۲) اثرات پروبیوتیک باکتوسل و پری بیوتیک مانان الیگوساکارید بر رشد و ایمنی قزل‌آلای رنگین کمان نشان داد که پروبیوتیک مذکور توانسته است فعالیت این جزء مهم دفاع هومورال را تحریک نماید بطوریکه افزایش معنی‌دار فعالیت لیزوزیم را در روزهای ۳۰ و ۴۵ (پس از تغذیه با پروبیوتیک) نشان داد ولی در روز شصت با افت فعالیت لیزوزیم تفاوت معنی‌دار مشاهده نشد که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد. همچنین این افزایش در روز ۴۵ (۱۵ روز پس از قطع مصرف مکمل غذایی) ادامه داشت و در مطالعه حاضر نیز در تمامی تیمارهای سین بیوتیکی و پروبیوتیکی به جز تیمار B در دوره قطع مکمل غذایی با کاهش فعالیت مواجه نشدند و علت را می‌توان افزایش جمعیت باکتری‌های اسید لاکتیک تحت تأثیر پروبیوتیک‌های ایمونوژن دانست. قدرت باکتری‌کشی سرم نشان دهنده ایمنی هومورال غیراختصاصی ماهی می‌باشد و دفاع غیراختصاصی سرم در برابر عفونت‌های باکتریایی را نمایان می‌سازد

باکتری‌های پروبیوتیکی در ماهی تحریک می‌شود. سلولهای فاگوسیتوز در جریان فعالیت انفجار تنفسی خود توانایی تولید آنیون های سوپراکسید را دارند که این اشکال اکسیژن سمی و منجر به از بین بردن باکتریها می گردند (Buentello et al., 2010). در بررسی حاضر مشاهده شد که فعالیت انفجار تنفسی توسط گلبول‌های سفید ماهی کپور معمولی تغذیه شده با باکتری کازئی به همراه یا بدون غلظت های مختلف پریبیوتیک در روز 30 اختلاف معنی داری را با گروه شاهد داشتند و گروه (B) دارای بیشترین میزان بود. این روند افزایش فعالیت تا روز 75 نیز ادامه داشت. روند مشابهی در تحریک میزان انفجار تنفسی پس از تغذیه خوراکی پروبیوتیک‌ها (لاکتوباسیل‌ها) در بسیاری از ماهیان به عنوان مثال در ماهی کوبیا (Geng et al., 2012)، هامور معمولی (Son et al., 2009) و هامور برونئی (Harikrishnan et al., 2010) گزارش شده است. استفاده از پروتئین کل، آلبومین و گلوبولین سرم خون ماهیان می تواند به عنوان یک نشانگر برای ارزیابی پاسخ های ایمنی مورد استفاده قرار گیرد (Korkea-aho et al., 2011). در این پژوهش میزان گلوبولین تام پلاسما در بین تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری با گروه کنترل نداشت، هر چند افزایش نسبی در برخی مراحل نمونه‌گیری (تیمار B در روز 30) با گروه کنترل مشاهده گردید. این افزایش گلوبولین علاوه بر تأثیر مختلف باکتری لاکتوباسیلوس کازئی ممکن است به دلایل دیگری همچون پاسخ‌های ذاتی قوی‌تر در ماهی مربوط باشد (سپهرفر و همکاران، 1396). در مطالعه Sun و همکاران (2010) و نیز Giri و همکاران (2013) نتیجه‌ای مشابه مطالعه حاضر به دست آمده است، به نحوی که میزان گلوبولین سرم تا 30 روز افزایش یافته ولی بعد از آن در برخی تیمارها میزان آن تا روز 60 کاهش پیدا کرد. Nikoskelainen و همکاران (2001) مشاهده کردند که اگر لاکتوباسیلوس رامنوسوس با دوز 2.8×10^8 CUFg⁻¹ همراه غذا به ماهی قزل‌آلا تجویز شود، میزان ایمونوگلوبولین پلاسما یک هفته پس از تغذیه با پروبیوتیک افزایش معنی‌داری نسبت به ماهیان شاهد نشان می‌دهد که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت ندارد.

همچنین بیان نمود که میزان ایمونوگلوبولین تام پس از قطع غذادهی با پروبیوتیک به طور معنی‌داری کاهش می یابد در حالی که در مطالعه حاضر پس از دوره قطع پروبیوتیک تنها در تیمار A (نیم درصد) و C (یک و نیم درصد) با کاهش گلوبولین مواجه و در باقی تیمارها افزایش میزان اتفاق افتاد. در مطالعه حاضر آنالیز آماری نتایج حاصله از سنجش میزان هماتوکریت و هموگلوبین در انتهای دوره نشان داد که میزان آنها در تیمارهای خورنده شده با جیره حاوی سین بیوتیک در مقایسه با تیمار شاهد در هیچ یک از روزهای 0، 30، 60 و 75 اختلاف معنی داری مشاهده نشد ($p > 0.05$). مطابق با نتایج به دست آمده از تحقیق Akrami و همکاران (2009) با اضافه کردن سطوح 1، 2 و 3 درصد اینولین به جیره غذایی فیل ماهیان جوان هیچ تفاوت معنی داری را در تعداد کل گلبول های قرمز در تیمارهای آزمایشی در مقایسه با گروه شاهد مشاهده نکردند، که با نتایج روز صفر، روز 60 (در تیمارهای 0.5، 1 و 1.5 درصد) و روز 75 آزمایش حاضر مطابقت دارد که می تواند به علت سوء کاربرد استفاده از مکمل پریبیوتیکی اینولین و مانان الیگوساکارید در دو مطالعه باشد. نتایج مطالعه Razeghi Mansour و همکاران (2012) نشان داد که میزان گلبول قرمز، هماتوکریت و نیز لنفوسیت که جزء فاکتورهای دفاعی بدن محسوب می شوند، در تیمار شاهد از میزان بالاتری برخوردار بودند به طوری که با افزایش سطح مانان الیگوساکارید در جیره میزان این فاکتورها کاهش پیدا کرد که این نتایج می تواند نشان دهنده تأثیر سوء کاربرد پریبیوتیک مانان الیگوساکارید در جیره غذایی فیل ماهیان جوان پرورشی باشد که با نتایج حاصل از مطالعه حاضر در مورد هماتوکریت مطابقت داشت. اما نتایج حاصل از مطالعه حاضر بر میزان گلبول های قرمز و سفید نشان داد که در روز 30 (در هر یک از تیمارهای 0.5، 1 و 1.5) و 60 نسبت به گروه شاهد اختلاف معنی داری مشاهده شد ($p < 0.05$). Yar Ahmadi و همکاران (2014) ثابت کردند که استفاده از 0.2 درصد ایمونوژن در تغذیه قزل آلا رنگین کمان توانست سبب افزایش فاکتورهای رشد و ایمنی شود که با نتایج علیزاده نودری و شاپوری (1396)

dietary prebiotic inulin on growth performance, intestinal microflora, body composition and hematological parameters of juvenile beluga *Huso huso* (Linnaeus, 1758). World Aquaculture Society, 40:, 771-779. DOI: 10.1111/j.1749-7345.2009.00297.x.

Balcázar, J.L., Vendrell, D., de Blas, I., Ruiz-Zarzuela, I., Muzquiz, J.L., and Girones, O., 2008. Characterization of probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from intestinal microbiota of fish. Aquaculture, 278:, 188-191 DOI: org/10.1016/j.aquaculture.2008.03.014.

Buentello, J.A., Neill, W.H., Gatlin III, D.M., 2010. Effects of dietary prebiotics on growth, feed efficiency and non-specific immunity of juvenile red drum *Sciaenops ocellatus* fed soybean-based diets. Aquac. Res, 14, 411-418. DOI: 10.1111/j.1365-2109.2009.02178.x

Dawood, M.A.O., Koshio, S., Ishikawa, M., Yokoyama, S., El Basuini, M., Hossain, M.S., Nhu, T.H., Dossou, S., Moss, A.S., 2016. Effects of dietary supplementation of *Lactobacillus rhamnosus* or/ and *Lactococcus lactis* on the growth, gut microbiota and immune responses of red sea bream, *Pagrus major*. Fish & Shellfish Immunology, 49, : 275-285. DOI: org/10.1016/j.fsi.2015.12.047.

Ebrahimi, G.H., Ouraji, H., khalesi, M.K., Sudagar, M., Barari, A., Zarei Dangesaraki, M., Jani khalili, K.H., 2012. Effects of a probiotic, Immunogen, on feed utilization, body composition,

همخوانی داشت. نتایج این تحقیق نشان داد که ترکیب پربیوتیک تجاری ایمونوژن و پربیوتیک لاکتوباسیلوس کازئی باعث بهبود برخی از فاکتورهای سیستم ایمنی ماهی کپور می شود و استفاده از سطح یک درصد پربیوتیک ایمونوژن در هر کیلوگرم غذا نتایج خوبی را در جهت افزایش رشد در پرورش ماهی کپور معمولی به همراه داشته است.

منابع

- جنابی حق پرست، ر.، مشکینی، س. و توکمه چی، ا.، ۱۳۹۲. اثرات پربیوتیک باکتوسل و پری بیوتیک مانان اولیگوساکارید بر رشد و ایمنی در ماهی قزل آلا رنکین کمان. مجله تحقیقات دامپزشکی، ۴: ۳۸۲-۳۷۵.
- روحانی زاده، س.، مصباح، م.، علیشاهی، م.، محمدیان، ت.، مکی نیا، س.م. و علیزاده، پ.، ۱۳۹۳. بررسی اثر پری بیوتیک تجاری ایمونوژن بر روی برخی فاکتورهای سیستم ایمنی ماهی شیربت. مجله شیلات دانشگاه آزاد اسلامی واحد آزادشهر، ۸ (۴): ۲۳-۳۴.
- سپهرفر، د.، سروی مغانلو، ک.، حسینی فر، س.ح. و کلنگی میاندره، ح.، ۱۳۹۶. تاثیر استفاده مجزا و تلفیقی پربیوتیک و پودر قارچ بر برخی شاخصهای خونی و شاخص های ایمنی غیراختصاصی سرم در بچه ماهی کپور معمولی پرورشی. مجله علمی شیلات ایران، ۲۶ (۵)، ۱۱-۱.
- علیزاده نودری، م. و شاپوری، م.، ۱۳۹۶. بررسی تاثیر پربیوتیک آلفامیون بر شاخص های رشد، پارامترهای بیوشیمیایی خون و ترکیب لاشه فیل ماهی پرورشی. مجله علمی شیلات ایران، ۲۶ (۴)، ۱۰-۱.
- محمدیان، ت.، مصباح، م.، روحانی زاده، س.، علیشاهی، م.، علیزاده، پ. و عبدی، ا.، ۱۳۹۴. مطالعه تاثیر ایمونوژن خوراکی بر روی فلور باکتریایی روده و ترکیب لاشه در ماهی شیربت. نشریه دامپزشکی، ۱۰۶: ۱-۹.
- Akrami, R., Hajimoradloo, A., Matinfar, A., and Abedian Kinari, A., 2009.** Effect of

- Immunity and resistance to *Aeromonas hydrophila* infection in the common carp *Cyprinus carpio* (Linnaeus). *Animal Physiology and Animal Nutrition*, 96, : 454-465. DOI: 10.1111/j.1439-0396.2011.01182.x.
- Giri, S.S., Sukumaran, V., Oviya, M., 2013.** Potential probiotic *Lactobacillus plantarum* VSG3 improves the growth, immunity, and disease resistance of tropical freshwater fish, *Labeo rohita*. *Fish & Shellfish Immunology*, 34, : 660-666. DOI: 10.1016/j.fsi.2012.12.008
- Graylua, Z., Souffreau, G., Rurangwa, E., Delcour, J., Buyse, J., Ollevier, F., 2013.** Effect of arabinosyl – oligosaccharides (AXOS) and endogenous probiotics on the growth performance, non-specific immunity and gut microbiota of juvenile Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*),). *Fish and Shellfish Immunology*, No.35, 2013, pp.: 766-775 . DOI: 10.1016/j.fsi.2013.06.014.
- Grisdale-Helland, B., Helland, S. J., Gatlin, D. M. III., 2008.** The effects of dietary supplementation with mannanoligosaccharide, fructooligosaccharide or galactooligosaccharide on the growth and feed utilization of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture*, 283, : 163–167. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2008.07.012
- Harikrishnan, R., Balasundaram, C., Heo, M.S., 2010.** *Lactobacillus sakei* BK19 enriched diet enhances the immunity status and disease resistance to streptococcus infection in kelp grouper, *Epinephelus bruneus*. *Fish & Shellfish Immunology*, 29, 1037-1043. DOI: 10.1016/j.fsi.2010.08.017.
- Hoseinifar, S.H., Mirvaghefi, A., Mojazi Amiri, B., Rostami, H.K., Merrifield, D.L., 2011.** The effects of oligofructose on growth performance, survival and autochthonous intestinal microbiota of beluga (*Huso huso*) juveniles. *Aquaculture Nutrition*, 17, : 498-504. DOI: 10.1111/j.1365-2095.2010.00828.x.
- Hoseinifar, S.H., Esteban, M.A., Cuesta, A., Sun, Y.Zh., 2015.** Prebiotics and fish immune response: a review of current knowledge and future perspectives. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*, 23, :315-328. DOI: 10.1080/23308249.2015.1052365.
- Jenabi Haghighparast, R., Meshkini, S., and Tukmechi, A., 2013.** Effects of bactocell probiotic and mannan prebiotic on growth and immunity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Veterinary Research*, 68, : 375-382.
- Kajita, Y., Sakai, M., Atsuta, S., and Kobayash, M., 1990.** The immunomodulatory effects of levamisole on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish Pathology*, 25, : 25-93.
- Kesarcodi-Watson, A., Kaspar, H., Lategan, M.J., and Gibson, L., 2008.** Probiotics in aquaculture: The the need, principles and mechanisms of action and screening processes. *Aquaculture*, 274, : 1-14. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2007.11.019.

- Khani, F., Imanpoor, M.R., Kolangi Miandare, H., Ghaedi, A.R., and Taghizadeh, V., 2015.** The Effect effect of sSalinity stress on the Haematological haematological and Serum serum Biochemical biochemical parameters of Persian sturgeon *Acipenser persicus* Juveniles fed with different levels of Nucleotidenucleotide-supplemented diet. *Aquatic Sciences*, 3, : 307-322.
- Kim, J.D., and Kaushik, S.J., 1992.** ContrbutionContribution of digestible energy from carbohydrate and estimation of protein/ energy requirements for growth of rainbow trout. *Aquaculture*, : 106-161. DOI: 10.1016/0044-8486(92)90200-5.
- Korkea-aho, T.L., Heikkinen, J., Thompson, K.D., Von, Wright, A., and Austin, B., 2011.** *Pseudomonas* sp. M174 inhibits the fish pathogen *Flavobacterium psychrophilum*. *Applied Microbiology*, 111: 266-277 . DOI: 10.1111/j.1365-2672.2011.05044.x.
- Mohajer Esterabadi, M., Vahabzadeh, H., Zamini, A.A., Sudagar, M., and Ghorbani Nasrabadi, R., 2012.** Effect of dietary immunogen prebiotic on growth and survival indices of giant sturgeon (*Huso huso* Linne, 1758) juveniles. *Fisheries*, 4, 61-73
- Mohammadian, T., Alishahi, M., Tabandeh, M., Ghorbanpoor, M., Gharibi, D., Tollabi, M., and Rohanizade, S., 2016.** Probiotic effects of *Lactobacillus plantarum* and *L. delbrueckii* ssp. *bulguricus* on some immune-related parameters in *Barbus grypus*. *Aquaculture*, 10, :225-242. DOI: 10.1007/s10499-015-9921-8.
- Nayak, S.K., 2010.** Probiotics and immunity: A fish perspective. *Fish & Shellfish Immunology*, 29, : 2-14. DOI: 10.1016/j.fsi.2010.02.017. Epub 2010 Feb 26.
- Nikoskelainen, S., Ouwehand, A., Salminen, S., and Bylund, G., 2001.** Protection of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) from furunculosis by *Lactobacillus rhamnosus*. *Aquaculture*, 198, : 229-236. DOI: 10.1016/S0044-8486(01)00593-2.
- Planas, M., Vazquez, J.A., Marques, J., Peres-Lomba, R., Gonzalez, M.P., and Murado, M., 2004.** Enhancement of rotifer (*Brachionus plicatilis*) growth by using terrestrial lactic acid bacteria. *Aquaculture*, 240, : 313-329. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2004.07.016.
- Razeghi Mansour, M., Akrami, R., Ghobadi, S.H., Amani Denji, K., Ezatrahimi, N., and Gharaei, A., 2012.** Effect of dietary mannan oligosaccharide (MOS) on growth performance, survival, body composition, and some hematological parameters in giant sturgeon juvenile (*Huso huso* Linnaeus, 1754). *Fish Physiology and Biochemistry*, 38, : 829-835 . DOI: 10.1007/s10695-011-9570-4.
- Safari, R., Adel, M., Lazado, C.C., Caipang, C.M.A., and Dadar, M., 2016.** Host-derived probiotics *Enterococcus casseliflavus* improves resistance against *Streptococcus iniae* infection in rainbow

- trout (*Oncorhynchus mykiss*) via immunomodulation. *Fish & Shellfish Immunology*, 52,: 198-205. DOI: 10.1016/j.fsi.2016.03.020.
- Singh, K., Kallali, B., Kumar, A., and Thaker, V., 2011.** Probiotics: A review. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 1, : 287-290. DOI: 10.1016/S2221-1691(11)60174-3.
- Son, V.M., Chang, C., Wu, M., Guu, Y.K., Chiu, C.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 & Shell Immunology*, 26, : 691-698. DOI: 10.1016/j.fsi.2009.02.018.
- Sun, Y.Z., Yang, H.L., Ma, R.L., and Lin, W.Y., 2010.** Probiotic applications of two dominant gut *Bacillus* strains with antagonistic activity improved the growth performance and immune responses of grouper *Epinephelus coioides*. *Fish & Shellfish Immunology*, 29, : 803–809. DOI: 10.1016/j.fsi.2010.07.018.
- Vine, N.G., Leukes, W.D., Kaiser, H., Daya, S., Baxter, J., and Hecht, T., 2004.** Competition for attachment of aquaculture candidate probiotic and pathogenic bacteria on fish intestinal mucus. *Fish disease*, 27, : 319-326. DOI: 10.1111/j.1365-2761.2004.00542.x.
- Wang, G.X., Liu, Y.T., Li, F.Y., Gao, H.T., Lei Y., and Liu, X.L., 2010.** Immunostimulatory activities of *Bacillus simplex* DR-834 to carp (*Cyprinus carpio*). *Fish Shellfish Immunology*, 29, : 378-387. DOI: 10.1016/j.fsi.2010.03.014.
- Yar Ahmadi, P., Farahmand, H., Kolangi Miandare, H., Mirvaghefia, A., and Hoseinifar, S.H., 2014.** The effects of dietary Immunogen® on innate immune response, immune related genes expression and disease resistance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish & Shellfish Immunology*, 37, : 209-214 . DOI: 10.1016/j.fsi.2014.02.006.
- Yarahmadi, P., Ghafari Farsani, H., Khazaei, A., Khodadadi, M., Rashidiyan, GH., And Jalali M.A., 2016.** Protective effects of the prebiotic on the immunological indicators of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) infected with *Aeromonas hydrophila*. *Fish & Shellfish Immunology*, 54: 589-597. DOI: 10.1016/j.fsi.2016.05.010.
- Zhou, X., Wang, Y., and Li, W., 2009.** Effect of probiotic on larvae shrimp (*Penaeus vannamei*) based on water quality, survival rate and digestive enzyme activities. *Aquaculture*, 287, : 349-353. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2008.10.046.

Effect of dietary *Lactobacillus casei* and different levels of immunogen on the activities of immunological and hematological factors of *Cyprinus carpio*

Kahkesh M.¹ and Roomiani L.^{1*}

* l.roomiani@yahoo.com.

1-Department of Fisheries, Ahvaz Branch, Islamic Azad University, Ahvaz, Iran

Abstract

The aim of this study was to evaluate the effects of synbiotic *Lactobacillus casei* PTCC 1608 and immunogen prebiotic on immunological and hematological factors of *Cyprinus carpio*. 300 fish (with the average weight of 40 g) were fed for 75 days with various diets including the diets containing 0.5 (A), 1 (B) and 1.5% (C) immunogen and *L.casei* probiotic with the concentration of 5×10^7 CFU/g, treatment D contained only *L.casei* probiotic with the concentration of 5×10^7 CFU/g and the control treatment without synbiotic (E). Results showed that the levels of white blood cells in the treatment A, B and C on day 60 were significantly different as compared to day 0 and the control group ($P < 0.05$). The levels of red blood cells in the treatment A, B, C and D on day 30 were at the highest level and were significantly different as compared to day 0 and the control group ($P < 0.05$). The levels of lysozyme in the treatment C and D until day 30 and in other treatments until day 60 were significantly different from the control group ($P < 0.05$). The administration of synbiotic in the treatment C and D on respiratory burst activities on day 30 and in other treatments until day 60 and the level of complement on day 60 in the treatment A were significantly different as compared to those on day 0 and the control group ($P < 0.05$). The results suggested that dietary administration of synbiotic can improve some immunological and hematological parameters and the best level of immunogen was 1% with synbiotic.

Keywords: *Lactobacillus casei*, Immunogen, Hematological parameters, Immunological parameters, *Cyprinus carpio*

*Corresponding author