دانشگاه گنبد کاووس
نشریه "پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی"
دوره چهارم، شماره اول، بهار ۹۵
http://jair.gonbad.ac.ir

ارزیابی شاخص‌های خونی در ماهی سوف سفید (*Sander luciperca* (Linnaeus, 1758 در زمان غذادهی با پروبیوتیک (*Lactobacillus brevis* MF01) و مواجهه با باکتری *Aeromonas hydrophila*

منیره فئید[*1]، روحا کسری کرمانشاهی[2]، محمد پورکاظمی[3]، مجتبی داربویی[4]، سمیه حقیقی کارسیدانی[5]

[1]دانشجوی دکتری میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز، شیراز، ایران
[2]استاد گروه میکروبیولوژی، دانشکده زیست‌شناسی، دانشگاه الزهرا، تهران، ایران
[3]استاد موسسه تحقیقات شیلات کشور، تهران، ایران
[4]استاد گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز، شیراز، ایران
[5]استادیار گروه شیلات دانشگاه آزاد واحد بندرانزلی، بندرانزلی، ایران
تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۸/۳ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۱۱/۲۵

چکیده

این تحقیق با هدف بررسی اثر غذادهی با *Lactobacillus brevis* MF01 بر شاخص‌های خونی ماهی و بقاء سوف سفید (*S. luciperca*) در مواجهه با باکتری *Aeromonas hydrophila* انجام شد. ماهیان غذادهی شده با *L. brevis* در غلظت‌های ۱۰^۸ Cfu/g (A2) و ۱۰^۱۰ Cfu/g (A1)) و کنترل برای ۶ هفته بررسی گردیدند. در پایان دوره غذادهی، ماهی‌ها خونگیری شدند پس از آن ماهی‌ها با باکتری *A. hydrophila*، ۴/۵ × ۱۰^۸lcfu/m مواجهه شده‌اند و نرخ بقاء ماهیان به‌طور روزانه در یک دوره ۷ روزه مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد فاکتورهای خونی در زمان غذادهی با *L. brevis* در تیمارهای A_1، A_2 و گروه شاهد اختلاف معنی‌داری نداشتند. پس از مواجهه با باکتری *A. hydrophila*، میزان لنفوسیت در تیمارهای پروبیوتیکی A_1، A_2 بالاتر از گروه شاهد تزریق بود و میزان نوتروفیل در گروه شاهد تزریق بالاتر بود. همچنین میزان بقاء پس از مواجهه در تیمارهای پروبیوتیک بالاتر از گروه شاهد بود.

***واژه‌های کلیدی:* *S. luciperca*، لاکتوباسیلوس برویس، پروبیوتیک، آئروموناس هیدروفیلا**

[*]مسئول مکاتبه: m_faeed@yahoo.com

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-01]

مقدمه

از عمده‌ترین علل بیماری‌زایی و تلفات در استخرهای پرورش آبزیان، عفونت‌های باکتریایی است. در محیط‌های آبزی، عامل مولد بیماری باکتریایی، در تمام فصول سال وجود دارد. یکی از راه‌های جلوگیری از شیوع بیماری‌های باکتریایی، استفاده از آنتی‌بیوتیک‌هاست. اما مصرف بی‌رویه، آنتی‌بیوتیک‌ها، نگرانی‌هایی در مصرف‌کنندگان آبزیان ایجاد نمود که شامل، گسترش سویه‌های مقاوم باکتریایی در آینده، از بین بردن فلور طبیعی دستگاه گوارش و اثرات سو زیست‌محیطی است (FAO, 2005). لذا مصرف آن محدود و در مواردی منع گردیده است. پروبیوتیک‌ها، مکمل‌های غذایی میکروبی زنده‌ای هستند که اثرات سودمندی درروده میزبان ایجاد می‌کنند (Fuller, 1989). یکی از کاربردهای پروبیوتیک، بالا بردن قابلیت‌های سیستم ایمنی در مواجهه با بیماری عفونی است. خون به‌عنوان یک بافت سیال و سهل الوصول یکی از مهم‌ترین مایعات بیولوژیک بدن بوده که تحت شرایط مختلف فیزیولوژیک و پاتولوژیک، ترکیبات آن تغییر می‌یابد. پارامترهای خون‌شناسی قادر است اطلاعات گسترده‌ای در مورد تشخیص و شناخت بیماری‌های ماهی در اختیار محققین قرار دهد. لذا با بررسی مقادیر طبیعی پارامترهای خونی و چگونگی تغییرات آن، می‌توان از وضعیت سلامت ماهیان مطلع گردید و در تشخیص بیماری‌ها اقدام نمود (Arnold, 2005; Ballarin *et al*., 2004).

تجویز پروبیوتیک همراه با جیره غذایی، ضمن افزایش ایمنی، ماهی را در برابر عامل بیماری‌زا مقاوم نموده و آسیب‌های ناشی از عفونت را به حداقل می‌رساند. تحقیقات وسیعی دراستفاده از پروبیوتیک‌ها (در مباحث مختلف ایمنی‌شناسی، خون‌شناسی، رشد و بقاء، مبارزه با عوامل بیماری‌زا درماهیان گرمابی و سردآبی توسط محققان انجام شده است (Brunt *et al*., 2005; Brunt *et al*., 2007; Mesalhy *et al*., 2008).

یکی از گونه‌های مهم ماهیان دریای خزر، ماهی سوف سفید با نام علمی (*Sander luciperca*) است. این‌گونه با ارزش و اقتصادی، که در تالاب انزلی و سد ارس زندگی می‌کند، به‌دلیل صید بی‌رویه، آلودگی، تخریب زیستگاه‌ها و مناطق تخم‌ریزی، نسلشان در دریای خزر در حال نابودی است. در سال‌های اخیر، پرورش این ماهی در برخی مزارع انجام می‌شود.

ماهی سوف سفید (*S. luciperca*)، در مقابل بسیاری از بیماری‌ها مقاومت نشان می‌دهد. طبق گزارش فائو، این ماهی نسبت به بیماری ناشی از باکتری *A. Hydrophila* حساس است. *A. hydrophila* یکی از باکتری‌های مهم، عامل بیماری‌زا و تلفات در محیط‌های پرورش، گونه‌های مختلف ماهیان آب شیرین و گاهی آب شور است. این باکتری در کپور، مارماهی، شیرماهی، گربه‌ماهی، تیلاپیا و قزل‌آلای رنگین‌کمان باعث ایجاد سپتی‌سمی هموراژیک می‌شود. همچنین گستردگی وسیعی از این بیماری باکتریایی در سراسر دنیا وجود دارد (Mesalhy *et al*., 2008).

هدف از این تحقیق، بررسی تأثیر پروبیوتیک جداشده از ماهی سوف سفید و افزودن آن به‌عنوان

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-01]

غذای مکمل پروبیوتیکی و ارزیابی شاخص‌های خونی در زمان غذادهی و پس از مواجهه‌سازی با باکتری *A. hydrophila* و میزان بقاء در ماهی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

جداسازی و شناسایی *L. Brevis* MF01: تعداد ۵۵ قطعه ماهی سوف سفید با میانگین وزن ۲۵ گرم تا ۱۰۰ گرم از استخرهای پرورشی استان گیلان در تابستان و پاییز ۱۳۹۳، به آزمایشگاه باکتری‌شناسی پژوهشکده آبزی‌پروری آب‌های داخلی انتقال داده شد. ماهیان پس از بیهوش کردن در شرایط کاملاً استریل، در محوطه شکمی برش داده شدند و محتویات روده خارج و هموژن گردید. سپس محتویات روده روی محیط کشت MRS آگار، به‌صورت پورپلیت و در شرایط بی‌هوازی در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۷۲-۴۸ ساعت نگهداری گردید. سپس از کلنی‌های رشد یافته ساب کالچر تهیه کرده باکتری‌های ایزوله شده با استفاده از آزمایشات بیوشیمیایی نظیر کاتالاز، اکسیداز، احیاء نیترات، تولید گاز از گلوکز، حرکت، تخمیر قندها شناسایی شد. سویه لاکتوباسیلوس جداسازی شده و از نظر مولکولی نیز تائید گردید.

کشت باکتری *A. hydrophila*: باکتری *A. hydrophila* (ATCC7966) در محیط (BHI) برین هرت اینفیوزیون آگار در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد برای ۲۴-۱۸ ساعت کشت داده شد و توسط تست‌های بیوشیمیایی تأیید گردید. همچنین در محیط آبگوشتی انفیوزیون مغز و قلب حاوی ۴۰ درصد گلیسرین استریل برای استفاده طولانی مدت در فریزر ۸۰- نگهداری شد (Andani *et al*., 2011).

بررسی اثرات جانبی *L. brevis* MF01 بر ماهی سوف سفید (*S. luciperca*): اثرات احتمالی باکتری لاکتوباسیلوس برویس روی ماهی سوف سفید بررسی شد. مقدار ۱۰۰µlit سوسپانسیون حاوی 10^{10}CFU/ml به‌صورت عضلانی و داخل صفاقی به ۱۰ ماهی تزریق شد و به‌مدت یک هفته، اثرات بیماری و میزان تلفات در ماهی بررسی گردید. پس از این مدت از بافت‌های کلیه، خون، کبد و طحال ماهی نمونه‌برداری انجام گرفت و بر محیط TSA کشت باکتریایی داده شد (Andani *et al*., 2011).

طراحی آزمایش: ۵۰ میکرولیتر از سوسپانسیون *L. brevis* MF01، در ۲۰ میلی‌لیتر محیط MRSB تلقیح گردید و در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۴ ساعت نگهداری شد. سپس در محیط MRSB به‌میزان ۵۰۰ml اضافه شد و به‌مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. پس از رشد باکتری، در سانتریفوژ دور ۳۰۰۰ به‌مدت ده دقیقه قرار داده و رسوب حاصله پس از دوبار شست و شو، در سرم فیزیولوژی استریل به‌صورت سوسپانسیون درآمد و تراکم‌های (10^{10} CFU/g و 10^{8}) تنظیم شد. سپس طبق پروتکل، تراکم‌های (10^{10} CFU/g و 10^{8}) از سوسپانسیون‌های آماده شده، به هرگرم غذای پایه ماهی قزل‌آلا، اسپری شد و به‌مدت یک و نیم ساعت در دمای ۲۵°c

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-01]

انکوباتور خشک گردید. برای اطمینان از تعداد باکتری‌های زنده موجود در غذا نمونه‌برداری شد و شمارش باکتریایی از آن‌ها انجام گرفت. تهیه غذا به‌صورت روزانه انجام شد و در غذای گروه شاهد فقط سرم فیزیولوژی استریل اسپری گردید (Andani *et al*., 2011).

پس از دو هفته نگهداری و سازگاری ماهی سوف سفید با محیط، ماهیان به سه تیمارغذایی تقسیم شدند که شامل:

تیمار A_1، *L. brevis* MF01 (10^8CFU/g) + غذای پایه ماهی

تیمار A_2، *L. brevis* MF01 (10^{10}CFU/g)+ غذای پایه ماهی

تیمار C، شاهد، غذای پایه ماهی + سرم فیزیولوژی

هرتیمار با سه تکرار آزمایش شد. هر تکرار شامل ۱۰ قطعه ماهی، با میانگین وزنی ۱۴ گرم از کارگاه تکثیر و پرورش سیاهکل تهیه شد و در وان‌های ۱۵۰ لیتری با کمک دستگاه‌های هواده، اکسیژن‌دهی شدند. ماهیان قبل از شروع غذادهی با پروبیوتیک، از نظر آلودگی انگلی، باکتریایی و قارچی ارزیابی شدند. دمای آب در طول دوره ۲ ± ۲۱ و تقریباً ۴۰ درصد آب هر روز سیفون می‌گردید به‌مدت ۴۵ روز، غذادهی دوبار در روز و (۳-۵ درصد) وزن بدن ماهی داده شد. همچنین کلیه فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب هر هفته اندازه‌گیری شد.

بررسی خون‌شناسی: جهت مطالعات خون‌شناسی، ۳ قطعه ماهی از هر تکرار انتخاب شد و از ناحیه دمی آن‌ها خون‌گیری به‌عمل آمد. مقدار ۲ سی‌سی از خون به‌دست آمده در لوله‌های هپارینه و فاقد هپارینه ریخته و جهت بررسی فاکتورهای خونی بلافاصله در مخزن حاوی یخ به آزمایشگاه منتقل شدند. جهت تهیه سرم خون لوله‌ها در داخل سانتریفیوژ اپندورف به‌مدت ۱۵ دقیقه و با دور ۱۴۰۰۰ و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند. آنگاه با استفاده از سمپلر، سرم از داخل لوله برداشت شده به داخل میکروتیوپ‌های با حجم ۲ سی‌سی منتقل گردید (Jamalzad *et al*., 2001). شمارش تعداد گلبول‌های قرمز و سفید، با استفاده از لام هموسیتومتر انجام شد همچنین شمارش افتراقی گلبول‌های سفید (لنفوسیت، نوتروفیل، ائوزینوفیل، مونوسیت) پس از تهیه گسترش خونی و رنگ‌آمیزی با رنگ‌آمیزی گیمسا انجام پذیرفت. شمارش تعداد گلبول‌های قرمز و سفید پس از رقیق‌سازی با استفاده از لام هموسیتومتر انجام شد. همچنین شمارش افتراقی گلبول‌های سفید (لنفوسیت، نوتروفیل، ائوزینوفیل، مونوسیت) پس از تهیه گسترش خونی و رنگ‌آمیزی با رنگ گیمسا صورت گرفت (Leonard and Cormick, 2005). مقدار هماتوکریت، هموگلوبین (Goldenfarb *et al*., 1971; Larsen, 1964) نیز تعیین شد. تعیین شاخص‌های خونی (CBC) به روش استاندارد در آزمایشگاه بر نمونه خون آغشته به ماده ضد انعقاد هپارین صورت گرفت. به کمک نتایج به‌دست آمده، شاخص‌های گلبول قرمز شامل: حجم متوسط یاخته‌ای (MCV)، میانگین هموگلوبین یاخته‌ای (MCH) و میانگین غلظت هموگلوبین یاخته‌ای (MCHC) محاسبه شد.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-01]

مواجهه‌سازی با باکتری آئروموناس هیدروفیلا: ابتدا رقت‌های (10^{1}-10^{8}CFU/ml) از *A. hydrophila* به‌صورت جداگانه در سرم فیزیولوژی استریل تهیه گردید. سپس از هر رقت مقدار ۰/۱ml، به‌صورت داخل صفاقی به پنج ماهی تلقیح شد و به‌صورت جداگانه در داخل آکواریوم ۱۶ لیتری تا ۷ روز نگهداری شد بر طبق روش Reed and muench مقدار LD_{50}، باکتری آئروموناس هیدروفیلا تعیین گردید و میزان غلظت به‌دست آمده $۴/۵ \times ۱۰^{۸}$ CFU /ml بود و به میزان ۱۰۰ میکرولیتر به هر ماهی در تکرارهای پروبیوتیک و شاهد تزریق شدند. ماهیان به‌مدت ۱۰ روز، از نظر علایم بی‌حالی، کاهش اشتها، اگزوفتالمی، تیرگی پوست مورد ارزیابی قرار گرفتند و تلفات روزانه ثبت گردید (Andani *et al*., 2011).

تجزیه و تحلیل آماری: جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از روش آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA)، نرم‌افزار SPSS انجام گرفت در تمام بررسی‌ها، سطح معنی‌دار آزمون‌ها نیز ۵ درصد ($p<۰/۰۵$) در نظر گرفته شد.

نتایج

نمونه‌برداری از روده ۵۵ قطعه ماهی سوف سفید در تابستان و پاییز ۹۳ از استخرهای پرورش ماهی استان گیلان انجام شد و باکتری *L. brevis* براساس آزمایشات بیوشیمیایی و تخمیر قندهای مختلف شناسایی شدند. باکتری از نظر مولکولی نیز در بانک ژن جهانی NCBI با کد *L. brevis* MF01 (KR021404) تأیید گردید.

جدول ۱- مقایسه برخی شاخص‌های خونی بچه‌ماهیان سوف سفید (*S. luciperca*) بعد از ۴۵ روز غذادهی با سطوح مختلف *L. brevis* MF01

شاخص / تیمار	c	A_1	A_2
گلبول قرمز (10^{6}ml)	۱/۵۵±۰/۰۶ a	۱/۵۷±۰/۰۲ a	۱/۵۳±۰/۰۳ a
MCH(pg)	۳۷±۱/۷ a	۳۸±۰ a	۳۷±۰ a
MCV(fl)	۲۳۱/۶۶±۳/۵ a	۲۳۷/۶۶±۳/۰۵ a	۲۱۴/۶۶±۵/۵ b
MCHC (درصد)	۱۶/۳۳±۰/۵۷ a	۱۶/۳۳±۰/۵۷ a	۱۶/۶۶±۰/۵۷۷ a
HCT (درصد)	۳۳/۳۳±۱/۵۲ b	۳۷/۶۶±۰/۵۷۷ a	۳۶±۱/۷۳۲ a
HB(g/dl)	۶/۰۳۳±۰/۰۵۱ a	۶/۲۳±۰/۰۵۷ a	۵/۹±۰/۱ a

A1=*L. brevis* MF01(10^{10} CFU/ml)A2= ***L. brevis*** MF01(10^{8} CFU/ml) C=control

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-01]

جدول ۲- مقایسه برخی شاخص‌های خونی بچه‌ماهیان سوف سفید (*S. luciperca*) بعد از ۴۵ روز غذادهی با سطوح مختلف *L. brevis* MF01 و مواجهه با باکتری *A. hydrophila*

شاخص / تیمار	شاهد تزریق	شاهد سرم	A_1	A_2
گلبول قرمز (10^6 ml)	۱/۲۴±۰/۰۲^b	۱/۵۳±۰/۰۷^a	۱/۵±۰/۰۲^a	۱/۵۲±۰/۰۳^a
MCH(pg)	۳۴±۰/۷^b	۳۵/۷±۰/۷^a	۳۶/۰±۰/۵۷ ^{a}	۳۶/۳±۰/۵۷^a
MCV(fl)	۱۹۵±۴/۲۴^b	۲۰۲±۲ /۸^a	۲۰۶±۴/۵۸^a	۲۱۰±۶/۰۲ ^{a}
MCHC (درصد)	۱۸±۰^a	۱۷/±۰^a	۱۶/۶۶±۰/۵۷۷^a	۱۶/۶۶±۰/۵۷۷^a
HCT (درصد)	۲۴±۱/۴^b	۳۲/±۱/۴^a	۳۴±۱ ^{a}	۳۲±۲/۶^a
HB(g/dl)	۴/۵ ±۰/۲۸^b	۵/۹±۰/۱۴^a	۵/۸±۰/۱^a	۵/۶±۰/۱^a

A1= *L. brevis*MF01 (10^{10} CFU/ml), A2= *L. brevis* MF01(10^8 CFU/ml) C=control

جدول ۳- شمارش افتراقی گلبول سفید در بچه‌ماهیان سوف سفید (*S. luciperca*) تغذیه شده با سطوح مختلف *L. brevis* MF01 پس از ۴۵ روز.

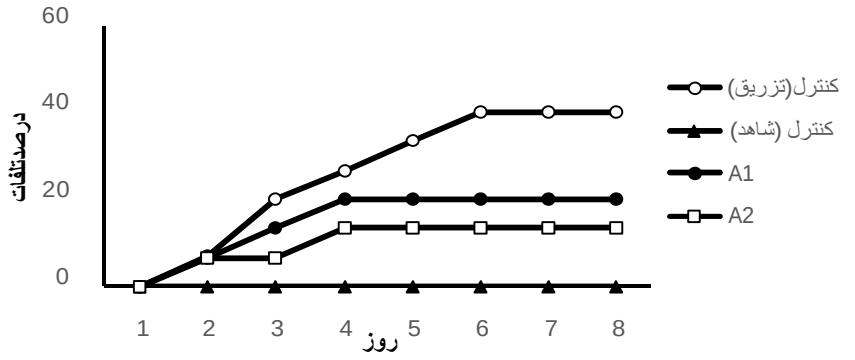
شاخص / تیمار	شاهد	A_1	A_2
گلبول سفید ($10^3 mm^3$)	۳/۷±۰/۱ ^{b}	۴/۱±۰/۳^a	۴/۲۵۷±۰/۲ ^{a}
لنفوسیت (درصد)	۷۵±۱^a	۷۷/۳۳±۱/۱^a	۷۷/۶۶±۰/۵۷^a
نوتروفیل (درصد)	۲۳/۶۶ ±۰/۵۷۷^a	۲۱/۶۶±۰/۵۷۷^a	۲۱/۳۳±۰/۵۷۷^a
ائوزینوفیل (درصد)	۰/۶۶ ±۰/۵۷۷^a	۰/۳۳±۰/۵۷۷^a	۰±۰^a
مونوسیت (درصد)	۰/۶۶±۰/۵۷۷^a	۰/۳۳±۱/۱^a	۰/۳۳±۰/۵۷۷^a

A1= *L. brevis* MF01 (10^{10} CFU/ml), A2= *L. brevis* MF01(10^8 CFU/ml) C=control

جدول ۴- شمارش افتراقی گلبول سفید در بچه‌ماهیان سوف سفید (*S. luciperca*) تغذیه شده با سطوح مختلف *L. brevis* MF01 پس از ۴۵ روز و مواجهه‌سازی با باکتری *A. hydrophila*

شاخص / تیمار	شاهد (تزریق)	شاهد (سرم)	A_1	A_2
گلبول سفید ($10^3 mm^3$)	۴/۰±۰/۱^b	۳/۸±۰/۱^b	۴/۷±۰/۰۷^a	۵/۱±۰/۳^a
لنفوسیت (درصد)	۶۷/۵±۰/۷^b	۷۴±۰/۷^a	۷۳/۳۳±۰/۵۷۷^a	۷۳±۱^a
نوتروفیل (درصد)	۲۹±۰/۳^a	۲۳/۳±۰/۵^b	۲۴±۰/۵^b	۲۴±۱^b
ائوزینوفیل (درصد)	۱±۰^b	۰/۵±۰/۷^a	۰/۶±۰/۵۷۷^a	۰/۳۳±۰/۵۷۷^a
مونوسیت (درصد)	۲/۵±۰/۷^a	۲±۰^a	۲/۶۶±۰/۱۵۷۷^a	۲/۶±۰/۵۷۷^a

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-01]



نمودار ۱- نرخ بقا در ماهی سوف سفید (*S. luciperca*) مواجهه شده با *A. hydrophila* پس از ۴۵ روز غذادهی با غلظت‌های مختلف (*L. brevis* MF01(CFUg^{-1})

بحث و نتیجه‌گیری

در زمینه ارتباط پارامترهای خون‌شناسی، با رفتارهای فیزیولوژیک و شناسایی بیماری در گونه‌های مختلف ماهیان در ایران توسط محققین مطالعاتی انجام شده است. تغییر پارامترهای خون‌شناسی می‌تواند نشان‌دهنده آسیب بافتی نیز باشد به‌طوری‌که تغییرات بافت‌ها خود می‌تواند سبب تغییرات کلی مثل تغییر در رشد شود همچنین پارامترهای خون‌شناسی نقش مهمی در تشخیص بیماری دارند (Arnold, 2005).

در این تحقیق، پس از غذادهی ۴۵ روزه با پروبیوتیک *L. brevis* MF01، شاخص‌های خونی بچه‌ماهیان سوف سفید (*S. luciperca*) در تیمارهای پروبیوتیک و شاهد، از نظر میزان گلبول قرمز، HB، MCHC و MCH تفاوت معنی‌داری ایجاد نگردید. اما درصد هماتوکریت در تیمار شاهد، کمتر از تیمارهای پروبیوتیک بود. کاهش هماتوکریت به کاهش تعداد گلبول‌های قرمز یا انقباض گلبول‌های قرمز ارتباط دارد (Narain and Srivastava,1989). در مطالعاتی که در مواجهه‌سازی ماهی به‌منظور بررسی سیستم ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) انجام گرفت، ایمنوگلبولین در سرم خون پس از آلودگی تجربی با *A. hydrophila* و ظهور علایم سپتی‌سمی هموراژیک در مقایسه با ماهی سالم به‌طور معنی‌داری افزایش نشان داد و میزان هماتوکریت و تعداد گلبول قرمز درهنگام آلودگی با باکتری *A. hydrophila* کاهش یافتکه به دلایل زیر بود:

رقیق شدن خون به‌علت افزایش نفوذپذیری مویرگی، از دست دادن گلبول‌های قرمز به‌علت خونریزی، تخریب گلبول‌های قرمز توسط همولیزین باکتری، تخریب گلبول‌های قرمز توسط کمپلمان از طریق فعال شدن مسیر آلترناتیو به‌وسیله لیپوپلی ساکارید باکتری، افزایش فاگوسیتوز گلبول‌های قرمز (Ahmad *et al*., 1995).

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-01]

در مطالعه حاضر پس از تزریق باکتری عفونت‌زای *A. hydrophila*، میزان هموگلوبین، HCT، حجم متوسط یاخته‌ای در شاهد (تزریق) کاهش قابل ملاحظه‌ای نسبت به تیمار شاهد سرم و تیمارهای پروبیوتیکی داشت. پس از غذادهی با پروبیوتیک، میزان گلبول سفید، لنفوسیت در تیمارهای پروبیوتیک نسبت به تیمار شاهد افزایش پیدا نمود. میزان لنفوسیت، پس از مواجهه با باکتری *A. hydrophila*، در تیمارهای پروبیوتیک نسبت به تیمارهای شاهد سرم و تزریق بالاتر بود در تیمار شاهد تزریق میزان لنفوسیت و نوتروفیل نسبت به تیمارهای شاهد سرم و پروبیوتیک‌ها، به‌ترتیب کاهش و افزایش معنی‌داری داشت.

مارتینز و همکاران (Martins *et al.*, 2008)، گزارش دادند از نظر تغییرات خون‌شناسی ماهی تیلاپیا (*Nile tilapia*) و تأثیر عفونت باکتریایی *Enterococcus* sp.، در ماهیان آلوده تعداد گلبول سفید، نوتروفیل و هماتوکریت به‌طور معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد (تزریق) افزایش داشته است که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت ندارد. افزایش درصد لنفوسیت سبب تقویت عملکرد سیستم دفاعی، ازدیاد مقاومت در برابر عوامل بیماری‌زا و شرایط استرس‌زای محیطی، بهبود رشد، کاهش میزان مرگ و میر و افزایش میزان بازماندگی می‌شود (Nayak, 2010).

گزارشاتی توسط برونت و همکاران (Brunt *et al*., 2005)، نواج و همکاران (Newaj *et al*., 2007)، و علی و همکاران (Ali *et al*., 2010) در این زمینه شده است که با نتایج مطالعه حاضر، مطابقت داشت. اثر پروبیوتیک‌ها بر سیستم ایمنی و تحریک آن می‌تواند موجب افزایش لنفوسیت‌های B در ماهی گردد (Nayak, 2010). طبق تحقیقی که توسط کامکار و همکاران (Kamkar *et al*., 2012) ارائه گردید پس از تجویز خوراکی پروبیوتیک *Bacillus subtilis* به‌مدت ۴۵ روز و تزریق باکتری *Streptococcus iniae*، پس از آن به ماهیان تیمار پروبیوتیک و کنترل در طی ۱۴ روز میزان تلفات در گروه کنترل، ۵۴ درصد تا ۶۰ درصد، اما در تیمار پروبیوتیک ۳۱- ۲۵ درصد بود. در این تحقیق، میزان تلفات هنگام مواجهه باکتری *A. hydrophila*، در تیمارهای پروبیوتیکی A1 و A2، به‌ترتیب ۱۴ درصد و ۲۰ درصد بود اما در تیمار شاهد (تزریق) میزان تلفات ۴۰ درصد بود.

گزارشاتی در زمینه غذادهی با پروبیوتیک به ماهی و مواجهه باکتری‌های بیماری‌زا با آن و افزایش بقاء در ماهیان توسط محققین انجام شد (Brunt *et al*., 2005; Kumar *et al*., 2006) که با نتایج این تحقیق هم‌خوانی دارد. از یافته‌های حاصل از این تحقیق می‌توان نتیجه گرفت که پروبیوتیک بر برخی شاخص‌های خونی و لنفوسیت‌ها تأثیر مثبت دارد و باعث افزایش بقاء در برابر عفونت باکتریایی *A. Hydrophila* می‌شود. همچنین در زمینه‌های ایمنی و رشد نیز این پروبیوتیک تأثیر مثبتی روی ماهی سوف سفید داشته است که در مقالات دیگری که در حال چاپ است بررسی شده است.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-01]

تشکر و قدردانی

نگارندگان لازم می‌دانند از حمایت‌های ریاست محترم پژوهشکده آبزی‌پروری جناب آقای دکتر خانی‌پور و مسئول محترم ایستگاه ساحل غازیان، جناب آقای دکتر حاجی‌زاده و همکاری جناب آقای مهندس مقصودی کهن تشکر و قدردانی کنند.

منابع

Ahmad F., Ali S.S., Shakoori A.R. 1995. Sub lethal effects of danitol (Fenpropathrin), a synthetic pyrethroid, on Chinese grass carp, *Ctenopharyngodonidella*. Folia Biological-Krakow, 43: 151-160.

Ali H.M., Ghazalah A.A., Gehad E.A. 2010. Practical Aspects and Immune response of Probiotics Preparations Supplemented to *Nile Tilapia (Oreochromis niloticus*) diets. Journal of Natural Sciences, 8: 39-45.

Andani H., Tokmechi A., Meshkini S., Ebrahimi H. 2011. Rainbow trout increased resistance against infection with *Aeromonas hydrophila* and *Yersinia Rocker* using Lactobacilli from intestines Carp. Iranian Veterinary Journal, 7(2): 26-35.

Arnold J.E. 2005. Hematology of the sandbar shark, *Carcharhinus plumbeus*: standardization of complete blood count techniques for elasmobranchs. Veterinary Clinical Pathology, 34: 115-123.

Balca´zar J.L.,Vendrell D., de Blas I., Ruiz-Zarzuela I., Girone´s O., Mu´zquiz, J.L. 2007. In vitro competitive adhesion and production of antagonistic compounds by lactic acid bacteria against fish pathogens. Veterinary Microbiology, 122: 373–380.

Ballarin L., Dalloro M., Bertotto D., Libertini I., Francescon A., Barbaro A. 2004. Hematological parameters in *Umbrina cirrosa* (Teleostei, Sciaenidae): a comparison between diploid and triploid specimens. Comparative Biochemistry and Physiology, 138: 45-51.

Barham W.T., Smit G.L., Schoonbee H.J. 1980. The hematological assessment of bacterial infection in rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. Journal of Fish Biology, 17(3): 275-281.

Brunt B., Austin B. 2005. Use of a probiotic to control *lactococcosis and streptococcosis* in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Journal of Fish Disease, 28: 693-701.

Brunt J., Newaj-Fyzul A., Austin B. 2007. The development of probiotics for the control of multiple bacterial diseases of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Journal of Fish Disease, 30: 573-579.

Dimitonova S.P., Bakalov B.V., Aleksandrova-Georgieva R.N., Danova S.T. 2008. Phenotypic and molecular identification of *Lactobacilli* sp. from vaginal

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-01]

secretions. Journal of Microbiology, Immunology and Infection, 41: 469-477.
FAO. 2005. Responsible Use of Antibiotics in Aquaculture (Ed. Serrano PH), FAO Fisheries Technical Paper 469, FAO, Rome, Italy, 98P.
Fuller R. 1989. Probiotics in man and animals. Journal of Applied Bacteriology, 66: 365-378.
Goldenfarb P.B., Bowyer F.P., Hall E. 1971. Reproducibility in the hematology laboratory: the microhematocrit determination. American Journal of Clinical Pathology, 56: 35-39.
Hayatbakhsh M.R., Khara H., Sayad Borani A., Ahmadnezhad M., Daghigh Rouhi J., Movahed R., Rahbar M. 2010. Study blood parameters of Caspian Sea bream. Journal of Biological Sciences, Islamic Azad University Branch, 4(2): 47-57.
Jamalzad H., Kivan A., Jamili Sh., Oryan Sh., Saeedi A. 2001. Study blood factors salmon Caspian Sea. Journal of Fisheries, 1: 25-26.
Kamkar M., Ghane M., Pourgholam R., Ghiasi M. 2012. Effect of *Bacillus sabtilis* as probiotic on hematological and biochemical factors of Rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) after experiment infection by *Streptococcus*. Journal of Aquaculture Development, Lahijan Branch, Islamic Azad University, 6(1): 91-102.
Kumar R., Mukherjee S.C., Prasad K.P., Pal A.K. 2006. Evaluation of *Bacillus subtilis* as a probiotic to Indian major carp *Labeo rohita*. Journal of Aquaculture Research, 37: 1215-1221.
Larsen H.N. 1964. Comparison of various methods of hemoglobin detection of channel catfish blood. Progress in Fish Culture, 26: 11-15.
Leonard J.B.K., Cormick S.D.Mc. 2005. Changes in hematology during upstream migration to American Shad. Journal of Fish Biology, 54: 1218-1230.
Martins M.L.A., Mouriño J.L.P.A.B., Amaral G.V.A., Vieira F.N.B., Dotta G.A., Jatobá A.M.B.A.B., Pedrotti F.S.A.B., Jerônimo G.T.A., Buglione-Neto C.C.B., Pereira-Jr G.A. 2008. Hematological changes in Nile tilapia experimentally infected with *Enterococcus* sp. Brazilian Journal of Biology, 68(3): 657-661.
Mesalhy A.S.M., Yousef A.G.A., Ghareeb A.A.A., Mohamed M.F. 2008. Studies on *Bacillus subtilis* and *Lactobacillus acidophilus*, as potential probiotics, on the immune response and resistance of *Tilapia nilotica* (*Oreochromis niloticus*) to challenge infections. Fish and Shellfish Immunology, 25: 128-136.
Narain A.S., Srivastava P.N. 1989. Anemia in the freshwater teleost, *Heteropneustes fossilis*, under the stress of environmental pollution. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology. 43: 627-634.
Nayak S.K. 2010. Probiotics and immunity: A fish perspective. Fish & Shellfish Immunology, 29: 2-14.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-01]

Newaj-Fyzul A., Adesiyun A.A., Mutani A., Ramsubhag A., Brunt J., Austin B. 2007. Bacillus subtilis AB1 controls *Aeromonas* infection in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Journal Applied Microbiology, 103: 1699-1706.

Pond M.J., Stone D.M., Alderman D.J. 2006. Comparison of conventional and molecular techniques to investigate the intestinal microflora of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture, 261: 194-203.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-01]

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-01]