

اثر مکمل دیواره سلولی مخمر (*Saccharomyces cerevisiae*) و اسانس دارچین (Cinnamomum verum) بر شاخص‌های رشد، بیوشیمی خون و ایمنی بچه ماهی (Oncorhynchus mykiss)

سیران خانی^۱، کوروش سروی مغانلو^{۲*}، احمد ایمانی^۳، ناصر آق^۳، رضا جلیلی^۴

- ۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران
- ۲- استادیار، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران
- ۳- دانشیار، پژوهشکده مطالعات دریاچه ارومیه، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران
- ۴- دانشجوی دکتری، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

دریافت: ۱۳۹۵/۰۴/۱۹ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۴/۲

* نویسنده مسئول مقاله: k.sarvimoghlanlou@urmia.ac.ir

چکیده:

اثر افزودن دیواره سلولی مخمر (*Cinnamomum verum*) و اسانس دارچین (*Saccharomyces cerevisiae*) به جیره غذایی قزل‌آلای رنگین‌کمان بر برخی از فراستجه‌های بیوشیمیابی خون و ایمنی انجام شد. با استفاده از آزمایش عاملی 2×2 ، بچه ماهی ($1/20 \pm 9/67$ گرم) با ۴ نوع جیره غذایی (شاهد و جیره‌های حاوی $1/5$ درصد دیواره سلولی مخمر، 1 درصد اسانس دارچین و استفاده توأم از $1/5$ درصد مخمر و 1 درصد اسانس دارچین) به مدت 60 روز پرورش داده شدند. نتایج بیانگر کاهش نرخ رشد ویژه وزن بدن در تیمار حاوی اسانس دارچین بود ($p \leq 0.05$). اما اختلاف معناداری در ضریب تبدیل غذایی تیمارها مشاهده نشد ($p > 0.05$). بیشترین مقدار شاخص کبدی در تیمار حاوی 1 درصد اسانس دارچین مشاهده شد ($p \leq 0.05$). از نظر شاخص‌های خونی، بیشترین تعداد گلبول‌های قرمز و غلظت هموگلوبین در تیمار حاوی 1 درصد اسانس مشاهده شد ($p \leq 0.05$). درصد هماتوکریت نیز در حضور هم‌زمان دیواره مخمر و اسانس دارچین به بالاترین سطح رسید. میزان فعالیت آنزیم آلkalین فسفاتاز در تیمار حاوی دیواره سلولی مخمر نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت ($p \leq 0.05$). همچنین اسانس دارچین باعث کاهش میزان فعالیت آنزیم آلkalین فسفاتاز، آسپارتات آمینو ترانسفراز و گاما گلوتامیل ترانسферاز گردید ($p \leq 0.05$). بیشترین میزان پروتئین کل، گلبولین و لیزوزیم سرم خون نیز در تیمار حاوی $1/5$ درصد دیواره سلولی مخمر مشاهده شد ($p \leq 0.05$). نتایج نشان می‌دهد که استفاده هم‌زمان دیواره سلولی مخمر و اسانس دارچین در جیره غذایی باعث تقویت سیستم ایمنی بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌شود.

کلید واژگان: دیواره سلولی مخمر، اسانس دارچین، بیوشیمی سرم، ایمنی، قزل‌آلای رنگین‌کمان

مقدمه

صنعت آبزی پروری برای رویارویی و غلبه بر مشکل کمبود زمین و منابع آبی، ناگزیر به افزایش تراکم در واحد سطح و کاهش میزان استفاده از آب و زمین است. این مسئله موجب افزایش تنش‌های محیطی و ضعف آبزی پرورشی در برابر بیماری‌ها می‌شود. به موارد فوق می‌توان عدم شناخت کافی ما از احتیاجات غذایی آبزیان به‌ویژه در شرایط نامناسب محیطی و کیفیت نامطلوب خوراک را نیز اضافه کرد. در پرورش آبزیان، پیشگیری از وقوع بیماری‌ها از طریق اجرای صحیح برنامه‌های امنیت زیستی اهمیت بسیار زیادی دارد و در صورت بروز کاستی در این زمینه، بیماری به‌وقوع می‌پیوندد. مقوله پیشگیری مستلزم اطمینان از عملکرد مناسب سیستم ایمنی آبزی است. در سال‌های اخیر، افزودن محرک‌های ایمنی به جیره غذایی ماهیان پرورشی برای تقویت ایمنی ذاتی و مقاوم‌سازی آبزیان در برابر بیماری‌ها رایج، می‌تواند جایگزین مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها شود. استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها از جهات مختلف تهدیدی برای انسان و محیط‌زیست محسوب می‌شود. افزایش باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها، تخریب و تهدید محیط‌زیست به‌ویژه در اثر ورود آنتی‌بیوتیک‌ها به آب‌های سطحی و عوارض جانبی این داروها بر بدن ماهی و سرانجام مصرف‌کننده نهایی (انسان) از جدی‌ترین معایب استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها عنوان شده است (Serrano, 2005; Alishahi et al., 2011).

ماهیان به‌علت قرارگیری در سطوح پایین‌تر تکاملی نسبت به حیوانات خون گرم، دارای سیستم ایمنی ساده‌تری هستند و سیستم ایمنی غیراختصاصی وظیفه اصلی مقابله با عوامل بیماری‌زا را بر عهده دارد. این وضعیت ویژه باعث اهمیت خاص محرک‌های ایمنی در ماهیان شده است، به‌طوری‌که استفاده از محرک‌های ایمنی به‌همراه واکسن‌ها،

موجب افزایش عملکرد سیستم ایمنی آبزی می‌گردد

(Iwama and Nakanishi, 1996).

در بین محرک‌های ایمنی، پرбیوتیک‌ها در بسیاری از موارد قادر به تأثیرگذاری بسیار بالایی بر شاخص‌های رشد و ایمنی ماهیان هستند (Verschueren et al., 2000). مخمرها، مهم‌ترین و پرکاربردترین میکروارگانیزم‌های مورد استفاده در صنایع غذایی از جمله تولید عصاره مخمر به‌شمار می‌روند (Irianto and Austin, 2002). عموماً مخمر صنعتی یا به صورت زنده برای تغذیه غذاهای زنده به‌کار می‌رود و یا پس از عمل آوری به عنوان یک ترکیب Stones (and Mills, 2004). مخمرها از نظر ارزش غذایی دارای مواد مغذی مطلوبی بوده و از نظر اقتصادی قابلیت تولید انبوه دارند (Tacon, 1994; Li and Gatlin, 2003). دیواره سلولی مخمر (*Saccharomyces cerevisiae*) حاوی انواعی از ترکیبات محرک ایمنی مانند β -گلوکان‌ها (از پلی‌ساقاریدها)، الیگوساقاریدهای مانان و کیتین است و Siwicki et al., 1994; باعث تقویت پاسخ‌های ایمنی (Rumsey et al., 1991; Ortuno et al., 2002) و رشد (Oliva-Teles and Goncalves, 2001) در گونه‌های مختلف ماهیان می‌شود (Li and Gatlin, 2003). برای مثال دیواره سلولی مخمر در سطح ۱/۵ درصد در ماهی شیپ (*Acipenser nudiventris*)، در سطح ۲ درصد در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) و در سطح ۳ درصد در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) باعث Etesamipour et al., 2013). مخمر به عنوان یکی از پری‌بیوتیک‌های مورد استفاده در جیره غذایی آبزیان شامل بتا‌گلوکان و مانان اولیگوساقارید است. مانان اولیگوساقارید موجود در دیواره سلولی مخمر با اتصال به سلول‌های پوششی دیواره بهبود سیستم ایمنی شده است ().

نظیر اوژنول، سینئول و سینامآلدئید می‌باشد. ترکیب سینامآلدئید موجود در دارچین سبب تحریک سیستم ایمنی می‌گردد (Mushlova et al., 2009). همچنین دارچین به علت داشتن تانن موجب تسهیل هضم غذا و جریان گردش خون می‌شود (Ranjan et al., 2012). تأثیر مثبت پودر دارچین به عنوان ماده محرک رشد و سیستم ایمنی در ماهی تیلاپیا (Ahmad et al., 2011) و ماهی گرین ترور Roozi et al., 2013) گزارش شده است (Andinocara rivulatus). همچنین سynamآلدئید می‌تواند با اثر تخریبی خود در بخش درونی سلول‌های باکتریایی و اختلال در متابولیسم سلولی، عوامل بیماری‌زا را از بین برده و با حفظ تعادل میکروبی دستگاه گوارش موجب بهبود عملکرد حیوان می‌گردد (Kalantar Nistanaki, 2011). با توجه به اهمیت دیواره سلولی مخمر و اسانس دارچین در تقویت سیستم ایمنی ماهیان، مطالعه حاضر با هدف بررسی تأثیر استفاده هم‌زمان دیواره سلولی مخمر و اسانس دارچین بر سیستم ایمنی، شاخص‌های خونی، بیوشیمی سرم و شاخص‌های رشد بچه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) را طرح‌ریزی شد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه شامل ۴ تیمار (هر تیمار دارای سه تکرار) بود که به صورت آزمایش عاملی 2×2 و در قالب یک طرح کاملاً تصادفی و به مدت ۶۰ روز انجام شد (جدول ۱). تعداد ۲۷۶ قطعه بچه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با میانگین وزنی $9/67 \pm 1/20$ گرم) از یکی از مراکز تکثیر و پرورش ماهیان سرداً‌بی تهیه و به سالن تکثیر و پرورش آبزیان پژوهشکده مطالعات دریاچه ارومیه منتقل شد. پس از گذراندن دو هفته دوره قرنطینه و سازش با شرایط جدید، بچه ماهیان با محلول نمک ۳ درصد ضد عفونی و به طور تصادفی با تراکم

داخلی روده از تحریک غیرسودمند سیستم ایمنی حیوان می‌کاهد و به این طریق موجب مصونیت حیوان در برابر بیماری‌ها می‌شود (Li and Gatlin, 2003).

کاربرد گسترده ترکیبات طبیعی و گیاهی در درمان طیف وسیعی از بیماری‌های انسان موجب شد تا امکان استفاده از این ترکیبات در درمان بیماری‌های سایر موجودات زنده نیز بررسی شود. این ترکیبات ارزان و بدون عوارض جانبی برای موجودات زنده و انسان می‌باشند. بنابراین استفاده از آنها از نظر محیط‌زیستی نیز از اهمیت به‌سزایی برخوردار است (Kazemipour et al., 2005). ترکیبات طبیعی با وجود تأثیر کند، اثر بسیار پایدارتری در مقایسه با سایر داروها دارند. این مواد به علت دارا بودن مواد مؤثر مختلف می‌توانند در درمان بسیاری از بیماری‌ها کاربرد داشته باشند. همچنین این مواد مؤثر همواره از یک حالت تعادل زیستی برخوردارند و از این رو در بدن انباسته نشده و اثرهای جانبی بر جای نمی‌گذارند (Hahm et al., 2001; Shoohani et al., 2010).

داروهایی با منشأ گیاهی با اهداف مختلف در صنعت آبزی‌پروری کاربرد دارند که از جمله آنها می‌توان به تحریک سیستم ایمنی ماهی و سایر آبزیان پرورشی (Bisignano et al., 2001; Dong et al., 2003) نقش به عنوان پریوتیک، درمان بیماری‌های عفونی، آرام‌بخشی و بیهوشی ماهی (Hahm et al., 2001) و ترمیم زخم‌های سطحی در روش حمام درمانی با محرک‌های ایمنی گیاهی (Janz et al., 2007) اشاره کرد. یکی از گیاهان دارویی شناخته شده در طب سنتی ایران و همچنین در مطالعات بالینی انسانی و دامی، گیاه دارچین می‌باشد. اسانس دارچین که تنها قسمت مهم دارچین است به مقدار یک درصد در پوست درخت مذکور وجود دارد. خواص ضد میکروبی و ضدقارچی دارچین به علت وجود ترکیباتی

آون ۵۰ درجه سانتی گراد خشک شدند. سپس رشته های حاصل شده به قطعات کوچک تر شکسته شد و پس از زدودن خاکه ها با استفاده از الک (اندازه چشمی ۱mm)، در کیسه های یک کیلوگرمی و در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شدند. بچه ماهیان روزانه در سه وعده غذایی با فواصل زمانی ۶ ساعت (ساعت های ۸، ۱۴ و ۲۰) و با توجه به دمای آب و وزن ماهیان (معادل ۳/۵ درصد وزن بدن) غذاده شدند (Lovell, 2003). طی دوره پرورش، میانگین دمای آب ($15 \pm 0/5$)، اکسیژن محلول آب ($8/4 \pm 0/2$) و شرایط روشنایی سالن به صورت ۱۵ ساعت روشنایی و ۹ ساعت تاریکی بود.

۲۳ قطعه در هر مخزن (۱۲ مخزن ۳۰۰ لیتری) میان تیمارها توزیع شدند. برای ساخت جیره های آزمایشی، ابتدا جیره غذایی تجاری (کارخانه فرادانه شهرکرد، FFT2) که دارای ۴۲ درصد پروتئین خام، ۲۰ درصد چربی خام و ۴۵۵۰ کالری بر کیلوگرم انرژی خام بود، تهیه و به کمک آسیاب ضدغونی شده، آسیاب گردید. سپس با توجه به تیمارهای موردنظر، مقادیر مختلف دیواره سلولی مخمر به همراه انسانس دارچین به غذای پودر شده افزوده شد. در مرحله بعدی با افروختن آب به میزان لازم، خمیر به دست آمده به کمک چرخ گوشت صنعتی به صورت رشته های نازک درآمده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق و یک شب در

جدول ۱ تیمارهای مختلف آزمایشی

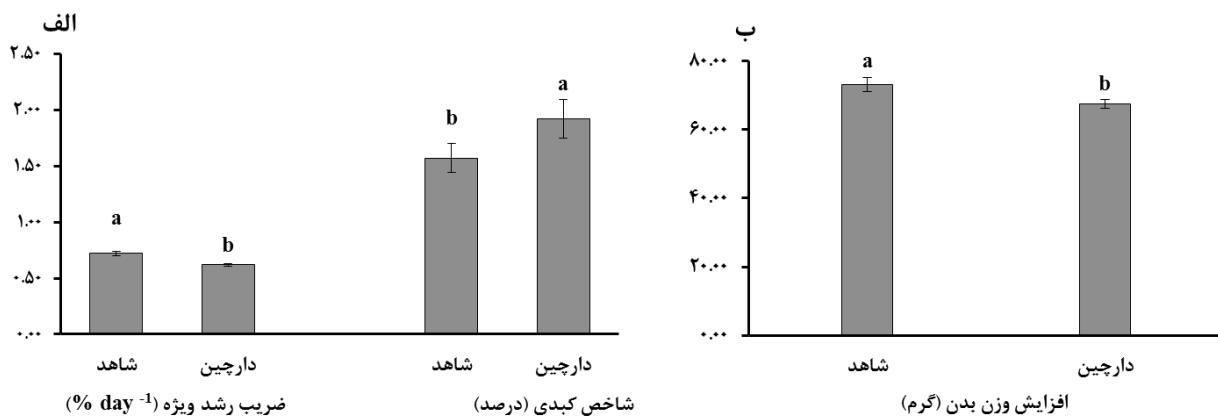
تیمار	غذای استفاده شده
شاهد	غذای تجاری
مخمر	غذای تجاری - ۱/۵ درصد دیواره سلولی مخمر
دارچین	غذای تجاری - ۱ درصد انسانس دارچین
مخمر + دارچین	غذای تجاری - ۱/۵ درصد دیواره سلولی مخمر - ۱ درصد انسانس دارچین

افزایش وزن بدن (WG) = [میانگین وزن ثانویه - میانگین وزن اولیه] \div [میانگین وزن اولیه]
 شاخص کبدی = [وزن کبد ماهی به گرم \div وزن ماهی به گرم] $\times 100$
 برای بررسی فرانسنجه های خون شناسی، در پایان آزمایش از هر تیمار تعداد ۶ ماهی (هر تکرار ۲ قطعه ماهی) به طور تصادفی انتخاب و عمل خونگیری با استفاده از سرنگ های آغشته به هپارین انجام شد. البته ۲۴ ساعت پیش از خونگیری، ماهیان قطع غذا شدند. شاخص های خونی (تعداد گلوبول های قرمز، درصد هماتوکریت، غلظت هموگلوبین و تعداد گلوبول های سفید) با روش های استاندارد شمارش شدند (Simmons, 1997).

زیست سنجی ماهیان و تعیین میزان جیره روزانه به منظور جلوگیری از ورود تنفس به ماهیان هر ۱۵ روز انجام شد. برای جلوگیری از ورود استرس بیشتر به ماهیان، از پودر گل میخک برای بیهوش کردن آنها طی مراحل زیست سنجی استفاده گردید. عواملی از قبیل ضریب رشد ویژه (SGR, %day $^{-1}$), ضریب تبدیل غذایی (FCR) و افزایش وزن بدن به گرم (WG) براساس روابط زیر محاسبه شد (Imani et al., 2009):
 ضریب رشد ویژه (SGR %day $^{-1}$) = [لگاریتم طبیعی وزن ثانویه - لگاریتم طبیعی وزن اولیه] \div مدت زمان افزایش وزن $\times 100$
 ضریب تبدیل غذایی (FCR) = غذای خورده شده \div (گرم) \div افزایش وزن (گرم)

افزایش یافت ($p \leq 0.05$ ، شکل ۱ الف). همچنین شاخص افزایش وزن بدن در تیمار حاوی اسانس نسبت به تیمار شاهد کاهش معناداری داشت ($p \leq 0.05$ ، شکل ۱، ب).

در تحقیق حاضر با افزودن ۱ درصد اسانس دارچین به جیره غذایی، نرخ رشد ویژه به شکل معناداری کاهش یافت در حالی که شاخص کبدی تحت تأثیر اسانس دارچین



شکل ۱ تأثیر اسانس دارچین بر میزان نرخ رشد ویژه و افزایش وزن بدن و شاخص کبدی

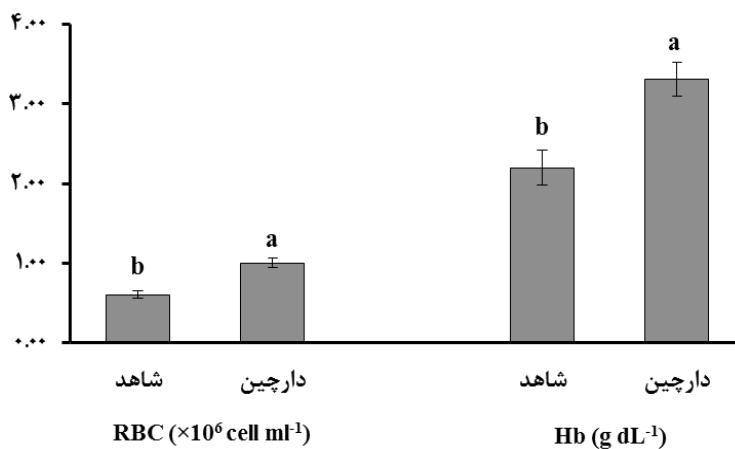
جدول ۴ تأثیر دیواره سلولی مخمر، اسانس دارچین جیره

غذایی بر درصد هماتوکریت

تیمار	درصد هماتوکریت
شاهد	۲۴/۱۲±۳/۷ ^{b*}
مخمر	۲۱/۲۴±۳/۸ ^b
دارچین	۳۰/۰۸±۲/۹ ^{ab}
مخمر+دارچین	۳۸/۸۴±۲/۱ ^a

*حروف متفاوت در هر ستون، نشانه وجود تفاوت آماری معنادار میان تیمارها است ($p < 0.05$)

بررسی نتایج شاخص‌های خونی بیانگر این بود که درصد هماتوکریت خون تحت تأثیر اثر متقابل مخمر- دارچین قرار گرفت و بالاترین درصد هماتوکریت در تیمار مخمر+ دارچین (حاوی ۱/۵ درصد دیواره سلولی مخمر و ۱ درصد اسانس دارچین) مشاهده شد ($p \leq 0.05$ ، جدول ۴). در حالی که تعداد گلوبول‌های قرمز و غلظت هموگلوبین خون تنها تحت تأثیر اسانس دارچین موجود در جیره‌های آزمایشی قرار گرفت، به طوری که با افزودن اسانس به جیره غذایی، تعداد گلوبول‌های قرمز و غلظت هموگلوبین خون به‌طور معناداری افزایش یافت ($p \leq 0.05$ ، شکل ۲).



شکل ۲ تأثیر اسانس دارچین بر تعداد گلبول‌های قرمز (RBC) و غلظت هموگلوبین خون (Hb).

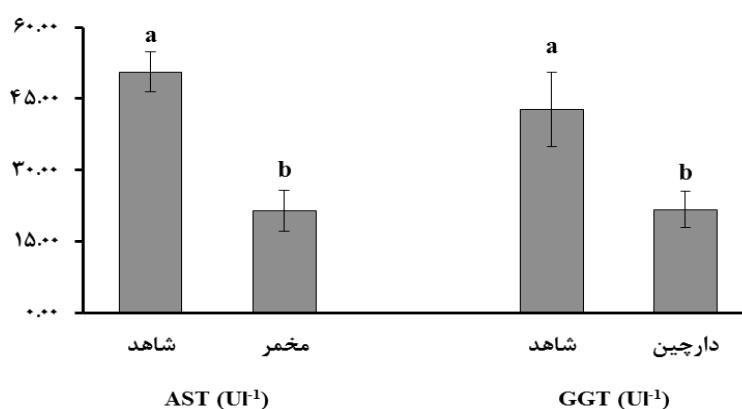
فعالیت AST و اسانس دارچین منجر به کاهش فعالیت GGT گردید ($p \leq 0.05$ شکل ۳).

جدول ۵ تأثیر دیواره سلولی مخمر و اسانس دارچین جیره غذایی بر میزان آنزیم آلkalین فسفاتاز

آلkalین فسفاتاز (U/I)	تیمار
۵۹۶/۲۰±۳۱۴/۸۰*	شاهد
۱۶۷۱/۴۳±۱۴۳/۱۲ ^a	مخمر
۱۴۴۶/۱۱±۱۶۹/۳۵ ^a	دارچین
۷۲۱/۴۲±۱۳۷/۲۸ ^b	مخمر+دارچین

*حروف متفاوت در هر ستون، نشانه وجود تفاوت آماری معنادار میان تیمارها است ($p < 0.05$)

در تحقیق حاضر، فراسنجهای بیوشیمیایی مانند ALP، GGT و ALT به عنوان شاخص‌های سلامت ماهی ارزیابی شدند. فعالیت ALP سرم تحت تأثیر اثر مخمر- دارچین قرار گرفت، در حالی‌که فعالیت AST تنها تحت تأثیر دیواره سلولی مخمر و فعالیت GGT تنها تحت تأثیر اسانس دارچین موجود در جیره‌های آزمایشی بود (جدول ۳). بیشترین میزان فعالیت ALP در تیمار مخمر (حاوی ۱/۵ درصد دیواره سلولی مخمر) مشاهده شد ($p \leq 0.05$ ، جدول ۵)، در حالی‌که دیواره سلولی مخمر باعث کاهش



شکل ۳ تأثیر اسانس دارچین بر میزان فعالیت آنزیم‌های آسپارتات آمینو ترانسفراز (AST) و آنزیم گاما گلوتامیل ترانسفراز (GGT).

($p \leq 0.05$). همچنین، کمترین میزان آلبومین در تیمار مخمر + دارچین (حاوی $1/5$ درصد دیواره سلولی مخمر و حاوی 1 درصد اسانس، $7/22 \pm 0.06$) و کمترین میزان فعالیت لیزوژیم در تیمار دارچین ($2/92 \pm 0.024$) مشاهده شد ($p \leq 0.05$ ، جدول ۶).

اثر متقابل دیواره سلولی مخمر - اسانس بر میزان پروتئین کل، آلبومین، گلوبولین و فعالیت لیزوژیم معنادار بود (جدول ۳، $p \leq 0.05$). بیشترین میزان شاخص‌های ایمنی مربوط به تیمارهای حاوی $1/5$ درصد دیواره سلولی مخمر بود ($p \leq 0.05$ ، جدول ۶). کمترین میزان فعالیت پروتئین کل و گلوبولین در تیمار شاهد مشاهده شد

جدول ۶ تأثیر غلظت‌های مختلف دیواره سلولی مخمر و اسانس دارچین بر میزان فعالیت پروتئین کل، آلبومین، گلوبولین و لیزوژیم

تیمار	پروتئین کل (g/l)	آلبومن (μg/ml)	گلوبولین (g/l)	فعالیت لیزوژیم (μg/ml)
شاهد	$30/68 \pm 1/6^b$ *	$8/85 \pm 0/6^a$	$22/13 \pm 1/75^b$	$5/07 \pm 1/34^b$
مخمر	$70/32 \pm 2/4^a$	$9/88 \pm 1/2^a$	$60/43 \pm 2/38^a$	$21/92 \pm 3/04^a$
دارچین	$38/47 \pm 8/1^b$	$9/85 \pm 0/29^a$	$28/58 \pm 8/10^b$	$2/92 \pm 0/24^b$
مخمر + دارچین	$34/65 \pm 3/4^b$	$7/22 \pm 0/6^a$	$27/42 \pm 3/7^b$	$3/30 \pm 0/3^b$

* حروف متفاوت در هر ستون، نشانه وجود تفاوت آماری معنادار میان تیمارها است ($p < 0.05$)

تیمارهای بدون عصاره هیدرولالکلی گیاه اسفرزه بود که با نتایج تحقیق حاضر همخوانی داشت (Mohammadi et al., 2014). Ebrahimi و همکاران (۲۰۱۳)، در یک آزمایش ۸ هفته‌ای تأثیر سطوح اسانس سیر شامل 100 ، 50 و 200 میلی‌گرم در کیلوگرم را بر رشد و تغذیه فیل ماهی (Huso huso) جوان پرورشی بررسی کردند. نتایج نشان‌دهنده افزایش اندازه شاخص‌های رشد و کاهش ضریب تبدیل غذایی همراه با افزایش سطح اسانس سیر بود. سطح 100 میلی‌گرم در کیلوگرم اسانس سیر بهترین عملکرد رشد را در بچه ماهیان نشان داد که با نتایج تحقیق حاضر همخوانی نداشت، زیرا در این تحقیق ضریب تبدیل غذایی افزایش معناداری نداشت و وزن بدن و نرخ رشد ویژه هم در تیمار بدون اسانس افزایش یافت. این امر می‌تواند به دلیل تفاوت در نوع گونه، غلظت و نوع اسانس و طول دوره استفاده باشد. علاوه بر این بیشترین میزان شاخص کبدی در تیمار 1 درصد اسانس دارچین مشاهده

بحث

به منظور آبری پروری پایدار و تولید با بهره‌وری بالا، ارائه راه حل‌های مناسب برای حفظ و بهبود سلامتی حیوان به منظور جلوگیری و کنترل ایمن عوامل بیماری‌زا ضروری است (Soltani et al., 2008). استفاده از ترکیبات طبیعی بدون آثار زیانبار برای محیط‌زیست و همچنین مصرف‌کننده نهایی، می‌تواند نیل به اهداف فوق را تسهیل کند. در مطالعه حاضر تأثیر دیواره سلولی مخمر و اسانس دارچین بر سیستم ایمنی، شاخص‌های خونی، بیوشیمی سرم و شاخص‌های رشد بچه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بررسی شد. براساس نتایج تحقیق حاضر با افزودن اسانس دارچین به جیره غذایی، درصد رشد ویژه و شاخص افزایش وزن بدن کاهش یافت. در این خصوص، در پژوهشی اثر عصاره گیاه اسفرزه بر شاخص‌های رشد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بررسی شد و براساس نتایج به دست آمده، بیشترین درصد رشد ویژه و افزایش وزن بدن در

غذایی روی شاخص‌های خونی فیل ماهی مشخص شد که پودر سیر موجب افزایش میزان هموگلوبین و تعداد کل گلبول قرمز ماهیان شد، اما غلظت هموگلوبین در بین دو تیمار سیر و شاهد تفاوت معناداری نداشت. همچنین درصد هماتوکریت و تعداد گلبول سفید در گروه سیر بالاتر از گروه شاهد بود (Nazerian et al., 2013). به نظر می‌رسد که انسان‌های گیاهی از طریق ۱: کاهش زیان‌های ناشی از نوسان دائم آنتی‌ژن‌های خارجی و ناآشنای وارد شده به لوله گوارش، ۲: افزایش روند تمایز سلول‌های بنیادی موجود در سیستم ایمنی مستقر در دستگاه گوارش و ۳: از طریق ایجاد تعادل میکروبی در دستگاه گوارش موجب تقویت و بهبود عملکرد سیستم ایمنی حیوان می‌شوند (Kalantar Nistanaki, 2011).

میزان فعالیت آنزیم‌های کبدی سرم خون شامل AST، ALT و GGT می‌تواند برای ارزیابی سلامت ماهی استفاده شود (Jefferson et al., 2012). در تحقیق حاضر با افزودن دیواره سلولی مخمر، فعالیت آنزیم AST به‌طور معناداری کاهش یافت. همچنین انسان دارچین به جیره غذایی باعث کاهش قابل توجه فعالیت GGT شد. در پژوهشی اثر سطوح مختلف عصاره نعناع فلفلی بر شاخص‌های بیوشیمیایی سرم خون ماهی قزلآلای رنگین‌کمان بررسی شد. نتایج نشان داد که میزان فعالیت گاما گلوتامیل ترانسферاز در حضور عصاره نعناع به‌طور معناداری کاهش می‌یابد (Adel et al., 2015) که با نتایج تحقیق حاضر همخوانی داشت. این آنزیم‌ها هنگام ورود آسیب به بافت کبد فعالیت بالایی خواهند داشت و در نتیجه در حضور انسان یا عصاره گیاهی که عملکردی تقویت‌کننده دارند، دارای کمترین فعالیت خواهند بود. تعامل میان ترکیبات فعال گیاهی از جمله فلاونوئیدها، فسفولیپیدها و پروتئین‌های غشای سلولی یکی از

شد. مشابه نتایج این تحقیق، Mohammadi و همکاران (۲۰۱۴) در تحقیقی، تأثیر عصاره گیاه اسفرزه را بر شاخص کبدی ماهیان قزلآلای رنگین‌کمان بررسی و بالاترین میزان شاخص کبدی را در تیمار تغذیه شده با ۱ درصد عصاره گیاه اسفرزه گزارش کردند. از آنجا که ماهی در شرایط نامناسب محیطی معمولاً از کبد کوچکتری برخوردار است، به نظر می‌رسد انسان دارچین از طریق افزایش ذخایر انرژی، باعث بهبود سلامتی ماهیان شده باشد (Dong et al., 2012).

مطالعه شاخص‌های خونی می‌تواند در شناخت وضعیت تغذیه و تعیین شرایط بهداشتی و سلامت ماهی مفید باشد (Bahmani et al., 2001). در مطالعه حاضر، بالاترین درصد هماتوکریت خون در تیمار حاوی ۱/۵ درصد دیواره سلولی مخمر و ۱ درصد انسان دارچین مشاهده شد. در حالی که با افزودن انسان به جیره غذایی، تعداد گلبول‌های قرمز و غلظت هموگلوبین خون به‌طور معناداری افزایش یافت. Ahmad و همکاران (۲۰۱۱) پودر دارچین را به عنوان ماده محرک رشد و سیستم ایمنی در ماهی تیلاپیا به کار برdenد. آنها مشاهده کردند که افزودن پودر دارچین به جیره غذایی ماهی تیلاپیای نیل منجر به افزایش معنادار هماتوکریت می‌گردد که با نتایج تحقیق حاضر همخوانی داشت. برخلاف نتایج مطالعه حاضر، در پژوهش Rezaei و همکاران (۲۰۱۲)، اثرهای عصاره گیاه مریم‌گلی بر هماتوکریت خون گربه ماهی پنگوکسی بررسی شد و نتایج آنها نشان داد که تفاوت معناداری از نظر میزان هماتوکریت خون میان تیمارهای مختلف وجود نداشت. این عدم همخوانی در نتایج مطالعات مختلف می‌تواند ناشی از تفاوت در ترکیبات مؤثر گیاهان مختلف، شرایط فیزیولوژیک ماهی، شرایط پرورش، گونه، ترکیب جیره غذایی و ... باشد. در بررسی اثر افزودن پودر سیر به جیره

مشاهده شد که در حضور دیواره سلولی مخمر کل شاخص‌های ایمنی (آلبومین، گلبولین، پروتئین کل و لیزوژیم) نسبت به تیمار شاهد افزایش معناداری داشته‌اند (Hasanpour Fattahi et al., 2014). در مطالعه‌ای دیگر، Javaheri Baboli و Daer (2015) اثر سطوح مختلف دیواره سلولی مخمر را بر شاخص‌های خونی و ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بررسی کردند که نتایج نشان داد میزان فعالیت شاخص‌های ایمنی در حضور دیواره سلولی مخمر به طور معناداری افزایش یافت. در واقع دیواره سلولی مخمر به دلیل داشتن بتا گلوکان باعث تقویت فعالیت شاخص‌های ایمنی می‌شود.

براساس نتایج تحقیق حاضر می‌توان بیان کرد که انسانس دارچین علی‌رغم این‌که تأثیری در افزایش رشد نداشت، ولی باعث بهبود فراسنجه‌های خونی گردید. همچنین افزودن ۱ درصد انسانس دارچین باعث کاهش فعالیت آنزیم‌های کبدی شد که بیانگر سلامتی کبد ماهیان است. نکته دیگر این‌که افزودن ۱/۵ درصد دیواره سلولی مخمر به جیره غذایی، منجر به تقویت سیستم ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌شود. بنابراین با توجه به نتایج تحقیق حاضر، به نظر می‌رسد تیمار ترکیب مخمر و دارچین (استفاده هم‌زمان دیواره سلولی مخمر و انسانس دارچین در جیره غذایی قزل‌آلای رنگین‌کمان) برای تقویت سیستم ایمنی و افزایش مقاومت ماهی در برابر شرایط نامساعد محیطی مفید باشد.

منابع:

Adel, M., Pourgholam, R., Zorriezahra, S.J. and Ghiasi, M. 2015. The effect of different level of *Mentha piperita* on some of the hematological, biochemical and immune parameters of *Oncorhynchus mykiss*. *Iranian Scientific Fisheries Journal*, 24(1): 37-47. (Abstract in English).

مهمترین مکانیسم‌های عملکرد این ترکیبات محسوب می‌شوند. چربی‌هایی مثل فسفولیپید، اسفنگوکلیپید و ایکوزونوپیدها در فرایندهای مهم سلولی از جمله تزايد، متابولیسم و آپوپتوز نقش دارند. هر گونه تغییر در پیام‌های سلولی منجر به ایجاد آسیب و تغییرات فیزیولوژیک نامناسب می‌شود. مواد مؤثر موجود در عصاره‌های گیاهی از طریق تنظیم این علایم سلولی به یکپارچگی غشای سلولی کمک می‌کنند (Verstraeten et al., 2010). نتایج مشابهی هنگام استفاده از سطوح مختلف نعناع فلفلی در جیره ماهی باس دریایی گزارش شده است (Talpur, 2014). انسانس دارچین نیز ممکن است با تثبیت غشای سلولی، شدت آسیب‌های ناشی از رادیکال‌های آزاد را کاهش دهد. علاوه بر این، انسانس دارچین می‌تواند با مهار رادیکال‌های آزاد و افزایش سرعت ترمیم سلولی از پیشرفت آسیب‌ها بکاهد (Osawa, 2005 and Kato, 2012). در این میان آنتی‌اکسیدان‌ها به عنوان اصلی ترین راه مبارزه با رادیکال‌های آزاد و بازسازی سلول‌های تخریب شده مطرح هستند. (Zeinab-Yousef, 2012). علاوه بر این، انسانس دارچین موجب افزایش کارایی سیستم ایمنی بدن در برابر انواع بیماری‌ها می‌شود. با این وجود، استفاده از این گیاه در جیره غذایی کپور معمولی موجب تغییر معنادار فعالیت آکالالین فسفاتاز و گاما گلوتامیل ترانسفراز شد (Hajibeglu and Sudagar, 2010).

در این راستا طبق نتایج تحقیق حاضر، بیشترین میزان فعالیت آلبومین، گلبولین، پروتئین کل و لیزوژیم مربوط به تیمارهای حاوی ۱/۵ درصد دیواره سلولی مخمر بود. مطالعات دیگر نیز به نقش مثبت دیواره سلولی مخمر در تقویت سیستم ایمنی اشاره کرده‌اند. در نتیجه بررسی اثر دیواره سلولی مخمر بر شاخص‌های ایمنی فیل ماهی

- Etesamipour, M., Zamini, A., Farokhrooz, m.** 2013. The study Of the effects Of Probiotic Yeast Cell Wall (*Saccharomyces cerevisiae*) on Changes in blood indices and Immunity Of Rainbow Trout Fry (*Oncorhynchus mykiss*). *The quarterly Journal of Physiology and Development*, 7(2): 11-22. (in Persin).
- Hahm, D. H., Yeom, M., Lee, E. H., Shim, I., Lee, H. J. and Kim, H.Y.** 2001. Effect of *Scutellariae radix* as a novel antibacterial herb on the ppk (polyphosphate kinase) mutant of *Salmonella typhimurium*. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 11: 1061-1065.
- Hajibeglou, A. and Sudagar, M.** 2010. Immune response of common carp (*Cyprinus carpio*) fed with herbal immunostimulants diets. *Agricultural Journal*, 5: 163-172.
- Hasanpour Fattahi A., Jafaryan H., Khosravi A. and Abdollahi Arpanahi, D.** 2014. The probiotic effects of dietary *Saccharomyces cerevisiae* and *Aspergillus niger* on the growth and some immunity factors of cultured juvenile beluga sturgeon (*Huso huso*). *Iranian Scientific Fisheries Journal*, 23(2): 21-34. (Abstract in English).
- Imani, A., Farhangi, M., Yazdanparast, R., Bakhtiyari, M., Shokouh Saljooghi1, Z. and Mojazi Amiri, B.** 2009. Feed and growth efficiency indices of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during different deprivation and re-feeding periods. *Iranian Scientific Fisheries Journal*, 18(2): 1-12. (Abstract in English).
- Irianto, A. and Austin, B.** 2002. Probiotics in aquaculture. *Journal of Fish Diseases*, 25: 633-642.
- Iwama, G., and Nakanishi, T.** 1996. Innate Immunity in fish, P73-114, In: Iwama, G., Nakanishi, T., Hoar, W. and Randall, D. (eds.), The fish immune system Organ, Pathogen, and Environment. Academic Press, San Diego, USA, P380.
- Janz, J. A. M., Morel, P. C. H., Wilkinson, B. H. P. and Purchas, R.W.** 2007. Preliminary investigation of the effects of low-level dietary inclusion of fragrant essential oils and oleoresins on pig performance and pork quality. *Meat Science*, 75: 350-355.
- Javaheri Baboli, M. and Daer, N.** 2015. Prebiotic effect of different levels of the cell wall of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* on growth, survival, Open retardation and blood indices of rainbow trout
- Ahmad, M. H., El Mesallamy, A. M., Samir, F. and Zahran, F.** 2011. Effect of Cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*) on growth performance, feed utilization, whole-body composition, and resistance to *Aeromonas hydrophila* in Nile Tilapia. *Journal of Applied Aquaculture*, 23(4): 289–298.
- Alishahi, M., Soltani, M., Mesbah, M. and Esmaeili Rad, A.** 2011. Effects of dietary *Silybum marianum* extract on immune parameters of the common carp (*Cyprinus carpio*). *Journal of Veterinary Research*, 66(3): 255-263. (Abstract in English).
- Bahmani, M., Donskaya, P. and Kazemi, R.** 2001. A comparative study of haematological features in young reared sturgeons (*Acipenser persicus* and *Huso huso*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 24:135-140.
- Bisignano, G., Laganà, M.G. and Trombetta, D.** 2001. In vitro antibacterial activity of some aliphatic aldehydes from *Olea europaea* L. *EMS Microbiology Letters*, 20: 9-13.
- Cheng, Z.J., Hardy, R.W. and Huige, J.J.** 2004. Apparent digestibility coefficients of nutrients in brewer's and rendered animal by-products for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum). *Aquaculture Research*, 35: 1–9.
- Clerton, P., Troutaud, D., Verlhac, V., Gabraudan, J. and Deschaux, P.** 2001. Dietary vitamin E and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) phagocyte function: effect on gut and head kidney leucocyte. *Fish and Shellfish Immunology*, 11: 1-13.
- Dong, G. L., Hyung, K. K., Park, Y., Park, S. C., Woo, E. R. and Hye, G. J.** 2003. Gram-positive bacteria specific properties of silybin derived from *Silybum marianum*. *Archives of Pharmacology Research*, 30: 597-600.
- Dong, G., Xie, S. and Zhu, X.** 2012. Responses of yellow catfish (*Peletoobagrus fulvidraco* Richardson) exposed to dietary cyanobacteria and subsequent recovery. *Toxicon*, 60: 1298-1306.
- Ebrahimi, E., Tangestani, R., Alizadeh dughikolaei, E. and Zare, P.** 2013. Effect of garlic (*Allium sativum*) essential oil on growth parameters, feeding and carcass composition of juvenile beluga (*Huso huso*). *Journal of Khoramshahr Marine Science and Technology*, 11(4): 1-12. (Abstract in English).

- Oliva-Teles, A. and Goncalves, P. 2001.** Partial replacement of fishmeal by brewer's yeast *Saccharomyces cerevisiae* in diets for sea bass *Dicentrarchus labrax* juveniles. *Aquaculture*, 202: 269-278.
- Ortuno, J., Cuesta, A., Rodriguez, A., Esteban, M.A. and Meseguer, J. 2002.** Oral administration of yeast, *Saccharomyces cerevisiae*, enhances the cellular innate immune response of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 85: 41-50.
- Osawa, T. and Kato, Y. 2005.** Protective role of antioxidative food factors in oxidative stress caused by hyperglycemia. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1043(1): 440-451.
- Ranjan, S., Dasgupta, N., Saha, P., Rakshit, M. and Ramalingam, C. 2012.** Comparative study of antibacterial activity of garlic and cinnamon at different temperature and its application on preservation of fish. *Advances in Applied Science Research*, 3: 495-501.
- Rezaei, M.H., Sourinejad, I., Soltanian, S. and Yousefzadi, M. 2012.** Study of some growth and hematology indices of catfish *Pangasianodon hypophthalmus* after diet supplementation with *Salvia macrosiphon* extract. *Journal of Aquatic Ecology*, 2(2): 43-28. (Abstract in English).
- Roozi, Y., Moraki, N., Zoriyeh Zahra, S.J. and Haghghi, M. 2013.** Effect of different levels of powdered cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*) in the diet of fish green terror (*Andinocara rivulatus*) index, blood glucose and survival. *Breeding and Aquaculture Sciences Quarterly*, 1(3): 41-52. (in Persian).
- Rumsey, G.L., Winfree, R.A. and Hughes, S.G. 1992.** Nutritional values of dietary nucleic acids and purine bases to rainbow trout. *Aquaculture*, 108: 97-110.
- Serrano, P.H. 2005.** Responsible use of antibiotics in aquaculture, Fisheries Technical Paper 469, Food and Agriculture Organization (FAO), Rome, Italy.
- Shoohani, B., Hemati, A.A. and Taheri Moghadam, M. 2010.** Effects of *Scrophularia striata* extract on wound healing in rabbit. *Scientific Journal of Ilam University of Medical Sciences*, 17(4): 9-16. (Abstract in English).
- (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Fisheries (Iranian Journal of Natural Resources)*, 67(4): 511-522. (Abstract in English).
- Jefferson, R. G. L. Marcio, Q. C. S., Cleusa, S. O. A. Sanny, M. S. A. and Gabriela, M.V. 2012.** Parasitological evaluation and body indices of *osteoglossum bicirrhosum* (vandelli, 1829) traded in a fair of manaus amazonas, brazil. *Journal of Fisheries Sciences*, 6: 263-270.
- Kalantar Nistanaki, M. 2011.** Medicinal plant and plant products. Marz-e-danesh publication, Tehran, Iran, P160. (in Persian).
- Kazemipour, Y., Rezaei, M. and Keyvani, Y. 2005.** Qualitative comparison of effects of garlic and mallow and motherwort extracts in healing of superficial wounds in the common carp (*Cyprinus carpio*). *Pajouhesh-va-Sazanegi (66 in Animal and Fisheries Sciences)*, 17(1): 93-97. (Abstract in English).
- Kim, D.H. and Austin B. 2006.** Cytokine expression in leucocytes and gut cells of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), Infected by probiotics. *Veterinary Immunology and immunopathology*, 114: 297-304.
- Li, P. and Gatlin, D.M. 2003.** Evaluation of brewers yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) as a feed supplement for hybrid striped bass (*Morone chrysops* × *M. saxatilis*). *Aquaculture*, 219: 681-692.
- Lovell R. T. 2003.** Diet and Fish Husbandry, P703-754, In: Halver, J.E. and Hardy, R.W. (eds.), Fish Nutrition. Academic Press, San Diego, USA, P824.
- Mohammadi, M.J., Alishahi, M., Aramoon, A., Jehantigh, R., khaje Jopash, E., Zarifjoo, M. and Dehdar, H. 2014.** Effects of *Plantago ovata* extract on growth parameters, liver and spleen of juvenile *Oncorhynchus mykiss*. *Experimental Animal Biology*, 2(4): 31-41. (Abstract in English).
- Mushlova, Z., Schindler, I. and Staech, W. 2009.** Description of *Andinoacara stalsbergi* (Teleostei:Cichlidae:Cichlasomatini) from pacific coastal rivers in Peru/and annotation on the phylogeny of the genus. *Vertebrate Zoology*, 59:131-141.
- Nazerian, S., Gholipour, H., Jafarian, H. and Esmaeli, A. 2013.** Effect of dietary garlic powder on some hematological indices of beluga (*Huso huso*). *Breeding and Aquaculture Sciences Journal*, 1: 69-78. (in Persian).

survival, immune response and disease resistance of Asian seabass, *Lates calcarifer* (Bloch) against *Vibrio harveyi* infection. *Aquaculture*, (420–421): 71–78.

Van Vleet, J.F. and Ferrans, V.J. 1992. Etiologic factors and pathologic alterations in selenium-vitamin E deficiency and excess in animals and humans. *Biological Trace Element Research*, 33: 1–12.

Verschueren L., Rombaut G., Sorgeloos P. and Verstraete W. 2000. Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 64: 655-671.

Verstraeten S.V., Fraga C.G. and Oteiza P.L 2010. Flavonoids-Membrane Interactions: Consequences for Biological Actions. In: Fraga, C.G., (Ed), *Plant Phenolics and Human Health: Biochemistry, Nutrition and Pharmacology*. John Wiley and Sons Incorporation, New Jersey, pp. 108-135.

Zeinab-Yousef, A. 2012. Biochemical evaluation of some natural products against toxicity induced by anti-tubercular drugs in rats. *New York Science Journal*. 5(10): 69-80.

Simmons A. 1997. Simmons, A., 1997. *Hematology* Simmons and Butterworth Heinemann Medical University Press, UK, P507.

Siwicki, A.K., Anderson, D.P. and Rumsey, G.L. 1994. Dietary intake of immunostimulants by rainbow trout affects non-specific immunity and protection against furunculosis. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 41: 125-139.

Soltani, M., Mousavi, M., Nikbakht, Gh. and Ahmadzadeh, E.A.H. 2008. Epizootic outbreaks of *Lactococcus garvieae* in farmed rainbow trout in Iran. *Bulletin of European Association of Fish Pathologists*, 28: 207- 12.

Stones, C.S. and Mills, D.V. 2004. The use of live yeast and yeast culture products in aquaculture. *International Aquafeed Journal*, 7: 28-34.

Tacon, A.G.J. 1994. Feed ingredients for carnivorous fish species: alternatives to fish meal and other fishery resources. Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAO Fisheries Circular 881 Rome, Italy, P35.

Talpur, A.D. 2014. *Mentha piperita* (Pepper mint) as feed additive enhanced growth performance,



The effect of dietary yeast cell wall (*Saccharomyces cerevisiae*) and cinnamon essential oil (*Cinnamomum verum*) supplementation on growth indices, blood biochemistry and innate immunity of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fingerlings

Siran Khani¹, Koroush Sarvi Moghanlou^{2*}, Ahmad Imani², Naser Agh³, Reza Jalili⁴

1-MSc. Graduate, Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, Urmia University, Iran
2-Assistant Prof., Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, Urmia University, Iran
3-Associate Prof., Urmia Lake Research Institute, Urmia University, Iran
4-Ph.D Student, Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, Urmia University, Iran

Received: 08.04.2014 Accepted: 26.06.2016

*Corresponding author : k.sarvimoghanlou@urmia.ac.ir

Abstract:

The effect of dietary yeast cell wall (*Saccharomyces cerevisiae*) and cinnamon essential oil (*Cinnamomum verum*) supplementation on growth indices, serum biochemical parameters and immunity of rainbow trout fingerlings was evaluated. Using a 2×2 factorial experiment, 276 fingerlings (9.67 ± 1.20 g) were fed four experimental diets (including control diet, diet supplemented with 1.5% yeast cell wall or 1% cinnamon essential oil, and a diet containing 1.5% yeast cell wall and 1% cinnamon essential oil) for 60-days. Results indicated that the specific growth rate and weight gain significantly decreased in fish fed diet supplemented with 1% cinnamon essential oil ($p \leq 0.05$), but feed conversion ratio didn't differ among treatments ($p > 0.05$). Fish fed diets containing 1% cinnamon essential oil had the highest hepatosomatic index ($p \leq 0.05$). The highest RBC count and blood hemoglobin content belonged to group fed diet containing 1% cinnamon essential oil ($p \leq 0.05$). Simultaneous feeding with yeast cell wall and cinnamon essential oil significantly resulted in higher hematocrit value. Serum alkaline phosphatase activity was significantly increased in group fed diet containing 1.5% yeast cell wall. Dietary cinnamon essential oil supplementation also resulted in lower alkaline phosphatase, aspartate aminotransferase and gamma glutamyltransferase activity of serum ($p \leq 0.05$). The highest serum total protein and globulin content and lysozyme activity were observed in fish fed diet only supplemented with yeast cell wall ($p \leq 0.05$). In conclusion, dietary cinnamon essential oil and yeast cell wall inclusion resulted in improved immunity of rainbow trout fingerlings.

Keywords: Yeast cell wall, Cinnamon essential oil, Serum biochemistry, Immunity, Rainbow trout.