بهداشت و بیماری‌ها

مروری بر استفاده از پروبیوتیک ها بر عملکرد سیستمی ایمنی آبزیان

محبوبه کاهکش*[۱]، تکاور محمدیان[۲]
Mahboube.kahkesh@gmail.com
۱- گروه شیلات، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران
۲- گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

خلاصه

در پژوهش حاضر به بررسی نقش پروبیوتیک‌ها بر عملکرد سیستم ایمنی آبزیان پرداخته شده است. پروبیوتیک‌ها میکروب‌های زنده ای هستند که به طور مستقیم یا ترکیبات حاصل از آن‌ها و در برخی موارد با آزاد سازی ترکیبات ضد باکتریایی در بدن باعث بروز سلامت و افزایش حاشیه‌ی امنیتی میزبان خود می گردند. با وجود این که مکانیسم عملکرد پروبیوتیک‌ها مشخص نشده، اما احتمالاتی شامل دفع رقابتی پاتوژن‌ها وجود دارد. از مهمترین پروبیوتیک‌هایی که موجب افزایش پارامترهای ایمنی در ماهیان می گردد، می‌توان به باکتری‌های اسید لاکتیک (مثل لاکتوباسیلوس رامنوسوس، لاکتوباسیلوس لاکتیک ، لاکتوباسیلوس مزنترونیدس و...) اشاره کرد. استفاده از باکتری-های سویه باسیلوس (مانند باسیلوس سابتیلیس، باسیلوس اسیدوفیلوس)، اینتروکوکوس فازیوم، میکروکوکوس لوتوس و کارنوباکتریوم (کارنوباکتریوم مالتاروماتیکوم و کارنوباکتریوم مزنتروئیدس) نیز در بهبود عملکرد سیستم ایمنی آبزیان موثر هستند. اگر چه اولین پروبیوتیک‌هایی که بر روی آبزیان آزمایش شدند برای موجودات خشک زی طراحی گردیده بودند ولی بعضی تاثیرات در ماهی‌ها نیز به همان صورت مشاهده گردید. به دلیل عدم اطمینان از زنده ماندن باکتری‌ها در محیط آبی، بیشتر تلاش‌ها بر اساس جداسازی و انتخاب سویه‌های پروبیوتیکی از محیط آبی بود. این میکروب‌ها شامل ویبریون‌ها، پزودوموناس‌ها، باکتری‌های اسید لاکتیک، باسیل‌ها و مخمرها می‌باشند. نتایج این تحقیقات بدون تردید به کاهش استفاده از مواد شیمیایی و داروها و نیز افزایش سلامت در آبزیان کمک خواهد نمود. لذا با توجه به مطالعات کمی که در این زمینه صورت پذیرفته است، مقاله‌ی حاضر با هدف اثرات پروبیوتیک‌ها بر سلامت آبزیان مورد بررسی قرار گرفت.

واژه‌های کلیدی: آبزیان، پروبیوتیک‌ها، سیستم ایمنی، باکتری‌های اسید لاکتیک

مقدمه

در سال‌های اخیر با توجه به اثرات بالقوه پروبیوتیک‌ها، تمایل زیادی به استفاده از این فرآورده های میکروبی در آبزی پروری بوجود آمده است، در این ر استا استفاده از پروبیوتیک ها ر ا به عنو ان سرلوحه تحقیقات آینده در (FAO) و با توجه به موفقیت های اخیر به کار گیری این مواد ، سازمان خواربار جهانی آبزی پروری تعیین نموده. امروزه پروبیوتیک هاجزئی از بخش درونی آبزی پروری برای افزایش تولید محسوب می شوند. هر چند که کمبود اطلاعات در زمینه ی ساختارپروبیوتیک ها در ماهی دیده می شود. پروبیوتیک ها هم چنین باعث افزایش تولید و تحریک ایمنی در ماهیان می شود [۱]. پروبیوتیک به عنوان فاکتوری با منشأ میکروبیولوژی تعریف می‌شود که موجب تعدیل رشد در سایر موجودات می‌شود [۲]. نظریه‌ای مبنی بر اینکه پروبیوتیک‌ها تأثیر مثبتی بر میزبان می‌گذارند را مطرح کرد. او پروبیوتیک ها را به عنوان میکروارگانیسم های زنده مطرح کرد و هنگامی که به مقادیرلازم به کار برده می‌شوند، موجب سلامت میزبان و هم‌چنین افزایش تعادل میکروبی در روده می شود. مطالعات بالینی متعددی سودمند بودن پروبیوتیک ها را برای سلامت انسان نشان داده اند. برای مثال، در درمان اسهال؛ عدم تحمل لاکتوز؛ سندروم روده تحریک پذیر؛ آلرژی؛ سرطان؛ و غیره استفاده شد. آنتی بیوتیک ها چند دهه است که استفاده می شوند، اما استفاده از آنها از نظر سلامتی ممنوع شده است که عمدتاً به خاطر ایجاد باکتری‌های مقاوم به آنتی بیوتیک می باشد که می‌تواند منتج به ایجاد مشکلاتی برای سلامت انسان و حیوانات شود [۳]. در لوله گوارش انسان و حیوانات خشک‌زی باکتری‌های گرم مثبت بی هوازی سویه های غالب می‌باشند. در انسان مهمترین این گروهها، باکتریوسیدها، کوکسی‌های گرم مثبت بی هوازی، ائوباکتریوم‌ها و بیفیدوباکتریوم‌ها هستند. در حالی که سویه‌های تقریبا غالب در خوک استرپتوکوک-ها و لاکتوباسیل‌ها هستند و به همین دلیل بیشتر سویه های استفاده شده به عنوان پروبیوتیک به گروه‌های بیفیدوباکترها، لاکتوباسیل‌ها و استرپتوکوک‌ها تعلق دارند. هم‌چنین گونه غالب در لوله‌گوارش خرچنگ میکروب‌های گرم منفی بی‌هوازی هستند. در خرچنگ‌ها، صدف‌ها و ماهی‌های موجود در اعماق دریا ویبریوها و پزودوموناسها سویه های غالب را تشکیل می‌دهند و آئروموناسها، پزودوموناسها و انترو باکتریاسه‌ها گونه‌های غالب در ماهی‌های آب شیرین می‌باشند. به همین دلیل مؤثرترین پروبیوتیک‌ها برای حیوانات دریائی احتمالا متفاوت از آنهائی خواهند بود که برای حیوانات خشک زی استفاده می‌گردند. پایداری بیشتر میکروبها در بدن حیوانات آبزی ناچیز است. همچنین بدلیل اینکه این حیوانات خونسرد هستند میکربهای همزیست با آنها نسبت به تغییر درجه حرارت متفاوت خواهند بود، ضمن اینکه تغییر شوری آب نیز احتمالا میکروبها را تحت تاثیر قرار خواهد داد. ماهی‌های اعماق دریا جهت مقابله با از دست دادن آب بدن مجبور به مصرف مداوم آب می‌باشند بنابراین بافت میکروبی موجود در روده حیوانات آبزی احتمالا بوسیله میکروب-های موجود در آب و غذا تحت تاثیر قرار می‌گیرد در لارو و ماهی-های کوچک تاثیر نوع تغذیه بر روی میکروارگانیسم-های دستگاه گوارش به

وضوح ثابت شده است و این تاثیر به خصوص در مورد اولین تغذیه بسیار موثر می‌باشد [۴]. طبق تعریف FAO پروبیوتیک‌ها میکروارگانیسم‌های زنده‌ای هستند که وقتی به مقدار مناسب به کار برده شوند باعث اثرات مفید و بهبود سلامتی در میزبان می‌شوند [۵]. هدف از استفاده‌ی پروبیوتیک‌ها، به کارگیری و یا جبران عملکرد میکروب‌های درون زاد که در مجرای گوارش و یا در سطح بدن مستقر هستند به همین دلیل استفاده از محصولات تخمیری در غذای انسان، از دیر باز در جوامع بشری رواج داشته است. آنتی بیوتیک ها چند دهه است که به کار برده می شوند، اما استفاده از آن‌ها از نظر سلامتی ممنوع شده است که عمدتاً به خاطر ایجاد باکتری‌های مقاوم به آنتی بیوتیک می باشد که می‌تواند منتج به ایجاد مشکلاتی برای سلامت انسان و حیوانات شود [۶].

البته سه ویژگی در مورد میکروب‌هایی که به عنوان پروبیوتیک انتخاب می شوند باید در نظر گرفته شود:

۱) حالت آنتاگونیستی در مقابل باکتریهای بیماریزا داشته باشند

۲)خاصیت تشکیل کلنی داشته باشند

۳)امکان افزایش مقاوت میزبان در برابر پاتوژن را داشته باشند. علاوه بر اینها باید با باکتریهای بیماریزا برای کسب غذا، همچنین امکان اتصال به دیواره روده رقابت نمایند و توانایی تحریک سیستم ایمنی بدن را داشته باشند.

فعالیت های متابولیکی میکروبی تا هنگامی که قدرت نگه داری موکوس و تولید محافظت کننده‌ها علیه پاتوژن‌ها را دارند، سبب گرفتن انرژی و جذب مواد غذایی، بهبود گوارشی و هم چنین تحریک در تکثیر و تفکیک سلول مخاطی می شوند [۷]. در نتیجه می توان چنین بیان نمود که بهره مندی از علوم پیشرفته به تحریک ایمنی با استفاده از باکتری های مفید در ترکیبات غذایی جدید نظیر پروبیوتیک ها تحقق می یابد [۳].

۲. تعریف اصطلاح پروبیوتیک

پروبیوتیک‌ها، میکروارگانیزم‌ها یا محصولاتی از آنها هستند که اثرات مفیدی بر سلامتی میزبان خود دارند. در آبزی پروری پروبیوتیک‌ها به منظور کنترل بیماری‌ها، به صورت مکمل یا حتی در برخی موارد به عنوان جایگزینی برای ترکیبات ضد میکروبی (آنتی بیوتیک ها) مورد استفاده قرار می گیرند. اصطلاح پروبیوتیک از ترکیب دو کلمه پرو+بیوتیک می باشد. پرو در لاتین به معنای برای و در زبان یونانی به معنای روبه رو/قبل می باشد و بیوتیک که در زبان یونانی یک صفت است، به معنای "زندگی" می باشد. به طور کلی به معنی "حامی زندگی" می باشد. در معنای دقیق تر به معنی "برای زندگی" می باشد. پروبیوتیک به ترکیبی گفته می شود که در شرایط خاص، از زندگی حمایت می کند و هم چنین موجب افزایش زنده مانی می شود. ریشه ی لغوی پروبیوتیک در طول سالیان متمادی از

تعریف های مختلفی گرفته شده است. بنابراطلاعات موجود، اصطلاح پروبیوتیک اولین بار توسط Kollath در سال (۱۹۵۳)، به کار برده شد. پروبیوتیک ها به عنوان مکمل های ارگانیک و غیر ارگانیک تعریف شدند که برای بازگشت سلامتی بیمارانی که دچار سوء تغذیه شده بودند ضروری است. به طور معمول در سبزیجات، مکمل های غذایی نظیر ویتامین ها، مواد معطر، آنزیم ها و یا دردیگر مواد ممکن که به مواد فرایندهای متابولیکی حیاتی مربوط می شوند وجود دارد. باکتری های موجود در کاهو و هم چنین مواد سازنده ی اصلی اش از طریق سبزیجات انتقال پیدا می کند [۹].

۳. اَشکال و میزان مصرف پروبیوتیک ها

به طور کلی پروبیوتیک ها در اَشکال گوناگونی مثل آرد، خمیر، کپسولی، لقمه خوراکی و یا مایع به مصرف دام ، طیور و آبزیان می رسد. ولی در مصرف این مواد باید بسیار دقت کرد چون عواملی مانند میزان کُلر آب، دمای آب، میزان املاح معدنی موجود در آب و خوراک، وجود آنتی بیوتیک ها و بعضی از داروها در خوراک و عوامل دیگر بر توانایی حیاتی این میکروب ها مؤثر است. اغلب از آب پنیر به عنوان حامل مناسبی برای پروبیوتیک های باکتریایی استفاده می شود .پروبیوتیک های مخمری به همراه روغن ها نیز قابل مصرف هستند. هم چنین، محصولات میکروبی قارچی به همراه تولیدات جنبی غلات به مصرف می رسند. بعضی از تولیدات میکروبی به طور روزانه مصرف می شوند و دسته ای دیگر در یک دورهٔ زمانی طولانی تر (مثلاً هفته ای یک بار) مورد مصرف قرار می گیرند. در مورد میزان مصرف انواع پروبیوتیک ها توصیه های مختلفی شده است. بر حسب میزان غلظت و تراکم میکروب فعال در واحد وزن پروبیوتیک، میزان مصرف آن تعیین می شود [۱۰].

۴. بررسی تاثیراستفاده از پروبیوتیک در پرورش آبزیان

از جمله مهمترین پروبیوتیک‌های قابل استفاده در پرورش آبزیان می توان به باکتری های گرم مثبت (باسیلوس، کارنوباکتریوم، انتروکوکوس، لاکتو باسیلوس، لاکتوکوکوس و استرپتوکوکوس)، باکتری های گرم منفی (آئروموناس، آلتروموناس، فوتوباکتریوم، پزودوموناس، رزوباکتر(، میکروجلبک ها (تترا سلمیس) و مخمرها (فافیا و ساکارومایسز ها) اشاره کرد. مهمترین فعالیت پروبیوتیک ها در لوله گوارش ماهی از طریق بهبود جذب غذا با تولید آنزیم های خارج سلولی و ویتامین ها است. تاثیر مهم دیگر پروبیوتیک ها کاهش میزان بروز و شیوع بیماری ها، تقویت سیستم ایمنی و فعالیت های ضد ویروسی است. استفاده از پروبیوتیک های مناسب باعث بهبود تعادل میکرو باکتری های گوارشی ماهی می شود. بنابراین با افزایش جذب غذا و فعالیت آنزیمهای گوارشی موجب کاهش مشکلات

ناشی از پاتوژن ها در لوله گوارش می شود. از مجموع ۵۰۶ باکتری جمع آوری شده تنها ۱۱ عدد (۲/۲ درصدکل) می توانند مواد بازدارنده رشد پاتوژن ها را تولیدکنند. سویه های میکروبی از قبیل استرپتوکوکوس لاکتوباسیلوس، کورینه باکتریوم دایورژنس، پزودوموناس فلورسنز و استرپتوکوکوس ترموفیلوس به عنوان عوامل کنترل کننده بیولوژیکی در آبزی پروری استفاده می شوند. این عوامل قابلیت بیماری زایی و سمیت ندارند و می توانند تا مدت طولانی بدون تغییر انبار شوند. استفاده از پروبیوتیک در پرورش میگو، تعادل میکروبی در روده را بهبود داده و با افزایش جذب مواد غذایی و فعالیت آنزیم های گوارشی، باعث بهبود رشدگردید. استفاده از باکتری های سویه باسیلوس به عنوان پروبیوتیک در پرورش میگو باعث تغییر ترکیب گونه های باکتریایی، بهبود عملکرد تولیدی میگوها و کاهش بروز بیماری ویبریوز می شود. استفاده از پروبیوتیک باعث کاهش معنی دار تلفات لارو ماهی ها شده است. افزودن باکتری های اسید لاکتیک(مثل لاکتوباسیلوس رامنوسوس) باعث افزایش سطوح ایمنوگلوبولین سرم خون ماهی ها شده است. همچنین نتایج نشان داده است که مصرف پروبیوتیک موجب افزایش پارامترهای ایمنی در ماهی قزل آلای رنگین کمان می شود، به عنوان مثال استفاده از پروبیوتیک مثل (A. Hydrophila) در کنترل بیماری فرونکلوزی (ایجاد و تجمع کورک و دمل) بسیار موثر است، سبب افزایش تعداد اریتروسیت ها، ماکروفاژها، لنفوسیت ها و لوکوسیت ها شده و فعالیت آنزیم لیزوزیم نیز افزایش می یابد [۱۱].

۵. ترکیب و اجزای فرآورده های پروبیوتیکی و طبقه بندی پروبیوتیک‌ها

تا کنون سویه های زیادی جهت استفاده در تغذیّه دام ، طیور و آبزیان به عنوان پروبیوتیک معرفی شده است و با بهره گیری از مهندسی ژنتیک و دانش بیوتکنولوژی، سویه های مؤثرتر و بهتری نیز تولید خواهد شد. ولی به طور کلی پروبیوتیک ها از لحاظ نوع سویهٔ میکروبی مؤثرشان به سه گروه تقسیم می شوند، پروبیوتیک های باکتریایی، قارچی و مخمری. دفتر مواد غذایی و مطالعه دارویی آمریکا و انجمن رسمی کنترل مواد غذایی، برای متمایز نمودن میکرو ارگانیسم های مفید و مضر، لیست گونه‌هایی از میکرو ارگانیسم را ارائه نموده که می‌توان آن‌ها را با مواد غذایی مصرف نمود [۱۲].

جدول ۱. گونه هایی از میکرو ارگانیسم ها که می توانند به صورت ترکیب با مواد غذایی مصرف شوند [۱۳].

Aspergillus niger	آسپرژیلوس نیگر
Aspergillus oryzae	آسپرژیلوس اوریزا
Bacillus coagulans	باسیلوس کوآگولانس
Bacillus lentus	باسیلوس لنتوس
Bacillus licheniformis	باسیلوس لیشنی فرمیس
Bacillus pumilus	باسیلوس پومیلوس
Bacillus subtilis	باسیلوس سابتیلیس
Bacteroides amylophilus	باکتروئیدس آمیلوفیلوس
Bacteroides capillosus	باکتروئیدس کاپیلو سوس
Bacteroides ruminocola	باکتروئیدس رومینیکولا

۶. آشنایی با سیستم ایمنی ماهیان

واژه لاتینی immunis به معنای از چیزی معاف شدن است و واژه ی immunology به معنای بررسی دستگاه ایمنی در برابر بیماری های عفونی به کار می‌رود. ایمنی می‌تواند غیراختصاصی (مکانیسم دفاع ذاتی میزبان در مقابل عفونت ها)بوده و یا اکتسابی (فرآیند اختصاصی در پاسخ به عوامل خارجی خاص) باشد. ایمنی اکتسابی شامل پاسخ ایمنی هومورال یا مایعی (تولید ایمنوگلوبولین) و سلولی (پس زدن پیوند و ازدیاد حساسیت تأخیری) می‌باشد. دستگاه ایمنی در ماهی ها تشابه اساسی با پستانداران و پرندگان دارند اما به دلیل خونسرد بودن مانند سایر واکنش های حیاتی آنها، ایمنی شان نیز با توجه به گونه ماهی در دامنه حرارتی محدودی فعال می گردد و بدیهی است در این دامنه حرارتی حیاتی در محدوده کوچکتر فعالیت های ایمنی به حد اکثر خود می‌رسد. به طور مثال در کپور ماهیان در ۸-۱۲ درجه‌ی سانتی گراد تولید آنتی بادی رخ می‌دهد، اما در ۸ درجه حداکثر مقدار آنتی بادی تولید می شود و ۷۵ روز طول می کشد ودر ۲۸ درجه کمتر از ۱۰ روز طول می کشد و در حرارت زیر ۱۵ درجه سیستم تولید آنتی بادی ضعیف می شود [۱۴].

۷. مکانیزم پاسخ ایمنی در ماهی

۷-۱. فعالیت فاگوسیتوزی

بیگانه خواری یک مکانیزم دفاعی است که در میزبان فعال می‌باشد که لوکوسیت‌های فاگوسیتوزی (مونوسیت‌ها، سلول‌های دندریتی، ماکروفاژ، و نوتروفیل ها) در طحال، کلیه‌ی قدامی و یا در اندام لنفاوی دیگر یافت می‌شود. در واقع هیچ اطلاعات دقیقی در مورد پلاک‌های پیر مثل اندام‌های لنفوییدی در روده ماهی وجود ندارد [۱۵].

۷-۲. فعالیت ماکروفاژها

ماکروفاژها نه تنها نقش مهمی را در از بین بردن میکروب‌های پاتوژنتیک ایجاد می کنند، بلکه باعث افزایش پاسخ ایمنی ذاتی نیز می‌شوند. ماکروفاژها علاوه بر دربرگیری مواد بیگانه ، دارای اعمال مهم دیگری نیز در ارتباط با دفاع بدن می‌باشند. این سلولهای علاوه بر به انجام رساندن فاگوسیتوز ، عهده‌دار ترشح فاکتورهایی هستند که باعث ایجاد تب شده و برروی پاسخهای التهابی نیز تاثیر می گذارند. آنها همچنین مسئول پردازش آنتی‌ژن برای ایجاد پاسخ ایمنی بوده و بالاخره باعث تقویت فرآیند ترمیم بافتها می گردند. در اثر تحریک ماکروفاژ توسط باکتریها ، فرآورده‌های باکتریایی و یا تخریب بافتی ، از این سلولها ، پروتیینی موسوم به اینترلوکین ۱ ترشح می‌شود که باعث ایجاد یک پاسخ عمومی به جراحت می گردد. برخی از اعمال اینترلوکین ۱ عبارتند از ایجاد تب ، تحریک نوتروفیلها و تاثیر بر روی راههای متابولیکی بدن از طریق بسیج کردن منابع انرژی به منظور از بین بردن عامل مهاجم. ماکروفاژها یکی از عناصر فعال موثر بر فرآیند التهاب هستند .این سلولها به سمت محل تهاجم میکروب جلب شده و علاوه بر کمک به حذف عامل مهاجم فاکتورهایی را نیز از خود ترشح می کنند. ماکروفاژها با داشتن شبکه آندوپلاسمی خشن ، قادر به سنتز و ترشح پروتئینها می‌باشند. برخی از این پروتئین‌ها به طور مداوم آزاد می‌شوند. مانند آنزیم لیزوزیم و بعضی از تولیدات ماکروفاژها تنها در حین فاگوسیتوز آزاد می‌شوند که این ترکیبات باعث تخریب بافتی شده و تاثیر بسزایی بر التهاب دارند [۱۴].

۷-۳. انفجار تنفسی

در ماهیان انفجار تنفسی یا انفجار اکسیداسیون شاخص اندازه گیری اکسیداسیون مواد واسطه‌ی اکسیداتیو مانند هیدروژن پراکسید، یون منفی سوپر اکسید و رادیکال‌های هیدروکسیل می‌باشد. اکسیژن‌های فعال شده توسط سلول‌های فاگوسیتوزی تولید می‌شوند که مسئول تضعیف کردن یا از بین بردن مواد مضری مثل میکروب‌ها را بر عهده دارند. مواد واسطه‌ای اکسیداتیو باعث افزایش توانایی میزبان در مقابله با پاتوژن می‌باشد [۱۵]. در سلول‌های ایمنی ذاتی که شامل نوتروفیل‌های گلبول سفید می‌باشد، انفجار تنفسی رخ می‌دهد. پس نوتروفیل‌ها می‌توانند معیاری برای اندازه گیری NBT (نیترو بلو تترا زولیوم) یا MPO (میلوپراکسیداز) باشد [۱۴].

۷-۴. اسید فسفاتاز

اسید فسفاتاز یا فسفومونواستراز آنزیمی است که گروه فسفاتاز را از مولکول‌های مربوط به فسفر جدا می کند. که در ماکروفاژهای فعال شده و یا سلولهای دندریتیک، اسید فسفاتاز باعث تحریک Ph داخلی ماکروفاژ فاگولیزوزیم و در نتیجه افزایش اسیدیته داخلی می‌شود. اسیدیته‌ی داخلی بیشتر، موجب تحریک فعالیت پروتئاز می‌شود که نتیجه‌ی فعالیت میکروبیسیدال می‌باشد [۱۵]. فعالیت اسید فاگوسیتاز مربوط به فعالیت ماکروفاژ می‌شود که منجر به افزایش فاگوسیتوز و انفجار تنفسی می‌شود [۱۴].

۷-۵. فعالیت کمپلمان

سیستم کمپلمان مجموعه‌ای از پروتئین‌هاست که از نظر ساختمان شیمیایی و اعمال بیولوژیکی با یکدیگر متفاوتند. این پروتئین‌ها از دو یا سه زنجیره پلی پپتیدی تشکیل یافته‌اند که به وسیله پیوندهای دی سولفیدی به یکدیگر متصل شده‌اند. یکی از جنبه های مهم فعالیت کمپلمان، موقعیت آن در سیستم ایمنی ذاتی می باش د .اگر چه کشف کمپلمان و اکثر بررسی های اخیر، فعالیت کمپلمان را به دنبال اتصال آنتی بادی و مرتبط با آن می دانند، ولی نقش اصلی این سیستم شناسایی و تخریب پاتوژن ها بیشتر می باشد. [۱۶].

۷-۶. فعالیت فنولوکسیداز

فعالیت فنولوکسیداز به منظور اندازه‌گیری سیستم ایمنی ذاتی در بی‌مهرگان دریایی نظیر خرچنگ، خیار دریایی، میگو یا لابستر به کار می‌رود. سیستم پروفنوکسیداز باعث تغییر درسیستم کمپلمان بی‌مهرگان دریایی می‌شود که شامل تیروسیناز، کتکولاز و لاکساز می‌باشد. فعالیت فنولوکسیداز برای افزایش فعالیت میکروبی از طریق انفجار تنفسی و فاگوسیتوز در هنگام از بین رفتن بسیار مهم است [۱۷].

۷-۷. لیزوزیم

لیزوزیم آنزیمی است که موجب فروپاشی پپتیدوگلیکان در دیواره‌ی باکتریایی می‌شود. که توسط هیدرولیز پیوندهای گلیکوسیدیک β(۱،۴) در استیل مورامیک و N استیل گلوکونیامین انجام می‌شود. لیزوزیم در بافت‌های مختلفی از جمله آبشش‌ها، سرم خون ماهیان، تخم آبزیان دریایی، دستگاه گوارش و موکوس یافت می‌شود [۱۵]. .ماکروفاژهای فعال شده از محصولات اصلی لیزوزیم هستند [۱۸].

۷-۸. شمارش هماتوکریت و لوکوسیت

شمارش هماتوکریت و لوکوسیت شامل شمارش کل گلبول‌های خونی از جمله شمارش گلبول‌های قرمز، گلبول‌های سفید و پلاکت-ها می‌باشد. شمارش هماتوکریت به عنوان سنجشی برای تعیین وضعیت سلامت ماهیان مورد ارزیابی قرار می گیرد. سلول‌های ایمنی خون

در هنگام فعالیت ایمنی افزایش پیدا می کند. سلول‌های ایمنی که در خون یافت می‌شوند شامل نوتروفیل، ائوزینوفیل، بازوفیل، مونوسیت و لنفوسیت می‌باشد [۱۹].

۸. نقش پروبیوتیک ها در سیستم ایمنی ماهی

مزیت‌های استفاده از پروبیوتیکها در برابر آنتی بیوتیک‌ها به وسیله Moriarty در سال ۱۹۹۸ بحث گردید البته تاکنون بیشترخاصیت تولید مواد ممانعت کننده توسط پروبیوتیک-ها مورد توجه قرار گرفته است .خطر پاتوژن‌های مقاوم به پروبیوتیک‌های انتخاب شده نیز نباید فراموش شود به همین دلیل تحقیق بر روی متنوع کردن آنتاگونیسم‌ها استوار می باشد تا احتمال ایجاد باکتریهای مقاوم کاهش یابد. توانائی بعضی از پروبیوتیک‌ها برای چسبیدن به موکوس روده احتمالا عفونت روده تولید شده توسط بعضی از پاتوژنها را متوقف کند. این حالت آنتاگونیسمی احتمالا از طریق رقابت برای مواد غذایی که برای رشد باکتری‌ها لازم می‌باشد و یا از طریق رقابت جهت اتصال به جدار روده انجام می‌شود. حذف رقابتی، یک مکانیسم برای بیان تاثیر پروبیوتیک‌ها در شرایط زیستی محدود می‌باشد. آهن، مورد نیاز بسیاری از میکروارگانیسم‌هاست و در دسترس بودن آن در بافت‌های حیوانات احتمالا برای بسیاری از پاتوژن‌ها ضروری است.

Smith و Dvey در سال ۱۹۹۳ پیشنهاد کردند که حالت ممانعت کنندگی آئورومونلس سالمونسیدا به وسیله پزودوموناس فلوئوروسنس از طریق رقابت برای کسب آهن آزاد بود. فعالیت مهارکنندگی بسیاری از سویه های پزودوموناس به نظر می‌رسد از طریق ترکیبات آهن دار می‌باشد. در لارو سپر ماهی نیز رقابت ویبریوها و باکتریهای آهن دار خالص شده، میتواند تا حدودی خاصیت پروبیوتیکی آنهاراتوجیه کند .

فعالیت آنتی باکتریال باسیلوس‌های جدا شده به وسیله Sugita و همکارانش در سال ۱۹۹۸ تا حدودی مربوط به ترکیبات آهن دار بود. البته در انتخاب سویه های پروبیوتیکی باید به این نکته نیز توجه داشت که استفاده از آنها، موجب افزایش نیاز میزبان به آهن نگردد . آهن معمولا در جیره غذائی ماهی اضافه می گردد و محدودیت آهن جمعیت میکروبها را بدون تاثیربر روی لارو ماهیها تغییر می‌دهد. البته مواد غذائی دیگری نیز احتمالا میکروبهای روده را تحت تاثیر قرار دهند ولی وجود آنها برای حیات حیوانات آبزی ضروری می‌باشند. بطور مثال اسیدهای چرب غیر اشباع جیره، احتمالا نسبت باکتریهای اسید لاکتیک در لوله گوارش ماهی شمالی را تحت تاثیر قرار دهند .

Gibson و Roberfroid در سال ۱۹۹۵ پریبیوتیک را به عنوان ماده غذائی غیر قابل هضم که بطور مؤثری سلامتی میزبان را از طریق تحریک رشد و یا فعالیت باکتریهای موجود در کلون و یا محدود کردن رشد آنها تحت تاثیر قرار می‌دهد تعریف کردند. فروکتوگلوکوساکاریدها به عنوان افزودنیهای غذائی که رشد بیفیدوباکترها و لاکتوباسیلها را در انسان و حیوانات خشک زی افزایش می‌دهند استفاده می شود. لاکتوساکاروز بوسیله میکروبهای قسمت پائین روده ماهیان خاردار دریائی تخمیر شده و موجب افزایش

ضخامت لایه تونیکاموسکولاریس در این ماهیان می گردند .این نشان داد که بعضی از محصولات حاصل از تخمیر، موجب تقویت لایه دفاعی روده در ماهی و انسان می گردند. به همین دلیل احتمالا چنین موادی که بوسیله پروبیوتیک‌ها قابل هضم بوده، آنتاگونیسم پاتوژن ها هستند و بافت دفاعی میزبان را تحریک می‌کنند، برای مطالعه جالب خواهند بود. از جمله‌ی تغییراتی که در فعالیت بافت‌ها دیده می‌شود، می‌توان به موارد زیر اشاره کرد:

الف)تحریک تولید پادتن ها

ب)افزایش فعالیت سلول های بیگانه خوار

ج)افزایش سطح پروتئین تام سرم و بالارفتن نسبت گلبولین ها و آلبومین ها

د)افزایش تعداد گلبول های سفید

ه)ترغیب و افزایش مقاومت لنفوسیت های Tو افزایش تولید پادتن های ضد سالمونلا [۲۳].

۹. اندام های مرتبط با دستگاه ایمنی در ماهیان استخوانی

۱- اندام ها ی لنفاوی اولیه که شامل تیموس و کلیه قدامی است.

۲- اندام های لنفاوی ثانویه که شامل کلیه قدامی و بافت های لنفوئیدی مرتبط با مخاط وطحال واندام های اپی گونال و بافت های لنفی ضمیمه روده است

۳- کبد و قلب وپوست و روده [۲۴].

نتیجه گیری

استفاده از پروبیوتیکها در آبزیان در حال افزایش می باشد. با این حال هنوز نیاز به تحقیقات زیادی در این مورد می‌باشد. اولین سوال پاسخ داده نشده در بسیاری از موارد سرنوشت پروبیوتیکها در محیط پرورش آبزیان و در لوله گوارش می باشد. بررسی‌های ایمینولوژیکی و مولکولی می‌تواند ابزار مفیدی برای سنتز پروبیوتیک‌ها باشند. درزمینه روش مصرف، حداکثر دز مصرفی و راه‌حلهای تکنیکی برای زنده نگه داشتن این مواد در پلت‌های خشک نیز نیاز به تحقیق می باشد. اسپورهای باسیلوس به راحتی می‌توانند به عنوان مکمل غذائی استفاده گردند و این یک مزیت اضافی این نوع پروبیوتیکهاست. علاوه بر آن باکتریهای اسید لاکتیک نیز نمونه‌های خوبی هستند ولی

هنوز مطالعات بیشتری در این خصوص ضروری می‌باشد. باکتریهائی که بصورت نرمال در حیوانات سالم وجود دارند نیز می توانند منبع خوبی برای پروبیوتیک‌ها باشند [۲۴].

. فرضیه تحریک سیستم ایمنی موجودات آبزی نیز قابل توجه می باشد .بسیاری از محرکهای سیستم ایمنی، روی ماهیها و خرچنگها آزمایش شده است و بعضی از این مواد مثل مورامیل دی پپتید ، گلوکان‌ها و لیپوپلی‌ساکاریدها در دیواره سلولی میکروبها وجود دارند. احتمالا میکروبهای بومی دستگاه گوارش نیز سیستم ایمنی حیوانات آبزی را در برابر پاتوژنهای روده به همان صورتی که در مورد حیوانات خشک زی گزارش شده تحریک می کنند. با این وجود علیرغم بسیاری از گزارشها، تحریک سیستم ایمنی توسط پروبیوتیک-های اسید لاکتیک هنوز قابل بحث می باشد. نتیجه گیری استفاده از پروبیوتیکها در آبزیان در حال افزایش می باشد. با این حال هنوز نیاز به تحقیقات زیادی در این مورد می‌باشد. اولین سوال پاسخ داده نشده در بسیاری از موارد سرنوشت پروبیوتیکها در محیط پرورش آبزیان و در لوله گوارش می باشد. بررسیهای ایمینولوژیکی و مولکولی می تواند ابزار مفیدی برای سنتز پروبیوتیکها باشند. درزمینه روش مصرف، حداکثر دز مصرفی و راه‌حلهای تکنیکی برای زنده نگه داشتن این مواد در پلتهای خشک نیز نیاز به تحقیق می باشد. اسپورهای باسیلوس به راحتی می‌توانند به عنوان مکمل غذائی استفاده گردند و این یک مزیت اضافی این نوع پروبیوتیکهاست. علاوه بر آن باکتریهای اسید لاکتیک نیز نمونه‌های خوبی هستند ولی هنوز مطالعات بیشتری در این خصوص ضروری می‌باشد. باکتری‌هایی که بصورت نرمال در حیوانات سالم وجود دارند نیز می توانند منبع خوبی برای پروبیوتیک‌ها باشند [۲۳].

مشاهدات تحقیقات حاضر نشان داد که سو یه‌ها ی مختلف باکتری‌های پروبیوتیکی توانایی افزایش ایمنی در محصولات آبزی را دارا بوده و به عنوان یک ایده و راهبرد اساسی در پرورش آبزیان می‌توانند مفید واقع گردند.

منابع

1 Balca´zar a,J., De Blas,I., Ruiz-Zarzuela, I.,Cunningham,D., Vendrell,D., Luis,J.,Mu´zquiz,J. (2006), The role of probiotics in aquaculture, Veterinary Microbiology, No.114: pp. 173–186.

2. Fuller, R. (1989), Probiotics in man and animal, Journal of Applied Bacteriology, No. 66: pp. 365–378.

3. Lauzon, L., Dimitroglou.A,.Merrifield, L., Ring, E., Davies, S.J. (2014), Probiotics and Prebiotics Concepts, Definitions and History, Aquaculture Nutrition: Gut Health, Probiotics and Prebiotics, vol. 10: pp. 93-103.

4. Muthukumar, P., Kandeepan, C. (2015), Isolation, Identification and Characterization of Probiotic Organisms From Intestine of Fresh Water Fishes, Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci, No.4(3): pp. 607-616.

5. FAO, (2002), Joint World Health Organization/Food and Agricultural Organization Working Group. Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food,. Ontario, Canada.v.

6. de Azevedo, R., Braga, L. (2012), Use of Probiotics in Aquaculture, Veterinary Medicine and Science , "Probiotic in Animals", chapter.6: pp.301-312.

7. Guarner, F.,Malagelada, J.R. (2003), Gut flora in health and disease, No.361, pp. 512–519.

8. Kollath, W. (1958), Ernahrung und zahnsystem (Nutrition and the tooth system). Deutsche Zahnarztliche Zeitschrift, No. 8: pp. 7–16.

9. Rusch, V. (2002), Probiotics and definitions, a short overview. In: Probiotics: Bacteria and Bacterial Fragments as Immunomodulatory Agents (eds P.J. Heidt, T. Midtvedt, V. Rusch and D. van der Waaij), Old Herborn University Seminar, No. 15: pp. 1–4.

10. Capriles, VD., Silva, KEA., Fisberg, M. (2005), , Prebióticos, probióticos e simbióticos, Novatendência no mercado de alimentos funcionai,. Revista Nutrição Brasil, No. 4: pp. 327-335.

11. Raja. S, Nandhini. E, Sahana. K and Dhanakkodi. B. (2015), Beneficial and destructive effects of probiotics in aquaculture systems, International Journal of Fisheries and Aquatic Studies, No. 2(3): pp. 153-159.

12. Balca´zar.j., De Blas, I., Ruiz-Zarzuela, I., Cunningham, D., Vendrell, D., Luis., J., zquiz, M. (2006), The role of probiotics in aquaculture., Veterinary Microbiology, No. 114: pp. 173–186

13. Jobron,A. ,.Olsson, J.C.,.Westerdahl, A., Conwey, P.L., Kejelleberg, S. (1998), Colonization in the fish intestinal tract and production of inhibitory substances intestinal mucus and fecal extacts, Carnobacterium sp.strain K1.J.Fish Dis., 20: pp. 383-392.

14. Song, SK., Beck, BR., Kim, D., Park, J., kim, J., Ringø, E. (2014), Probiotics as immunostimulants in aquaculture, Fish and Shellfish Immunology, No40: pp. 40-48.

15. Abbas, AK., Lichtman, AH., Pillai, S. (2012), Cellular and molecular immunology, PA, USA: Saunders Elsevier Philadelphia, No. 7: pp. 183-195.

16. Alexander, JB., Ingram ,GA. (1992), Noncellular nonspecific defense mechanisms of fish. Ann Rev Fish Dis, Vol. 2: pp. 249-279.

17. Hellio C, Bado-Nilles A, Gagnaire B, Renault T, Thomas-Guyon H. (2007), Demonstration of a true phenoloxidase activity and activation of a ProPO cascade in pacific oyster, Crassostrea gigas (Thunberg) in vitro, Fish Shellfish Immunol, No.22: pp.433-440.

18. Goethe, R., Phi-van, L. (1998), Posttranscriptional lipopolysaccharide regulation of the lysozyme gene at processing of the primary transcript in myelomonocytic HD11 cells, Immunol, No.160: pp. 4970-4978.

19. Moriarty DJW. (1998), Control of luminous *Vibrio* species in penaeid Aquaculture ponds, Aquaculture, No. 164: pp. 351-358.

20. Smith, P., Davey, S. (1993), Evidence for the competitive exclusion of *Aeromonas salmonicida* from fish wit stress inducible furunculosis by fluorescent pseudomonad, fish Disease, No. 16 (6): pp. 521-524.

21. Sugita, H.; Hirose, Y.; Matsuo, N. and Deguchi, Y. (1998), Production of the antibacterial substance by *Bacillus species* strain NM12, an intestinal bacterium of Japanese coastal fish. Aquacult., No. 165: pp. 269-280.

22. Roberfroid, M.B., Gibson, G.R., Delzenne, N. (1993). Biochemistry of oligosaccharides, a non-digestible dietary fibre, An approach to calculate its caloric value, Nutr. Rev., No. 51: pp. 137-146.

23. Hai.N.V. (2015), The use of probiotics in aquaculture, Journal of Applied Microbiology, vol.119: pp. 917-935.

24. Gomez, G.D., Balcazar, J.L. (2008), A review on the interactions between gut microbiota and innate immunity of fish,. FEMS Immunol. Med. Microbiol, No. 52: pp. 145–154.