تاثیر باکتری پروبیوتیکی لاکتوباسیلوس پلانتاروم بر بازماندگی، پارامترهای بیوشیمیایی و ایمنی آرتمیا ارومیانا

زهرا کرایی[۱]، علی آبرومند[۱*]، سعید ضیایی نژاد[۱]
*aberoumandali@yahoo.com

۱- گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی خاتم الانبیاء بهبهان،،ایران

تاریخ دریافت: مهر ۱۳۹۶ تاریخ پذیرش: آذر ۱۳۹۶

چکیده

با توجه به اینکه بهبود ایمنی میزبان یکی از اساسی ترین کاربردهای استفاده از پروبیوتیک‌ها است، در این تحقیق اثر پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلانتاروم بر پارامترهای بیوشیمیایی، ایمنی شناختی عصاره بدن و بقاء آرتمیا مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور سیست آرتمیای ارومیه (*Artemia urmiana*) طبق روش‌های استاندارد، پوسته زدایی و تخم گشایی شد. این آزمایش در سه تیمار و با سه بار تکرار صورت گرفت که تیمارها شامل سطوح صفر (C)، $۱۰^{۳}$ $CFUml^{-1(۱)}$ (P3) و $۱۰^{۶}$ $CFUml^{-1}$ (P6) از پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلانتاروم بودند. طول دوره آزمایش ۱۰ روز در نظر گرفته شد. نتایج به دست آمده حاکی از بهبود درصد هچ، درصد بازماندگی، شاخص‌های بیوشیمیایی و نیز پارامترهای ایمنی شناختی عصاره بدن آرتمیا بود، به گونه‌ای که بالاترین درصد بازماندگی در تیمارهای حاوی پروبیوتیک با مقادیر ۳/۳۱±۹۰/۰۰ در تیمار P3 و ۱/۷۰±۹۳/۵۰ در تیمار P6 مشاهده شد که با گروه شاهد اختلاف معنی‌داری داشتند ($P< 0/05$). پارامترهای بیوشیمیایی همچون سطح پروتئین کل، آلبومین و لیزوزیم افزایش و سطح کورتیزول عصاره بدن آرتمیا کاهش یافت. علاوه بر این سطح پارامترهای ایمنی شناختی عصاره بدن آرتمیا نظیر ایمنوگلوبین و فعالیت فنول اکسیداز به ترتیب با مقادیر ۳/۵۰±۹۵/۶۰ و ۱۶/۱۶±۱۶۷/۷۶ درصد در تیمار P6 بیشترین مقادیر را به خود اختصاص داده اند. شاخص‌های دیگر همچون آلانین آمینو ترانسفراز و آسپارتات آمینو ترانسفراز نیز در مقادیر حاوی پروبیوتیک نسبت به گروه شاهد کمتر شد که حاکی از تاثیر مثبت این پروبیوتیک بر شاخص‌های مذکور می‌باشد.

لغات کلیدی: پروبیوتیک، لاکتوباسیلوس پلانتاروم، آرتمیا، شاخص‌های بیوشیمیایی، ایمنی شناختی

* نویسنده مسئول

[۱] Colony Forming Unit/ml

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-22]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1396.26.6.15.2]

مقدمه

پروبیوتیک‌ها باکتری‌های بی‌ضرری هستند که موجب تحریک سلامت موجود میزبان از طریق حضور مستقیم و یا حفاظت غیر مستقیم در برابر باکتری‌های مضر می‌شوند (عبداللهی آرپناهی و همکاران، ۱۳۹۳). نوع پروبیوتیک مصرفی، درجه خلوص پروبیوتیک مصرفی و روش‌های مختلف افزودن پروبیوتیک به جیره غذایی به طور قابل توجهی بر خصوصیات بیوشیمیایی خون اثر می‌گذارد (حسینی و همکاران، ۱۳۹۳). عبداللهی آرپناهی و همکاران (۱۳۹۳) بیان کردند که استفاده از باسیلوس‌های پروبیوتیکی موجب ایجاد اختلاف معنی‌داری در سطح گلوکز، کورتیزول و پروتئین کل و نیز پارامترهای ایمنی مانند لیزوزیم و ایمونوگلوبولین در پست لاروهای میگوی پا سفید غربی شد. طبق گزارش احمدی و همکاران (۱۳۹۳) میزان فعالیت آنزیم فنول اکسیداز، پروتئین تام و گلوبولین در میگوی وانامی تغذیه شده با پروبیوتیک پدیوکوکوس و لاکتوکوکوس بطور معنی داری بیشتر از تیمار شاهد بود.

پروبیوتیک‌ها می‌توانند عملکردهای متفاوتی بر بدن آرتمیا داشته باشند که از آن جمله می‌توان به دخالت در عمل هضم به وسیله تولید آنزیم‌های خارج سلولی، تولید ویتامین‌ها و تجزیه ترکیبات غیر قابل هضم، تولید ترکیبات ضد باکتریایی و کاهش سوبسترای موجود برای سایر جمعیت‌های باکتریایی اشاره کرد (Verschuere *et al*., 2000). اما در مورد تاثیر پروبیوتیک بر پارامترهای بیوشیمیایی عصاره بدن آرتمیا مطالعات چندانی صورت نگرفته است. تجویز خوراکی برخی سویه‌های باکتری‌های اسید لاکتیک موجب افزایش پاسخ ایمنی مانند فعالیت فاگوسیتوز، لیزوزیم، فعالیت فنول اکسیداز و سنتز سایتوکین‌ها می‌شود (Panigrahi *et al*., 2007). فعالسازی و افزایش ایمنی سلولی و هومورال نظیر فاگوسیتوز، فنول اکسیداز و فعالیت‌های ضد میکروبی همولنف همراه با افزایش نرخ رشد، میزان بقا و مقاومت در برابر عوامل بیماریزا در اثر تغذیه با پروبیوتیک‌های گوناگون در میگوهای مختلف گزارش شده است (Rengpipat *et al*., 2000; Liu et al., 2009). Rahiman و همکاران (2010) بیان نمودند که پارامترهای ایمنی در میگوی روزنبرگی تغذیه شده با باسیلوس‌ها بطور معنی داری افزایش یافت. در مطالعه‌ای که توسط Teseng و همکاران (۲۰۰۹) صورت گرفت به بررسی اثر استفاده از پروبیوتیک باسیلوس سابتیلیس بر ارتقای ایمنی و مقاومت میگوی وانامی نسبت به بیماریزایی باکتری ویبریو پرداختند، بیان شد که اگر چه در تعداد هموسیت‌ها و انفجار تنفسی در بین تیمارها اختلاف معنی‌داری وجود نداشت اما فعالیت فنول اکسیداز، فعالیت فاگوسیتی و قدرت باکتری کشی دارای اختلاف قابل توجهی با گروه شاهد بود. Alavandi و همکاران (۲۰۰۴) اثر باکتری‌های *Pseudomonas* sp. و *Vibrio fluvialis* را بر شاخص‌های ایمنی میگوی مونودون بررسی نمودند. تعداد هموسیت‌ها، فعالیت فنول اکسیداز و فعالیت آنتی باکتریال مورد مطالعه قرار گرفته که در تیمارهای نام برده نسبت به شاهد دارای نتایج بهتری بود. Olmos و همکاران (۲۰۱۱) گزارش دادند که سطح گلوکز سرم در میگوهای تغذیه شده با سویای مکمل شده با باسیلوس سابتیلیس نسبت به سایر تیمارها افزایش معنی‌داری پیدا کرد. هدف از این مطالعه بررسی اثر سطوح مختلف پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلانتاروم بر درصد تخم گشایی و نیز درصد بازماندگی ناپلی آرتمیا و پارامترهای بیوشیمیایی و ایمنی شناختی عصاره بدن آرتمیا می‌باشد.

مواد و روش کار

طراحی و آماده‌سازی مکان تحقیق

این تحقیق در دانشگاه صنعتی خاتم الانبیاء شهرستان بهبهان انجام شد. سیست آرتمیا (*Artemia urmiana*) طبق روش‌های استاندارد پوسته زدایی و تخم‌گشایی شدند(Lavens & Sorgeloos, 1996). ناپلی‌های آرتمیا به صورت کاملا تصادفی(تراکم ۵۰ سیست در میلی لیتر) به سه تیمار شامل؛

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-22]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1396.26.6.15.2]

تیمار ۱: فاقد پروبیوتیک (C)
تیمار ۲: پروبیوتیک *L. plantarum* به میزان CFU/ml $۱۰^{۳}$ (P3)
تیمار ۳: پروبیوتیک *L. plantarum* به میزان CFU/ml $۱۰^{۶}$ (P6) و هر تیمار در سه تکرار تقسیم شدند.
در این آزمایش از پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلانتاروم (شرکت دانش بنیان ارجان زیست یار) طبق تیمارهای فوق استفاده شد.
در پایان دوره پرورش (۱۰ روز) نمونه‌های همگن شده و در ۴ درجه سانتی گراد درون دستگاه سانتریفیوژ با دور ۱۴۰۰۰ در دقیقه قرار گرفت. آنگاه قسمت فوقانی نمونه ها به منظور سنجش پارامترهای بیوشیمیایی و ایمنی شناختی به آزمایشگاه انتقال یافت.

پارامترهای مورد بررسی

درصد تفریخ

پس از اینکه سیست‌های آرتمیا (*Artemia urmiana*) کپسول‌زدایی شدند. درصد تفریخ سیست‌های کپسول زدایی شده در تیمارهای مختلف پس از طی زمان تخم گشایی طبق فرمول زیر محاسبه گردید:

$$H\% = \frac{N}{N+U+E} \times 100$$

سنجش لیزوزیم

برای اندازه‌گیری میزان فعالیت لیزوزیم سرم از روش Nayak (۲۰۱۰) استفاده گردید. بدین منظور ۱۵ میکرولیتر عصاره بدن آرتمیا با ۱۳۵ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری میکروکوکوس لیزوداکتیکوس (سیگما) در بافر ۰/۰۲ مولار سدیم سیترات مخلوط گردید و جذب نوری آن در دمای اتاق در زمان‌های صفر و ۶ دقیقه در طول موج ۴۵۰ نانومتر اندازه‌گیری شد.

سنجش فعالیت فنول اکسیداز

فعالیت فنول اکسیداز با استفاده از اسپکتروفتومتر با تشکیل رنگدانه DOPA-chrome پس از اکسیداسیون سوبسترا L-DOPA (Sigma) تعیین شد. ۲۰ میکرولیتر از عصاره بدن در پلیت‌ها قرار گرفته، سپس ۳۰ میکرولیتر از بافر کاکودیلات (CAC) و ۵۰ میکرولیتر آنزیم محرک تریپسین (۱ درصد) (sigma) اضافه گردید. نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شدند. پس از آن ۱۳۰ میکرولیتر بافر کاکودیلات و ۵۰ میکرولیتر L-DOPA افزوده شده و میزان جذب در طول موج ۴۹۰ نانومتر خوانده شد. تشکیل DOPA-chrome پس از ۰، ۵ و ۱۰ دقیقه مورد سنجش قرار گرفت. هر واحد از فعالیت آنزیمی معادل تغییر در جذب نوری در هر دقیقه به ازای هر میلی گرم از پروتئین در دمای ۳۵ درجه سانتی گراد است.

سنجش کورتیزول و گلوکز

به منظور اندازه‌گیری میزان کورتیزول و گلوکز از کیت‌های تشخیصی شرکت پارس آزمون استفاده شد.

سنجش ایمنوگلوبولین M (IgM)

برای اندازه‌گیری IgM از روش نفلومتری استفاده گردید(Siwicki & Anderson, 1993). در این روش IgM موجود در نمونه سرم با آنتی بادی ضد IgM در محلول تشکیل کمپلکس داده و باعث کدر شدن محلول می‌شود.

سنجش آلبومین و پروتئین کل

برای اندازه‌گیری آن از روش بروموکرزل گرین (BCG) کالریمتری بهره گرفته شد (Soltani *et al*., 2010). پروتئین کل نیز بر اساس روش بیورت سنجیده شد (Doumas *et al*., 1981).

سنجش آنزیم آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و آسپارتات آمینوترانسفراز (AST)

جهت اندازه‌گیری پارامترهای مذکور از روش رنگ سنجی سینتیک استفاده شد (Borges *et al*., 2004).

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-22]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1396.26.6.15.2]

روش آنالیز آماری داده‌ها

به منظور آنالیز آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون Kolmogorov-Smirnov نرمال بودن داده‌ها مشخص شد و سپس با استفاده از آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد وجود یا عدم وجود اختلاف بین تیمارها مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج

اثر پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلانتاروم بر درصد هچ و بازماندگی آرتمیا در جدول ۱ ارائه شده است.

جدول ۱: درصد هچ و بازماندگی آرتمیا تحت سطوح مختلف پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلانتاروم

Table 1: Hatch percentage and survival of Artemia under different levels of *L. plantarum* probiont.

تیمار	درصد هچ	درصد بازماندگی
P3	۸۹/۳۵±۲/۵۰^{a}	۹۰/۰۰±۳/۳۱^{a}
P6	۸۸/۰۵±۲/۰۲^{a}	۹۳/۵۰±۱/۷۰^{a}
C	۸۸/۱۴±۲/۴۳^{a}	۸۰/۳۰±۲/۹۰^{b}

حروف مشابه در هر ستون نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار است ($P<0.05$)

C: فاقد پروبیوتیک، P3: جیره حاوی 10^{3} $CFUml^{-1}$ پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلانتاروم و P6: جیره حاوی 10^{6} $CFUml^{-1}$ پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلانتاروم

درصد هچ سیست و درصد بازماندگی آرتمیا

با توجه به جدول فوق میانگین درصد هچ سیست آرتمیا در طول دوره آزمایش هیچگونه اختلاف معنی‌داری را نشان نداد اما مقدار آن در تیمار P3 نسبت به تیمارهای دیگر بیشتر بود. میانگین درصد بازماندگی ناپلی آرتمیا در طول دوره آزمایش در تیمارهای حاوی پروبیوتیک به طور چشمگیری نسبت به گروه شاهد بالاتر بود به گونه‌ای که اختلاف معنی‌داری نشان داد. بالاترین درصد بازماندگی در تیمار P6 با ۱/۷۰±۹۳/۵۰ درصد و کمترین مقدار در تیمار شاهد (C) با ۲/۹۰±۸۰/۳۰ درصد مشاهده شد.

شاخص‌های بیوشیمیایی عصاره بدن آرتمیا

نتایج حاصل از بررسی اثر پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلانتاروم بر پارامترهای بیوشیمیایی عصاره بدن آرتمیا در جدول ۲ نشان داده شده است.

گلوکز عصاره بدن ناپلی آرتمیا (mg/dl)

میزان گلوکز موجود در عصاره بدن آرتمیا در هر سه تیمار آزمایشی تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نشان ندادند اما میزان آن در تیمارهای حاوی پروبیوتیک به مراتب بالاتر از تیمار شاهد بود. بیشترین میزان گلوکز در تیمار P3 با (mg/dl) ۱۰/۲۳±۴۲۷/۳۵ و کمترین مقدار در تیمار C با (mg/dl) ۲۲/۲۳±۳۹۸/۱۴ به دست آمد.

پروتئین، کورتیزول و آلبومین کل عصاره بدن ناپلی آرتمیا (g/dl)

نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که میزان پروتئین کل عصاره بدن آرتمیا در طول دوره پرورش با به کارگیری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس به طور معنی‌داری افزایش می یابد بطوریکه میزان آن از g/dl ۱/۶۲±۴/۲۰ در گروه شاهد به g/dl ۱/۱۰±۵/۶۰ در تیمار P6 رسید.

بین میزان کورتیزول موجود در عصاره بدن آرتمیا در تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. با این وجود بالاترین میزان آن در گروه شاهد و کمترین میزان آن در تیمار P6 به دست آمد. در واقع با افزایش میزان پروبیوتیک میزان کورتیزول موجود در عصاره بدن کاهش یافت.

طبق نتایج حاصله، میزان آلبومین در تیمارهای مختلف در طول دوره آزمایش اختلاف معنی‌داری نداشت با این وجود میزان آن در تیمارهای حاوی پروبیوتیک تا حدودی نسبت به گروه شاهد بالاتر بود.

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-22]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1396.26.6.15.2]

لیزوزیم عصاره بدن ناپلی آرتمیا (U/ml/min)

با توجه به جدول ۲، میزان لیزوزیم موجود در عصاره بدن ناپلی آرتمیا در طول دوره آزمایش با افزودن پروبیوتیک به محیط پرورش افزایش یافت اما فاقد اختلاف معنی‌دار با گروه شاهد بود. بالاترین میزان لیزوزیم در تیماری P6 مشاهده شد.

پارامترهای ایمنی شناختی عصاره بدن ناپلی آرتمیا

نتایج بررسی اثر پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلانتاروم بر پارامترهای ایمنی شناختی عصاره بدن ناپلی آرتمیا در جدول ۳ آمده است.

جدول ۲- شاخص‌های بیوشیمیایی عصاره بدن آرتمیا تحت سطوح مختلف پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلانتاروم

Table 2: Biochemical indices of Artemia body extract under different levels of *L. plantarum* probiont.

تیمار	گلوکز(mg/dl)	پروتئین کل (g/dl)	کورتیزول(ng/ml)	آلبومین(g/dl)	لیزوزیم (U/ml/min)
P3	۴۲۷/۳۵±۱۰/۲۳^{a}	۵/۰۵±۲/۱۱^{a}	۹/۰۵±۲/۰۰^{a}	۱/۳۹±۰/۱۱^{a}	۳۸/۴۰±۲/۶۰^{a}
P6	۴۰۹/۰۵±۱۶/۰۲^{a}	۵/۶۰±۱/۱۰^{a}	۸/۶۰±۱/۷۰^{a}	۱/۴۶±۰/۱۵^{a}	۴۲/۱۵±۴/۶۶^{a}
C	۳۹۸/۱۴±۲۲/۲۳^{a}	۴/۲۰±۱/۶۲^{b}	۹/۱۰±۱/۸۲^{a}	۱/۱۹±۰/۱۴^{a}	۳۵/۸۳±۳/۱۲^{a}

حروف مشابه در هر ستون نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار است ($P<0.05$)

C: فاقد پروبیوتیک، P3: جیره حاوی $CFUml^{-1}$ ۱۰^{۳} پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلانتاروم و P6: جیره حاوی $CFUml^{-1}$ ۱۰^{۶} پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلانتاروم

جدول ۳- پارامترهای ایمنی شناختی آرتمیا تحت سطوح مختلف پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلانتاروم

plantarum* probiont. Table 3: Immunological parameters of Artemia under different levels of *L.

تیمار	ایمنوگلوبولین M(mg/dl)	فعالیت فنول اکسیداز	آلانین آمینو ترنسفراز	آسپارتات آمینو ترنسفراز
P3	۸۸/۱۵±۶/۰۱^{a}	۱۴۷/۴۸±۱۹/۰۸^{a}	۰/۰۴۴±۰/۰۱۲^{b}	۰/۰۳۶±۰/۰۱۲^{b}
P6	۹۵/۶۰±۳/۵۰^{a}	۱۶۷/۷۶±۱۶/۱۶^{a}	۰/۰۲۳±۰/۰۱۳^{b}	۰/۰۳۴±۰/۰۱۰^{b}
C	۷۶/۴۶±۳/۳۱^{b}	۱۱۲/۷۶±۱۵/۰۲^{b}	۰/۰۶۷±۰/۰۱۲^{a}	۰/۰۵۴±۰/۰۱۱^{a}

حروف مشابه در هر ستون نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار است ($P<0.05$)

C: فاقد پروبیوتیک، P3: جیره حاوی $CFUml^{-1}$ ۱۰^{۳} پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلانتاروم و P6: جیره حاوی $CFUml^{-1}$ ۱۰^{۶} پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلانتاروم

ایمنوگلوبولین M (mg/dl)

بر اساس نتایج ارائه شده در جدول ۳، میانگین ایمنوگلوبولین M عصاره بدن ناپلی آرتمیا با افزودن پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلانتاروم افزایش یافت و با گروه شاهد اختلاف معنی‌داری نشان داد. میانگین ایمنوگلوبولین M در تیمار P6 بالاترین مقدار را به خود اختصاص داده بود و کمترین میزان آن نیز در گروه شاهد مشاهده شد.

فعالیت فنول اکسیداز

میزان فعالیت فنول اکسیداز عصاره بدن آرتمیا با افزایش میزان پروبیوتیک به محیط پرورش افزایش معنی‌داری نشان داده است بطوریکه میزان آن در تیمار P3 بیشتر از گروه شاهد و در تیمار P6 نسبت به هر دو تیمار دیگر بالاتر بود.

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-22]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1396.26.6.15.2]

آلانین آمینوترانسفراز

طبق جدول ۳ میزان آلانین آمینوترانسفراز در گروه شاهد نسبت به تیمارهای حاوی پروبیوتیک بالاتر بود و با افزایش غلظت پروبیوتیک در محیط پرورش آرتمیا میزان پارامتر ذکر شده، کاهش می‌یابد بطوریکه با گروه کنترل اختلاف معنی‌داری نشان داد.

آسپارتات آمینو ترانسفراز

طبق نتایج به دست آمده از این آزمایش، میانگین شاخص ایمنی آسپارتات آمینو ترانسفراز در گروه شاهد نسبت به دیگر تیمارها بیشتر و دارای اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها بود. با افزایش غلظت پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلانتاروم در محیط پرورش آرتمیا میزان پارامتر ذکر شده اندکی کاهش یافت.

بحث

در سال‌های اخیر تحقیقات فراوانی در استفاده از افزودنی-های غذایی که در بهبود سلامت ماهی و میگو نقش دارند، صورت گرفته است. از جمله این افزودنی‌های غذایی، پروبیوتیک‌ها می باشند. با افزایش تقاضا برای استفاده از باکتری‌های مفید در آبزی پروری تا به امروزه تحقیقات بسیاری در ارتباط با اثر آنها بر رشد و بقاء آبزیان انجام شده است. در این راستا و با توجه به موفقیت‌های اخیر حاصل از این روش جایگزین، سازمان خوار و بار جهانی (FAO) استفاده از پروبیوتیک‌ها را به عنوان موارد عمده تحقیقات آینده در آبزی‌پروری تعیین نموده است. در مطالعه حاضر مشخص شد که پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلانتاروم باعث افزایش درصد بازماندگی ناپلی آرتمیا شد اما بر میزان هچ سیست آرتمیا تاثیر معنی‌داری نداشت. مختاری و همکاران (۱۳۹۵) بیان کردند که پروبیوتیک باکتوسل می‌تواند باعث بهبود رشد و میزان پروتئین کل خون ماهی گورامی سه خال (*Trichogaster trichopterus*) شود. پروبیوتیک مورد استفاده در این پژوهش توانست بر پارامترهای بیوشیمیایی عصاره بدن آرتمیا تاثیر بگذارد که در این میان، بین میزان پروتئین کل عصاره بدن آرتمیا در تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری وجود داشت. میانگین پروتئین کل، لیزوزیم، آلبومین و گلوکز در تیمارهای حاوی پروبیوتیک افزایش یافت. دلیل افزایش دو پارامتر آلبومین و پروتئین در گروه آزمایشی را می‌توان به تاثیر تعدیل کننده ایمنی پروبیوتیک بر سلول‌های هپاتوپانکراس مربوطه دانست که ظرفیت‌های آنابولیک سلول‌های هپاتوپانکراس در تولید پروتئین‌های خون را فعال می‌کند. عبداللهی آرپناهی و همکاران (۱۳۹۳) به بررسی اثر دو گونه پروبیوتیک باسیلوسی بر پاسخ‌های ایمنی پست لارو میگوی پا سفید پرداختند که نتایج ایشان همسو با نتایج حاصله از این آزمایش بود. مطالعه ایشان نشان داد که اختلاف معنی-داری بین برخی از فاکتورهای بیوشیمیایی عصاره بدن موجود در گروه‌های پروبیوتیکی با گروه شاهد وجود داشت. سطوح پارامترهای بیوشیمیایی همچون گلوکز، پروتئین کل، لیزوزیم، کورتیزول و ایمنوگلوبولین M در میگوهای تغذیه شده با جیره مکمل شده با پروبیوتیک به طور معنی داری بالاتر از گروه شاهد بود. نتایج به دست آمده از Kamgar و همکاران (۲۰۱۳) نیز موافق با نتایج این تحقیق است. طبق گزارش Kamgar و همکاران (۲۰۱۳) استفاده از باکتری باسیلوس سابتیلیس در جیره غذایی ماهی قزل آلای رنگین کمان موجب افزایش میانگین پروتئین کل و آلبومین سرم شد. استفاده از پروبیوتیک لاکتوباسیلوس موجب افزایش آلبومین و پروتئین تام گردیده است، زیرا برخی پروتئین‌های سرم همچون لکتین، ترانسفرین، کامپلمان و CRP اجزای سیستم ایمنی ذاتی هستند و همچنین ایمونوگلوبولین‌ها ساختار پروتئینی دارند. لذا تحریک سیستم ایمنی توسط پروبیوتیک، موجب افزایش اجزای فوق و در نتیجه افزایش میزان پروتئین تام سرم شده است.

در این تحقیق اختلاف معنی‌داری بین میزان گلوکز عصاره بدن آرتمیا در تیمارهای مختلف مشاهده نشد. اگر چه میانگین آن در نمونه‌های حاوی پروبیوتیک بیشتر از گروه

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-22]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1396.26.6.15.2]

شاهد بود. همسو با این نتایج می‌توان به تحقیق Olmos و همکاران (۲۰۱۱) اشاره کرد که سطح گلوکز سرم میگوهای تغذیه شده با خوراک سویای حاوی باسیلوس سابتیلیس نسبت به سایر تیمارها افزایش یافت. یافته‌های تحقیق حاضر در مورد لیزوزیم مطابق با یافته‌های احمدی و همکاران (۱۳۹۳) می‌باشد که این محققین بیان کردند که میزان لیزوزیم با افزودن پروبیوتیک به جیره میگوی وانامی افزایش می‌یابد.

تجویز خوراکی برخی از گونه‌های باکتری‌های اسید لاکتیکی موجب افزایش پاسخ ایمنی همچون افزایش فعالیت فاگوسیتوز، لیزوزیم و فعالیت فنول اکسیداز می‌شوند (Panigrahi *et al*., 2007). نتایج دیگر تحقیقات نشان داده است که کاهش ناچیز در میزان فعالیت آنزیم فنول اکسیداز موجب کاهش مقاومت میگو به عوامل بیماریزا می‌شود (Li *et al*., 2005). همسو با نتایج دیگر محققین، در این پژوهش نیز بیشترین میزان فعالیت فنول اکسیداز و ایمنوگلوبولین M در تیمار P6 مشاهده شد که به مراتب نسبت به گروه شاهد بالاتر بود. Rengpipat و همکاران (۲۰۰۰) گزارش نمودند که نرخ بازماندگی و همچنین تعداد هموسیت‌ها و فعالیت فنول اکسیداز همولنف میگوی وانامی تغذیه شده با جیره حاوی پروبیوتیک باسیلوس سابتیلیس اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد داشت و به طور چشمگیری افزایش یافت که با نتایج پیش رو هماهنگ است. احمدی و همکاران (۱۳۹۳) بیان نمودند که فعالیت آنزیم فنول اکسیداز میگوی وانامی در تیمارهای حاوی پروبیوتیک پدیوکوکوس و لاکتوکوکوس نسبت به گروه کنترل به طور معنی داری افزایش یافت. میزان ایمنوگلوبولین M همولنف نیز در تیمارهای آزمایشی به مراتب بالاتر از تیمارهای فاقد پروبیوتیک بود. Teseng و همکاران (۲۰۰۹) گزارش کردند که فعالیت فنول اکسیداز، درصد فعالیت فاگوسیتوزی و قدرت باکتری کشی میگوی وانامی تغذیه شده با پروبیوتیک *B. subtilis* در مواجهه با *Vibrio alginolyticus* دارای اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد بود که موافق با نتایج به دست آمده از این آزمایش است. با توجه به اینکه باکتری‌های پروبیوتیکی باعث تحریک تولید آنتی بادی در بدن می‌شوند (Jones *et al*., 1993)، پس می‌توان انتظار افزایش میزان ایمنوگلوبولین M را در تیمارهای پروبیوتیکی نسبت به تیمار شاهد داشت. تجزیه و تحلیل داده‌های حاضر نشان داد که میزان پارامترهای ایمنی آلانین آمینو ترانسفراز و آسپارتات آمینو ترانسفراز در تیمارهای حاوی پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلانتاروم نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌داری داشت که با نتایج دیگر محققان مطابقت داشت.

نتیجه گیری

یافته‌های این پژوهش نشان داد که بکارگیری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلانتاروم در سطوح مورد مطالعه می‌تواند موجب بهبود پارامترهای بیوشیمیایی همچون افزایش سطح پروتئین کل، آلبومین و لیزوزیم و نیز کاهش سطح کورتیزول عصاره بدن آرتمیا شود. پروبیوتیک مذکور همچنین می‌تواند باعث بالابردن درصد بازماندگی ناپلی آرتمیا و در غلظت 10^{3} $CFUml^{-1}$ موجب افزایش درصد تخم گشایی سیست شود. علاوه بر این سطح پارامترهای ایمنی شناختی عصاره بدن آرتمیا نظیر ایمنوگلوبین و فعالیت فنول اکسیداز بیشتر و شاخص‌های دیگر همچون آلانین آمینو ترانسفراز و آسپارتات آمینو ترانسفراز کمتر شد که حاکی از تاثیر مثبت این پروبیوتیک بر شاخص‌های مذکور می‌باشد.

منابع

احمدی، س.، سلطانی، م.، شمسایی مهرجان، م.، رجبی اسلامی، ه. و پیغان، ر.، ۱۳۹۳. مقایسه تاثیر پروبیوتیک پدیوکوکوس اسیدی لاکتیسی و لاکتوکوکوس لاکتیس بر شاخص‌های رشد، بقاء و فعالیت آنزیمی میگوی پا سفید غربی (*Litopenaeus vannamei*). پایان نامه، دانشگاه آزاد اسلامی. واحد علوم و تحقیقات، تهران.

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-22]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1396.26.6.15.2]

حسینی، ع. ر، اورجی، ح، یگانه، س، و شهابی، ح، ۱۳۹۳، تاثیر پروبیوتیک پدیوکوکوس اسیدی لاکتیسی روی رشد، فاکتورهای خونی و سرمی در ماهی آزاد دریای خزر، مجله علمی شیلات ایران،۲۳(۲): ۳۵-۴۵.

عبداللهی آرپناهی، د، جعفریان، ح، سلطانی، م، و قلی پور کنعانی، ح، ۱۳۹۳، بکارگیری دو گونه از پروبیوتیک های باسیلوسی بر پاسخ های ایمنی و فلور میکروبی روده پست لارو میگوی پاسفید غربی، مجله علمی شیلات ایران،۲۳(۴): ۱۰۵-۱۱۸.

مختاری، م، ایمانپور، م. ر، حاجی مرادلو، ع. م، و حسینی فر، س.ح، ۱۳۹۵، اثرات پروبیوتیک باکتوسل و پربیوتیک گالاکتوالیگوساکارید بر رشد، بازماندگی، پارامترهای خونی و مقاومت در برابر استرس شوری ماهی گورامی سه خال *(Trichogaster trichopterus)*، فصلنامه علمی پژوهشی محیط زیست جانوری،۸(۳): ۱۹۹-۲۰۶.

Alavandi, S.V., Vijayan, K.K., Santiago, T.C., Poornima, M., Jithendran, K.P., Ali, S.A. and Rajan, J.S., 2004. Evaluation of *Pseudomonas* sp. PM 11 and *Vibrio fluvialis* PM 17 on immune indices of tiger shrimp, *Penaeus monodon*. Fish and Shellfish Immunology, 17:115-120. DOI: 10.1016/j.fsi.2003.11.007.

Borges, A., Scotti, L.V., Siqueira, D.R., Jurinitz, D.F. and Wassermann, G.F., 2004. Hematologic and serum biochemical values for jundia´ (*Rhamdia quelen*). Fish Physiology Biochemistry, 30: 21-25. DOI:10.1007/s10695-004-5000-1.

Doumas, B.T., Bayse, D.D., Carter, R.J., Peters, T.J.R. and Schaffer, R.A., 1981. Candidate reference method for determination of total protein in serum. I. Development and Validation. Clinical Chemistry, 10:42-50.

Jones, S.R.M., Stevenson, R.M.W. and Paterson, W.D., 1993. Proliferation of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) lymphocytes in response to the bacterial pathogen *Yersinia ruckeri*. Bulletin of the Aquaculture Association of Canada, 4: 93–95. Doi: 19962207476.

Kamgar, M., Pourgholam, R., Ghiasi, M. and Ghane, M., 2013. Studies on *Bacillus subtilis*, as potential probiotics, on the biochemical parameters of Rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) to challenge infections. Advanced Studies in Biology, 5: 37-50. DOI:org/10.12988/asb.2013.13004.

Lavens, P., and Soregeloos, P., 1996. Manual on the production and use of live food for aquaculture. Food and Agriculture organization of The United Nations. New York, USA. pp.132-137,

Li, J.Q., Tan, B.P. and Mai, K.S., 2005. Dietary probiotic *Bacillus* and isomaltooligosaccharides influence the intestine microbial populations, immune responses and resistance to white spot syndrome virus in shrimp (*Litopenaeus vannamei*). Aquaculture, 291: 35-40. Doi: 20093279336.

Liu, C.H., Chiu, C.S., Lin, P.L. and Wang, S.W., 2009. Improvement in the growth performance of white shrimp, *Litopenaeus*

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-22]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1396.26.6.15.2]

vannamei, by a protease producing probiotic, *Bacillus subtilis* E20 from natto. Journal of Applied Microbiology, 107:1031-41. Doi: 10.1111/j.1365-2672.2009.04284.x.

Nayak, S.K., 2010. Probiotics and immunity: a fish perspective. Fish and Shellfish Immunology, 29: 2-14. DOI:10.1016/j.fsi.2010.02.017.

Olmos, J.L., Ochoa, J. and Paniagua-Michel, R., 2011. Contreras, Functional feed assessment on *Litopenaeus vannamei* using 100% fish meal replacement by soybean meal, high levels of complex carbohydrates and *Bacillus* Probiotic strains. Marine Drugs, 9(6):1119-32. DOI: 10.3390/md9061119.

Panigrahi, A. and Azad, I.S., 2007. "Microbial intervention for better fish health in aquaculture: the Indian scenario". Fish Physiology Biochemistry, 33: 429-440. DOI:10.1007/s10695-007-9160-7.

Rahiman, K.M.M., Jesmi, Y.,Thomas, A.P. and Hatha. A.A.M., 2010. Probiotic effect of *Bacillus* NL110 and *Vibrio* NE17 on the survival, growth performance and immune response of *Macrobrachium rosenbergii* (de Man). Aquaculture Research, 41:120-134. DOI: 10.1111/j.1365-2109.2009.02473.x.

Rengpipat, S., Rukpratanporn, S., Piyatiratitivorakul, S. and Menasaveta. P., 2000. Immunity enhancement in black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) by a probiont bacterium (*Bacillus* S11). Aquaculture, 191: 271-88. DOI:10.1016/S0044-8486(00)00440-3.

Siwicki, A.K. and Anderson, D.P., 1993. Non-Specific defense mechanisms assay in fish: II. Potential killing activity of neutrophils and macrophages, lysozyme activity in serum and organs and total immunoglobulin level in serum. Disease diagnosis and prevention methods, FAO-project GCP/INT/JPA, IFI, Olsztyn, Poland. pp105-112.

Soltani, M., Sheikhzadeh, N., Ebrahimzadeh-musavi, H.A. and Zargar, A., 2010. Effects of *Zataria multiflora* essential oil on innate immune responses of common carp (*Cyprinus carpio*). Journal Fisheries and Aquatic Science, 5:191-199. DOI: 10.3923/jfas.2010.191.199.

Teseng, D.Y., Ho, P.L., Huang, S.Y., Cheng, S.C., Shiu, Y.L., Chiu, C. and Liu, C.H., 2009. Enhancement of immunity and disease resistance in the white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, by the probiotic, *Bacillus subtilis* E20. Fish and Shellfish Immunology. 26: 339–344. DOI: 10.1016/j.fsi.2008.12.003.

Verschuere, 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. DOI:10.1128/MMBR.64.4.655-671.2000.

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-22]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1396.26.6.15.2]

Effect of *Lactobacillus plantarum* on survival rate, biochemical and immunity parameters of *Artemia hemolymph*

Koraei, Z.[1], Aberoumand, A.[1]*, Ziaei nejad S.[1]

*aberoumandali@yahoo.com

1- Department of Fisheries, Natural Resources Faculty, Behbahan Khatam Alanbia University of Technology, Behbahan, Iran

Abstract

Because of the fact that improving hosts immunity is one of the most important applications of probiotic, the effect of probiotic *Lactobacillus plantarum* on survival rate, biochemical and immunity parameters of *Artemia* were investigated in this study. For this purpose, *Artemia urmiana* cysts were desiccated and hatched according to the standard methods. This experiment was carried out in three treatments with three replications for each treatment. Different treatments contained various levels of probiotic *Lactobacillus plantarum* including 0 (C), 10^3 $CFUml^{-1}$ (P3) and 10^6 $CFUml^{-1}$ (P6). The duration of the test period was 10 days. The results showed that the percentage of hatch, survival rate, biochemical indices and the immune parameters of *Artemia* were improved. The highest survival rates were observed for the treatments containing probiotic with the level of 90±3.33% in P3 and 93.50±1.70% in P6 which were significantly different as compared to that of the control group ($P< 0.05$). Biochemical parameters such as the levels of total protein, albumin and lysozyme were increased, whereas the level of cortisol in *Artemia* was decreased. In addition, the highest levels of immune parameters of *Artemia* such as the immunoglobulin and phenol oxidase activity were observed in the P6 treatment with the amounts of 95.60±3.50and 167.76±16.16 percent, respectively. Other indicators such as the alanine aminotransferase and aspartate aminotransferase were lower in the treatments containing probiotic as compared to those of the control group indicating a positive effect of this probiotic on these parameters.

Keywords: Probiotic, *Lactobacillus plantarum*, *Artemia*, Biochemical indices, Immune parameters

*Corresponding author

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-22]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1396.26.6.15.2]