

مقایسه اثر جیره‌های حاوی پروبیوتیک‌های *Lactobacillus acidophilus* و *Pediococcus pentosaceus* بر شاخص‌های رشد، خون‌شناصی و ایمنی بچه ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

کمال اینانلو^۱، سهیل علی نژاد^{۲*}، عسگر زحمتکش^۱، باقر امینیان فتیده^۱

*soheilalinezhad47@gmail.com

- ۱- مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان گیلان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، ایران
- ۲- موسسه آموزش و ترویج کشاورزی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

تاریخ پذیرش: فروردین ۱۳۹۸

تاریخ دریافت: دی ۱۳۹۷

چکیده

مطالعه حاضر با هدف بررسی تأثیر دو باکتری لاکتوپاسیلوس اسیدوفیلوس و پدیوکوکوس پنتوساسئوس بر شاخص‌های خونی، ایمنی‌شناصی و رشد بچه ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) انجام شد. به این منظور تعداد ۱۸۰ عدد ماهی با وزن (S.D. $14\text{ gr} \pm 1/44$) در ۳ تیمار ذخیره‌سازی شدند. تیمار ۱: جیره تجاری حاوی پروبیوتیک *Lactobacillus acidophilus* $10^{10}\text{ CFU g}^{-1}$ و تیمار ۲: جیره تجاری حاوی پروبیوتیک *Pediococcus pentosaceus* $10^{10}\text{ CFU g}^{-1}$ و تیمار ۳: جیره تجاری بدون پروبیوتیک، به مدت ۶۰ روز مورد تعذیه قرار گرفتند. در پایان دوره آزمایش، تعداد ۱۵ ماهی از هر تیمار نمونه‌گیری و شاخص‌های رشد، خون‌شناصی و ایمنی اندازه‌گیری شد. بر اساس نتایج، درصد نوتروفیل و مونوцит، لایزوژیم و C_3 در تیمار ۱ به شکل معنی‌داری بیشتر از تیمارهای ۲ و ۳ بود. مقادیر هماتوکریت، گلبول قرمز خون، هموگلوبین، MCH و MCV در تیمار ۲ به شکل معنی‌داری بیشتر از سایر تیمارها بود. مقادیر MCHC و درصد لنفوцит در تیمار ۳ بیشترین مقدار را نشان داد. مقادیر IGM و C_4 در بین تیمارها تفاوت معنی‌دار آماری نشان ندادند. نتایج این مطالعه نشان داد که استفاده از جیره حاوی پروبیوتیک‌های *Pediococcus pentosaceus* و *Lactobacillus acidophilus* می‌تواند تاثیرات مثبتی بر فراسنجه‌های رشد، خون‌شناصی و ایمنی بچه ماهی کپور معمولی داشته باشد.

واژگان کلیدی:

کپور معمولی، پروبیوتیک، شاخص‌های خونی، ایمنی، رشد

*نویسنده مسئول

مقدمه

Pediococcus pentosaceus بر شاخص‌های رشد، خون‌شناختی و ایمنی بچه ماهیان کپور معمولی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها**محل مطالعه و شرایط آزمایشی**

در این آزمایش تعداد ۲۰۰ عدد بچه ماهی کپور معمولی با میانگین وزن $15 \pm 1/11$ گرم به منظور سازگاری، به مدت یک هفته با جیره غذایی شاهد تا حد سیری تغذیه شدند. سپس تعداد ۱۸۰ قطعه ماهی در ۹ مخزن فایبرگلاس (ظرفیت ۲۰۰۰ لیتر) به ۳ گروه (با ۳ تکرار) تفکیک شدند. در طول آزمایش متغیرهای کیفی آب اندازه‌گیری و ثبت شد. در طول پرورش دمای آب، اکسیژن محلول و pH به ترتیب $5/5$ - $24 - 24$ درجه سانتی گراد، $7/7 - 5/8$ میلی‌گرم بر لیتر و $8/0 - 1/8/9$ بود. منبع تامین آب کانال سد سنگ بود که پس از آبگیری استخراج خیره، از طریق پمپ دیگری، آب وارد مسیر لوله کشی شده به داخل مخازن منتقل شد. مخازن پس از شستشو و ضدعفونی به میزان ۱۰۰۰ لیتر آبگیری شدند، آب به صورت مداوم در جریان بود. مقدار روده آب هر یک از مخازن $7 - 14$ لیتر در دقیقه بود. وزن و طول بچه ماهیان آزمایشی با ترازوی دقیق $1/1$ گرم و تخته بیومتری با دقت 1 میلی‌متر در دو مرحله اندازه‌گیری شد. مرحله اول پس از سازگاری بچه ماهیان و مرحله بعدی در پایان دوره انجام شد.

تیمارهای آزمایشی

تیمار ۱ با استفاده از جیره تجاری حاوی $g. 10kg^{-1}$ *Lactobacillus acidophilus* $1/5$ $10^{10}CFU g^{-1}$ پروبیوتیک با کد PTCC1643 و تیمار ۲ با استفاده از جیره غذایی تجاری حاوی $(10^{10}CFU g^{-1})$ *Pediococcus pentosaceus* $1/5$ پروبیوتیک *JF831149* و تیمار ۳ یا شاهد با استفاده از غذای تجاری بدون پروبیوتیک، به مدت ۶۰ روز تغذیه شدند. پروبیوتیک‌های استفاده شده با کد و تعداد کلی مشخص

پروبیوتیک‌ها باکتری‌های مفیدی هستند که به طور مستقیم یا غیرمستقیم برای محافظت جانور میزبان در برابر باکتری‌های مضر عمل کرده و می‌توانند به طور مستقیم مکانیسم‌های دفاعی اولیه را از طریق اثر بر گیرنده‌ها و زن‌های مسئول فعل سازند (Wang, 2007) تحقیقات مختلفی تأثیر استفاده از پروبیوتیک‌ها را بر رشد و مقاومت ایمنی کپور ماهیان بخصوص ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) نشان داده‌اند (Gopalakannan & Arul, 2011; Giri et al., 2012; Weifen et al., 2012; Gupta et al., 2014; Mohapatra et al., 2014; Wu et al., 2015). همچنین در آزمایش‌های جداگانه، پروبیوتیک‌ها سبب بهبود میزان لایزوژیم، C_3 ، پروتئین کل سرم، آلبومین و گلوبولین و فعالیت فاگوسیتوزی گلوبول‌های سفید خون در گونه‌های مختلف کپور شدند (Chi et al., 2014; Das et al., 2013; Giri et al., 2012).

باکتری *Lactobacillus acidophilus* از خانواده لاکتوباسیل‌ها می‌باشد. این گونه بی‌هوایی اجباری و دارای متابولیسم تخمیری است که از طریق تخمیر قندها تولید انرژی می‌کند و حداقل نیمی از فراورده‌های آن اسید لاکتیک است. مصرف این باکتری در برخی آبزیان باعث بهبود رشد و تنظیم فاکتورهای خونی و سیستم ایمنی شده است (باقری و فارسانی، ۱۳۹۵). باکتری *Pediococcus pentosaceus* باکتری گرم مثبت، غیر متحرک، فاقد هاگ، بی‌هوایی و به شکل کروی است. محصول نهایی باکتری پدیوکوکوس پنتوساسئوس (ناشی از سوخت ساز بدن) اسید لاکتیک می‌باشد و بهمین جهت جزء باکتری‌های اسید لاکتیک طبقه بندی می‌شود. این باکتری دارای تاثیرات مثبت بر فاکتورهای رشد، فلور میکروبی روده، ترکیبات بدن و برخی شاخص‌های بیوشیمی، خون‌شناختی و ایمنی در تاس‌ماهی سیبری بوده است (مصلحی و همکاران، ۱۳۹۳).

در این تحقیق با توجه به اهمیت پروبیوتیک‌ها و نقش آنها در افزایش تولید و سطح ایمنی ماهیان، اثرات دو پروبیوتیک *Lactobacillus acidophilus* و

تجزیه و تحلیل آماری
داده‌ها با استفاده از نرمافزار SPSS 21 و آزمون‌های آماری کلموگروف-اسمیرنوف (آزمون نرمال بودن الگوی پراکنش داده‌ها) و نیز آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون بررسی وجود تفاوت بین گروه شاهد و تیمارها استفاده شد.

نتایج

شاخص‌های رشد بچه ماهیان

بر اساس نتایج حاصل از بیومتری بچه ماهی‌های کپور (جدول ۱)، بین تیمارهای مورد بررسی از نظر وزن اولیه اختلاف معنی‌دار آماری با گروه شاهد وجود نداشت ($p>0.05$ ، ولی وزن نهایی در پایان دوره پرورش اختلاف معنی‌دار آماری را نشان داد ($p<0.05$). تغییرات وزن نهایی بچه ماهیان کپور در تیمار باکتری لاکتوپاسیلیوس /سیدوفیلیوس دارای نتیجه بهتری نسبت به سایر تیمارها بود، اما ضریب رشد ویژه تحت تأثیر تیمارها قرار نگرفت.

شاخص‌های خون‌شناسی

بر اساس نتایج بدست آمده (شکل ۱.الف) تعداد گلbul قرمز خون در گروه شاهد به شکل معنی‌داری کمتر از تیمارهای تغذیه شده با پروبیوتیک‌های لاکتوپاسیلیوس /سیدوفیلیوس و پدیوکوکوس پنتوسائیوس بود ($p<0.05$). همچنین مقدار هموگلوبین در گروه شاهد نسبت به تیمارهای تغذیه شده با پروبیوتیک‌های لاکتوپاسیلیوس /سیدوفیلیوس و پدیوکوکوس پنتوسائیوس کمتر بود ($p<0.05$). مقدار هماتوکریت نیز در هر سه تیمار به شکل معنی‌داری با یکدیگر متفاوت بودند ($p<0.05$) بطوريکه تیمار پدیوکوکوس پنتوسائیوس دارای بیشترین مقدار هماتوکریت بود (شکل ۱.ج). مقدار MCV نیز در تیمارها متفاوت بود ($p<0.05$). در گروه شاهد کمترین مقدار و در تیمار پروبیوتیک پدیوکوکوس پنتوسائیوس بیشترین مقدار مشاهده شد (شکل ۱.الف).

شده، از موسسه تحقیقات بین‌المللی تاس‌ماهیان دریایی خزر تهیه شدند.

برای تغذیه بچه ماهیان از غذای پلت SFC با قطر ۲ میلی متر محصول کارخانه فرداخه، نمایندگی استان گیلان استفاده گردید. ترکیب شیمیایی خوراک بر اساس جدول مشخصات خوراک اکسترود ماهی کپور به شرح ذیل بود: پروتئین خام، ۴۸-۴۱٪، چربی خام، ۴-۸٪، فیبر، ۳-۶٪، خاکستر، ۷-۱۱٪، رطوبت، ۱۱-۱۵٪ و فسفر، ۰.۵٪ بود.

این خوراک بدون هیچ گونه ماده افزودنی از نوع پروپیوتیک، به صورت دستی و در ساعات ۸، ۱۲ و ۱۶ تا حد سیری در اختیار بچه ماهیان قرار گرفت.

فراسنجه‌های مورد اندازه‌گیری

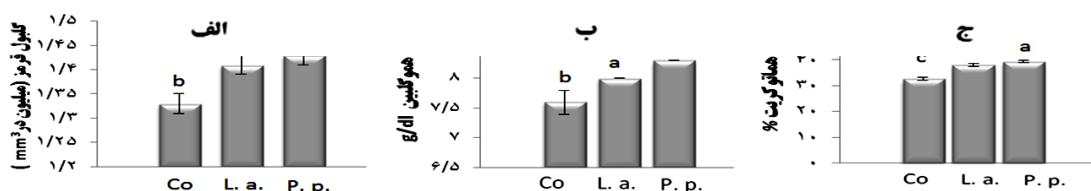
در پایان دوره آزمایش، تعداد ۱۵ ماهی از هر تیمار نمونه‌گیری و شاخص‌های رشد، خون‌شناسی و ایمنی اندازه‌گیری شد. پس از بی‌هوش نمودن ماهیان با گل میخک با دوز ۲۵۰ ppm، خون‌گیری از سیاهرگ وریدی انتهایی باله ماهیان انجام شد. ۰/۵ میلی‌لیتر خون در سرنگ ۲ میلی‌لیتری هپارینه جهت بررسی‌های خون‌شناسی برداشت و در ظروف اپندورف نگهداری شد. شاخص‌های رشد اندازه‌گیری شده شامل وزن اولیه، وزن نهایی، تغییرات افزایش وزن بر حسب گرم و ضریب رشد ویژه بر حسب درصد در روز بود. فاکتورهای خون‌شناسی شامل هماتوکریت (Rehulkka, 2000)، میزان گلbul‌های Blaxhall and سفید و میزان گلbul‌های قرمز (Drabkin, 1954)، مقدار هموگلوبین (Daisley, 1973) میانگین حجم یک گلbul قرمز (MCV)، میانگین هموگلوبین یک گلbul قرمز (MCH)، میانگین درصد غلظت هموگلوبین در یک گلbul قرمز (MCHC) (Klinger et al., 1996) تعیین شدند. فاکتورهای ایمنی خون شامل کمپلمان‌های C_3 و C_4 (Chi et al., 2014) (Thomas, 1998) (IgM آزمون، تحت لیسانس بلژیک، H912 Eurolyser: ELISA) (Giri et al., 2012) میزان فعالیت لایزوژیم (reader) بودند.

جدول ۱: تأثیر پروبیوتیک‌های (Co.) *Pediococcus pentosaceus* (P. p.) و *Lactobacillus acidophilus* (L. a.) در مقایسه با تیمار شاهد (Co.)
بر فراسنجه‌های رشد بچه ماهیان کپور معمولی

Table 1: Effect of *Lactobacillus acidophilus* (L. a.) and *Pediococcus pentosaceus* (P. p.), compared with control group on growth parameters of juvenile common carp (*Cyprinus carpio*).

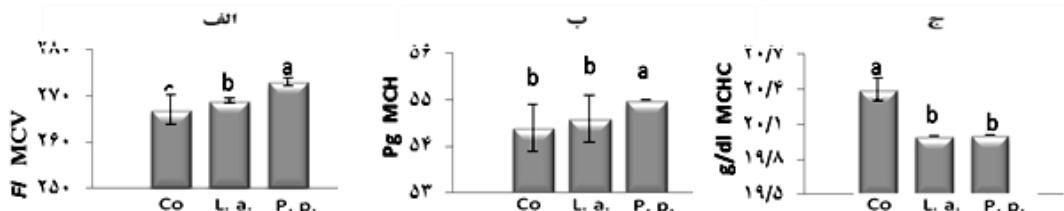
	<i>P. p</i>	<i>L. a</i>	<i>Co</i>	تیمارها
	۱۳/۲۷ ± ۰/۸۸	۱۴/۷۸ ± ۰/۶۶	۱۴/۰۷ ± ۰/۸۱	وزن اولیه (gr)
	۷۷/۰۲ ± ۱/۲۳ ^a	۸۴/۲۳ ± ۲/۱۵ ^b	۷۷/۱۵ ± ۱/۶۲ ^a	وزن نهایی (gr)
	۶۴/۷۵ ± ۱/۳۱ ^{ab}	۶۹/۵۵ ± ۲/۲۵ ^c	۶۸/۰۸ ± ۲/۲۴ ^a	تغییرات افزایش وزن (gr)
	۲/۷۷ ± ۰/۰۹۹	۲/۷۲ ± ۰/۱۱	۲/۶۶ ± ۰/۱۲	ضریب رشد ویژه (% در روز)

حروف متفاوت در هر ریف، نشان‌دهنده اختلاف معنی دار آماری می‌باشد ($p<0.05$).



شکل ۱: تأثیر پروبیوتیک‌های (L. a.) و *Pediococcus pentosaceus* (P. p.) در مقایسه با تیمار شاهد (Co.) بر تعداد گلبول قرمز خون (الف)، مقدار هموگلوبین (ب) و هماتوکربیت (ج) بچه ماهیان کپور معمولی. حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی دار آماری اند ($p<0.05$).

Figure 1: Effect of *Lactobacillus acidophilus* (L. a.) and *Pediococcus pentosaceus* (P. p.), compared with control group on RBC (a), Hemoglobin content (b) and Hematocrit (c) of juvenile common carp (*Cyprinus carpio*). Different letters indicate a significant difference ($p<0.05$).



شکل ۲: تأثیر پروبیوتیک‌های (L. a.) و *Pediococcus pentosaceus* (P. p.) در مقایسه با تیمار شاهد (Co.) بر MCV (الگ) (a)، میانگین هموگلوبین یک گلبول قرمز (b) و MCHC (c): میانگین درصد غلظت هموگلوبین در یک گلبول قرمز (ج) بچه ماهیان کپور معمولی. حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی دار آماری اند ($p<0.05$).

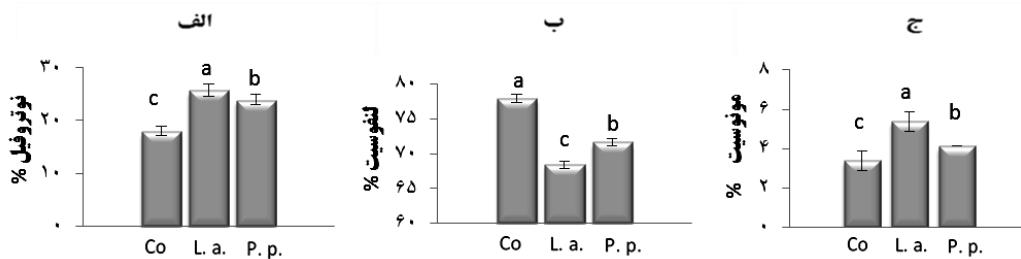
Figure 1: Effect of *Lactobacillus acidophilus* (L. a.) and *Pediococcus pentosaceus* (P. p.), compared with control group on MCV (a), MCH (b) and MCHC (c) of juvenile common carp (*Cyprinus carpio*). Different letters indicate a significant difference ($p<0.05$).

شاخص‌های ایمنی خون
 گلبول‌های سفید نیز تحت تأثیر تیمارهای خوراکی قرار گرفتند. مقدار گلبول‌های سفید در سه تیمار اختلاف معنی داری داشت، اما الگوی تغییرات در این سه نوع سلول متفاوت بود. درصد نوتوفیل و مونوسیت در تیمار تغذیه شده با پروبیوتیک لاکتوپاسیلوس/اسیدوفیلوس دارای

مقدار MCH نیز در تیمار تغذیه شده با پروبیوتیک پدیوکوکوس پنتوسائسوس بیشترین مقدار را نشان داد (شکل ۲، ب) و تفاوت معنی داری با دو تیمار دیگر داشت ($p<0.05$). بر اساس نتایج بدست آمده (شکل ۲، ج)، مقدار MCHC در تیمار شاهد به شکل معنی داری بیشتر از تیمارهای تغذیه شده با پروبیوتیک بود ($p<0.05$).

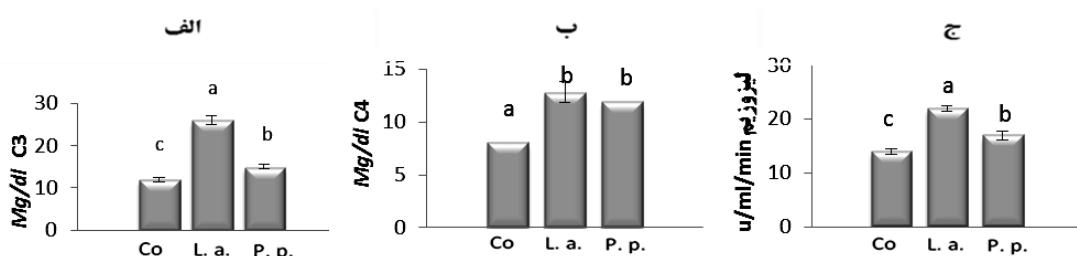
افزایش معنی داری نیز در میزان C₄ در تیمارها با گروه مشاهد مشاهده شد. اما بین دو تیمار پروربیوتیک تفاوت معنی داری مشاهده نشد ($p < 0.05$ ، شکل ۴. ب). مقدار IgM در گروه تیمار ۱ و ۲ بیشتر از گروه مشاهد بود، اما تفاوت های مشاهده شده، معنی دار نبود ($p > 0.05$).

بیشترین مقادیر نوتروفیل در خون بود ($p < 0.05$ ، شکل ۳.الف و ج). اما مقدار لنفوسیت در تیمار مشاهد، بیشتر از دو تیمار دیگر بود ($p < 0.05$ ، شکل ۳. ب). مقدار C₃ و لایزو زیم در تیمار تغذیه شده با پروربیوتیک لاکتوباسیلوس / اسیدوفیلوس به شکل معنی داری از دو تیمار دیگر بیشتر بود ($p < 0.05$ ، شکل ۴. الف و ج).



شکل ۳: تأثیر پروربیوتیک های *Pediococcus pentosaceus* (P. p.) و *Lactobacillus acidophilus* (L. a.) در مقایسه با تیمار مشاهد (Co.) بر درصد نوتروفیل (الف)، لنفوسیت (ب) و مونوسیت (ج) بچه ماهیان کپور معمولی. حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی دار آماری اند ($p < 0.05$).

Figure 3: Effect of *Lactobacillus acidophilus* (L. a.) and *Pediococcus pentosaceus* (P. p.), compared with control group on neutrophils (a), Lymphocyte (b) and monocytes (c) of juvenile common carp (*Cyprinus carpio*). Different letters indicate a significant difference ($p < 0.05$).



شکل ۴: تأثیر پروربیوتیک های *Pediococcus pentosaceus* (P. p.) و *Lactobacillus acidophilus* (L. a.) در مقایسه با تیمار مشاهد (Co.) بر C₃ (الف)، C₄ (ب) و لایزو زیم (ج) بچه ماهیان کپور معمولی. حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی دار آماری اند ($p < 0.05$).

Figure 4: Effect of *Lactobacillus acidophilus* (L. a.) and *Pediococcus pentosaceus* (P. p.), compared with control group on C3 (a), C4 (b) and Lysozyme (c) of juvenile common carp (*Cyprinus carpio*). Different letters indicate a significant difference ($p < 0.05$).

Chi *et al.*, 2014؛ کاهش و رومیانی، ۱۳۹۶؛ Wu *et al.*, 2015 نتایج حاصل از آنالیز آماری داده های این تحقیق نشان داد که استفاده از پروربیوتیک های لاکتوباسیلوس / اسیدوفیلوس و پدیوکوکوس پنتوسائسوس تأثیر معنی داری بر فاکتور های رشد و نیز تعداد زیادی از

بحث

در سال های اخیر استفاده از پروربیوتیک ها به دلیل تأثیر مثبت بر تعادل میکروبی روده، هضم و جذب بهتر مواد غذایی در دستگاه گوارش و بهره وری بیشتر از مواد غذایی رواج یافته است که حاصل آن کاهش هزینه و افزایش درآمد در مراکز آبزی پروری بوده است (چوبکار و همکاران،

فاکتورهای خون‌شناسی و اینمی بچه ماهی کپور معمولی داشت.

شاخص‌های خون‌شناسی
افزایش سطح فاکتورهای خون‌شناسی می‌تواند به عنوان شاخصی جهت بهبود سیستم ایمنی و توان زنده‌مانی ماهی کپور معمولی به دنبال تغذیه با جیره حاوی پروبیوتیک باشد (Talas & Gulhan, 2009). در مطالعه حاضر دیده شد که تعداد گلوبول قرمز خون، Hb (MCV) و هماتوکریت، مقدار حجم یک گلوبول قرمز (MCH) و میانگین هموگلوبین یک گلوبول قرمز (MCHC) در بچه ماهیان تغذیه‌شده با پروبیوتیک /اسیدوفیلوس و پنتوسائیوس، افزایش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد داشته است. در بین دو تیمار، پدیوکوکوس پنتوسائیوس تأثیر بیشتری داشت. میانگین درصد غلظت هموگلوبین در یک گلوبول قرمز (MCHC)، در تیمار شاهد به طور معنی‌داری بیشتر از دو تیمار پروبیوتیک بود.

در یک تحقیق اثر مخلوط دو پروبیوتیک تجاری *B. licheniformis* و *B. subtilis* بر شاخص‌های خونی و اینمی ماهی کپور معمولی مورد بررسی قرار گرفت و نتایج اثر مثبت این پروبیوتیک‌ها را بر غلظت هموگلوبین، هماتوکریت، تعداد گلوبول‌های سفید و قرمز و سطح لایزوژن نشان داد (خالقی و همکاران, 1397). در تحقیق باقری و فارسانی (1395) بر ماهی سورم طلای *Heros severus*، جیره حاوی پروبیوتیک لاکتوباسیلوس /اسیدوفیلوس دارای سطح بیشتری از میزان هماتوکریت، هموگلوبین و تعداد گلوبول قرمز را نشان داد. افزایش غلظت گلوبول قرمز، باعث بالا رفتن قابلیت جذب اکسیژن از آبتشش می‌شود که به دنبال آن افزایش انتشار اکسیژن در بافت‌ها را شاهد خواهیم بود (حسینی و همکاران, 1393). میزان کمتر هموگلوبین و به دنبال آن کاهش ظرفیت حمل اکسیژن، ممکن است منجر به کاهش سطح اکسیژن خون در ماهیان گروه شاهد شد. در نتیجه، احتمالاً این گروه توانایی محدودتری در تأمین اکسیژن برای بافت‌ها در شرایط تنفس داشته باشدند.

شاخص‌های اینمی

اولین سد دفاعی در برابر عوامل بیماری‌زا گلوبول‌های سفید خون هستند. نسبت گلوبول‌های سفید خون نشان‌دهنده

شاخص‌های رشد بچه ماهیان در تحقیق حاضر، هر دو پروبیوتیک تأثیر معنی‌داری بر شاخص‌های رشد بچه ماهی کپور معمولی داشتند. اما تأثیر باکتری پدیوکوکوس پنتوسائیوس بر این شاخص‌ها کمتر از پروبیوتیک لاکتوباسیلوس /اسیدوفیلوس بود. در تحقیقات تیموریان و همکاران (1395)، نیز تأثیر پروبیوتیک لاکتوباسیلوس /اسیدوفیلوس روی شاخص‌های رشد و بهبود فراستوجه‌های رشد ماهی کویی گزارش شده است. بر اساس نتایج تحقیق مصلحی و همکاران (1393)، نیز استفاده از پروبیوتیک پدیوکوکوس پنتوسائیوس باعث بهبود معنی‌داری در شاخص‌های ضریب تبدیل غذایی، نرخ کارایی پروتئین، رشد ویژه و درصد افزایش وزن بدن تا ماهی سیبری گردید. باعثی و همکاران (1395) و Noh و همکاران (1994) اثر مثبت لاکتوباسیلوس‌ها و استرپتوكوکوس‌های پروبیوتیکی تجاری را بر فراستوجه‌های رشد، بقاء و شاخص‌های تغذیه‌ای ماهی کپور معمولی گزارش نمودند.

تحقیقات نشان داده‌اند که پروبیوتیک‌ها می‌توانند با افزایش اشتها، بهبود سطح تغذیه، تولید ویتامین‌ها و ترکیبات سمزدا در جیره، باعث افزایش رشد شوند (Irianto & Austin, 2002). برخی پروبیوتیک‌ها دارای آنزیم‌های خارج سلولی از جمله آمیلاز، لیپاز و پروتئاز بوده و برخی از اثرات خود بر شاخص‌های رشد ماهیان را از طریق تأثیر موضعی این آنزیم‌ها در دستگاه گوارش میزبان القاء می‌کنند (Bairagi *et al.*, 2002). همچنین در تحقیقاتی که بر لاروهای آبزیان انجام شده است، پروبیوتیک‌ها از طریق تحریک اشتها یا با افزایش متabolism میکروبی، سبب ارتقاء سطح تغذیه توسط میزبان شده‌اند. این باکتری‌ها احتمالاً در میزبان‌های بالغ نیز توانایی ایجاد چنین اثری را دارند (Austin, 2002).

شاخص‌های اینمنی بچه ماهیان کپور معمولی و کپور علفخوار (*Ctenopharyngodon idellus*) بررسی شد، علاوه بر تأثیر مثبت پروبیوتیک‌ها بر شاخص‌های اینمنی و مقاومت ماهی‌ها در برابر بیماری‌ها، بیان ژن‌های مرتبط با اینمنی نیز افزایش یافت (Chi *et al.*, 2014, Wu *et al.*, 2014, 2015).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این تحقیق نشان داد که جیره غذایی حاوی پروبیوتیک‌ها می‌تواند یکی از راهکارهای موثر برای حفظ سلامت آبزیان پرورشی و افزایش مقاومت آنها به استرس و عوامل بیماری‌زا از طریق بهبود عملکرد اینمنی میزان باشد. این مطالعه نشان داد که استفاده از جیره حاوی پروبیوتیک‌های لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس و پدیوکوکوس پنتوسائئوس می‌تواند دارای تاثیرات مثبتی بر فراسنجه‌های رشد، خون‌شناسی و اینمنی ماهی کپور معمولی باشد و طبق نتایج به دست آمده، تأثیر لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس بیشتر از پروبیوتیک دیگر است.

منابع

- اسدی خمامی، س.، مورکی، ن. و ولیپور، ع.. ۱۳۹۶. تأثیر پروبیوتیک *Pediococcus acidilactici* بر رشد و شاخص‌های خونی بچه ماهی سیم *Abramis brama orientalis*. علوم و فنون شیلات، ۶(۱): ۱-۱۲.
- باعثی، ف.، آبرومند، ع.، ضیایی نژاد، س. و جواهری بابلی، م.. ۱۳۹۵. تأثیر لاکتوباسیل‌های پروبیوتیکی تجاری بر پارامترهای رشد، بقاء و شاخص‌های تغذیه‌ای ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). نشریه توسعه آبزی پروری، ۱۰(۴): ۴۹-۳۹.
- باقری، ط. و فارسانی، ح.. ۱۳۹۵. اثر پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس بر شاخص‌های رشد و کارایی تغذیه، خون‌شناسی و فعالیت آنزیم‌های گوارشی ماهی سورم طلایی. پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی، ۴(۲): ۹۵-۱۰۵.

میزان تأثیر و نحوه عملکرد سلول‌ها در سیستم اینمنی است. در این پژوهش سلول‌های اینمنی تحت تأثیر تیمار پروبیوتیک قرار گرفتند. درصد منوسيت‌ها و نوتروفیل‌ها در تیمارهای پروبیوتیک نسبت به شاهد به طور معنی‌داری بیشتر بود.

به طور کلی، لنفوسيت‌ها تأثیر بسزایی در سیستم اینمنی غیر اختصاصی دارند. در تعداد زیادی از مطالعات انجام شده، پروبیوتیک‌ها سبب افزایش درصد لنفوسيت‌ها شده‌اند (Nayak, 2010). در برخی تحقیقات دیگر مانند نتایج این تحقیق، استفاده از پروبیوتیک‌ها سبب کاهش درصد لنفوسيت‌ها در گونه‌های مختلف ماهیان شده (اسدی خمامی و همکاران، ۱۳۹۶، شیخ‌ویسی و همکاران، ۱۳۹۶) و تأثیر معنی‌داری بر این نوع گلبول سفید نداشته‌اند (Merrifield *et al.*, 2009). در تحقیق حاضر، نتایج در خصوص کاهش میزان لنفوسيت‌ها با بسیاری از تحقیقات متفاوت بود و برای تحلیل این نتایج، نیاز به مطالعات ایمونولوژیک دقیق‌تری با استفاده از در معرض قرارگیری ماهی در برابر عوامل بیماری‌زا احساس می‌شود.

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که میزان C_3 در گروه تغذیه شده با پروبیوتیک لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس دارای بیشترین مقدار بود. این نتیجه بیانگر تأثیر نسبی و مثبت پروبیوتیک لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس بر فعالیت کمپلمان‌های کپور معمولی است. همچنین نتایج تحقیق حاضر نشان‌دهنده تأثیر مثبت پروبیوتیک‌های مورداستفاده، بر مقادیر لایزوژیم بود. در عین حال مقدار این متغیر در تیمار تغذیه‌شده به پروبیوتیک لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس به شکل معنی‌داری بیشتر از تیمار شاهد و تغذیه شده با پروبیوتیک پدیوکوکوس پنتوسائئوس بود. تأثیر کمتر پروبیوتیک پدیوکوکوس پنتوسائئوس بر افزایش لایزوژیم همoral در تحقیق مصلحی و همکاران (۱۳۹۳) نیز گزارش شده است. لایزوژیم در گلبول‌های سفید تولید می‌شود و کمتر تولید شدن این عامل دفعای در تیمار مورد تغذیه با پدیوکوکوس پنتوسائئوس می‌تواند به دلیل تأثیر تحریکی کمتر این پروبیوتیک بر سیستم اینمنی بچه ماهیان کپور معمولی باشد. در دو تحقیق جداگانه که اثر مخلوط پروبیوتیک‌های مخلوط بر

- مصلحی، ف.، ستاری، م.، خوش‌خلق، م.، شناور ماسوله، ع. و عباسعلی‌زاده، ع.، ۱۳۹۲. اثر پروبیوتیک پدیوکوکوس *Pediococcus pentosaceus* بر عوامل رشد و ایمنی تاس‌ماهی سibirی (*Acipenser baerii*). علوم و فنون شیلات، ۳(۴): ۸۱-۹۲.
- Bairagi, A., Ghosh, K.S., Sen, S.K. and Ray, A.K., 2002.** Enzyme producing bacterial flora isolated from fish digestive tracts. *Aquaculture International*, 10: 109–121. DOI: 10.1023/A:1021355406412
- Blaxhall, P.C. and Daisley, K.W., 1973.** Routine hematological methods for use with fish blood. *Journal of Fish Biology*, (5): 771-781. DOI: 10.1111/j.1095-8649.1973.tb04510.x
- Chi, C., Jiang, B., Yu, X.B., Liu, T.Q., Xia, L. and Wang, G.X., 2014.** Effects of three strains of intestinal autochthonous bacteria and their extracellular products on the immune response and disease resistance of common carp, *Cyprinus carpio*. *Fish and Shellfish Immunology*, 36: 9–18. DOI: 10.1016/j.fsi.2013.10.003
- Das, A., Nakhro, K., Chowdhury, S. and Kamilya, D., 2013.** Effects of potential probiotic *Bacillus amyloliquifaciens* FPTB16 on systemic and cutaneous mucosal immune responses and disease resistance of catla (*Catla catla*). *Fish and Shellfish Immunology*, 35: 1547–1553. DOI: 10.1016/j.fsi.2013.08.022
- Drabkin, D.L., 1945.** Crystallographic and optical properties of human Hemoglobin-a proposal for the standardation of Hemoglobin. *American Journal of the Medical Sciences*, 2: 268-270.
- تیموریان، ب. س.، شعیبی عمرانی، ب. و شناور ماسوله، ع.، ۱۳۹۵. تأثیر پروبیوتیک لاکتوباسیلوس *Lactobacillus acidophilus* بر اسیدوفیلوس *Lactobacillus acidophilus* بر شاخص‌های رشد ماهی کویی. پایان‌نامه دکتری، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج. چوبکارن، کاکولکی ش.، صحرایی ف.، آقاجانی ع.، رضایی منش. م. و محمدی ف.، ۱۳۹۷. بررسی تأثیر غذای غنی شده با پروبیوتیک بر فرآیندهای رشد ماهی پرورشی قزل‌آلای رنگین کمان. مجله علمی شیلات ایران، ۲۷(۵): ۱۱۵-۱۲۴. DOI: 10.22092/ISFJ.2019.118089
- حسینی، ع.، اورجی، ح.، یگانه، س. و شهابی، ح.، ۱۳۹۳. تأثیر پروبیوتیک پدیوکوکوس اسیدی لاکتیسی روی رشد، فاکتورهای خونی و سرمی در ماهی آزاد دریای خزر. مجله علمی شیلات ایران، ۲۷(۵): ۱۱۵-۱۲۴. DOI: 10.22092/ISFJ.2014.103691
- خالقی، م.، سلطانی، م. و حسینی شکرابی، پ.، ۱۳۹۷. اثر افروندن مخلوط پروبیوتیک *Bacillus licheniformis* و *Bacillus subtilis* (دی پرو آکوا) به جیره غذایی بر برخی شاخص‌های رشد، خونی و ایمنی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) زیست‌شناسی دریا، ۱۰(۲): ۱۱-۲۰. DOI: 10.22092/ISFJ.2014.103691
- شیخ‌ویسی، ر.، باقری، ط.، سنجولی، ح. و هدایتی، س. ع.، ۱۳۹۶. اثرات سطوح مختلف پروبیوتیک *Lactobacillus casei* و نانوذرات نقره بر شاخص‌های رشد و ترکیب لاشه بچه ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). نشریه علمی پژوهشی فیزیولوژی و بیوتکنولوژی آبزیان، ۴(۵): ۸۲-۹۳. DOI: 10.22124/JAPB.2018.6377.1122
- کاهکش. م. و رومیانی ل.، ۱۳۹۶. تأثیر خوارکی لاکتوباسیلوس کازئی و سطوح مختلف ایمونوژن بر عملکرد فاکتورهای ایمنی و خونی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). مجله علمی شیلات ایران، ۲۷(۵): ۱۳۹-۱۵۰. DOI: 10.22092/ISFJ.2018.115841

- Giri, S.S., Sen, S.S. and Sukumaran, V., 2012.** Effects of dietary supplementation of potential probiotic *Pseudomonas aeruginosa* VSG-2 on the innate immunity and disease resistance of tropical freshwater fish, *Labeo rohita*. *Fish and Shellfish Immunology*, 32: 1135–1140. DOI: 10.1016/j.fsi.2012.03.019
- Gopalakannan, A. and Arul, V., 2011.** Inhibitory activity of probiotic *Enterococcus faecium* MC13 against confers protection against hemorrhagic septicemia in common carp. *Aquaculture International*, 19(5):973-985. DOI: 10.1007/s10499-011-9415-2
- Gupta, A., Gupta, P. and Dhawan, A., 2014.** Dietary supplementation of probiotics affects growth, immune response and disease resistance of *Cyprinus carpio* fry. *Fish and Shellfish Immunology*, 41: 113–119. DOI: 10.1016/j.fsi.2014.08.023
- Irianto, A. and Austin, B., 2002.** Use of probiotics to control furunculosis in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Journal of Fish Diseases*, 25: 333-342. DOI: 10.1046/j.1365-2761.2002.00375.x
- Klinger, R.C., Blazer, V.S. and Echevarria, C., 1996.** Effects of dietary lipid on the hematology of channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *Aquaculture*, 147(3-4), 225-233. DOI: 10.1016/S0044-8486(96)01410-X
- Merrifield, D.L., Dimitroglou, A., Bradley, G., Baker, R.T.M. and Davies, S.J., 2009.** Probiotic applications for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss walbaum*) I. Effects on growth performance, feed utilization, intestinal microbiota and related health criteria. *Aquaculture Nutrition*, 10: 1365-2095. DOI: 10.1111/j.1365-2095.2009.00689.x
- Mohapatra, S., Chakraborty, T., Prusty, A.K., PaniPrasad, K. and Mohanta, K.N., 2014.** Beneficial effects of dietary probiotics mixture on hemato-immunology and cell apoptosis of *Labeo rohita* fingerlings reared at higher water temperatures. *PLoS ONE*, 9(6): e100929. DOI: 10.1371/journal.pone.0100929
- 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
- Noh, S.H.; Han, K.; Won, T.H. and Choi, Y.J., 1994.** Effect of antibiotics, enzyme, yeast culture and probiotics on growth performance of carp. *Korean Journal of Animal Science*, 36: 480-486.
- Rehulká, J., 2000.** Influence of astaxanthin on growth rate, condition and some blood indices of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 190: 27-47. DOI: 10.1016/S0044-8486(00)00383-5
- Talas, Z. S. and Gulhan, M. F., 2009.** Effects of various propolis concentrations on biochemical and hematological parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72: 1994-1998. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2009.04.011
- Thomas, L., 1998.** Clinical laboratory diagnostics: Use and assessment of clinical

laboratory results. TH-Books,
Verlagsgesellschaft.

Wang, Y. B., 2007. Effect of probiotics on growth performance and digestive enzyme activity of the shrimp *Penaeus vannamei*. *Aquaculture* 269: 259-264. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2007.05.035

Weifen, L., Xiaoping, Z., Wenhui, S., Bin, D., Quan, L., Luoqin, F. and Dongyou, Y., 2012. Effects of Bacillus preparations on immunity and antioxidant activities in grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 38: 1585–1592. DOI: 10.1007/s10695-012-9652-y

Wu, Z.Q., Jiang, C., Ling, F. and Wang, G.X., 2015. Effects of dietary supplementation of intestinal autochthonous bacteria on the innate immunity and disease resistance of grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*). *Aquaculture*, 438: 105–114. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2014.12.041

Comparison of diets containing *Lactobacillus acidophilus* and *Pediococcus pentosaceus* on growth, hematological and immunological characteristics in juvenile common carp (*Cyprinus carpio*)

Inanloo K.¹; Alinezhad S.^{*2}; Zahmatkesh A.¹; Aminian Fatideh B.¹

^{*}soheilalinezhad47@gmail.com

1-Gilan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Rasht, Iran.

2- Institute of Agricultural Education and Extension, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran

Abstract

The aim of this study was to evaluate the effect of *Lactobacillus acidophilus* and *Pediococcus pentosaceus* on hematological, immunological and growth parameters of common carp (*Cyprinus carpio*). 180 carp weighted 14 ± 1.44 g were distributed in three treatments. Treatment 1: commercial diets with *Lactobacillus acidophilus* $1.5\text{g}/10\text{Kg}$ (10^{10}CFUg-1), treatment 2: *Pediococcus pentosaceus* $1.5\text{g}/10\text{Kg}$ (10^{10}CFUg-1) and treatment 3: commercial diets without probiotic diet were fed for 60 days. At the end of the experiment, 15 fish from each treatment were collected, hematological, immunological and growth parameters were measured. Based on the results, weight gain, neutrophil and monocyte percentages, lysozyme activity and C3 content in treatments 2 and 3 were significantly higher than control. Hematocrit, RBC, hemoglobin, MCV, MCH in treatment 2 were significantly higher than other treatments. MCHC and lymphocyte percentage showed the highest values in treatment 3. There was no significant difference between IgM and C4 levels between treatments. The results of this study showed that the use of *L. acidophilus* and *P. pentosaceus* probiotics have positive effects on the growth parameters, hematological and immunological parameters of juvenile common carp.

Keywords: Common carp, Probiotic, Hematological, Immunological, Growth parameters

^{*}Corresponding author