



## مقاله علمی - پژوهشی:

## اثرات پروپیوتنیک *Lactobacillus casei* بر شاخص‌های رشد، پارامترهای خون‌شناسی و فلور میکروبی روده در بچه‌ماهیان قرمز (*Carassius auratus*)

سعید تمدنی جهرمی<sup>۱</sup>، علی صادقی<sup>۲</sup>، بهزاد سروی<sup>۳</sup>، سجاد پور مظفر<sup>۳\*</sup>

\*Sajjad5550@gmail.com

۱-پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بندرعباس، ایران

۲-گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گلستان، گرگان، ایران

۳-ایستگاه تحقیقات نرمندان خلیج فارس، پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بندرلنگه، ایران

تاریخ دریافت: خرداد ۱۴۰۱ تاریخ پذیرش: شهریور ۱۴۰۱

## چکیده

پروپیوتنیک *Lactobacillus casei* یکی از پروپیوتنیک‌هایی است که در تغذیه آبزیان مورد استفاده قرار می‌گیرد. هدف از این مطالعه، بررسی اثر پروپیوتنیک *L. casei* بر عملکرد رشد، پارامترهای خونی و فلور میکروبی روده در ماهی قرمز (*Carassius auratus*) به مدت ۶۰ روز بود. در این مطالعه تعداد ۱۸۰ قطعه ماهی با میانگین وزنی  $10.11 \pm 0.16$  در یک طرح کاملاً تصادفی به ۲ تیمار آزمایشی و ۳ تکرار (۳۰ قطعه در هر تکرار) که شامل جیره تجاری (تیمار شاهد) و جیره حاوی  $10^7$  CFU/g پروپیوتنیک *L. casei* (تیمار آزمایش) بود، تقسیم شدند. نتایج آزمایش نشان داد که وزن نهایی، افزایش وزن، نرخ رشد ویژه و شاخص وضعیت در تیمار حاوی پروپیوتنیک *L. casei* افزایش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد داشته است ( $p < 0.05$ ). همچنین بر اساس نتایج بدست آمده، افزودن پروپیوتنیک *L. casei* به جیره غذایی ماهی قرمز باعث افزایش تعداد گلوبول‌های سفید در مقایسه با گروه شاهد شد. همچنین نتایج نشان داد که تعداد کل باکتری‌ها و باکتری‌های اسید لاتکتیک روده در تیمار حاوی پروپیوتنیک *L. casei* افزایش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد داشته است ( $p < 0.05$ ). بنابراین، افزودن پروپیوتنیک *L. casei* به جیره غذایی ماهی قرمز (*C. auratus*) موجب بهبود رشد و افزایش تعداد باکتری‌های اسید لاتکتیک در این ماهی شد.

**کلمات کلیدی:** ماهی قرمز، پروپیوتنیک *Lactobacillus casei*. پارامترهای رشد، شاخص‌های خونی، فلور میکروبی روده

## مقدمه

(Flint and Garner, 2009). انتخاب پروبیوتیک مناسب بسیار ضروری است، زیرا میکروارگانیسم‌های نامناسب اثرات ناخواسته‌ای را در میزان بهجا می‌گذارند (Alavinezhad *et al.*, 2020). لاكتوباسیلوس‌ها بیشترین میکروارگانیسم‌هایی هستند که به عنوان پروبیوتیک مورد استفاده قرار می‌گیرند (Romn *et al.*, 2012). استفاده از این پروبیوتیک در ماهی شیربت (*Tor grypus*) (Mohammadian *et al.*, 2020) و گورخری (*Danio rerio*) (Qin *et al.*, 2018) منجر به بهبود پاسخ‌های ایمنی و افزایش مقاومت در عوامل بیماری‌زا شد.

ماهی قرمز (*C. auratus*) از خانواده کپور ماهیان (Cyprinidae) بوده و به لحاظ شرایط زیستی و تغذیه‌ای شبیه کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) است. این گونه بومی شرق آسیاست که برای نخستین بار اواخر قرن هفدهم به اروپا وارد شد. بخشی از شهرت ماهی قرمز به مقاومت این گونه بر می‌گردد. ماهی قرمز می‌تواند به عنوان یک گونه مناسب جهت مدل سازی در مطالعات تغذیه‌ای، تولید مثلی و فیزیولوژیک مورد استفاده قرار گیرد (Mimeault *et al.*, 2005).

این پژوهش به منظور بررسی تاثیر پروبیوتیک *Lactobacillus casei* بر شاخص‌های رشد، پارامترهای خونی و فلور میکروبی روده در بچه ماهی قرمز (*C. auratus*) است.

## مواد و روش‌ها

### سویه باکتری مورد استفاده

پروبیوتیک مورد استفاده در این تحقیق *Lactobacillus casei* یک سویه بومی از خانواده لاكتوباسیلوس‌ها (گرم مثبت) بود که از روده ماهی کپور معمولی جداسازی شده بود (Dash *et al.*, 2015) و به صورت لیوفیلیزه مورد استفاده قرار گرفت.

### آماده‌سازی سوسپانسیون باکتریایی

به منظور احیاء پروبیوتیک *L. casei* از حالت لیوفیلیز، از محیط کشت MRS broth استفاده و پس از تلقیح باکتری به مدت ۲۴ ساعت در دستگاه آون با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از رشد باکتری، برای حذف محیط کشت

در حال حاضر، با توجه به روند روز افزون جمعیت جهان یکی از معضلات اساسی جوامع بشری فراهم نمودن غذا و منابع پروتئینی برای جمعیت رو به رشد کره زمین است (FAO, 2002). آبزی پروری به عنوان یک راهکار اساسی، می‌تواند از طریق تامین پروتئین مورد نیاز انسان، نقش مهمی را در این زمینه ایفاء کند. در صنعت آبزی پروری هزینه‌های خوراک به طور معمول ۳۰–۷۰ درصد از کل عملیات پرورش ماهی را شامل گردیده است و تغذیه نقش مهمی در میزان رشد و عملکرد سیستم ایمنی و مقاومت به بیماری ندارد (Ghosh *et al.*, 2008). هدف نهایی در انواع مختلف فعالیت‌های آبزی پروری، کنترل بیماری است که در این زمینه می‌توان به استفاده از داروهای ضد میکروبی (آنتی‌بیوتیک‌ها) اشاره کرد. متأسفانه مصرف طولانی مدت این ترکیبات سبب ایجاد مشکلاتی متعددی از جمله مقاوم شدن عوامل بیماری‌زا، تغییر فلور میکروبی روده به سمت یک فلور نامتعادل، کاهش تولید اسیدهای چرب کوتاه زنجیر و افزایش هزینه‌های جاری تولید ماهی می‌گردد (Dai *et al.*, 2021). طبق تعریف سازمان خوار و بار جهانی (FAO) و سازمان بهداشت جهانی، پروبیوتیک‌ها میکروارگانیسم‌های زنده‌ای هستند که اگر به میزان مناسب مورد استفاده قرار گیرند، می‌توانند سبب بهبود سلامت میزان شوند (Ghosh *et al.*, 2008). از جمله مزایای استفاده از پروبیوتیک‌ها می‌توان به بهبود جذب کلسیم، سنتز ویتامین‌ها، پروتئین‌ها و بهبود تعادل میکروفلور روده، تحریک و ارتقاء سیستم ایمنی بدن، کاهش سطح کلسترول سرم خون، افزایش قابلیت جذب مواد معدنی و عناصر کمیاب و نیز تولید آنزیم‌های گوارشی اشاره کرد (Khan and Ansari, 2007). باکتری‌های اسید لاكتیکی دسته مهمی از پروبیوتیک‌ها هستند. این میکروارگانیسم‌ها می‌توانند در ناحیه روده با تولید اسیدهای آلی و مواد ضد میکروبی مانع رشد باکتری‌های بیماری‌زا شوند و اسیدهای آلی تولیدی می‌توانند به عنوان یک منبع انرژی مورد استفاده سلول‌های روده قرار گیرند (Romn *et al.*, 2012). به کارگیری پروبیوتیک‌ها در آبزیان، دارای اثرات مفیدی مانند بهبود سیستم ایمنی، بقاء و ایجاد مقاومت به بیماری است که با بررسی چگونگی اثرگذاری آنها بر فراسنجه‌های فیزیولوژیک حیوان، می‌توان فرآیندهای اثرگذاری باکتری‌های مفید بر ماهی را تا حدودی شناخت

آزمایش به مدت ۶۰ روز به طول انجامید.

### آماده‌سازی جیره

برای انجام آزمایش از غذای تجاری ماهی کپور (شرکت فرادانه) استفاده شد و برای تیمار آزمایش، باکتری پس از آماده‌سازی به صورت اسپری به غذا اضافه گردید.

### زیست‌سنگی و بررسی شاخص‌های رشد

در پایان آزمایش پس از ۲۴ ساعت گرسنگی، بچه ماهیان موجود در هر تکرار بیهوش شده و به منظور سنجش شاخص‌های رشد، طول و وزن آنها برای محاسبه افزایش وزن (WG)، نرخ رشد ویژه (SGR)، ضریب تبدیل غذایی (FCR)، شاخص وضعیت (CF) و بازماندگی با استفاده از معادلات ذیل محاسبه گردید (Yang et al., 2007):

در سانتریفیوژ یخچال دار با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و ۵۰۰۰ دور در دقیقه قرار داده شد و رسوب حاصله را سه بار با سرم فیزیولوژی استریل، شستشو و در مرحله آخر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر، سوسپانسیون باکتریابی با غلظت  $CFU/g^{10}$  تهیه و جهت اسپری به غذا آماده گردید (Dash et al., 2015).

### ماهی و شرایط پرورش

تعداد ۱۸۰ قطعه بچه ماهی قرمز (*C. auratus*) با وزن اولیه  $10.11 \pm 0.16$  گرم از مرکز تکثیر ماهی قرمز از شهر رشت تهیه و به محل اجرای پروژه منتقل گردید. ماهیان به مدت ۱۴ روز به منظور سازش با شرایط جدید نگهداری شدند و پس از طی مراحل سازش به صورت تصادفی در وان‌های ۳۰۰ لیتری تقسیم شدند. در آزمایش حاضر، ۲ تیمار با  $3$  تکرار شامل جیره تجاری (تیمار شاهد) و جیره حاوی  $CFU/g^{10}$  پروبیوتیک (*L. casei*) (تیمار آزمایش) بود (Dash et al., 2015). در هر تکرار ۳۰ قطعه بچه ماهی قرمز قرار داده شد. غذاده‌ی ماهیان به صورت دستی و روزانه در ۳ نوبت (ساعت ۹، ۱۲ و ۱۵) انجام شد. تعویض آب روزانه صورت گرفت. این

افزایش وزن بدن = میانگین وزن نهایی - میانگین وزن ابتدایی  
نرخ رشد ویژه (درصد) = [لگاریتم طبیعی وزن نهایی - لگاریتم طبیعی وزن ابتدایی]  $\times$  (طول دوره پرورش)  $\times 100$   
ضریب تبدیل غذایی = میانگین غذای خورده شده  $\times$  (میانگین وزن به دست آمده)  
شاخص وضعیت = [وزن نهایی (گرم) / طول $^3$  (سانتی متر)]  $\times 100$   
بازماندگی (درصد) = [(تعداد تلفات - تعداد کل ماهیان)  $\times$  تعداد کل ماهیان]  $\times 100$

### بررسی فلور میکروبی روده

به منظور بررسی قابلیت تشکیل کلنی و ثبت لاكتوباسیلوس مصرفی در روده بچه ماهی قرمز در تیمارهای مختلف در انتهای دوره به طور تصادفی نمونه‌برداری انجام شد (۲۴ ساعت قبل از نمونه برداری تغذیه ماهیان قطع شد). نمونه‌ها در مجاورت یخ به آزمایشگاه منتقل و در آزمایشگاه ابتدا طول و وزن آنها با استفاده از خط کش و ترازوی دیجیتالی اندازه گیری شد. برای از بین بردن باکتری‌های سطح بدن ماهی، نمونه ماهی در محلول بنزوالکونیوم کلراید ۰/۱ درصد به مدت ۱ دقیقه قرار داده شد. سپس ناحیه شکمی با استفاده از تیغ جراحی استریل شکافته و روده آن پس از جداسازی، به هاون چینی استریل منتقل و توزین گردید. سپس ۹ برابر وزن روده،

### بررسی شاخص‌های خون‌شناسی

در پایان دوره آزمایش، بعد از ۲۴ ساعت گرسنگی تعداد ۵ ماهی از هر تکرار به طور تصادفی انتخاب شد. به منظور خون‌گیری ابتدا ماهیان با استفاده از عصاره گل میخک به میزان ۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر بیهوش شده، سپس از ناحیه ساقه دمی با استفاده از سرنگ‌های هپارینه خون‌گیری شدند و سپس شاخص‌های خونی شامل هماتوکریت، هموگلوبین، تعداد کل گلبول‌های سفید، تعداد کل گلبول‌های قرمز، نتروفیل، لنفوцит و مونوسیت اندازه‌گیری شد (Feldman et al., 2000).

## نتایج

در جدول ۱ شاخص‌های رشد بچه ماهیان قرمز تغذیه شده با جیره‌های مختلف در پایان دوره آزمایش ارائه شده است. نتایج آزمایش نشان داد که وزن نهایی، افزایش وزن، نرخ رشد ویژه و شاخص وضعیت در تیمار حاوی پروبیوتیک *Lactobacillus casei* افزایش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد داشته است ( $p < 0.05$ ). همچنین ضریب تبدیل غذایی در تیمار حاوی پروبیوتیک *L. casei* کاهش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد داشته است ( $p < 0.05$ ). با این حال، میزان بازماندگی بین تیمار شاهد و تیمار حاوی پروبیوتیک *L. casei* اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ( $p > 0.05$ ).

محلول نمکی استریل نرمال (۸٪ w/v NaCl) به آن افزوده و هموژن شد. پس از تهیه نمونه هموژن با استفاده محلول نمکی استریل نرمال (۸٪ w/v NaCl) رقت‌های مختلف در دامنه ۱۰-۱ تا ۱۰-۸ تهیه و از رقت‌های مورد نظر تحت شرایط استریل، حجمی معادل ۰/۱ میلی لیتر برداشته و به پلیت حاوی محیط کشت نوترینت آگار برای کل باکتری‌ها و محیط کشت MRS برای لاکتوباسیلوس‌ها منتقل و در سطح آن پخش گردید. انکوباسیون پلت‌ها به مدت ۷۲ ساعت در دمای اتاق و در شرایط هوایی انجام شد. تعداد باکتری‌ها در هر یک از نمونه‌ها براساس لگاریتم واحد کلی (تعداد کلی  $\times$  عکس ضریب رقیق سازی = CFU/g). (Dash *et al.*, 2015) شمارش و تعیین شد (intesting).

## روش تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از اندازه‌گیری شاخص‌های رشد، شاخص‌های خونی و فلور میکروبی روده با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یکطرفه (One-way ANOVA) و پس از آزمون مقایسه چند دامنه‌ای دانکن، در سطح اطمینان ۹۵ درصد بین تیمارهای مختلف صورت گرفت. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم افزار SPSS 16 در محیط ویندوز و از نرم افزار Microsoft Excel 2013 استفاده شد.

جدول ۱: مقایسه شاخص‌های رشد در تیمار حاوی پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازئی و تیمار شاهد در بچه ماهی قرمز (میانگین  $\pm$  انحراف معیار)

تیمار	تیمار ۱		شاخص‌های رشد
	(جیره حاوی $10^7$ CFU/g پروبیوتیک <i>L. casei</i> )	(جیره شاهد)	
$10/11 \pm 0/10$	$10/12 \pm 0/08$		وزن اولیه (گرم)
$25/86 \pm 1/12^a$	$19/22 \pm 2/16^b$		وزن نهایی (گرم)
$15/44 \pm 1/11^a$	$9/16 \pm 1/21^b$		افزایش وزن (گرم)
$3/37 \pm 0/11^a$	$2/22 \pm 0/08$		نرخ رشد ویژه (درصد)
$1/53 \pm 0/12^a$	$1/00 \pm 0/07$		شاخص وضعیت
$1/10 \pm 0/03^a$	$1/31 \pm 0/04^b$		ضریب تبدیل غذایی
$95/00 \pm 3/20^a$	$95/00 \pm 4/20^a$		بازماندگی (درصد)

حروف غیر مشابه در هر ردیف نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی می‌باشد ( $p < 0.05$ ).

گلبول‌های قرمز، هموگلوبین، هماتوکریت، لنفوسیت، نوتروفیل و مونوسیت بین تیمار شاهد و تیمار حاوی پروبیوتیک *L. casei* اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ( $p > 0.05$ ).

در جدول ۲ پارامترهای خونی بچه ماهیان قرمز تغذیه شده با جیره‌های مختلف در پایان دوره آزمایش ارائه شده است. تعداد گلبول‌های سفید بین تیمار شاهد با تیمار حاوی پروبیوتیک *L. casei* اختلاف معنی‌داری داشت ( $p < 0.05$ ). اما تعداد

جدول ۲: مقایسه پارامترهای خونی در تیمار حاوی پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازئی و تیمار شاهد در بچه ماهی قرمز (میانگین ± انحراف معیار)

تیمار ۲ (جیره حاوی $10^7$ CFU/g پروبیوتیک <i>L. casei</i> )	تیمار ۱ (جیره شاهد)	شاخص‌های هماتولوژی خون
$5/68 \pm 0/14^a$	$4/10 \pm 0/10^b$	گلیبول‌های سفید (سلول بر میلی لیتر $\times 10^4$ ) (x)
$1/60 \pm 0/34^a$	$1/58 \pm 0/20^a$	گلیبول‌های قرمز (سلول بر میلی لیتر $\times 10^6$ ) (x)
$5/17 \pm 0/16^a$	$5/12 \pm 0/31^a$	هموگلوبین (گرم بر لیتر)
$36/10 \pm 1/28^a$	$35/33 \pm 2/41^a$	هماتوکریت (درصد)
$83/25 \pm 2/17^a$	$82/26 \pm 1/54^a$	لنفوسيت (درصد)
$11/75 \pm 2/18^a$	$12/00 \pm 2/11^a$	نوتروفیل (درصد)
$4/65 \pm 2/09^a$	$5/22 \pm 1/45^a$	مونوسیت (درصد)

حروف غیر مشابه در هر ردیف نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی می‌باشد ( $p < 0.05$ ).

در جدول ۳ فلور میکروبی روده بچه ماهیان قرمز تغذیه شده با *L. casei* اختلاف معنی‌داری داشت ( $p < 0.05$ ).

با جیره‌های مختلف در پایان دوره آزمایش ارائه شده است. با توجه به جدول، تعداد کل باکتری‌ها و باکتری‌های اسید

جدول ۳: مقایسه فلور میکروبی روده در تیمار حاوی پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازئی و تیمار شاهد در بچه ماهی قرمز (میانگین ± انحراف معیار)

تیمار ۲ (جیره حاوی $10^7$ CFU/g پروبیوتیک <i>L. casei</i> )	تیمار ۱ (جیره شاهد)	پارامترها
$7/16 \pm 0/03^a$	$6/20 \pm 0/05^b$	کل باکتری‌ها
$4/10 \pm 0/07^a$	$2/77 \pm 0/02^b$	باکتری‌های اسید لاکتیک

حروف غیر مشابه در هر ردیف نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی می‌باشد ( $p < 0.05$ ).

مفیدی در کاهش باکتری‌های مضر و مهیا کردن شرایط برای رشد باکتری‌های مفید دارد (از طریق کاهش pH). پروبیوتیک‌ها هنگام ورود به روده میزبان، به سطح روده متصل می‌شوند و از کربوهیدرات‌های موجود در محیط روده برای رشد و تولید شمار زیادی از آنزیم‌های هضم‌کننده از جمله آمیلازهای پروتئازها و لیپازها استفاده می‌کنند که باعث افزایش هضم پذیری مواد غذایی و رشد بیشتر می‌شوند (Rasdhari et al., 2008) در مطالعه‌ای که بر ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) انجام دادند، گزارش کردند که استفاده از باکتری *Endterococcus faecalis* باعث افزایش معنی‌دار شاخص‌های رشد نسبت به گروه شاهد می‌شود که نتایج این تحقیق با یافته‌های ارائه شده در مطالعه حاضر مطابقت دارد. Anastasiadou و همکاران (2008) بیان کردند که استفاده از پروبیوتیک در تغذیه ماهی زینتی گرین ترور (*Andinocara rivulatus*) در سطح  $10^8$  CFU در کیلوگرم خوراک، سبب بهبود عملکرد رشد در این ماهی شد

## بحث

امروزه برای مقابله با مشکلات ناشی از مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها راهکارهای مختلفی پیشنهاد شده است که از جمله آنها می‌توان به استفاده از مکمل‌های غذایی (پروبیوتیک، پرپیوتیک، آنزیم‌ها و ...) اشاره کرد که در بالابردن توان اینمی نقش عمده‌ای دارند (Flint and Garner, 2009). این مواد علاوه بر تامین مواد مغذی لازم، جهت تقویت رشد آبریان و مقاومت نسبت به استرس و عوامل بیماری‌زا نیز مفید واقع شوند (Vulevic et al., 2004). نتایج به دست آمده از این پژوهش نشان داد که استفاده از پروبیوتیک *L. casei* در جیره غذایی بچه‌ماهیان قرمز (*C. auratus*), به صورت معنی‌داری باعث بهبود شاخص‌های رشد در این ماهیان شد. پروبیوتیک‌ها به روش‌های مختلف، از جمله افزایش قابلیت جذب مواد معدنی مانند کلسیم، سنتز ویتامین‌ها و پروتئین‌ها، بهبود تعادل میکروفلور روده، تحریک و تولید آنزیم‌های گوارشی از جمله پروتئاز و آمیلاز، افزایش کارائی غذایی و تولید اسیدهای چرب کوتاه زنجیر، بر عملکرد رشد اثر می‌گذارند که اثرات

گلوبول‌های سفید در مقایسه با گروه شاهد می‌شود. افزایش گلوبول‌های سفید می‌تواند به عنوان یک واکنش سیستم ایمنی غیراختصاصی مطرح باشد که انتظار می‌رود این ماهیان دارای مقاومت بیشتری در برابر عوامل استرس‌زا و بیماری‌ها باشند و این ممکن است سبب کاهش تلفات شود (Firouzbakhsh *et al.*, 2011).

امروزه ثابت شده است که اگر پروبیوتیک‌ها با غلظت کمتر از  $10^5$  CFU/g در فلور روده وجود داشته باشند، قادر توانایی ایجاد تعادل بین جمعیت خود و باکتری‌های ساکن روده هستند و در نتیجه نمی‌توانند فعالیت مناسب و اثر قابل قبولی بر سلامتی میزبان داشته باشند (Grama and Ringo, 2005). نتایج آزمایش نشان داد که افزودن *L. casei* به میزان  $10^7$  CFU/g باعث افزایش تعداد کل باکتری‌ها و باکتری‌های اسید لاكتیک روده در مقایسه با تیمار شاهد شد. Wang و همکاران (2021) در مطالعه‌ای که بر ماهی باس دهان بزرگ (*M. salmoides*) انجام دادند، گزارش کردند که استفاده از *L. casei* باعث افزایش باکتری‌های روده نسبت به گروه شاهد می‌شود که نتایج این تحقیق با یافته‌های ارائه شده در مطالعه حاضر مطابقت دارد. در مطالعه حاضر مطابقت دارد. Dai و همکاران (2021) در مطالعه‌ای که بر ماهی کفشک (*Scophthalmus maximus*) انجام دادند، گزارش کردند که استفاده از *L. casei* باعث افزایش تعداد باکتری‌های روده نسبت به گروه شاهد می‌شود که با نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر هم خوانی داشت. Alavinezhad و همکاران (2020) در مطالعه‌ای که بر ماهی گورخری (*D. rerio*) انجام دادند، گزارش کردند که استفاده از *L. casei* باعث افزایش تعداد باکتری‌های روده نسبت به گروه شاهد می‌شود که با نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر هم خوانی داشت.

## نتیجه‌گیری

به طور کلی، نتایج این آزمایش نشان داد که استفاده از پروبیوتیک *L. casei* باعث بهبود شاخص‌های رشد (وزن نهایی، افزایش وزن، نرخ رشد ویژه، شاخص وضعیت و ضریب تبدیل غذایی) و افزایش باکتری‌های مفید روده و نیز افزایش تعداد گلوبول‌های سفید در بچه ماهیان قرمز شد. از آنجایی که یکی از ارکان اصلی در مقرون به صرفه شدن پرورش ماهیان تجاری، افزایش بازده محصول و وضعیت سلامت ماهیان است،

که نتایج این تحقیق با یافته‌های ارائه شده در پژوهش حاضر هم خوانی داشت. Alavinezhad و همکاران (2020) در مطالعه‌ای که بر ماهی گورخری (*D. rerio*) انجام دادند، گزارش کردند که استفاده از *Lactobacillus casei* باعث افزایش معنی‌دار شاخص‌های رشد نسبت به گروه شاهد می‌شود که با نتایج بدست آمده در مطالعه حاضر هم خوانی داشت. Wang و همکاران (2021) و Zhang و همکاران (2019) گزارش دادند که استفاده از *L. casei* باعث افزایش معنی‌دار شاخص‌های رشد در ماهی باس دهان بزرگ (*Micropterus salmoides*) و ماهی گربه ماهی کانالی (*Ictalurus punctatus*) شد که با نتایج بدست آمده در مطالعه حاضر هم خوانی داشت. Safari و همکاران (2022) در مطالعه‌ای که بر ماهی گورخری (*D. rerio*) انجام دادند، گزارش کردند که استفاده از *L. casei* باعث افزایش معنی‌دار شاخص‌های رشد نسبت به گروه شاهد می‌شود که نتایج این تحقیق با یافته‌های ارائه شده در مطالعه حاضر مطابقت دارد.

شاخص‌های خونی ماهیان تحت تاثیر عوامل مختلفی از قبیل گونه، اندازه، سن، شرایط محیطی، رژیم غذایی، کیفیت غذا و منابع پروتئینی، ویتامین‌ها و محرک‌های رشد قرار دارد (Merrifield *et al.*, 2010) و علت تنافق داده‌های مربوط به اثر محرک‌های رشد بر شاخص‌های خونی می‌تواند موارد مذکور فوق باشد. نتایج این آزمایش نشان داد که تعداد گلوبول‌های قرمز، هموگلوبین، هماتوکریت، لنفوسیت، نوتروفیل و مونوسیت بین تیمار شاهد و تیمار حاوی پروبیوتیک *L. casei* اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ولی در تعداد گلوبول‌های سفید بین تیمار شاهد و تیمار حاوی پروبیوتیک *L. casei* اختلاف معنی‌داری مشاهده گردید. این نتایج با یافته‌های Akrami و همکاران (2015) که در مورد ماهی قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) و *Huso* و همکاران (2011) که بر فیل ماهی (*huso*) انجام دادند، مطابقت داشت. Mocanu و همکاران (2022) در مطالعه‌ای که بر تاس ماهی سبیری (*Acipenser baerii*) انجام دادند، گزارش کردند که استفاده از *L. casei* باعث افزایش تعداد گلوبول‌های سفید در تیمارهای آزمایش نسبت به گروه شاهد می‌شود که نتایج این تحقیق با یافته‌های ارائه شده در مطالعه حاضر مطابقت دارد. این پژوهشگران در مطالعات خود نشان دادند که افزودن محرک‌های رشد به جیره‌های آزمایشی باعث افزایش معنی‌داری در تعداد

به نظر می‌رسد که این نتایج می‌تواند به افزایش بهره‌وری اقتصادی در پرورش تجاری ماهیان کمک کند.

## منابع

- Merrifield, D.L., Dimitroglou, A., Foey, A. and Ringo, E., 2010.** The current status and future focus of probiotic and prebiotic applications for salmonids. *Aquaculture*, 20, 1-18.
- Akrami, R., Ghelichi, A. and Ebrahimi, A., 2015.** The effects of inulin as prebiotic on growth, survival and intestinal microflora of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). In: proceeding of first national conference on fisheries sciences, Lahidjan, Iran, 11, 20-29.
- Alavinezhad, S., Kazempoor, S. and Anvar, A., 2020.** The effect of different concentrations of *Lacticaseibacillus casei* on the growth performance and intestinal morphology of zebrafish (*Danio rerio*). *Iranian Journal of Aquatic Animal Health*, 6, 60-70. Doi: 10.52547/ijaah.6.2.60
- Anastasiadou, S., Papagianni, M., Koidis, P. and Pediocin, S., 2008.** Pediocin SA-1 an antimicrobial peptide from *Pediococcus acidilactici* NRRL B5627: production conditions, purification and characterization. *Bioresource Technology*, 99, 5384-5390. Doi: 10.1016/j.biortech.2007.11.015
- Dai, J., Yu, G., Zhang, Y. and Kangsen, M., 2011.** Dietary supplementation of stachyose and *Lactobacillus casei* improves the immunity and intestinal health of turbot (*Scophthalmus maximus*. L.). *Aquaculture Nutrition*, 9, 48-60. Doi: 10.1111/anu.13401
- Dash G., Raman, R.P., Prasad, K.P., Makesh, M., Pradeep, M. and Sen, S., 2015.** Evaluation of paraprobiotic applicability of *Lactobacillus plantarum* in improving the immune response and disease protection in giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. *Fish & Shellfish Immunology*, 43, 167-174. Doi: 10.1016/j.fsi.2014.12.007
- Feldman, B.F., Zinkl, J. and Jian, N., 2000.** Schalms veterinary hematology, Lippincott Williams and Wilkins publication, Philadelphia, USA. 1750 P.
- Firouzbakhsh, F., Noori, F., Khalesi, M.K. and Jani, K., 2011.** Effects of a probiotic, protexin, on the growth performance and hematology parameters in the Oscar (*Astronotus ocellatus*) fingerlings. *Journal of Fish Physiology and Biochemistry*, 37, 833-842. Doi: 10.1007/s10695-011-9481-4
- Flint, J.F. and Garner, M.R., 2009.** Feeding beneficial bacteria: a natural solution for increasing efficiency anddecreasing pathogens in animal agriculture. *Journal of Applied Poultry Research*, 18, 367-378. Doi: 10.3382/japr.2008-00133
- Ghosh, S., Sinha, A. and Sahu, C., 2008.** Dietary probiotic supplementation in growth and health of live-bearing ornamental fishes. *Aquaculture Nutrition*, 14, 289-299. Doi: 10.1111/j.1365-2095.2007.00529.x
- Grama, L. and Ringo, E., 2005.** Prospects of fish probiotics. *Biology of Growing Animals*, 2, 379-417. Doi: 10.1016/S1877-1823(09)70050-5
- Hoseinifar, S.H., Mirvaghefi, A., Merrifield, D.L. and Yelghi, S., 2011.** The study of some haematological and serum biochemical parameters of juvenile beluga (*Huso huso*) fed oligofructose. *Fish Physiology and Biochemistry*, 37, 91-96. Doi: 10.1007/s10695-010-9420-9
- Khan, S.H. and Ansari, F.A., 2007.** Probiotics the friendly bacteria with market potential in

- Mimeault, C., Woodhouse, A. and Rudeau, V., 2005.** The human lipid regulator, gemfibrozil bioconcentrates and reduces testosterone in the Common carp (*Cyprinus carpio*). *Aquatic Toxicology*, 73, 44-54. Doi: 10.1016/j.aquatox.2005.01.009.
- Mocanu, E., Savin, V., Popa, M. and Dima, F., 2022.** The Effect of Probiotics on Growth Performance, Haematological and Biochemical Profiles in Siberian Sturgeon (*Acipenser baerii* Brandt, 1869). *Journal fishes*, 7, 1-12. Doi: 10.3390/fishes7050239
- Mohammadian, T., Jangaran-Nejad, A., Mesbah, M., Shirali, T., Malekpouri, P. and Tabandeh, M.R., 2020.** Effect of *Lactobacillus casei* on innate immunity responses and *Aeromonas hydrophila* resistance in Shabot, *Tor grypus*. *Probiotics and antimicrobial proteins*, 12, 224-235. Doi: 10.1007/s12602-018-9510-z
- Qin, C., Xie, Y., Wang, Y., Li, S., Ran, C., He, S. and Zhou, Z., 2018.** Impact of *Lactobacillus casei* BL23 on the host transcriptome, growth and disease resistance in larval zebrafish. *Frontiers in physiology*, 9, 1245. Doi: 10.3389/fphys.2018.01245/full
- Rasdhari, M., Parekh, T., Dave, N. and Patel, V., 2008.** Evaluation of various physicochemical properties of (*Hibiscus safdariffa*) and (*Lactobacillus casei*) incorporated probiotic yogurt. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 11, 2101-2108. Doi: 10.3923/pjbs.2008.2101.2108.
- Rodriguez, U., Satoh, S., Haga, Y. and Sweetman, J., 2009.** Effects of single and immune response and intestinal microbiota in channel catfish. *Animals*, 9, p.1005. Doi: doi: 10.3390/ani9121005
- combined Mannan oligosaccharide and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture Sciences*, 57, 609-617.
- Romn, L., Real, F., Sorroza, L. and Grasso, V., 2012.** The in vitro effect of probiotic *Vagococcus fluvialis* on the innate immune parameters of *Sparus aurata* and *Dicentrarchus labrax*. *Fish and Shellfish Immunology*, 33, 1071-1075. Doi: 10.1016/j.fsi.2012.06.028
- Safari, R., Imanpour, M.R., Hoseinifar, S.H. and Dadar, M., 2022.** Effects of dietary *Lactobacillus casei* on the immune, growth, antioxidant, and reproductive performances in male zebrafish (*Danio rerio*). *Aquaculture*, 25, 1-8. Doi: 10.1016/j.aqrep.2022.101176
- Vulevic, J., Rastall, R.A. and Gibson, G.R., 2004.** Developing a quantitation approach for determining the in vitro prebiotic potential of dietary oligosaccharids. *FEMS Microbiology Letters*, 236, 153-159. Doi: 10.1016/j.femsle.2004.05.036
- Wang, J., Zhu, Z., Li, R. and Chen, L., 2021.** Impact of supplementary *Lactobacillus casei* K17 on growth and gut health of largemouth bass (*Micropterus salmoides*). *Aquaculture*, 20, 1-13. Doi: 10.1016/j.aqrep.2021.100734
- Yang, S.D., Lin, T.S., Liu, F. and Liou, H., 2007.** Influence of dietary phosphorus levels on growth, metabolic response and body composition of juvenile silver perch (*Bidyanus bidyanus*). *Aquaculture*, 230, 405-413. Doi: 10.1016/j.aquaculture.2005.09.002
- Zhang, H., Wang, H., Hu, K., Jiao, L., Zhao, M., Yang, X. and Xia, L., 2019.** Effect of Dietary supplementation of *Lactobacillus casei* YYL3 and *L. plantarum* YYL5 on growth, **FAO, 2002.** The state of world fisheries and aquacultures. SOFIA, Rome, Italy.

**Effects of *Lactobacillus casei* probiotics on growth performance, blood parameters and intestinal microbial flora in juvenile goldfish (*Carassius auratus*)**

Tamadoni Jahromi S.<sup>1</sup>, Sadeghi A.<sup>2</sup>; Sarvi B.<sup>3</sup>; Pourmzaffar S.<sup>3\*</sup>

\*Sajjad5550@gmail.com

1-Persian Gulf and Oman Sea Ecology Research Center, Iranian Fisheries Sciences Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization, Bandar Abbas, Iran.

2-Department of Fisheries, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Golestan.

3-Persian Gulf Mollusks Research Station, Persian Gulf and Oman Sea Ecology Research Center, Iranian Fisheries Sciences Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization, Bandar-e- Lengeh, Iran.

**Abstract**

*Lactobacillus casei* probiotic is one of the probiotics used in aquaculture industry. The aim of this study was to evaluate the effect of *Lactobacillus casei* probiotic on the growth performance, blood parameters, and intestinal microbial flora in goldfish (*Carassius auratus*) for 60 days. In this study, 180 fish with an average weight of  $10.11 \pm 0.16$  g were randomly distributed into two treatments with three replicates ( $n= 30$ ) including commercial diet (control treatment) and diet containing *L. casei* probiotics at  $10^7$  CFU / g (experimental treatment).The results showed that the final weight, weight gain, specific growth rate (SGR) and condition factor (CF) in the treatment containing *L. casei* had a significant increase compared to the control group ( $P < 0.05$ ). The results also showed that the inclusion of *L. casei* probiotic to the goldfish diet resulted in increase the number of white blood cells compared to the control group ( $P < 0.05$ ). Moreover, a significant increase in total number and intestinal lactic acid bacteria in the treatment containing probiotic *Lactobacillus* was observed compared to the control group ( $P < 0.05$ ). Therefore, addition of *L. casei* probiotic enhanced growth performance and intestinal lactic acid bacteria in goldfish (*C. auratus*).

**Keywords:** Goldfish, *Lactobacillus casei*, Growth parameters, Blood indices, Intestinal microbial flora