



مقاله علمی - پژوهشی:

## اثرات پروبیوتیک *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 پورمظفر<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 نرم‌تنان 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

پروبیوتیک *Lactobacillus casei* یکی از پروبیوتیک‌هایی است که در تغذیه آبزیان مورد استفاده قرار می‌گیرد. هدف از این مطالعه، بررسی اثر پروبیوتیک *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 پروبیوتیک *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 پروبیوتیک *L. casei* افزایش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد داشته است ( $p < 0/05$ ). همچنین بر اساس نتایج به‌دست آمده، افزودن پروبیوتیک *L. casei* به جیره غذایی ماهی قرمز باعث افزایش تعداد گلبول‌های سفید در مقایسه با گروه شاهد شد. همچنین نتایج نشان داد که تعداد کل باکتری‌ها و باکتری‌های اسید لاکتیک روده در تیمار حاوی پروبیوتیک *L. casei* افزایش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد داشته است ( $p < 0/05$ ). بنابراین، افزودن پروبیوتیک *L. casei* به جیره غذایی ماهی قرمز (*C. auratus*) موجب بهبود رشد و افزایش تعداد باکتری‌های اسید لاکتیک در این ماهی شد.

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

## مقدمه

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). آبی پروری به عنوان یک راه کار اساسی، می تواند از طریق تامین پروتئین مورد نیاز انسان، نقش مهمی را در این زمینه ایفاء کند. در صنعت آبی پروری هزینه های خوراک به طور معمول ۷۰-۳۰ 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 فعالیت های آبی پروری، کنترل بیماری است که در این زمینه می توان به استفاده از داروهای ضد میکروبی (آنتی بیوتیک ها) اشاره کرد. متأسفانه مصرف طولانی مدت این ترکیبات سبب ایجاد مشکلاتی متعددی از جمله مقاوم شدن عوامل بیماری زا، تغییر فلور میکروبی روده به سمت یک فلور نامتعادل، کاهش تولید اسیدهای چرب کوتاه زنجیر و افزایش هزینه های جاری تولید ماهی می گردد (Dai et al., 2021). طبق تعریف سازمان خوار و بار جهانی (FAO) و سازمان بهداشت جهانی، پروبیوتیک ها میکروارگانیسم های زنده ای هستند که اگر به میزان مناسب مورد استفاده قرار گیرند، می توانند سبب بهبود سلامت میزبان شوند (Ghosh et al., 2008). از جمله مزایای استفاده از پروبیوتیک ها می توان به بهبود جذب کلسیم، سنتز ویتامین ها، پروتئین ها 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 آنزیم های گوارشی اشاره کرد (Khan and Ansari, 2007). باکتری های اسید لاکتیکی دسته مهمی از پروبیوتیک ها هستند. این میکروارگانیسم ها می توانند در ناحیه روده با تولید اسیدهای آلی و مواد ضد میکروبی مانع رشد باکتری های بیماری زا شوند و اسیدهای آلی تولیدی می توانند به عنوان یک منبع انرژی مورد استفاده سلول های روده قرار گیرند (Romn et al., 2012). به کارگیری پروبیوتیک ها در آبزیان، دارای اثرات مفیدی مانند بهبود سیستم ایمنی، بقاء و ایجاد مقاومت به بیماری است که با بررسی چگونگی اثرگذاری آنها بر فراسنجه های فیزیولوژیک حیوان، می توان فرآیندهای اثرگذاری باکتری های مفید بر ماهی را تا حدودی شناخت

(Flint and Garner, 2009). انتخاب پروبیوتیک مناسب بسیار ضروری است، زیرا میکروارگانیسم های نامناسب اثرات ناخواسته ای را در میزبان به جا می گذارند (Alavinezhad et al., 2020). لاکتوباسیلوس ها بیشترین میکروارگانیسم هایی هستند که به عنوان پروبیوتیک مورد استفاده قرار می گیرند (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 پاسخ های ایمنی و افزایش مقاومت در عوامل بیماری زا شد.

ماهی قرمز (*C. auratus*) از خانواده کپور ماهیان (Cyprinidae) بوده و به لحاظ شرایط زیستی و تغذیه ای 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 می گردد. ماهی قرمز می تواند به عنوان یک گونه مناسب جهت مدل سازی در مطالعات تغذیه ای، تولید مثلی و فیزیولوژیک مورد استفاده قرار گیرد (Mimeault et al., 2005).

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

## مواد و روش ها

## سویه باکتری مورد استفاده

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

## آماده سازی 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 سانتی گراد قرار داده شد. پس از رشد باکتری، برای حذف محیط کشت

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.

### زیست‌سنجی 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 سانتی‌فیوژ یخچال‌دار 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 باکتریایی با غلظت  $10^7$  CFU/g 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 ۳ تکرار شامل جیره تجاری (تیمار شاهد) و جیره حاوی  $10^7$  CFU/g 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 (ساعات 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) × (طول دوره پرورش)] × ۱۰۰

ضریب تبدیل غذایی = میانگین غذای خورده شده × (میانگین وزن به دست آمده)

شاخص وضعیت = [(وزن نهایی (گرم) / طول<sup>۳</sup> (سانتی متر)] × ۱۰۰

بازماندگی (درصد) = [(تعداد تلفات - تعداد کل ماهیان) × تعداد کل ماهیان] × ۱۰۰

### 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 دُمی با استفاده از سرنگ‌های هپارینه خون‌گیری شدند و سپس شاخص‌های خونی شامل هماتوکریت، هموگلوبین، تعداد کل گلبول‌های سفید، تعداد کل گلبول‌های قرمز، نوتروفیل، لنفوسیت و مونوسیت اندازه‌گیری شد (Feldman et al., 2000).

### بررسی فلور میکروبی روده

به منظور بررسی قابلیت تشکیل کلنی و تثبیت لاکتوباسیلوس 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 دیجیتال اندازه‌گیری 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،

### 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 (0.87 w/v NaCl درصد) به آن افزوده و هموزن شد. پس از تهیه نمونه هموزن با استفاده محلول نمکی استریل نرمال (0.87 w/v NaCl درصد) رقت‌های مختلف در دامنه ۱-۱۰ تا ۸-۱۰ 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 کلنی (تعداد کلنی × عکس ضریب رقیق سازی = CFU/g) (intesting) شمارش و تعیین شد (Dash et al., 2015).

### 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 ± انحراف معیار)

شاخص‌های رشد	تیمار ۱ (جیره شاهد)	تیمار ۲ (جیره حاوی $10^7$ CFU/g پروبیوتیک <i>L. casei</i> )
وزن اولیه (گرم)	۱۰/۱۲ ± ۰/۰۸	۱۰/۱۱ ± ۰/۱۰
وزن نهایی (گرم)	۱۹/۲۲ ± ۲/۱۶ <sup>b</sup>	۲۵/۸۶ ± ۱/۱۲ <sup>a</sup>
افزایش وزن (گرم)	۹/۱۰ ± ۱/۲۱ <sup>b</sup>	۱۵/۴۴ ± ۱/۱۰ <sup>a</sup>
نرخ رشد ویژه (درصد)	۲/۲۲ ± ۰/۰۸ <sup>b</sup>	۳/۳۷ ± ۰/۱۱ <sup>a</sup>
شاخص وضعیت	۱/۰۰ ± ۰/۰۷ <sup>b</sup>	۱/۵۳ ± ۰/۱۲ <sup>a</sup>
ضریب تبدیل غذایی	۱/۳۱ ± ۰/۰۴ <sup>b</sup>	۱/۱۰ ± ۰/۰۳ <sup>a</sup>
بازماندگی (درصد)	۹۵/۰۰ ± ۴/۲۰ <sup>a</sup>	۹۵/۰۰ ± ۳/۲۰ <sup>a</sup>

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

گلبول‌های قرمز، هموگلوبین، همتوکریت، 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  $\pm$  انحراف معیار)

تیمار ۲ (جیره حاوی $10^7$ UFU/g پروبیوتیک <i>L. casei</i> )	تیمار ۱ (جیره شاهد)	شاخص‌های هماتولوژی خون
$5/68 \pm 0/14^a$	$4/10 \pm 0/10^b$	گلبول‌های سفید (سلول بر میلی لیتر $\times 10^4$ )
$1/60 \pm 0/34^a$	$1/58 \pm 0/20^a$	گلبول‌های قرمز (سلول بر میلی لیتر $\times 10^6$ )
$5/17 \pm 0/16^a$	$5/12 \pm 0/31^a$	هموگلوبین (گرم بر لیتر)
$36/10 \pm 1/28^a$	$35/33 \pm 2/41^a$	هماتوکریت (درصد)
$83/25 \pm 2/17^a$	$82/26 \pm 1/54^a$	لنفوسیت (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 غیرمشابه 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 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  $\pm$  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 غیرمشابه در هر ردیف نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی می‌باشد ( $p < 0/05$ ).

## بحث

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 آمیلازها، پروتئازها و لیپازها استفاده می‌کنند که باعث افزایش هضم پذیری مواد غذایی و رشد بیشتر می‌شوند (Rasdhari *et al.*, 2008). Rodriguez و همکاران (۲۰۰۹) 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 (۲۰۰۸) 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

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، پریبیوتیک، آنزیم‌ها و ...) اشاره کرد که در بالابردن توان ایمنی نقش عمده‌ای دارند (Flint and Garner, 2009). این مواد علاوه بر تامین مواد مغذی لازم، جهت تقویت رشد آبزیان و مقاومت نسبت به استرس و عوامل بیماری‌زا نیز مفید واقع شوند (Vulevic *et al.*, 2004). نتایج به‌دست 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 کارایی غذایی و تولید اسیدهای چرب کوتاه زنجیر، بر عملکرد رشد اثر می‌گذارند که اثرات

گلبول‌های سفید در مقایسه با گروه شاهد می‌شود. افزایش گلبول‌های 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، فاقد 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 لاکتیک روده در مقایسه با تیمار شاهد شد. Wang و همکاران (۲۰۲۱) 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. Dai و همکاران (۲۰۲۱) 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 به‌دست آمده در مطالعه حاضر هم‌خوانی داشت. Alavinezhad و همکاران (۲۰۲۰) 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 به‌دست آمده در مطالعه حاضر هم‌خوانی 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 گلبول‌های سفید در بچه ماهیان قرمز شد. از آنجایی که یکی از ارکان اصلی در مقرون به‌صرفه شدن پرورش ماهیان تجاری، افزایش بازده محصول و وضعیت سلامت ماهیان است،

که نتایج این تحقیق با یافته‌های ارائه شده در پژوهش حاضر هم‌خوانی داشت. Alavinezhad و همکاران (۲۰۲۰) 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 به‌دست آمده در مطالعه حاضر هم‌خوانی داشت. Wang و همکاران (۲۰۲۱) و Zhang و همکاران (۲۰۱۹) 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 به‌دست آمده در مطالعه حاضر هم‌خوانی داشت. Safari و همکاران (۲۰۲۲) 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 تناقض داده‌های مربوط به اثر محرک‌های رشد بر شاخص‌های خونی می‌تواند موارد مذکور فوق باشد. نتایج این آزمایش نشان داد که تعداد گلبول‌های قرمز، هموگلوبین، هماتوکریت، لنفوسیت، نوتروفیل و مونوسیت بین تیمار شاهد و تیمار حاوی پروبیوتیک *L. casei* اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ولی در تعداد گلبول‌های سفید بین تیمار شاهد و تیمار حاوی پروبیوتیک *L. casei* اختلاف معنی‌داری مشاهده گردید. این نتایج با یافته‌های Akrami و همکاران (۲۰۱۵) که در مورد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) و Hoseinifar و همکاران (۲۰۱۱) که بر فیل ماهی (*Huso huso*) انجام دادند، مطابقت داشت. Mocanu و همکاران (۲۰۲۲) در مطالعه‌ای که بر تاس ماهی سیبری (*Acipenser baerii*) انجام دادند، گزارش کردند که استفاده از *L. casei* باعث افزایش تعداد گلبول‌های 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

global market. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 20, 71-76.

**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

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

## منابع

**Feldman, B.F., Zinkl, J. and Jian, N., 2000.** Schalm's veterinary hematology, Lippincott Williams and Wilkins publication, Philadelphia, USA. 1750 P.

**Firouzbaksh, 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 and decreasing 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

**Gram, 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 physico-chemical properties of (*Hibiscus safdariff*) 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