

بررسی شاخص‌های رشد و فاکتورهای خونی بچه ماهی قرمز (*Carassius auratus*) پس از افزودن اسید آلی پتاسیم سوربات و پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلانناروم (*Lactobacillus plantarum*) به جیره غذایی

رضا نهاوندی^۱، محدثه احمدی^۲، ابراهیم مسعودی^۲، سعید تمدنی جهرمی^۳، بهزاد سروی^۴، سجاد پورمظفر*^۴

^۱موسسه تحقیقات علوم دامی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران.
^۲گروه بوم‌شناسی، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گلستان، گرگان، ایران.
^۳پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بندرعباس، ایران.
^۴ایستگاه تحقیقات نرم‌تنان خلیج فارس، پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بندرلنگه، ایران.
*نویسنده مسئول sajjad5550@gmail.com

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۱/۱۱

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۰/۲۸

چکیده

به منظور بررسی اثرات اسید آلی پتاسیم سوربات و پروبیوتیک *L. plantarum* در بچه ماهی قرمز (*Carassius auratus*) با وزن اولیه $5/1 \pm 0/1$ گرم، آزمایشی به مدت ۶۰ روز با بکارگیری شش تیمار شامل: جیره تجاری (تیمار شاهد)، جیره حاوی 10^7 CFU/g پروبیوتیک *L. plantarum* (تیمار ۱)، جیره حاوی ۰/۵ درصد پتاسیم سوربات (تیمار ۲)، جیره حاوی ۱ درصد پتاسیم سوربات (تیمار ۳)، جیره حاوی ترکیب ۰/۵ درصد پتاسیم سوربات و 10^7 CFU/g پروبیوتیک *L. plantarum* (تیمار ۴) و جیره حاوی ترکیب ۱ درصد پتاسیم سوربات و 10^7 CFU/g پروبیوتیک *L. plantarum* (تیمار ۵) و هر تیمار با ۳ تکرار صورت گرفت. نتایج به دست آمده نشان داد که بیشترین وزن نهایی، افزایش وزن، نرخ رشد ویژه و شاخص وضعیت در تیمار ۵ (ترکیب ۱ درصد پتاسیم سوربات و 10^7 CFU/g پروبیوتیک *L. plantarum*) مشاهده شد که اختلاف آن با سایر تیمارها معنی‌دار بود ($P < 0/05$). کمترین ضریب تبدیل غذایی در تیمار ۴ و ۵ و بیشترین ضریب تبدیل غذایی در تیمار شاهد مشاهده گردید ($P < 0/05$). همچنین نتایج نشان داد، تعداد گلبول سفید در تیمار ۵ به طور نسبی نسبت به سایر تیمارها بالاتر بود ($P < 0/05$); در حالی که اختلاف معنی‌داری در سایر شاخص‌های خونی بین تیمارهای مورد بررسی مشاهده نشد ($P > 0/05$). در مجموع با توجه به نتایج به دست آمده از آزمایش، افزودن ترکیب ۱ درصد پتاسیم سوربات و 10^7 CFU/g پروبیوتیک *L. plantarum* به جیره غذایی ماهی قرمز توصیه می‌شود.

واژگان کلیدی: ماهی قرمز، لاکتوباسیلوس پلانناروم، پتاسیم سوربات، رشد، شاخص‌های خونی.

مقدمه

می‌شود، بنابراین بایستی در حد امکان از هدر رفت غذا جلوگیری کرد (Ziaei et al., 2006). از این رو استفاده از جیره مناسب در امر پرورش به منظور بهبود شاخص‌های رشد و افزایش کارایی تغذیه از اهمیت قابل ملاحظه‌ای برخوردار است. امروزه انواع مختلفی از افزودنی‌های غذایی به منظور دستیابی به بیشترین

هدف نهایی در فعالیت‌های آبی پروری سوددهی حداکثر از طریق بهبود بازدهی تولید است که این امر در صورت بهبود میزان رشد، سیستم ایمنی و کیفیت لاشه در آبزیان فراهم می‌گردد. تأمین خوراک آبی ۶۰-۴۰ درصد از هزینه‌های مربوط به تولید را شامل

لاکتوباسیلوس، لاکتوکوکوس و لوکونوستوک‌ها می‌باشد (Romn *et al.*, 2012). باکتری‌های اسید لاکتیکی نقش مهمی در فلور روده داشته و مجرای گوارشی را تحت تاثیر قرار می‌دهد، همچنین غیر بیماری‌زا بوده و می‌توانند اسیدیته را که معمولاً برای باکتری‌های دیگر کشنده می‌باشند، تحمل کرده و با تولید اسید لاکتیک از رشد میکروب‌های بیماری‌زا جلوگیری کنند (Flint and Garner, 2009). این میکروارگانیسم‌ها می‌توانند در ناحیه روده با تولید اسیدهای آلی و مواد ضد میکروبی مانع رشد باکتری‌های بیماری‌زا شوند و اسیدهای آلی تولید شده می‌توانند به‌عنوان یک منبع انرژی مورد استفاده سلول‌های روده قرار گیرند (Flint and Garner, 2009). تاکنون اثرات سودمند این دسته از باکتری‌ها در ماهی قزل‌آلا (*Oncorhynchus mykiss*) (Najafi Enferadi *et al.*, 2018; Soltani *et al.*, 2019)، گربه ماهی (Kumaree and Kumar, 2014)، کپور هندی (Giri *et al.*, 2013) و کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) (Alishahi *et al.*, 2018; Pandey *et al.*, 2022) گزارش شده است.

اسیدهای آلی از جمله عوامل دیگری است که بر میزان رشد و بهبود سیستم ایمنی آبزیان تأثیر مثبت دارد. اسیدهای آلی اثرات بیشتری نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها دارند. اسیدهای آلی یکی از انواع محرک‌های طبیعی می‌باشند که در ساختارشان دارای یک یا بیش از چند گروه کربوکسیل می‌باشند. این اسیدها در طی فرآیند تخمیر میکروبی تولید می‌شوند. اسیدهای آلی و نمک‌های حاصل اغلب برای محافظت و نگهداری مواد غذایی استفاده می‌شوند (Suryanarayana *et al.*, 2012). اسیدهای آلی با حفظ pH مناسب دستگاه گوارش موجب بهبود قابلیت هضم پروتئین شده و با کاهش رقابت میکروبی برای مصرف مواد مغذی با میزبان موجب افزایش رشد آبی می‌شوند (Suryanarayana *et al.*, 2012). از دیگر کاربردهای اسیدهای آلی در جیره، جذب مواد

میزان رشد، افزایش سطح ایمنی و مقاومت آبزیان در شرایط پرورشی استفاده می‌شود که از آن جمله می‌توان به هورمون‌ها، انواع مواد مغذی و آنتی‌بیوتیک‌ها اشاره کرد (Ghosh *et al.*, 2008). هدف نهایی، کنترل بیماری بوده که برای این امر پرورش‌دهندگان از داروهای ضد میکروبی یا آنتی‌بیوتیک‌ها استفاده می‌کنند. متأسفانه مصرف طولانی مدت این ترکیبات سبب ایجاد مشکلات مختلفی از جمله مقاوم شدن عوامل بیماری‌زا، سمیت و تجمع در ماهی، تغییر فلور میکروبی روده به سمت یک فلور نامتعادل، کاهش تولید اسیدهای چرب کوتاه زنجیر و افزایش هزینه‌های جاری تولید ماهی شده است (Ghosh *et al.*, 2008). امروزه استفاده از مکمل‌های غذایی مانند پروبیوتیک‌ها به‌عنوان جایگزین روش‌های درمانی قبلی مانند آنتی‌بیوتیک درمانی و استفاده از ضد میکروبی مطرح شده است (Romn *et al.*, 2012). پروبیوتیک‌ها از اجزای مهم فلور میکروارگانیسمی روده هستند که نقش مهمی در افزایش هضم و جذب مواد غذایی دارند. این میکروارگانیسم‌ها با ترشح آنزیم‌های خارج سلولی مانند پروتئاز و آمیلاز به هضم ترکیبات غیرقابل هضم در جیره کمک می‌کنند و با تولید متابولیت‌هایی همانند اسیدهای چرب زنجیر کوتاه موجب افزایش رشد پرزهای روده شده و میزان جذب غذایی را افزایش می‌دهد (Resende *et al.*, 2012). از سوی دیگر، پروبیوتیک‌ها با بهبود فعالیت آنزیم‌های گوارشی، تحرک اشتها ماهی، تولید ویتامین‌ها و قابلیت جذب مواد معدنی و عناصر کمیاب تأثیر مثبتی بر عملکرد رشد دارند. علاوه بر این پروبیوتیک‌ها از طریق رقابت برای دستیابی به مواد مغذی، تولید باکتریوسین‌ها مانع از زیاد شدن باکتری‌های فرصت طلب در مجاری گوارش و محیط پرورشی آبزیان می‌شوند (Verschuere *et al.*, 2000).

باکتری‌های اسید لاکتیکی دسته مهمی از پروبیوتیک‌ها هستند که در ماهی متعلق به جنس‌های انتروکوکوس‌ها، استرپتوکوک‌ها، پدی کوکوس‌ها،

احیاء پروبیوتیک *L. plantarum* از حالت لیوفیلیز، از محیط کشت MRS broth استفاده و پس از تلقیح باکتری به مدت ۲۴ ساعت در آون با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از رشد باکتری، برای حذف محیط کشت در سانتریفیوژ یخچال‌دار با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و ۵۰۰۰ دور در دقیقه قرار داده شد و رسوب حاصل 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 (Rahmati et al., 2011).

آماده‌سازی شرایط پرورشی و جیره‌های غذایی: برای انجام این پژوهش تعداد ۳۶۰ قطعه بچه ماهی قرمز با وزن اولیه $5/11 \pm 0/10$ گرم در ۶ تیمار آزمایشی شامل: جیره تجاری (تیمار شاهد)، جیره حاوی 10^7 CFU/g پروبیوتیک *L. plantarum* (تیمار ۱)، جیره حاوی ۰/۵ درصد پتاسیم سوربات (تیمار ۲)، جیره حاوی ۱ درصد پتاسیم سوربات (تیمار ۳)، جیره حاوی ترکیب ۰/۵ درصد پتاسیم سوربات و 10^7 CFU/g پروبیوتیک *L. plantarum* (تیمار ۴) و جیره حاوی ترکیب ۱ درصد پتاسیم سوربات و 10^7 CFU/g پروبیوتیک *L. plantarum* (تیمار ۵) و در ۳ تکرار استفاده شد (Jafarnoudeh et al., 2014). برای انجام آزمایش از غذای تجاری ماهی کپور (شرکت فرادانه) استفاده شد و برای تیمار آزمایش، باکتری و اسید آلی مورد نظر پس از آماده‌سازی به‌صورت اسپری به غذا اضافه گردید. تعویض آب روزانه صورت گرفت. به‌منظور هوادهی و رفع نیاز اکسیژن ماهی‌ها، به هریک از تانک‌ها یک سنگ هوا که به منبع هواده متصل بود، نصب شد. زیست‌سنجی ماهیان هر دو هفته یکبار انجام می‌شد. این آزمایش به مدت ۶۰ روز به طول انجامید.

زیست‌سنجی و بررسی شاخص‌های رشد: در پایان دوره آزمایش، پس از قطع غذاهای به مدت ۲۴ ساعت، بچه ماهیان موجود در هر تکرار با استفاده از عصاره گل میخک به میزان ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر

معدنی است، بنابراین با توجه به وجود فسفر در آرد ماهی، جذب این ماده معدنی نقش مهمی در پرورش آبی‌پروری فراهم می‌کند (Suryanarayana et al., 2012). اثرات مثبت استفاده از اسیدهای آلی و نمک‌های آن در جیره غذایی و بهبود عملکرد رشد *Sciaenops ocellatus* (Castillo et al., 2014) و *Oncorhynchus mykiss* (Pandey et al., 2008) گزارش شده است. اسیدهای آلی منجر به افزایش فعالیت روده و بهبود اکوسیستم استخرها می‌شوند (Pandey et al., 2008).

ماهی قرمز (*Carassius auratus*) از خانواده کپور ماهیان بوده و به لحاظ شرایط زیستی و تغذیه‌ای شبیه کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) می‌باشد (Mimeault et al., 2005). این گونه بومی شرق آسیا است که برای نخستین بار اواخر قرن هفدهم پراکنش آن در اروپا گزارش شد. باین گونه مقاومت بالایی در برابر تغییرات محیطی دارد و به‌عنوان یک گونه مدل در مطالعات تغذیه‌ای، تولید مثلی و فیزیولوژیکی مورد استفاده قرار گیرد (Mimeault et al., 2005). با توجه به اینکه مطالعات اندکی روی اثرات اسیدهای آلی و پروبیوتیک روی فاکتورهای رشد و شاخص‌های خونی در بچه ماهیان قرمز انجام گرفته است؛ بنابراین این پژوهش به‌منظور بررسی اثرات اسید آلی پتاسیم سوربات و پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلانتروم (*L. plantarum*) بر شاخص‌های رشد و خونی بچه ماهی قرمز (*C. auratus*) به‌اجرا درآمد.

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی باکتری و اسید آلی: اسید آلی پتاسیم سوربات با فرمول شیمیایی $(CH_3CH=CHCH=CHCOOK)$ و درجه خلوص ۹۹ درصد از شرکت سیگما خریداری شد. پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلانتروم (*L. plantarum*)، یک سویه بومی از خانواده لاکتوباسیلوس‌ها (گرم مثبت) است و به‌صورت لیوفیلیزه مورد استفاده قرار گرفت. به‌منظور

جدول ۱- مقایسه میانگین شاخص‌های رشد در تیمارهای آزمایش بچه ماهی قرمز (*Carassius auratus*).

فاکتورها/ تیمارها	تیمار شاهد	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ۴	تیمار ۵
وزن اولیه (گرم)	۵/۱۱ ± ۰/۱۴	۵/۱۰ ± ۰/۰۴	۵/۱۳ ± ۰/۰۵	۵/۰۹ ± ۰/۱۰	۵/۱۱ ± ۰/۰۸	۵/۱۰ ± ۰/۱۴
وزن نهایی (گرم)	۱۵/۱۰ ± ۰/۲۰ ^d	۱۷/۱۰ ± ۰/۲۲ ^c	۱۵/۱۳ ± ۰/۰۶ ^d	۱۷/۳۳ ± ۰/۲۲ ^c	۲۰/۰۰ ± ۰/۱۲ ^b	۲۲/۱۰ ± ۰/۰۶ ^a
افزایش وزن (گرم)	۱۰/۱۸ ± ۰/۴۴ ^d	۱۲/۳۱ ± ۰/۳۵ ^c	۱۰/۱۴ ± ۰/۱۵ ^d	۱۲/۲۲ ± ۰/۱۱ ^c	۱۵/۱۰ ± ۰/۱۶ ^b	۱۷/۱۲ ± ۰/۳۱ ^a
نرخ رشد ویژه (درصد)	۲/۳۹ ± ۰/۰۸ ^c	۲/۴۳ ± ۰/۰۶ ^c	۲/۳۷ ± ۰/۰۴ ^c	۲/۴۴ ± ۰/۱۱ ^{bc}	۲/۵۰ ± ۰/۰۵ ^b	۲/۶۸ ± ۰/۰۷ ^a
شاخص وضعیت	۱/۳۵ ± ۰/۰۱ ^d	۱/۴۰ ± ۰/۰۲ ^c	۱/۳۵ ± ۰/۰۲ ^d	۱/۴۵ ± ۰/۰۱ ^b	۱/۴۷ ± ۰/۰۳ ^b	۱/۵۵ ± ۰/۰۳ ^a
ضریب تبدیل غذایی	۱/۲۹ ± ۰/۰۲ ^a	۱/۲۲ ± ۰/۰۴ ^b	۱/۲۵ ± ۰/۰۳ ^b	۱/۲۰ ± ۰/۰۷ ^{bc}	۱/۱۴ ± ۰/۰۴ ^c	۱/۱۲ ± ۰/۰۳ ^c
بازماندگی (درصد)	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰

*حروف غیر مشابه در هر ردیف نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی می‌باشد ($P < 0.05$). *جیره تجاری (تیمار شاهد)، جیره حاوی CFU/g 10^7 پروبیوتیک *L. plantarum* (تیمار ۱)، جیره حاوی 0.5 درصد پتاسیم سوربات (تیمار ۲)، جیره حاوی 1 درصد پتاسیم سوربات (تیمار ۳)، جیره حاوی ترکیب 0.5 درصد پتاسیم سوربات و 10^7 CFU/g پروبیوتیک *L. plantarum* (تیمار ۴) و جیره حاوی ترکیب 1 درصد پتاسیم سوربات و 10^7 CFU/g پروبیوتیک *L. plantarum* (تیمار ۵).

تجزیه و تحلیل آماری: تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از اندازه‌گیری شاخص‌های رشد و شاخص‌های خونی 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. از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف برای بررسی توزیع نرمال بودن داده‌ها استفاده شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزارهای SPSS نسخه ۱۶ و Excel نسخه ۲۰۱۳ استفاده شد.

نتایج

جدول ۱ شاخص‌های رشد بچه‌ماهیان قرمز تغذیه شده با جیره‌های مختلف در پایان دوره آزمایش را نشان می‌دهد. نتایج نشان داد که بیشترین وزن نهایی، افزایش وزن، نرخ رشد ویژه و شاخص وضعیت در تیمار ۵ مشاهده گردید که اختلاف آن با سایر تیمارها معنی‌دار بود ($P < 0.05$). کمترین ضریب تبدیل غذایی در تیمار ۴ و ۵ و بیشترین مقدار آن در تیمار شاهد مشاهده گردید که این اختلاف معنی‌داری بود ($P < 0.05$). میزان بازماندگی بین تیمار شاهد و تیمارهای آزمایش اختلاف معنی‌داری نشان نداد ($P > 0.05$). جدول ۲ پارامترهای خونی بچه ماهیان قرمز تغذیه شده با جیره‌های مختلف در پایان دوره آزمایش را نشان می‌دهد. با توجه به نتایج، میزان گلبول سفید در تیمار ۵ به‌طور معنی‌داری بالاتر از

بی‌هوش شدند. شاخص‌های رشد، طول و وزن آن‌ها برای محاسبه افزایش وزن (WG)، نرخ رشد ویژه (SGR)، ضریب تبدیل غذایی (FCR)، شاخص وضعیت (CF) و بازماندگی اندازه‌گیری شد (Yang et al., 2007).

افزایش وزن بدن = میانگین وزن نهایی - میانگین وزن ابتدایی

نرخ رشد ویژه (درصد) = $\frac{\text{افزایش وزن}}{\text{وزن اولیه}} \times 100$

نهایی - لگاریتم طبیعی وزن ابتدایی \times (طول دوره پرورش) $\times 100$

ضریب تبدیل غذایی = $\frac{\text{غذای خورده شده}}{\text{افزایش وزن}}$

شاخص وضعیت = $\frac{\text{افزایش وزن نهایی (گرم)}}{\text{طول (سانتی متر)}} \times 100$

بازماندگی (درصد) = $\frac{\text{تعداد تلفات}}{\text{تعداد کل ماهیان}} \times 100$

بررسی شاخص‌های خونی: در پایان دوره آزمایش ۵ ماهی از هر تکرار به‌طور تصادفی انتخاب شد. به‌منظور خون‌گیری ابتدا ماهیان با استفاده از عصاره گل میخک به میزان ۵۰۰ میلی گرم در لیتر بی‌هوش شده، سپس از ناحیه ساقه دمی با استفاده از سرنگ‌های هپارینه خون‌گیری و شاخص‌های خونی شامل هماتوکریت، هموگلوبین، تعداد کل گلبول‌های سفید، تعداد کل گلبول‌های قرمز، نوتروفیل، لنفوسیت و مونوسیت اندازه‌گیری شد (Feldman et al., 2000).

جدول ۲- مقایسه میانگین شاخص‌های خونی در تیمارهای آزمایش بچه ماهی قرمز (*Carassius auratus*).

فاکتورها/ تیمارها	تیمار شاهد	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ۴	تیمار ۵
گلبول‌های سفید (سلول بر میلی‌لیتر $\times 10^4$)	$12/13 \pm 0/18^d$	$14/00 \pm 0/23^c$	$14/05 \pm 0/10^c$	$15/20 \pm 0/34^b$	$15/51 \pm 0/23^b$	$17/10 \pm 0/20^a$
گلبول‌های قرمز (سلول بر میلی‌لیتر $\times 10^6$)	$1/50 \pm 0/05$	$1/49 \pm 0/08$	$1/51 \pm 0/09$	$1/50 \pm 0/10$	$1/53 \pm 0/07$	$1/55 \pm 0/04$
هموگلوبین (گرم بر لیتر)	$7/10 \pm 0/43$	$7/47 \pm 0/23$	$7/30 \pm 0/49$	$6/89 \pm 0/67$	$7/24 \pm 0/47$	$7/36 \pm 0/55$
هماتوکریت (درصد)	$35/52 \pm 0/09$	$35/06 \pm 0/48$	$35/29 \pm 0/19$	$35/17 \pm 0/52$	$35/14 \pm 0/43$	$35/25 \pm 0/64$
لنفوسیت (درصد)	$75/18 \pm 1/40$	$74/55 \pm 1/10$	$75/00 \pm 0/95$	$75/12 \pm 1/43$	$74/79 \pm 1/95$	$75/22 \pm 2/10$
نوتروفیل (درصد)	$12/55 \pm 0/86$	$12/00 \pm 1/24$	$12/07 \pm 0/69$	$13/15 \pm 1/12$	$13/00 \pm 0/58$	$12/29 \pm 1/12$
مونوسیت (درصد)	$5/15 \pm 1/63$	$5/00 \pm 1/39$	$5/23 \pm 2/00$	$6/17 \pm 1/04$	$6/10 \pm 1/37$	$5/14 \pm 1/84$

*حروف غیر مشابه در هر ردیف نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی می‌باشد ($P < 0/05$). *جیره تجاری (تیمار شاهد)، جیره حاوی CFU/g 10^7 پروبیوتیک *L. plantarum* (تیمار ۱)، جیره حاوی 10^5 درصد پتاسیم سوربات (تیمار ۲)، جیره حاوی ۱ درصد پتاسیم سوربات (تیمار ۳)، جیره حاوی ترکیب 10^5 درصد پتاسیم سوربات و 10^7 CFU/g پروبیوتیک *L. plantarum* (تیمار ۴) و جیره حاوی ترکیب ۱ درصد پتاسیم سوربات و 10^7 CFU/g پروبیوتیک *L. plantarum* (تیمار ۵).

سایر تیمارها بود ($P < 0/05$). کمترین میزان گلبول سفید در تیمار شاهد مشاهده شد ولی اختلاف معنی‌داری در میزان گلبول قرمز، هموگلوبین، هماتوکریت، لنفوسیت، نوتروفیل و مونوسیت در بین گروه‌های آزمایشی مشاهده نشد ($P > 0/05$).

بحث

امروزه برای مقابله با مشکلات ناشی از مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها راهکارهای مختلفی از جمله استفاده از مکمل‌های غذایی (پروبیوتیک‌ها، پریبیوتیک‌ها و آنزیم‌ها و ...) پیشنهاد شده است که در بالا بردن توان ایمنی نقش عمده‌ای دارند (Vatsos and Roberts, 2015). نتایج به‌دست آمده از این پژوهش نشان داد که استفاده از مکمل پروبیوتیکی و اسید آلی پتاسیم سوربات به‌صورت معنی‌داری باعث بهبود شاخص‌های رشد از جمله وزن نهایی، افزایش وزن، نرخ رشد ویژه، شاخص وضعیت و ضریب تبدیل غذایی در بچه ماهیان قرمز شد که این نتایج در تیمار ۵ (ترکیب ۱ درصد پتاسیم سوربات و 10^7 CFU/g پروبیوتیک *L. plantarum*) کاملاً مشهود بوده است. 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 که اثرات مفیدی در کاهش باکتری‌های مضر و فراهم کردن شرایط برای رشد باکترهای مفید دارد (از طریق کاهش pH) بر عملکرد رشد اثر می‌گذارند (Rasdhari et al., 2008). پروبیوتیک‌ها هنگام ورود به روده میزبان، به سطح روده متصل شده و از کربوهیدرات‌های موجود در محیط روده برای رشد و تولید شمار زیادی از آنزیم‌های هضم‌کننده، از جمله آمیلازها، پروتئازها و لیپازها استفاده می‌کنند و باعث افزایش هضم‌پذیری مواد غذایی شده، در نتیجه منجر به افزایش رشد و جلوگیری از اختلالات روده می‌شوند (Lara-Flores, 2011) همچنین نقش مثبت اسیدهای آلی در چند مطالعه از قبیل چار قطبی (*S. alpinus*) (Ringo, 1991) و قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) (Pandey and Satoh, 2008) مورد بررسی قرار گرفته است که نتایج مطالعات نشان داده است که کارایی رشد ماهیان را با استفاده از برخی اسیدهای آلی می‌توان بالا

2001).

شاخص‌های خونی ماهیان تحت تاثیر عوامل مختلفی از قبیل گونه، اندازه، سن، شرایط محیطی، رژیم غذایی، کیفیت غذا، ویتامین‌ها و محرک‌های رشد قرار دارد (Merrifield *et al.*, 2010). علت تناقض داده‌های مربوط به اثر محرک‌های رشد روی شاخص‌های خونی می‌تواند موارد ذکر شده باشد. نتایج این مطالعه نشان داد در تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری در تعداد گلبول قرمز، هموگلوبین، هماتوکریت، لنفوسیت، نوتروفیل و مونوسیت وجود ندارد ولی در تعداد گلبول‌های سفید این اختلاف نسبت به گروه شاهد معنی‌دار بود. این نتایج با یافته‌های Akrami و همکاران (۲۰۰۷) روی قزل‌آلای رنگین‌کمان و بررسی Hoseinifar و همکاران (۲۰۱۱) روی فیل ماهیان جوان (*Huso huso*) همخوانی داشت. آن‌ها در مطالعات خود بیان داشتند که افزودن محرک‌های رشد به جیره‌های آزمایشی باعث افزایش معنی‌داری در تعداد گلبول‌های سفید در مقایسه با گروه شاهد (بدون محرک رشد) گردید. Jafarnoudeh و همکاران (۲۰۱۴)، در بررسی اثرات سینرژیستی اسید آلی پتاسیم سوربات و پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازئی (*L. casei*) روی شاخص‌های خونی در بچه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) را انجام دادند. نتایج نشان داد که استفاده ترکیبی از پتاسیم سوربات و پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازئی (*L. casei*) باعث افزایش معنی‌داری در تعداد گلبول‌های سفید در مقایسه با گروه شاهد شد که با نتایج به‌دست آمده در این مطالعه همخوانی داشت. افزایش گلبول‌های سفید می‌تواند به‌عنوان یک واکنش سیستم ایمنی غیر اختصاصی مطرح باشد که انتظار می‌رود این ماهیان دارای مقاومت بیشتری در برابر عوامل استرس‌زا و بیماری‌ها باشند و کاهش تلفات را به‌دنبال خواهد داشت (Firouzbakhsh *et al.*, 2011).

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که استفاده از پتاسیم سوربات و پروبیوتیک *L. plantarum* در جیره غذایی

برد. Ringo و Strom (۱۹۹۴)، بیان نمودند جیره‌های حاوی اسیدلاکتیک و اسید پروپیوتیک باعث افزایش وزن در چار قطبی (*S. alpinus*) در مقایسه با گروه شاهد (فاقد اسید آلی) می‌شود. Sudagar و همکاران (۲۰۱۰)، در بررسی خود گزارش کردند که استفاده از اسید سیتریک (اسید آلی) به‌عنوان ماده جاذب در جیره غذایی فیل ماهیان جوان به میزان ۵، ۱۰ و ۱۵ گرم به ازای هر کیلوگرم جیره (۱۰/۵ و ۱/۵ درصد) باعث افزایش وزن نهایی و بهبود معنی‌دار نرخ رشد روزانه، نرخ رشد ویژه، شاخص وضعیت و کاهش ضریب تبدیل غذایی می‌گردد. Kanani و همکاران (۲۰۱۸)، در بررسی اثرات استفاده مجزا و تلفیقی از نمک پروپیونات سدیم و پروبیوتیک *Pediococcus acidilactici* بر روی برخی از فاکتورهای رشد در بچه ماهی کپور معمولی (*C. carpio*) انجام دادند. نتایج مطالعه آن‌ها نشان داد که استفاده تلفیقی از نمک پروپیونات سدیم و پروبیوتیک *P. acidilactici* باعث بهبود شاخص‌های رشد (وزن نهایی، افزایش وزن، نرخ رشد ویژه، شاخص وضعیت و ضریب تبدیل غذایی) در مقایسه با گروه شاهد شد که با نتایج به‌دست آمده در مطالعه حاضر همخوانی داشت. دلایل مختلفی از جمله نقش اسیدهای آلی در کاهش بار میکروبی مضر در غذای مصرفی، استفاده از اسیدهای آلی در جیره و شروع فرآیند هضم از خود جیره غذایی، کاهش pH معده و عملکرد بهتر پپسین، کاهش باکترهای مضر روده از طریق کاهش pH و متعادل‌سازی فلور میکروبی روده برای افزایش کارایی رشد و تغذیه با استفاده از اسید آلی عنوان شده است (Luckstadt, 2008). همچنین انرژی اسیدهای آلی می‌تواند به‌طور کامل در متابولیسم مورد مصرف قرار گیرد و سلول‌های اپتلیال روده از این مواد می‌توانند به‌عنوان منابع انرژی استفاده کنند و باعث رشد بیشتر سلول‌های انتروسیت روده شوند که افزایش اندازه ریز پرزهای روده و افزایش سطح جذب و به تبع آن کارایی بیشتر غذا را به‌دنبال خواهد داشت (Topping and Clifton, 2001).

ترکیب ۱ درصد پتاسیم سوربات و 10^7 CFU/g پروبیوتیک *L. plantarum* بود. بنابراین استفاده از این ترکیب به طور همزمان در جیره غذایی در بهبود رشد و افزایش تولید ماهی پیشنهاد می‌شود.

بچه ماهی قرمز (*C. auratus*) باعث بهبود شاخص های رشد و افزایش تعداد گلبول های سفید در این ماهی شد. در آزمایش انجام شده مشخص شد که بهترین جیره در میان تیمارهای آزمایش، جیره حاوی

منابع

- freshwater fish, *Labeo rohita*. *Fish & Shellfish Immunology* 34(2), 660-666.
- Hoseinifar S.H., Mirvaghefi A., Merrifield D.L., 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.
- Jafaroudeh A., Tokmechi A., Grami A., Haji Moradlou A., Nouri F. 2014. Synergistic effects of organic acid, potassium sorbate and probiotic *Lactobacillus casei* (*Lactobacillus casei*) on blood indices in Baby rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Applied Fisheries Research* 6, 59-74.
- Kanani A., Shabani A., Safari R. 2018. The effects of separate and combined use of sodium propionate salt and pediococcus acidilactici probiotic on some growth factors in common carp fry (*Cyprinus carpio*). *Quarterly Scientific Journal of Animal Environment Research* 12, 293-298.
- Kumaree K.K., Akbar A., Anal A.K. 2015. Bioencapsulation and application of *Lactobacillus plantarum* isolated from catfish gut as an antimicrobial agent and additive in fish feed pellets. *Annals of Microbiology* 65(3), 1439-1445.
- Lara-Flores M. 2011. The use of probiotic in aquaculture: an overview. *International Research Journal of Microbiology* 2, 471-478.
- Luckstadt C. 2008. The use of acidifiers in fish nutrition. Perspectives in Agriculture, Veterinary Science. *Nutrition and Natural Resources* 3, 1-8.
- Merrifield D.L., Dimitroglou A., Foey A., Ringo E. 2010. The current status and future focus of probiotic and prebiotic applications for salmonids. *Aquaculture* 20, 1-18.
- Mimeault C., Woodhouse A., Rudeau V. 2005. The human lipid regulator, gemfibrozil bioconcentrates and reduces testosterone in the Common carp (*Cyprinus carpio*). *Aquatic Toxicology* 73, 44-54.
- Enferadi M.H.N., Mohammadzadeh F., Soltani M., Bahri A.H., Sheikhzadeh N. Alishahi M., Dezfuly Z., Mohammadian T., Mesbah M. 2018. Effects of two probiotics, *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus bulgaricus* on growth performance and intestinal lactic acid bacteria of *Cyprinus carpio*. *Iranian Journal of Veterinary Medicine* 12(3), 207-218.
- Akrami R., Ghelichi A., 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.
- Castillo S., Rosales M., Pohlenz C., Gatlin D.M. 2014. Effects of organic acids on growth performance and digestive enzyme activities of juvenile red drum *Sciaenops ocellatus*. *Aquaculture* 433, 6-12.
- Eidelsburger U. 1998. Feeding short-chain organic acids to pigs. In: Garnsworthy P.C., Wiseman J. (Eds). Recent Advances in Animal Nutrition. Nottingham University press, Nottingham pp. 93-106.
- FAO. 2002. The state of world fisheries and aquacultures. SOFIA, Rome, Italy.
- Feldman B.F., Zinkl J., Jian N. 2000. Schalm's veterinary hematology, Lippincott Williams and Wilkins publication, Philadelphia, USA, 1750 p.
- Firouzbaksh F., Noori F., Khalesi M.K., 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.
- Flint J.F., 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.
- Ghosh S., Sinha A., Sahu C. 2008. Dietary probiotic supplementation in growth and health of live-bearing ornamental fishes. *Aquaculture Nutrition* 14, 289-299.
- Giri S.S., Sukumaran V., Oviya M. 2013. Potential probiotic *Lactobacillus plantarum* VSG3 improves the growth, immunity, and disease resistance of tropical

- 1071-1075.
- Soltani M., Kane A., Taheri-Mirghaed A., Pakzad K., Hosseini-Shekarabi P. 2019. Effect of the probiotic, *Lactobacillus plantarum* on growth performance and haematological indices of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) immunized with bivalent streptococcosis/lactococcosis vaccine. *Iranian Journal of Fisheries Sciences* 18(2), 283-295.
- Sudagar M., Hosseinpour Z., Hosseini A. 2010. The use of citric acid as attractant in diet of grand sturgeon (*Huso huso*) fry and its effects on growing factors and survival rate. *AAFL Bioflux* 3, 311-316.
- Suryanarayana A.N., Suresh J., Rajasekhar M.V. 2012. Organic acids in swine feeding: a review. *Agricultural Science Research Journals* 2, 523-533.
- Topping D.L., Clifton P.M. 2001. Short-chain fatty acids and human colonic function: roles of resistant starch and nonstarch polysaccharides. *Physiological Reviews* 81(3), 1031-1064.
- Vatsos I.N., Rebours, C. 2015. Seaweed extracts as antimicrobial agents in aquaculture. *Journal of Applied Phycology* 27, 2017-2035
- Verschuere L., Rombaut G., Sorgeloos P., Verstraete W. 2000. Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 64(4), 655-671.
- Vulevic J., Rastall R.A., Gibson G.R. 2004. Developing a quantitation approach for determining the in vitro prebiotic potential of dietary oligosaccharids. *FEMS Microbiology Letters* 236, 153-159.
- Yang S.D., Lin T.S., Liu F., 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.
- Ziaei-Nejad S., Rezaei M.H., Takami G.A., Lovett D.L., Mirvaghefi A.R., Shakouri M. 2006. The effect of Bacillus spp. bacteria used as probiotics on digestive enzyme activity, survival and growth in the Indian white shrimp. *Aquaculture* 252(2-4), 516-524.
2018. Effects of *LactoBacillus plantarum* on growth performance, proteolytic enzymes activity and intestine morphology in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 18(2), 351-356.
- Pandey A., Satoh S. 2008. Effects of organic acids on growth and phosphorus utilization in rainbow trout. *Fisheries Science* 74 (4), 867-874.
- Pandey A., Tyagi A., Khairnar S.O. 2022. Oral feed-based administration of *Lactobacillus plantarum* enhances growth, haematological and immunological responses in *Cyprinus carpio*. *Emerging Animal Species* 3, p.100003.
- Rahmati H.R., Tukmechi A., Meshkini S., Ebrahimi H. 2011. The increase of resistance of Rainbow trout against *Aeromonas hydrophila* and *Yersinia ruckeri* infection using *Lactobacillus* isolated from the intestine of common carp (*Cyprinus carpio*). *Journal of Veterinary of Iran* 2, 26-35.
- Rasdhari M., Parekh T., Dave N., 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.
- Resende J.A., Silva V.L., Fontes C.O., Souza-Filho J.A., de Oliveira T.L.R., Coelho C.M., Diniz C.G. 2012. Multidrug-resistance and toxic metal tolerance of medically important bacteria isolated from an aquaculture system. *Microbes and Environments* 27, 449-455.
- Ringo E. 1991. Effects of dietary lactate and propionate on growth and digesta in Arctic charr (*Salvelinus alpinus*). *Aquaculture* 96, 321-333.
- Ring E., Strom E. 1994. Microflora of arctic charr (*Salvelinus alpinus*) gastrointestinal Microflora of free-living fish and effect diet and salinity on intestinal microflora. *Aquaculture and Fisheries Management* 25, 623-629.
- Romn L., Real F., Sorroza L., 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,

Evaluation of the growth performance and hematological parameters of goldfish fry (*Carassius auratus*) after inclusion of potassium sorbate organic acid and *Lactobacillus plantarum* probiotic to the diet

Reza Nahavandi¹, Mohadeseh Ahmadi², Ebrahim Masoudi², Saeid Tamadoni Jahromi³, Behzad Sarvi⁴, Sajjad Pourmozaffar^{4*}

¹Animal Science Research Institute of Iran (ASRI), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran.

²Department of Ecology, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.

³Persian Gulf and Oman Sea Ecology Research Center, Iranian Fisheries Sciences Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Bandar Abbas, Iran.

⁴Persian Gulf Mollusks Research Station, Persian Gulf and Oman Sea Ecology Research Center, Iranian Fisheries Sciences Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Bandar-e-Lengeh, Iran.

*Corresponding author: sajjad5550@gmail.com

Received: 2023/1/18

Accepted: 2023/1/31

Abstract

A 60-day experiment was carried out to examine the effects of sorbate potassium organic acid and *L. plantarum* probiotic on goldfish (*Carassius auratus*) with a starting weight of 5.11 ± 0.10 g. One control and five treatments were designed, including commercial feed (control), *L. plantarum* probiotic 10^7 CFU/g (T1), sorbate potassium 0.5% (T2), sorbate potassium 1% (T3) sorbate potassium 0.5% and *L. plantarum* probiotic 10^7 CFU/g (T4), and sorbate potassium 1% and *L. plantarum* probiotic 10^7 CFU/g (T5). Each treatment had three replicates. The results indicated the highest final weight, weight gain, specific growth rate, and condition factor observed in T5 (sorbate potassium 1% and *L. plantarum* probiotic 10^7 CFU/g) ($P < 0.05$). The difference between T5 and the other treatments was significant ($P < 0.05$). The lowest FCR was observed in T4 and T5 and the highest were observed in the control treatment ($P < 0.05$). The highest number of white blood cells was observed in T5, which was relatively higher than other treatments ($P < 0.05$). There was no significant difference between treatments in other blood indices ($P > 0.05$). Overall, supplementing sorbate potassium 1% and *L. plantarum* probiotic 10^7 CFU/g to the diets of goldfish are recommended.

Keywords: Goldfish, *L. plantarum*, Sorbate potassium, Growth, Hematological parameters.