Journal of Animal Biology, Summer 2025; 17(4):115-128
ISSN: 1735-9724

Research Article

The Efectiveness of *Micrococcus luteus* Bacteria on Some Blood and Immune Indices of Common Carp Fry

Mehran Avakh Keysami[1]*, Alireza Akbari [1], Hamid Abdullahpour Biria[2], Maryam Avakh Keysami[3]

1- Department of Fisheries and Aquatics, Mirzakochek Khan Fisheries Sciences and Industries Training Unit, Agricultural Research, Education and Extension Organization Rasht, Iran.
2- Department of Fisheries, Tal.C, Islamic Azad University, Talash, Iran
3- Research Department of Experimental Sciences Education, General Directorate of Education, Gilan Province, Bint Al-Hoda Sadr Educational Campus, Rasht, Iran
*Coresponding author: dr.keysami@gmail.com

Received: 10 April 2025 Accepted: 24 June 2025

DOI: 10.60833/ascij.2025.1206510

Abstract

This research was conducted to investigate the effect of *Micrococcus luteus* bacteria on the blood indices, and immunology of common carp fry (Cyprinus carpio) in Mirzakochek Khan Fisheries Science and Industry Training Center and Shahid Ansari Bony Fish Reserve Reproduction and Regeneration Center in Gilan was carried out during May to August 2023. In this experiment, *Micrococcus luteus* isolated from the digestive tract of common carp was fed to commercial pellet food of 300 pieces of common carp juveniles (28.018 ± 2.87) for 8 weeks in a completely randomized design with 5 treatments and 3 replications (20 pieces of fish in each tank) used. Mixing fish feed in the suspension of Micrococcus *luteus*, 5 types of diets with different concentrations of Micrococcus in the pellet including 10^6, 10^7 cells/g were prepared as treatments 1, 2 and control without bacteria. After 56 days of feeding with these treatments, different levels of *Micrococcus luteus* bacteria in the diet of common carp fry increase the amount of The values of hematocrit, red blood cells, and hemoglobin, values of MCV and MCH MCHC, neutrophil and monocyte, sodium, lysozyme, and C3 in treatments 1 and 2 were significantly higher than the control treatment. In this regard, treatment 3 had the highest values, but the amounts of calcium, phosphorus, IGM, and C4 in the control treatments, treatments 1 and 2 did not have a statistically significant difference. There was a significant difference between the number of gram-positive and gram-negative bacteria in the digestive tract and water of the rearing tanks compared to the control treatment ($p < 0.05$). Analysis of the results showed the benefits of using *M. luteus* probiotic in the diet of common carp fry in some cases. *M. luteus* is usually not pathogenic for fish. Therefore, the use of this probiotic in common carp farming to increase the ability deal with diseases is recommended.

Keywords: Common carp, *Micrococcus luteus,* Blood indices, Immune indices.

زیست‌شناسی جانوری، سال هفدهم، شماره چهارم، تابستان ۱۴۰۴، صفحات ۱۲۸-۱۱۵

ISSN:۱۷۳۵-۹۷۲۴

مقاله پژوهشی

اثربخشی باکتری *Micrococcus luteus* بر روی برخی شاخص‌های خونی و ایمنی بچه‌ماهی کپور معمولی

مهران آوخ کیسمی[۱*]، علیرضا اکبری[۱]، حمید عبدالله‌پور بی‌ریا[۲]، مریم آوخ کیسمی[۳]

۱- بخش تحقیقات شیلات و آبزیان، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان گیلان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، ایران

۲- گروه شیلات، واحد تالش، دانشگاه آزاد اسلامی، تالش، ایران

۳- بخش تحقیقات گروه آموزشی علوم تجربی، اداره کل آموزش‌وپرورش استان گیلان، پردیس آموزشی بنت‌الهدی صدر، رشت، ایران

*مسئول مکاتبات: dr.keysami@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۱/۲۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۴/۰۳

DOI: 10.60833/ascij.2025.1206510

چکیده

این تحقیق به‌منظور بررسی تأثیر باکتری *Micrococcus luteus* بر شاخص‌های خونی، ایمنی بچه‌ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در مرکز آموزش علوم و صنایع شیلاتی میرزا کوچک خان و مرکز تکثیر و بازسازی ذخایر ماهیان استخوانی شهید انصاری گیلان در خلال ماه‌های اردیبهشت تا مرداد ۱۴۰۲ انجام شد. در این آزمایش *M. luteus* جداشده از دستگاه گوارش ماهی کپور معمولی به غذای تجاری پلت ۳۰۰ قطعه بچه‌ماهی کپور معمولی (۲/۸۷ ± ۲۸/۰۱۸) به مدت ۸ هفته به‌صورت یک طرح کاملا تصادفی در ۳ تیمار و ۳ تکرار (۲۰ قطعه ماهی در هر تانک) استفاده شد. با مخلوط کردن غذای ماهی در سوسپانسیون *M. luteus* ۳، نوع جیره با غلظت‌های مختلف *M. luteus* در پلت شامل: 10^{6}، 10^{7}سلول در گرم به‌عنوان تیمارهای ۱، ۲ و شاهد بدون باکتری تهیه شد. بعد از ۵۶ روز غذادهی با سطوح مختلف باکتری *M. luteus* در جیره بچه‌ماهیان کپور معمولی مقادیر هماتوکریت، گلبول قرمز خون و هموگلوبین، مقادیر *MCV* و *MCHC MCH* نوتروفیل و مونوسیت، سدیم، لیزوزیم و C_3 در تیمار ۱ و ۲ به شکل معنی‌داری بیشتر از تیمار شاهد بود. در این رابطه تیمار ۱ بیشترین مقادیر را دارا بود. اما مقادیر کلسیم، فسفر، IGM و C4 در تیمار شاهد، تیمار ۲ تفاوت معنی‌دار آماری نداشت. بین تعداد باکتری‌های گرم مثبت و باکتری‌های گرم منفی موجود در دستگاه گوارش و آب تانک‌های پرورش نسبت به تیمار شاهد اختلاف معنی‌دار بود ($p < ۰/۰۵$). نتایج حاصل، فواید استفاده از پروبیوتیک *M. luteus* در جیره غذایی بچه‌ماهیان کپور معمولی را در برخی موارد نشان داد. *M. luteus* معمولاً برای ماهی بیماری‌زا نیست. ازاین‌رو استفاده از این پروبیوتیک در پرورش ماهی کپور معمولی جهت افزایش توان مقابله با بیماری‌ها قابل پیشنهاد است.

کلمات کلیدی: کپور معمولی، *Micrococcus luteus*، شاخص‌های خونی، شاخص‌های ایمنی.

مقدمه

بیماری‌های ماهی، به‌ویژه عفونت‌های باکتریایی، مشکل عمده‌ای است که صنعت پرورش ماهی با آن مواجه است که در حال حاضر با افزایش سالانه حدود ۱۲ درصد به‌سرعت در حال رشد است (۱، ۲). گروه متحرک Aeromonas، به‌ویژه *Aeromonas hydrophila* انواع گسترده‌ای از گونه‌های ماهی‌های

آب شیرین و گاهی اوقات ماهی‌های دریایی را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۳). ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) یک‌گونه مهم برای آبزی‌پروری آب شیرین است و بهبود مدیریت پرورش با افزایش مقاومت این گونه در برابر بیماری‌ها چالش بزرگی است که پرورش‌دهندگان ماهی با آن مواجه هستند. پیشگیری و درمان بیماری با آنتی بیوتیکها می‌تواند باعث ظهور میکروارگانیسم‌های مقاوم به دارو شود و بقایای آنتی‌بیوتیک‌ها را در ماهی و محیط به‌جا بگذارد (٤). علاوه بر این، شیمی‌درمانی ممکن است میکرو فلور طبیعی در دستگاه گوارش را که برای ماهی مفید است، مهار کند (۵، ٦، ۷). چندین استراتژی جایگزین برای استفاده از ضدمیکروبی‌ها پیشنهادشده است، مانند استفاده از پروبیوتیک تا به‌عنوان عوامل کنترل بیولوژیکی، پروبیوتیک به‌عنوان میکروارگانیسم‌های زنده شامل بسیاری از مخمرها و باکتری‌ها تعریف می‌شوند که در صورت تجویز به مقدار کافی می‌توانند رشد و سلامت میزبان را افزایش دهند (۸، ۹). افزودن پروبیوتیک باعث کاهش هزینه‌های پرورش کپور معمولی شده است (٤). مخمر *Saccharomyces cerevisiae* و برخی سویه‌های میکروبی به عنوان پروبیوتیک در آبزی‌پروری استفاده می‌شوند. آنها بیماریزا نیستند، غیرسمی‌اند و می توانند در روده و احشا بقا داشته باشند و در شرایط انبار کردن به مدت طولانی زنده بمانند. امروزه استفاده از پروبیوتیک‌ها به دلیل بهبود تعادل میکروبی روده، هضم و جذب بهتر مواد غذایی در دستگاه گوارش و بهره‌وری بیشتر از مواد غذایی استفاده‌شده و کاهش هزینه و افزایش درآمد در دام‌پروری‌ها، مرغداری‌ها و مراکز آبزی‌پروری رو به افزایش است (٤۹). از پروبیوتیک‌ها به‌عنوان محرک رشد و جهت تحریک سیستم ایمنی استفاده می‌شود (٦). پروبیوتیک‌ها یا میکروارگانیسم‌های زنده به‌عنوان راه‌حلی مطمئن و طبیعی برای کنترل اکوسیستم‌های میکروبیولوژیکی محسوب می‌شوند (۱۰). استفاده از باکتوسل برای پیشگیری از بیماری‌ها بهترین جایگزین استفاده از آنتی‌بیوتیک‌هایی نظیر ارپترومایسین و فلورفنیکل هست (۳). هدف همیشگی تولید آبزیان به حداکثر رساندن کارایی و بازده تولید برای حداکثر سوددهی است. جیره غذایی حاوی پروبیوتیک‌ها نه‌تنها مواد مغذی ضروری را تأمین می‌کند، بلکه می‌تواند یکی از بهترین راهکارها برای حفظ سلامت آبزیان پرورشی و افزایش مقاومت آن‌ها به استرس و عوامل بیماری‌زا باشد. همچنین عملکرد پروبیوتیک‌ها در بهبود محیط آبی از طریق کاهش باکتری‌های بیماری‌زا است. (۱۱). تحقیقات زیادی در خصوص کاربرد باکتری‌های پروبیوتیک در آبزی‌پروری صورت گرفته و برخی از عملکردهای اثبات‌شده در خصوص این باکتری‌ها شامل دفع رقابتی برای سایر باکتری‌ها و همین‌طور بازدارنده‌های پروبیوتیکی برای جلوگیری از کلنی شدن باکتری‌های بیماری‌زا در لوله گوارشی میزبان از طریق ترشح ترکیبات بازدارنده، رشد دیگر باکتری‌ها و یا رقابت برای غذا و مکان و تحریک سیستم ایمنی میزبان در جهت تحمل بهتر محرک‌های محیطی و رشد را می‌توان ذکر کرد (۱۲). افزودن پروبیوتیک‌ها به جیره غذایی ماهی باعث ایجاد تعادل میکروبی روده، ساختن ترکیبات مفید ازجمله ویتامین‌ها و برخی از آنزیم‌ها، تحریک و افزایش کار آیی سیستم ایمنی، افزایش فعالیت‌های گوارشی و آنزیمی و به دنبال آن افزایش رشد و توسعه سطوح غذایی می‌شود (۱۳، ۱٤). پارامترهای هماتولوژی شاخص خوبی برای ارزیابی سلامت ماهی هستند. تجویز پروبیوتیک همراه با جیره غذایی می‌تواند موجب بهبود شاخص‌های خونی و ایمنی در ماهی شود (۷، ۱۵، ۱٦). مطالعات محدودی در ارتباط با تأثیر پروبیوتیک‌ها بر شاخص تعداد گلبول سفید خون

ماهیان انجام‌شده ولی مشخص شده است که تحریک ایمنی با افزایش سطح آنتی‌بادی‌ها ارتباط دارد (١٦) چرا که برخی عوامل سلولی از قبیل عملکرد فاگوسیتوزی گلبول‌های سفید و فعالیت لنفوسیت‌ها نقش مهمی را در سیستم ایمنی ماهی‌ها ایفا می‌کند. دراین‌ارتباط گزارشی پیرامون تنظیم ایمنی گلبول‌های سفید انسان توسط باکتری‌های اسیدلاکتیک موجود است (۱۷). برجسته‌ترین اعضای باکتری‌های پروبیوتیک لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتریا هستند که معمولاً با محصولات لبنی تخمیر شده مرتبط هستند. سایر باکتری‌های پروبیوتیکی شامل *M. luteus*، *coli*، *Escherichia*، *Lactococcus lactis*، *Streptococcus*، *thermophilus*، *Enterococcus durans* و *Bacillus Coagulans* می‌باشند (۳، ۱۸). *M. luteus* جداشده از دستگاه گوارش *Oreochromis niloticus* ظاهراً سالم، برای *O. Niloticus* بی‌خطر بود و اثر آنتاگونیستی علیه باکتری بیماری‌زا *Aeromonas hydrophila* عامل سپتی سمی Aeromonas در ماهیان آب شیرین داشت (۱۵). به‌طورکلی، باکتری *M. luteus* به دلیل ویژگیهایی که دارد، به‌طور متعدد برای تخمیرهای مختلف مواد غذایی مورد استفاده قرارگرفته است و حتی در پیشگیری از رشد باکتری‌های مضر، کمک می‌کند (۱۹، ۲۰، ۲۱). همچنین بسیاری از باکتری‌ها (باسیل‌ها، باکتری‌های اسیدلاکتیک و سودوموناداها) به‌عنوان پروبیوتیک برای حیوانات آبزی ارزیابی‌شده‌اند (۲۲، ۲۳، ۲٤، ۲۵، ۲٦). اما جستجو برای میکروارگانیسم‌های جدیدی که به‌عنوان پروبیوتیک مورداستفاده قرار گیرند همچنان در اولویت است. بنابراین، مطالعه حاضر به‌منظور بررسی تأثیر باکتری *M. luteus* بر شاخص‌های خونی، ایمنی بچه‌ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در مرکز آموزش علوم و صنایع شیلاتی میرزا کوچک خان و مرکز تکثیر و بازسازی ذخایر ماهیان استخوانی شهید انصاری گیلان در خلال ماه‌های اردیبهشت تا مرداد ۱٤۰۲ انجام شد.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق *M. luteus* جداشده از دستگاه گوارش ماهی کپور معمولی به غذای تجاری پلت ۳۰۰ قطعه بچه‌ماهی کپور معمولی (۲,۸۷±۲۸,۰۱۸) به مدت ۸ هفته به‌صورت یک طرح کاملاً تصادفی در۳ تیمار و ۳ تکرار (۲۰ قطعه ماهی در هر تانک) استفاده شد. غذای تجاری مورداستفاده در این آزمایش از شرکت آتا تهیه گردید. باکتری پروبیوتیک مورداستفاده در این آزمایش از آزمایشگاه مرکز میرزا کوچک خان از محل پروژه تخصصی رشته کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی آبزیان که قبلاً بروس‌های بیوشیمیایی و ملکولی شناسایی گردیده بود تهیه شد .این فرآورده میکروبی، *M. luttius* بود و کشت‌های باکتریایی در محیط کشت (TSA) در ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت 24 ساعت انکوبه شد و پس‌ازآن تعداد پرگنه های تشکیل‌شده در هر پلت شمارش و تعداد به ازای هر میلی‌لیتر تعیین گردید (۲۷). از هر یک از سوسپانسیون‌های مای تهیه‌شده با سمپلر برداشته و پس از اضافه نمودن آب مقطر و ۲ غلظت از باکتری تهیه شد (10^{6} و 10^{7} سلول/گرم). ریزپوشانی باکتری‌ها با آلژینات سدیم در شرایط ا ستریل و به روش امولسیون انجام شد (۲۸، ۲۹). جیره‌های تهیه‌شده به‌خوبی با این غلظت‌ها هم زده‌شده و سپس در آون با دمای ٤۰ درجه سانتی‌گراد در مدت ۵ ساعت خشک گردیدو با ۱۰ درصد رطوبت بر اساس برنامه زمان‌بندی غذایی در اختیار لاروها قرار گرفت (۳۰). جیره بجه ماهیان کپور معمولی در تیمار شاهد با استفاده از فرآیند ذکرشده ساخته شد، ولی به آن‌ها *M. luteus* پروبیوتیکی اضافه نگردید. بچه‌ماهی‌های کپور معمولی به‌منظور سازگاری با شرایط آزمایش به مدت ۳ روز ۳ وعده

در روز با غذای پلت (کارخانه آتا) غذادهی شده و در شرایط آزمایش نگهداری شدند. طی دوره آزمایش، تلفات به‌طور روزانه شمارش و ثبت می‌شد. کیفیت آب به‌طور روزانه اندازه‌گیری شد. درجه حرارت و pH به‌وسیله یک دستگاه pH متر و درجه حرارت‌سنج YSI اندازه‌گیری گردید. اکسیژن محلول نیز با اکسیژن متر YSI، مدل ۵V (USA) و آمونیاک با استفاده از آمونیاک سنج هانا، (HI ۹۳۷۱۵ ,Taiwan) اندازه‌گیری گردید. پس از اتمام دوره پرورش ماهیان موجود در هر تیمار شمارش و با استفاده از فرمول زیر درصد بازماندگی هر یک از تیمارها و تکرارها محاسبه شد.

۱۰۰ × تعداد ماهی در ابتدای دوره/تعداد ماهی در پایان دوره= درصد بقاء ماهی (٪)

تعیین تعداد کلنی‌های باکتریایی: به‌منظور بررسی تغییرات در تشکیل کلنی باکتریایی در انتهای دوره نمونه‌برداری انجام شد. ابتدا دو روز قبل از نمونه‌برداری تغذیه ماهیان قطع‌شده و در ادامه از هر تکرار ۳ عدد ماهی به‌طور تصادفی گرفته شد. از هرکدام از آکواریوم‌ها نمونه آب و ۳ عدد ماهی نمونه‌برداری شده و از روده و معده آن‌ها برای کشت و شمارش باکتریایی نمونه‌برداری گردید. شمارش باکتریایی با تهیه رقت‌های سریالی در محلول نرمال سالین (۸/۵ گرم در لیتر نمک طعام) در۱۰ رقت و سپس در نوترینت آگار TSA پخش گردید. بعد از ۲٤ تا ٤۸ ساعت از پرورش کشت باکتریایی در دمای ۳۲ درجه سانتی‌گراد پرگنه‌های رشدیافته شمارش و ثبت گردیدند (۱۸). شمارش توسط دستگاه کلنی‌کانتر و شناسایی مجدد باکتری جداسازی شده به روش‌های شیمیایی و مولکولی انجام گرفت (۳۰).

سنجش شاخص‌های خون‌شناسی: در پایان دوره، آزمایش، فاکتورهای خون‌شناسی شامل هماتوکریت (Hct)، میزان گلبول‌های سفید (WBC)، میزان گلبول‌های قرمز (RBC)، مقدار هموگلوبین (Hb)، میانگین حجم یک گلبول قرمز (MCV)، میانگین هموگلوبین یک گلبول قرمز (MCH)، میانگین درصد غلظت هموگلوبین در یک گلبول قرمز (MCHC) و پارامترهای بیوشیمیایی خون شامل سدیم، فسفر و کلسیم در تعداد ۵ عدد ماهی از هر مخزن (صید تصادفی) اندازه‌گیری شد (۳۱). پس از بی‌هوش نمودن ماهی‌ها به‌وسیله پودر گل میخک (ppm۲۵۰)، خون‌گیری از سیاهرگ وریدی انتهای باله انجام شد. ۰/۵ میلی‌لیتر خون در سرنگ ۲ میلی‌لیتری هپارینه جهت بررسی‌های خون‌شناسی و با استفاده از سرنگ پلاستیکی ۲ میلی‌لیتری فاقد ماده ضدانعقاد، ۱/۵ میلی‌لیتر خون جهت شاخص‌های بیوشیمیایی برداشت و در ظروف اپندورف نگهداری شد. برای جداسازی سرم، نمونه‌های خون به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱٦۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. سرم جداسازی شده تا زمان اندازه‌گیری پارامترهای بیوشیمیایی، در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

تعیین هماتوکریت (Hct): از روش میکرو هماتوکریت استفاده شد (۳۲).

تعیین مقدار هموگلوبین (Hb): از روش سیانومت هموگلوبین و دستگاه Sysmexlys استفاده شد (۲٤). جذب نوری با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول‌موج ٥٤۰ نانومتر خوانده شد. درنهایت، مقدار هموگلوبین نمونه‌ی موردنظر با توجه به منحنی استاندارد و بر اساس رابطه‌ی زیر برحسب گرم/دسی-لیتر تعیین گردید.

$$Hb\ (g\ dL^{-1}) = (OD\ \text{نمونه}/OD\ \text{استاندارد}) \times \text{غلظت استاندارد}$$

شمارش گلبول قرمز (RBC): از هماتوسیتومتر استفاده شد. عدسی میکروسکوپ با بزرگ‌نمایی ٤۰ روی مربع ۲۵ تایی تنظیم گردید و گلبول‌های موجود در ٤ مربع کوچک کناری و ۱ مربع کوچک وسطی از ۲۵ مربع کوچک شمارش شد (۳۱).

تعیین شاخص‌های گلبول قرمز: میانگین حجم یک گلبول قرمز (**MCV**)، میانگین هموگلوبین یک گلبول قرمز (**MCH**) و میانگین درصد غلظت هموگلوبین در یک گلبول قرمز (**MCHC**) بر اساس روابط زیر محاسبه شد (۳۱).

[تعداد گلبول‌های قرمز (۱۰۰۰۰۰۰ در میلی‌متر مکعب)/ هماتوکریت (درصد)] ×۱۰ = (فمتولیتر) MCV

[تعداد گلبول‌های قرمز (۱۰۰۰۰۰۰ در میلی‌متر مکعب)/ هموگلوبین (گرم/دسی‌لیتر)] ×۱۰ = (پیکوگرم در سلول) MCH

[هماتوکریت (درصد)/ هموگلوبین (گرم/دسی‌لیتر)] ×۱۰۰ = (گرم/دسی‌لیتر) MCHC

شمارش گلبول سفید (WBC): شمارش تعداد گلبول‌های سفید، با استفاده از پیپت حباب‌دار (ملانژور) سفید (مخصوص شمارش گلبول‌های سفید) صورت گرفت.

تعیین درصد افتراقی گلبول‌های سفید: یک قطره از نمونه‌ی خون در یک سانتی‌متری انتهای لام قرار داده شد و لبه‌ی لام دیگر با زاویه‌ی ۳۰ تا ٤۵ درجه بر روی قطره‌ی خون قرار گرفت. وقتی خون در سراسر لبه‌ی لام ۲ (فصل مشترک ۲ لام) انتشار یافت، با ۱ فشار ملایم و با سرعت یکنواخت، لام ۲ در سطح لام ۱ به سمت جلو حرکت داده و یک گسترش شعله مانند ایجاد شد. پس از خشک شدن کامل گسترش خونی در هوای آزمایشگاه، خون‌روی لام توسط الکل متانول خالص تثبیت شد. در پایان با محلول گیمسا رنگ‌آمیزی شد. پس‌ازآن لام‌ها با آب شستشو و در دمای اتاق خشک شد. برای شمارش گلبول‌های سفید از میکروسکوپ نوری با عدسی ۱۰۰ و روغن ایمرسیون استفاده شد. برای این کار قسمتی از گسترش که دارای ۱لایه‌ی سلولی و رنگ‌آمیزی بهتر بود زیر عدسی قرار گرفت و شمارش به‌صورت مارپیچی تا رسیدن تعداد سلول‌ها به عدد ۲۰۰ انجام شد. سرانجام درصد هر ۱ از گلبول‌های سفید خون محاسبه شد (۳۱، ۳۳).

اندازه‌گیری پروتئین کل، آلبومین و گلوبولین: مقدار پروتئین کل و آلبومین با واحد گرم/دسی‌لیتر به روش رنگ‌سنجی و با استفاده از کیت زیست‌شیمی (تهران، ایران) و دستگاه اسپکتروفتومتر به ترتیب با طول‌موج ٥٤٦ نانومتر و ۵۸۵ نانومتر موردسنجش قرار گرفت. مقدار گلوبولین با تفریق میزان آلبومین از پروتئین کل برای هر نمونه محاسبه شد (۳٤).

اندازه‌گیری یون‌های سدیم، کلسیم و فسفر: یون سدیم با واحد میلی‌مول بر لیتر به روش شعله سنجی با فلیم فتومتر اندازه‌گیری شد (۵). سنجش مقدار کلسیم برحسب واحد میلی‌گرم/دسی‌لیتر به روش رنگ‌سنجی و با استفاده از کیت مربوطه صورت گرفت و برای اندازه‌گیری میزان جذب نوری از دستگاه اسپکتروفتومتر با طول‌موج ۵۰۰ نانومتر استفاده خواهد شد. مقدار فسفر با استفاده از کیت مربوطه به روش فتومتریک و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر با طول‌موج ۳٤۰ نانومتر و با واحد mg dl^{-1} اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری کمپلمان‌های C3 و C4: بر اساس همولیز گلبول‌های قرمز گوسفند (SRBC) و با روش Al-Dohail و همکاران (۲۰۰۹). اندازه‌گیری شد (۵).

IgM: از روش‌ایمونوتوربیدی‌متریک استفاده شد.

میزان فعالیت لایزوزیم: از روش Clerton و همکاران (۲۰۰۱) استفاده شد. از لایزوزیم استخراج‌شده از سفیده‌ی تخم‌مرغ برای تهیه‌ی منحنی استاندارد استفاده شد. هر واحد از فعالیت لایزوزیم بر اساس کاهش جذب (۰/۰۰۱ در دقیقه) تعیین و نتایج برحسب u ml^{-1} min^{-1} محاسبه شد (۳۱).

تجزیه‌وتحلیل آماری: از نرم‌افزار SPSS 21 و آزمون نرمال بودن الگوی پراکنش داده‌ها و نیز آنالیز واریانس یک‌طرفه (تست توکی)، کروسکال والیس و من ویتنی (بررسی وجود تفاوت بین گروه شاهد و

تیمارها) و آزمون نا پارامتریک مربع کای (بررسی تفاوت درصدها) استفاده شد.

نتایج

نتایج شمارش باکتری در گروه های تیمار و شاهد در شرایط آزمایشگاهی در جداول ۱ و ۲ بیان گردیده است. بر اساس در بررسی‌های انجام‌شده در مورد تعداد باکتری‌های موجود در دستگاه گوارش بچه-ماهیان کپور مشاهده گردید که تعداد کل باکتری‌ها در همه تیمارها ثابت بوده و تفاوت آن‌ها در تعداد باکتری‌های گرم‌مثبت و گرم‌منفی هست در باکتری‌های گرم‌مثبت بیشترین تعداد باکتری‌ها در تیمارهای ۱ و ۲ مشاهده گردید. کمترین تعداد باکتری‌های گرم‌مثبت و بیشترین تعداد باکتری‌های گرم‌منفی در تیمار شاهد مشاهده گردید. کمترین تعداد باکتری‌های گرم‌منفی در تیمارهای۱ و ۲مشاهده گردید. با توجه به آمارها و بررسی‌های انجام‌شده افزایش مقدار باکتری *M. luteus* در جیره غذایی بچه-ماهیان کپور معمولی باعث افزایش تعداد باکتری‌های گرم‌مثبت در دستگاه گوارش گردید که این امر می‌تواند باعث افزایش مقاومت ماهی‌ها در مقابل بیماری‌ها و افزایش تولید ماهی کپور در مزارع گردد. با بررسی‌های انجام‌شده از آب مخازن پرورش بچه-کپور ماهیانی که با جیره‌های حاوی باکتری *M. luteus* تغذیه‌شده بودند و گروه شاهد که فاقد باکتری *M. luteus* در جیره غذایی بود مشخص گردید آب مخازنی که بچه‌ماهیان کپور معمولی با جیره‌های حاوی این باکتری تغذیه‌شده بودند و یا جیره آن‌ها فاقد باکتری *M. luteus* بود تعداد باکتری‌های کل در مخازن تقریباً باهم برابر بود و اختلاف آن‌ها در تعداد باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت بود. در مخازنی که در جیره غذایی آن‌ها در صد باکتری *M. luteus* بالاتر بود تعداد باکتری‌های گرم‌مثبت بیشتر گردید. تیمار شاهد که جیره غذایی بچه‌ماهیان کپور آن‌ها فاقد باکتری *M. luteus* بود تعداد باکتری‌های گرم منفی در آن‌ها به حداکثر رسیده بود. با بررسی‌های انجام‌شده به نظر می‌رسد که افزایش مقدار باکتری *M. luteus* در جیره غذایی باعث افزایش تعداد باکتری‌های گرم مثبت در آب مخازن پرورش گردید که این غلبه و افزایش تراکم *M. luteus* بود که باعث رشد باکتری‌های مفید و بهبود شرایط پرورش گردید. در آنالیز آماری نتایج به‌دست‌آمده از بررسی متغیرهای فیزیکو شیمیایی آب بین تیمارها و تکرارها اختلاف معنی‌دار نبود. متغیرهای فیزیکوشیمیایی درجه حرارت، اکسیژن محلول، pH و آمونیاک به ترتیب در محدوده ۳۰-۲۶ درجه سانتی‌گراد، ۸/۷-۷/۳ میلی‌گرم/لیتر، ۷/۲۷-۷/۲ و ۰/۰۲-۰/۰۱۱ میلی‌گرم/لیتر به دست آمد. نتایج به‌دست‌آمده نرمال بوده و در محدوده کیفیت مناسب پرورش بچه‌ماهی کپور معمولی بود (۵۱). بین کیفیت آب گروه‌های تیمار شاهد اختلاف معنی‌دار مشاهده نگردید و بین کیفیت آب تیمارهای مختلف نیز اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده نشد ($p > ۰/۰۵$). بررسی فاکتورهای خون‌شناسی و بیوشیمیایی خون و درصد بقاء بچه-ماهی کپور معمولی تحت‌تغذیه با تیمار حاوی *M. luteus* و شاهد در مدت ۸ هفته پرورش اختلاف معنی‌دار آماری در افزایش کیفیت این فاکتورها و درصد بقاء بچه‌ماهی‌ها نسبت به شاهد نشان داد (جدول ۳، $p < ۰/۰۵$).

جدول۱- لگاریتم تعداد باکتری‌های شمارش‌شده از دستگاه گوارش کپور معمولی تغذیه‌شده با غلظت‌های مختلف *M. luteus* در گروه‌ها

Table 1. Logarithm of bacteria counted from the digestive tract of common carp fed with different concentrations of *M. luteus* bacteria in groups

Variable	Control	Treatment1	Treatment2
Logarithm of total bacterial counted (CFU/g)	7.8 [a]	7.9 [a]	7.9[a]
Logarithm of Gram-positive bacteria counted (CFU/g)	1 [a]	7.5[b]	7.5[b]
Logarithm of Gram-negative bacteria counted (CFU/g)	5.9 [a]	2.01 [b]	2.01 [b]

حروف غیر همسان لاتین در هر ردیف نشانه اختلاف معنی‌دار است (p < ۰/۰۵)، کنترل (تغذیه‌شده با غلظت صفر سلول *M. luteus* در گرم غذا)، تیمار ۱ (تغذیه‌شده با غلظت 10^6 سلول *M. luteus* در گرم غذا)، تیمار ۲ (تغذیه‌شده با غلظت 10^7 سلول *M. luteus* در گرم غذا)

Non-identical Latin letters in each row indicate significant differences (p < 0.05). Control (fed with zero concentration of *M. luteus* cells per gram of food), treatment 1 (fed with a concentration of 10^6 *M. luteus* cells/g of food), treatment 2 (fed with a concentration of 10^7 M. luteus cells per gram of food)

جدول ۲- لگاریتم تعداد باکتری‌های شمارش‌شده از مخزن آب کپور معمولی تغذیه‌شده با غلظت‌های مختلف *M. luteus* در گروه‌ها

Table 2. Logarithm of bacteria counted from the water tank of common carp fed with different concentrations of *M. luteus* bacteria in groups

Variables	Control	Treatment1	Treatment2
Logarithm of total bacterial counted (CFU/ml)	5.9 [a]	5.9 [a]	5.9 [a]
Logarithm of Gram-positive bacteria counted (CFU/ml)	1 [a]	5.01 [b]	4.09 [b]
Logarithm of Gram-negative bacteria counted (CFU/ml)	5.3 [a]	2.3 [b]	2.3 [b]

جدول ۳- فاکتورهای خون‌شناسی، پارامترهای بیوشیمیایی خون و درصد بقاء بچه‌ماهی کپور معمولی (میانگین ± انحراف معیار)

Table 3. Hematological factors, blood biochemical parameters and survival rate of common carp fry (Mean ± SD)

Variables	Control	Treatment1	Treatment2
RBC (Number in microliters x 10^6)	15016 ± 6251 [b]	16071 ± 6052 [a]	15423 ± 3516 [b]
WBC(Number in microliters x 10^3)	521 ± 156 [b]	732 ± 251 [a]	731 ± 225 [a]
Hb(g/dl)	7.6 ± 0.2[b]	8.6 ± 0.1[a]	8 ± 0.1[b]
Hct(%)	35.2±0.77 [b]	39.4±0.5 [a]	37.1±0.92 [a]
MCV(fl)	267 ± 3.2[b]	273 ± 0.9[a]	269 ± 0.5[b]
MCH(pg)	51 ± 0.5[b]	55 ± 0.1[a]	54.4 ± 0.5[b]
MCHC(g/dl; %)	20.4 ± 0.1a	20.5 ± 0.1a	20.4 ± 0.1a
Neutrophil(%)	18 ± 0.9[b]	24.8 ± 0.9[a]	24.8 ± 1.2[a]
lymphocyte(%)	71 ± 0.6[b]	78.6 ± 0.5[a]	78.4 ± 0.5[a]
Monocyte(%)	3.4 ± 0.5 [b]	4 ± 0.0 [a]	4.1± 0.5 [a]
Na (mg/dl)	134 ± 0.38 [b]	140 ± 1.2 [a]	136 ± 1.7 [b]
C3(mg/dl)	12.4 ± 0.5 [b]	15.4 ± 0.5 [a]	15.8 ± 1 [a]
C4(mg/dl)	8 ± 0.0 [b]	12 ± 0.0 [a]	12.08 ± 1 [a]
Lysozyme(u/ml/min)	13.6 ± 1 [b]	16.6 ± 1.2 [a]	16.4 ± 1 [a]
Ca(mg/dl)	11 ± 0.0 [b]	12 ± 1 [a]	12 ± 0.5 [a]
P (mg/dl)	13.6 ± 1 [b]	15 ± 0.5 [a]	15 ± 0.0 [a]
IGM(mg/dl)	19.6 ± 0.5 [b]	23 ± 1.3 [a]	24 ± 1.8 [a]
Survival percentage (%)	85.3 ± 0.17 [b]	97.5 ± 1.19 [a]	83.3 ± 0.97 [b]

حروف غیر همسان لاتین در هر ردیف نشانه اختلاف معنی‌دار است (p < ۰/۰۵). هماتوکریت (Hct)، میزان گلبول‌های سفید (WBC)، میزان گلبول‌های قرمز (RBC)، مقدار هموگلوبین (Hb)، میانگین حجم یک گلبول قرمز (MCV)، میانگین هموگلوبین یک گلبول قرمز (MCH)، میانگین درصد غلظت هموگلوبین در یک گلبول قرمز (MCHC)

Non-identical Latin letters in each row indicate significant differences (p < 0.05). Hematocrit (Hct), White Blood Cell Count (WBC), Red Blood Cell Count (RBC), Hemoglobin (Hb), Mean Red Blood Cell Volume (MCV), Mean Cell Hemoglobin (MCH), Mean Cell Hemoglobin Concentration percentage (MCHC)

بحث

نتایج ٥٦ روز غذادهی با غذای حاوی *M. luteus* تأثیر معنی‌داری بر تعداد زیادی از فاکتورهای خون‌شناسی بچه‌ماهی کپور معمولی داشت. *M. luteus* در تجزیه مواد آلی در سیستم های آبی نقش دارد که ممکن است به چرخه مواد مغذی کمک کند. این می تواند کیفیت آب را افزایش داده و محیط سالم تری را برای کپور معمولی ایجاد کند. گونه‌های خاصی از میکروکوکوس می‌توانند مواد محرک رشد تولید کنند یا باکتری‌های بیماری‌زا را مهار کنند و به طور بالقوه برای ماهی‌ها در اکوسیستم آنها مفید باشند. *M. luteus* معمولاً برای ماهی بیماری زا نیست و برایند این خواص در کاهش استرس آبزی پرورشی موثر است (۹، ۳۲). *M. luteus* انواع مختلفی از پروتئاز و سایر انواع آنزیم‌ها را تولید می‌کند که می‌تواند انواع مواد آلی و مواد غذایی را تجزیه نموده و به مواد مغذی قابل‌جذب تبدیل کند. از طرف دیگر *M. luteus* با تولید مواد آنت باکتریال و رقابت در جذب املاح غذایی و حتی با ازدیاد و تجمع باکتری‌های پاتوژن در دستگاه گوارش لارو جلوگیری می کند(۳۵). در این تحقیق جیره با سطح 10^6 سلول در گرم غذا به‌طور معنی‌داری از سایر سطوح *M. luteus* در تیمارها و شاهد اثربخش‌تر بود. اثربخشی پروبیوتیک در سطح 10^6 توسط مطالعات متعددی تائید گردید (۳٦، ۳۷، ۳۸). تاثیر کمتر در سطح بالاتر *M. luteus* در تیمار ۲، قبلاً در تحقیق Panigrahi و همکاران (۲۰۰٤) تائید گردیده بود (۳۹) که در آن اثربخشی پروبیوتیکی لاکتوباسیلوس، وقتی‌که غلظت باکتری بالاتر رفت کاهش پیدا کرد. در اینکه چرا غلظت پائین تر باکتری اثربخشی بالاتری نشان داد شاید تاثیر کمتر در غلظت بالاتر به جنبه‌های محیط زیستی آبزی مربوط باشد، زیرا افزایش غلظت باکتری در آب استرس‌زا بوده و میزان تغذیه لارو را کاهش می‌دهد. این مطالعه نشان داد که غلظت پروبیوتیک به‌منظور جلوگیری از مصرف میزان بالا و درنتیجه کاهش اثربخشی و افزایش هزینه تولید باید به‌خوبی و با دقت بکار برود (۳۰). نتایج شمارش باکتری‌ها در لاشه بچه‌ماهی‌های کپور معمولی و آب مخازن پرورش اختلاف معنی‌داری را بین باکتری‌های تیمارها و شاهد نشان داد (p <۰/۰۵). تراکم باکتری‌های گرم منفی در گروه شاهد از گروه‌های تیمار بالاتر بود، این شاید بدین دلیل باشد که *M. luteus* به مقدار زیادی مواد آنت باکتریال و ترکیبات آنتی‌بیوتیکی در محیط پرورش خود رهاسازی می‌کند (۱۸، ۳۲، ٤۰). *M. luteus* تولید آنتی‌بیوتیک‌هایی می‌کند که می‌تواند طیف وسیعی از باکتری‌های هوازی و بی‌هوازی را از بین ببرد (۳۲). همچنین *M. luteus* تولید بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌های معمول همچون باکتریوسین می‌کند (٤۱). بنابراین به نظر می‌رسد که باکتری‌های گرم منفی در تیمارها به‌وسیله باکتری‌های *M. luteus* کشته‌شده و با *M. luteus* جایگزین شده باشد (٤۲). افزایش تراکم *M. luteus* در لاشه بچه‌ماهی‌ها و آب مخازن پرورش تیمار در این تحقیق می‌تواند نشان‌دهنده تجمع و جاگیری *M. luteus* در بدن بچه‌ماهی‌ها و آب مخازن باشد. به نظر می‌رسد باکتری‌هایی که بتوانند در دستگاه گوارش بچه‌ماهی‌ها غالب شوند و تجمع یابند شاید گزینه خوبی برای حذف باکتری‌های بیماری‌زا از دستگاه گوارش آبزی و شروع فعالیت پروبیوتیکی باشند (۳٦، ٤۲، ٤۳). نتایج حاصل از آنالیز آماری داده‌های این تحقیق نشان داد که استفاده از پروبیوتیک *M. luteus* تأثیر معنی‌داری بر تعداد زیادی از فاکتورهای خونی و ایمنی بچه‌ماهی کپور معمولی داشت. در مطالعه حاضر گروه‌های تیمار تغذیه‌شده با *پروبیوتیک* نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌دار در تعداد گلبول قرمز خون، هموگلوبین و هماتوکریت

نسبت به گروه شاهد یافته است که با بررسی اثر *Carnobacterium* بر پارامترهای خونی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، Khattab و همکاران (۲۰۰٦)، بررسی اثر پروبیوتیک *Micrococcus luteus* و *Psuedomonas* بر پارامترهای خونی ماهی تیلاپیا *Oreochromis niloticus* شباهت دارد (۲۱). Ferguson و همکاران (۲۰۱۰) نشان دادند که کاهش معنی‌داری در حجم هماتوکریت در ماهیان تغذیه‌شده با پروبیوتیک *Pediococcus acidilactici* مشاهده می‌شود ولی در مورد تعداد گلبول قرمز و حجم هموگلوبین، تفاوت معنی‌داری وجود نداشت (۲۵). افزایش تعداد گلبول قرمز و درنتیجه کاهش اندازه آن، نشان‌دهنده کاهش مسیر انتشار اکسیژن به بافت‌هاست، به‌عبارت‌دیگر، با افزایش غلظت گلبول قرمز، قابلیت جذب بیشتر اکسیژن از آب‌شش و انتشار اکسیژن در بافت‌ها بالاتر می‌رود (٤٤). میزان کمتر هموگلوبین و به‌تبع آن کاهش ظرفیت حمل اکسیژن، ممکن است منجر به کاهش سطح اکسیژن خون در ماهیان گروه شاهد، شده که به‌تبع آن، ماهیانی که تنها از جیره پایه بدون افزودن پروبیوتیک تغذیه می‌شدند، ممکن است توانایی محدودتری در تأمین اکسیژن در شرایط غیر بهینه که نیاز به اکسیژن افزایش می‌یابد ازجمله دمای بالا، تراکم بستر و غیره (داشته باشند. میزان فعالیت ماهی، تغییرات فصلی، دمای آب، درجه شوری، آلودگی آب، سن و تغذیه ماهی بر غلظت هموگلوبین خون مؤثرند (٤۵). گروه‌های تغذیه‌شده با پروبیوتیک مقدار گلبول قرمز و هموگلوبین بالاتری نسبت به گروه شاهد داشتند و تقریباً تمامی اکسیژن خون به‌وسیله هموگلوبین گلبول‌های قرمز انتقال می‌یابد. هموگلوبین ۹۵ درصد از کل پروتئین داخل سلولی گلبول قرمز را شامل می‌شود. ازاین‌رو شباهت الگوی تغییرات میزان گلبول‌های قرمز و هموگلوبین خون توجیه‌پذیر است. تلقیح باکتری‌های اسیدلاکتیک موجب افزایش لنفوسیت‌ها می‌شود که آثار مفید این عمل منجر به افزایش مقاومت آبزی در برابر بیماری‌ها است (٤٦). دیواره سلولی گلیکوپپتیدی باسیلوس‌ها ممکن است از طریق فعال‌سازی لنفوسیت‌ها به افزایش پاسخ ایمنی موجود آبزی منجر شود (٤۷). تحریک سلولی (افزایش لنفوسیت‌ها، گلبول سفید و کل تعداد ماکروفاژها و افزایش بیگانه‌خواری) بیش تر از ایمنی هومورال دارای اهمیت است (۱٦). همچنین ماکروفاژهای تیمار پروبیوتیکی نسبت به گروه شاهد توانایی بیش‌تری برای بیگانه‌خواری دارند (۱۵). افزودن پروبیوتیک به خوراک آبزیان موجب کاهش تعداد گلبول‌های قرمز می‌شود کاهش تعداد گلبول‌های قرمز و هماتوکریت تیلاپیای آلوده‌شده به پاتوژن *Mycobacterium marinum* می‌تواند به گسترش هیپوکرومیک و آنمی میکروسیتیک منجر شود (۱۷). بر اساس نتایج این تحقیق، استفاده از پروبیوتیک *M. luteus* تأثیر معنی‌داری بر افزایش مقادیر هموگلوبین خون بچه‌ماهیان کپور معمولی داشت. در تحقیق، Al-Dohail و همکاران (۲۰۰۹) بر روی گربه‌ماهی آفریقایی نیز این نتیجه حاصل شد (۵). افزایش سطح فاکتورهای خون‌شناسی موردسنجش در این آزمایش می‌تواند به‌عنوان شاخصی جهت بهبود سیستم ایمنی ماهی کپور معمولی به دنبال تغذیه با جیره حاوی پروبیوتیک لاکتوباسیلوس باشد (٤۸). کامپلمنت‌ها از اصلی‌ترین اجزای پاسخ هومورال هستند که در بروز خطر در سیستم ایمنی نقشی مهم دارند. لایزوزیم یک آنزیم کاتیونی است که توانایی تجزیه انواع باکتری‌های گرم مثبت را دارد. همچنین نقشی مهم در ترکیب با کامپلمنت برخی باکتری‌های گرم منفی دارد (٤۹). بر اساس نتایج تحقیق Abd El-Rhman و همکاران (۲۰۰۹) از انواع عملکردهای پروبیوتیک‌ها، تحریک پاسخ ایمنی خونی و سلولی است (۱). نتایج حاصل از بررسی فعالیت آلترناتیو

کمپلمان C3 و C4 نشان داد که میزان C3 در گروه تغذیه‌شده با پروبیوتیک *M. luteus* بیشترین مقدار را داشت درحالی‌که در گروه شاهد و تیمار ۲ مقادیر کمتر بود. این نتیجه بیانگر تأثیر نسبی و مثبت پروبیوتیک *M. luteus* بر فعالیت کامپلمنت‌های هموارل کپور معمولی است. همچنین نتایج تحقیق حاضر نشان‌دهنده تأثیر مثبت پروبیوتیک مورداستفاده بر افزایش مقادیر لایزوزیم هموارل بود. درعین‌حال مقدار این متغیر در تیمار تغذیه‌شده با پروبیوتیک *M. luteus* به شکل معنی‌داری بیشتر از تیمار شاهد و تغذیه‌شده با تیمار۲ بود. لایزوزیم در گلبول‌های سفید تولید می‌شود و کم‌تر تولید شدن این عامل دفاعی در تیمار مورد تغذیه با جیره شاهد می‌تواند به دلیل تأثیر تحریکی این پروبیوتیک بر سیستم ایمنی بچه‌ماهیان کپور معمولی باشد (۱). مقادیر IgM (شاخص ارزیابی واکنش ایمنی‌شناختی خون) در گروه تیمار ۱ و ۲ بیشتر از گروه شاهد بود. درعین‌حال که تفاوت مشاهده‌شده معنی‌دار نبود، اما ایمونوژن با توجه به این‌که باکتری‌های پروبیوتیکی تولید آنتی‌بادی را در بدن تحریک می‌کنند، بنابراین افزایش سطح IgM در تیمارهای پروبیوتیکی قابل‌انتظار است (۹، ۲۵). لذا استفاده پروبیوتیک موردبررسی در تحقیق حاضر با تحریک سیستم ایمنی بدن، مقاومت در برابر بیماری‌ها را افزایش می‌دهد (۲۷). نتایج نشان داد که در تیمار ۲ (با استفاده از *M. luteus* با غلظت بیشتر)، عامل سدیم خون به شکل معنی‌داری بیشتر از تیمار ۱ و شاهد است. همسویی با یافته‌های این تحقیق، نتایج ارائه‌شده توسط Taati و همکاران (۲۰۱۱) نشان داد که پری بیوتیک مانان الیگوساکارید به‌عنوان محرک ایمنی و رشد، دارای اثرات قابل توجهی در افزایش اسمولاریته و +Ca2، + K، + Na و+Mg2 در سرم خون فیل‌ماهیان جوان تغذیه‌شده با این پری‌بیوتیک می‌باشند (۵۰). لذا استفاده از پروبیوتیک موردبررسی در تحقیق حاضر موجب افزایش یون سدیم و درنهایت به‌عنوان محرک ایمنی و افزایش درصد بقاء عمل می‌کند. عملکرد پروبیوتیک‌ها در بهبود محیط آبی از طریق کاهش باکتری‌های بیماری‌زا است (۵۱). اثرات مثبت پروبیوتیک‌ها در آبزیان پرورشی، با دیدگاه متفاوتی نظیر بهینه‌سازی پارامترهای فیزیکی و شیمیایی محیط پرورشی آن‌ها، پیشگیری از ابتلا و مبارزه با عوامل بیماری‌زا و همچنین ارتقاء پارامترهای خونی و ایمنی و در نتیجه درصد بقاء آبزیان پرورشی در تحقیقات بی‌شماری توسط محققین شیلاتی تائید شده است (۲۲، ۲۳، ۲۴، ۲۵، ۴۲).

نتیجه‌گیری

جیره غذایی حاوی پروبیوتیک‌ها نه‌تنها مواد مغذی ضروری را تأمین می‌کند، بلکه می‌تواند یکی از بهترین راهکارها برای حفظ سلامت آبزیان پرورشی و افزایش مقاومت آن‌ها به استرس و عوامل بیماری‌زا باشد. باکتری *Micrococcus luteus* می‌تواند به‌عنوان پروبیوتیک در بچه‌ماهی کپور معمولی بکار رود. می‌توان این باکتری‌ها را با غلظت 10^6 سلول در گرم غذا، به غذای بچه‌ماهی کپور معمولی وارد نموده و فاکتورهای خونی و ایمنی در نتیجه عملکرد رشد و درصد بقاء بچه‌ماهی کپور معمولی را بهبود بخشید.

منابع

1. Abd El-Rhman AM, Khattab YA, Shalaby AM. *Micrococcus luteus* and Pseudomonas species as probiotics for promoting the growth performance and health of Nile tilapia, Oreochromis niloticus. Fish Shellfish Immunol. 2009; 27(2):175-180.

2. Garibaldi L. The FAO global capture production database: a six-decade effort to catch the trend. Mar. Policy. 2012; 36(3):760-768.

3. Aubin J, Gatesoupe FJ, Labbé L, Lebrun L. Trial of probiotics to prevent the

cholerae and other beneficial properties. J. Food Sci. Technol. 2014; 51:3072-3082.

13. Kim DH, Austin B. Innate immune responses in rainbow trout (Oncorhynchus mykiss, Walbaum) induced by probiotics. Fish Shellfish Immunol. 2006 Nov 1; 21(5):513-524.

14. Verschuere L, Rombaut G, Sorgeloos P, Verstraete W. Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture. Microbiol Mol Biol Rev. 2000; 64(4):655-671.

15. Brunt J, Austin B. Use of a probiotic to control lactococcosis and streptococcosis in rainbow trout, Oncorhynchus mykiss (Walbaum). J. Fish Dis. 2005; 28(12):693-701.

16. Irianto A, Austin B. Probiotics in aquaculture. J. Fish Dis. 2002; 25(11):633-642.

17. Oyetayo VO, Oyetayo FL. Potential of probiotics as biotherapeutic agents targeting the innate immune system. Afr. J. Biotechnol. 2005; 4(2):123-127.

18. Hoseinifar SH, Roosta Z, Hajimoradloo A, Vakili F. The effects of Lactobacillus acidophilus as feed supplement on skin mucosal immune parameters, intestinal microbiota, stress resistance and growth performance of black swordtail (Xiphophorus helleri). Fish Shellfish Immunol. 2015; 42(2):533-538.

19. Aly SM, Ahmed YA, Ghareeb AA, Mohamed MF. Studies on Bacillus subtilis and Lactobacillus acidophilus, as potential probiotics, on the immune response and resistance of Tilapia nilotica (Oreochromis niloticus) to challenge infections. Fish Shellfish Immunol. 2008; 25(1-2):128-136.

20. Kesarcodi-Watson A, Kaspar H, Lategan MJ, Gibson L. Probiotics in aquaculture: the need, principles and mechanisms of action and screening processes. Aquac. J. 2008; 274(1):1-4.

21. Khattab YA, Shalaby AM, Abdel-Rhman A. Use of probiotic bacteria as growth promoters, anti-bacterial and their effects on physiological parameters of vertebral column compression syndrome in rainbow trout (Oncorhynchus mykiss Walbaum). Aquac. Res.2005; 36(8):758-767.

4. Yahav D, Franceschini E, Koppel F, Turjeman A, Babich T, Bitterman R, Neuberger A, Ghanem-Zoubi N, Santoro A, Eliakim-Raz N, Pertzov B. Seven versus 14 days of antibiotic therapy for uncomplicated gram-negative bacteremia: a noninferiority randomized controlled trial. Clin. Infect. Dis.2019; 69(7):1091-1098.

5. Al-Dohail MA, Hashim R, Aliyu-Paiko M. Effects of the probiotic, Lactobacillus acidophilus, on the growth performance, haematology parameters and immunoglobulin concentration in African Catfish (Clarias gariepinus, Burchell 1822) fingerling. Aquac. Res. 2009; 40(14):1642-1652.

6. Ali A. Probiotics in fish farming. Evaluation of a bacterial mixture. Rapport-Sveriges Lantbruksuniversitet, Vattenbruksinstitutionen (Sweden). 2000.

7. Ali FH. “Probiotics feed supplement" to improve quality of broiler chicken carcasses. WJDFS. 2010; 5(1): 93-99

8. Anderson DP, Roberson BS, Dixon OW. Plaque-forming cells and humoral antibody in rainbow trout (Salmo gairdneri) induced by immersion in a Yersinia ruckeri O-antigen preparation. J. Fish. Res. Board Can. 1979; 36(6):636-9.

9. Balcázar JL, De Blas I, Ruiz-Zarzuela I, Cunningham D, Vendrell D, Múzquiz JL. The role of probiotics in aquaculture. Vet. Microbiol. 2006; 114(3-4):173-186.

10. Weston DP. Environmental considerations in the use of antibacterial drugs in aquaculture.1996: 140-165.

11. Vine NG, Leukes WD, Kaiser H. Probiotics in marine larviculture. FEMS Microbiol. Rev.2006; 30(3):404-427.

12. VidyaLaxme B, Rovetto A, Grau R, Agrawal R. Synergistic effects of probiotic Leuconostoc mesenteroides and Bacillus subtilis in malted ragi (Eleucine corocana) food for antagonistic activity against V.

challenges for industrial applications. Eur. Food Res. Technol. 2010;231(1):1-2.

30. Keysami MA, Mohammadpour M, Saad CR. Probiotic activity of Bacillus subtilis in juvenile freshwater prawn, Macrobrachium rosenbergii (de Man) at different methods of administration to the feed. Aquac. Int. 2012 Jun; 20:499-511.

31. Blaxhall PC, Daisley KW. Routine haematological methods for use with fish blood. J. Fish Biol. 1973;5(6):771-781.

32. Nwachukwu U, George-Okafor U, Ozoani U, Ojiagu N. Assessment of probiotic potentials of Lactobacillus plantarum CS and Micrococcus luteus CS from fermented milled corn-soybean waste-meal. Sci. Afr. 2019;6:e00183.

33. Carnevali O, de Vivo L, Sulpizio R, Gioacchini G, Olivotto I, Silvi S, Cresci A. Growth improvement by probiotic in European sea bass juveniles (Dicentrarchus labrax, L.), with particular attention to IGF-1, myostatin and cortisol gene expression. Aquac. J. 2006; 258(1-4):430-438.

34. Lee JS, Cheng H, Damte D, Lee SJ, Kim JC, Rhee MH, Suh JW, Park SC. Effects of dietary supplementation of Lactobacillus pentosus PL11 on the growth performance, immune and antioxidant systems of Japanese eel Anguilla japonica challenged with Edwardsiella tarda. Fish Shellfish Immunol. 2013; 34(3):756-761.

35. Wang YB. Effect of probiotics on growth performance and digestive enzyme activity of the shrimp Penaeus vannamei. Aquac. J. 2007; 269(1-4):259-264.

36. Keysami MA, Shalmani AZ, Mojdehi MA. Effectiveness of Bacillus subtilis on growth and survival of common carp larva in non-earthen ponds. Anim. Environ. J. 2021;13(3):261-268 [In Persian].

37. Reid G, Sanders ME, Gaskins HR, Gibson GR, Mercenier A, Rastall R, Roberfroid M, Rowland I, Cherbut C, Klaenhammer TR. New scientific paradigms for probiotics and prebiotics. J Clin Gastroenterol. 2003;37(2):105-118.

Oreochromis niloticus. InProceedings of international symposium on Nile Tilapia in Aquac. J. 2005;7:156-165.

22. Brunt J, Newaj-Fyzul A, Austin B. The development of probiotics for the control of multiple bacterial diseases of rainbow trout, Oncorhynchus mykiss (Walbaum). J. Fish Dis. 2007;30(10):573-579.

23. Dimitroglou A, Merrifield DL, Moate R, Davies SJ, Spring P, Sweetman J, Bradley G. Dietary mannan oligosaccharide supplementation modulates intestinal microbial ecology and improves gut morphology of rainbow trout, Oncorhynchus mykiss (Walbaum). J. Anim. Sci. 2009; 87(10):3226-3234.

24. Drabkin DI. Crystallographic and optical properties of human hemoglobin. A proposal for the standarization of hemoglobin. Am. J. Med. 1945;209:268-270.

25. Ferguson RM, Merrifield DL, Harper GM, Rawling MD, Mustafa S, Picchietti S, Balcàzar JL, Davies SJ. The effect of Pediococcus acidilactici on the gut microbiota and immune status of on-growing red tilapia (Oreochromis niloticus). J. Appl. Microbiol. 2010;109(3):851-862.

26. Hoseinifar SH, Khalili M, Rostami HK, Esteban MÁ. Dietary galactooligosaccharide affects intestinal microbiota, stress resistance, and performance of Caspian roach (Rutilus rutilus) fry. Fish Shellfish Immunol. 2013; 35(5):1416-1420.

27. Rengpipat S, Rukpratanporn S, Piyatiratitivorakul S, Menasaveta P. Immunity enhancement in black tiger shrimp (Penaeus monodon) by a probiont bacterium (Bacillus S11). Aquac. J. 2000; 191(4):271-288.

28. Mortazavian A, Razavi SH, Ehsani MR, Sohrabvandi S. Principles and methods of microencapsulation of probiotic microorganisms. Iran. J. Biotechnol. 2007; 5(1):1-18.

29. Rokka S, Rantamäki P. Protecting probiotic bacteria by microencapsulation:

38. Tookmehchi A, Shamsi H, Meshkini S, Delshad R, Ghasemi Moghanjoei A. Dietary administration of vitamin C and Lactobacillus rhamnosus in combination enhanced the growth and innate immune response of the rainbow trout, Oncorhynchus mykiss. ISFJ. 2012; 21(3):13-22.

39. Panigrahi A, Kiron V, Kobayashi T, Puangkaew J, Satoh S, Sugita H. Immune responses in rainbow trout Oncorhynchus mykiss induced by a potential probiotic bacteria Lactobacillus rhamnosus JCM 1136. Vet. Immunol. Immunopathol. 2004; 102(4):379-388.

40. Keysami MA, Mohammadpour M. Effect of Bacillus subtilis on Aeromonas hydrophila infection resistance in juvenile freshwater prawn, Macrobrachium rosenbergii (de Man). Aquac Int. 2013; 21:553-562.

41. Sugita H, Miyajima C, Deguchi Y. The vitamin B12-producing ability of the intestinal microflora of freshwater fish. Aquac. J. 1991; 92:267-276.

42. Moriarty DJ. Interactions of microorganisms and aquatic animals, particularly the nutritional role of the gut flora. Microbiology in poecilotherms. 1990:217-222.

43. Mazurkiewicz J, Przybył A, Sip A, Grajek W. Effect of Carnobacterium divergens and Enterococcus hirae as probiotic bacteria in feed for common carp, Cyprinus carpio L. Fish Aquat Sci. 2007; 15(2):79-92.

45. Houston AH, Cyr D. Thermoacclimatory variation in the haemoglobin systems of goldfish (Carassius auratus) and rainbow trout (Salmo gairdneri). J. Exp. Biol. 1974 Oct 1; 61(2):455-461.

46. McLoughlin IJ, Voss AL, Hale JD, Jain R. Cosmetic efficacy of the topical probiotic Micrococcus luteus Q24 in healthy human adults. Cosmet. 2024; 11(4):122.

47. Vázquez JA, González M, Murado MA. Effects of lactic acid bacteria cultures on pathogenic microbiota from fish. Aquac. J. 2005; 245(1-4):149-161.

48. Talas ZS, Gulhan MF. Effects of various propolis concentrations on biochemical and hematological parameters of rainbow trout (Oncorhynchus mykiss). Ecotoxicol. Environ. Saf. 2009; 72(7): 1994-1998.

49. Sun YZ, Yang HL, Ma RL, Lin WY. Probiotic applications of two dominant gut Bacillus strains with antagonistic activity improved the growth performance and immune responses of grouper Epinephelus coioides. Fish Shellfish Immunol. 2010; 29(5):803-809.

50. Taati R, Soltani M, Bahmani M, Zamini AA. Growth performance, carcass composition, and immunophysiological indices in juvenile great sturgeon (Huso huso) fed on commercial prebiotic, Immunoster. Iran J Fish Sci. 2011;10(2):324-335.

51. Jöborn A, Olsson JC, Westerdahl A, Conway PL, Kjelleberg S. Colonization in the fish intestinal tract and production of inhibitory substances in intestinal mucus and faecal extracts by Carnobacterium sp. strain K1. J. Fish Dis. 1997; 20(5):383-392.