فصلنامه علمی پژوهشی فیزیولوژی و تکوین جانوری
شماره پیاپی ۴۳، جلد ۱۱، شماره۴، پائیز ۹۷، صفحه ۲۷ تا ۳۵
Qjaphd.sinaweb.net ISSN: ۱۷۳۵-۹۸۸۰

# اثرات پروبیوتیک *Pediococcus acidilactici* بر هماتولوژی، فراسنجه‌های خونی و هیستوپاتولوژی روده ماهی قزل آلای رنگین کمان

خدیجه عطایی[۱]، **سید محمد علی جلالی**[۱]، فرود یداللهی[۱]، آذر همت زاده[۱]
۱- دانشکده‌ی کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران. **Fish.nutritionist@gmail.com**

**تاریخ دریافت: ۹۷/٤/۹ تاریخ پذیرش:۹۷/۵/۲۰**

## چکیده

**زمینه و هدف: باکتری‌های غیر بیماری‌زای تولیدکنندهٔ اسیدلاکتیک نقش مهمی در فلور میکروبی روده حیوان میزبان داشته و با تاثیر گذاری بر مجرای گوارشی، کاهش pH و ارتقا ایمنی سبب بهبود عملکرد ماهی می شوند. به منظور مطالعه اثرات فیزیولوژیکی تغذیه باکتری *Pediococcus acidilactici* برماهی قزل آلای رنگین کمان آزمایش زیر انجام گرفت.**

**روش کار: تعداد ۹٦ ماهی قزل آلای رنگین کمان با میانگین وزن اولیه ٦۰ گرم در یک طرح کاملاً تصادفی به ٦ وان پلی اتیلنی اختصاص یافتند و به مدت هشت هفته با دو جیره غذایی شامل شاهد و جیره آزمایشی دارای پدیوکوکوس اسید لاکتیسی به مقدار $CFU10^9$ در کیلوگرم جیره در سه وعده در حد اشتهای ظاهری تغذیه شدند. عملکرد رشد، وزن نهایی، وزن نسبی لاشه و کبد و فراسنجه های خونی و هماتولوژیکی و نیز هیستوپاتولوژی روده ماهی‌ها در پایان آزمایش ارزیابی گردید.**

**یافته‌ها: افزودن باکتری *Pediococcus acidilactici* به عنوان پروبیوتیک به جیره‌ی غذایی اثری بر افزایش وزن، ضریب تبدیل خوراک، وزن نهایی، شاخص وضعیت، وزن نسبی لاشه و کبد ماهی‌ها نداشت اما درصد تلفات ماهی‌ها را کاهش معنی دار داد($P<۰/۰۵$). تعداد گلبول‌های سفید و درصد نوتروفیل خون ماهی‌ها و نیز عرض پرزهای روده با تغذیه باکتری *Pediococcus acidilactici* افزایش معنی‌دار یافت($P<۰/۰۵$).**

**نتیجه‌گیری: افزودن پروبیوتیک *Pediococcus acidilactici* به جیره غذایی سبب بهبود ایمنی و بقا ماهی قزل آلای رنگین کمان در دوره رشد می‌گردد.**

**واژه‌های کلیدی:** ،پروبیوتیک، فیزیولوژی، قزل آلای رنگین کمان.

## مقدمه

ماهی قزل آلای رنگین کمان با نام علمی *Oncorhynchus mykiss* یکی از مهم ترین ماهی های پرورشی سازگار به آب شیرین است. این ماهی همانند سایر آزاد ماهیان دارای یک باله چربی کوچک بین باله پشتی و دمی، در دو طرف بدن دارای یک نوار پهن به صورت رنگین کمان، روی سر، بدن، پشت و باله دمی آن لکه های تیره رنگی مشاهد می‌شود(۳) و در کانال-ها(آبراهه ها) بتنی یا خاکی به صورت متراکم پرورش می یابد که تراکم جمعیت ماهی های پرورشی به جریان و کیفیت آب از جمله دما و میزان اکسیژن محلول بستگی دارد(۲۱). ماهی قزل آلای رنگین کمان در بین سایر آزاد ماهیان، قادر است محدوده وسیع تری از دمای آب و متغیرهای محیطی از جمله کیفیت آب را تحمل کند، ولی به مقدار زیادی اکسیژن محلول در آب نیاز دارد. هر چند این ماهی اساساً جزو ماهیان سردابی تقسیم بندی می‌شود اما دمای مناسب برای پرورش این ماهی ۱۶-۱۲ درجه سانتی گراد است. پذیرش غذاهای دستی، سرعت زیاد در رشد ، بازار پسندی مناسب و ارزش غذایی بالا از مهم ترین دلایل توسعه پرورش این ماهی است(۲۱).در صنعت آبزی پروری هزینه های خوراک به طور معمول ۳۰ تا ۷۰ درصد از کل عملیات پرورش ماهی را شامل گردیده و تغذیه نقش مهمی در میزان رشد و عملکرد

سیستم ایمنی و مقاومت به بیماری دارد(۲۱). در این راستا استفاده از مکمل های غذایی مختلف در جهت کاهش آلودگی های زیست محیطی، افزایش قابلیت هضم خوراک، بهبود استفاده از مواد مغذی و نیز ارتقا سیستم ایمنی برای رشد و تولید ماهی اهیمت زیادی دارد(۲). اخیراً استفاده از پروبیوتیک‌ها، به عنوان مکمل-های غذایی که سبب مقاومت در برابر بیماری، بهبود رشد و استفاده بهینه خوراک در پرورش ماهی می شوند اهمیت زیادی یافته است(۱۴). پروبیوتیک‌ها، معمولاً به عنوان میکروارگانیسم‌های زنده با ویژگی‌های مفید تعریف می‌شوند که هم برای درمان بیماری و هم به عنوان روش پیشگیری کننده مرتبط با پاتوژن‌هامورد قبول قرار گرفته‌اند(۱۵). به طور کلی پروبیوتیک در حیوانات آبزی شامل هر سلول میکروبی است که با جیره غذایی یا آب به ماهی میزبان، پرورش‌دهنده و یا مصرف کننده‌ی ماهی سود برساند و این اثر را حداقل با بهبود تعادل میکروبی در بدن ماهی سبب گردد(۱۴). باکتری‌های اسیدلاکتیکی دسته مهمی از پروبیوتیک‌ها هستند که در ماهی متعلق به جنس‌های انتروکوکوس‌ها، استرپتوکوک‌ها، پدی‌کوکوس‌ها، لاکتوباسیلوس، لاکتوکوکوس و لئوکونوستاک‌ها می باشد(۱۸). علت این‌که روی این باکتری‌ها بیشتر تأکید می‌شود تا اندازه‌ای مربوط به این واقعیت است که باکتری‌های تولیدکنندهٔ اسیدلاکتیک نقش مهمی در فلور روده داشته و بر مجرای گوارشی تأثیر می‌گذارند هم‌چنین غیر بیماری‌زا بوده و علاوه بر این می‌توانند اسیدیته را که معمولاً برای باکتری‌های دیگر کشنده می‌باشند تحمل کرده و با تولید اسیدلاکتیک از رشد میکروب های بیماری زا جلوگیری کنند(۱۰). این میکروارگانیسم‌ها می‌توانند در ناحیه‌ی روده با تولید اسیدهای آلی و مواد ضد میکروبی مانع رشد باکتری‌های بیماری‌زا شوند و اسیدهای آلی تولید شده می‌توانند به عنوان یک منبع انرژی مورد استفاده سلول‌های روده قرار گیرند(۱۹). پژوهش ها نشان داده اند که طیف وسیعی از باکتریوسن‌ها به نام پدیوسین(pediocin) توسط *Pediococcus acidilactici* تولید می شود(۵). تولید پدیوسین ها و اسیدهای آلی مانند اسید استیک و اسید لاکتیک خصوصیت تقابل با باکتری های گرم مثبت و گرم منفی به خصوص گونه های ویبریو دارد(۷). به کارگیری پروبیوتیک‌ها در آبزیان، دارای اثرات مفیدی مانند بهبود سیستم ایمنی، بقا و ایجاد مقاومت به بیماری است(۱۰) که با بررسی چگونگی اثر گذاری آن ها بر فراسنجه های فیزیولوژیکی حیوان، می‌توان فرآیندهای اثر گذاری باکتری‌های مفید بر ماهی را تا حدودی شناخت. این پژوهش به منظور بررسی تاثیر پروبیوتیک *Pediococcus acidilactici* بر عملکرد لاشه، فراسنجه‌های خونی و هماتولوژیکی و نیز بافت روده ماهی قزل آلای رنگین کمان در دوره رشد می باشد.

## مواد و روش ها

این پژوهش در پایلوت تحقیقاتی شرکت فرادانه واقع در مزرعه پرورش ماهی دشت آبی استان چهار محال بختیاری انجام گرفت. از تعداد ۲۰۰ قطعه ماهی قزل آلای رنگین کمان که به منظور تطابق پذیری با شرایط آزمایش به مدت دو هفته با جیره شاهد فاقد پروبیوتیک تغذیه شده بودند، تعداد ۹۶ قطعه ماهی قزل آلای رنگین کمان با وزن اولیه۲±۶۰ گرم انتخاب و در یک طرح کاملاً تصادفی به ۶ وان پلی‌اتیلنی ۳۰۰ لیتری، به تعداد ۱۶ ماهی در هر وان، اختصاص یافتند. دو جیره غذایی شامل، شاهد و جیره آزمایشی دارای باکتری پدیکوکس اسید لاکتیکی در سه وعده(ساعت های ۸،۱۳، ۱۸) و در حد اشتهای ظاهری به مدت هشت هفته به ماهی‌های شش وان تغذیه شدند. به منظور تهیه جیره آزمایشی از خوراک اکسترود شرکت فرادانه(GFT1: Grower Feed Trout) بدون روغن استفاده گردید. سپس در تیمار

آزمایشی مقدار $CFU10^{7}$ در گرم خوراک(۱۳)، باکتری پدیکوکس اسید لاکتیکی( Bactocell, CNCM- MA 18.5 M, Lallemand, France)در روغن ماهی مخلوط و به جیره پایه اضافه شد. در جیره شاهد روغن افزوده شده بدون پروبیوتیک است. در آنالیز جیره های آزمایشی و شاهد درصد مواد جیره شامل پروتئین خام۴۰درصد، چربی خام ۱۵درصد، فیبر ۳درصد، خاکستر ۹ درصد، رطوبت ۸ درصد و فسفر ۱/۲۵ درصد بود. در مدت ۸ هفته آزمایش(۵۶ روز)، دمای آب در دامنه ۱۱-۱۳ درجه سانتی‌گراد و تلفات ماهی‌های هر وان به صورت روزانه ثبت شد. در ابتدا و پایان آزمایش پس از بی‌هوشی تمام ماهی‌های با پودر گل میخک(به مقدار ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر) بیهوش، طول و وزن انفرادی ماهی، شاخص چاقی ماهی با استفاده از رابطه زیر اندازه گیری گردید(۱). شاخص رشد ویژه، افزایش وزن، ضریب تبدیل خوراک و شاخص چاقی با استفاده از روابط زیر محاسبه شد.

شاخص رشدویژه: $SGR=(Lnw2-Lnw1)\times100/T$

Lnw1 : لگاریتم طبیعی وزن اولیه ماهی(گرم)

Lnw2 : لگاریتم وزن نهایی(گرم)

T :مدت انجام آزمایش(۵۶ روز)

افزایش وزن = وزن نهایی(گرم) – وزن اولیه(گرم )

ضریب تبدیل غذایی = خوراک مصرفی در طول دوره پرورشی(گرم) ÷ افزایش وزن ماهی(گرم).

شاخص چاقی: $K=(W/L^{3})\times100$

Wوزن بدن(گرم) و L طول کل بدن(سانتی متر)

در پایان آزمایش از هر وان۶ماهی به طور تصادفی انتخاب و پس از خون‌گیری از ورید ناحیه دمی با سرنگ ۵ سی سی بخشی از خون گرفته شده به لوله‌ی آزمایش وبخش دیگر به لوله هپارینه منتقل شد. پس از خون گیری، لاشه آماده ی پخت و کبد ماهی‌ها با ترازویی با دقت ۰/۰۱ گرم توزین و راندمان لاشه وشاخص کبدی ماهی‌ها با استفاده از روابط زیر محاسبه گردید(۱):

شاخص کبدی: [وزن کبد(گرم)÷ وزن کل بدن(گرم) ]×۱۰۰

راندمان لاشه: [وزن لاشه(گرم)÷ وزن کل بدن(گرم) ]×۱۰۰

فراسنجه‌های سرمی خون مانند تری گلیسیرید، پروتئین‌تام وآلبومین به روش نورسنجی و با استفاده از کیت های درمان کاو و با دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه-گیری،گلوبولین با تفاضل آلبومین از پروتئین تام سرم خون محاسبه گردید(۱). تمامی اندازه گیری‌های خون با دو تکرار انجام گرفت. فراسنجه های هماتولوژیکی خون مانند هماتوکریت(PCV)، تعداد گلبول قرمز(RBC) و سفید(WBC)، شمارش افتراقی گلبول‌های سفید(لنفوسیت، نوتروفیل و غیره) و نیز غلظت هموگلوبین(Hb) با استفاده از نمونه‌های خون دارای ماده ضد انعقاد اندازه‌گیری گردید(۱۶). پس از خونگیری از انتهای روده ماهی ها، در حدود یک سانتی-متر از روده جدا و به فرمالین ۱۰ درصد منتقل و به مدت ۴۸ ساعت نگهداری شد. آبگیری با استفاده از الکل ها بادرجات مختلف از نمونه ها انجام و با انتقال آن ها به گزیلن و سپس قرار دادن در پارافین، امکان برش با استفاده میکروتوم مهیا و رنگ آمیزی و پایداری با هماتوکسیلین-ائوزین انجام شد. شاخص های پرز روده مانند طول، عرض، ارتفاع و ضخامت ماهیچه اندازه‌گیری گردید(۲۲).

برای آنالیز داده‌های آزمایشی از نرم افزار آماری SAS و از آزمون آماری t با سطح احتمال ۰/۰۵ استفاده شد.

## نتایج

با توجه به نتایج استفاده از پروبیوتیک پدیکوکوس اسید لاکتیک بر شاخص چاقی، راندمان لاشه، وزن نسبی

کبد، خوراک مصرفی تاثیری نداشت اما درصد تلفات ماهی ها را کاهش معنی داری( P<۰/۰۵) داد، اما افزایش در میانگین وزن نهایی ماهی‌ها و کاهش ضریب تبدیل خوراک از لحاظ عددی با مصرف پروبیوتیک پدیکوکوس اسید لاکتیک مشاهده شد(جدول ۱).

اثر تغذیه باکتری پدیکوکوس اسید لاکتیک بر فراسنجه های خونی و هماتولوژیکی ماهی قزل آلای رنگین کمان در جدول ۲ ارایه شده است. تعداد گلبول-های سفید، درصد نوتروفیل، متوسط حجم گلبول های قرمز خون تحت تاثیر این باکتری قرار گرفته و افزایش معنی دار( P<۰/۰۵) یافت، اما شاخص‌هایی مانند تری گلیسیرید، آلبومین، پروتئین کل و گلوبولین سرم خون و نیز تعداد گلبول های قرمز و درصد مونوسیت و لنفوسیت‌ها تحت تاثیر پروبیوتیک پدیکوکوس اسید لاکتیک قرار نگرفت(جدول ۲).

نتایج مورفولوژی روده در جدول ۳ ارایه شده است. طول و ارتفاع پرز روده ماهی ها تحت تاثیر پروبیوتیک پدیکوکوس اسید لاکتیک قرار نگرفت اما عرض پرز روده با تغذیه این باکتری افزایش معنی دار یافت( P<۰/۰۵).

**جدول ۱- اثر باکتری پدی‌کوکوس اسید لاکتیک بر عملکرد رشد ماهی قزل آلای رنگین کمان (میانگین ± خطای استاندارد)**

| شاخص | شاهد | باکتری پدیکوکوس اسید لاکتیک | سطح احتمال |
|---|---|---|---|
| وزن اولیه (گرم) | ۶۰/۱۷± ۲/۹۸ | ۶۰/۱۰± ۲/۷۶ | ۰/۹۸۶ |
| شاخص چاقی اولیه | ۱/۲۲± ۰/۰۱۱ | ۱/۲۶± ۰/۰۲۶ | ۰/۲۲۴ |
| وزن نهایی (گرم) | ۱۴۰/۵۶± ۴/۶۷ | ۱۴۹/۳۸± ۳/۴۲ | ۰/۲۱۴ |
| شاخص چاقی نهایی | ۱/۳۶± ۰/۰۱۱ | ۱/۳۷± ۰/۰۳۲ | ۰/۸۶۶ |
| وزن نسبی لاشه(درصد) | ۸۷/۲۷± ۰/۴۳۶ | ۸۸/۱۹± ۰/۶۲۲ | ۰/۲۸۹ |
| وزن نسبی کبد(درصد) | ۱/۶۰± ۰/۰۶۷ | ۱/۵۱± ۰/۰۸۴ | ۰/۴۵۱ |
| تلفات (درصد) | ۱۶/۳۲± ۲/۸۸۸ | ۵/۵۲۲± ۱/۰۳۸ | ۰/۰۲۴ |
| افزایش وزن (گرم/ماهی/روز) | ۱/۹۵± ۰/۱۲۲ | ۱/۹۱± ۰/۰۷۳ | ۰/۸۱۰ |
| خوراک مصرفی (گرم/ماهی/روز) | ۱/۶۱۴± ۰/۱۳۳ | ۱/۴۸± ۰/۰۸۷ | ۰/۴۶۸ |
| ضریب تبدیل خوراک | ۰/۸۲± ۰/۰۳۷ | ۰/۷۷± ۰/۰۲۵ | ۰/۳۲۳ |
| شاخص رشد ویژه(درصد) | ۱/۶۰± ۰/۰۳۵ | ۱/۶۲± ۰/۱۱۱ | ۰/۸۷۶ |

## بحث و نتیجه گیری

با توجه به نتایج، مشخص شد که باکتری *Pediococcus acidilactici* سبب کاهش درصد تلفات در ماهی قزل آلا می شود(جدول ۱). اثر زنده مانی بالاتر در پژوهش دیگری که با ماهی تیلاپیا قرمز(*Oreochromis niloticus*) و تغذیه با پروبیوتیک دارای این باکتری($CFU10^{7}$ در گرم خوراک به مدت ۳۲ روز) انجام شد، نیز مشاهده گردید که این بهبود در بقا و نیز تمایل به بهبود عملکرد رشد ماهی مربوط به اثرات سودمند تغذیه‌ای آن و نیز ایجاد مقاومت در برابر عوامل بیماری زا است(۸). از اثرات مهم تغذیه ای پروبیوتیک ها می توان به تولید آنزیم هایی مانند آمیلاز و پروتئاز، ویتامین ها و اسیدهای آلی مانند اسید لاکتیک اشاره کرد که سبب بهبود عملکرد رشد ماهی می‌شود. علاوه بر این تولید طیف وسیعی از باکتریوسن‌هایی به نام پدیوسین(pediocin) توسط *Pediococcus acidilactici*(۵) و اسیدهای آلی مانند اسید استیک و اسید لاکتیک خصوصیت تقابل با باکتری های گرم مثبت و گرم منفی دارد(۷،۱۱) و سبب مقابله با عوامل بیماری‌زا و بهبود زنده مانی ماهی می شود.

**جدول ۲=اثر باکتری پدی‌کوکوس اسید لاکتیک بر هماتولوژی و فراسنجه‌های بیوشیمیایی سرم خون ماهی قزل آلای رنگین کمان (میانگین ± خطای استاندارد)**

| فراسنجه (واحد) | شاهد | باکتری پدیکوکس اسید لاکتیک | سطح احتمال |
|---|---|---|---|
| تری‌گلیسیرید (میلی‌گرم در دسی لیتر) | ۴۳۱/۱۴± ۱۷/۷۷ | ۴۲۰/۹۷± ۵۶/۴۶ | ۰/۸۶۹ |
| آلبومین(گرم در دسی لیتر) | ۱/۵۸± ۰/۰۹۷ | ۱/۵۳± ۰/۰۵۱ | ۰/۶۱۹ |
| پروتئین کل(گرم در دسی لیتر) | ۵/۳۲± ۰/۵۵ | ۴/۹۳± ۰/۳۵ | ۰/۵۵۳ |
| گلوبولین(گرم در دسی لیتر) | ۳/۷۰± ۰/۴۴ | ۳/۴۰± ۰/۳۵ | ۰/۶۰۵ |
| هماتوکریت(درصد) | ۴۲/۰۰± ۱۵/۴۷ | ۳۷/۰۰± ۲/۰۸ | ۰/۰۹۷ |
| تعداد گلبول‌های قرمز ($\times 10^{6}$ در میکرولیتر) | ۳/۴۰± ۰/۲۲ | ۲/۹۸± ۰/۳۰ | ۰/۳۰۴ |
| هموگلوبین(گرم در دسی لیتر) | ۱۰/۷۴± ۰/۴۰ | ۱۱/۴۷± ۰/۴۹ | ۰/۲۸۱ |
| تعداد گلبول‌های سفید ($\times 10^{3}$ در میکرولیتر) | ۱۴۶۶۲/۵۰± ۷۴۳/۶۸ | ۱۸۱۷۰/۰۰± ۶۳۷/۴۹ | ۰/۰۰۰۱ |
| نوتروفیل (درصد گلبول سفید) | ۲۰/۰۰± ۱/۰۹ | ۲۴/۲۵± ۱/۱۰ | ۰/۰۳۱ |
| لنفوسیت(درصد گلبول سفید) | ۷۰/۰۰± ۱/۶۳ | ۷۰/۸۰± ۱/۴۶ | ۰/۷۲۸ |
| مونوسیت(درصد گلبول سفید) | ۴/۴۰± ۰/۲۴ | ۳/۸۰± ۰/۳۷ | ۰/۲۱۶ |
| ائوزینوفیل (درصد گلبول سفید) | ۲/۶۰± ۰/۲۴ | ۲/۸۰± ۰/۳۷ | ۰/۶۶۶ |

**جدول۳- اثر باکتری پدی‌کوکوس اسید لاکتیک بر هیستوپاتولوژی بافت روده ماهی قزل آلای رنگین کمان (میانگین ± خطای استاندارد)**

| نمونه | شاهد | باکتری پدیکوکوس اسید لاکتیک | سطح احتمال |
|---|---|---|---|
| طول پرز (میکرون) | ۴۱/۰۰±۴/۰۴ | ۳۳/۲۰±۲/۸۹ | ۰/۱۴۲ |
| عرض پرز (میکرون) | ۱۰/۲۰± ۱ /۵۹ | ۱۶/۰۰±۱/۱۴ | ۰/۰۱۸ |
| ارتفاع پرز (میکرون) | ۵/۵۷±۱/۶۰ | ۴/۰۰±۰/۵۷ | ۰/۲۶۴ |

افزایش وزن، ضریب تبدیل خوراک و شاخص رشد ویژه ماهی تحت تاثیر خصوصیت پروبیوتیکی *Pediococcus acidilactici* قرار نگرفت. عدم تاثیر استفاده از این پروبیوتیک بر عملکرد رشد ماهی قزل آلای رنگین کمان با تغذیه باکتری *Pediococcus acidilactici* در پژوهش دیگری نیز نشان داده شده است، به طوری که تغذیه این باکتری با دو غلظت $10^{7}$ و $10^{8}$ CFU در گرم خوراک، تاثیری بر عملکرد ماهی نشان نداشته که با پژوهش حاضر مطابقت دارد(۱۳). در حالی که استفاده از همین پروبیوتیک در تغذیه ماهی زینتی گرین ترور(*Andinocara rivulatus*) در سطح $10^{8}$ CFU در کیلوگرم خوراک سبب بهبود عملکرد رشد این ماهی گردید(۴). وجود پاسخ های متناقض در اثر استفاده از پروبیوتیک ها در ماهی ها مربوط به مقدار استفاده، نوع پروبیوتیک، مدت زمان آزمایش و نیز شرایط فیزیولوژیکی، وزن اولیه ماهی و نیز وجود عامل بیماری زا دارد. البته نکته ای که کمتر به آن توجه شده است ترکیب جیره غذایی است که بایستی در پژوهش‌های آینده موردتوجه قرار گیرد. شاخص های هماتولوژیکی به عنوان عوامل با ارزشی در بررسی سلامتی ماهی مطرح هستند(۲۰) و گزارش شده است که تحت تاثیر پروبیوتیک ها نیز قرار می گیرند(۱۲، ۶) و افزایش گلبول‌های سفید(لوکوسیت‌ها و نوتروفیل ها) در اثر تغذیه ماهی قزل آلا با باکتری *Pediococcus*

*acidilactici*، نشان دهنده بهبود شاخص های ایمنولوژیکی ماهی است(۶،۱۷). افزایش درصد نوتروفیل‌ها با افزایش سیستم دفاعی موجب افزایش مقاومت در برابر عوامل بیماری‌زا، تحریکات محیطی و استرس‌ها گردیده که این امر می‌تواند با افزایش سوخت-وساز موجب کاهش تلفات و افزایش بازماندگی شود(۶). کاهش عددی هماتوکریت در خون ماهی تغذیه شده با پروبیوتیک مشاهده شد که علت واقعی آن مشخص نیست ولی ممکن است مربوط به افزایش سطح لوکوسیت‌ها باشد که به صورت محدود اندازه و تعداد گلبول های قرمز(هر چند غیر معنی دار) را کاهش داده و سبب کاهش غیر معنی دار هماتوکریت شده باشد این نتیجه گیری با پژوهش انجام شده با ماهی تیلاپیا قرمز(با وزن اولیه ۱۷۶گرم) که تعداد گلبول های سفید افزایش و هماتوکریت کاهش یافت و نیز سطح آلبومین، پروتیئن کل و گلوبولین سرم خون ماهی ها پس از ۱۴ روز تغذیه با باکتری *Pediococcus acidilactici* تغییری نشان نداد(۸)، مشابه بود. در پژوهش دیگری با ماهی قزل آلای رنگین کمان مشخص شد که تغذیه *Pediococcus acidilactici* نیز سبب افزایش لوکوسیت های خون شد(۱۴). علاوه بر این در ماهی گرین ترور نیز تغذیه این باکتری سبب افزایش گلبول های سفید خون گردید(۴). افزایش گلبول های سفید می تواند به عنوان یک واکنش سیستم ایمنی غیر اختصاصی مطرح باشد که انتظار می-رود این ماهیان دارای مقاومت بیشتری در برابر عوامل استرس زا و بیماری ها باشند(۹، ۴) و این ممکن است سبب کاهش تلفات در پژوهش اخیر نیز شود. هم‌چنین افزودن پروبیوتیک به جیره‌ی ماهیان باعث کاهش هماتوکریت شده است که پایین بودن میزان آن می‌تواند به عنوان یک پارامتر خونی مثبت باشد زیرا با کوچک شدن حجم گلبول‌های قرمز حرکت آن‌ها در رگ‌های خونی آسان‌تر و سریع‌تر می‌گردد و از لخته شدن جلوگیری می‌کند(۸). نتایج در جدول-۵ نشان داد استفاده از پروبیوتیک در جیره تاثیر معنی‌داری بر طول و ارتفاع پرز روده تاثیری نداشته اما عرض پرز را بهبود بخشیدع است. معمولاً مهم‌ترین پارامترهای روده ای که برای ارزیابی سلامتی مجرای گوارشی در حیوانات آبزی استفاده می‌شوند شامل تراکم و تنوع باکتری‌های، وضعیت و تعداد پرزهای روده ایی و اپتلیوم مجرای گوارشی می‌باشند(۲۰). مجرای گوارشی، یکی از رایج-ترین جایگاه‌های ورود میکروب‌های بیماری‌زاست. برقراری باکتری‌های بیماری‌زا در مجرای گوارشی ممکن است به لایه مخاطی و پرزهای روده آسیب برساند. اندازه بزرگ‌تر پرزهای روده ممکن است منجر به سطح جذب بیشتر و بهبود جذب مواد مغذی شود(۹). نقش مفید *Pediococcus acidilactici* در روده می تواند مربوط به ممانعت از ایجاد رقابت با عوامل بیماری زا، تولید اسیدهای آلی(۸) و تولید پدیوسین(یک باکتریوسین)(۵) باشد که ایمنی موکوسی حیوان را ارتقا می دهد. علاوه بر بهبود دفاع ایمنی و غیر ایمنی حیوان میزبان، سازوکارهایی مقابله با عوامل بیماری زا مانند تغییر شرایط محیطی، رقابت در به دست آوردن مواد مغذی و رقابت در مکان های برای اتصال و نیز تولید مواد ضد میکروبی همگی موثر می باشند(۸).

## تشکر و قدردانی

این پژوهش با مساعدت و امکانات شرکت فرادانه(تولید کننده خوراک آبزیان) انجام شد که از کمیته تحقیق و توسعه و مدیریت آن به دلیل فراهم آوردن شرایط اجرا قداردانی می گردد.

## منابع


۱–احمدیان، ع.، جلالی، س. م. ع.، پوررضا، ج. ۱۳۹۴. اثر منبع روغن و مکمل‌های غذایی ال کارنیتین و راکتوپامین بر عملکرد رشد و برخی فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون ماهی قزل آلای رنگین کمان(*Oncorhynchus mykiss*). مجله علمی شیلات ایران. دوره ۲۴. شماره ۱. صفحات:۱۰۹-۱۲۰.

۲–جلالی. س. م. ح. ۱۳۸۸. اثرات تغذیه کارنیتین و راکتوپامین بر ماهی قزل آلای رنگین کمان.رساله دکتری دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران.۱۰۰ ص.

۳–فروزانفر، ع. ۱۳۸۴. تکثیر و پرورش آزادماهیان. موسسه تحقیقات شیلات ایران.۱۵-۳۵.

٤–حسینی مدنی، ن.، مورکی، ن.، انوار، س.ا.ع.، منوچهری، ح.، قربانی، م. ۱۳۹۳. اثرکاربردپروبیوتیک *Pediococcus acidilactici* بر شاخص های رشد و پارامترهای خونی ماهی زینتی گرین ترور(*Andinocara rivulatus*). پاتوبیولوژی مقایسه ای. سال ۱۱. شماره ۲. صفحات:۱۲۹۱-۱۳۰۲.

**5.**Anastasiadou, S., Papagianni, M., Filiousis, F., Ambrosiadis, I., Koidis, P. (2008). Pediocin SA-1, an antimicrobial peptide from P*ediococcus acidilactici* NRRL B5627: production conditions,purification and characterization. Bioresource Technology, 99; 5384–5390.

**6.**Brunt, J., Austin, B. (2005). Use of a probiotic to control lactococcosis and streptococcosis in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Journal of Fish Diseases, 28; 693–701.5

**7.**Castex, M., Chim, L., Pham, D., Lemaire, P., Wabete, N., Nicolas, J.L. (2008). Probiotic *P. acidilactici* application in shrimp *Litopenaeus stylirostris* culture subject to vibriosis in New Caledonia. Aquaculture, 275; 182–193.

**8.**Ferguson, R.M.W., Merrifield, D.L., Harper, G.M., Rawling, M.D., Mustafa, S., Picchietti, S. (2010). The effect of *Pediococcus acidilactici* on the gut microbiota and immune status of ongrowing red tilapia (*Oreochromis niloticus*). Journal of Applied Microbiology, 109; 851 - 862. 8-

**9.**Firouzbakhsh, F., Noori, F., Khalesi, M.K., Jani-Khalili, K. (2011). Effects of a probiotic , protexin, on the growth performance and hematological parameters in the Oscar (*Astronotus ocellatus*) fingerlings. Journal of Fish Physiology and Biochemistry, 37; 833-842.

**10.**Flint, J.F., Garner, M.R. (2009). Feeding beneficial bacteria: a natural solution for increasing efficiency anddecreasing pathogens in animal agriculture. Journal of Applied Poultry Research, 18; 367–378. 7-

**11.**Gildberg, A., Mikkelsen, H., Sandaker, E. and Ringø, E. (1997). Probiotic effect of lactic acid bacteria in the feed on growth and survival of fry of Atlantic cod. Hydrobiologia, 352; 279–285.

**12.**Irianto, A., Austin, B. (2002). Use of probiotics to control furunculosis in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Journal of Fish Diseases, 25; 333–342.

**13.**Merrifield, D.L., Bradley, G., Harper, G.M., Baker, R.T.M., Munn, C.B., Davies, S.J. (2011). Assessment of the effects of vegetative and lyophilized *Pediococcus acidilactici* on growth, feed utilization, intestinal colonization and health parameter of rainbow trout, Aquaculture Nutrition, 17; 73-79.

**14.**Merrifild, D.L., Dimitroglou, A., Foey, A., Davies, S.J., Baker, R.T.M, Bogwald, J. (2010). The current status and future focus of probiotic and prebiotic applications for salmonids. Aquaculture, 302; 1–18. 13-

**15.**Mitchell, L.G., Kenworthy, R. (2001). Investigations on a metabolite from *Lactobasillus* which neutralizes the effect of entrotoxin from *E.coli* for pigs. Journal of Applied Bacteriology, 41; 341–351.

**16.**Nazari Farsani, M., Jalali, S.M.A., Jafarian Dehkordi, M. (2015). Evaluation the meat composition and immunity parameters of rainbow trout(*Oncorhynchus mykiss*) fed by dietary different oil sources, l-carnitine and ractopamine supplement. ARPN Journal of Agricultural and Biological Science, 10; 108-1115.

**17.**Newaj-Fyzul, A., Adesiyunz, A.A., Mutani, A., Ramsudhag, A., Brunt, J., Austin, B. (2007). *Bacillus subtilis* AB1 controls aeromonas infection in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum). Journal of Applied Microbiology, 103; 1699–1706. 15-

**18.**Romn, L., Real, F., Sorroza, L., Padilla, D., Acosta, B., 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.

**19.**Sorroza, L., Padilla, D., Acosta, F., Roman, L., Grasso, V., Vega, J. (2012). Characterization of the probiotic strain *Vagococcus flvialis* in the protection of European sea bass(*Dicentrarchus labrax*) against vibriosis by *Vibrio anguillarum*. Veterinary Microbiology, 155; 369–373. 20-

**20.**Svobodova, Z., Fravda, D., Palakova, J. (1991). Unifiedmethods of haematological examination of fish. Research Institute of Fish Culture and Hydrobiology. Czechoslovakia, 31 pp.

**21.**Webster, C.D., Lim, C.E. (2002). Nutrient requirements and feeding of finfish for aquaculture, CABI Publishing. Wallingford, Oxon, 418 pp.

**22.**Yarahmadi, P., Kolangi Miandare, H., Hoseinifar, S.H. (2016). Haemato immunological and serum biochemical parameters, intestinal histo morphology and growth performance of rainbow trout(*Oncorhynchus mykiss*) fed dietary fermentable fibre (Vitacel®). Aquaculture nutrition, 22; 1134–1142.

. ۱.

# Effects of *Pediococcus acidilactici*as a Probioticon Hematology, Blood Parameters and Intestinal Histopathology of Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss*

Kh. Ataei, **S.M.A. Jalali**, F. Yadolahi, A. Hematzadeh
Faculty of Agriculture and Natural Resources, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.
**Fish.nutritionist@gmail.com**

**Received:2018.30.6** **Accepted: 2018.27.10**

## Abstract

**Inroduction & Objective: Nonpathogenic lactic acid bacteria have important role on intestinal microbial flora of animal host and they improve performance of fish by influencing gastrointestinal tract, reducing pH and improving immunity. An experiment was designed to study the physiological effects of *Pediococcus acidilactici* feeding on rainbow trout.**

**Material and Methods: The ninety six rainbow trout with 60 g initial body weight were randomly assigned to six polyethylene tanks and fed by control or experimental diet which was contain $10^9$ CFU.$Kg^{-1}$ *Pediococcus acidilactici*for 8 weeks feeding trials at three times daily feeding rate. The growth performance, final body weight, efficiency of carcass and liver, hematology and blood parameters and intestinal morphology of fish were evaluated at end of experiment.**

**Results: The body weight gain, feed conversion ratio, final body weight, condition factor, efficiency of carcass and liver weren't affected by the dietary supplementation of*Pediococcus acidilactici,* as probiotic, .but significantly reduced mortality of fish ($p<0.05$).The number of white blood cells, percent of neutrophils and also width of intestinal villus increased by feeding*Pediococcus acidilactici.***

**Conclusion: The supplementation of*Pediococcus acidilactici* to fish diets improved immunity and reduced mortality of grower rainbow trout.**

**Keywords:** Probiotic, Physiology, Rainbow Trout

.