"مقاله پژوهشی"

تاثیر خوراکی پروبیوتیک *Bacillus subtilis* بر روی ترکیب لاشه، پارامترهای بیوشیمیایی سرم خون و نیز آنزیم‌ها کبدی ماهی سی باس آسیایی (*Lates calcarifer*)

الهام معظمی[۱]، علیرضا سالارزاده[۲*]، دلارام نخبه زارع[۲]، مازیار یحیوی[۲]، فلورا محمدی زاده[۲]

۱- گروه شیلات، واحد بندرعباس، دانشگاه آزاد اسلامی، بندرعباس، ایران

۲- گروه شیلات، مرکز تحقیقات فناوری های دریایی و شیلاتی، واحد بندرعباس، دانشگاه آزاد اسلامی، بندرعباس، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۱/۱۸ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۵/۱۴

چکیده

بررسی سطوح مختلف پروبیوتیک *Bacillus subtilis* در جیره غذایی ماهی سی باس آسیایی (*Lates calcarifer*) روی ترکیب لاشه، پارامترهای بیوشیمیایی سرم خون و نیز آنزیم ها کبدی در یک دوره زمانی ۸ هفته ایی مورد بررسی قرار گرفت. این مطالعه در یک تیمار شاهد (صفر) و سه تیمار آزمایشی به ترتیب $۱۰^{۶} \times ۱$ (تیمار ۱) ، $۱۰^{۶} \times ۱/۵$ (تیمار ۲) و $۱۰^{۶} \times ۲$ (تیمار ۳) واحد کلنی (CFU) به ازای هر گرم جیره و با ۳ تکرار جهت هر تیمار انجام گردید. بچه ماهیان با متوسط وزن ۰/۱۴±۱۲/۵۰ گرم در ۱۲ حوضچه فایبرگلاس با تراکم ۲۵ قطعه در هر تانک پرورش داده شدند. نتایج مطالعه نشان داد که بین تیمارها از نظر ترکیب لاشه به جز خاکستر بین سایر پارامترهای لاشه اختلاف معنی دارد مشاهده گردید ($p<0/05$)، و بین تیمارها تیمار ۲ اختلاف معنی داری را از نظر پروتئین خام و ماده خشک با سایر تیمارها داشته است ($p<0/05$). از نظر پارامترهای بیوشیمیایی سرم خون نیز از نظر گلوکز، کلسترول و تری گلیسرید اختلاف معنی داری بین تیمارها مشاهده نگردید ($p<0/05$)، اما از نظر هماتوکریت، هموگلوبین و نیز گلبول ها قرمز و سفید خون اختلاف معنی دار بین تیمارها وجود داشت ($p<0/05$) و بین تیمارها، تیمار ۲ وضعیت مطلوبتری نسبت به سایر تیمارها از خود نشان داد . از نظر آنزیم های کبدی نیز هر چند بین تیمارها با تیمار شاهد اختلاف معنی دار مشاهده گردید ($p<0/05$)، اما بین تیمارهای حاوی سطوح مختلف پروبیوتیک اختلاف معنی دار وجود نداشت ($p<0/05$). نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر نشان‌دهنده تأثیر مثبت پروبیوتیک باسیلوس سوبتیلیس در اکثر شاخص‌های مورد بررسی از جمله پروتئین لاشه و نیز پارامترهای بیوشیمیایی خون در تیمارهای آزمایشی بوده، و تیمار ۲ بهترین و مطلوبترین شرایط در ماهی سی باس آسیایی را داشته است.

کلمات کلیدی: پروبیوتیک، *Bacillus subtilis*، ترکیب لاشه، بیوشیمیایی سرم خون، آنزیم های کبدی، ماهی سی باس آسیایی

.

* عهده‌دار مکاتبات: reza1375bandar@yahoo.com

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1402.17.3.7.0]

[DOI: 10.22034/17.3.85]

مقدمه

آبزیان پرورش‌یافته در کارگاههای آبزی پروری در مقیاس بزرگ معمولاً در شرایط استرس، بیماری و نیز تغییرات شرایط محیطی بوده و همین مسئله موجب ضرر و زیان اقتصادی سنگینی به این کارگاه‌ها خواهد بود (Banerjee & Ray, 2017). جهت پیشگیری و درمان بیماری های عفونی آبزیان تعداد محدودی از آنتی بیوتیک های مورد تأیید دولت ها وجود داشته، ولی در کنار این ترکیبات در بعضی مواقع از واکسن‌ها نیز در آبزیان مولد جهت درمان یا پیشگیری از بیمارها کمک گرفته می‌شود (Mohamad *et al*., 2021). با این حال، استفاده از آنتی بیوتیک ممکن است منجر به ایجاد مقاومت در بعضی از سویه ها باکتریایی شده و همین مسئله باعث کاهش سطح ایمنی در آبزی مورد نظر گردد (Duttaand & Ghosh, 2020). یک رویکرد جایگزین امیدوار کننده برای کنترل بیماری ها در آبزیان استفاده از پروبیوتیک‌ها یا باکتری های مفید است، که از طریق مکانیسم های مختلف پاتوژن ها را کنترل می کنند (Irianto & Austin, 2002). استفاده از پروبیوتیک ها، در تغذیه انسان و دام نتایج بسیار امیدوار کننده ایی داشته است (Duttaand & Ghosh, 2020)، از جمله پروبیوتیک‌ها می‌توان به باسیلوس سوبتیلیس (*B. subtilis*) اشاره نمود که نقش آن در فعالیت ها ضد سرطان و تعدیل سیستم ایمنی در مطالعات شناخته شده است (Tuan *et al*., 2013)، همچنین مطالعات نشان داده است که *B. subtilis* و اسپورهای *B. subtilis* در رشد و زنده ماندن باکتری های مفید تولید کننده اسید لاکتیک در دستگاه‌های روده ای انسان و برخی از جانوران نقش بسزایی را ایفا می‌نماید (Nayak, 2010). علاوه بر این *B. subtilis* در دستگاه گوارش در بخش روده موجب خواهد شد فعل و انفعالات بیوشیمیایی به صورت مطلوبتر صورت گرفته لذا با تقویت بار جمعیت باکتریایی روده اثرات ترکیبات منفی در روده را خنثی نموده و از این طریق موجب بهبود شرایط زنده مانی و نیز رشد در موجود آبزی خواهد گردید (Hoseinifar *et al*., 2018; Tuan *et al*., 2013). مطالعات انجام شده توسط Siddik و همکاران (۲۰۲۲) تاثیر پروبیوتیک لاکتوباسیلوس را بر روی کارائی رشد ماهی سی باس آسیایی مورد بررسی قرار داده و نتایج نشان‌دهنده بهبود کیفیت لاشه و نیز پارامترهای رشد در این گونه شده است. Azarin و همکاران (۲۰۱۵) اثرات پروبیوتیک‌های *B. licheniformis* و *B. subtilis* را بر روی رشد، ترکیب لاشه، و پارامترهای خونی ماهی سفید را مورد بررسی قرار داده و نتایج نشاندهنده شرایط بهبود نسبی در تمیارهای آمایشی نسبت به تیمار شاهد بودند. مطالعات انجام شده توسط کلیائی و همکاران (۱۳۹۵) نیز نشان داد که باکتری زیست یار *B. subtilis* باعث بهبود پارامترهای رشد و شاخص های تغذیه ایی در ماهی کپور معمولی می گردد. در تحقیق قائدنیا و همکاران (۱۳۹۹) نیز نشان داده شد جیره های حاوی پروبیوتیک *B. subtilis* موجب عملکرد سیستم ایمنی و نیز شاخص های سلامتی در میگوی سفید غربی خواهد گردید. مطالعات انجام شده توسط Garcia-marengoni و همکاران (۲۰۱۵) بر روی ماهی تیلاپیای نیل و نیز Dawood و همکاران (۲۰۱۷) بر روی ماهی سیم دریای قرمز (*Pagrus major*) اثرات مثبت پروبیوتیک ها را در مقاومت بدن ماهی و نیز کارائی مطلوب رشد ماهیان را نشان داده اند.

ماهی سی باس آسیایی (*Lates calcarifer*) از ماهیان با ارزش دریایی بوده که با نام بارامونده شناخته

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1402.17.3.7.0]
[DOI: 10.22034/17.3.85]

می شود؛ از گونه های مهم و تجاری آبزی پروری جنوب شرق آسیا، که به میزان زیادی در استرالیا، تایلند اندونزی پرورش داده می شود (Jerry, 2013). ماهی مزبور از اقیانوس هند شمالی تا اقیانوس آرام غربی و از ایران تا قسمت شمالی استرالیا گسترش یافته و در دمای بین ۲۸ تا ۳۰ درجه سانتیگراد زیست می کنند (Russell, 2013). در سالهای اخیر پرورش ماهیان دریایی یکی از مهمترین فعالیت آبزی پروری در اکثر کشورهای مناطق گرمسیری است و پرورش این آبزیان رشد قابل ملاحظه ای در اکثر نقاط جهان داشته است. بخش آبزی پروری در کنار این رشد قابل توجه همواره با مشکلاتی نیز روبر بوده است که از آن جمله می توان به کنترل کیفیت آب، شیوع بیماریها و جیره غذایی نا مناسب و رشد کند اشاره نمود. به نحوی که شیوع بیماریها به عنوان مشکل عمده آبزی پروری، گسترش اقتصادی این بخش را در بسیاری از کشورهای جهان تحت تاثیر قرار داده است (Banerjee & Ray, 2017). تاکنون درمان اختصاصی برای تعدادی از بیماریها مشخص نشده و نتیجه درمان های دارویی در شرایط تجربی اغلب با شرایط طبیعی و عملی یا با توجه به تکنولوژی پرورش متفاوت است. انواع گسترده ای از ترکیبات مختلف وجود دارند که در ماهی پاسخ ایمنی را تحریک می کند. بیشتر این ترکیبات فقط از راه تزریق موثرند ولی برخی از راه خوراکی و یا غوطه وری نیز تاثیر می گذارند. و یکی از این راهها استفاده از ترکیبات پروبیوتیک خواهد بود، با توجه به اینکه تاکنون تاثیر پروبیوتیک باسیلوس سوبتیلیس بر روی این ماهی مطالعه ایی انجام نشده است لذا در مطالعه حاضر تأثیر سطوح مختلف پروبیوتیک مزبور بر ترکیب لاشه ، پارامترهای بیوشیمیایی سرم خون و نیز آنزیم ها کبدی در ماهی سی باس آسیایی در شرایط کارگاهی مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر در کارگاه خصوصی در شهرستان دلوار بوشهر انجام گردید. ابتدا ۴۰۰ قطعه بچه ماهی از نظر ظاهری سالم را به مدت ۲ هفته با جیره تجاری (ساخت شرکت فرادانه با ۵۰/۲۵ ٪ پروتئین، ۱۲/۷۵ ٪ چربی، ۲/۱۵ ٪ فیبر و ۹/۵۰ ٪ خاکستر موجود در کارگاه ۳ بار در روز در ساعت ۸ صبح ، ۱۲ ظهر و ۱۶ عصر مورد تغذیه قرار داده تا با شرایط آزمایش سازگاری پیدا نمایند. پس از سازگاری اولیه و عادت دهی با غذای مورد استفاده در آزمایش تعداد ۳۰۰ قطعه بچه ماهی سی باس آسیایی با متوسط وزن ۰/۱۴ ± ۱۲/۵۰ گرم در ۱۲ حوضچه فایبرگلاس با تراکم ۲۵ قطعه در هر تانک پرورش داده شدند. جهت تامین هوادهی و نیاز اکسیژنی ماهیان به هر یک از مخازن یک سنگ هوا که به منبع هواده نصب بود متصل گردید.

پروبیوتیک باسیلوس سابتلیس (*Bacillus subtilis* IS02) در این مطالعه از شرکت تک ژن تهران به صورت لیوفیلیزه تهیه شده، جهت آماده سازی از امکانات و تجهیزات آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشگاه خلیج فارس بوشهر استفاده گردید؛ ابتدا از سوسپانسیون باکتریایی برای مرحله اولیه جدا سازی مطابق با دستورالعمل شرکت سازنده استفاده گردید، سپس باکتریها بر روی محیط کشت تریپتیکاز سوی آگار (Trypticase Soy Agar: TSA) کشت داده شده و به مدت ۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوباسیون گردید. بعد از گذشتن زمان مذکور، با استفاده از محلول نیمه مک فارلند و دستگاه اسپکتروفتومتر مدل (UV-vis1280) بر

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1402.17.3.7.0]
[DOI: 10.22034/17.3.85]

اساس تعیین غلظت نوری (OD) و با تعیین جذب نوری در طول موج ۶۰۰ نانومتر، تراکم های مورد نظر تهیه گردید. این مطالعه شامل ۴ تیمار هر کدام با سه تکرار، یک تیمار شاهد و سه تیمار آزمایشی بوده، در تیمار شاهد صرفا از غذای تجاری بدون افزودن پروبیوتیک استفاده گردید؛ اما در تیمارهای مطالعاتی به ترتیب سطح $۱۰^{۶} \times ۱$ (تیمار ۱)، $۱۰^{۶} \times ۱/۵$ (تیمار ۲) و $۱۰^{۶} \times ۲$ (تیمار ۳) واحد کلنی به ازای هر گرم غذا اضافه شده و استفاده گردید. طول مدت آزمایش ۸ هفته بوده و در طول زمان مذکور پارامترهای فیزیکوشیمیایی آب درجه حرارت ۱±۲۷ درجه سانتی گراد، اکسیژن محلول ۰/۵ ± ۸ میلی گرم بر لیتر، pH ۰/۲ ± ۷ و شوری آب ppt ۰/۱ ± ۴۲ به صورت روزانه توسط دستگاه پرتابل سنجش و اندازه گیری گردید.

در پایان دوره ۸ هفته‌ای پرورش، پس از آخرین زیست سنجی جهت محاسبه شاخص های رشد، از هر تکرار تیمارها تعداد ۱۰ عدد ماهی در پایان آزمایش به طور تصادفی صید و با آزمایشات آنالیز تقریبی لاشه، مقادیر پروتئین، چربی، رطوبت، خاکستر و ماده خشک آن‌ها محاسبه گردید. برای اندازه گیری رطوبت از طریق قرار دادن نمونه در آون با دمای ۱۰۵ درجه سانتی گراد و توزین آن پس از خنک شدن در دسیکاتور انجام شد. اندازه گیری پروتئین پس از هضم با سولفوریک اسید در دمای ۲۰۰ درجه سانتی گراد به روش کلدال و اندازه گیری چربی با روش سوکسله و حلال اتر صورت گرفت. خاکستر نمونه ها از طریق سوزاندن نمونه در کوره با دمای ۵۵۰ درجه سانتی گراد به مدت ۶ ساعت و توزین آن صورت پذیرفت (AOAC, 2005).

در پایان آزمایش و پس از سپری شدن ۱۶ ساعت گرسنگی از تمام تیمارهای آزمایشی خونگیری به عمل آمد. خونگیری در تمام ماهیان) پس از بیهوشی با استفاده از محلول ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر پودرگل میخک (Hanggono and Bambang, 2006) (با استفاده از سرنگ و سر سوزن شماره ۲۱ از سیاهرگ ساقه دمی انجام شد). نمونه‌های خون پس از جمع‌آوری در تیوب‌های اپندروف فاقد ماده ضد انعقاد (با استفاده از دستگاه سانتریفیوژ (۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه) سرم خون از آنها جدا گردید. نمونه سرم تا قبل از انجام آنالیزهای بیوشیمیایی در فریزر ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد. کلیه تست های بیوشیمیایی سرم خون شامل گلوکز، کلسترول، تری گلیسرید و آلبومین با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر مدل Roche COBAS MIRA و آنزیم های کبدی شامل لاکتات دهیدروژناز (LDH)، آلکالین فسفاتاز (ALP)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) با استفاده از کیت های تجاری شرکت پارس آزمون در آزمایشگاه اداره دامپزشکی بوشهر انجام گردید.

برای آنالیز آماری داده‌ها، نرمال بودن توزیع داده ها با آزمون گلموگروف-اسمیرنوف بررسی شد. داده‌های به دست آمده با استفاده از نرم‌افزار PSS20 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفته؛ جهت تحلیل پارامترهای رشد از روش آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و جهت تحلیل آماری آنزیم ها در تیمارهای مختلف از آنالیز واریانس دو طرفه استفاده گردید. مقایسه میانگین بین تیمارها نیز از طریق آزمون دانکن در سطح اطمینان ٪ ۹۵ صورت گرفت. جداول و نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel 2016 رسم شدند.

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1402.17.3.7.0]
[DOI: 10.22034/17.3.85]

نتایج

ترکیب لاشه

نتایج ترکیب لاشه ماهیان در تیمارهای مختلف آزمایشی اختلاف معنی داری به جز در خاکستر را با هم نشان دادند (جدول ۱). از نظر ماده خشک و نیز پروتئین خام بین تیمارهای مختلف اختلاف معنی دار مشاهده شده ($p<0/05$)، و تیمار ۲ در مقایسه با سایر تیمارها در پارامترهای ذکر شده مقادیر بیشتری را به خود اختصاص داده است. از نظر چربی خام نیز اختلاف معنی دار بین تیمارهای مختلف مشاهده گردید ($p<0/05$)، و تیمار شاهد بیشترین میزان چربی را دارا بوده است. از نظر خاکستر نیز هیچ گونه اختلاف معنی داری بین تیمارهای مختلف مشاهده نگردید ($p<0/05$).

پارامترهای بیوشیمیایی سرم خون

نتایج آنالیز پارامترهای مختلف بیوشیمیایی سرم خون در تیمارهای مختلف آزمایشی بیانگر آن است که هیچ گونه اختلاف معنی داری در پارامترهای مختلف سرم خون وجود نداشت ($p>0/05$) (جدول ۲).

آنزیم های کبدی

نتایج آنالیز آنزیم های کبدی ماهیان سی باس تغذیه شده با سطوح مختلف پروبیوتیک باسیلوس سوبتیلیس نشان دهنده اختلاف معنی داری بین تیمارهای آزمایشی با تیمار شاهد بوده ($p<0/05$) (جدول ۳)، و در تمامی آنزیم های مورد سنجش اختلاف معنی داری بین سطوح مختلف پروبیوتیک مورد مطالعه مشاهده نگردید ($p>0/05$).

جدول ۱: میانگین ترکیبات لاشه ماهیان سی باس تغذیه شده با سطوح مختلف پروبیوتیک باسیلوس سوبتیلیس

تیمار	شاهد	۱×۱۰^{۶} (تیمار ۱)	$۱/۵ \times ۱۰^{۶}$ (تیمار ۲)	۲×۱۰^{۶} (تیمار ۳)
ماده خشک	$۲۳/۹۱ \pm ۰/۰۴^{c}$	$۲۳/۸۶ \pm ۰/۱۸^{c}$	$۲۶/۱۰ \pm ۰/۰۳^{a}$	$۲۵/۵۷ \pm ۰/۰۴^{b}$
پروتئین خام	$۱۳/۲۹ \pm ۰/۱۱^{c}$	$۱۳/۴۹ \pm ۰/۰۵^{c}$	$۱۵/۱۲ \pm ۰/۰۱^{a}$	$۱۴/۸۳ \pm ۰/۰۶^{b}$
چربی خام	$۷/۱۵ \pm ۰/۰۲^{a}$	$۶/۶۱ \pm ۰/۲۵^{b}$	$۵/۷۰ \pm ۰/۱۳^{c}$	$۶/۵۴ \pm ۰/۰۶^{b}$
خاکستر	$۲/۰۶ \pm ۰/۰۲^{a}$	$۱/۷۸ \pm ۰/۰۲^{a}$	$۱/۸۱ \pm ۰/۰۴^{a}$	$۲/۰۵ \pm ۰/۰۱^{a}$

* حروف غیر همنام در هر ردیف نشان دهنده معنی دار بودن در سطح ۵ درصد خواهد بود ($p<0.05$)

جدول ۲: میانگین پارامترهای بیوشیمیایی سرم خون ماهیان سی باس تغذیه شده با سطوح مختلف پروبیوتیک باسیلوس سوبتیلیس

تیمار	شاهد	۱×۱۰^{۶} (تیمار ۱)	$۱/۵ \times ۱۰^{۶}$ (تیمار ۲)	۲×۱۰^{۶} (تیمار ۳)
گلوکز	$۹۳/۴۱ \pm ۰/۳۲^{a}$	$۹۳/۴۹ \pm ۰/۰۸^{a}$	$۹۳/۱۴ \pm ۰/۰۱^{a}$	$۹۳/۱۰ \pm ۰/۰۳^{a}$
کلسترول	$۱۹۵/۷۷ \pm ۰/۶۴^{a}$	$۱۹۵/۸۲ \pm ۰/۳۵^{a}$	$۱۹۷/۱۵ \pm ۱/۰۰^{a}$	$۱۹۷/۱۴ \pm ۰/۰۱^{a}$
تری گلیسرید	$۱۱۲/۷۹ \pm ۰/۳۲^{a}$	$۱۱۲/۴۳ \pm ۰/۳۱^{a}$	$۱۱۲/۸۳ \pm ۰/۳۲^{a}$	$۱۱۲/۴۹ \pm ۰/۳۳^{a}$
هماتوکریت	$۲۰/۱۶ \pm ۰/۰۵^{b}$	$۲۴/۰۴ \pm ۰/۰۲^{a}$	$۲۴/۰۶ \pm ۰/۰۳^{a}$	$۲۴/۰۷ \pm ۰/۰۲^{a}$
هموگلوبین	$۰/۶۱ \pm ۰/۰۱^{c}$	$۰/۶۴ \pm ۰/۰۱^{b}$	$۰/۷۳ \pm ۰/۰۱^{a}$	$۰/۶۵ \pm ۰/۰۱^{b}$
گلبول قرمز خون	$۱/۱۳ \pm ۰/۰۱^{c}$	$۱/۲۶ \pm ۰/۰۱^{b}$	$۱/۵۲ \pm ۰/۰۱^{a}$	$۱/۵۱ \pm ۰/۰۱^{a}$
گلبول سفید خون	$۱/۶۱ \pm ۰/۰۱^{c}$	$۲/۱۳ \pm ۰/۰۱^{b}$	$۲/۱۸ \pm ۰/۰۱^{a}$	$۲/۱۵ \pm ۰/۰۱^{b}$

* حروف غیر همنام در هر ردیف نشان دهنده معنی دار بودن در سطح ۵ درصد خواهد بود ($p<0.05$)

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1402.17.3.7.0]
[DOI: 10.22034/17.3.85]

جدول ۳: میانگین آنزیم های کبدی ماهیان سی باس تغذیه شده با سطوح مختلف پروبیوتیک باسیلوس سوبتیلیس

تیمار	شاهد	$۱۰^{۶} \times ۱$ (تیمار ۱)	$۱۰^{۶} \times ۱/۵$ (تیمار ۲)	$۱۰^{۶} \times ۲$ (تیمار ۳)
AST	۶۶/۵۵ ± ۰/۰۴^{a}	۵۴/۰۰ ± ۰/۷۵^{b}	۵۳/۴۶ ± ۰/۳۳^{b}	۵۲/۸۱ ± ۰/۳۳^{b}
ALT	۱۴/۱۳ ± ۰/۰۲^{a}	۱۰/۱۸ ± ۰/۰۳^{b}	۱۰/۱۵ ± ۰/۰۲^{b}	۱۰/۱۸ ± ۰/۰۴^{b}
ALP	۱۴۰/۱۴ ± ۰/۰۱^{a}	۱۳۲/۱۵ ± ۰/۰۲^{b}	۱۳۲/۱۷ ± ۰/۰۱^{b}	۱۳۲/۱۷ ± ۰/۰۲^{b}
LDH	۱۵۲۳/۰۰ ± ۱/۵۳^{a}	۱۴۱۴/۳۳ ± ۰/۸۸^{b}	۱۴۱۴/۶۷ ± ۱/۲۰^{b}	۱۴۱۲/۳۳ ± ۱/۴۵^{b}

* حروف غیر همنام در هر ردیف نشان دهنده معنی دار بودن در سطح ۵ درصد خواهد بود ($p<0.05$)

بحث

پروبیوتیک‌ها به عنوان سلول های میکروبی زنده‌ای بوده که باعث تقویت سلول‌های میکروبی می‌شوند و سلامت میزبان خود را با بهبود تعادل روده فلور میکروبی موجب می گردند (Duttaand & Ghosh, 2020). مطالعه حاضر نشان داد که استفاده از پروبیوتیک باسیلوس سوبتیلیس باعث بهبود کیفیت لاشه ماهی سی باس آسیایی شده است.

در مورد تأثیر افزودن پروبیوتیک ها به جیره روی کیفیت لاشه آبزیان مطالعات زیادی صورت گرفته است. میزان چربی لاشه در تیمارهای که از سطوح بالاتر پروبیوتیک تغذیه کرده بودند کمتر از گروه شاهد بود، در مجموع کیفیت لاشه ماهیان سی باس تغذیه‌شده با سطوح مختلف باسیلوس سوبتیلیس در مقایسه با تیمار شاهد بهبود یافت. در همین زمینه مطالعات انجام شده توسط سرگزی و همکاران (۱۳۹۲) نیز نشان داد که استفاده از سطوح مختلف پروبیوتیک باسیلوس علاوه بر استفاده بهتر از غذا سبب بهبود کیفیت لاشه در ماهی قزل آلای رنگین کمان گردید؛ همچنین Wang و همکاران (۲۰۱۷) نیز کاربرد پروبیوتیک باسیلوس در تغذیه ماهی کپور معمولی به این نتیجه رسیدند که علاوه بر تقویت سیستم ایمنی موجب افزایش پارامترهای کیفیت لاشه در ماهی مزبور نیز خواهد شد. Cao و همکاران (۲۰۱۹) بر روی اثرات مکمل های غذایی در جیره غذایی ماهی *Carassius auaratus* نیز به وضوح نشان داد که اضافه نمودن مکمل پروبیوتیکی باسیلوس سوبتلیس کارایی تبدیل غذا، استفاده مطلوبتر از غذا و در نهایت وضعیت مطلوبتر لاشه را در نهایت به دنبال خواهد آورد. تحقیق انجام شده توسط جعفریان و همکاران (۱۳۸۶) در مطالعه بر روی تغذیه لاروهای فیل ماهی (*Huso huso*) با ناپلی های آرتمیا غنی شده با پروبیوتیک های باسیلوسی بیانگر آن بود که که این دسته از باکتریها موجب هضم بهتر پروتئین های جیره شده لذا باعث افزایش کارایی جیره و نیز کیفیت لاشه خواهند گردید. در مطالعه انجام شده توسط Ziaei-Nejad و همکاران (۲۰۰۶) بر روی میگوی سفید هندی نیز نشان دهنده تأثیر مثبت باکتریهای پروبیوتیکی باسیلوس بر ترشح آنزیم های گوارشی و در نهایت کیفیت لاشه در میگوی مورد نظر بوده است. در حقیقت پروبیوتیک‌ها از طریق تحریک و افزایش اشتها در آبزیان موجب افزایش و تسریع متابولیسم میکروبی در روده شده و همین امر باعث بهبود سطح تغذیه توسط موجود میزبان خواهد گردید؛ باسیلوس‌ها قادر به مصرف اکسیژن آزاد موجود در محیط روده هستند، در نتیجه پاتوژن‌های هوازی قادر به فعالیت نخواهند بود. علاوه بر این، باسیلوس‌ها و مخمرها قادر به تولید آنزیم‌هایی نظیر پروتئاز، لیپاز، زایلاناز و فیتاز هستند که به هضم مواد غذایی در دستگاه گوارش کمک می‌کنند. تحقیقات

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1402.17.3.7.0]
[DOI: 10.22034/17.3.85]

انجام شده بر روی پروبیوتیک ها نشان داده اند که بعضی از آنها مانند گروه باسیلوس‌ها دارای آنزیم‌های خارج سلولی از جمله آمیلاز، لیپاز و پروتئاز می باشند که قابلیت مکمل سازی با جیره غذایی ماهیان به منظور ارتقاء سطوح مواد مغذی و کیفیت لاشه را دارد (Bairagi *et al*., 2002)؛ همچنین پروبیوتیک ها از طریق ترشح پلی آمین ها قادر به افزایش ترشحات آنزیم‌های گوارشی نظیر آمیلاز، لیپاز، ترپیسین، آلکالین فسفاتاز، مالتاز، لئوسین آمینو پپتیداز از طریق پرزهای روده آبزیان می باشند (Dawood & Koshio, 2016)، علاوه بر این پروبیوتیک ها احتمالاً از طریق قابلیت هضم چربی موجب کاهش ذخایر چربی بدن موجود زنده می‌شوند و این امر نیز باعث ارتقاء کیفیت لاشه می‌شود (Kuebutornye *et al*., 2019). در مطالعه حاضر دلیل کاهش چربی لاشه می تواند آنزیم های لیپاز تولید شده توسط برخی از میکروارگانیزم ها مانند باکتری‌های لاکتوباسیلوس باشد که باعث افزایش هضم چربی جیره می شود (Cao *et al*., 2019; da Paixão *et al*., 2017; Hassan *et al*., 2021).

در این مطالعه نتایج حاصل از آنالیز پارمترهای بیوشیمیایی سرم خون نشان داد که سطوح مختلف پروبیوتیک جیره بر روی برخی از پارامترهای انداز گیری شده مثل گلوکز، کلسترول و تری گلیسرید بی تأثیر بوده، امّا بر روی هماتوکریت، هموگلوبین و نیز گلبول های قرمز و سفید سرم خون تأثیر بسزایی داشته است. مطالعات انجام شده توسط محققین نشان داده است که افزایش مقادیر گلبول های قرمز و سفید خون و نیز هماتوکریت و هموگلوبین نشاندهنده پروبیوتیک‌های باسیلوسی مانند باسیلوس سوبتلیس باعث تحریک سیستم ایمنی‌شده لذا مکانسیم دفاعی ماهی را در برابر عوامل بیماریزا بهبود داده و از این طریق اثر مثبت بر سلامت آبزی خواهند گذاشت (Ahmadifar *et al*., 2020; Duttaand & Ghosh, 2020; Ghanei-Motlagh *et al*., 2021; Kuebutornye *et al*., 2019). افزایش تعداد گلبول های سفید (لوکوسیت‌ها و نوتروفیل ها) در خون ماهیان تغذیه شده با جیره های غذایی حاوی باسیلوس ممکن است نشاندهنده تحریک سیستم ایمنی ذاتی ماهی باشد ، که موجب بهبود سیستم دفاعی و نیز مقاومت در برابر استرس یا عوامل بیماری زا شده چون گلبول‌های سفید خون در حقیقت اولین خطوط دفاعی در برابر عفونت ها خواهند بود (Kuebutornye *et al*., 2019). کاهش میزان هماتوکریت در تیمار شاهد ممکن است بیانگر آن باشد که این دسته از ماهیان در برابر استرس ناشی از تغییرات محیطی در مقایسه با سایر تیمارهای آزمایشی بدلیل ضعف در سیستم ایمنی آسیب پذیرتر باشند (Adorian *et al*., 2019). در آبزیان تغذیه‌شده با با پروبیوتیک به علت افزایش میزان سوخت و ساز نیاز اکسیژنی افزایش یافته در نتیجه تعداد گلبول های قرمز افزایش می یابد که این امر منجر به افزایش میزان هموگلوبین و ظرفیت حمل اکسیژن می‌شود (Firouzbakhsh *et al*., 2011).

آنزیم‌های کبدی شامل ALT، AST و ALP جزء آنزیم های مهم در بررسی وضعیت سلامت ماهیان هستند و سلول های کبدی غنی از این آنزیم ها می باشند. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که پروبیوتیک باسیلوس سوبتلیس به‌طور معنی‌دار سبب کاهش آنزیم‌های ALP، ALT، AST و LDH کبدی شدند. نتایج این مطالعه نشان داد که افزودن سطوح مختلف پروبیوتیک باسیلوس سوبتلیس به جیره غذایی ماهی سی باس آسیایی تاثیری بر آنزیم‌های کبدی سرم ندارد. مطالعات انجام‌شده توسط

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1402.17.3.7.0]
[DOI: 10.22034/17.3.85]

درفش و همکاران (۱۳۹۸) و Madadi و همکاران (۲۰۱۵) بر روی بچه تاسماهی ایرانی و نیز جعفریان و همکاران (۱۳۸۶) بر روی فیل ماهیان جوان نیز همسو با تحقیق حاضر بوده و مطالعات انجام‌شده نشان داد که در تیمارهای حاوی پروبیوتیک در مقایسه با تیمار شاهد از مقادیر کمتری برخوردار بودند . همچنین در تحقیق Ahmadifar و همکاران (۲۰۲۰) بر روی ماهی کپور معمولی نیز استفاده از سطوح مختلف پروبیوتیک تأثیری بر روی آنزیم های کبدی مشاهده نگردید. در مطالعه عبدالهی آرپناهی و همکاران (۱۳۹۸) مقایسه باسیلوس های *B. subtilis* و *B. licheniformis* را در برخی شاخص‌های ایمنی و آنزیم های سرمی بدن لارو میگوی پا سفید غربی (*Litopenaeus vannamei*) نشان دادند که از نظر آنزیم های کبدی بین تیمارهای مختلف حاوی پروبیوتیک هیچ اختلاف معنی‌داری وجود ندارد و نسبت به تیمار شاهد از مقادیر کمتری برخوردار بودند. در کنار مطالعات همسو با تحقیق حاضر نتایج پژوهش Zare و همکاران (۲۰۲۱) بر روی تاس ماهی سیبری (*Acipenser baerii*) نشان داد که تیمارهای مختلف نسبت به گروه شاهد فاقد اختلاف معنی‌دار بودند، ولی کمترین میزان آنزیم های کبدی در تیماری مشاهده گردید که حاوی بالاترین میزان پروبیوتیک بوده است. بنابراین، پروبیوتیک‌های مختلف و حتی مشابه، ممکن است پاسخ های ایمنی متفاوتی در سنین مختلف یک گونه یا گونه‌های مختلف به دنبال داشته باشند. از طرف دیگر، ممکن است در در یک گونه ماهی نیز استفاده از مقادیر مختلف پروبیوتیک با نسبت‌های مختلف غذادهی، اثرات متفاوتی بر شاخص‌های ایمنی بروز نماید. برخی از محققین بر این باورند که افزایش میزان آنزیم‌های کبدی نمی‌تواند همواره بیانگر عملکرد منفی آن باشد (Siddik *et al*., 2022). افزایش آنزیم‌های AST، ALT و ALP پلاسمای خون ممکن است بیانگر شرایط بد تغذیه‌ای یا محیطی ماهی نیز باشد (Ghanei-Motlagh *et al*., 2021)، و احتمالاً آسیب بافت‌هایی چون کبد ممکن است سبب افزایش این آنزیم‌ها شود (Adorian *et al*., 2019). کاهش سطح فعالیت این آنزیم‌ها در پلاسمای خون ماهیان تحت تاثیر پروبیوتیک، ممکن است بیانگر سلامتی بافت و عملکرد کبد و شرایط مناسب تغذیه‌ای آنها باشد (Hoseinifar *et al*., 2018)، علاوه بر این پروبیوتیک ها با تغییر در میکروفلور روده بر فرآیند گوارش و جذب مواد غذایی مختلف از جمله اسیدهای چرب کوتاه زنجیره موثر بوده و این تغییرات به طور غیر مستقیم بر سلامت بافت کبد آبزی تاثیر مثبت خواهند گذاشت (Fuller, 1989).

بررسی نتایج به‌دست آمده از مطالعه حاضر نشان‌دهنده تاثیر مثبت پروبیوتیک باسیلوس سوبتلیس در اکثر شاخص‌های مورد بررسی بود که از بین تیمارها، تیمار۲ بهترین و بیشترین نتیجه را به دنبال داشت. این نتیجه حاکی از اثر مثبت این گونه پروبیوتیک بر فاکتورهای بیوشیمیایی سرم خون ماهی سی باس آسیایی می‌باشد.

سپاسگزاری

در اینجا بر خود لازم می‌دانیم که از زحمات تمام کسانی که ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند سپاسگزاری نماییم.

منابع

۱. جعفریان، ح. ا.، سلطانی، م.، عابدیان کناری، ع.، ۱۳۸۶. تأثیر برخی پروبیوتیک های باسیلی بر

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1402.17.3.7.0]
[DOI: 10.22034/17.3.85]

کارآیی تغذیه و ترکیبات مغذی بدن لاروفیل ماهی (*Huso huso*). علوم کشاورزی و منابع طبیعی، ۱۴.

۲. درفش، س.، عبدالحی، ع.، مهرجان، ش.، ۱۳۹۸. بهبود شاخص‌های رشد و کیفیت لاشه بچه تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) با استفاده از پروبیوتیک تجاری دی پرو (D Pro) و مخمر ساکارومایسس سرویزیه (*Saccharomycess Cerevisia*). مجله علمی شیلات ایران، ۲۸(۳)، ۱۷۵-۱۸۳.

۳. سرگزی، ح.، جعفریان، ح. ا.، یلقی، س.، فرهنگی، م.، ۱۳۹۲. افزایش مقاومت، بقا و رشد لارو ماهی قزل آلای رنگین کمان (*Onchorhynchus mykiss*) از طریق مکمل سازی جیره با مخلوط باسیلوس‌های تجاری. علوم و فنون شیلات، ۳(۳)، ۱-۱۱.

۴. عبدالهی آرپناهی، د.، جعفریان، ح. ا.، سلطانی، م.، نادری سامانی، م.، حسن پور فتاحی، ا.، ۱۳۹۸. مقایسه ی اثر باسیلوس های تجاری و بومی (*Bacillus subtilis* و *Bacillus licheniformis*) بر برخی شاخص های ایمنی و آنزیم های سرمی بدن لارو میگوی پا سفید غربی (*Litopenaeus vannamei*). مجله تحقیقات دامپزشکی (دانشگاه تهران)، ۷۴ (۱)، ۹۲ – ۸۳.

۵. قائدنیا، ب.، میربخش، م.، ذریه زهرا، س. م.، ۱۳۹۹. تاثیر جیره حاوی پروبیوتیک *Bacillus* IS02 *subtilis* بر شاخص های سلامتی، عملکرد سیستم ایمنی و پیشگیری از بیماری لکه سفید در میگوی سفید غربی. نشریه توسعه آبزی پروری، (۳) ۱۴، ۸۷-۹۹.

۶. کلیائی، ز.، آبرومند، ع.، ضیایی نژاد، س.، ۱۳۹۵. تاثیر باکتری زیست یار *Bacillus subtilis* مستخرج از روده ماهی کپور معمولی (Cyprinus *carpio*) بر عملکرد رشد و بقاء آن. نشریه توسعه آبزی پروری، ۱۰(۲)، ۱۰۸-۹۹.

7. Adorian, T. J., Jamali, H., Farsani, H. G., Darvishi, P., Hasanpour, S., Bagheri, T., & Roozbehfar, R., 2019. Effects of probiotic bacteria *Bacillus* on growth performance, digestive enzyme activity, and hematological parameters of Asian sea bass, *Lates calcarifer* (Bloch). Probiotics and antimicrobial proteins, 11(1), 248-255.
8. Ahmadifar, E., Sadegh, T. H., Dawood, M. A., Dadar, M., & Sheikhzadeh, N., 2020. The effects of dietary Pediococcus pentosaceus on growth performance, hemato-immunological parameters and digestive enzyme activities of common carp (*Cyprinus carpio*). Aquaculture, 516, 734656.
9. AOAC, 2005. Official Methods of Analysis. (16th ed). Association of Official Analytical Chemists, Washington DC, USA.
10. Azarin, H., Aramli, M.S., Imanpour, M.R., Rajabpour, M., 2015. Effect of a Probiotic Containing Bacillus licheniformis and Bacillus subtilis and Ferroin Solution on Growth Performance, Body Composition and Haematological Parameters in Kutum (*Rutilus frisii kutum*) Fry. Probiotics and Antimicrobial Proteins, 7(1), 31-37.
11. Bairagi, A., Ghosh, K. S., Sen, S. K., & Ray, A. K., 2002. Enzyme producing bacterial flora isolated from fish digestive tracts. Aquaculture International, 1, (2)109-121.
12. Banerjee, G., & Ray, A. K., 2017. The advancement of probiotics research and its application in fish farming industries. Research in veterinary science, 115, 66-77 .
13. Cao, H., Yu, R., Zhang, Y., Hu, B., Jian, S., Wen, C., Yang, G., 2019. Effects of dietary supplementation with β-glucan and *Bacillus subtilis* on growth, fillet quality, immune capacity, and antioxidant status of Pengze

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1402.17.3.7.0]
[DOI: 10.22034/17.3.85]

digestive enzymes activity, growth performance, gut microflora, haemato-biochemical parameters and resistance against Vibrio harveyi in Asian seabass (*Lates calcarifer*). Aquaculture, 531, 735874.

22. Hassan, H. U., Ali, Q. M., Ahmad, N., Masood, Z., Hossain, M. Y., Gabol, K., Attaullah, M., 2021. Assessment of growth characteristics, the survival rate and body composition of Asian Sea bass *Lates calcarifer* (Bloch, 1790) under different feeding rates in closed aquaculture system. Saudi Journal of Biological Sciences, 28(2), 1324-1330.
23. Hoseinifar, S. H., Sun, Y.-Z., Wang, A., Zhou, Z., 2018. Probiotics as means of diseases control in aquaculture, a review of current knowledge and future perspectives. Frontiers in microbiology, 2429.
24. Hanggono,B., Bambang, P., 2006. Application of Clove Oil as Anesthetic for Sea Bass (*Lates calcarifer* Bloch), 8(1), 9-16.
25. Irianto, A., Austin, B., 2002. Probiotics in aquaculture. Journal of fish diseases, 25(11), 633-642.
26. Jerry, D. R., 2013. Biology and culture of Asian seabass Lates calcarifer: CRC Press.
27. Kuebutornye, F. K., Abarike, E. D., Lu, Y., 2019. A review on the application of Bacillus as probiotics in aquaculture. Fish and shellfish immunology, 87, 820-828.
28. Madadi, Z., Kamali, A., Soltani, M., Eslami, H. R., 2015. Effects of dietary lactic acid bacteria on some indices of growth, survival and intestinal microbiota of cutured Persian Sturgeon (*Acipenser persicus*). Advances in Environmental Biology, 277-282.
29. Mohamad, A., Zamri-Saad, M., Amal, M. N. A., Al-Saari, N., Monir, M., Chin, Y. K., Md Yasin, I.-S., 2021. Vaccine efficacy of a newly developed feed-based whole-cell polyvalent vaccine against vibriosis, streptococcosis and motile aeromonad septicemia in Asian Seabass, Lates calcarifer. Vaccines, 9(4), 368.
30. Nayak, S. K., 2010. Probiotics and immunity: a fish perspective. Fish and shellfish immunology, 29(1), 2-14.

crucian carp (*Carassius auratus* var. Pengze). Aquaculture, 508, 106-112.

14. da Paixão, A. E. M., dos Santos, J. C., Pinto, M. S., Pereira, D. S. P., de Oliveira Ramos, C. E. C., Cerqueira, R. B., . . . da Silva, R. F., 2017. Effect of commercial probiotics (*Bacillus subtilis* and *Saccharomyces cerevisiae*) on growth performance, body composition, hematology parameters, and disease resistance against *Streptococcus agalactiae* in tambaqui (*Colossoma macropomum*). Aquaculture International, 25(6), 2035-2045.
15. Dawood, M. A., Koshio, S., 2016. Recent advances in the role of probiotics and prebiotics in carp aquaculture: a review. Aquaculture, 454, 243-251.
16. Dawood, M.A.O., Koshio, S., Ishikawa, M., Yokoyama, S., El Basuini, M.F., 2017. Effects of dietary supplementation of *Lactobacillus rhamnosus* or and *Lactococcus lactis* on the growth, gut microbiota and immune responses of red sea bream, Pagrus major. Fish and Shellfish Immunology, 49, 275–285.
17. Duttaand, D., Ghosh, K., 2020. Probiotics Application in Cultivable Finfishes. In Fish Nutrition and Its Relevance to Human Health (pp. 244-277): CRC Press.
18. Firouzbakhsh, F., Noori, F., Khalesi, M.K., Jani-Khalili, K., 2011. Effects of aprobiotic, protexin, on the growth performance and hematological parameters in the Oscar (*Astronotus ocellatus*) fingerlings. Fish Physiology and Biochemistry, 37: 833-842.
19. Fuller, R., 1989. Probiotic in man and animals. Journal of Applied Microbiology, 660: 365–378.
20. Garcia-marengoni, N., Moura, M.C., Tavares, N., de Oliveira, E., 2015. Short Communication Use of probiotics Bacillus cereus var. toyoi and *Bacillus subtilis* C-3102 in the diet of juvenile Nile tilapia cultured in cages. Latin American Journal of Aquatic Research, 43(3), 601-606.
21. Ghanei-Motlagh, R., Mohammadian, T., Gharibi, D ,.Khosravi, M., Mahmoudi, E., Zarea, M., Menanteau-Ledouble, S., 2021. Quorum quenching probiotics modulated

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1402.17.3.7.0]
[DOI: 10.22034/17.3.85]

31. Russell, D., 2013. Lates calcarifer wild stocks: Their biology, ecology and fishery. Biology and culture of Asian seabass Lates calcarifer, 77-101.
32. Siddik, M. A., Foysal, M. J., Fotedar, R., Francis, D. S., Gupta, S. K., 2022. Probiotic yeast Saccharomyces cerevisiae coupled with Lactobacillus casei modulates physiological performance and promotes gut microbiota in juvenile barramundi, *Lates calcarifer*. Aquaculture, 546, 737346 .
33. Tuan, T. N., Duc, P. M., Hatai, K., 2013. Overview of the use of probiotics in aquaculture. International Journal of Research in Fisheries and Aquaculture, 3(3), 89-97.
34. Wang, L., Ge, C., Wang, J., Dai, J., Zhang, P., Li, Y., 2017. Effects of different combinations of Bacillus on immunity and antioxidant activities in common carp. Aquaculture International, 25(6), 2091-2099.
35. Zare, R., Abedian Kenari, A., Yazdani Sadati, M., 2021. Influence of dietary acetic acid, protexin (probiotic), and their combination on growth performance, intestinal microbiota, digestive enzymes, immunological parameters and fatty acids composition in Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*, Brandt, 1869). Aquaculture International, 29(3), 891-910 .
36. 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 Fenneropenaeus indicus. Aquaculture, 252(2-4), 516-524.

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1402.17.3.7.0]
[DOI: 10.22034/17.3.85]