Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics

Print ISSN: 2345-427X
Online ISSN: 2345-4288

Effects of combined or singular administration of *Coriandrum sativum* and *Lactobacillus plantarumi* on growth performance, serum and mucus immunity parameters in Zebrafish (*Danio rerio*)

Iman Sabori Gorgan[1], Valiollah Jafari[*2], Roghieh Safari[3], Ali Hajibeglou[4]

1. M.Sc. Student of Aquaculture, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: imansabori1996@gmail.com
2. Corresponding Author, Dept. of Aquaculture, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: v.jafari.sh110@gmail.com
3. Dept. of Aquaculture, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: roghi_safari@yahoo.com
4. Dept. of Fisheries, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: alihajibeglou@gmail.com

Article Info

Article type:
Full Length Research Paper

Article history:
Received: 02.25.2023
Revised: 04.18.2023
Accepted: 04.23.2023

Keywords:
Coriander powder,
Probiotics,
Safety,
Zebrafish

ABSTRACT

This study was performed to investigate the effects of single and/or combined application of coriander powder *and Lactobacillus plantrum* on growth performance, serum and mucus immune parameters in zebrafish (*Danio rerio*). For this aim, 360 pieces of zebrafish with an average weight of about 0.3 g were prepared and kept for two weeks to adapt to the experimental conditions. Feeding with 4 treatments and each treatment with three replications including control group (commercial food without additives), commercial food with 1% coriander powder, the third group fed with commercial food with 107 CFU / g Lactobacillus plantarum probiotic and the fourth group fed with Commercial food with 1% coriander powder and 10^7 CFU / g probiotic Lactobacillus plantarum. At the end of the course, the treatments were sampled. The results of growth indices showed no significant difference in initial weight indices and survival percentage in any of the separate treatments of powdery mildew and Lactobacillus plantarum and combined treatment (with interaction) ($P>0.05$). There was no significant difference in final weight treatment, weight gain and weight gain percentage in separate coriander treatment ($P>0.05$) but Lactobacillus plantarum and combination treatments showed significant differences with other treatments ($P\leq0.05$). Total serum protein content was significantly different in separate probiotic and combination treatments with other treatments ($P\leq0.05$). Also, the treatment containing coriander powder showed a significant difference with the control treatment ($P\leq0.05$). Serum lysozyme levels in coriander powder treatments, Lactobacillus plantarum and combination treatment showed a significant difference compared to the control group ($P\leq0.05$). Total serum immunoglobulin level showed a significant difference in the separate treatment of probiotics and coriander with control treatment ($P\leq0.05$). Also, the combined treatment showed a significant difference with other treatments ($P\leq0.05$). The amount of total mucus protein did not show in any of the separate treatments of powdery mildew and Lactobacillus plantarum and combination treatment (with interaction) ($P>0.05$). There was a significant difference in the amount of mucus lysozyme in the combined treatment with other treatments ($P\leq0.05$). Also, the treatment containing probiotics showed a significant difference with the control and coriander ($P\leq0.05$). There was a significant difference in the amount of total mucus immunoglobulin in the

combined treatment with other treatments ($P \leq 0.05$). Also, the treatment containing coriander powder and separate probiotics showed a significant difference with the control treatment ($P \leq 0.05$). Alkaline phosphatase, aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase levels did not show in any of the separate treatments of coriander powder and Lactobacillus plantarum and combination treatment (with interaction) ($P > 0.05$). General, according to the results of the present study, coriander powder and Lactobacillus plantarum in a combined form at the level of 1% of coriander powder + 10^7 CFU/g Lactobacillus plantarum in food improves the reproduction and rearing conditions of zebra fish.

Cite this article: Sabori Gorgan, Iman, Jafari, Valiollah, Safari, Roghieh, Hajibeglou, Ali. 2024. Effects of combined or singular administration of *Coriandrum sativum* and *Lactobacillus plantarumi* on growth performance, serum and mucus immunity parameters in Zebrafish (*Danio rerio*). *Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics*, 13 (3), 167-182.

© The Author(s).
DOI: 10.22069/japu.2023.21036.1751
Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

نشریه بهره‌برداری و پرورش آبزیان

شاپا چاپی: ۲۳٤٥-٤۲۷X
شاپا آنلاین: ۲۳٤٥-٤۲۸۸

اثرات به‌کارگیری مجزا و تلفیقی پودر گشنیز (*Coriandrum sativum*) و لاکتوباسیلوس پلانتاروم (*Lactobacillus plantarumi*) بر عملکرد رشد، پارامترهای ایمنی سرم و موکوس در ماهی گورخری (*Danio rerio*)

ایمان صبوری گرگان[۱]، ولی‌اله جعفری*[۲]، رقیه صفری[۳]، علی حاجی‌بگلو[٤]

۱. دانشجوی کارشناسی‌ارشد تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: imansabori1996@gmail.com

۲. نویسنده مسئول، گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: v.jafari.sh110@gmail.com

۳. گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: roghi_safari@yahoo.com

٤. گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: alihajibeglou@gmail.com

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:
مقاله کامل علمی- پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱٤۰۱/۱۲/۰٦
تاریخ ویرایش: ۱٤۰۲/۰۱/۲۹
تاریخ پذیرش: ۱٤۰۲/۰۲/۰۳

واژه‌های کلیدی:
ایمنی،
پروبیوتیک،
پودر گشنیز،
ماهی گورخری

چکیده

این پژوهش به‌منظور بررسی اثرات به‌کارگیری مجزا و تلفیقی پودر گشنیز و لاکتوباسیلوس پلانتروم بر عملکرد رشد، پارامترهای ایمنی سرم و موکوس در ماهی گورخری (*Danio rerio*) انجام شد. بدین‌منظور تعداد ۳٦۰ قطعه ماهی گورخری با میانگین وزن حدود ۰/۰۲ ±۰/۳ گرم تهیه و به‌مدت دو هفته برای سازگاری با شرایط آزمایش نگهداری شد. تغذیه با ٤ تیمار و هر تیمار با سه تکرار شامل گروه شاهد (غذای تجاری بدون افزودنی)، غذای تجاری همراه با ۱ درصد پودر گشنیز، گروه سوم تغذیه شده با غذای تجاری همراه با 10^7 CFU/g پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلانتاروم و گروه چهارم تغذیه با غذای تجاری همراه با ۱ درصد پودر گشنیز و 10^7 CFU/g پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلانتاروم بود. در پایان دوره از تیمارها نمونه‌برداری شد. نتایج شاخص‌های رشد نشان داد اختلاف معنی‌داری در شاخص‌های وزن اولیه و درصد بقا در هیچ‌یک از تیمارهای مجزای پودر گشنیز و لاکتوباسیلوس پلانتاروم و تیمار ترکیبی (با اثر متقابل) نشان نداد ($P>0/05$). در وزن نهایی، افزایش وزن و درصد افزایش وزن اختلاف معنی‌داری در تیمار مجزای گشنیز مشاهده نشد ($P>0/05$) ولی تیمارهای لاکتوباسیلوس پلانتاروم و ترکیبی با اثر متقابل اختلاف معنی‌داری را با سایر تیمارها نشان دادند ($P\leq0/05$). میزان پروتئین کل سرم اختلاف معنی‌داری در تیمار مجزای پروبیوتیک و ترکیبی با سایر تیمارها مشاهده شد ($P\leq0/05$) هم‌چنین تیمار حاوی پودر گشنیز اختلاف معنی‌داری را با تیمار

شاهد نشان داد (P≤۰/۰۵). در میزان لایزوزیم سرم در تیمارهای پودر گشنیز، لاکتوباسیلوس پلانتاروم و تیمار ترکیبی نسبت به گروه شاهد اختلاف معنی‌داری را نشان دادند (P≤۰/۰۵). میزان ایمنوگلوبین کل سرم، اختلاف معنی‌داری در تیمار مجزای پروبیوتیک و گشنیز با تیمار شاهد مشاهده شد (P≤۰/۰۵). هم‌چنین تیمار ترکیبی اختلاف را با سایر تیمارها نشان داد (P≤۰/۰۵). میزان پروتئین کل موکوس در هیچ‌یک از تیمارهای مجزای پودر گشنیز و لاکتوباسیلوس پلانتاروم و تیمار ترکیبی (با اثر متقابل) نشان نداد (P>۰/۰۵). در میزان لایزوزیم موکوس اختلاف معنی‌داری در تیمار ترکیبی با سایر تیمارها مشاهده شد (P≤۰/۰۵) هم‌چنین تیمار حاوی پروبیوتیک اختلاف معنی‌داری را با تیمار شاهد و گشنیز نشان دادند (P≤۰/۰۵). در میزان ایمنوگلوبین کل موکوس اختلاف معنی‌داری در تیمار ترکیبی با سایر تیمارها مشاهده شد (P≤۰/۰۵). هم‌چنین تیمار حاوی پودر گشنیز و مجزای پروبیوتیک اختلاف معنی‌داری را با تیمار شاهد نشان دادند (P≤۰/۰۵). میزان آلکالین فسفاتاز، آسپارتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز در هیچ‌یک از تیمارهای مجزای پودر گشنیز و لاکتوباسیلوس پلانتاروم و تیمار ترکیبی (با اثر متقابل) نشان نداد (P>۰/۰۵). به‌طورکلی با توجه به نتایج حاصل از مطالعه حاضر می‌توان از پودر گشنیز و لاکتوباسیلوس پلانتاروم به صورت تلفیقی در سطح ۱ درصد پودر گشنیز + $۱۰^{۷}$CFU/g لاکتوباسیلوس پلانتاروم در غذا باعث بهبود شرایط تکثیر و پرورش ماهی گورخری می‌شود.

استناد: صبوری گرگان، ایمان، جعفری، ولی‌اله، صفری، رقیه، حاجی‌بگلو، علی (۱۴۰۳). اثرات به‌کارگیری مجزا و تلفیقی پودر گشنیز (*Coriandrum sativum*) و لاکتوباسیلوس پلانتاروم (*Lactobacillus plantarumi*) بر عملکرد رشد، پارامترهای ایمنی سرم و موکوس در ماهی گورخری (*Danio rerio*). *نشریه بهره‌برداری و پرورش آبزیان*، ۱۳ (۳)، ۱۸۲-۱۶۷.
DOI: 10.22069/japu.2023.21036.1751

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
© نویسندگان.

مقدمه

در سطح جهانی آبزی‌پروری در حال گسترش است و این گسترش به دو صورت کلی افزایش تراکم و یا افزایش تنوع گونه‌های پرورشی می‌باشد. در این شرایط، بروز و شیوع بیماری، اصلی‌ترین عامل محدودکننده برای پرورش بسیاری از گونه‌های آبزی بوده و مانع توسعه اقتصادی و اجتماعی در بسیاری از کشورها می‌باشد (۱). هم‌چنین رفاه و سلامت ماهیان پرورشی به یک نگرانی عمومی در حال توسعه تبدیل شده است، تا جایی که امروزه یکی از جنبه‌های مهم در توسعه آبزی‌پروری، توجه به سلامت و رفاه جانوران پرورشی می‌باشد. ارتقای سیستم ایمنی و افزایش رشد و بازماندگی ماهیان در مراحل اولیه زندگی از اصلی‌ترین نیازهای پرورش‌دهندگان می‌باشد. علاوه بر این بروز بیماری‌ها در کنار پیشرفت و توسعه صنعت آبزی‌پروری، از لحاظ اقتصادی این صنعت را تحت‌تأثیر قرار داده است. بنابراین باید با اتخاذ شیوه‌های مناسب در محیط‌های پرورش، بقا و رشد مطلوب موجودات آبزی را در چنین شرایطی حفظ کرد. در چند سال اخیر استفاده از محرک‌های سیستم ایمنی بیش‌تر مورد توجه پژوهش‌گران و پرورش‌دهندگان ماهی و میگو قرار گرفته است (۲).

گشنیز (*Coriandrum sativum*) گیاه بومی جنوب‌غرب آسیا و مدیترانه و جنوب اروپا می‌باشد و امروزه در نواحی مختلف آسیا، اروپا و حتی آمریکا نیز کشت می‌شود. کاروتنوئید موجود در گشنیز لوتئین و بتا کاروتن است و مسئول ایجاد رنگ سبز-زرد می‌باشد. در این بین، اصلی‌ترین کاروتنوئید گشنیز، بتاکاروتن است که یک آنتی‌اکسیدان بسیار مهم محسوب می‌شود. ترکیبات شیمیایی در ۱۰۰ گرم گشنیز: آب ۵/۷ گرم، مواد چرب ۱۵ گرم، سلولز ۳۸ گرم، اسانس ۱ گرم، اسید اگزالیک ۱۲ میلی‌گرم، کلسیم ۱۷۰ میلی‌گرم، ویتامین آ ۲۰۰ واحد، ویتامین ث ۵۰ میلی‌گرم، اسیدهای چرب گشنیز شامل اسید اولیئک، اسید پالمتیک، اسید لینولئیک، اسید پتروسه لینیک است. علاوه بر این، در برگ‌های گشنیز مقدار زیادی ویتامین آ، ب و ث وجود دارد. برگ‌های گشنیز دارای ۹۰-۷۰ درصد لینالول (که ماده اصلی اسانس این گیاه می‌باشد) و ۵ تا ۱۰ درصد پنین، لیمونن، ترپینن، میرسن، ژرانیول و بورنئول است (٤). در سالیان اخیر استفاده از مکمل‌های غذایی، مکمل‌های غذایی میکروبی (پروبیوتیک‌ها، پربیوتیک‌ها و سین‌بیوتیک‌ها)، هورمون‌ها، ترکیبات غذایی گوناگون و عصاره‌های گیاهی در جیره غذایی جهت بهبود وضعیت رشد، ایمنی و تولیدمثلی آبزیان مورد توجه بوده است. پروبیوتیک‌ها، سلول‌های میکروبی زنده‌ای هستند که بر تعادل میکروبی روده تأثیر می‌گذارند. استفاده از پروبیوتیک‌ها در واقع فناوری جدید آبزی‌پروری همگام با محیط زیست به شمار می‌رود. با استفاده از این مواد می‌توان تولید را افزایش داد، کیفیت آب را اصلاح کرد و هم‌چنین می‌توان آن‌ها را به عنوان مبارزه زیستی مدنظر قرار داد (۳).

پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلانتاروم از باکتری‌های اسیدلاکتیک، گرم مثبت، میله‌ای شکل، بدون اسپور و بی‌هوازی می‌باشد (۳). زمینه به‌کارگیری پروبیوتیک‌ها، پربیوتیک‌ها، سین‌بیوتیک‌ها، اسیدهای آلی، نمک‌های آن‌ها و گیاهان دارویی مطالعات زیادی صورت گرفته است که می‌توان به مطالعه صفری و همکاران (۲۰۱۹) با به‌کارگیری پودر گشنیز در جیره غذایی ماهی گورخری (٤)، صفری و همکاران (۲۰۱۷) با به‌کارگیری عصاره هیدروالکلی آنغوزه در جیره غذایی ماهی گورخری (۵)، نژاد مقدم و همکاران (۲۰۱۸) با به‌کارگیری عصاره هیدروالکلی بومادران در جیره غذایی ماهی کاراس (٦)، حسینی‌فر و همکاران (۲۰۱۱) با به‌کارگیری پدیوکوکوس اسیدلاکتیکی در جیره غذایی ماهی کپور (۷) اشاره کرد. در زمینه تأثیر

مجزا (پودر گشنیز و باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلانتاروم) و تلفیقی (پودر گشنیز با باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلانتاروم)، در جیره غذایی بر عملکرد رشد، پارامترهای ایمنی سرم و موکوس در ماهی گورخری (*Danio rerio*) مطالعه‌ای صورت نگرفته است، بنابراین مطالعه حاضر با هدف بررسی پارامترهای مذکور انجام شد.

مواد و روش‌ها

محل انجام آزمایش: اثرات به‌کارگیری مجزا و تلفیقی پودر گشنیز و لاکتوباسیلوس پلانتاروم بر عملکرد رشد، پارامترهای ایمنی سرم و موکوس در ماهی گورخری با ٤ تیمار و ۳ تکرار به‌مدت ۸ هفته در کارگاه آبزی‌پروری گرگان ماهی در شصت‌کلا استان گلستان شهرستان گرگان اجرا شد.

آماده‌سازی جیره‌ها و طراحی آزمایش: در این پژوهش از خوراک تجاری بیومار (آنالیز ترکیبات بیومار پروتئین خام ۵۸ درصد، چربی خام ۱۵ درصد، فیبر خام ۰/۵ درصد، رطوبت ۱۱/۵ درصد و خاکستر ۱/٦ درصد) استفاده شد. برای آماده‌سازی جیره‌های غذایی پودر گشنیز با مقدار ۱ درصد و لاکتوباسیلوس پلانتاروم با غلظت 10^{7}CFU/g همراه پودر ژلاتین (۳ گرم ژلاتین در ۱۰۰ سی‌سی آب) جهت جلوگیری از آب‌شویی و بهتر چسبیدن مواد بر روی غذا مخلوط کرده و به غذا اضافه گردید. لازم به ذکر است جهت از بین بردن اثر ژلاتین به جیره تیمار شاهد نیز به همان میزان به‌ازای ۱ کیلوگرم غذا محلول ژلاتین اسپری شد. تیمارهای آزمایشی به صورت زیر بود:

گروه اول (شاهد): به غذای این گروه از ماهیان هیچ گونه افزودنی اضافه نشد

گروه دوم: ۱ درصد درصد پودر گشنیز در غذا

گروه سوم: 10^{7}CFU/g لاکتوباسیلوس پلانتاروم در غذا

گروه چهارم: ۱ درصد پودر گشنیز + 10^{7}CFU/g لاکتوباسیلوس پلانتاروم در غذا

تغذیه و پرورش ماهیان: بر اساس طرح آزمایش، تعداد ۳٦۰ قطعه بچه‌ماهی با میانگین وزنی ۰/۰۸±۰/۳ گرم (میانگین ± انحراف معیار) در ۱۲ آکواریوم شیشه‌ای به حجم آبگیری حدود ۵۰ لیتر به تعداد ۵۰ عدد ماهی در هر مخزن تقسیم و از جیره‌های آزمایشی به اندازه ۳ درصد وزن بدن استفاده شد. نظر به اهمیت عوامل مختلف محیطی در پرورش ماهیان و وابستگی شدید آن‌ها از نظر رشد و سلامتی به این عوامل، فاکتورهای فیزیکوشیمیایی مانند درجه حرارت ۲±۲۲ درجه سانتی‌گراد، pH ۷/۱۵ و اکسیژن ۸/۳ میلی‌گرم بر لیتر به‌ترتیب با استفاده از دماسنج (دماسنج جیوه‌ای)، pH متر و اکسیژن متر با دستگاه مالتی پارامتر مدل WTW540I (WTW, Weilheim, Germany) اندازه‌گیری شد. هوادهی آب از طریق سنگ هوا متصل به کمپرسور مرکزی انجام شد. برای جلوگیری از آلودگی و خارج کردن غذای باقی‌مانده و فضولات، روزانه یک تا دو بار (صبح و عصر) آب مخازن سیفون می‌شد. در صورت مشاهده تلفات بلافاصله ماهی‌های تلف‌شده خارج شد و تعداد تلفات و شماره مخازن ثبت گردید.

فاکتورهای رشد: پس از زیست‌سنجی اولیه و توزیع بچه‌ماهیان در مخازن، به‌منظور سنجش روند تغییرات وزنی و شاخص‌های رشد و کارآیی تغذیه، به‌صورت منظم و هر دو هفته یک‌بار زیست‌سنجی صورت گرفت. برای جلوگیری از وارد شدن تنش به ماهیان، ۲٤ ساعت قبل از زیست‌سنجی غذادهی قطع می‌شد. جهت بیهوشی ماهیان برای انجام زیست‌سنجی از ۲۰۰ ppm پودر گل میخک استفاده شد (۸). اندازه‌گیری طول و وزن به ترتیب به‌وسیله خط‌کش با دقت ۱ میلی‌متر و ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۱ گرم

انجام گرفت. به‌منظور بررسی چگونگی عملکرد سطوح مختلف پودر گشنیز و پروبیوتیک، داده‌های به‌دست‌آمده از زیست‌سنجی‌ها بر اساس فرمول‌های موجود آنالیز شده و برخی از فاکتورهای رشد به شرح زیر تعیین گردیدند (۹).

۱۰۰ × (میانگین وزن اولیه (گرم) – میانگین وزن ثانویه (گرم)) = (WG) درصد افزایش وزن بدن

۱۰۰ × تعداد اولیه ماهیان / تعداد ماهیان در پایان دوره = (SR) درصد بقا

سنجش پارامترهای بیوشیمیایی سرم: در انتهای دوره جهت بررسی پارامترهای بیوشیمیایی از سرم ماهی به روش هالباک و همکاران (۲۰۰۱) گورخری استفاده شد (۹). بدین‌منظور پس از بیهوشی ماهیان گورخری با پودر گل میخک به میزان ۱ گرم در لیتر و انجام اندازه‌گیری‌های بیومتریک سر و دم هر کدام از ماهیان جدا و قسمت باقی‌مانده به ویال‌های استریل منتقل شد. ویال‌های حاوی نمونه بلافاصله در نیتروژن مایع قرار گرفته و سپس هموژن شدند، سپس ۲۵ میلی‌متر (Tris-HCl buffeer) به آن‌ها اضافه شد. پارامترهای بیوشیمیایی شامل آنزیم‌های آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) و آلکالین فسفاتاز (ALP) و پروتئین کل با استفاده از کیت‌های تجاری (پارس آزمون) به روش فتومتریک اندازه‌گیری شدند.

سنجش فاکتورهای ایمنی غیراختصاصی موکوس: جمع‌آوری موکوس با روش رز و همکاران (۲۰۰۰) انجام شد (۱۰). از هر تانک ۵ قطعه ماهی به‌صورت تصادفی نمونه‌برداری و پس از بیهوشی با ۵ میلی‌گرم بر لیتر پودر گل میخک به‌صورت جداگانه درون کیسه‌های پلی‌اتیلنی (زیپ پلاست) حاوی ۱ تا ۲ میلی‌لیتر سدیم کلرید ۵۰ میلی‌مولار قرار گرفته و پس از ۲ دقیقه ماهی‌ها از کیسه خارج و موکوس جمع‌آوری شد به‌مدت ۱۰ دقیقه در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ و محلول رویی به میکروتیوپ منتقل گشت.

سنجش میزان لیزوزیم موکوس: سنجش میزان لیزوزیم بر اساس روش الیس و همکاران (۱۹۹۰) انجام گرفت (۱۱)، ابتدا ۱۰ میکرولیتر از موکوس با ۲۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون باکتری میکروکوکوس لیزودیکتیکوس (۰/۲ میلی‌گرم در میلی لیتر در بافر فسفات سدیم با مولاریته ۰/۰۵ مولار و pH برابر ٦/۲) اضافه و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد انکوباسیون شد. میزان جذب نوری بعد از ۱ و ٦ دقیقه به روش اسپکتوفتومتری در طول موج ۵۳۰ نانومتر قرائت و نتایج حاصله بر حسب واحد بر میلی‌لیتر به کمک رسم منحنی استاندارد با استفاده از رقت‌های لیزوزیم سفیده تخم‌مرغ محاسبه شد. هم‌چنین از بافر فسفات سدیم به‌عنوان بلانک استفاده گشت.

اندازه‌گیری ایمونوگلوبولین کل: جهت اندازه‌گیری ایمونوگلبولین از روش سیویکی و اندرسون (۱۹۹۳) استفاده شد. ابتدا میزان پروتئین موکوس تعیین و سپس به نمونه موکوس پلی‌اتیلن گلایکول ۱۲ درصد اضافه شد. پس از ۲ ساعت در دمای اتاق و تاریکی نمونه‌ها به‌مدت ۵ دقیقه با دور ۵۰۰۰ سانتریفیوژ شده و غلظت پروتئین در قسمت بالایی محلول اندازه‌گیری شد. پلی‌اتیلن گلیکول باعث رسوب ایمونوگلوبولین موجود در پروتئین شد. میزان ایمونوگلبولین کل از محاسبه تفریق غلظت پروتئین در نمونه اولیه (پروتئین محلول) و غلظت پروتئین پس از افزودن پلی‌اتیلن گلایکول محاسبه شد (۱۲).

تجزیه تحلیل آماری: داده‌های مربوط به پارامترهای بیوشیمیایی سرم و ایمنی موکوس رشد، ایمنی جهت بررسی نرمالیتی با استفاده از آزمون کولوموگروف

اسمیرنوف تست شدند. برای کنترل نرمال بودن داده‌ها از آزمون کولموگروف- اسمیرنوف، برای کنترل همگنی واریانس‌ها از آزمون Levene و جهت مشخص نمودن اختلاف میانگین بین تیمارهای مختلف از آنالیز واریانس دوطرفه (Two-way ANOVA) استفاده شد. هم‌چنین برای مقایسه میانگین‌ها، آزمون Duncan مورد استفاده قرار گرفت. آنالیزها در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ انجام شد.

نتایج و بحث

شاخص‌های رشد و کارایی غذا: اثرات ترکیب پودر گشنیز و لاکتوباسیلوس پلانتاروم و اثرات هر یک از آن‌ها به‌طور مجزا، بر شاخص‌های رشد و تغذیه ماهی گورخری پس از ۸ هفته تغذیه، در جدول ۱ نشان داده شده است. نتایج شاخص‌های رشد نشان داد اختلاف معنی‌داری در شاخص‌های وزن اولیه و درصد بقا در هیچ‌یک از تیمارهای مجزای پودر گشنیز و لاکتوباسیلوس پلانتاروم و تیمار ترکیبی (با اثر متقابل) نشان نداد (P>۰/۰۵). در تیمار وزن نهایی، افزایش وزن و درصد افزایش وزن اختلاف معنی‌داری در تیمار مجزای گشنیز مشاهده نشد (P>۰/۰۵) ولی تیمارهای لاکتوباسیلوس پلانتاروم و ترکیبی با اثر متقابل اختلاف معنی‌داری را با سایر تیمارها نشان دادند (P≤۰/۰۵).

جدول ۱- عملکرد رشد ماهی گورخری تغذیه شده با سطوح مختلف پودر گشنیز و پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلانتاروم طی ۸ هفته آزمایش (n=۹؛ میانگین ± انحرف از معیار).

شاخص	C_0		$C_{1\%}$		P. value		
	L_0	L_{10}^7	L_0	L_{10}^7	گشنیز	پروبیوتیک	ترکیبی
وزن اولیه (میلی‌گرم)	۲۹۹/۰±۳۳/۶۲^a	۳۰۰/۰±۷/۷۸^a	۳۰۰/۱±۸/۷۵^a	۳۰۱/۱±۸۳/۱۵^a	-	-	-
وزن نهایی (میلی‌گرم)	۳۴۱/۱±۹۶/۹^b	۳۸۲/۴±۳/۰۹^a	۳۴۷/۳±۰۶/۱۷^b	۰±۳۹۰/۳^a	۰/۰۵*	۰/۰۰*	۰/۶۵۶
افزایش وزن (گرم)	۴۲/۱±۶/۸^b	۸۱/۴±۶/۳^a	۴۶/۲±۲/۴^b	۸۸/۱±۱۶/۱^a	۰/۰۹۶	۰/۰۰*	۰/۵۹۷
درصد افزایش وزن (گرم)	۱۴/۰±۲۴/۶۲^b	۸۱/۴±۶/۳^a	۴۶/۲±۲/۴^b	۲۹/۰±۲۱/۴۹^a	۰/۱۱۹	۰/۰۰*	۰/۵۹۷
درصد بقا	۹۴/۲±۴۴/۹^a	۹۷/۱±۷۷/۱^a	۹۷/۱±۷۷/۱^a	۹۸/۱±۸۸/۱^a	۰/۲۴	۰/۲۴	۰/۲۴

حروف کوچک انگلیسی در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار اماری بین تیمارها در سطح ۰/۰۵ است

L_0: ۰CFU/g لاکتوباسیلوس پلانتاروم، L_{10}^7: 10^7CFU/g لاکتوباسیلوس پلانتاروم، C_0: ۰ درصد پودر گشنیز، $C_{1\%}$: ۱ درصد پودر گشنیز

فاکتورهای ایمنی سرم و موکوس: اثرات ترکیب پودر گشنیز و لاکتوباسیلوس پلانتاروم و اثرات هر یک از آن‌ها به‌طور مجزا، بر شاخص‌های ایمنی سرم و موکوس ماهی گورخری پس از ۸ هفته تغذیه، در جدول‌های ۲ و ۳ نشان داده شده است. میزان پروتئین کل سرم اختلاف معنی‌داری در تیمار مجزای پروبیوتیک و ترکیبی با سایر تیمارها مشاهده شد (P≤۰/۰۵) هم‌چنین تیمار حاوی پودر گشنیز اختلاف معنی‌داری را با تیمار شاهد نشان داد (P≤۰/۰۵). در میزان لایزوزیم سرم در تیمارهای پودر گشنیز، لاکتوباسیلوس پلانتاروم و تیمار ترکیبی نسبت به گروه شاهد اختلاف معنی‌داری را نشان دادند (P≤۰/۰۵). میزان ایمنوگلوبین کل سرم، اختلاف معنی‌داری در تیمار مجزای پروبیوتیک و گشنیز با تیمار شاهد مشاهده شد (P≤۰/۰۵) هم‌چنین تیمار ترکیبی اختلاف معنی‌داری را با سایر تیمارها نشان داد (P≤۰/۰۵).

میزان پروتئین کل موکوس در هیچ‌یک از تیمارهای مجزای پودر گشنیز و لاکتوباسیلوس پلانتاروم و تیمار ترکیبی (با اثر متقابل) نشان نداد (P>۰/۰۵). در میزان لایزوزیم موکوس اختلاف معنی‌داری در تیمار ترکیبی با سایر تیمارها مشاهده شد (P≤۰/۰۵) هم‌چنین تیمار حاوی پروبیوتیک اختلاف معنی‌داری را با تیمار شاهد و گشنیز نشان دادند (P≤۰/۰۵). در میزان ایمنوگلوبین کل موکوس اختلاف معنی‌داری در تیمار ترکیبی با سایر تیمارها مشاهده شد (P≤۰/۰۵) هم‌چنین تیمار حاوی پودر گشنیز و مجزای پروبیوتیک اختلاف معنی‌داری را با تیمار شاهد نشان دادند (P≤۰/۰۵).

جدول ۲- عملکرد ایمنی سرم ماهی گورخری (*Danio rerio*) تغذیه شده با سطوح مختلف پودر گشنیز و پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلانتاروم طی ۸ هفته آزمایش (n=۹؛ میانگین ± انحرف از معیار).

شاخص	C_0		$C_{1\%}$		P. value		
	L_0	L_{10}^7	L_0	L_{10}^7	گشنیز	پروبیوتیک	ترکیبی
پروتئین کل (گرم در هر دسی‌لیتر)	۱/۰±۷/۰۱۱^{c}	۲/۰±٤۸/۰٤^{a}	۲/۰±۲۱/۰۵^{b}	۲/۰±٤۹/۰٦^{a}	۰/۰۱۷*	۰/۰۰*	۰/۰۲۳*
لایزوزیم (um/l)	۱۸/۰±۵/۸۲^{b}	۲۲/۰±۲۸/۱٦^{a}	۲۱/۰±۸٦/۲۱^{a}	۲۲/۰±۳۷/۳٤^{a}	۰/۰۰٦*	۰/۰۰۲*	۰/۰۰۸*
ایمنوگلوبین کل (میلی‌گرم در هر دسی‌لیتر)	۰/۰±۸۱/۰۵^{c}	۱/۰±۳۳/۰۳۳^{ab}	۱/۰±۲۸/۰۳٦^{b}	۱/۰±٤٦/۰۲۸^{a}	۰/۰۰۳*	۰/۰۰۸*	۰/۰۰*

حروف کوچک انگلیسی در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار اماری بین تیمارها در سطح ۰/۰۵ است

L_0: ۰CFU/g لاکتوباسیلوس پلانتاروم، L_{10}^7: ۱۰^{۷}CFU/g لاکتوباسیلوس پلانتاروم، C_0: ۰ درصد پودر گشنیز، $C_{1\%}$: ۱ درصد پودر گشنیز

جدول ۳- عملکرد ایمنی موکوس ماهی گورخری (*Danio rerio*) تغذیه شده با سطوح مختلف پودر گشنیز و پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلانتاروم طی ۸ هفته آزمایش (n=۹؛ میانگین ± انحرف از معیار).

شاخص	C_0		$C_{1\%}$		P. value		
	L_0	L_{10}^7	L_0	L_{10}^7	گشنیز	پروبیوتیک	ترکیبی
پروتئین کل (گرم در هر دسی‌لیتر)	۰/۰±۵۷/۰۲٦^{a}	۰/۰±۷٦/۱۲^{a}	۰/۰±۷/۰۵۷^{a}	۰/۰±۸/۱^{a}	۰/٦٤۵	۰/۱۲۷	۰/۳۵۷
لایزوزیم (um/l)	۷/۰±۸/٤٤^{b}	۸/۰±٦/٤٦^{ab}	۸/۰±۲/۵٦^{b}	۱۰/۰±۰۳/۵٤^{a}	۰/۱۲۸	۰/۰۳٤*	۰/۳۲۷
ایمنوگلوبین کل (میلی‌گرم در هر دسی‌لیتر)	۰/۰±۱۹٦/۰۰۸^{c}	۰/۰±۳٦/۰۲٦^{ab}	۰/۰±۲۷/۰۳۸^{bc}	۰/۰±۳۹/۳۱^{a}	۰/۰۸۳	۰/۰۰۱*	۰/٤۳۷

حروف کوچک انگلیسی در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار اماری بین تیمارها در سطح ۰/۰۵ است

L_0: ۰CFU/g لاکتوباسیلوس پلانتاروم، L_{10}^7: ۱۰^{۷}CFU/g لاکتوباسیلوس پلانتاروم، C_0: ۰ درصد پودر گشنیز، $C_{1\%}$: ۱ درصد پودر گشنیز

فاکتورهای بیوشیمیایی سرم خون: میزان آلکالین فسفاتاز، آسپارتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز در هیچ‌یک از تیمارهای مجزای پودر گشنیز و لاکتوباسیلوس پلانتاروم و تیمار ترکیبی (با اثر متقابل) نشان نداد (P>۰/۰۵).

جدول ٤- عملکرد بیوشیمیایی سرم خون ماهی گورخری (*Danio rerio*) تغذیه شده با سطوح مختلف پودر گشنیز و پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلانتاروم طی ۸ هفته آزمایش (n=۹؛ میانگین ± انحرف از معیار).

تیمارها	C_0		$C_{1\%}$		P. value		
شاخص	L_0	L_{10}^7	L_0	L_{10}^7	گشنیز	پروبیوتیک	ترکیبی
آلکالین فسفاتاز (u/l)	۱۲±۷۵۰/۱۱[a]	۹±۷٤٦/۸[a]	٦±۷۳۳/۸[a]	۱۲±۷۵۰/٥٤[a]	۰/۹۷	۰/۱٦	۰/۷
آسپارتات امینوترانسفراز (u/l)	۲٤/۰±٤/٤۱[a]	۲۵/۰±۵/٤[a]	۲۵/۰±۰۳/٤۹[a]	۲٦/۰±۱/٤۹[a]	۰/۱۳۹	۰/۳۸۵	۱
آلانین آمینوترانسفراز (u/l)	۵۵۵/۹±٦٦/۳۸[a]	۵۸۲/٤±۳۳/۹۷[a]	۱٦±۵۵۷/۲۹[a]	۵۸٤/٤±۳۳/٤۸[a]	۰/۹۷۵	۰/۳	۰/۸۷

حروف کوچک انگلیسی در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار اماری بین تیمارها در سطح ۰/۰۵ است

L_0: ۰CFU/g لاکتوباسیلوس پلانتاروم، L_{10}^7: $۱۰^۷$CFU/g لاکتوباسیلوس پلانتاروم، C_0: ۰ درصد پودر گشنیز، $C_{1\%}$: ۱ درصد پودر گشنیز

بحث و نتیجه‌گیری

رشد و کارایی غذایی: در سال‌های اخیر پژوهش‌گران مطالعات مختلفی در بررسی اثرهای مفید استفاده از پروبیوتیک‌ها در آبزی‌پروری انجام داده‌اند. نتایج مطالعات به نوعی توانایی پروبیوتیک‌ها را در افزایش رشد نشان دادند. پژوهش‌گران بیان کردند که باکتری‌های موجود در دستگاه گوارش، آنزیم‌های گوارشی تولید می‌کنند که باعث آسان شدن مصرف غذا و هضم آن‌ها می‌گردد (۱۳). هم‌چنین پژوهش‌گران بیان نمودند که ماهی تمایل به خوردن غذای غنی شده با پروبیوتیک را دارند که منجر به افزایش رشد ماهی می‌گردد (١٤). این پژوهش نشان داد که پروبیوتیک‌ها به هضم و جذب غذا کمک می‌کنند و باعث افزایش برخی یا همه شاخص‌های رشد می‌شوند. پروبیوتیک‌ها با تولید ویتامین‌ها، ترکیبات مسمومیت‌زا در جیره غذایی و تجزیه ذرات غیرقابل‌هضم موجب تحریک اشتها و بهبود تغذیه در میزبان می‌گردند (۱۵). چندین مطالعه ثبت شده در مورد تأثیر گیاهان دارویی در بهبود هضم و جذب وجود دارد. نقش گیاهان دارویی در بهبود هضم را می‌توان به دلایل مختلفی از جمله افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی و افزایش ترشح صفرا مرتبط دانست که برای هضم و جذب اسیدهای چرب بسیار مهم است (١٦). علاوه بر این، گیاهان دارویی می‌توانند با تحریک اشتها و بهبود میکروبیوتای روده، عملکرد رشد ماهی را افزایش دهند (۱۷). مطالعه حاضر نشان می‌دهد که مکمل پودر گشنیز در جیره ماهی گورخری عملکرد رشد را در هشت هفته بهینه می کند. این ممکن است به عوامل مختلفی از جمله محافظت از مواد مغذی در روده به‌دلیل اثرات ضدباکتریایی گشنیز بر پاتوژن‌های باکتریایی روده، افزایش سطح آنزیم‌های گوارشی و تنفس سلولی و جذب بهتر مواد مغذی و در نتیجه افزایش تعداد گلبول‌های قرمز مربوط باشد (۱۸). در مطالعه فعلی نتایج شاخص‌های رشد نشان داد اختلاف معنی‌داری در شاخص‌های وزن اولیه و درصد بقا در هیچ‌یک از تیمارهای مجزای پودر گشنیز و لاکتوباسیلوس پلانتاروم و تیمار ترکیبی (با اثر متقابل) نشان نداد. در تیمار وزن نهایی، افزایش وزن و درصد افزایش وزن اختلاف معنی‌داری در تیمار مجزای گشنیز مشاهده نشد ولی تیمارهای لاکتوباسیلوس پلانتاروم و ترکیبی با اثر متقابل اختلاف معنی‌داری را با سایر تیمارها نشان دادند. همسو با مطالعه فعلی ما، رضوانی گیل‌کلایی و همکاران (۲۰۱۹)، در مطالعه‌ای به بررسی اثر پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلانتاروم بر شاخص‌های تغذیه در تاس‌ماهی سیبری (*Acipenser baerii*)

پرداختند. نتایج به‌دست آمده نشان داد که باکتری مورد استفاده قادر به تقویت پارامترهای رشد (وزن، ضریب تبدیل غذایی و ضریب بازده پروتئینی) بوده و باعث افزایش معناداری در شاخص نسبت کارآیی پروتئین و کاهش معناداری در میزان ضریب تبدیل غذایی تیمارهای تغذیه شده با پروبیوتیک در مقایسه با گروه شاهد شد (۱۹). هم‌چنین، حسینی و همکاران (۲۰۱٦)، در مطالعه‌ای به بررسی اثر لاکتوباسیلوس‌های جدا شده از روده ماهی شیربت (*Barbus grypus*) بر عملکرد رشد، بازماندگی و فلور میکروبی روده ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) پرداختند. در روز ۷۵ آزمایش ضریب رشد ویژه ماهی تغذیه شده با جیره حاوی *L. bulgaricus* به‌طور معنی‌داری در مقایسه با گروه شاهد افزایش یافت (۲۰). حسینی‌فر و همکاران (۲۰۱۱) مطالعه‌ای را بر روی فیل‌ماهی جوان (*Huso huso*) انجام دادند که نشان داد، استفاده از مخمر ساکارومایسس سرویزیا به عنوان پروبیوتیک منجر به افزایش معنادار در شاخص رشد ویژه، درصد افزایش وزن بدن، وزن نهایی و کاهش معنادار در ضریب تبدیل غذایی ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی مخمر در مقایسه با ماهیان تغذیه شده با جیره فاقد مخمر گردید که با یافته‌های پژوهش حاضر مطابقت دارد (۷). نادری فارسانی و همکاران (۲۰۱۹)، در مطالعه‌ای به بررسی اثرات رژیم غذایی عصاره گشنیز بر عملکرد رشد، پاسخ‌های فیزیولوژیکی و ایمنی ذاتی و مقاومت ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در برابر *Yersinia ruckeri* پرداختند و گزارش کردند که ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با ۲ درصد CSE مقادیر قابل‌توجهی بالاتری از نرخ رشد ویژه، وزن نهایی و فاکتور شرایط در مقایسه با گروه شاهد پس از ۸ هفته نشان داد (۲۱). در مغایرت با نتایج پژوهش حاضر، فرگوسن و همکاران (۲۰۱۰) به بررسی اثر استفاده از پروبیوتیک پدیوکوکوس اسید لاکتیکی بر روی شاخص‌های رشد در جیره غذایی تیلاپیای قرمز پرداختند. که نتایج به‌دست آمده از این بررسی، عدم وجود اختلاف معنی‌دار در شاخص‌های FCR، PER، SGR گروه شاهد با گروه تغذیه شده با جیره حاوی پروبیوتیک بود (۱٤). در مطالعه فعلی میزان پروتئین کل سرم اختلاف معنی‌داری در تیمار مجزای پروبیوتیک و ترکیبی با سایر تیمارها مشاهده شد هم‌چنین تیمار حاوی پودر گشنیز اختلاف معنی‌داری را با تیمار شاهد نشان داد. در میزان لایزوزیم سرم در تیمارهای پودر گشنیز، لاکتوباسیلوس پلانتاروم و تیمار ترکیبی نسبت به گروه شاهد اختلاف معنی‌داری را نشان دادند. میزان ایمنوگلوبین کل سرم، اختلاف معنی‌داری در تیمار مجزای پروبیوتیک و گشنیز با تیمار شاهد مشاهده شد هم‌چنین تیمار ترکیبی اختلاف معنی‌داری را با سایر تیمارها نشان داد. میزان پروتئین کل موکوس در هیچ‌یک از تیمارهای مجزای پودر گشنیز و لاکتوباسیلوس پلانتاروم و تیمار ترکیبی (با اثر متقابل) نشان نداد. در میزان لایزوزیم موکوس اختلاف معنی‌داری در تیمار ترکیبی با سایر تیمارها مشاهده شد هم‌چنین تیمار حاوی پروبیوتیک اختلاف معنی‌داری را با تیمار شاهد و گشنیز نشان دادند. در میزان ایمنوگلوبین کل موکوس اختلاف معنی‌داری در تیمار ترکیبی با سایر تیمارها مشاهده شد (هم‌چنین تیمار حاوی پودر گشنیز و مجزای پروبیوتیک اختلاف معنی‌داری را با تیمار شاهد نشان دادند. همسو با نتایج ما قلجایی‌فرد و همکاران (۲۰۱۵)، در مطالعه‌ای به بررسی تأثیر باکتری *Lactobacillus plantarum* جداسازی شده از روده قزل‌آلای رنگین‌کمان استان گیلان بر شاخص‌های خونی و ایمنی بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان پرداختند. آن‌ها بیش‌ترین مقادیر فاکتورهای ایمنی خون شامل ایمونوگلوبین کل، IGM و لیزوزیم را متعلق به تیمار بالاترین مقدار پروبیوتیک

و پایین‌ترین مقادیر آن متعلق به گروه شاهد بود (۲۲). هم‌چنین صفری و همکاران (۲۰۱۹)، در مطالعه‌ای به بررسی اثرات گیاه *Coriandrum sativum* L. به‌عنوان افزودنی خوراک بر پارامترهای ایمنی موکوس، دفاع آنتی‌اکسیدانی و بیان ژن‌های مرتبط با ایمنی در ماهی گورخری پرداختند. نتایج نشان داد که گشنیز به‌طور قابل‌توجهی پارامترهای ایمنی مخاطی (فعالیت کل ایمونوگلوبولین کل، پروتئاز و لیزوزیم) را افزایش داد (٤). در مطالعه دیگر پورغلام و همکاران (۲۰۱۷)، در مطالعه‌ای به بررسی تأثیر لاکتوباسیلوس پلانتاروم در رژیم غذایی ماهی خاویاری سیبری (*Acipenser baerii*) بر عملکرد و پارامترهای خونی پرداختند. ماهی (۱٤/٦±۲/۳ گرم) با سه جیره آزمایشی تهیه شده با مکمل جیره پایه با *L. plantarum* در غلظت‌های مختلف ($۱۰^{۷}$، $۱۰^{۸}$ و $۱۰^{۹}$ cfu g^{-1}) و رژیم غذایی کنترل (غیرمکمل) به‌مدت ۸ هفته تغذیه شدند. ماهیانی که از سطوح مختلف *L. Plantarum* تغذیه شده بودند به‌طور معنی‌داری گلبول قرمز، هموگلوبین، گلبول سفید و مونوسیت بالاتری نسبت به گروه شاهد نشان دادند. این نتایج نشان داد که مکمل غذایی *L. plantarum* باعث بهبود عملکرد رشد و پارامترهای خونی در ماهیان خاویاری سیبری شد (۲۳). نادری فارسانی و همکاران (۲۰۱۹)، در مطالعه‌ای به بررسی اثرات رژیم غذایی عصاره گشنیز بر عملکرد رشد، پاسخ‌های فیزیولوژیکی و ایمنی ذاتی و مقاومت ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در برابر *Yersinia ruckeri* پرداختند. آن‌ها بهبود قابل‌توجهی در فعالیت لیزوزیم و مکمل جایگزین در ۲ درصد از تیمار CSE مشاهده نمودند (۲۱). هم‌چنین خاویر اینوسنت و همکاران (۲۰۱۱)، در مطالعه‌ای به بررسی مطالعات بر روی فعالیت محرک ایمنی گشنیز و مقاومت به *Aeromonas hydrophila* در *Catla catla* پرداختند (٢٤). پارامترهای هماتولوژیک و پروتئین سرم بین کنترل و آزمایش مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. افزایش قابل‌توجهی در TEC و TLC در رژیم غذایی تجویز شده با محرک ایمنی وجود داشت. افزایش قابل‌توجهی در محتوای Hb و سطح پروتئین سرم مشاهده شد. در ماهی کاتلا پس از چالش بر روی محرک ایمنی تجویز شده، کاهش TEC را در $۱۰^{۳}$ cfu/ml نشان داد و افزایش شدید TLC در هر دو $۱۰^{۳}$ و $۱۰^{۵}$ cfu/ml و محتوای Hb پس از چالش در *Catla Catla* نشان داد. تلاش‌هایی برای روشن کردن مکانیسم‌های مختلف وجود دارد که پروبیوتیک‌ها سیستم ایمنی ماهی‌های آلوده به پاتوژن‌ها را تعدیل می‌کنند. این مکانیسم‌ها شامل اثر تحریکی سیتوکین‌های پیش التهابی بر روی فعالیت سلول‌های ایمنی، آنتی‌بادی‌ها، اسید فسفاتاز، لیزوزیم‌ها، مکمل و پپتیدهای ضدمیکروبی است (۲۵). بر این اساس که پاسخ ایمنی ذاتی ماهی به فعالیت لیزوزیم بستگی دارد که در بین موجودات زنده توزیع شده است (۲٦). لیزوزیم‌ها توسط لکوسیت‌ها آزاد می‌شوند و در فعالیت ضدمیکروارگانیسمی مهم هستند (۲۷). یافته‌ها در مهره‌داران عالی نشان داده است که پروبیوتیک‌ها را می‌توان توسط سلول‌های ایمنی روده به دام انداخته و ارتباط با لکوسیت‌ها را در خون ممکن می‌سازد، که به نوبه خود پاسخ‌های ایمنی را تحریک می‌کند (۲۸). بسیاری از مطالعات قبلی ثابت کرده‌اند که گیاهان اثر تحریک‌کننده بر انواع مختلف سلول‌های ایمنی دارند، جایی که آن‌ها حالت ایمنی عمومی را در انواع مختلف ماهی تحریک می‌کنند. مقدار مناسب داروهای گیاهی می تواند ایمنی غیراختصاصی ماهی را برای مقاومت در برابر تهاجم ویروس‌ها و باکتری‌ها تقویت کند (۲۹). از ترکیبات موجود در گیاهان دارویی که اثرات مفیدی بر سیستم ایمنی ماهی دارند می‌توان پلی ساکاریدها، ساپونین‌ها،

فلاونوئیدها، آلکالوئیدها، آنتراسن، اسانس‌ها و اسیدهای آلی را نام برد. این مواد اثرات بهبود قابل‌توجهی بر روی برخی از پارامترهای ایمنی غیراختصاصی مانند پروتئین سرم، فعالیت لیزوزیم، فعالیت آنتی‌اکسیدانی دارند (۳۰). چندین ترکیب مانند ترکیبات فنلی، فلاونوئیدها، آلکالوئیدها، فسفولیپیدها، فیتواسترول‌ها، تانن‌های پیروگالیک و کومارین‌ها که دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی هستند، در عصاره اتانولی گشنیز یافت می‌شوند. در حالی‌که عصاره آبی دانه گیشنیز ایمنی ذاتی و را در نتیجه فعال شدن ماکروفاژها ایجاد می‌کند، که ممکن است به تحریک دفاع میزبان در برابر پاتوژن‌ها کمک کند (۳۱). آنزیم‌های سرمی تحت‌تأثیر فاکتورهای فیزیولوژیک و محیطی قرار می‌گیرند. برای مثال نوع و جیره غذایی، دمای آب، سن ماهی و شوری آب در میزان آنزیم‌های کبدی و فعالیت آن‌ها مؤثر می‌باشد. در مطالعه حاضر میزان آلکالین فسفاتاز، آسپارتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز در هیچ‌یک از تیمارهای مجزای پودر گشنیز و لاکتوباسیلوس پلانتاروم و تیمار ترکیبی (با اثر متقابل) نشان نداد. محمدیان تکاور و همکاران (۲۰۱۹)، به بررسی تأثیر لاکتوباسیلوس پلانتاروم ریزپوشانی شده با آلژینات/کیتوزان بر برخی فاکتورهای بیوشیمیایی پلاسما خون در فیل‌ماهی (*Huso huso*) پرداختند. نتایج حاصل نشان‌دهنده این امر بود که ویژگی‌های پروبیوتیکی لاکتوباسیلوس پلانتاروم ریزپوشانی‌شده در شرایط برون تنی به‌طور معنی‌داری نسبت به باکتری معمولی برتری داشت. در اکثر فاکتورهای بیوشیمیایی به‌جز تری‌گلیسرید در تیمار پروبیوتیک ریزپوشانی شده اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها داشت (۳۲). افزایش فعالیت آنزیم‌های کبدی احتمالاً به‌علت نقش آن‌ها در فراهم آوردن شرایط لازم و کافی جهت فرآیند گلوکونئوژنز و تامین انرژی مورد نیاز در شرایط تنشی می‌باشد. در واقع این آنزیم‌های درگیر با گلوکونئوژنز آمینواسیدها بوده و بر روی فعالیت‌های ترانس آمینازها مؤثرند و افزایش ترانس آمینازها یک مکانیسم ایمنی است که در مراحل اولیه تنش رخ می‌دهد (۳۳). به‌نظر می‌رسد پروبیوتیک و پودر گشنیز با توجه به افزایش ایمنی و کاهش تنش در ماهی باعث بهبود فعالیت آنزیم‌های کبدی شده‌اند.

نتیجه‌گیری نهایی

توجه به نتایج به‌دست آمده از این مطالعه می‌توان بیان کرد که استفاده مجزا و تلفیقی پودر گشنیز و لاکتوباسیلوس پلانتاروم در ماهی گورخری اثرات مثبت زیادی را در پی خواهد داشت. داده‌های حاصل از فاکتورهای رشد در این مطالعه نشان داد که استفاده از جیره ترکیبی می‌تواند در وزن نهایی در تیمارهای لاکتوباسیلوس پلانتاروم و ترکیبی با اثر متقابل اختلاف معنی‌داری را با سایر تیمارها در غذای ماهی گورخری نشان دهد. بررسی فاکتورهای ایمنی غیراختصاصی نشان داد که استفاده از این جیره می‌تواند باعث عملکرد مثبت در میزان فعالیت لیزوزیم و ایمنوگلوبین در ماهی گورخری شود. در واقع جیره حاوی پودر گشنیز و لاکتوباسیلوس پلانتاروم با مکانیسم‌هایی شامل اثر تحریکی سیتوکین‌های پیش التهابی بر روی فعالیت سلول‌های ایمنی، آنتی‌بادی‌ها، لیزوزیم‌ها، مکمل و پپتیدهای ضدمیکروبی می‌تواند در مکانیسم‌های مربوط به سیستم ایمنی ایفای نقش کند. داده‌های حاصل از آنزیم‌های در این مطالعه نشان داد که استفاده از پودر گشنیز و لاکتوباسیلوس پلانتاروم در جیره غذایی باعث بهبود فعالیت آنزیم‌های کبدی می‌شود. به‌طورکلی با توجه به نتایج حاصل از مطالعه حاضر می‌توان از پودر گشنیز و لاکتوباسیلوس پلانتاروم به‌صورت تلفیقی در سطح ۱ درصد پودر گشنیز + $۱۰^{۷}$CFU/g لاکتوباسیلوس پلانتاروم در غذا در آبزی‌پروری لحاظ گردد.

منابع

1. Bondad-Reantaso, M. G., Subasinghe, R. P., Arthur, J. R., Ogawa, K., Chinabut, S., Adlard, R., Tan, Z., & Shariff, M. (2005). Disease and health management in Asian aquaculture. *Veterinary Parasitology*. 132, 249-272.
2. Hoseinifar, S. H., Khalili, M., Rostami, H. K., & Esteban, M. Á. (2013). Dietary galactooligosaccharide affects intestinal microbiota, stress resistance, and performance of caspian roach (*Rutilus rutilus*) fry. *Fish & Shellfish Immunology*. 35, 1416-1420.
3. Arasu, M. V., Jung, M. W., Ilavenil, S., Jane, M., Kim, D. H., Lee, K. D., Park, H. S., Hur, T. Y., Choi, G. J., Lim, Y. C., Al-Dhabi, N. A., & Choi, K. C. (2013). Isolation and characterization of antifungal compound from Lactobacillus plantarum KCC-10 from forage silage with potential beneficial properties. *J. Appl. Microbiol*. 115, 1172-1185.
4. Safari, R., Hoseinifar, S. H., Dadar, M., Sattari, M., & Rahbar, M. (2019). The effects of *Coriandrum sativum* L. as feed additive on mucosal immune parameters, antioxidant defence and, immune-related genes expression in zebrafish (*Danio rerio*). *Aquaculture Research*. 50 (9), 2621-2627.
5. Safari, R., Vahedi Amiri, F., Shabany, A., Hoseinifar, S. H., & Kolangi Miandareh, H. (2017). Effect of Supplementation of Diet with *Ferula assafoetida* Hydoalkohalic Extract on Immune Related (IL-1β and TNF-alpha) Gene. *Physiology and animal development (biological sciences)*. 11 (3), 55-66.
6. Nezhadmoghadam, S., Imanpoor, M. R., Jafari., V., & Safari, R. (2018). Effect of Achillea millefolium on mucosal immune response and immune related (TNF-alfa) gene expression in Goldfish *Carassius auratus* (Linnaeus, 1758). JAIR. 5 (4), 87-100.
7. Hoseinifar, S. H., Mirvaghefi, A. R., Mojazi Amiri, B., Khoshbavar Rostami, H. A., Poor Amini, M., & Darvish Bastami, K. (2011). The probiotic effects of dietary inactive yeast *Saccharomyces cerevisiae* var. *ellipsoideus* on growth factors, survival, body composition and intestinal microbiota of juvenile Beluga (*Huso huso*). *Iranian Scientific Fisheries Journal*. 19 (4), 55-66.
8. Darvishi, M., Safari, R., Shabani, A., & Hoseinifar, S. H. (2020). Effects of sublethal concentration of diazinon on the expression of aromatase (CYP 19a) gene in females Zebrafish (*Danio rerio*). *Journal of Animal Enviroment*. 12 (3), 395-400.
9. Misra, C. K., Das, B. K., Mukherjee, S. C., & Pattnaik, P. (2006). Effect of multiple injections of β-glucan on non-specific immunoresponse and disease resistance in *Labeo rohita* fingerlings. *Fish & Shellfish Immunology*. 20 (3), 305-331.
10. Ross, T., Dalgaard, P., & Tienungoon, S. (2000). Predictive modelling of the growth and survival of Listeria in fishery products. *International Journal of Food Microbiology*. 62 (3), 231-245.
11. Ellis, A. E. (1990). Lysozyme Assays. In: Stolen, J. S., Fletcher, T. C., Anderson, D. P., Roberson, B. S. and Van Muiswinkel, W. B., Eds., *Techniques in Fish Immunology* Fair Haven, SOS Publications, Fair Haven, 101-103.
12. Anderson, W. G., McKinley, R. S., & Colavecchia, M. (1997). The use of clove oil as an anaesthetic for rainbow trout and its effect on swimming performance. *North American Journal of Fisheries Management*. 17, 301-307.
13. Wang, Y. B., Li, J. R., & Lin, J. (2008). Probiotics in aquaculture: Challenges and outlook. *Aquaculture*. 281, 1-4.
14. Ferguson, R. M. W., Merrifield, D. L., Harper, G. M., Rawling, M. D., Mustafa1, S., Picchietti, S., Balcazar, J. L., & Davies, S. J. (2010). The effect of *Pediococcus acidilactici* on the gut microbiota and immune status of ongrowing red tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Applied Microbiology*. 109 (3), 1364-5072.
15. Tackert, W., Abelin, P., & Sorgeloos, P. (1989). Stress resistance in postlarval penaeid shrimp reared under different

feeding procedure. *Journal of World Aquaculture Society*. 20: 74A.
16. Srinivasan, K. (2016). Spices and Flavoring Crops: Uses and Health Effects, In: Encyclopedia of Food and Health. Academic Press, Oxford, pp. 98-105.
17. Citarasu, T. (2010). Herbal biomedicines: a new opportunity for aquaculture industry. *Aquac. Int*. 18, 403-414.
18. Begnami, A. F., Spindola, H. M., Ruiz, A. L., de Carvalho, J. E., Groppo, F. C., & Rehder, V. L. (2018). Antinociceptive and anti-edema properties of the ethyl acetate fraction obtained from extracts of *Coriandrum sativum* Linn. Leaves, Biomed. *Pharmacother*. 103, 1617-22.
19. Rezvani Gilkolaei, A., Shoaibi Omrani, B., & Afraei Bandpey, M. A. (2019). The effect of dietary probiotic Lactobacillus plantarum on nutrition performance in Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*) *(Huso huso*). JAD. 13 (1), 79-88.
20. Hosseini, A., Chaharlang, F., Sotoudeh, E., Alishahi, M., & Modaresi, M. (2016). The effect of isolated Lactobacillus from gut of *Barbus grypus* on growth performance, survival and gut microflora of common carp (*Cyprinus carpio*). *ISFJ*. 25 (3), 167-179.
21. Farsani, M. N., Hoseinifar, S. H., Rashidian, G., Farsani, H. G., Ashouri, G., & Van Doan, H. (2019). Dietary effects of *Coriandrum sativum* extract on growth performance, physiological and innate immune responses and resistance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) against *Yersinia ruckeri*. *Fish and Shellfish Immunology*. 91, 233-240.
22. Ghaljaei Fard, A., Khara, H., & Shenavar Masoleh, A. (2016). Effect of *Lactobacillus plantarum* (KC426951) Bacteria Isolated from the Intestine of Rainbow Trout Guilan on Hematological Indices and Immune of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) Fry. *Journal of Physiology and animal development (biological sciences)*. 9 (1), 61-68.
23. Pourgholam, M. A., Khara, H., Safari, R., Yazdani Sadati, M. A., & Aramli, M. S. (2017). Influence of *Lactobacillus plantarum* Inclusion in the Diet of Siberian Sturgeon (*Acipenser baerii*) on Performance and Hematological Parameters. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 17, 1-5.
24. Xavier Innocent, B., Syed Ali fathima, M., & Dhanalakshmi, A. (2011). Studies on the immunostimulant activity of *Coriandrum sativum* and resistance to *Aeromonas hydrophila* in *Catla catla*. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 1 (07), 132-135.
25. Tuan, T. N., Duc, P. M., & Hatai, K. (2013). Overview of the use of probiotics in aquaculture. *Int. J. Res. Fish Aquac*. 3, 89-97.
26. Saurabh, S., & Sahoo, P. (2008). Lysozyme: an important defence molecule of fish innate immune system. *Aquac. Res*. 39, 223-239.
27. Pimpimol, T., Phoonsamran, K., & Chitmanat, C. (2012). Effect of dietary vitamin C supplementation on the blood parameters of Mekong giant catfish (*Pangasianodon gigas*). *Int. J. Agric. Biol*. 14, 256-260.
28. Jatob´a, A., Vieira, Fd. N., Buglione-Neto, C. C., Mouri˜no', J. L. P., Silva, B. C., Seiftter, W. Q., & Andreatta, E. R. (2011). Diet supplemented with probiotic for Nile tilapia in polyculture system with marine shrimp. *Fish Physiol. Biochem*. 37, 725-732.
29. Zhang, X., Huang, K., Zhong, H., Ma, Y., Guo, Z., Tang, Z., Liang, J., Luo, Y., Su, Z., & Wang, L. (2020). Effects of *Lycium barbarum* polysaccharides on immunological parameters, apoptosis, and growth performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Fish Shellfish Immunol*. 97, 509-514.
30. Pu, H., Li, X., Du, Q., Cui, H., & Xu, Y. (2017). Research Progress in the Application of Chinese Herbal Medicines in Aquaculture: A Review. *Engineering*. 3, 737-731.
31. Ishida, M., Nishi, K., Kunihiro, N., Onda, H., Nishimoto, S., & Sugahara, T. (2017). Immunostimulatory effect of aqueous extract of *Coriandrum sativum* L. seed on macrophages. *J. Sci. Food Agric*. 97, 4727-4736.

32.Mohammadiyan, T., Bita, S., & Naseri Pourtaklo, R. Effect of Lactobacillus plantarum Encapsulated with Alginate / Chitosan on Biochemical Factors in the Beluga (*Huso huso*). *Journal of Veterinary Research.* 74 (1), 93-103.

33.Hamedi, S., Rahimi, R., Nafisi Bahabadi, M., Azodi, M., & Ahmadi, S. A. (2020). Study of Some Liver Enzymes Changes (*Lates calcarifer*) at Different Levels of Water Salinity. *Physiology and animal development (biological sciences)*. 12 (4), 61-74.