

## تاثیر لاکتوباسیلوس پلانتروم و برویس جدا شده از دستگاه گوارش سیاه ماهی (*Capoeta.razii*) و تاثیر آن بر شاخص های رشد و ایمنی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در مقایسه با پروبیوتیک پریمالاک

میثم رامشگر<sup>۱</sup>، محمد رضا قمی مرزدشتی<sup>۲</sup>، مسعود هاشمی کروئی<sup>۳</sup>، مهدی حسینی فرد<sup>۳</sup>، سید رضا طبری پور<sup>۳</sup>

۱- دانشجوی دکتری دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن، تنکابن، ایران.

۲- هیات علمی گروه شیلات دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن، تنکابن، ایران. mrghomi@gmail.com

۳- هیات علمی گروه دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد بابل، بابل، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۹/۷/۲۹ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱/۳۰

### چکیده

زمینه و هدف: گروه های مختلف باکتری های اسیدلاکتیک باکتری هایی می باشند که در اکوسیستم های مختلف وجود داشته با تولید انواعی از فرآورده های میکروبی به اشکال مختلف اثرات مثبت زیادی در اکوسیستم های زیستی دارند که از مهم ترین آن ها می توان به نقش آن ها در درمان بیماری های عفونی و دخالت در رشد و تولید فاکتورهای مهم زیستی اشاره کرد. بنابراین نیاز به شناسایی باکتری های اسیدلاکتیک دارای پتانسیل پروبیوتیکی در اکوسیستم های مختلف می باشد. هم چنین از آن جایی که در صنعت آبی پروری اعمال مدیریت در رشد و بهداشت و پیش گیری از بروز بیماری های عفونی از اهمیت اقتصادی بالایی برخوردار است، استفاده از ترکیبات محرک سیستم ایمنی می توانند موجب تقویت سیستم ایمنی گردند و توان موجود را برای رشد بیشتر و مواجهه با شرایط نامساعد محیطی بالا ببرند. این ترکیبات شامل انواع پروبیوتیک ها می باشند، لذا هدف از این تحقیق جداسازی و شناسایی لاکتوباسیل های دارای پتانسیل پروبیوتیکی از دستگاه گوارش سیاه ماهی *Capoeta.razii* و تاثیر آن بر شاخص های رشد و ایمنی ماهی کپور معمولی *Cyprinus carpio* بوده است.

روش کار: برای رسیدن به این منظور از دستگاه گوارش سیاه ماهی *Capoeta.razii* لاکتوباسیل های دارای پتانسیل پروبیوتیکی با انجام تست های میکروبی و مولکولی جداسازی و شناسایی شدند. در نتیجه ۳ باکتری شناسایی شد که ۲ گونه از آن *L.plantarum* و یک گونه از آن *L.brevis* بوده است. تعداد ۲۴۰ قطعه ماهی کپور معمولی با وزن ۱۵±۲ گرم بین ۱۲ مخزن فایبرگلاسی ۵۰۰ لیتری با تراکم ذخیره سازی ۲۰ عدد ماهی در چهار تیمار (۳ تکرار) که این تیمارها شامل گروه شاهد، گروه ماهیان تغذیه شده با غذای آغشته شده به باکتری لاکتوباسیل برویس به تعداد ۱۰۶، گروه ماهیان تغذیه شده با غذای آغشته شده به باکتری لاکتوباسیل پلانتروم به تعداد ۱۰۶ و گروه ماهیان تغذیه شده با غذای آغشته شده به پروبیوتیک پریمالاک بودند. توزیع و تغذیه شدند.

یافته ها: در پایان آزمایش، در گروه ماهیانی که لاکتوباسیل و پریمالاک دریافت کرده بودند، شاخص های رشد آن ها مانند افزایش وزن، نرخ رشد ویژه، ضریب تبدیل غذا و درصد بقا سطح بالاتر و مطلوب تری را نسبت به گروه ماهیانی که جیره آن ها فاقد لاکتوباسیل و پریمالاک بودند نشان دادند. هم چنین در فاکتورهای ایمنی نیز تعداد RBC و WBC، پرتین تام، آلبومین، گلوبولین، C3 افزایش و میزان کورتیزول کاهش یافت.

واژه های کلیدی: کپور معمولی، شاخص های رشد، شاخص های ایمنی.

### مقدمه

که در این میان بحث تغذیه و تامین غذای کافی و سالم، از بدو خلقت تا کنون، یکی از دغدغه های حیاتی انسان بوده است (۲). مصرف آبیان از دیرباز به عنوان یکی از

علی رغم پیشرفت های انسان در سطوح مختلف و هم چنین رشد سریع جمعیت طی قرون متمادی، هنوز هم مسائل و مشکلات فراوانی زندگی بشر را تهدید می کند

گیرند، اما این موارد گاهی خود می توانند سبب کاهش یا بروز اختلالاتی در فعالیت های میکروبی در روده ماهیان شوند، اما استفاده از بعضی پروبیوتیک ها به عنوان مکمل - های غذایی می تواند این نتیجه را جبران کند (۱۴). پروبیوتیک ها غذاهای کمکی اند که آنزیم های جانبی آن ها می توانند باعث افزایش فرایند هضم شود. این میکروارگانیسم ها نه تنها باعث کاهش باکتری های بیماری زا در محیط و موجود زنده می شوند بلکه با ایجاد و تقویت میکروارگانیسم های مفید موجود در دستگاه گوارش، موجبات سلامتی و یا افزایش میزان رشد را در موجودات زنده فراهم می آورد (۱۲). ممنوعیت استفاده از آنتی بیوتیک به عنوان درمان در اروپا و افزایش فشار برای کاهش استفاده از آنتی بیوتیک در خوراک در مناطق دیگر جهان وجود دارد. افزودن پروبیوتیک به غذا یکی از گزینه های جایگزین است و می تواند به عنوان جایگزینی برای آنتی بیوتیک ها استفاده شود. شواهد کافی وجود دارد که نشان می دهد پروبیوتیک ها اثرات فعال در افزایش سیستم ایمنی بدن، افزایش وزن بدن، کاهش اسهال و بهبود تبدیل خوراک دارند (۱۲). پروبیوتیک ها برای ایجاد اثرات سودمند در بدن باید قادر به رشد در معده و روده بوده و توانایی سکونت در آن جا را داشته باشند به همین منظور باید مقاومت لازم جهت مواجه شدن با اسید کلریدریک معده و نمک های صفاوی موجود در روده در آن ها وجود داشته باشد (۲۸). لاکتوباسیل ها دارای گونه های مختلفی هستند که به طور گسترده به عنوان پروبیوتیک برای انسان و حیوانات مورد استفاده قرار می گیرند (۳۳). این باکتری ها معمولاً با محیط های مغذی همانند غذاها، مواد پوسیده و سطوح های مخاطی دستگاه گوارش و دستگاه ادراری در ارتباط هستند (۱۸). لاکتوباسیل ها، باسیل های گرم مثبت، ب دون حرکت، اسپورزا، کاتالیز منفی و اکسیداز منفی است که قند های مختلف را به لاکتات و استات تبدیل می کند (۱۳). ماهی

غذاهای بسیار مهم، هم از نظر ارزش های غذایی و هم از نظر روش های دارویی مطرح بوده است. در عصر حاضر نیز با توجه به رشد روز افزون جمعیت و در حالی که نیمی از مردم دنیا دچار سوء تغذیه هستند، ماهی و آبزیان می توانند در مقام تامین پروتئین مصرفی جایگاه ویژه ای را داشته باشند (۴). پرورش آبزیان به عنوان یکی از فعالیت های مهم تولیدی در بسیاری از کشورهای جهان محسوب می شود. کمبود منابع آبی سبب شده که در اکثر کشورها پرورش متراکم جایگزین روش های نیمه متراکم و گسترده گردد. در تولید متراکم که موجودات آبی همواره در معرض شرایط تنش زا و بیماری قرار گرفته و این تنش موجب ایجاد بیماری و ضررهای اقتصادی می گردد از آن جا که واکسن ها به تنهایی نمی تواند به عنوان کنترل کننده عمومی بیماری ها در آبزیان استفاده شوند. یک روش جدید استفاده از باکتری های پروبیوتیک مانند لاکتوباسیل ها در کنترل پاتوژن های بالقوه با آنتی بیوتیک ها و مواد شیمیایی در کنترل بیماری در صنعت آبی پروری اهمیت دارد، با این حال استفاده از آنتی بیوتیک ها احتمال مقاوم شدن میکروارگانیسم ها را به دارو را زیاد کرده و هم چنین ممکن است میکروب های معمول حاضر در روده ماهی را که بسیار مفیدند از بین ببرند (۲۴). استفاده از تکنولوژی نوین در افزایش بهره وری و کاهش هزینه تولید از جمله مواد قابل اهمیت در آبی پروری پایدار است. در این خصوص به کارگیری فنون نوین زیستی و روش های تلفیقی کشاورزی - آبی پروری و طراحی نوین سیستم های تکثیر و پرورش آبزیان بسیار اهمیت دارد و هم چنین استفاده از باکتری های مفید زیستی یا زیست یار، از جمله فناوری های نوین زیستی می باشد (۳). به طور کلی هورمون ها، آنتی بیوتیک ها، ترکیبات غذایی گوناگون و نیز برخی عصاره های گیاهی به عنوان مکمل های غذایی هستند که به منظور ارتقاء کیفی و کمی تولیدات آبی پروری مورد استفاده قرار می -

برای جداسازی باکتری ها، از سوسپانسیون فوق به محیط MRS براث Merck آلمان انتقال داده شد. سپس ۴۸ ساعت در شرایط میکرو آتروفیلیک با گاز پک C Merck آلمان و در جار بی هوازی در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شد (۲۱). بعد از ۴۸ ساعت از محیط کشت MRS نمونه جهت خالص سازی در محیط کشت MRS آگار Merck آلمان کشت داده و به مدت ۴۸-۲۴ ساعت در شرایط میکرو آتروفیلیک با گاز پک C و در جار بی هوازی در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه گردید (۹). پس از رشد باکتری ها و ایجاد کلنی، انواع کلنی ها شناسایی شده، سپس رنگ آمیزی گرم و تست-های اکسیداز، کاتالاز و تحرک انجام گردید و باکتری-های رشد یافته لاکتوباسیل شناسایی و پس از آن در محیط کشت MRS آگار Merck آلمان کشت داده و جدا سازی آنها انجام گرفت (۲۴).

#### بررسی پتانسیل پروبیوتیکی باکتری های جداسازی

شده

جهت بررسی پتانسیل پرو بیوتیکی باکتری های جداسازی مقاومت آن ها در برابر اسید و املاح صفراوی تعیین شد. برای بررسی مقاومت ایزوله های لاکتوباسیلوس به شرایط اسیدی ابتدا ایزوله ها در محیط کشت MRS براث Merck کشت داده به مدت ۴۸ ساعت در جار بی-هوازی در شرایط میکرو آتروفیلیک با گاز پک C Merck آلمان و به روش استاندارد پروبیوتیک های ایران انجام شد (۱).

#### مقاومت به نمک های صفراوی

ایزوله هایی از لاکتوباسیلوس که شرایط اسیدی را تحمل نموده اند، جهت بررسی مقاومت به نمک صفراوی (Oxgall) انتخاب شدند برای هر ایزوله دو لوله، MRS براث Merck آلمان دارای ۰/۳٪ نمک صفراوی Oxgall (سیگما-آلمان) و فاقد نمک صفراوی (کنترل) نظر گرفته و به روش استاندارد پروبیوتیک های ایران انجام شد (۱).

کپور معمولی یکی از ماهی های پرورشی شناخته شده در دنیا است که منبع غذایی مهمی محسوب می گردد. هر چند این گونه به صورت بومی و طبیعی در تمام سواحل دریای خزر وجود دارد و برای تولید مثل وارد مصب رودخانه ها می شود، اما در سال های اخیر به علت صید بیش از حد و از بین رفتن محل های تولید مثل، نسل آن کاهش پیدا کرده است (۱۵). برای جبران این مسئله و به منظور بازسازی ذخایر اقدام به تکثیر نیمه طبیعی ماهی شده است. ولی بقا و بازدهی پایین در مراکز تکثیر و پرورش ماهی یکی از بزرگ ترین عوامل مؤثر در جلوگیری از بازسازی مناسب ذخایر ماهی است. به نظر می رسد یکی از گزینه ها با توجه به شرایط کشور، استفاده از محرک های رشد و ایمنی باشد (۱۱). با توجه به مقرون به صرفه بودن پرورش کپور و هم چنین مطالعات محدود در مورد لاکتوباسیل های دارای توان پروبیوتیک در جیره غذایی بچه ماهیان کپور، مطالعه حاضر به جداسازی و شناسایی مولکولی لاکتوباسیل های دارای پتانسیل پروبیوتیک از دستگاه گوارش سیاه ماهی رودخانه ای (*Capoeta.razii*) که یک ماهی بومی رودخانه های مازندران است و تاثیر آن بر شاخص های رشد و ایمنی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در مقایسه با پروبیوتیک پریمالاک که یک پروبیوتیک تجاری می باشد می پردازد.

#### مواد و روش ها

##### نمونه گیری و آماده سازی

۱۶ قطعه ماهی از رودخانه هایی که وجود ماهی *Capoeta.razii* در آن ها گزارش شده بود صید گردید و به صورت زنده به آزمایشگاه دانشگاه آزاد اسلامی واحد بابل منتقل و در آزمایشگاه دستگاه گوارش هر ماهی به طور جداگانه با بلندر کاملاً میکس و هموژن جهت جداسازی لاکتوباسیل ها استفاده شد (۳۵).

##### جداسازی باکتری ها

### استخراج DNA

DNA ژنومیک با استفاده از کیت استخراج ROCHE با توجه به پروتکل موجود در کیت مذکور از نمونه های مربوطه استخراج گردید. سپس نمونه های DNA ژنومیک جهت تکثیر بخشی از ژن 16S rRNA با اندازه تقریبی 200 جفت باز به وسیله پرایمرهای اختصاصی F- و R- CTCAAACTAAACAAAGTTTC مورد استفاده قرار گرفت. تکثیر قطعه مورد نظر در حجم 50 μl با حضور 200 μM از MgCL2، dNTPs، 5/1 mM، 200 nM از هر یک از پرایمرهای اختصاصی، 1/5 واحد Taq DNA polymerase انجام شد. شرایط تکثیر DNA در ترموسایکلر 94 °C سه دقیقه، سپس 35 سیکل در 94 °C یک دقیقه، 53 °C به مدت 45 ثانیه، 72 °C به مدت 45 ثانیه و نهایتاً 72 °C به مدت 10 دقیقه بوده است. محصولات حاصل از روش PCR به منظور صحت انجام واکنش با استفاده از روش الکتروفورز بر روی ژل آگاروز 1/5 درصد بررسی شدند و پس از اطمینان از صحت انجام واکنش، محصولات حاصله جهت تعیین توالی به شرکت bioneer ارسال گردیدند. پس از تعیین توالی کروماتوگرام توالی ها با استفاده از نرم افزار chromas version 3.1 تجزیه و تحلیل گردیده و سپس با استفاده از نرم افزار Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) با دیگر توالی های موجود در بانک ژن مقایسه شدند. پس از آن توالی ها با استفاده از روش clstalW از نرم افزار Mega10 هم تراز شده و آنالیزهای فیلوژنتیکی با استفاده از روش Maximum Parsimony صورت گرفت.

### ذخیره سازی ماهیان

تعداد 240 قطعه بچه ماهی کپور معمولی با وزن  $15 \pm 2$  گرم بین 12 مخزن فایبرگلاسی 500 لیتری به صورت کاملاً تصادفی با تراکم ذخیره سازی 20 عدد ماهی (3 تکرار) توزیع شدند، که این تیمارها شامل گروه شاهد، گروه

ماهیان تغذیه شده با غذای آغشته شده به باکتری لاکتوباسیل برویس به تعداد 106، گروه ماهیان تغذیه شده با غذای آغشته شده به باکتری لاکتوباسیل پلانتاروم به تعداد 106 و گروه ماهیان تغذیه شده با غذای آغشته شده به پروبیوتیک پریمالاک بودند. مخازن پرورشی قبل از ذخیره سازی، به وسیله هیپوکلریت سدیم با غلظت ماده مؤثر 200 L/mg به مدت 1 ساعت کاملاً ضد عفونی، سپس با آب شستشو شدند. ضد عفونی ماهیان نیز ابتدا با غوطه وری در محلول نمک 4٪ به مدت 1 دقیقه انجام شد (6). به هریک از مخازن یک سنگ هوا که به یک هواده مرکزی متصل بود، جهت هوادهی و تأمین اکسیژن نصب گردید. آزمایش به مدت 60 روز با دوره نوری 12 ساعت روشنایی و 12 ساعت تاریکی در یک سالن سرپوشیده انجام شد.

### شمارش باکتری ها و اسپری آن بر روی غذای ماهی

پس از آماده سازی سوسپانسیون باکتری از روش کدورت سنجی استفاده گردید و تعداد تقریبی باکتری را در آن محلول مشخص شد. این مرحله را در اصطلاح استاندارد نمودن تعداد باکتری می گویند. برای این منظور در آزمایشگاه ها از محلول استاندارد نیم مک فارلند استفاده می شود به این ترتیب که سوسپانسیون باکتری را با مایع نیم مک فارلند مقایسه نموده و اگر از نظر کدورت مشابه هم باشند، به این معنا می باشد که در هر میلی لیتر از سوسپانسیون تعداد  $10^8$  CFU/ml باکتری وجود دارد. جهت تعیین مقدار باکتری از دستگاه اسپکتروفتومتر با طول موج 520 نانومتر استفاده شد و پس از تعیین مقدار باکتری مورد نیاز، بر روی غذای ماهی اسپری گردید. جهت پیشگیری از حل شدن سریع باکتری مقداری روغن سویا بر سطح غذا اسپری شد (35).

### تغذیه ماهیان

به منظور تغذیه ماهیان از غذای کنستانتتره شرکت فرادانه برای کلیه تیمارها استفاده گردید که آنالیز اجزای آن در جدول 1 ارائه شده و غذادهی در حد سیری

طول کل ماهی به سانتی متر =  $L$  و وزن بدن ماهی به گرم =  $W$

#### شاخص های ایمنی

در پایان دوره خون گیری از ماهیان از ناهیه ساقه دمی انجام شده و خون هر ماهی جهت ارزیابی فاکتورهای سرمی خون وارد لوله آزمایش استریل شد. پس از پایان عملیات خون گیری، نمونه های خون در دمای ۴ درجه سانتی گراد در داخل کلمن و در مجاورت یخ به آزمایشگاه منتقل و در آزمایشگاه میزان گلبول قرمز RBC (عدد در میلی متر مکعب)، گلبول سفید WBC (عدد در میلی متر مکعب)، پروتئین تام Tp (میلی گرم بر میلی لیتر)، آلبومین ALB (میلی گرم بر میلی لیتر)، ایمنو گلوبولین IG (میلی گرم بر میلی لیتر)، C3 و کورتیزول (میکروگرم بر دسی لیتر) اندازه گیری شد.

#### نتایج

در این تحقیق از دستگاه گوارش ۱۶ قطعه سیاه ماهی *Capoeta.razii* با عمل رنگ آمیزی گرم و تست های کاتالاز، اکسیداز و حرکت، ۹ لاکتو باسیل جدا گردید، که در جدول شماره ۲ ذکر شده است. سپس تست مقاومت نسبت به اسیدی بر روی باکتری ها انجام گردید که نتایج آن طبق جدول شماره ۳ می باشد. بعد از انجام تست مقاومت اسید باکتری های C9 و C5 و C2 در ماهی *Capoeta.razii* شرایط اسیدی را تحمل نمودند که این باکتری ها جهت انجام تست مقاومت در مقابل نمک های صفراوی انتخاب شدند، که نتایج آن در جدول شماره ۴ گزارش گردیده است. باکتری های C9 و C5 و C2 در ماهی *Capoeta.razii* با توجه به مقاومت در مقابل اسید و نمک های صفراوی برای شناسایی نوع باکتری استخراج DNA شده و آزمایشات PCR با پرایمر GACGTC AATTTCCCCTGTCTTCCTTAGAA TG TAGGTGATCCAGCCGCAGGTTCTCCT ACG GCTACCTTGTTACGACTTCACCCTAAT CATCTGTCCCACCTTAGGCGGCTGGTTCC TAAA

طی دوره پرورش و ۳ بار در روز (در ساعت های ۱۰، ۱۴ و ۱۸) انجام شد.

#### پروبیوتیک پریمالاک

پروبیوتیک پریمالاک استفاده شده در این مطالعه دارای ۴ سویه باکتری با نسبت های برابر شامل *Lactobacillus casei*، *Lactobacillus acidophilus*، *Bifidobacterium bifidum* و *Enterococcus faecium* است که از شرکت گلپاد تهران تهیه شده و به میزان ۰.۰۱ درصد جیره غذایی مورد استفاده قرار گرفته است (۲۹).

#### شاخص های رشد

در پایان دوره ۶۰ روزه، همه ماهیان در هر تیمار به وسیله ترازو دیجیتالی (با دقت ۰/۰۱ گرم) وزن گردیده و میزان افزایش وزن، نرخ رشد ویژه، ضریب تبدیل غذا و با استفاده از فرمول های زیر به عنوان شاخص های رشد محاسبه گردید.

$$\text{BWI} = \text{Wt2} - \text{Wt1} \quad (31)$$

افزایش وزن بدن (BWI) = گرم وزن اولیه ماهی  $\text{Wt1}$  و گرم وزن نهایی ماهی  $\text{Wt2}$

$$\text{PBWI} (\%) = \left[ \frac{\text{Wt2} - \text{Wt1}}{\text{Wt1}} \right] \times 100 \quad (18)$$

درصد افزایش وزن بدن (PBWI) = گرم وزن اولیه ماهی  $\text{Wt1}$  و گرم وزن نهایی ماهی  $\text{Wt2}$

$$\text{SGR} (\% / \text{day}) = \left[ \frac{\ln \text{Wt2} - \ln \text{Wt1}}{t} \right] \times 100 \quad (15)$$

نرخ رشد ویژه (SGR) = لگاریتم وزن اولیه ماهی  $\ln \text{Wt1}$  و لگاریتم وزن نهایی ماهی  $\ln \text{Wt2}$

$$\text{FCR} = \frac{\text{g dry feed eaten}}{\text{g live weight gain}} \quad (15)$$

ضریب تبدیل غذایی (FCR) = وزن غذای خورده شده توسط ماهی به گرم =  $\text{g dry feed eaten}$  / وزن به دست آمده ماهی به گرم =  $\text{g live weight gain}$

$$\text{CF} = \left[ \frac{W}{L3} \right] \times 100 \quad (26)$$

روزانه باکتری های لاکتوباسیل برویس و لاکتوباسیل پلانناروم و هم چنین پروبیوتیک پریمالاک اثرات مثبت بر روی شاخص های رشدوزن گیری ماهی کپور معمولی نسبت به گروه کنترل طبق جدول ۵ را دارا می باشد ( $P > 0.05$ ).

#### تاثیر باکتری های جدا سازی شده و پروبیوتیک پریمالاک بر روی شاخص های ایمنی

نتایج نشان داد که مصرف روزانه باکتری های لاکتوباسیل برویس و لاکتوباسیل پلانناروم و هم چنین پروبیوتیک پریمالاک اثرات مثبت بر روی شاخص های ایمنی ماهی کپور معمولی نسبت به گروه کنترل طبق جدول ۶ را دارا می باشد ( $P > 0.05$ ).

AGGTTACCCACCGACTTTGGGTGTTA  
CAAACCTCATGGTGTGACGGGCGGTGT  
GTACA AGA  
پس از تکثیر بخشی از ژن  
rRNA ۱۶S توسط واکنش زنجیره ای پلی مرارز و تایید  
قطعه مورد نظر (شکل ۱) نمونه های محصولات PCR پس  
از توالی یابی نیز هر کدام توسط نرم افزار Blast مورد  
بررسی قرار گرفتند که توالی های مربوط به باکتری های  
جدا شده C2 و C5 تشابه زیادی را با گونه *L.plantarum*  
و باکتری های جدا شده C9 تشابه زیادی را با گونه  
*L.brevis* نشان دادند. ارتباط فیلوژنتیکی بین توالی های  
جدا شده C2، C5 و C9 و ژنوتیپ های مختلف از  
لاکتوباسیلوس ها بر اساس ژن rRNA ۱۶s در شکل های  
۲، ۳ و ۴ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که مصرف

جدول ۱- آنالیز تقریبی جیره غذایی استفاده شده در این مطالعه

درصد	مواد مغذی
۳۸-۴۱	پروتئین
۴-۸	چربی
۵-۱۱	رطوبت
۷-۱۱	خاکستر
۳-۶	فیبر
۱-۱.۵	فسفر

جدول ۲- شناسایی خصوصیات کلنی های ایجاد شده در MRS آگار مربوط به دستگاه گوارش ماهیان *Capoeta.razii*

باکتری	کاتالاز	اکسیداز	حرکت	نوع و گرم
C1	-	-	-	باسیل گرم +
C2	-	-	-	باسیل گرم +
C3	-	-	-	باسیل گرم +
C4	-	-	-	باسیل گرم +
C5	-	-	-	باسیل گرم +
C6	-	-	-	باسیل گرم +
C7	-	-	-	باسیل گرم +
C8	-	-	+	باسیل گرم +
C9	-	-	-	باسیل گرم +

باکتری های C1 - C9 مربوط به سیاه ماهی *Capoeta.razii*

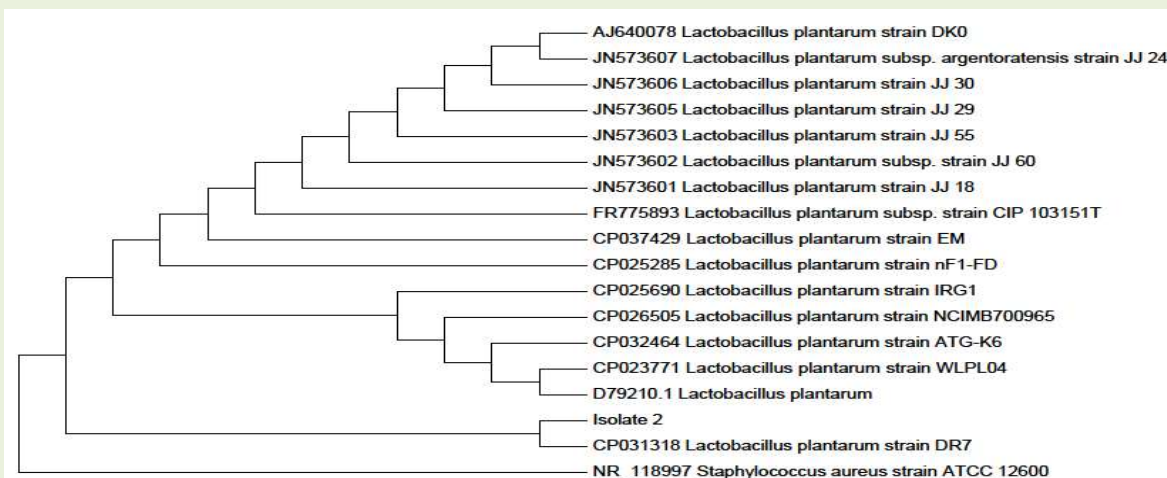
جدول ۳- جدول مقاومت باکتری ها در مقابل شرایط اسیدی

شرایط اسیدی	باکتری
-	C1
+	C2
-	C3
-	C4
+	C5
-	C6
-	C7
-	C8
+	C9

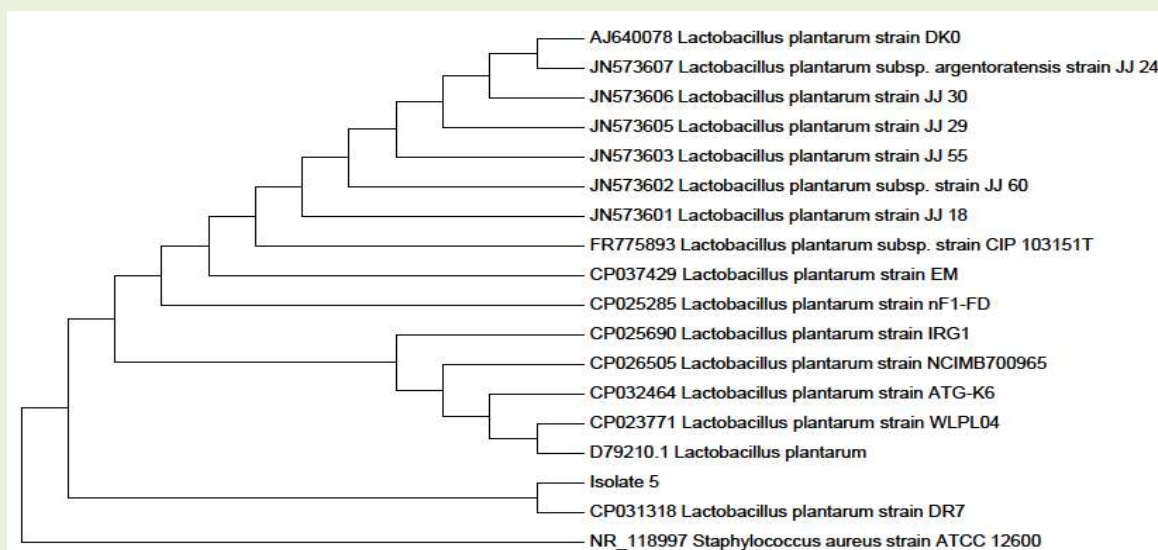
باکتری های C1 \_ C9 مربوط به سیاه ماهی *Capoeta.razii*



شکل ۱- نتایج الکتروفورز ژل آگارز از محصولات PCR M مارکر، ردیف ۱، ۲، ۳ به ترتیب: محصولات PCR از باکتری های جدا شده C2 و C5 و C9 می باشد.

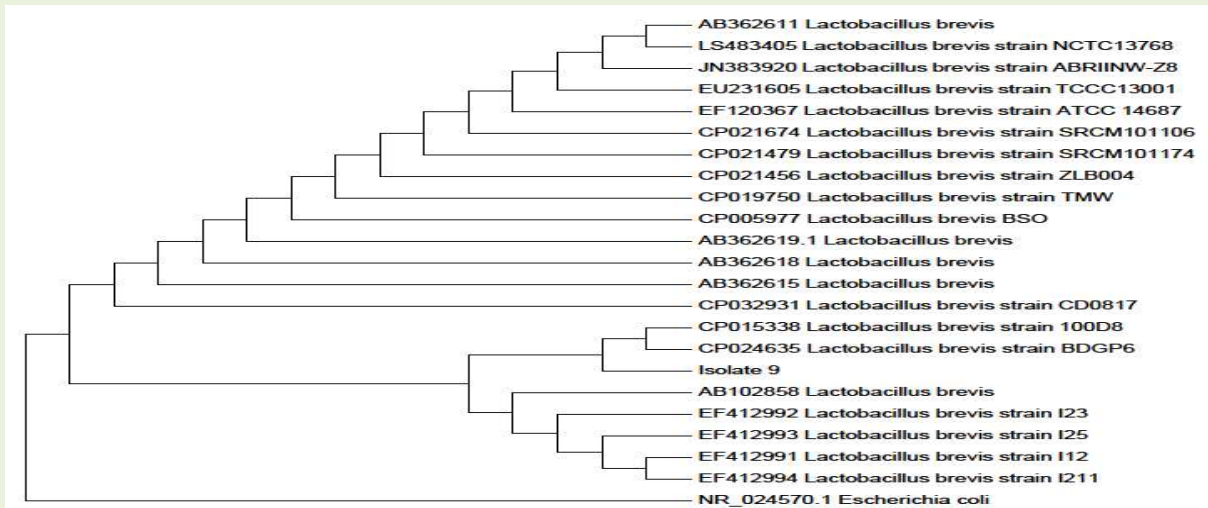


شکل ۲- رابطه فیلوژنی بین توالی های جدا شده C2 و برخی از اعضای *L. plantarum* با روش Maximum Parsimony بر اساس توالی 16s rRNA *Staphylococcus aureus* strain ATCC 12600 (NR\_118997) به عنوان گروه خارجی استفاده شد.



شکل ۳- رابطه فیلوژنی بین توالی های جدا شده C5 و برخی از اعضای *L. plantarum* با روش Maximum Parsimony بر اساس توالی 16s rRNA *Staphylococcus aureus* strain ATCC 12600 (NR\_118997) به عنوان گروه خارجی استفاده شد.





شکل ۴- رابطه فیلوژنی بین توالی های جدا شده C9 و برخی از اعضای *L.brevis* با روش Maximum Parsimony بر اساس توالی *Escherichia coli* (NR\_024570) 16 s rRNA به عنوان گروه خارجی استفاده شد.

جدول ۵- تاثیر باکتری های جدا سازی شده و پروبیوتیک پریمالاک بر روی شاخص های رشد اثر باکتری های لاکتوباسیل برویس، لاکتوباسیل پلاننارم و پروبیوتیک پریمالاک بر روی شاخص های رشد در ماهی کپور معمولی نسبت به گروه کنترل.

شاخص	تیمار	شاهد	لاکتوباسیل برویس	لاکتوباسی پلانناروم	پریمالاک
وزن اولیه W1	a	۱۵/۱۲±۰/۱۱۱۳۶	۱۵/۵۷±۰/۴۵۳۲۵	۱۵/۵۷±۰/۳۵۱۵۷	۱۵/۵۲±۰/۳۰۶۴۳
وزن نهایی W2	a	۲۲/۴۴±۰/۱۱۱۳۶	۲۳/۸۷±۰/۵۶۰۹۲	۲۷/۰۰±۰/۲۲۸۶۹	۲۹/۰۴±۰/۴۳۷۱۵
ظریب تبدیل غذا FCR	a	۳/۵۹±۰/۲۳۶۲۹	۳/۰۵±۰/۱۲۱۲۴	۲/۲۶±۰/۱۹۵۱۹	۲/۲۰±۰/۱۵۳۰۸
درصد مصرف غذای روزانه FI	a	۲/۳۸±۰/۱۷۳۴۹	۲/۱۷±۰/۰۷۸۱۰	۲/۴۴±۰/۲۵۸۶۵	۲/۲۴±۰/۲۲۱۴۳
درصد افزایش وزن بدن pBWI	a	۴۸/۴۱±۰/۰۳۷۴۳۳	۵۲/۷۳±۰/۹۵۳۱۲	۷۳/۴۵±۲/۹۸۷۹۹	۸۷/۱۴±۳/۰۶۴۶۲
افزایش وزن بدن BWI	a	۷/۳۲±۰/۰۸۰۰۰	۸/۲۱±۰/۱۲۰۰۰	۱۱/۴۳±۰/۲۳۰۰۰	۱۳/۵۲±۰/۳۶۰۰۰
نرخ رشد ویژه SGR	a	۰/۶۵۶۷±۰/۰۰۵۷۷	۰/۷۰۶۷±۰/۰۱۱۵۵	۰/۹۲۰۰±۰/۰۲۶۴۶	۱/۰۴۳۳±۰/۰۲۸۸۷
فاکتور وضعیت CF	bc	۱/۴۶±۰/۰۲۶۴۶	۱/۴۲±۰/۰۲۶۴۶	۱/۴۹±۰/۰۲۰۰۰	۱/۴۱±۰/۰۲۰۰۰
وزن گیری روزانه ADG	a	۰/۱۲۲۰±۰/۰۰۱۰۰	۰/۱۳۷۰±۰/۰۰۲۰۰	۰/۱۹۰۷±۰/۰۰۳۵۱	۰/۲۲۵۰±۰/۰۰۶۰۰

حروف غیر همسان بر روی اعداد نشانگر وجود اختلاف معنی دار است

جدول ۶- اثر باکتری های لاکتوباسیل برویس، لاکتوباسیل پلانٹاروم و پروبیوتیک پریمالاک بر روی شاخص های ایمنی در ماهی کپور معمولی نسبت به گروه کنترل

تیمار	شاهد	لاکتوباسیل برویس	لاکتوباسیل پلانٹاروم	پریمالاک
شاخص				
گلبول قرمز RBC (عدد در میلی متر مکعب)	a 18333 ± 0/9713	ab 18600 ± 0/5185	ab 18933 ± 0/6028	b 20033 ± 0/8737
گلبول سفید WBC (عدد در میلی متر مکعب)	a 10733/33 ± 321/45503	b 11456/66 ± 489/52358	C 12573/66 ± 274/08271	C 13033/33 ± 160/72751
پروتئین تام Tp (میلی گرم بر میلی لیتر)	a 2/43 ± 0/10504	b 3/20 ± 0/34819	b 3/33 ± 0/49689	b 3/61 ± 0/16442
آلبومین ALB (میلی گرم بر میلی لیتر)	a 1/69 ± 0/8737	a 1/68 ± 0/10504	a 1/77 ± 0/8145	a 1/86 ± 0/11372
ایمنو گلوبولین IG (میلی گرم بر میلی لیتر)	a 0/74 ± 0/12646	b 1/52 ± 0/45177	b 1/55 ± 0/57012	b 1/74 ± 0/0950
C3	a 0/3420 ± 0/5568	ab 0/3953 ± 0/3055	bc 0/4687 ± 0/0441	c 0/5320 ± 0/03606
کورتیزول (میکروگرم بر دسی لیتر)	a 1571/33 ± 26/50157	a 1566/00 ± 23/51595	a 1551/33 ± 30/00556	a 1534/33 ± 53/46338

حروف غیر همسان بر روی اعداد نشانگر وجود اختلاف معنی دار است

### بحث و نتیجه گیری

در این مطالعه ۲ گونه باکتری با نام های *Lactobacillus brevis* و *Lactobacillus plantarum* که دارای پتانسیل بودند از ماهی *Capoeta razii* که از گونه های بومی رودخانه های شمال کشور ایران می باشد شناسایی شد. هم چنین در این مطالعه یک روش کارآمد و دقیق برای تشخیص گونه های باکتری اسیدلاکتیک ارائه شد. گونه های شناسایی شده از لاکتوباسیل ها نسبتاً مشابه گونه های توصیف شده توسط باکیوگالیندو و همکارانش می باشد. که گونه هایی از باکتری های لاکتوباسیل را از روده ماهی جدا کردند. با این حال ماهی که در این مطالعه مورد استفاده قرار گرفت یک گونه بومی ایران بوده که از رودخانه را جمع آوری شده است (۸). J.feng و همکارانش در سال ۲۰۱۹ موفق به جداسازی باکتری های *L. plantarum* و *L. sakei* از ماهی کفشک زیتونی

*Paralichthys olivaceus* شدند. هم چنین chang ho و همکارانش در سال ۲۰۱۹ لاکتوباسیل پلانٹاروم را از صدف دریایی جدا کردند که با تحقیق حاضر مطابقت دارد (۱۷). ماهی ها ممکن است در تمامی مراحل زندگی در معرض باکتری های موجود در محیط قرار گیرند که بعضی از آن ها مضر و برخی دیگر مفید می باشند. برای کنترل عوامل بیماری زا باید از باکتری هایی همانند لاکتوباسیل ها که دارای اثرات بهداشتی مفیدی می باشد استفاده کرد. در بسیاری از تحقیقات اهمیت استفاده از این باکتری ها بالاخص در آبی پروری نشان داده شده است. به عنوان نمونه N. Van Nguyen و همکارانش در سال ۲۰۱۹ تاثیر باکتری *Lactobacillus plantarum* strain L-137-HK را بر روی ماهی تیلایپای نیل *Oreochromis niloticus* آزمایش کردند که اثرات مثبتی بر روی رشد، سیستم ایمنی و مقاومت در برابر استرس در این ماهی را به

دیده می شود که فرم های ترکیبی C3 تاثیرات پیوندی متفاوتی را در سطوح فعال شده کمپلمان ایجاد می کنند و ماهیان استخوانی با به کار گیری یک روش جدید برای کسب ایمنی ذاتی و نابودی میکروب ها آمادگی بهتری پیدا می کنند. مطابق این تحقیق میزان کورتیزول در هر سه گروه نسبت به گروه کنترل کاهش یافته که کم ترین کاهش را گروه پروبیوتیک پریمالاک نشان می دهد و اختلاف سطح معنی دار مشاهده می شود ( $P < 0.05$ ). کاهش کورتیزول نشان دهنده ی کاهش استرس و ایجاد تعادل فیزیولوژیک در بدن بوده و در رشد بیش تر ماهی موثر است (۲۴). یکی از بهترین شاخص ها جهت ارزیابی وضعیت فیزیولوژیک بدن ماهیان بررسی تغییرات میزان هورمون کورتیزول است. مطابق با نتایج این تحقیق میزان پروتئین تام خون در دو گروه لاکتوباسیل پلاتناروم و پریمالاک نسبت به گروه کنترل افزایش یافته که البته این افزایش دارای معنی داری نبود و بیش ترین افزایش در گروه مصرف روزانه پروبیوتیک بوده است. Zhou et al., 2010. نشان دادند که استفاده از پروبیوتیک ها باعث افزایش معنی داری در پروتئین تام شده است (۳۰). هم چنین نتایج تحقیقات Sharifuzzamam and Austin, 2010 با یافته های ما مطابقت دارد (۳۴). هم سوی با این نتایج، دیگر محققین از جمله پنیگری و همکاران که در سال ۲۰۰۵ تاثیر لاکتوباسیلوس رامنوسوس را بر پاسخ های ایمنی ماهی قزل آلا بررسی کردند و آلدو هیل که تاثیر پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس را بر رشد، پارامترهای هماتولوژی و میزان ایمونوگلوبولین در گربه ماهی آفریقایی مورد بررسی قرار داد مشاهده نمود که پروبیوتیک های مذکور باعث افزایش ایمونوگلوبولین گردیدند. افزایش میزان گلوبولین با افزایش میزان پروتئین تام و آلبومین قابل توجهی می باشد. میزان بالای پروتئین سرم در نتیجه ی بهبود عملکرد کبد و دیگر ارگانسم هایی است که پروتئین پلاسما را می سازند (۲۳). مطابق این

دنبال داشت (۲۶). هم چنین M.A.O . Dawood و همکارانش در سال ۲۰۱۵ تاثیر باکتری *Lactobacillus plantarum* (LP20) را بر روی بر عملکرد رشد، مقاومت در برابر استرس و پاسخ به ایمنی در ماهی سیم دریای سرخ *Pagrus major* مورد مطالعه قرار دادند و اثرات مثبت آن را نشان داده اند که با این مطالعه دارای تطابق می باشد (۲۰). در این مطالعه افزایش وزن روزانه و نهایی هم چنین ضریب رشد ویژه (SGR) در تیمارهای دریافت کننده باکتری های اسید لاکتیک و پروبیوتیک پریمالاک در مقایسه با تیمار شاهد افزایش معنی داری را نشان داد. از آن جا که باکتری ها می توانند فعالیت هضم را از طریق بهبود فعالیت های آنزیمی ارتقا دهند، Gatesoup. 1999 به همین خاطر می توان استفاده از باکتری و پریمالاک را عامل این افزایش شاخص های رشد در ماهی کپور معمولی دانست (۱۳). کلیایی و همکاران در سال ۱۳۹۵ تاثیر *Bacillus. subtilis* از روده ماهی کپور معمولی جدا شده بود را بر روی رشد و بقا همین ماهی مورد بررسی قرار دادند که در شاخص های رشد نتایج مشابهی با این تحقیق به دست آمد (۵). مطابق با نتایج این تحقیق میزان WBC خون در هر سه گروه نسبت به گروه کنترل افزایش یافته و بیش ترین افزایش در ارتباط با مصرف پروبیوتیک پریمالاک می باشد. WBC در ماهی عمل فاگوسیتوز را انجام می دهد و در پاسخ های ایمنی بدن نسبت به عوامل انگلی، باکتریایی، ویروسی و کمک به ترمیم بافت های ضایعه دیده نقش مهمی را ایفا می کنند. اندازه گیری گلوبول های سفید در تعیین وضعیت عمومی ماهی کاربرد فراوانی می تواند داشته باشد (۷). مطابق این تحقیق میزان C3 در ماهیانی که باکتری و پروبیوتیک دریافت کرده بودند دارای افزایش نسبت به گروه شاهد بوده که این امر نشان دهنده افزایش سطح ایمنی در این ماهیان می باشد. امانی نژاد و همکارانش در سال ۱۳۸۸ نشان دادند بیشتر فرم های ترکیبی C3 در ماهیان استخوانی

### تشکر و قدردانی

بدین وسیله از آقای دکتر صابر وطن دوست، عضو هیات علمی گروه شیلات دانشگاه آزاد بابل و همه عزیزانی که در انجام این تحقیق این جانب را یاری نموده اند کمال تشکر و قدردانی را دارم.

تحقیق باکتری های جدا شده دارای تاثیر مثبت بر روند رشد و ایمنی ماهی کپور معمولی بوده اند که سطح آن نسبت به پروبیوتیک پریمالاک که یک پروبیوتیک تجاری و مجموعه ای از چند باکتری است کمتر بوده لذا پیشنهاد می گردد از در تحقیقات آتی از دوز بالاتر این باکتری ها و یا ترکیب این دو باکتری در جیره کپور ماهیان استفاده گردد.

### منابع

- 1- استاندارد پروبیوتیک های ایران: شماره (۲۳۲۵). (۹۴).
  - 2- اکبری، ح. ۱۳۸۶. بررسی دلایل کاهش مصرف آبزینان و راه کارهایی برای افزایش مصرف آن، مجله شیلات. سال اول، شماره ۳. صفحات ۴۱-۳۶.
  - 3- جعفریان، ح. ۱۳۸۷. توسعه آبی پروری پایدار با استفاده از پروبیوتیک ها در ایران. مجله شیلات، سال دوم، شماره ۴، ۵۶-۶۲.
  - 4- سلطانی، م. ۱۳۸۷. ایمنی شناسی ماهیان و سخت پوستان. انتشارات دانشگاه تهران صفحه ۲۶۴.
  - 5- 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 آبی پروری، سال دهم، شماره دوم، صفحات ۹۹ تا ۱۰۸.
  - 6- مخیر، ب. ۱۳۸۶. بیماری های ماهیان پرورشی. جلد دوم، چاپ چهارم، انتشارات دانشگاه تهران، ۴۴۰-۵۰۰.
  - 7- وثوقی، غ.، شامسونی، د.، پیغان، ر. ۱۳۷۶. بررسی فاکتورهای خونی ماهی حوض (*Carassius auratus*). مجله دامپزشکی دانشگاه تهران، دوره ۵۲، شماره ۴ صفحات ۷۰ تا ۶۱.
  8. Bucio Galindo, A.; Hartemink, R.; Schrama, JW., Verreth, JAJ., Rombouts, FM. (2006). Presence of Lactobacilli in the intestinal content of freshwater fish from a river and from a farm with a recirculation system. Food Microbiol., 23; 476-482.
  9. Buller, L. (2004). Bacteria from fish and another aquatic animal, PP; 1-100.
  10. Chang-Ho, Kang., YuJin, Shin., YongGyeong, Kim., Jae-Seong, So. (2016). Isolation of *Lactobacillus* strains from Shellfish
- for their potential use as probiotics. Biotechnology and Bioprocess Engineering, 21(1); 46-52.
11. Esmaeili Rad, A., Alishahi, M., Ghornbanpour, M., Zarei, M. (2014). The effects of oral administration of extracted chitosan from white leg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) on hematological and growth indices in common carp (*Cyprinus carpio*). Journal of Veterinary Research, 69; 385- 393.
12. Fuller, R. (1989). Probiotics in man and animals . Jurnal Applied Bacteriology, 66; 365-378.
13. Gatesoupe, F.J. (1999). The use of probiotics in Aquaculture. Aquacult., 180; 47-165.
14. Ghelichpour, M., Shabani, A., Shabanpour, B. (2010). Genetic diversity of the two populations of common carp (*Cyprinus carpio*) in Gharahsu and Anzali regions using eight microsatellite markers. Taxonomy and Biosystematics, 5; 41-48.
15. Ghosh, S., Sinha, A., sahu, C. (2007). Effect of probiotic on reproductive performange in female livebearing ornamental fish. Aquaculture Research, 38; 518-526
16. Hevroy, E.M., Espe, M., Waagbo, R., Sandness, K., Rund, M., Hemer, G.I. (2005). Nutrition utilization in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed increased level of fish prote hydrolysate during a period of fast growth. Aquacult Nutr., 11, 301-313.
17. Jixing Feng , Deng laiLi, LimingLiu , YongzhengTang , Rongbin Du . (2019). Characterization and comparison of the adherence and immune modulation of two gut *Lactobacillus* strains isolated from *Paralichthys olivaceus* . Aquacultur, 499; 381-388.

18. Kandler, O., Weiss, N. (1986). Genus *Lactobacillus beijerinck* 1901, 212AL. In: Sneath, PHA; Mair, NS; Sharpe, ME and Holt, JG (Eds.), *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Vol. 2, Baltimore: Williams and Wilkins. PP;1209-1234.
19. Kissil, G. Wm., Lupatsch, I., Elizur, A., Zohar, Y. (2001). Long photoperiod delayed spawning and increased somatic growth in gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Aquacult*, 200; 363-379.
20. Mahmoud, A.O., ShunsukeKoshio, D., Ishikawa, M., Yokoyama, S.(2015). Effects of heat killed *Lactobacillus plantarum* (LP20) supplemental diets on growth performance, stress resistance and immune response of red sea bream, *Pagrus major*, *Aquaculture*, 442; 29-36.
21. Mathara, J. M., Schillinger, U., Kutima, P. M., Mbugua, S. K., Holzapfel, W. H. (2004). Isolation, identification and characterisation of dominant microorganisms of *Kule naoto*: the maasai traditional fermented milk in Kenya. *International J Food Microbiol*, 94(3); 269-278.
22. Mesalhy, A., Yousef, A., Ahlam, A., Moahmed Fthi, M. (2008). Studies on *Bacillus subtilis* and *Lactobacillus acidophilus* potential probiotics, on the immune response and resistance of *Tilapia nilotica* to challenge infections. *Fish and Shelfish Immunology*, 25; 128-136.
23. Metwally, M. A. A. (2009). Effect of garlic (*Allium sativum*) on some Antioxidant activities in tilapia nilotica (*Oreochromis niloticus*). *World Journal of the Fish and Marine Science*, 1(1); 56-64.
24. Miranda, JM., Vazques, B I.( 2008). Evolution of resistance in poultry intestinal *E. coli* during three commonly used antimicrobial therapeutic treatments in poultry. *Poult. Sci*, 87; 1643 – 1648.
25. Mommsen, T, P., Vijaya, M. M., Moon, T. W. (1999). Cortisol in teleosts: dynamics, mechanisms of action, and metabolic regulation. *Reviews in fish Biology and Fisheries*, 9;211-268.
26. NguyenVan, N., SatoruOnodab,T. (2019). Evaluation of dietary heat-killed *Lactobacillus plantarum* strain L-137 supplementation on growth performance, immunity and stress resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 498; 371-379.
27. Ojolic, E.J., Cusack, R., Benfey, T.J., Kerr, S.R. (1995). Survival and growth of all female diploid rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) reared at chronic high temperature. *Aquacult*, 131; 177-187 poultry in Iran. *J.Poult.Sci*. 2007;44(4); 357-65 .
28. Ringø, E., Gatesoupe, FJ. (1998). Lactic acid bacteria in fish: a review. *Aquaculture*, 160; 177-203.
29. Salaghi, Z., Imanpoor, M. R., Taghizadeh, V. (2013). Effect of different levels of probiotic primalac on growth performance and survival rate of Persian sturgeon (*Acipenser persicus*). *Global Veterinaria*, 11; 238-242.
30. Salaghi, Z., Imanpoor, M. R., Taghizadeh, V. (2013). Effect of different levels of probiotic primalac on growth performance and survival rate of Persian sturgeon (*Acipenser persicus*). *Global Veterinaria*, 11; 238-242.
31. Sharifuzzaman, S. M., Austine, B. (2014). Development of protectob in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) to *Vibrio anguillarum* following use of the probiotic Kocuria SM1. *Fish and Shelfish Immunology*, 28; 1-5.
32. Tacon, A.G.J. (1990). Standard methods for the nutrition and feeding of farmed fish and shrimp. *Argent Laboratories Press.*, 4-24.
33. Tsai, C. C., Lai, C. H., Yu, B., Tsen, H. Y. (2010). Use of PCR primers and probes based on the 23S rRNA and internal transcription spacer(ITS) gene sequence for the detection and enumeration of *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus plantarum* in feed supplements. *J.Poult.Sci.*, 34(4); 357-65
34. Zhou, X., Tian, Z. Wang, Y., Li, W. (2010). Effect of treatment with probiotics as response. *Journal of Fish Physio Biochem*, 1(3); 501-509.
35. Zapata, A., Ramirez-Arcos, S. (2015). A comparative study of McFarland turbidity standards and the densimat photometer to determine bacterial cell density. *Curr Microbiol*. 70(6); 907-9.



# The Effect of *Lactobacillus plantarum* and *Brevis* Isolated from the Gastrointestinal Tract of *Capoeta.razii* and its Effect on Growth and Safety Indices of Common Carp (*Cyprinus carpio*) in Comparison with Primalak Probiotic

M. Rameshgar<sup>1</sup>, **M. R. Ghomi Marzdashti<sup>2</sup>**, Seyed M. Hashemi Karoui<sup>3</sup>, Syed M. Hoseini Fard<sup>2</sup>, Seysd R. Tabari Pour<sup>3</sup>

1. Department of Aquaculture . Islamic Azad university . Tonekabon branch . Tonekabon. Iran

2. Department of Aquaculture . Islamic Azad university . Tonekabon branch . Tonekabon. Iran.

mrghomi@gmail.com

3. Department of Microbiologi . Islamic Azad university . Babol branch . Babol Iran .

Received: 2020. 21. 10

Accepted: 2021.19.4

## Abstract

**Introduction & Objective:** Different groups of lactobacilli have probiotic potential of bacteria that have many positive effects on biological ecosystems in various forms. Also, in intensive fish farming, their use is one of the ways to improve growth, nutrition and survival indices. In the meantime, various researches have been done on probiotics as practical supplements in fish nutrition. Therefore, the need to identify lactobacilli with probiotic potential seems to be very important. Therefore, the aim of this study was to isolate and identify lactobacilli with probiotic potential from the gastrointestinal tract of *Capoeta.razii* and its effect on growth and safety indices of common carp *Cyprinus carpio*

**Material and Methods:** To achieve this, lactobacilli with probiotic potential were isolated and identified from the gastrointestinal tract of *Capoeta.Razii* by microbial and molecular tests. Of the 3 bacteria identified, 2 were *L.Pantarum* and one was *L. Brevis*. 240 pieces of common carp weighing 15.2 g were distributed and fed among 12 fiberglass tanks of 500 liters with a storage density of 20 fish in four treatments (3 replications).

**Results:** At the end of the experiment, in the group of fish that received *Lactobacillus* and Primalak, their growth characteristics such as weight gain, specific growth rate, feed conversion ratio and survival percentage showed a higher and more desirable level than the group of fish whose diet did not contain *Lactobacillus* and Primalak. (0.05). Also in immune factors, the number of RBC and WBC, total protein, albumin, globulin, C3 increased and the amount of cortisol decreased.

**Keywords:** Common carp, Growth indices, Safety indices.