

ارزیابی تجویز جیره‌ای *Lactobacillus plantarum KC426951* پوشش دار شده بر رشد، درصد ماندگاری، شاخص‌های خون، سرم و فلور باکتریایی (*Oncorhynchus mykiss*) روده قزل‌آلای رنگین کمان

حمیده کردی^۱، علیرضا ولی پور^{*}^۱، محمود حافظیه^۲، علیرضا شناور ماسوله^۳، سوده کردی^۴

*valipour40@gmail.com

۱- پژوهشکده آبزی پروری آبهای داخلی، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بندر انزلی، ایران

۲- موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

۳- موسسه تحقیقات بین‌المللی تاسماهیان دریای خزر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، ایران

۴- گروه شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران

تاریخ پذیرش: بهمن ۱۳۹۶

تاریخ دریافت: مرداد ۱۳۹۶

چکیده

در این تحقیق اثر *Lactobacillus plantarum KC426951* پوشش دار شده بر رشد، درصد ماندگاری، شاخص‌های خون، سرم و فلور باکتریایی روده قزل‌آلای رنگین کمان مورد بررسی قرار گرفت. برای این منظور تعداد ۹۰ ماهی با میانگین وزنی 12.94 ± 0.35 گرم با جیره‌های غذایی حاوی باکتری پوشش دار شده لاکتوباسیلوس پلانتاروم شامل تیمار ۱ (10^7 CFU/g)، تیمار ۲ (10^8 CFU/g) و شاهد (جیره فاقد باکتری (T_0)) به مدت هشت هفته تغذیه شدند. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد، تیمارهایی که 10^7 CFU/g باکتری دریافت کرده بودند به طور معنی داری نسبت به تیمار شاهد بیشترین افزایش وزن، درصد افزایش وزن بدن، ضریب رشد ویژه و کمترین ضریب تبدیل غذایی را دارا بودند ($P < 0.05$). اما درصد ماندگاری در بین تیمارهای مختلف اختلاف معنی داری نداشت ($P > 0.05$). در بررسی فاکتورهای خونی، تعداد گلوبول‌های سفید در تیمارهای حاوی باکتری به طور معنی داری بالاتر از تیمار شاهد بود. در تیمار ۱، درصد نوتروفیل کمتر و درصد لنفوцитی بیشتر از دو تیمار دیگر بود ($P < 0.05$) درصد مونوцит نیز در تیمار ۲ به طور معنی داری بالاتر از تیمار ۱ بود ($P < 0.05$). میزان گلوبنر، تری گلیسرید، کلسیترول، LDL، AST و ALP به طور معنی داری در تیمار ۱ بیشتر از دو تیمار دیگر و میزان پروتئین کل در این تیمار به طور معنی داری بالاتر از تیمار ۲ بود ($P < 0.05$). اما اختلاف معنی داری در سایر عوامل خونی در بین تیمارها مشاهده نشد ($P > 0.05$). با توجه به نتایج، تعداد باکتری‌های اسید لاکتیک در تیمارهای حاوی باکتری (۱ و ۲) به طور معنی داری بیشتر از تیمار شاهد و شمارش کلی باکتری در تیمار ۱ بطور معنی داری بالاتر از دو تیمار دیگر بود ($P < 0.05$). بنابراین افزودن 10^7 باکتری پوشش دار لاکتوباسیلوس پلانتاروم به جیره ماهی قزل‌آلای رنگین کمان می‌تواند اثرات مثبتی بر فاکتورهای رشد و سلامت این ماهی داشته باشد.

لغات کلیدی: لاکتوباسیلوس پلانتاروم پوشش دار، شاخص‌های خون، فلور باکتریایی روده، قزل‌آلای رنگین کمان

*نویسنده مسئول

۴ مقدمه

ماهی قزل آلای رنگین کمان گونه‌ای گوشتخوار است که در سال‌های اخیر تولید آن در دنیا و در کشور ما در حال افزایش است بطوریکه ایران با تولید بیش از ۱۳۱ هزار تن در سال ۲۰۱۲ در زمرة بیشترین تولیدکنندگان این گونه در دنیا قرار گرفته است (FAO, 2014). از آنجایی که تهیه جیره غذایی و تغذیه پر هزینه‌ترین بخش تولید می‌باشد، لذا امروزه علاوه بر تلاش برای تهیه جیره‌هایی با بالاترین کیفیت و بهترین ضریب تبدیل غذایی سعی بر تولید خوراک‌هایی است که بتواند توان ماهی در برابر انواع استرس‌ها و عوامل بیماریزا را نیز ارتقاء دهد.

پروپیوتیک واژه‌ای یونانی است که معنای تحت الفظی آن (برای زندگی) می‌باشد (Zivkovic, 1999) و در فارسی به آن زیست یار می‌گویند. در سال‌های اخیر مطالعات زیادی در آبزی پروری در راستای استفاده از باکتری‌های اسید لاکتیک جهت نیل به اهداف گوناگون نظری بهبود و تعادل فلور میکروبی دستگاه گوارش ماهی، بهبود رشد و ضریب تبدیل غذایی انجام شده است (Nikoskelainen et al., 2003). باکتری‌های اسید لاکتیک یکی از مهم‌ترین گونه‌های پروپیوتیکی هستند که در پرورش آبزیان به کار می‌روند (Andani et al., 2011; Panigrahi et al., 2012). قلچایی فرد و همکاران در سال ۱۳۹۵ تاثیر باکتری *Lactobacillus plantarum* KC426951 جداسازی شده از روده قزل آلای رنگین کمان را بر فاکتورهای رشد، فلور باکتریایی روده و ترکیب لشه بچه ماهی قزل آلای رنگین مورد را بررسی قرار دادند و بیان نمودند این باکتری می‌تواند به عنوان یک فاکتور مثبت جهت بهبود فلور باکتریایی روده، عملکرد رشد و ترکیب لشه مورد استفاده قرار گیرد. اشنوخواه و همکاران (۱۳۹۲) تاثیر اشکال مختلف *Lactobacillus casei* را بر رشد و ایمنی ماهی قزل آلای رنگین کمان بررسی کردند، نتایج این تحقیق نشان داد افزودن این باکتری به جیره غذایی ماهی قزل آلای رنگین کمان باعث بهبود رشد و تقویت ایمنی این ماهی می‌گردد. Panigrahi و Lactobacillus همکارانش در سال ۲۰۱۰، اثر

مواد و روش کار

برای انجام تحقیق ۹۰ عدد ماهی قزل آلای رنگین کمان با میانگین وزن $۱۲/۹۴ \pm ۰/۳۵$ گرم از بخش خصوصی واقع در استان گیلان، شهرستان رشت خردباری شد. همچنین باکتری *Lactobacillus plantarum* که از روده ماهی قزل آلای رنگین کمان که تا کنون انجام نشده است، بررسی گردید. (NCBI) در سال ۲۰۱۳ در بانک ژن (KC426951) در شنavar و همکاران (۲۰۱۳) ثبت شده است. *Lactobacillus plantarum* KC426951 پس از آن پوشش‌دار کردن باکتری با استفاده از آلزینات کلیسم به روش ژلاتینه کردن خارجی (Sheu and Marshall, 1993) صورت گرفت. برای این منظور ابتدا سدیم آلزینات (۳ درصد) در آب دیونیزه حل و به مدت ۲۴ ساعت در یخچال قرار گرفت. سپس یک قسمت باکتری $۱۰^{۱۲}$ CFU/g با چهار قسمت سدیم آلزینات مخلوط گردیده و بر روی همزن مغناطیسی با دور rpm ۳۰۰ قرار گرفت و مخلوط ۹۹ گرم روغن

فیزیولوژی (برای هر یک کیلوگرم غذا) معلق شده و سپس بر روی کل غذا به طور کامل اسپری و در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد خشک و در یخچال در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری گردید. به تیمار شاهد، غذای پلت اسپری شده با سرم فیزیولوژی خورانده شد.

جدول ۱: فرمول جیره غذایی
Table 1: Diet formula

میزان در جیره (%)	ترکیبات	ردیف
۲/۵۰	ژلاتین	۱
۹/۰۰	نشاسته	۲
۷/۸۴	آرد گندم	۳
۳/۰۰	آرد ذرت	۴
۴۸/۰۰	پودر ماهی	۵
۱۲/۲۹	پودر سویا	۶
۲/۴۸	سلولز	۷
۹/۸۵	روغن ماهی	۸
۰/۰۲	ویتامین C	۹
۰/۵۰	کولین کلرايد	۱۰
۱/۵۰	متیونین	۱۱
۱/۵۰	لیزین	۱۲
۱/۵۰	مخلوط ویتامینی ^۱	۱۳
۰/۰۲	مخلوط معدنی ^۲	۱۴

^۱ مخلوط ویتامینی: ویتامین A معادل IU ۱۶۰۰۰۰، ویتامین D₃ معادل IU ۴۰۰۰۰، ویتامین E معادل ۴۰ گرم، ویتامین K₃ به میزان ۲ گرم، ویتامین B₁ به مقدار ۶ گرم، ویتامین B₂ معادل ۸ گرم، ویتامین B₃ به میزان ۱۲ گرم، ویتامین B₅ به مقدار ۴۰ گرم، ویتامین B₆ معادل ۴ گرم، ویتامین B₉ به مقدار ۱۲ گرم، ویتامین C معادل ۸ گرم، ویتامین H₂ به میزان ۰/۲۴ گرم، ویتامین B₁₂ برابر ۶۰ گرم، اینوزیتول ۲۰ گرم، BHT ۲۰ گرم و کولین کلرايد ۱۲ گرم (۰/۵٪ از مخلوط فوق در یک کیلوگرم مخلوط ویتامینی موجود است).

^۲ مخلوط معدنی: سولفات منگنز به مقدار ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم، سولفات مس برابر ۶ میلی گرم بر کیلوگرم، یدید پتاسیم معادل ۶ میلی گرم بر کیلوگرم، سولفات روی به مقدار ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم و سولفات آهن به میزان ۶۰ میلی گرم بر کیلوگرم.

حیوانی بعلاوه ۱ گرم تویین ۸۰) به صورت قطره قطره به آن اضافه شد. بعد از ۲۰ دقیقه یک امولسیون یکنواخت و کدر در ظرف ایجاد گردید. سپس ۴۰ میلی لیتر از یک امولسیون حاوی کلسیم (۶۰ گرم روغن گیاهی بعلاوه ۰/۵۰ گرم تویین ۸۰ بعلاوه ۳۹/۵۰ گرم کلسیم کلرايد ۱۰ مولار) در بورت به آرامی به آن (روی همنز مغناطیسی (۱۰۰ rpm)) اضافه گردید. سپس دانکهای ته نشین شده بوسیله سانتریفیوژ (۳۵۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه) جداسازی شده و با آب استریل شست و شو و در نهایت بوسیله فریز درایر به مدت نیم ساعت خشک گردید. برای بررسی بازده فرایند پوشش دار کردن، کپسولهای معلق در پیتون واتر (PW) بوسیله کاغذهای صافی استریل، جداسازی شدند. مقدار یک گرم از میکروکپسولها در ۹۹ میلی لیتر سدیم سیترات استریل ۱ درصد pH تنظیم شده در حدود ۶ ریخته و به مدت ۱۰ دقیقه روی همنز مغناطیسی در دمای اتاق قرار گرفت. در طی این فرایند دیواره دانکهای آلزینات تخریب و باکتریها رها شدند. پس از این مرحله رقیق سازی و کشت در محیط MRS آگار صورت گرفت. کشت در شرایط بی‌هوایی در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۴۸ ساعت قرار داده شد سپس تعداد باکتریها با سه تکرار شمارش گردید (Mokarram *et al.*, 2009). نتیجه شمارش ۱۰^۸ CFU/g بدست آمد.

آماده سازی غذا

برای تهیه جیره‌های آزمایشی مواد اولیه خشک، آسیاب و با یکدیگر مخلوط شده، سپس روغن و آب به آن‌ها اضافه گردید (جدول ۱). مخلوط خمیری پس از عبور از چرخ گوشت، داخل آون (به شکل رشته) با دمای حدود ۴۵ درجه سانتی گراد به مدت ۷ تا ۱۰ ساعت خشک شد و سپس به صورت پلیت درآمد و مورد آنالیز قرار گرفت (جدول ۲). جهت آماده سازی جیره تیمارهای مختلف، بعد از پوشش دار کردن باکتری، مقدار مورد نیاز باکتری ۱۰^۷-۱۰^۸ CFU/g در غذا) مطابق روش Merrifield و همکارانش در سال ۲۰۱۱ در ۵۰ میلی لیتر سرم

$$\text{SGR}(\%/\text{day}) = \left[\frac{\ln W_t - \ln W_i}{T} \right] \times 100$$

: ضریب تبدیل غذایی (Food Conversion Rate)

$$\text{FCR} = (\text{C} \times \text{T}) / \text{WG}$$

W_i : وزن اولیه ماهی (گرم)

W_f : وزن نهایی ماهی (گرم)

W_t : وزن ماهی در زمان مورد نظر (گرم)

T : طول مدت پرورش

C : مقدار غذای خورده شده روزانه (گرم)

: درصد ماندگاری (Tacon, 1990)

$$\text{SR} (\%) = \frac{N_t - N_i}{N_i} \times 100$$

N_i : تعداد اولیه ماهی

N_t : تعداد ماهی در زمان مورد نظر

بررسی شاخص‌های ایمنی و فاکتورهای خونی
در پایان دوره آزمایشی از ماهیان به صورت تصادفی نمونه برداری گردید (۳ ماهی از هر تکرار) و خونگیری پس از بیهوده‌ی ماهی‌ها با پودر گل میخک (۱۰۰ ppm) و خشک کردن کامل سطح بدن با استفاده از سرنگ از ورید ساقه دمی به عمل آمد. جهت اندازه‌گیری شاخص‌های سرمی شامل گلوکز، کلسترول و تری‌گلیسرید، LDL، HDL، چربی‌های آنژیم، آلبالین، فسفاتاز (ALP)، آلانین آمینو ترانسفراز (ALT)، آسپارتات آمینو ترانسفراز (AST) و لاکتات دهیدروژناز (LDH) و شاخص‌های ایمنی از جمله IgM و ACH50 از نمونه‌های خون پس از جمع‌آوری از ماهیان سانتریفیوژ گردید و سرم جدا گشته و برای انجام آزمایشات بعدی در فریزر -۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردیدند. اندازه‌گیری فاکتورهای بیوشیمیایی با استفاده از کیت‌های مخصوص و دستگاه اتوانالایزر صورت گرفت (نوریان و همکاران، ۱۳۹۳). اندازه‌گیری شاخص‌های خون شامل تعداد گلوبول‌های قرمز (RBC) و سفید (WBC)، هموگلوبین (HB)، حجم متوسط گلوبولی (MCV)، هموگلوبین متوسط سلولی (MCH)، غلظت متوسط هموگلوبین در گلیول قرمز (MCHC)، درصد نوتروفیل، لنفوسيت، مونوسیت و ائوزینوفیل، نمونه-

جدول ۲: آنالیز جیره پایه

Table 2: Baseline diet analysis

ردیف	ترکیبات مغذی جیره (%)	میزان در جیره (kg)
۱	پروتئین خام	۴۵/۰۰
۲	چربی خام	۱۴/۰۰
۳	رطوبت	۵/۷۰
۴	حاکستر	۵/۰۰
۵	کربوهیدرات	۲۴/۰۰
۶	فیبر	۵/۱۰
۷	انرژی خام (kcal/kg)	۴۷۱۰/۰۰

سیستم آزمایشی

قبل از شروع آزمایش ماهیان به مدت ۲۱ روز با محیط آداسپت شدند و پس از زیست سنجی به صورت تصادفی در ۹ مخزن ۵۰۰ لیتری (۳۰ عدد در هر تیمار) ریخته شدند و با رزیمهای غذایی مختلف T_1 , T_2 و T_0 به مدت هشت هفته (دوبار در روز به میزان ۵ درصد وزن بدن در ماه اول و ۳ درصد وزن بدن در ماه دوم) تغذیه گردیدند. برای هر تیمار سه تکرار در نظر گرفته شد و زیست سنجی هر ۱۴ روز یکبار صورت گرفت. میزان اکسیژن محلول, pH و دمای آب در طول آزمایش به صورت روزانه بررسی گردید. اکسیژن آب 8 ± 0.50 میلی‌گرم در لیتر, pH آب به طور میانگین 7.99 ± 0.20 و دمای آب درجه 16.71 ± 1.35 درجه سانتی‌گراد بود.

بررسی شاخص‌های رشد و ماندگاری

برای بررسی رشد ماهیان و مقایسه بین تیمارها از شاخص‌های رشد شامل درصد افزایش وزن بدن، ضریب تبدیل غذایی، ضریب رشد ویژه و میزان افزایش وزن بدن استفاده شد (Tacon, 1990).

افزایش وزن بدن (Weight Gain):

$$\text{WG(g)} = W_f - W_i$$

درصد افزایش وزن بدن (Percent Weight Gain):

$$\text{PWG(\%)} = \frac{(W_f - W_i)}{W_i} \times 100$$

ضریب رشد ویژه (Specific Growth Rate):

نتایج

رشد و ماندگاری

با توجه جدول شماره ۳ تیمارهایی که 10^7 CFU/g باکتری پوشش دار لاکتوباسیلوس پلاتارتوم دریافت کرده بودند به طور معنی داری نسبت به تیمار شاهد بیشترین افزایش وزن، بیشترین درصد افزایش وزن بدن، کمترین ضربی تبدیل غذا و همچنین بیشترین ضربی رشد ویژه را دارا بودند ($P < 0.05$). اما درصد بقا در بین تیمارهای مختلف اختلاف معنی داری نداشت ($P > 0.05$). همچنین درصد افزایش وزن بدن و ضربی رشد ویژه در تیمار حاوی 10^8 CFU/g باکتری با تیمار شاهد و تیمار حاوی 10^7 CFU/g باکتری اختلاف معنی داری نداشت ($P > 0.05$). اما میزان افزایش وزن بدن و ضربی تبدیل غذا در تیمار 10^7 CFU/g اختلاف معنی داری با سایر تیمارها نشان داد ($P < 0.05$).

فاکتورهای خونی و ایمنی

نتایج حاصل از این تحقیق همانطور که در جدول ۴ آورده شده است نشان داد تعداد گلوبول های سفید در تیمارهای حاوی باکتری به طور معنی داری بالاتر از تیمار شاهد بود ($P < 0.05$ ، اما در تعداد گلوبول های قرمز، هموگلوبین، درصد هماتوکریت، MCH، MCV و MCHC اختلاف معنی داری مشاهده نشد ($P > 0.05$). از نظر درصد انواع مختلف گلوبول های سفید، به طور معنی داری در تیمار 10^7 CFU/g درصد نوترووفیل کمتر و درصد لنفوцит بیشتر از دو تیمار دیگر بود ($P < 0.05$). درصد مونوپلیت در تیمار 10^8 CFU/g به طور معنی داری بالاتر از تیمار 10^7 CFU/g بود ($P < 0.05$) اما با شاهد اختلاف معنی داری نداشت ($P > 0.05$). همچنین در درصد ائوزینوفیل نیز اختلاف معنی داری بین تیمارها مشاهده نشد ($P > 0.05$). میزان گلوبگز و کلستروول نیز به طور معنی داری در تیمار 10^7 CFU/g بیشتر از دو تیمار دیگر بود ($P < 0.05$).

های خون در لوله های CBC حاوی مواد ضد انعقاد جمع آوری شد و به روش نوریان و همکاران (۱۳۹۳) اندازه گیری گردید. جهت محاسبه درصد هماتوکریت (HCT) نمونه های خون در لوله های موبینه جمع آوری و پس از انجام سانتریفیوژ درصد آن توسط خط کش هماتوکریت ریدر قرائت شد (حقیقی، ۱۳۸۸).

بورسی فلور باکتریایی روده

برای شمارش باکتری های روده در انتهای دوره تعداد ۳ ماهی از هر تیمار بطور تصادفی صید و پس از بیهودی توسط پودر گل میخک، با استفاده از پنبه الکل ۷۰ درصد قسمت شکمی آنها ضد عفونی گردید. در شرایط استریل ناحیه شکمی ماهیان با تیغ اسکالالپ استریل برش و روده خارج شد. پس از تخلیه کامل روده، سه بار توسط سرم فیزیولوژی استریل شستشو و بعد از هموژنیزاسیون با استفاده از سرم فیزیولوژی استریل رقت های 10^{-1} تا 10^{-5} از روده تهیه گردید. از رقت های تهیه شده روده به میزان 0.1 میلی لیتر روی محیط های کشت TSA (Tryptic Soy Agar) به منظور شمارش کلی باکتری های اسید لاكتیک در محیط کشت اختصاصی باکتری های اسید لاكتیک MRS تلقیح انجام شد. انکوباسیون پلیت های TSA در شرایط هوایی و MRS در شرایط بی هوایی به ترتیب در دمای 25°C و 30°C و پس از انکوباسیون، باکتری های هر پلیت بر حسب واحد کلنجی (CFU) در گرم مورد شمارش قرار گرفت (Merrifield et al., 2011).

روش ها و ابزار تجزیه و تحلیل داده ها

طرح کلی این تحقیق طرح کاملاً تصادفی بود. جهت آزمون داده ها از آنالیز واریانس یک طرفه و جهت تعیین اختلاف معنی دار بین تیمارها از آزمون دانکن استفاده شد. تمامی آنالیز های آماری با استفاده از برنامه نرم افزاری SPSS 17 مورد ارزیابی قرار گرفت. وجود یا عدم وجود اختلاف معنی دار در سطح ۵٪ مشخص شد.

جدول ۳: تغییرات شاخص‌های رشد و درصد زنده مانی قزل آلای تقدیه شده با جیره‌های غذایی مختلف حاوی لاکتوباسیلوس پلانتروم پوشش دار به مدت ۸ هفته

Table 3: Changes of growth indices and survival percentage of Rainbow trout fed with various diets containing coated *Lactobacillus plantarum* during 8 weeks

L. CFU/g ¹⁰ ^a <i>plantarum</i> (T ₂)	L. CFU/g ¹⁰ ^y <i>plantarum</i> (T ₁)	تیمار حاوی (T ₀)	شاهد (T ₀)	تیمارها/عوامل رشد
۱۲/۹۰±۰/۷۸	۱۲/۸۵±۰/۸۳	۱۳/۰۱±۰/۲۵	(g) W _i	
۵۴/۴۷±۰/۳۱ ^b	۵۹/۹۲±۰/۴۵ ^a	۵۱/۹۸±۴/۱۷ ^b	(g) W _f	
۴۱/۵۸±۱/۰۹ ^b	۴۷/۰۸±۰/۳۹ ^a	۳۸/۹۷±۳/۹۲ ^b	(g) WG	
۳۲۴/۱۴±۲۸/۰۸ ^{ab}	۳۶۸/۲۴±۲۶/۹۳ ^a	۲۹۹/۰۵±۲۴/۳۵ ^b	(%) PWG	
۰/۹۲±۰/۰۱ ^a	۰/۷۸±۰/۰۷ ^b	۰/۹۶±۰/۰۹ ^a	(g/g) FCR	
۳/۲۱±۰/۱۵ ^{ab}	۳/۴۳±۰/۱۷ ^a	۳/۰۷±۰/۱۴ ^b	(%) SGR	
۱۰۰/۰۰±۰/۰۰	۱۰۰/۰۰±۰/۰۰	۱۰۰/۰۰±۰/۰۰	درصد ماندگاری	

حروف مختلف در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی دار می‌باشد (P<0/05).

جدول ۴: تأثیر غلظت‌های مختلف باکتری پوشش دار لاکتوباسیلوس پلانتروم در جیره غذایی بر فاکتورهای خونی و ایمنی ماهی قزل آلای رنگین کمان در ۸ هفته

Table 4: Effects of different dosages of coated *Lactobacillus plantarum* in diet on blood and immune factors of Rainbow trout during 8 weeks.

L. <i>plantarum</i>	تیمارها		عوامل خونی و ایمنی
	CFU/g ¹⁰ ^y	CFU/g ¹⁰ ^a	
۱۰/۹۰±۰/۲۰ ^a	۱۱/۳۰±۰/۲۰ ^a	۱۰/۰۰±۰/۶۰ ^b	(mm ³ ×10 ³) WBC
۱/۹۳±۰/۱۷	۱/۸۸±۰/۰۱	۱/۷۸±۰/۰۲	RBC (mm ³ ×10 ⁶)
۱۰/۰۰±۰/۰۵	۱۰/۰۰±۰/۰۶	۹/۲۵±۰/۲۵	g/dL HB
۵۵/۵۰±۳/۰۵	۵۶/۰۰±۳/۰۰	۵۱/۰۰±۱/۰۰	% HCT
۲۸۵/۰۰±۳/۰۰	۲۸۳/۰۰±۳/۰۰	۲۸۷/۰۰±۳/۰۰	FL MCV
۵۱/۵۰±۰/۰۵	۵۱/۰۰±۰/۰۰	۵۲/۰۰±۱/۰۰	pg MCH
۱۷/۵۰±۰/۰۵	۱۷/۵۰±۰/۰۵	۱۸/۰۰±۰/۰۰	g/dL MCHC
۱۸/۵۰±۰/۰۵ ^b	۲۲/۰۰±۲/۰۰ ^a	۲۴/۵۰±۱/۰۰ ^a	% neutrophils
۷۷/۵۰±۱/۰۰ ^a	۷۰/۰۰±۲/۰۰ ^b	۶۹/۵۰±۴/۰۰ ^b	% lymphocytes
۳/۰۰±۰/۰۰ ^b	۶/۰۰±۰/۰۰ ^a	۴/۰۰±۱/۰۰ ^{ab}	% monocytes
۱/۰۰±۱/۰۰	۲/۰۰±۰/۰۰	۱/۰۰±۱/۰۰	% Eosinophils
۳۱۷/۵۰±۲/۰۰ ^a	۲۷۸/۵۰±۲/۰۰ ^b	۲۶۸/۰۰±۲۵/۰۰ ^b	(mg/dL) cholesterol
۸۷/۵۰±۳/۰۰ ^a	۷۶/۰۰±۵/۰۰ ^b	۷۵/۰۰±۳/۰۰ ^b	(mg/dL) glucose
۶۱/۰۰±۰/۰۰	۶۸/۰۰±۳/۰۰	۶۶/۵۰±۱/۰۰	(mg/dL) HDL
۲۲۵/۰۰±۴/۰۰ ^a	۱۵۶/۵۰±۱/۰۰ ^b	۱۵۵/۰۰±۲/۰۰ ^b	(mg/dL) LDL
۵۶۳۶/۰۰±۱۰۲۱/۰۰	۵۴۵۸/۰۰±۲۵/۰۰	۵۵۳۱/۰۰±۳۳۹/۰۰	(u/L) LDH
۵۳۴/۰۰±۱۰۰۰/۰۰ ^a	۲۷۰/۰۰±۲۸/۰۰ ^b	۲۸۶/۰۰±۲۵/۰۰ ^b	(u/L) AST
۱۱/۰۰±۰/۰۰	۷/۰۰±۰/۰۰	۷/۰۰±۰/۰۰	(u/L) ALT
۴/۱۵±۰/۰۵ ^a	۳/۰۵±۰/۰۵ ^b	۳/۰۰±۰/۰۰ ^{ab}	(g/dL) Total protein
۴۰/۹/۰۰±۰/۰۰ ^a	۲۳/۰۰±۰/۰۰ ^b	۲۴/۰۰±۰/۰۰ ^b	(mg/dL) Triglycerides
۱۹/۰۰±۰/۰۰	۱۹/۰۰±۰/۰۰	۲۲/۰۰±۰/۰۰	(mg/dL) IgM
۱۴۱/۰۰±۱۲/۰۰	۱۳۸/۰۰±۱۵/۰۰	۱۴۱/۰۰±۲۴/۰۰	(U %) ACH50
۱۸۱۰/۰۰±۴۱۶/۰۰ ^a	۸۶۷/۰۰±۲۱۶/۰۰ ^b	۸۸۲/۰۰±۱۵۲/۰۰ ^b	(u/L) ALP

حروف مختلف در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی دار می‌باشد (P<0/05).

بحث

امروزه با توجه به مطالعات انجام شده علاقه به استفاده از میکروگانیسم‌های مفید از جمله پروبیوتیک‌ها افزایش یافته است. در این تحقیق نیز تاثیر افزودن باکتری لاکتوباسیلوس پلانتاروم پوشش‌دار شده در جیره ماهی قزل آلای رنگین کمان با دو مقدار 10^7 و 10^8 CFU/g بر رشد، درصد ماندگاری، شاخص‌های خون، سرم و فلور باکتریایی روده این ماهی مورد بررسی قرار گرفت. همانطور که اشاره شد یکی از مهمترین ویژگی پروبیوتیک‌ها افزایش ارزش غذایی و نیز بهبود پارامترهای رشد میزان است. نتایج تحقیق حاضر نیز با نتایج تحقیقات پیشین مطابقت داشته به طوری که ثابت شد تیمارهایی که 10^7 باکتری پوشش‌دار لاکتوباسیلوس پلانتاروم در جیره را دریافت کردند به طور معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد بیشترین افزایش وزن، بیشترین درصد افزایش وزن بدن، کمترین ضریب تبدیل غذا و همچنین بیشترین ضریب رشد ویژه را دارا بودند. در این تحقیق تیمار حاوی 10^8 باکتری پوشش‌دار در هیچ یک از شاخص‌های رشد اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد نداشت همچنین در درصد افزایش وزن و ضریب رشد ویژه اختلاف معنی‌داری بین این تیمار و تیمار حاوی 10^7 باکتری پوشش‌دار مشاهده نگردید. همچنین درصد ماندگاری اختلاف معنی‌داری در بین تیمارها نداشت. به نظر می‌رسد که افزایش رشد مشاهده شده در تحقیق حاضر می‌تواند به دلیل افزایش اشتها و خوارک مصرفی، همچنین افزایش فعالیت آنزیمی توسط پروبیوتیک‌ها باشد که باعث بهبود عملکرد دستگاه گوارش می‌شوند (Gatesoupe, 1999). همسو با این تحقیق بهبود شاخص‌های رشد در تیمارهای پروبیوتیکی را می‌توان در برخی تحقیقات دیگر نیز مشاهده کرد. صفری و یعقوب زاده (۱۳۹۶) بیان کردند استفاده از باکتری لاکتوباسیلوس در جیره ماهی قزل آلای رنگین کمان منجر به تقویت شاخص‌های رشد و بقاء در این ماهی گردید. همچنین مشخص شد لاکتوباسیلوس پلانتاروم به میزان 10^7 CFU/g در جیره قزل آلای رنگین کمان، فلور

در میزان LDH، HDL و ALT بین تیمارها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P > 0.05$) اما تری گلیسرید، ALP و LDL AST معنی‌داری بالاتر از دو تیمار دیگر بود ($P < 0.05$). میزان پروتئین کل نیز در این تیمار به طور معنی‌داری بالاتر از تیمار 10^8 CFU/g بود ($P < 0.05$) ولی این اختلاف با تیمار شاهد معنی‌دار نبود. میزان IgM و ACH50 نیز در تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری نداشت ($P > 0.05$).

فلور باکتریایی روده

نتایج حاصل از این تحقیق اختلاف معنی‌داری در تعداد باکتری‌های اسید لاکتیک بین تیمار حاوی 10^7 و 10^8 باکتری لاکتوباسیلوس پلانتاروم با شاهد نشان داد ($P < 0.05$) و در این تیمارها تعداد باکتری‌های اسید لاکتیک بطور معنی‌داری بالاتر بود. همچنین شمارش کلی باکتری در تیماری که 10^7 CFU/g باکتری دریافت کرده بود به طور معنی‌داری بالاتر از دو تیمار دیگر بود ($P < 0.05$). اما بین تیمار شاهد و تیمار 10^8 CFU/g باکتری لاکتوباسیلوس پلانتاروم اختلاف معنی‌داری در شمارش کلی باکتری مشاهده نشد ($P > 0.05$) (جدول ۵).

جدول ۵: تاثیر غلظت‌های مختلف باکتری پوشش‌دار لاکتوباسیلوس پلانتاروم در جیره غذایی بر فلور باکتریایی روده ماهی قزل آلای رنگین کمان در ۸ هفته.

Table 5: Effects of different dosages of coated *Lactobacillus plantarum* in diet on gut bacterial flora of Rainbow trout during 8 weeks

تیمارها	Total count bacteria (Log CFU/g)	Lactic acid bacteria (Log CFU/g)
T_0	$6/0.5 \pm 0.04^b$	0.57 ± 0.06^b
T_1	$6/23 \pm 0.13^a$	$2/57 \pm 0.11^a$
T_2	$5/93 \pm 0.01^b$	$2/67 \pm 0.03^a$

حروف مختلف در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($P < 0.05$).

ائوزینوفیل نشان نداد. حسینی و همکاران (۱۳۹۳) بیان نمودند نوع پروبیوتیک مصرفی، درجه خلوص آن و روش-های مختلف افزودن پروبیوتیک به جیره غذایی ماهی به طور قابل توجهی بر پارامترهای بیوشیمیایی خون اثر می-گذارد. در این تحقیق میزان گلوبز و کلسترونول، تری گلیسرید AST، LDL و ALP در تیمار 10^7 CFU/g به طور معنی‌داری بالاتر از دو تیمار دیگر بود. مطالعات قبلی نشان دادند که استفاده از پروبیوتیک‌ها در رژیم غذایی ماهی تیلاپیای نیل منجر به افزایش فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز می‌گردد. در نتیجه، می‌توانند سبب تحریک، توسعه و رشد پرده‌های سطح غشای سلول‌های انتروسیت روده‌ای شوند. افزایش این پرده‌ها منجر به جذب بیشتر کربوهیدرات‌ها و لیپیدها و در نتیجه، افزایش بیشتر وزن می‌شوند (Lara-Flores, 2011). میزان پروتئین کل نیز در این تیمار به طور معنی‌داری بالاتر از تیمار 10^8 CFU/g Valipour و همکاران (۲۰۱۳) تاثیر سطوح مختلف پروبیوتیک (*Pedicoccus acidilacticus*) بر شاخص‌های رشد، بازماندگی و برخی فاکتورهای خونی به ماهی سفید را مورد بررسی قرار دادند، نتایج حاصل از این تحقیق وجود اختلاف معنی‌داری را در تعداد کل گلبول‌های سفید، گلبول‌های قرمز، MCH، MCHC، میزان گلوبز، پروتئین، LDL، HDL، آمیلاز و لیپاز خون در تیمارهای تغذیه شده با پروبیوتیک پدیوکوکوس اسیدی لاکتیکی نشان داده و روند مشابهی نیز در مورد تعداد لنفوسیت‌های خون مشاهده گردید. همچنین این بررسی نشان داد که استفاده از پروبیوتیک *P. acidilactici* موجب بیشتر پارامترهای رشد و شاخص‌های خونی در بچه ماهیان سفید گردید. نتایج حاصل از تحقیقات اسدی‌خمamی و همکاران (۱۳۹۶) نیز *Pediococcus* نشان داد که افزودن پروبیوتیک *acidilactici* به جیره غذایی بچه ماهیان سیم باعث افزایش عملکرد رشد، کارایی تغذیه و همچنین بهبود شاخص‌های هماتولوژیک و ایمنی در ماهیان می‌شود. بنابراین، می‌تواند مکمل مناسبی برای جیره غذایی بچه ماهیان سیم باشد. شناور ماسوله (۱۳۹۱) بیان کرد

باکتریایی روده، عملکرد رشد و ترکیب لاشه را بهبود داد اما میزان 10^8 CFU/g ۱۰ باکتری اختلاف معنی‌داری در این پارامترها در مقایسه با تیمار شاهد نداشت (قلجایی فرد و همکاران، ۱۳۹۵). جعفریان و همکاران (۱۳۸۷) بیان کردند باسیلوس‌های پروبیوتیک قابلیت بالایی در افزایش معیارهای رشد لاروهای ماهی قزل آلا دارند و در توسعه جیره‌های کاربردی این ماهی سودمندند. همچنین استفاده از لاکتوباسیلوس پلاتارتاروم به مدت ۳۰ روز در جیره ماهی تیلاپیای نیل، نرخ رشد را در مقایسه با گروه شاهد بهبود داد (Abumourad *et al.*, 2013). درصد ماندگاری نیز *L. plantarum* CLFP 238 در ماهیان قزل آلا رنگین کمان تغذیه شده با *Oreochromis niloticus* (Vendrell *et al.*, 2008). همچنین Essa و همکاران (۲۰۱۰) گزارش کردند که ماهیان تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) تغذیه شده با *L. plantarum* NIOFSD018 در مقایسه با گروه شاهد به طور معنی‌داری رشد بهتری داشتند و مصرف غذا و فعالیت‌های آنزیمی آمیلاز، پروتئاز و لیپاز در دستگاه گوارش آن‌ها بهبود یافته بود و وزن نهایی و کارایی غذایی نیز افزایش یافته بودند. Sultana و همکاران (۲۰۰۰) بیان کردند میزان ماندگاری باکتری‌های پوشش‌دار شده *Bifidobacterium* و *Lactobacillus acidophilus* spp. در ماست نسبت به باکتری‌های آزاد بیشتر بود. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد تعداد گلبول‌های سفید در تیمارهای حاوی باکتری به طور معنی‌داری بالاتر از تیمار شاهد بود اما در تعداد گلبول‌های قرمز، هموگلوبین، درصد هماتوکریت، MCH، MCHC و MCV همچنین در میزان ALT، LDH، HDL، IgM و ACH50 اختلاف معنی‌داری در بین تیمارها مشاهده نشد. از نظر درصد انواع مختلف گلبول‌های سفید، به طور معنی‌داری در تیمار 10^7 CFU/g درصد نوتروفیل کمتر و درصد لنفوسیت بیشتر از دو تیمار دیگر بود. درصد مونوکلولین در تیمار 10^8 CFU/g به طور معنی‌داری بالاتر از تیمار 10^7 CFU/g بود اما با شاهد اختلاف معنی‌داری نداشت. همچنین نتایج اختلاف معنی‌داری در درصد

استفاده از *Pseudomonas aeruginosa* و *aureus* همچنین *Jatobá* و همکاران (۲۰۱۱) نتیجه گرفتند که پس از تغذیه ماهی تیلایپای نیل با لاكتوباسیلوس پلانتاروم به مدت ۱۲ هفته، تعداد باکتری‌های هتروتروفیک زنده روده ماهی کاهش و تعداد باکتری‌های اسید لاكتیکی افزایش یافت.

با توجه به نتایج بدست آمده در این تحقیق می‌توان پیشنهاد کرد، بکارگیری این باکتری به صورت پوشش‌دار با غلظت 10^7 CFU/g در جیره ماهی قزل آلا رنگین کمان باعث بهبود فاکتورهای رشد و برخی فاکتورهای ایمنی و همچنین افزایش میزان باکتری‌های اسید لاكتیک در روده می‌شود. اما استفاده از 10^8 CFU/g مقایسه با شاهد تاثیر معنی‌داری بر شاخص‌های رشد نداشت.

تشکر و قدردانی

در پایان از تمام عزیزانی که در انجام این تحقیق از هیچ گونه کمک و کوششی دریغ نورزیدند تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

- اسدی خمامی، س.، مورکی، ن. و ولی پور، ع.. ۱۳۹۶. تأثیر پروبیوتیک *Pediococcus acidilactici* بر رشد و شاخص‌های خونی بچه ماهی سیم *Abramis brama orientalis* فصلنامه علمی-پژوهشی علوم و فنون شیلات، ۱(۱): ۱-۱۲.
- اشنوخواه، م.، توکمه چی، ا.، فرخی، ف. و مناففر، ر.. ۱۳۹۲. مقایسه‌ی تأثیر اشکال مختلف پروبیوتیک لاكتوباسیلوس کازئی بر رشد و ایمنی ماهی قزل آلا رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*). مجله دامپرشکی ایران، ۴۹(۱): ۲۵-۳۵.
- جعفریان، ح.ا.، مروت، ر.ا. و شیرزاد، ح.. ۱۳۸۷. بکارگیری دافنی ماغنای (*Daphnia magna*) غنی شده با باسیلوس‌های پروبیوتیکی و تأثیر آنها بر رشد لاروهای ماهی قزل آلا رنگین کمان

استخراج *Lactococcus lactis* JF831150 از روده تاس ماهیان در تغذیه آن‌ها به مدت ۵۶ روز منجر به بهبود معنی‌داری در افزایش وزن، ضریب رشد و پیزه، ضریب تبدیل غذایی، فعالیت لیزوزیم، فعالیت آترناتیو کمپلمان، هموگلوبین، گلبول‌های سفید و قرمز، هموگلوبین ذرماهی، اتوزنوفیل و نوتروفیل می‌شود و مصرف پروبیوتیک احتمالی موثر باشد.

با توجه به نتایج این تحقیق با افزایش میزان باکتری در جیره تعداد باکتری‌های اسید لاكتیک در روده به طور معنی‌داری افزایش یافت بطوریکه بیشترین میزان باکتری‌های اسید لاكتیک در روده در تیمار حاوی 10^7 CFU/g باکتری لاكتوباسیلوس پلانتاروم مشاهده شد. اما شمارش کلی باکتری در تیماری که 10^7 CFU/g باکتری دریافت کرده بود به طور معنی‌داری بالاتر از دو تیمار دیگر بود و بین تیمار شاهد و تیمار حاوی 10^8 CFU/g باکتری لاكتوباسیلوس پلانتاروم اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. همسو با این مطالعات در میگوی پنؤوس مونودون استفاده از پروبیوتیک، توازن میکروب‌های روده ای را بهبود داد و با بهتر کردن جذب غذایی و فعالیت آنزیم‌های گوارشی، منجر به بهبود رشد گردید (Das et al., 2006). افزایش جمعیت لاكتوباسیلوس پلانتاروم در روده‌ی بچه ماهی قزل آلا می‌تواند به دلیل قدرت جاگیری بالای این باکتری‌ها در روده باشد، از طرفی با توجه به اینکه این باکتری‌ها قادر هستند مواد آنتی بیوتیکی تولید کنند، از این رو این ترکیبات احتمالاً می‌توانند جمعیت باکتری‌های دیگر را کاهش دهد یا باکتری پلانتاروم قادر است در محیط زیستی خود در رقابت بر سر مواد مغذی بر باکتری‌های دیگر غلبه کند و در نتیجه رشد سریع‌تر، محیط را اشغال نماید (Lash, 1998).

همکاران (۲۰۰۵) نیز بیان کردند که لاكتوباسیلوس پلانتاروم باکتریوسینی تولید می‌کند که مانع رشد باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی شامل *Listeria*, *Staphylococcus*, *Escherichia coli* و *innocua*

- Lactobacillus plantarum* as a probiotic in aquaculture: Emphasis on growth performance and innate immunity. Journal of Applied Sciences Research, 9(1):572-582.
- Andani, H.R.R., Tukmechi, A., Meshkini, S. and SheikhZadeh, N., 2012.** Antagonistic activity of two potential probiotic bacteria from fish intestines and investigation of their effects on growth performance and immune response in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Journal of Applied Ichthyology, 28(5): 728-734. DOI: 10.1111/j.1439-0426.2012.01974.x.
- Das, B.K., Samal, S.K., Samantaray, B.R., Sethi, S., Pattnaik, P. and Misha, B.K., 2006.** Antagonistic activity of cellular components of *Pseudomonas* species against *Aeromonas hydrophila*. Aquaculture, 253(1-4): 17-24. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2005.01.028.
- Essa, M.A., EL-Serafy, S.S., El-Ezabi, M.M., Daboor, S.M., Esmael, N.A. and Lall, S.P., 2010.** Effect of different dietary probiotics on growth, feed utilization and digestive enzymes activities of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*. Journal of the Arabian Aquaculture Society, 5(2): 143-162.
- FAO Global Aquaculture Production (online query), 2014.** Statistical information, Fisheries and Aquaculture Department. <http://www.fao.org>. Cited August 2014.
- حسینی، ع.ر، اورجی، ح، یگانه، س. و شهابی، ح. تاثیر پروبیوتیک پدیوکوکوس اسیدی لاكتیسی روی رشد، فاکتورهای خونی و سرمی در ماهی آزاد دریای خزر. مجله علمی شیلات ایران، ۱۳۹۳، ۲۱(۱): ۲۴-۳۵.
- حقیقی، م. روشاهی آزمایشگاهی خون شناسی ماهی. انتشارات موسسه تحقیقات شیلات ایران، ۱۳۸۸، ۸۳(۲): ۳۵-۴۵.
- شناور ماسوله، ع. ۱۳۹۱. شناسایی باکتریهای اسید لاكتیک روده بچه تاسماهیان ایرانی (*Acipenser persicus*) و کارآی آنها بر برخی فاکتورهای رشد و ایمنو فیزیولوژی. پایان نامه، دانشکده دامپزشکی گروه بیماریهای آبزیان دانشگاه تهران.
- صفری، ر. و یعقوب زاده، ز. ۱۳۹۶. تاثیر باکتری *Lactobacillus* بر شاخصهای رشد، بقا و مقاومت ماهی قزل آلای رنگین کمان *Streptococcus iniae* (*mykiss*) در برابر باکتری *Oncorhynchus mykiss*. مجله علمی شیلات ایران، ۱۳۹۱-۱۳۹۶، ۵(۵): ۱۳۹-۱۴۹.
- قلجایی فرد، ا.، خارا، ح. و شناور ماسوله، ع.. ۱۳۹۵. اثر باکتری *Lactobacillus plantarum* جداسازی شده از روده قزل آلای رنگین کمان استان گیلان بر فاکتورهای رشد، فلور باکتریایی روده و ترکیب شیمیایی لشه بچه ماهی قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*). مجله علوم و فنون شیلات، ۱۱۱-۱۲۴، ۵(۲): ۷۹۹-۸۰۷.
- نوریان، م.، شجیعی، م.، محمدنژاد شموشکی، م.. ۱۳۹۳. تاثیر سم دیازینون بر روی فاکتورهای خونی ماهی قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*). زیست شناسی جانوری، ۹۹-۱۰۶، ۷(۲): ۱۱۱-۱۲۴.
- Abumourad, I.M.K., Abbas, W.T., Awaad, E.S., Authman, M.M.N., El-Shafei, K., Sharaf, O.M., Ibrahim, G.A., Sadek, Z.I. and El-Sayed, H.S., 2013.** Evaluation of

- Gatesoupe, F.J., 1999.** The use of probiotic in aquaculture. *Aquaculture*, 180(1-2):147-165. DOI: 10.1016/S0044-8486(99)00187-8.
- Jatobá, A., Vieira, F.d-N., Buglione-Neto, C.C., Mourão, J.L.P., Silva, B.C., Seifert, W.Q. and Andreatta, E.R., 2011.** Diet supplemented with probiotic for Nile tilapia in polyculture system with marine shrimp. *Fish Physiology and Biochemistry*, 37(4): 725-732. DOI: 10.1007/s10695-011-9472-5.
- Lara-Flores, M., 2011.** The use of probiotic in aquaculture: an overview. *International Research Journal of Microbiology*, 2(12): 471-478.
- Lash, B.W., Mysliwiec, T.H. and Gourama, H., 2005.** Detection and partial characterization of a broad-range bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* (ATCC 8014). *Food Microbiology*, 22(2-3): 199-204. DOI: 10.1016/j.fm.2004.03.006.
- Merrifield, D.L., Bradley G., Harper G.M., Baker R.T.M., Munn C.B. and Davies S.J., 2011.** Assessment of the effects of vegetative and lyophilized *Pediococcus acidilactici* on growth, feed utilization, intestinal colonization and health parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum). *Aquaculture Nutrition*, 17(1): 73-79. DOI: 10.1111/j.1365-2095.2009.00712.x.
- Mokarram, R.R., Mortazavi, S.A., Najafi, M.B.H. and Shahidi, F., 2009.** The influence of multi stage alginate coating on survivability of potential probiotic bacteria in simulated gastric and intestinal juice. *Food Research International*, 42(8): 1040-1045. DOI: 10.1016/j.foodres.2009.04.023.
- Moriarty, D.J.W., 1998.** Control of luminous *Vibrio* species in penaeid aquaculture ponds. *Aquaculture*, 164(1-4): 351–358. DOI: 10.1016/S0044-8486(98)00199-9.
- Nikoskelainen, S., Ouwehand, A.C., Bylund, G., Salminen, S. and Lilius, E.M., 2003.** Immune enhancement in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) by potential probiotic bacteria (*Lactobacillus rhamnosus*). Fish and Shellfish Immunology, 15(5): 443-452. DOI: 10.1016/S1050-4648(03)00023-8.
- Panigrahi, A., Kiron, V., Satoh, S. and Watanabe, T., 2010.** Probiotic bacteria *Lactobacillus rhamnosus* influences the blood profile in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Fish Physiology and Biochemistry*, 36(4): 969-977. DOI: 10.1007/s10695-009-9375-x.
- Panigrahi, A., Viswanath, K. and Satoh, S., 2011.** Real-time quantification of immune gene expression in rainbow trout fed different forms of probiotic bacteria *Lactobacillus rhamnosus*. *Aquaculture Research*, 42(7): 906-917. DOI: 10.1111/j.1365-2109.2010.02633.x.
- Shenavar Masouleh, A., Soltani, M., Pourkazemi, M., Azizzadeh, L., Alizadeh, M., Jalilpour, J., Masoumzadeh, M., Bazari Moghaddam, S., Gheybi, S. and**

- Fatemi, M., 2013.** *Lactobacillus plantarum* strain Sam10 16S ribosomal RNA gene, partial sequence. GenBank: KC426951.1. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/449043398>.
- Sheu, T.Y. and Marshall, R.T., 1993.** Microentrainment of Lactobacilli in calcium alginate gels. *Journal of food science*, 58(3): 557-561. DOI: 10.1111/j.1365-2621.1993.tb04323.x.
- Sultana, K., Godward, G., Reynolds, N. Arumugaswamy, R., Peiris, P. and Kailasapathy, K., 2000.** Encapsulation of probiotic bacteria with alginate-starch and evaluation of survival in simulated gastrointestinal conditions and in yoghurt. *International journal of food microbiology*, 62(1-2): 47-55. DOI: 10.1016/S0168-1605(00)00380-9.
- Tacon, A.G.J., 1990.** Standard methods for the fingerlings channel catfish. *Journal of the World nutrition and feeding of farmed fish and shrimp*. Argent Laboratories Press, pp: 454.
- Valipour, A.R., Hamedi, N. and Abdollahpour, H., 2013.** The effect of probiotic (*Pediococcus acidilactici*) supplementation on blood parameters of fingerlings Kutum, *Rutilus kutum*. *Aquaculture Europe*, 14: 239-241.
- Vendrell, D., Balcázar, J.L., Blas, I.d., Ruiz-Zarzuela, I., Girones, O. and Mzquiz, J.L., 2008.** Protection of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) from lactococcosis by probiotic bacteria. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 31(4): 337-345. DOI: 10.1016/j.cimid.2007.04.002.
- Zivkovic, R., 1999.** Probiotics or microbes against microbes. *Acta Medica Croatica*, 53(1):23-28.
- Zuidam, N.J. and Nedovic, A.V., 2010.** Encapsulation technologies for active food ingredients and food processing. Springer, New York, USA. 400p.

Evaluating the effects of dietary intake of encapsulated *Lactobacillus plantarum* KC426951 on growth, survival rate, blood and serum factors and gut bacterial flora of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)

Kordi H.¹; Valipour A.R.^{1*}; Haphezieh M.²; Shenavar Masouleg A.R.³; Kordi S.⁴

*valipour40@gmail.com

1-Inland Waters Aquaculture Research Center, Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Bandar Anzali, Iran

2-Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran

3-International Sturgeon Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Rasht, Iran

4-Department of Fisheries and Environment, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

Abstract

In this study, the effects of *Lactobacillus plantarum* KC426951 on growth, survival rate, blood and serum factors and gut bacterial flora of rainbow trout were investigated. For this purpose, 90 fish with an average weight of 12.94 ± 0.35 g were fed for 8 weeks with the diets containing different amounts of encapsulated *Lactobacillus plantarum* including treatment 1 (10^7 CFU/g), treatment 2 (10^8 CFU/g) and the control treatment without *Lactobacillus plantarum* (T_0). The results of this study showed that the highest weight gain, percent of body weight gain, specific growth rate and the lowest feed conversion rate were observed in the treatments 1 which were significantly different as compared to those of the control treatment ($P < 0.05$). However, the amounts of survival rates were not significantly different among various treatments ($P > 0.05$). In blood factors, the numbers of white blood cells in the treatments containing bacteria were significantly higher than the control treatment ($P < 0.05$). The amount of neutrophil in the treatment 1 was lower than that of the other treatments, whereas the amount of lymphocyte in the treatment 1 was higher than that of the other treatments ($P < 0.05$). The amount of monocyte in the treatment 2 was significantly higher than that of the treatment 1 ($P < 0.05$). The levels of glucose, triglyceride, cholesterol, LDL, AST and ALP were significantly higher in the treatment 1 than those of the other treatments. The amount of total protein in the treatment 1 was significantly higher than that of the treatment 2 ($P < 0.05$). But there were not significant differences among various treatments in other blood parameters ($P > 0.05$). According to the results, the numbers of lactic acid bacteria in the treatments containing bacteria (1 and 2) were significantly higher than the control treatment. The total bacterial count in the treatment 1 was significantly higher than that of the other treatments ($P < 0.05$). Therefore, the addition of 10^7 CFU/g of encapsulated *Lactobacillus plantarum* bacteria to fish diet could have positive effects on the growth and health parameters of rainbow trout.

Keywords: Encapsulated *Lactobacillus plantarum* KC426951, Growth indices, Blood factors, Gut bacterial flora, Rainbow trout

*Corresponding author