

# اثرات مجزا و تلفیقی مانان الیگوساکارید (*Mannan oligosaccharide*) و باکتری لاکتوباسیلوس پلانتاروم (*Lactobacillus plantarum*) جیره بر برخی شاخص‌های رشد و فاکتورهای خونی بچه ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*)

محمد جواد جامی<sup>۱</sup>، عبدالمحمد عابدیان کناری<sup>۱\*</sup>، حامد پاکنژاد<sup>۲</sup>، محمود محسنی<sup>۳</sup>

\*aabedian@modares.ac.ir

- ۱- گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران
- ۲- گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی، گرگان، ایران
- ۳- مرکز تحقیقات ماهیان سردآبی، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تنکابن، ایران

تاریخ دریافت: اردیبهشت ۱۳۹۸

تاریخ پذیرش: شهریور ۱۳۹۸

## چکیده

در مطالعه حاضر، اثرات مجزا و تلفیقی مانان الیگوساکارید<sup>۱</sup> (MOS) و باکتری لاکتوباسیلوس پلانتاروم (*Lactobacillus plantarum*) جیره بر برخی شاخص‌های رشد و فاکتورهای خونی بچه ماهی آزاد دریای خزر مورد بررسی قرار گرفت. ماهیان با وزن اولیه  $10 \pm 0.6$  گرم توسط جیره‌های شامل: ۱) جیره شاهد فاقد هرگونه ماده افزودنی، ۲) جیره حاوی  $8 \times 10^8$  cfu/g باکتری *L. plantarum* (۳) جیره حاوی  $4$  g/kg مانان الیگوساکارید، ۴) جیره حاوی ترکیبی از  $8 \times 10^8$  cfu/g باکتری *L. plantarum* و  $4$  g/kg<sup>-1</sup> مانان الیگوساکارید، به مدت ۸ هفته تغذیه شدند. در پایان دوره و انجام نمونه برداری، نتایج نشان داد که تیمارهای حاوی  $4$  g/kg<sup>-1</sup> مانان الیگوساکارید به صورت مجزا و جیره تلفیقی شامل مانان الیگوساکارید و باکتری *L. plantarum* از لحاظ شاخص‌های افزایش وزن بدن، ضریب رشد ویژه، شاخص رشد روزانه و کارایی پروتئین در بین تیمارها نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌داری نشان دادند ( $p < 0.05$ ). بیشترین میزان ضریب تبدیل غذایی و مصرف روزانه غذا در تیمار شاهد، مشاهده گردید و از این نظر تفاوت معنی‌داری با سایر تیمارها داشت ( $p < 0.05$ ). همچنین از نظر فاکتور وضعیت تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای مجزا و تلفیقی و گروه شاهد، مشاهده نشد ( $p > 0.05$ ). نتایج شاخص‌های خونی در بین تیمارهای مختلف نشان داد که تعداد گلبول‌های قرمز در بین تیمارها تفاوت معنی‌داری نسبت به گروه شاهد داشتند ( $p < 0.05$ ) به طوری که بیشترین و کمترین تعداد به ترتیب مربوط به تیمار حاوی *L. plantarum* و شاهد بود در حالیکه تعداد گلبول سفید تفاوت معنی‌داری را نسبت به گروه شاهد نشان نداد ( $p > 0.05$ ). نتایج این تحقیق حاکی از آن است که استفاده از جیره‌های حاوی  $4$  g/kg<sup>-1</sup> مانان الیگوساکارید به صورت مجزا و جیره تلفیقی شامل مانان الیگوساکارید و باکتری *L. plantarum* سبب بهبود شاخص‌های رشد و خونی در بچه ماهیان آزاد دریای خزر می‌گردد.

**کلمات کلیدی:** مانان الیگوساکارید، لاکتوباسیلوس پلانتاروم، ضریب تبدیل غذایی، کارایی پروتئین، ماهی آزاد دریای خزر

\*نویسنده مسئول

<sup>1</sup> Mannan oligosaccharide

## مقدمه

با گسترش صنعت آبی‌پروری، لزوم استفاده از آنتی بیوتیک‌ها، واکسن‌ها و مواد شیمیایی مطرح گردید. اما از آنجایی که استفاده از آنتی بیوتیک‌ها در صنعت آبی‌پروری سبب بالا رفتن هزینه‌های پرورش، انتشار آنها به محیط زیست و تجمع در بافت آبی می‌گردید (Al-Dohail et al., 2009)، برای درمان و پیشگیری از بیماری‌ها، استفاده از پروبیوتیک‌ها و پریبیوتیک‌ها به عنوان جایگزینی برای داروها و آنتی بیوتیک‌ها مطرح گردید. مزیت استفاده از پروبیوتیک در آبی‌پروری شامل بهبود کیفیت آب، افزایش میکرو فلور مفید دستگاه گوارش و بهبود جذب غذا از طریق تولید آنزیم‌های خارج سلولی و ویتامین‌ها می‌باشد (Irianto and Austin, 2002). علاوه بر این، پروبیوتیک‌ها و پریبیوتیک‌ها موجب کاهش میزان بروز بیماری از طریق ارتقاء سیستم ایمنی بدن شده که در نهایت موجب کاهش تلفات می‌گردند (Fuller, 1989). پروبیوتیک‌ها با تأثیر بر شاخص‌های تغذیه‌ای شامل هضم و جذب بهتر، تولید ترکیبات ضد باکتریایی، رقابت جهت کسب مواد مغذی، تغییر در فعالیت آنزیم‌های گوارشی و تحریک دستگاه ایمنی می‌توانند مفید باشند (Fooks et al., 1999).

لاکتوباسیلوس پلانتاروم یک باکتری گرم مثبت میله‌ای، کاتالاز منفی، بدون تشکیل اسپور، اسید لاکتیکی، تخمیر کننده، فرصت طلب و بی هوازی اختیاری است که جهت افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی به صورت مکمل در جیره استفاده می‌شود (Talpur et al., 2013). همچنین منجر به افزایش ارتفاع پرزهای گوارشی در سطح روده شده که در نهایت موجب افزایش سطح جذب مواد غذایی و بهبود رشد می‌شود (Pirarat et al., 2011; Pourgholam et al., 2016).

مانان الیگوساکارید کربوهیدرات پیچیده‌ای است که از دیواره سلولی مخمر نانوائی<sup>۱</sup> ساکارومایسس سرویزه (*Saccharomyces cerevisiae*) جدا می‌شود و به عنوان پریبیوتیک مانع از اتصال و کلونیزه شدن باکتری‌های بیماری‌زا به دستگاه گوارش شده و آثار معکوس متابولیت‌های میکروفلور را کاهش می‌دهد و سبب تقویت سیستم ایمنی، افزایش بازده خوراک و

محافظت در برابر عوامل بیماری‌زا می‌شود (Torrecillas et al., 2014).

ماهی قزل آلا قهوه‌ای (*Salmo trutta caspius*) Kesler, 1877 یکی از گونه‌های بومی دریای خزر از خانواده آزاد ماهیان (*Salmonidae*) و یکی از ۹ زیر گونه *Salmo trutta* می‌باشد که در فصل تولید مثل (در اواخر پائیز و اوایل بهار) به رودخانه‌های حاشیه جنوبی-غربی دریای خزر مهاجرت می‌کند. در اثر مشکلاتی مانند آلودگی‌های زیست محیطی، صید بی‌رویه، تخریب زیستگاه از جمله احداث سد در رودخانه‌ها جمعیت این گونه به شدت کاهش یافته است. به رغم گزارش‌های Coad (۱۹۸۰) و Kiabi و همکاران (۱۹۹۹)، مبنی بر در معرض انقراض بودن این گونه، ولی هنوز در طبقه Least concern سازمان IUCN قرار دارد (Kiabi et al., 1999; Niksirat and Abdoli, 2009; Mohammadrezaei et al., 2012).

از مطالعات انجام گرفته در این زمینه می‌توان به بررسی تأثیر سطوح مختلف پروبیوتیک بر شاخص‌های خونی بچه ماهی آزاد دریایی خزر (حسینی و همکاران، ۱۳۹۳) و همچنین بر قزل آلا رنگین کمان (کامکار و همکاران، ۱۳۹۴) اشاره کرد. مطالعات نشان داده‌اند که تغذیه با باکتری اسید لاکتیکی سبب افزایش بازماندگی و رشد و مقاومت در لارو ماهیان دریایی، افزایش سرعت تکامل لارو ماهیان دریایی مانند کاد و دلک ماهی می‌شود (Gildberg et al., 2010; Avella et al., 1997). اما در خصوص استفاده از باکتری لاکتوباسیلوس پلانتاروم، Pourgholam و همکاران (۲۰۱۶) بیان داشتند که بچه تاس ماهی سیبری تغذیه شده با جیره حاوی لاکتوباسیلوس پلانتاروم نتایج مثبتی از نظر شاخص‌های رشد و ایمنی ذاتی نشان داده است. همچنین در بررسی دیگری، تأثیر استفاده از باکتری لاکتوباسیلوس پلانتاروم بر فلورباکتریایی روده ماهی قزل آلا رنگین کمان، عملکرد رشد و ترکیب لاشه را مثبت ارزیابی کردند (قلجایی فرد و همکاران، ۱۳۹۳). این در حالی است که استفاده از MOS در جیره غذایی ماهی شانک (*Sparus aurata*) تأثیر معنی‌داری بر فاکتورهای رشد نداشته است (Gelibolu et al., 2018). اما استفاده همزمان از مانان الیگوساکارید و پریبیوتیکی به نام پدیوکوکوس اسید لاکتیکی بر سی باس اروپایی (*Dicentrarchus labrax*) مشخص کرد که استفاده

<sup>1</sup>. Yeast bakery

کشت بر آگار انجام شد. افزودن پروبیوتیک به جیره به صورت تدریجی به ۱۰۰ گرم جیره آزمایشی ساخته شده در آزمایشگاه خوراک آبزیان دانشکده علوم دریایی نور اسپری گردید و با روغن آفتابگردان پوشانده شدند سپس غذا در دمای ۳۸ درجه سانتی‌گراد در زیر هود خشک گردید و تا زمان استفاده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (Gobi et al., 2018). این جیره برای ۱۵ روز از دوره تغذیه آماده سازی گردید.

### آماده سازی مخازن و پرورش ماهی

در ابتدا دوره تحقیق سازگاری بچه ماهی آزاد دریای خزر با وزن تقریبی ۱۰ گرم به مدت یک هفته در مخازن ۱۰۰۰ لیتری انجام گرفت، در این مدت از جیره شاهد برای تغذیه استفاده گردید. سپس بچه ماهیان سالم به صورت تصادفی در ۱۲ حوضچه فایبرگلاس با گنجایش ۱۰۰ لیتر با تراکم ۱۰ قطعه ماهی در هر حوضچه ذخیره سازی شد (برای هر تیمار ۳ تکرار در نظر گرفته شد) (Kenari et al., 2013). اندازه‌گیری پارامترهای کیفی آب همچون دمای آب (با دماسنج جیوه ای شرکت زمردآرما) به صورت روزانه، اکسیژن محلول (توسط اکسیژن متر Cyberscan شرکت Eutech سنگاپور) و pH (از طریق دستگاه pH متر Hanna ساخت آمریکا) به صورت هفتگی انجام گرفت. میانگین دما، اکسیژن و pH به ترتیب  $15 \pm 1$  درجه سانتی‌گراد،  $7.1 \pm 0.5$  میلی‌گرم در لیتر اندازه‌گیری شد.

### تهیه جیره‌های آزمایشی

بچه ماهیان با جیره‌های شامل (۱) جیره شاهد فاقد هرگونه ماده افزودنی، (۲) جیره حاوی  $10^8 \text{ cfu/g}^{-1}$  باکتری *L. plantarum*، (۳) جیره حاوی  $4 \text{ g/kg}^{-1}$  مانان الیگوساکارید، (۴) جیره حاوی ترکیبی از  $10^8 \text{ cfu/g}^{-1}$  باکتری *L. plantarum* و  $4 \text{ g/kg}^{-1}$  مانان الیگوساکارید، (جدول ۱)، تا حد سیری (مشاهده نحوه غذاگیری) در ۳ وعده در روز (ساعات ۹، ۱۴ و ۱۸) به مدت ۸ هفته تغذیه شدند.

مواد لازم جهت ساخت جیره از کارخانه خوراک دام و آبزیان مازندران (ساری - ایران) تهیه گردید. پس از آنالیز مواد اولیه، جیره‌های مورد نظر با استفاده از نرم افزار Lindo فرموله و ساخته شدند.

تلفیقی MOS و پروبیوتیک برای رشد و ایمنی این ماهی بسیار ارزشمند می‌باشد (Torrecillas et al., 2018). همچنین استفاده از جیره حاوی مانان الیگوساکارید و پروتکسین در میگو پاسفید غربی (*Litopenaeus vannamei*) سبب بهبود رشد و زنده‌مانی و کاهش ضریب تبدیل غذایی گردید (وشتانی و همکاران، ۱۳۹۵).

کاهش ذخائر این گونه به عنوان یکی از گونه‌های با ارزش تجاری منجر به تکثیر مصنوعی و رهاسازی بچه ماهی در دریای خزر به جهت باز سازی ذخائر این گونه شده است، این تولید و رهاسازی بچه ماهی امکان پرورش این گونه با ارزش را در سیستم پرورشی سردآبی کشور فراهم آورده است. ماهی آزاد دریای خزر می‌تواند به سیستم پرورشی کشور وارد شده و علاوه بر سودآوری بیشتر برای پرورش‌دهنده‌گان تنوع تولید و رونق هر چه بیشتر این صنعت را نیز به همراه داشته باشد که برای رسیدن به این هدف یکی از مراحل مقدماتی فراهم کردن جیره مناسب می‌باشد (بورانی و همکاران، ۲۰۱۵). مطالعات زیادی در خصوص بکارگیری محرک‌های ایمنی به صورت مجزا در خیلی از گونه‌های پرورشی آبزیان صورت گرفته، ولی تاکنون اثرات ترکیبی آنها بر شاخص‌های رشد و خون‌شناسی ماهی آزاد دریای خزر مورد بررسی قرار نگرفته است. لذا، در مطالعه حاضر، اثرات بکارگیری مجزا و تلفیقی پروبیوتیک مانان اولیگوساکارید و پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلانتاروم بر شاخص‌های رشد و پارامترهای خونی این گونه مورد بررسی قرار گرفته است.

### مواد و روش‌ها

#### کشت باکتری *Lactobacillus plantarum*

باکتری لاکتوباسیلوس پلانتاروم (PTCC:1058) از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران به صورت کپسول لیوفیلیزه تهیه شد. بعد از باز کردن کپسول حاوی باکتری لیوفیلیزه زیر هود در محیط استریل و در کنار شعله حرارت، باکتری به محیط کشت MRS broth استریل شده منتقل شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد داخل انکوباتور قرار گرفت و سپس جهت افزودن به جیره به میزان  $10^8 \text{ CFU/mg}$  آماده سازی و با غلظت مورد، تراکم سلول براساس  $600 \text{ OD}$  نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر JEVWAY 6305 محاسبه و با روش رقت سریالی و واحد شمارش (CFU) تهیه و

جدول ۱: درصد ترکیبات تشکیل دهنده جیره های آزمایشی

Table 1: Percentage of compounds in experimental diets

| مواد تشکیل دهنده جیره غذایی (%) | گروه شاهد                       | گروه مانان الیگوساکارید | گروه لاکتوباسیلوس پلانتاروم | گروه مانان + لاکتوباسیلوس + الیگوساکارید + لاکتوباسیلوس پلانتاروم |
|---------------------------------|---------------------------------|-------------------------|-----------------------------|-------------------------------------------------------------------|
| ۵۵                              | ۵۵                              | ۵۵                      | ۵۵                          | پودر ماهی (فانوس)                                                 |
| ۱۵                              | ۱۵                              | ۱۵                      | ۱۵                          | پودر سویا                                                         |
| ۱۱                              | ۱۱                              | ۱۱                      | ۱۱                          | آرد گندم                                                          |
| ۱                               | ۱                               | ۱                       | ۱                           | لستین                                                             |
| ۴/۵                             | ۴/۵                             | ۴/۵                     | ۴/۵                         | روغن ماهی                                                         |
| ۴/۵                             | ۴/۵                             | ۴/۵                     | ۴/۵                         | روغن سویا                                                         |
| ۱                               | ۱                               | ۱                       | ۱                           | نشاسته                                                            |
| ۳                               | ۳                               | ۳                       | ۳                           | مکمل معدنی                                                        |
| ۲                               | ۲                               | ۲                       | ۲                           | مکمل ویتامینی                                                     |
| ۰/۰۱                            | ۰/۰۱                            | ۰/۰۱                    | ۰/۰۱                        | آنتی اکسیدان                                                      |
| ۰/۲۵                            | ۰/۲۵                            | ۰/۲۵                    | ۰/۲۵                        | ضد قارچ                                                           |
| ۱/۳۴                            | ۱/۳۴                            | ۱/۳۴                    | ۱/۳۴                        | فیلر                                                              |
| ۱                               | ۱                               | ۱                       | ۱                           | کلسیم مونو فسفات                                                  |
| ۰/۴                             | ۰                               | ۰/۴                     | ۰                           | مانان الیگوساکارید                                                |
| $\text{cfu/g}^{-1} \times 10^4$ | $\text{cfu/g}^{-1} \times 10^4$ | ۰                       | ۰                           | لاکتوباسیلوس پلانتاروم                                            |
| ۱۰۰                             | ۱۰۰                             | ۱۰۰                     | ۱۰۰                         | مجموع                                                             |

\* اقلام غذایی از کارخانه خوراک دام و آبزیان مازندران (ساری - ایران) تهیه گردید.

\* هر کیلوگرم مکمل معدنی حاوی آهن (۶ گرم)، روی (۱۰ گرم)، سلنیم (۲۰ میلی گرم)، کبالت (۱۰۰ میلی گرم)، مس (۶۰۰ میلی گرم)، منگنز (۵ گرم)، ید (۴۰۰ میلی گرم)، کولین کلراید (۶۰ گرم) هر ۵ کیلوگرم مکمل ویتامینه ۰/۵ درصد حاوی ویتامین های  $E=150$  IU,  $D_3=200000$  IU,  $D_4=200000$  IU,  $A=80000$  IU,  $B_1=0.05$  g,  $B_2=80$  g,  $B_3=200$  g,  $B_5=150$  g,  $B_6=40$  g,  $B_7=50$  g,  $B_{12}=50$  g,  $K_3=50$  g,  $Enositol=500$  g,  $C=500$  g, مانان الیگوساکارید Altech USA

\* در جیره غذایی از ۰/۰۱ درصد آنتی اکسیدان بوتیل هیدروکسی تولوئن (BHT) استفاده گردید. \* برای فیلر از ۱/۳۴ درصد ماسه استفاده شد به طوری که ابتدا با اسید سیتریک ضد عفونی شده بعد با آب شسته شده و پس از خشک شدن در جیره استفاده گردید.

خشک شوند و تا زمان استفاده در فریزر ۲۰- درجه ی سانتی گراد نگهداری شدند (Kenari et al., 2013). به منظور اطمینان از مطابقت جیره پایه ساخته شده با فرمول مورد نظر، جیره ساخته شده مورد سنجش شیمیایی قرار گرفت (جدول ۲). در انتهای دوره آزمایش، فاکتورهای رشد و شاخص های خونی مورد بررسی قرار گرفت.

کلیه مراحل ساخت غذا در آزمایشگاه تغذیه دانشکده علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس (شهرستان نور- مازندران) انجام شد. اجزای جیره غذایی با الک ۰/۵ میلی متری غربال شدند. سپس کلیه مواد اولیه بر اساس فرمول های نوشته شده توزین شدند. برای ساخت جیره ها مواد خشک و روغن با هم مخلوط شدند سپس به مخلوط آب اضافه گردید. جهت افزودن مانان الیگوساکارید، این ماده ابتدا در آب حل شده و سپس به مخلوط مواد جیره افزوده گردید و هر جیره غذایی با استفاده از چرخ گوشت پلت شد. پس از این مرحله پلت ها در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد به مدت ۱۲ ساعت در خشک کن نگهداری گردیدند تا

جدول ۲: آنالیز تقریبی جیره پایه (درصد ماده خشک)

Table 2: Approximate analysis of the dry basal diets for Caspian brown trout, *Salmo trutta caspius*

| پروتئین خام | چربی خام | خاکستر | کربوهیدرات | رطوبت | انرژی کل* |
|-------------|----------|--------|------------|-------|-----------|
| ۴۸/۶        | ۱۴/۵۶    | ۱۵/۱   | ۲۱/۷۴      | ۴/۴۲  | ۲۰/۹۶     |

\* بر اساس ضریب ۲۳/۶، ۳۹/۵ و ۱۷/۲ (واحد کیلو ژول بر گرم) به ترتیب برای پروتئین، چربی کربوهیدرات محاسبه شد (Council 1993)

## اندازه‌گیری پارامترهای رشد

در آغاز و پایان دوره تمام بچه ماهیان پس از بیهوشی توسط پودر گل میخک ۵۰ ppm و مورد سنجش وزنی و طولی قرار گرفتند (Esmaeili et al., 2017). شاخص‌های رشد شامل افزایش وزن بدن (WG)، نرخ

رشد ویژه (SGR)، ضریب تبدیل غذایی (FCR)، شاخص رشد روزانه (DGI)، شاخص وضعیت (CF) و همچنین مصرف روزانه غذا (FI) و کارایی پروتئین (PER) توسط روش‌های معمول و روابط مربوطه تعیین شدند Portz et al., 2001; Fuchs et al., 2015; Peixoto et al., 2016).

رابطه ۱: (وزن اولیه به گرم - وزن نهایی به گرم) = (WG) افزایش وزن بدن (گرم)

رابطه ۲:  $100 \times (\text{طول}^3 / \text{وزن نهایی}) = (CF)$  شاخص وضعیت

رابطه ۳:  $100 \times \text{دوره پرورش} / [\ln(\text{وزن نهایی}) - \ln(\text{وزن اولیه})] = (SGR)$  نرخ رشد ویژه

رابطه ۴: وزن تر به دست آمده به گرم / مقدار غذای خشک داده شده به گرم = (FCR) ضریب تبدیل غذایی

رابطه ۵: پروتئین مصرفی به گرم / وزن تر تولید شده به گرم = (PER) کارایی پروتئین

رابطه ۶:  $100 \times (\text{تعداد روز پرورش} \times 2) / (\text{وزن اولیه} + \text{وزن نهایی}) = (FI)$  مصرف روزانه غذا (درصد در روز)

رابطه ۷:  $100 \times \text{دوره پرورش} / ((\text{وزن نهایی})^{1/3} - (\text{وزن اولیه})^{1/3}) =$  شاخص رشد روزانه (درصد در روز)

## اندازه‌گیری پارامترهای خونی

در پایان آزمایش از هر تکرار سه نمونه ماهی انتخاب، پس از بیهوشی در محلول گل میخک به میزان ۵۰ میلی گرم بر لیتر به وسیله سرنگ‌های هپارینه خونگیری از آنها انجام شد (Esmaeili et al., 2017). سپس پلاسماي خون با قرارگیری نمونه‌ها در سانتیفریوژ با دور ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه جدا و تا سنجش پارامترهای خونی ذیل در فریزر ۲۰ - درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. شاخص‌های خون شناسی براساس روش‌های استاندارد گزارش شده مورد ارزیابی قرار گرفتند (Houston, 1997). شمارش تعداد گلبول‌های قرمز (RBC) (میلیون / میلی‌لیتر مکعب) و گلبول سفید

(WBC) (هزار / میلی‌لیتر مکعب) انجام شد. درصد هماتوکریت (Hct) با استفاده از لوله‌های میکروهماتوکریت و میزان هموگلوبین (Hb) در خون با استفاده از روش سیان مت هموگلوبین (Cyan methemoglobin) با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر طول موج ۵۴۰ نانومتر سنجش شد و برای شمارش افتراقی گلبول‌های سفید، گسترش خونی تهیه گردید و سپس با رنگ گیمسا رنگ آمیزی شدند. حجم متوسط گلبول قرمز (MCV)، مقدار متوسط هموگلوبین گلبول قرمز (MCH) و غلظت متوسط هموگلوبین گلبول قرمز (MCHC) براساس فرمول‌های ذیل مورد محاسبه قرار گرفت (Houston, 1997).

$100 \times (\text{تعداد گلبول قرمز بر حسب میلیون در میلی متر مکعب خون}) / (\text{مقدار هماتوکریت}) = MCV (fl)$

$100 \times (\text{تعداد گلبول قرمز بر حسب میلیون در میلی متر مکعب خون}) / (\text{مقدار هموگلوبین}) = MCH (pg)$

$100 \times (\text{مقدار هموگلوبین}) / (\text{مقدار هماتوکریت}) = MCHC (\%)$

## تجزیه و تحلیل آماری

این پژوهش در قالب طرح کاملاً تصادفی ( Completely Randomized Design) انجام گرفت. ثبت داده ها پس از هر مرحله نمونه برداری بوسیله نرم افزار (Excel 2010) انجام شد. برای بررسی آماری داده ها ابتدا نرمال بودن داده ها توسط One Sample Kolmogorov-Smirnov Test ارزیابی شد و برای نرمال بودن داده ها جهت تجزیه و تحلیل داده ها از آنالیز واریانس یک طرفه ( One way ANOVA) استفاده گردید و اختلاف بین میانگین ها بوسیله تست دانکن بررسی شد. میزان سطح معنی دار بودن در این بررسی  $p < 0/05$  بود. تجزیه و تحلیل داده ها توسط نرم افزار SPSS (version 22) انجام شد.

## نتایج

در جدول ۳ نتایج مربوط به شاخص های رشد و تغذیه ای تیمارهای آزمایشی ارائه شده است. بر اساس نتایج بدست آمده از لحاظ میزان افزایش وزن بدن، شاخص رشد روزانه، ضریب رشد ویژه، کارایی پروتئین، مصرف روزانه غذا و ضریب تبدیل غذایی در بین تیمارها تفاوت معنی داری مشاهده شد ( $p < 0/05$ ) بطوریکه بیشترین مقدار افزایش وزن بدن، کارایی پروتئین، شاخص رشد روزانه و ضریب رشد ویژه مربوط به تیمارهای MOS و ML و کمترین این مقادیر مربوط به تیمار شاهد بود. بیشترین میزان ضریب تبدیل غذایی و مصرف روزانه غذا در تیمار شاهد و کمترین مقدار در تیمارهای MOS و ML مشاهده گردید و تفاوت معنی داری با سایر تیمارها نشان داد ( $p < 0/05$ ). مقدار شاخص فاکتور وضعیت در بین تیمارها اختلاف معنی داری نشان نداد ( $p > 0/05$ ).

جدول ۳: نتایج شاخص های رشد و تغذیه ای ماهی آزاد دریای خزر با میانگین وزن  $10 \pm 0/2$  گرم تحت تأثیر افزودنی غذایی مانان الیگوساکارید و باکتری لاکتوباسیلوس پلانتاروم به مدت ۸ هفته.

Table 3: Growth performance and nutrient utilization in Caspian trout (*Salmo trutta caspius*; initial weight of  $10 \pm 0.2$  g) fed the experimental diets supplemented with Manan oligosaccharide, *L. plantarum* over 8 weeks.

| تیمارهای آزمایشی | مصرف غذا (درصد در روز) | شاخص رشد روزانه (درصد در روز) | فاکتور وضعیت       | ضریب تبدیل غذایی   | ضریب رشد ویژه       | افزایش وزن بدن (گرم) | کارایی پروتئین    |
|------------------|------------------------|-------------------------------|--------------------|--------------------|---------------------|----------------------|-------------------|
| bMLp             | $1/47 \pm 0/037^b$     | $1/29 \pm 0/087^a$            | $1/09 \pm 0/04^a$  | $1/03 \pm 0/052^b$ | $1/52 \pm 0/13^a$   | $15/3 \pm 0/65^a$    | $2/01 \pm 0/09^a$ |
| bLp              | $1/6 \pm 0/071^b$      | $1/11 \pm 0/067^{ab}$         | $1/13 \pm 0/12^a$  | $1/25 \pm 0/074^b$ | $1/34 \pm 0/1^{ab}$ | $12/73 \pm 0/8^b$    | $1/65 \pm 0/09^b$ |
| bM               | $1/47 \pm 0/084^b$     | $1/29 \pm 0/14^a$             | $1/15 \pm 0/065^a$ | $1/03 \pm 0/09^b$  | $1/53 \pm 0/3^a$    | $15/4 \pm 1/44^a$    | $2/02 \pm 0/18^a$ |
| Control          | $1/75 \pm 0/093^a$     | $0/91 \pm 0/16^b$             | $1/03 \pm 0/03^a$  | $1/65 \pm 0/33^a$  | $1/12 \pm 0/3^b$    | $9/86 \pm 1/92^c$    | $1/28 \pm 0/24^c$ |

نتایج به صورت  $ME \pm SD$  بیان شده اند. حروف متفاوت در هر ردیف نشان دهنده ی تفاوت معنی دار بین میانگین ها است ( $p < 0/05$ )  
bL.p: جیره پایه + لاکتوباسیلوس پلانتاروم، bM-: جیره پایه + مانان الیگوساکارید، bMLp: جیره پایه + مانان الیگوساکارید + لاکتوباسیلوس پلانتاروم

## شاخص های خونی

در جدول ۴ نتایج مربوط به شاخص های خونی تیمارهای آزمایشی ارائه شده است. بر اساس نتایج بدست آمده تفاوت معنی داری در تعداد گلبول های قرمز (RBC) تیمارهای آزمایشی مشاهده گردید ( $p < 0/05$ ) بطوریکه بیشترین تعداد مربوط به تیمار Lp و کمترین مقدار در تیمار شاهد مشاهده شد درحالی که نتایج شاخص WBC

تفاوت معنی داری را بین تیمارها نشان نداد ( $p > 0/05$ ). همچنین شاخص های مونوسیت، لنفوسیت، درصد هماتوکریت، هموگلوبین، غلظت متوسط هموگلوبین، غلظت هموگلوبین، حجم گلبول های قرمز و میزان نوتروفیل هم تفاوت معنی داری بین تیمارها نشان ندادند ( $p > 0/05$ ).

جدول ۴: اثرات مجزا و تلفیقی باکتری لاکتوباسیلوس پلانتاروم و مانان الیگوساکارید بر روی شاخص‌های خونی در بچه ماهی آزاد دریای خزر طی ۸ هفته تغذیه

Table 4: Hematological parameters in Caspian trout ; initial weight of  $10 \pm 0.2$  g) fed the experimental diets supplemented with Manan oligosaccharide, *L. plantarum* over 8 weeks

| تیمارهای تغذیه‌ای                 |                     |                     |                    |                     |
|-----------------------------------|---------------------|---------------------|--------------------|---------------------|
| پارامترها                         | bM                  | bLP                 | bMLp               | شاهد                |
| WBC ( $\mu\text{l} \times 10^3$ ) | $8/4 \pm 1/1^a$     | $8/2 \pm 0/3^a$     | $7/1 \pm 0/6^a$    | $6/7 \pm 1/7^a$     |
| RBC ( $\mu\text{l} \times 10^6$ ) | $0/8 \pm 0/00^b$    | $0/9 \pm 0/03^a$    | $0/8 \pm 0/02^b$   | $0/7 \pm 0/03^c$    |
| HB (g/dL)                         | $7/36 \pm 0/28^a$   | $8/03 \pm 0/15^a$   | $7/4 \pm 0/3^a$    | $7/366 \pm 1^a$     |
| HCT (%)                           | $40/33 \pm 2/31^a$  | $44/33 \pm 1/52^a$  | $41/33 \pm 2/51^a$ | $40/33 \pm 5/85^a$  |
| MCV ( $\text{nm}^3$ )             | $472/33 \pm 3/51^a$ | $480/33 \pm 1/52^a$ | $479 \pm 4^a$      | $478/33 \pm 7/09^a$ |
| MCH (pg/cell)                     | $86/33 \pm 1/52^a$  | $87 \pm 1^a$        | $84/66 \pm 1/15^a$ | $87 \pm 1/73^a$     |
| MCHC (g/dL)                       | $18/3 \pm 0/34^a$   | $18/1 \pm 0/3^a$    | $17/83 \pm 0/35^a$ | $18/26 \pm 0/15^a$  |
| Neutrophils (%)                   | $20 \pm 2^a$        | $19/33 \pm 1/52^a$  | $19/5 \pm 2/5^a$   | $18 \pm 3/46^a$     |
| Lymphocytes (%)                   | $76 \pm 3^a$        | $75/33 \pm 0/57^a$  | $76/33 \pm 3/78^a$ | $76 \pm 5/19^a$     |
| Monocytes (%)                     | $4 \pm 1^a$         | $4/66 \pm 0/57^a$   | $4/33 \pm 0/57^a$  | $4/33 \pm 1/52^a$   |

نتایج به صورت  $ME \pm SD$  بیان شده اند. حروف متفاوت در هر ردیف نشان دهنده ی تفاوت معنی دار بین میانگین ها است ( $p < 0.05$ )

bL.p: جیره پایه+ لاکتوباسیلوس پلانتاروم، bM-: جیره پایه+ مانان الیگوساکارید، bMLp: جیره پایه+ مانان الیگوساکارید + لاکتوباسیلوس پلانتاروم

## بحث

مطالعه حاضر اولین بررسی با هدف بهبود شاخص‌های رشد و پارامترهای خونی در بچه ماهی آزاد دریای خزر در زمینه تلفیق دو مکمل مانان الیگوساکارید (MOS) و باکتری لاکتوباسیلوس پلانتاروم (*L. plantarum*) در جیره غذایی می‌باشد. در این تحقیق جیره حاوی ۴ گرم مانان الیگوساکارید MOS به صورت مجزا و جیره تلفیقی پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلانتاروم و مانان الیگوساکارید در ماهی آزاد دریای خزر موجب افزایش وزن بدن و ضریب رشد ویژه شد که این افزایش در گروه با جیره تلفیقی از ۴ گرم مانان الیگوساکارید و  $8 \times 10^8 \text{ CFU/g}^{-1}$  پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلانتاروم به ازاء هر کیلوگرم از غذا با سایر تیمارها معنی دار بود بطوریکه جیره MOS با اختلاف بسیار کمی نسبت به جیره تلفیقی MOS و پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلانتاروم بالاترین میزان فاکتورهای رشد را نشان داد. تاکنون گزارشی مبنی بر استفاده ترکیبی از دو ماده مانان الیگوساکارید و باکتری لاکتوباسیلوس پلانتاروم در ماهی آزاد دریای خزر انجام نشده است. اما بررسی های قبلی صورت گرفته بر عملکرد مانان الیگوساکارید به صورت مجزا نشان دادند که اثرات

MOS در گونه‌های مختلف آبی بسیار متفاوت است بطوریکه در برخی گونه‌ها سبب بهبود شاخص‌های رشد گردید و در برخی تاثیری نگذاشتند. مطالعاتی که استفاده از MOS سبب بهبود عملکرد رشد شده است را می‌توان به مطالعات انجام شده بر بچه ماهی سفید (*Rutilus kutum*) (Akrami, 2013)، لارو ماهی قزل آلا ی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) (Staykov et al., 2007) و میگو جوان پا سفید غربی (وشتانی، ۱۳۹۵) اشاره کرد. اما در برخی مطالعات مثل ماهی آزاد اقیانوس اطلس (Gridale-Helland et al., 2008) و بچه ماهی کپور معمولی (Moghaddam et al., 2015) مشخص شد که استفاده از MOS تاثیری در بهبود شاخص‌های رشد ندارد. اخیراً بهبود فاکتورهای رشد توسط باکتری لاکتوباسیلوس پلانتاروم در انواع گونه‌های ماهیان و میگو گزارش شده است (Moghaddam et al., 2015). طبق نتایج Pourgholam و همکاران (۲۰۱۶) استفاده از  $10^8 \text{ CFU g}^{-1}$  لاکتوباسیلوس پلانتاروم در جیره تاس ماهی سیبری منجر به بهبود رشد، طول، وزن نهایی، افزایش وزن، کاهش ضریب تبدیل غذایی گردید که با نتایج این مطالعه شامل کاهش ضریب تبدیل غذایی و

حسینی و همکاران (۱۳۹۳) مشابه بود، اما تفاوت معنی‌داری نشان نداد.

در این مطالعه نیز افزودن لاکتوباسیلوس پلانتاروم و مانان الیگوساکارید نتوانست منجر به بهبود فاکتورهای خونی در ماهی آزاد دریای خزر گردد. بر اساس نتایج قبلی بر گربه ماهی کانالی تغذیه شده با ۰/۲ درصد MOS (Welker *et al.*, 2011) و فیل ماهی تغذیه شده با ۰/۴ درصد MOS (Razeghi Mansour *et al.*, 2012)، نشان داده شد که استفاده از ترکیبات مانان الیگوساکارید تأثیر معنی‌داری بر فاکتورهای MCH، Hb، WBC، RBC، MCV و Htc نداشته است که با نتایج این مطالعه همسو می‌باشد. اما در مطالعه‌ای دیگر استفاده توأم پروبیوتیک و MOS سبب افزایش شاخص‌های ایمنی و رشد ماهی قزل‌آلای رنگین کمان را افزایش گردید (جنایی و همکاران، ۱۳۹۰). حمیدیان و همکاران (۱۳۹۲) نیز بیان داشتند که استفاده از سطوح مختلف باکتری پدیوکوکوس اسیدی لاکتیکی تأثیری بر پارامترهای خونی ندارد، اما افزایش مقدار باکتری منجر به افزایش گلبول‌های قرمز و سفید می‌گردد که افزایش گلبول‌های قرمز مشابه نتیجه حاصل در این بررسی می‌باشد.

بر اساس نتایج حاصله در این تحقیق، پروبیوتیک مانان الیگوساکارید و باکتری لاکتوباسیلوس پلانتاروم در جیره می‌توانند به طور معنی‌داری شاخص‌های رشد و تغذیه را در بچه ماهی آزاد دریای خزر طی ۸ هفته بهبود بخشند. در این بررسی با توجه به اینکه MOS و باکتری لاکتوباسیلوس پلانتاروم تأثیر مثبتی بر شاخص‌های رشد از خود نشان داده است، تایید می‌کند که استفاده از پروبیوتیک مانان الیگوساکارید به مقدار ۴ گرم و باکتری لاکتوباسیلوس پلانتاروم به مقدار  $10^8$  CFU/g در هر کیلوگرم جیره می‌تواند سبب بهبود رشد شود که برای صنعت آبی پروری و بخصوص با ورود این گونه مهم اقتصادی به سیستم پرورشی مفید و تأثیر گذار باشد.

### تشکر و قدردانی

از دانشگاه تربیت مدرس نور و مرکز تحقیقات ماهیان سردآبی تنکابن به دلیل حمایت‌های مالی و فنی تشکر و قدردانی می‌شود و همچنین از کارشناسان و مسئولان

افزایش وزن بدن، موافق می‌باشد (Pourgholam *et al.*, 2016). با بررسی نتایج مختلف مشخص می‌شود که افزایش رشد تحت تأثیر محرک‌های ایمنی بستگی زیادی به میزان استفاده، نحوه تجویز، طول دوره تغذیه، دمای محیط و گونه دارد. احتمالاً باکتری لاکتوباسیلوس پلانتاروم و مانان الیگوساکارید MOS منجر به افزایش ارتفاع پرزها در سطح روده شده است که موجب افزایش سطح تماس و جذب مواد غذایی و بهبود عملکرد دستگاه گوارش بچه ماهیان می‌شود (Pirarat *et al.*, 2011; Pourgholam *et al.*, 2016).

اطلاع از مقادیر طبیعی پارامترهای خونی و بررسی چگونگی تغییرات آنها در بیماری‌های مختلف همواره از ابزارهای مهم تشخیصی در بسیاری از بیماری‌های آبزیان می‌باشد. این فاکتورها تحت تأثیر عواملی همچون گونه پرورشی، اندازه، سن، وضعیت فیزیولوژیک، شرایط محیطی و رژیم غذایی می‌باشد (Brunt and Austin, 2005). در مطالعه حاضر، شاخص‌های مونوسیت، لنفوسیت، درصد هماتوکریت، هموگلوبین، غلظت متوسط هموگلوبین، غلظت هموگلوبین، حجم گلبول‌های قرمز و میزان نوتروفیل تفاوت معنی‌داری در بین تیمارها نشان ندادند. بر اساس مطالعه حسینی و همکاران (۱۳۹۳) فاکتورهای خونی ماهی آزاد دریای خزر، نتایج نشان داد که افزودن پروبیوتیک پدیوکوکوس اسیدی لاکتیکی به جیره ماهی آزاد دریای خزر از نظر میزان هماتوکریت، MCHC و MCH تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری ایجاد نکرد که این نتایج مشابه نتایج حاصله در این بررسی نیز می‌باشد. در مطالعه حاضر، میزان گلبول قرمز ماهیان تغذیه شده با پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلانتاروم، در مقایسه با گروه شاهد به طور معنی‌داری افزایش یافت که با نتایج مطالعه حسینی و همکاران (۱۳۹۳) همسو می‌باشد. احتمالاً افزایش تعداد گلبول‌های قرمز در مطالعه حاضر را می‌توان نشان از بهبود فعالیت خونسازی و وضعیت سلامت ماهی دانست که منجر به کاهش تخریب گلبول قرمز گردیده است. به لحاظ میزان گلبول‌های سفید، تیمارهایی که با پروبیوتیک تغذیه شدند، به دلیل تحریک شدن سیستم ایمنی، تعداد گلبول‌های سفید نسبت به گروه شاهد افزایش یافت که این افزایش می‌تواند موجب افزایش فاگوسیتوز گردد که با نتیجه تحقیق

دنبال عفونت تجربی با *Streptococcus iniae* توسعه آبی پروری، ۶(۱): ۹۱-۱۰۲.

وشتانی، س. عابدیان کناری، ع. اکرمی، ر. و جیران، آ.، ۱۳۹۳. اثر جیره های حاوی سین بیوتیک (ترکیب پرو بیوتیک پروتکسین و پری بیوتیک مانان الیگوساکارید) بر عملکرد رشد، بقاء و ترکیب لاشه میگوی جوان پا سفید غربی (*Litopenaeus vannamei*). توسعه آبی پروری (علوم زیستی). ۸: ۸۵-۹۳.

Akrami, R., Chitsaz, H., Dashtian, S. and Razeghi, Mansour, M., 2013. Single or combined effects of inulin and mannan oligosaccharide supplements on the growth performance, survival, body composition and salinity resistance of Kutum (*Rutilus kutum*) fry. *Fisheries Science and Technology*, 2(3):17-29. Doi: <http://journals.modares.ac.ir/article-6-7231-en.html>

Al-Dohail, M.A., Hashim, R. and Aliyu-Paiko, M., 2009. Effects of the probiotic, *Lactobacillus acidophilus*, on the growth performance, haematology parameters and immunoglobulin concentration in African Catfish (*Clarias gariepinus*, Burchell 1822) fingerling. *Aquaculture Research*, 40(14):1642-52. Doi:10.1111/j.1365-2109.2009.02265.x

Avella, M.A., Olivotto, I., Silvi, S., Place, A.R. and Carnevali, O., 2010. Effect of dietary probiotics on clownfish: a molecular approach to define how lactic acid bacteria modulate development in a marine fish. *American Journal of Physiology-Regulatory*, 298(2):R359-71. Doi:10.1152/ajpregu.00300.2009.

آزمایشگاه دانشکده علوم دریایی و سرکار خانم آزاده صالح دوست برای همکاری هایشان تشکر می گردد.

## منابع

بورانی، ص.، خارا، ح. و فخارزاده، س.م.ا.، ۲۰۱۵. بررسی تأثیر سطوح مختلف ویتامین C و ویتامین E در جیره بر پارامترهای رشد و سیستم ایمنی ماهی آزاد دریای خزر. مجله علمی شیلات ایران، ۲۳: ۹۵-۸۵.

جنایی، ر.، مشکینی، س.، توکمه چی، ا. و جلیلی، ر.، ۱۳۹۰. افزایش رشد ماهی قزل آلا رنگین کمان با استفاده از پروبیوتیک باسیلوس اسیدی لاکتیزی و پری بیوتیک مانان. همایش ملی آبی پروری ایران، ۵۸-۶۴. Doi: 10.22059/jvr.2013.35961

حسینی، ع.، اورجی، ح.، یگانه، س. و شهابی، ع.، ۱۳۹۳. تأثیر پروبیوتیک پدیوکوکوس اسیدی لاکتیک روی رشد، فاکتورهای خونی و سرمی در ماهی آزاد دریای خزر. مجله علمی شیلات ایران، ۲۳(۲): ۴۵-۳۵. DOI: 10.22092/ISFJ.2014.103691

حمیدیان، ن.، ۱۳۹۲. ارزیابی اثر، *Pediococcus acidilactici* بر شاخصهای رشد و پارامترهای خونی فیل ماهی (*Huso huso*) همایش ملی علوم جانوران آبی. ۲۴۵-۲۳۱.

ستاری، م.، ۱۳۸۱. کتاب ماهی شناسی (۱) (تشریح و فیزیولوژی). انتشارات نقش مهر دانشگاه گیلان. صفحات ۱۷۶-۱۰۵.

قلجایی فرد، ا.، خارا، ح. و شناور ماسوله، ع.، ۱۳۹۳. اثر باکتری *Lactobacillus plantarum* جداسازی شده از روده قزل آلا رنگین کمان استان گیلان بر فاکتورهای رشد، فلور باکتریایی روده و ترکیب شیمیایی لاشه بچه ماهی قزل آلا رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*). فصلنامه علمی پژوهشی دانشگاه تربیت مدرس. صفحات ۱۲۴-۱۱۱.

کامکار، م.، قانع، م.، پورغلام، ر. و قیاسی، م.، ۱۳۹۴. تأثیر *Bacillus subtilis* به عنوان پروبیوتیک بر فاکتورهای هماتولوژی و بیوشیمیایی خون ماهی قزل آلا رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) به

- Brunt, J. and Austin, B., 2005.** Use of a probiotic to control lactococcosis and streptococcosis in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Journal of Fish Diseases*, 92: 222-710. Doi:10.1111/j. 1365-2761.2005.00672.x.
- Coad, B.W., 1980.** Environmental change and its impact on the freshwater fishes of Iran. *Biological Conservation*, 19(1): 51-80. Doi:10.1016/ 0006-3207(80)90015-4.
- Esmaili, M., Kenari, A.A. and Rombenso, A., 2017.** Immunohematological status under acute ammonia stress of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) fed garlic (*Allium sativum*) powder-supplemented meat and bone meal-based feeds. *Comparative Clinical Pathology*, 26(4): 853-866. Doi: 10.1007/s00580-017-2457-8.
- Fooks, L.J., Fuller, R. and Gibson, G.R., 1999.** Prebiotics, probiotics and human gut microbiology. *International Dairy Journal*, 9(1): 53-61. Doi:10.1016/S0958-6946(99)00044-8.
- Fuchs, V.I., Schmidt, J., Slater, M.J., Zentek, J., Buck, B.H., Steinhagen, D., 2015.** The effect of supplementation with polysaccharides, nucleotides, acidifiers and *Bacillus* strains in fish meal and soy bean based diets on growth performance in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*). *Aquaculture*, 437: 243-251. Doi:10.1016/j. aquaculture. 2014. 12.007.
- Fuller, R., 1989.** Probiotics in man and animals. A review. *Journal of Applied Bacteriology*, 66: 365-378.
- Gelibolu, S., Yanar, Y. and Genc Ma Genc, E., 2018.** The effect of mannan-oligosaccharide (MOS) as a feed supplement on growth and some blood parameters of Gilthead Sea Bream (*Sparus aurata*). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 18(6): 817-23. Doi: 10.4194/1303-2712-v18\_6\_08
- Gildberg, A., Mikkelsen, H., Sandaker, E. and Ringo, E., 1997.** Probiotic effect of lactic acid bacteria in the feed on growth and survival of fry of Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Hydrobiologia*, 352, 279-285. Doi: 10.1023/A:1003052111938.
- Gobi, N., Vaseeharan, B., Chen, J.C., Rekha, R., Vijayakumar, S. and Anjugam, M., 2018.** Dietary supplementation of probiotic *Bacillus licheniformis* Dahb1 improves growth performance, mucus and serum immune parameters, antioxidant enzyme activity as well as resistance against *Aeromonas hydrophila* in tilapia *Oreochromis mossambicus*. *Fish and Shellfish Immunology*, 74: 501-8. Doi:org/10.1016/j.fsi.2017.12.066
- Grisdale-Helland, B., Helland, S.J. and Gatlin Iii, D.M., 2008.** The effects of dietary supplementation with mannan oligosaccharide, fructo oligosaccharide or galacto oligosaccharide on the growth and feed utilization of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture*, 283: 163-167. Doi:10.1016/j.aquaculture.2008.07.012.
- Houston, H., 1997.** Review: are the classical hematological variables acceptable indicators for fish health? *Transactions of the American Fisheries Society*, 126(6): 879- 894. Doi:10.1577/1548-8659(1997)126<0879:Ratchv>2.3.CO;2.
- Irianto, A. and Austin, B., 2002.** Probiotics in aquaculture. *Journal of Fish Diseases*,

- 25(11): 633-642. Doi:10.1046/j.1365-2761.2002.00422.x.
- Kenari, A.A., Mahmoudi, N., Soltani, M. and Abediankenari, S., 2013.** Dietary nucleotide supplements influence the growth, haemato-immunological parameters and stress responses in endangered Caspian brown trout (*Salmo trutta caspius* Kessler, 1877). *Aquaculture Nutrition*, 19(1): 54-63.
- Kiabi, B.K., Abdoli, A. and Naderi, M., 1999.** Status of the fish fauna in the South Caspian Basin of Iran. *Zoology in the Middle East*, 18(1): 57. Doi:10.1080/09397140.1999.10637782
- Mohammadrezaei, D., Majazi Amiri, B. and Farhangi, M., 2012.** Changes of hormones (t3, t4 and cortisol) and ions (na<sup>+</sup>, cl<sup>-</sup>, k<sup>+</sup>) during smoltification in *salmo trutta caspius* (Kessler, 1877). *Iranian Scientific Fisheries Journal*, 21: 119-128.
- Momeni-Moghaddam, P., Keyvanshokoo, S., Ziaei-Nejad, S., Salati, A.P. and Zanoosi, H.P., 2015.** Effects of mannan oligosaccharide supplementation on growth, some immune responses and gut lactic acid bacteria of common carp (*Cyprinus carpio*) fingerlings. *Veterinary Research Forum*, 6(3): 239-244.
- Niksirat, H. and Abdoli, A., 2009.** On the status of the critically endangered Caspian brown trout, *Salmo trutta caspius*, during recent decades in the southern Caspian Sea basin (Osteichthyes: Salmonidae). *Zoology in the Middle East*, 46(1): 55-60. Doi.org/10.1080/09397140.2009.10638328.
- Peixoto, M.J., Salas-Leitón, E., Pereira, L.F., Queiroz, A., Magalhães, F., Pereira, R. and de Almeida, Ozório, R.O., 2016.** Role of dietary seaweed supplementation on growth performance, digestive capacity and immune and stress responsiveness in European seabass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture Reports*, 3: 189-197. Doi: org/10.1016/j.aqrep.2016.03.005
- Pirarat, N., Pinpimai, K., Endo, M., Katagiri, T., Ponpornpisit, A., Chansue, N. and Maita, M., 2011.** Modulation of intestinal morphology and immunity in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) by *Lactobacillus rhamnosus* GG. *Research in Veterinary Science*, 91(3): 92-97. Doi: 10.1016/j.rvsc. 2011.02.014.
- Portz, L., Cyrino, J.E.P. and Martino, R.C., 2001.** Growth and body composition of juvenile largemouth bass *Micropterus salmoides* in response to dietary protein and energy levels. *Aquaculture Nutrition*, 7(4): 247-254. Doi:10.1046/j.1365-2095.2001.00182.x.
- Pourgholam, M.A., Khara, H., Safari, R., Sadati M.A. and Aramli M.S., 2016.** Dietary administration of *Lactobacillus plantarum* enhanced growth performance and innate immune response of Siberian sturgeon, *Acipenser baerii*. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 8(1): 1. Doi:10.1007/s12602-015-9205-77.
- Razeghi Mansour, M.R., Akrami, R., Ghobadi, S.H., Amani Denji, K., Ezatrahimi, N. and Gharaei, A., 2012.** Effect of dietary mannan oligosaccharide (MOS) on growth performance, survival, body composition, and some hematological parameters in giant sturgeon juvenile (*Huso huso* Linnaeus, 1754). *Fish Physiology*

- Biochem*, 38: 829e35. Doi:10.1007/s10695-011-9570-4.
- Staykov, Y., Spring, P., Denev, S. and Sweetman, J., 2007.** Effect of a *Mannan oligosaccharide* on the growth performance and immune status of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture International*, 15(2): 153-61. Doi: 10.1007/s10499-007-9096-z
- Talpur, A.D., Ikhwanuddin, M., Abdullah, M.D.D. and Bolong, A.M.A., 2013.** Indigenous *Lactobacillus plantarum* as probiotic for larviculture of blue swimming crab, *Portunus pelagicus* (Linnaeus, 1758): effects on survival, digestive enzyme activities and water quality. *Aquaculture*, 416: 173-8. Doi:org/10.1016/j.aquaculture.2013.09.018
- Torrecillas, S., Montero, D. and Izquierdo, M., 2014.** Improved health and growth of fish fed mannan oligosaccharides: potential mode of action. *Fish and Shellfish Immunology*, 36(2): 525-44. Doi:org/10.1016/j.fsi.2013.12.029
- Torrecillas, S., Rivero-Ramírez, F., Izquierdo, M., Caballero, M.J., Makol, A., Suarez-Bregua, P., Fernandez-Montero, A., Rotllant, J. and Montero, D., 2018.** Feeding European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles with a functional synbiotic additive (*Mannan oligosaccharides* and *Pediococcus acidilactici*): An effective tool to reduce low fishmeal and fish oil gut health effects. *Fish and Shellfish Immunology*, 81: 10-20. Doi:org/10.1016/j.fsi.2018.07.007
- Welker, T.I., Lim, C., Yildirim-Aksoy, M. and Klesius, P.H., 2011.** Effect of short-term feeding duration of diets containing commercial whole-cell yeast or yeast subcomponents on immune function and disease resistance in channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 96: 159e71. Doi:org/10.1111/j.1439-0396.2011.01127.x.

**Singular and combined effects of dietary mannan oligosaccharide and *Lactobacillus plantarum* on some growth indices and hematological parameters of Caspian trout, *Salmo trutta caspius* (Kessler, 1877)**

Jami M.J.<sup>1</sup>; Abedian Kenari A.<sup>1\*</sup>; Paknejad H.<sup>2</sup>; Mohseni M.<sup>3</sup>

aabedian@modares.ac.ir

1-Department of Aquaculture, Faculty of Natural Resources and Marine Sciences, Tarbiat Modares, University, Mazandaran, Noor, Iran.

2-Department of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.

3- Cold water Fishes Research Center (NACA), Iranian Fisheries Science Research Institute (IFSRI), Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Tonekabon, Iran.

**Abstract**

The present study was conducted to examine singular and combined effects of mannan oligosaccharide (MOS) and *L. plantarum* supplements on growth indices and hematological parameters of Caspian trout (*Salmo trutta caspius* Kessler, 1877). Caspian trout fingerlings (~ 10 g) were fed with a control diet (basal diet) or supplemented diets as follows: 1) the basal diet + 4g kg<sup>-1</sup> IMOS, 2) the basal diet + 8×10<sup>8</sup> CFU/g<sup>-1</sup> *L. plantarum* and 3) a synbiotic diets (the basal diet + 8×10<sup>8</sup> CFU/g<sup>-1</sup> *L. plantarum* + 4g kg<sup>-1</sup>IMOS) for 8 weeks. At the end of this trial, the results of the MOS supplemented and synbiotic diet showed significant increase in feed conversion ratio (FCR), weight gain (WG), feed intake (FI), protein efficiency ratio (PER), specific growth ratio (SGR) and daily growth index (DGI) compared with fish fed the control diet ( $p < 0.05$ ). The highest FCR and FI were observed in the control group. In the case of condition factor, the singular and combined diets showed no significant differences ( $p > 0.05$ ). The results of blood indices among all treatments revealed significant differences of the number of red blood cells (RBC) compared to the control group ( $p < 0.05$ ). The highest and lowest number of RBC was found in *L. plantarum* diet and control group, respectively. The number of white blood cells (WBC) showed no significant differences with control group ( $p > 0.05$ ). The results demonstrated that the MOS-supplemented diet and the combined diets containing MOS and *L. plantarum* improved the growth performance in Caspian trout fingerlings.

**Keywords:** Manan oligosaccharide, *L. plantarum*, Feed conversion ratio, Protein efficiency rate, Caspian trout

\*Corresponding author