

اثرات مجزا و تلفیقی مانان الیگوساکارید (Mannan oligosaccharide) و باکتری لاكتوباسیلوس پلاتارتوم (Lactobacillus plantarum) جیره بر برخی شاخص‌های رشد و فاکتورهای خونی بچه ماهی آزاد دریایی خزر (Salmo trutta caspius)

محمد جواد جامی^۱، عبدالحمد عابدیان کناری^{*}^۱، حامد پاکنژاد^۲، محمود محسنی^۳

^{*}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، تکابن، ایران

تاریخ پذیرش: شهریور ۱۳۹۸

تاریخ دریافت: اردیبهشت ۱۳۹۸

چکیده

در مطالعه حاضر، اثرات مجزا و تلفیقی مانان الیگوساکارید^۱ (MOS) و باکتری لاكتوباسیلوس پلاتارتوم (*Lactobacillus plantarum*) بر برخی شاخص‌های رشد و فاکتورهای خونی بچه ماهی آزاد دریایی خزر مورد بررسی قرار گرفت. ماهیان با وزن اولیه 10 ± 0.6 گرم توسط جیره‌های شامل (۱) جیره شاهد هر گونه ماده افروندنی، (۲) جیره حاوی 8×10^8 cfu/g باکتری *L. plantarum* (۳) جیره حاوی 4 g/kg مانان الیگوساکارید، (۴) جیره حاوی ترکیبی از 8×10^8 cfu/g *L. plantarum* و 1 g/kg مانان الیگوساکارید، به مدت ۸ هفته تغذیه شدند. در پایان دوره و انجام نمونه برداری، نتایج نشان داد که تیمارهای حاوی 1 g/kg مانان الیگوساکارید به صورت مجزا و جیره تلفیقی شامل مانان الیگوساکارید و باکتری *L. plantarum* از لحاظ شاخص‌های افزایش وزن بدن، ضریب رشد و پریزه، 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 گلbulهای 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 گلbul 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 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 دریایی خزر می‌گردد.

کلمات کلیدی: مانان الیگوساکارید، لاكتوباسیلوس پلاتارتوم، ضریب تبدیل غذایی، کارایی پروتئین، ماهی آزاد دریایی خزر

*نویسنده مسئول

¹ Mannan oligosaccharide

مقدمه

با گسترش صنعت آبزیپروری، لزوم استفاده از آنتی بیوتیک‌ها، واکسن‌ها و مواد شیمیایی مطرح گردید. اما از آنجایی که استفاده از آنتی بیوتیک‌ها در صنعت آبزی پروری سبب بالا رفتن هزینه‌های پرورش، انتشار آنها به محیط زیست و تجمع در بافت آبزی می‌گردد (Al-Dohail *et al.*, 2009) (بیماریها، استفاده از پروبیوتیک‌ها و پربریوتیک‌ها به عنوان جایگزینی برای داروها و آنتی بیوتیک‌ها مطرح گردید). مزیت استفاده از پروبیوتیک در آبزیپروری شامل بهبود کیفیت آب، افزایش میکرو فلور مفید دستگاه گوارش و بهبود جذب غذا از طریق تولید آنزیمه‌های خارج سلولی و ویتامین‌ها می‌باشد (Irianto and Austin, 2002).

بر این، پروبیوتیک‌ها و پربریوتیک‌ها موجب کاهش میزان بروز بیماری از طریق ارتقاء سیستم ایمنی بدن شده که در نهایت موجب کاهش تلفات می‌گردد (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 پلاتارتاروم یک باکتری گرم مثبت میله‌ای، کاتالاز منفی، بدون تشکیل اسپور، اسید لاکتیکی، تخمیر کننده، فرست طلب و بی هوای 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 نانوایی¹ ساکارومایسین سرویزه (*Saccharomyces cerevisiae*) جدا می‌شود و به عنوان پربریوتیک 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 آلای قهومای (*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 (Kiabi *et al.*, 2009; Niksirat and Abdoli, 2009; Mohammadrezaei *et al.*, 2012) 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 آلای 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 (Gildberg *et al.*, 1997; Avella *et al.*, 2010) مانند کاد و دلک ماهی می‌شود (Gildberg *et al.*, 1997; Avella *et al.*, 2010). اما در خصوص استفاده از باکتری لاکتوباسیلوس پلاتارتاروم، Pourgholam و همکاران (۲۰۱۶) بیان داشتند که بچه تاس ماهی سیبری تغذیه شده با جیره حاوی لاکتوباسیلوس پلاتارتاروم نتایج مثبتی از نظر شاخص‌های رشد و ایمنی ذاتی نشان داده است. همچنین در بررسی دیگری، تأثیر استفاده از باکتری لاکتوباسیلوس پلاتارتاروم بر فلور باکتریایی روده ماهی قزل آلای رنگین کمان، عملکرد رشد و ترکیب لاشه را مثبت ارزیابی کردند (قلچایی فرد و همکاران، ۱۳۹۳). این در حالی است که استفاده از MOS در جیره غذایی ماهی شانک (*Sparus aurata*) تاثیر معنی‌داری بر فاکتورهای رشد نداشته است (Gelibolu *et al.*, 2018). اما استفاده همزمان از مانان الیگوساکارید و پربریوتیکی به نام پدیوکوکوس اسید لاکتیکی بر سی باس اروپایی (*Dicentrarchus labrax*)

¹. Yeast bakery

کشت بر آگار انجام شد. افزودن پروبیوتیک به جیره به صورت تدریجی به ۱۰۰ گرم جیره آزمایشی ساخته شده در آزمایشگاه خوارک آبزیان دانشکده علوم دریایی نور اسپری گردید و با روغن آفتابکردن 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 دریایی 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 دماسنجد چیوه ای شرکت زمردآزما) به صورت روزانه، اکسیژن محلول (توسط اکسیژن متر Cyberscan شرکت Eutech سنگاپور) و pH (از طریق دستگاه Hanna pH متر) ساخت آمریکا) به صورت هفتگی انجام گرفت. میانگین دما، اکسیژن و pH بترتیب 15 ± 1 درجه سانتی‌گراد، $1/5 \pm 1/1$ میلی‌گرم در لیتر اندازه‌گیری شد.

تهیه جیرهای آزمایشی

بچه ماهیان با جیره‌های شامل: ۱) جیره شاهد فاقد هرگونه ماده افزودنی، ۲) جیره حاوی 8×10^8 cfu/g⁻¹ باکتری *L.plantarum*، ۳) جیره حاوی ۴g/kg⁻¹ مانان الیگوساکارید، ۴) جیره حاوی ترکیبی از 8×10^8 cfu/g⁻¹ باکتری *L.plantarum* و ۴g/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 خوارک 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 *Litopenaeus* پروتکسین در میگو پاسفید غربی (*vannamei*) سبب بهبود رشد و زندگانی 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 سردا آی کشور فراهم آورده است. ماهی آزاد دریایی خزر می‌تواند به سیستم پرورشی کشور وارد شده و علاوه بر سودآوری بیشتر برای پرورش دهنده‌گان 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 محركهای ایمنی به صورت مجزا در خیلی از گونه‌های پرورشی آبزیان صورت گرفته، ولی تاکنون اثرات ترکیبی آنها بر شاخص‌های رشد و خون‌شناختی ماهی آزاد دریایی خزر مورد بررسی قرار نگرفته است. لذا، در مطالعه حاضر، اثرات بکارگیری مجزا و تلفیقی پریوپتیک مانان اولیگوساکارید و پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلاتارتاروم بر شاخص‌های رشد و پارامترهای خونی این گونه مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

Lactobacillus plantarum

باکتری لاکتوباسیلوس پلاتارتاروم (PTCC:1058) از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران به صورت کپسول لیوفلیزه تهیه شد. بعد از باز کردن کپسول حاوی باکتری لیوفلیزه زیر هود در محیط استریل و در کنار MRS broth شعله حرارت، باکتری به محیط کشت 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 CFU/mg آماده سازی و با غلظت مورده، تراکم سلول براساس OD ۶۰۰ نانومتر با استفاده از اسپکتروفوتومتر 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 مانان	گروه شاهد	گروه لکتوباسیلوس	الیگوساکارید	پلاتارتام	+لکتوباسیلوس پلاتارتام	گروه مانان + لکتوباسیلوس +الیگوساکارید
۵۵	۵۵	۵۵	۵۵	۵۵	۵۵	۵۵	۵۵	پودر ماهی(فانوس)
۱۵	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵	پودر سویا
۱۱	۱۱	۱۱	۱۱	۱۱	۱۱	۱۱	۱۱	آرد گندم
۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	لستین
۴/۵	۴/۵	۴/۵	۴/۵	۴/۵	۴/۵	۴/۵	۴/۵	روغن ماهی
۴/۵	۴/۵	۴/۵	۴/۵	۴/۵	۴/۵	۴/۵	۴/۵	روغن سویا
۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	نشاسته
۳	۳	۳	۳	۳	۳	۳	۳	مکمل معدنی
۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	مکمل ویتامینی
۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱	آنٹی اکسیدان
۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	ضد فارج
۱/۳۴	۱/۷۴	۱/۳۴	۱/۷۴	۱/۳۴	۱/۷۴	۱/۷۴	۱/۷۴	فیلر
۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	کلسیم مونوفسفات
۰/۴	۰	۰/۴	۰/۴	۰/۴	۰	۰	۰	مانان الیگوساکارید
cfu/g ⁻¹ × 10 ⁸	cfu/g ⁻¹ × 10 ⁸	۰	۰	۰	۰	۰	۰	لکتوباسیلوس پلاتارتام
۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	مجموع

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

* هر کیلوگرم مکمل معدنی حاوی آهن (۶ گرم)، روی (۱۰ گرم)، سلیم (۲۰ میلی گرم)، کیالت (۱۰۰ میلی گرم)، مس (۶۰۰ میلی گرم)، منگنز (۵ گرم)، ید (۴۰۰ میلی گرم)، کولین کلرايد (۶۰ گرم) هر ۵ کیلوگرم مکمل ویتامینه ۰/۵ درصد حاوی ویتامین های IU، D_۳=۲۰۰۰۰۰ IU، E=۱۵۰ IU، C=۵۰۰ g، Enositol=۵۰۰ g، K_۳=۵۰ g، B_۱=۵۰ g، B_۲=۴۰ g، B_۳=۱۵۰ g، B_۴=۲۰۰ g، B_۵=۸۰ g، B_۶=۰/۰۵ g، A=۸۰۰۰۰۰ Altech USA الیگوساکارید

* در جیره غذایی از ۰/۰ درصد آنتی اکسیدان بوتیل هیدروکسی تولوئن (BHT) استفاده گردید. * برای فیلر از ۱/۷۴ درصد ماسه استفاده شد به طوری که ابتدا با اسید سیتریک ضد عفنی 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 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*
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)

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 Portz *et al.*, 2001; Fuchs *et al.*, 2015; Peixoto *et al.*, 2001; Fuchs *et al.*, 2015; Peixoto *et al.*, (2016).

اندازه گیری پارامترهای رشد

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

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

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

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

رابطه ۴: وزن تر به دست آمده به گرم / مقدار 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: $100 \times (\text{تعداد روز پرورش} \times 2 / (\text{وزن اولیه} + \text{وزن نهایی})) / \text{کل مصرف غذا} = \text{MCR}$ (مصرف روزانه غذا (درصد در روز)

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

(WBC) (هزار / میلی لیتر 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 اسپکتروفوتومتر طول موج ۵۴۰ نانومتر سنجش شد و برای شمارش افتراقی گلbulوں‌های سفید، گسترش خونی تهیه گردید و سپس با رنگ گیمسا رنگ آمیزی شدند. حجم متوسط گلbulوں قرمز (MCV)، مقدار متوسط هموگلوبین گلbulوں قرمز (MCH) و غلظت متوسط هموگلوبین گلbulوں قرمز (MCHC) براساس فرمول‌های ذیل مورد محاسبه قرار گرفت (Houston, 1997).

اندازه گیری 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 پلاسمای خون با قرار گیری نمونه‌ها در سانتریفیوژ با دور ۳۰۰۰ دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه جدا و تا سنجش پارامترهای خونی ذیل در فریزر ۲۰ - درجه سانتی گراد نگهداری شدند. شاخصهای خون شناسی براساس روش‌های استاندارد گزارش شده مورد ارزیابی قرار گرفتند (Houston, 1997). شمارش تعداد گلbulوں‌های قرمز (RBC) (میلیون / میلی لیتر مکعب) و گلbulوں سفید

$MCV = 10 \times (\text{تعداد گلbulوں قرمز} / \text{حجم میلیون در میلی متر مکعب خون}) / (\text{مقدار هماتوکریت})$

$MCH = 10 \times (\text{تعداد گلbulوں قرمز در میلی متر مکعب خون} / \text{حجم میلیون در میلی متر مکعب خون}) / (\text{مقدار هموگلوبین})$

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

نتایج

در جدول ۳ نتایج مربوط به شاخص‌های رشد و تغذیه‌ای 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 معنی‌داری 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 معنی‌داری با سایر تیمارها نشان داد ($p < 0.05$). مقدار شاخص فاکتور وضعیت در بین تیمارها اختلاف معنی‌داری نشان نداد ($p > 0.05$).

تجزیه و تحلیل آماری

این پژوهش در قالب طرح کاملاً تصادفی (Completely Randomized Design) انجام گرفت. ثبت داده‌ها پس از هر مرحله نمونه‌برداری بوسیله نرم افزار (Excel 2010) انجام شد. برای بررسی آماری داده‌ها ابتدا نرمال بودن One Sample Kolmogorov-Smirnov Test ارزیابی شد و برای نرمال بودن داده‌ها جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها از آنالیز واریانس یک طرفه (One way ANOVA) استفاده گردید و اختلاف بین میانگین‌ها بوسیله تست دانکن بررسی شد. میزان سطح معنی‌دار بودن در این بررسی $p < 0.05$ بود. تجزیه و تحلیل داده‌ها توسط نرم افزار SPSS (version 22) انجام شد.

جدول ۳: نتایج شاخص‌های رشد و تغذیه‌ای ماهی آزاد دریای خزر با میانگین وزن 10 ± 0.2 گرم تحت تأثیر افزودنی غذایی مانان الیگوساکارید و باکتری لاکتوباسیلوس پلاتارتاروم به مدت ۸ هفته.

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

تیمارهای آزمایشی	صرف غذا (درصد در روز)	شاخص رشد (روزانه در روز)	فاکتور وضعیت	ضریب رشد ویژه	ضریب تبدیل غذایی	افزایش وزن بدن (گرم)	کارایی پروتئین
bMLp	$1/47 \pm 0.37^b$	$1/29 \pm 0.87^a$	$1/0.9 \pm 0.4^a$	$1/0.3 \pm 0.52^b$	$1/53 \pm 0.12^a$	$1/5 \pm 0.65^a$	$2/0.1 \pm 0.9^a$
bLp	$1/6 \pm 0.71^b$	$1/11 \pm 0.67^{ab}$	$1/13 \pm 0.12^a$	$1/25 \pm 0.74^b$	$1/34 \pm 0.1^a$	$1/27 \pm 0.8^a$	$1/65 \pm 0.9^b$
bM	$1/47 \pm 0.84^b$	$1/29 \pm 0.14^a$	$1/15 \pm 0.65^a$	$1/0.3 \pm 0.9^b$	$1/5 \pm 0.44^a$	$1/5 \pm 0.4^a$	$2/0.2 \pm 0.18^a$
Control	$1/75 \pm 0.93^a$	$0/91 \pm 0.16^b$	$1/0.3 \pm 0.3^a$	$1/65 \pm 0.33^a$	$1/12 \pm 0.2^b$	$9/86 \pm 1.92^c$	$1/28 \pm 0.24^c$

نتایج به صورت $ME \pm SD$ بیان شده‌اند. حروف متفاوت در هر ردیف نشان دهنده تفاوت معنی‌دار بین میانگین‌ها است ($p < 0.05$).

b: جیره پایه + لاکتوباسیلوس پلاتارتاروم، -bLp: جیره پایه + مانان الیگوساکارید، bMLp: جیره پایه + مانان الیگوساکارید + لاکتوباسیلوس پلاتارتاروم

تفاوت معنی‌داری را بین تیمارها نشان نداد ($p > 0.05$). همچنین شاخص‌های مونوپسیت، لنفوپسیت، هماتوکریت، هموگلوبین، غلظت متوسط هموگلوبین، غلظت هموگلوبین، حجم گلbul‌های قرمز و میزان نوتوفیل هم تفاوت معنی‌داری بین تیمارها نشان ندادند ($p > 0.05$).

شاخص‌های خونی

در جدول ۴ نتایج مربوط به شاخص‌های خونی تیمارهای آزمایشی ارائه شده است. بر اساس نتایج بدست آمده تفاوت معنی‌داری در تعداد گلbul‌های قرمز (RBC) تیمارهای آزمایشی مشاهده گردید ($p < 0.05$). بطوریکه بیشترین تعداد مربوط به تیمار Lp و کمترین مقدار WBC تیمار شاهد مشاهده شد در حالیکه نتایج شاخص

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 ± 0.2 g) fed the experimental diets supplemented with Manan oligosaccharide, *L. plantarum* over 8 weeks

تیمارهای تغذیه‌ای				پارامترها
شاهد	bMLp	bLP	bM	
6.7 ± 1.7^a	7.1 ± 0.6^a	8.2 ± 0.3^a	8.4 ± 1.1^a	($\mu\text{l} \times 10^3$) WBC
0.7 ± 0.3^c	0.8 ± 0.2^b	0.9 ± 0.2^a	0.8 ± 0.05^b	($\mu\text{l} \times 10^3$) RBC
7.366 ± 1^a	7.4 ± 0.3^a	8.0 ± 0.15^a	7.36 ± 0.28^a	(g/dL) HB
40.33 ± 5.85^a	41.33 ± 2.51^a	44.33 ± 1.52^a	40.33 ± 2.31^a	(%) HCT
$47.8/33 \pm 7.09^a$	47.9 ± 4^a	$48.0/33 \pm 1.52^a$	$47.2/33 \pm 3.51^a$	(nm 3) MCV
8.7 ± 1.73^a	8.6 ± 1.15^a	8.7 ± 1^a	$8.6/33 \pm 1.52^a$	(pg /cell) MCH
18.26 ± 1.15^a	17.83 ± 0.35^a	18.1 ± 0.3^a	18.3 ± 0.34^a	(g/dL) MCHC
$18 \pm 3/46^a$	19.5 ± 2.5^a	19.33 ± 1.52^a	20 ± 2^a	(%) Neutrophilis
$7.6 \pm 5/19^a$	$7.6/33 \pm 3.78^a$	$7.5/33 \pm 0.57^a$	7.6 ± 3^a	(%) Lymphocytes
$4/33 \pm 1.52^a$	$4/33 \pm 0.57^a$	$4/66 \pm 0.57^a$	4 ± 1^a	(%) Monocytes

نتایج به صورت $ME \pm SD$ بیان شده‌اند. حروف متفاوت در هر ردیف نشان دهندهٔ تفاوت معنی دار بین میانگین‌ها است ($p < 0.05$). bL.p : جیره پایه + لاکتوباسیلوس پلانتاروم، -bM: جیره پایه + مانان الیگوساکارید + لاکتوباسیلوس پلانتاروم

بحث

MOS در گونه‌های مختلف آبزی بسیار متفاوت است بطوريکه 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*) (Akrami, 2013) (kutum), لارو ماهی قزل آلای رنگین Staykov *et al.*, (Oncorhynchus mykiss) (2007) و میگو جوان پا سفید غربی (وشتانی، ۱۳۹۵) اشاره کرد. اما در برخی مطالعات مثل ماهی آزاد اقیانوس اطلس (Grisdale-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^{10} CFU/g لاکتوباسیلوس پلانتاروم در جیره تاسی ماهی سیبری منجر به بهبود رشد، طول، وزن نهایی، افزایش وزن، کاهش ضربی تبدیل غذایی گردید که با نتایج این مطالعه شامل کاهش ضربی تبدیل غذایی و

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 ضربی رشد ویژه شد که این افزایش در گروه با جیره تلفیقی از ۴ گرم مانان الیگوساکارید و 8×10^{10} CFU/g به ازاء هر کیلوگرم از غذا با سایر تیمارهای معنی دار بود بطوريکه 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 بررسی‌های قبلی صورت گرفته بر عملکرد مانان الیگوساکارید به صورت مجزا نشان دادند که اثرات

حسینی و همکاران (۱۳۹۳) مشابه بود، اما تفاوت معنی داری نشان نداد. در این مطالعه نیز افزودن لاکتوباسیلوس پلاتارتوم و مانان الیگوساکارید نتوانست منجر به بهبود فاکتورهای خونی در ماهی آزاد دریای خزر گردد. بر اساس نتایج قبلی بر گربه ماهی کanalی تغذیه شده با $0/2$ درصد MOS (Welker et al., 2011) و فیل ماهی تغذیه شده با $0/4$ درصد (Razeghi Mansour et al., 2012) MOS شد که استفاده از ترکیبات مانان الیگوساکارید تأثیر معنی داری بر فاکتورهای MCH.Hb.WBC.RBC نداشت. اما در مطالعه ای دیگر استفاده توان پربروپویتیک و MOS سبب افزایش شاخصهای ایمنی و رشد ماهی قزل آلای رنگین کمان را افزایش گردید (جنایی و همکاران، ۱۳۹۰). حمیدیان و همکاران (۱۳۹۲) نیز بیان داشتند که استفاده از سطوح مختلف باکتری پدیوکوکوس اسیدی لакتیکی تأثیری بر پارامترهای خونی ندارد، اما افزایش مقدار باکتری منجر به افزایش گلبول های قرمز و سفید می گردد که افزایش گلبول های قرمز مشابه نتیجه حاصل در این بررسی می باشد.

بر اساس نتایج حاصله در این تحقیق، پربروپویتیک مانان الیگو ساکارید و باکتری لاکتوباسیلوس پلاتارتوم در جیره می توانند به طور معنی داری شاخصهای رشد و تغذیه را در بچه ماهی آزاد دریای خزر طی ۸ هفته بهبود بخشنند. در این بررسی با توجه به اینکه MOS و باکتری لاکتوباسیلوس پلاتارتوم تأثیر مثبتی بر شاخصهای رشد از خود نشان داده است، تایید می کند که استفاده از پربروپویتیک مانان الیگوساکارید به مقدار 4 گرم و باکتری لاکتوباسیلوس پلاتارتوم به مقدار 8×10^8 CFU/g در هر کیلوگرم جیره می تواند سبب بهبود رشد شود که برای صنعت آبزی 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 سرداپی تنکابن به دلیل حمایت های مالی و فنی تشکر و قدردانی می شود و همچنین از کارشناسان و مسئولان

(Pourgholam et al., 2016) ۲۰۱۶ با بررسی نتایج مختلف مشخص می شود که افزایش رشد تحت تأثیر محرک های ایمنی بستگی زیادی به میزان استفاده، نحوه تجویز، طول دوره تغذیه، دمای محیط و گونه دارد. احتمالاً باکتری لاکتوباسیلوس پلاتارتوم 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 می شود (Pirarat et al., 2011; Pourgholam et al., 2016)

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

دنبال عفونت تجربی با *Strepto\coccus iniae* توسعه آبزی پروری، ۱۶(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 *Litopenaeus* میگوی جوان پا سفید غربی (*vannamei*). توسعه آبزی 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: ۹۵-۱۰۵.

جنایی، ر.، مشکینی، س.، توکمه چی، ا. و جلیلی، ر.، ۱۳۹۰. افزایش رشد ماهی قزل آلای رنگین کمان با استفاده از پروبیوتیک باسیلوس اسیدی لاکتیسی و پری بیوتیک مانان. همایش ملی آبزی پروری ایران، ۸: ۵۸-۶۴. Doi: 10.22059/jvr.2013.35961

حسینی، ع.، اورجی، ح.، یگانه، س. و شهابی، ع.، ۱۳۹۳. تأثیر پروبیوتیک پدیوکوکوس اسیدی لاکتیکی روی رشد، فاکتورهای خونی و سرمی در ماهی آزاد دریای خزر. مجله علمی شیلات ایران، ۲۳(۲): ۴۵-۵۵. 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 آبزی. ۲۳۱-۲۴۵.

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

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

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

- Brunt, J. and Austin, B., 2005.** Use of a probiotic to control lactococciosis and streptococciosis 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.
- Esmaeili, 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+, cl-, k+) during smoltification in *salmo trutta caspius* (Kessler, 1877). *Iranian Scientific Fisheries Journal*, 21: 119-128.
- Momeni-Moghadam, P., Keyvanshokoooh, S., Ziae-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 Physiol*

- 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 symbiotic 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.¹; Abedian Kenari A.^{1*}; Paknejad H.²; Mohseni M.³

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⁻¹ IMOS, 2) the basal diet + -8×10⁸ CFU/g⁻¹ *L. plantarum*) and 3) a symbiotic diets (the basal diet + 8×10⁸ CFU/g⁻¹ *L. plantarum* + 4g kg⁻¹ IMOS) for 8 weeks. At the end of this trial, the results of the MOS supplemented and symbiotic 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