

## مقاله علمی-پژوهشی:

## اثرات توأم بتاپلاس و الیگوساکاریدهای پری بیوتیک بر عملکرد رشد، شاخص کبدی، پارامترهای خونی و کیفیت لاشه ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo caspius*)

مریم آفتابگرد<sup>۱\*</sup>، علیرضا سالارزاده<sup>۱</sup>، محمود محسنی<sup>۲</sup>، محمد اسماعیل راست‌روان<sup>۳</sup>، امیر هوشنگ بحری<sup>۱</sup>، سید جلیل ذریه زهرا<sup>۴</sup>، سلطنت نجار لشگری<sup>۳</sup>، غلامرضا لشتو آقایی<sup>۳</sup>

\*aftabgard.m@gmail.com

- ۱- گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، واحد بندرعباس، دانشگاه آزاد اسلامی، بندرعباس، ایران
- ۲- مؤسسه تحقیقات بین‌المللی تاسماهیان دریای خزر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، ایران
- ۳- مرکز تحقیقات ماهیان سردآبی، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تنکابن، ایران
- ۴- مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

تاریخ پذیرش: بهمن ۱۳۹۸

تاریخ دریافت: مهر ۱۳۹۸

### چکیده

هدف از پژوهش حاضر بررسی تأثیر پروبیوتیک تجاری بتاپلاس (BP Ultra) در ترکیب با پری بیوتیک‌های گالاتالکتوالیگوساکارید (GOS) یا ایزومالتوالیگوساکارید (IMO) در ماهی پار آزاد دریای خزر (*Salmo caspius*) بود. ماهی آزاد دریای خزر ( $8/5 \pm 0/07$  گرم) براساس طرحی تصادفی و در قالب سه تیمار غذایی شامل: گروه شاهد، تیمار یک سین بیوتیک ( $0/1$  درصد BP Ultra +  $0/2$  درصد GOS) و تیمار دو سین بیوتیک ( $0/1$  درصد BP Ultra +  $0/2$  درصد IMO) در نه تانک پلی اتیلن دایره‌ای  $300$  لیتری با سه تکرار در هر تیمار توزیع و به مدت هفت هفته تغذیه شدند. در پایان این آزمایش، عملکرد رشد و شاخص کبدی در هر دو تیمار سین بیوتیک نسبت به گروه شاهد بهبود معنی‌داری داشت ( $p < 0/05$ )، در عین حال، روند این بهبود در تیمار یک سین بیوتیک بدون تفاوت معنی‌داری نسبت به تیمار دو سین بیوتیک مشهودتر بود ( $p > 0/05$ ). تعداد گلبولهای قرمز و سفید در دو تیمار سین بیوتیک به ترتیب بطور معنی‌داری نسبت به گروه شاهد کاهش و افزایش یافت ( $p < 0/05$ ). مقادیر هموگلوبین، درصد هماتوکریت و متوسط هموگلوبین گلوبول قرمز در تیمار یک سین بیوتیک نسبت به تیمار دو سین بیوتیک افزایش معنی‌داری نشان داد ( $p < 0/05$ ). بیشترین مقادیر معنی‌دار پروتئین و چربی خام لاشه به ترتیب در تیمار دو سین بیوتیک و تیمار یک سین بیوتیک مشاهده شد ( $p < 0/05$ )، ماده خشک لاشه در تیمار یک سین بیوتیک نسبت به تیمار دو سین بیوتیک افزایش معنی‌داری یافت ( $p < 0/05$ ). کمترین خاکستر لاشه نیز در تیمار یک سین بیوتیک با تفاوت معنی‌داری نسبت به تیمار دو سین بیوتیک و گروه شاهد مشاهده شد ( $p < 0/05$ ). نتایج مطالعه حاضر مبین کارآیی قابل توجه تیمار دو سین بیوتیک بر افزایش پروتئین و کاهش چربی لاشه بود، هرچند تیمار یک سین بیوتیک تأثیر بهتری بر عملکرد رشد و شاخص‌های هماتولوژی ماهی آزاد دریای خزر داشته است.

**لغات کلیدی:** سین بیوتیک، شاخص کبدی، شاخص‌های هماتولوژی، ترکیبات بدن، *Salmo caspius*

\*نویسنده مسئول

## مقدمه

امروزه، متداولترین راهکار جهت به حداقل رساندن تجویز آنتی‌بیوتیک‌ها و تأمین سلامت آبزیان، استفاده از مکمل‌های زیستی شامل پروبیوتیک‌ها، پری‌بیوتیک‌ها و سین‌بیوتیک‌هاست. پروبیوتیک‌ها میکروارگانیسم‌ها موادی هستند که سبب بهبود تعادل میکروبی روده‌ای میزبان و شاخص‌های رشد، تغذیه و سلامت ماهی می‌شوند (Singh *et al.*, 2011). پری‌بیوتیک‌ها اجزاء غذایی غیرقابل هضمی هستند که از طریق تغییر توازن باکتریایی میکروبیوتای روده‌ای به سمت باکتریهای بالقوه مفید سبب بهبود وضعیت ایمنی میزبان می‌شوند (Gibson and Glenn, 2004). عمدتاً الیگوساکاریدهای غیرقابل هضم به عنوان پری‌بیوتیک مطرح می‌باشند (Aftabgard *et al.*, 2019). به ترکیبی از پروبیوتیک و پری‌بیوتیک، سین‌بیوتیک اطلاق می‌شود. سین‌بیوتیک‌ها دارای پتانسیل‌هایی همچون افزایش کارایی غذا، بهبود عملکرد رشد، بهبود ترکیب بیوشیمیایی عضله، افزایش جمعیت باکتریایی مفید روده (باکتریهای اسید لاکتیک و برخی از گونه‌های مشخص باسیلوس‌ها) و ارتقاء عملکرد سیستم ایمنی میزبان می‌باشند (Merrifield *et al.*, 2010).

افزایش فشار صیادی، نابودی مکان‌های تخم‌ریزی و تخریب زیستگاهها طی دهه‌های اخیر منجر به کاهش شدید تکثیر طبیعی گونه بومی ماهی آزاد دریای خزر *Salmo caspius* و قرارگیری آن در فهرست قرمز اتحادیه بین‌المللی برای حفاظت از طبیعت (IUCN)<sup>1</sup> شده است (Jalali and Mojazi Amiri, 2009). لذا، سازمان شیلات ایران فعالیت حفظ و بازسازی ذخایر این گونه تجاری با ارزش دریای خزر را هر ساله از طریق تکثیر مصنوعی و تولید بچه‌ماهی و رهاسازی آن به رودخانه‌های منتهی به دریای خزر (محل اصلی مهاجرت این ماهی) انجام می‌دهد (صیاد بورانی و همکاران، ۱۳۹۳).

در این راستا انجام مطالعات تغذیه‌ای و یافتن روش‌هایی جهت ارتقاء عملکرد رشد و پارامترهای فیزیولوژیک به‌ویژه شاخص‌های خونی در ماهی آزاد دریای خزر قبل از رهاسازی ضروری است. پروبیوتیک بکار رفته در این

مطالعه با نام تجاری بتاپلاس (BetaPlus<sup>®</sup> Ultra; BP) حاوی سلول‌های زنده دو گونه *Bacillus subtilis* و *B. licheniformis* با نسبت یک به یک و بتائین می‌باشد که اثرات مفید آن بر عملکرد رشد و میکروبیوتای روده‌ای ماهیان جوان آزاد دریای خزر در مطالعه Karimzadeh و همکاران (۲۰۱۴) مورد تأیید قرار گرفت. گالاکتوالیگوساکارید (GOS)<sup>2</sup> یکی از انواع الیگوساکاریدهای غیر قابل هضم است که از واکنش آنزیمی لاکتوز حاصل می‌گردد و عمدتاً از مولکول‌های گلوکز و گالاکتوز تشکیل شده است (Zhou *et al.*, 2010). در برخی مطالعات اثبات گردید که گالاکتوالیگوساکارید از طریق افزایش باکتریهای اسیدلاکتیک روده منجر به افزایش رشد، تعدیل میکروبیوتای روده‌ای و نیز ارتقاء مقاومت موجودات خشکی و آبی در شرایط استرس می‌گردد (Hoseinifar *et al.*, 2013). ایزومالتوالیگوساکارید (IMO)<sup>3</sup> به عنوان یکی دیگر از انواع الیگوساکاریدهای غیر قابل هضم بوده و از ترکیب ایزومالتوز، ایزومالتوتریوز، پانوز، ایزومالتوتتراوز و غیره تشکیل یافته است و اخیراً به عنوان پری‌بیوتیک در آبی‌پروری مطرح شده است (Goffin *et al.*, 2011).

به رغم انجام مطالعات زیادی در خصوص بکارگیری سین‌بیوتیک‌های غذایی در ماهیان، اثرات سین‌بیوتیک‌های حاوی باسیلوس‌های پروبیوتیک و الیگوساکاریدهای غیرقابل هضم پری‌بیوتیک در مطالعات محدودی مورد بررسی قرار گرفته است. در این مطالعات، ترکیب *B. coagulans* و کیتوزان الیگوساکارید (COS)<sup>4</sup> در زیرگونه‌ای از ماهی کپور معمولی (کوی) (*Cyprinus carpio* var. *koi*) (Lin *et al.*, 2012)، ترکیب *B. licheniformis* و فروکتوالیگوساکارید (FOS)<sup>5</sup> در ماهی سیم مثلثی (*Megalobrama terminalis*) (Zhang *et al.*, 2013, 2015)، ترکیب *B. subtilis* و مانان الیگوساکارید (MOS)<sup>6</sup> در کپور هندی مرینگال

<sup>2</sup> Galacto-oligosaccharide

<sup>3</sup> Isomalto-oligosaccharide

<sup>4</sup> Chitosan oligosaccharide

<sup>5</sup> Fructo-oligosaccharide

<sup>6</sup> Mannan oligosaccharide

<sup>1</sup> International Union for Conservation of Nature

تیمار غذایی شامل غذای تجاری اکستروود فاقد سین‌بیوتیک (تیمار شاهد)، غذای تجاری اکستروود حاوی ترکیبی از ۰/۱ درصد پروبیوتیک تجاری بتاپلاس (BP Ultra) (شرکت Biochem، آلمان) و ۰/۲ درصد پری‌بیوتیک گالاتوالیگوساکارید (GOS) (شرکت Serva، آمریکا) (تیمار یک سین‌بیوتیک) و غذای تجاری اکستروود حاوی ترکیبی از ۰/۱ درصد پروبیوتیک بتاپلاس (BP Ultra) و ۰/۲ درصد پری‌بیوتیک ایزومالتوالیگوساکارید (IMO) (شرکت Serva، آمریکا) (تیمار دو سین‌بیوتیک) تغذیه شدند. پروبیوتیک تجاری بتاپلاس حاوی نسبتی برابر از اسپوره‌های دو سویه باسیلوس شامل *B. subtilis* (DSM 5750) و *B. licheniformis* (DSM 5749) به مقدار  $10^{12} \times 5/12$  واحد کلنی (colony-forming unit) در کیلوگرم و ۹۲۱ گرم در کیلوگرم بتائین بود. هر دو پری‌بیوتیک گالاتوالیگوساکارید و ایزومالتوالیگوساکارید مشتق شده از گیاه کاسنی<sup>۱</sup> بودند. به‌منظور آماده‌سازی غذای تیمار یک و دو سین‌بیوتیک، ابتدا توزین و مخلوط نمودن مقادیر موردنظر از پروبیوتیک بتاپلاس (۰/۱ درصد) و هریک از دو پری‌بیوتیک گالاتوالیگوساکارید (۰/۲ درصد) و ایزومالتوالیگوساکارید (۰/۲ درصد) انجام شد. سپس هر دو ترکیب سین‌بیوتیک را در آب مقطر سوسپانسیون نموده و به صورت یکنواخت در سطح غذای اکستروود هر تیمار اسپری شد (Aftabgard *et al.*, 2019). برای ایجاد سوسپانسیون برای هر یک از دو تیمار سین‌بیوتیک ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر به ازاء یک کیلوگرم غذا در نظر گرفته شد. در غذای بچه ماهیان تیمار شاهد نیز فقط آب مقطر اسپری گردید. سپس کلیه غذاهای تهیه شده به مدت ۴ ساعت تحت شرایط استریل در معرض جریان هوا قرار داده شد تا آب مخلوط شده با غذا، تبخیر گردد. سپس غذاهای آماده شده برای هر تیمار تا زمان مصرف بچه ماهیان در ظروف مخصوص پلاستیکی بر اساس شماره هر تکرار در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در یخچال نگهداری شدند (Aftabgard *et al.*, 2019). غذادهی براساس ۲-۱/۵ درصد توده زنده

(Kumar *et al.*, 2018) (*Cirrhinus mrigala*) ترکیب *B. subtilis* WB60 و MOS در مارماهی ژاپنی (*Anguilla japonica*) (Lee *et al.*, 2018) و ترکیب *B. subtilis* ATCC 6633 و MOS در کپور هندی کاتلا (*Catla catla*) (Gupta *et al.*, 2020) تأثیرات مثبتی بر عملکرد رشد و ایمنی داشته است.

تاکنون ترکیبات سین‌بیوتیک حاوی الیگوساکاریدهای غیر قابل هضم پری‌بیوتیک و باسیلوس‌های پروبیوتیک در هیچ یک از گونه‌های آبزیان در ایران مورد مطالعه قرار نگرفته است. لذا، پژوهش حاضر با هدف بررسی اثرات پروبیوتیک تجاری بتاپلاس (حاوی باسیلوس) در ترکیب با هر یک از پری‌بیوتیک‌های گالاتوالیگوساکارید و ایزومالتوالیگوساکارید در قالب دو ترکیب سین‌بیوتیک بر تغییرات احتمالی عوامل رشد، شاخص کبدی، پارامترهای هماتولوژی و کیفیت لاشه در ماهی پار آزاد دریای خزر (مرحله انگشت‌قندی) طراحی شد.

## مواد و روش کار

آزمایش حاضر در سالن پرورش بخش بهداشت و بیماری‌ها در مرکز تحقیقات ماهیان سردآبی (تنکابن، مازندران، ایران) انجام شد. تعداد ۱۸۰ عدد بچه ماهی انگشت‌قد ماهی آزاد دریای خزر (مرحله پار) با میانگین وزن  $(8/5 \pm 0/07)$  گرم در ۹ تانک پلی‌اتیلن دایره‌ای با حجم ۳۰۰ لیتر و جریان پیوسته آب (حجم آبیگری ۲۷۰ لیتر، ۲۰ ماهی در هر تانک) به طور تصادفی در سه تیمار و سه تکرار در هر تیمار ذخیره شدند. کنترل عوامل کیفی آب به صورت روزانه انجام و میانگین این عوامل شامل دما ( $16/8 \pm 1/4$  °C)، اکسیژن محلول ( $7/26 \pm 0/35$ ) میلی‌گرم در لیتر) و pH ( $7/2 \pm 0/18$ ) در طول آزمایش تغذیه‌ای برای همه تانک‌ها یکسان بود. دوره نوری به صورت ۱۲ ساعت روشنایی: ۱۲ ساعت تاریکی در نظر گرفته شد. طی دو هفته سازگاری، ماهیان با غذای تجاری اکستروود پایه (شرکت فرادانه، شهرکرد، ایران) تغذیه شدند که ترکیب آن شامل ۴۶٪ پروتئین خام، ۱۴٪ چربی خام، ۱۰٪ خاکستر، ۳٪ فیبر خام و ۱۱٪ رطوبت بود. سپس ماهیان به مدت ۷ هفته بر اساس یک طرح تصادفی با سه

<sup>۱</sup> Chicory

میلی‌گرم در لیتر ابتدا سنجش وزنی ماهیان انجام شد (Aftabgard *et al.*, 2019) و شاخص‌های نرخ رشد روزانه (DGR)، نرخ رشد ویژه (SGR) و ضریب تبدیل غذایی (FCR) طبق معادلات ذیل محاسبه شدند (محسنی و همکاران، ۱۳۹۵):

دوره پرورش به روز / (وزن ابتدایی - وزن نهایی) = نرخ رشد روزانه (گرم در روز)

۱۰۰ × (دوره پرورش به روز / (لگاریتم وزن ابتدایی - لگاریتم وزن نهایی)) = نرخ رشد ویژه (درصد در روز)

افزایش وزن بدن / وزن غذای مصرف شده = ضریب تبدیل غذایی

جهت محاسبه شاخص کبدی (HSI)<sup>۸</sup>، کبد ماهیان مذکور بعد از کالبدگشایی خارج شده و وزن آن مورد سنجش قرار گرفت و بر اساس آن شاخص کبدی طبق معادله ذیل محاسبه شد (محسنی و همکاران، ۱۳۹۵):

۱۰۰ × (وزن کبد / وزن بدن) = شاخص کبدی (درصد)

جهت آنالیز تقریبی لاشه از پنج عدد ماهی در هر تکرار که به منظور تعیین شاخص کبدی کالبدگشایی شدند، استفاده گردید. آنالیز لاشه ماهیان هر تیمار با استفاده از روش استاندارد (AOAC, 1990) و با سه تکرار انجام گردید. سنجش پروتئین خام با استفاده از روش کلدال و از طریق اندازه‌گیری میزان نیتروژن کل و ضرب آن در عدد ۶/۲۵، چربی خام بعد از عصاره‌گیری با دی اتیل اتر به روش سوکسله، ماده خشک با استفاده از آون در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد تا رسیدن به وزن ثابت و مقدار خاکستر با استفاده از کوره الکتریکی در دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت چهار ساعت انجام شد.

جهت آنالیز آماری، ابتدا نرمال بودن داده‌ها با آزمون Kolmogorov-Smirnov بررسی شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از آنالیز واریانس یک‌طرفه<sup>۹</sup> استفاده شد و مقایسه میانگین‌ها بین سه تیمار غذایی به وسیله آزمون چند دامنه‌ای Duncan<sup>۱۰</sup> انجام شد. سطح معنی‌دار در این آنالیز  $p < 0/05$  بود. در این مطالعه از بسته نرم‌افزاری SPSS (ویرایش ۲۳) استفاده گردید. جهت رسم نمودارها، نرم افزار Excel (نسخه ۲۰۰۷) مورد استفاده قرار گرفت.

و در سه نوبت (ساعات ۷، ۱۳ و ۱۹) انجام شد. به منظور هوادهی، هر تانک به یک سنگ هوا که به منبع هواده متصل بود، مجهز گردید.

در انتهای آزمایش و پس از گذشت ۲۴ ساعت از زمان قطع تغذیه، پنج ماهی به طور تصادفی از هر تکرار انتخاب گردید و پس از بیهوشی با پودر گل میخک به میزان ۲۰۰

پس خون‌گیری از پنج ماهی مذکور از طریق قطع ساقه دمی و با استفاده از لوله میکروهماتوکریت هپارینه از انتهای ورید دمی به منظور بررسی عوامل هماتولوژی انجام شد. سنجش عوامل هماتولوژی بر اساس روش‌های استاندارد Houston (۱۹۹۰) انجام شد. بر این اساس، تعداد گلبولهای قرمز (RBC)<sup>۱</sup> و تعداد گلبولهای سفید (WBC)<sup>۲</sup> با استفاده از لام هموسیتومتر نئوبار شمارش و محاسبه گردید. روش رنگ‌سنجی<sup>۳</sup> با معرف درابکین (سیانومت هموگلوبین) برای اندازه‌گیری غلظت هموگلوبین (Hb)<sup>۴</sup> مورد استفاده قرار گرفت. با استفاده از لوله‌های میکروهماتوکریت هپارینه و سانتریفیوژ آنها در ۳۵۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه و خط‌کش مخصوص هماتوکریت، درصد هماتوکریت (PCV)<sup>۵</sup> تعیین گردید. برای محاسبه شاخص‌های ثانویه هماتولوژی شامل متوسط هموگلوبین گلبول قرمز (MCH)<sup>۶</sup> و متوسط غلظت هموگلوبین گلبول قرمز (MCHC)<sup>۷</sup>، از مقادیر فاکتورهایی نظیر RBC، PCV و Hb استفاده گردید. در نهایت، تشخیص افتراقی و تعیین نسبت لوکوسیت‌های خون (لنفوسیت، مونوسیت و نوتروفیل) نیز از طریق تهیه گسترش خونی و رنگ‌آمیزی گیمسا انجام شد.

<sup>1</sup> Red blood cell

<sup>2</sup> White blood cell

<sup>3</sup> Colorimetric

<sup>4</sup> Hemoglobin

<sup>5</sup> Packed cell volume

<sup>6</sup> Mean corpuscular hemoglobin

<sup>7</sup> Mean corpuscular hemoglobin concentration

<sup>8</sup> Hepatosomatic index

<sup>9</sup> One-way ANOVA

<sup>10</sup> Duncan's multiple range test

## نتایج

(۲)، مقادیر DGR، SGR و HSI در هر دو تیمار یک و دو سین بیوتیک دارای افزایش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد بودند ( $p < 0.05$ ). از طرفی، FCR در هر دو تیمار یک و دو سین بیوتیک نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌داری یافت ( $p < 0.05$ ). در عین حال، شاخص‌های مذکور تغییر معنی‌داری را بین دو تیمار یک و دو سین بیوتیک نشان ندادند ( $p > 0.05$ ).

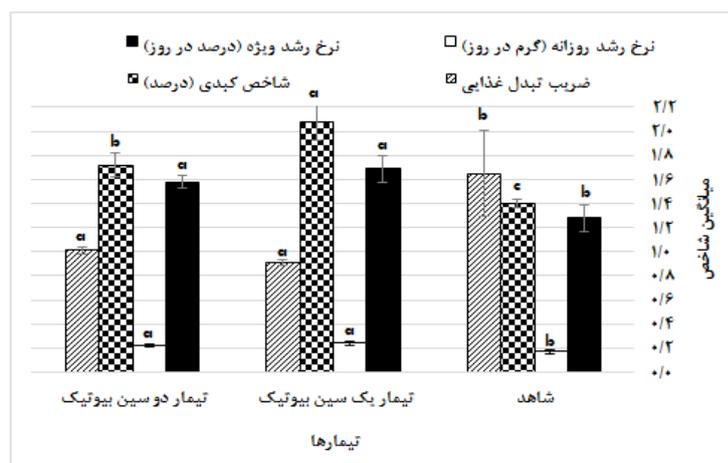
مقایسه میانگین وزن نهایی بین تیمارها در پایان هفته هفتم در شکل (۱) نشان داده شده است. مقادیر وزن نهایی در هر دو تیمار یک و دو سین بیوتیک دارای افزایش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد بودند ( $p < 0.05$ ). مقایسه شاخص‌های رشد و شاخص کبدی بین تیمارها در پایان هفته هفتم در شکل (۲) نشان داده شده است. طبق شکل



شکل ۱: مقایسه وزن نهایی بین تیمارها

(ستون مشخص شده با حرف متفاوت بیانگر تفاوت معنی دار آماری ( $p < 0.05$ ) بین تیمارهاست)

Figure 1: Comparison of the final weight between the treatments (Column marked with different letter indicates statistically significant difference ( $p < 0.05$ ) between the treatments)



شکل ۲: مقایسه نرخ رشد ویژه (SGR)، نرخ رشد روزانه (DGR)، شاخص کبدی (HSI) و ضریب تبدیل غذایی (FCR) بین تیمارها (ستون‌های مشخص شده با حروف متفاوت بیانگر تفاوت معنی دار آماری ( $p < 0.05$ ) بین تیمارهاست)

Figure 2: Comparison of the specific growth rate (SGR), daily growth rate (DGR), hepatosomatic index (HSI) and feed conversion ratio (FCR) between the treatments (Columns marked with different letters indicate statistically significant difference ( $p < 0.05$ ) between the treatments)

نسبت‌های مونوسیت و نوتروفیل فقط در تیمار دو سین‌بیوتیک نسبت به گروه شاهد تفاوت معنی‌دار داشت ( $p < 0.05$ ). همچنین نسبت‌های لنفوسیت، مونوسیت و نوتروفیل تفاوت معنی‌داری را بین دو تیمار یک و دو سین‌بیوتیک نشان نداد ( $p > 0.05$ ). طبق جدول (۱)، تیمار یک سین‌بیوتیک دارای افزایش معنی‌دار Hb نسبت به تیمار دو سین‌بیوتیک بود ( $p < 0.05$ ). درعین حال، شاخص Hb تفاوت معنی‌داری را بین گروه شاهد و تیمار یک سین‌بیوتیک نشان نداد ( $p > 0.05$ ). از سویی، روند کاهشی Hb در تیمار دو سین‌بیوتیک نسبت به گروه شاهد معنی‌دار بود ( $p < 0.05$ ).

مقایسه تعداد گلبولهای خون (CBC)، هموگلوبین (Hb) و نسبت افتراقی گلبولهای سفید بین تیمارها در پایان هفته هفتم در جدول (۱) نشان داده شده است. طبق جدول (۱)، تیمار یک و دو سین‌بیوتیک دارای کاهش معنی‌دار RBC نسبت به گروه شاهد بودند ( $p < 0.05$ ). از سویی، تیمار یک سین‌بیوتیک دارای افزایش معنی‌دار RBC نسبت به تیمار دو سین‌بیوتیک بود ( $p < 0.05$ ). مقادیر جدول (۱) نشان داد که افزایش WBC در تیمار یک و دو سین‌بیوتیک نسبت به گروه شاهد معنی‌دار بود ( $p < 0.05$ ). ولی WBC بین دو تیمار سین‌بیوتیک غذایی تفاوت معنی‌داری نشان نداد ( $p > 0.05$ ). از نظر نسبت افتراقی گلبولهای سفید، کاهش نسبت لنفوسیت و افزایش

جدول ۱: مقایسه تعداد گلبولهای خون (CBC)، هموگلوبین (Hb) و نسبت‌های افتراقی گلبولهای سفید بین تیمارها (انحراف معیار  $\pm$  میانگین)

**Table 1: Comparison of the count of blood cells (CBC), the level of hemoglobin (Hb) and the differential proportions of white blood cells (WBC) between the treatments (Mean $\pm$ SE)**

تیمار			فاکتور
تیمار دو سین‌بیوتیک	تیمار یک سین‌بیوتیک	شاهد	
۱۲۸۰۰۰۰ $\pm$ ۲۰۰۰۰ <sup>c</sup>	۱۳۳۰۰۰۰ $\pm$ ۲۰۰۰۰ <sup>b</sup>	۱۳۸۰۰۰۰ $\pm$ ۴۰۰۰ <sup>a</sup>	گلبولهای قرمز (RBC) (سلول در میلی‌متر مکعب)
۵۷/۵ $\pm$ ۱/۵ <sup>b</sup>	۶۲ $\pm$ ۰/۶ <sup>a</sup>	۶۴/۵ $\pm$ ۰/۵ <sup>a</sup>	هموگلوبین (Hb) (گرم در لیتر)
۲۰۷۵۰ $\pm$ ۷۰۰ <sup>a</sup>	۱۹۸۷۰ $\pm$ ۶۶۰ <sup>a</sup>	۱۶۰۵۰ $\pm$ ۱۵۰ <sup>b</sup>	گلبولهای سفید (WBC) (سلول در میلی‌متر مکعب)
۰/۶۳ $\pm$ ۰/۰۲ <sup>b</sup>	۰/۶۵ $\pm$ ۰/۰۱ <sup>ab</sup>	۰/۶۸ $\pm$ ۰/۰۰ <sup>a</sup>	لنفوسیت (نسبت از یک WBC)
۰/۰۶ $\pm$ ۰/۰۱ <sup>a</sup>	۰/۰۵ $\pm$ ۰/۰۱ <sup>ab</sup>	۰/۰۴ $\pm$ ۰/۰۱ <sup>b</sup>	مونوسیت (نسبت از یک WBC)
۰/۳۲ $\pm$ ۰/۰۱ <sup>a</sup>	۰/۳۰ $\pm$ ۰/۰۱ <sup>ab</sup>	۰/۲۸ $\pm$ ۰/۰۱ <sup>b</sup>	نوتروفیل (نسبت از یک WBC)

(ردیف‌های مشخص شده با حروف متفاوت بیانگر تفاوت معنی‌دار آماری ( $p < 0.05$ ) بین تیمارهاست)

(Rows marked with different letters indicate statistically significant difference ( $P < 0.05$ ) between the treatments)

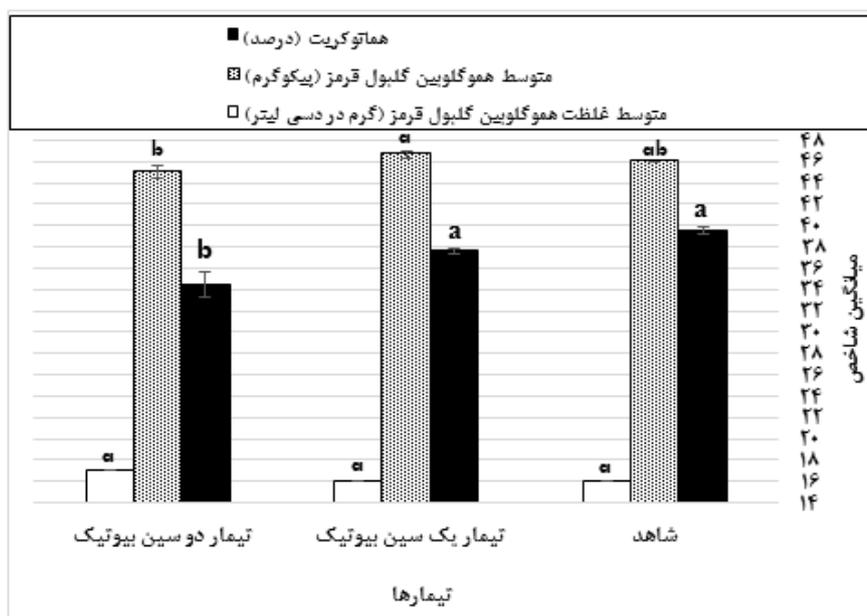
سین‌بیوتیک دارای بیشترین مقادیر MCHC بدون تفاوت معنی‌داری نسبت به گروه شاهد و تیمار یک سین‌بیوتیک بود ( $p > 0.05$ ).

مقایسه ترکیب لاشه بین تیمارها در پایان هفته هفتم در جدول (۲) ارائه شده است. طبق جدول (۲)، افزایش پروتئین خام در تیمار دو سین‌بیوتیک نسبت به تیمار یک سین‌بیوتیک و گروه شاهد معنی‌دار بود ( $p < 0.05$ ) در حالی که مقادیر پروتئین خام تفاوت معنی‌داری را بین گروه شاهد و تیمار یک سین‌بیوتیک نشان ندادند ( $p > 0.05$ ). افزایش چربی خام در تیمار یک سین‌بیوتیک

مقایسه مقادیر هماتوکریت (PCV)، متوسط هموگلوبین گلبول قرمز (MCH) و متوسط غلظت هموگلوبین گلبول قرمز (MCHC) در پایان هفته هفتم در شکل (۳) نشان داده شده است. طبق شکل (۳)، تیمار یک سین‌بیوتیک دارای افزایش معنی‌دار PCV و MCH نسبت تیمار دو سین‌بیوتیک بود ( $p < 0.05$ ). مقادیر این شاخص‌ها تفاوت معنی‌داری را بین گروه شاهد و تیمار یک سین‌بیوتیک نشان نداد ( $p > 0.05$ ) در حالی که به استثناء MCH، روند کاهشی PCV در تیمار دو سین‌بیوتیک نسبت به گروه شاهد معنی‌دار بود ( $p < 0.05$ ). همچنین تیمار دو

تیمار دو سین بیوتیک دارای افزایش معنی دار خاکستر نسبت به تیمار یک سین بیوتیک و گروه شاهد بود ( $p < 0.05$ ) در حالی که در تیمار یک سین بیوتیک کاهش معنی دار خاکستر نسبت به گروه شاهد مشاهده شد ( $p < 0.05$ ).

نیز نسبت به گروه شاهد و تیمار دو سین بیوتیک معنی دار بود ( $p < 0.05$ ). در عین حال، کاهش چربی خام در تیمار دو سین بیوتیک نسبت به گروه شاهد معنی دار بود ( $p < 0.05$ ). افزایش ماده خشک در تیمار یک سین بیوتیک نسبت به تیمار دو سین بیوتیک معنی دار ( $p < 0.05$ ) و نسبت به گروه شاهد بدون تفاوت معنی دار ( $p > 0.05$ ) بود.



شکل ۳: مقایسه هماتوکریت (PCV)، متوسط هموگلوبین گلبول قرمز (MCH) و متوسط غلظت هموگلوبین گلبول قرمز (MCHC) بین تیمارها

(ستون‌های مشخص شده با حروف متفاوت بیانگر تفاوت معنی دار آماری ( $p < 0.05$ ) بین تیمارهاست)

Figure 3: Comparison of packed cell volume (PCV), mean corpuscular hemoglobin (MCH) and mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC) between the treatments (Columns marked with different letters indicate statistically significant difference ( $P < 0.05$ ) between the treatments)

جدول ۲: مقایسه پارامترهای ترکیب لاشه بین تیمارها (انحراف معیار  $\pm$  میانگین)

Table 2: Comparison of body composition parameters between the treatments (Mean  $\pm$  SE)

تیمار			فاکتور
تیمار دو سین بیوتیک	تیمار یک سین بیوتیک	شاهد	
۶۳۰/۰ $\pm$ ۲/۰ <sup>a</sup>	۵۵۲/۲ $\pm$ ۰/۸ <sup>b</sup>	۵۵۰/۰ $\pm$ ۵/۰ <sup>b</sup>	پروتئین خام (گرم در کیلوگرم)
۲۷۰/۰ $\pm$ ۴/۴ <sup>b</sup>	۲۹۷/۵ $\pm$ ۷/۰ <sup>a</sup>	۲۹۱/۳ $\pm$ ۴/۰ <sup>a</sup>	ماده خشک (گرم در کیلوگرم)
۲۱۰/۰ $\pm$ ۷/۰ <sup>c</sup>	۲۷۵/۶ $\pm$ ۱/۸ <sup>a</sup>	۲۶۱/۰ $\pm$ ۲/۱ <sup>b</sup>	چربی خام (گرم در کیلوگرم)
۸۰/۰ $\pm$ ۱/۰ <sup>a</sup>	۶۵/۶ $\pm$ ۰/۷ <sup>c</sup>	۶۹/۰ $\pm$ ۰/۳ <sup>b</sup>	خاکستر (گرم در کیلوگرم)

(ردیف‌های مشخص شده با حروف متفاوت بیانگر تفاوت معنی دار آماری ( $p < 0.05$ ) بین تیمارهاست)

(Rows marked with different letters indicate statistically significant difference ( $p < 0.05$ ) between the treatments)

## بحث

نتایج حاصل از تحقیق حاضر نشان داد که بتاپلاس حاوی سویه‌های باسیلوس در ترکیب با پری‌بیوتیک گالاتوالیگوساکارید یا ایزومالتوالیگوساکارید احتمالاً منجر به افزایش توان استفاده از مواد مغذی جیره و در نتیجه افزایش معنی‌دار عوامل رشد (وزن نهایی، DGR، SGR و FCR) در ماهی آزاد دریای خزر در مرحله انگشت‌قدی گردید. مشابه نتایج این مطالعه، سین‌بیوتیک‌های غذایی حاوی پروبیوتیک‌های باسیلوس و الیگوساکاریدهای پری‌بیوتیک از جمله *B. licheniformis* + فروکتوالیگوساکارید (FOS) در ماهی سیم مثلثی (*M. terminalis*) (Zhang et al., 2015)، *B. clausii* + مانان‌الیگوساکارید (MOS)، FOS+B. *clausii* و FOS+MOS+*clausii* در ماهی کفشک ژاپنی (*Paralichthys olivaceus*) (Ye et al., 2011)، *B. coagulans* + کیتوزان‌الیگوساکارید (COS) در کوی (C. *carpio koi*) (Lin et al., 2012) و *B. subtilis* + MOS در کپور هندی مرینگال (*C. mrigala*) (Kumar et al., 2018) منجر به ارتقاء عملکرد رشد شدند.

در پژوهش حاضر افزایش معنی‌دار شاخص کبدی (HSI) در هر دو تیمار سین‌بیوتیک غذایی نسبت به گروه شاهد می‌تواند احتمالاً به این علت باشد که تحت تأثیر گالاتوالیگوساکارید یا ایزومالتوالیگوساکارید ترکیب شده با باسیلوس‌های بتاپلاس، انرژی غذایی مصرفی افزایش یافته و در نتیجه انرژی مازاد به صورت چربی در کبد ذخیره شده و منجر به افزایش وزن کبد و شاخص HSI در بچه‌ماهیان انگشت‌قد ماهی آزاد دریای خزر گردید (Hansen et al., 2008).

یکی از شاخص‌های مهم و قابل اطمینان در بررسی وضعیت سلامتی و فیزیولوژی ماهیان، سنجش شاخص‌های خونی آنان می‌باشد که تحت تأثیر تغذیه، عوامل محیطی و سن آنها قرار دارد (Fanouraki et al., 2007). در مطالعه حاضر، با توجه به اینکه کاهش معنی‌دار تعداد گلبولهای قرمز در هر دو تیمار سین‌بیوتیک با افزایش معنی‌دار مقادیر عوامل رشد نسبت به گروه شاهد همراه بود، لذا کاهش مذکور احتمالاً با کاهش رهاسازی آهن از

بافت رتیکولاندوتلیال روده به خون به دلیل افزایش رقابت باسیلوس‌های موجود در پروبیوتیک بتاپلاس در ترکیب با پری‌بیوتیک‌های گالاتوالیگوساکارید یا ایزومالتوالیگوساکارید برای جذب بیشتر آهن غذایی از بافت روده مرتبط می‌باشد تا بتوانند رشد باکتری‌های مفید روده و قابلیت هضم و جذب غذا را ارتقاء دهند (Aftabgard et al., 2019). در این راستا، نکته حائز اهمیت این است که استفاده از پری‌بیوتیک‌ها در جیره غذایی منجر به افزایش جذب کاتیون‌های دو ظرفیتی نظیر آهن از روده می‌گردد (Jenkins et al., 1999). بنابراین، بهبود معنی‌دار تعداد گلبولهای قرمز، هموگلوبین و درصد هماتوکریت در تیمار یک سین‌بیوتیک نسبت به تیمار دو سین‌بیوتیک بیانگر کارایی مؤثرتر پری‌بیوتیک گالاتوالیگوساکارید نسبت به ایزومالتوالیگوساکارید در ترکیب با سویه‌های باسیلوس بتاپلاس در جذب آهن از روده بچه‌ماهیان انگشت‌قد ماهی آزاد دریای خزر بوده است.

در این مطالعه، ارتقاء معنی‌دار WBC در هر دو تیمار سین‌بیوتیک در مقایسه با گروه شاهد بیانگر ارتقاء شاخص سلامت و ایمنی بچه‌ماهیان انگشت‌قد ماهی آزاد دریای خزر می‌باشد. به طور مشابه با نتایج این مطالعه، افزایش WBC در ماهیان سیم مثلثی تغذیه شده با ترکیب سین‌بیوتیک FOS + *B. licheniformis* (Zhang et al., 2013) و کوی (*C. carpio koi*) تغذیه شده با ترکیب سین‌بیوتیک COS + *B. coagulans* (Lin et al., 2012) نیز مورد تأیید قرار گرفت. از سویی، کاهش معنی‌دار نسبت لنفوسیت و افزایش معنی‌دار نسبت‌های مونوسیت و نوتروفیل در تیمار دو سین‌بیوتیک نسبت به گروه شاهد احتمالاً ناشی از اثر متقابل ماکروفاژها، مونوسیت‌ها و نوتروفیل‌ها با پروبیوتیک بتاپلاس، پری‌بیوتیک ایزومالتوالیگوساکارید یا ترکیبی از بتاپلاس و ایزومالتوالیگوساکارید جیره غذایی می‌باشد که این اثرات مکمل‌های بیوتیک را با تعدیل مکانیزم ایمنی ذاتی مرتبط می‌دانند به طوری که هم‌راستا با مطالعه حاضر، Irianto و Austin (۲۰۰۲)، Kumar و همکاران (۲۰۰۸) و

معنی دار چربی خام لاشه در تیمار یک سین بیوتیک همراه با افزایش معنی دار شاخص کبدی در هر دو تیمار سین بیوتیک بیانگر این است که سطح ۰/۱ درصد پروبیوتیک بتاپلاس در ترکیب با سطح ۰/۲ درصد پری بیوتیک ایزومالتوالیگوساکارید (تیمار دو سین بیوتیک) دارای پتانسیل مؤثرتری نسبت به تیمار یک سین بیوتیک در مصرف چربی برای تولید انرژی مورد نیاز بدن و در نتیجه صرفه جویی در مصرف پروتئین و تبدیل حداکثر غذای مصرفی به پروتئین به عنوان هدف اصلی آبی پروری در بچه ماهیان انگشت قد ماهی آزاد دریای خزر می باشد.

### منابع

صیاد بورانی، م.، خارا، ح.، صیاد بورانی، م. و فخارزاده، س.م.ا.، ۱۳۹۳. 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(۴): ۸۵-۹۶.  
DOI: 10.22092/ISFJ.2015.103171

محسنی، م.، پورکاظمی، م.، سیدحسینی، م.ح. و پورعلی، ح.ر.، ۱۳۹۵. اثر مکمل متیونین و لایزین بر روند رشد، کارایی غذا، قابلیت هضم و ترکیب بدن فیل ماهی پرورشی (*Huso huso*) تغذیه شده با جیره محتوی پروتئین سویا. مجله علمی شیلات ایران، ۲۵(۱): ۱۱۹-۱۳۳.  
DOI: 10.22092/isfj.2017.110228

Aftabgard, M., Salarzadeh, A., Mohseni, M., Bahri Shabanipour, A.H. and Zorriehzadra, M.E.J., 2019. The combined efficiency of dietary isomaltooligosaccharides and *Bacillus* spp. on the growth, hemato-serological, and intestinal microbiota indices of Caspian brown trout (*Salmo trutta caspius* Kessler, 1877). *Probiotics and Antimicrobial*

Jafarzadeh و همکاران (۲۰۱۵) نیز به نتایج مشابه با سایر مکمل های بیوتیک دست یافتند. ترکیب بیوشیمیایی بدن آبیان تحت تأثیر گونه، سن، نحوه غذادهی، نوع غذا و ترکیب جیره قرار دارند (Dumas *et al.*, 2007). افزایش معنی دار پروتئین خام لاشه در تیمار دو سین بیوتیک نسبت به تیمار یک سین بیوتیک و گروه شاهد را می توان با تأثیر مثبت احتمالی ترکیب غذایی سویه های باسیلوس بتاپلاس و ایزومالتوالیگوساکارید بر کاهش کاتابولیسم اسیدهای آمینه بدن و در نتیجه بهبود سنتز پروتئین بدن ماهی مرتبط دانست (Grisdale-Helland *et al.*, 2013). در نتایجی مشابه با یافته های تیمار دو سین بیوتیک، افزایش معنی دار پروتئین خام لاشه تحت تأثیر دو ترکیب سین بیوتیک *B. clausii* + FOS + MOS و *B. clausii* + FOS کاهش معنی دار چربی خام لاشه تحت تأثیر دو ترکیب سین بیوتیک *MOS* + *B. clausii* و *MOS* + *B. clausii* در ماهی کفشک ژاپنی مشاهده شدند (Ye *et al.*, 2011). برخلاف نتایج پژوهش حاضر، تغذیه کیپور هندی کاتلا (*C. catla*) با *B. subtilis* ATCC 6633 در ترکیب با مانان الیگوساکارید مشتق شده از مخمر *Wickerhamomyces anomalus* (W-MOS) یا مانان الیگوساکارید مشتق شده از مخمر *Saccharomyces cerevisiae* (S-MOS) منجر به تغییر معنی داری در ترکیب لاشه نگردید، هرچند بهترین عملکرد رشد با تفاوت معنی داری در ماهیان تغذیه شده با ترکیب *W-MOS* + *B. subtilis* ATCC 6633 مشاهده شد (Gupta *et al.*, 2020).

در مجموع، نتایج حاکی از این بود که عملکرد رشد و تعداد گلبول های سفید خون به عنوان شاخص ایمنی اختصاصی سلولی در هر دو تیمار سین بیوتیک روند افزایشی معنی دار داشت. هرچند، پارامترهای خونی در تیمار یک سین بیوتیک عملکرد بهتری را نسبت به تیمار دو سین بیوتیک نشان داد. در عین حال، افزایش معنی دار پروتئین خام لاشه در تیمار دو سین بیوتیک و نیز افزایش

- Proteins*, 11(1): 198-206. DOI: 10.1007/s12602-017-9361-z
- AOAC, 1990.** Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 15th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC. USA.
- Dumas, A., de Lange, C.F.M., France, J. and Bureau, D.P., 2007.** Quantitative description of body composition and rates of nutrient deposition in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 273(1): 165-181. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2007.09.026
- Fanouraki, E., Divanach, P. and Pavlidis, M., 2007.** Baseline values for acute and chronic stress indicators in sexually immature red porgy (*Pargus pagrus*). *Aquaculture*, 265(1-4): 294-304. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2007.01.006
- Gibson, G.R. and Glenn, R., 2004.** Fibre and effects on probiotics (the prebiotic concept). *Clinical Nutrition Supplements*, 1(2): 25-31. DOI: 10.1016/j.clnu.2004.09.005
- Goffin, D., Delzenne, N., Blecker, C., Hanon, E., Deroanne, C. and Paquot, M., 2011.** Will isomalto-oligosaccharides, a well-established functional food in Asia, break through the European and American market? The status of knowledge on these prebiotics. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51(5): 394-409. DOI: 10.1080/10408391003628955
- Grisdale-Helland, B., Lemme, A. and Helland, S.J., 2013.** Threonine requirement for maintenance and efficiency of utilization for threonine accretion in Atlantic salmon smolts determined using increasing ration levels. *Aquaculture*, 372-375: 158-166. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2012.11.004
- Gupta, S., Bhathena, Z.P., Kumar, S., Nuzaiba, P.M., Srivastava, P.P., Gupta, S.C. and Jadhao, S.B., 2020.** Comparative efficacy of mannan-oligosaccharides from two yeast species fed alone or in combination with probiotic *Bacillus subtilis* ATCC 6633 to Catla (*Catla catla*) juveniles. *Aquaculture International*, 28: 691-710. DOI:10.1007/s10499-019-00488-x
- Hansen, J.Ø., Berge, G.M., Hillestad, M., Krogdahl, A., Galloway, T.F., Holm, H., Holm, J. and Ruyter, B., 2008.** Apparent digestion and apparent retention of lipid and fatty acid in Atlantic cod (*Gadus morhua*) fed increasing dietary lipid levels. *Aquaculture*, 284(1-4): 159-166. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2008.07.043
- Hoseinifar, S.H., Khalili, M., Khoshbavar Rostami, H. and Esteban M.A., 2013.** Dietary galactooligosaccharide affects intestinal microbiota, stress resistance, and performance of Caspian roach (*Rutilus rutilus*) fry. *Fish and Shellfish Immunology*, 35(5): 1416-1420. DOI: 10.1016/j.fsi.2013.08.007
- Houston, C.B., 1990.** Blood and circulation. In: Shreck, C.B. and Moyle, P.B., (eds.) *Methods for fish biology*. American

- Fisheries Society, Bethesda, Maryland, USA, pp. 273-322.
- Irianto, A. and Austin, B., 2002.** Use of probiotics to control furunculosis in Rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Journal of Fish Diseases*, 25(6): 333-342. DOI: 10.1046/j.1365-2761.2002.00375.x
- Jafarzadeh, E., Khara, H. and Ahmadnezhad, M., 2015.** Effects of synbiotic (Biomin IMBO®) on haematological and immunological components of Russian sturgeon, *Acipenser guldenstadti*. *Comparative Clinical Pathology*, 24(6): 1317-1323. DOI: 10.1007/s00580-015-2071-6
- Jalali, M.A. and Mojazi Amiri, B., 2009.** Threatened fishes of the world: *Salmo trutta caspius* (Kessler, 1877) (Salmoniforms: Salmonidae). *Environmental Biology of Fishes*, 86(3): 375-376. DOI: 10.1007/s10641-009-9527-y
- Jenkins, D.J.A., Kendall, C.W.C. and Vuksan, V., 1999.** Inuline, oligofructose and intestinal function. *The Journal of Nutrition*, 129(7 Suppl): 1431S-1433S. DOI: 10.1093/jn/129.7.1431S
- Karimzadeh, S., Keramat Amirkolaie, A. and Parhizkar Miandehy, S., 2014.** The effects of different levels of Beta Plus on growth performance, microbial flora and blood parameters of Caspian trout, *Salmo caspius* (Kessler, 1877). *International Journal of Aquatic Biology*, 2(6): 292-298. DOI: 10.22034/ijab.v2i6.124
- Kumar, P., Jain, K. K., Sardar, P., Jayant, M. and Tok N. C., 2018.** Effect of dietary synbiotic on growth performance, body composition, digestive enzyme activity and gut microbiota in *Cirrhinus mrigala* (Ham.) fingerlings. *Aquaculture Nutrition*, 24(3): 921-929. DOI: 10.1111/anu.12628
- Kumar, R., Mukherjee, S.C., Ranjan, R. and Nayak, S.K., 2008.** Enhanced innate immune parameters in *Labeo rohita* (Ham.) following oral administration of *Bacillus subtilis*. *Fish and Shellfish Immunology*, 24(2): 168-172. DOI: 10.1016/j.fsi.2007.10.008
- Lee, S., Katya, K., Hamidoghli, A., Hong, J., Kim, D. J. and Bai, S.C., 2018.** Synergistic effects of dietary supplementation of *Bacillus subtilis* WB60 and mannanoligosaccharide (MOS) on growth performance, immunity and disease resistance in Japanese eel, *Anguilla japonica*. *Fish and Shellfish Immunology*, 83: 283-291. DOI: 10.1016/j.fsi.2018.09.031
- Lin, S., Mao, S., Guan, Y., Luo, L., Lio, L. and Pan, Y., 2012.** Effects of dietary chitosan oligosaccharides and *Bacillus coagulans* on the growth innate immunity and resistance of koi (*Cyprinus carpio koi*). *Aquaculture*, 342-343: 36-41. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2012.02.009
- Merrifield, D.L., Dimitroglou, A., Foey, A., Davies, S.J., Baker, R.T.M., Bøgwald, J., Castex, M. and Ringø, E., 2010.** The current status and future focus of probiotic and prebiotic applications for salmonids.

- Aquaculture*, 302(1-2): 1-18. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2010.02.007
- Singh, K., Kallali, B., Kumar, A. and Thaker, V., 2011.** Probiotics: a review. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 1(2): S287-S290. DOI: 10.1016/S2221-1691(11)60174-3
- Ye, J.D., Wang, K., Li, F.D. and Sun, Y.Z., 2011.** Single or combined effects of fructo- and mannan oligosaccharide supplements and *Bacillus clausii* on the growth, feed utilization, body composition, digestive enzyme activity, innate immune response and lipid metabolism of the Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture Nutrition*, 17(4): e902-e911. DOI: 10.1111/j.1365-2095.2011.00863.x
- Zhang, C.N., Li, X.F., Xu, W.N., Jiang, G.Z., Lu, K.L., Wang, L.N. and Liu, W.B., 2013.** Combined effects of dietary fructooligosaccharide and *Bacillus licheniformis* on innate immunity, antioxidant capability and disease resistance of Triangular bream (*Megalobrama terminalis*). *Fish and Shellfish Immunology*, 35(5): 1380-1386. DOI: 10.1016/j.fsi.2013.07.047
- Zhang, C.N., Li, X.F., Xu, W.N., Zhang, D.D., Lu, K.L., Wang, L.N., Tian, H.Y. and Liu, W.B., 2015.** Combined effects of dietary fructooligosaccharide and *Bacillus licheniformis* on growth performance, body composition, intestinal enzymes activities and gut histology of Triangular bream (*Megalobrama terminalis*). *Aquaculture Nutrition*, 21(5): 755-766. DOI: 10.1111/anu.12200
- Zhou, Q.-C., Buentello, J.A. and Gatlin III, D.M., 2010.** Effects of dietary prebiotics on growth performance, immune response and intestinal morphology of Red drum (*Sciaenops ocellatus*). *Aquaculture*, 309(1-4): 253-257. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2010.09.003.

## The synergistic effects of BetaPlus® Ultra and prebiotic oligosaccharides on growth performance, hepatosomatic index, hematological parameters, and carcass quality of Caspian trout (*Salmo caspius*)

Aftabgard M.<sup>1\*</sup>; Salarzadeh A.<sup>1</sup>; Mohseni M.<sup>2</sup>; Rastravan M.E.<sup>3</sup>; Bahri A.H.<sup>1</sup>; Zorriehzahra S.J.<sup>4</sup>; Najjar Lashgari S.<sup>3</sup>; Lashtoo Aghaee G.R.<sup>3</sup>

\*aftabgard.m@gmail.com

- 1- Department of Fisheries, College of Natural Resources, Bandar Abbas Branch, Islamic Azad University, Bandar Abbas, Iran
- 2- International Sturgeon Research Institute (ISRI), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Rasht, Iran
- 3- Coldwater Fishes Research Center (CFRC), Iranian Fisheries Science Research Institute (IFSRI), Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Tonekabon, Iran
- 4- Iranian Fisheries Science Research Institute (IFSRI), Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran

### Abstract

The present study aimed to investigate the effect of the commercial probiotic BetaPlus® Ultra (BP Ultra) in combination with the galacto-oligosaccharide (GOS) or the isomalto-oligosaccharide (IMO) prebiotics in Caspian trout (*Salmo caspius*) parr. *S. caspius* (8.5±0.07 g) was randomly distributed in three dietary treatments including: control group, synbiotic treatment I (0.1% BP Ultra + 0.2% GOS) and synbiotic treatment II (0.1% BP Ultra + 0.2% IMO) and in nine 300 L circular polyethylene tanks with three replications per treatment and, then, fed for seven weeks. At the end of this experiment, growth performance and hepatosomatic index improved significantly in both synbiotic treatments compared to the control group ( $p<0.05$ ). However, the trend of this improvement was more noticeable in the synbiotic treatment I compared to the synbiotic treatment II without any significant difference ( $p>0.05$ ). The counts of red and white blood cells in the both synbiotic treatments were significantly decreased and increased compared to the control group, respectively ( $P<0.05$ ). The values of hemoglobin, packed cell volume, and mean corpuscular hemoglobin in the synbiotic treatment I showed significant increases compared to the synbiotic treatment II ( $P<0.05$ ). The highest significant levels of crude protein and lipid in carcass were observed in the synbiotic treatment II and the synbiotic treatment I, respectively ( $P<0.05$ ). Dry matter of carcass was increased significantly in the synbiotic treatment I compared to the synbiotic treatment II ( $P<0.05$ ). The lowest ash content of carcass was observed in the synbiotic treatment I with a significant difference compared to the synbiotic treatment II and the control group ( $P<0.05$ ). The results of the present study demonstrated the remarkable efficiency of the synbiotic treatment II on the protein increase and lipid reduction in carcass, although the synbiotic treatment I had a better effect on growth performance and hematological parameters in *S. caspius*.

**Keywords:** Synbiotic, Hepatosomatic index, Hematological parameters, Body compositions, *Salmo caspius*

---

\*Corresponding author