تأثیر استفاده از پروبیوتیک *Lactococcus lactis* (PTCC 1403) و کیتین در جیره بر فاکتورهای خونی، بیوشیمیایی سرم و باکتری‌های دستگاه گوارش ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio* L.)

حسین برغمان[۱]، سکینه یگانه*[۱]، عبدالصمد کرامت امیرکلایی[۱]

*skyeganeh@gmail.com

۱-گروه شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران

تاریخ دریافت: تیر ۱۳۹۸ تاریخ پذیرش: شهریور ۱۳۹۸

چکیده

هدف از این تحقیق بررسی اثر استفاده از پروبیوتیک *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* و کیتین بر فاکتورهای خونی، سرمی و باکتری‌های دستگاه گوارش در جیره غذایی ماهی کپور معمولی بود. برای این منظور تعداد ۳۶۰ قطعه بچه‌ماهی با وزن ۱/۵±۱۲ گرم به صورت تصادفی در تانک‌های آزمایشی با تیمارهای طراحی شده بر اساس ترکیب کیتین با سطوح مختلف صفر، ۱ و ۲ درصد و پروبیوتیک صفر و ۲ درصد ($۱۰^{۷}$CFU/g ×۱) در جیره غذایی توزیع و به مدت ۸ هفته (۵۶ روز) پرورش داده شدند. تیمارهای آزمایش شامل شاهد (تیمار ۱)، پروبیوتیک ۲ درصد (تیمار ۲)، کیتین ۱ درصد (تیمار ۳)، کیتین ۲ درصد (تیمار ۴)، پروبیوتیک ۲ درصد+کیتین ۱ درصد (تیمار ۵) پروبیوتیک ۲ درصد+کیتین ۲ درصد (تیمار ۶) بود. در پایان آزمایش، فاکتورهای خونی شامل گلبول قرمز (RBC)، میانگین حجم گلبول قرمز (MCV)، میانگین هموگلوبین در گلبول قرمز (MCH)، میانگین غلظت هموگلوبین در گلبول قرمز (MCHC)، هماتوکریت (Hb)، هماتوکریت (HCT)، گلبول سفید (WBC)، لنفوسیت، ائوزینوفیل، منوسیت، فاکتورهای بیوشیمیایی سرم خون شامل پروتئین کل، آلبومین، گلوکز، کلسترول و تری‌گلیسرید و بار باکتریایی روده تعیین شدند. نتایج نشان داد که در RBC، MCV، MCH، MCHC، هموگلوبین، هماتوکریت، منوسیت در بین تیمارها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($p>۰/۰۵$)، اما بیشترین میزان WBC در تیمارهای ۵ و ۳ (به‌ترتیب 10^3 mm^3 ۱/۶۶±۱۸/۰۳، ۱/۴۹±۱۶/۸۶)، ، لنفوسیت در تیمارهای ۵ و ۲ (بترتیب ۴/۵۸±۷۰/۴۰، ۲/۶۵±۶۵/۰۰) و ائوزینوفیل در تیمارهای ۳ و ۶ (بترتیب ۱/۱۶±۲/۶۷، ۰/۵۸±۱/۶۷) مشاهده شد. در هیچ کدام از فاکتورهای بیوشیمیایی سرم بین تیمارهای آزمایشی و تیمار شاهد تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($p>۰/۰۵$)، اما بین تیمارهای حاوی پروبیوتیک و کیتین یا مخلوط آنها تفاوت معنی‌داری مشاهده شد ($p<۰/۰۵$). بار باکتریایی روده ماهیان در تیمارهای مختلف بجز تیمار ۶ بیشتر از تیمار شاهد بود ($p<۰/۰۵$) که بیشترین بار باکتریایی در تیمار ۴ (CFU/g ۲۵/۱۷±۶۵۳/۳۳) مشاهده شد. به طور کلی، می‌توان گفت که استفاده از ۲ درصد پروبیوتیک و یک درصد کیتین و استفاده توأم آنها می‌تواند گلبول سفید و بار باکتریایی روده را بهبود بخشد.

لغات کلیدی: کپور معمولی، *Lactococcus lactis*، کیتین، شاخص‌های خونی، بار باکتریایی روده

*نویسنده مسئول

مقدمه

کیتین با نام علمی n– استیل گلوکزامین یکی از فراوانترین پلی‌ساکاریدهای تجدید پذیر در طبیعت است که در پوسته سخت‌پوستان، کوتیکول حشرات و دیواره سلولی قارچ‌ها یافت می‌شود. این پلیمر از نظر ساختار مولکولی نامحلول در آب، حلال‌های آلی و محلول‌های اسیدی ضعیف (در محلول‌های اسیدی قوی به مقدار ناچیزی حل می‌شود)، غیر سمی، زیست تخریب‌پذیر، با میل کم به ترکیب شیمیایی و مشابه سلولز است، با این تفاوت که در موقعیت کربن شماره دو آن به جای گروه هیدروکسیل، گروه استامید قرار گرفته است (Harikrishnan *et al*., 2012؛ Marguerite, 2006). کیتین در طبیعت معمولاً به صورت کمپلکس با سایر پلی‌ساکاریدها و پروتئین‌ها مشاهده می‌شود (Shiau and Yu, 1999). پوسته میگو و خرچنگ منابع اصلی برای استخراج کیتین هستند (Rashidova *et al*., 2004). کیتین می‌تواند در بسیاری از صنایع مثل تصفیه فاضلاب و مهندسی آب، صنایع کاغذسازی و بسته‌بندی، صنایع نساجی، صنایع غذایی، کشاورزی، پزشکی، بیو پزشکی و مهندسی پزشکی و ... استفاده شود (Yen *et al*., 2009). کیتین در گیاهان، پستانداران، ماهیان و آبزیان پوسته‌دار به عنوان محرک ایمنی گزارش شده است (Harikrishnan *et al*., 2012).

پروبیوتیک *Lactococcus lactis* یک باکتری گرم مثبت، میله‌ای شکل به طور طبیعی در دستگاه گوارش پستانداران یافت می‌شود. هنگامی که این میکروارگانیسم به دستگاه گوارش معرفی شود، در امتداد دیواره روده شروع به فعالیت می‌کند و در اواسط مرحله گوارش کار خود را با شکستن کربوهیدارت‌ها و تبدیل آنها به ترکیبات شیمیایی مانند اسید لاکتیک و پراکسید هیدروژن شروع می‌کند. با انجام این کار محیط روده را از فعالیت باکتری‌های بیماری‌زا پاک می‌کند (اکبری نرگسی و همکاران، ۱۳۹۸؛ Yadav *et al*., 2009). پری‌بیوتیک‌ها کربوهیدارت‌های غیر قابل هضمی هستند که از طریق تحریک رشد یا فعال کردن یک یا تعداد محدودی از گونه‌های باکتریایی که در روده وجود دارند، اثرات سودمندی بر سلامتی میزبان دارند و باعث بهبود و تعادل میکروفلور روده می شوند و فعالیت دفاعی میزبان را بهبود می‌دهند. یکی از راهکارهای مؤثر جهت تقویت اثر پروبیوتیک‌ها، ترکیب آنها با پری‌بیوتیک‌ها به شکل مکمل‌های سین‌بیوتیک می‌باشد (Gibson and Robberfroid, 1995).

آبزی‌پروری با سرعت زیادی نسبت به سایر بخش‌های تولید پروتئین حیوانی در حال پیشرفت می‌باشد (خادمی حمیدی و همکاران، ۱۳۹۸). ماهی کپور معمولی (*C. carpio*) به طور وسیع و گسترده در اروپا، آسیا، خاورمیانه پرورش داده می‌شود و در حوضه‌های دریای خزر، رودخانه تجن و تمام حوضه‌های آبریز ایران پراکنش دارد. همه‌چیزخوار است و از موجودات ریز بستر آب، کرم‌ها، سخت‌پوستان، نوزاد و حتی فضولات حیوانی و گیاهی، لاشه حیوانات، تخم ماهیان و نوزادان خود، نیز مصرف می‌کند. در اروپا ورزش ماهیگیری در میان مردم بسیار محبوب می‌باشد (Jafarpour and Gorczyca, 2009).

با توجه به ماهیت کیتین که یک پلی‌ساکارید تغییر یافته مشابه سلولز غیرقابل هضم و به عنوان فیبر نامحلول با اثر پری‌بیوتیک و تقویت رشد باکتری‌های مفید روده می‌باشد (Stull *et al*., 2018; Selenius *et al*., 2018). این پژوهش بر این مبنا که ممکن است کیتین بتواند به عنوان پری‌بیوتیک، تأثیر پروبیوتیک *L. lactis* را بهبود بخشد، انجام گرفت و بازتاب آن بر فاکتورهای خونی، سرمی و باکتری‌های دستگاه گوارش مورد بررسی قرار گرفت. مطالعات متعددی در ارتباط با پروبیوتیک‌ها و پری‌بیوتیک‌ها و ترکیبی از آنها (سینبیوتیک) انجام شده است. در مطالعات محدود صورت‌گرفته تأثیر مثبت پروبیوتیک *L. lactis* بر شاخص‌های رشد و ایمنی در ماهی فلاندر (*Paralichthys olivaceus*) (Beck *et al*., 2015) و ماهی تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) به اثبات رسیده است (Zhou *et al*., 2010)، اما تحقیقی در ارتباط با تأثیر استفاده همزمان پروبیوتیک *L. lactis* و کیتین در جیره غذایی ماهی کپور معمولی انجام نشده است، لذا در این تحقیق مد نظر قرار گرفت.

مواد و روش کار

پروبیوتیک *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* (با کد PTCC 1403) از شرکت دانش‌بنیان تک ژن به صورت لیوفیلیزه و کیتین (استخراج شده از پوسته میگو) از شرکت بهین سرو کیتین مشهد خریداری شد و به منظور تهیه غلظت‌های پروبیوتیک *L. lactis*، ابتدا سوسپانسیون باکتری مورد نظر روی محیط کشت تریپتیک سوی آگار (TSA) کشت داده شد و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد گرم‌خانه گذاری شد. سپس از کلنی‌های کشت داده شده، با استفاده از استاندارد نیم مک فارلند و دستگاه اسپکتوفتومتری غلظت مورد نظر بر مبنای CFU/g با تعیین جذب نوری در طول موج ۶۰۰ نانومتر تعیین شد (Beck *et al*., 2015).

تهیه جیره و پرورش ماهی

جیره استفاده شده برای تغذیه ماهیان در این تحقیق از نمایندگی شرکت بیضاء واقع در شهر ساری (پروتئین ۳۷-۳۵ درصد، چربی ۸ درصد، فیبر ۵ درصد، رطوبت کمتر از ۱۰ درصد، خاکستر کمتر از ۱۰ درصد و بازهای ازته فرار کمتر از ۴۵ میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم) خریداری شد. کیتین و پروبیوتیک بر اساس درصدهای از قبل تعیین شده، به جیره پودر شده اضافه شد و کاملاً مخلوط شدند تا یکنواخت و همگن شوند. سپس آب بتدریج اضافه شد تا حدی که مخلوط، شکل خمیری

بخود گرفت. سپس مخلوط حاصل به کمک چرخ گوشت به صورت رشته‌هایی با قطر ۲ میلی‌متر درآمدند. رشته‌های خارج شده از چرخ گوشت در محیط آزمایشگاه به مدت ۴۸ ساعت خشک شدند. در زمان خشک‌شدن رشته‌های غذا به طور مرتب بهم زده شدند تا تمام رشته‌ها به طور یکنواخت خشک کردند. ترکیب تقریبی جیره‌های آزمایش (AOAC, 2005) در جدول ۱ ارائه شده است. پس از خشک‌شدن، جیره‌های غذایی خرد شدند تا اندازه مناسب پیدا کنند. سپس بسته‌بندی شده و تا زمان مصرف در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. همزمان با شروع فعالیت کارگاهی، مقدار غذای مورد نیاز به صورت روزانه از فریزر خارج می‌شد و مورد استفاده قرار می گرفت. غذادهی تا حد سیری ۳ بار در روز انجام و حدود ۳-۲ ساعت بعد از تغذیه، سیفون کردن مدفوع و جمع‌آوری غذای خورده نشده (در صورت وجود) صورت می‌گرفت. آب چاه قبل از ورود به تانک‌ها وارد تانک ذخیره می‌شد و هوادهی و سپس از مخزن ذخیره شده، به ۱۸ تانک فایبرگلاس ۳۰۰ لیتری (با حجم آبگیری ۲۵۰ لیتر) در سالن پرورش پمپاژ می‌شد. در طول دوره پرورش تعویض آب به صورت روزانه به میزان ۷۰-۵۰ درصد صورت می‌گرفت. جهت انجام آزمایش ۳۶۰ قطعه ماهی با وزن متوسط ۱/۵±۱۲ گرم از مرکز پرورش ماهی کپور معمولی واقع در روستایی در شهرستان ساری خریداری شده و به سالن پرورش ماهی در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری منتقل شدند. جهت سازگاری با شرایط محیطی، بچه‌ماهیان به مدت دو هفته در تانک‌ها نگهداری و سه بار در شبانه روز به میزان سیری با جیره غذایی تهیه شده از شرکت بیضاء شیراز (جیره شاهد) تغذیه شدند. تیمارهای آزمایش بر اساس سطوح مختلف کیتین شامل صفر، ۱ و ۲ درصد و سطوح مختلف پروبیوتیک *L. lactis* شامل صفر و ۲ درصد (CFU/g $۱۰^{۷}$ × ۱) در جیره‌ی غذایی به صورت تیمار ۱: شاهد، تیمار ۲: پروبیوتیک ۲ درصد، تیمار ۳: کیتین ۱ درصد، تیمار ۴: کیتین ۲ درصد، تیمار ۵: پروبیوتیک ۲ درصد+ کیتین ۱ درصد، تیمار ۶: پروبیوتیک ۲ درصد+ کیتین ۲ درصد تنظیم شدند. ۲۰ قطعه ماهی به طور تصادفی در هر تیمار و هر تیمار با ۳ تکرار توزیع و سپس بیومتری اولیه از هر تانک انجام شد.

جدول ۱: ترکیب تقریبی جیره‌های آزمایش

Table 1:. Proximate composition of experimental diet

ترکیبات (درصد)	تیمارهای آزمایش					
	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ۴	تیمار ۵	تیمار ۶
پروتئین	۳۶/۷۳	۳۶/۹۲	۳۷/۲۲	۳۶/۶	۳۶/۹	۳۶/۷۵
چربی	۷/۸۲	۸/۱۱	۷/۷۲	۷/۸۵	۸/۰۵	۷/۷۸
رطوبت	۹/۸۹	۹/۶۹	۹/۶۸	۱۰/۲	۹/۵۸	۹/۷۸
خاکستر	۹/۷۳	۹/۶۱	۹/۴۸	۹/۹۳	۹/۷۳	۹/۶۸

تیمار ۱: شاهد، تیمار ۲: پروبیوتیک ۲ درصد، تیمار ۳: کیتین ۱ درصد، تیمار ۴: کیتین ۲ درصد، تیمار ۵: پروبیوتیک ۲ درصد+کیتین ۱ درصد، تیمار ۶: پروبیوتیک ۲ درصد+کیتین ۲ درصد

اندازه‌گیری معیارهای کیفی آب

میانگین دما به صورت روزانه در دو نوبت صبح و عصر بوسیله دماسنج ثبت گردید. سایر شاخص‌های کیفی آب از قبیل اکسیژن (اکسیژن‌متر AQUA LYTIC -AL15، ساخت کشور آلمان)،pH (pH متر AQUA LYTIC -AL15، ساخت کشور آلمان)،TDS و شوری (Senciun5- Hach، ساخت کشور امریکا) به صورت دوره‌ای اندازه‌گیری گردیدند و بترتیب: ۹/۲±۲۸/۲ درجه سانتی‌گراد، ۰/۳±۷/۳۱ میلی‌گرم بر لیتر، ۶/۵±۷/۰، ۲۳/۷±۶۳۱/۱۸ میلی‌گرم بر لیتر کربنات کلسیم و ۰/۰± ۰/۶ گرم بر لیتر بودند.

تعیین فاکتورهای خونی و سرمی

برای اندازه‌گیری فاکتورهای خونی و سرمی در روز سی‌ام و پایان دوره آزمایش از هر تیمار ۹ قطعه ماهی (سه قطعه از هر تکرار) به صورت تصادفی انتخاب و پس از بیهوشی با پودر گل میخک (۰/۵گرم در لیتر)، با استفاده از سرنگ cc ۲ از ساقه دمی ماهی خون‌گیری شد. پس از خون‌گیری بخشی از خون به لوله حاوی EDTA (برای تعیین فاکتورهای خونی) تخلیه و بخش دیگر خون در لوله آزمایش بدون EDTA (برای تعیین فراسنجه‌های سرمی) تخلیه شد. بررسی فاکتورهای خونی در همان روز نمونه‌گیری انجام گرفت. خونی که در لوله آزمایش ریخته شد نیز پس از اینکه ۲ ساعت ساکن ماند به مدت ۱۰ دقیقه در دستگاه سانتریفوژ با دور ۳۵۰۰ دور در دقیقه قرار گرفت تا سرم خون جدا شود. سپس سرم خون به میکروتیوپ‌های ۱ میلی‌لیتری منتقل و در فریزر در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد تا آزمایش‌های سرمی بر آن انجام گیرد (Yarmohammadi *et al.*, 2012). شمارش گلبول قرمز (RBC) و شمارش گلبول سفید (WBC) بر اساس

روش Hoston (۱۹۹۰) و غلظت هموگلوبین (Hb) و میزان هماتوکریت (HCT) بر اساس روش Drabkin (۱۹۴۵) صورت گرفت. شمارش گلبول قرمز و سفید خون با استفاده از لام هماسیتومتر انجام شد. اندازه‌گیری میزان هماتوکریت خون توسط میکروهماتوکریت صورت گرفت. همچنین میانگین حجم گلبول قرمز (MCV)، میانگین هموگلوبین در گلبول قرمز (MCH) و میانگین غلظت هموگلوبین در گلبول قرمز (MCHC) بر اساس روابط ذیل محاسبه شد (Yeganeh *et al*., 2016).

$$(MCV) = (Hct \div RBC) \times 10$$
$$(MCH) = (Hb \div RBC) \times 10$$
$$(MCHC) = (Hb \div Hct) \times 100$$

شاخص‌های سرمی مختلف از قبیل پروتئین تام بر اساس روش Lowry و همکاران (۱۹۵۲)، آلبومین بر اساس روش Wotton وFreeman (۱۹۸۲)، گلوکز، کلسترول و تری‌گلیسیرید بر اساس روش Trinder (۱۹۶۹) با استفاده از کیت‌های شرکت زیست‌شیمی انجام شد.

شمارش باکتری‌های دستگاه گوارش

برای بدست آوردن روده ماهی برای شمارش کلونی‌های باکتریایی، ۲۴ ساعت قبل از انجام آزمایش غذادهی به ماهیان قطع شد. ماهیان کشته شده با الکل ۷۰ درصد ضدعفونی، حفره شکمی باز شده و پس از خروج امعاء و احشاء، روده هموژن شد و ۱ گرم از نمونه به نسبت ۱ به ۱۰ با سرم فیزیولوژی ترکیب و به مدت ۵ دقیقه بهم زده و تکان داده شدند. عمل رقیق‌سازی ۷ بار تکرار شد و در آخر ۰/۱ میلی‌لیتر نمونه حاصله به پتری دیش حاوی محیط با روش پخش کردن منتقل شد و به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور با دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. کلونی‌های ایجاد شده در محیط کشت توسط دستگاه کلونی‌شمار محاسبه شدند (Adel *et al*., 2017e).

روش تجزیه و تحلیل آماری داده ها

این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با آزمایش فاکتوریل ۲ در ۳ با دو سطح پروبیوتیک صفر و ۲ درصد (۱×۱۰^{۷}Cfu/g) و سه سطح کیتین صفر، ۱و ۲ درصد انجام شد. بررسی نرمال-بودن داده‌ها از طریق آزمون Shapiro wilk صورت گرفت. تجزیه و تحلیل داده‌های بدست آمده به روش آنالیز واریانس دو طرفه انجام شد. با توجه به عدم تأثیر معنی‌دار متقابل متغیرها بر فاکتورهای مورد اندازه‌گیری (بجز بار باکتریایی)، تجزیه و تحلیل داده‌ها به روش آنالیز واریانس یک طرفه انجام و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون آماری دانکن در سطح احتمال ۹۵ درصد استفاده شد. از نرم‌افزار SPSS ۲۲ برای آنالیز استفاده شد.

نتایج

شاخص‌های خونی در چهار هفته اول پرورش

با توجه به داده‌های مربوط به فراسنجه‌های خونی پس از ۴ هفته پرورش، در شاخص‌های RBC، HCT و MCV تفاوت معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد ($p>۰/۰۵$). در سایر شاخص‌ها بین تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری مشاهده گردید ($p<۰/۰۵$). Hb در تیمار شاهد و تیمار ۳ بیشترین مقدار و میانگین MCH در تیمار ۳ بیشترین مقدار و هر دو شاخص در تیمار ۶ کمترین مقدار را نشان داد ($p<۰/۰۵$). در میزان Hb تیمار ۳ و ۶ با هم و در MCH تیمار شاهد و ۳ با تیمار ۶ با هم تفاوت معنی‌دار داشت ($p<۰/۰۵$). اما با سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری نشان ندادند ($p>۰/۰۵$). بیشترین میزان MCHC در تیمار ۳ بدست آمد که با تیمارهای ۴، ۵ و ۶ تفاوت معنی‌داری داشت ($p<۰/۰۵$). با تیمارهای شاهد و ۲ تفاوت معنی‌داری مشاهده نگردید ($p>۰/۰۵$). بیشترین میزان WBC در تیمارهای ۳ و ۵ مشاهده شد ($p<۰/۰۵$) که با تیمار شاهد تفاوت معنی‌داری نشان نداد، سایر تیمارها نیز تفاوت معنی‌داری با شاهد نشان ندادند ($p>۰/۰۵$). در میزان ائوزینوفیل و منوسیت در تیمارهای مختلف، تفاوت معنی‌داری مشاهده نگردید ($p>۰/۰۵$). بیشترین میزان لنفوسیت در تیمار ۵ مشاهده شد که فقط با تیمار ۶ تفاوت معنی‌دار داشت (جدول ۲، $p<۰/۰۵$).

شاخص‌های خونی در پایان دوره پرورش

در پایان دوره پرورش در مقدار RBC، HCT، HB، MCV، MCH، MCHC و منوسیت تفاوت معنی‌داری مشاهده نگردید ($p>۰/۰۵$). بیشترین میزان WBC در تیمار ۳ و ۵ مشاهده شد ($p<۰/۰۵$) و سایر تیمارها با هم تفاوت معنی‌داری نشان ندادند ($p>۰/۰۵$). بیشترین میزان لنفوسیت در تیمار ۵ مشاهده شد ($p<۰/۰۵$)، که با تیمار ۲ تفاوت معنی‌داری نشان نداد ($p>۰/۰۵$). میزان ائوزینوفیل در تیمار ۳ بیشتر از سایر تیمارها بجز تیمار ۶ بدست آمد (جدول ۳، $p<۰/۰۵$).

شاخص‌های سرمی در پایان چهار هفته اول پرورش

در میزان پروتئین تام و کلسترول بین تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری مشاهده نگردید ($p>۰/۰۵$). میزان گلوگز در بین تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری را نشان داد ($p<۰/۰۵$)، به این صورت که کمترین میزان آن در تیمار ۵ بدست آمد. این تیمار با تیمارهای ۱ و ۳ تفاوت معنی‌دار نشان داد ($p<۰/۰۵$)، اما با سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری نشان نداد ($p>۰/۰۵$). در میزان آلبومین در بین تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری مشاهده گردید ($p<۰/۰۵$). کمترین میزان آلبومین در تیمار ۶ مشاهده شد ($p<۰/۰۵$) که بجز تیمار شاهد و ۴ با سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری نداشت ($p>۰/۰۵$).

جدول ۲: شاخص‌های خونی در بچه‌ماهی کپور معمولی تغذیه شده با سطوح مختلف پروبیوتیک *L. lactis* و کیتین در چهار هفته اول آزمایش

Table 2: Blood indices in Common carp fingerlings fed with different levels of probiotic *L. lactis* and chitin after four weeks of experiment

شاخص / تیمار	تیمار ۱ (شاهد)	تیمار ۲ (پروبیوتیک۲ درصد)	تیمار ۳ (کیتین ۱درصد)	تیمار ۴ (کیتین ۲ درصد)	تیمار ۵ (پروبیوتیک ۲+ کیتین ۱ درصد)	تیمار ۶ (پروبیوتیک ۲+ کیتین ۲ درصد)
HB (g/dl)	۱۱/۰۰±۱/۱۷^{ab}	۱۰/۲۷±۱/۱۵^{ab}	۱۲/۰۵±۰/۸۸^{b}	۱۱/۲۹±۱/۰۷^{ab}	۱۰/۴۶±۰/۴۴^{ab}	۹/۵۶±۱/۲۵^{a}
HCT (درصد)	۳۵/۷۷±۴/۲۰^{a}	۳۱/۶۶±۴/۴۲^{a}	۳۱/۶۷±۷/۷۵^{a}	۳۸/۰۰±۲/۲۹^{a}	۳۸/۳۳±۰/۷۶^{a}	۳۲/۱۰±۲/۱۶^{a}
RBC (10^6 mm^3)	۲/۸۷±۰/۴۰^{a}	۲/۷۶±۰/۷۹^{a}	۲/۸۹±۰/۲۳^{a}	۳/۰۲±۰/۲۱^{a}	۲/۹۰±۰/۱۱^{a}	۳/۲۳±۰/۲۶^{a}
MCV (Fl)	۱۲۴/۷۵±۲۳/۴۰^{a}	۱۲۵/۲۴±۲۹/۷۷^{a}	۱۰۸/۰۴±۱۸/۷۹^{a}	۱۲۵/۸۸±۷/۳۳^{a}	۱۳۳/۰۵±۵/۰۶^{a}	۹۹/۷۰±۱۴/۲۸^{a}
MCH (Pg)	۳۸/۶۷±۶/۶۶^{b}	۳۷/۳۳±۶/۶۰^{ab}	۴۱/۶۱±۱/۲۰^{b}	۳۷/۶۳±۵/۹۱^{ab}	۳۵/۱۶±۱/۰۳^{ab}	۲۹/۵۰±۱/۶۲^{a}
MCHC (درصد)	۳۰/۷۳±۱/۴۳^{ab}	۳۱/۳۶±۶/۴۹^{ab}	۳۹/۱۷±۶/۹۱^{b}	۲۹/۷۸±۳/۳۳^{a}	۲۶/۹۸±۱/۱۷^{a}	۲۹/۹۸±۵/۴۱^{a}
WBC (10^3 mm^3)	۱۴/۶۷±۳/۵۵^{ab}	۱۰/۵۳±۱/۱۹^{a}	۱۹/۶۱±۵/۱۶^{b}	۱۲/۴۳±۳/۳۹^{a}	۱۹/۷۷±۳/۹۴^{b}	۱۰/۷۲±۱/۱۱^{a}
لنفوسیت	۵۴/۶۷±۲/۰۸^{ab}	۶۲/۶۷±۵/۵۱^{b}	۵۰/۳۳±۵/۸۶^{ab}	۵۹/۶۷±۱۴/۷۴^{b}	۶۵/۶۷±۱۳/۵۰^{b}	۴۱/۶۷±۶/۶۶^{a}
ائوزینوفیل	۲/۳۳±۱/۱۶^{a}	۲/۰۰±۱/۰۰^{a}	۲/۰۰±۱/۰۰^{a}	۲/۳۳±۱/۱۶^{a}	۱/۳۳±۰/۵۸^{a}	۲/۳۳±۱/۵۲^{a}
منوسیت	۱/۶۷±۱/۱۶^{a}	۲/۰۰±۱/۰۰^{a}	۱/۳۳±۰/۵۸^{a}	۲/۶۷±۱/۵۲^{a}	۱/۶۷±۰/۵۸^{a}	۱/۳۳±۰/۵۸^{a}

*اعداد به صورت میانگین±انحراف معیار، حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در بین تیمارها می‌باشد (p<۰/۰۵).

جدول ۳: شاخص‌های خونی در بچه‌ماهی کپور معمولی تغذیه شده با سطوح مختلف پروبیوتیک *L. lactis* و کیتین در پایان دوره آزمایش

Table 3: Blood indices in Common carp fingerlings fed with different levels of probiotic *L. lactis* and chitin at the end of experimental period.

شاخص / تیمار	تیمار ۱ (شاهد)	تیمار ۲ (پروبیوتیک ۲ درصد)	تیمار ۳ (کیتین ۱ درصد)	تیمار ۴ (کیتین ۲ درصد)	تیمار ۵ (پروبیوتیک ۲+ کیتین ۱ درصد)	تیمار ۶ (پروبیوتیک ۲ + کیتین ۲ درصد)
HB (g/dl)	۱۱/۰۲±۰/۰۶^{a}	۱۱/۹۹±۱/۱۲^{a}	۱۰/۶۹±۲/۴۲^{a}	۱۱/۸۶±۰/۸۶^{a}	۱۱/۶۳±۱/۲۴^{a}	۱۰/۳۴±۰/۸۷^{a}
HCT (درصد)	۳۱/۷۲±۴/۳۴^{a}	۳۲/۶۳±۱/۷۸^{a}	۳۶/۲۹±۲/۲۴^{a}	۳۲/۸۰±۰/۸۰^{a}	۳۶/۴۹±۳/۶۲^{a}	۳۳/۴۳±۱/۹۱^{a}
RBC(10^6 mm^3	۲/۶۹±۰/۲۰^{a}	۳/۰۳±۰/۲۹^{a}	۲/۹۷±۰/۴۲^{a}	۲/۵۴±۰/۳۸^{a}	۳/۰۳±۰/۳۱^{a}	۳/۱۴±۰/۱۲^{a}
MCV (Fl)	۱۱۷/۴۲±۱۰/۰۲^{a}	۱۱۰/۳۹±۶/۴۶^{a}	۱۲۲/۵۳±۱۳/۳۶^{a}	۱۱۳/۸۹±۱۸/۹۶^{a}	۱۲۰/۸۴±۸/۳۴^{a}	۱۰۵/۸۰±۱۲/۴۴^{a}
MCH (Pg)	۴۱/۰۴±۳/۲۳^{a}	۴۰/۰۴±۷/۸۵^{a}	۳۸/۴۹±۴/۱۷^{a}	۴۱/۵۵±۳/۴۱^{a}	۳۸/۹۶±۸/۰۸^{a}	۳۳/۷۹±۵/۲۹^{a}
MCHC (درصد)	۳۳/۵۳±۳/۲۵^{a}	۳۶/۹۰±۴/۵۲^{a}	۲۹/۳۱±۵/۱۲^{a}	۳۶/۸۷±۳/۰۳^{a}	۳۲/۱۷±۵/۰۸^{a}	۳۱/۸۵±۱/۲۱^{a}
WBC (10^3 mm^3)	۱۳/۴۰±۰/۹۲^{a}	۱۲/۸۷±۰/۴۲^{a}	۱۶/۸۶±۱/۴۹^{b}	۱۳/۰۷±۱/۵۷^{a}	۱۸/۰۳±۱/۶۶^{b}	۱۲/۸۲±۰/۷۱^{a}
لنفوسیت	۵۹/۶۷±۳/۰۵^{ab}	۶۵/۰۰±۲/۶۵^{bc}	۶۱/۰۰±۴/۵۸^{ab}	۵۷/۳۳±۴/۰۴^{a}	۷۰/۴۰±۴/۵۸^{c}	۵۴/۰۰±۷/۷۱^{a}
ائوزینوفیل	۱/۰۰±۰/۰۰^{a}	۱/۰۰±۰/۰۰^{a}	۲/۶۷±۱/۱۶^{b}	۰/۶۷±۰/۵۸^{a}	۱/۳۳±۰/۵۸^{a}	۱/۶۷±۰/۵۸^{ab}
منوسیت	۲/۳۳±۱/۵۳^{a}	۲/۰۰±۱/۰۰^{a}	۳/۰۰±۱/۰۰^{a}	۱/۶۷±۱/۱۶^{a}	۲/۶۷±۰/۵۸^{a}	۲/۰۰±۱/۰۰^{a}

*اعداد به صورت میانگین± انحراف معیار، حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در بین تیمارها می‌باشد (p<۰/۰۵).

بیشترین میزان تری‌گلیسرید در تیمار ۶ و ۳ بدست آمد (p<۰/۰۵) که با تیمارهای ۲ و ۵ تفاوت معنی‌داری نداشت، اما با تیمار شاهد و سایر تیمارها تفاوت معنی‌دار داشت (p<۰/۰۵) و کمترین میزان آن در تیمار ۴ بدست آمد که با تیمار شاهد تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول ۴، p>۰/۰۵).

شاخص‌های سرمی در پایان دوره پرورش

در پایان دوره پرورش در میزان آلبومین بین تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری مشاهده نگردید (p>۰/۰۵). میزان گلوگز بین تیمارها تفاوت معنی‌داری نشان داد (p<۰/۰۵). بیشترین میزان گلوکز در تیمار ۲ بدست آمد (p<۰/۰۵) که با تیمارهای ۳ و ۴ تفاوت معنی‌دار نداشت (p>۰/۰۵) و با تیمار شاهد و سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری داشت (p<۰/۰۵). بین تیمارهای شاهد، ۳، ۴، ۵ و ۶ تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (p>۰/۰۵).

میزان پروتئین تام بین تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری نشان داد ($p<0/05$). به این صورت که بین تیمار ۶ با تیمار ۴ تفاوت معنی‌داری مشاهده گردید ($p<0/05$)، ولی با سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری مشاهده نگردید ($p>0/05$).

جدول ۴: شاخص‌های بیوشیمیایی سرم در بچه‌ماهیان کپور معمولی تغذیه شده با سطوح مختلف پروبیوتیک *L. lactis* و کیتین در چهار هفته اول آزمایش

Table 4: Serum biochemical indices in Common carp fingerlings fed with different levels of probiotic *L. lactis* and chitin after four weeks of experiment.

شاخص / تیمار	تیمار ۱ (شاهد)	تیمار ۲ (پروبیوتیک۲ درصد)	تیمار ۳ (کیتین ۱درصد)	تیمار ۴ (کیتین۲ درصد)	تیمار ۵ (پروبیوتیک ۲ + کیتین ۱ درصد)	تیمار ۶ (پروبیوتیک ۲+ کیتین ۲ درصد)
گلوگز (mg/dl)	۵۶/۶۰±۱۰/۹۳^{b}	۵۱/۴۳±۳/۵۶^{ab}	۵۶/۶۶±۳/۷۷^{b}	۵۰/۱۴±۴/۳۱^{ab}	۴۱/۷۷±۶/۳۳^{a}	۵۱/۳۰±۶/۴۳^{ab}
پروتئین تام (g/dl)	۴/۶۵±۰/۸۶^{a}	۴/۷۹±۰/۴۳^{a}	۴/۳۷±۰/۲۸^{a}	۴/۶۶±۰/۶۴^{a}	۴/۱۷±۰/۴۰^{a}	۴/۴۱±۰/۳۱^{a}
آلبومین (g/dl)	۰/۶۴±۰/۰۴^{c}	۰/۵۱±۰/۰۳^{ab}	۰/۵۴±۰/۰۴^{ab}	۰/۵۷±۰/۰۵^{bc}	۰/۵۴±۰/۰۳^{ab}	۰/۴۸±۰/۰۳^{a}
تری‌گلیسرید (mg/dl)	۳۳۰/۷۸±۲۶/۳۰^{ab}	۳۴۹/۴۸±۱۶/۴۰^{bc}	۳۷۸/۰۴±۱۱/۹۷^{c}	۳۰۳/۴۹±۱۹/۹۹^{a}	۳۵۳/۹۲±۶/۰۷^{bc}	۳۷۶/۲۵±۴۱/۰۳^{c}
کلسترول (mg/dl)	۱۲۸/۸۰±۹/۷۳^{a}	۱۲۶/۲۷±۲۸/۴۰^{a}	۱۴۲/۷۱±۱۸/۳۸^{a}	۱۵۴/۵۰±۹/۸۰^{a}	۱۴۲/۶۹±۱۴/۵۳^{a}	۱۳۰/۵۷±۱۸/۵۷^{a}

*اعداد به صورت میانگین ± انحراف معیار، حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در بین تیمارها می‌باشد ($p<0/05$).

همچنین بین تیمار ۴ با تیمار ۶ تفاوت معنی‌داری مشاهده گردید ($p<0/05$)، ولی با سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری مشاهده نگردید ($p>0/05$). میزان تری‌گلیسرید و کلسترول بین تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری نشان داد ($p<0/05$). بیشترین میزان این دو شاخص در تیمار ۳ مشاهده شد که در مورد تری‌گلیسرید بجز تیمار ۵ با سایر تیمارها تفاوت معنی‌دار نشان داد ($p<0/05$) و در مورد کلسترول بجز تیمارهای ۴ و ۵ با سایر تیمارهای تفاوت معنی‌دار نشان داد (جدول ۵، $p<0/05$).

بار باکتریایی روده

در پایان دوره پرورش تعداد کلونی باکتریایی موجود در روده بچه‌ماهیان تیمار شاهد و ۶ تفاوت معنی‌داری نداشت ($p>0/05$)؛ اما سایر تیمارها با هم و با این دو تیمار تفاوت معنی‌داری داشتند ($p<0/05$) بطوریکه تیمارهای ۴، ۳، ۲ و ۵ بترتیب بیشترین تعداد کلونی باکتریایی را نشان دادند (جدول ۶، $p<0/05$).

جدول ۵: شاخص‌های بیوشیمیایی سرم در بچه‌ماهیان کپور معمولی تغذیه شده با سطوح مختلف پروبیوتیک *L. lactis* و کیتین در پایان دوره آزمایش

Table 5: Serum biochemical indices in Common carp fingerlings fed with different levels of probiotic *L. lactis* and chitin at the end of experimental period.

شاخص / تیمار	تیمار ۱ (شاهد)	تیمار ۲ (پروبیوتیک ۲ درصد)	تیمار ۳ (کیتین ۱ درصد)	تیمار ۴ (کیتین ۲ درصد)	تیمار ۵ (پروبیوتیک ۲+ کیتین ۱ درصد)	تیمار ۶ (پروبیوتیک ۲+ کیتین ۲ درصد)
گلوگز (mg/dl)	۵۵/۶۶±۲/۰۵^{a}	۶۷/۱۳±۱/۱۶^{b}	۶۱/۸۱±۷/۴۷^{ab}	۶۱/۷۸±۸/۱۰^{ab}	۵۴/۹۱±۴/۹۱^{a}	۵۲/۶۱±۴/۱۶^{a}
پروتئین تام (g/dl)	۴/۲۴±۰/۷۱^{ab}	۳/۸۴±۰/۲۲^{ab}	۴/۱۸±۰/۲۹^{ab}	۴/۳۹±۰/۴۱^{b}	۴/۱۹±۰/۴۱^{ab}	۳/۵۱±۱/۴۶^{a}
آلبومین (g/dl)	۰/۶۶±۰/۱۹^{a}	۰/۶۰±۰/۱۴^{a}	۰/۷۵±۰/۲۵^{a}	۰/۷۳±۰/۱۶^{a}	۰/۷۷±۰/۲۱^{a}	۰/۶۶±۰/۲۸^{a}
تری‌گلیسرید (mg/dl)	۲۴۶/۳۱±۸/۳۷^{ab}	۲۳۳/۴۷±۹/۳۳^{a}	۳۰۹/۵۰±۳۶/۵۰^{c}	۲۵۵/۷۶±۱۲/۴۱^{ab}	۲۹۲/۰۷±۸/۰۶^{bc}	۲۴۲/۹۷±۵/۸۳^{ab}
کلسترول (mg/dl)	۳۲۲/۸۸±۳۲/۵۵^{a}	۳۳۰/۳۲±۱۳/۰۶^{ab}	۴۰۶/۱۴±۱۶/۷۸^{c}	۳۹۰/۸۵±۲۷/۳۲^{bc}	۳۹۱/۸۹±۲۱/۰۲^{bc}	۳۳۰/۴۲±۶۵/۰۸^{ab}

*اعداد به صورت میانگین ± انحراف معیار، حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در بین تیمارها می‌باشد ($p<0/05$).

جدول ۶: تعداد کلونی باکتریایی موجود در روده بچه‌ماهیان کپور معمولی تغذیه شده با سطوح مختلف پروبیوتیک *L. lactis* و کیتین در پایان دوره آزمایش

Table 6: The bacterial colony count of Common carp fingerlings fed with different levels of probiotic *L. lactis* and chitin at the end of experimental period.

شاخص / تیمار	تیمار ۱ (شاهد)	تیمار ۲ (پروبیوتیک ۲ درصد)	تیمار ۳ (کیتین ۱ درصد)	تیمار ۴ (کیتین ۲ درصد)	تیمار ۵ (پروبیوتیک ۲+ کیتین ۱ درصد)	تیمار۶ (پروبیوتیک ۲+ کیتین ۲ درصد)
کلونی باکتریایی (FU/g	۴۶/۰۰±۱۵/۱۰^{a}	۲۹۵/۶۷±۱۹/۴۰^{c}	۳۸۳/۳۳±۱۸/۲۰^{d}	۶۵۳/۳۳±۲۵/۱۷^{e}	۱۲۳/۰۰±۲۲/۹۱^{b}	۵۶/۳۳±۱۸/۷۸^{a}

*اعداد به صورت میانگین ± انحراف معیار، حروف کوچک در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در بین تیمارها می‌باشد (p<۰/۰۵).

بحث

فاکتورهای خونی، شاخص‌های مهمی برای وضعیت ماهی و سلامت آن بویژه در زمان استفاده از افزودنی‌های غذایی می‌باشند (Abu-Elala *et al*., 2013). شاخص‌های خونی در ماهیان می‌تواند متأثر از مواردی چون گونه پرورشی، اندازه، سن، وضعیت فیزیولوژیک، شرایط محیطی و رژیم غذایی باشد (Kori-Siakpere *et al*., 2005؛ Adel *et al*., 2017d). فرمولاسیون جیره‌های غذایی، نوع پروبیوتیک مصرفی، درجه خلوص پروبیوتیک مصرفی، مقدار پروبیوتیک مصرفی، روش‌های مختلف اضافه کردن مواد افزودنی به جیره به طور قابل ملاحظه‌ای بر ویژگی‌های خونی اثر می‌گذارند (ایری و همکاران، ۱۳۹۴؛ ایمان‌پور و روحی، ۱۳۹۴). نتایج تحقیق حاضر در دو مرحله خون‌گیری نشان داد که بین اکثر شاخص‌های خونی تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. بر این اساس شاید بتوان گفت به دلیل یکسان بودن غذای مورد استفاده در تیمارها که تنها تفاوت در مقدار پروبیوتیک و کیتین بود، این افزودنی‌ها بر شاخص‌های خونی ماهی کپور معمولی تأثیرگذار نبود. Adel و همکاران (۲۰۱۷C) با افزودن ۲ درصد پری‌بیوتیک گروبیوتیک (پری‌بیوتیک تجاری محتوی مخمر اتولیز شده، ترکیبات اجزا لبنی، و محصول تخمیری خشک) به جیره افزایش RBC، HB و HCT در فیل‌ماهی (*Huso huso*) مشاهده نمودند. Misra و همکاران (۲۰۰۶) و Kühlwein و همکاران (۲۰۱۴) افزایش معنی‌داری را در فاکتورهای خون‌شناسی ماهی کپور هندی (*Labeo rohita*) و کپور آیینه‌ای (*Cyprinus carpio*) تغذیه شده با بتاگلوکان مشاهده نکردند. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که در مقدار لنفوسیت در پایان آزمایش در تیمار حاوی پروبیوتیک ۲ درصد همراه با کیتین یک درصد افزایش معنی‌داری نشان داد که می‌تواند نشات گرفته از تأثیر این دو افزودنی بر روده ماهیان باشد. Panigrahi و همکاران (۲۰۰۴) گزارش کردند که باکتری *L. lactis* با افزایش فعالیت لیزوزیم، راه میانبر کمپلمان سرم و بیگانه‌خواری گلبول‌های سفید کلیه قدامی، سبب تحریک ایمنی ذاتی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌شود. افزودن این پروبیوتیک به جیره ماهیان باعث افزایش ایمنی در نتیجه افزایش مقدار لنفوسیت خون می‌شود. اطلاعات نسبتاً زیادی در ارتباط با پری‌بیوتیک‌ها و پروبیوتیک‌ها به عنوان محرک‌های ایمنی وجود دارد (Hoseinifar *et al*., 2011; Taati *et al*., 2011; 2012). در تحقیق حسینی و همکاران (۱۳۹۲) گزارش شد که افزودن پروبیوتیک *Pediococcus acidilactici* نیز بر HCT، MCHC و MCH خون ماهی آزاد دریای خزر تفاوت معنی‌داری ایجاد نکرد. پری‌بیوتیک الیگو فروکتوز بر RBC، MCV، MCH، MCHC، HCT و Hb ازون برون (*Acipenser stellatus*) تأثیر معنی‌داری نشان نداد، اما شمارش افتراقی گلبولهای سفید خون تحت تأثیر این پری‌بیوتیک قرار گرفت (ایری و همکاران، ۱۳۹۴). در مطالعه Mehrabi و همکاران (۲۰۱۸) استفاده از پروبیوتیک پریمالاک، پری‌بیوتیک ایمنووال و استفاده توام آنها تأثیر معنی‌داری بر RBC ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) نداشت ولی HCT را کاهش داد. همچنین تأثیر معنی‌داری بر سایر فاکتورهای خونی شامل MCV، MCH، MCHC، لنفوسیت، منوسیت، هتروسیت و ائوزینوفیل داشت. اگرچه افزودن پریمالاک WBC را افزایش داد، اما پری‌بیوتیک ایمنووال آن را کاهش داد و تأثیر استفاده توام آنها با مقدار ۱/۵ گرم موجب افزایش معنی‌دار WBC گردید. فاکتورهایی مانند عوامل محیطی، فصول سال، شوری، دوره نوری، درجه‌حرارت و تراکم، عوامل فیزیولوژیک گونه آبزی، چرخه تولید مثلی و وضعیت بلوغ، سن، جنس و شرایط تغذیه‌ای، زمان نمونه‌گیری، چگونگی تهیه نمونه، دقت و حساسیت روش‌های اندازه‌گیری، می‌توانند بر فعالیت فراسنجه‌های خونی تأثیر بگذارند (ایری و همکاران، ۱۳۹۴). پری‌بیوتیک‌ها کربوهیدرات‌های غیر قابل هضمی می‌باشند که به طور انتخابی رشد و متابولیسم باکتری‌های عامل سلامتی موجود را در روده میزبان تقویت می‌کنند (Gibson and Roberfroid, 1995) و با تقویت رشد و سلامت باکتری‌های لاکتیک اسید، ازدیاد میکروارگانیزم‌های بیماری‌زا را کاهش می‌دهند (Schley and Field, 2002). پروبیوتیک به معنی مکمل میکروبی زنده‌ای است که با متعادل‌نمودن فلور میکروبی دستگاه گوارش، سلامت میزبان را افزایش می دهد و اثرات مفیدی بر واکنش‌های فیزیولوژیک موجود زنده دارد (Askarian *et al*., 2011).

آنالیزهای بیوشیمیایی کلینیکی برای کشف اختلالات متابولیک و بیماری‌های زیرکشندگی که بر میزان تولید مؤثرند، گسترش یافته‌اند (Shalaby *et al*., 2006). پروتئین تام یک پارامتر وابسته به منظور ارزیابی وضعیت فیزیولوژیک ماهی است و یک ابزار کمکی تشخیصی محسوب می‌شود. از سویی، میزان پروتئین تام و آلبومین می‌تواند وضعیت تغذیه و سلامتی ماهی را به تصویر کشد (Svetina *et al*., 2002). نتایج تحقیق حاضر نشان داد که استفاده از پروبیوتیک و کیتین در سطوح مختلف مورد مطالعه در پایان آزمایش تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد نداشت، اگرچه در ۴ هفته اول پرورش میزان آلبومین تفاوت معنی‌داری نشان داد. تغییر در میزان پروتئین و آلبومین افزایش نسبتاً زیادی در ایمنی ذاتی را منعکس می‌نماید. به عبارت دیگر، افزایش در غلظت پروتئین تام و آلبومین می‌تواند به علت واکنش‌های غیراختصاصی قوی‌تر در ماهی باشد (Tavares-Dias and Moraes, 2007). کلسترول و تری‌گلیسرید از جمله لیپیدهای مهم سرم خون ماهی هستند. کلسترول یک لیپید قطبی و از اجزاء ضروری ساختمانی برای غشاء و لایه خارجی لیپوپروتئین‌های پلاسما می‌باشد. همچنین در سنتز اسیدهای صفراوی، هورمون‌های استروئیدی و ساختمان هورمون‌های ضروری برای رشد نقش دارد (Babin and Vernier, 1989). اندازه‌گیری کلسترول می‌تواند اطلاعات مفیدی در مورد چگونگی عملکرد کبد، صفرا، جذب روده‌ها، تیروئید و همچنین پیشرفت آترواسکلرز بدهد. استرس، سن، جنس و تعادل هورمون‌ها مقدار کلسترول را تغییر می‌دهد (ستاری، ۱۳۸۲؛ Harper, 1993). اندازه‌گیری تری‌گلیسرید در تشخیص بیماری‌ها و استرس اهمیت دارد (ستاری، ۱۳۸۲). میزان غلظت کلسترول و تری‌گلیسرید ممکن است تحت تأثیر میزان سازگاری روده با جذب چربی باشد و همچنین تغییرات متابولیسم لیپوپروتئین‌های پلاسما را نشان دهد و این تغییرات ممکن است به ویسکوزیته و قابلیت هضم چربی خام و سرعت انتقال و تخلیه مواد مغذی مرتبط باشند (Edwards, 1990). علاوه بر این، افزایش کلی میزان کلسترول و تری‌گلیسرید ممکن است از برگشت کلسترول و تری‌گلیسرید بافت‌های محیطی به کبد که برای کاتابولیسم و دفع مجدد وارد می‌شوند باشند (Gotto, 1992). میزان تری‌گلیسرید و کلسترول بین تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری نشان داد ($p<۰/۰۵$). بیشترین میزان این دو شاخص در تیمار ۳ جیره‌ی حاوی کیتین مشاهده شد که در مورد تری‌گلیسرید بجز تیمار ۵ با سایر تیمارها تفاوت معنی‌دار نشان داد ($p<۰/۰۵$) و در مورد کلسترول بجز تیمارهای ۴ و ۵ با سایر تیمارها تفاوت معنی‌دار نشان داد ($p<۰/۰۵$). پلی‌ساکاریدهای غیر نشاسته‌ای ممکن است بر متابولیسم لیپید در روده از طریق باند شدن با اسیدهای صفراوی، لیپیدها و کلسترول مؤثر باشد. البته گزارش شده است که ممکن است فعالیت برخی آنزیم‌های گوارشی به دلیل محدودیت فیزیکی دسترسی به پیش ماده و تشکیل کمپلس با این افزودنی‌ها کاهش یابد. رژیم‌های غذایی غنی از پلی‌ساکاریدهای غیر نشاسته‌ای فیزیولوژی و آناتومی روده را با افزایش ویسکوزیته گوارشی، تغییر می‌دهند. افزایش ویسکوزیته روده‌ای موجب کاهش نرخ عبور و در نتیجه امکان تخمیر بیشتر باکتریایی می‌گردد. همچنین پلی‌ساکاریدهای غیر نشاسته‌ای محلول احتمالاً با کاهش نرخ تخلیه روده‌ای ماهی، جذب گلوکز و سایر مواد مغذی را در روده به تأخیر می‌اندازند (Sinha *et al*., 2011). با این وجود می‌توان گفت به‌دلیل وجود جیره حاوی کیتین (پلی‌ساکارید غیر نشاسته‌ای) در تیمار ۳ و تغییر در هضم و جذب مواد مغذی و سرعت تخلیه مواد در روده افزایش کلسترول و تری‌گلیسرید در این تیمار مشاهده شد. حلالیت فیبرهای غذایی در آب و اسیدهای رقیق دارای اهمیت است، زیرا فیبرهای محلول در آب خاصیت کاهنده کلسترول دارند؛ اگرچه مکانیسم تاثیر فیبرهای محلول کاملاً شناخته شده نیست، بنظر می‌رسد افزایش کلسترول و تری‌گلیسرید در مطالعه حاضر در نتیجه نامحلول بودن کیتین در آب و اسیدهای صفراوی باشد (Razdan and Pettersson, 1994). مطالعات Adel و همکاران (۲۰۱۷c)، Akrami و همکاران (۲۰۰۹)، Hoseinifar و همکاران (۲۰۱۱) و Akrami و همکاران (۲۰۱۳b) تفاوت معنی‌داری در میزان، گلوکز، تری‌گلیسرید و کلسترول در ماهیان تغذیه شده با پری‌بیوتیک مشاهده نکردند. در مطالعه حاضر در تیمارهای آزمایش تفاوت معنی‌داری در میزان پروتئین تام با تیمار شاهد مشاهده نشد. Hoseinifar و همکاران (۲۰۱۱) نیز با افزودن الیگوساکاریدها در جیره فیل‌ماهی تفاوت معنی‌داری مشاهده نکردند. اما در مطالعه Adel و همکاران (۲۰۱۷c) افزایش پروتئین تام در فیل ماهی تغذیه شده با گروبیوتیک مشاهده شد. تناقض موجود در نتایج مطالعات مختلف، ممکن است ناشی از نوع، مقدار، دوره زمانی یا شیوه کاربرد باشد.

بار باکتریایی روده، در پاسخ ایمنی، مقاومت به بیماری و هضم مواد مغذی به دلیل وجود آنزیم‌های برون سلولی، نقش دارد. همچنین برخی از آنها می‌توانند منبع مواد مغذی مانند ویتامین‌ها، آمینواسیدهای ضروری و اسیدهای چرب باشند (Adel *et al*., 2017a; Wang *et al*., 2012; Boonthai *et al*., 2011; Ringø *et al*., 2007; Sakata, 1990). تعداد کلونی باکتریایی دستگاه گوارش در این بررسی بین تیمارهای آزمایش اختلاف معنی‌داری نشان داد. کلونی‌های باکتریایی تشکیل شده، احتمالاً ارتباط زیادی با مقدار کیتین موجود در جیره غذایی دارد. هر چند سایر مواد موجود در خوراک نیز بی‌تأثیر نیستند، میزان کیتین و ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی آن‌ها در تشکیل کلونی‌ها نقش دارند. براساس نظریه Choct (۱۹۹۷) پلی‌ساکاریدهای غیر نشاسته‌ای محلول می‌توانند فلور

میکروبی روده را تغییر دهند و سبب افزایش تخمیر در روده کوچک شوند (Choct, 1997; Choct and Kocher, 2000 ;Choct, 1996). همچنین پلی‌ساکارید غیر نشاسته‌ای موجود در غذا تغییراتی در هضم و جذب مواد مغذی در روده کوچک ایجاد می‌کند که مواد مغذی را برای تخمیر در روده آماده می‌کند (Mishra *et al*., 2012). تیمار ۴ بیشترین بار باکتریایی را در بین تیمارها بخود اختصاص داد که دارای بیشترین میزان کیتین در جیره غذایی بود. پلی‌ساکاریدهای غیر نشاسته‌ای با تغییر در جریان مواد مغذی، قابلیت دسترسی به مواد قابل تخمیر را در قسمتهای مختلف روده تغییر می‌دهند و در نتیجه بر ساختار جمعیتی باکتریایی روده تأثیر می‌گذارند و محصول نهایی تخمیر را تغییر می‌دهند (Williams *et al*., 2005). طبق تحقیقات محققین، کیتیناز موجود در روده ماهیان با دو نوع منشأ باکتریایی و خود ماهی می‌باشد که از نظر خصوصیتی مانند دامنه بهینه pH فعالیت آنزیم متفاوتند با این وجود، کیتین به عنوان ماده‌ای غیر قابل هضم یا هضم‌پذیری کم در ماهیان شناسایی شده است (Danulat, 1987). غالباً این آنزیم‌ها در ماهیانی با تغذیه از سخت‌پوستان بیشتر هستند (Zhou *et al*., 2012). Zhou و همکاران (۲۰۱۲) گزارش کردند که افزودن ۵ درصد کیتین به جیره ماهی کاد اقیانوس اطلس (*Gadus morhua*) موجب تغییر باکتریهای روده شد و با اثرگذاری بر فلور باکتریایی روده، موجب بهبود سلامت ماهی شد. افزودن پروبیوتیک *Lactococcus lactis* در جیره نیز موجب افزایش کلونی باکتریایی شد بطوریکه کمترین تعداد کلونی در تیمار شاهد مشاهده شد که احتمالاً به پایین بودن محتوای پلی‌ساکارید غیر نشاسته‌ای و فقدان کیتین و پروبیوتیک در جیره مربوط است. Nikoskelainen و همکاران (۲۰۰۱، ۲۰۰۳) نشان دادند که باکتری *Lactococcus lactis* دارای خواص پروبیوتیک در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان است و باعث بهبود رشد و ایجاد تعادل باکتریایی روده می‌شود. این امر می‌تواند به این دلیل باشد که باکتری‌های مورد استفاده پس از ورود به دستگاه گوارش و گذراندن مراحل رشد تصاعدی و رسیدن به مرحله سکون به یک سطح ثابت و تعادل در زمان نمونه برداری رسیده اند (Ziaei-Nejad *et al*., 2006). شمارش باکتریایی روده ماهی قزل‌آلای تغذیه شده با پروبیوتیک آکوالاز (پروبیوتیک بر پایه مخمر) نیز افزایش معنی‌داری نشان داد (Adel *et al*., 2017b).

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که استفاده از کیتین، پروبیوتیک *L. lactis* و ترکیب آنها بر گلبول سفید، کلسترول، تری گلیسرید و شمارش باکتریایی روده مؤثر بود و استفاده از ۲ درصد پروبیوتیک و یک درصد کیتین و استفاده توأم آنها می‌تواند گلبول سفید و بار باکتریایی را بهبود بخشد. استفاده از کیتین و پروبیوتیک به صورت توام نتوانست نسبت به استفاده از هر کدام به تنهایی تأثیر بیشتری بر بیشتر فاکتورهای مورد بررسی ایجاد کند. با توجه به نتایج بدست آمده، استفاده از این دو افزودنی در جیره ماهی کپور معمولی نیاز به بررسی‌های بیشتری دارد.

منابع

اکبری نرگسی، ع.، فلاحتکار، ب. و محمدی، م.۱۳۹۸. عملکرد رشد و شاخص های خونی در ماهی قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*): بررسی اثر اختصاصی پروبیوتیک در مولدین نر. مجله علمی شیلات ایران، ۲۸(۳): ۱۱۳-۱۰. DOI: 10.22092/ISFJ.2019.119 093

ایری، ی.، حافظیه، م.، حق پناه، ع.، خوشباور رستمی، ح.، فره وی، ب.، کر، ع.، کر، ن.م. و لکزائی، ف.، ۱۳۹۴. اثر پری‌بیوتیک الیگوفروکتوز بر عملکرد رشد، بازماندگی و شاخصهای خونی بچه ماهی ازون برون (*Acipenser stellatus*). مجله علمی شیلات ایران، ۲۴(۱): ۱۰۷-۹۷.

ایمان‌پور، م. و روحی، ز.، ۱۳۹۴. اثر پروبیوتیک چند سویه (پریمالاک) بر عملکرد رشد، پارامترهای بیوشیمیایی خون، بازماندگی و مقاومت در برابر تنش شوری در بچه ماهیان سفید (*Rutilus kutum*). مجله علمی شیلات ایران، ۲۴(۲): ۱۰۲-۹۵.

خادمی حمیدی، م.، آدینه، ح.، هرسیج، م. و قلی‌پور کنعانی، ح. ۱۳۹۸. تاثیر استفاده برخی از عصارهای گیاهی بر رشد و تغذیه، آنزیمهای گوارشی و پارامترهای ایمنی ماهی قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*). مجله علمی شیلات ایران، ۲۸(۵): ۵۷-۴۷. DOI: 10.22092/ISFJ.2019.119525

ستاری، م.، شاهسونی، د. و شفیعی، ش.، ۱۳۸۲. ماهی شناسی (۲) سیستماتیک. نشر حق‌شناس، ۵۰۲ ص

Abu-Elala, N., Marzouk, M. and Moustafa, M., 2013. Use of different *Saccharomyces cerevisiae* biotic forms as immune-modulator and growth promoter for *Oreochromis niloticus* challenged with some fish pathogens. *International Journal of Veterinary Science and*

Medicine, 1: 21–29. DOI: 10.1016/j.ijvsm.2013.05.001

Adel, M., El-Sayed, A.M., Yeganeh, S., Dadar, M. and Giri, S.S., 2017a. Effect of Potential Probiotic *Lactococcus lactis Subsp*. *Lactis* on Growth Performance, Intestinal Microbiota, Digestive Enzyme Activities, and Disease Resistance of *Litopenaeus vannamei*. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 9(2):150-156. DOI: 10.1007/s12602-016-9235-9.

Adel, M., Lazado, C.C., Safari, R., Yeganeh, S. and Zorriehzahra, M.J., 2017b. Aqualase, a yeast-based in-feed probiotic, modulates intestinal microbiota, immunity and growth of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture Research*, 48: 1815–1826. DOI: 1111/are.13019.

Adel, M., Safari, R., Yeganeh, S., Binaii, M., Ghiasi, M. and Ahmadvand, S., 2017c. Effect of dietary GroBiotic®-A supplementation as a prebiotic on the intestinal microflora, growth performance, haemato-serological parameters, survival rate and body composition in juvenile beluga (*Huso huso* Linnaeus, 1754). *Aquaculture Nutrition*, 23(3): 492-499. DOI: 10.1111/anu.12417.

Adel, M., Safari, R., Yeganeh, S., Satheesh Kumar, P. and Safaie, P., 2017d. Hematological and Biochemical Profile of Pike Breeders (*Esox lucius* Linneaus, 1758) from the Anzali Wetland, Caspian Sea. Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences, 87(4):1271–1276. DOI: 10.1007/s40011-015-0704-9

Adel, M. Yeganeh, S. Dawood, M.A.O. Safari, R. and Radhakrishnan, S., 2017e. Effects of *Pediococcus pentosaceus* supplementation on growth performance, intestinal microflora and disease resistance of white shrimp, *Litopenaeus vannamei. Aquaculture Nutrition*, 23(6): 1401-1409. DOI: 10.1111/anu.12515

Akrami, R., Hajimoradloo, A., Matinfar, A. and Abedian Kinari, A.M., 2009. Effect of dietary prebiotic inulin on growth performance, intestinal microflora, body composition and hematological parameters of juvenile beluga, *Huso huso* (Linnaeus, 1758). *Journal of the World Aquaculture Society*, 40: 771–779. DOI: 10.1111/j.1749-7345.2009.00297.x

Akrami, R., Razeghi Mansour, M., Ghobadhi, S.h., Ahmdifar, E., Shaker Khoshroudi, M. and Moghimi Haji, M.S., 2013b. Effect of prebiotic mannan oligosaccharide on hematological and blood serum biochemical parameters of cultured juvenile great sturgeon (*Huso huso* Linnaeus, 1754). *Journal of Applied Ichthyology*, 29: 1214–1218. DOI: 10.1111/jai.12245.

AOAC, 2005. Official methods of analysis of AOAC International. AOAC International.

Askarian, F., Kousha, A., Salma, W. and Ringø, E., 2011. The effect of lactic acid bacteria administration on growth, digestive enzyme activity and gut microbiota in Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) and beluga (*Huso huso*) fry. *Aquaculture Nutrition*, 17(5): 488-497. DOI: 10.1111/j.1365-2095.2010.00826.x

Babin, P.J. and Vernier, J.M., 1989. Plasma lipoproteins in fish. *Journal of Lipid Research*, 30(4): 467 - 489.

Beck, B.R., Kim, D., Jeon, J., Lee, S.M., Kim, H.K., Kim, O.J., Lee, J.I., Suh, B.S., Do, H.k., Lee, K.H., Holzapfel, W.H., Hwang, J.Y., Kwon, M.G. and Song, S.K., 2015. The effects of combined dietary probiotics *Lactococcus lactis* BFE920 and *Lactobacillus plantarum* FGL0001 on innate immunity and disease resistance in olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Fish and Shellfish Immunology*, 42: 177-183. DOI: 10.1016/j.fsi.2014.10.035.

Boonthai, T., Vuthiphandchai, V. and Nimrat, S., 2011. Probiotic bacteria effects on growth and bacterial composition of black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). *Aquaculture Nutrition*, 17:634–644. DOI: 10.1111/j.1365-2095.2011.00865.x.

Choct, M., 1996. Increased small intestinal fermentation is partly responsible for the

nutritive activity of non-starch polysaccharides in chickens: British Poultry Science, 37(3): 609-621 DOI: 10.1080/00071669608417891.

Choct, M., 1997. Feed Non-Starch Polysaccharides: Chemical Structures and Nutrition Signiticance. *Feed Milling International*, 13-26.

Choct, M. and Kocher, A. 2000. Non-starch carbohydrates: Digestion and its secondary effects in monogastrics. *Proceedings of the Nutrition Society*, 2: 31-38.

Danulat, E., 1987. Digestibility of chitin in cod, *Gadus morhua*, in vivo. *Helgoläinder Meeresunters*, 41:425-436. DOI: 10.1007/BF02365402.

Drabkin, D.L., 1945. Crystallographic and optical properties of human hemoglobin-a proposal for the standardization of hemoglobin. *American Journal of the Medical Sciences*, 209(2): 268-270.

Edwards, C., 1990. Mechanisms of action of dietary fibre on small intestinal absorption and motility. In New Development‘s in Dietary Fiber, pp. 95104 (I. Furda and C. J. Brine, editors). New York: Plenum Press.

Gibson, G.R. and Roberfroid, M.B., 1995. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. Journal of Nutrition, 125(6):1401-12. DOI: 10.1093/jn/125.6.1401.

Gotto, A.M., 1992. Hypertriglyceridemia: risks and perspectives. *American Journal of Cardiology*, 70: 19H-25H. DOI: 10.1016/0002-9149(92)91086-j.

Harikrishnan, R., Kim, J.S., Balasundaram, C. and Heo, M.S., 2012. Dietary supplementation with chitin and chitosan on haematology and innate immune response in *Epinephelus bruneus* against *Philasterides dicentrarchi*. *Experimental Parasitology*, 131: 116–124. DOI: 10.1016/j.exppara.2012.03.020.

Harper, H., 1993. Text book of a review of physiological chemistry. Lange medical publication, California.

Hoseinifar, S.H., Mirvaghefi, A., Merrifield, D.L., Mojazi Amiri, B., Yelghi, S. and Darvish Bastami, K., 2011. The study of some haematological and serum biochemical parameters of juvenile beluga (*Huso huso*) fed oligofructose. *Fish Physiology and Biochemistry*, 37: 91–96. DOI: 10.1007/s10695-010-9420-9.

Hoston, A.H., 1990. Blood and circulation. In: Shreck CB, Moyle PB. Methods in fish biology. Bethesda, Maryland: American Fisheries Society, 273-335.

Jafarpour, A. and Gorczyca, E.M., 2009. Rheological characteristics and microstructure of common carp *(Cyprinus carpio)* Surimi and Kamaboko gel. *Food Biophysics*, 4(3): 172-179. DOI: 10.1007/s11483-009-9115-x

Kori-Siakpere, O., Ake, J.E.G. and Idoge, E., 2005. Haematological characteristics of the African
snakehead, *Parachanna obscura*. *African Journal of Biotechnology*, 4: 527-530

Kühlwein, H., Merrifield, D.L., Rawling, M.D., Foey, A.D. and Davies, S.J., 2014. Effects of dietaryβ-(1,3)(1,6)-D-glucan supplementation on growth performance, intestinal morphology and haemato-immunological profile of mirror carp (*Cyprinus carpio* L.). Journal of *Animal Physiology* and *Animal Nutrition*, 98: 279–289. DOI: 10.1111/jpn.12078

Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J., 1952. Protein measurement with folin phenol reagent. *Biological Chemistry*, 193-256.

Marguerite, R., 2006. Chitin and chitosan: Properties and applications. CERMAV-CNRS, affiliated with Joseph Fourier University, BP53, 38041 Grenoble Cedex 9, France. DOI: 10.1016/j.progpolymsci.2006.06.001

Mehrabi, F., Khalesi, M.K. and Hazaie, K., 2018. Effects of Pre- and Probiotics on Growth, Survival, Body Composition, and Hematology of Common Carp (*Cyprinus carpio* L.) Fry from the Caspian Sea. *Turkish Journal of Fisheries*

and Aquatic Sciences, 18: 597-602. DOI: 10.4194/1303-2712-v18_4_11

Mishra, S., Hardacre, A. and Monro, J., 2012. Food structure and carbohydrate digestibility. In: Carbohydrates - Comprehensive studies on glycobiology and glycotechnology, pp, 289–316. Chang, C.-F., Ed., InTech. DOI: 10.5772/51969

Misra, C.K., Das, B.K., Mukherjee, S.C. and Pattnaik, P., 2006. Effect of long term administration of dietary beta-glucan onimmunity, growth and survival of *Labeo rohita* fingerlings. *Aquaculture*, 255: 82–94. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2005.12.009Get

Nikoskelainen, S., Salminen, S., Bylund, G. and Ouwehand, A.C., 2001. Characterization of the properties of human-and dairy-derived probiotics for prevention of infectious disease in fish.

Applied and Environmental Microbiology, 67(6): 2430-2435. DOI: 10.1128/AEM.67.6.2430-2435.2001

Nikoskelainen, S., Ouwehand, A.C., Bylund, G., Salminen, S. and Lilius, E.M., 2003. Immune enhancement in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) by potential probiotic bacteria (*Lactobacillus rhamnosus*). *Fish and Shellfish Immunology*, 15: 443-452. DOI: 10.1016/S1050-4648(03)00023-8

Panigrahi, A., Kiron, V., Kobayashi, T., Puangkaew, J., Satoh, S. and Sugita, H., 2004. Immune responses in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* induced by a potential probiotic bacteria *Lactobacillus rhamnosus* JCM 1136. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 102: 379-388. DOI: 10.1016/j.vetimm.2004.08.006

Rashidova, S., Milusheva, R.Y., Voropaeva, N.L., Pulatova, S.R., Nikonovich, G. and Ruban, I.N., 2004. Isolation of Chitin from a Variety of Raw Materials, Modification of the Material, and Interaction of its Derivatives with Metal Ions. *Chromatographia*, 59: 783-786. DOI: 10.1365/s10337-004-0290-0

Razdan, A. and Pettersson, D., 1994. Effect of chitin and chitosan on nutrient digestibility and plasma lipid concentrations in broiler chickens. *British Journal of Nutrition*, 72: 211-288. DOI: 10.1079/bjn19940029

Ringø, E, Myklebustd, R, Mayhewe, T.M. and Olsen, R.E., 2007. Bacterial translocation and pathogenesis in the digestive tract of larvae and fry. *Aquaculture*, 268:251–264. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2007.04.047

Sakata, T., 1990. Microflora in the digestive tract of fish and shellfish. In: Lesel R (ed) Microbiology in Poecilotherms. Elsevier, Amsterdam, pp. 171–176

Schley, P.D. and Field, C.J., 2002. The immune enhancing effects of dietary fibers and prebiotics. *British Journal of Nutrition*, 87: 221–230. DOI: 10.1079/BJNBJN/2002541

Selenius, O., Korpela, J., Salminen, S. and Gallego, C.G., 2018. Effect of Chitin and Chitooligosaccharide on In vitro Growth of *Lactobacillus rhamnosus* GG and *Escherichia coli* TG. *Applied Food Biotechnology*, 5(3):163-172. DOI: 10.22037/afb.v%vi%i.20468

Shalaby, A.M., Khattab, Y.A. and Abdel Rahman, A.M., 2006. Effects of Garlic (*Allium sativum*) and chloramphenicol on growth performance, physiological parameters and survival of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Disease*, 12: 172–201. DOI: 10.1590/S1678-91992006000200003

Shiau, S.Y. and Yu, Y.P., 1999. Dietary supplementation of chitin and chitosan depresses growth in tilapia, *Oreochromis niloticus*× *O. aureus*. *Aquaculture*, 179(1): 439-446. DOI: 10.1016/S0044-8486(99)00177-5

Sinha, A.K., Kumar, V., Makkar, H.P.S., De Boeck, G. and Becker, K., 2011. Non-starch polysaccharides and their role in fish nutrition – A review. *Food Chemistry*, 127: 1409–1426. DOI:10.1016/j.foodchem.2011.02.042

Stull, V.J., Finer, E., Bergmans, R.S., Febvre, H.P., Longhurst, C., Manter, D.K., Patz, J.A.

and Weir T.L., 2018. Impact of Edible Cricket Consumption on Gut Microbiota in Healthy Adults, a Double-blind, Randomized Crossover Trial. Scientific Reports, 8:10762. DOI: 10.1038/s41598-018-29032-2.

Svetina, A., Matasin, Z., Tofant, A., Vucemilo, M. and Fijan, N., 2002. Haematology and some blood chemical parameters of young carp till the age of three years. *Acta Veterinaria Hungarica*, 50: 459–467. DOI: 10.1556/AVet.50.2002.4.8

Taati, R., Soltani, M., Bahmani, M. and Zamini, A.A., 2011. Growth performance, carcass composition, and immunophysiological indices in juvenile great sturgeon (*Huso huso*) fed on commercial prebiotic Immunoster. *Iranian Journal of Fisheries Science*, 10: 324–335.

Taati, R., Abolghasemi, S.J., Tatina, M. and Nasri Tajan, M., 2012. Influence of prebiotic Immunowall on growth performance, body composition and immunophysiological variables in juvenile great sturgeon, *Huso huso*. *Annals of Biological Research*, 3: 4435–4441.

Tavares-Dias, M. and Moraes, F.R., 2007. Haematological and biochemical reference intervals for farmed channel catfish. *Journal of Fish Biology*, 71: 383–388. DOI: 10.1111/j.1095-8649.2007.01494.x

Trinder, P., 1969. Determination of glucose concentration in the blood. *Annals of Clinical Biochemistry*, 6, 24.

Wang, Y., FU, L. and LIN, J., 2012. Probiotic (*Bacillus coagulans*) cells in the diet benefit the white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Journal of Shellfish Research*, 31:855–860. DOI: 10.2983/035.031.0333

Williams, B.A., Bosch, M.W., Awati, A., Konstantinov, S.R., Smidt, H., Akkermans, A.D.L., Verstegen, M.W.A. and Tamminga, S., 2005. In vitro assessment of grastointestinal tract (GIT) fermentation in pigs: fermentable substrates and microbial activity. *Animal Research*, 54**:** 191-202. DOI: 10.1051/animres:2005011

Wotton, I.D. and Freeman, H., 1982. Microanalysis in Medical Biochemistry. Churchill, New York, USA.

Yadav, K., Bhardwaj, A., Kaur, G., Iyer, R., De, S., and Malik, R.K., 2009. Potential of *Lactococcus lactis* as a probiotic and functional lactic acid bacteria in dairy industry. *International Journal of Probiotics and Prebiotics*, 4(3): 219-228.

Yarmohammadi, M., Shabani, A., Pourkazemi, M., Soltanloo, H. and Imanpour, M.R., 2012. Effect of starvation and re-feeding on growth performance and content of plasma lipids, glucose and insulin in cultured juvenile Persian sturgeon (*Acipenser persicus* Borodin, 1897). *Journal of Applied Ichthyology*, 28(5): 692-696. DOI: 10.1111/j.1439-0426.2012.01969.x

Yeganeh, S., Adel, M., Ahmadvand, Sh., Ahmadvand, Sh. and Velisek, J., 2016. Toxicity of organic selenium (Selemax) and its effects on haematological and biochemical parameters and histopathological changes of common carp (*Cyprinus carpio* L., 1758). *Toxin Reviews*, 207-213. DOI:10.1080/15569543.2016.1213749.

Yen, M., Yang, J. and Mau, J., 2009. Physicochemical characterization of chitin and chitosan from crab shells. *Carbohydrate Polymers*, 75(1): 15-21. DOI: 10.1016/j.carbpol.2008.06.006

Zhou, X., Wang, Y., Yao, J. and Li, W., 2010. Inhibition ability of probiotic, *Lactococcus lactis*, against *A. hydrophila* and study of its immunostimulatory effect in tilapia (*Oreochromis niloticus*). *International Journal of Engineering, Science and Technology*, 2(7): 73-80.

Zhou, Z., Karlsen, Q., He, S., Olsen, R.E., Yao, B. and Ringø, E., 2012. The effect of dietary chitin on the autochthonous gutbacteria of Atlantic cod (*Gadus morhua* L.). *Aquaculture Research*, 44(12): 1889–1900. DOI: 10.1111/j.1365-2109.2012.03194.x

Ziaei-Nejad, S., Rezaei, M.H., Takami, G.A., Lovett, D.L., Mirvaghefi, A.R. and Shakouri, M., 2006. The effect of Bacillus spp. bacteria used as probiotics on digestive enzyme activity, survival and growth in the Indian (*Fenneropenaeus indicus). Aquaculture*, 252: 516-524. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2005.07.021

Effect of probiotic *Lactococcus lactis* (PTCC 1403) and chitin on blood and serum biochemical parameters and intestine bacteria of Common carp (*Cyprinus carpio*)

Barghaman H.[1]; Yeganeh S.[1*]; Keramat Amirkolaie A.[1]

[*]s.yeganeh@sanru.ac.ir

1- Dept. of Fisheries, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari. Iran.

Abstract

The aim of the current study was to evaluate the effect of dietary *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* and chitin on blood and serum biochemical parameters and intestine bacteria of common carp. To do the experiment, 360 juvenile carp with mean initial weight of 12±1.5 g were randomly distributed in the fiberglass tanks designed based on different levels of chitin 0, 1 and 2% and probiotic 0 and 2% (1 $\times 10^7$CFU/g) in diet and the experiment lasted for eight weeks. The experimental treatments were including control (treatment 1), probiotic 2% (treatment 2), chitin 1% (treatment 3), chitin 2% (treatment 4), probiotic 2% + chitin 1% (treatment 5) and probiotic 2% + chitin 1% (treatment 6). On the end of the experiment, blood parameters including red blood cell (RBC), Mean corpuscular volume (MCV), mean corpuscular hemoglobin (MCH), mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC), hemoglobin (Hb), hematocrit (HCT), white blood cell (WBC), lymphocyte, eosinophil and monocyte, serum biochemical parameters including total protein, albumin, glucose, cholesterol, triglyceride and intestinal bacterial colony were determined. The results showed that RBC, MCV, MCH, MCHC, Hb, HCT, thrombocyte, monocyte had no significant difference among treatments ($p>0.05$), But, maximum level of WBC in treatments 5 and 3 (18.03±1.66, 16.86±1.49 10^3 mm^3, respectively), lymphocyte in treatments 5 and 2 (70.40±4.58, 65.00±2.65, respectively) and eosinophil in treatments 3 and 6 (2.67±1.16, 1.67±0.58, respectively) were observed. Biochemical parameters showed no significant difference among experimental treatments and control, but, there were significant difference among the diets containing probiotic and chitin or/and a mixture of probiotic and chitin ($p<0.05$). The intestinal bacterial colony in all treatments except treatment 6 was more than the control ($p<0.05$). The maximum bacterial colony count was observed in treatment 4 (653.33±25.17 CFU/g). In conclusion, it seems the addition 2% probiotic, 1% chitin and a mixture of them can improve white blood cells and intestinal bacterial colony in common carp.

Keywords: Common carp, *Lactococcus lactis*, Blood parameters, Bacterial colony

[*]Corresponding author