

استفاده از پروبیوتیک *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* و کیتین در جیره غذایی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) و تأثیر آن بر عملکرد رشد، ترکیب لاشه و هضم‌پذیری جیره

حسین برغمان، سکینه یگانه*، عبدالصمد کرامت امیرکلایی
گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، مازندران

تاریخ دریافت: ۹۸/۰۳/۰۴ تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۶/۲۴

چکیده

استفاده از پرو- و پری‌بیوتیک‌ها به دلیل داشتن مزایای فراوان همواره به عنوان یکی از شیوه‌های افزایش بازده آبی‌پروری مطرح بوده است. هدف از تحقیق حاضر، بررسی اثر استفاده توأم پروبیوتیک *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* و کیتین در جیره بر عملکرد رشد، ترکیب لاشه و هضم‌پذیری ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) بود. برای این منظور، تعداد ۳۶۰ قطعه بچه‌ماهی با وزن $12 \pm 1/5$ گرم به‌طور تصادفی تحت ۶ تیمار آزمایشی بر اساس ترکیب کیتین با سطوح صفر، ۰.۱٪ و ۰.۲٪ و پروبیوتیک با سطوح صفر و ۰.۲٪ (1×10^7 CFU/g) در جیره‌ی غذایی، به مدت ۸ هفته در مخازن توزیع و پرورش داده شدند. در پایان آزمایش بیشترین وزن نهایی، افزایش وزن، ضریب رشد ویژه، نرخ رشد روزانه، کارایی غذا و شاخص وضعیت و کمترین ضریب تبدیل غذایی در تیمار پروبیوتیک ۰.۲٪، کیتین ۰.۱٪ و پروبیوتیک ۰.۲٪ + کیتین ۰.۱٪ مشاهده شد ($p < 0/05$). در میزان غذای مصرفی و درازای کل در بین تیمارها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($p > 0/05$). ترکیب لاشه و هضم‌پذیری بین تیمارهای آزمایشی و تیمار شاهد نیز تفاوت معنی‌داری نشان نداد ($p > 0/05$). به‌طور کلی می‌توان گفت که استفاده از پروبیوتیک ۰.۲٪ و کیتین ۰.۱٪ می‌تواند شاخص‌های رشد را بهبود بخشد، اما بر ترکیب لاشه و هضم‌پذیری تأثیری ندارد.

کلمات کلیدی: شاخص‌های رشد، کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)، کیتین، *Lactococcus lactis* subsp. *Lactis*، هضم‌پذیری

نویسنده مسئول: s.yeganeh@sanru.ac.ir

مقدمه

ماهیان دارد (وثوقی و مستجیر، ۱۳۹۴). میزان پرورش ماهیان گرمابی در سال ۱۳۹۷ در کشور ۱۸۷۳۹۹ تن بوده است که سهم قابل توجهی از آن را کپور تشکیل می‌دهد. با توجه به ماهیت کیتین که پلی‌ساکاریدی تغییر یافته مشابه سلولز غیر قابل هضم است و به عنوان فیبر نامحلول، اثر پری‌بیوتیکی داشته و باعث تقویت رشد باکتری‌های مفید روده می‌شود (Stull et al. 2018; Selenius et al. 2018)، لذا این پژوهش بر این اساس که ممکن است کیتین بتواند به عنوان پری‌بیوتیک، تأثیر پروبیوتیک *L. lactis* را بهبود بخشد، انجام شد. تاکنون مطالعات متعددی درباره کیتین (Shiau and Yu, 1999; Zhou et al. 2010, 2012; Harikrishnan et al. 2012; Sangma and Kamilya, 2019) پروبیوتیک‌ها (Hoseinifar et al. 2011b; Standen et al. 2013; Ramos et al. 2013; Giannenas et al. 2014; Hamdan et al. 2015; Selim and Reda, 2015; Adel et al. 2017 d; Kousha et al. 2019) و پری-بیوتیک‌ها (Akrami et al. 2009; Taati et al. 2011, 2012; Hoseinifar et al. 2011a, c; Ahmdifar et al. 2011; Adel et al. 2017c) ترکیبی از آنها (سین‌بیوتیک) (Rodriguez-Estrada et al. 2009; Mehrabi et al. 2011; GhasemPour et al. 2015) انجام شده است. در تعدادی از مطالعات انجام شده، تأثیر مثبت پروبیوتیک *Lactococcus lactis* بر شاخص‌های رشد و ایمنی در ماهی توربوت (*Scophthalmus maximus*) (Villamil et al. 2002)، ماهی تیلاپپای نیل (*Oreochromis niloticus*) (Zhou et al. 2010)، ماهی کفشک (*Paralichthys olivaceus*) (Beck et al. 2015)، کفشک زیتونی (*Paralichthys olivaceus*) (Nguyen et al. 2017) و میگو (*Litopenaeus vannamei*) (Adel et al. 2017a) به اثبات رسیده است، اما مطالعه‌ای درباره تأثیر استفاده همزمان پروبیوتیک *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* و کیتین در جیره غذایی بر عملکرد رشد، ترکیب لاشه و هضم‌پذیری ماهی کپور معمولی انجام نشده است.

در عرصه تولیدات کشاورزی و پروتئینی کشور، تولید و پرورش آبزیان به‌خصوص ماهی از جایگاه خاصی برخوردار است و بخشی از پروتئین مورد نیاز جامعه را تامین می‌کند (خدادادی و همکاران، ۱۳۹۱). این صنعت به‌رغم رشد قابل توجه، همواره با مشکلاتی روبه‌رو بوده است که از آن جمله می‌توان به کنترل کیفیت آب، شیوع بیماری‌ها و تغذیه نامناسب اشاره کرد. در زمینه کنترل بیماری‌ها استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها مطرح شد که پس از سال‌ها این داروها خود مشکلات عدیده‌ای مانند مقاوم شدن عوامل آسیب‌رسان و مسائل زیست محیطی را پدید آورد. به همین دلیل، استفاده از پروبیوتیک‌ها به عنوان جایگزینی برای روش‌های قبلی مطرح شد که به نظر می‌رسید می‌تواند بسیاری از مشکلات را حل کند (Vazquze et al. 2005). استفاده از ریزموجودات مفید مثل پروبیوتیک‌ها در جیره غذایی آبزیان یکی از راه‌های افزایش امنیت بهداشتی مزارع پرورشی است. افزودن پروبیوتیک‌ها به جیره غذایی باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی و تحریک اشتها (Irianto and Austin, 2002b)، ایجاد تعادل میکروبی در روده میزبان، ساخت ترکیبات مفید از جمله ویتامین‌ها و برخی آنزیم‌ها، تحریک و افزایش کارایی دستگاه ایمنی و افزایش رشد می‌شود (Liu et al. 2010). کیتین فراوان‌ترین بیوپلیمر بعد از سلولز است که به‌عنوان عمده‌ترین آمینوپلی‌ساکارید (پلی‌ساکارید غیرنشاسته‌ای) در طبیعت، دارای خصوصیات از جمله سازگاری زیستی بالا، سمیت پایین، زیست تخریب‌پذیری و خواص ضد میکروبی قابل قبول است (Marguerite, 2006). کیتین در پوسته یا دیواره بی‌مهرگان، قارچ‌ها و مخمرها یافت می‌شود. این ماده جزء اصلی اسکلت سخت‌پوستان است و از اکسید کلسیم تشکیل می‌شود. کیتین به شکل ۵۰ تا ۸۰٪ به صورت ترکیبات آلی در سخت‌پوستان وجود دارد (Shiau and Yu, 1999). ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) متعلق به خانواده کپورماهیان (*Cyprinidae*)، در بین ماهیان پرورشی از سهولت زیادی برای پرورش برخوردار است و در مقابل تنگناهای محیطی، مقاومت بیشتری نسبت به دیگر

مواد و روش‌ها

تهیه پروبیوتیک و کیتین

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. 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 غلظت مورد نظر از پرگنه‌های کشت داده شده، با استفاده از استاندارد نیم مک فارلند و دستگاه اسپکتوفتومتری بر مبنای CFU/g با تعیین جذب نوری در طول موج ۶۰۰ نانومتر تعیین شد (Beck et al. 2015).

تهیه جیره و پرورش ماهی

این آزمایش در سالن تکثیر و پرورش ماهی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری در تابستان ۱۳۹۶ انجام شد. آب چاه قبل از ورود به مخازن، وارد مخزن ذخیره شده و پس از هوادهی، از مخزن ذخیره به مخازن پرورش پمپاژ می‌شد. با توجه به تیمار و تکرار، ۱۸ تانک فایبرگلاس ۳۰۰ لیتری (با حجم آبگیری ۲۵۰ لیتر) در سالن پرورش در نظر گرفته شد. در طول دوره‌ی پرورش تعویض آب به‌طور روزانه به میزان ۵۰ تا ۷۰٪ انجام می‌شد. برای انجام آزمایش ۳۶۰ قطعه ماهی با وزن متوسط $1/5 \pm 12$ گرم خریداری شد و برای سازگاری با شرایط محیطی، بچه‌ماهیان به مدت دو هفته در مخازن نگهداری، و سه بار در شبانه روز تا حد سیری تغذیه شدند. طی این مدت، بچه‌ماهیان با جیره غذایی تهیه شده از شرکت بیضاء شیراز تغذیه شدند. تیمارهای آزمایش بر اساس سطوح مختلف کیتین شامل صفر، ۱ و ۲٪ و پروبیوتیک *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* شامل صفر و ۲٪ (1×10^7 CFU/g) در جیره غذایی تنظیم شد (Harikrishnan et al. 2012).

(Sangma and Kamilya, 2019). ۲۰ قطعه ماهی به طور تصادفی در هر تیمار و هر تیمار با ۳ تکرار توزیع شدند و سپس زیست‌سنجی اولیه از هر مخزن انجام شد. ماهیان به مدت ۸ هفته با جیره‌های آزمایشی تغذیه شدند و بررسی عملکرد رشد، ترکیب لاشه و هضم‌پذیری پس از ۸ هفته انجام شد. کیتین و پروبیوتیک بر اساس درصدهای از قبل تعیین شده به غذای پودر شده (شرکت بیضاء) اضافه شد. پس از مخلوط شدن و اضافه کردن تدریجی آب به مخلوط و تشکیل ترکیب خمیری، جیره به کمک چرخ گوشت به‌صورت رشته‌هایی با قطر ۲ میلی‌متر درآمد و به مدت ۴۸ ساعت خشک شد (Hoseinifar et al. 2011a,b; Mehrahi et al. 2011). ترکیب تقریبی جیره‌های آزمایش در جدول ۱ ارائه شده است. برای ساخت جیره مارک‌دار (برای تعیین قابلیت هضم) اکسید کروم به میزان ۱٪ جیره در حین مخلوط شدن خمیر اضافه شد. پس از خشک‌شدن، جیره غذایی خرد شد تا اندازه مناسب پیدا کند. سپس، تا زمان مصرف در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. غذادهی تا حد سیری ۳ بار در روز انجام شد و حدود ۲ الی ۳ ساعت بعد از تغذیه، سیفون کردن مدفوع و جمع‌آوری غذای خورده نشده (در صورت وجود) صورت می‌گرفت. این عمل با توجه به شدت آلودگی آب که حاوی مدفوع ماهیان بود، یک یا دو بار در روز انجام می‌شد.

اندازه‌گیری معیارهای کیفی آب

میانگین دما به‌صورت روزانه در دو نوبت صبح و عصر توسط دماسنج ثبت شد. دیگر شاخص‌های کیفی آب از قبیل اکسیژن (با اکسیژن‌متر AL15-AQUA LYTIC)، ساخت آلمان، pH (با متر AL15-AQUA LYTIC، ساخت آلمان)، TDS و شوری (با Senciu5-Hach، ساخت آمریکا) به‌طور دوره‌ای اندازه‌گیری شد که به‌ترتیب $9/2 \pm 28/2$ درجه سانتی‌گراد، $0/3 \pm 7/31$ میلی‌گرم بر لیتر، $6/5 \pm 7$ ، $23/7 \pm 631/18$ میلی‌گرم در لیتر کربنات کلسیم و $0/1 \pm 0/6$ گرم در لیتر بود.

جدول ۱ ترکیب تقریبی جیره‌های آزمایش

ترکیبات (%)	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٪، تیمار ۳: کیتین ۱٪، تیمار ۴: کیتین ۲٪، تیمار ۵: پروبیوتیک ۱٪ + کیتین ۱٪، تیمار ۶: پروبیوتیک ۱٪ + کیتین ۲٪

اندازه‌گیری معیارهای رشد و بازماندگی

برای بررسی عملکرد غذا بر روی بچه‌ماهیان، زیست‌سنجی در ابتدا و انتهای دوره آزمایش انجام، و شاخص‌های رشد شامل افزایش وزن، درصد افزایش وزن، نرخ رشد ویژه (SGR)، نرخ رشد روزانه، ضریب تبدیل غذا (FCR)، بازماندگی، کارایی غذا و ضریب چاقی (شاخص وضعیت) با استفاده از رابطه‌های مربوطه تعیین شد (Sotoudeh and Yeganeh, 2016).

سنجش شیمیایی جیره و لاشه ماهی

نمونه‌هایی از جیره‌ها و لاشه در پایان مطالعه آزمایش شدند. از هر تکرار ۳ قطعه ماهی به صورت تصادفی انتخاب شد. سنجش تقریبی بر اساس روش AOAC (۲۰۰۵) انجام شد.

هضم‌پذیری

برای تعیین هضم‌پذیری در آغاز هفته نهم پرورش به مدت دو هفته ماهیان با جیره حاوی ۱٪ مارکر اکسیدکروم تغذیه شدند و مدفوع تازه ماهیان نیم ساعت بعد از غذاهای از کف حوضچه‌ها به خارج سیفون و جمع‌آوری شد (Rodehutschord and Pfeffer, 1995). سپس مدفوع جمع‌آوری شده توسط آون در دمای ۷۰-۶۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت خشک (Scott and Hall, 1998) و بلافاصله در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد برای انجام آزمایش‌های بعدی منجمد شد. اندازه‌گیری اکسیدکروم در مدفوع و مواد خوراکی، نمونه‌ها با ۲۵۰ میلی‌لیتر اسید پرکلریک، ۱۵۰ میلی‌لیتر اسید سولفوریک، ۱۰ گرم سدیم

مولیدات و ۱۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر برای تهیه محلول هضم آماده شدند. خاکستر مدفوع و غذا هرکدام در لوله‌های هضم ریخته شدند و ۱۵ میلی‌لیتر محلول هضم آماده‌شده به لوله اضافه شد و در دستگاه هضم قرار گرفت تا زمانی که رنگ زرد مشاهده شد. بعد از خارج شدن بخار و خنک‌شدن، نمونه در ارلن ریخته شد و با آب مقطر به حجم ۲۰۰ میلی‌لیتر رسانده، و در دستگاه سانتریفیوژ (۷ دقیقه) قرار داده شد. بعد از مدت زمان لازم نمونه‌ها بیرون آورده شدند، در دستگاه اسپکتوفتومتر با طول موج ۴۴۰ نانومتر قرار گرفتند و قرائت شدند (Fenton and Fenton, 1979). مقدار اکسید کروم (میلی‌گرم) موجود در نمونه از رابطه زیر محاسبه شد:

$$\text{درصد جذب اکسید کروم} = \text{جذب نمونه} / \text{وزن نمونه} \times ۱۰ \times \text{شیب خط استاندارد}$$

تجزیه و تحلیل آماری

این مطالعه در قالب طرح کاملاً تصادفی با آزمایش فاکتوریل ۲ در ۳ با دو سطح پروبیوتیک صفر و ۲٪ (CFU/g) $10^7 \times$ (۱) و سه سطح کیتین صفر، ۱ و ۲٪ انجام شد. بررسی نرمال بودن داده‌ها از طریق آزمون Kolmogorov-Smirnov صورت گرفت. تجزیه و تحلیل داده‌های به‌دست آمده به روش آنالیز واریانس دو طرفه انجام شد و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون آماری دانکن در سطح احتمال ۰/۰۵٪ استفاده شد. از نرم‌افزار SPSS ۲۲ برای انجام بررسی‌های آماری استفاده شد.

نتایج

شاخص‌های رشد

آنالیز واریانس دو طرفه در پایان آزمایش نشان داد که اثر کیتین بر روی شاخص‌های رشد شامل وزن نهایی، افزایش وزن بدن، نرخ رشد روزانه، نرخ رشد ویژه و کارایی غذا معنی‌دار بوده ($p < 0.05$)، ولی اثر پروبیوتیک بجز افزایش وزن بدن و اثر متقابل آنها بر هیچ‌کدام از شاخص‌های رشد معنی‌دار نبوده است ($p > 0.05$). نتایج به‌دست آمده از شاخص‌های رشد بچه‌ماهیان کپور معمولی تغذیه‌شده با سطوح مختلف پروبیوتیک *L. lactis* و کیتین نشان داد که هیچ‌کدام از تیمارها از لحاظ وزن اولیه، طول کل و میزان بازماندگی تفاوت معنی‌داری باهم نداشتند (جدول ۲؛

$p > 0.05$). شاخص وزن نهایی و افزایش وزن در تیمارهای ۲ و ۵ نسبت به تیمار شاهد افزایش پیدا کرد ($p < 0.05$). ضریب رشد ویژه و نرخ رشد روزانه در تیمار ۵ بیشترین مقدار را نشان داد ($p < 0.05$)، اما در نرخ رشد ویژه بین تیمارهای ۲ و ۳ تفاوت معنی‌داری نداشت ($p > 0.05$). کمترین میزان ضریب تبدیل غذایی و بیشترین کارایی غذا در تیمار ۵ مشاهده شد ($p < 0.05$). در تیمار ۴ و ۶ ضریب تبدیل غذایی بیش از دیگر تیمارها و کارایی غذا کمتر از آنها بود ($p < 0.05$). از نظر شاخص وضعیت، بین تیمار ۴ که مقدار کمتری را نشان داد، با دیگر تیمارها (بجز تیمارهای ۳ و ۵) تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($p > 0.05$).

جدول ۲ عملکرد رشد ماهی کپور معمولی تغذیه‌شده با سطوح مختلف پروبیوتیک *L. lactis* و کیتین

تیمارهای آزمایشی						شاخص
۶	۵	۴	۳	۲	۱	
۱۱/۷۹ ± ۰/۰۹	۱۱/۷۲ ± ۰/۰۵	۱۱/۷۴ ± ۰/۰۷	۱۱/۸۰ ± ۰/۰۷	۱۱/۷۵ ± ۰/۰۲	۱۱/۷۶ ± ۰/۰۴	وزن اولیه (g)
۲۴/۵۱ ± ۱/۲۳ ^a	۲۶/۹۹ ± ۱/۰۳ ^c	۲۳/۶۷ ± ۱/۶۴ ^a	۲۶/۳۰ ± ۰/۵۸ ^{bc}	۲۶/۸۲ ± ۰/۴۳ ^c	۲۴/۷۹ ± ۰/۹۷ ^{ab}	وزن نهایی (g)
۱۰۷/۸ ± ۱۰/۸۲ ^a	۱۳۰/۲۴ ± ۹/۳ ^c	۱۰۱/۵ ± ۱۳/۷۶ ^a	۱۲۵/۵ ± ۴/۰۹ ^{bc}	۱۲۸/۱۵ ± ۳/۴۷ ^c	۱۱۰/۷ ± ۸/۸۶ ^{ab}	افزایش وزن (/)
۲/۴۵ ± ۰/۰۴ ^a	۲/۵۳ ± ۰/۰۳ ^c	۲/۴۲ ± ۰/۰۹ ^a	۲/۵۱ ± ۰/۰۲ ^{bc}	۲/۵۲ ± ۰/۰۱ ^{bc}	۲/۴۵ ± ۰/۰۳ ^{ab}	ضریب رشد ویژه (روز/)
۰/۲۳ ± ۰/۰۲ ^a	۰/۲۷ ± ۰/۰۲ ^c	۰/۲۱ ± ۰/۰۳ ^a	۰/۲۷ ± ۰/۰۱ ^{bc}	۰/۲۷ ± ۰/۰۲ ^{bc}	۰/۲۳ ± ۰/۰۲ ^{ab}	نرخ رشد روزانه (گرم)
۲/۶۰ ± ۰/۰۵ ^c	۲/۲۲ ± ۰/۰۵ ^a	۲/۵۷ ± ۰/۰۳ ^c	۲/۲۵ ± ۰/۰۷ ^{ab}	۲/۳۱ ± ۰/۱۳ ^{ab}	۲/۳۹ ± ۰/۰۹ ^b	ضریب تبدیل غذایی
۳۲/۷۲ ± ۳/۴۲	۳۳/۹۱ ± ۱/۶۲	۳۰/۶۷ ± ۳/۹۶	۳۳/۳۳ ± ۲/۲۴	۳۴/۸۲ ± ۲/۵۷	۳۱/۰۹ ± ۲/۶۸	غذای مصرفی (گرم)
۹/۱۹ ± ۲/۵۸	۷/۹۳ ± ۱/۶۴	۹/۱۸ ± ۲/۱۸	۸/۲۰ ± ۱/۹۶	۸/۲۵ ± ۱/۹۸	۸/۵۲ ± ۲/۱۰	غذای مصرفی روزانه (/)
۳۸/۸۵ ± ۰/۶۸ ^a	۴۵ ± ۰/۹۷ ^c	۳۸/۸۶ ± ۰/۴۹ ^a	۴۴/۵۴ ± ۱/۴۲ ^{bc}	۴۳/۴۰ ± ۲/۵۰ ^{bc}	۴۱/۹۳ ± ۱/۵۳ ^b	کارایی غذا (/)
۰/۸۳ ± ۰/۰۸ ^{ab}	۰/۹۳ ± ۰/۰۴ ^b	۰/۷۸ ± ۰/۰۵ ^a	۰/۸۹ ± ۰/۰۵ ^b	۰/۸۹ ± ۰/۰۴ ^{ab}	۰/۸۴ ± ۰/۰۷ ^{ab}	شاخص وضعیت
۱۰۰ ± ۰۰	۱۰۰ ± ۰۰	۱۰۰ ± ۰۰	۱۰۰ ± ۰۰	۱۰۰ ± ۰۰	۱۰۰ ± ۰۰	بازماندگی (/)

میانگین ± انحراف معیار، حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در بین تیمارهاست ($p < 0.05$). ۱: شاهد، ۲: پروبیوتیک ۲، ۳: کیتین ۱، ۴: کیتین ۲، ۵: پروبیوتیک ۱ + کیتین ۱، ۶: پروبیوتیک ۱ + کیتین ۲.

آزمایش لاشه

آنالیز واریانس دو طرفه در پایان آزمایش نشان داد که اثر کیتین بر پروتئین، چربی و خاکستر و اثر پروبیوتیک بر چربی و خاکستر لاشه معنی‌دار بوده ($p < 0.05$)، ولی بر دیگر شاخص‌ها معنی‌دار نبوده است ($p > 0.05$). اثر متقابل آنها نیز بر هیچ‌کدام از این شاخص‌ها معنی‌دار نبود

($p > 0.05$). در میزان رطوبت و ماده خشک بین تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌دار مشاهده شد (جدول ۳؛ $p < 0.05$). به نحوی که میزان رطوبت و ماده خشک به ترتیب در تیمار ۶ بیشتر و کمتر از تیمار ۵ بود ($p < 0.05$)، ولی این دو تیمار با دیگر تیمارها تفاوت معنی‌داری نشان ندادند ($p > 0.05$). بیشترین میزان پروتئین لاشه در تیمار ۵ مشاهده شد ($p < 0.05$) ولی با گروه شاهد و تیمار ۳ تفاوت معنی‌داری

نشان نداد ($p > 0.05$). میزان پروتئین در تیمارهای ۲، ۴ و ۶ به‌طور معنی‌داری کمتر از شاهد و دیگر تیمارها بود ($p < 0.05$). میزان چربی لاشه به‌ترتیب در تیمارهای ۲ و ۴ بیش از دیگر تیمارها به‌دست آمد. تیمار ۲ با تمام تیمارها و تیمار ۴ فقط با تیمار ۲ و شاهد تفاوت معنی‌دار داشت ($p < 0.05$). میزان خاکستر لاشه در تیمار ۴ بیش از دیگر تیمارها تفاوت معنی‌دار نشان داد ($p < 0.05$).

جدول ۳ آنالیز لاشه بچه‌ماهیان کپور معمولی تغذیه شده با سطوح مختلف پروبیوتیک *L. lactis* و کیتین

شاخص (%)	تیمارهای آزمایش					
	۱	۲	۳	۴	۵	۶
رطوبت	۷۰/۵۹±۰/۴۵ ^{ab}	۷۰/۴۷±۰/۵۴ ^{ab}	۶۹/۵۰±۰/۹۷ ^{ab}	۷۰/۵۳±۰/۲۵ ^{ab}	۶۷/۲۷±۰/۲۱ ^b	۷۱/۷۲±۰/۰۴ ^a
ماده خشک	۲۹/۴۱±۰/۴۵ ^{ab}	۲۹/۵۳±۰/۰۲ ^{ab}	۳۰/۵۰±۰/۹۷ ^{ab}	۲۹/۴۷±۰/۲۴ ^{ab}	۳۲/۷۳±۰/۴۳ ^b	۲۸/۳۸±۰/۹۵ ^a
پروتئین	۵۰/۷۵±۰/۱۸۵ ^{bc}	۴۴/۸۰±۰/۱۸۵ ^a	۵۱/۱۰±۰/۹۳ ^{bc}	۴۵/۶۰±۰/۲۸ ^a	۵۳/۲۵±۰/۱۲ ^c	۴۶/۷۹±۰/۵۳ ^{ab}
چربی	۴۲/۱۳±۰/۷۷ ^a	۴۸/۸۸±۰/۱۷ ^c	۴۲/۶۸±۰/۷۱ ^{ab}	۴۵/۲۶±۰/۱۶ ^b	۴۲/۶۳±۰/۷۷ ^{ab}	۴۳/۸۲±۰/۹۶ ^{ab}
خاکستر	۷/۳۰±۰/۱۴ ^a	۶/۲۷±۰/۴۷ ^a	۶/۲۲±۰/۴۵ ^a	۹/۱۴±۰/۵۶ ^b	۶/۱۲±۰/۶۱ ^a	۷/۶۹±۰/۵۹ ^{ab}

میانگین ± انحراف معیار، حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در بین تیمارهاست ($p < 0.05$). ۱: شاهد، ۲: پروبیوتیک ۰.۲٪، ۳: کیتین ۰.۱٪، ۴: کیتین ۰.۲٪، ۵: پروبیوتیک ۰.۱٪ + کیتین ۰.۱٪، ۶: پروبیوتیک ۰.۱٪ + کیتین ۰.۲٪.

مقدار بود ($p < 0.05$)، اما بجز با تیمارهای ۵ و ۶، با دیگر تیمارها تفاوت معنی‌دار نداشت ($p > 0.05$). گروه شاهد با هیچ کدام از تیمارها تفاوت معنی‌دار نشان نداد ($p > 0.05$). تیمارهای ۲ و ۶ میزان هضم‌پذیری چربی بیشتری داشتند که بجز شاهد با دیگر تیمارها تفاوت معنی‌دار داشتند ($p < 0.05$). میزان هضم‌پذیری خاکستر در گروه شاهد و تیمار ۱ به‌طور معنی‌دار بیش از تیمارهای ۴ و ۶ بود ($p < 0.05$). تیمارهای ۴، ۵ و ۶ با هم تفاوت معنی‌دار نداشتند ($p > 0.05$).

هضم‌پذیری مواد مغذی

آنالیز واریانس دو طرفه در پایان آزمایش نشان داد که اثر کیتین بر هضم‌پذیری جیره از نظر چربی و خاکستر معنی‌دار ($p < 0.05$)، ولی در دیگر عوامل معنی‌دار نبوده است ($p > 0.05$). همچنین، اثر پروبیوتیک و اثر متقابل کیتین و پروبیوتیک بر هیچ‌کدام از این اجزا اثر معنی‌دار نداشته است ($p > 0.05$). میزان هضم‌پذیری پروتئین، چربی و خاکستر در تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌دار نشان داد (جدول ۴)؛ $p < 0.05$. میزان هضم‌پذیری پروتئین در تیمار ۳، کمترین

جدول ۴ هضم‌پذیری در بچه‌ماهیان کپور معمولی تغذیه شده با سطوح مختلف پروبیوتیک *L. lactis* و کیتین

شاخص (%)	تیمارهای آزمایش					
	۱	۲	۳	۴	۵	۶
پروتئین	۲۴/۵±۰/۲۱ ^{ab}	۲۳/۸۵±۰/۴۴ ^{ab}	۲۰/۸۴±۰/۲۱ ^a	۲۵/۲۵±۰/۵۶ ^{ab}	۲۶/۶±۰/۱۵۹ ^b	۲۷/۰۳±۰/۱۳ ^b
چربی	۱۷/۲۵±۰/۲۴۶ ^{ab}	۱۷/۷۲±۰/۶۶ ^b	۱۵/۴۳±۰/۶۶ ^a	۱۴/۹۷±۰/۵۳ ^a	۱۷/۶۸±۰/۱۴ ^b	۱۵/۱±۰/۱۳ ^a
خاکستر	۲۱/۰۶±۰/۸۶ ^c	۲۱/۳۳±۰/۵۱ ^c	۲۰/۴۳±۰/۳۳ ^{bc}	۱۸/۶۸±۰/۱۱ ^a	۱۹/۷۶±۰/۲۵ ^{abc}	۱۹/۱۳±۰/۷۴ ^{ab}

میانگین ± انحراف معیار، حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در بین تیمارها می‌باشد ($p < 0.05$). ۱: شاهد، تیمار ۲: پروبیوتیک ۰.۲٪، ۳: کیتین ۰.۱٪، ۴: کیتین ۰.۲٪، ۵: پروبیوتیک ۰.۱٪ + کیتین ۰.۱٪، ۶: پروبیوتیک ۰.۱٪ + کیتین ۰.۲٪.

بحث

Austin (2002b) گزارش کردند که اضافه کردن پروبیوتیک‌ها به غذای ماهی باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی، تحریک اشتها و نهایتاً افزایش رشد می‌شود. همچنین، افزودن کیتین به عنوان پری‌بیوتیک با تأثیر بر فلور باکتریایی روده بر رشد مؤثر است و تأثیر پری‌بیوتیک به توانایی یا عدم توانایی فلور باکتریایی روده برای تخمیر آن مرتبط است (Adel et al. 2017c). Merrifield (2009) اختلاف معنی‌داری در شاخص‌های رشد، مانند نرخ رشد ویژه و ضریب تبدیل غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با پروبیوتیک (*Bacillus subtilis* و *licheniformis* و *Enterococcus faecium*) گزارش کرد. باغی و همکاران (۱۳۹۵) نیز اختلاف معنی‌داری در افزایش وزن نهایی و دیگر شاخص‌های رشد ماهی کپور معمولی تغذیه شده با پروبیوتیک تجاری لاکتوباسیل در مقایسه با شاهد مشاهده کردند. استفاده از کیتین و کیتوزان در ماهی تیلاپیای هیبرید موجب کاهش رشد شد (Shiau and Yu, 1999). رژیم غذایی حاوی کیتین در *Schizothorax richardsonii* نیز عملکرد رشد را بهبود بخشید، اما در ماهی *Tor putitora* تأثیر معنی‌داری نداشت (Mohan et al. 2009). دلیل تفاوت نتایج در مطالعات به نوع پرو- یا پری‌بیوتیک مصرفی، دوز مورد استفاده و مدت پرورش نسبت داده شده است (Olsen et al. 2001). بازماندگی یکی از شاخص‌های مهم در آبی‌پروری است و ممکن است تحت تأثیر غذا و محدودیت‌های غذایی قرار گیرد. در اغلب موارد، ماهیانی که برای دوره‌های کوتاه مدت پرورش می‌یابند، بازماندگی بالایی دارند، اما اگر دوره پرورش طولانی‌تر شود، احتمال مرگ و میر افزایش پیدا می‌کند (Sheng et al. 2006). در تحقیق حاضر هیچ اختلاف معنی‌داری در نرخ بازماندگی بین گروه شاهد و دیگر تیمارها مشاهده نشد و تمام تیمارها دارای بازماندگی ۱۰۰٪ بودند که اگرچه ممکن است به دلیل کوتاه بودن دوره پرورشی باشد، اما نشان‌دهنده عدم تأثیر منفی جیره‌های غذایی مورد آزمایش بر بازماندگی گونه مورد مطالعه است (Kim et al. 2004). محمودیان و همکاران (۱۳۹۴) در تحقیق خود بر

هدف صنعت آبی‌پروری، بهینه‌سازی رشد و تولید ماهی با کیفیت بالاست. لذا دستیابی به جیره غذایی که اثر مثبتی بر روی رشد ماهی بگذارد، به‌خصوص در زمانی که ماهی در معرض استرس‌های محیطی قرار دارد، دارای اهمیت است (Hassaan et al. 2014). رشد وابسته به فاکتورهای محیطی، ژنتیکی و کمیت و کیفیت تغذیه است (Yazici et al. 2015). رشد و شاخص‌های آن نسبت مستقیمی با تغذیه دارد و وقتی ماهی به نحو مطلوب و به اندازه کافی تغذیه می‌کند، به خوبی رشد می‌یابد. برعکس، هنگامی که تغذیه مطلوب و صحیح نباشد، رشد کاهش یافته یا متوقف می‌شود. استفاده از جیره غذایی با کیفیت بالا سبب می‌شود تا ماهی با صرف غذای کمتر در مدت زمانی کوتاه‌تر، به وزن بازاری رسیده و به این ترتیب هزینه‌های تولید به‌طور قابل ملاحظه‌ای کاهش یابد (نیرومند و همکاران، ۱۳۹۰). استفاده از پرو- و پری‌بیوتیک‌ها همواره به دلیل داشتن مزایای فراوان به عنوان یکی از شیوه‌های افزایش بازده آبی‌پروری مطرح بوده‌اند (Adel et al. 2010; Ringø et al. 2010; Munir et al. 2016). برخی مطالعات نیز عدم تأثیر یا حتی تأثیر منفی استفاده از پروبیوتیک‌ها را گزارش کرده‌اند (Günther and Jimenez-Montealegre, 2004). Vendrell et al. (2008). افزودن پرو- و پری‌بیوتیک‌ها به جیره غذایی ماهی باعث ایجاد تعادل میکروبی روده، ساختن ترکیبات مفید از جمله ویتامین‌ها و برخی از آنزیم‌ها، تحریک و افزایش کارایی دستگاه ایمنی، افزایش فعالیت‌های گوارشی و آنزیمی و به دنبال آن، افزایش رشد و اشتها می‌شود (Irianto and Kim and Austin, 2006). Austin, 2002a; Mehrabi et al. 2018). نتایج حاصل از تحقیق حاضر نیز نشان داد که اضافه کردن پروبیوتیک به‌طور مجزا و همچنین، مخلوط با کیتین ۱٪ به جیره، موجب افزایش معنی‌دار وزن ماهی نسبت به گروه شاهد می‌شود، به طوری که در شاخص‌های رشد شامل درصد افزایش وزن بدن، نرخ رشد روزانه، نرخ رشد ویژه و غذای مصرفی افزایش معنی‌داری ایجاد می‌کند. Irianto

که درصد پروتئین لاشه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با سین‌بیوتیک بیومین ایمبو نسبت به تیمار شاهد افزایش معنی‌دار داشت. پروبیوتیک‌ها آنزیم‌های خارج سلولی متعددی ترشح می‌کنند و با پشتیبانی از آنزیم‌های گوارشی و مواد مغذی معین، رشد را بهبود می‌بخشند (Farzanfar et al. 2007). آنها می‌توانند با ترشح آنزیم‌های خارج سلولی مانند پروتازها، سبب هضم و جذب بهتر پروتئین مواد غذایی شده و در نتیجه، پروتئین لاشه را افزایش دهند (Farzanfar et al. 2007). تفاوت‌های تأثیر پرو- و پری- بیوتیک در مطالعات مختلف ممکن است به دلیل تفاوت اندازه ماهی مورد آزمایش، نوع و مقدار پروبیوتیک مورد استفاده باشد (Yazici et al. 2015). بررسی نتایج حاصل از تحقیق حاضر نشان داد که قابلیت هضم‌پذیری پروتئین و چربی در تیمارهای آزمایشی با گروه شاهد تفاوت معنی‌دار نداشت، اما قابلیت هضم‌پذیری پروتئین در تیمارهای توآمان پروبیوتیک و کیتین نسبت به تیمار مجزای ۰.۱٪ کیتین و همچنین قابلیت هضم‌پذیری چربی در تیمار توآمان پروبیوتیک و ۰.۱٪ کیتین نسبت به تیمار توآمان پروبیوتیک و ۰.۲٪ کیتین تفاوت معنی‌داری با هم نشان دادند. هضم‌پذیری خاکستر نیز در بین تیمارها باهم اختلاف معنی‌دار داشت. Munir و همکاران (۲۰۱۶)، افزایش هضم‌پذیری مواد مغذی را در نتیجه استفاده از پرو- و پری‌بیوتیک گزارش کردند. البته تأثیر پروبیوتیک بیشتر بود. افزودن پروبیوتیک‌ها به جیره غذایی باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی و تحریک اشتها در ماهی می‌شود (Irianto and Austin, 2002b). اگرچه پروبیوتیک‌ها و پریوتیک‌ها باعث ایجاد تعادل میکروبی در روده میزبان، ساخت متابولیت‌های میکروبی زیست‌فعال مانند ویتامین‌ها و پپتیدهای زیست‌فعال، اسیدهای آلی و اسیدهای چرب در طول تخمیر و برخی آنزیم‌ها می‌شوند (Liu et al. 2005; Stanton et al. 2010)، همچنین با تأثیر بر ریزموجودات زنده در روده فرایند تخمیر را بهبود می‌بخشند (Paola and Dariel, 2014)، اما در مطالعه حاضر استفاده از پروبیوتیک و کیتین نتوانست تأثیر معنی‌دار مثبتی نسبت به گروه شاهد ایجاد کند. استفاده از کیتین در جیره ماهی تیلایپای هیبرید، هضم‌پذیری مواد مغذی را کاهش داد (Shiau and Yu, 2011).

روی اثر مجزا و توآمان پروبیوتیک پروتکسین و پری‌بیوتیک آلفامیون گزارش کردند که پری‌بیوتیک آلفامیون (به میزان ۰.۱٪) افزایش معنی‌داری بر روی شاخص‌های رشد ماهی کپور معمولی ایجاد کرد، اما پروبیوتیک پروتکسین تأثیر معنی‌داری نداشت. البته اثر متقابل آنها نیز بر شاخص‌های رشد معنی‌دار بود. تأثیر آلفامیون به وجود مانان لیگوساکاریدها و بتاگلوکان آن نسبت داده می‌شود که منبع تغذیه‌ای مناسبی برای فلور باکتریایی روده، باکتری‌های اسیدلاکتیک، لاکتوباسیلوس‌ها و بیفیدوباکترهاست، در حالی که بتاگلوکان موجود در آن در تقویت دستگاه ایمنی ماهی مؤثر است. قاسم‌پور دهقانی و همکاران (۱۳۹۲) گزارش کردند که استفاده از ۰.۱٪ سین‌بیوتیک بیومین ایمبو که ترکیبی از پروبیوتیک *Enterococcus faecium* و پری-بیوتیک فروکتوالیگوساکارید است، توانست شاخص‌های رشد و فلور باکتریایی روده را در ماهی کپور معمولی بهبود بخشد که دلیل آن را اثر هم‌افزایی پری- و پروبیوتیک عنوان کردند. نتایج بررسی Mehrabi و همکاران (۲۰۱۱) نیز نشان داد که سین‌بیوتیک بیومین ایمبو (در مقادیر ۰.۵، ۱ و ۱/۵ گرم در کیلوگرم جیره)، تمام شاخص‌های رشد را در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بهبود می‌بخشد و بهترین نتیجه نیز در تیمار ۱ گرم در کیلوگرم جیره به‌دست آمد.

ترکیب شیمیایی بدن همواره تحت تأثیر ترکیب جیره غذایی و حتی درصد و مقدار غذادهی روزانه قرار می‌گیرد (Hung and Lutes, 1987). در مطالعه حاضر اثر پروبیوتیک، کیتین و اثر توآمان آنها بر ترکیب لاشه معنی‌دار نبود. در مطالعات Merrifield و همکاران (۲۰۱۰)، Yazici و همکاران (۲۰۱۵)، Kühlwein و همکاران (۲۰۱۴) و Adel و همکاران (۲۰۱۷ b, c)، استفاده از پرو- و پری-بیوتیک بر ترکیب بدن تأثیر معنی‌داری نداشت. استفاده از پری‌بیوتیک اینولین موجب افزایش چربی شد، اما تفاوت معنی‌داری در میزان پروتئین لاشه ماهی *Gibel carp* (*Carassius auratus gibelio*) ایجاد نکرد (Akrami et al. 2015). در مطالعه Bagheri و همکاران (۲۰۰۸)، پروبیوتیک (*B. subtilis* + *B. licheniformis*) در جیره توانست موجب افزایش پروتئین، کاهش چربی و رطوبت شود. Mehrabi و همکاران (۲۰۱۱) گزارش کردند

معمولی (*Cyprinus carpio*). توسعه آبی پروری ۱۰:
۳۹-۴۹.

خدادادی، م.، پیغان، ر.، حمیداوی، ا. ۱۳۹۱. بررسی تاثیر
افزودنی خوراکی پودر سیر خام بر روی شاخص های
رشد ماهی کپور معمولی. علوم درمانگاهی دامپزشکی
ایران ۶: ۱۷-۲۶.

قاسمپور دهقانی، پ.، جواهری بابلی، م.، ضیائی نژاد، س.،
تقوی مقدم، ا.، پورهادی، م. ۱۳۹۲. بررسی اثر مکمل
غذایی سین بیوتیک با یومین ایمبو به عنوان مکمل غذایی
بر عملکرد رشد، بازماندگی و فلور باکتریایی روده ماهی
کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) انگشت قد. توسعه
آبی پروری ۷: ۴۳-۵۲.

محمودیان، ا.، کرامت امیرکلایی، ع.، اکرمی، ر.، بهلکه، ا.
۱۳۹۴. بررسی اثر پری بیوتیک آلفامیون و پروبیوتیک
پروتکسین به صورت انفرادی و ترکیبی بر رشد بچه
ماهیان کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)
(Linnaeus, 1758). پژوهش های ماهی شناسی
کاربردی ۳: ۹۳-۱۰۴.

نیرومند، م.، سجادی، م.م.، یحیوی، م.، اسدی، م. ۱۳۹۰.
تاثیر سطوح مختلف بتائین جیره بر فاکتورهای رشد،
بازماندگی، ترکیب شیمیایی بدن و مقاومت بچه ماهی
قزل آلی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*)
در تحت تنش های محیطی. مجله علمی شیلات ایران
۲۰: ۱۳۵-۱۴۶.

وثوقی، غ.، مستجیر، ب. ۱۳۹۴. ماهیان آب شیرین. انتشارات
دانشگاه تهران، ۳۳۲ ص.

Adel, M., El-Sayed, A.-F.M., Yeganeh, S.,
Dadar, M., 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: 150-156.

Adel, M., Lazado, C.C., Safari, R., Yeganeh,
S., Zorriehzaha, M.J. 2017b. Aqualase, a
yeast-based in-feed probiotic, modulates
intestinal microbiota, immunity and

Ringø (1999). و همکاران (۲۰۱۲) گزارش کردند که
کیتین با جذب چربی و صفرا در لوله گوارش، هضم پذیری را
کاهش می دهد. اگرچه استفاده از کیتین در مقادیر زیاد
کاهش عملکرد رشد و مصرف چربی را در برخی گونه ها
نشان داد (Ringø et al. 2012؛ Olsen et al. 2006).
اما استفاده از مقادیر کم آن (۰/۶٪) توانست رشد را افزایش
دهد (Lellis and Barrows, 2000). تفاوت های موجود
در مطالعات مختلف ممکن است به دلیل یکسان نبودن گونه
و همچنین تفاوت های اساسی در تغذیه باشد.

نتیجه گیری کلی

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که اثر ۱٪ کیتین، ۲٪
پروبیوتیک و همچنین، اثر توأمان آن ها بر بهبود شاخص های
رشد معنی دار است و استفاده از آن ها تأثیر منفی بر ترکیب
لاشه و هضم پذیری ایجاد نمی کند. تأثیر توأمان کیتین و
پروبیوتیک نتوانست نسبت به استفاده از هر کدام به تنهایی
تأثیر بیشتری ایجاد کند که ممکن است به دلیل کوتاه بودن
دوره پرورش و یا مقادیر مورد استفاده از هر کدام باشد.
برتری استفاده از هر کدام را می توان با مطالعات بیشتر بر
روی تأثیر آن ها بر دستگاه های ایمنی، ضد اکسایشی و بقا در
مواجهه با بیماری ها و استرس های محیطی تعیین کرد.

منابع

باعثی، ف.، آبرومند، ع.، ضیایی نژاد، س.، جواهری بابلی، م.
۱۳۹۵. تأثیر لاکتوباسیل های پروبیوتیکی تجاری بر
پارامترهای رشد، بقا و شاخص های تغذیه ای ماهی کپور

growth of rainbow trout *Oncorhynchus*
mykiss. Aquaculture Research 48: 1815-
1826.

Adel, M., Safari, R., Yeganeh, S., Binaii, M.,
Ghiasi, M., 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: 492-499.

- Adel, M., Yeganeh, S., Dawood, M.A.O., Safari, R., Radhakrishnan, S. 2017d. Effects of *Pediococcus pentosaceus* supplementation on growth performance, intestinal microflora and disease resistance of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture Nutrition* 23: 1401-1409.
- Ahmdifar, E., Akrami, R., Ghelichi, A., Mohammadi Zarejabad, A. 2011. Effects of different dietary prebiotic inulin levels on blood serum enzymes, hematologic, and biochemical parameters of cultured juvenile great sturgeon (*Huso huso* Linnaeus, 1745). *Journal of Applied Ichthyology* 29: 1214-1218.
- Akrami, R., Hajimoradloo, A., Matinfar, A., 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
- Akrami, R., Rahnema, B., Chitsaz H., Razeghi Mansour, M. 2015. Effects of dietary inulin on growth performance, survival, body composition, stress resistance and some hematological parameters of Gibel carp juveniles (*Carassius auratus gibelio*). *Iranian Journal of Fisheries Sciences* 14: 1072-1082.
- AOAC. 2005. Official method of Analysis. 18th Edition, Association of Officiating Analytical Chemists, Washington DC, Method 935.14 and 992.24.
- Bagheri, T., Hedayati, S., Yavari, V., Alizade, M., Farzanfar, A. 2008. Growth, survival and gut microbial load of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fry given diet supplemented with probiotic during the two months of first feeding. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 8: 43-48.
- 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., 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.
- Farzanfar, A., Lashto Aghaei, G., Alizadeh, M., Bayati, M., Ghorban, R. 2007. Study on growth performance of Rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, larvae with different concentration of probiotic in diet. In: *Proceedings of Aquaculture*, San Antonio, Texas, USA.
- Fenton, T.W., Fenton, M. 1979. An improved procedure for the determination of chromic oxide in feed and feces. *Canadian Journal of Animal Science* 59: 631-634.
- GhasemPour Dehaghani, P., Jawaheri Baboli, M., Taghavi Moghaddam, A., Ziaeinejad, S., Pourfarhradi, M., 2015. Effect of synbiotic dietary supplementation on survival, growth performance, and digestive enzyme activities of common carp (*Cyprinus carpio*) fingerlings. *Czech Journal of Animal Science* 60: 224-232.
- Giannenas, I., Karamaligas, I., Margaroni, M., Pappas, I., Mayer, E., Encarnação, P., Karagouni, E. 2014. Effect of dietary incorporation of a multi-strain probiotic on growth performance and health status in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish Physiology and Biochemistry* 41: 119-128.
- Günther, J., Jiménez-Montealegre, R. 2004. Effect of the probiotic *Bacillus subtilis* on the growth and food utilization of tilapia (*Oreochromis niloticus*) and prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) under laboratory conditions. *Revista de Biología Tropical* 1: 937-943.

- Hamdan, A., El-Sayed, A., Mahmoud, M. 2016. Effects of a novel marine probiotic, *Lactobacillus plantarum* AH 78, on growth performance and immune response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Journal of Applied Microbiology 120: 1061-1073.
- 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.
- Hassaan, M.S., Goda, A.M. A., Mahmoud, S.A., Tayel, S.I. 2014. Protective effect of dietary vitamin E against fungicide copperoxychloride stress on Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), fingerlings. International Aquatic Research 6: 58-73.
- Hoseinifar, S.H., Mirvaghefi, A., Merrifield, D.L., Mojazi Amiri, B., Yelghi, S., Darvish Bastami, K. 2011a. The study of some haematological and serum biochemical parameters of juvenile beluga (*Huso huso*) fed oligofructose. Fish Physiology and Biochemistry 37: 91-96.
- Hoseinifar, S.H., Mirvaghefi, A., Merrifield, D.L. 2011b. The effects of dietary inactive brewer's yeast *Saccharomyces cerevisiae* var. *ellipsoideus* on the growth, physiological responses and gut microbiota of juvenile beluga (*Huso huso*). Aquaculture 318: 90-94.
- Hosseinifar, S.H., Mirvaghefi, A., Mojazi Amiri, B., Rostami, H.K., Merrifield, D.L. 2011c. The effects of oligofructose on growth performance, survival and autochthonous intestinal microbiota of beluga (*Huso huso*) juveniles. Aquaculture Nutrition 17: 498-504
- Hung, S.S.O., Lutes, P.B. 1987. Optimum feeding rate of hatchery produced juvenile white sturgeon (*Acipenser transmontanus*), at 20 °C. Aquaculture 65: 307-317.
- Irianto, A., Austin, B. 2002a. Probiotics in aquaculture Journal of Fish Diseases 25: 633-642.
- Irianto A., Austin B. 2002b. Use of probiotics to control furunculosis in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Journal of Fish Diseases 25: 333-342.
- Kim D.H., Austin B. 2006. Cytokine expression in leucocytes and gut cells of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), induced by probiotics. Veterinary Immunology and Immunopathology 114: 297-304.
- Kim, K.W., Wang, X., Chio, S.M., Park, G.J., Bai S.C. 2004. Evaluation of optimum dietary protein –to- energy ration Juvenile olive flounder (*Paralichthys olivaceus*), (Temminck et Schlegel). Aquaculture Research 35: 250-255.
- Kousha, M., Yeganeh, S., Amirkolaie, A.K. 2017. Effect of sodium selenite on the bacteria growth, selenium accumulation, and selenium biotransformation in *Pediococcus acidilactici*. Food Science and Biotechnology 26: 1013-1018.
- Kühlwein, H., Merrifield, D.L., Rawling, M.D., Foey, A.D., Davies, S.J. 2014. Effects of dietary b-(1,3) (1,6)-D-glucan supplementations 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.
- Lellis, W.A., Barrows, F.T. 2000. Effect of dietary ingredient substitution on dorsal fin erosion of steelhead. North American Journal of Aquaculture 62: 135-138.
- Liu, K., Chiu, C., Shiu, Y., Cheng, W. Liu, C. 2010. Effects of the probiotic, *Bacillus subtilis* E20, on the survival, development, stress tolerance and

- immune status of white shrimp, *Litopenaeus vannamei* larvae. Fish and Shellfish Immunology 28: 837-844.
- Liu, Y., Jovanovic, B., Pins, M., Lee, C., Bergan, R.C. 2002. Over expression of endoglin in human prostate cancer suppresses cell detachment, migration and invasion. Oncogene 21: 8272-8281.
- Marguerite, R. 2006. Chitin and chitosan: Properties and applications. CERMAV-CNRS, affiliated with Joseph Fourier University, BP53, 38041 Grenoble Cedex 9, France.
- Mehrabi, F., Khalesi, M.K., 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.
- Mehrabi, Z., Firouz bakhsh, F., Jafarpour, A. 2011. Effects of dietary supplementation of synbiotic on growth performance, serum biochemical parameters and carcass composition in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fingerlings. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition 96: 478-481.
- Merrifield D., Bardley G., Baker R., Davies, S. 2009. Probiotic applications for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) effects on growth performance, feed utilization, intestinal microbiota and related health criteria postantibiotic treatment. Aquaculture Nutrition 22: 141-150.
- Mohan, M., Bhanja, S.K., Basade, Y. 2009. Performance of chitin incorporated diet on the indigenous Kumaon Himalayan fishes: snow trout, *Schizothorax richardsonii* (Gray) and goldenmahseer, *Tor putitora* (Hamilton). Indian Journal of Fisheries 56: 135-137
- Munir, M.B., Hashim, R., Chai, Y.H., Marsh, T.L., Nor, S.A.M. 2016. Dietary prebiotics and probiotics influence growth performance, nutrient digestibility and the expression of immune regulatory genes in snakehead (*Channa striata*) fingerlings. Aquaculture 460: 59-68.
- Nguyen, T.L., Park, C. I., Kim, D.H. 2017. Improved growth rate and disease resistance in olive flounder, *Paralichthys olivaceus*, by probiotic *Lactococcus lactis* WFLU12 isolated from wild marine fish. Aquaculture 471: 113-120.
- Olsen, R.E., Myklebust, R., Kryvi, H., Mayhew, T.M., Ringø, E. 2001. Damaging effect of dietary inulin on intestinal enterocytes in Arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.). Aquaculture Research 32: 931-934.
- Olsen, R.E., Suontama, J., Langmyhr, E., Mundheim, H., Ringø, E., Melle, W., Malde, M.K. and Hemre, G.I. 2006. The replacement of fish meal with Antarctic krill, *Euphausia superba* in diets for Atlantic salmon, *Salmo salar*. Aquaculture Nutrition 12: 280-290.
- Ramos, M.A., Weber, B., Gonçalves, J.F., Santos, G.A., Rema, P., Ozório, R.O.A. 2013. Dietary probiotic supplementation modulated gut microbiota and improved growth of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Comparative Biochemistry and Physiology 166A: 302-307.
- Paola, N., Dariel, T.R. 2014. Use of Yeasts as Probiotics in Fish Aquaculture. In: Sustainable Aquaculture Techniques., 136-172.
- Ringø, E., Løvmo, L., Kristiansen, M., Bakken, Y., Salinas, I., Myklebust, R., Olsen, R.E., Mayhew, T. 2010. Lactic acid bacteria vs. pathogens in the gastrointestinal tract of fish: a review. Aquaculture Research 41: 451-467.
- Ringø, E., Zhou, Z., Olsen, R.E., Song, S.K. 2012. Use of chitin and krill in aquaculture- the effect on gut microbiota and the immune system, A review. Aquacult Nutrition 18: 117-131.
- Rodehutsord, M., Pfeffer, E. 1995. Effects of supplemental microbial phytase on

- phosphorus digestibility and utilization in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Water Science and Technology 31: 143-147.
- Rodriguez-Estrada, U., Satoh, S., Haga, Y., Fushimi, H., Sweetman, J. 2009. Effects of single and combined supplementation of *Enterococcus faecalis*, mannanoligosaccharide and polyhydrobutyric acid on growth performance and immune response of rainbow trout. *Oncorhynchus mykiss*. Aquaculture Science 57: 609-617.
- Sangma, T., Kamilya, D. 2015. Dietary *Bacillus subtilis* FPTB13 and chitin, single or combined, modulate systemic and cutaneous mucosal immunity and resistance of catla, *Catla catla* (Hamilton) against edwardsiellosis. Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases 43: 8-15.
- 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: 163-172.
- Selim, K.M., Reda, R.M. 2015. Improvement of immunity and disease resistance in the Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, by dietary supplementation with *Bacillus amyloliquefaciens*. Fish and Shellfish Immunology 44: 496-503.
- Scott, T.A., Hall, J.W. 1998. Using acid insoluble ash marker ratios (diet: digesta) to predict digestibility of wheat and barley metabolizable energy and nitrogen retention in broiler chicks. Poultry Science 77: 674-679.
- Sheng, J., Lin, Q., Chen, Q., Shen, L., Lu, J. 2006. Effect of starvation on the initiation of feeding, growth and survival rate of juvenile seahorses, *Hippocampus trimaculatus* Leach and *Hippocampus kuda* Bleeker. Aquaculture 271: 469-478.
- Shiau, S-Y., Yu, Y-P. 1999. Dietary supplementation of chitin and chitosan depresses growth in tilapia, *Oreochromis niloticus* × *O. aureus*. Aquaculture 179: 439-446.
- Sotoudeh, A., Yeganeh, S. 2016. Effects of supplementary fennel (*Foeniculum vulgare*) essential oil in diet on growth and reproductive performance of the ornamental fish, Convict cichlid (*Cichlasoma nigrofasciatum*). Aquaculture Research 48: 4284-4291.
- Standen, B., Rawling, M., Davies, S., Castex, M., Foey, A., Gioacchini, G., Carnevali, O. Merrihield, D. 2013. Probiotic *Pediococcus acidilactici* modulates both localised intestinal-and peripheral-immunity in tilapia (*Oreochromis niloticus*). Fish and Shellfish Immunology 35: 1097-1104.
- Stanton, C., Rose, R.P., Fitzgerald, G.F., Van, S.D. 2005. Fermented functional foods based on probiotics and their biogenic metabolites. Current Opinion in Biotechnology 16: 198-203.
- Stull, V.J., Finer, E., Bergmans, R.S., Febvre, H.P., Longhurst, C., Manter, D.K., Patz, J.A. 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.
- Taati, R., Abolghasemi, S.J., Tatina, M., 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.
- Taati, R., Soltani, M., Bahmani, M., 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 Sciences 10: 324-335.
- Vazquze, J.A., Gonzalez, M.P., Murado, M.A. 2005. Effects of lactic acid bacteria cultures on pathogenic microbiota from fish. Aquaculture 245: 149-161.
- Vendrell, D., Balcazar, J.L., de Blas, I., Ruiz-Zarzuela, I., Gironés, O., Muzquiz, J.L. 2008. Protection of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) from lactococcosis by probiotic bacteria. Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases 31: 337-345.
- Vilamil, L., Tafalla, C., Figueras, A., Novoa, B. 2002. Evaluation of immunomodulatory effects of lactic acid bacteria in turbot (*Scophthalmus maximus*). Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology 9: 1318-1323.
- Yazici, I.S., Hisar, O., Yilmaz, S., Yigit, M. 2015. Effects of different probiotic bacteria on growth, body composition, immune response and hematological parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) under sublethal water temperature. Marine Science and Technology Bulletin 4: 21-28.
- Zhou, Z., Karlsen, Q., He, S., Olsen, R.E., Yao, B., Ringø, E. 2012. The effect of dietary chitin on the autochthonous gut bacteria of Atlantic cod (*Gadus morhua* L.). Aquaculture Research 44: 1889-1900.
- Zhou, X., Wang, Y., Yao, J, 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: 73-80.

Probiotic *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* and chitin supplementation in the common carp *Cyprinus carpio* diet and their influences on growth performance, body composition and feed digestibility

Hossein Barghaman, Sakineh Yeganeh*, Abdolsamad Keramat Amirkolaie
Department of Fisheries, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari,
Mazandaran, Iran

Received 25 May 2019; accepted 15 September 2019

Abstract

Probiotic and prebiotic have many advantages and are employed as a method for aquaculture yield improvement. The main goal of the current study is to evaluate the effect of dietary *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* as well as chitin on growth performance, carcass composition and feed digestibility in common carp, *Cyprinus carpio*. So that, 360 juvenile carps with mean initial weight of 12 ± 1.5 g were randomly distributed in 6 treatments based on adding different chitin levels including 0, 1, and 2% and probiotic including 0 and 2% (1×10^7 CFU/g) to a basal diet and cultured for 8 weeks. At the end of the experiment, growth indices, survival rate, carcass composition and nutrient digestibility were measured. Maximum final weight, weight gain, feed conversion ratio, daily growth rate, feed efficiency and condition factor as well as the lowest FCR were observed in treatments fed with probiotic 2%, chitin 1% and probiotic 2% + chitin 1% ($P < 0.05$). Dietary chitin and probiotic did not alter feed intake and total length in common carps ($P > 0.05$). The experimental treatments did not influence the carcass composition and nutrient digestibility. In conclusion, it seems that adding 2% probiotic and 1% chitin can improve some growth indices in common carp, but can not affect carcass composition and nutrient digestibility.

Keywords: Chitin, Common carp (*Cyprinus carpio*), Digestibility, Growth indices, *Lactococcus lactis* subsp. *Lactis*.

Corresponding author: s.yeganeh@sanru.ac.ir