



دانشگاه گنبد کاووس

نشریه "پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی"

دوره چهارم، شماره اول، بهار ۹۵

<http://jair.gonbad.ac.ir>

## به کارگیری باکتری‌های پروبیوتیکی *Bifidobacterium animalis* و *B. lactis* در تغذیه لارو ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792) به منظور بهبود رشد و افزایش بازماندگی

جواد سهندی<sup>۱\*</sup>، حجت‌اله جعفریان<sup>۲</sup>، مهدی سلطانی<sup>۳</sup>، پونه ابراهیمی<sup>۴</sup>

<sup>۱</sup> دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد آبی‌پروری، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران

<sup>۲</sup> دانشیار گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران

<sup>۳</sup> استاد گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

<sup>۴</sup> دانشیار گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گلستان، گرگان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۴/۱۰؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۶/۱۵

چکیده

در این مطالعه تأثیر دو گونه باکتری پروبیوتیکی *Bifidobacterium animalis* و *B. lactis* با سه غلظت  $100 \text{ g}^{-1} \times 10^9 \text{ CFU}$  (T1)،  $2 \times 10^9$  (T2) و  $3 \times 10^9$  (T3) در مقایسه با غذای شاهد (بدون پروبیوتیک) بر عملکرد رشد و زنده‌مانی لارو قزل‌آلای رنگین‌کمان با وزن اولیه  $0.538 \pm 0.197$  گرم در مدت ۶۰ روز مطالعه مورد ارزیابی قرار گرفت. این مطالعه در یک طرح کاملاً تصادفی با سه تیمار آزمایشی و یک تیمار شاهد با سه تکرار برنامه‌ریزی و اجرا شد. در غلظت‌های مختلف از پروبیوتیک مصرفی تیمار T1 بیشترین میزان رشد را نسبت به سایر تیمارها نشان داد ( $p < 0.05$ ). همچنین اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی و گروه شاهد از نظر پارامترهای رشد و تغذیه‌ای و همچنین ترکیبات لاشه لاروها مشاهده شد ( $p < 0.05$ ). درصد بازماندگی لاروها در تیمارهای آزمایشی نسبت به شاهد دارای افزایش معنی‌داری بود. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد استفاده از دو گونه *B. lactis* و *B. animalis* موجب بهبود عملکرد رشد و کاهش تلفات دوره پرورش لارو قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: *O. mykiss*، رشد، لاکتوباسیل، پروبیوتیک

\*مسئول مکاتبه: sahandijavad@gmail.com

## مقدمه

ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) گونه‌ای گوشتخوار است که در سال‌های اخیر تولید آن در سطح دنیا به شدت در حال افزایش می‌باشد (FAO, 2011). همچنین طبق آمار دفتر برنامه‌ریزی و بودجه سازمان شیلات ایران تولید سالانه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان از ۲۰۰۰ تن در سال ۱۳۷۹ به بیش از ۷۳۶۴۲ تن در سال ۱۳۸۸ افزایش یافته است (IFRO, 2011). افزایش تولید مسلماً نیازمند تولید خوراک با قیمت مناسب است. استفاده از پروبیوتیک‌ها به‌عنوان روش مدیریتی در تولید ماهیان با سابقه مطالعاتی متعدد لازم به نظر می‌رسد (Jafaryan, 2008). تولید مناسب ماهیان پرورشی مستلزم دسترسی به غذای با کیفیت و قابل هضم برای لاروها است (Waché et al., 2006; Tovar-Ramirez et al., 2002). اغلب مطالعات صورت گرفته در خصوص تأثیر پروبیوتیک‌ها بر تغذیه ماهیان در جهت کاهش ضریب تبدیل غذایی و افزایش نرخ رشد اختصاصی است (Adineh et al., 2013; Sahandi et al., 2012).

پروبیوتیک‌ها یکی از جنبه‌های مطالعاتی در خصوص تغذیه آبزیان می‌باشند که تعاریف گسترده و مختلفی در خصوص آن‌ها بیان شده است (Jafaryan, 2008). باکتری‌های پروبیوتیکی به مکمل‌های غذایی میکروبی زنده‌ای اطلاق می‌شود که با بهبود بخشیدن به تعادل میکروبی روده میزبان تأثیرات سودمندی برای آن‌ها ایجاد می‌کند (Fuller, 1989). در خصوص روش‌های استفاده نیز چندین شیوه از جمله غنی‌سازی موجودات زنده مانند آرتمیا و دافنی که تغذیه کننده غیر انتخابی هستند (Jafaryan et al., 2008) به‌صورت مکمل‌سازی در جیره (Adineh et al., 2013; Bagheri et al., 2008)، افزودن به آب محیط پرورش (Sahandi et al., 2012) و یا به‌صورت تلقیح جهت تخمیر مواد غذایی خام (Bairagi et al., 2002; Ramachandran and Ray, 2007) می‌باشد. پروبیوتیک‌ها شامل گروه‌های عمده‌ای از جلبک‌های ریز، مخمرها، باکتری‌های گرم مثبت و منفی هستند که به‌عنوان عوامل تأثیرگذار بر بهبود رشد و بازماندگی میزبان شناخته شده هستند (Balcazar et al., 2006; Irianto and Austin, 2002). از جمله باکتری‌های پروبیوتیکی گرم مثبت که در مطالعه حاضر مورد استفاده قرار گرفت بیفیدوباکتریوم می‌باشد. بیفیدوباکتریوم‌ها از جمله گونه‌های پروبیوتیکی هستند که تاکنون مطالعات اندکی در خصوص آن‌ها صورت گرفته است (Tomasik and Tomasik, 2003). فعالیت این دسته از باکتری‌ها علاوه بر بهبود عملکرد هضم و جذب در جهت مقابله با عوامل بیماری‌زا می‌باشد (Irianto and Austin, 2002). به‌این ترتیب که ضمن اتصال محکم به سلول‌های اپیتلیال روده میزبان موجب کاهش کلنی‌سازی عوامل بیماری‌زا و کاهش تراکم آن‌ها می‌گردند (Sarem-Damerdjii et al., 1999; Ouwehand et al., 1995). با ورود پروبیوتیک‌ها به دستگاه گوارش میزبان و قرارگیری در سلول‌های اپیتلیال ضمن تولید آنزیم‌های گوارشی موجب بهبود عملکرد هضم و جذب شده و همچنین با رشد رقابتی مانع رشد پاتوژن‌ها می‌شوند (Holzapfel et al., 1998; Netherwood et al., 1999).

Casas and Dobrogosz, 1997). پروبیوتیک ها علاوه بر بهبود عملکرد رشد موجب افزایش بازماندگی در طول دوره پرورش میزبان می گردند و مطالعات در خصوص گونه ها مختلف و نحوه عملکرد آن ها جهت معرفی گونه پروبیوتیکی مؤثر امری ضروری است. بیفیدوباکترها باکتری هایی گرم مثبت، بی هوازی، میله ای شکل منشعب هستند که با تخمیر همگن قندها تولید اسید لاکتیک می نمایند. اعضای این جنس متعلق به راسته Actinobacteria هستند که بیشترین ساختار بازهای آلی در ساختار ژنوم آن ها متعلق به سیتوزین و گوانین می باشد و با رشد رقابتی علاوه بر بهبود هضم و جذب مانع رشد عوامل بیماری زا می شوند (Schell et al., 2002).

هدف از این مطالعه بررسی تأثیر دو گونه باکتری اسیدلاکتیک متعلق به جنس بیفیدوباکتریوم تحت عناوین علمی *B. lactis* و *B. animalis* بر رشد، بازماندگی و ترکیبات مغذی لاشه لارو قزل آلی رنگین کمان در طول دوره پرورش است. مطالعه حاضر می تواند در به کارگیری این دو گونه در راستای رشد، بازماندگی و بهبود ترکیبات لاشه لارو قزل آلی رنگین کمان در کشورمان مفید واقع گردد.

#### مواد و روش ها

**آماده سازی لارو ماهی جهت انجام آزمایش:** تعداد ۴۷۰ قطعه لارو ماهی قزل آلی رنگین کمان (*O. mykiss*) با وزن اولیه  $0.197 \pm 0.0538$  گرم از پرورشگاه ماهیان سردآبی گل چشمه تهیه گردید (مازندران، ایران). لاروها در کیسه های پلاستیکی با حجم ۱ به ۳ از آب و اکسیژن بسته بندی شده و به آزمایشگاه هیدروبیولوژی دانشگاه گنبدکاووس منتقل گردید. لاروها طی مدت ۱۴ روز جهت تطبیق با محیط در حوضچه پلاستیکی با ظرفیت ۱۰۰۰ لیتر ذخیره سازی شدند.

**آماده سازی شرایط آزمایشی:** آب مورد استفاده در این مطالعه از چاه تأمین شد و دارای میانگین دمای  $17.66 \pm 1.33$  °C بود. میزان ۲ لیتر در دقیقه آب وارد هر حوضچه می شد. جهت کنترل پارامترهای کیفی آب دما، سختی، pH، قلیائیت و شوری در طول دوره مطالعه اندازه گیری و ثبت گردید که در جدول ۱ نشان داده شده است. جهت حفظ تعادل پارامترهای کیفی آب روزانه ۲ بار حوضچه ها سیفون شده و غذای باقیمانده و فضولات لاروها خارج گردید.

جدول ۱: میانگین پارامترهای فیزیکی و شیمیایی آب در طول دوره ۶۰ روزه مطالعه به کارگیری لاکتوباسیل های پروبیوتیکی در تغذیه لارو قزل آلی رنگین کمان (*O. mykiss*) در جهت بهبود عملکرد رشد و نرخ بازماندگی در

#### طول دوره پرورش

| دما (°C)         | pH              | هدایت الکتریکی EC (µmhos/cm) | شوری (mg/L)      | قلیائیت (mmol/L) | سختی کل (mg/L) |
|------------------|-----------------|------------------------------|------------------|------------------|----------------|
| $17.66 \pm 1.33$ | $7.63 \pm 0.08$ | $3012.62 \pm 450.03$         | $210.1 \pm 0.13$ | ۲۴۰              | ۳۹۱/۶          |

**آماده‌سازی پروبیوتیک:** در این مطالعه از دو گونه پروبیوتیک اسید لاکتیک تحت عناوین علمی *B. animalis* PTCC-1631 و *B. lactis* PTCC-1736 با سه غلظت  $10^9 \times 1$ ،  $10^9 \times 2$  و  $10^9 \times 3$  استفاده گردید. پروبیوتیک‌های مذکور از مرکز کلکسیون قارچ و باکتری صنعتی ایران به صورت لیوفیلیزه تهیه و در محیط کشت MRS رشد داده شد. از محلول نیمه مک فارلند جهت تعیین تعداد باکتری‌ها طبق روش کدورت‌سنجی استفاده شد.

**طرح آزمایش:** لاروها در ۴ تیمار (۳ تیمار آزمایشی و ۱ تیمار شاهد) با سه تکرار درون حوضچه‌های ۱۵ لیتری با تراکم ۲ لارو در هر لیتر جهت مطالعه‌ای ۶۰ روزه تقسیم‌بندی شدند. تقسیم‌بندی لاروها به صورت کاملاً تصادفی صورت گرفت. جیره مصرفی به صورت تجاری تهیه گردید و لاروها در طول دوره روزانه ۴ بار (۸:۰۰، ۱۲:۰۰، ۱۶:۰۰ و ۲۰:۰۰) بر اساس ۴ تا ۸ درصد وزن بدن تغذیه شدند (Mohammadi Azarm *et al.*, 2004). دوره روشنایی و تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت در طول دوره مطالعه اعمال گردید. غلظت موردنظر برای هر تیمار به جیره غذایی مربوطه به هر تیمار افزوده شده و به ماهیان تیمار مربوطه خورانیده شد. جهت بیان ساده تیمارها از نامگذاری به شکل C (تیمار شاهد)، T۱ (جیره حاوی  $10^9 \times 1$ )، T۲ (جیره حاوی  $10^9 \times 2$ ) و T۳ ( $10^9 \times 3$ ) بر اساس واحد CFU در ۱۰۰ گرم غذا استفاده شد. جیره مصرفی گروه شاهد فاقد هر گونه پروبیوتیک بود. جیره‌ها پس از اسپری شدن پروبیوتیک در دمای اتاق خشک شده و در جای خشک و خنک نگهداری گردید.

**بررسی پارامترهای رشد و بازماندگی:** جهت بررسی تأثیر پروبیوتیک‌های مصرفی بر عملکرد رشد و بازماندگی لاروها، ۱۰ درصد از کل جمعیت هر تکرار به صورت هفتگی با استفاده از پودر گل میخک با غلظت ۰/۱ گرم در لیتر بی‌هوش و مورد زیست‌سنجی قرار گرفتند. طول لاروها با استفاده از تخته زیست‌سنجی با دقت ۱ میلی‌متر و وزن آن‌ها با استفاده از ترازوی رقمی با دقت ۰/۰۰۱ اندازه‌گیری شد. در انتهای دوره ۶۰ روز مطالعه تمام ماهیان صید، بی‌هوش و مورد زیست‌سنجی قرار گرفتند. در طول دوره مطالعه تعداد تلفات لاروها ثبت شد و در پایان مطالعه بر اساس رابطه زیر درصد بازماندگی لاروها تحت تیمار پروبیوتیک محاسبه گردید.

(Felix and Sudharsan, 2004)  $\times 100 = [\text{تعداد اولیه} / (\text{تعداد اولیه} - \text{تلفات هر تیمار})] = \text{درصد بازماندگی}$

همچنین در پایان دوره آزمایش و انجام زیست‌سنجی نهایی پارامترهای رشد مورد محاسبه قرار گرفت تا میزان تأثیر پروبیوتیک مصرفی را بر عملکرد رشد در لارو ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان مورد بررسی قرار دهد. پارامترهای اندازه‌گیری شده به قرار ذیل بودند.

(Helland *et al.*, 1996) وزن به‌دست آمده (گرم) / غذای خورده شده (گرم) = ضریب تبدیل غذایی

(Jafaryan, 2006)  $\times 100 = [\text{غذای خورده شده (گرم)} / \text{وزن توده زنده به‌دست آمده (گرم)}] = \text{کارایی تبدیل غذایی}$

×۱۰۰] دوره پرورش (روز)/ لگاریتم طبیعی وزن اولیه ماهی - لگاریتم طبیعی وزن نهایی ماهی] = نرخ رشد ویژه (Helland et al., 1996)

دوره پرورش (روز)/ [وزن اولیه ماهی (گرم) - وزن نهایی ماهی (گرم)] = میانگین رشد روزانه (De-Silva and Anderson, 1995)

**بررسی پارامترهای تغذیه‌ای:** جهت مطالعه تأثیرات پروبیوتیک مصرفی بر پارامترهای تغذیه‌ای فرمول‌های زیر مورد محاسبه و اندازه‌گیری قرار گرفتند:

(Jafaryan, 2006) میزان پروتئین دریافتی (گرم)/ میزان افزایش وزن (گرم) = نرخ کارایی پروتئین

(Jafaryan, 2006) میزان لیپید دریافتی (گرم)/ میزان افزایش وزن (گرم) = نرخ کارایی لیپید

(Jafaryan, 2006) میزان انرژی دریافتی (کیلوکالری)/ میزان افزایش وزن (گرم) = نرخ کارایی انرژی

(Douillet and Langdon, 1994) [طول کل ماهی (سانتی‌متر)/ وزن نهایی ماهی (گرم)] × ۱۰۰ = فاکتور وضعیت

(De-Silva and Anderson, 1995) × ۱۰۰ وزن اولیه (گرم) / وزن به‌دست آمده (گرم) = درصد افزایش وزن

**بررسی ترکیبات لاشه ماهیان:** در ابتدای دوره آزمایش از لاروهای قزل‌آلای رنگین‌کمان، تعداد ۳۰ قطعه نمونه‌برداری و پس از انجام بیومتری، جهت آنالیز لاشه به آزمایشگاه منتقل گردید. همچنین درانتهای دوره آزمایش تعداد ۵ قطعه لارو ماهی از هر تکرار نمونه‌برداری و طول و وزن آنها اندازه‌گیری و پس از انجماد به آزمایشگاه منتقل گردید. در آزمایشگاه، تجزیه لاشه و تعیین ترکیبات شیمیایی بدن لاروهای ماهی مطابق با استاندارد (AOAC, 1990) انجام پذیرفت. پروتئین خام با استفاده از روش میکروکجدال و با تعیین مقدار نیتروژن کل و براساس ۰/۰۱۶ نیتروژن، چربی خام مطابق با روش سوکسله، انرژی خام با استفاده از دستگاه بمب کالری‌متر، رطوبت و ماده خشک لاشه به‌طور وزنی بعد از خشک کردن در دمای ۱۰۵ درجه‌سانتی‌گراد برای مدت ۲۴ ساعت تعیین شد. همچنین خاکستر لاشه با استفاده از سوزاندن نمونه‌ها در کوره با حرارت ۵۵۰ درجه‌سانتی‌گراد ظرف مدت ۸ ساعت تعیین گردید.

**روش آماری مورد استفاده:** این مطالعه بر اساس یک طرح کاملاً تصادفی برنامه‌ریزی و اجرا گردید. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها پس از ثبت آنها در نرم‌افزار Excel با استفاده از نرم‌افزار SPSS از روش آنالیز واریانس یک طرفه استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون Duncan انجام و وجود و یا عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد ( $p < 0/05$ ) تعیین شد.

## نتایج

نتایج تأثیر دو گونه پروبیوتیک مصرفی در مطالعه حاضر بر پارامترهای رشد در جدول ۲ آورده شده است. در خصوص نتایج مربوط به وزن نهایی نتایج نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار تیمار T۱ و T۲ نسبت به شاهد بود ( $p < 0/05$ ). کمترین میانگین وزنی به‌دست آمده مربوط به گروه شاهد به میزان  $4/391 \pm$  گرم بوده و بیشترین میزان  $24/983 \pm 6/109$  گرم مربوط به تیمار T۱ بود که با جیره حاوی  $1 \times 10^9$  CFU بر ۱۰۰ گرم غذا تغذیه شده بود. ضریب تبدیل غذایی در تیمارهای آزمایشی کاهش یافت به طوری که کمترین میزان ضریب تبدیل غذایی در تیمار آزمایشی T۱ و T۲ مشاهده گردید. نرخ کارایی غذایی در تیمار آزمایشی T۱ بیش‌ترین میزان و شاهد کمترین میزان را نشان داد ( $p < 0/05$ ). نرخ رشد ویژه در لاروهای قزل‌آلا در تیمار آزمایشی T۱ بیشترین میزان را داشت و تیمار T۲ و T۳ در رتبه‌های بعدی قرار داشت. اختلاف معنی‌داری در پارامترهای رشد بین تیمارهای آزمایشی و شاهد مشاهده گردید ( $p < 0/05$ ).

جدول ۲: معیارهای رشد لارو قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی مکمل‌شده با سه غلظت متفاوت از *B. lactis* و *B. animalis*

| تیمارها (لاروهای قزل‌آلای رنگین‌کمان) |                             |                             |                         | معیارهای رشد                  |
|---------------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-------------------------|-------------------------------|
| T۳                                    | T۲                          | T۱                          | شاهد                    |                               |
| ( $3 \times 10^9$ CFU 100g)           | ( $2 \times 10^9$ CFU 100g) | ( $1 \times 10^9$ CFU 100g) | (فاقد هرگونه پروبیوتیک) |                               |
| $0/548 \pm 0/212$                     | $0/520 \pm 0/113$           | $0/508 \pm 0/133$           | $0/575 \pm 0/282$       | میانگین وزن اولیه (گرم)       |
| $20/708 \pm 4/625^c$                  | $23/069 \pm 4/840^b$        | $24/983 \pm 6/109^a$        | $20/989 \pm 4/391^c$    | میانگین وزن نهایی (گرم)       |
| $12/257 \pm 0/880^c$                  | $14/122 \pm 4/579^a$        | $12/987 \pm 1/143^b$        | $12/265 \pm 0/888^c$    | میانگین طول نهایی (سانتی‌متر) |
| $1/215 \pm 0/263^a$                   | $1/086 \pm 0/230^b$         | $1/019 \pm 0/250^b$         | $1/205 \pm 0/329^a$     | ضریب تبدیل غذایی              |
| $0/862 \pm 0/193^c$                   | $0/961 \pm 0/201^b$         | $1/041 \pm 0/254^a$         | $0/874 \pm 0/183^c$     | کارایی تبدیل غذایی            |
| $6/010 \pm 0/364^c$                   | $6/294 \pm 0/350^b$         | $6/466 \pm 0/408^a$         | $5/955 \pm 0/328^c$     | نرخ رشد ویژه                  |
| $33/598 \pm 7/708^c$                  | $37/587 \pm 8/607^b$        | $40/804 \pm 10/181^a$       | $34/023 \pm 7/326^c$    | درصد میانگین رشد روزانه       |

\* حروف لاتین غیر مشابه نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین معیارهای رشد در هر ردیف است ( $p < 0/05$ ).

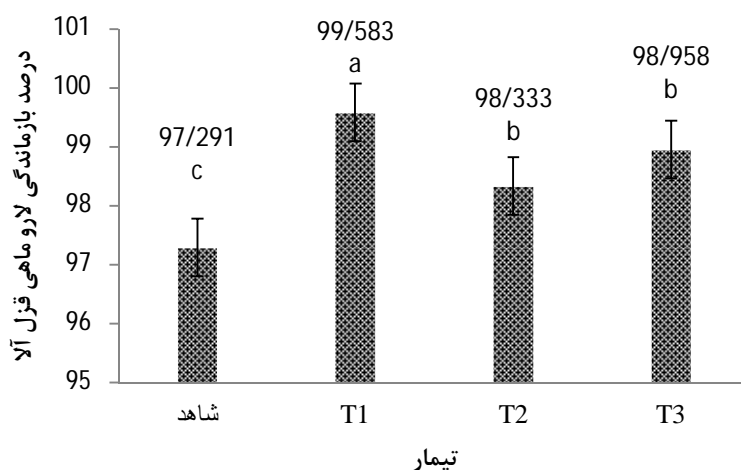
معیارهای تغذیه‌ای مربوط به تیمارهای آزمایشی و شاهد در جدول ۳ ارائه گردیده است. اختلاف معنی‌داری در تیمارهای آزمایشی در مقایسه با شاهد در خصوص نرخ کارایی پروتئین مشاهده شد به طوری که T۱ با بیشترین میزان دارای اختلاف معنی‌داری نسبت به سایر تیمارها و گروه شاهد بود ( $p < 0.05$ ). در مورد نرخ کارایی چربی نیز تیمار آزمایشی T۱ که با کمترین غلظت *B. animalis* و *B. lactis* بیشترین کارایی چربی را نشان داد. پس از تیمار T۱ تیمار آزمایشی T۲ نیز نسبت به تیمارهای T۳ و شاهد اختلاف معنی‌داری را در مورد نرخ کارایی چربی از خود نشان داد ( $p < 0.05$ ). در خصوص کارایی انرژی نیز نتایج مشابهی بدست آمد که نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای آزمایشی و شاهد بود. بیشترین میزان درصد افزایش وزن در تیمار T۱ مشاهده گردید که نسبت به سایر تیمارهای آزمایشی و شاهد اختلاف معنی‌داری داشت ( $p < 0.05$ ). در خصوص فاکتور وضعیت تیمار آزمایشی T۲ نسبت به سایر تیمارهای آزمایشی و شاهد اختلاف معنی‌داری را نشان داد.

جدول ۳: معیارهای تغذیه‌ای لارو قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی مکمل شده با سه غلظت متفاوت از *B. lactis* و *B. animalis*

| تیمارها (لارو قزل‌آلای رنگین‌کمان) |                                    |                                   |                                   |                                   |
|------------------------------------|------------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| پارامترهای تغذیه‌ای                | شاهد<br>(فاقد هرگونه<br>پروبیوتیک) | T۱<br>( $1 \times 10^9$ CFU 100g) | T۲<br>( $2 \times 10^9$ CFU 100g) | T۳<br>( $3 \times 10^9$ CFU 100g) |
| نرخ کارایی پروتئین                 | $1/924 \pm 0/403^c$                | $2/290 \pm 0/560^a$               | $2/114 \pm 0/443^b$               | $1/898 \pm 0/424^c$               |
| نرخ کارایی چربی                    | $6/948 \pm 1/453^c$                | $8/261 \pm 2/020^a$               | $7/628 \pm 1/600^b$               | $6/848 \pm 1/529^c$               |
| نرخ کارایی انرژی                   | $0/203 \pm 0/042^c$                | $0/242 \pm 0/059^a$               | $0/223 \pm 0/046^b$               | $0/200 \pm 0/044^c$               |
| فاکتور وضعیت                       | $1/122 \pm 0/082^a$                | $1/125 \pm 0/102^a$               | $0/914 \pm 0/376^b$               | $1/109 \pm 0/083^a$               |
| درصد افزایش وزن                    | $3550/241 \pm 764/546^c$           | $4818/096 \pm 1202/567^a$         | $4363/312 \pm 939/383^b$          | $3678/882 \pm 843/988^c$          |

\* حروف لاتین غیرمشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین پارامترهای تغذیه‌ای در هر ردیف است ( $p < 0.05$ ).

نرخ بازماندگی تیمارهای آزمایشی در شکل ۱ نشان داده شده است که موید اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای آزمایشی و شاهد می‌باشد. تیمار T۱ با داشتن بالاترین نرخ بازماندگی دارای اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها و شاهد بود. اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی T۲ و T۳ در این خصوص مشاهده نگردید ( $p < 0.05$ ).



شکل ۱: نمودار تلفات لارو قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) تغذیه شده با پروبیوتیک در طول دوره مطالعه ۶۰ روزه (حروف غیرمشابه در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار درصد بازماندگی بین تیمارها است) ( $p < 0.05$ ).

نتایج مربوط به آنالیز لاشه لارو قزل‌آلای رنگین‌کمان بعد از دوره ۶۰ روزه مطالعه در جدول ۴ نشان داده شده است که بیانگر اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی و گروه شاهد است. در مورد پروتئین خام تیمار T1 تغذیه شده با جیره حاوی کمترین غلظت پروبیوتیک دارای بیشترین میزان پروتئین خام نسبت به سایر تیمارهای آزمایشی بود ( $p < 0.05$ ). با این حال اختلاف معنی‌داری بین تیمار T1 و T2 در این خصوص مشاهده نگردید و کمترین میزان پروتئین خام در گروه شاهد مشاهده شد. تیمار T2 دارای بیشترین میزان چربی خام و انرژی خام بود که نسبت به سایر تیمارها و گروه شاهد این رقم به صورت معنی‌داری بیشتر بود ( $p < 0.05$ ). تیمار T1 و T3 در این دو پارامتر اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند اگرچه با گروه شاهد اختلاف معنی‌دار بود. بیشترین میزان ماده خشک و خاکستر به ترتیب متعلق به تیمارهای T2 و T3 بود هرچند تیمارهای T1 و T3 به ترتیب فاقد اختلاف معنی‌دار با دو تیمار مذکور بودند.

جدول ۴: ترکیبات مغذی لاشه قزل آلاهی رنگین کمان (*O. mykiss*) تغذیه شده با جیره حاوی سه غلظت های متفاوت باکتریایی *B. lactis* و *B. animalis* طی دوره آزمایشی ۶۰ روزه.

| تیمارها                                |  |  | شاهد<br>فاقد پروبیوتیک         | اولیه | ترکیبات<br>بیوشیمیایی |
|--|--|--|--------------------------------|-------|-----------------------|
| تیمار T۳                               | تیمار T۲                               | تیمار T۱                               |                                |       |                       |
| $3 \times 10^9$ CFU 100g <sup>-1</sup> | $2 \times 10^9$ CFU 100g <sup>-1</sup> | $1 \times 10^9$ CFU 100g <sup>-1</sup> |                                |       |                       |
| ۶۷/۸۹۳ ± ۰/۲۵۷ <sup>b</sup>            | ۶۶/۷۶۳ ± ۰/۶۹۹ <sup>a</sup>            | ۶۸/۳۳۶ ± ۰/۳۹۱ <sup>a</sup>            | ۶۶/۰۴۶ ± ۰/۲۸۷ <sup>b</sup>    | ۷۷/۰۵ | پروتئین خام (درصد)    |
| ۹/۸۱۰ ± ۰/۶۳۳ <sup>b</sup>             | ۱۱/۲۳۰ ± ۰/۳۶۱ <sup>a</sup>            | ۹/۵۵۰ ± ۰/۱۰۵ <sup>b</sup>             | ۸/۷۰۶ ± ۰/۳۳۱ <sup>c</sup>     | ۱۱/۸۸ | چربی خام (درصد)       |
| ۴۵۴۴/۸۰۳ ± ۳۴/۷۶۶ <sup>ab</sup>        | ۴۶۲۷/۳۱۰ ± ۲۷/۴۶۵ <sup>a</sup>         | ۴۵۱۶/۸۵۳ ± ۲۷/۸۵۵ <sup>b</sup>         | ۴۴۰۷/۰۴۶ ± ۷۷/۴۹۸ <sup>c</sup> | ۴۴۸۰  | انرژی (کالری بر گرم)  |
| ۷/۳۴۵ ± ۰/۷۷۰ <sup>a</sup>             | ۶/۳۹۱ ± ۰/۷۲۳ <sup>bc</sup>            | ۷/۱۲۴ ± ۰/۸۵۱ <sup>ab</sup>            | ۶/۲۴۹ ± ۰/۸۸۴ <sup>c</sup>     | ۹/۳۸  | خاکستر (درصد)         |
| ۲۵/۱۶۴ ± ۱/۰۱۶ <sup>ab</sup>           | ۲۶/۳۲۳ ± ۲/۶۴۴ <sup>a</sup>            | ۲۴/۴۰۰ ± ۰/۹۰۹ <sup>b</sup>            | ۲۴/۸۴۷ ± ۱/۴۲۳ <sup>ab</sup>   | ۱۳/۰۴ | ماده خشک (درصد)       |

\* حروف لاتین غیرمشابه نشان دهنده اختلاف معنی دار بین ترکیبات بیوشیمیایی در هر ردیف است (p < ۰/۰۵).

## بحث و نتیجه گیری

کنترل جمعیت میکروبی مراحل اولیه زیست آزیان در طول مدت پرورش اولیه از موارد ضروری بوده و در این راستا به کارگیری باکتری های پروبیوتیکی در جهت مدیریت میکروبی امری غیر قابل اجتناب می باشد (Olafsen and Handesn, 1992). در همین خصوص مطالعات مختلفی در مورد گونه های اسید لاکتیک به عنوان ارگانوسم های تولید کننده اسید لاکتیک که از تخمیر همگن قندها ایجاد می شود مدت ها است که آغاز گردیده است (Balcazar et al., 2006). دو گونه *B. lactis* و *B. animalis* مورد استفاده در این مطالعه عضوی از لاکتوباسیلوس ها بوده و متعلق به جنس *Bifidobacterium* می باشند که تحت عنوان پروبیوتیک شناخته می شوند (Charteris et al., 1998; Gill et al., 2001). نتایج تحقیق حاضر نشان داد که افزودن این دو گونه پروبیوتیک به جیره لارو قزل آلاهی رنگین کمان باعث بهبود معنی دار پارامترهای رشد و تغذیه، درصد بازماندگی و ترکیبات مغذی لاشه می شود.

توکمه چی و بندبانی (Tukmechi and Bandboni, 2013)، جهت بهبود عملکرد رشد در لاروهای قزل آلاهی رنگین کمان از *Lactobacillus rhamnosus* استفاده نمودند که نتایج قابل توجهی مبنی بر بهبود عملکرد رشد را نشان داد. همچنین در مطالعه ای ۶۰ روزه روی لارو قزل آلاهی رنگین کمان، محمدی و همکاران (Mohammadi et al., 2004) از پروبیوتیک پروتکسین که شامل لاکتوباسیلوس های پروبیوتیکی بود در تغذیه لاروهای قزل آلاهی رنگین کمان استفاده نمودند که موجب بهبود پارامترهای رشد گردید. لاروهای تغذیه شده با جیره حاوی  $1 \times 10^9$  CFU 100g در این مطالعه بیشترین وزن را نسبت به سایر تیمارها کسب کرد که با سایر تیمارهای آزمایشی و البته گروه شاهد اختلاف معنی داری را نشان داد (p < ۰/۰۵). علاوه بر افزایش وزن تأثیر مثبت پروبیوتیک مصرفی در این مطالعه در سایر پارامترهای رشد نیز مشاهده شد، به طوری که نرخ رشد ویژه و میانگین رشد روزانه در

تیمار T۱ تغذیه شده با جیره حاوی  $10^9$  CFU 100g (بیشترین میزان را نسبت به سایر تیمارها و گروه شاهد داشت. در مطالعه‌ای مشابه کارنوالی و همکاران (Carnevali *et al.*, 2006) گزارش دادند که استفاده از لاکتوباسیلوس‌ها در جیره غذایی باس دریایی جوان سبب بهبود عملکرد رشد این‌گونه گردید. تغذیه آبزیان در امر پرورش همواره بیشترین میزان هزینه را که در حدود ۶۰ درصد هزینه‌های جاری را شامل می‌شود. در واقع هزینه تغذیه بخش عمده هزینه‌های پرورشی را به خود اختصاص می‌دهد (Yousefi, 2000). این در حالی است استفاده از پروبیوتیک‌ها می‌تواند ضمن تأثیرگذاری بر روند هضم و جذب میزبان موجب کاهش ضریب تبدیل غذایی شده که در پی آن کاهش هدر رفت خوراک و هزینه را شاهد خواهیم بود (Yanbo and Zirong, 2006). در این مطالعه ضریب تبدیل غذایی که یکی از مهم‌ترین شاخص‌های تغذیه‌ای است در جیره تغذیه شده با پروبیوتیک در سطوح CFU  $10^9$  و  $2 \times 10^9$  به ترتیب کمترین میزان را نشان دادند که با گروه شاهد دارای اختلاف معنی‌داری بود ( $p < 0.05$ ). در موافقت با این نتایج طبق گزارش جعفریان (Jafaryan, 2006) پروبیوتیک‌ها با ترشح آنزیم‌های خارج سلولی موجب بهبود عملکرد هضم و جذب می‌شوند که موجب کاهش ضریب تبدیل غذایی خواهد شد، همچنین جعفریان (Jafaryan *et al.*, 2008) در مطالعه‌ای دیگر کاهش ضریب تبدیل غذایی را در قزل‌آلای رنگین‌کمان از  $1/74$  به  $1/59$  را گزارش نمود. این کاهش ضریب تبدیل غذایی در اثر فعالیت آنزیمی در نتیجه فعالیت پروبیوتیک‌ها بوده که علاوه بر بهبود هضم و جذب، موجب تأمین آمینواسیدهای ضروری و ویتامین‌ها نیز می‌گردد (Dall and Moriarty, 1983; Tovar-Ramirez *et al.*, 2002). همسو با این نتایج یانبو و زیرونگ (Yanbo and Zirong, 2006) گزارش دادند که استفاده از پروبیوتیک‌ها سبب بهبود فعالیت آنزیمی دستگاه گوارش گردیده و موجب کاهش ضریب تبدیل غذایی می‌شود. واچه و همکاران (Waché *et al.*, 2006) گزارش دادند استفاده از پروبیوتیک موجب افزایش تولید آنزیم در لارو قزل‌آلای رنگین‌کمان گردید که موجب بهبود پارامترهای رشد در این گونه گردید. در مطالعه دیگری آدینه و همکاران (Adineh *et al.*, 2013) با استفاده از پروبیوتیک به شکل مکمل‌سازی در جیره لارو قزل‌آلای رنگین‌کمان ضمن افزایش رشد، شاهد کاهش ضریب تبدیل غذایی و افزایش نرخ رشد ویژه بودند.

بررسی پارامترهای تغذیه‌ای از جمله نسبت کارایی پروتئین و چربی، فاکتور وضعیت و درصد افزایش وزن از جمله موارد مهم در مطالعات مربوط به تغذیه است. تولید لاکتات و یا تحریک رشد میکروب‌های تولید کننده اسید لاکتیک که موجب تغییر pH روده میزبان می‌گردد از عمده شیوه‌های تأثیر پروبیوتیک‌ها در دستگاه گوارش گزارش شده است (Herrick, 1972). بر همین اساس بهبود عملکرد دستگاه گوارش موجب گردید تا نرخ کارایی پروتئین در تیمارهای T۱ و T۲ افزایش معنی‌داری یابد. همچنین بهبود کارایی پروتئین سبب افزایش درصد وزن در تیمار T۱ در مقایسه با سایر تیمارها و

گروه شاهد گردیده است که با نتایج محمدی و همکاران (Mohammadi *et al.*, 2004) همخوانی دارد. این امر در اثر فعالیت مناسب آنزیمی و شکستن زنجیره‌های پیچیده اسیدآمینه‌ها به زنجیره‌های ساده و قابل جذب است. همسو با این نتایج جعفریان (Jafaryan *et al.*, 2008) گزارش دادند، استفاده از پروبیوتیک در جیره غذایی قزل‌آلای رنگین‌کمان سبب افزایش نرخ کارایی پروتئین در تیمارهای آزمایشی گردیده و اختلاف معنی‌داری نسبت به گروه شاهد مشاهده شد. همچنین آدینه و همکاران (Adineh *et al.*, 2013) با استفاده از باسیلوس‌های پروبیوتیکی موجب بهبود نرخ کارایی پروتئین در تیمارهای آزمایشی لارو قزل‌آلای رنگین‌کمان گردیدند. در مورد نرخ کارایی چربی و انرژی نیز تیمار T۱ بیش‌ترین میزان را نشان داد که با گزارش جعفریان (Jafaryan *et al.*, 2008) همخوانی دارد. فاکتور وضعیت در تیمار T۲ کمترین میزان را داشت در حالی‌که سایر تیمارها و گروه شاهد فاقد اختلاف معنی‌داری با یکدیگر بودند ( $p < 0.05$ ). محمدی و همکاران (Mohammadi *et al.*, 2004) اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی و تیمار شاهد مشاهده نشد. همین نتیجه در مطالعه آدینه و همکاران (Adineh *et al.*, 2013) و توکمه‌چی و بندبانی (Tukmechi and Bandboni, 2013) مشاهده گردید. این در حالی است که در مطالعه جعفریان (Jafaryan *et al.*, 2008) گروه شاهد کمترین میزان شاخص وضعیت را نشان داد.

درصد بازماندگی لاروها در طول دوره مطالعه همان‌طور که در شکل ۱ نشان داده شده حاکی از اختلاف معنی‌دار تیمارهای آزمایشی با گروه شاهد می‌باشد، به‌طوری‌که تیمارهای آزمایشی بیش‌ترین درصد بازماندگی را نشان دادند ( $p < 0.05$ ). این نتایج همسو با نتایج باقری و همکاران (Bagheri *et al.*, 2008)، سهندی و همکاران (Sahandi *et al.*, 2012)، جعفریان (Jafaryan and Soltani, 2008; Jafaryan *et al.*, 2008) در استفاده از پروبیوتیک‌ها و تأثیر آن‌ها بر میزان بازماندگی آبی می‌باشد. افزایش درصد بازماندگی در طول دوره پرورش لاروهای تغذیه شده با جیره‌های حاوی پروبیوتیک‌ها به علت‌های مختلف از جمله کاهش جمعیت میکروبی مضر به‌علت رقابت پروبیوتیک‌ها و جلوگیری از افزایش آن‌ها (Ouweland *et al.*, 1999; Sarem-Damerdjii *et al.*, 1995)، تولید متابولیت‌ها و جلوگیری از رشد عوامل پاتوژن (Reid and Burton, 2002)، بهبود عملکرد تغذیه و هضم (Jafaryan, 2006) صورت می‌گیرد.

نتایج آنالیز ترکیبات لاشه لاروهای قزل‌آلای رنگین‌کمان نشان داد که *B. lactis* و *B. animalis* سبب بهبود ترکیبات بیوشیمیایی در پیکره لاروها گردیده است. سطح پروتئین خام در تیمار T۱ و T۲ دارای اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد بود ( $p < 0.05$ ). این در حالی بود که تیمار T۱ نسبت به تیمار T۲ درصد چربی خام کمتری داشت. همسو با این مطالعه باقری و همکاران (Bagheri *et al.*, 2008) گزارش نمودند که مصرف پروبیوتیک‌ها موجب افزایش درصد پروتئین خام لاشه قزل‌آلای رنگین‌کمان و کاهش درصد چربی شده است. در مطالعه‌ای دیگر جعفریان و سلطانی (Jafaryan and Soltani, 2012)

با استفاده از پروبیوتیک *Saccharomyces cerevisiae* در تغذیه لارو تاس‌ماهی ایرانی اختلاف معنی‌داری را در مورد درصد پروتئین خام لاشه بین تیمارهای آزمایشی و شاهد مشاهده نکردند. این درحالی بود که در مورد درصد چربی خام و انرژی خام لاشه اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی و تیمار شاهد مشاهده گردید. در این مطالعه میزان پروتئین در شاهد  $66/046 \pm 0/287$  به  $68/336 \pm 0/391$  در تیمار T1 رسید. همچنین میزان چربی از  $8/706 \pm 0/331$  در شاهد به  $11/230 \pm 0/361$  در تیمار T2 رسید. افزایش میزان پروتئین لاشه همسو با کاهش ماده خشک و خاکستر بود که با نتایج نوریان و نصراله‌زاده (Noveirian and Nasrollahzadeh, 2012) همخوانی دارد. همچنین نتایج مشابهی توسط محمد و همکاران (Mohamed *et al.*, 2007) و لارا فولورس و همکاران (Lara-Flores *et al.*, 2003) گزارش گردید. جعفریان (Jafaryan *et al.*, 2007) در پژوهشی نشان دادند استفاده از پروبیوتیک‌ها سبب افزایش پروتئین خام لاشه فیل ماهی گردید. همچنین در مطالعه‌ای جعفریان (Jafaryan *et al.*, 2008) با استفاده از لاکتوباسیلوس‌های پروبیوتیکی موجب افزایش ترکیبات مغذی لاشه قزل‌آلای رنگین‌کمان شدند که با نتایج این مطالعه همخوانی داشت. این مطالعه نشان داد که استفاده از دو گونه *B. lactis* و *B. animalis* قابلیت اثرگذاری بالایی بر عملکرد رشد و تغذیه، بازماندگی و ترکیبات مغذی لاشه لارو قزل‌آلای رنگین‌کمان دارد.

#### منابع

- Adineh H., Jafaryan H., Sahandi J., Alizadeh M. 2013. Effect of *Bacillus spp.* probiotic on growth and feeding performance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) larvae. Bulgarian Journal of Veterinary Medicine, 16(1): 29-36.
- Bagheri T., Hedayati S.A., 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 month of first feeding. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Science, 8: 43-48.
- Bairagi A., Sarkar Ghosh K., Sen S.K., Ray A.K. 2002. Duckweed (*Lemna polyrhiza*) leaf meal as a source of feedstuff in formulated diets for rohu (*Labeo rohita* Hamilton) fingerlings after fermentation with a fish intestinal bacterium. Bioresource Technology, 85: 17-24.
- Balcazar J.L., Blas I.D., Ruiz-Zarzuela I., Cunningham D., Vendrell D., Muzquiz J.L. 2006. The Role of Probiotics in Aquaculture. Veterinary Microbiology, 114: 173-186.
- Carnevali O., DeVivo L., Sulpizio R., Gioacchin G., Olivotto I., Silvi S., Cresci A. 2006. Growth improvement by probiotic European sea bass juveniles (*Dicentrarchus labrax*), with particular attention to IGF-1, myostatin and cortisol gene expression. Aquaculture, pp: 430-438.

- Casas I.A., Dobrogosz W.J. 1997. *Lactobacillus reuteri*: overview of a new probiotic for humans and animals. *Microecology and Therapy*, 26: 221-231.
- Charteris W.P., Kelly P.M., Morelli L., Collins J.K. 1998. Antibiotic susceptibility of potentially probiotic *Bifidobacterium* isolates from the human gastrointestinal tract. *Letter in Applied Microbiology*, 26: 333-337.
- Dall W., Moriarty D.J.W. 1983. Functional aspects of nutrition and digestion. In: Mantel LH (Eds.) *The biology of crustacea, internal anatomy and physiological regulation*. Vol. 5, Academic Press, pp. 215-261.
- De Silva S.S., Anderson T.A. 1995. *Fish Nutrition in Aquaculture*. Chapman & Hall, 2-6 Boundary Row, London SE1 8HN, UK.
- Douillet P.A., Langdon C.J. 1994. Use of a probiotic for the culture of larvae of the pacific oyster (*Crassostrea gigas* Thunberg). *Aquaculture*, 119: 25-40.
- FAO. 2011. Fisheries and Aquaculture Department, The State of world Fisheries and Aquaculture (SOFIA)-2010. Updated 16 September 2011, available from: [www.fao.org/fishery/publication/sofia/en](http://www.fao.org/fishery/publication/sofia/en).
- Felix N., Sudharsan M. 2004. Effect of glycine betaine, a feed attractant affecting growth and feed conversion of juvenile freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. *Aquaculture Nutrition*, 10: 193-197.
- Fuller R. 1989. Probiotics in man and animals. *Journal of Applied Bacteriology*, 66: 365-378.
- Fuller R., Afshar-Mazandaran N., Rajab A. 2002. AOAC. 1990. In: Horwitz W (Eds.) *Official Methods of Analyses of AOAC*, 15<sup>th</sup> edition. Association of Official Analytical Chemists Inc., Arlington, VA, pp. 245-252.
- Gill H.S., Rutherford K.J., Cross M.L., Gopal, P.K. 2001. Enhancement of immunity in the elderly by dietary supplementation with the probiotic *Bifidobacterium lactis* HN019. *American Journal of Clinical Nutrition*, 74: 833-839.
- Helland S.J., Grisdale H.B., Nerland S. 1996. A simple method for the measurement of daily feed intake of groups of fish in tanks. *Aquaculture*, 139: 157-163.
- Herrick J.B. 1972. Therapeutic nutrition using *Lactobacillus* species. *Veterinary Medicine*, 67: 1249.
- Holzappel W.H., Harberer P., Snel J., Schillinger U., Huisin't Veld J. 1998. Overview of gut flora and probiotics. *International Journal of Food Microbiology*, 41: 85-101.
- IFRO. 2011. Program and Budget Office, Iranian Fisheries Organization statistical annual report, 2000- 2009. Updated 2011, available from: <http://fisheries.ir/portal/Home/ShowPage.aspx?Object>.
- Irianto A., Austin B. 2002. Probiotic in aquaculture, *Journal of Fish Diseases*, 25: 1-10.

- Jafaryan H. 2006. The effect of *Bacillus bacteria* as the probiotic on growth, survival and intestinal enzymes in Persian Sturgeon larvae (*Acipenser persicus*) by enrichment with *Artemia urmiana*. Ph.D. thesis, Faculty of Agriculture and Environmental Resources, Gorgan University, Gorgan. (In Persian)
- Jafaryan H., Morovat R., Shirzad H. 2008. The use of bioencapsulated *Daphnia magna* by probiotic bacillus and their effect on the growth of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) larvae. Iranian Journal of Biology, 21: 24-35.
- Jafaryan H. 2008. Development of fundamental aquaculture using probiotics in Iran. Journal of Fisheries, 2(4): 47-56. (In Persian).
- Jafaryan H., Soltani M. 2012. Effects of bioencapsulated *Daphnia magna* with *Saccharomyces cerevisiae* on the growth and feeding performance of Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) larvae. Iranian Journal of Veterinary Medicine. 6(1): 13-18.
- Jafaryan H., Soltani M., Abedian A. 2007. The influence of some of the probiotic bacillus on feeding efficiency and nutrient body composition of Beluga (*Huso huso*) larvae. Journal of Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources (Iran), 14: 60-71. (In Persian)
- Lara-Flores M., Olvera-Novoa M.A., Guzmán-Méndez B.E. 2003. Use of the bacteria *Streptococcus faecium* and *Lactobacillus acidophilus*, and the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as growth promoters in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Aquaculture, 216: 193-201.
- Mohamed K.A., Badia A.F., Eid, A.M.S. 2007. Evaluation of using some feed additives on growth performance and feed utilization of Monosex Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings. Agricultural Research Journal, Sues Canal University, 49-54.
- Mohammadi Azarm H., Abedian-Kenari A., Abtahi B. 2004. The effects of Protxin probiotic on growth and survival of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) larvae. Iranian Journal of Marine Science, 3(2,3): 69-75. (In Persian)
- Netherwood T., Gilbert H.J., Parker D.S.O., Donnell A.G. 1999. Probiotics shown to change bacterial community structure in the avian gastrointestinal tract. Applied Environmental Microbiology, 65: 5134-5138.
- Noveirian H.A., Nasrollahzadeh A. 2012. The effects of different levels of biogen probiotic additives on growth indices and body composition of juvenile common carp (*Cyprinus carpio* L.). Caspian Journal of Environmental Science, 10(1): 115-121.
- Olafsen J.A., Hansen G.H. 1992. Intact antigen uptake in intestinal epithelial cells of marine fish larvae. Journal of Fish Biology, 40: 141-156.
- Ouwehand A.C., Kirjavainen P.V., Gronlund M.M., Isolauri E., Salminen S. 1999. Adhesion of probiotic micro-organisms to intestinal mucus. International Dairy Journal, 9: 623-630.

- Ramachandran S., Ray A.K. 2007. Nutritional evaluation of fermented black gram (*Phaseolus mungo*) seed meal in compound diets for rohu, *Labeo rohita* (Hamilton), fingerlings. *Journal of Applied Ichthyology*, 23: 74–79.
- Reid G., Burton J. 2002. Use of *Lactobacillus* to prevent infection by pathogenic bacteria. *Microbes Infection*, 4: 319-324.
- Sahandi J., Jafaryan H., Roozbehfar R., Babaei S., Dehestani M. 2012. The use of two enrichment forms (*Brachionus plicatilis* enrichment and rearing water enrichment) with probiotic bacilli spore on growth and survival of Silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*). *Iranian Journal of Veterinary Research*, 13(4): 289-295.
- Sarem-Damerdjii L.O., Sarem F., Marchal L., Nicolas J.P. 1995. In vitro colonisation ability of human colon mucosa by exogenous *Lactobacillus* strains. *FEMS Microbiology Letter*, 131: 133-137.
- Schell M., Karmirantzou M., Snels B., Vilanova D., Derger B., Pessi G., Zwahlen M.C., Desiere, F., Borks P., Delley M., Pridmore R.D., Arigoni F. 2002. The genome sequence of *Bifidobacterium longum* reflects its adaptation to the human gastrointestinal tract. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America*, 99(22): 14422-14427.
- Tomasik P.J., Tomasik P. 2003. Probiotics and Prebiotics. *Cerealchemistry*, 80(2): 113-117.
- Tovar-Ramirez D., Zambonino J., Cahu C., Gatesoupe F.J., Vazquez-Juarez R., Lésel R. 2002. Effect of live yeast incorporation in compound diet on digestive enzyme activity in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. *Aquaculture*, 204: 113-123.
- Tukmechi A., Bandboni M. 2013. The effect of yeast supplementation on the growth and immune system in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Veterinary Research*, 68(1): 69-78 (In Persian).
- Waché Y., Auffray F., Gatesoupe F.J., Zambonino J., Gayet V., Labbé L., Quentel C. 2006. Cross effects of the strain of dietary *Saccharomyces cerevisiae* and rearing conditions on the onset of intestinal microbiota and digestive enzymes in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, fry. *Aquaculture*, 258: 470-478.
- Yanbo W., Zirong X. 2006. Effect of probiotics for common carp (*Cyprinus carpio*) based on growth performance and digestive enzyme activities. *Animal Feed Science and Technology*, 127: 283-292.
- Yousefi S. 2000. Aquatic animal nutrition (warm water fish, cold water fish and shrimp). Aslani publications, Tehran.

