JVM Journal of Veterinary Microbiology

نشریه میکربیولوژی دامپزشکی/ دوره یازدهم، شماره دوم، ۱۳۹۴، پیاپی ۳۱: ۱۶۲-۱۵۱

تاثیر مکمل پروبیوتیکی *بیفیدوباکتر* بر عملکرد رشد و سیستم ایمنی لارو ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

جواد سهندی[1*]، حجت ا... جعفریان[2]، مهدی سلطانی[3]، پونه ابراهیمی[4]

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد تکثیر و پرورش آبزیان، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران

۲- دانشیار گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران

۳- استاد گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

۴- استادیار گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گلستان، گرگان، ایران

تاریخ دریافت: ۳ آذر ۱۳۹۲ *تاریخ پذیرش: ۲۰ تیر ۱۳۹۳*

چکیده

امروز کاربرد ترکیبات میکروبی به عنوان پروبیوتیک برای افزایش رشد و ایمنی ماهیان در حال توسعه است. در این راستا هدف از مطالعه حاضر ارزیابی تاثیر غلظت‌های مختلف باکتریایی دو گونه بیفیدوباکتریوم لاکتیس و بیفیدوباکتریوم انیمالیس بر عملکرد رشد و مقاومت لارو ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در مقابله با استرس‌های محیطی است. به این منظور تعداد ۴۷۰ قطعه لارو ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با میانگین وزن اولیه (انحراف معیار ± میانگین وزن) ۰/۱۹۷ ± ۰/۵۳۸ گرم تهیه و به آزمایشگاه منتقل گردید. پس از سازگاری ۱۴ روزه آنها با شرایط آزمایشگاه به صورت تصادفی در چهار تیمار هر کدام با سه تکرار (سه تیمار آزمایشی و یک تیمار شاهد) تقسیم شدند. تیمارهای آزمایشی سه غلظت مختلف ۱۰۹ × ۱، ۱۰۹ × ۲ و ۱۰۹ × ۳ واحد کلنی در ۱۰۰ گرم جیره غذایی و تیمار شاهد با غذایی بدون مکمل باکتریایی برای مدت ۶۰ روز مورد تغذیه قرار گرفتند. همگی لاروها در ابتدا و انتهای دوره مطالعه زیست‌سنجی شدند، همچنین در انتهای مطالعه ماهیان تحت استرس‌های محیطی قرار گرفتند. نتایج بدست آمده نشان داد استفاده از کمترین غلظت باکتریایی موجب افزایش رشد و کاهش میزان کورتیزول در خون ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان گردید. علیرغم مشاهده افزایش عملکرد رشد اختلاف معنی‌داری در نتایج مربوط به استرس-های محیطی مشاهده نشد ($P>0/05$). همچنین استفاده از جیره مکمل‌سازی شده با کمترین غلظت باکتریایی علاوه بر افزایش معیارهای رشد باعث کاهش کورتیزول و آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز شد.

کلمات کلیدی: *لارو، قزل‌آلای رنگین‌کمان، پروبیوتیک، بیفیدوباکتریوم، کورتیزول، ایمنی.*

**نویسنده مسئول: جواد سهندی*

آدرس: گروه میکروبیولوژی دریا، دانشکده علوم زیستی دریا، دانشگاه اقیانوسی چین، چینگ تائو، چین. تلفن: ۰۹۱۹۳۲۹۸۲۶۲

پست الکترونیک: sahandijavad@gmail.com

مقدمه

ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) گونه‌ای گوشتخوار است که در سال‌های اخیر تولید آن در سطح دنیا به شدت در حال افزایش است (۱۵). 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 (۸). دستیابی به خوراک با کیفیت و ارزان قیمت می‌تواند موجب کاهش هزینه تولید و در نتیجه قیمت نهایی ماهی گردد. افزودن ترکیبات مختلف از جمله پروبیوتیک‌ها به جیره غذایی از جمله این اقدامات است و تاکنون تحقیقات متعددی در این مورد صورت گرفته است (۳،۶،۷و۹). استفاده از پروبیوتیک‌ها در واقع تکنولوژی جدیدی در آبزی‌پروری همگام با محیط زیست است (۹). درصنعت آبزی‌پروری توجه به بهبود عملکرد دستگاه گوارش و بهبود شرایط کیفی آب مورد استفاده در این صنعت بسیار مهم بوده و دارای اهمیت ویژه‌ای است. بنابراین افزودن پروبیوتیک‌ها علاوه بر تاثیر بر کارآیی رشد و تغذیه به علت فعالیت-های مختلف از جمله مقابله با عوامل بیماری‌زا مانع از مصرف مواد شیمیایی و نیز آنتی‌بیوتیک‌ها می‌شوند. در همین راستا سازمان خواروبار جهانی (FAO)، استفاده از پروبیوتیک‌ها را برای بهبود محیط زیست آبزیان به عنوان موضوع مهم تحقیقات آینده در حوزه آبزی پروری تعیین نموده است (۳۴). سطح وسیعی از پروبیوتیک‌ها به صورت تجاری در سطح جهان استفاده می‌شوند که شامل نژادهای مختلف باکتریایی هستند و در جهت افزایش سلامت میزبان بکار برده می‌شوند (۹). *بیفیدوباکتریوم*ها گرم مثبت، بی هوازی، میله‌ای شکل منشعب هستند که با تخمیر همگن قندها تولید اسید لاکتیک می‌نمایند. اعضای این جنس متعلق به راسته Actinobacteria هستند که بیشترین ساختار بازهای آلی در ساختار ژنوم آن‌ها متعلق به سیتوزین و گوانین می‌باشد. عمده فعالیت پروبیوتیک‌ها در بهبود عملکرد دستگاه گوارش و افزایش سلامت میزبان در دستگاه گوارش میزبان صورت می‌گیرد. نحوه عملکرد آن‌ها درون دستگاه گوارش به سه شکل درون سلولی ، موکوسی و تحت موکوسی می‌باشد (۳۱). تاکنون روش‌های مختلفی جهت تلقیح پروبیوتیک‌ها به دستگاه گوارش انواع آبزیان ارائه گردیده است که بر اساس مطالعه سهندی (۹) به دو شکل تلقیح درونی و تلقیح بیرونی قابل تقسیم هستند. در تلقیح درونی پروبیوتیک مصرفی به داخل دستگاه گوارش آبزی هدف وارد می-شود و اصل فعالیت در دستگاه گوارش رخ می‌دهد. در شکل تلقیح بیرونی عمده فعالیت پروبیوتیک در خارج پیکره میزبان صورت می‌گیرد و محصول حاصل جهت تغذیه آبزی هدف استفاده می‌شود که از آن جمله می-توان به روش تخمیر و استخراج عصاره آنزیمی اشاره کرد. تغذیه یکی از پرهزینه‌ترین بخش‌های آبزی پروری است و بهینه‌سازی آن می‌تواند نقش مهمی در کاهش هزینه‌های تولید داشته باشد (۶). افزودن پروبیوتیک‌ها به صورت فرآورده‌های میکروبی تجاری و یا بومی باعث افزایش رشد می‌گردد (۳۴). به عنوان مثال در مطالعه‌ای سهندی و همکاران (۲۷) از باسیلوس-ها در جیره غذایی لارو ماهی کپور نقره‌ای استفاده نمودند که موجب افزایش رشد در لاروها گردید. همچنین استفاده از مخلوط *لاکتوباسیلوس*های پروبیوتیکی و مخمر ساکارومایسیس سرویسیه در جیره غذایی تاس ماهی ایرانی باعث افزایش رشد در لاروها گردید (۱۰). توکمه‌چی و همکاران (۴)، جهت بهبود عملکرد رشد در لاروهای قزل‌آلای رنگین‌کمان از

لاکتوباسیلوس رامنوسوس (*Lactobacillus rhamnosus*)، استفاده نمودند که نتایج قابل توجهی مبنی بر بهبود عملکرد رشد را گزارش نمودند. همچنین در مطالعه‌ای ۶۰ روزه بر روی لارو قزل‌آلای رنگین-کمان محمدی آذرم و همکاران (۱۲) از پروبیوتیک تجاری پروتکسین که شامل *لاکتوباسیلوس*ها و یک گونه *بیفیدوباکتر* (*Bifidobacterium bifidum*) بود، در تغذیه لاروهای ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان استفاده نمودند که موجب بهبود معیارهای رشد گردید. افزودن پروبیوتیک‌ها به جیره غذایی آبزی هدف باعث ایجاد تعادل میکروبی روده، ساخته شدن ترکیبات مفید از جمله ویتامین‌ها و برخی آنزیم‌ها، تحریک و افزایش کارایی سیستم ایمنی، افزایش فعالیت‌های گوارشی و آنزیمی و به دنبال آن افزایش رشد و ایمنی در موجود می‌شود (۱۷). Barton و همکاران (۱۳) در مطالعه خود در خصوص سطح کورتیزول در طول استرس و تنظیم اسمزی در ماهی کوهو و قزل‌آلا گزارش دادند که سطح کورتیزول با افزایش استرس افزایش خواهد یافت. در مطالعات تغذیه‌ای از جمله فاکتورهای مهم جهت بررسی ایمنی و مقاومت کورتیزول می‌باشد. توکمه‌چی و بندبنی (۴) در بررسی خود تاثیر پروبیوتیک ساکارومایسیس سرویسیه در سه حالت عصاره هیدرولیز شده، پودر مخمر و ترکیب آن دو در روند رشد و سیستم ایمنی ماهی قزل‌آلا را مورد ارزیابی قرار دادند که نتایج نشان دهنده افزایش مقاومت ماهیان قزل‌آلا در برابر استرس‌های دمایی و هیپوکسی شده و کاهش سطح کورتیزول در تیمارهای آزمایشی در مقایسه با گروه شاهد مشاهده گردید. همچنین اسماعیلی و همکاران (۱) در استفاده از زیست‌یارهای باسیلوسی شامل *باسیلوس سوبتیلیس*، *باسیلوس لیشنی-فورمیس* و مخمر *ساکارومایسیس سرویسیه* در جیره غذایی لارو کپور معمولی با هدف ارزیابی مقاومت در برابر عوامل استرس‌زا و فاکتورهای بیوشیمیایی عصاره بدن صورت گرفت که کاهش کورتیزول مشاهده گردید. با توجه به این که تاکنون مطالعه‌ای در خصوص تاثیر استفاده از دو گونه *بیفیدوباکتریوم انیمالیس* و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* به عنوان دو گونه موثر بر روند هضم و جذب در آبزیان صورت نگرفته است. هدف مطالعه حاضر ارزیابی تاثیر دو گونه مذکور بر روند رشد و ایمنی لاروهای قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با این پروبیوتیک‌ها است.

مواد و روش‌ها

ماهیان مورد استفاده و طرح آزمایش

این مطالعه بر اساس طرح کاملاً تصادفی در چهار تیمار طرح ریزی و در طول مدت ۶۰ روز اجرا شد. ماهیان مورد استفاده در این مطالعه شامل لارو قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*)، با وزن متوسط (۰/۱۹۷ ± ۰/۵۳۸ گرم) از کارگاه گل‌چشمه منطقه گزنک شهرستان آمل (مازندران- ایران) تهیه گردیدند. پس از انتقال لاروها به آزمایشگاه جهت سازگاری با محیط مطالعه به مدت ۱۴ روز در تانک ۱۰۰۰ لیتری نگهداری شدند. پس از سازگاری آنها با محیط مطالعه به صورت کاملاً تصادفی در چهار تیمار شامل سه تیمار آزمایشی و یک تیمار شاهد هر کدام با سه تکرار تقسیم شدند. برای پرورش لاروها از حوضچه‌های پلاستیکی با حجم ۱۵ لیتر استفاده شد و درون هر حوضچه تعداد ۳۰ عدد لارو ذخیره سازی شد. لاروهای روزانه چهار بار بر اساس ۸-۴ درصد وزن بدن (متغیر در طول دوره پرورش) غذادهی شدند. در طول دوره مطالعه دما، pH، شوری، قلیائیت و سختی کل اندازه‌گیری و ثبت گردید.

پروبیوتیک مورد استفاده

در این مطالعه از دو گونه *بیفیدوباکتر Bifidobacterium animalis* PTCC-1631 و *Bifidobacterium lactis* PTCC-1736 استفاده گردید که به صورت لیوفیلیزه از مرکز کلکسیون‌های قارچ و باکتری صنعتی ایران تهیه گردید. سپس باکتری‌های فوق الذکر در پلیت‌های MRS به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷°C مورد کشت قرار گرفت. پس از کشت باکتری‌ها بر اساس روش کدورت سنجی غلظت‌های $۱۰^{۹} \times ۱$، $۱۰^{۹} \times ۲$ و $۱۰^{۹} \times ۳$ واحد کلنی در ۱۰۰ گرم غذا تهیه گردید. خوراک مورد استفاده به صورت تجاری (بیضاء ۲۱، شیراز، ایران) تهیه گردید. پس از تهیه جیره‌های مکمل‌سازی شده تیمارهای آزمایشی مطابق با جدول ۱ به لاروها خورانیده شد.

زیست‌سنجی لاروهای ماهی قزل‌آلا

جهت بررسی وضعیت رشد ماهیان در طول دوره آزمایش، در ابتدا و انتهای مطالعه لاروهای متعلق به هر تیمار صید و پس از بی هوش کردن با ۱۰۰ میلی‌گرم پودر گل میخک در لیتر طول و وزن آن‌ها با استفاده از تخته زیست‌سنجی با دقت ۱ میلی‌متر و ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ گرم اندازه‌گیری و ثبت گردید. در انتهای مطالعه برخی از معیارهای رشد و تغذیه‌ای مورد محاسبه و ارزیابی قرار گرفت.

ارزیابی مقاومت ماهیان قزل‌آلا در برابر استرس‌های محیطی

در انتهای دوره ۶۰ روزه مطالعه ماهیان جهت ارزیابی مقاومت در برابر عوامل استرس‌زای محیطی مورد سنجش قرار گرفتند. به همین دلیل ماهیان به مدت ۲۴ ساعت قطع غذا شده و آزمون مقابله با عوامل استرس‌زا بر اساس مطالعه سهندی و همکاران (۲۸) انجام شد. برای آزمون‌های مقابله با عوامل استرس‌زا تعداد ۳ مخزن با حجم ۱۰ لیتر از آب محیط پرورش پر شد. جهت کنترل اکسیژن در تمامی مخازن از هوادهی با سنگ هوا در هر سه مخزن به یک میزان اعمال گردید. تعداد ۵ قطعه ماهی از هر تکرار به صورت تصادفی صید و در شرایط استرس‌زا قرار گرفت. از زمان ورود ماهیان به داخل مخازن تا زمان مرگ آن‌ها زمان با استفاده از زمان‌سنج بر حسب ثانیه ثبت گردید. آزمون مقابله با pH اسیدی برابر ۲ با افزودن اسید کلریدریک ساخت شرکت مرک آلمان صورت گرفت. همچنین آزمون مقابله با pH قلیایی برابر ۱۲ با افزودن سود به مخازن و کنترل pH صورت گرفت. برای انجام آزمون مقابله با دمای ۴۰ درجه سانتیگراد نیز با افزودن آب گرم به مخازن و با استفاده از دماسنج دمای آن‌ها به ۴۰ درجه سانتیگراد رسانیده شد. همچنین آزمون مقابله با آمونیا با افزودن ۵ میلی‌گرم در لیتر آمونیا به مخازن صورت پذیرفت.

اندازه‌گیری معیارهای ایمنی‌شناسی

برای اندازه‌گیری معیارهای ایمنی‌شناسی از ۵ قطعه ماهی در هر تکرار خونگیری به عمل آمد و پس از تهیه سرم خون آنزیم‌های آلانین آمینو ترانسفراز و آلانین آسپارات ترانسفراز با استفاده از کیت پارس آزمون (ایران) و میزان کورتیزول با استفاده از کیت مونوبایند (آمریکا) اندازه‌گیری شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

تجزیه و تحلیل آماری داده‌های بدست آمده در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از نرم افزار SPSS (نسخه

۱۹) از طریق آنالیز واریانس یک طرفه و بر اساس آزمون دانکن در سطح ۰/۰۵ انجام پذیرفت.

نتایج

معیارهای کیفی آب حوضچه‌های پرورشی شامل: دما (°C ۱/۳۳±۱۷/۶۶)، pH (۰/۰۸±۷/۶۳)، هدایت الکتریکی (µmhos/cm ۴۵۰/۰۳±۳۰۱۲/۶۲)، شوری (mg/L ۰/۱۳±۲/۰۱)، قلیائیت (۲۴۰mmol/L) و سختی کل (۳۹۱/۶ mg/L) نشان داد که این معیارها در محدوده‌ی مناسب برای پرورش قزل‌آلا رنگین‌کمان قرار داشته است. نتایج مربوط به تجزیه معیارهای رشد و تغذیه‌ای در جدول ۲ ارائه شده است.

بر اساس نتایج بدست آمده لاروهای تغذیه شده با کمترین غلظت *بیفیدوباکتریوم* در تیمار T۱ به طور معنی‌داری رشد بیشتری در مقایسه با تیمارهای آزمایشی دیگر و همچنین شاهد داشت (P<۰/۰۵). این در حالی است که کمترین نرخ معیارهای رشد از جمله میانگین وزن نهایی، وزن نسبی به دست آمده، نسبت کارآیی پروتئین، چربی و انرژی در تیمار T۳ مشاهده شد. همچنین اختلاف معنی‌داری بین تیمار T۳ و شاهد مشاهده نشد (P>۰/۰۵). علی‌رغم مشاهده اختلاف معنی‌دار در تیمارهای آزمایشی و شاهد با یکدیگر، تجزیه نتایج مربوط به فاکتور وضعیت اختلاف معنی-داری را در بین تیمارهای آزمایشی و همچنین با تیمار شاهد نشان نداد (P>۰/۰۵). نتایج مربوط به آزمون مقابله با عوامل استرس‌زا نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار در تیمارهای آزمایشی است (P>۰/۰۵). لذا قابلیت افزایش مقاومت در برابر عوامل استرس‌زا در غلظت‌های مختلف *بیفیدوباکتریوم*ها مشابه بوده است (جدول ۳).

در بررسی معیارهای ایمنی‌شناسی شامل ASAT، ALAT و همچنین کورتیزول سرم ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان پس از دوره مطالعه، نتایج نشان داد که مقاومت لاروها افزایش یافته است بطوری که میزان کورتیزول در تیمار شاهد ۲/۲۶۴ ± ۱۸/۸۰۰ میکروگرم در دسی‌لیتر اندازه‌گیری شد که بیشترین میزان کورتیزول در مقایسه با سایر تیمارهای آزمایشی بود (P<۰/۰۵). اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی در خصوص میزان کورتیزول و ALAT مشاهده نشد (P>۰/۰۵). در مورد میزان ASAT نتایج نشان داد که این آنزیم در تیمار T۱ کاهش یافته است که در مقایسه با سایر تیمارها دارای اختلاف معنی‌داری است (P<۰/۰۵) (جدول ۴).

جدول ۱- غلظت‌های باکتریایی دو گونه *بیفیدوباکتریوم انیمالیس* و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* در جیره غذایی لارو قزل‌آلای رنگین‌کمان

	تیمارهای آزمایشی			
	شاهد	T۱	T۲	T۳
غلظت باکتری	بدون افزودن پروبیوتیک	۱×۱۰^{۹} CFU/100g	۲×۱۰^{۹} CFU/100g	۳×۱۰^{۹} CFU/100g

جدول ۲- معیارهای رشد و تغذیه‌ای ماهیان تغذیه شده با غلظت‌های مختلف *بیفیدوباکتریوم انیمالیس* و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* در دوره آزمایش ۶۰ روزه (انحراف معیار ± میانگین)

معیارهای رشد و تغذیه	شاهد (فاقد پروبیوتیک)	تیمارهای آزمایشی		
		T۱	T۲	T۳
		۱×۱۰^۹ CFU/100g	۲×۱۰^۹ CFU/100g	۳×۱۰^۹ CFU/100g
میانگین وزن اولیه (گرم)	۰/۲۸۲ ± ۰/۵۷۵	۰/۱۳۳ ± ۰/۵۰۸	۰/۱۱۳ ± ۰/۵۲۰	۰/۲۱۲ ± ۰/۵۴۸
میانگین وزن نهایی (گرم)	۴/۳۹۱ ± ۲۰/۹۸۹ [c]	۶/۱۰۹ ± ۲۴/۹۸۳ [a]	۴/۸۴۰ ± ۲۳/۰۶۹ [b]	۴/۶۲۵ ± ۲۰/۷۰۸ [c]
وزن نسبی بدست آمده (درصد)	۷۶۴/۵۴ ± ۳۵۵۰/۲۴ [c]	۱۲۱۹/۳۶ ± ۴۸۸۶/۸۱ [a]	۹۳۶/۲۶ ± ۴۳۶۲/۱۳ [b]	۸۴۲/۴۵ ± ۳۶۷۱/۹۹ [c]
نسبت کارآیی پروتئین (گرم)	۰/۴۰۳ ± ۱/۹۲۴ [c]	۰/۵۶۰ ± ۲/۲۹۰ [a]	۰/۴۴۳ ± ۲/۱۱۴ [b]	۰/۴۲۴ ± ۱/۸۹۸ [c]
نسبت کارآیی چربی (گرم)	۱/۴۵۳ ± ۶/۹۴۸ [c]	۲/۰۲۰ ± ۸/۲۶۱ [a]	۱/۶۰۰ ± ۷/۶۲۸ [b]	۱/۵۲۹ ± ۶/۸۴۸ [c]
نسبت کارایی انرژی (کیلوکالری بر گرم)	۰/۲۴۲ ± ۰/۲۰۳ [c]	۰/۰۵۹ ± ۰/۲۴۲ [a]	۰/۰۴۶ ± ۰/۲۲۳ [b]	۰/۰۴۴ ± ۰/۲۰۰ [c]
فاکتور وضعیت (درصد)	۰/۰۸۲ ± ۱/۱۲۲ [a]	۰/۱۰۲ ± ۱/۱۲۵ [a]	۰/۰۸۵ ± ۱/۱۱۰ [a]	۰/۰۸۳ ± ۱/۱۰۹ [a]

حروف غیر مشابه در هر ردیف نشان دهنده معنی‌دار بودن اختلاف است (P<۰/۰۵).

جدول ۳- میزان مقاومت لارو ماهیان تغذیه شده با غلظت‌های مختلف *بیفیدوباکتریوم انیمالیس* و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* در دوره ۶۰ روزه آزمایش بر حسب ثانیه (انحراف معیار ± میانگین)

نوع آزمون مقابله	شاهد (فاقد پروبیوتیک)	تیمارهای آزمایشی		
		T۱	T۲	T۳
		۱×۱۰^۹ CFU/100g	۲×۱۰^۹ CFU/100g	۳×۱۰^۹ CFU/100g
آزمون مقابله با پی‌اچ اسیدی	۱۲۱/۵۰ ± ۵۶۲/۵۰ [a]	۲۸۳/۶۳ ± ۶۵۹ [a]	۱۴۱ ± ۴۹۸ [a]	۱۰۴ ± ۵۴۸ [a]
تست مقابله با پی‌اچ قلیایی	۱۶/۸۶ ± ۳۲۰/۶۶ [a]	۳۶/۶۲ ± ۳۱۴/۳۳ [ab]	۱۰/۱۱ ± ۳۴۷/۳۳ [a]	۲/۶۴ ± ۲۷۴ [b]
آزمون مقابله با دمای ۴۰°C	۱۰/۲۶ ± ۵۳/۳۳ [a]	۸/۰۲ ± ۴۸/۶۶ [a]	۱/۵۲ ± ۵۹/۳۳ [a]	۶/۰۲ ± ۵۵/۶۶ [a]
آزمون مقابله با آمونیا	۱۰/۵۹ ± ۵۵۹/۳۳ [a]	۶۰/۳۹ ± ۵۱۹ [a]	۵۱/۰۳ ± ۵۱۷/۳۳ [a]	۸/۱۴ ± ۴۸۸/۶۶ [a]

حروف غیر مشابه در هر ردیف نشان دهنده معنی‌دار بودن اختلاف است (P<۰/۰۵).

جدول ۴- مقادیر مختلف کورتیزول، ALT و AST در تیمارهای مختلف آزمایشی تغذیه شده با غلظت‌های مختلف *بیفیدوباکتریوم*ها در طول دوره ۶۰ روزه (انحراف معیار ± میانگین)

معیارهای ایمنی	شاهد (فاقد پروبیوتیک)	تیمارهای آزمایشی		
		T۱	T۲	T۳
		۱×۱۰^۹ CFU/100g	۲×۱۰^۹ CFU/100g	۳×۱۰^۹ CFU/100g
AST (U/L)	۱۵/۵۴۶ ± ۲۲/۶۲۵ [a]	۲/۳۷۵ ± ۶/۲۵۰ [b]	۹/۰۶۷ ± ۱۸/۷۵۰ [a]	۱۱/۸۴۹ ± ۲۱/۱۲۵ [a]
ALT (U/L)	۹۳/۷۳۸ ± ۲۷۰/۸۳۳ [a]	۹۲/۲۴۱ ± ۲۷۱/۸۷۵ [a]	۹۲/۲۴۹ ± ۳۶۹ [a]	۱۲۰/۸۶۹ ± ۲۶۶/۸۳۳ [a]
کورتیزول (µg/dL)	۲/۲۶۴ ± ۱۸/۸۰۰ [a]	۱/۱۶۷ ± ۵/۰۵۰ [b]	۰/۸۸۸ ± ۶/۵۵۰ [b]	۱/۱۱۱ ± ۵/۶۲۵ [b]

حروف غیر مشابه در هر ردیف نشان دهنده معنی‌دار بودن اختلاف است (P<۰/۰۵).

بحث

نتایج بدست آمده نشان داد که افزودن *بیفیدوباکتریوم انیمالیس* و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* به جیره غذایی لاروهای قزل‌آلای رنگین‌کمان به میزان ۱×۱۰^۹ واحد کلنی در ۱۰۰ گرم غذا قادر است معیارهای رشد و تغذیه را افزایش داده و موجب کاهش میزان کورتیزول سرم در ماهیان گردد. افزودن پروبیوتیک‌ها به جیره غذایی ماهی باعث ایجاد تعادل میکروبی روده، ساختن ترکیبات مفید از جمله ویتامین-ها و برخی آنزیم‌ها، تحریک و افزایش کارایی سیستم ایمنی، افزایش فعالیت‌های گوارشی و آنزیمی و به دنبال آن افزایش رشد و توسعه سطوح غذایی می‌شود

(۱۸). انواع مختلفی از پروبیوتیک‌ها به شکل بومی و یا تجاری به صورت‌های مختلف طی فرآیندهای غنی-سازی (۶)، مکمل‌سازی (۲۹) و یا افزودن به آب محیط پرورش (۲۷) مورد استفاده قرار که نتایج بدست آمده نشان داده است که این میکروارگانیسم‌ها توانسته‌اند موجب افزایش رشد گردند. خاصیت پروبیوتیک‌ها در تغییر فلور میکروبی دستگاه گوارش و غالب ساختن فلور میکروبی مناسب عمده فعالیت پروبیوتیک‌ها در دستگاه گوارش است. این تعادل میکروبی ضمن کاهش فلور میکروبی بیماری‌زا از طریق رقابت غذایی و فضایی موجب افزایش سطح گوارش شده و سطح هضم و جذب را افزایش می‌دهند (۹). در مطالعه حاضر استفاده از *بیفیدوباکتریوم*ها موجب افزایش وزن نهایی از ۴/۳۹۱ ± ۲۰/۹۸۹ در تیمار شاهد به ۶/۱۰۹ ± ۲۴/۹۸۳ گرم در تیمار T۱ گردید که مطابق با مطالعه توکمه‌چی و همکاران (۴) بود که با استفاده از *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* در جیره غذایی قزل‌آلای رنگین‌کمان در طول دوره ۴۵ روزه شاهد افزایش رشد در تیمارهای آزمایشی بود. این افزایش رشد احتمالاً در نتیجه تعادل میکروبی مناسب است که با استفاده از پروبیوتیک مورد استفاده شکل گرفته است. در این مطالعه کمترین غلظت مورد استفاده موجب افزایش رشد شد که با مطالعه Sahandi و همکاران (۲۷) در استفاده از *باسیلوس*های پروبیوتیکی در جیره غذایی لارو کپور نقره‌ای مطابقت می‌کند. عموماً رفتار گونه-های مختلف ماهیان در تاثیرپذیری از پروبیوتیک‌ها در غلظت‌های مختلف بکارگیری آن‌ها کاملاً متفاوت می-باشد (۵، ۲۰). تولید لاکتات و یا تحریک رشد میکروب‌های تولید کننده اسید لاکتیک که موجب تغییر pH روده میزبان می‌گردد از عمده شیوه‌های تاثیر پروبیوتیک‌ها در دستگاه گوارش گزارش شده است (۱۹). بر همین اساس بهبود عملکرد دستگاه گوارش موجب گردید تا نرخ کارآیی پروتئین درتیمارهای T۱ و T۲ افزایش معنی‌داری یابد. همچنین بهبود کارآیی پروتئین سبب افزایش درصد وزن در تیمار T۱ در مقایسه با سایر تیمارهای آزمایشی و گروه شاهد گردیده است که با نتایج محمدی آذرم و همکاران (۱۲) در استفاده از *لاکتوباسیلوس*های پروبیوتیکی مطابقت می‌کند. با این حال این افزایش رشد و بهبود کارآیی ترکیبات مغذی جیره می‌تواند در اثر فعالیت مناسب آنزیمی و شکستن زنجیره‌های پیچیده اسیدآمینه‌ها به زنجیره‌های ساده و قابل جذب نیز باشد (۹). در مطالعه Lara-Flores و همکاران (۲۲) استفاده از گونه‌های پروبیوتیکی *Streptococcus faecium*، *Lactobacillus acidophilus* و *Saccharomyces cerevisiae* در لاروهای تیلاپیای نیل، *Oreochromis niloticus* با میانگین وزنی ۱۵۲/۳ میلی‌گرم ظرف مدت ۹ هفته موجب بهبود معیارهای تغذیه‌ای شد که با مطالعه حاضر مطابقت دارد. به نظر می‌رسد این افزایش رشد و بهبود عملکرد آن به دلیل بهبود عملکرد دستگاه گوارش به دلیل تعادل مناسب میکروبی، کاهش عوامل پاتوژن و افزایش ترشح آنزیم بوده است (۱۷). بهبود مقاومت در برابر عوامل استرس‌زا از ویژگی‌های مهم سویه‌های مختلف زیست‌یارها است (۱۶). اختلاف معنی‌داری در استفاده از *بیفیدوباکتریوم*ها در جیره غذایی لاروهای قزل‌آلای رنگین‌کمان در آزمون مقابله با عوامل استرس‌زا مشاهده نشد و گاهاً کاهش مقاومت در برابر تنش قلیایی در تیمار T۳ مشاهد شد. این در حالی است که مصرف پروبیوتیک‌ها در مطالعه لشکربلوکی و همکاران (۱۱) بر روی تاس ماهی ایرانی موجب افزایش مقاومت لاروها گردید. پروبیوتیک‌ها قادرند با ترشحات موکوسی که دارای فعالیت

ضدمیکروبی هستند، در سطح موکوس ایجاد سد دفاعی علیه عوامل پاتوژنیک کنند (۳۱). فعالیت تحت موکوسی پروبیوتیک‌ها موجب افزایش سیستم ایمنی، تولید سیتوکین، افزایش دامنه مقاومتی و کاهش پاسخ التهابی میزبان می‌گردد. البته باید توجه داشت استفاده از پروبیوتیک الزاماً مقاومت موجود را در برابر عوامل استرس‌زای محیطی را افزایش نمی‌دهد بر همین اساس تاثیر آن بر سایر مکانیسم‌های مقاومتی از جمله برخی ترکیبات سرم خون در لاروهای قزل‌آلای رنگین‌کمان مورد ارزیابی قرار گرفت. آنزیم‌های آسپارتات آمینوترانسفراز یا AST و آلانین آمینوترانسفراز یا ALT از آنزیم‌های کبدی هستند که در زمان آسیب دیدن کبد در اثر عوامل مختلف از جمله آلودگی میکروبی وارد جریان خون می‌شوند. مطالعات در خصوص احتمال نفوذ باکتری‌ها از مخاط نفوذپذیر روده به خون و سپس به کبد موجودات زنده قبلاً مورد ارزیابی و تایید قرار گرفته است (افشار مازندران و رجب، ۱۳۸۰). در مطالعه حاضر اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی و شاهد در میزان آلانین آمینوترانسفراز مشاهده نشد. این در حالی بود که میزان آسپارات آمینوترانسفراز در تیمار اول تغذیه شده با کمترین غلظت *بیفیدوباکتریوم*‌ها (۲/۳۷۵ ± ۶/۲۵۰ واحد در لیتر) نسبت به سایر تیمارها کاهش یافت. مطابق با این نتایج Kumar و همکاران (۲۱) گزارش نمودند که استفاده از *باسیلوس سوبتیلیس* در جیره غذایی ماهی روهو تاثیری بر میزان ALT نداشت. همچنین درمطالعه Marzouk و همکاران (۲۴) استفاده از *باسیلوس سوبتیلیس* و مخمر *ساکارومایسیس سرویسیه* در ماهی تیلاپیا نیل اختلاف معنی‌دار را در میزان ALT بین تیمارهای آزمایشی و تیمار شاهد موجب نشد که با نتایج بدست آمده در این مطالعه مطابقت دارد.

در ماهیان استخوانی کورتیزول به عنوان گلوکوکورتیکوئید عمل می‌کند که در فعالیت‌های متابولیکی و تنظیم اسمزی نقش دارد (Sivil et al., 2008). کورتیزول همچنین در بقاء لاروها (۳۰)، سازگاری با شوری (۲۳)، و رشد (۲۵) نقش مهمی را ایفا می‌کند. Barton و همکاران (۱۳) در مطالعه خود در خصوص سطح کورتیزول در طول استرس و تنظیم اسمزی در ماهی کوهو و قزل‌آلا گزارش دادند که سطح کورتیزول با افزایش استرس افزایش خواهد یافت، به همین علت کورتیزول جهت ارزیابی میزان مقاومت موجود به شرایط و عوامل استرس‌زا در نتیجه تغذیه با جیره حاوی بیفیدوباکتریوم‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت و نتایج نشان داد که سطح کورتیزول در تیمارهای آزمایشی کاهش معنی‌داری را نسبت به تیمار شاهد داشته است. این افزایش مقاومت ممکن است در اثر کاهش فلور میکروبی مضرر در دستگاه گوش بوده باشد. همچنین تولید ترکیبات موثر در تحریک ایمنی و تولید برخی ویتامین‌ها از جمله عوامل افزایش مقاومت هستند. مطابق با این نتایج اسماعیلی و همکاران (۱) در استفاده از زیست‌یارهای باسیلوسی شامل *باسیلوس سوبتیلیس*، *باسیلوس لیشنی‌فورمیس* و مخمر *ساکارومایسیس سرویسیه* در جیره غذایی لارو کپور معمولی با هدف ارزیابی مقاومت در برابر عوامل استرس‌زا و فاکتورهای بیوشیمیایی عصاره بدن نشان داد استفاده از زیست‌یارها موجب کاهش کورتیزول در تیمارهای آزمایشی شد. در مطالعه دیگری استفاده از *لاکتوباسیلوس دلبروکی* در جیره غذایی ماهی باس دریایی موجب کاهش سطح کورتیزول خون در تیمارهای آزمایشی تحت تاثیر *لاکتوباسیلوس دلبروکی* از ۵/۱ به ۳/۶ شد (۳۵). همچنین در مطالعه Rollo و همکاران (۲۶) و Carnevali و همکاران (۱۴) کاهش

سطح کورتیزول در لارو ماهی باس دریایی تغذیه شده با زیست‌یارها گزارش شد. تمامی این مطالعات با مطالعه حاضر مطابقت می‌کند. بر اساس نتایج بدست آمده می‌توان نتیجه گرفت که افزودن *بیفیدوباکتریوم انمالیس* و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* با غلظت $۱۰^{۹} \times ۱$ واحد کلنی در ۱۰۰ گرم از جیره مصرفی لارو ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان سبب بهبود رشد می‌شود. همچنین این غلظت مصرفی از دو گونه مذکور موجب کاهش سطح کورتیزول و افزایش مقاومت در لاروها خواهد شد.

تشکر و قدردانی

نگارندگان مراتب تقدیر و تشکر خود را از همکاری صمیمانه مدیر آزمایشگاه‌های دانشگاه گنبد کاووس جناب دکتر جواد بیات کوهسار و همچنین از مسئولین محترم آزمایشگاه‌های دانشگاه آقایان جعفرزاده و حسینی و خانم سراوانی ابراز می‌دارند.

منابع

۱. اسماعیلی، م.، جعفریان، ح.، اکرمی، ر.، پور عباسعلی، م. (۱۳۹۰). کارایی باسیلوس‌های استخراج شده از روده فیل ماهی (*Huso huso*) انگشت قد بر مقاومت و فاکتورهای بیوشیمیایی لارو کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). *مجله پژوهش‌های نوین دامپزشکی*، سال ۲، شماره۸، صفحات ۲۴-۱۵.

۲. افشار مازندران، ن.، رجب، ا. (۱۳۸۱). در ترجمه *پروبیوتیک‌ها و کاربرد آنها در تغذیه دام و طیور*، فولر، ر. (مولف). انتشارات نوربخش، تهران، صفحه ۳۹۰.

۳. توکمه‌چی ا.، بندبنی، م. (۱۳۹۲). تاثیر مکمل مخمری بر رشد و سیستم ایمنی در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). *مجله تحقیقات دامپزشکی*، دوره ۶۸، شماره۱، صفحات ۷۸-۶۹.

۴. توکمه‌چی، ا.، شمسی، ح.، مشکینی، س.، دلشاد، ر.، قاسمی مغانجوقی، ا. (۱۳۹۱). بهبود شاخص‌های رشد و برخی از معیارهای پاسخ ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) با استفاده توام از ویتامین C و پروبیوتیک *Lactobacillus rhamnosus*. *مجله علمی شیلات ایران*، سال ۲۱، شماره ۳، صفحات ۲۲-۱۳.

۵. جعفریان ح. (۱۳۸۵). تاثیر باکتری‌های باسیلوسی به عنوان پروبیوتیک بر رشد، بازماندگی و فعالیت آنزیم‌های گوارشی در لارو تاس ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) در طول دوره پرورش لارو از طریق غنی‌سازی با آرتمیا اورمیانا (*Artemia urmiana*). رساله دکترا. دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان. صفحه ۱۰۳.

۶. جعفریان ح.، مروت ر.، شیرزاد، ح. (۱۳۸۷). بکارگیری دافنی ماگنای (*Daphnia magna*) غنی شده با باسیلوس‌های پروبیوتیکی و تاثیر آنها بر رشد لاروهای ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). *مجله زیست‌شناسی*، شماره ۲۱، صفحات ۳۵-۲۴.

۷. جعفریان، ح.، سلطانی، م.، طاعتی، م.، نظرپور، ع.ر.، مروت، ر. (۱۳۹۰). مقایسه تاثیر باسیلوس‌های مستخرج از روده لارو ماهیان خاویاری *Acipenser persicus* و *Huso huso* با پروبیوتیک‌های تجاری بر رشد و بقاء لارو ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). *مجله تحقیقات دامپزشکی*، دوره ۶۶، شماره۱، صفحات ۴۶-۳۹.

۸. سازمان شیلات ایران، (۱۳۹۰). دفتر برنامه و بودجه، آمار، سالنامه آماری سازمان شیلات ایران ۱۳۸۸-۱۳۷۹، آنلاین، مشاهده شده درتاریخ ۲۵ شهریور ۱۳۹۰، http://fisheries.ir/portal/Home/ShowPage.aspx?Object

۹. سهندی، ج. (۱۳۹۲). تاثیر دو گونه پروبیوتیکی *Bifidobacterium animalis* و *Bifidobacterium lactis* در جیره غذایی بررشد و قابلیت هضم لارو ماهی

قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)، پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه گنبد کاووس، صفحه ۱۰۹.

۱۰. سهندی، ج.، جعفریان، ح.، جمالی، ه.، ادینه، ج.، احدی‌زاده، س. (۱۳۹۰). افزایش کارایی تغذیه و رشد لارو تاس ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) از طریق غنی‌سازی *Daphnia magna* با *لاکتوباسیلوس* و مخمر نانوایی (*Saccharomyces cerevisia*)، دومین کنفرانس ملی علوم شیلات و آبزیان ایران، ۲۰- ۲۲ اردیبهشت. لاهیجان، گیلان، صفحات ۱۶۱-۱۵۲.

۱۱. لشکربلوکی، م.، جعفریان، ح.، کرامت، ع.، فرهنگی، م. و ادینه، ح. (۱۳۹۰). بررسی تاثیر دافنی ماگنای (*Daphnia magna*) غنی شده با مخمر *ساکارومایسیس سرویزیا* (*Saccharomyces cerevisiae*) بر رشد و مقاومت لاروهای ماهی تاس ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) در برابر عوامل استرس‌زا. *مجله منابع طبیعی ایران*، دوره ۶۴، شماره ۴، صفحات ۳۵۵-۳۴۵.

۱۲. محمدی آذرم، ح.، عابدیان کناری، ع.، ابطحی، ب. (۱۳۸۳). تاثیر پروبیوتیک پروتکسین بر رشد و زنده مانی لارو ماهی قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*). *مجله علوم دریایی ایران*، دوره ۳، شماره ۲و۳، صفحات ۷۵-۶۹.

13. Barton, B.A., Schreck, C.B., Ewing, R.D., Hemmingsen, A.R., Patino, R. (1985). Changes in plasma cortisol during stress and smoltification in coho salmon, trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Journal of Fish Disease* **26**: 59-62.
14. Carnevali, O., Luisa de Vivo, A., Roberto, S., Giorgia, G., Ike, O., Stefania, S., Alberto, C. (2006). Growth improvement by probiotic in European sea bass juveniles (*Dicentrarchus labrax* L.), with particular attention to IGF-1, myostatin and cortisol gene expression. *Aquaculture* **258**: 430-8.
15. FAO (2011). Fisheries and aquaculture department, The state of world fisheries and aquaculture (SOFIA) - 2010, Online viewed 16 September 2011, http://www.fao.org/fishery/publication/sofia/en.
16. Fietto, J.L.R., Araujo, R.S., Valadao, F.N., Fietto, L.G., Brandao, R.L., Neves, M.J., Gomes, F.C.O., Nicoli, J.R., Castro, I.M. (2004). Molecular and physiological comparison between *Saccharomyces cerevisiae* and *Saccharomyces boulardii*. *Canadian Journal of Microbiology* **50**: 615-21.
17. Gatesoupe, F.J., Ringo, E. (1998). Lactic acid bacteria in fish: a review. *Aquaculture* **199**: 25-40.
18. Gatesoupe, F.J. (1991). *Bacillus sp*. Spores: A new tool against early bacterial infection in Turbot larvae (*Scophthalmus maximus*). In: larvens, P., Jaspers, E., Roelands, I. (Eds), Larvi-fish and Crustacean Larviculture Symposium. European Aquaculture Society, Gent, Special publication, No. 24, 409-11.
19. Herrick, J.B. (1972). Therapeutic nutrition using *Lactobacillus* species. *Veterinary Medicine* **67**: 1249.
20. Jafaryan, H., Asadi, R., Bagheri, A. (2008). The promotion of growth parameters and feeding efficiency of *Acipenser nudiventris* larvae by using of probiotic bacillus via bioencapsulation of *Artemia urmiana*. Aquacultur Europe. 27 October, 2007. Istanbul, Turkey, 260-1.
21. Kumar, R., Mukherjee, S.C., Prasad, K.P., Pal, A.K. (2006). Evaluation of *Bacillus subtilis* as a probiotic to Indian major carp *Labeo rohita* (Ham.), *Aquaculture Research* **37**: 1215-21.
22. Lara-Flores, M., Miguel, A., Beatriz, E., Lopez-Madrid, W. (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.
23. Lin, G.R., Weng, C.F., Wang, J.I., Hwang, P.P. (1999). Effects of cortisol on ion regulation in developing Tilapia

(*Oreochromis mossambicus*) larvae on seawater adaptation. *Physiological and Biochemical Zoology* **72**: 397-404.
24. Marzouk, M.S., Moustafa, M.M., Mohamed, N.M. (2008). Evaluation of immunomodulatory effects of some probiotics on cultured *Oreochromis niloticus*. 8th International Symposium on Tilapia in Aquaculture, 1043-58.
25. Mathiyalagan, A., Reddy, P.K., Lam, T.J. (1996). Effects of cortisol on growth and development in Tilapia larvae, *Oreochromis mossambicus*. *Fish Physiology and Biochemistry* **15**: 453-8.
26. Rollo, A., Sulpizio, R., Nardi, M., Silvi, S., Orpianesi, C., Caggiano, M., Cresci, A., Carnevali, O. (2006). Live microbial feed supplement in aquaculture for improvement of stress tolerance. *Fish Physiology and Biochemistry* **32**: 167-77.
27. Sahandi, J., Jafaryan, H., Roozbehfar, R., Babaei, S., Dehestani, M. (2012a). 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**: 289-95.
28. Sahandi, J., Jafaryan, H., Tadiri, Ch. (2012b). Nutritional effect of *Saccharomyces cerevisiae* extract on growth enhancement with adding on diet during first month of feeding of *Cyprinus carpio*, First International Larviculture Conference in Iran.11-12 December 2012, Karaj, Iran, 626-32.
29. Sahandi, J., Jafaryan, H., Moradi, P., Tadiri, Ch. (2013). Effect of in-feed probiotic blend on growth performance and infection resistance of the Guppy (*Poecilia reticulata*). *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine* (in press).
30. Samphath Kumar, R., Lee, S.T., Tan, C.H., Munro, A.D., Lam, T.J. (1997). Biosynthesis *in vivo* and excretion of cortisol by fish larvae. *Journal of Experimental Zoology* **277**: 337-44.
31. Sherman, P.M., Ossa, J.C., Johnson-Henry, K. (2009). Unraveling mechanisms of action of probiotics. *Nutritional Clinical Practice* **24**: 10-4.
32. Sivil, S., Nardi, M., Sulpizio, R., Orpainesi, C., Caggiano, M., Carnevali, O., Cresci, A. (2008). Effect of the addition of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *delbrueckii* on the gut microbiota composition and contribution to the well-being of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L.). *Microbial Ecology in Health and Disesae* **20**: 53-9.
33. Subasinghe, R. (1997). *Fish Health and Quarantaine*, p. 45-49. In: *Review of the State of the World Aquaculture-FAO Fisheries Circular*. No: 886. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy.
34. Verschuere, L., Rombaut, G., Sorgeloos, P., Verstraete, W. (2000). Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture. *Microbilogy and Molecular Biology Reviews* **64**: 655-71.
35. Wendelaar, B.S.E. (1997). The stress response in fish. *Physiological Reviews* **77**: 591-625.

Journal of Veterinary Microbiology, Volume 11, Issue 2, 2015

Effects of bifidobacter probiotic supplement on growth performance and immune system of rainbow trout larvae (*Oncorhynchus mykiss*)

Sahandi, J.[1*], Jafaryan, H.[2], Soltani, M.[3], Ebrahimi, P.[4]

1. Graduated Master Student of Aquaculture, Department of Fisheries, Faculty of Natural Sciences, Gonbad Kavous University, Gonbad Kavous, Iran
2. Associate Professor, Department of Fisheries, Faculty of Natural Sciences, Gonbad Kavous University, Gonbad Kavous, Iran
3. Full Professor, Department of Aquatic Animal Health and Diseases, Faculty of Veterinary, University of Tehran, Tehran, Iran
4. Assistance Professor, Department of Chemistry, Faculty of Basic Sciences, Golestan University, Gorgan, Iran

Received Date: 23 November 2013 *Accepted Date: 12 July 2014*

Abstract: *Today uses of microbial compounds as probiotic are preferred for growth and immune enhancement of fish.The aim of this study was to evaluate effect of different bacterial concentration of Bifidobacterium lactis and Bifidobacterium animalis on growth performance and resistance of rainbow trout against environmental stresses. For this purpose 470 rainbow trout larvae with average mean weight of 0.538±0.197 g (±SD) were obtained and transferred to the laboratory. After 14 days adaptation to the laboratory conditions the fish were randomly divided into four treatments with three replicates (Three experimental treatment and the control). The fish were fed with three concentration of 1×109, 2×109 and 3×109 CFU/100g of probiotic in-feed and the control was fed with diet without probiotic supplementation for 60 days. Length and weight of fish were measured at the beginning and end of study. Also, at the end of study the fish were challenged with environmental stress.The Results showed that the use of the lowest concentration of bacterial increased growth and reduced cortisol in rainbow trout fish blood. Despite of significant growth rate, no significant difference were observed in environmental stresses (P>0.05). Dietary administration of the lowest probiotic concentration could increase the growth and reduced cortisol and ALAT in fish blood.*

Keywords: *Larvae, Rainbow trout, Probiotic, Bifidobacterium, Cortisol, Immune*

**Corresponding author: Sahandi, J.*
Address: Department of Marine Microbiology, College of Marine Life Science, Ocean University of China, Qingdao, China. Tel: +989193298262
Email: sahandijavad@gmail.com