

## تأثیر باسیلوس‌های پروبیوتیکی بر شاخص‌های رشد و بیوشیمیایی سرم خون نوزادان قزل‌آلای رنگین‌کمان در تراکم‌های مختلف

سامیه کتوکی<sup>۱\*</sup>، حجت‌الله جعفریان<sup>۱</sup>، حسنا قلی پور کنعانی<sup>۱</sup>، پونه ابراهیمی<sup>۲</sup>

۱- گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گلستان

۲- گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گلستان، گرگان، گلستان

تاریخ دریافت: ۹۸/۰۲/۱۰ تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۷/۱۴

### چکیده

در این مطالعه تأثیر جیره‌های غذایی مکمل سازی شده با مخلوط باسیلوس‌های پروبیوتیکی ( $10^8$  CFU/100 g) بر شاخص‌های رشد و بیوشیمیایی سرم خون نوزادان قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) با میانگین وزنی  $0.08 \pm 0.23$  گرم در تراکم‌های مختلف بررسی شد. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تیمار آزمایشی به همراه یک گروه شاهد بود. تیمارها شامل ۳۰، ۴۵، ۶۰ و ۷۵ نوزاد در ۱۰ لیتر آب (T<sub>30</sub>, T<sub>45</sub>, T<sub>60</sub>) در نظر گرفته شد. طول دوره غذایی ۴۵ روز بود. بالاترین وزن نهایی ( $1.16 \pm 0.36$  گرم) و کمترین ضریب تبدیل غذایی ( $0.39 \pm 1.01$ ) در T<sub>60</sub> مشاهده شد ( $p < 0.05$ ). نرخ رشد ویژه در تمامی تیمارهای آزمایشی نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌دار نشان داد ( $p < 0.05$ ). بیشترین میزان پروتئین کل ( $2.10 \pm 0.70$  میلی‌گرم در دسی لیتر)، کورتیزول ( $2.50 \pm 84.50$  میلی‌گرم در دسی لیتر) و کمترین میزان آلبومین ( $1.05 \pm 9.85$  میلی‌گرم در دسی لیتر) در T<sub>30</sub> اندازه‌گیری شد ( $p < 0.05$ ). بیشترین میزان گلوکز ( $4.50 \pm 139.50$  میلی‌گرم در دسی لیتر) در T<sub>60</sub> اندازه‌گیری شد ( $p < 0.05$ ). افزودن پروبیوتیک به جیره غذایی لاروهای قزل‌آلای رنگین‌کمان باعث کاهش معنی‌دار AST و افزایش معنی‌دار ALT و ALP بین تیمارهای آزمایشی در مقایسه با گروه شاهد شد ( $p < 0.05$ ). در مجموع، نتایج این تحقیق نشان داد که پروبیوتیک‌های باسیلوس توانایی افزایش رشد و بهبود شاخص‌های بیوشیمیایی سرم خون نوزادان قزل‌آلای رنگین‌کمان را دارند. این نتایج، تأثیرات سودمند پروبیوتیک‌ها به‌عنوان یک افزودنی کاربردی در جیره غذایی ماهیان پرورشی را حمایت می‌کند.

کلمات کلیدی: قزل‌آلای رنگین‌کمان، لارو، تراکم، رشد، سرم خون

نویسنده مسئول: katooky.s68@gmail.com

## مقدمه

تراکم یکی از فاکتورهای مؤثر در تولید ماهی است (Liu and Chang, 1992). فاکتورهای فیزیکیوشیمیایی مختلفی نظیر دما، اکسیژن، دی‌اکسید کربن، شفافیت و pH عوامل اولیه در پرورش ماهی به حساب می‌آیند، اما بیشترین اثر مربوط به تراکم است (Chakraborty and Banerjee, 2010). توجه به میزان تراکم در استخرهای پرورش ماهی، تولید مطلوب را در پی خواهد داشت (FAO, 1995).

طبق گزارش Meade (۱۹۷۸) و Wedemeyer (۱۹۸۰)، تراکم بالا باعث بروز استرس‌های شدید در بین ماهیان می‌شود و در صورتی که اقدامات اصلاحی لازم انجام نشود، منجر به تلفات سنگین در مزارع خواهد شد. در مجموع، پرورش ماهی در تراکم‌های بالا استرس (Håstein, 2004)، افزایش حساسیت نسبت به بیماری (European Commission, 2004)، بروز آسیب‌های بدنی (North et al., 2006)، کاهش رشد، کاهش غذای دریافتی و افزایش ضریب تبدیل غذایی (Ellis et al. 2002) را در پی دارد.

از بین عوامل مؤثر در پرورش ماهی، استرس تراکم در بسیاری از ماهیان استخوانی مطالعه شده است (Hasanalipour et al. 2013). اما اطلاعات بسیار محدودی از تأثیر این عامل در دوران حساس نوزادی در دسترس است. رشد کند به همراه تلفات بالا از مشکلات اصلی پرورش نوزاد است (Girri et al., 2002). برای حل این مشکل، یکی از راه‌حل‌های پیشنهادی، استفاده از افزودنی‌های غذایی در جیره است (Ahilan et al. 2004).

ثابت شده است که تحمل استرس در ماهیان تیمار شده با پروبیوتیک بهبود می‌یابد (Rollo et al., 2006; Gomes et al. 2009; Tapia-Paniagua et al. 2014). نقش اساسی ریزموجودات پروبیوتیکی در شرایط استرس‌زا، مثل بالا بودن میزان تراکم در حیوانات مختلف، از جمله ماهی‌ها بررسی شده است (Tapia-Paniagua et al., 2014). برای مثال، Cordero و همکاران (۲۰۱۶) گزارش دادند که استفاده از پروبیوتیک تجاری

Pdp11 تأثیرات مثبتی روی شاخص‌های ایمنی ماهی سیم سر طلائی (*Sparus aurata*) در تراکم‌های بالا دارد. استفاده از پروبیوتیک مذکور باعث افزایش نرخ بقا در ماهی کفشک (*Solea senegalensis*) شد و دستگاه ایمنی این گونه را در تراکم‌های بالا ارتقاء داد (Tapia-Paniagua et al., 2014).

ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به دلیل قابلیت‌های بسیار خوبی که در اهلی شدن، پذیرش غذای دستی و رشد قابل قبول دارد، همواره به‌عنوان یکی از گونه‌های مهم در صنعت آبی‌پروری مطرح است (Webster and Lim, 2002). تولید این گونه از ۹۶۶۵۶۱ تن در سال ۲۰۰۵ به ۸۱۴ هزار تن در سال ۲۰۱۶ رسید (FAO, 2018). در ایران تولید این گونه از ۷۶۰۳۴ تن در سال ۱۳۸۴ به ۸۳۰۱۶۷ تن در سال ۱۳۹۶ رسید (IFO, 2018). با توجه به توسعه صنعت آبی‌پروری در طول سال‌های اخیر، اهمیت اقتصادی پرورش آبزیان به‌صورت متراکم به‌خوبی شناسایی شده است (Klinger et al. 1983). با توجه به اینکه اطلاعاتی در مورد تأثیر پروبیوتیک‌ها روی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در تراکم‌های مختلف در دسترس نیست، در این مطالعه به بررسی نقش باسیلوس‌های پروبیوتیکی بر عملکرد رشد و ترکیبات بیوشیمیایی سرم خون نوزادان ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در تراکم‌های مختلف پرداخته شد.

## مواد و روش‌ها

برای انجام این تحقیق از ۶۰۰ قطعه نوزاد قزل‌آلای رنگین‌کمان با میانگین وزنی  $0.08 \pm 0.23$  گرم (میانگین  $\pm$  انحراف معیار) استفاده شد. نوزادان پس از خریداری از یکی از مراکز خصوصی تکثیر و پرورش ماهیان سرد آبی (آمل، مازندران) به محل انجام آزمایش واقع در آزمایشگاه آبی‌پروری دانشگاه گنبدکاووس منتقل شدند. پس از سازگاری اولیه با محیط مطالعه (۷ روز)، در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۴ تیمار آزمایشی به همراه یک گروه شاهد هر کدام با ۳ تکرار تقسیم شدند. تراکم‌ها شامل ۳۰، ۴۵، ۶۰ و ۷۵ قطعه نوزاد در ۱۰ لیتر آب (T30, T45, T60, T75) بود. در گروه شاهد (C) کمترین تراکم (۳۰)

مخلوط تعلیق پروبیوتیکی در پلیت‌های حاوی محیط کشت ژلاتینی تربیتیک سوی آگار (TSA) کشت داده شد. پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت درون انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری (انکوبه) شدند. پس از پایان مدت مذکور با استفاده از یک آنس استریل، پرگنه‌های تشکیل شده از پلیت‌ها جدا سازی و به اپندورف‌های حاوی سرم فیزیولوژیمنتقل شدند. با استفاده از همزن برقی به مدت ۵ دقیقه محلولی همگن از تعلیق باکتریایی تهیه شد. غلظت باکتریایی مورد نظر با دستگاه اسپکتروفتومتر مدل Biocrom-S11 و محلول استاندارد مک فارلند نیم، بر مبنای CFU/mL بر اساس چگالی بهینه در طول موج ۶۱۰ nm تعیین شد (Gomez-Gil et al. 1998; Rengpipat et al. 1998).

برای تعیین وضعیت نوزادان در ابتدا و انتهای دوره آزمایش، درازا و وزن آن‌ها به ترتیب با تخته زیست‌سنجی با دقت ۱ میلی‌متر و ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم اندازه‌گیری شد. با استفاده از فرمول‌های محاسباتی برخی از شاخص‌های رشد و تغذیه تعیین شد (De silva and Anderson, 1995; AOAC, 1990). به منظور کاهش استرس ۲۴ ساعت قبل از زیست‌سنجی، غذاهای نوزادان به‌طور کامل قطع شد. برای بی‌هوش کردن نوزادان از ۲۰۰ ppm پودر گل میخک استفاده شد (محرابی، ۱۳۷۷).

قطعه در ۱۰ لیتر آب) استفاده شد. جیره مورد استفاده برای گروه شاهد فاقد هر گونه ماده افزودنی بود. مخازن مورد استفاده از جنس فایبرگلاس و دارای ظرفیت آب‌گیری ۱۰ لیتر بودند که تحت هوادهی مستمر قرار داشتند. آب مورد استفاده برای پرورش نوزادان از چاه نزدیک آزمایشگاه تأمین می‌شد. روزانه ۵۰٪ آب هر مخزن تعویض می‌شد. در طول دوره آزمایش دمای آب  $17/66 \pm 1/33$  درجه سانتی‌گراد، اکسیژن محلول  $7/8 \pm 0/74$  میلی‌گرم در لیتر، شوری  $2/01 \pm 0/13$  میلی‌گرم در لیتر، هدایت الکتریکی  $3012/62 \pm 450/03$  میکروموس بر سانتی‌متر، قلیائیت  $240/02$  میلی‌گرم در لیتر، سختی کل  $391/6$  میلی‌گرم در لیتر و  $7/63 \pm 0/08$  pH بود.

غذاهای نوزادان روزانه در سه نوبت (ساعات ۸:۰۰، ۱۴:۰۰ و ۲۰:۰۰)، معادل ۵٪ وزن بدن با جیره‌های تجاری شرکت بیضاء ۲۱ با ترکیبات تقریبی ۴۵٪ پروتئین خام، ۱۴٪ چربی خام و ۴۳۰۰ کالری بر گرم انرژی خام به مدت ۴۵ روز انجام شد.

مکمل سازی جیره‌ها با مخلوط باسیلوس‌های پروبیوتیکی در غلظت  $1 \times 10^8$  CFU/100 g انجام شد. برای مکمل سازی از تعلیق (سو سپان سیون) حاوی مخلوط هاگ ۵ باکتری از جنس باسیلوس *B. B. licheniformis*, *Bacillus subtilis* و *B. laterosporus polymixa* (*circulans*) با عنوان تجاری پروتک سین آکوانک (ایران نیکوتک) استفاده شد. به‌طور خلاصه برای مکمل سازی جیره‌ها ابتدا مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از

(زمان/ میانگین وزن ابتدای دوره (گرم) - میانگین وزن ابتدای دوره (گرم) - میانگین وزن انتهای دوره (گرم)) = افزایش وزن بدن  
 $0/333 -$  میانگین وزن انتهای دوره (گرم)  $(0/333)$  = ضریب رشد روزانه  
 [زمان/ (لگاریتم طبیعی میانگین وزن اولیه (گرم) - لگاریتم طبیعی میانگین وزن نهایی (گرم))]  $\times 100 =$  نرخ رشد ویژه  
 روزهای مطالعه  $[(1000)^{1/8} \times (1000)^{1/8} / (افزایش وزن (گرم))] /$  نرخ رشد متابولیکی  
 $100 \times$  (غذای نسبی خورده شده / نرخ رشد ویژه) = کارایی تبدیل رشد  
 افزایش وزن بدن (گرم) / مقدار غذای خورده شده (گرم) = ضریب تبدیل غذایی

لوله‌های سرمی غیرهپارینه (۲ mL) درون یخ جاسازی و به‌سرعت به آزمایشگاه منتقل شدند. نمونه‌های خون به مدت ۵ دقیقه با دور ۳۰۰۰ rpm درون دستگاه DENLEY مدل BS400 سانتریفیوژ

برای سنجش شاخص‌های بیوشیمیایی سرم در انتهای دوره آزمایش تعداد ۱۰ قطعه نوزاد از هر مخزن به‌طور تصادفی صید شد. خون‌گیری از طریق سیاهرگ ساقه دمی انجام شد. نمونه‌های خون پس از انتقال به

ELISA مستقیم (Deane and Woo, 2003) اندازه‌گیری شد. آنالیز آماری داده‌ها با نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۵ به روش آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-Way ANOVA) و مقایسه میانگین بین تیمارها به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن (Duncan's multiple-range test) در سطح معنی‌داری  $p < 0.05$  انجام شد.

### نتایج

بر اساس نتایج جدول ۱ وزن نهایی به طور معنی‌دار در T60 بالاتر از دیگر تیمارهای آزمایشی بود ( $p < 0.05$ ). نرخ رشد ویژه بین تمامی تیمارهای آزمایشی به طور معنی‌دار پایین‌تر از گروه شاهد بود ( $p < 0.05$ ). کمترین ضریب تبدیل غذایی نیز در T60 ثبت شد ( $p < 0.05$ ).

شدند. سرم از خون جداسازی شد. نمونه‌های سرم توسط سمپلر به لوله‌های (ویال‌های) اپندورف منتقل شدند و تا زمان شروع آزمایش‌های بیوشیمیایی درون فریزر با دمای  $-20^{\circ}\text{C}$  درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (Chebanov and Ronald, 2001).

سنجش شاخص‌های بیوشیمیایی با دستگاه اتوآنالایزر (Eurolyser, Belgium) مطابق با دستورالعمل شرکت سازنده و کیت‌های تجاری شرکت پارس آزمون (کرج) انجام شد. میزان پروتئین کل به روش بیوره<sup>۱</sup>، گلوکز به روش گلوکز اکسیداز<sup>۲</sup>، آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و اسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) به روش رنگ سنجی کینتیک، آلکالین فسفاتاز (ALP) به روش آنزیماتیک کینتیک، آلبومین به روش بروموکرزول گرین (BCG)<sup>۳</sup>، (Borges et al., 2004) و کورتیزول با استفاده از کیت سنجش هورمون کورتیزول (Monobind, USA) به روش

جدول ۱ مقایسه میانگین ( $\pm$  SD) برخی از شاخص‌های رشد و تغذیه بین تیمارهای آزمایشی

میزان تراکم (تعداد در ۱۰ لیتر آب)					
شاخص‌های رشد	شاهد	۳۰	۴۵	۶۰	۷۵
وزن اولیه (g)	$0.23 \pm 0.08^a$	$0.23 \pm 0.08^a$	$0.23 \pm 0.08^a$	$0.23 \pm 0.08^a$	$0.23 \pm 0.08^a$
وزن نهایی (g)	$2.76 \pm 0.99^{bc}$	$2.93 \pm 1.06^{ab}$	$2.55 \pm 0.76^c$	$3.06 \pm 1.16^a$	$2.86 \pm 0.98^{ab}$
SGR (درصد/روز)	$2.99 \pm 0.40^a$	$2.38 \pm 0.33^b$	$2.25 \pm 0.28^c$	$2.41 \pm 0.34^b$	$2.35 \pm 0.32^b$
FCR	$1.09 \pm 0.34^{ab}$	$1.04 \pm 0.36^b$	$1.17 \pm 0.37^a$	$1.01 \pm 0.4^c$	$1.06 \pm 0.36^{ab}$

\* اعداد (میانگین  $\pm$  انحراف معیار) با حروف متفاوت در هر ردیف اختلاف معنی‌دار آماری دارند ( $p < 0.05$ ).

آنزیم AST بین تمامی تیمارهای آزمایشی پایین‌تر از گروه شاهد بود ( $p < 0.05$ ), در حالی که میزان فعالیت آنزیم ALT بین تمامی تیمارها بالاتر از گروه شاهد به دست آمد ( $p < 0.05$ ). میزان فعالیت آنزیم ALP در T60 و T75 به طور معنی‌دار بالاتر از گروه شاهد بود ( $p < 0.05$ ), اما T30 و T45 اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد نداشت ( $p > 0.05$ ).

بالاترین میزان پروتئین کل و کمترین میزان آلبومین در T30 اندازه‌گیری شد ( $p < 0.05$ ). میزان این دو شاخص بین دیگر تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی‌داری نداشت ( $p > 0.05$ ). بالاترین میزان گلوکز در T60 به دست آمد ( $p < 0.05$ ). میزان کورتیزول نیز در T30 به طور معنی‌دار بالاتر از دیگر تیمارهای آزمایشی و گروه شاهد بود ( $p < 0.05$ ). میزان فعالیت

<sup>3</sup> Bromocresol Green

<sup>1</sup> Biuret

<sup>2</sup> Glucose oxidase

جدول ۲ مقایسه میانگین (± SD) برخی از شاخص‌های بیوشیمیایی سرم خون بین تیمارهای آزمایشی

میزان تراکم (تعداد در ۱۰ لیتر آب)					
شاخص‌های سرمی	شاهد	۳۰	۴۵	۶۰	۷۵
پروتئین کل (mg/dL)	۷/۳۳ ± ۰/۵۱ <sup>b</sup>	۹/۷۰ ± ۲/۱۰ <sup>a</sup>	۷/۰۱ ± ۰/۴۹ <sup>b</sup>	۶/۰۰ ± ۰/۵۰ <sup>b</sup>	۷/۳۰ ± ۱/۱۲ <sup>b</sup>
آلبومین (mg/dL)	۱۰/۹۶ ± ۰/۳۳ <sup>a</sup>	۹/۸۵ ± ۱/۰۵ <sup>b</sup>	۱۱/۵۰ ± ۰/۱۰ <sup>a</sup>	۱۱/۳۵ ± ۰/۰۵ <sup>a</sup>	۱۱/۰۰ ± ۰/۵۰ <sup>a</sup>
گلوکز (mg/dL)	۱۲۱ ± ۱۰/۵۸ <sup>bc</sup>	۱۱۴/۵۷ ± ۳/۰۰ <sup>c</sup>	۱۱۶/۰۱ ± ۳/۲۰ <sup>c</sup>	۱۳۹/۵ ± ۴/۵ <sup>a</sup>	۱۳۰/۲۰ ± ۲ <sup>ab</sup>
کورتیزول (mg/dL)	۷۹/۳۳ ± ۸/۰۸ <sup>ab</sup>	۸۴/۵۰ ± ۲/۵۰ <sup>a</sup>	۷۳/۵۰ ± ۱/۵۰ <sup>b</sup>	۶۰/۵۰ ± ۲/۵۰ <sup>c</sup>	۴۱/۶۲ ± ۱/۱۲ <sup>d</sup>
AST (U/L)	۷/۳۳ ± ۰/۵۷ <sup>a</sup>	۶/۱۰ ± ۱/۱۰ <sup>ab</sup>	۶/۵۰ ± ۰/۵۰ <sup>ab</sup>	۶/۵۰ ± ۱/۵ <sup>ab</sup>	۵/۱۲ ± ۰/۰۴ <sup>b</sup>
ALT (U/L)	۱۸/۳۳ ± ۰/۵۷ <sup>c</sup>	۲۱/۰۹ ± ۱/۰۰ <sup>b</sup>	۲۳/۰۶ ± ۱/۰۰ <sup>a</sup>	۲۲/۵۰ ± ۰/۵۰ <sup>ab</sup>	۲۳/۱۶ ± ۱/۰۲ <sup>a</sup>
ALP (U/L)	۱۴۸ ± ۵/۱۹ <sup>c</sup>	۱۴۷/۵ ± ۵/۵۰ <sup>c</sup>	۱۵۷/۰۷ ± ۱۰/۱۲ <sup>c</sup>	۱۸۹/۰۷ ± ۵/۲۳ <sup>b</sup>	۲۲۷/۵ ± ۷/۵۰ <sup>a</sup>

\* اعداد (میانگین ± انحراف معیار) با حروف متفاوت در هر ردیف اختلاف معنی‌دار آماری دارند (p < ۰/۰۵).

### بحث

در این مطالعه، ماهیان عملکرد متفاوتی در میزان تغییرات وزن نهایی و شاخص‌های رشد و تغذیه در بین تیمارهای مختلف نشان دادند. در همه تیمارها به جز T45، بقیه تیمارها نسبت به گروه شاهد از افزایش وزن نهایی و بهبود شاخص‌های رشد برخوردار بودند. گزارش‌های علمی عموماً نشان می‌دهد که با افزایش تراکم، وزن ماهیان پرورشی در تیمارهایی با تراکم بالا کاهش می‌یابد. به دلیل اینکه معمولاً در تراکم‌های بالا سطح دسترسی ماهیان به غذا کمتر می‌شود، این امر خود می‌تواند به عنوان یک عامل بازدارنده تغذیه ماهیان محسوب شده و عملکرد تغذیه را کاهش دهد. در مطالعه حاضر، در مغایرت با یافته ذکر شده، در بیشتر تیمارهایی که تراکم بالاتر داشتند، وزن و شاخص‌های رشد افزایش داشته و بیشترین وزن نسبت به شاهد در T60 مشاهده شد. در مغایرت با یافته‌های مطالعه حاضر، جعفریان و همکاران (۱۳۹۵) دریافتند که در تراکم‌های بالاتر، میزان وزن نهایی و شاخص‌های رشد فیل‌ماهی (*Huso huso*) جوان کاهش می‌یابد. این در حالی است که در مطالعه حاضر، با تأثیرگذاری پروبیوتیک‌ها، روند تغییرات در تیمارهای آزمایشی، متفاوت شده و افزایش هم نشان داد. عموماً گزارش می‌شود که باسیلوس‌های پروبیوتیکی به دلیل داشتن آنزیم‌های گوارشی خارج سلولی نظیر آمیلاز، لیپاز و پروتئاز قابلیت خوبی برای هضم و گوارش مواد غذایی در دستگاه گوارش میزبان از خود نشان می‌دهند و موجب افزایش رشد می‌شوند (Ghosh et al. 2004). به‌هرحال،

باسیلوس‌های به‌کار رفته در مطالعه حاضر، نتایج متفاوت‌تری را نسبت به شرایطی که از این ریزموجودات پروبیوتیکی استفاده نمی‌شود، از خود نشان دادند. در همین راستا تحقیقات مختلف نشان داده است که استفاده از پروبیوتیک‌ها در غلظت مناسب تأثیرات مثبتی بر موجودات میزبان خواهد داشت (Matteo et al. 2010). در مطالعه حاضر، پرورش نوزادان قزل‌آلای رنگین‌کمان در تراکم ۶۰ قطعه در ۱۰ لیتر آب و تغذیه آن‌ها با جیره‌های مکمل‌سازی‌شده توسط باسیلوس‌های پروبیوتیکی باعث افزایش معنی‌دار وزن نهایی و کاهش ضریب تبدیل غذایی شد. در تأیید نتایج حاضر، Varela و همکاران (۲۰۱۰) با به‌کارگیری پروبیوتیک تجاری Pdp11 در جیره غذایی ماهی سیم سر طلایی (*Sparus auratus*) شاهد افزایش معنی‌دار شاخص‌های رشد در تراکم‌های بالا بودند که همسو با نتایج مطالعه حاضر بود.

سرکوب رشد در شرایط پرورش تحت تأثیر عوامل مختلفی از جمله کاهش مصرف غذا و کنش‌های اجتهامی است (Trenzado et al. 2006). به‌طور کلی ثابت شده است که ازدحام جمعیت به‌عنوان یک عامل استرس‌زا، باعث افزایش نیازهای سوخت و ساز ماهی می‌شود (Vijayan and Leatherland, 1988; Vijayan et al. 1990; Montero et al. 1999). تأثیرات منفی افزایش تراکم در گونه‌های مختلفی از ماهیان از

ترکیبات بیوشیمیایی مثل پروتئین و آلبومین در پلاسمای خون ماهیان افزایش پیدا می‌کند که حاصل هضم و جذب بهتر در دستگاه گوارش ماهی با اثرگذاری این باسیلوس‌های پروبیوتیکی است (Varela et al. 2010). با وجود این، حضور این باسیلوس‌ها در جیره نوزادان ماهی قزل‌آلا توانست روند افزایش کورتیزول در تراکم‌های بالاتر را تحت تأثیر قرار داده و در نتیجه، در تیمارهایی حتی با تراکم بیشتر، نسبت به گروه شاهد، سطح این هورمون را کاهش دهد. یکی از دلایل احتمالی این امر این است که میزان باسیلوس‌های پروبیوتیکی جایگزین شده در دستگاه گوارش ماهیان در تیمارهایی با تراکم بالاتر، به دلیل رقابت بیشتر ماهیان برای دریافت غذا است، به طوری که احتمالاً سطوح بیشتری از باسیلوس‌ها در دستگاه گوارش آن‌ها جایگزین شده و تأثیر مثبت‌تری را در این خصوص ایفا کرده‌اند. همچنین قابلیت استقرار این باسیلوس‌ها در شرایط متفاوت، متغیر است و احتمال دارد که فرآیند استقرار در تراکم‌های بالاتر، بهتر صورت گرفته باشد. با وجود این، شاید سنجش جمعیت میکروبی دستگاه گوارش ماهیان در تیمارهای مختلف و باسیلوس‌های پروبیوتیکی به کار رفته در مطالعه حاضر می‌توانست تا حد زیاد تغییرات به وجود آمده را بهتر آشکار کند. همسو با یافته‌های مطالعه حاضر در یک روند مشابه، Valera و همکاران (۲۰۱۰) گزارش کردند که در تیماری با تراکم بالاتر و با حضور پروبیوتیک، سطح هورمون کورتیزول را در پلاسمای خون شانک (*Sparus aurata*) در مقایسه با ماهیان در تراکم بالاتر و بدون استفاده از پروبیوتیک، به‌طور معنی‌دار کاهش داشت، درحالی که میزان گلوکز پلاسمای افزایش معنی‌داری را نشان داد. این تحقیقات تأثیر پروبیوتیک‌ها در تراکم ماهیان در محیط پرورشی با احتمال بیشتری به اثبات می‌رساند. یافته‌های بالا همسو با نتایج مطالعه حاضر بود. همچنین در همین راستا، Kamal و Omar (۲۰۱۱) دریافتند که تراکم‌های ۳، ۶ و ۹ قطعه (با وزن متوسط ۱/۲ گرم) ماهی کیپور نقره‌ای (*Hypophthalmichthys molitrix*)

جم‌لمه (*Megalobrama amblycephala*) (Qi et al. 2016)، تاسماهی‌آمور (Ni et al. 2016)، توربوت (*Scophthalmus maximus*) (Qun et al. 2016) و *Chelon labrosus*<sup>2</sup> (al. 2016) گزارش شده است. در مقابل، افزایش تراکم تأثیرات مثبتی روی رشد شوریده ماهیانی<sup>۳</sup> مانند *Argyrosomus japonicus* و *A. regius* داشت (Pirozzi et al. 2009; Millán-Cubillo et al. 2011). عدم تأثیرپذیری شاخص‌های رشد و پاسخ‌های فیزیولوژیک در تراکم‌های مختلف در تعدادی از گونه‌ها مثل کفشک، فیل ماهی، کیپور معمولی و تاسماهی هیبرید (*Huso huso* ♂ × *Acipenser ruthenus* ♀) نیز گزارش شده است (Andrade et al. 2015; Andrei et al. 2016).

استرس افزایش تراکم باعث تغییرات فیزیولوژیک مختلفی از جمله تغییر در سوخت و ساز خون می‌شود (Qun et al. 2014). ثابت شده است که کورتیزول با القای تأثیرات منفی روی هورمون‌های آنابولیک و جلوگیری از سنتز پروتئین و کاتابولیسم آن‌ها باعث کاهش رشد ماهی می‌شود (Rastgar et al. 2015). تعدیل دستگاه ایمنی، یکی از مهم‌ترین تأثیراتی است که به پروبیوتیک‌ها نسبت داده می‌شود (Nayak, 2010).

یافته‌های علمی نشان می‌دهد که در یک روند عمومی، با افزایش تراکم ماهیان پرورشی، میزان کورتیزول و قند خون در پلاسمای افزایش می‌یابد (Kamal and Omar, 2011). در تحقیق حاضر نیز این روند افزایشی در سطوح قند خون مشاهده شد، درحالی که افزایش میزان هورمون کورتیزول در تیمارهای با تراکم بالاتر کاهش داشت، به طوری که در T60 و T75 کمینه سطح این هورمون سنجش شد. تحقیقات علمی نشان می‌دهد که در شرایط استرس، میزان سطوح قند پلاسمای خون و هورمون کورتیزول به‌طور هم‌زمان روند صعودی پیدا کرده و افزایش می‌یابند (Palikova et al. 2010). در تأثیرپذیری از پروبیوتیک‌ها، عموماً میزان قند خون همانند دیگر

<sup>3</sup> Sciaenidae<sup>1</sup> Blunt snout bream<sup>2</sup> Thick-lipped grey mullet



مطالعات مربوط به تأثیر تراکم بر ماهیان به‌عنوان شاخص‌های استرس مطالعه شده‌اند. در مطالعه حاضر، با افزایش تراکم، میزان آنزیم AST کاهش یافت، در حالی که سطوح آنزیم‌های ALT و ALP افزایش نشان داد. نتایج مشابهی توسط Firat و Kargin (۲۰۱۰) به‌دست آمد که درباره افزایش زی‌توده پرورشی ماهی تیلاپیی نیل مطالعه کردند، به طوری که با افزایش زی‌توده، مقادیر آنزیم ALT افزایش یافت. در تایید این یافته، Palikova و همکاران (۲۰۱۰) گزارش کردند که افزایش مقادیر آنزیم‌های کبدی مانند آلکالین فسفاتاز، نشان‌دهنده ترشح ناقص صفرا، به لحاظ پایین بودن غذای خورده شده است که ممکن است با بالا بودن استرس در ماهی ارتباط داشته باشد و افزایش زی‌توده را می‌توان یکی از عوامل استرس‌زا قلمداد کرد. در همین زمینه، یافته‌های علمی Kamal و Omar (۲۰۱۱) درباره ماهی کپور نقره‌ای با تراکم‌های ۳، ۶ و ۹ قطعه در مترمکعب نشان داد که آنزیم‌های مورد اشاره در تراکم‌های بالاتر، افزایش معنی‌داری نشان می‌دهند. همچنین جعفریان و همکاران (۱۳۹۵) گزارش کردند که میزان AST در تیمارهای فیل‌ماهیان پرورشی جوان با زی‌توده ۱۲۵۰، ۲۵۰۰ و ۵۰۰۰ گرم در مترمکعب روند کاهشی، ولی در زی‌توده ۳۷۵۰ گرم در مترمکعب روند افزایشی نشان می‌دهند. این در حالی بود که دو آنزیم کبدی دیگر (ALT و ALP) با افزایش تراکم روند افزایشی داشتند. این یافته‌ها نشان می‌دهد که افزایش تراکم، نقش مهمی در افزایش این آنزیم‌ها ایفا می‌کند. به‌رحال، در مطالعه حاضر، باسیلوس‌های پروبیوتیکی نقش مؤثری در کاهش میزان AST در نوزادان ماهی قزل‌آلا داشتند و همچنین، دو آنزیم کبدی دیگر نیز با تأثیر باسیلوس‌ها روند افزایشی کمتری نشان دادند. در نتیجه‌گیری کلی، استفاده از  $10^8$  CFU/100 g  $\times$  ۱ مخلوط باسیلوس‌های پروبیوتیکی در جیره غذایی نوزادان قزل‌آلای رنگین‌کمان با تراکم ۶۰ قطعه در ۱۰ لیتر تأثیرات مثبت بیشتری روی شاخص‌های وزن نهایی و ضریب تبدیل غذایی این گونه داشت، اما تأثیر آن‌ها روی شاخص‌های بیوشیمیایی سرم خون نتایج متفاوتی را به همراه داشت. به نظر می‌رسد که

در هر مترمکعب، تأثیر مثبتی بر میزان افزایش سطوح گلوکز، پروتئین و آلبومین پلاسمای خون این ماهی دارد، به طوری که میزان گلوکز خون از mg/dL ۷۲/۹۰ (در تیمار ۳ قطعه در مترمکعب) به mg/dL ۱۰۲/۳۳ (تیمار ۹ قطعه در مترمکعب) ارتقا یافت. حسنعلی پور و همکاران (۱۳۹۱) در مطالعه‌ای دیگر درباره تغییرات شاخص کورتیزول خون تاس‌ماهی سبیری (*Acipenser baerii*) در تراکم‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ قطعه ماهی در هر مترمکعب دریافتند که میزان سطوح این هورمون در خون این ماهی در تراکم‌های پرورشی مختلف، متفاوت است و با افزایش تراکم از ng/mL ۲۴ (۷/۷۶ ng/mL) به ۴۸ قطعه (۱۲/۹۴) افزایش می‌یابد. این در حالی است که بین تیمارهای ۴۸ و ۷۲ قطعه (۱۰/۷۶ ng/mL) در هر مترمکعب اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. در مطالعه حاضر نیز سطح کورتیزول پلاسمای خون در تراکم ۳۰ افزایش داشت، در حالی که در تراکم‌های ۴۵، ۶۰ و ۷۵ به تدریج کاهش نشان داد. این یافته‌ها نشان می‌دهد که واکنش گونه‌های مختلف ماهیان پرورشی نسبت به سطوح مختلف تراکم متفاوت است و تا حد زیاد به گونه ماهی و میزان تراکم بستگی دارد (Valera et al. 2010).

در همین زمینه، Cordero و همکاران (۲۰۱۶) گزارش کردند که میزان استرس در ماهیان سیم سر طلایی که از جیره‌های حاوی پروبیوتیک Pdp11 تغذیه کرده بودند، در تراکم‌های بالا کاهش یافت. تأثیر استفاده از پروبیوتیک *Lactobacillus rhamnosus* در پاسخ به افزایش تراکم در ماهی تیلاپیی نیل (*Oreochromis niloticus*) نشان داد که پروبیوتیک‌ها باعث افزایش انرژی قابل‌دسترس برای حمایت از سوخت و ساز در پاسخ به افزایش تراکم می‌شوند و ظرفیت ماهی برای مقابله با استرس را بهبود می‌دهند (Goncalves et al. 2011). در تحقیقی دیگر، استفاده از پروبیوتیک *S. putrefaciens* باعث بهبود استرس در ماهی سیم سر طلایی در تراکم‌های بالا شد (Varela et al. 2010).

آنزیم‌های کبدی از جمله شاخص‌های بیوشیمیایی مهم پلاسمای خون ماهیان هستند که در بیشتر

جعفریان، س.، جعفریان، ح.، مختومی، ن. ۱۳۹۵. مطالعه شاخص‌های بیوشیمیایی خون فیل ماهیان جوان پرورشی با بیوماس‌های مختلف ذخیره‌سازی. مجله علوم آبی‌پروری ۴: ۴۸-۶۱. مهرابی، ی. ۱۳۷۷. مطالعه مقدماتی اثر بیهوشی پودر گل درخت میخک (*Syzygium aromaticum*) بر روی ماهی قزل‌آلی رنگین‌کمان. مجله پژوهش و سازندگی ۴۲: ۱۶۲-۱۶۰.

مطالعات گستره‌تر در زمینه مکانیسم‌های تأثیرگذاری پروبیوتیک‌های باسیلی، به‌عنوان عوامل زیستی ضد استرس در هنگام به‌کارگیری تراکم‌های مختلف ماهیان پرورشی، می‌تواند یافته‌های علمی ارزشمندی را به همراه داشته باشد و بر مبنای نتایج به‌دست آمده، راهبردهای بهتری برای اضافه کردن این پروبیوتیک-ها به جیره غذایی (قبل و یا در حین شرایط استرس) به‌منظور بهینه‌سازی جیره غذایی پیشنهاد شود.

#### منابع

- Ahilan, B., Shine, G., Santhanam, R. 2004. Influence of probiotics on the growth and gut microflora load of juvenile Gold fish (*Carassius auratus*). Asian Fisheries Science 17: 271-278.
- Andrade, T., Afonso, A., Pérez-Jiménez, A., Oliva-Teles, A., de las Heras, V., Mancera, J.M., Serradeiro, R., Costas, B. 2015. Evaluation of different stocking densities in a Senegalese sole (*Solea senegalensis*) farm: Implications for growth, humoral immune parameters and oxidative status. Aquaculture 438: 6-11.
- AOAC. 1990. Official Methods of Analysis of Official analytical Chemists (AOAC). Vol.1, 15th ed. Assoc. Official Analytical Chemists, Washington DC, 1963 p.
- Borges, A., Scotti, L.V., Siqueira, D.R., Jurinitz, D.F. and Wassermann, G.F. 2004. Hematologic and serum biochemical values for jundia (*Rhamdia quelen*). Fish Physiology and Biochemistry 30: 21-25.
- Chakraborty, S.B., Banerjee, S. 2010. Effect of stocking density on mono sex Nile tilapia growth during pond culture in India. World Academy of Science, Engineering and Technology 44: 1521-1534.
- Chebanov, M., Billard, R. 2001. The culture of sturgeons in Russia: production of juveniles for stocking and meat for human consumption. Aquatic Living Resources 14: 375-381.
- Cordero, H., Morcillo, P., Meseguer, J., Cuesta, A., Esteban, M.A. 2016. Effects of *Shewanella putrefaciens* on innate immunity and cytokine expression profile upon high stocking density of gilthead seabream specimens. Fish and Shellfish Immunology 51: 33-40.
- Deane, E.E., Woo, N. 2003. Ontogeny of thyroid hormones, cortisol, hsp70 and hsp90 during silver sea bream larval development. Life science 72: 805-818.
- De las Heras, V., Martos-Sitcha, J.A., Yúfera, M., Mancera, J., Martínez-Rodríguez, G. 2015. Influence of stocking density on growth, metabolism and stress of thick lipped grey mullet (*Chelon labrosus*) juveniles. Aquaculture 448: 29-37.
- De Silva, S.S., Anderson, T.A. 1994. Fish nutrition in aquaculture (Vol. 1). Springer Science and Business Media, 320 p.
- Ellis, T., North, B., Scott, A.P., Bromage, N.R., Porter, M., Gadd, D. 2002. The relationships between stocking density and welfare in farmed rainbow trout. Journal of Fish Biology 61: 493-531.
- European Commission, 2004. Farmed fish and welfare. European Commission, Directorate-General for Fisheries. - Research and



- Scientific Analysis Unit (A4). Brussels, Belgium.
- FAO. 1995. Review of the State of World Fishery Resources: Aquaculture. FAO Fisheries Circular No. 886. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.
- FAO. 2018. The State of World Fisheries and Aquaculture 2018-Meeting the sustainable development goals. Rome. License: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
- Firat, O., Kargin, F. 2010. Individual and combined effects of heavy metals on serum biochemistry of Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. Archives of Environmental Contamination and Toxicology 58: 151-157.
- Ghosh, K., Sen, S.K. Ray, A.K. 2004. Growth and survival of rohu, *Labeo rohita* (Hamilton, 1822) spawn feed diets fermented with intestine bacterium, *Bacillus circulans*. Acta Ichthyologica et Piscatoria 34:155-165.
- Girri, S.S., Shoo, S.K., Sahu, B.B., Sahu, A.K., Mohanty, S.N., Mohanty, P.K., Ayyappan, S. 2002. Larval survival and growth in *Walago att* (Bloch and Schneider): effects of light, photoperiod and feeding regimes. Aquaculture 213: 157-161.
- Gomes, L.C., Brinn, R.P., Marcon, J.L., Dantas, L.A., Brandao, F.R., Abreu J.S., Lemos, P.E.M., McComb, D.M., Baldisserotto, B. 2008. Live microbial feed supplement in aquaculture for improvement of stress tolerance. Fish Physiology and Biochemistry 32: 167-177.
- Gomez-Gil, B., Herrera-Vega, M. A., Abreu-Grobois, F. A., Roque, A. 1998. Bioencapsulation of Two Different *Vibrio* Species in Nauplii of the Brine Shrimp (*Artemia franciscana*). Applied and Environmental Microbiology 64: 2318-2322.
- Gonçalves, A.T., Maita, M., Futami, K., Endo, M., Katagiri, T. 2011. Effects of a probiotic bacterial *Lactobacillus rhamnosus* dietary supplement on the crowding stress response of juvenile Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. Fisheries Science 77: 633-642.
- Hasanalipour, A., Eagderi, S., Poorbagher, H., Bahmani, M. 2013. Effects of stocking density on blood cortisol, glucose and cholesterol levels of immature Siberian sturgeon (*Acipenser baerii* Brandt, 1869). Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 13: 27-32.
- Hastein, T. 2004. Animal welfare issues relating to aquaculture. In Global conference on animal welfare: an OIE initiative, p. 219.
- IFO. 2018. Office of Planning, Budget and Statistic. Statistical year book of IFO 2016, online at <http://fisheries.ir/portal/Home/ShowPage.aspx?Object>.
- Kamal, S.M. and Omar, W.A. 2011. Effect of different stocking densities on hematological and biochemical parameters of silver carp, *Hypophthalmichthys molitrix* fingerlings. Life Science Journal 8: 580-586.
- Liu, K., Chang, W. 1992. Bioenergetic modeling of effect of fertilization, stocking density and spawning on growth of the Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). Aquaculture Research 23: 291-301.
- Matteo, A., Avella, A., Giorgia, G., Olivier, D., Pavlos, B., Makridis, C., Claudia, B., Oliana, A., Carnevali, A. 2010. Application of multispecies of *Bacillus* in sea bream larviculture. Aquaculture 305: 12-19.
- Meade, T.L. 1978. Environmental parameters affecting fish physiology in water reuse systems. Marine Fisheries Review 40: 45-47.

- Millán-Cubillo, A.F., Martos-Sitcha, J.A., Ruiz-Jarabo, I., Cárdenas, S., Mancera, J. M. 2016. Low stocking density negatively affects growth, metabolism and stress pathways in juvenile specimens of meagre (*Argyrosomus regius*, Asso 1801). *Aquaculture* 451: 87-92.
- Montero, D., Izquierdo, M. S., Tort, L., Robaina, L., Vergara, J.M. 1999. High stocking density produces crowding stress altering some physiological and biochemical parameters in gilthead seabream, *Sparus aurata*, juveniles. *Fish Physiology and Biochemistry* 20: 53-60.
- Nayak, S.K. 2010. Probiotics and immunity: a fish perspective. *Fish and Shellfish Immunology* 29: 2-14.
- Ni, M., Wen, H., Li, J., Chi, M., Bu, Y., Ren, Y., Zhang, M., Song, Z., Ding, H. 2016. Effects of stocking density on mortality, growth and physiology of juvenile Amur sturgeon (*Acipenser schrenckii*). *Aquaculture Research* 47: 1596-1604.
- North, B.P., Turnbull, J.F., Ellis, T., Porter, M.J., Migaud, H., Bron, J., Bromage, N.R. 2006. The impact of stocking density on the welfare of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 255: 466-479.
- Palikova, M.; Kopp, R.; Mares, J., Navratil, S., Kubicek, Z., Chmelar, L., Bandouchova, H. and Pikula, J. (2010). Selected haematological and biochemical indices of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) reared in the environment with cyanobacterial water bloom. *Acta Veterinaria Brno* 79: 63-71.
- Pirozzi, I., Booth, M., Pankhurst, P. 2009. The effect of stocking density and repeated handling on the growth of juvenile mullet, *Argyrosomus japonicus* (Temminck and Schlegel 1843). *Aquaculture Research* 17: 199-205.
- Qi, C., Xie, C., Tang, R., Qin, X., Wang, D., Li, D. 2016. Effect of stocking density on growth, physiological responses, and body composition of juvenile blunt snout bream, *Megalobrama amblycephala*. *Journal of the World Aquaculture Society* 47: 358-368.
- Rastgar, S., Abdolali Movahedinia, A., Yarahmadi, Z. 2015. Effects of Benzo- $\alpha$ -Pyren exposure stress on the gill histology and plasma levels of cortisol in Yellowfin Seabream, *Acanthopagrus latus*. *Journal of Animal Research* 28: 161-169.
- Rengpipat, S., Phianphak, W., Piyatiratitvorakul, S., Menasveta, P. 1998. Effect of probiotic bacterium on black tiger shrimp *Penaeus monodon* survival and growth. *Aquaculture* 167: 301-313.
- Rollo A., Sulpizi 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: 167-177.
- Tapia-Paniagua, S.T., Vidal, S., Lobo, C., Prieto-Alamo, M.J., Jurado, J., Cordero, H., Cerezuela, L., García de la Banda, I., Esteban, M.A., Balebona, M.A., Morinigo, M.A. 2014. The treatment with the probiotic *Shewanella putrefaciens* Pdp11 of specimens of *Solea senegalensis* exposed to high stocking densities to enhance their resistance to disease. *Fish and Shellfish Immunology* 41: 209-221.
- Trenzado, C. E., Morales, A. E., de la Higuera, M. 2006. Physiological effects of crowding in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, selected for low and high stress responsiveness. *Aquaculture* 258: 583-593.
- Varela, J.L., Ruiz-Jarabo, I., Vargas-Chacoff, L., Arijó, S., León-Rubio, J.M., García-Millán, I., Martín del Río, M.P., Moriñigo, M.A.,

- Mancera, J.M. 2010. Dietary administration of probiotic Pdp11 promotes growth and improves stress tolerance to high stocking density in gilthead seabream *Sparus auratus*. *Aquaculture* 309: 265-271.
- Vijayan, M.M., Leatherland, J.F. 1988. Effect of stocking density on the growth and stress-response in brook charr, *Salvelinus fontinalis*. *Aquaculture* 75: 159-170.
- Vijayan, M.M., Ballantyne, J.S., Leatherland, J.F. 1990. High stocking density alters the energy metabolism of brook charr, *Salvelinus fontinalis*. *Aquaculture* 88: 371-381.
- Webster, C.D., Lim, C. 2002. Nutrient requirements and feeding of finfish for aquaculture. CABI Publishing, Wallingford, 418 p.
- Wedemeyer, G.A. 1981. The physiological response of fishes to the stress of intensive aquaculture in recirculation systems. World symposium on aquaculture in heated effluents and recirculation systems 3-18.

## Impacts of *Bacillus* sp. probiotics on the growth and serum biochemical indices of rainbow trout larvae in different stocking densities

Samieh Katooky<sup>1\*</sup>, Hojatollah Jafaryan<sup>1</sup>, Hosna Gholiporkanani<sup>1</sup>, Poneh Ebrahimi<sup>2</sup>

1- Fisheries Department, Faculty of Natural Resources, Gonbad-e Kavous University, Gonbad-e Kavous, Golestan, Iran

2- Department of Chemistry, Faculty of Sciences, Golestan University, Gorgan, Golestan, Iran

Received 30 April 2019; accepted 06 October 2019

### Abstract

In the present study, the effects of dietary supplemented feed with a mixture of probiotic *Bacillus* sp. ( $1 \times 10^8$  CFU/100 g) were investigated on the growth performance and serum biochemical indices of *Oncorhynchus mykiss* larvae ( $0.23 \pm 0.08$  g) in different stocking densities. The experiment was conducted to a completely randomized design with four treatments and a control group with three replicates. The treatments based on the levels of stocking densities were 30, 45, 60 and 75 larvae (T<sub>30</sub>, T<sub>45</sub>, T<sub>60</sub> and T<sub>75</sub>) in 10-L tanks. The stocking density of control group was 30 fish per 10-L tank (C<sub>10</sub>). The feeding period was 45 days. The highest final weight ( $3.06 \pm 1.16$  g) and the lowest FCR ( $1.01 \pm 0.39$ ) were observed in T<sub>60</sub> ( $p < 0.05$ ). The SGR was significantly reduced in all experimental treatments compared to the control group ( $p < 0.05$ ). The highest total protein ( $9.70 \pm 2.10$  mg dL<sup>-1</sup>) and cortisol ( $84.50 \pm 2.50$  mg dL<sup>-1</sup>), and the lowest albumin ( $9.85 \pm 1.05$  mg dL<sup>-1</sup>) was measured in T<sub>30</sub> ( $p < 0.05$ ). The highest glucose level ( $139.50 \pm 4.50$  mg dL<sup>-1</sup>) was measured in T<sub>60</sub> ( $p < 0.05$ ). Adding probiotics to the diet of rainbow trout larvae led to significantly reduced AST as well as increased ALT and ALP activities in the experimental treatments compared to control group ( $p < 0.05$ ). In conclusion, the results of this study showed that Bacilli probiotics are capable of enhancing growth rate and also serum biochemical indices in rainbow trout larvae. These findings may support the potential application of this probiotic as a practical supplementation in the diet of fish.

**Keywords:** Rainbow trout, Larvae, Stocking density, Growth, Blood serum

Corresponding author: katooky.s68@gmail.com