



اثر پروبیوتیک بر عملکرد رشد و شاخص‌های خونی مولدین ماده قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

عرفان اکبری نرگسی^۱، بهرام فلاحتکار^{۱*}، میر مسعود سجادی^۱

^۱ گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه‌سرا، گیلان

^۲ گروه علوم دریایی، پژوهشکده حوضه آبی خزر، دانشگاه گیلان، رشت، گیلان

نوع مقاله:	چکیده
پژوهشی	آزمایش حاضر به منظور تعیین اثر پروبیوتیک بر پارامترهای رشد و شاخص‌های خونی مولدین ماده قزل‌آلای رنگین‌کمان (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) انجام شد. بدین منظور مولدین با میانگین وزن اولیه ۵۴/۸۶ ± ۲۲۶۷/۴۱ گرم (میانگین ± خطای استاندارد) به مدت ۸ هفته با جیره‌های حاوی صفر (شاهد)، ۰/۵، ۱ و ۲ گرم در کیلوگرم پروبیوتیک بیوآکوا تغذیه شدند. پارامترهای رشد و شاخص‌های خونی در پایان دوره مورد ارزیابی قرار گرفتند. با توجه به نتایج، در میانگین وزن نهایی اختلاف معنی‌داری بین تیمار ۲ گرم در کیلوگرم جیره و تیمار شاهد مشاهده شد ($P < 0/05$). همچنین نرخ رشد ویژه و درصد افزایش وزن بدن تیمار ۲ گرم در کیلوگرم جیره تفاوت معنی‌داری با تیمار ۰/۵ گرم در کیلوگرم جیره و شاهد نشان داد ($P < 0/05$). اختلاف معنی‌داری در ضریب تبدیل غذایی بین تیمار ۲ گرم در کیلوگرم جیره و سایر تیمارها مشاهده گردید ($P < 0/05$). اختلاف معنی‌داری در فاکتور وضعیت بین تیمارها دیده نشد ($P > 0/05$). همچنین در شاخص‌های خونی اختلاف معنی‌داری در بین تیمارها مشاهده نشد ($P > 0/05$). نتایج حاصل از پژوهش حاضر بیانگر قابلیت تأثیرگذاری مناسب پروبیوتیک بیوآکوا بر پارامترهای رشد مولدین قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌باشد. بر همین اساس میزان ۲ گرم به ازای هر کیلوگرم جیره مناسب‌ترین مقدار پیشنهادی برای استفاده در جیره غذایی مولدین ماده قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌باشد.
تاریخچه مقاله: دریافت: ۹۶/۰۲/۰۴ اصلاح: ۹۶/۰۳/۱۵ پذیرش: ۹۶/۰۴/۱۶	
کلمات کلیدی: آزادماهیان باکتری زیست‌یار بیوآکوا تغذیه خون‌شناسی	

مقدمه

تغذیه یکی از جنبه‌های مهم تولید موفق آبزبان است که قسمت اعظم هزینه پرورش را در برمی‌گیرد (Francis *et al.*, 2001). از این رو استفاده از جیره مناسب در امر پرورش به منظور بهبود شاخص‌های رشد و افزایش کارایی تغذیه از اهمیت قابل ملاحظه‌ای برخوردار است. امروزه انواع مختلفی از افزودنی‌های غذایی به منظور دستیابی به بیشترین میزان رشد، افزایش سطح ایمنی و مقاومت آبزبان در شرایط پرورشی مورد استفاده قرار می‌گیرند که از آن جمله می‌توان به هورمون‌ها، انواع مواد مغذی و آنتی‌بیوتیک‌ها برای تغذیه انواع آبزبان اشاره کرد، اما از محدودیت‌های اصلی استفاده از این مواد افزایش خطر سرکوب فعالیت‌های میکروبی مفید دستگاه گوارش است (Ghosh *et al.*, 2007). از این رو آبزبان به راحتی از طریق عوامل بیماری‌زای

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: falahatkar@guilan.ac.ir

فرصت طلب مستعد بیماری می‌شوند. استفاده بی‌رویه از آنتی‌بیوتیک‌ها برای بهبود سلامت ماهی‌ها نیز موجب ایجاد مقاومت دارویی در باکتری‌ها و سمیت و تجمع در ماهی و محیط‌زیست شده است (Ghosh *et al.*, 2008). با توجه به این موارد به نظر می‌رسد پروبیوتیک‌ها می‌توانند جایگزین مناسبی برای رفع این نواقص باشند.

پروبیوتیک‌ها نوعی مکمل غذایی دارای موجودات زنده میکروسکوپی هستند که با متعادل کردن فلور میکروبی روده به نفع سلامت میزبان عمل می‌کنند (Fuller, 1989; Nayak, 2010). اثرات پروبیوتیک‌ها به صورت حذف رقابتی بروز کرده (Ozawa *et al.*, 1979) که باعث استقرار در دستگاه گوارش، تحریک سیستم ایمنی (Inooka *et al.*, 1986)، افزایش تولید لاکتیک اسید (Fuller, 1977)، کاهش تولید آمین‌های سمی و افزایش دسترسی به اسیدهای آمینه در محل جذب آن‌ها (Dias *et al.*, 2012)، صرفه‌جویی انرژی و افزایش دسترسی به ویتامین‌ها و آنزیم‌ها برای میزبان می‌شوند (Fuller, 1989). بنابراین پروبیوتیک‌ها می‌توانند موجب بازسازی و تقویت فلور میکروبی روده در دستگاه گوارش شده و همچنین از طریق افزایش دسترسی به مواد معدنی، ویتامین‌ها و آنزیم‌های گوارشی باعث بهبود فاکتورهای رشد آبزیان شوند (Ghosh *et al.*, 2008).

آزادماهیان یکی از مهم‌ترین خانواده‌های ماهیان پرورشی در سراسر جهان می‌باشند که پرورش آن‌ها در کشورهای مختلف در حال انجام است (Lee and Donaldson, 2001). ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در این خانواده به علت تکثیر و پرورش آسان، سرعت رشد بالا، قابلیت تغذیه اولیه با غذای فرموله شده، کیفیت بالای گوشت و تحمل طیف وسیعی از متغیرهای زیست‌محیطی (مانند درجه حرارت و کیفیت آب) از اهمیت و ارزش زیادی برخوردار می‌باشد (Webster and Lim, 2002).

در مطالعات مختلف به اثرات پروبیوتیک در تغذیه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان پرداخته شده است (Jafari Khorshidi *et al.*, 2013; Ramos *et al.*, 2013; Merrifield *et al.*, 2010, 2011). همکاران (۲۰۱۱) اثرات استفاده از پروبیوتیک‌های بیستچر (Yeasture) و بلوگاتکس (Blugatex) در جیره غذایی را بر شاخص‌های رشد و بازماندگی آلوین قزل‌آلای رنگین‌کمان بررسی نمودند و مناسب‌ترین نتایج را در تیمار تغذیه شده با پروبیوتیک بلوگاتکس با نسبت $10^9 \times 9$ کلونی در هر گرم جیره گزارش نمودند. Merrifield و همکاران (۲۰۱۰) نیز اثرات استفاده از رژیم غذایی حاوی پروبیوتیک را بر روی عملکرد رشد، کارایی غذا و جمعیت باکتریایی روده در بچه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بررسی کردند و بهترین نتایج را در تیمار تغذیه شده با باکتری‌های *Bacillus subtilis*، *Bacillus licheniformis* و *Enterococcus faecium* به دست آوردند.

امروزه ترکیبات پروبیوتیکی مختلفی در صنعت تغذیه آبزیان مورد استفاده قرار می‌گیرند که یکی از انواع پروبیوتیک‌های موجود، پروبیوتیک بیواکوا است. این مجموعه از پروبیوتیک (Multi-strain Probiotic) از ۸ گونه باکتری و ۱ گونه مخمر تشکیل شده است. این موارد شامل سویه‌های باکتریایی *Bacillus subtilis*، *Bacillus licheniformis*، *Enterococcus faecium*، *Pediococcus acidilactici*، *Lactobacillus rhamnosus*، *Lactobacillus casei*، *Lactobacillus plantarum*، *Lactobacillus acidophilus*، *subtilis* و مخمر *Saccharomyces cerevisiae* می‌باشد.

اصلاح فرمولاسیون جیره موجب بهبود شاخص‌های فیزیولوژیک آبزیان می‌شود که این امر علاوه بر پارامترهای رشد از طریق شاخص‌های خونی قابل ردیابی می‌باشد (Nayak *et al.*, 2007). در مطالعات مختلف نیز توانایی اثرگذاری پروبیوتیک‌ها بر شاخص‌های خونی از طریق رژیم غذایی به اثبات رسیده است (Irianto and Austin, 2002a; Brunt and Austin, 2005). در همین راستا بررسی شاخص‌های خونی در مطالعات مربوط به پروبیوتیک‌ها می‌تواند گزینه مناسبی برای تعیین میزان اثرگذاری پروبیوتیک‌ها بر وضعیت فیزیولوژیک آبزیان باشد. تکامل غدد جنسی نیز توسط برخی از مواد مغذی موجود در رژیم غذایی تحت تأثیر قرار می‌گیرد و این امر به‌خصوص در مولدینی حائز اهمیت است که دارای دوره زرده‌سازی کوتاه‌مدت می‌باشند. در خانواده آزادماهیان که فرآیند زرده‌سازی در آن‌ها تا ۶ ماه به طول می‌انجامد، تغذیه مناسب مولدین چند ماه قبل از فصل تخم‌ریزی با غذای دارای کیفیت مناسب منجر به بهبود عملکرد تولیدمثلی می‌شود (Izquierdo *et al.*, 2001). با این حال مطالعات انجام شده در زمینه تغذیه مولدین بسیار محدود بوده که می‌توان علت این امر را به دشوار بودن دسترسی به مولدین

و هزینه‌بر بودن این پژوهش‌ها نسبت داد. بر همین اساس به علت کمبود مطالعه در بحث تغذیه مولدین و با توجه به اهمیت ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، این مطالعه با هدف بررسی اثر مجموعه پروبیوتیکی بیواکوا بر پارامترهای رشد و شاخص‌های خون‌شناختی مولدین ماده قزل‌آلای رنگین‌کمان انجام شد.

مواد و روش‌ها

ماهی و شرایط پرورش

مطالعه حاضر از مهرماه تا آذرماه سال ۱۳۹۵ به مدت ۸ هفته در استخر درناب واقع در روستای قلعه رودخان (گیلان، ایران) انجام گرفت. در این مطالعه به منظور تعیین اثر پروبیوتیک بیواکوا بر شاخص‌های رشد و پارامترهای خونی مولدین ماده قزل‌آلای رنگین‌کمان از ۶۰ مولد ماده با میانگین وزن $54/86 \pm 2267/41$ گرم (میانگین \pm خطای استاندارد) استفاده شد. برای انجام آزمایش ۴ تیمار با ۳ تکرار در نظر گرفته شد. در هر تکرار از ۵ ماهی مولد استفاده شد. ۴ تیمار در نظر گرفته شده برای آزمایش در یک حوضچه مستطیلی با طول ۳۲ متر و عرض ۴ متر که به ۲ قسمت عرضی و ۶ قسمت طولی تقسیم شده بود قرار گرفتند. طول و عرض هر قسمت به ترتیب ۴ و ۲ متر و همچنین ارتفاع آب درون حوضچه‌ها ۵۰ سانتی‌متر و حجم آب درون هر بخش ۴ متر مکعب بود. تقسیم بندی‌ها به وسیله چارچوب‌های چوبی دارای توری چشمه ریز به گونه‌ای انجام گرفت که غذا از چشمه‌ها عبور نکند. حوضچه مورد استفاده دارای دو ورودی آب بود. میزان دبی کل $10/56 \pm 0/16$ لیتر بر ثانیه بود. شست و شوی حوضچه‌ها از فضولات و رسوبات هفته‌ای یک‌بار انجام می‌گرفت.

طراحی آزمایش

در تیمار اول از غذای فاقد پروبیوتیک برای تغذیه مولدین استفاده شد (تیمار شاهد). در تیمار دوم، سوم و چهارم به ترتیب از غذای دارای ۰/۵، ۱ و ۲ گرم در کیلوگرم پروبیوتیک بیواکوا (Bio-Aqua, Tehran, Iran) برای تغذیه مولدین استفاده شد. تعداد کل باکتری‌های موجود در پروبیوتیک مورد استفاده $10^9 \times 2$ کلونی در هر گرم بود. غذادهی برحسب اشتها و دو بار در روز (Rinchar et al., 2003) در ساعات ۸:۰۰ صبح و ۴:۰۰ بعدازظهر انجام گرفت. غذای BFT شرکت فرادانه (Faradaneh, Shahre Kord, Iran) برای انجام غذادهی مورد استفاده قرار گرفت. آنالیز تقریبی جیره مورد استفاده در آزمایش در جدول ۱ نشان داده شده است. برای آماده‌سازی جیره‌ها ابتدا پروبیوتیک در آب مقطر کاملاً حل شده و سپس بر روی غذاها اسپری گردید. به ازای هر کیلوگرم غذا از ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر استفاده شد. برای تیمار شاهد فقط از آب مقطر استفاده گردید. خشک کردن جیره‌ها به مدت ۱۲ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد انجام گرفت (Panigrahi et al., 2004). کلیه جیره‌های آماده شده قبل از استفاده با روغن گیاهی (Etka Organization, Tehran, Iran) به میزان ۵ میلی‌لیتر به ازای هر کیلوگرم غذا پوشش‌دار شدند (Hosseini et al., 2014). دما دو بار در روز قبل از هر وعده غذادهی اندازه‌گیری شد. میانگین دما در طول دوره $11/2 \pm 0/34$ درجه سانتی‌گراد بود. میزان اکسیژن محلول آب در طی دوره ۹-۱۱ میلی‌گرم در لیتر و همچنین میانگین pH برابر $7/01 \pm 0/01$ بود.

جدول ۱. آنالیز تقریبی جیره مورد استفاده در آزمایش حاضر

آنالیز شیمیایی	درصد در وزن خشک
ماده خشک	۸۹
پروتئین خام	۳۸
چربی خام	۱۵
خاکستر	۱۰
فیبر خام	۳/۵
فسفر	۱

شاخص‌های رشد

به منظور بررسی اثر پروبیوتیک بر شاخص‌های رشد در انتهای دوره (پایان ۸ هفته) تمامی ماهی‌ها زیست‌سنجی شدند. قبل از انجام زیست‌سنجی ماهی‌ها با غوطه‌وری در پودر گل میخک با غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در هر لیتر آب بی‌هوش شدند (Mehrabi, 2002). لازم به ذکر است ۲۴ ساعت قبل از انجام زیست‌سنجی غذادهی قطع شد. ابتدا طول و وزن مولدین اندازه‌گیری شده و سپس فاکتورهای افزایش وزن بدن (BWI)، نرخ رشد ویژه (SGR)، ضریب تبدیل غذایی (FCR) و فاکتور وضعیت (CF) در هر یک از تیمارها به‌وسیله فرمول‌های زیر محاسبه شد (Austreng, 1978; De Silva and Anderson, 1994; Turchini et al., 2003; Bekcan et al., 2006; Huang et al., 2008):

$$100 / \text{وزن ابتدایی} \times (\text{وزن ابتدایی} - \text{وزن انتهایی}) = (\text{درصد افزایش وزن بدن})$$

$$100 / \text{تعداد روزهای آزمایش} \times (\text{لگاریتم وزن ابتدایی} - \text{لگاریتم وزن انتهایی}) = (\text{نرخ رشد ویژه})$$

$$\text{وزن به دست آمده} / \text{میزان غذایی مصرف شده} = \text{ضریب تبدیل غذایی}$$

$$100 \times (\text{طول} / \text{وزن}) = \text{فاکتور وضعیت}$$

خون‌گیری و تعیین پارامترهای خونی

در انتهای دوره غذادهی از هر تکرار ۲ مولد به طور تصادفی انتخاب (۶ مولد به ازای هر تیمار) و از هر یک به میزان ۲ میلی‌لیتر خون گرفته شد. قبل از خون‌گیری، ماهی‌ها با غوطه‌وری در عصاره پودر گل میخک با غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در هر لیتر آب بی‌هوش شدند (Mehrabi, 2002). خون‌گیری از سیاهرگ ساقه دم به‌وسیله سرنگ هیپارینه ۵ میلی‌لیتری انجام گرفت. نمونه‌های خون گرفته شده در میکروتیوپ‌های حاوی ماده ضد انعقاد (هیپارین) قرار گرفت و بلافاصله به یخچال منتقل گردید.

به منظور تعیین هماتوکریت پس از پر کردن سه چهارم لوله موئین هیپارینه از خون، نمونه‌ها در سانتریفیوژ میکروهوماتوکریت به مدت ۵ دقیقه در دور $3500 \times g$ سانتریفیوژ شد و درصد هماتوکریت محاسبه گردید (Vázquez and Guerrero, 2007). تعیین میزان هموگلوبین به‌وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر و کیت هموگلوبین انجام گرفت (Drabkin, 1945). به‌منظور شمارش گلبول‌های قرمز پس از رقیق‌سازی خون با محلول هایم، ۱ قطره از محتوی پپیت ملانژور به لام هماسیتومتر اضافه شد و گلبول‌های قرمز با عدسی $10 \times$ میکروسکوپ نوری شمارش شدند (Dacie and Lewis, 1995). به منظور شمارش گلبول‌های سفید ابتدا خون با محلول مارکانو رقیق‌سازی شد. سپس یک قطره از محتوی پپیت ملانژور به لام هماسیتومتر اضافه شد و شمارش با عدسی $10 \times$ میکروسکوپ نوری انجام گرفت (Svesboda et al., 1991). شاخص‌های خونی نیز به‌وسیله فرمول‌های زیر محاسبه شدند (Doucett et al., 1999):

$$10 \times (\text{تعداد گلبول‌های قرمز} / \text{هماتوکریت}) = (\text{فمتولیتیر (MCV; میانگین حجم گلبول)})$$

$$10 \times (\text{تعداد گلبول‌های قرمز} / \text{غلظت هموگلوبین}) = (\text{سلول/پیکوگرم (MCH; میانگین هموگلوبین در گلبول)})$$

$$100 \times (\text{هماتوکریت} / \text{غلظت هموگلوبین}) = (\text{MCHC; \% میانگین غلظت هموگلوبین در گلبول})$$

تجزیه و تحلیل داده‌ها

ابتدا نرمال بودن داده‌ها با استفاده از تست شاپیرو-ویلکس (Shapiro-Wilks) مورد بررسی قرار گرفت. سپس تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-Way ANOVA) و تست دانکن (Duncan test) در سطح اطمینان ۹۵ درصد انجام گرفت. تمامی آنالیزها با استفاده از نرم‌افزار SPSS (IBM Corporation, New York, USA) نسخه ۲۳ انجام شد.

نتایج

جدول ۲ نتایج مربوط به پارامترهای رشد را نشان می‌دهد. با توجه به نتایج به دست آمده، بالاترین میانگین وزن نهایی ($89/80 \pm 3142$ گرم) در تیمار ۲ گرم در کیلوگرم جیره مشاهده شد که با تیمار شاهد اختلاف معنی‌دار داشت ($P < 0/05$). بیشترین میانگین افزایش وزن بدن ($41/3 \pm 3/23$ درصد) در تیمار ۲ گرم در کیلوگرم جیره مشاهده شد و با تیمار شاهد و ۰/۵ گرم در کیلوگرم جیره تفاوت معنی‌دار داشت ($P < 0/05$). بالاترین نرخ رشد ویژه ($0/61 \pm 0/04$ درصد/روز) در تیمار ۲ گرم در کیلوگرم جیره مشاهده شد و اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد و ۰/۵ گرم در کیلوگرم جیره مشاهده نشد ($P > 0/05$). کمترین ضریب تبدیل غذایی ($1/07 \pm 0/01$) نیز در تیمار ۲ گرم در کیلوگرم جیره به دست آمد که اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد و ۰/۵ گرم در کیلوگرم جیره نشان داد ($P < 0/05$). همچنین اختلاف معنی‌داری بین تیمار ۱ گرم در کیلوگرم جیره و شاهد مشاهده شد ($P < 0/05$). در شاخص فاکتور وضعیت در بین تیمارها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P > 0/05$).

جدول ۳ نتایج مربوط به شاخص‌های خونی را نشان می‌دهد. طبق نتایج به دست آمده در هیچ‌یک از شاخص‌های خونی در بین تیمارهای آزمایشی تفاوت معنی‌دار مشاهده نشد ($P > 0/05$). بیشترین میزان گلبول قرمز، هموگلوبین، درصد هماتوکریت و همچنین MCV در تیمار ۱ گرم در کیلوگرم جیره به دست آمد. بیشترین تعداد گلبول سفید در تیمار شاهد مشاهده شد. بیشترین درصد نوتروفیل در تیمار ۰/۵ گرم در کیلوگرم جیره به دست آمد. بیشترین درصد لنفوسیت در تیمار ۲ گرم در کیلوگرم جیره و بیشترین درصد ائوزینوفیل و MCH در تیمار شاهد مشاهده گردید. بیشترین میزان MCHC در تیمارهای ۲ گرم در کیلوگرم جیره و شاهد و کمترین آن در تیمارهای ۰/۵ گرم در کیلوگرم و ۱ گرم در کیلوگرم جیره به دست آمد.

جدول ۲. مقایسه پارامترهای رشد مولدین قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) تغذیه شده با مجموعه پروبیوتیکی بیواکوا (Bio-Aqua) پس از ۸ هفته آزمایش (میانگین \pm خطای استاندارد)

پارامتر	سطح پروبیوتیک (گرم در کیلوگرم جیره)			
	۲	۱	۰/۵	صفر
وزن اولیه (گرم)	$2222/3 \pm 12/83$	$2277 \pm 10/44$	$2233/7 \pm 16/04$	$2258/7 \pm 26/33$
وزن نهایی (گرم)	$3142 \pm 89/80^a$	$3051/2 \pm 26/62^{ab}$	$2870/7 \pm 127/89^{ab}$	$2826/6 \pm 65/30^b$
افزایش وزن بدن (درصد)	$41/3 \pm 3/23^a$	$34 \pm 1/77^{ab}$	$28/4 \pm 4/77^b$	$25/3 \pm 3/77^b$
نرخ رشد ویژه (درصد/روز)	$0/61 \pm 0/04^a$	$0/52 \pm 0/02^{ab}$	$0/44 \pm 0/06^b$	$0/40 \pm 0/05^b$
ضریب تبدیل غذایی	$1/07 \pm 0/01^c$	$1/34 \pm 0/11^b$	$1/53 \pm 0/09^{ab}$	$1/62 \pm 0/02^a$
فاکتور وضعیت	$1/53 \pm 0/05$	$1/57 \pm 0/04$	$1/47 \pm 0/03$	$1/59 \pm 0/09$

حروف متفاوت در هر ردیف بیانگر اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($P < 0/05$).

جدول ۳. مقایسه شاخص‌های خونی مولدین قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) تغذیه شده با مجموعه پروبیوتیکی بیواکوا (Bio-Aqua) پس از ۸ هفته آزمایش (میانگین \pm خطای استاندارد)

شاخص‌های خونی	سطح پروبیوتیک (گرم در کیلوگرم جیره)			
	۲	۱	۰/۵	صفر
تعداد گلبول قرمز (میکرولیتر/ $10^6 \times$)	$1/6 \pm 0/15$	$1/7 \pm 0/05$	$1/5 \pm 0/08$	$1/5 \pm 0/05$
تعداد گلبول سفید (میکرولیتر/ $10^3 \times$)	$8/8 \pm 0/4$	$9/0 \pm 1/2$	$10/4 \pm 0/7$	$11/5 \pm 2/2$
هموگلوبین (گرم در دسی لیتر)	$12/26 \pm 1/12$	$12/86 \pm 0/30$	$11/55 \pm 0/60$	$11/55 \pm 0/43$
هماتوکریت (درصد)	$58/16 \pm 5/62$	$61/33 \pm 1/36$	$55 \pm 2/84$	$54/8 \pm 1/92$
لنفوسیت (درصد)	$74/66 \pm 2/45$	$73/50 \pm 3/90$	$69/16 \pm 1/16$	$70/16 \pm 2/60$
نوتروفیل (درصد)	$20/16 \pm 1/85$	$21/83 \pm 3/19$	$24/50 \pm 0/86$	$23/33 \pm 2/77$
مونوسیت (درصد)	$4/83 \pm 0/83$	$4/50 \pm 0/57$	$5/67 \pm 0/72$	$5/67 \pm 0/16$
ائوزینوفیل (درصد)	$1/00 \pm 0/00$	$1/00 \pm 0/00$	$1/33 \pm 0/20$	$1/67 \pm 0/33$
MCV (فمتولیت)	$264/33 \pm 0/44$	$368/67 \pm 3/17$	$367/83 \pm 1/96$	$367/67 \pm 0/92$
MCH (پیکوگرم/سلول)	$76/83 \pm 0/44$	$77/16 \pm 0/44$	$77/00 \pm 0/00$	$77/67 \pm 0/60$
MCHC (درصد)	$21/17 \pm 0/33$	$20/83 \pm 0/16$	$20/83 \pm 0/16$	$21/17 \pm 0/33$

بحث

در مطالعه حاضر اثر مجموعه پروبیوتیکی بیو-آکوا بر پارامترهای رشد و شاخص‌های خونی مولدین قزل‌آلای رنگین‌کمان مورد بررسی قرار گرفت. نتایج به دست آمده اثر مناسب این مجموعه پروبیوتیکی را بر پارامترهای رشد ماهی‌های مورد آزمایش نشان می‌دهد. با توجه به نتایج، مناسب‌ترین اثر در تیمار ۲ گرم در کیلوگرم جیره مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد داشت. در مورد تاثیر پروبیوتیک بر روی ماهی‌ها مطالعات متعددی انجام گرفته است. Ramos و همکاران (۲۰۱۳) اثر استفاده از پروبیوتیک را در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان مورد بررسی قرار دادند و طبق نتایج بهترین ضریب تبدیل غذایی، نرخ رشد ویژه و درصد افزایش وزن بدن در ماهی‌های مورد آزمایش را در تیمار تغذیه شده با مجموعه باکتری‌های *Bacillus* *Pediococcus* sp.، *Enterococcus* sp. و *Lactobacillus* sp. در میزان ۱/۵ گرم به ازای هر کیلوگرم جیره گزارش نمودند. EL-Haroun و همکاران (۲۰۰۶) نیز اثر پروبیوتیک بیوژن (Biogen) را به مدت ۱۶ هفته در ماهی تیلاپیا (*Oreochromis niloticus*) بررسی نمودند و بر اساس نتایج بهترین ضریب تبدیل غذایی، نرخ رشد ویژه، کارایی پروتئین و ابقای انرژی را در تیمار تغذیه شده با پروبیوتیک به میزان ۲ درصد جیره گزارش نمودند. به‌طور کلی باکتری‌های مفید از طریق کاهش pH روده و رقابت با باکتری‌های مضر از رشد آن‌ها جلوگیری کرده (Gatesoupe, 1999) و با تحریک سیستم ایمنی باعث افزایش مقاومت و کاهش استرس در میزبان می‌شوند (Gatesoupe, 1999; Kim and Austin, 2006) که مجموعه این عوامل منجر به افزایش سلامتی میزبان و در نتیجه بهبود پارامترهای رشد می‌شوند. در همین راستا، Yanbo و Zirong (۲۰۰۶) اثر پروبیوتیک *Bacillus* sp. را به مدت ۶۰ روز بر روی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) مورد بررسی قرار دادند و بر اساس نتایج، بیشترین میزان رشد و بهترین ضریب تبدیل غذایی را در تیمار تغذیه شده با ۰/۱ درصد پروبیوتیک گزارش کردند. همچنین، El-Rhman و همکاران (۲۰۰۹) اثر پروبیوتیک‌های *Micrococcus luteus* و *Pseudomonas* sp. را به مدت ۹۰ روز بر روی ماهی تیلاپیا مورد آزمایش قرار دادند و بر اساس نتایج به دست آمده، بیشترین میزان رشد و کمترین ضریب تبدیل غذایی را تیمار تغذیه شده با باکتری *Micrococcus luteus* مشاهده کردند. Sargazi و Jafarian (۲۰۱۴) نیز اثر مجموعه پروبیوتیکی پروتکسین را در جیره غذایی بر شاخص‌های رشد و بازماندگی آلوین قزل‌آلای رنگین‌کمان مورد بررسی قرار دادند و مناسب‌ترین نتیجه را در تیمار تغذیه شده با غلظت 10^7 پروبیوتیک پروتکسین به ازای ۱۰۰ گرم جیره مشاهده نمودند. Hosseini و همکاران (۲۰۱۴) نیز تاثیر پروبیوتیک *Pediococcus acidilactici* را در ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*) مورد بررسی قرار دادند و بیشترین میزان رشد، نرخ رشد ویژه و بهترین ضریب تبدیل غذایی را در تیمار تغذیه شده با ۰/۲ گرم پروبیوتیک به ازای کیلوگرم جیره مشاهده نمودند. این تحقیقات به خوبی اثرگذاری پروبیوتیک بر پارامترهای رشد در انواع مختلف ماهی‌ها را نشان می‌دهند. در تحقیق حاضر نیز بیشترین میزان رشد، بیشترین نرخ رشد ویژه و کمترین ضریب تبدیل غذایی در تیمار تغذیه شده با میزان ۲ گرم پروبیوتیک بیوآکوا به ازای هر کیلوگرم جیره به دست آمد. این نتایج را می‌توان به نحوه اثر پروبیوتیک‌ها نسبت داد. پروبیوتیک‌ها با افزایش فعالیت‌های گوارشی، تحریک اشتها و قابلیت هضم مواد غذایی موجب رشد بهینه در میزبان می‌شوند (Gatesoupe, 1999; Irianto and Austin, 2002a; Vázquez et al., 2005; Kim and Austin, 2006). این امر از طریق بهبود فلور میکروبی روده، تولید ویتامین‌ها و ترشح آنزیم‌هایی مانند آمیلاز، لیپاز و پروتئاز انجام می‌گیرد (Nikoskelainen et al., 2001; Irianto and Austin, 2002a; Vázquez et al., 2005; Firouzbakhsh et al., 2011) که باعث تجزیه ترکیبات غیر قابل هضم و افزایش متابولیسم میکروبی و تحریک اشتها و جذب مناسب‌تر مواد غذایی در میزبان می‌شوند (Kim and Austin, 2006; Firouzbakhsh et al., 2011). Fuller (۱۹۸۹) گزارش نمود که بهبود رشد می‌تواند با بهبود تعادل میکروبی روده در ارتباط باشد و Moriarty (۱۹۹۸) از مهم‌ترین عوامل تأثیرگذار در این بخش را ترشح آنزیم‌های خارجی توسط باکتری‌های پروبیوتیکی بیان نمود. در همین راستا، Carnevali و همکاران (۲۰۰۶) از مهم‌ترین عوامل تأثیرگذار در بهبود عملکرد رشد و افزایش راندمان هضم مواد مغذی را کاهش سطح هورمون کورتیزول بیان داشتند. این محققین بیان نمودند که کاهش سطح کورتیزول در رونویسی دو ژن فاکتور رشد شبه انسولینی ۱ و میوستاتین تاثیر می‌گذارد که بازخورد این عمل موجب تنظیم عملکرد رشد می‌شود.

شاخص‌های خونی در ماهی‌ها از عواملی مانند سن، اندازه، وضعیت فیزیولوژیک، شرایط محیطی و رژیم غذایی تاثیر می‌پذیرند (Brunt and Austin, 2005). همچنین پروبیوتیک‌ها توانایی تأثیرگذاری بر شاخص‌های خونی را از طریق رژیم غذایی دارا می‌باشند (Irianto and Austin, 2002a; Brunt and Austin, 2005). در این بین نوع پروبیوتیک مورد استفاده، میزان استفاده از آن و روش استفاده آن در جیره مورد نظر بر میزان اثر آن بر شاخص‌های خونی تاثیر گذار است (Hosseini *et al.*, 2014). در مطالعه حاضر اختلاف معنی‌داری در شاخص‌های خونی در بین تیمارهای آزمایشی مشاهده نشد. با این حال، بیشترین میزان گلبول‌های قرمز، هماتوکریت و هموگلوبین در تیمارهای تغذیه شده با پروبیوتیک مشاهده گردید که بالاترین میزان آن مربوط به تیمار ۱ گرم در کیلوگرم جیره بود. Al-Dohail و همکاران (۲۰۰۹)، El-Rhman و همکاران (۲۰۰۹)، Firouzbakhsh و همکاران (۲۰۱۱) و Ghaljaei Fard و همکاران (۲۰۱۶) نیز نتایج مشابهی را در تیمارهای تغذیه شده با پروبیوتیک گزارش نمودند. با توجه به نتایج مطالعات، در آبزبان تغذیه شده با پروبیوتیک به علت افزایش میزان سوخت و ساز نیز اکسیژنی افزایش یافته و در نتیجه تعداد گلبول‌های قرمز افزایش می‌یابد که به همان نسبت منجر به افزایش میزان هموگلوبین و افزایش ظرفیت حمل اکسیژن می‌شود (Irianto and Austin, 2002b; Firouzbakhsh *et al.*, 2011). در مطالعات Naseri و همکاران (۲۰۱۱)، Iwashita و همکاران (۲۰۱۵) و Reda و Selim (۲۰۱۵) بیشترین تعداد گلبول‌های سفید در تیمارهای تغذیه شده با پروبیوتیک گزارش شده است، در حالی که در آزمایش حاضر بیشترین میزان گلبول سفید و ائوزینوفیل در تیمار شاهد مشاهده شد. علت متفاوت بودن نتایج را می‌توان به سن، شرایط رسیدگی، گونه ماهی، طول دوره آزمایش و نوع پروبیوتیک مورد استفاده نسبت داد. با توجه به نتایج، بیشترین میزان نوتروفیل و لنفوسیت به ترتیب در تیمارهای ۰/۵ گرم در کیلوگرم جیره و ۲ گرم در کیلوگرم جیره و بیشترین میزان مونوسیت در تیمارهای ۰/۵ گرم در کیلوگرم جیره و شاهد مشاهده شد. لنفوسیت‌ها، نوتروفیل‌ها و مونوسیت‌ها نقش مهمی در سیستم ایمنی ایفا می‌کنند. طبق مطالعات افزایش این سلول‌ها در تیمارهای تغذیه شده با پروبیوتیک احتمالاً می‌تواند به علت افزایش واکنش‌های ایمنی غیراختصاصی (بیگانه‌خواری و پاسخ التهابی)، در نتیجه مقاومت بیشتر بدن ماهی‌های تیمارهای ذکر شده در مقابل عوامل بیماری‌زا باشد (Irianto *et al.*, 2002b; Neumann *et al.*, 2001; Irianto and Austin, 2002b). در میزان شاخص‌های MCV، MCH و MCHC اختلاف معنی‌داری در بین تیمارها ملاحظه نشد. با این حال کمترین میزان MCV در تیمار ۲ گرم در کیلوگرم مشاهده شد. در همین راستا، Hosseini و همکاران (۲۰۱۴) تاثیر پروبیوتیک *Pediococcus acidilactici* را بر روی ماهی آزاد دریایی خزر بررسی نمودند و اختلاف معنی‌داری در میزان MCH و MCHC در تیمارهای آزمایشی مشاهده نکردند. با توجه به مطالعات کاهش شاخص MCV در آبزبان می‌تواند به علت کاهش حجم گلبول‌های قرمز باشد که این امر موجب تسهیل حرکت گلبول‌های قرمز در رگ‌ها و جلوگیری از ایجاد لخته می‌شود (Kazemi *et al.*, 2010).

در آزمایش حاضر با اینکه در شاخص‌های خونی تفاوت در هیچ‌یک از تیمارها معنی‌دار نبود، مناسب‌ترین تغییرات در افزایش رشد در تیمار ۲ گرم در کیلوگرم جیره به دست آمد که نشان‌دهنده توانایی اثرگذاری مناسب مجموعه پروبیوتیکی بیواکوا بر پارامترهای رشد مولدین قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌باشد. با توجه به این موضوع، دوز ۲ گرم پروبیوتیک بیواکوا به ازای هر کیلوگرم جیره مقدار مناسب برای استفاده در تغذیه مولدین ماده قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌باشد. با توجه به این موضوع که بهبود تغذیه مولدین به طور مستقیم در فرآیند تولیدمثلی آن‌ها تاثیرگذار است، پیشنهاد می‌شود اثر پروبیوتیک بر فرآیند تولیدمثلی ماهی‌ها مورد مطالعه قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از مهندس تقی شمسی‌پور مدیریت محترم و مهندس محمد محمدی کارشناس استخر درناب و همچنین تمامی دوستانی که در اجرای این پروژه ما را یاری نمودند قدردانی می‌نماییم. استفاده تبلیغاتی از نتایج این مطالعه صرفاً با کسب مجوز از نویسنده مسئول مجاز می‌باشد.

منابع

- Al-Dohail, M.A., Hashim, R., Aliyu-Paiko, M. 2009. Effects of the probiotic *Lactobacillus acidophilus* on the growth performance, haematology parameters and immunoglobulin concentration in African Catfish (*Clarias gariepinus*, Burchell 1822) fingerling. *Aquaculture Research*. 40(14): 1642-1652.
- Austreng, E. 1978. Digestibility determination in fish using chromic oxide marking and analysis of contents from different segments of the gastrointestinal tract. *Aquaculture*. 13(3): 265-272.
- Bekcan, S., Dogankaya, L., Cakirogullari, G.C. 2006. Growth and body composition of European Catfish (*Silurus glanis*) fed diet containing different percentages of protein. *Israeli Journal of Aquaculture Bamidgeh*. 58(2): 137-142.
- Brunt, J., Austin, B. 2005. Use of a probiotic to control Lactococcosis and Streptococcosis in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Journal of Fish Diseases*. 28(12): 693-701.
- Carnevali, O., de Vivo, L., Sulpizio, R., Gioacchini, G., Olivotto, I., Silvi, S., Cresci, A. 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(1): 430-438.
- Dacie, J., Lewis, S. 1995. Erythrokinetics. Practical haematology, 8th edition. Churchill Livingstone, Edinburgh. 668 p.
- De Silva, S.S., Anderson, T.A. 1994. Fish nutrition in aquaculture. Springer Science & Business Media. 320 p.
- Dias, D., Leonardo, A., Tachibana, L., Corrêa, C., Bordon, I., Romagosa, E., Ranzani-Paiva, M. 2012. Effect of incorporating probiotics into the diet of matrinxã (*Brycon amazonicus*) breeders. *Journal of Applied Ichthyology*. 28(1): 40-45.
- Doucett, R., Booth, R., Power, G., McKinley, R. 1999. Effects of the spawning migration on the nutritional status of anadromous Atlantic salmon (*Salmo salar*): insights from stable-isotope analysis. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 56(11): 2172-2180.
- Drabkin, D.L. 1945. Hemoglobin, glucose, oxygen and water in the erythrocytes: A concept of biological magnitudes, based upon molecular dimensions. *Science*. 101(2627): 445-451.
- El-Rhman, A.M.A., Khatlab, Y.A., Shalaby, A.M. 2009. *Micrococcus luteus* and *Pseudomonas* species as probiotics for promoting the growth performance and health of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Fish & Shellfish Immunology*. 27(2): 175-180.
- El-Haroun, E., Goda, A.S., Chowdhury, K. 2006. Effect of dietary probiotic Biogen supplementation as a growth promoter on growth performance and feed utilization of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (L.). *Aquaculture Research*. 37(14): 1473-1480.
- Francis, G., Makkar, H.P., Becker, K. 2001. Antinutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. *Aquaculture*. 199(3): 197-227.
- Firouzbakhsh, F., Noori, F., Khalesi, M.K., Jani-Khalili, K. 2011. Effects of a probiotic, protexin, on the growth performance and hematological parameters in the Oscar (*Astronotus ocellatus*) fingerlings. *Fish Physiology and Biochemistry*. 37(4): 833-842.
- Fuller, R. 1977. The importance of lactobacilli in maintaining normal microbial balance in the crop. *British Poultry Science*. 18(1): 85-94.
- Fuller, R. 1989. Probiotics in man and animals: a review. *Journal of Applied Bacteriology*. 66(5): 365-378.
- Gatesoupe, F. 1999. The use of probiotics in aquaculture. *Aquaculture*. 180(1): 147-165.
- Ghaljaei Fard, A., Khara, h., Shenavar Masoleh, A. 2016. Effect of *Lactobacillus plantarum* (KC426951) bacteria isolated from the intestine of rainbow trout Guilan on hematological indices and immune of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) fry. *Journal of Animal Physiology and Development*. 32(1): 61-68. (in Persian)
- Ghosh, S., Sinha, A., Sahu, C. 2007. Effect of probiotic on reproductive performance in female livebearing ornamental fish. *Aquaculture Research*. 38(5): 518-526.
- Ghosh, S., Sinha, A., Sahu, C. 2008. Dietary probiotic supplementation in growth and health of live bearing ornamental fishes. *Aquaculture Nutrition*. 14(4): 289-299.
- Hosseini, A., Oraji, H., Yegane, S., Shahabi, H. 2014. The effect of probiotic *Pediococcus acidilactici* on growth performance, blood and some serum parameters in Caspian salmon (*Salmo trutta caspius*). *Iranian Scientific Fisheries Journal*. 23(2): 33-44. (in Persian)

- Huang, S., Fu, C., Higgs, D., Balfry, S., Schulte, P., Brauner, C. 2008. Effects of dietary canola oil level on growth performance, fatty acid composition and ionoregulatory development of spring chinook salmon parr, *Oncorhynchus tshawytscha*. *Aquaculture*. 274(1): 109-117.
- Inooka, S., Uehara, S., Kimura, M. 1986. The effect of *Bacillus natto* on the T and B lymphocytes from spleens of feeding chickens. *Poultry Science*. 65(6): 1217-1219.
- Irianto, A., Austin, B. 2002a. Probiotics in aquaculture. *Journal of Fish Diseases*. 25(11): 633-642.
- Irianto, A., Austin, B. 2002b. Use of probiotics to control furunculosis in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Journal of Fish Diseases*. 25(6): 333-342.
- Irianto, A., Roberwen, P., Austin, B. 2000. The use of probiotics in aquaculture. *Recent Research Developments in Microbiology*. 4: 557-567.
- Iwashita, M.K.P., Nakandakare, I.B., Terhune, J.S., Wood, T., Ranzani-Paiva, M.J.T. 2015. Dietary supplementation with *Bacillus subtilis*, *Saccharomyces cerevisiae* and *Aspergillus oryzae* enhance immunity and disease resistance against *Aeromonas hydrophila* and *Streptococcus iniae* infection in juvenile tilapia *Oreochromis niloticus*. *Fish & Shellfish Immunology*. 43(1): 60-66.
- Izquierdo, M., Fernandez-Palacios, H., Tacon, A. 2001. Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. *Aquaculture*. 197(1): 25-42.
- Jafari Khorshidi, K., Emamgholi, A.A., Askarian, F. 2011. The use of the Yeasture and Belugatex I, II as probiotics on growth parameters and Survival of Rainbow trout, *oncorhynchus mykiss* larvae. *Journal of Fisheries, Islamic Azad University*. 20(4): 1-16. (in Persian)
- Kazemi, R.A., Dehghani, M., Yousefi, A., Yar Mohammadi, M., Nasri Tajan, M. 2010. Physiology of Cardiovascular system in Aquatic Animals and Applied Technology of Hematology of Fishes. Bazargan Publication. 194 p. (in Persian)
- Kim, D.H., Austin, B. 2006. Cytokine expression in leucocytes and gut cells of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* Walbaum, induced by probiotics. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 114(3): 297-304.
- Lee, C.S., Donaldson, E.M. 2001. General discussion on "reproductive biotechnology in finfish aquaculture". *Aquaculture*. 197(1): 303-320.
- Mehrabi, Y. 2002. Anesthesia and Method of Twice Reproduction in Year in Rainbow Trout. Aslani Publication. 100 p. (in Persian)
- Merrifield, D., Bradley, G., Harper, G., Baker, R., Munn, C., Davies, S. 2011. Assessment of the effects of vegetative and lyophilized *Pediococcus acidilactici* on growth, feed utilization, intestinal colonization and health parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum). *Aquaculture Nutrition*. 17(1): 73-79.
- Merrifield, D., Dimitroglou, A., Bradley, G., Baker, R., Davies, S. 2010. Probiotic applications for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum). I. Effects on growth performance, feed utilization, intestinal microbiota and related health criteria. *Aquaculture Nutrition*. 16(5): 504-510.
- Moriarty, D. 1998. Control of luminous *Vibrio* species in penaeid aquaculture ponds. *Aquaculture*. 164(1): 351-358.
- Nasari, S., Khara, H., Shakoori, M. 2011. The effect of *Bacillus subtilis* and *Bacillus licheniformis* as probiotic bacteria and ferrous sulfate on some blood parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) larvae during incubation period. *Biological Science Promotion*. 25(4): 567-577. (in Persian)
- Nayak, S.K., Swain, P., Mukherjee., S.C. 2007. Effect of dietary supplementation of probiotic and vitamin C on the immune response of Indian major carp, *Labeo rohita* (Ham.). *Fish & Shellfish Immunology*. 23(4): 892-896.
- Nayak, S. 2010. Probiotics and immunity: a fish perspective. *Fish & Shellfish Immunology*. 29(1): 2-14.
- Neumann, N.F., Stafford, J.L., Barreda, D., Ainsworth, A.J., Belosevic, M. 2001. Antimicrobial mechanisms of fish phagocytes and their role in host defense. *Developmental & Comparative Immunology*. 25(8): 807-825.
- Nikoskelainen, S., Salminen, S., Bylund, G., Ouwehand, A.C. 2001. Characterization of the properties of human- and dairy-derived probiotics for prevention of infectious diseases in fish. *Applied and Environmental Microbiology*. 67(6): 2430-2435.

- Ozawa, K., Yabu Uchi, K., Yamanaka, K., Yamashita, Y., Ueba, K., Miwatani, T. 1979. Antagonistic effects of *Bacillus natto* and *Streptococcus faecalis* on growth of *Candida albicans*. *Microbiology and Immunology*. 23(12): 1147-1156.
- Panigrahi, A., Kiron, V., Kobayashi, T., Puangkaew, J., Satoh, S., Sugita, H. 2004. Immune responses in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* induced by a potential probiotic bacteria *Lactobacillus rhamnosus* JCM 1136. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 102(4): 379-388.
- Ramos, M., Weber, B., Gonçalves, J., Santos, G., Rema, P., Ozório, R. 2013. Dietary probiotic supplementation modulated gut microbiota and improved growth of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*. 166(2): 302-307.
- Reda, R.M., Selim, K.M. 2015. Evaluation of *Bacillus amyloliquefaciens* on the growth performance, intestinal morphology, hematology and body composition of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture International*. 23(1): 203-217.
- Rinchard, J., Lee, K., Czesny, S., Ciereszko, A., Dabrowski, K. 2003. Effect of feeding cottonseed meal-containing diets to broodstock rainbow trout and their impact on the growth of their progenies. *Aquaculture*. 227(1): 77-87.
- Sargazi, H., Jafarian, H. 2014. The effect of probiotic Bacilli on feed efficiency and carcass quality of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* fry. *Journal of Aquatic Animals Nutrition*. 1(1): 37-49. (in Persian)
- Svesbodora, Z., Fravda, D., Palakova, J. 1991. Unified methods of haematological examination of fish. *Research Institute of Fish Culture & Hydrobiology, Vodnany, Czechoslovakia*. 331 p.
- Turchini, G.M., Mentasti, T., Frøyland, L., Orban, E., Caprino, F., Moretti, V.M., Valfré, F. 2003. Effects of alternative dietary lipid sources on performance, tissue chemical composition, mitochondrial fatty acid oxidation capabilities and sensory characteristics in brown trout (*Salmo trutta* L.). *Aquaculture*. 225(1): 251-267.
- Vázquez, J.A., González, M.P., Murado, M. 2005. Effects of lactic acid bacteria cultures on pathogenic microbiota from fish. *Aquaculture*. 245(1): 149-161.
- Vázquez, G.R., Guerrero, G. 2007. Characterization of blood cells and hematological parameters in *Cichlasoma dimerus* (Teleostei, Perciformes). *Tissue and Cell*. 39(3): 151-160.
- Webster, C.D., Lim, C. 2002. *Nutrient Requirements and Feeding of Finfish for Aquaculture*. CABI. New York. 448 p.
- 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(3): 283-292.