فیزیولوژی و بیوتکنولوژی آبزیان
سال نهم، شماره دوم، تابستان ۱۴۰۰

مقاله پژوهشی

# اثرات جیره حاوی باکتری‌های *Lactococcus lactis* و *Bacillus subtilis* بر شاخص‌های رشد و آنزیم‌های کبدی ماهی اسکار ببری (*Astronotus ocellatus*)

عباس حسنی‌نیا[۱]، حبیب وهابزاده رودسری[۲]*، حسین خارا[۳]، علیرضا شناور ماسوله[۴]، محدثه احمدنژاد[۵]

تاریخ دریافت: مهر ۱۳۹۹ تاریخ پذیرش: فروردین ۱۴۰۰

## چکیده

ماهی اسکار ببری *Astronotus ocellatus* به دلیل زیبایی و سازگاری، مورد توجه بسیاری از علاقمندان ماهیان زینتی قرار دارد. در مطالعه حاضر با هدف ارزیابی اثرات باکتری‌های *Lactococcus lactis* و *Bacillus subtilis* بر کارایی رشد و آنزیم‌های کبدی این ماهی، ۳۰۰ قطعه با میانگین وزنی ۰/۰۳±۸/۹۶ گرم و طول۰/۰۲±۸/۲۳ سانتی‌متر طی ۷۰ روز با جیره حاوی باکتری‌های *L. lactis* و *B. subtilis* در ۹ گروه تیماری منفرد و ترکیبی با تعداد باکتری $10^{10}$CFU/g مقادیر ۱۵۰، ۳۰۰ و ۴۵۰ میلی‌گرم در هر کیلوگرم غذا و ترکیب برابر باکتری‌ها به اندازه ۷۵، ۱۵۰ و ۲۲۵ میلی‌گرم در هر کیلوگرم جیره و تیمار شاهد (بدون افزودن باکتری) تغذیه شدند. در پایان دوره وضعیت رشد و آنزیم‌های کبدی آن‌ها ارزیابی شد. نتایج نشان داد افزودن باکتری‌ها در جیره غذایی بچه ماهی اسکار منجر به بهبود شاخص‌های افزایش وزن، درصد افزایش وزن، رشد روزانه، نرخ رشد ویژه، زی‌توده نهایی و ضریب کارایی پروتئین نسبت به تیمار شاهد شد ($P<0/05$). همه تیمارهای منفرد و ترکیبی نسبت به تیمار شاهد بیشترین کاهش ضریب تبدیل غذایی با اختلاف معنی‌دار آماری داشتند ($P<0/05$). همچنین بیشترین اختلاف معنی‌دار آماری آنزیم‌های کبدی آلانین آمینوترانسفراز و آسپارات آمینوترانسفراز با شاهد در تیمار ۳ ($LL_{450}$) و آنزیم آلکالین فسفاتاز در تیمار ۹ ($MIX_{450}$) اندازه‌گیری شد ($P<0/05$). در مجموع، افزودن باکتری‌های مورد استفاده به طور منفرد یا ترکیبی تاثیر مثبتی بر شاخص‌های رشد و آنزیم‌های کبدی داشت.

**واژگان کلیدی:** *پروبیوتیک، رشد، اسکار ببری، باکتری، آنزیم کبدی.*

۱- دانشجوی دکتری شیلات، گروه شیلات، واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، ایران.
۲- استادیار گروه شیلات، واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، ایران.
۳- دانشیار گروه شیلات، واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، ایران.
۴- استادیار انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، ایران.
۵- استادیار پژوهشکده آبزی‌پروری آب‌های داخلی، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، ترویج و آموزش کشاورزی، بندر انزلی، ایران.
* نویسنده مسئول: Habib.vahabzadeh@gmail.com

**مقدمه**

شاخص‌های رشد و تغذیه در گونه‌های مختلفی از ماهیان مورد بررسی قرار گرفته است که می‌توان به نتایج مثبت حاصل از به کار گیری باکتری‌های پروبیوتیک از دیدگاه شاخص‌های رشد و نیز سیستم ایمنی و گوارش، در مطالعات Firouzbakhsh و همکاران (۲۰۱۱) و Safari و Mehraban (۲۰۱۳) در جیره غذایی ماهی اسکار ببری (*Astronotus ocellatus*)، Seonghun و همکاران (۲۰۲۰) در جیره غذایی ماهی تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*)، بیواره و جعفریان (۱۳۹۷) در جیره غذایی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)، رضوانی گیل‌کلایی و همکاران (۱۳۹۸) در جیره غذایی تاس‌ماهی سیبری (*Acipenser baerii*) اشاره کرد. افزایش علاقه به نگهداری ماهیان آکواریومی به عنوان سرگرمی طی قرن‌ها منجر به گسترش مداوم آن در تجارت بیش از ۱۰ میلیارد دلار در ۱۲۵ کشور جهان شده است (Dey, 2016). حدود ۶۰ درصد از مجموع ۲۵۰۰ گونه ماهیان زینتی متعلق به آب شیرین است (FAO, 2020). بیشترین تجارت ماهی‌های زینتی مربوط به گونه‌های آب شیرین است (Biondo and Burki, 2020). با افزایش محبوبیت آکواریوم‌های خانگی، کمتر از ۱ درصد بازار جهانی ماهیان زینتی متعلق به بخش آکواریوم عمومی و بقیه هنوز متعلق به حرفه‌ای‌ها است (Dey,2016).

ماهی اسکار گونه‌ای گوشتخوار از خانواده Cichlidae به دلیل زیبایی خاصی که دارد، به یک ماهی زینتی محبوب تبدیل شده است (فیروزبخش و علی‌اصغری، ۱۳۹۰). با توجه به اهمیت این گونه در تکثیر و پرورش ماهیان زینتی از لحاظ ارزش اقتصادی و بازارپسندی و نیز اهمیت کاربردی و علمی افزودنی‌های پروبیوتیک با تاکید بر پایداری روند استخراج سویه‌های بومی، راه‌گشای مناسبی برای تکمیل روند پرورش این گونه با ارزش با دانش بومی و ایجاد ارزش افزوده در فروش محصول تولیدی و گسترش رونق پایدار در تجارت و پرورش گونه‌های مشابه خواهد بود (شناور ماسوله و همکاران، ۱۳۹۵). ماهی اسکار به عنوان یک ماهی پراشتها حتی در حالت سیری نیز علاقه به دریافت مواد غذایی دارد (امامی و همکاران، ۱۳۸۸). هدف این پژوهش دستیابی به کاهش مصرف خوراک و همچنین کاهش دوره پرورش و رسیدن به اندازه مطلوب ماهی اسکار با استفاده از باکتری‌های *Lactococcus lactis* و

*Bacillus subtilis* با تاثیر بر شاخص‌های رشد و آنزیم‌های کبدی ماهی اسکار بوده است.

## مواد و روش‌ها

### تهیه و نگهداری ماهی

تعداد ۳۰۰ قطعه ماهی اسکار ببری (*Astronotus ocellatus*) حاصل تکثیر یک جفت مولد از یک کارگاه خصوصی پرورش ماهی‌های زینتی در رشت در تابستان ۱۳۹۸ تهیه و در سالن تکثیر و پرورش ماهی‌های زینتی مرکز آموزش جهاد کشاورزی میرزا کوچک خان استان گیلان به مدت ۷۰ روز پرورش داده شد. بچه ماهیان میانگین وزنی ۰/۰۳±۸/۹۶ گرم و میانگین طولی ۰/۰۲±۸/۲۳ سانتی‌متر داشتند. این مطالعه در قالب طرح کاملا تصادفی در ۳۰ آکواریوم شیشه‌ای با حجم ۵۰ لیتر آب در ۱۰ تیمار و هر یک با ۳ تکرار و با تراکم ۱۰ قطعه ماهی در هر آکواریوم انجام شد. ماهی‌ها پس از یک دوره ۱۰ روزه برای سازگاری با محیط و غذا قرنطینه شدند. ماهی‌ها در سه مرحله ابتدا، میانی و پایان دوره به منظور تعیین زی‌توده و محاسبه غذای مورد نیاز در طول دوره پرورش پس از بیهوشی با عصاره گل میخک (۰/۵ گرم در لیتر) (Hassaninia et al., 2016; Hamrang Omshi et al., 2017) زیست‌سنجی (وزن و طول) شدند. به منظور کاهش استرس، ۱۲ ساعت قبل و ۱۲ ساعت بعد از زیست‌سنجی تغذیه ماهی‌ها قطع شد.

### ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی آب

ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی آب شامل دما با میانگین ۰/۳۲±۲۷/۸۴ درجه سانتی گراد و اکسیژن محلول آب با میانگین ۰/۴۴±۷/۶۷ میلی‌گرم در لیتر توسط دستگاه اکسیژن‌متر دیجیتال (Oxi 3205 SET3، WTW، آلمان) و pH آب با میانگین ۰/۲۱±۷/۳۶ توسط دستگاه pHمتر (370، Jenway، انگلستان) به صورت روزانه اندازه‌گیری شد. سختی آب (DH) با میانگین ۰/۴±۱۷۲/۴ میلی‌گرم در لیتر به صورت اندازه‌گیری‌های هفتگی و آمونیاک $NH_4$ هر ده روز یک بار قبل از غذادهی در حدود ۰/۰۷ میلی‌گرم در لیتر و یک ساعت بعد از غذادهی در حدود ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر توسط کیت آمونیاک (Vaheb، ایران) در کلیه آکواریوم‌ها اندازه‌گیری و در طول اجرای آزمایش تفاوتی بین شاخص‌های اندازه‌گیری شده بالا در تیمارها مشاهده نشد. همچنین هوادهی توسط پمپ هواده (ACO–010، RESUN، چین) با قدرت اکسیژن‌دهی ۰/۱۳۵ متر مکعب در دقیقه صورت گرفت.

**آماده‌سازی جیره‌های آزمایشی و تیماربندی**

برای آماده‌سازی جیره‌های آزمایشی ابتدا باکتری *Bacillus subtilis* به صورت پودر باکتریایی لیوفیلیزه در موسسه تحقیقات بین المللی تاس‌ماهیان دریای خزر با علامت اختصاری B.S و باکتری *Lactococcus lactis* جدا شده از دستگاه گوارش آبزیان با علامت اختصاری L.L که از بچه تاس‌ماهیان ایرانی *Acipenser persicus* (شناور ماسوله و همکاران، ۱۳۹۵) جداسازی و در NCBI با شماره JF831150 ثبت شده بود، از مرکز کلکسیون میکروارگانیسم‌های صنعتی تهیه شد. سپس باکتری‌ها طبق تیمارهای مورد نظر روی جیره پایه تجاری (HE Granular Crumble Troco، Alltech Coppens، هلند) با اندازه دانه ۱/۲-۰/۸ میلی‌متر اسپری شدند. ترکیب جیره پایه در جدول ۱ آمده است.

برای بررسی اثر باکتری‌های پروبیوتیک ۱۰ تیمار غذایی شامل تیمار با جیره‌های دارای تراکم‌های مختلف باکتری‌های *B. subtilis* و *L. lactis* به طور جداگانه و مخلوط آن‌ها با نسبت مساوی و همچنین یک تیمار شاهد بدون افزودن باکتری، در نظر گرفته شد.

**جدول ۱: مقدار عناصر غذایی موجود در جیره پایه تجاری (بر اساس گزارش شرکت سازنده)**

| مواد مغذی | مقدار (درصد) |
|---|---|
| **پروتئین** | ۵۶ |
| **چربی خام** | ۱۵ |
| **سلولز** | ۰/۵ |
| **خاکستر** | ۸/۴ |
| **فسفر** | ۱/۴ |
| **کلسیم** | ۲/۳ |
| **سدیم** | ۰/۷ |
| **رطوبت** | ۹/۷ |
| **افزودنی‌های دیگر** | ۶ |

در تیمارهای آزمایشی از باکتری‌های L.L و B.S ($10^{10}$CFU/g) در مقادیر ۱۵۰، ۳۰۰ و ۴۵۰ میلی‌گرم در هر کیلوگرم جیره طبق جدول ۲ استفاده شد. به این ترتیب که ابتدا مقادیر مورد نظر از پودر باکتری‌های L.L و B.S در زیر هود لامینار در ظروف پلاستیکی استریل توزین شد و سپس ۵۰ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی استریل به ازای هر کیلوگرم جیره به آن اضافه شد (شناور ماسوله و همکاران، ۱۳۹۵). همچنین برای یکسان بودن وضعیت تیمار شاهد با تیمارهای دیگر به جیره غذایی تیمار شاهد نیز ۵۰ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی بدون باکتری اضافه شد. محلول‌ها بعد از آماده‌سازی بر روی غذا به طور یکسان اسپری شدند. جیره‌ها تا زمان

مصرف در یخچال در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

خوراک‌دهی روزانه تیمارها به نسبت درجه حرارت و زی‌توده هر آکواریوم و با توجه به زیست‌سنجی‌های ابتدا و میانی دوره به میزان ۴ درصد وزن توده زنده (از ابتدا تا انتها دوره) (Ghosh et al., 2008) به صورت دستی در ۳ وعده صبح، ظهر و عصر (در ساعت‌های ۸، ۱۲ و ۱۴) به مدت ۷۰ روز انجام گرفت.

**ارزیابی عملکرد رشد**

با توجه به اطلاعات به دست آمده از طول و وزن ماهیان در زیست‌سنجی، شاخص‌های رشد شامل افزایش وزن ماهی (WG)، درصد افزایش وزن بدن (BWI)، میانگین رشد روزانه (ADG)، ضریب تبدیل غذایی (FCR)، ضریب چاقی (CF)، شاخص رشد ویژه (SGR) و ضریب کارایی پروتئین (PER) بر اساس رابطه‌های ۱ تا ۷ محاسبه شد (Merrifield et al., 2011).

**جدول ۲: معرفی تیمارهای آزمایش**

| تیمار | | محتویات جیره | مقدار باکتری (mg/kg) |
|---|---|---|---|
| **تیمار ۱** | **$LL_{150}$** | جیره پایه + باکتری *Lactococcus lactis* | ۱۵۰ |
| **تیمار ۲** | **$LL_{300}$** | جیره پایه + باکتری *Lactococcus lactis* | ۳۰۰ |
| **تیمار ۳** | **$LL_{450}$** | جیره پایه + باکتری *Lactococcus lactis* | ۴۵۰ |
| **تیمار ۴** | **$BS_{150}$** | جیره پایه + باکتری *Bacillus subtilis* | ۱۵۰ |
| **تیمار ۵** | **$BS_{300}$** | جیره پایه + باکتری *Bacillus subtilis* | ۳۰۰ |
| **تیمار ۶** | **$BS_{450}$** | جیره پایه + باکتری *Bacillus subtilis* | ۴۵۰ |
| **تیمار ۷** | **$MIX_{150}$** | جیره پایه + مخلوط باکتری‌های *B. subtilis* و *L. lactis* | ۷۵+۷۵ |
| **تیمار ۸** | **$MIX_{300}$** | جیره پایه + مخلوط باکتری‌های *B. subtilis* و *L. lactis* | ۱۵۰+۱۵۰ |
| **تیمار ۹** | **$MIX_{450}$** | جیره پایه + مخلوط باکتری‌های *B. subtilis* و *L. lactis* | ۲۲۵+۲۲۵ |
| **تیمار ۱۰** | **شاهد** | جیره پایه بدون باکتری | ۰ |

**رابطه ۱:**

$$WG\ (g) = W_f - W_i$$

$W_i$: وزن اولیه (گرم)؛ $W_f$: وزن نهایی (گرم).

**رابطه ۲:**

$$BWI\ (\%) = [(W_f - W_i) / W_i] \times 100$$

$W_i$: وزن اولیه (گرم)؛ $W_f$: وزن نهایی (گرم).

**رابطه ۳:**

$$ADG\ (\%/day) = [(W_f - W_i) / t] \times 100$$

$W_i$: وزن اولیه (گرم)؛ $W_f$: وزن نهایی (گرم)؛ t: مدت زمان تغذیه (روز).

**رابطه ۴:**

$$FCR = F / (W_f - W_i)$$

F: غذای مصرف شده (گرم)؛ $W_i$: وزن اولیه (گرم)؛ $W_f$: وزن نهایی (گرم).

**رابطه ۵:**

$$CF\ (g/cm^3) = (W / L^3) \times 100$$

W: وزن ماهی (گرم)؛ L: طول ماهی (سانتی‌متر).

**رابطه ۶:**

$$SGR\ (\%/day) = [(LnW_f - LnW_i) / t] \times 100$$

$W_i$: وزن اولیه (گرم)؛ $W_f$: وزن نهایی (گرم)؛ t: مدت زمان تغذیه (روز).

**رابطه ۷:**

$$PER = WG / P$$

WG: شاخص افزایش وزن (گرم)؛ P: مقدار پروتئین غذای مصرفی (گرم).

**فعالیت آنزیم‌های کبدی**

در پایان دوره، تغذیه قطع و پس از ۲۴ ساعت اطمینان کامل از دفع محتویات لوله گوارش، از بچه ماهیان مورد آزمایش خون‌گیری از ناحیه سیاهرگ ساقه دمی با استفاده از سرنگ انسولین صورت گرفت. از سه قطعه ماهی ۱/۵ میلی‌لیتر خون به صورت مخلوط کردن با هم (Pooling) در تیوب‌های اپندروف غیرهپارینه ذخیره و شماره‌گذاری شد. سپس نمونه‌های خون با دور ۴۲۰۰ در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ (3-16KL، Sigma، آلمان) شدند. سرم پس از جداسازی در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شد (شناور و همکاران، ۱۳۹۵).

سنجش آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) به روش IFCC (۱۹۸۶) به وسیله کیت تشخیصی (پارس‌آزمون، ایران) و بر اساس روش نورسنجی (فتومتریک) با دستگاه اتوآنالایزر (BT- 1500، Instruments Biotecnica، ایتالیا) در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و طول موج ۳۴۰ نانومتر و تا تغییرات جذب نوری ۰/۱۶ در دقیقه بر حسب واحد بین المللی ۳۰۰U/L انجام شد. سنجش آلکالین فسفاتاز (ALP) به روش DGKC (۱۹۷۲) و با کیت تشخیصی (پارس‌آزمون،

ایران) انجام شد که دارای تغییرات جذب نوری ۰/۲۵ در دقیقه بود (به صورت دو محلوله ۸۵۸ واحد بین المللی در لیتر و تک محلوله تا ۶۸۹ واحد بین المللی در لیتر). اندازه‌گیری با روش فتومتریک با استفاده از اتوآنالایزر در طول موج ۴۰۵ نانومتر و دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد صورت گرفت (Bergmeyer et al., 1986).

**تحلیل آماری**

این مطالعه در قالب طرح کاملا تصادفی در ۳ تکرار برای هر ۹ تیمار و شاهد استفاده شد. پس از بررسی نرمال بودن داده‌ها با از آزمون شاپیرو- ویلک (Shapiro-Wilk)، به منظور مقایسه آماری تیمارها از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) در سطح اطمینان ۹۵ درصد و پس از انجام آزمون همگن بودن واریانس برای مقایسه گروه‌ها با یکدیگر از آزمون دانکن (Duncan) استفاده شد. کلیه بررسی‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS ویرایش ۲۳ و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Microsoft Excel 2010 استفاده شد.

**نتایج**

**عملکرد رشد**

نتایج به دست آمده از بررسی شاخص‌های رشد نشان داد افزودن باکتری‌های *Lactococcus lactis* و *Bacillus subtilis* و مخلوط این دو باکتری در جیره غذایی بچه ماهی اسکار ببری منجر به افزایش وزن نهایی، زی‌توده نهایی، درصد افزایش وزن، میانگین افزایش وزن، میانگین رشد روزانه و نرخ رشد ویژه نسبت به تیمار شاهد شد و با آن اختلاف معنی‌دار آماری داشت ($P<0/05$؛ جدول ۳). همچنین شاخص‌های ضریب تبدیل غذایی و ضریب کارایی پروتئین در کلیه تیمارها نسبت به تیمار شاهد بهتر بود و اختلاف معنی‌دار آماری نشان داد ($P<0/05$؛ جدول ۴). ضریب چاقی در تیمار شاهد اختلاف معنی‌دار آماری با تیمارهای دیگر نداشت.

نتایج به دست آمده از شاخص‌های رشد هیچ گونه اختلاف معنی‌دار آماری را در بین تیمارهای حاوی باکتری نشان نداد. با این حال نتایج به دست آمده با توجه به تراکم باکتری، در تیمارهای ۱ ($LL_{150}$) و ۴ ($BS_{150}$) و ۷ ($MIX_{150}$) نسبت به تیمارهای دیگر بهتر بود (جدول۴).

**فعالیت آنزیم‌های کبدی**

بر اساس نتایج میزان آنزیم ALP سرم خون در تیمار ۹ ($MIX_{450}$) افزایش معنی‌داری را نسبت به شاهد و تیمارهای دیگر نشان داد

(P<۰/۰۵؛ جدول ۵). همچنین میزان آنزیم‌های ALT و AST سرم خون در تیمار ۳ ($LL_{450}$) افزایش معنی‌داری را نسبت به شاهد و تیمارهای دیگر نشان داد (P<۰/۰۵؛ جدول ۵).

**جدول ۳: شاخص‌های رشد ماهی اسکار ببری در تیمارهای مختلف پس از ۷۰ روز تغذیه با جیره دارای باکتری‌های *Lactococcus lactis* و *Bacillus* و مخلوط باکتری‌ها (میانگین ± خطای استاندارد)**

| تیمار | | وزن نهایی (g) | زی‌توده نهایی (g) | WG (g) | BWI (%) | ADG (%/day) | SGR (%/day) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| تیمار ۱ | $LL_{150}$ | ۳۳/۴۳±۰/۰۳ $^a$ | ۳۳۴/۳۳±۰/۰۳ $^a$ | ۲۴/۴۷±۰/۰۳ $^a$ | ۲۷۲/۸۷±۱/۲۴ $^a$ | ۳/۸۹±۰/۰۱۷ $^a$ | ۱/۸۸±۰/۰۰۵ $^a$ |
| تیمار ۲ | $LL_{300}$ | ۳۳/۴۰±۰/۰۳ $^a$ | ۳۳۴/۰۰±۰/۰۳ $^a$ | ۲۴/۴۳±۰/۰۸ $^a$ | ۲۷۲/۵۰±۱/۹۷ $^a$ | ۳/۸۹±۰/۰۲۸ $^a$ | ۱/۸۷±۰/۰۰۷ $^a$ |
| تیمار ۳ | $LL_{450}$ | ۳۳/۳۶±۰/۰۰ $^a$ | ۳۳۳/۶۶±۰/۳۳ $^a$ | ۲۴/۳۶±۰/۰۳ $^a$ | ۲۷۰/۷۴±۰/۳۷ $^a$ | ۳/۸۶±۰/۰۰۵ $^a$ | ۱/۸۷±۰/۰۰۱ $^a$ |
| تیمار ۴ | $BS_{150}$ | ۳۳/۴۷±۰/۰۳ $^a$ | ۳۳۴/۰۰±۰/۰۳ $^a$ | ۲۴/۴۳±۰/۰۳ $^a$ | ۲۷۲/۴۹±۰/۸۹ $^a$ | ۳/۸۹±۰/۰۱۲ $^a$ | ۱/۸۷±۰/۰۰۳ $^a$ |
| تیمار ۵ | $BS_{300}$ | ۳۳/۴۳±۰/۰۰ $^a$ | ۳۳۴/۶۶±۰/۳۳ $^a$ | ۲۴/۴۷±۰/۰۳ $^a$ | ۲۷۱/۸۵±۰/۳۷ $^a$ | ۳/۸۸±۰/۰۰۵ $^a$ | ۱/۸۷±۰/۰۰۱ $^a$ |
| تیمار ۶ | $BS_{450}$ | ۳۳/۴۳±۰/۰۳ $^a$ | ۳۳۴/۳۳±۰/۰۳ $^a$ | ۲۴/۴۷±۰/۰۳ $^a$ | ۲۷۲/۸۷±۱/۲۴ $^a$ | ۳/۸۹±۰/۰۱۷ $^a$ | ۱/۸۸±۰/۰۰۴ $^a$ |
| تیمار ۷ | $MIX_{150}$ | ۳۳/۴۷±۰/۰۳ $^a$ | ۳۳۴/۶۷±۰/۰۳ $^a$ | ۲۴/۴۷±۰/۰۳ $^a$ | ۲۷۱/۸۵±۰/۳۷ $^a$ | ۳/۸۸±۰/۰۰۵ $^a$ | ۱/۸۷±۰/۰۰۱ $^a$ |
| تیمار ۸ | $MIX_{300}$ | ۳۳/۴۳±۰/۰۳ $^a$ | ۳۳۴/۳۳±۰/۰۳ $^a$ | ۲۴/۴۳±۰/۰۳ $^a$ | ۲۷۱/۴۸±۰/۳۷ $^a$ | ۳/۸۷±۰/۰۰۵ $^a$ | ۱/۸۷±۰/۰۰۱ $^a$ |
| تیمار ۹ | $MIX_{450}$ | ۳۳/۴۳±۰/۰۳ $^a$ | ۳۳۴/۳۳±۰/۰۳ $^a$ | ۲۴/۴۷±۰/۰۳ $^a$ | ۲۷۲/۸۷±۱/۲۴ $^a$ | ۳/۸۹±۰/۰۱۷ $^a$ | ۱/۸۸±۰/۰۰۴ $^a$ |
| تیمار ۱۰ | شاهد | ۳۰/۴۰±۰/۰۵ $^b$ | ۳۰۴/۰۰±۰/۰۵ $^b$ | ۲۱/۴۰±۰/۰۵ $^b$ | ۲۳۷/۷۷±۰/۶۴ $^b$ | ۳/۳۹±۰/۰۰۹ $^b$ | ۱/۷۴±۰/۰۰۳ $^b$ |

حروف متفاوت در هر ستون بیانگر وجود تفاوت معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

WG: میانگین افزایش وزن؛ BWI: درصد افزایش وزن؛ ADG: میانگین رشد روزانه؛ SGR: نرخ رشد ویژه.

**جدول ۴: شاخص‌های رشد ماهی اسکار ببری در تیمارهای مختلف پس از ۷۰ روز تغذیه با جیره دارای باکتری‌های *Lactococcus lactis* و *Bacillus* و مخلوط باکتری‌ها (میانگین ± خطای استاندارد)**

| تیمار | | ضریب کارایی پروتئین | ضریب تبدیل غذایی | ضریب چاقی |
|---|---|---|---|---|
| تیمار ۱ | $LL_{150}$ | ۱/۸۸±۰/۰۰۵ $^{a}$ | ۱/۰۶۲±۰/۰۰۱ $^{a}$ | ۲/۰۵±۰/۰۰۹ $^{a}$ |
| تیمار ۲ | $LL_{300}$ | ۱/۸۷±۰/۰۰۷ $^{a}$ | ۱/۰۶۴±۰/۰۰۲ $^{a}$ | ۲/۰۷±۰/۰۰۹ $^{a}$ |
| تیمار ۳ | $LL_{450}$ | ۱/۸۷±۰/۰۰۱ $^{a}$ | ۱/۰۶۷±۰/۰۰۱ $^{a}$ | ۲/۰۷±۰/۰۱۶ $^{a}$ |
| تیمار ۴ | $BS_{150}$ | ۱/۸۷±۰/۰۰۳ $^{a}$ | ۱/۰۶۴±۰/۰۰۱ $^{a}$ | ۲/۰۵±۰/۰۱۱ $^{a}$ |
| تیمار ۵ | $BS_{300}$ | ۱/۸۷±۰/۰۰۱ $^{a}$ | ۱/۰۶۲±۰/۰۰۱ $^{a}$ | ۲/۰۵±۰/۰۰۷ $^{a}$ |
| تیمار ۶ | $BS_{450}$ | ۱/۸۸±۰/۰۰۴ $^{a}$ | ۱/۰۶۲±۰/۰۰۱ $^{a}$ | ۲/۰۸±۰/۰۱۰ $^{a}$ |
| تیمار ۷ | $MIX_{150}$ | ۱/۸۷±۰/۰۰۱ $^{a}$ | ۱/۰۶۲±۰/۰۰۱ $^{a}$ | ۲/۰۶±۰/۰۱۳ $^{a}$ |
| تیمار ۸ | $MIX_{300}$ | ۱/۸۷±۰/۰۰۱ $^{a}$ | ۱/۰۶۴±۰/۰۰۱ $^{a}$ | ۲/۰۷±۰/۰۰۸ $^{a}$ |
| تیمار ۹ | $MIX_{450}$ | ۱/۸۸±۰/۰۰۴ $^{a}$ | ۱/۰۶۲±۰/۰۰۱ $^{a}$ | ۲/۰۷±۰/۰۱۰ $^{a}$ |
| تیمار ۱۰ | شاهد | ۱/۷۴±۰/۰۰۳ $^{b}$ | ۱/۲۱±۰/۰۰۳ $^{b}$ | ۲/۱۸±۰/۰۱۳ $^{a}$ |

حروف متفاوت در هر ستون بیانگر وجود تفاوت معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

**جدول ۵: آنزیم‌های کبدی ماهی اسکار ببری در تیمارهای مختلف پس از ۷۰ روز تغذیه با جیره دارای باکتری‌های *Lactococcus lactis* و *Bacillus* و مخلوط باکتری‌ها (میانگین ± خطای استاندارد)**

| تیمار | | آلکالین فسفاتاز (U/L) | آلانین آمینوترانسفراز (U/L) | آسپارتات آمینوترانسفراز (U/L) |
|---|---|---|---|---|
| تیمار ۱ | $LL_{150}$ | ۱۰۰/۵±۴/۵ $^{d}$ | ۱۵±۱ $^{d}$ | ۸۹/۵±۱/۵ $^{d}$ |
| تیمار ۲ | $LL_{300}$ | ۱۲۳±۱ $^{abc}$ | ۲۱/۵±۳/۵ $^{abc}$ | ۱۰۷±۴ $^{d}$ |
| تیمار ۳ | $LL_{450}$ | ۱۲۱/۵±۴/۵ $^{abc}$ | ۲۶/۵۰±۳/۵ $^{a}$ | ۱۹۸/۵±۹/۵ $^{a}$ |
| تیمار ۴ | $BS_{150}$ | ۱۰۹±۶ $^{cd}$ | ۱۵±۱ $^{d}$ | ۹۱/۵±۲/۵۰ $^{d}$ |
| تیمار ۵ | $BS_{300}$ | ۱۱۴±۴ $^{bcd}$ | ۱۸±۱ $^{bcd}$ | ۱۱۱±۳ $^{cd}$ |
| تیمار ۶ | $BS_{450}$ | ۱۰۳±۴ $^{d}$ | ۱۶/۵ ± ۱/۵ $^{bcd}$ | ۹۴/۵±۲/۵ $^{d}$ |
| تیمار ۷ | $MIX_{150}$ | ۱۰۶/۵±۵/۵ $^{d}$ | ۱۷±۱ $^{bcd}$ | ۹۹/۵±۱/۵ $^{cd}$ |
| تیمار ۸ | $MIX_{300}$ | ۱۲۵±۳ $^{ab}$ | ۲۲/۵±۲/۵ $^{ab}$ | ۱۳۱/۵±۳/۵ $^{bc}$ |
| تیمار ۹ | $MIX_{450}$ | ۱۳۱/۵±۵/۵ $^{a}$ | ۲۳±۱ $^{ab}$ | ۱۶۷±۱۸ $^{b}$ |
| تیمار ۱۰ | شاهد | ۱۰۰/۵±۳/۵ $^{d}$ | ۱۴±۱ $^{d}$ | ۸۸ ± ۱ $^{d}$ |

حروف متفاوت در هر ستون بیانگر وجود تفاوت معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

**بحث**

تاثیرات پروبیوتیک‌ها بر شاخص‌های رشد در انواع ماهی‌های زینتی، پرورشی و همچنین گونه‌های دیگر آبزیان بررسی شده است (Firouzbakhsh et al., 2011; Safari and Mehraban, 2013; Lee et al., 2017; Gobi et al., 2018; Xia et al., 2018; Seonghun et al., 2020). اضافه کردن باکتری‌های پروبیوتیک به صورت فرآورده‌های میکروبی تجاری و یا باکتری‌های جدا شده از دستگاه گوارش آبزیان در غذای آن‌ها باعث افزایش رشد و ارتقا کارایی تغذیه آن‌ها می‌شود (Verschuere et al., 2000). نتایج مطالعه حاضر در رابطه با شاخص‌های رشد نشان داد که افزودن باکتری‌های پروبیوتیک در جیره غذایی بچه ماهیان اسکار به مدت ۷۰ روز منجر به بالا رفتن درصد افزایش وزن، میانگین افزایش وزن، میانگین رشد روزانه، نرخ رشد ویژه، زی‌توده نهایی و ضریب کارایی پروتئین در بین تیمارهای دریافت کننده باکتری و همچنین کاهش ضریب تبدیل غذایی با اختلاف معنی‌دار آماری در مقایسه با تیمار شاهد شد. Carnevali و همکاران (۲۰۰۴) دریافتند که تغذیه از *Lactobacillus plantarum* به طور قابل ملاحظه‌ای توانست باعث افزایش رشد ماهی باس دریایی *Sparus aurata* شود. همچنین هنگامی که ماهی‌های جوان باس دریایی *Dicentrarchus labrax* به مدت ۵۹ روز از *Lactobacillus delbrueckii* تغذیه شدند، افزایش وزن بعد از ۲۵ روز در مقایسه با تیمار شاهد قابل توجه بود (Carnevali et al., 2006). این اثر مفید در رشد نیز برای لارو ماهی *Pollachius pollachius* (Pollock) در هنگام تغذیه از آرتمیا غنی شده با باکتری *Pediococcus acidilactici* (Gatesoupe, 2002) گزارش شد. همچنین استفاده از باکتری *Bacillus subtilis* به طور موثری باعث افزایش رشد و بقا و کاهش میزان FCR در ماهی‌های زنده‌زای زینتی شد (Ghosh et al., 2008) که با نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر مطابقت دارد. در مطالعه‌ای تاثیر باکتری اسید لاکتیک در بچه ماهی کاد اطلس (*Gadus morhua*) توسط Gildberg و همکاران ۱۹۹۷ مورد بررسی قرار گرفت و آن‌ها کاهش قابل توجهی را در میزان FCR گزارش دادند که مشابه آن در مطالعه حاضر، نتایج به دست آمده در تیمار ترکیبی ۷ ($MIX_{150}$) در مقایسه با تیمارهای دیگر افزایش عددی در شاخص‌های رشد از خود نشان داد.

پروبیوتیک‌هایی مانند *Bacillus subtilis* (Lee et al., 2017)، *Bacillus licheniformis* (Gobi et al., 2018)، *Lactococcus lactis* (Xia et al., 2018) و *Micrococcus luteus* (Abd El- Rahman et al., 2009) برای آبزی‌پروری مفید هستند. به ویژه، *Bacillus subtilis* یک پروبیوتیک رایج است. این باکتری می‌تواند ضمن بهبود دستگاه گوارش، رشد و ایمنی ماهی را تقویت کند (Lee et al., 2017).

Xia و همکاران (۲۰۱۸) بیان کردند که باکتری *Lactococcus lactis* می‌تواند سلامت روده ماهی تیلاپیای نیل *Oreochromis niloticus* را بهبود و عملکرد رشد را در مقایسه با رژیم غذایی شاهد افزایش دهد (Xia et al., 2018). در یک مطالعه در کره جنوبی گزارش شد که پروبیوتیک *Bacillus subtilis* و *Lactococcus lactis* می‌تواند باعث بهبود عملکرد رشد در ماهی تیلاپیای نیل شود (Seonghun et al., 2020). همچنین اثرات پروبیوتیک پروتکسین (Firouzbakhsh et al., 2011) و باکتری *Pediococcus acidilactici* باعث افزایش رشد و کاهش میزان FCR به عنوان یک عامل پربیوتیک اثرات مفیدی بر سلامت ماهی اسکار داشت (Safari and Mehraban, 2013).

در مطالعه حاضر نشان داده شد که پروبیوتیک‌های *B. subtilis* و *L. lactis* می‌توانند بر شاخص‌های رشد ماهی اسکار اثرات مفیدی داشته باشند. یافته‌های این مطالعه حاکی از اولویت رشد و کاهش FCR در تیمارهای حاوی باکتری نسبت به شاهد بوده است. این باکتری‌ها عملکرد رشد ماهی اسکار را بهبود بخشیدند که مشابه افزایش رشد در پژوهش‌های دیگر توسط *B. subtilis* (Lee et al., 2017)، *B. licheniformis* (Gobi et al., 2018)، *L. lactis* (Xia et al., 2018)، *M. luteus* (Abd El- Rahman et al., 2009) و *B. subtilis* و *L. lactis* (Seonghun et al., 2020) است. در مطالعه حاضر باکتری‌های *B. subtilis* و *L. lactis* و ترکیب این دو باکتری، این افزایش در غلظت‌های پایین (۱۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) به مراتب بهتر و موثرتر بود. باکتری‌ها با افزایش قابلیت هضم و جذب مواد غذایی مصرفی، کارایی تغذیه را بالا بردند که منجر به افزایش رشد ماهی‌ها شد. پروبیوتیک‌ها می‌توانند از طریق فراهم کردن مواد مغذی ضروری مانند ویتامین‌ها، اسیدهای چرب با زنجیره کوتاه و

آنزیم‌ها، قابلیت هضم را افزایش دهند و جذب مواد غذایی را تقویت کنند (Gatesoupe, 1999). بنابراین پروبیوتیک‌ها ممکن است همراه با خاصیت ضدباکتریایی، بقا و افزایش وزن ماهیان را منجر شوند (Ghosh et al., 2008). افزایش قابل توجه در عملکرد رشد و ماندگاری ماهی‌ها در اثر تغذیه از پروبیوتیک‌ها، ممکن است به دلیل از بین رفتن باکتری‌های مضر توسط باکتری‌های مفید (پروبیوتیکی) یا رشد دیگر میکروارگانیسم‌ها و ترشح ترکیباتی مانند باکتریوسین‌ها باشد (Ghosh et al., 2003; Hevroy et al., 2005). اثر پروبیوتیک‌ها بر رشد ممکن است از طریق چندین مکانیسم از جمله افزایش و در دسترس بودن مواد مغذی برای جذب و فعالیت آنزیم‌های گوارشی در دستگاه گوارش و استفاده از باکتری‌ها به عنوان منبع تغذیه‌ای اضافی، رخ دهد (Doeschate and Coyne, 2008). از این رو، در دسترس بودن مواد مغذی سبب بهبود گوارش و قابلیت هضم و ظرفیت جذب بهتر می‌شود و باعث روند افزایشی شاخص‌های رشد و بقا و کاهش FCR می‌شود (Doeschate and Coyne, 2008; Ghosh et al., 2008). بر این اساس، می‌توان گفت که مقادیر بهبود یافته شاخص‌های رشد توسط ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی باکتری در این مطالعه ممکن است از اثرات مفید یاد شده در بالا ناشی شود. در مطالعه حاضر در شاخص‌های رشد اگرچه افزایش عددی در تیمارهای حاوی باکتری با غلظت‌های مختلف در کمترین مقدار را نشان داد که بهترین عملکرد رشد را داشتند، ولی هیچ‌گونه اختلاف معنی‌دار آماری در بین تیمارهای حاوی باکتری مشاهده نشد. بنابراین به این نکته باید توجه داشت که همیشه بالاترین مقادیر مصرفی لزوما منجر به بهترین عملکردها در رشد نمی‌شوند و غلظت مورد نیاز پروبیوتیک‌ها به منظور القای اثرات مطلوب و جلوگیری از بیماری‌ها در گونه‌های مختلف ماهی در موقعیت‌های مختلف متفاوت است (Kesarcodi-Watson et al., 2008). همچنین نتایج به دست آمده از یافته‌های این مطالعه درباره آنزیم‌های کبدی ALP، AST و ALT نشان داد که در بین تیمارهای دریافت کننده باکتری میزان آنزیم ALP در تیمار ۹ ($MIX_{450}$) و آنزیم‌های ALT و AST در تیمار ۳ ($LL_{450}$) افزایش معنی‌داری را نسبت به شاهد و تیمارهای دیگر داشتند که این افزایش می‌تواند ناشی از مقدار بالای باکتری باشد. تیمارهای با غلظت پایین (۱۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) اختلاف آماری با تیمار شاهد نشان ندادند که خود بیانگر نداشتن اثرات آسیب‌رسان

به کبد است. دو آنزیم ALT و AST نقش بسیار مهمی در خنثی‌سازی عوامل سمی و نیز فعالیت‌های متابولیکی کبد داشته، آنزیم‌های کلیدی برای تعیین عملکرد کبد هستند و بر تاثیر پروبیوتیک‌ها بر فعالیت‌های آنزیمی و در نتیجه، در بعضی از مطالعات بر افزایش روند هضم تاکید شده است (Jafarian et al., 2007). بسیاری از باکتری‌های پروبیوتیکی حاوی آنزیم‌های خارج سلولی هستند که از طریق تحریک اشتها و افزایش متابولیسم میکروبی باعث تقویت تغذیه میزبان می‌شوند (Gildberg et al., 1997). نتایج مطالعه حاضر مشابه با یافته‌های Liu و همکاران (۲۰۱۷) است که گزارش کردند مکمل *B. subtilis* می‌تواند فعالیت‌های آنزیمی ماهی تیلاپیای نیل را تقویت کند و عملکرد رشد ماهی را بهبود بخشد. در مطالعه‌ای دیگر Seonghun و همکاران (۲۰۲۰) بیان کردند که اثرات پروبیوتیک *B. subtilis* و *L. lactis* در ماهی تیلاپیای نیل بر عملکرد آنزیم‌های کبدی AST و ALT با توجه به افزایش عددی تیمارهای حاوی باکتری، اختلاف معنی‌دار آماری بین تیمارهای تغذیه شده با شاهد مشاهده نشد. دلیل اختلاف در نتایج می‌تواند به نوع گونه ماهی بستگی داشته باشد.

پژوهش‌های پیشین نیز نشان دهنده افزایش جذب غذا در ماهی کپور معمولی *Cyprinus carpio* (Yanbo and Zirong, 2006)، ماهی باس دریایی Dicentrarchus labrax (Hamza et al., 2016)، ماهی بارب *Puntius gonionotus* (Allameh et al., 2017) و ماهی تیلاپیای نیل (Liu et al., 2017) است. برخی از پژوهشگران بر این باور هستند که افزایش فعالیت آنزیم‌های کبدی نمی‌تواند همواره بیانگر عملکرد منفی آن باشد (Allameh et al., 2017). نتایج این مطالعه حاکی از افزایش آنزیم‌های کبدی در تیمارهای حاوی باکتری به ویژه با غلظت بالا در تیمار ۳ ($LL_{450}$) و ۹ ($MIX_{450}$) نسبت به تیمارهای دیگر و شاهد بود که این امر نشان دهنده تاثیر باکتری‌های افزوده شده به جیره است. مصرف باکتری‌های *L. lactis* و *B. subtilis* و مخلوط این دو باکتری در غلظت‌های کم در جیره غذایی بچه ماهی اسکار نشان دهنده داشتن اثر مثبت این باکتری‌ها است که در بهبود رشد و آنزیم‌های کبدی ماهی اسکار موثر بودند و به عنوان یک پروبیوتیک احتمالی مطرح هستند. این امر خود بیانگر آن است که مصرف بیش از اندازه در غلظت‌های بالا و در طولانی مدت شاید اثرات منفی به سیستم گوارشی وارد کند.

نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر نشان داد که مصرف باکتری‌های *Lactococcus lactis* و *Bacillus subtilis* و مخلوط این دو باکتری در جیره غذایی بچه ماهی اسکار ببری *Astronotus ocellatus* می‌تواند باعث بهبود رشد شود. بنابراین تاثیر مثبت آن بر شاخص‌های رشد بچه ماهی اسکار ببری مشاهده شد و هر دو باکتری و ترکیب آن‌ها باعث افزایش رشد در تیمارهای حاوی باکتری نسبت به شاهد شد. همچنین آنزیم‌های کبدی در تیمارهای غذایی حاوی باکتری با غلظت‌های پایین نسبت به شاهد تفاوت معنی‌دار نداشت که خود نشان دهنده اثرات کمتر و احتمالا کاهش صدمات کبدی به بچه ماهی اسکار است. در مجموع، با توجه به داده‌های به دست آمده از این مطالعه، می‌توان نتیجه گرفت که افزودن پروبیوتیک به عنوان یک مکمل جیره غذایی در غلظت‌های کم، عملکرد رشد و فعالیت آنزیم‌های کبدی را در بچه ماهیان اسکار بهبود می‌بخشد.

## تشکر و قدردانی

از جناب آقای مهندس جلیل جلیل‌پور کارشناس موسسه تحقیقات بین المللی تاس‌ماهیان دریای خزر که تحلیل آماری نتایج این پژوهش را به عهده داشتند، سپاسگزاری می‌شود.

## منابع


**امامی ف.، محب، ح. و حیدری‌پور ش. ۱۳۸۸.** ماهی اسکار. انتشارات علمی آبزیان. ۴۰ص.

**بیواره م. و جعفریان ح. ۱۳۹۷.** تاثیر دو پربیوتیک تجاری ایمکس، سلماناکس مایع و مخلوط آن‌ها با هم در جیره غذایی بچه ماهیان نورس کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) بر عملکرد رشد، کارایی تغذیه و میزان مقاومت در برابر استرس‌های محیطی. نشریه توسعه آبزی پروری، ۱۲(۴): ۱۶-۱.

**رضوانی گیل‌کلایی ع.، شعیبی عمرانی ب. و افرایی بندپی م. ۱۳۹۸.** اثر پروبیوتیک (*Lactobacillus plantarum*) بر شاخص‌های تغذیه در تاس‌ماهی سیبری *Acipenser baerii*. نشریه توسعه آبزی‌پروری، ۱۳(۱): ۸۸-۷۹.

**شناور ماسوله ع.، سلطانی م.، احمدی م.، پورکاظمی م. و طاهری ع. ۱۳۹۵.** تاثیر تغذیه‌ای لاکتوکوکوس لاکتیس JF831150 *Lactococcus lactis* بر وضعیت فلورباکتریایی روده تاس‌ماهی ایرانی *Acipenser persicus* و مواجه‌سازی با آئروموناس هیدروفیلا. مجله تحقیقات دامپزشکی، ۷۱(۳): ۳۱۰-۳۰۳.

**فیروزبخش ف. و علی‌اصغری م. ۱۳۹۰.** اطلس ماهیان آکواریومی آب شیرین. انتشارات پرتو واقعه. ۱۵۸ص.

**Abd El-Rahman A.M., Khattab Y.A.E. and Shalaby A.M.E. 2009.** *Micrococcus luteus* and *Pseudomonas* species as probiotics for promoting the growth performance and health of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. Fish and Shellfish Immunology, 27: 175–180.

**Allameh S.K., Ringo E., Yusoff F.M., Daud H.M. and Ideris A. 2017.** Dietary supplement of *Enterococcus faecalis* on digestive enzyme activities, short-chain fatty acid production, immune system response and disease resistance of Javanese carp (*Puntius gonionotus*, Bleeker 1850). Aquaculture Nutrition, 23: 331–338.

**Bergmeyer H.U., Horder M. and Rej R. 1986.** Internatonal federation of clinical chemistry (IFCC) scientific committee, anaqlytical section: Approved recommendation (1985) on IFCC method for the measurement of catalytic concentration of enzymes Part3. IFCC method for alanine aminotransferase (L-alanin:2-oxoglutarate aminotransferase EC 2.6.12). Journal of Clinical Chemistry and Clinical Biochemistry, 24: 481–95.

**Biondo M.V. and R.P. Burki 2020.** A systematic review of the ornamental fish trade with emphasis on coral reef fishes- An

impossible task. Animals, 10(11): 1–19.

**Carnevali O., De Vivo L., Sulpizio R., Gioacchini G., Olivotto I. and Silvi S. 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(1-4): 430–458.

**Carnevali O., Zamponi M.C., Sulpizo P., Rollo A., Nardi M., Orpianesi C., Silvi S., Caggiano M., Polzonetti A.M. and Cresci A. 2004.** Administration of probiotic strain to improve sea bream wellness during development. Aquaculture International, 12: 377–386.

**Dey V. 2016.** The global trade in ornamental fish. Infofish International, 4: 53–55.

**DGKC 1972.** Recommendations of the German society for clinical chemistry. Standardization of methods for the determination of enzyme activities in biological fluids. Experimental basis for the optimized standard conditions. Zeitschrift fur Klinische Chemie und Klinische Biochemie, 10(6): 181–191.

**Doeschate K. and Coyne V.E. 2008.** Improved growth rate in farmed *Haliotis midae* through probiotic treatment. Aquaculture, 284: 174–179.

**FAO. 2020.** The State of world fisheries and aquaculture 2020. Sustainability in action. Food and Agriculture Organization, Rome. 224P.

**Firouzbakhsh F., Noori F., Khalesi M.K. and 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.

**Gatesoupe F.J. 1999.** The use of probiotics in aquaculture: A review. Aquaculture, 180: 147–165.

**Gatesoupe F.J. 2002.** Probiotic and formaldehyde treatments of *Artemia* nauplii as food for larval pollack, *Pollachius pollachius*. Aquaculture, 212: 347–360.

**Ghosh K., Sen S. and Ray A. 2003.** Supplementation of an isolated fish gut bacterium, *Bacillus circulans*, in formulated diets for rohu, *Labeo rohita* fingerlings. Bamidgeh, 55: 13–21.

**Ghosh S., Sinha A. and Sahu C. 2008.** Dietary probiotic supplementation in growth and health of live-bearing ornamental fishes. Aquaculture Nutrition, 14: 289–299.

**Gildberg A., Mikkelsen H., Sandaker E. and Ringo E. 1997.**

Probiotic effect of lactic acid bacteria in the feed on growth and survival of fry of Atlantic cod (*Gadus morhua*). Hydrobiologia, 352: 279–285.

**Gobi N., Vaseeharan B., Chen J.C., Rekha R., Vijayakumar S., Anjugam M. and Iswarya A. 2018.** Dietary supplementation of probiotic *Bacillus licheniformis* Dahb1 improves growth performance, mucus and serum immune parameters, antioxidant enzyme activity as well as resistance against *Aeromonas hydrophila* in tilapia *Oreochromis mossambicus*. Fish and Shellfish Immunology, 74: 501–508.

**Hamrang Omshi A., Bahri A., Khara H. and Mohammadizadeh F. 2017.** The effects of lucantin red, yellow and astaxanthin on growth, hematological, immunological parameters and coloration in the tiger oscar (*Astronotus ocellatus* Agassiz, 1831). Iranian Journal of Fisheries Sciences, 18(4): 798–811.

**Hamza A., Fdhila K., Zouiten D. and Masmoudi A.S. 2016.** *Virgibacillus proomii* and *Bacillus mojavensis* as probiotics in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae: Effects on growth performance and digestive enzyme activities. Fish Physiology and Biochemistry, 42: 495–507.

**Hassaninia A., Vahabzadeh Roudsari H. and Sadeghpour A. 2016.** Effect of pink leucantin on white oscar (*Astronotus ocellatus*) skin. Aquaculture Development, 10(1): 23–31.

**Hevroy E.M., Waagbo R., Sandness K., Rund M. and Hermre G.I. 2005.** Nutrition utilization in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed increased level of fish protein hydrolysate during a period of fast growth. Aquaculture Nutrition, 11: 301–313.

**Jafarian H., Azari Takami G., Kamali A., Soltani M. and Habibirezaei M. 2007.** The use of probiotic *Bacillus* bioencapsulated with *Artemia urmiana* nauplii for the growth and survival in *Acipenser persicus* larvae. Journal of Agriculture Sciences and Natural Resources, 14: 32–38.

**Kesarcodi-Watson A., Kaspar H., Lategan M.J. and Gibson L. 2008.** Probiotics in aquaculture: The need, principles and mechanisms of action and screening processes. Aquaculture, 274: 1–14.

**Lee S., Katya K., Park Y., Won S., Seong M. and Bai S.C. 2017.** Comparative evaluation of dietary probiotics *Bacillus subtilis* WB60 and *Lactobacillus plantarum* KCTC3928 on the growth performance, immunological parameters, gut morphology and disease resistance in Japanese eel, *Anguilla japonica*. Fish and

Shellfish Immunology, 61: 201–210.

**Liu H., Wang S., Cai Y., Guo X., Cao Z., Zhang Y., Liu S., Yuan W., Zhu W. and Zheng Y. 2017.** Dietary administration of *Bacillus subtilis* HAINUP40 enhances growth, digestive enzyme activities, innate immune responses and disease resistance of tilapia, *Oreochromis niloticus*. Fish and Shellfish Immunology, 60: 326–333.

**Merrifield D.L., Bradley G., Harper G.M., Baker R.T.M., Munn C.B. and Davies S.J. 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: 73–79.

**Safari O. and Mehraban M. 2013.** Study on the effects of probiotic, *Pediococcus acidilactici* in the diet on some biological indices of oscar (*Astronauts ocellatus*). International Research Journal of Applied and Basic Sciences, 4(11): 3458–3464.

**Seonghun W., Hamidoghli A., Wonsuk C., Youngjin P., Won J.J., In S.K. and Sungchul C.B. 2020.** Effects of *Bacillus subtilis* WB60 and *Lactococcus lactis* on growth, immune responses, histology and gene expression in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. Microorganisms, 8(1): 1–15 (67).

**Verschuere L., Rombaut G., Sorgeloos P. and Verstraete W. 2000.** Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture. Microbiology and Molecular Biology, 64(4): 655–671.

**Xia Y., Lu M., Chen G., Cao J., Gao F., Wang M., Liu Z., Zhang D., Zhu H. and Yi M. 2018.** Effects of dietary *Lactobacillus rhamnosus* JCM1136 and *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* JCM5805 on the growth, intestinal microbiota, morphology, immune response and disease resistance of juvenile Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. Fish and Shellfish Immunology, 76: 368–379.

**Yanbo W. and Zirong X. 2006.** Effect of probiotics for common carp (*Cyprinus carpio*) based on growth performance and digestive enzyme activities. Animal Feed Science Technology, 127: 283–292.

**Aquatic Physiology and Biotechnology**
**Vol. 9, No. 2, Summer 2021**

**Research Paper**

# Effects of diets containing *Lactococcus lactis* and *Bacillus subtilis* on growth indices and hepatic enzymes of tiger oscar (*Astronotus ocellatus*)

**Abbas Hasaninia[1], Habib Vahabzadeh Roudsari[2]*, Hossein Khara[3], Alireza Shenavar Masouleh[4], Mohadeseh Ahmadnezhad[5]**

Received: October 2020 Accepted: April 2021

## Abstract

Tiger oscar (*Astronotus ocellatus*) is a favorite for aquarium fish enthusiasts due to its beauty and compatibility. The study was conducted to evaluate the effects of *Lactococcus lactis* and *Bacillus subtilis* on growth efficacy and hepatic enzymes of oscar by selecting 300 juveniles with a mean weight of 8.96±0.03g and length of 8.23±0.02cm. During 70 days fishes fed by diets contained *L. lactis* and *B. subtilis* in 9 single and combined treatments groups with the number $10^{10}$CFU/g bacteria in treatments which included 150, 300, and 450mg/kg of *L. lactis* ($LL_{150}$, $LL_{300}$, and $LL_{450}$), 150, 300, and 450 mg/kg of *B. subtilis* ($BS_{150}$, $BS_{300}$, and BS450), 150, 300, and 450 mg/kg of an equal mixture of *L. lactis* and *B. subtilis* ($MIX_{150}$, $MIX_{300}$, and $MIX_{450}$) and control group. Finally, their growth indices and hepatic enzymes were assessed. Results showed that applying both bacteria in the feeding of oscar fish has significantly improved the growth indices. Also, adding bacteria in the diet led to increased weight gain (WG), bodyweight index (BWI), average daily growth (ADG), Specific growth rate (SGR), final biomass and protein efficiency ratio (PER) compared to control ($P<0.05$). All single and combined treatments compared to control had the most reduction of FCR which was statistically significant ($P<0.05$). Also, the highest statistically significant difference between hepatic enzymes, alanine aminotransferase and aspartate aminotransferase was measured with control in treatment 3 ($LL_{450}$) and alkaline phosphatase in treatment 9 ($MIX_{450}$) ($P<0.05$). The addition of these bacteria individually or in combination had a positive effect on growth indices and liver enzymes.

**Key words:** *Probiotic, Growth, Tiger Oscar, Bacteria, Hepatic Enzymes*.

1- Ph.D. Student in Fisheries, Department of Fisheries, Lahijan Branch, Islamic Azad University, Lahijan, Iran.
2- Assistant Professor in Department of Fisheries, Lahijan Branch, Islamic Azad University, Lahijan, Iran.
3- Associate Professor in Department of Fisheries, Lahijan Branch, Islamic Azad University, Lahijan, Iran.
4- Assistant Professor in International Sturgeon Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Rasht, Iran.
5- Assistant Professor in Inland Waters Aquaculture Research Center, Iranian Fisheries Sciences Research, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Bandar Anzali, Iran.

*Corresponding Author: Habib.vahabzadeh@gmail.com