

## یافته علمی کوتاه:

## اثر پروبیوتیک انتروکوکوس فکالیس بر رشد، شاخص‌های خونی و فعالیت آنزیم‌های گوارشی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

نیلوفر دیلمی<sup>۱</sup>، الهام معظمیان<sup>\*</sup>، محمد سعید فریدونی<sup>۲</sup>، پریا اکبری<sup>۳</sup>

\*elhammoazamian@gmail.com

۱- گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم، کشاورزی و فناوری‌های نوین، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شیراز، شیراز، ایران

۲- بخش آبزیان، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

۳- گروه شیلات، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، ایران

تاریخ پذیرش: اسفند ۱۳۹۹

تاریخ دریافت: آذر ۱۳۹۸

**لغات کلیدی:** پروبیوتیک، انتروکوکوس فکالیس، شاخص‌های رشد، قزل‌آلای رنگین‌کمان، فعالیت آنزیم‌های گوارشی

این پژوهش در اردیبهشت ۱۳۹۷ در کارگاه بخش آبزیان دانشکده دامپزشکی شیراز انجام شد. ۲۴۰ عدد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان از مزرعه پرورش خصوصی واقع در روستای ۱۵ کیلومتری شهرستان سپیدان شیراز خریداری شده و پس از طی مرحله سازگاری به مدت دو هفته و اطمینان از سلامتی آنها، با میانگین وزنی  $12 \pm 1/2$  گرم شمارش و با تراکم ۲۰ عدد به ۱۲ آکواریوم‌های شیشه‌ای ۸۰ لیتر منتقل شدند. به طور میانگین در کل دوره درجه حرارت آب  $16/8 \pm 0/9$  درجه سانتی‌گراد، اکسیژن محلول  $8/03 \pm 0/67$  میلی‌گرم بر لیتر و pH آب  $7/4 \pm 0/3$  بود. طی دوره آزمایش دوره نوری به صورت ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی بود.

از پروبیوتیک انتروکوکوس فکالیس (NBRC 100480) به‌دست آمده از روده ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان مزارع خصوصی پرورش ماهی واقع در شیراز که بیش از این با

در سال‌های اخیر آبی‌پروری یکی از سریع‌الرشدترین بخش‌های تولید مواد غذایی بوده است. صنعت آبی‌پروری به رغم رشد قابل توجه، همواره با مشکلاتی روبه‌رو بوده است که از جمله می‌توان به کنترل کیفیت آب، شیوع بیماری‌ها اشاره نمود (Heo et al., 2013)؛ قاسم‌زاده و همکاران، (۱۳۹۷). در زمینه کنترل بیماری‌ها، استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها مطرح گردید که پس از سال‌ها این داروها خود مشکلات عدیده‌ای از جمله مقاوم شدن پاتوژن‌ها و مسائل زیست محیطی را ایجاد نمودند (کرمی شیرازی و همکاران، ۱۳۹۹)؛ یزدان پناه گوهر ریزی و همکاران، (۱۳۹۹). در سال‌های اخیر استفاده از پروبیوتیک‌ها به عنوان جایگزینی برای روش‌های درمانی قبلی مطرح گردیده است که به نظر می‌رسد می‌تواند بسیاری از مشکلات را مرتفع سازد (Al-Dohail et al., 2009).

نئوبار و تعداد گلبول سفید در میلی‌متر مکعب خون نیز با محلول Levis در ۰/۱ گرم کریستال بلو<sup>۲</sup> و با لام نئوبار برای هر سه تکرار نمونه محاسبه گردید (Rehulka, 2000). اندازه‌گیری هموگلوبین با استفاده از محلول در آبکین و در طول موج ۴۰ نانومتر و با منحنی استاندارد تعیین شد و درصد هماتوکریت نیز با پرکردن لوله‌های مؤئینه هپارینه و بستن آن با خمیر مخصوص پس از سانتیفریوژ با سرعت ۱۴۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه با سانتیفریوژ میکروهماتوکریت محاسبه گردید (Trenzado et al., 2009).

به منظور سنجش فعالیت آنزیم‌های لیپاز، آمیلاز و پروتئاز و آلکالین فسفاتاز، در پایان دوره آزمایش (۸ هفته)، ۴۸ ساعت قبل از نمونه‌برداری غذادهی قطع گردید تا دستگاه گوارش آنها از مواد غذایی تخلیه شود (Dequara et al., 2003). سپس از ۶ قطعه ماهی در هر تیمار روده با دقت جدا شد میزان فعالیت آنزیم آمیلاز بر اساس روش Natalia و همکاران (۲۰۰۴) در جذب نوری ۵۴۰ نانومتر، میزان فعالیت آنزیم پروتئاز در جذب نوری ۲۸۰ نانومتر و میزان فعالیت آنزیم لیپاز به روش King (۱۹۶۵) در جذب نوری ۴۸۰ نانومتر با استفاده از محلول‌ها و استانداردهای مربوطه و کیت‌های تجاری (پارس آزمون، تهران) مورد سنجش قرار گرفتند. سنجش فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز با استفاده از کیت تشخیصی شرکت پارس آزمون تهران توسط دستگاه اتوآنالایزر (مدل BT-۱۵۰۰ کشور ایتالیا) صورت گرفت.

از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف جهت بررسی توزیع نرمال داده‌ها استفاده شد. سپس مقایسه میانگین داده‌های آماری بین تیمارها، از طریق آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و آزمون مقایسه چند دامنه‌ای دانکن، در سطح احتمال ۵ درصد صورت گرفت. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم افزار SPSS 16 در محیط ویندوز XP استفاده گردید.

نتایج این تحقیق نشان داد که استفاده از پروبیوتیک انتروکوکوس فکالیس در سطح  $5 \times 10^8$  واحد تشکیل کلنی

توالی‌یابی ژنی تأیید شده بود، استفاده شد. ابتدا باکتری انتروکوکوس فکالیس، در یک لوله آزمایش ۱۰ میلی‌لیتر، به محیط کشت اختصاصی باکتری‌های اسید لاکتیک (MRS)<sup>۱</sup> و ژلوز خون تلقیح و به مدت ۴ ساعت انکوباسیون و در ۳۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند و تعداد کلنی‌ها با دستگاه اسپکتروفتومتر پس از ۸، ۱۲ و ۲۴ ساعت انکوباسیون شمارش شدند. دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۲۵ نانومتر تنظیم شد. محیط کشت خالص MRS به‌عنوان شاخص صفر استفاده شد و پس از تنظیم صفر دستگاه، از سوسپانسیون غلیظ شده باکتریایی آن‌قدر به محیط کشت اضافه شد تا OD جذبی دستگاه به ۰/۰۹ برسد. بر طبق تعریف OD در دامنه ۰/۱ - ۰/۰۸ معادل ۰/۵ مک فارلند باکتری‌هاست. این سوسپانسیون تا میزان مورد استاندارد باکتری‌ها برای اضافه شدن به جیره ( $3 \times 10^8$ ،  $5 \times 10^8$ ،  $8 \times 10^8$  واحد تشکیل کلنی بر گرم غذا) رقیق شد. سپس به غلظت‌های مورد نظر باکتری ۱۵ میلی‌لیتر روغن ماهی اضافه شده و برای اسپری کردن بر جیره‌های آزمایشی آماده شد (قاسم‌زاده و همکاران، ۱۳۹۷؛ جوانمردی و همکاران، ۱۳۹۸).

به منظور اندازه‌گیری شاخص‌های رشد، در انتهای آزمایش تمام ماهی‌ها هر مخزن خارج شده و وزن (با دقت ۰/۰۱ گرم) و طول کل (با دقت ۱ میلی‌متر) آنها ثبت گردید. با استفاده از داده‌های حاصل از زیست سنجی‌ها، در بررسی پارامترهای رشد، معیارهایی مانند، افزایش وزن بدن، نرخ رشد ویژه، ضریب تبدیل غذایی و ضریب وضعیت محاسبه شدند (Heo et al., 2013).

در پایان دوره آزمایش، به‌منظور تعیین شاخص‌های خونی از ۶ قطعه ماهی در هر تیمار، خون‌گیری صورت گرفت. ابتدا ماهیان با پودر گل میخک (۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر) بیهوش شدند (قاسم‌زاده و همکاران، ۱۳۹۷). سپس با استفاده از سرنگ هپارینه شده انسولین، از قلب آنها خون‌گیری و اندازه‌گیری تعداد گلبول قرمز در میلی‌متر مکعب خون با محلول رقیق‌کننده رنگی (Levis) و لام

<sup>2</sup> Brilliant crystal blue

<sup>1</sup> DeMan, Rogosa and Sharpe

غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان پس از ۵۶ روز، منجر به افزایش وزن ماهی در مقایسه با تیمار شاهد شده نتایج این یافته‌ها با نتایج حاصل از این تحقیق مطابقت داشتند. همچنین برخی باکتری‌های پروبیوتیک توانایی ترشح آنزیم‌های گوارشی در دستگاه گوارش میزبان داشتند و احتمالاً می‌توانند باعث بهبود فرآیند هضم و جذب مواد غذایی و در نتیجه افزایش رشد میزبان شوند (Suzer *et al.*, 2008) (جدول‌های ۱ الی ۳).

بر گرم غذا در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان منجر به افزایش معنی‌دار وزن نهایی، درصد افزایش وزن بدن و کاهش معنی‌دار ضریب تبدیل غذایی در مقایسه با سایر تیمارها و گروه شاهد شد. می‌توان گفت دلیل بهبود رشد می‌تواند به علت تاثیر مثبت این باکتری بر فلور دستگاه گوارش و افزایش میزان هضم و جذب غذای مصرفی صورت گرفته باشد. همچنین Ramos و همکاران (۲۰۱۳) نشان دادند که استفاده از پروبیوتیک تجاری (حاوی انتروکوکوس، باسیلوس و پدیدوکوکوس) در جیره

جدول ۱: مقایسه میانگین (میانگین ± خطای معیار) شاخص‌های رشد، بقاء و تغذیه در تیمارهای مختلف در طول دوره آزمایش

Table 1: Comparison of mean (Means ± SE) of growth, survival and nutrition indices in different treatments during the experimental period

تیمار			شاخص‌ها	
غذای تجاری کامل شده واحد تشکیل با $8 \times 10^8$	غذای تجاری کامل شده واحد تشکیل با $5 \times 10^8$	غذای تجاری کامل شده واحد تشکیل با $3 \times 10^8$	شاهد غذای تجاری کامل نشده با پروبیوتیک	
کلنی بر گرم	کلنی بر گرم	کلنی بر گرم	کلنی بر گرم	
۱۲/۳۲±۰/۷۴	۱۲/۳۲±۰/۶۱	۱۱/۶۴±۰/۸۴	۱۱/۷۸±۰/۷۷	وزن اولیه (گرم)
۴۸/۱۱±۰/۵۲ <sup>c</sup>	۵۰/۴۲±۰/۵۲ <sup>a</sup>	۴۸/۸۹±۰/۵۳ <sup>b</sup>	۴۷/۹۴±۰/۸۸ <sup>c</sup>	وزن نهایی (گرم)
۳۵/۷۹±۰/۶۳ <sup>b</sup>	۳۸/۰۸±۰/۷۸ <sup>a</sup>	۳۷/۲۵±۰/۷ <sup>a</sup>	۱۱/۷۸±۰/۷۷	افزایش رشد
۱/۰۶±۰/۰۱ <sup>c</sup>	۰/۹۹±۰/۰۲ <sup>d</sup>	۱/۱۰±۰/۰۲ <sup>b</sup>	۴۷/۹۴±۰/۸۸ <sup>c</sup>	ضریب تبدیل غذایی
۲/۴۳±۰/۰۹	۲/۵۱±۰/۰۹	۲/۵۶±۰/۱۲	۳۶/۱۶±۰/۲۳ <sup>b</sup>	ضریب ویژه رشد
۱/۰۹±۰/۳۹	۱/۰۹±۰/۵۹	۱/۰۷±۰/۷۸	۱/۲۷±۰/۰۴ <sup>a</sup>	ضریب چاقی (CF)
۹۶/۸۴±۰/۶۸	۹۷/۴۵±۰/۴۳	۹۸/۰۰±۰/۰۰	۲/۰±۰/۱۲	بقاء (درصد)

وجود حروف غیرهمسان در هر ردیف نشانه اختلاف معنی‌دار است ( $p < 0.05$ ).

جدول ۲: مقایسه میانگین (میانگین ± خطای معیار) شاخص‌های خونی در تیمارهای مختلف در پایان دوره آزمایش

Table 2: Comparison of mean (Means ± SE) of blood indices in different treatments at the end of the experimental period

تیمار			شاخص‌ها	
غذای تجاری کامل شده واحد تشکیل با $8 \times 10^8$	غذای تجاری کامل شده واحد تشکیل با $5 \times 10^8$	غذای تجاری کامل شده واحد تشکیل با $3 \times 10^8$	شاهد غذای تجاری کامل نشده با پروبیوتیک	
کلنی بر گرم	تشکیل کلنی بر گرم	کلنی بر گرم	کلنی بر گرم	
۱۳۳۳۰/۸۵±۵۸۹۳/۸۹	۱۶۱۸۳/۳۳±۵۴۱/۹۱	۱۴۲۴۲/۲۰۸۵±۵۵۶/۳۴	۱۳۸۹۸/۳۳±۶۳۹/۳۸	وزن اولیه (گرم)
۱۹۵۸۵۷۱/۴۲±۸۵۵۲۳/۵۹ <sup>a</sup>	۲۰۵۱۳۶۶/۶۶±۱۵۳۴۱۶/۶۴ <sup>a</sup>	۱۷۶۱۴۲۸/۵۷±۶۰۳۹۵/۵۲ <sup>b</sup>	۱۷۳۳۳۳/۳۳±۷۳۶۵/۹۰ <sup>b</sup>	وزن نهایی (گرم)
۷/۲۸±۰/۳۱ <sup>a</sup>	۷/۵۰±۰/۴۰ <sup>a</sup>	۶/۷۷±۰/۱۲ <sup>b</sup>	۶/۵۴±۰/۲۴ <sup>b</sup>	افزایش رشد
۴۴/۸۵±۱/۷۷ <sup>a</sup>	۴۳/۵۶±۱/۳۸ <sup>a</sup>	۴۳/۰۷±۱/۲۵ <sup>b</sup>	۳۷/۳۰±۰/۸۳ <sup>b</sup>	ضریب تبدیل غذایی

وجود حروف غیرهمسان در هر ردیف نشانه اختلاف معنی‌دار است ( $p < 0.05$ ).

به افزایش هموگلوبین، هماتوکریت و گلبول قرمز خون شد که با نتایج این تحقیق همخوانی داشتند. می‌توان گفت که افزایش فاکتورهای خونی در این آزمایش، می‌تواند به عنوان شاخصی در جهت بهبود سیستم ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با پروبیوتیک انتروکوکوس فکالیس باشد.

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که بیشترین تعداد گلبول قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت مربوط به تیمارهای حاوی  $5 \times 10^8$  و  $8 \times 10^8$  واحد تشکیل کلنی بر گرم غذا بود. علیرزاده رودپشتی و همکاران (۱۳۹۶) نشان دادند که استفاده از پروبیوتیک انتروکوکوس فکالیس در جیره غذایی تاس ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) منجر

جدول ۳: مقایسه میانگین (میانگین  $\pm$  خطای معیار) فعالیت آنزیم‌های گوارشی در تیمارهای مختلف در پایان دوره آزمایش  
Table 3: Comparison of mean (Means  $\pm$ SE) activity of digestive enzymes in different treatments at the end of the experimental period

تیمار			شاخص‌ها
غذای تجاری مکمل شده واحد تشکیل با $8 \times 10^8$ کلنی بر گرم	غذای تجاری مکمل شده واحد تشکیل با $5 \times 10^8$ کلنی بر گرم	غذای تجاری مکمل واحد شده با $3 \times 10^8$ تشکیل کلنی بر گرم	شاهد غذای تجاری مکمل نشده با پروبیوتیک
$0.52 \pm 0.01$	$0.49 \pm 0.04$	$0.30 \pm 0.01$	$0.42 \pm 0.02$
$1.22 \pm 0.14$	$1.57 \pm 0.51$	$1.12 \pm 0.08$	$1.27 \pm 0.29$
$0.07 \pm 0.01^b$	$0.05 \pm 0^b$	$0.12 \pm 0.05^a$	$0.17 \pm 0.01^a$
$0.16 \pm 0.02^a$	$0.16 \pm 0.02^a$	$0.08 \pm 0^b$	$0.11 \pm 0.04^b$

وجود حروف غیرهمسان در هر ردیف نشانه اختلاف معنی‌دار است ( $p < 0.05$ ).

گوارش آن را ترشح می‌کند، می‌توانند منجر به افزایش سطح فعالیت این آنزیم، بهبود هضم و جذب مواد غذایی و در نتیجه کاهش چشم‌گیر ضریب تبدیل غذایی و بهبود رشد گردند (Ziaei-Nejad et al., 2006). همچنین محمدیان و همکاران (۱۳۹۶) گزارش کردند که استفاده از پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازئی در جیره غذایی ماهی شیربت (*Barbus grypus*)، تاثیر معنی‌داری بر فعالیت آنزیم لیپاز نداشت که با تحقیق حاضر همخوانی داشتند که دلیل این امر احتمالاً می‌تواند به دلیل عدم تحریک سیستم دستگاه گوارش به تولید آنزیم آمیلاز و لیپاز به شکل موثر یا عدم تولید لیپاز و آمیلاز به صورت خارج سلولی از طریق باکتری مورد استفاده در این آزمایش باشد.

به طور کلی، نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که استفاده از پروبیوتیک انتروکوکوس فکالیس در سطح  $5 \times 10^8$  واحد تشکیل کلنی بر گرم غذا در جیره غذایی به

در تحقیق حاضر، بیشترین میزان فعالیت آنزیم پروتئاز و کمترین فعالیت آنزیم آمیلاز در تیمارهای حاوی  $5 \times 10^8$  و  $8 \times 10^8$  واحد تشکیل کلنی بر گرم غذا مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری را با تیمار حاوی  $3 \times 10^8$  واحد تشکیل کلنی بر گرم غذا و تیمار شاهد نشان دادند. تحقیقات گذشته نشان داده‌اند که استفاده از مکمل‌های غذایی میکروبی سبب بهبود اختصاصی آنزیم‌های گوارشی مختلف آبزبان می‌شود. برای مثال، افزودن پروبیوتیک باسیلوس در جیره غذایی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) (Yanbo and Zirong, 2006) منجر به بهبود فعالیت آنزیم پروتئاز شد که با تحقیق حاضر همخوانی داشت. احتمالاً استفاده از پروبیوتیک انتروکوکوس فکالیس منجر به افزایش بازده استفاده از پروتئین‌های موجود در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌شود و با تحریک ترشح آنزیم پروتئاز میزبان و همچنین افزایش سطح آنزیم پروتئاز خارجی که فلور میکروبی دستگاه

سیستم آزمایش گنوتوبیوتیک (Gnotobiotic). مجله علمی شیلات ایران، ۲۹(۱): ۱۰۵-۱۱۶. DOI: 10.22092/ISFJ.2019.121007

محمدیان، ت.، علیشاهی، م.، تابنده، م.ر.، دوسعلی، ز. و جانگران نژاد، ع.ج.، ۱۳۹۶. بررسی اثر سطوح مختلف پروبیوتیک *Lactobacillus casei* بر عملکرد رشد و فعالیت آنزیم‌های گوارشی ماهی شیربت (*Barbus grypus*). مجله تحقیقات دامپزشکی، ۷۲(۱): ۴۳-۵۲. DOI: 10.22059/JVR.2017.61289

یزدان پناه گوهرریزی، ل.، رخ بخش زمین، ف.، ذریه زهرا، ج.، کاظمی پور، ن. و خیرخواه، ب.، ۱۳۹۹. بررسی اثرات استفاده از باکتریوفاژ AHΦ3 در میزان بازماندگی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) آلوده به باکتری *Aeromonas hydrophila* در شرایط درون‌تنی (*in vivo*). مجله علمی شیلات ایران، ۲۹(۱): ۳۷-۴۸. DOI: 10.22092/ISFJ.2019.121007

Al-Dohail, M.A., Hashim, R. and Aliyu-Paiko, M., 2009. Effects of the probiotic, *Lactobacillus acidophilus*, on growth performance, hematology parameters and immunoglobulin concentration in African Catfish (*Clarias gariepinus*, Burchell 1822) fingerling. *Aquaculture Research*, 40: 1642-1652. DOI:10.1111/j.1365-2109.2009.02265.x

Dequara, S., Jauncey, K. and Agius, C., 2003. Enzyme activities and pH variations in the digestive tract of gilthead sea bream. *Journal of Fish Biology*, 62:1033-1043. DOI: 10.1046/j.1095-8649.2003.00094.x

Heo, W.S., Kim, Y., Kim, E., Bai, S. and Kong, S., 2013. Effects of dietary probiotic, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* I2, supplementation on the growth and

منظور بهبود رشد، شاخص خونی و فعالیت آنزیم پروتئاز ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌تواند در مزارع پرورش توصیه گردد.

## تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از همکاری کارشناس محترم آزمایشگاه بخش آبیان دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز قدردانی می‌گردد.

## منابع

جوانمردی، س.، رضایی توابع، ک.، مرادی، س. و بیات غیائی، ل.س.، ۱۳۹۸. اثرات تغذیه‌ای پروبیوتیک لاکتوباسیلوس رامنوسوس (*Lactobacillus rhamnosus*) بر عملکرد رشد، فعالیت آنزیم‌های هضمی و میزان مقاومت در برابر *Aeromonas hydrophila* در ماهی تیلاپپای نیل (*Oreochromis niloticus*). فصلنامه علمی-پژوهشی محیط زیست جانوری، ۱۱(۲): ۱۶۲-۱۵۶.

علیزاده رود پشته، م.، شناور ماسوله، ع.ر.، جلیل پور، ج.، معصوم زاده، م.، بازاری مقدم، س.، یگانه، ه. و عزیززاده، ل.، ۱۳۹۶. اثر انتروکوکوس فکالیس (*Enterococcus faecalis*) به عنوان پروبیوتیک بر شاخص‌های خونی و سرمی بچه ماهی تاس ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*). نشریه توسعه آبری پروری، ۱۱(۱): ۱۰۲-۸۹.

قاسم‌زاده، ج.، شکوه سلجوقی، ظ.، اکبری، پ. و حسنی، م.، ۱۳۹۷. اثر پروبیوتیک لاکتوکوکوس لاکتیس (سویه PTCC1403) در جیره غذایی بر شاخص‌های رشد، درصد بازماندگی ماهی کفال خاکستری (*Mugil cephalus*) در برابر باکتری لاکتوکوکوس گارویه‌آ. فصلنامه علمی-پژوهشی محیط زیست جانوری، ۴: ۴۷۴-۲۶۴.

کرمی شیرازی، م.ل.، سوری نژاد، ا. و سلطانیان، س.، ۱۳۹۹. تاثیر محرک ایمنی زایموزان بر رشد و مقاومت *Artemia franciscana* در برابر عفونت باکتری‌های *Vibrio proteolyticus* و *Vibrio campbellii*

- (*Paralichthys olivaceus*). *Aquaculture*, 24: 376-379.  
DOI:10.1016/j.aquaculture.2012.11.009
- King, J., 1965.** Practical clinical enymology.363 pp D'van Nostrand Company Ltd, New York.
- Natalia, Y., Hashim, R., Ali, A. and Chong, A., 2004.** Characterization of digestive enzymes in a carnivorous ornamental fish, the Asian bony tongue *Scleropages formosus* (Osteoglossidae). *Aquaculture*, 233: 305–320.  
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2003.08.012>
- Ramos, M.A., Weber, B, Gonçalves, J.F, Santos, G.A., Rema, P. and Ozório, R., 2013.** Dietary probiotic supplementation modulated gut microbiota and improved growth of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Comparative Biochemistry Physiology, Part A Molecular and Integrative Physiology*, 166: 302-307.  
DOI: 10.1016/j.cbpa.2013.06.025
- Rehulka, J., 2000.** Influence of astaxanthin on growth rate, condition, and some blood indices of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 190: 27-47. DOI: 10.1016/S0044-8486(00)00383-5
- Suzer, C., Çoban, D., Kamaci, H.O., Saka, S., Firat, K., Otgucuoğlu, Ö. and** immune response of olive flounder **Küçüksari, H., 2008.** *Lactobacillus* spp. bacteria as probiotics in gilthead sea bream (*Sparus aurata*, L.) larvae Effects on growth performance and digestive enzyme activities. *Aquaculture*, 280: 140-145. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2008.04.020
- Trenzado, C.E., Morales, A.E., Palma, J.M. and Higuera, M.D.L., 2009.** Blood antioxidant defenses and hematological adjustments in crowded rainbow trout (*Oncorhynchus* (fed on diets with different levels of antioxidant vitamins and HUFA. *Journal of Comparative Biochemistry and Physiology. Part C*, 149: 440– 447  
DOI:10.1016/j.cbpc.2008.10.105
- 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 and Technology*, 127: 283-292.  
DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2005.09.003
- Ziaei-Nejad, S., Rezaei, M.H., Takami, G.A., Lovett, D.L., Mirvaghefi, A.R. and Shakouri, M., 2006.** The effect of *Bacillus* spp. bacteria used as probiotics on digestive enzyme activity, survival and growth in the Indian *Fenneropenaeus indicus*. *Aquaculture*, 252: 516-524.  
DOI:10.1016/j.aquaculture.2005.07.021.

**Effect of *Enterococcus faecalis* probiotic on growth, blood parameters and digestive enzymes activity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)**

Deilami N.<sup>1</sup>; Moazamian E.<sup>1\*</sup>; Fereidouni M.S.<sup>2</sup>; Akbary P.<sup>3</sup>

\*elhammoazamian@gmail.com

1-Department of Microbiology, Faculty of Sciences, Agriculture and modern Technology, Shiraz Branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran

2-Aquatic Animal Health Unit, School of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz, Iran

3-Fisheries Group, Marine Sciences Faculty, Chabahar Maritime University, Chabahar, Iran

**Abstract**

The present study was conducted to evaluate the effect of supplementation of *Enterococcus faecalis* “subspecies NBRC 100480 on the growth performance, blood parameters and digestive enzymes activity of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) for 8 weeks. The experiment was conducted in a completely randomized design with 240 of rainbow trout with average weight of  $12 \pm 1.20$  g in 4 treatments and 3 replicates (n=20 in each replicate) and included: control group without using of supplementation of probiotic and another groups the amounts of this probiotic supplement were  $3 \times 10^8$ ,  $5 \times 10^8$ ,  $8 \times 10^8$  CFU/g feed. The results showed that the highest final weight and the lowest FCR were observed in treatments containing  $5 \times 10^8$  CFU/g feed and showed significant difference with control and another treatment ( $p < 0.05$ ). The highest protease enzyme activity, RBC, Hb and Htc were observed in treatments containing  $5 \times 10^8$  and  $8 \times 10^8$  CFU/g feed ( $p < 0.05$ ). Overall we concluded that the using of  $5 \times 10^8$  CFU /g feed of *E. faecalis* in the diet could improve growth, blood parameters and protease enzyme activity of rainbow trout.

**Keywords:** Probiotic, *Enterococcus faecalis*, Growth parameters, rainbow trout, Digestive enzymes activity

---

\*Corresponding author