

The Effects of Using Dietary *Lactobacillus plantarum* and Lactoferrin on the Growth Parameters in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*)

A. GH. OWNAGH^{1*}, N. AGH², H. AZIZI³,
B. H. RAHMAN³

1. Associate Professor of Microbiology Department, Faculty of Veterinary Medicine, University of Urmia, Iran, 2. Associate Professor of Artemia and Aquatic Animals Research, University of Urmia, Iran
3. Graduate of Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, University of Urmia, Iran
4. Ph.D. Student in microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Urmia, Iran
(Received: Jun. 30, 2014; Accepted: Nov. 20, 2014)

ABSTRACT

Use of growth and feeding stimulators have proven to have an important role in the development of aquaculture industry. In this study, the investigation the effect of *Lactobacillus plantarum* (*L. plantarum*) and lactoferrin on growth and feeding indices of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Were studied 900 fish (average weight 20 ± 2 g) were divided into 6 feeding treatments supplemented with different doses of *L. plantarum* and lactoferrin and were fed for two months. Growth and feeding parameters including wet weight (wet W), standard length (SL), feed conversion ratio (FCR), specific growth rate (SGR) and condition factor (CF) were measured on days 0, 15, 30, 45 and 60 and compared with the control group. The results showed that treatments receiving diets containing *L. plantarum* 10^8 cfu/kg and treatments that received 200 mg/kg lactoferrin in diet had significantly higher growth compared to the control group ($p < 0.05$). But combined use of *L. plantarum* and lactoferrin did not show any reinforcing effect on feeding and growth parameters. It seems that supplementation of 10^8 cfu of *L. plantarum* and 200 mg of lactoferrin per kg of diet, alone, is more effective and less expensive way to enhance growth and feeding indices in rainbow trout compared to their combined use.

Keywords: *Lactobacillus plantarum*, Lactoferrin, Growth Parameter, Rainbow Trout.

اثرات استفاده *Lactobacillus plantarum* و لاکتوفرین در جیره غذایی بر شاخص‌های رشد ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

عبدالغفار اونق^{۱*}، ناصر آق^۲، حمید عزیزی^۳،
بنت‌الهدی رحمان^۳

۱. دانشیار گروه میکروبی شناسی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران، ۲. دانشیار پژوهشکده آرتمیا و جانوران آبی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران، ۳. دانش‌آموخته دکترای دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران، ۴. دانشجوی دکترای تخصصی میکروبی شناسی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران
(تاریخ دریافت: ۹۳/۴/۹، تاریخ تصوب: ۹۳/۸/۲۹)

چکیده

استفاده از محرک‌های مؤثر بر فاکتورهای رشد و تغذیه در پرورش آبزیان، در پیشرفت و توسعه صنعت آبزی‌پروری نقش مهمی دارد. در این مطالعه، اثر پروبیوتیک *Lactobacillus plantarum* و لاکتوفرین در بهبود شاخص‌های رشد و تغذیه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) مورد بررسی قرار گرفته است. ۹۰۰ قطعه بچه ماهی (میانگین وزنی 20 ± 2 گرم) به ۶ تیمار تغذیه‌ای حاوی مقادیر مختلف *Lactobacillus plantarum* و لاکتوفرین تقسیم شده و به مدت دو ماه تغذیه شدند. در طول دوره پرورشی در روزهای صفر، ۱۵، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ فاکتورهای رشد و تغذیه هر گروه، شامل وزن تر (wet W)، طول استاندارد (SL)، ضریب تبدیل غذا (FCR)، ضریب رشد ویژه (SGR) و ضریب چاقی (CF) مورد ارزیابی قرار گرفت و با گروه شاهد مقایسه شد. نتایج نشان داد که تیمارهای دریافت‌کننده 10^8 cfu *Lactobacillus plantarum* به ازای هر کیلوگرم جیره و نیز تیمارهایی که ۲۰۰ میلی‌گرم لاکتوفرین به ازای هر کیلوگرم جیره دریافت کردند در مقایسه با گروه شاهد از رشد مطلوب‌تری برخوردار بودند ($p < 0.05$). ولی به دنبال استفاده توأم از *Lactobacillus plantarum* و لاکتوفرین اثر تقویتی در بهبود فاکتورهای رشد و تغذیه ماهی مشاهده نشد. به نظر می‌رسد استفاده از 10^8 cfu *Lactobacillus plantarum* و ۲۰۰ میلی‌گرم لاکتوفرین در هر کیلوگرم غذا، به تنهایی، در مقایسه با استفاده توأم آنها روشی مؤثرتر و کم‌هزینه‌تر جهت بهبود شاخص‌های رشد و تغذیه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان باشد.

واژه‌های کلیدی: *Lactobacillus plantarum*، لاکتوفرین، شاخص رشد، قزل‌آلای رنگین‌کمان.

مقدمه

آبزی پروری قرن‌هاست که در جوامع مختلف در حال انجام است، اما تنها در چند دهه گذشته تبدیل به فرایندی صنعتی شده است (Melamed *et al.*, 2002). بهره‌گیری از محرک‌های مؤثر بر فاکتورهای رشد و تغذیه می‌تواند به توسعه و گسترش سیستم‌های پرورشی در این صنعت کمک شایانی نماید. از جمله این محرک‌ها می‌توان به پروبیوتیک‌ها و لاکتوفرین اشاره نمود. مطالعات بسیاری در مورد اثرات این ترکیبات بر پارامترهای مختلف در آبزیان انجام گرفته است (Sakai *et al.*, 1993; Panigrahi *et al.*, 2005; Yokoyama *et al.*, 2006; Son *et al.*, 2009; Lotfiet *et al.*, 2012).

استفاده از پروبیوتیک‌ها در پرورش حیوانات اهلی از سال‌ها قبل مرسوم بوده و در سال‌های اخیر در آبزی‌پروری نیز متداول شده است (Makridiset *et al.*, 2001). این باکتری‌ها با تأثیرگذاری بر فلور میکروبی روده میزبان تأثیر بسیار مطلوبی بر افزایش قابلیت هضم و جذب مواد غذایی، افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی و ارتقای معیارهای رشد در ماهی داشته‌اند (Nikoskelainen *et al.*, 2003). جنس لاکتوباسیلوس از مهمترین پروبیوتیک‌ها است که بیش از ۵۰ گونه را شامل می‌شود (Tannock, 2004). یکی از اعضای مهم این جنس *Lactobacillus plantarum* می‌باشد. دارای خاصیت ضد میکروبی علیه عوامل پاتوژن معمول در آبزیان همچون آئروموناس هیدروفیلا و ادواردسیلا تاردا می‌باشد (Bucio *et al.*, 2009). همچنین این پروبیوتیک به رشد و هضم غذا در ماهی تیلاپیا کمک می‌نماید (Essa *et al.*, 2010; Abumourad *et al.*, 2013).

لاکتوفرین، یک پروتئین چندعملکردی متعلق به خانواده انتقال‌دهنده آهن است و نقش مهمی در سیستم ایمنی غیراختصاصی دارد (Badawy and

Al-Kenawy, 2013). مطالعات بسیاری فعالیت ضدباکتریایی (Ellison *et al.*, 1988)، ضدویروسی (Van der Strate *et al.*, 2001)، ضدقارچی (Kirkpatrick *et al.*, 1971)، ضدانگلی (Gonzalez-Chavez *et al.*, 2009)، ضدالتهاپی و نیز خاصیت تنظیم‌کنندگی سیستم ایمنی (Breton-Gorius *et al.*, 1980) این ماده گلیکوپروتئینی را تأیید نموده است. همچنین لاکتوفرین در بهبود وضعیت ایمنی‌زایی ناشی از واکسن‌ها و در نتیجه افزایش مقاومت در برابر بیماری‌ها تأثیر بسزایی دارد (Gonzalez-Chavez *et al.*, 2009).

با توجه به این‌که تاکنون اثرات استفاده ترکیبی از این دو محرک در ماهی‌ها مورد بررسی قرار نگرفته است، هدف از این مطالعه مقایسه اثرات تغذیه‌ای پروبیوتیک *Lactobacillus plantarum* و لاکتوفرین، به صورت توأم و تنها، بر پارامترهای رشد و تغذیه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بود.

مواد و روش‌ها

تعداد ۱۰۰۰ قطعه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان نژاد فرانسوی با میانگین وزنی 2 ± 20 گرم از یک کارگاه تکثیر و پرورش ماهی در ارومیه تهیه شد و با تانکر مخصوص حمل مجهز به مخزن اکسیژن به حوضچه‌های پژوهش‌شده آرمیای دانشگاه ارومیه انتقال یافت. به منظور رعایت اصول بهداشتی و ایجاد آدپتاسیون، بچه‌ماهیان منتقل شده به مدت دو هفته در شرایط قرنطینه نگهداری شوند. سپس به ۶ نوع تیمار مختلف غذایی گروه‌بندی شدند و برای هر تیمار ۳ تکرار در نظر گرفته شد. برای هر تکرار تعداد ۵۰ قطعه ماهی به صورت تصادفی انتخاب شد و به تانکرهای فایبرگلاسی با ظرفیت ۳۰۰ لیتر انتقال یافت. ماهیان گروه‌بندی شده برای مدت دو ماه با تیمارهای غذایی به شرح ذیل (جدول ۱) تغذیه شدند.

جدول ۱. گروه‌بندی و تیمارهای غذایی ماهیان در طول بررسی

گروه	تیمار غذایی
۱ (شاهد)	غذای کنسانتره فاقد پروبیوتیک و لاکتوفرین
۲	غذای کنسانتره حاوی <i>Lactobacillus plantarum</i> به میزان 10^8 cfu در هر کیلوگرم غذا
۳	غذای کنسانتره حاوی ۱۰۰ میلی‌گرم لاکتوفرین در هر کیلوگرم غذا
۴	غذای کنسانتره حاوی ۲۰۰ میلی‌گرم لاکتوفرین در هر کیلوگرم غذا
۵	غذای کنسانتره حاوی <i>Lactobacillus plantarum</i> به میزان 10^8 cfu در هر کیلوگرم غذا به علاوه ۱۰۰ میلی‌گرم لاکتوفرین در هر کیلوگرم غذا
۶	غذای کنسانتره حاوی <i>Lactobacillus plantarum</i> به میزان 10^8 cfu در هر کیلوگرم غذا به علاوه ۲۰۰ میلی‌گرم لاکتوفرین در هر کیلوگرم غذا

شده و در دمای اتاق به میزان مناسب خشک گردید (Lotfi et al., 2012). غذا به صورت هر دو روز یک بار تهیه و در ظرف‌های پلاستیکی در بسته در یخچال (۴ درجه سانتی‌گراد) نگهداری شد.

باکتری *Lactobacillus plantarum* به صورت لیوفیلیزه از مرکز کلکسیون میکروارگانیسم بلژیک (Belgium Co-ordinated Collections) بلژیک (of Microorganism) تهیه شد. جهت تأیید، باکتری *Lactobacillus plantarum* روی محیط آگار MRS (Merck, Germany) در شرایط بی‌هوازی و در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت کشت داده شد و از کلنی‌های رشد نموده جهت رنگ‌آمیزی گرم و آزمایشات بیوشیمیایی استفاده گردید. سپس باکتری تا زمان استفاده، در حضور ۱۵٪ گلیسرول در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. به منظور تهیه غذای حاوی پروبیوتیک، باکتری در محیط آبگوشت MRS (Merck, Germany) به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد و در شرایط بی‌هوازی کشت داده شد. سپس باکتری‌های رشدیافته با کمک سانتریفیوژ (۵۰۰۰ دور به مدت ۳۰ دقیقه) تغلیظ و با استفاده از محلول نرمال سالین استریل دو بار شستشو داده شدند. رسوب به دست آمده در حجم مشخصی از بافر PBS (۱/۰ مولار و pH ۷/۴) به صورت سوسپانسیون درآمد. تهیه غلظت مطلوب

مقادیر مورد استفاده از *Lactobacillus plantarum* و لاکتوفرین طبق مطالعات قبلی انجام گرفته روی این محرک‌ها در ماهیان مختلف در نظر گرفته شد (Sakai et al., 1993; Yokoyama et al., 2006; Son et al., 2009).

آب مورد استفاده در تمام حوضچه‌های پرورشی از یک منبع چاه مشترک تأمین گردید. مقادیر اکسیژن، دما، pH، نیتريت و آمونیاک آب هر یک از حوضچه‌ها به صورت روزانه اندازه‌گیری شد. تغذیه ماهی‌ها با استفاده از غذای تجارتي به صورت پلت (در ابتدای دوره FFT-2، اواسط دوره GFT-1 و در اواخر دوره GFT-2) محصول شرکت فرادانه با ترکیب غذایی شامل ۳۶ درصد پروتئین خام، ۱۴ درصد چربی، ۱۵ درصد کربوهیدرات، ۱۰ درصد خاکستر، ۴ درصد فیبر، ۱ درصد فسفر و ۱۱ درصد رطوبت انجام گرفت. غذای مورد نیاز به صورت روزانه و با توجه به سیری ظاهری، ابتدا در سه وعده و از اواسط دوره به بعد در دو وعده به ماهیان داده شد.

جهت آماده‌سازی غذای حاوی لاکتوفرین، لاکتوفرین گاوی با درجه خلوص بالای ۹۵ درصد (Biopolesa, Belgium)، به میزان ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم غذا، در میزان مناسب از سرم فیزیولوژی استریل حل شد و به صورت یکنواخت روی غذا پاشیده شد. سپس غذا در محیط ضدعفونی

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

که در آن f میزان غذای مصرفی، W_f وزن نهایی و W_i وزن اولیه می‌باشد.

ضریب چاقی (Başçınar *et al.*, 2007)

$$CF = W / L^3 \times 100$$

که در آن W وزن ماهی برحسب گرم و L طول ماهی برحسب سانتی‌متر می‌باشد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها با روش آنالیز واریانس یکطرفه (ANOVA) و آزمون دانکن و با استفاده از نرم‌افزار SPSS_{v17} انجام گرفت. در تمام بررسی‌ها سطح معنی‌دار آزمون‌ها ($P \leq 0.05$) در نظر گرفته شد. جهت ترسیم نمودارها نرم‌افزار Excel (نسخه ۲۰۱۰) مورد استفاده قرار گرفت.

نتایج

با مقایسه شاخص‌های فیزیکی و شیمیایی آب‌حوضچه‌های پرورشی، اختلاف معنی‌داری بین حوضچه‌ها مشاهده نشد (جدول ۲). همچنین براساس نتایج حاصل، شرایط آب برای پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان مناسب بود (Kelly, 1998).

سوسپانسیون با استفاده از سرم فیزیولوژی و بر اساس قیاس با لوله‌های مک فارلند تعیین و با استفاده از افشانه به صورت اسپری به غذا اضافه شد (Phianphak *et al.*, 1999). غذا به صورت هر دو روز یک‌بار تهیه و در ظرف‌های پلاستیکی در بسته در دمای یخچال نگهداری شد.

به منظور بررسی شاخص‌های رشد، در ابتدای دوره همزمان با تقسیم ماهی‌ها به تیمارهای مختلف تعداد ۱۰ ماهی به طور تصادفی انتخاب و از نظر شاخص‌های رشد بررسی شدند. در طول دوره پرورشی نیز در روزهای ۳۰، ۴۵، ۶۰ و هر تکرار تعداد ۱۰ قطعه ماهی به صورت تصادفی انتخاب شدند و شاخص‌های رشد و تغذیه ماهی شامل وزن تر، طول استاندارد، ضریب تبدیل غذا، ضریب رشد ویژه، و ضریب چاقی مورد ارزیابی قرار گرفتند.

بر اساس نتایج حاصل از زیست‌سنجی، شاخص‌های رشد با استفاده از فرمول‌های زیر محاسبه گردید:

نرخ رشد ویژه (Huang *et al.*, 2008)

$$SGR = (\ln W_f - \ln W_i) \times 100 / t$$

که در آن W_f وزن نهایی، W_i وزن اولیه، و t دوره رشد برحسب روز می‌باشد.

ضریب تبدیل غذایی (Turchiniet *al.*, 2003)

جدول ۲. شاخص‌های فیزیکی و شیمیایی آب حوضچه‌های پرورشی در طول بررسی (میانگین \pm انحراف معیار)

دی (لیتر در دقیقه)	اکسیژن (میلی‌گرم بر لیتر)	دما (سانتی‌گراد)	pH	آمونیاک (میلی‌گرم بر لیتر)	نیتريت (میلی‌گرم بر لیتر)
۱۲ \pm ۱	۹ \pm ۰/۵	۱۵ \pm ۰/۵	۷/۴ \pm ۰/۵	۰/۲۳ \pm ۰/۰۸	۰/۱۳۴ \pm ۰/۰۲۵

میلی‌گرم لاکتوفورین در هر کیلوگرم غذا) بود (جدول ۳). طی یک ماه اول دوره، بیشترین میزان وزن‌گیری مربوط به ماهیان تیمار ۶ بود؛ گرچه این اختلاف معنادار نبود، اما در نیمه دوم دوره پرورش، ماهیان تیمار ۴، به صورت معناداری نسبت به گروه شاهد وزن بیشتری داشتند ($p \leq 0.05$) (نمودار ۱). بیشترین افزایش طول نیز طی دوره پرورش در

در طول دوره پرورشی بهترین نتایج برای شاخص‌های رشد بررسی شده مربوط به تیمارهای ۲ (غذای کنسانتره حاوی *Lactobacillus plantarum* ۱۰^۸cfu در هر کیلوگرم غذا)، ۴ (غذای کنسانتره حاوی ۲۰۰ میلی‌گرم لاکتوفورین در هر کیلوگرم غذا) و ۶ (غذای کنسانتره حاوی *Lactobacillus plantarum* به میزان ۱۰^۸cfu در هر کیلوگرم غذا به علاوه ۲۰۰

شاخص در ماهیان تیمار ۶ بالاترین مقدار را داشت اما این اختلاف با گروه شاهد معنادار نبود. با این وجود طی دو هفته آخر دوره، ضریب رشد ویژه ماهی‌های تیمار ۲ به صورت معناداری نسبت به گروه شاهد افزایش پیدا کرد ($p \leq 0/05$) (نمودار ۴). به علاوه، بررسی ضریب چاقی تیمارها نیز نشان داد که در کل طول دوره، بیشترین مقدار این شاخص مربوط به تیمار ۴ بود؛ هرچند که هیچگونه اختلاف آماری معناداری بین تیمارها وجود نداشت (نمودار ۵).

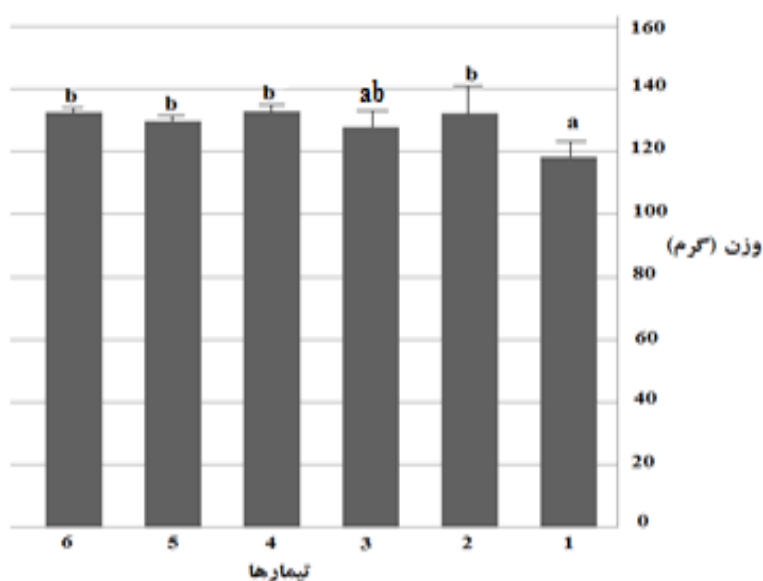
ماهیان متعلق به تیمارهای ۲ و ۶ مشاهده شد و در انتهای دوره طول ماهی‌های تیمار ۲ به صورت معنی‌داری از گروه شاهد بیشتر بود ($p \leq 0/05$) (نمودار ۲). در مورد شاخص ضریب تبدیل غذایی تا روز ۴۵ دوره پرورش هیچ اختلاف معناداری بین تیمارهای مختلف مشاهده نشد، اما طی دو هفته آخر دوره، در ماهیان تیمار ۲ این شاخص به طور معناداری نسبت به گروه شاهد کاهش پیدا کرد ($p \leq 0/05$) (نمودار ۳). همچنین نتایج بررسی ضریب رشد ویژه تیمارهای مختلف نشان داد که تا روز ۴۵ دوره پرورش، این

جدول ۳. شاخص‌های رشد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با *Lactobacillus plantarum* و

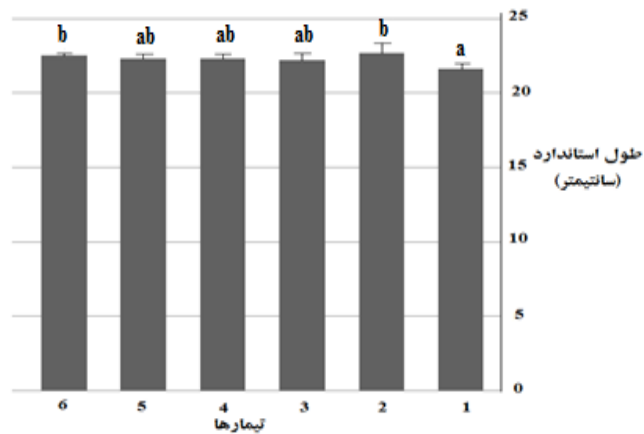
لاکتوفیرین در پایان دوره پرورش

ضریب چاقی (CF)	ضریب رشد ویژه (SGR)	ضریب تبدیل غذا (FCR)	طول استاندارد (سانتی‌متر) (Final SL)	وزن تر (گرم) (wet W)	فاکتورهای رشد / تیمارها
۱/۱۷±۰/۰۳ ^{ab}	۱/۲۵±۰/۱۶ ^a	۱/۵۷±۰/۱۵ ^b	۲۱/۶۳±۰/۴۴ ^a	۱۱۸/۴۱±۶/۸۶ ^a	۱ (شاهد)
۱/۱۳±۰/۰۱ ^a	۱/۷±۰/۲۸ ^b	۱/۱۶±۰/۱۷ ^a	۲۲/۷۱±۰/۵۴ ^b	۱۳۲/۴۴±۹/۳ ^b	۲
۱/۱۷±۰/۰۱ ^{ab}	۱/۵۹±۰/۰۸ ^b	۱/۲±۰/۰۹ ^a	۲۲/۲۲±۰/۳۵ ^{ab}	۱۲۸/۰۶±۵/۵۲ ^{ab}	۳
۱/۱۹±۰/۰۳ ^b	۱/۶±۰/۲۲ ^b	۱/۲۵±۰/۲۴ ^a	۲۲/۳۲±۰/۳۵ ^{ab}	۱۳۲/۸۸±۲/۳۲ ^b	۴
۱/۱۷±۰/۰۳ ^{ab}	۱/۶۵±۰/۱ ^b	۱/۲۵±۰/۰۸ ^a	۲۲/۳۱±۰/۲۸ ^{ab}	۱۲۹/۷۸±۲/۲۷ ^b	۵
۱/۱۶±۰/۰۰۴ ^{ab}	۱/۶۷±۰/۰۸ ^b	۱/۱۸±۰/۰۸ ^a	۲۲/۵۴±۰/۱۲ ^b	۱۳۲/۶۶±۱/۹ ^b	۶

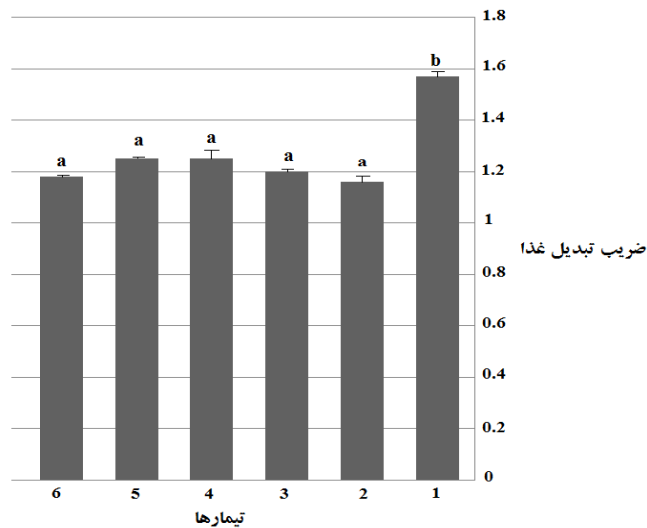
مقادیر نشان‌دهنده Mean±SD سه تکرار از هر تیمار می‌باشند. اعداد در هر ستون با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار هستند ($p \leq 0/05$).



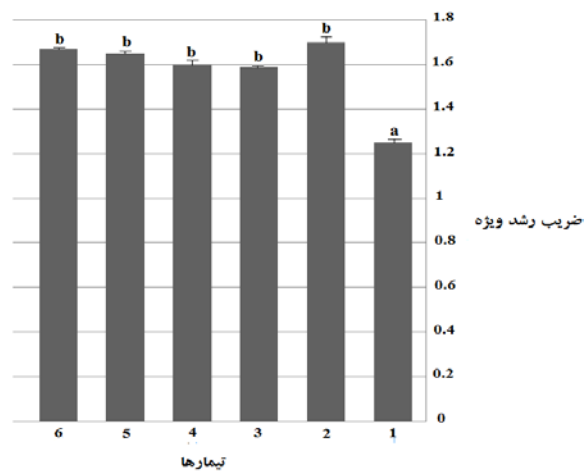
نمودار ۱. میانگین وزن ماهیان تغذیه شده با *Lactobacillus plantarum* و لاکتوفیرین در پایان دوره پرورش (مقادیر نشان‌دهنده Mean±SD می‌باشند و $p < 0/05$ به عنوان سطح معنی‌دار آزمون آماری در نظر گرفته شده است).



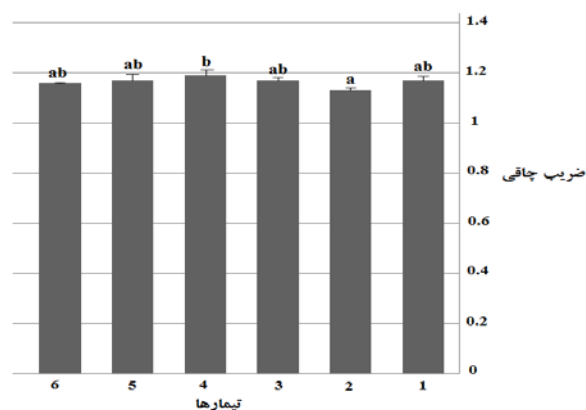
نمودار ۲. میانگین طول استاندارد ماهیان تغذیه شده با *Lactobacillus plantarum* و لاکتوفیرین در پایان دوره پرورش (مقادیر نشان‌دهنده Mean±SD می‌باشند و $p < 0.05$ به عنوان سطح معنی‌دار آزمون آماری در نظر گرفته شده است).



نمودار ۳. میانگین ضریب تبدیل غذایی ماهیان تغذیه شده با *Lactobacillus plantarum* و لاکتوفیرین در پایان دوره پرورش (مقادیر نشان‌دهنده Mean±SD می‌باشند و $p < 0.05$ به عنوان سطح معنی‌دار آزمون آماری در نظر گرفته شده است).



نمودار ۴. میانگین ضریب رشد ویژه ماهیان تغذیه شده با *Lactobacillus plantarum* و لاکتوفیرین در پایان دوره پرورش (مقادیر نشان‌دهنده Mean±SD می‌باشند و $p < 0.05$ به عنوان سطح معنی‌دار آزمون آماری در نظر گرفته شده است).



نمودار ۵. میانگین ضرب چاقی ماهیان تغذیه شده با *Lactobacillus plantarum* و لاکتوفیرین در پایان دوره پرورش (مقادیر نشان دهنده Mean±SD می باشند و $p < 0.05$ به عنوان سطح معنی دار آزمون آماری در نظر گرفته شده است).

plantarum و لاکتوفیرین به عنوان محرک های غذایی، به صورت توأم و تنها بر بهبود شاخص های رشد ماهی قزل آلائی رنگین کمان مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج حاصل نشان داد که استفاده از این محرک های غذایی موجب بهبود شاخص های رشد ویژه، افزایش طول و وزن ماهی و نیز کاهش ضریب تبدیل غذایی گردید، اما تأثیر معنی داری بر میزان ضریب چاقی ماهیان نداشت. با این حال بین عمل لاکتوفیرین و پروبیوتیک *Lactobacillus plantarum* به دنبال استفاده توأم در جیره، اثر تقویتی معنی داری در بهبود شاخص های رشد و تغذیه ماهی ایجاد نشد.

در بررسی Son *et al.* (2009) به دنبال افزودن *Lactobacillus plantarum* به جیره به مدت ۴ هفته، افزایش معنی داری در درصد وزن گیری و میزان کارایی غذا در ماهیان هامور، مشاهده گردید. در میان غلظت های مختلف استفاده شده در این تحقیق، غلظت 10^8 cfu باکتری به ازای هر کیلوگرم غذا نتایج بهتری را در برداشت، همچنین مطالعه دیگری توسط Essa *et al.* (2010) بر روی پروبیوتیک های مختلف غذایی به مدت ۶۰ روز نشان داد که *Lactobacillus plantarum* موجب بهبود میزان رشد و بهره وری غذایی تیلاپپای نیل می گردد. مطالعه Abumourad *et al.* (2013) نیز بهبود چشمگیر شاخص های رشد در ماهی تیلاپپای نیل

بحث و نتیجه گیری

تغذیه از فاکتورهای اساسی تعیین کننده نرخ رشد ماهی است (Li *et al.*, 2004) و توانایی ماهی را در ارائه پتانسیل ژنتیکی جهت رشد، کاملاً تحت تأثیر قرار می دهد (Başçınar *et al.*, 2007). بنابراین به منظور دستیابی به حداکثر بازدهی در صنعت آبزی پروری، تأمین تغذیه ای مطلوب که منجر به افزایش نرخ رشد و وزن گیری در حداقل زمان ممکن گردد ضروری است (Bhosale *et al.*, 2010). امروزه علاوه بر مواد مغذی اصلی، استفاده از محرک های غذایی رشد در صنعت پرورش آبزیان بسیار مورد توجه است.

استفاده از پروبیوتیک ها در جیره غذایی آبزیان پرورشی، تأثیرات مطلوبی در رشد و بقای آنها ایجاد می نماید. دلیل اصلی این تأثیرات مثبت، بهینه سازی تعادل جمعیت میکروبی در دستگاه گوارش میزبان است (Fuller, 1989). همچنین بهبود شاخص های رشد و ایمنی ماهیان پرورشی به دنبال افزودن لاکتوفیرین به عنوان محرک غذایی در مطالعات مختلف تأیید شده است (Lotfi *et al.*, 2012); (Badawy and Al-Kenawy, 2013). با این حال، مکانیسم اثرگذاری لاکتوفیرین بر شاخص های رشد ماهی هنوز به طور کامل مشخص نیست (Yokoyama *et al.*, 2006).

در این مطالعه، تأثیر پروبیوتیک *Lactobacillus*

عملیات حرارتی آماده‌سازی آن (Lonnerdal *et al.*, 2009)، و نیز مواد ناشناخته تشکیل‌دهنده خوراک تجاری که ممکن است با لاکتوفرین اثر تقویتی داشته باشند نسبت می‌دهند (Yokoyama *et al.*, 2006). همچنین اختلافات موجود در شیوه پرورش، روش غذادهی، میزان لاکتوفرین مورد استفاده و گونه ماهی پرورشی نیز می‌تواند از عوامل ایجادکننده تفاوت در نتیجه تحقیقات باشد.

به طور کلی می‌توان نتیجه‌گیری نمود که استفاده توأم از لاکتوفرین و پروبیوتیک *Lactobacillus plantarum* در جیره ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان اثر تقویتی بر بهبود شاخص‌های رشد و تغذیه ماهی ندارد. بنابراین، به نظر می‌رسد استفاده از میزان 10^8 cfu *Lactobacillus plantarum* در هر کیلوگرم غذا و ۲۰۰ میلی‌گرم لاکتوفرین در هر کیلوگرم غذا، به تنهایی، در مقایسه با کاربرد ترکیبی آنها روشی مؤثرتر و کم‌هزینه‌تر جهت افزایش رشد و بازدهی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان باشد. با این حال بررسی‌های بیشتر در رابطه با تأثیر استفاده از مقادیر دیگری از این مکمل‌ها در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان و سایر ماهیان پرورشی طی دوره‌های مختلف پرورش ضروری به نظر می‌رسد.

دریافت‌کننده *Lactobacillus plantarum* را تأیید نمود. نتایج تحقیق حاضرهمراستا با نتایج مطالعات مذکور می‌باشد.

در راستای نتایج حاصل از این مطالعه، بررسی تأثیر لاکتوفرین در جیره غذایی بر شاخص‌های رشد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان توسط Lotfi *et al.* (2012) نشان داد که شاخص‌های بررسی شده به استثنای ضریب چاقی، در تیمار دریافت‌کننده ۲۰۰ میلی‌گرم لاکتوفرین، در مقایسه با گروه شاهد افزایش معناداری داشتند ($p < 0.05$). هر چند این تفاوت نسبت به تیمار دریافت‌کننده ۱۰۰ میلی‌گرم لاکتوفرین معنادار نبود. همچنین، در بررسی Kakuta *et al.* (1996) تأثیر مثبت و معنادار لاکتوفرین جیره بر رشد ماهی طلایی نسبت به تیمار شاهد گزارش گردید. با این‌حال، نتایج مطالعه مشابه توسط Rahimnejad *et al.* (2012) تأثیر قابل توجهی را بر شاخص‌های رشد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان نشان نداد. همچنین Welker *et al.* (2007) با بررسی تأثیر لاکتوفرین بر افزایش وزن بدن و میزان غذاگیری ماهی تیلاپیای نیل به مدت ۸ هفته، اختلاف معناداری را بین تیمارها گزارش نمودند. محققان تفاوت در نتیجه مطالعات را به شرایط تهیه لاکتوفرین مورد استفاده، از جمله

REFERENCES

- AbumouradIMK, AbbasWT, AwaadES, AuthmanMMN, El-Shafei K, Sharaf OM, et al. (2013) Evaluation of *Lactobacillus plantarum* as a probiotic in aquaculture: Emphasis on growth performance and innate immunity. *J applied sciences research*; 9(1): 572-582.
- Badawy TES, Al-Kenawy D (2013) Assessment of Immune Response Supplemental Immunoton and Bovine Lactoferrin as Alternatives to Antibiotics in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Journal of the Arabian Aquaculture Society*; 8(2): 341-355.
- Başçınar N, Çakmak E, Çavdar Y, Aksungur N (2007) The effect of feeding frequency on growth performance and feed conversion rate of Black Sea trout (*Salmo trutta labrax* Pallas, 1811). *TrJFAS*; 7:13-17.
- Bhosale SV, Bhilave MP, Nadaf SB (2010) Formulation of Fish Feed using Ingredients from Plant Sources. *RJAS*; 1(3): 284-287.
- Breton-Gorius J, Mason D, Buriot D, Vilde JL, Griscelli C (1980) Lactoferrin deficiency as a consequence of a lack of specific granules in neutrophils from a patient with recurrent infections.

- Detection by immunoperoxidase staining for lactoferrin and cytochemical electron microscopy. *Am J Pathol*; 99(2):413–428.
- Bucio A, Hartemink R, Schrama JW, Verreth J, Bucio L, Zwietering MH (2009) Kinetics of *Lactobacillus plantarum* 44a in the faeces of tilapia (*Oreochromis niloticus*) after its intake in feed. *JAM*; 107:1967-1975.
- Ellison RT, Giehl TJ, Laforce FM (1988) Damage of the membrane of enteric gram-negative bacteria by lactoferrin and transferrin. *Infect Immun*; 56(11): 2774–2781.
- Essa MA, El-Serafy SS, El-Ezabi MM, Daboor SM, Esmael NA (2010) Effect of different dietary probiotics on growth, feed utilization and digestive enzymes activities of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Journal of Arabian Aquaculture Society*; 5: 143-161.
- Fuller R (1989) Probiotics in man and animals. *J Appl Bacteriol*; 66: 365-378.
- Gonzalez-Chavez SA, Arévalo-Gallegos S, Rascón-Cruz Q (2009) Lactoferrin: structure, function and applications. *IJAA*; 33:301.e1-301.e8.
- Huang SSY, Fu CHL, Higgs DA, Balfry SK, Schulte PM, Brauner CJ (2008) Effects of dietary canola oil level on growth performance, fatty acid composition and ionoregulatory development of spring Chinook salmon par, *Oncorhynchus tshawytscha*. *Aquaculture*; 274(1):109-117.
- Kakuta I (1996) Protective effect of orally administrated bovine lactoferrin against experimental infection of goldfish (*Carassius auratus*) with *Ichthyophthirius multifiliis*. *Suisanzoshoku*; 44:427–432.
- Kelly LA (1998) Water quality and rainbow trout farming. *Fish Vet J*; 21:31-45.
- Kirkpatrick CH, Green I, Rich RR, Schade AL (1971) Inhibition of growth of *Candida albicans* by iron-unsaturated lactoferrin: relation to host-defense mechanisms in chronic mucocutaneous candidiasis. *J Infect Dis*; 124: 539–544.
- Li M, Manning BB, Robinson EH (2004) Effect of daily intake on feed efficiency of juvenile channel catfish. *J World Aquac Soc*; 29:156–161.
- Lonnerdal B. Nutritional roles of lactoferrin. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2009; 12:293–297.
- Lotfi M, Agh N, Shamsaei M, Malekzadehviayeh R, Mohammadzadeh M, Jasour MS (2012) A survey on the effect of bovine lactoferrin on the growth parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Renewable Natural Resources Research*; 2(1): 68-77.
- Makridis P, Bergh Ø, Skjermo J, Vadstein O (2001) Addition of bacteria bioencapsulated in artemiametanauplii to a rearing system for halibut larvae. *Aquaculture International*; 9: 225-235.
- Melamed P, Gong Z, Fletcher G, Hew CL (2002) The potential impact of modern biotechnology on fish aquaculture. *Aquaculture*; 204: 255-269.
- Nikoskelainen S, Ouwehand AC, Bylund G, Salminen S, Lilius E (2003) Immune enhancement in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) by potential probiotic bacteria (*Lactobacillus rhamnosus*). *fish shellfish immunol*; 15:443–452.
- Panigrahi A, Kiron V, Puangkaew J, Kobayashi T, Satoh S, Sugita H (2005) The viability of probiotic bacteria as a factor influencing the immune response in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*; 243:241–254.
- Phianphak W, Rengpipat S, Piyatiratitivorakul S, Menasveta P (1999) Probiotic use of *Lactobacillus* spp. for black tiger shrimp, *Penaeus monodon*. *J Sci Res Chula univ*; 24: 42-51.
- Rahimnejad S, Agh N, Kalbassi MR, Khosravi S (2012) Effect of dietary bovine lactoferrin on growth, haematology and non-specific immune

- response in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquacult Res*; 43:1451-1459.
- Sakai M, Otubo T, Atsuta S, Kobayashi M (1993) Enhancement of resistance to bacterial infection in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), by oral administration of bovine lactoferrin. *J Fish Dis*; 16: 239-247.
- Son VM, Chang CC, Wu MC, Guu YK, Chiu CH, Cheng W (2009) Dietary administration of the probiotic, *Lactobacillus plantarum*, enhanced the growth, innate immune responses, and disease resistance of the grouper *Epinephelus coioides*. *Fish Shellfish Immunol*; 26(5):691-698.
- Tannock GW (2004) A special fondness for *Lactobacilli*. *Appl Environ Microbiol*; 70(6): 3189-3194.
- Turchini GM, Mentasti T, Frøyland L, Orban E, Caprino F, Moretti VM, et al. (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: 251-267.
- Van der Strate BW, Beljaars L, Molema G, Harmsen MC, Meijer DK (2001) Antiviral activities of lactoferrin. *Antiviral Res*; 52(3): 225-239.
- Welker TL, Lim C, Yildirim-Aksoy M, Klesius PH (2007) Growth, immune function, and disease and stress resistance of juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed graded levels of bovine lactoferrin. *Aquaculture*; 262:156-162.
- Yokoyama S, Koshio S, Takakura N, Oshida K, Ishikawa M, Gallardo-Cigarroa F, et al. (2006) Effect of dietary bovine lactoferrin on growth response, tolerance to air exposure and low salinity stress conditions in orange spotted grouper *Epinephelus coioides*. *Aquaculture*; 255: 507-513.