شیلات، مجله منابع طبیعی ایران
دوره ۷۳، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۹
صفحات ۴۴۰-۴۳۱

تأثیر باسیلوس‌های پروبیوتیکی بر عملکرد رشد و برخی از شاخص‌های خون‌شناسی و بیوشیمیایی سرم خون لاروهای ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) پرورش یافته در تراکم‌های مختلف

سامیه کتوکی[1*]، حجت‌الله جعفریان[2]، حسنا قلی پورکنعانی[2]، پونه ابراهیمی[3]

۱. گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبدکاووس، گلستان، ایران
۲. دانشیار گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبدکاووس، گلستان، ایران
۳. دانشیار گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گلستان، گلستان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹ /۰۶/۱۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۸/۲۴

چکیده

در مطالعه حاضر تاثیر پنج سویه از مخلوط باسیلوس‌های پروبیوتیکی در غلظت 1×10^{8} CFU/L در برابر عوامل استرس‌زای ناشی از افزایش تراکم (۳۰، ۴۵، ۶۰ و ۷۵ قطعه لارو در ۱۰ لیتر آب) لارو ماهی قزل آلای رنگین کمان در سه تکرار بررسی شد. شاخص‌های رشد و خون‌شناسی نیز ثبت گردیدند. لاروها با میانگین وزنی اولیه ۰/۰۸±۰/۲۳۵ گرم به هر یک از واحدهای آزمایشی معرفی و با جیره‌های آزمایشی تغذیه و برای یک دوره ۴۵ روزه پرورش داده شدند. در پایان دوره آزمایش نتایج نشان داد که بالاترین شاخص‌های رشد و تغذیه در تیمار با تراکم ۶۰ قطعه لارو ماهی در ۱۰ لیتر (تغذیه شده با جیره‌های مکمل شده با باسیلوس) و حداقل آن در تیمار با تراکم ۴۵ قطعه لارو در ۱۰ لیتر بدست آمد و با دیگر تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی داری را نشان داد ($p<0/05$). درحالیکه هیچ اختلاف معنی داری بین تیمارهای با تراکم ۳۰، ۶۰ و ۷۵ لارو ماهی در لیتر مشاهده نگردید ($p>0/05$). نتایج شاخص‌های خون شناسی نشان داد که سطوح WBC، RBC، Ht، Hb، MCV، MCH و MCHC بطور معنی داری با افزایش تراکم لاروهای ماهی در تیمارهای آزمایشی افزایش یافت ($p<0/05$) و بالاترین سطوح آنها در تیمار با تراکم ۷۵ لارو ماهی در ۱۰ لیتر بدست آمد. نتایج مطالعات سرم خون ماهیان نشان داد که سطح گلوکز سرم خون با افزایش تراکم ماهیان در تیمارهای با تراکم ۶۰ و ۷۵ ماهی در ۱۰ لیتر نسبت به تیمارهای با تراکم ۳۰ و ۴۵ ماهی در ۱۰ لیتر، بطور معنی‌داری افزایش یافت ($p<0/05$). درمجموع، یافته‌های این تحقیق نشان داد که علی‌رغم افزایش تراکم ماهی در تیمارهای آزمایشی نسبت به گروه شاهد، بکارگیری با سیلوس‌های پروبیوتیکی در تراکم‌های مختلف پرورش لاروی ماهی قزل آلای رنگین کمان بر برخی از شاخص‌های رشد، تغذیه و شاخص‌های خونی اثرمثبتی داشت. در این راستا برای رسیدن به نتایج بهتر، نیاز به انجام تحقیقات بیشتری است.

واژگان کلیدی: تراکم، قزل‌آلای رنگین‌کمان، رشد، خون‌شناسی، گلوکز، کورتیزول.

* نویسنده مسئول: سامیه کتوکی
Email: katooky.s68@gmail.com

Journal of Fisheries
Vol. 73, No. 3, Autumn 2020
pp. 431-440

Effect of probiotic bacilli on growth performance and some hematological and biochemical parameters of blood serum in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*Walbaum, 1792) larvae reared at different stocking density

Samieh Katooky[1*], Hojatollah Jafaryan[2], Hosna Gholiporkanani[2], Poneh Ebrahimi[3]

1. Fisheries Group, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Gonbad kavous, Golestan, Iran
2. Associate Professor Fishery Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Gonbad Kavous University, Golestan, Iran
3. Associate Professor, Department of Chemistry, Faculty of Sciences, Golestan University, Gorgan, Golestan, Iran

Received: 01-Agu-2020 Accepted: 14-Nov-2020

Abstract

In the present study the effects of five- strain probiotic blend (*Bacillus* spp.) with concentration 1×10^8 CFU/ liter against stress responses, due to expose to high stocking density (30, 45, 60 and 75 larvae per 10 liters of water) on *Oncorhynchus mykiss* larvae were investigated in triplicates. The growth factors and hematological parameters were recorded as well. The larvae with the mean weight of 0.235±0.08g introduced in each experimental unite and fed the experimental diets and reared for a 45- day period. At the end of the experiment, the maximum growth and feeding rates were obtained in the treatment with a density of 60 fish larvae per 10 liters (fed from a diet supplemented with Bacillus) and the minimum rate significantly obtained in the treatment with a density of 45 larvae per 10 liters compared to other experimental treatments ($p<0.05$). However, there were no significant differences among treatments containing 30, 60 and 75 larvae per 10 liters of water ($p>0.05$). The results of hematology indices, WBC, RBC, Ht, Hb, MCV, MCH and MCHC increased significantly with an increase in the density of fish larvae among the experimental treatments and their highest levels were obtained in treatment with a density of 75 fish per 10 liters. The serum glucose levels increased significantly while the fish density increased and it was higher in 60 and 75 fish per 10liters treatments compared to 30 and 45 fish in 10liters densities. Overall, the findings of this study showed that despite the effects of fish density, the use of probiotic bacilli also affecting on some growth, nutritional and blood indices.

Keyword: Stocking density, Rainbow trout, Growth, Hematology, Glucose, Cortisol

Corresponding author: Samieh Katooky Email: katooky.s68@gmail.com

۱. مقدمه

در طول سال‌های اخیر پرورش‌دهندگان ماهی تمایل زیادی به افزایش میزان تولید از طریق افزایش تراکم در مزارع به‌عنوان یکی از راه‌حل‌های افزایش تولید نشان داده‌اند (Abou-Zied and Ali, 2012). تراکم به دلیل تأثیر مستقیم بر رشد، بقاء، رفتار، سلامت، کیفیت آب، تغذیه و تولیدمثل آبزیان به‌عنوان یکی از مهم‌ترین متغیرها در امر پرورش ماهی شناخته می‌شود. استفاده کامل از فضا به‌منظور تولید حداکثر با استفاده از روش‌های پرورش متراکم می‌تواند منجر به بهبود سودآوری مزارع و غلبه بر مشکل کمبود زمین گردد (Khattab *et al*., 2004). امروزه تأثیرات استفاده از تراکم‌های مختلف بر رشد، بقاء و بازده محصول در گونه‌های مختلف ماهی شناسایی شده است (Khatune-Jannat *et al*., 2012؛ Garr *et al*., 2011؛ Zhu *et al*., 2011). به نظر می‌رسد این متغیر می‌تواند به‌طور مؤثری بر میزان تولید اثرگذار باشد (Abou-Zied and Ali, 2012).

اگرچه افزایش تراکم احتمالاً با افزایش رقابت برای کسب غذا و یا کاهش میزان تولیدمثل از طریق کاهش کیفیت تخم تأثیرات منفی به همراه خواهد داشت (Tave, 1986)؛ اما گاهی اوقات نیز هیچ‌گونه تأثیری بر میزان مرگ‌ومیر نداشته و باعث افزایش عملکرد ماهی (Khatune-Jannat *et al*., 2012; Pouey *et al*., 2011; Sorphea *et al*., 2010) و تولید خالص از طریق کاهش هزینه‌های تولید می‌گردد (Abou *et al*., 2007). درواقع افزایش تراکم در واحدهای آبزی‌پروری به‌عنوان یک ابزار مدیریتی برای هزینه ایجادشده به ازای هر کیلوگرم ماهی تولیدی بوده و مدیریت صحیح آن می‌تواند تضمینی برای تقویت چرخه اقتصادی تولید باشد (Orbcastel *et al*., 2010).

در برخی موارد مزایای استفاده از تراکم‌های بالا در پرورش ماهی غیرقابل‌انکار است، مانند آنچه در مورد گربه‌ماهی کانال (*Ictalurus punctatus*) (Southworth *et al*., 2009)، تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) (Osofero *et al*., 2009) و ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*) (Gholian *et al*., 2016؛ Sayyad Bourani *et al*., 2013) گزارش شد؛ یا این‌که نتایج به‌دست‌آمده به‌طور موقت دارای تأثیرات مثبت بوده و پس از مدتی به‌طور کامل از بین می‌رود؛ بطوری‌که هیچ‌گونه تفاوتی بین تراکم‌های مختلف مشاهده نمی‌شود؛ مانند آنچه از پرورش حلزون *Pomacea paludosa* به دست آمد (Garr *et al*., 2011). در برخی مطالعات نیز افزایش تراکم تأثیرات منفی بر عملکرد رشد و تولید در گونه‌های مختلف ماهی داشت (Li *et al*., 2012; Biswas *et al*., 2013; de las Heras *et al*., 2015; Liu *et al*., 2016; Ni *et al*., 2016; Qi *et al*., 2016). ثابت شده است که استفاده از تراکم‌های بالا در پرورش آبزیان به‌عنوان یک تکنیک برای استفاده حداکثری از منابع آبی دارای تأثیرات نامطلوبی بر رشد است (Ajani *et al*., 2015). در واقع تراکم بالا در پرورش ماهی به‌عنوان یک منبع بالقوه استرس شناخته می‌شود (Lefrançois *et al*., 2001؛ Rowland *et al*., 2006).

برای غلبه بر این مشکل اغلب مقادیر زیادی از داروهای شیمیایی و آنتی‌بیوتیک‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد (Bhatnagar and Raparia, 2014). استفاده نادرست از این داروها منجر به توسعه مقاومت باکتریایی و تغییر فلورمیکروبی روده در موجود میزبان خواهد شد (Nikkhoo *et al*., 2010؛ Bhatnagar and Raparia, 2014). اثرات طولانی‌مدت آن‌ها بر سلامت عمومی نیز تا حدود زیادی غیرقابل‌پیش‌بینی است (Kruse and Sorum, 1994).

افزایش نگرانی‌ها در مورد میکروارگانیسم‌های مقاوم به داروهای مختلف منجر به استفاده از میکروارگانیسم‌های غیر پاتوژن تحت عنوان پروبیوتیک‌ها شد (Guarner and Malagelada, 2003). امروزه از پروبیوتیک‌ها و یا محصولات فرعی آن‌ها به‌منظور کنترل بیماری و بهبود رشد و بقا در صنعت آبزی‌پروری استفاده‌های گسترده ای می‌شود (Nikkhoo *et al*., 2010).

Pourgholam و همکاران (۲۰۱۷) با بررسی اثرگذاری باکتری پروبیوتیکی *Lactobacillus plantarum* در جیره غذایی تاس‌ماهی سیبری (*Acipenser baerii*) شاهد

افزایش رشد و برخی از شاخص‌های خونی در این گونه بود ند. Renuka و همکاران (۲۰۱۴) نیز با به کارگیری باکتری پروبیوتیکی *Lactobacillus acidophilus* به مدت ۶۰ روز در جیره غذایی ماهی کاتلا (*Catla catla*) شاهد افزایش معنی‌دار شاخص‌های خونی در تیمارهای آزمایشی بودند. در مطالعه‌ای دیگر استفاده از باکتری پروبیوتیکی *Bacillus amyloliquefaciens* در جیره غذایی ماهیان تیلاپیا در شرایط پرورش در قفس اختلاف معنی‌داری در پارامترهای رشد و شاخص‌های خونی نشان نداد (Silva *et al*., 2015). طبق بررسی‌های صورت گرفته تأثیرات مثبت انواع باسیلوس‌های پروبیوتیکی بر شاخص‌های رشد، شاخص‌های خونی و ترکیبات بیوشیمیایی سرم در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان نیز به اثبات رسیده است (Ramos *et al*., 2017؛ Mahmoudzadeh *et al*., 2016؛ Paricheh *et al*., 2016؛ Kamgar *et al*., 2012؛ Jafaryan *et al*., 2009). درحالیکه کمتر به بررسی تأثیر استفاده از پروبیوتیک ها در تراکم‌های مختلف ذخیره‌سازی بخصوص در دوران حساس لاروی در این گونه پرداخته شده است.

با توجه به موارد مذکور در این مطالعه تغییرات شاخص‌های رشد و خون‌شناسی لاروهای ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تحت تأثیر جیره‌های مکمل سازی شده توسط ۵ سویه از باسیلوس‌های پروبیوتیکی (پروتکسین) در تراکم‌های مختلف ذخیره‌سازی بررسی شد.

۲. مواد و روش‌ها

۲.۱. طرح آزمایش

تحقیق حاضر در غالب یک طرح کاملاً تصادفی به مدت ۴۵ روز در آزمایشگاه آبزی‌پروری دانشگاه گنبد کاووس انجام شد. تعداد ۶۳۰ عدد لارو ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با میانگین وزنی ۰/۰۸±۰/۲۳۵ گرم پس از تهیه از یکی از مراکز خصوصی تکثیر و پرورش ماهیان سرد آبی واقع در استان مازندران (آمل) و انتقال به محل انجام آزمایش، برای مدت ۱۴ جهت سازگاری با شرایط جدید در یک مخزن ۲۰۰۰ لیتری نگهداری شدند. پس از طی دوره سازگاری و زیست‌سنجی اولیه، لاروها به طور تصادفی در ۱۲ مخزن فایبرگلاس با حجم آبگیری ۱۰ لیتر تحت هوادهی مستمر در تراکم‌های ۳۰، ۴۵، ۶۰ و ۷۵ عدد لارو (۴ تیمار آزمایشی هر کدام با سه تکرار) به‌طور تصادفی تقسیم شدند (Varela *et al*.,2010).

۲.۲. غذا و غذا دهی

غذادهی لاروها با استفاده از جیره‌های تجاری شرکت بیضاء ۲۱ با ترکیبات تقریبی ۴۵ درصد پروتئین خام، ۱۴ درصد چربی خام و ۴۳۰۰ کالری بر گرم انرژی خام به صورت روزانه در سه نوبت (ساعات ۸:۰۰؛ ۱۴:۰۰ و ۲۰:۰۰) به میزان ۵ درصد وزن بدن لارو ها پس از مکمل سازی جیره‌های غذایی با سو سپانسیون باکتریایی در غلظت ۱×۱۰۸CFU/L انجام شد.

جهت آماده‌سازی غلظت موردنظر ابتدا ۱۰۰ µL از سوسپانسیون حاوی مخلوط اسپور ۵ سویه از باکتری‌های باسیلوسی (*Bacillus circulance*، *B. subtilis*، *B. polymyxa*، *B. licheniformis* و *B. laterosporus*) برداشت و در پلیت‌های حاوی محیط کشت ژلاتینی تریپتیک سویه آگار (TSA) کشت داده شد.

پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ °C درجه سانتیگراد انکوبه شدند. با استفاده از یک آنس استریل پرگنه‌های تشکیل‌شده از پلیت‌های کشت جداسازی شدند و به اپندروف‌های حاوی سرم فیزیولوژی استریل منتقل گردیدند. سرم حاوی پرگنه به مدت ۵ دقیقه با استفاده از یک همزن برقی بخوبی هم زده شد تا محلولی هموژنی از سوسپانسیون باکتریایی تهیه گردید. برای تهیه غلظت باکتریایی مورد نظر از دستگاه اسپکتروفتومتر مدل Biocrom Libra-S11 Visible ساخت کشور انگلستان و محلول استاندارد مک فارلند نیم استفاده شد تا غلظت نوری باکتری‌های مورد نظر بر مبنای CFU/L بر اساس چگالی بهینه در طول‌موج ۶۱۰ nm تعیین شد (Rengpipat *et al*., 1998؛ Gomez-Gil *et al*., 1998).

۲.۳. اندازه گیری شاخص‌های رشد و تغذیه

در پایان دوره پرورش (۴۵ روز) به‌منظور آگاهی از وضعیت رشد و تغذیه لاروها نسبت به زیست‌سنجی آن‌ها اقدام شد. با استفاده از داده‌های ثبت‌شده از زیست‌سنجی لاروها، شاخص‌های رشد و تغذیه با استفاده از فرمول‌های مربوطه محاسبه گردید (Luo *et al*., 2010). لازم به ذکر است که قبل از انجام زیست سنجی و به‌منظور کاهش استرس تحمیلی به لاروها از ۲۴ ساعت قبل از انجام زیست سنجی، از غذادهی به لاروها صرف نظر شد.

میانگین وزن اولیه - میانگین وزن نهایی = افزایش وزن بدن

= درصد افزایش وزن بدن

$$\frac{\text{میانگین وزن ابتدای دوره - میانگین وزن انتهای دوره}}{\text{میانگین وزن ابتدای دوره}} \times ۱۰۰$$

$$\text{میانگین رشد روزانه} = \frac{\text{وزن اولیه - وزن نهایی}}{\text{مدت مطالعه}} \times ۱۰۰$$

= نرخ رشد ویژه

$$\frac{\text{لگاریتم طبیعی میانگین وزن اولیه} - \text{لگاریتم طبیعی میانگین وزن نهایی}}{\text{زمان}} \times ۱۰۰$$

= سرعت رشد وزنی

)] میانگین وزن اولیه + میانگین وزن نهایی) × زمان/ (میانگین وزن اولیه - میانگین وزن نهایی) ×۲) [×۱۰۰

= ضریب رشد حرارتی

] میانگین درجه حرارت به سانتی‌گراد × زمان/ (۰/۳۳۳ وزن اولیه ماهی- ۰/۳۳۳ وزن نهایی ماهی) [

$$\text{ضریب تبدیل غذایی} = \frac{\text{مقدار غذای خورده شده (گرم)}}{\text{افزایش وزن بدن (گرم)}}$$

$$\text{کارایی غذا (درصد)} = \frac{\text{افزایش وزن بدن به گرم}}{\text{مقدار غذای خورده شده به گرم}} \times ۱۰۰$$

= غذای خورده شده

[زمان × ۲/ (میانگین وزن اولیه + میانگین وزن نهایی)] / غذای خورده شده ×۱۰۰

$$\text{نسبت کارایی پروتئین (گرم/گرم)} = \frac{\text{افزایش وزن بدن (گرم)}}{\text{مقدار مصرف پروتئین (گرم)}}$$

$$\text{نسبت کارایی چربی (گرم/گرم)} = \frac{\text{وزن به‌دست‌آمده (گرم)}}{\text{مقدار چربی خورده شده (گرم)}}$$

$$\text{شاخص وضعیت} = \frac{\text{میانگین وزن نهایی}}{\text{۳ میانگین طول نهایی}} \times ۱۰۰$$

۲.۴. اندازه گیری شاخص‌های خون

به‌منظور سنجش شاخص‌های خون‌شناسی از هر تکرار تعداد ۱۰ لارو به‌طور تصادفی صید شد (مجموعاً ۱۲۰ عدد لارو). خون‌گیری با استفاده از سرنگ و سر سوزن مناسب (۲ cc) از طریق ورید ساقه دمی انجام شد. از نمونه‌های خون جمع‌آوری‌شده مقدار ۱ میلی‌لیتر جهت جداسازی سرم به لوله‌های اپندورفهای فاقد ماده ضد انعقاد هپارین و مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر به لوله‌های اپندورف حاوی ماده ضد انعقاد هپارین (۱۰ میکرولیتر به ازای ۰/۵ میلی‌لیتر خون) منتقل شد. جهت انجام مطالعات سرولوژی خون موجود در لوله‌های اپندورف فاقد ماده ضد انعقاد هپارین با دستگاه سانتریفوژ Denley مدل BS400؛ ساخت کشور انگلستان با دور ۳۰۰۰rpm به مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ شده، سرم جدا و در دمای ۲۰C°- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (Chebanov and Ronald, 2001). اندازه‌گیری شاخص‌های خونی شامل تعداد گلبول‌های سفید، تعداد گلبول‌های قرمز، درصد هماتوکریت و میزان هموگلوبین طبق روش‌های استاندارد (Klontz,1994) و سنجش اندیس‌های گلبولی با استفاده از فرمول‌های مربوطه انجام شد (Henry, 1996). لازم به ذکر است تغذیه لاروها ۲۴ ساعت قبل از عملیات خون‌گیری به‌طور کامل قطع و در هنگام خون نگیری از مواد بی‌هوش کننده به دلیل احتمال تأثیر بر شاخص‌های خونی استفاده نشد.

MCV (fL) = [Hct/RBC (per million)] ×10

MCH (pg) = [Hb/RBC (per million)] ×10

$$MCHC\ (\%) = (MCH/MCV) \times 100$$

اندازه‌گیری میزان گلوکز به روش گلوکز اکسیداز (Borges et al., 2004) با استفاده از کیت تجاری تهیه شده از شرکت پارس آزمون (کرج) توسط دستگاه آتوآنالایزر مدل Eurolyser smart 700/340 ساخت کشور اتریش و اندازه گیری کورتیزول با استفاده از کیت سنجش هورمون کورتیزول (Monobind, USA) به روش ELISA مستقیم (Deane and Woo, 2003) انجام شد.

۲.۵. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

برای انجام آنالیز آماری، داده‌های بدست آمده پس از کنترل همگنی از طریق آزمون Kolmogorov-Smirnov با استفاده از آزمون تجزیه واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) مورد سنجش قرار گرفتند. جهت تعیین معنی‌دار بودن یا نبودن اختلاف بین تیمار های آزمایشی نیز از آزمون چند دامنه‌ای دانکن (Duncans multiple-range test) به‌عنوان Post Hoc در سطح اطمینان ۹۵ درصد استفاده شد. تمام تجزیه‌وتحلیل‌های آماری با نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۲۵ انجام شد. نتایج به‌صورت انحراف معیار±میانگین ارائه شد.

۳. نتایج

بر اساس نتایج ارائه شده در جدول ۱ میزان رشد و تغذیه لاروها در تراکم ۴۵ قطعه لارو کاهش معنی‌داری در مقایسه با سایر تیمارهای آزمایشی داشت ($p<0/05$)؛ اما اختلاف معنی‌داری بین سایر تیمارهای آزمایشی مشاهده نشد ($p>0/05$). شاخص وضعیت نیز اختلاف معنی‌داری بین هیچ یک از تیمارهای آزمایشی نشان نداد ($p>0/05$) (جدول ۱).

جدول ۱- مقایسه برخی از شاخص های رشد و تغذیه در لاروهای ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تحت تأثیر تراکم‌های مختلف

شاخص / تراکم	تراکم ۳۰ عدد لارو در ۱۰ لیتر آب	تراکم ۴۵ عدد لارو در ۱۰ لیتر آب	تراکم ۶۰ عدد لارو در ۱۰ لیتر آب	تراکم ۷۵ عدد لارو در ۱۰ لیتر آب
وزن اولیه (g)	۰/۲۳۵±۰/۱۴	۰/۲۳۵±۰/۱۴	۰/۲۳۵±۰/۱۴	۰/۲۳۵±۰/۱۴
وزن نهایی (g)	۲/۹۳±۱/۰۶^{a}	۲/۵۵±۰/۷۶^{a}	۳/۰۶±۱/۱۶^{a}	۲/۸۶±۰/۹۸^{a}
طول نهایی (cm)	۶/۴۱±۰/۸۴^{a}	۶/۰۵±۰/۶۱^{b}	۶/۳۱±۰/۷۴^{a}	۶/۲۷±۰/۶۷^{a}
افزایش وزن (g)	۲/۷۰±۱/۰۶^{a}	۲/۳۱±۰/۷۶^{b}	۲/۸۲±۱/۱۶^{a}	۲/۵۲±۰/۹۸^{a}
درصد افزایش وزن (٪)	۱۱۴/۴۵±۹۲/۴۹^{a}	۹۸/۳۲±۶۳/۵۵^{b}	۱۲۰/۴۹±۲۸/۴۷^{a}	۱۱۱/۴۱±۸۰/۹۶^{a}
میانگین رشد روزانه (٪)	۲±۶/۳۷^{a}	۵/۱±۱۵/۷۰^{b}	۶/۲±۲۸/۵۸^{a}	۵/۲±۸۳/۱۹^{a}
نرخ رشد ویژه (٪ /day)	۲/۰±۳۸/۳۳^{a}	۲/۰±۲۵/۲۸^{b}	۲/۰±۴۱/۳۴^{a}	۲/۰±۳۵/۳۲^{a}
ضریب رشد حرارتی (٪)	۱/۱۷±۰/۲۴^{a}	۱/۰۸±۰/۱۹^{b}	۱/۲±۰/۲۵^{a}	۱/۱۶±۰/۲۳^{a}
سرعت رشد وزنی (٪)	۳۱۷/۱۹±۱۰۶/۹۵^{a}	۲۷۸/۸۹±۷۶/۵۳^{b}	۳۲۹/۸۰±۱۱۶/۳۰^{a}	۳۰۹/۸۵±۹۸/۶۵^{a}
ضریب تبدیل غذایی	۱/۰۴±۰/۳۶^{b}	۱/۱۷±۰/۳۷^{a}	۱/۰۱±۰/۳۸^{b}	۱/۰۶±۰/۳۶^{a}
نرخ کارایی غذا (٪)	۱۰۷/۵۳±۳۹/۱۵^{a}	۹۳/۵۱±۲۸/۰۲^{b}	۱۱۲/۱۵±۴۲/۵۸^{a}	۱۰۴/۸۴±۳۶/۱۲^{a}
غذای خورده شده (٪ /day)	۰/۷۰±۰/۲۲^{b}	۰/۷۸±۰/۲۲^{a}	۰/۶۸±۰/۲۳^{b}	۰/۷۲±۰/۲۲^{b}
نسبت کارایی پروتئین (g/g)	۲/۰±۶۵/۹۶^{a}	۲/۰±۳۰/۶۹^{b}	۲/۱±۷۶/۰۵^{a}	۲/۰±۵۸/۸۹^{a}
نسبت کارایی چربی (g/g)	۸/۵۳±۳/۱۰^{a}	۷/۴۲±۲/۲۲^{b}	۸/۹۰±۳/۳۷^{a}	۸/۳۲±۲/۸۶^{b}
فاکتور وضعیت (٪)	۱/۱۹±۰/۱۵^{a}	۱/۱۲±۰/۱۳^{a}	۱/۱۷±۰/۱۴^{a}	۱/۱۲±۰/۱۳^{a}

*اعداد (انحراف معیار±میانگین) با حروف انگلیسی متفاوت در بالا، در هر ردیف اختلاف معنی‌دار آماری دارند ($p<0/05$).

شاخص‌های خونی و بیو شیمیایی سرم نیز از اختلاف معنی‌داری بین تیمار های آزمایشی برخوردار بود ند (p<۰/۰۵). بر اساس نتایج بدست آمده با افزایش میزان تراکم مقدار WBC، RBC، Ht، Hb، MCV، MCH، MCHC و گلوکز رو ندی صعودی و م قدار کورتیزول روندی نزولی نشان داد (جدول ۲).

جدول ۲- مقایسه شاخص‌های خون‌شناسی در لاروهای ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تحت تأثیر تراکم‌های مختلف

شاخص / تراکم	تراکم ۳۰ عدد لارو در ۱۰ لیتر آب	تراکم ۴۵ عدد لارو در ۱۰ لیتر آب	تراکم ۶۰ عدد لارو در ۱۰ لیتر آب	تراکم ۷۵ عدد لارو در ۱۰ لیتر آب
WBC(10^3 /ml)	۶۶۵۰±۱۵۰^{d}	۷۱۷۵±۷۵^{c}	۸۰۵۰±۱۵۰^{b}	۸۵۵۰±۵۰^{a}
RBC(10^6/ml)	۰/۸۹۲±۰/۰۰۰۲^{d}	۰/۹۳۲±۰/۰۰۰۵^{c}	۰/۹۶۰±۰/۰۰۶^{b}	۰/۹۷۸±۰/۰۰۵^{a}
Ht(%)	۲۲/۲۵±۰/۰۵^{d}	۲۲/۹۵±۰/۰۵^{c}	۲۳/۷۵±۰/۱۵^{b}	۲۴/۵۰±۰/۰۰^{a}
Hb(g/dl)	۷/۲۰±۰/۱۰^{d}	۷/۷۵±۰/۰۵^{c}	۸/۴۵±۰/۰۵^{b}	۸/۷۵±۰/۰۵^{a}
MCV (fl)	۲۴۹/۱۵±۰/۵۵^{a}	۲۴۶/۱۰±۰/۴۰^{b}	۲۴۷/۳۰±۰/۱۰^{b}	۲۵۰/۵۰±۰/۳۰^{a}
MCH (pg)	۸۰/۶۰±۱/۱۰^{d}	۸۳/۱۰±۱/۵۰^{c}	۸۸/۰۰±۰/۱۰^{b}	۸۹/۴۵±۰/۰۵^{a}
MCHC (%)	۳۲/۳۵±۰/۳۵^{c}	۳۳/۷۵±۰/۱۵^{b}	۳۵/۶۰±۰/۶۰^{a}	۳۵/۷۰±۰/۲۰^{a}
گلوکز (mg/dl)	۱۱۴±۳^{c}	۱۱۶±۰/۰۰^{c}	۱۳۹/۵±۴/۵۰^{a}	۱۳۰±۵^{b}
کورتیزول (mg/dl)	۸۴/۵±۲/۵^{a}	۷۳/۵±۱/۵^{b}	۶۰/۵±۲/۵^{c}	۴۱±۱^{d}

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

WBC= تعداد گلبول‌های سفید؛ RBC= تعداد گلبول‌های قرمز؛ Ht= هماتوکریت؛ Hb= هموگلوبین؛ MCV=متوسط حجم گلبول قرمز؛ MCH=متوسط هموگلوبین گلبول قرمز؛ MCHC= متوسط غلظت هموگلوبین سلولی

۴. بحث و نتیجه گیری

باوجود کاهش معنی‌دار شاخص‌های ر شد در تیمار با تراکم ۴۵ قطعه لارو ، نتایج مطالعه حاضر نشان داد که افزایش میزان تراکم در پرورش لاروهای قزل‌آلای رنگین‌کمان تا ۷۵ قطعه مانع از ایجاد اختلاف معنی‌دار در میزان رشد لارو ها بین تیمار های با تراکم مختلف می‌گردد. این نتایج بدین معنی است که پتانسیل رشد در تیمار های تغذیه کرده از جیره های تکمیل‌شده با پروبیوتیک در تراکم‌های بالا در طول دوره پرورش مشابه تراکم پایین بوده است. مطالعات انجام شده نشان می‌دهد که در گربه ماهی کلاریده (*Clarias gariepinus*) (Hecht *et al*., 1996)، گورامی بالا رونده (*Anabas testudineus*) (Khatune-Jannat *et al*., 2012)، تاسماهی آمور (*Acipenser schrenckii*) (Zhu *et al*., 2011)، گربه ماهی نقره‌ای (*Rhamdia quelen*) (Pouey *et al*., 2011) و گونه‌های مختلف تیلاپیا (Sorphea *et al*., 2010) شاخص‌های ر شد در تراکم‌های پایین تمایل بیشتری به افزایش دارد؛ اما نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تغذیه لارو های ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان که با جیره های حاوی باسیلوس‌های پروبیوتیکی مکمل سازی شده بودند دارای تأثیرات مثبتی بر شاخص‌های رشد و تغذیه بود. افزایش میزان ر شد می‌تواند به علت افزایش قابلیت جذب سلول‌های آنتروسیت روده از طریق کاهش چسبندگی چربی‌ها (Valera *et al*., 2010) و یا بهبود فعالیت آنزیم‌های هضمی تحت تأثیر پروبیوتیک‌های باسیلی باشد (Sáenz de Rodrigáñez *et al*., 2009).

در تائید نتایج بدست آمده Tapia-Paniagua و همکاران (۲۰۱۴) با به کارگیری باکتری پروبیوتیکی *Shewanella putrefaciens* در جیره غذایی ماهی کفشک *Solea senegalensis* گزارش دادند که استفاده از این پروبیوتیک باعث تعدیل فلورمیکروبی روده در تراکم‌های بالا می‌گردد. این محققین نتایج به‌دست‌آمده را ناشی

افزایش سلول‌های جامی شکل روده تحت تأثیر پروبیوتیک مصرفی بیان داشتند. نتایج مشابهی نیز در خصوص افزایش شاخص های رشد در ماهی کفشک *S. senegalensis* (Sáenz de Rodrigáñez *et al*., 2009)، توربوت (*Scophtalmus maximus*) (Gatesoupe, 1991)، تیلاپیای نیل (El-Haroun *et al*., 2006)، سی‌باس اروپایی (*Dicentrarchus labrax*) (Carnevali *et al*., 2006)، فلاندر ژاپنی (*Paralichthys olivaceus*) (Taoka *et al*., 2006) و بچه ماهیان انگشت قد روهو (*Labeo rohita*) (Mohapatra *et al*., 2012) در بهکارگیری از پروبیوتیک‌های مختلف گزارش شده است.

بررسی شاخص‌های خون شناسی در لاروهای ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تحت تأثیر تراکم‌های مختلف به‌وضوح نشان داد که با افزایش میزان تراکم پارامترهای خون شناسی و بیوشیمیایی سرم نیز افزایش‌یافته است. این نتایج یافته‌های قبلی را که عنوان می‌کردند پرورش ماهی با تراکم‌های بالا باعث تغییر در شاخص‌های خونی در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌گردد را تائید می‌نماید (Yarahmadi *et al*., 2015؛ Eagderi *et al*., 2016). در تائید نتایج بدست آمده Varela و همکاران (۲۰۱۰) نیز با بکارگیری پروبیوتیک تجاری Pdp11 در جیره غذایی ماهی شانک اروپایی (*Sparus auratus*) در تراکم پایین ذخیره‌سازی اختلاف معنی‌داری در میزان غلظت کورتیزول و گلوکز مشاهده نکردند؛ اما با افزایش میزان تراکم غلظت هورمون کورتیزول در تیمار مکمل سازی شده کاهش و سطح گلوکز خون افزایش معنی داری نشان داد. در مطالعه Cordero و همکاران (۲۰۱۶) نیز استفاده از باکتری پروبیوتیکی *S. putrefaciens* در تراکم‌های مختلف ماهی شانک اروپایی بهبود عملکردهای ایمنی در تراکم‌های بالای ذخیره‌سازی را در پی داشت.

Charoo و همکاران (۲۰۱۳) با افزایش میزان تراکم در پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان از ۳۰ به ۳۸ کیلوگرم در هر مترمکعب شاهد افزایش معنی‌دار RBC، Ht، Hb و MCV بودند. Trenzado و همکاران (۲۰۰۶) با بررسی اثر ازدحام جمعیت بر شاخص‌های خونی بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان شاهد افزایش معنی‌دار درصد هماتوکریت و غلظت هموگلوبین در تیمارهای با تراکم بالابودند. در مطالعه Mazur و Iwama (۱۹۹۳) نیز افزایش معنی‌داری در شاخص های خونی ماهی آزاد چینوک (*O. tshawytscha*) در تراکم‌های ۳۲ و ۶۴ کیلوگرم در هر مترمکعب در مقایسه با تیمار با تراکم ۸ کیلوگرم ماهی در هر مترمکعب ثبت شد. Rafatnezhad و همکاران (۲۰۰۸) نیز با بررسی تراکم‌های ۱، ۲، ۴، ۶ و ۸ کیلوگرم فیل‌ماهیان جوان (*Huso huso*) در هر مترمکعب شاهد افزایش معنی‌دار درصد هماتوکریت خون بین تیمارهای آزمایشی بودند. در تضاد با این نتایج در مطالعه Aalimahmoudi و همکاران (۲۰۱۵) بررسی تراکم های مختلف روی شاخص‌های خونی فیل‌ماهیان جوان پرورشی اختلاف معنی‌دار در تعداد گلبول‌های قرمز نشان نداد؛ اما تعداد گلبول‌های سفید و درصد هماتوکریت در تیمارهای با تراکم بالا از کاهش معنی‌داری برخوردار بودند. da Costa و همکاران (۲۰۱۹) نیز در پرورش ماهی *Colossoma macropomum* اختلاف معنی‌داری در مقادیر RBC، Ht، Hb و MCHC بین تیمارهای با تراکم مختلف ذخیره سازی مشاهده نکردند که در تضاد با نتایج حاضر بود؛ اما در تحقیق مذکور تعداد گلبول‌های سفید خون با افزایش میزان تراکم افزایش معنی‌داری نشان داد که همسو با نتایج تحقیق حاضر بود. بنا بر آنالیزهای انجام‌شده توسط این محققین استفاده از تراکم‌های بالا به‌عنوان عامل بروز استرس، کاهش هموستازی و غیرفعال شدن سیستم ایمنی در ماهیان گزارش شد. درمجموع، یافته‌های این تحقیق نشان داد که علی رغم افزایش تراکم ماهی در تیمارهای آزمایشی نسبت به گروه شاهد، بکارگیری باسیلوس‌های پروبیوتیکی در تراکم‌های مختلف پرورش لاروی ماهی قزل آلای رنگین کمان بر برخی از شاخص‌های رشد، تغذیه و شاخص‌های خونی اثرمثبتی داشت. در این راستا برای رسیدن به نتایج بهتر، نیاز به انجام تحقیقات بیشتری است.

۵. منابع

References

Paricheh, N., Jafaryan, H., Harsij, M., Ahmadi, A.R., Sahandi, J., 2016. Effects of *Bacillus* probiotic enzyme extract on growth and carcass biochemical composition of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) larvae. *Journal of marine science and technology* 15 (3),1-10. (In Persian).

Jafarian, H.A., Taati Kelei, M., Nazarpour, A.R., 2009. The study effect of probioic *Bacillus* on growth of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) larvae via supplementation with meal of daphnia magna. *Journal of agricultural sciences and natural resources* 16 (3), 39-47. (In Persian).

Gholian, E., Bahr Kazemi, M., Mohaqeqi Samarin, A., Saeeidi, A., 2016. A survey of the effects of stocking density on growth factors of (*Salmo trutta caspius*). *Breeding and aquaculture sciences quarterly* 4 (8): 84-95. (In Persian).

Sayyad Bourani, M., Maghsoudieh Kohan, H., Sayyad Bourani, M., Zahmatkesh Komle, A., Valipour, A.R., Daghigh Rouhi, J., Toloei M.H., 2013. Effect of salinity (Caspian Sea water) on rearing of *Salmo trutta caspius*. *Journal of aquaculture development* 692(-), 47-55. (In Persian).

Kamgar, M., Ghane, M., Pourgholam, R., Ghiasi M., 2012. Evaluation of effect of bacillus subtilis as probiotic on hematological and biochemical parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) following experimental infection with *Streptococcus iniae*. *Journal of aquaculture development* 6 (1), 91-102. (In Persian).

Elyasi, H., Rahimibashar, M.R., Vahabzadeh, H., 2015. Effect density and food regime on growth, survival and body composition of big head (*Hypophthalmichthys nobilis*) larvae. *Journal of aquaculture development* 9 (2), 1-11. (In Persian).

Aalimahmoudi, M., Salehipour Bavarsad, S., Moghdani, S., 2015. Effect of different stocking densities on haematological and biochemical parameters of great sturgeon juveniles (*Huso huso* Linnaeus, 1758). *Research opinions in animal and veterinary sciences* 5 (8), 348-352.

Abou, Y., Fiogbe, E.D., Micha, J.C., 2007. Effects of stocking density on growth, yield and profitability of farming Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L., fed Azolla diet, in earthen ponds. *Aquaculture Research* 38, 595–604.

Ajani E.K., Setufe S.B. Oyebola O.O., 2015. Effects of stocking density on haematological functions of juvenile African catfish (*Clarias gariepinus*) fed varying crude protein levels. *African journal of food science* 9 (2), 65-69.

Bhatnagar A., Raparia S., 2014. Optimum dietary inclusion level of bacillus coagulans for growth and digestibility improvement for *catla catla* (hamilton). *International Journal of Current Research* 6 (7), 1-10.

Biswas G., Ghoshal T.K., Natarajan M., Thirunavukkarasu A.R., Sundaray J.K., Kailasam M., De D., Sukumaran K., Kumar P., Ponniah A.G., 2013. Effects of stocking density and presence or absence of soil base on growth, weight variation, survival and body composition of pearlspot, *Etroplus suratensis* (Bloch) fingerlings. *Aquaculture Research* 44(-), 1266-1276.

Borges, A., Scotti, L.V., Siqueira, D.R., Jurinitz, D.F., Wassermann, G.F., 2004. Hematologic and serum biochemical values for jundia´ (*Rhamdia quelen*). *Fish Physiology and Biochemistry* 30(-), 21-25.

Carnevali O., de Vivo L., Sulpizo 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(-), 430-438.

Charoo S.Q., Chalkoo S.R., Qureshi T.A. 2013. Effect of Stocking Density Stress on the Hematological Profile of *Oncorhynchus mykiss*. *International Journal of Advanced Agricultural Sciences and Technology* 2 (1), 23-27.

Chebanov, M., Ronald, B., 2001. The culture of sturgeon in Russia; production of juveniles for stocking and meat for human consumption. *Aquatic Living Resources* 14(-), 375-381.

Cordero, H., Morcillo, P., Meseguer, J., Cuesta, A., Esteban, M.A., 2016. Effects of *Shewanella putrefaciens* on innate immunity and cytokine expression profile upon high stocking density of gilthead seabream specimens. *Fish & Shellfish Immunology* 51(-), 33-40.

da Costa, O.T.F., Dias, L.D., Malmann, C.D.Y., de Lima Ferreira, C.A., do Carmo, I.B., Wischneski, A.G., de Sousa, R.L., Cavero, B.A.S., Lameiras, J.L.V., Dos-Santos, M.C., 2019. The effects of stocking density on the hematology, plasma protein profile and immunoglobulin production of juvenile tambaqui (*Colossoma macropomum*) farmed in Brazil. *Aquaculture* 499(-), 260-268.

de las Heras, V., Martos-Sitcha, J.A., Yúfera, M., Mancera, J., Martínez-Rodríguez, G., 2015. Influence of stocking density on growth, metabolism and stress of thick lipped grey mullet (*Chelon labrosus*) juveniles. *Aquaculture* 448(-), 29–37.

Deane, E.E., Woo, N., 2003. Ontogeny of thyroid hormones, cortisol, hsp70 and hsp90 during silver sea bream larval development. *Life science* 72(-), 805-818.

Eagderi, S., Rahimi, M., Rostamian, N., Habibi, S.A., 2016. Effects of stocking density on growth performance, survival rate, and haematological parameters in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fingerlings. *Research Opinions in Animal and Veterinary Sciences* 6, 115-120.

El-Haroun, E.R., Goda, A.M.A.S., Kabir Chowdhury, M.A., 2006. Effect of dietary probiotic Biogen® supplementation as a growth promoter on growth performance and feed utilization of Nile tilapia *Oreochromis niloticus*.

Aquaculture Research 37(-), 1473-1480.

Garr, A.L., Lopez, H., Pierce, R., Davis, M., 2011. The effect of stocking density and diet on the growth and survival of cultured Florida apple snails, *Pomacea paludosa*. *Aquaculture* 311(-), 139–145.

Gatesoupe, F.J., 1991. Siderphore production and probiotic effect of Vibrio sp., associaited with turbot larvae, *Scophtalmus maximus*. *Aquatic Living Resources* 10(-), 239–246.

Gomez-Gil, B., Herrera-Vega, M.A., Aberu-Grobis, F.A., Roque, A., 1998. Bioencapsulation of two different vibrio species in nauplii of the Brine shrimp (*Artemia fransiscana*). *Applied Environmental microbiology* 64, 2318- 2322.

Guarner, F., Malagelada, J.R., 2003. Gut flora in health and disease. *The Lacent* 360(-), 512-519.

Hecht, T., Oellermann, L., Verheust, L., 1996. Perspectives on clariid catfish culture in Africa. *Aquatic Living Resource* 9, 197–206.

Henry, J.B., 1996. Clinical diagnosis and management by laboratory methods, W.B. Saunders Company. 1556 p.

Khattab, Y.A.R., Abdel-Tawwab, M., Ahmad, M.H., 2004. Effect of protein level and stocking density on growth performance, survival rate, feed utilization and body composition of Nile tilapia fry (*Oreochromis niloticus* L). In: Bolivar, R, Mair, G. and Fitzsimmons, K. (eds) Proceedings of the Sixth International Symposium on Tilapia in Aquaculture, Manila, Philippines, BFAR, Philippines, 264-276 pp.

Khatune-Jannat, M., Rahman, M.M., Bashar, M.A., Hasan, M.N., Ahamed, F., 2012. Effects of stocking density on survival, growth and production of Thai Climbing Perch (*Anabas testudineus*) under fed ponds. *Sains Malaysiana* 41(-), 1205–1210.

Klontz, G.W., 1994. Fish hematology. In: Techniques in fish immunology. Stolen, J.S., Fletcher, T.C., Rowley, A.F., Kelikoff, T.C., Kaatari, S.L. and Smith, S.A. (eds). Vol. 3. SOS Publications, Fair Haven, New Jersey, USA.121-132 pp.

Kruse, H., Sorum, H., 1994. Transfer of multiple drug resistance plasmids between bacteria of diverse origins in natural environments. *Applied and Environmental Microbiology* 60(-), 4015-4021.

Lefrançois, C., Claireaux, G., Mercier, C., Aubin, J., 2001. Effect of density on the routine metabolic expenditure of farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 195(-), 269–277.

Li, D., Liu, Z., Xie, C., 2012. Effect of stocking density on growth and serum concentrations of thyroid hormones and cortisol in Amur sturgeon, *Acipenser schrenckii*. *Fish Physiology and Biochemistry* 38(-), 511–520.

Liu, B., Jia, R., Han, C., Huang, B., Lei, J., 2016. Effects of stocking density on antioxidant status, metabolism and immune response in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*). *Comparative Biochemistry and Physiology - Part C: Toxicology & Pharmacology* 190, 1–8.

Luo, G., Xu, J., Teng, Y., Ding, C., Yan, B., 2010. Effects of dietary lipid levels on the growth, digestive enzyme, feed utilization and fatty acid composition of Japanese sea bass (*Lateolabrax japonicus*) reared in freshwater. *Aquaculture Research* 41, 210-219.

Mahmoudzadeh, L., Meshkini, S., Tukmehchi, A., Motalebi Moghanjoghi, A.A., Mahmoudzadeh, M., 2016. Effects of dietary Bacillus subtilis on growth performance and immune responses, in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792). *Iranian Journal of Fisheries Sciences* 15 (1), 347-359.

Mazur, C.F., Iwama, G.K., 1993. Effect of handling and stocking density on hematocrit, plasma cortisol, and survival in wild and hatchery–reared Chinook salmon *Oncorhynchus tshawytscha*. *Aquaculture* 117, 141-147.

Mohapatra, S., Chakraborty, T., Prusty, A.K., Das, P., Paniprasad, K., Mohanta, K.N., 2012. Use of different microbial probiotics in the diet of Rohu, *Labeo rohita* fingerling: Effects on growth, nutrient digestibility and retention, digestive enzyme activities and intestinal microflora. *Aquaculture Nutrition* 18(-), 1-11.

Ni, M., Wen H., Li J., Chi M., Bu Y., Ren Y., Zhang M., Song Z., Ding H., 2016. Effects of stocking density on mortality, growth and physiology of juvenile Amur sturgeon (*Acipenser schrenckii*). *Aquaculture Research* 47, 1596–1604.

Nikkhoo, M., Yousefian, M., Safari, R., Nikkhoo, M., 2010. The Influence Probiotic of Aqualase on the Survival, Growth, Intestinal Microflora and Challenge Infection in Wild Carp (*Cyprinius Carpio* L). *Research Journal of Fisheries and Hydrobiology* 5 (2), 168-172.

Orbcastel, R.E., Lemarié, G., Breuil, G., Petochi, T., Marino, G., Triplet, S., Dutto, G., Fivelstad, S., Coeurdacier, J., Blancheton, J., 2010. Effects of rearing density on sea bass (*Dicentrarchus labrax*) biological performance, blood parameters and disease resistance in a flow through system. *Aquatic Living Resource* 23(-), 109-117.

Osofero, S.A., Otubusin, S.O., Daramola, J.A., 2009. Effect of stocking density on tilapia (*Oreochromis niloticus* Linnaeus 1757) growth and survival in bamboo – net cages trial. *African journal of biotechnology* 8, 1322–1325.

Pouey, J.L.O.F., Piedras, S.R.N., Rocha, C.B., Tavares, R.A., Santos, J.D.M., 2011. Productive performance of silver catfish, *Rhamdia quelen*, juveniles stocked at different densities. *Ars Veterinaria* 27(-), 241–245.

Pourgholam, M.A., Khara, H., Safari, R., Yazdani Sadati, M.A., Aramli, M.S., 2017. Influence of *Lactobacillus plantarum* Inclusion in the Diet of Siberian Sturgeon (*Acipenser baerii*) on Performance and Hematological Parameters. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 17(۱), 1-5.

Qi, C., Xie C., Tang R., Qin X., Wang D., Li D., 2016. Effect of stocking density on growth, physiological responses, and body composition of juvenile blunt snout bream, *Megalobrama amblycephala*. *Journal of the World Aquaculture Society* 47 (3), 358-368.

Rafatnezhad, S., Falahatkar, B., Tolouei, M.H., 2008. Effects of stocking density on hematological, growth indices and fin erosion of great sturgeon (*Huso huso*) juveniles. *Aquaculture Research* 39, 1506-1513.

Ramos, M.A., Gonçalves, J.F.M., Costas, B., Batista, S., Lochmann, R., Pires, M.A., Rema, P., Ozóri, R.O.A., 2017. Commercial Bacillus probiotic supplementation of rainbow trout (*Oncorhynchys mykiss*) and brown trout (*Salmo trutta*): growth, immune responses and intestinal morphology. *Aquaculture Research* 48(5), 2538-2549.

Rengpipat, S., Phianphak, W., Piyatiratitvorakul, S., Menasveta, P., 1998. Effect of probiotic bacterium on black tiger shrimp *Penaeus monodon* survival and growth. *Aquaculture* 167, 301-313.

Renuka, K.P., Venkateshwarlu, M., Ramachandra Naik, A.T., 2014. Effect of Probiotic (*Lactobacillus acidophilus*) on Haematological parameters of *Catla catla* (Hamilton). *International Journal of Current Microbiology Applied Science* 3(8), 326-335.

Rowland, S.J., Mifsud, C., Nixon, M., Boyd, P., 2006. Effects of stocking density on the performance of the Australian freshwater silver perch (*Bidyanus bidyanus*) in cages. *Aquaculture* 253, 301-308.

Sáenz de Rodrigáñez, M.A., Díaz-Rosales, P., Chabrillón, M., Smidt, H., Arijo, S., León- Rubio, J.M., Alarcón, F.J., Balebona, M.C., Moriñigo, M.A., Cara, J.B., Moyano, F.J., 2009. Effect of dietary administration of probiotics on growth and digestive tract of Senegalese sole (*Solea senegalensis*, Kaup 1858). *Aquaculture Nutrition* 15, 177–185.

Silva, T.F.A., Petrillo, T.R., Yunis-Aguinaga, J., Marcusso, P.F., Claudiano, G.D., de Moraes, F.R., de Moraes, J.R.E., 2015. Effects of the probiotic *Bacillus amyloliquefaciens* on growth performance, hematology and intestinal morphometry in cage-reared Nile tilapia. *Latin American Journal of Aquatic Research* 43 (5), 963-971.

Sorphea, S., Lundh, T., Preston, T.R., Borin, K., 2010. Effect of stocking densities and feed supplements on the growth performance of tilapia (*Oreochromis* spp.) raised in ponds and in the paddy field. *Livestock Research for Rural Development* 22 (12), 227.

Southworth, B.E., Engle, C.R., Ruebush, K., 2009. The effect of understocking density of channel catfish stockers in multiple-batch production. *Journal of Applied Aquaculture* 21(-), 21-30.

Tapia-Paniagua, S.T., Vidal, S., Lobo, C., Prieto-Alamo, M.J., Jurado, J., Cordero, H., Cerezuela, R., García de la Banda, I., Esteban, M.A., Balebona, M.C., Mori~nigo, M.A., 2014. The treatment with the probiotic *Shewanella putrefaciens* Pdp11 of specimens of *Solea senegalensis* exposed to high stocking densities to enhance their resistance to disease. *Fish & Shellfish Immunology* 41(-), 209-221.

Tave, D. 1986. Genetics for Fish Hatchery Managers. AVI Publishing Co, Westport, Connecticut.

Trenzado, C.E., Morales, A.E., de la Higuera, M., 2006. Physiological effects of crowding in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, selected for low and high stress responsiveness. *Aquaculture* 258 (-), 583–593.

Varela, J.L., Ruiz-Jarabo, I., Vargas-Chacoff, L., Arijo, S., León-Rubio, J.M., García-Millán, I., Martín del Río, M.P., Moriñigo, M.A., Mancera, J.M., 2010. Dietary administration of probiotic Pdp11 promotes growth and improves stress tolerance to high stocking density in gilthead seabream *Sparus auratus*, Aquaculture 309 (-), 265–271.

Yarahmadi, P., Miandare, H.K., Hoseinifar, S.H., Gheysvandi, N., Akbarzadeh, A., 2015. The effects of stocking density on hemato-immunological and serum biochemical parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). A*quaculture International* 23, 55-63.

Zhu, Y.J., Yang, D.G., Chen, J.W., Yi, J.F., Liu, W.C., 2011. An evaluation of stocking density in the cage culture efficiency of Amur sturgeon *Acipenser schrenckii*. *Journal of Applied Ichthyology* 27 (-), 545-549.

Abou-Zied, R.M., Ali, A.A.A., 2012. Effect of stocking density in intensive fish culture system on growth performance, feed utilization and economic productivity of Nile tilapia (*oreochromis niloticus* l.) reared in hapas. *Abbassa International Journal of Aquaculture* 5 (1), 487-499.