

Probiotyki w akwakulturze

BARBARA KAZUŃ, KRZYSZTOF KAZUŃ

Zakład Patologii i Immunologii Ryb, Instytut Rybactwa Śródlądowego w Olsztynie,
Żabieniec, ul. Główna 48, 05-500 Piaseczno

Kazuń B., Kazuń K.

Probiotics in aquaculture

Summary

Probiotic organisms are used in fish culture to accelerate growth, improve the absorption of nutrients, enhance immune resistance, and reduce negative effects of stress. Probiotic microorganisms used in aquaculture include gram positive bacteria (*Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Carnobacterium*, *Streptococcus*, *Bacillus*), gram negative bacteria (*Shewanella*, *Aeromonas*, *Vibrio*, *Enterobacter*, *Pseudomonas*), fungi (*Saccharomyces*, *Debaryomyces*, *Phaffia*), and algae (*Tetraselmis*).

Probiotics increase the expression of cytokines and affect the cellular and humoral defence mechanisms of the host by increasing the activity of phagocytic cells, complement, and lysozyme level. Probiotic bacteria in the intestines stimulate the immune system through the gut-associated lymphoid tissue (GALT).

Probiotic bacteria can be used for protection against bacterial fish pathogens (*Aeromonas salmonicida*, *Vibrio anguillarum*, *Vibrio ordalii*, *Yersinia ruckeri*). Some publications also report anti-viral, anti-parasitic, and anti-fungal affect of probiotics. This study reviews the results of research on the efficiency of selected probiotics in various fish species.

Probiotics may make it possible to achieve better results in fish culture without the need to use harmful and expensive chemotherapeutic products.

Keywords: probiotics, aquaculture, immune system

Od dłuższego czasu utrzymuje się tendencja zmierzająca do zaostrzenia przepisów regulujących stosowanie antybiotyków w chowie i hodowli zwierząt, z drugiej zaś strony – wzrasta świadomość konsumentów i utrzymuje się trend do tworzenia gospodarstw ekologicznych, w których przy hodowli zwierząt nie stosuje się żadnych środków chemicznych, zastępując je naturalnymi preparatami.

Faktem jest, że antybiotyki mają wpływ na zmniejszenie strat spowodowanych chorobami bakteryjnymi, ale nieracjonalne i bezzasadne ich stosowanie przyczynia się do powstawania szczepów antybiotykoopornych oraz nie pozostaje obojętne dla ekosystemu. Środki lecznicze używane w rybactwie pozostają w środowisku w dawkach niższych od terapeutycznych, sprzyjając tym samym nabywaniu odporności przez drobnoustroje. Stosowanie antybiotyków w stawach prowadzi do zaburzenia procesów nityfikacyjnych, obserwuje się również ich negatywny wpływ na bakterie odpowiedzialne za przemianę materii organicznej. Dochodzi do gromadzenia się osadów, zmniejszenia ilości planktonu i obniżenia naturalnej wydajności stawów, dlatego ważne jest poszukiwanie skutecznych środków poprawiających stan zdrowotny ryb, zwiększających ich odporność na stres oraz wskaźniki

chowu, które nie wywierają negatywnego wpływu na organizm konsumenta i środowisko.

Słowo probiotyk pochodzi od greckiego słowa „pro bios”, co oznacza „dla życia”. Sama definicja probiotyków ewoluowała przez lata i wielokrotnie była modyfikowana. Aktualnie obowiązującą definicją jest ta, przedstawiona przez Organizację Narodów Zjednoczonych ds. Wyżywienia i Rolnictwa (FAO) oraz Światową Organizację Zdrowia (WHO) w 2002 r., mówiąca, iż probiotykami są żywe mikroorganizmy, które podawane w odpowiednich ilościach wywierają korzystne skutki zdrowotne (5). Probiotykami mogą być bakterie, grzyby oraz glony.

Ostatnie lata obfitują w badania dotyczące wpływu wielu probiotyków na odporność na zakażenie różnymi drobnoustrojami. Najwięcej opracowań dotyczy zastosowania probiotyków w zapobieganiu i leczeniu licznych chorób u ludzi, w tym: przewlekłego nieswoistego zapalenia jelit, rotawirusowych i poantybiotykowych biegunek, zapać, zakażenia bakterią *Helicobacter pylori*. U zwierząt probiotyki stosowane są głównie w charakterze naturalnych stymulatorów wzrostu (zastępując wycofane w 2006 r. antybiotykowe stymulatory wzrostu), pomagają lepiej wykorzystywać pasze poprzez zwiększanie przyswajalności ich

składników. Mają również za zadanie podwyższanie odporności na infekcje, prowadząc tym samym do ograniczenia stosowania antybiotyków w chowie zwierząt, a w przypadku ich zastosowania przyspieszają okres rekonwalescencji.

Mechanizm działania probiotyków

Nie jest dokładnie poznany mechanizm działania bakterii probiotycznych, wiadomo, że działają one wielotorowo. Uszczelniają ściany nabłonka jelitowego, na przykład poprzez wytwarzanie glikoprotein jelitowych, a ponadto konkurują z bakteriami patogennymi o receptory na powierzchni śluzówki nabłonka jelitowego oraz o substancje odżywcze. Szczepy bakterii kwasu mlekowego (LAB – lactic acid bacteria) ponadto mają zdolność wytwarzania substancji o charakterze antybakteryjnym (kwas octowy, kwas mlekowy) oraz antybiotycznym (bakteriocyny). Ponadto bakterie z rodzaju *Lactobacillus* posiadają zdolność wytwarzania nadtlenku wodoru H_2O_2 w ilościach, które mogą być toksyczne dla patogennych drobnoustrojów. Te cechy bakterii probiotycznych pozwalają przeciwdziałać kolonizacji przewodu pokarmowego przez chorobotwórcze patogeny i stabilizują populację mikroorganizmów w przewodzie pokarmowym. Ponadto dzięki swojej aktywności enzymatycznej ułatwiają trawienie oraz polepszają przyswajalność pokarmu, czasami również syntezują witaminy z grupy B i K, przyczyniając się do zwiększania masy ciała wpływają na wzrost i rozwój zwierząt. Podawanie probiotyków po kuracji antybiotykowej chroni zwierzęta przed zakażeniami bakteriami oportunistycznymi zasiedlającymi przewód pokarmowy. Co bardzo istotne – probiotyki działają immunomodulująco na układ odpornościowy poprzez wpływ na układ cytokin i limfocytów.

W akwakulturze najczęściej stosuje się bakterie Gram-dodatnie (*Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Carnobacterium*, *Streptococcus*, *Bacillus*), bakterie Gram-ujemne (*Shewanella*, *Aeromonas*, *Vibrio*, *Enterobacter*, *Pseudomonas*), grzyby (*Saccharomyces*, *Debaryomyces*, *Phaffia*) oraz glony (*Tetraselmis*). Stosowanie bakterii probiotycznych w hodowli ryb ma na celu uzyskanie szybszego wzrostu, poprawę wchłaniania substancji odżywczych, podwyższanie odporności na choroby oraz niwelowanie negatywnych skutków stresu.

Wpływ probiotyków na nieswoistą odporność komórkową i humoralną u ryb

W przypadku ryb odporność nieswoista stanowi podstawę obrony organizmu, w jej skład wchodzi: komórki fagocytyczne, dopełniacz, lizozym, naturalne hemolizyny, transferyna, ceruloplazmina, białko C-reaktywne oraz cytokiny: interferon (INF), interleukiny (IL), czynnik aktywacji makrofagów (MAF).

Probiotyki wpływają na komórkowe mechanizmy nieswoistej obrony organizmu poprzez stymulowa-

nie aktywności komórek mononuklearnych (MN) (monocyty i makrofagi) oraz polimorfonuklearnych (PMN) (granulocyty obojętnochłonne). W przypadku zakażeń komórki te stanowią pierwszą linię obrony organizmu i odgrywają bardzo ważną rolę w sprawnym funkcjonowaniu całego układu immunologicznego, np. biorą udział w procesie fagocytozy. Istnieją liczne doniesienia potwierdzające możliwość stymulowania aktywności komórek fagocytycznych, udowodniono np., że bakterie LAB, a spośród nich najefektywniej takie, jak: *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus lactis* oraz *Lactobacillus acidophilus*, mogą podwyższać aktywność fagocytarną komórek (2, 15, 17). Pirarat i wsp. (19) zaobserwowali, że podawanie tilapii nilowej (*Oreochromis niloticus*) przez 2 tygodnie bakterii *L. rhamnosus* wpływa znacząco na wzrost aktywności fagocytarnej komórek żernych. Podobny efekt otrzymano podając *per os* pstrągowi tęczowemu (*Oncorhynchus mykiss*) bakterie *Clostridium butyricum* (23), *Pseudomonas* M162 (12), *Kocuria* SM1 (25).

Warunkiem sprawnego działania nieswoistej odporności ryb jest przebieg przemian metabolicznych w komórkach fagocytarnych. Procesowi wewnątrzkomórkowego zabijania, który nazywany jest wybuchem tlenowym, towarzyszy aktywacja szeregu enzymów, prowadząca do wytwarzania reaktywnych form tlenu oraz innych utleniaczy. Probiotyki mogą wpływać na poziom aktywności metabolicznej komórek żernych (RBA – respiratory burst activity), jednakże doniesienia naukowe na ten temat są często sprzeczne. Istnieją badania wskazujące, że stosowanie probiotyków nie ma znaczącego wpływu na aktywność metaboliczną neutrofilów i monocytów, podczas gdy inne, prowadzone zarówno w warunkach *in vitro*, jak i *in vivo* wykazują znaczące podwyższenie RBA u wielu zwierząt wodnych, w tym także u ryb. Wykazano, że bakterie *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas* M162, *Kocuria* SM1 oraz należące do grupy LAB mogą stymulować aktywność metaboliczną komórek fagocytarnych (12, 14, 24, 25, 29). Podobny efekt był opisywany u ryb karmionych probiotykami *L. plantarum* (26), *Clostridium butyricum* (23), *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *lactis* (24).

Do najważniejszych czynników humoralnych u ryb zalicza się takie składniki, jak: dopełniacz, lizozym, naturalne hemolizyny, transferynę, ceruloplazminę, białko C-reaktywne oraz cytokiny.

Lizozym występuje w surowicy, śluzie, skrzelach, jelicie oraz jest wytwarzany przez komórki fagocytyczne, m.in. makrofagi i neutrofile. Jest substancją białkową o właściwościach enzymatycznych, rozkładającą głównie ścianę bakterii Gram-dodatnich. Enzym ten działa również na wirusy poprzez zwiększenie aktywności fagocytarnej i pobudzenie komórek do produkcji interferonu, a także dzięki wykorzystaniu własnych właściwości elektrostatycznych, przez co może tworzyć kompleksy z elektroujemnymi kwasami nukleinowymi wirusa. W zależności od drogi podania

probiotyków można uzyskać efekt podwyższenia poziomu lizozymu w surowicy lub w śluzie skóry. Liczne doniesienia naukowe wykazują, że podawanie *per os* pstrągom tęczowym takich bakterii, jak: *Carnobacterium maltaromaticum*, *Carnobacterium divergens*, *L. rhamnosus* oraz *Lactobacillus casei*, *L. plantarum* i *Pseudomonas M162*, jak również pstrągom potokowym (*Salmo trutta trutta*) bakterii: *L. lactis ssp. lactis*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus sakei* podwyższa poziom lizozymu w surowicy (1, 11, 12, 15). Z kolei Taoka i wsp. (28) stwierdzili, iż podawanie probiotyków do wody z tilapiami znacząco podwyższa poziom lizozymu w śluzie skóry ryb w porównaniu do wyników uzyskanych przy doustnym podawaniu tych samych bakterii. Istnieją również publikacje wskazujące, iż np. podawanie *Aeromonas sobria* pstrągowi tęczowemu nie wpływa na aktywność lizozymu zarówno w surowicy, jak i w śluzie skóry lub nawet może wywołać obniżenie tego parametru (2).

Dopełniacz (komplement) jest ważnym komponentem nieswoistej odporności organizmu i składa się z około 35 białek. Uczestniczy on jako istotny czynnik w procesach neutralizacji patogenów, chemotaksji, zwiększa aktywność fagocytarną. Odgrywa także ważną rolę w procesach cytotoxyczności i cytolizy (9). Choi i Yoon (4) stwierdzili wzrost aktywności dopełniacza u pstrąga tęczowego karmionego od 4. tygodnia dwoma bakteriami probiotycznymi z rodziny *Vibrionaceae* inaktywowanymi termicznie, natomiast Andani i wsp. (1) stwierdzili znaczący wzrost tego parametru w grupie ryb suplementowanych probiotykiem *L. casei*.

Peroksydazy to hemoproteinowe enzymy oksydoredukcyjne, które przy pomocy nadtlenu wodoru H_2O_2 utleniają różne substraty. Występują między innymi w granulocytach. Biorą udział w zabijaniu wirusów, bakterii, jak również komórek nowotworowych. Salinas i wsp. (24) zaobserwowali, że karmienie karasia srebrzystego (*Carassius auratus*) bakteriami probiotycznymi *B. subtilis* także w połączeniu z *L. delbrueckii ssp. lactis* powoduje wzrost aktywności peroksydazy leukocytów nerki główowej. Sharifuzzaman i Austin (25) stwierdzili po trzech tygodniach od zaprzestania podawania probiotyku *Kocuria SM1* wzrost aktywności peroksydazy w surowicy u pstrąga tęczowego.

Cytokiny są to substancje białkowe wydzielane głównie przez komórki układu immunologicznego, które mają zdolność oddziaływania na różne komórki i regulują różnorodne procesy, takie jak: proliferacja, różnicowanie, ruchliwość komórek. Stwierdzono wpływ probiotyków *L. rhamnosus*, *Enterococcus faecium*, *B. subtilis* na ekspresję IL-1 β oraz transformujący czynnik wzrostu β (TGF- β) w śledzionie i nerce główowej pstrąga tęczowego (16) oraz *C. malaromaticum* i *C. divergens* na ekspresję IL-1 β , IL-8, czynnik martwicy nowotworów α (TNF- α) oraz TGF- β w nerce główowej pstrąga tęczowego (11).

Wpływ probiotyków na odporność błon śluzowych jelita

Bakterie probiotyczne w jelicie wykazują zdolność działania za pośrednictwem układu limfatycznego związanego z przewodem pokarmowym GALT (gut-associated lymphoid tissue) na układ immunologiczny, jednakże inaczej niż u ssaków, ryby nie posiadają zorganizowanych struktur limfatycznych takich jak kępkę Peyera, nie wytwarzają przeciwciał IgA oraz komórek M. Ich funkcje pełnią rozproszone komórki limfoidalne: makrofagi, granulocyty oraz przeciwciała IgM. Istnieją badania naukowe potwierdzające, iż probiotyki poprzez aktywację różnych komórek układu GALT stymulują funkcje układu immunologicznego. Picchetti i wsp. (17) stwierdzili wzrost liczby limfocytów T i B oraz kwasochłonnych granulocytów w jelicie labraksa (*Dicentrarchus labrax*) żywnego żywą artemią i wrotkami połączonymi 15 minut przed karmieniem z bakteriami *L. delbrueckii*. Natomiast Kim i Austin (11) zaobserwowali wzrost poziomu lizozymu w śluzie jelita u pstrąga tęczowego po podaniu *C. maltaromaticum* i *C. divergens*.

Rola probiotyków w ochronie zdrowia ryb

Zjawisko antagonizmu bakterii jest znane i powszechnie występujące w przyrodzie. Najlepiej poznany jest mechanizm działania bakterii kwasu mlekowego (LAB), które dzięki zdolnościom obniżania odczynu (pH) przewodu pokarmowego, produkcji nadtlenu wodoru oraz wytwarzaniu związków antybakteryjnych (np. laktocyna, acydofilina) mogą hamować namnażanie się patogennych dla organizmu drobnoustrojów, głównie pałeczek Gram-ujemnych. Bakterie LAB zaadaptowały się do wzrostu w różnych warunkach i w związku z tym są szeroko rozpowszechnione w środowisku. Stanowią ważny składnik flory jelitowej zwierząt stałocieplnych, występują w mleku oraz na powierzchni niektórych roślin. Istnieją również publikacje potwierdzające obecność bakterii *Lactobacillus spp.* w przewodzie pokarmowym ryb łososiowatych (21). Wśród flory jelitowej organizmów słodkowodnych dominują bakterie z rodzaju *Aeromonas*, *Plesiomonas* oraz *Enterobacteriaceae*, a jej skład zmienia się w zależności od sposobu karmienia, temperatury, wieku itp.

Pośród bakterii LAB stosowanych jako probiotyki w akwakulturze można wymienić bakterie z rodzajów: *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Pedicoccus*, *Aerococcus*, *Enterococcus*, *Vagococcus*, *Lactobacillus*, *Carnobacterium*, z tym, że najczęściej stosuje się bakterie należące do dwóch ostatnich rodzajów, wyizolowane z przewodu pokarmowego ryb. U ryb łososiowatych, pstrąga tęczowego i łososia atlantyckiego (*Salmo salar*), bakterie, takie jak: *L. rhamnosus*, *L. plantarum* oraz *C. divergens*, *Carnobacterium piscicola*, *C. maltaromaticum* stosuje się do ochrony przeciwko groźnym dla nich patogenom bakteryjnym,

głównie: *Aeromonas salmonicida*, *Vibrio anguillarum*, *Vibrio ordalii*, *Yersinia ruckeri* (1, 11, 14, 20, 22). Brunt i wsp. (2) zaobserwowali, iż podawanie bakterii *Bacillus* JB-1 lub *Aeromonas sobria* GC2 przez dwa tygodnie chroni pstrągi tęczowe przed zakażeniem bakteriami: *V. anguillarum*, *V. ordalii*, *Lactococcus garvieae*, *A. salmonicida*, *Streptococcus iniae* oraz *Y. ruckeri*. Istnieją również doniesienia naukowe stwierdzające możliwość obniżenia śmiertelności u pstrąga tęczowego zakażonego *L. garvieae* poprzez suplementację diety przez 30 dni bakteriami *L. mesenteroides* oraz *L. plantarum* (28), a także po infekcji *L. garvieae* i *Y. ruckeri* karmionych przez 42 dni bakteriami *B. subtilis* i *Bacillus licheniformis* (20). Stwierdzono również antagonizm bakterii *Pseudomonas* M162 przeciwko *Flavobacterium psychrophilum*, patogenowi zagrażającemu hodowli pstrąga, który jest odpowiedzialny za dwie jednostki chorobowe: syndrom narybku pstrąga tęczowego (RTFS) i chorobę zimnej wody (BCWD) (12). Podobnie bakterie *Pseudomonas fluorescens* wyizolowane od łososia atlantyckiego wykazują antagonizm przeciwko *A. salmonicida* (6). Chang i Liu (3) stwierdzili wzrost przeżywalności węgorza europejskiego (*Anguilla anguilla*) zakażonego *Edwardsiella tarda*, szczególnie niebezpieczną bakterią dla tego gatunku, po zastosowaniu dwóch probiotycznych bakterii *E. faecium* i *Bacillus toyoi*, natomiast Harikrishnan i wsp. (8) zaobserwowali podobną tendencję u karpia (*Cyprinus carpio*) zainfekowanych *Aeromonas hydrophila*, którym podawano bakterie *Lactobacillus*.

Również istnieją doniesienia na temat przeciwwirusowego działania bakterii z rodzajów: *Vibrio*, *Pseudomonas*, *Aeromonas* wobec wirusów zakaźnej martwicy układu krwiotwórczego (IHN) (10). Stwierdzono obniżenie śmiertelności do 30% i 25% u flądry (*Paralichthys olivaceus*) zakażonej wirusem limfocystozy (LCDV), której podawano preparat probiotyczny *Lactobacil* osobno lub w połączeniu z preparatem Sporolac (7).

Wykazano, że bakterie mogą także wykazywać działanie przeciwrzybicze. Bakterie *Aeromonas media* szczep A199 cechowały się antagonizmem w stosunku do grzybów z rodzaju *Saprolegnia* u węgorza australijskiego (*Anguilla australis*) (13).

Probiotyki mogą wykazywać działanie przeciw pasożytnicze, np. bakterie *A. sobria* podawane przez 14 dni w diecie przyczyniły się do wzrostu przeżywalności (nawet do 100%) pstrąga tęczowego zakażonego orzęskiem *Ichthyophthirius multifiliis* (18).

Podsumowanie

Choroby są głównym czynnikiem wpływającym na rentowność produkcji ryb, dlatego stosowanie probiotyków wydaje się właściwą drogą do ograniczania strat i utrzymania ryb w dobrym stanie zdrowia. Mogą one przyczynić się do uzyskania lepszych efektów ekonomicznych w hodowli ryb, bez konieczności

stosowania drogich i nieobojętnych dla środowiska chemioterapeutyków. W świetle przedstawionych licznych wyników badań naukowych prowadzonych na różnych gatunkach ryb można stwierdzić, iż jest to niewątpliwie ważny kierunek nauki określający możliwości stymulowania układu odpornościowego oraz zwiększania przeżywalności zwierząt w przypadku zachorowań.

Piśmiennictwo

1. Andani H. R. R., Tukmechi A., Meshkini S., Sheikhzadh N.: Antagonistic activity of two potential probiotic bacteria from fish intestines and investigation of their effects on growth performance and immune response in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). J. Appl. Ichthyol. 2012, 28, 728-734.
2. Brunt J., Newaj-Fyzul A., Austin B.: The development of probiotics for the control of multiple bacterial diseases of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). J. Fish Dis. 2007, 30, 573-579.
3. Chang C. I., Liu W. Y.: An evaluation of two probiotic bacterial strains, *Enterococcus faecium* SF68 and *Bacillus toyoi*, for reducing edwardsiellosis in cultured European eel, *Anguilla anguilla* L. J. Fish Dis. 2002, 25, 311-315.
4. Choi S. H., Yoon T. J.: Non-specific immune response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) by dietary heat-inactivated potential probiotics. Immune Netw. 2008, 8(3), 67-74.
5. FAO: Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food, Report of a Joint FAO/WHO Working Group on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. London, Ontario, Kanada, 30 kwietnia i 1 maja 2002, (http://www.who.int/foodsafety/fs_management/en/probiotic_guidelines.pdf).
6. Gram L., Lovold T., Nielsen J., Melchiorsen J., Spanggaard B.: In vitro antagonism of the probiont *Pseudomonas fluorescens* strain AH2 against *Aeromonas salmonicida* does not confer protection of salmon against furunculosis. Aquaculture 2001, 199, 1-11.
7. Harikrishnan R., Balasundaram C., Heo M. S.: Effect of probiotics enriched diet on *Paralichthys olivaceus* infected with lymphocystis disease virus (LCDV). Fish Shellfish Immunol. 2010, 29, 868-874.
8. Harikrishnan R., Balasundaram C., Heo M. S.: Potential use of probiotic and triherbal extract-enriched diets to control *Aeromonas hydrophila* infection in carp. Dis. Aquat. Organ. 2010, 92, 41-49.
9. Holland M. C., Lambris J. D.: The complement system in teleosts. Fish Shellfish Immunol. 2002, 12, 399-420.
10. Kamei Y., Yoshimizu M., Ezura Y., Kimura T.: Screening of bacteria with antiviral activity from fresh water salmonid hatcheries. Microbiology and Immunology 1988, 32, 67-73.
11. Kim D. H., Austin B.: Innate immune responses in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) induced by probiotics. Fish Shellfish Immunol. 2006, 21, 513-524.
12. Korkea-aho T. L., Papadopoulou A., Heikkinen J., von Wright A., Adams A., Austin B., Thompson K. D.: *Pseudomonas* M162 confers protection against rainbow trout fry syndrome by stimulating immunity. J. Appl. Microbiol. 2012, 113, 24-35.
13. Lategan M. J., Torpy F. R., Gibson L. F.: Control of saprolegniosis in the eel *Anguilla australis* Richardson, by *Aeromonas media* strain A199. Aquaculture 2004, 240, 19-27.
14. Nikoskelainen S., Ouwehand A. C., Bylund G., Salminen S., Lilius E.: Immune enhancement in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) by potential probiotic bacteria *Lactobacillus rhamnosus*. Fish Shellfish Immunol. 2003, 15, 443-452.
15. Panigrahi A., Kiron V., Kobayashi T., Puangkaew J., Satoh S., Sugita H.: Immune responses in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* induced by a potential probiotic bacteria *Lactobacillus rhamnosus* JCM 1136. Vet. Immunol. Immunopathol. 2004, 102, 379-388.
16. Panigrahi A., Kiron V., Satoh S., Hirono I., Kobayashi T., Sugita H.: Immune modulation and expression of cytokine genes in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* upon probiotic feeding. Dev. Comp. Immunol. 2007, 31, 372-382.
17. Picchetti S., Fausto A. M., Randelli E., Carnevali O., Taddei A. R., Buonocore F.: Early treatment with *Lactobacillus delbrueckii* strain induces an increase in intestinal T-cells and granulocytes and modulates immunerelated genes of larval *Dicentrarchus labrax* (L.). Fish Shellfish Immunol. 2009, 26, 368-376.
18. Pieters N., Brunt J., Austin B., Lyndon A. R.: Efficacy of in-feed probiotics against *Aeromonas bestiarum* and *Ichthyophthirius multifiliis* skin infections in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum). J. Appl. Microbiol. 2008, 105, 723-732.
19. Pirarat N., Kobayashi T., Katagiri T., Maita M., Endo M.: Protective effects and mechanisms of a probiotic bacterium *Lactobacillus rhamnosus* against

- experimental Edwardsiella tarda infection in tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2006, 113, 339-347.
20. Raida M. K., Larsen J. L., Nielsen M. E., Buchmann K.: Enhanced resistance of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), against *Yersinia ruckeri* challenge following oral administration of *Bacillus subtilis* and *B. licheniformis* (BioPlus2B). *J. Fish Dis.* 2003, 26, 495-498.
 21. Ringø E., Strøm E., Tabachek J.-A.: Intestinal microflora of salmonids: a review. *Aquacult. Res.* 1995, 26, 773-789.
 22. Robertson P. A. W., O'Dowd C., Burrells C., Williams P., Austin B.: Use of *Carnobacterium* sp. as a probiotic for Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) and rainbow trout, (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum). *Aquaculture* 2000, 185, 235-243.
 23. Sakai M., Yoshida T., Astuta S., Kobayashi M.: Enhancement of resistance to vibriosis in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) by oral administration of *Clostridium butyricum* bacteria. *J. Fish Dis.* 1995, 18, 187-190.
 24. Salinas I., Cuesta A., Esteban M. A., Meseguer J.: Dietary administration of *Lactobacillus delbrueckii* and *Bacillus subtilis*, single or combined, on gilthead seabream cellular innate immune responses. *Fish Shellfish Immunol.* 2005, 19, 67-77.
 25. Sharifuzzaman S. M., Austin B.: Development of protection in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) to *Vibrio anguillarum* following use of the probiotic Kocuria SM1. *Fish Shellfish Immunol.* 2010, 29, 212-216.
 26. Son V. M., Changa C. C., Wu M. C., Guu Y. K., Chiu C. H., Cheng W.: Dietary administration of the probiotic, *Lactobacillus plantarum*, enhanced the growth, innate immune responses, and disease resistance of the grouper *Epinephelus coioides*. *Fish Shellfish Immunol.* 2009, 26, 691-698.
 27. Taoka Y., Maeda H., Jo J. Y., Kim S. M., Park S., Yoshikawa T.: Use of live and dead probiotic cells in tilapia *Oreochromis niloticus*. *Fisher Sci.* 2006, 72, 755-766.
 28. Vendrell D., Balcázar J. L., de Blas I., Ruiz-Zarzuola I., Gironés O., Múzquiz J. L.: Protection of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) from lactococcosis by probiotic bacteria. *Comp. Immun. Microbiol. Infect. Dis.* 2008, 31, 337-345.
 29. Zhou X., Tian Z., Wang Y., Li W.: Effect of treatment with probiotics as water additives on tilapia (*Oreochromis niloticus*) growth performance and immune response. *Fish Physiol. Biochem.* 2009, 0920, 1573-5168.

Adres autora: dr Barbara Kazuń, Żabieniec, ul. Główna 48, 05-500 Piaszczyce; e-mail: mikaz@infish.com.pl