



Jacek Arkadiusz Potorski, Iwona Gołaś

Katedra Mikrobiologii Środowiskowej, Wydział Nauk o Środowisku, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

Wpływ bakterii probiotycznych *Carnobacterium maltaromaticum* na mikrobiotę heterotroficzną paszy komercyjnej przeznaczonej dla ryb

Wstęp

Powszechnie uznawana wysoka wartość odżywcza białka ryb i wzrost zapotrzebowania na dobrej jakości ryby słodkowodne prowadzi do intensyfikacji produkcji rybackiej. Współczesna akwakultura, obejmująca różne stadia rozwojowe ryb polega na ich karmieniu wyłącznie paszami sztucznymi, które są jednym z głównych czynników wpływających na ich dobrostan. Wartość odżywcza i jakość mikrobiologiczna stosowanych pasz, to czynniki gwarantujące prawidłowy i efektywny przyrost biomasy ryb oraz bezpieczeństwo sanitarno-epidemiologiczne wszystkich organizmów wodnych i całego środowiska wodnego (Petreska i in. 2013, Ramesh i in. 2013). Niestety oprócz swojej podstawowej funkcji odżywczej, pasze stanowią najważniejsze zagrożenie dla środowiska wodnego, a tym samym dla hodowanych w nim ryb. Pasze, będące pokarmem bogatym w substancje białkowe, węglowodany i tłuszcze, stanowią doskonałą pożywkę dla rozwoju drobnoustrojów, występujących w basenach czy stawach hodowlanych, bądź też dostających się do wody z odchodów ryb (Zmysłowska i Lewandowska 1999, Gołaś i in. 2004). Szczególnie narażony na niekorzystne warunki środowiskowe jest narybek ze względu na niską masę ryb i małą odporność. Dobra kondycja narybku i dalsza jego hodowla, przy minimalnych stratach, uzależnione są od systematycznego monitoringu dobrostanu ryb w basenach hodowlanych. Wiąże się to ściśle z zapewnieniem nie tylko stałego dopływu wody o odpowiednich parametrach fizyko-chemicznych i biologicznych, ale również stosowania pasz o wysokiej jakości mikrobiologicznej. Obecnie w produkcji pasz komercyjnych wykorzystuje się procesy ekstruzji, prowadzone w różnych warunkach termicznych zależnie od stadium rozwojowego ryb, dla których są przeznaczone.

W produkcji pasz przeznaczonych dla stadiów juwenilnych wykorzystuje się niskie temperatury ekstruzji nie przekraczające 40°C. Umożliwiają one zachowanie najwyższej jakości pasz pod względem chemicznym, ale z drugiej strony nie gwarantują zachowania bezpieczeństwa mikrobiologicznego. Dotyczy to nie tylko możliwości rozwoju bakterii patogennych, ale również niekontrolowanego wzrostu mikrobioty swoistej paszy, którą karmi się narybek. Działalność metaboliczna tej grupy drobnoustrojów heterotroficznymi jest z reguły znikoma w trakcie przechowywania paszy w odpowiednich warunkach temperaturowych (4°C) i wilgotnościowych. Natomiast wzrost temperatury przechowywania paszy lub podwyższenie jej wilgotności może pobudzać rozwój tej mikrobioty, która wykorzystując komponenty paszy do zaspokojenia swoich potrzeb pokarmowych, będzie powodowała obniżenie jej wartości odżywczych dla ryb (Hebraud i Potier 1999, Zmysłowska i Lewandowska 1999). Z drugiej strony niestrawiona lub częściowo rozłożona pasza zalegająca na dnie zbiornika hodowlanego staje się środowiskiem sprzyjającym wzrostowi innych drobnoustrojów heterotroficznymi, w tym również patogennymi. Zjawisku pogarszającej się jakości bakteriologicznej środowiska wodnego towarzyszy często spadek efektywności produkcji akwakultury. Jednym z czynników, które zapewniają odpowiedni poziom bezpieczeństwa mikrobiologicznego w akwakulturze i podnoszą wartości prozdrowotne stosowanych pasz są bakterie probiotyczne. Dobraczynny wpływ tych mikroorganizmów polega między innymi na modulacji mikrobioty swoistej przewodu pokarmowego ryb oraz wysokiej aktywności tych izolatów w stosunku do bakterii chorobotwórczych (Kim i Austin 2008, Ringø 2008, Ringø i in. 2010, Ramakrishnan i in. 2015). Wśród bakterii probiotycznych jednym z najbardziej aktywnych jest *Carnobacterium maltaromaticum*, którego naturalnym środowi-

skiem wzrostu i rozwoju jest nie tylko przewód pokarmowy zwierząt, ale także środowisko wodne. Ponadto ten gatunek bakterii wykazuje duże możliwości przystosowania do zmieniających się warunków środowiska, takich jak temperatura, zasolenie czy odczyn, przy jednoczesnym prozdrowotnym oddziaływaniu na organizmy zwierzęce (Kim i Austin 2008, Alfaro i in. 2013, Kim i in. 2015, Kazuń i in. 2016). Biorąc pod uwagę wysoką aktywność metaboliczną środowiskowego szczepu bakterii *C. maltaromaticum* i jego potencjał probiotyczny, celem pracy było określenie zmian składu ilościowego i jakościowego drobnoustrojów heterotroficznych w paszy komercyjnej, zalecanej dla podchowu stadiów juwenilnych pstrąga tęczowego (*Oncorhynchus mykiss*) w środowisku wodnym o temperaturze 16°C, optymalnej do podchowu tego gatunku ryb.

Materiały i metody

Pasza komercyjna

W doświadczeniu wykorzystano paszę komercyjną 1,1 MP Nutra HP (firmy Skretting) przeznaczoną dla narybku pstrąga tęczowego o masie ciała 2,5-5,0 g. Testowana pasza zawierała: 54% białka ogólnego, 18% tłuszczu surowego, 8% węglowodanów, 1% włókna surowego, 12% popiołu surowego. Energia strawna tej paszy wynosiła 19,5 MJ kg⁻¹ (www.grupaaqua.pl).

W eksperymencie badaniom mikrobiologicznym poddano sześć próbek paszy komercyjnej Nutra HP pobranych losowo. Były to 3 próbki paszy kontrolnej (PK) i 3 próbki paszy badawczej (PB) zawierające dodatek bakterii probiotycznych *C. maltaromaticum*.

Dodatek bakterii probiotycznych *C. maltaromaticum*

Do suplementacji paszy wykorzystano szczep bakterii probiotycznych *C. maltaromaticum*, wyizolowany z próbek wód naddennyh Jeziora Legińskiego (Pojezierze Mazurskie), pobranych z głębokości 34 m. Szczep ten został wyizolowany w trakcie wcześniejszych badań prowadzonych przez Katedrę Mikrobiologii Środowiskowej Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie. Badania przynależności gatunkowej szczepu przeprowadzono przy użyciu Matrix-assisted LASER desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF VITEK® MS) w Microbiology Department, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional, Mexico City (Mexico). Identyfikację szczepu potwierdzono dodatkowo metodą sekwencjonowania 16S rDNA bakteryjnego, wykonaną za pomocą zestawu BigDye Terminator v3.1 na analizatorze genetycznym ABI 3730xl (Applied Biosystems, Foster City, USA). Geny 16S rDNA użyskiwano w reakcji PCR według Gillan i in. (1998) z użyciem starterów 27F (5'-AGAGTTTGATCATTGGCTCAG-3') i 1492R (5'-GGTACC-TTGTACGACTT-3').

Opis eksperymentu

Z badanej paszy komercyjnej odważono losowo z zachowaniem warunków aseptycznych, 6 próbek po 10 g. Wykorzystano je w dalszych badaniach, które trwały przez okres 184 dni. Do każdej z próbek paszy dodano, z zachowaniem warunków sterylności, po 90 ml jałowej wody. Do 3 próbek paszy badawczej (PB) dodano 24-godzinna hodowlę szczepu bakterii probiotycznych *C. maltaromaticum* w ilości 6×10⁷ jtk g⁻¹. Natomiast pozostałe 3 próbki paszy bez dodatku bakterii probiotycznych oznaczono jako próbki kontrolne (PK). Wszystkie próbki badawcze PB (3 powtórzenia) i próbki kontrolne PK (3 powtórzenia) inkubowano w temperaturze 16°C, optymalnej do podchowu narybku pstrąga tęczowego.

Badania mikrobiologiczne

Wszystkie próbki pasz PK i PB (w 3 powtórzeniach) inkubowane w temperaturze 16°C poddawano analizom mikrobiologicznym po pierwszych 24 godzinach trwania eksperymentu i następnie co 7 dni. Obejmowały one określenie: liczebności bakterii *C. maltaromaticum* (*C. malt.*) na podłożu TSA z dodatkiem 3% wyciągu z drożdży i 1,5% NaCl (Kim i Austin 2008), ogólnej liczby bakterii mezofilnych na podłożu TSA w 28 ± 2°C 48 h⁻¹ (TVC), ogólnej liczby mezofilnych bakterii hemolizujących na podłożu TSA z 5% dodatkiem odwłóknionej krwi baraniej w 37°C 48 h⁻¹ (Hem), liczby bakterii z rodzaju *Staphylococcus* sp. na podłożu Chapmana w 37°C 48 h⁻¹ (*Staph.*), liczby beztlenowych bakterii przetrwalnikujących *Clostridium* sp. redukujących siarczyny na podłożu Wilson-Blaira w 37°C 18 h⁻¹ (*Clost.*) oraz ogólnej liczby grzybów drożdżoidalnych (GD) i pleśniowych (GP) na podłożu RGBC z chloramfenikolem w 28°C 5 d⁻¹. Liczebność żywych komórek w każdej z hodowli oznaczano metodą płytek tartych w odstępach tygodniowych. Wysiewy wykonywano w 3 równoległych powtórzeniach. Wyniki liczebności wszystkich badanych mikroorganizmów w próbkach paszy, użytych do eksperymentu, przeliczano i podawano jako średnią liczbę jednostek tworzących kolonie w 1 gramie paszy (jtk g⁻¹). Na podstawie uzyskanych wyników, dotyczących liczebności poszczególnych analizowanych grup drobnoustrojów w kolejnych okresach badawczych eksperymentu, określono ich przeżywalność (%) w próbkach PB w stosunku do PK.

Analiza statystyczna

W celu określenia statystycznie istotnych różnic pomiędzy liczebnościami wszystkich oznaczanych drobnoustrojów między kontrolnymi próbkami paszy (PK) i badawczymi próbkami paszy suplementowanymi bakteriami probiotycznymi *C. maltaromaticum* (PB), zastosowano jednoczynnikową analizę wariancji (ANOVA) (Stanisz 2006). Analizę statystyczną wykonano za pomocą programu komputerowego Statistica 13.1 [StatSoft, Inc.].

Wyniki

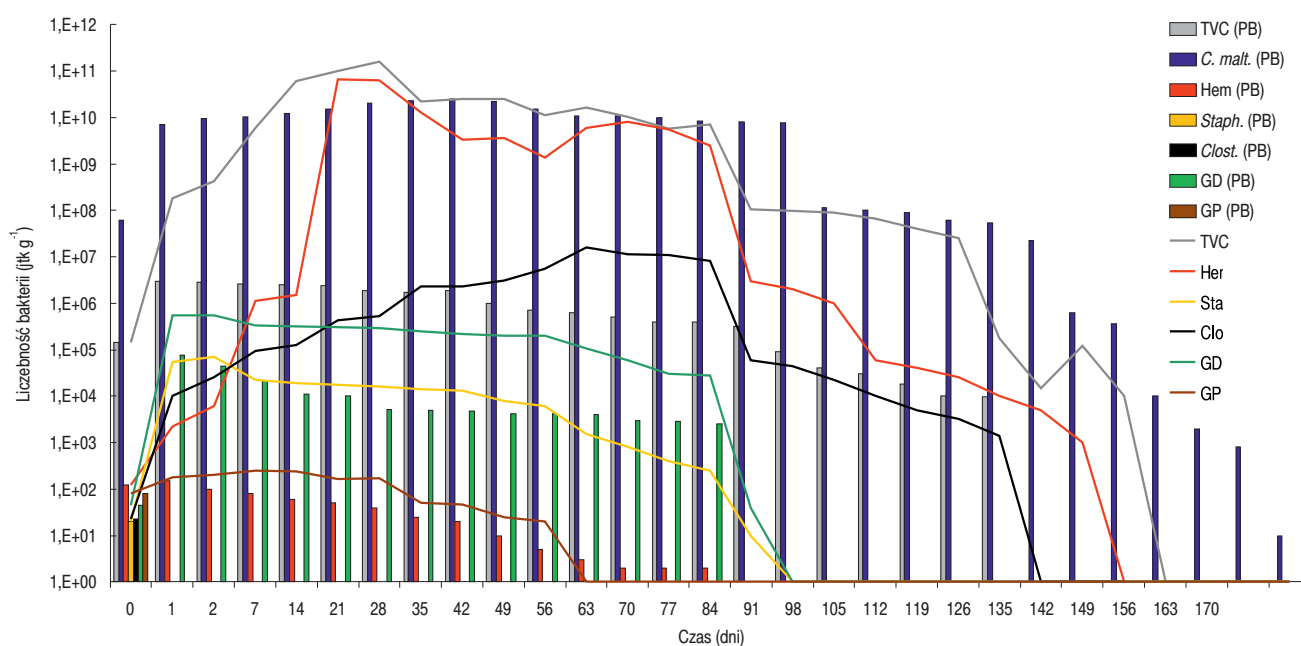
W próbkach paszy kontrolnej (PK) liczebność oznaczanych drobnoustrojów wahała się w granicach kilku rzędów wielkości, w zależności od oznaczanej grupy mikroorganizmów i czasu trwania eksperymentu. Zanotowano wzrost liczebności wszystkich oznaczanych grup drobnoustrojów już po pierwszym dniu eksperymentu. Stwierdzono wówczas, że ogólna liczba bakterii mezofilnych (TVC), liczebność bakterii z rodzajów: *Staphylococcus* (*Staph.*), *Clostridium* (*Clost.*) oraz drożdży wzrosły ponad tysiącrotnie, a liczebność bakterii hemolizujących (Hem) i grzybów pleśniowych (GP) ponad dwudziestokrotnie. W ciągu 7 kolejnych tygodni trwania eksperymentu w próbkach PK nadal obserwowano wzrost liczebności TVC, Hem, *Clost.* i GP. Ich maksymalne liczebności wynosiły: 161×10^9 , 75×10^9 , 15×10^6 , $2,5 \times 10^2$ jtk g⁻¹, odpowiednio po 7, 21, 28 i 63 dniach. W PK najkrótszą przeżywalnością charakteryzowały się GP (56 dni), najdłuższą natomiast Hem (149 dni) i TVC (156 dni). W próbkach paszy badawczej (PB) liczebność dodanych bakterii probiotycznych (*C. malt.*) wzrastała osiągając maksimum (25×10^9 jtk g⁻¹) po 42 dniach. Po pierwszym dniu eksperymentu stwierdzono je na poziomie 7×10^9 jtk g⁻¹ przy jednoczesnym braku wzrostu bakterii z rodzajów *Staphylococcus* (*Staph.*), *Clostridium* (*Clost.*) i GP. W tym samym czasie obserwowano największe liczebności TVC, Hem i GD. Wynosiły one odpowiednio: 3×10^6 , $1,5 \times 10^2$ i 17×10^4 jtk g⁻¹ i były od 3 do 1000 razy mniejsze od ich ilości stwierdzanych w PK w analogicznych okresach badawczych. W próbkach PB wzrostowi liczebności *C. maltaromaticum* towarzyszył spadek TVC, Hem i GD w ciągu kolejnych dni eksperymentu. W PB najdłużej

przeżywały bakterie probiotyczne *C. maltaromaticum* (184 dni), krócej: TVC (135 dni), Hem i GD (84 dni), a najkrócej *Staph.*, *Clost.* i GP, których brak wzrostu obserwowano już po 1 dniu eksperymentu (rys. 1). Porównanie uzyskanych wyników badań dotyczących liczebności oznaczanych grup drobnoustrojów pomiędzy próbkami PK i PB wykazało, że dodatek *C. maltaromaticum* spowodował znaczący spadek ich przeżywalności w kolejnych dniach eksperymentu. W próbkach PB przeżywalność TVC, Hem, *Staph.*, *Clost.* i GP nie przekraczała 7% w stosunku do PK. Natomiast w przypadku GP była ona wyższa i kształtowała się na poziomie 1,8 – 36,1% w próbkach PB w porównaniu z próbkami PK (tab. 1).

Zróznicowanie liczebności wszystkich oznaczanych grup drobnoustrojów heterotroficznych pomiędzy PK i PB potwierdziła analiza statystyczna. Jej wyniki wykazały statystycznie istotne różnice ($p \leq 0,05$) pomiędzy liczebnościami TVC, Hem, bakteriami z rodzajów *Staphylococcus* i *Clostridium*, GD i GP między próbkami PK i PB (tab. 2).

Dyskusja

Większa liczebność i dłuższa przeżywalność wszystkich oznaczanych grup drobnoustrojów zanotowane w próbkach paszy kontrolnej (PK) niż w próbkach paszy badawczej (PB) potwierdzają fakt, że poszczególne jej komponenty sprzyjają rozwojowi zarówno mikroflory swoistej pasz, jak i potencjalnie chorobotwórczej (Crump i in. 2002, Zmysłowska i in. 2003, Ubiebi 2017). Podobne wyniki dotyczące liczebności heterotroficznych bakterii mezofilnych, niektórych bakterii potencjalnie chorobotwórczych oraz drożdży i grzybów pleśniowych w paszy komercyjnej



Rys. 1. Średnie wartości: ogólnej liczby bakterii (TVC), liczebności *C. maltaromaticum* (*C. malt.*), bakterii hemolizujących (Hem), bakterii z rodzaju *Staphylococcus* sp. (*Staph.*), beztlenujących bakterii przetrwalnikujących *Clostridium* sp. (*Clost.*), grzybów drożdżoidalnych (GD) i pleśniowych (GP) w paszy kontrolnej (PK) i badawczej (PB) przetrzymywanej w temperaturze 16°C.

TABELA 1

Średni procent przeżywalności analizowanych grup drobnoustrojów heterotroficznych w próbkach paszy badawczej suplementowanej kulturą bakterii *C. maltaromaticum* (PB) w stosunku do próbek paszy kontrolnej (PK) w kolejnych dniach eksperymentu (szczegóły w rozdziale Materiały i metody).

Czas (dni)	Grupa mikroorganizmów					
	TVC	Hem	Staph.	Clost.	GD	GP
	%					
1	1,6	6,7	0	0	31,2	0
7	0	0	0	0	36,1	0,4
14	0	0	0	0	34,3	0,4
21	0	0	0	0	3,3	0,6
28	0	0	0	0	1,8	0,6
35	0	0	0	0	2	2
42	0	0	0	0	2,1	2,1
49	0	0	0	0	2	4
56	0	0	0	0	2	5
63	0	0	0	0	4,1	0
70	0	0	0	0	5,1	0
77	0	0	0	0	9,7	0
84	0	0	0	0	8,9	0
91	0,3	0	0	0	0	0
98	0,1	0	0	0	0	0
105	0	0	0	0	0	0
112	0	0	0	0	0	0
119	0	0	0	0	0	0
126	0,7	0	0	0	0	0
135	0,5	0	0	0	0	0
142	0	0	0	0	0	0

w trakcie intensywnej hodowli suma europejskiego *Silurus glanis* L. stwierdzili również Gotaś i in. (2004) oraz Petreska i in. (2013) w badaniach pasz komercyjnych pochodzących od różnych producentów. W badaniach własnych najmniejsze liczebności wszystkich oznaczanych drobnoustrojów (TVC, Hem, *Staphylococcus* sp., *Clostridium* sp., GD i GP) stwierdzano w próbkach paszy PB w stosunku do ich ilości notowanych w PK. Znaczący spadek liczebności analizowanych grup mikroorganizmów oraz krótsza ich przeżywalność w PB niż w PK, wskazuje na oddziaływanie antybakteryjne i antygrzybicze środowiskowego szczepu bakterii probiotycznych *C. maltaromaticum* na mikrobiotę swoistą i potencjalnie chorobotwórczą badanych próbek paszy komercyjnej. Podobną wysoką biologiczną aktywność *C. maltaromaticum* w stosunku do mikrobioty saprofitycznej i patogennej oraz duży potencjał prozdrowotny tych bakterii probiotycznych, wykazały również wyniki badań prowadzonych przez Ringø (2008), Ringø i in. (2010), Ramesh i in. (2013), Potorski i Niewiadomski (2017), Ubiebi (2017).

Podsumowanie

Najmniejsza liczebność wszystkich oznaczanych grup drobnoustrojów heterotroficznych oraz najkrótszy czas ich

TABELA 2

Statystycznie istotne różnice ($p \leq 0,05$) między liczebnościami oznaczanych grup drobnoustrojów heterotroficznych w próbkach paszy kontrolnej (PK) i badawczej (PB) w temperaturze 16°C

Grupa drobnoustrojów	Istotność różnic (p) między próbkami paszy (PK, PB)
TVC	0,0000*
Hem	0,0003*
Staph.	0,0000*
Clost.	0,0000*
GD	0,0037*
GP	0,0003*

* statystycznie istotne różnice ($p \leq 0,05$)

przeżywalności, stwierdzone w próbkach PB suplementowanych szczepem środowiskowym *C. maltaromaticum*, potwierdzają pozytywny wpływ tych bakterii probiotycznych na skład ilościowy i jakościowy mikrobioty badanej paszy komercyjnej. Statystyczne potwierdzenie wyników naszych badań wskazuje na duży potencjał tego szczepu w utrzymaniu stabilności mikrobiologicznej paszy zalecanej dla narybku pstrąga tęczowego. Dodatek probiotycznego szczepu bakterii *C. maltaromaticum* do paszy komercyjnej wpływając hamująco na wzrost TVC, bakterii potencjalnie chorobotwórczych (*Staphylococcus* sp., *Clostridium* sp.) i grzybów (GD, GP) powodował, że ich liczebność nie przekraczała odpowiednio: 3×10^6 , 1×10^4 , 7×10^4 jtk g⁻¹ przez cały czas trwania eksperymentu. Takie koncentracje drobnoustrojów heterotroficznych w paszy stanowią gwarancję jej bezpieczeństwa mikrobiologicznego i zdrowotnego dla narybku pstrąga tęczowego.

Literatura

- Alfaro B., Hernández I., Le Marc Y., Pin C. 2013 – Modelling the effect of the temperature and carbon dioxide on the growth of spoilage bacteria in packed fish products – Food Control 29: 429-437.
- Crump J.A., Griffin P.M., Angulo F.J. 2002 – Bacterial contamination of animal feed and its relationship to human foodborne illness – Clin. Infect. Dis. 359 (7): 859-865.
- Gotaś I., Zmysłowska I., Harnisz M., Teodorowicz M. 2004 – The microbiological state of fish feed, water and *Silurus glanis* L. skin of fry during intensive rearing – Bull. Sea Fish. Inst. 1(161): 3-14.
- Gillan D.C., Speksnijder A., Zwart G., De Ridder C. 1998 – Genetic diversity of the biofilm covering *Montacuta ferruginosa* (Mollusca, Bivalvia) as evaluated by denaturing gradient gel electrophoresis analysis and cloning of PCR-amplified gene fragments coding for 16S rRNA – Appl. Environ. Microbiol. 64: 3464-72.
- Hebraud M., Potier P. 1999 – Cold shock response and low temperature adaptation in psychrotrophic bacteria – J. Mol. Microbiol. Biotechnol. 1:211-219.
- Kazuń B., Kazuń K., Siwicki A.K. 2016 – Probiotyki, prebiotyki i synbiotyki w ochronie zdrowia ryb – Komun. Ryb. 4: 14-17.
- Kim D.H., Austin B. 2008 – Characterization of probiotic carnobacteria isolated from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) intestine – Lett. Appl. Microbiol. 47: 141-147.
- Kim D., Kang K., HaeKyung Ch., Jisoon I., Kwisung P. 2015 – *Carnobacterium* isolated from caviar of sturgeon (*Acipenser ruthenus*) farmed in Korea – J. Bacteriol. Virol. 45(2): 151-154.
- Petreska M., Ziberoski J., Zekiri M. 2013 – Fish feed microbiological status – JHED 4: 16-19.
- Potorski J., Niewiadomski P. 2017 – Wpływ dodatku mąki z amarantusa i bakterii probiotycznych na skład ilościowy i jakościowy mikrobioty pasz

- komponowanych w różnych warunkach temperaturowych – W: Książka abstraktów The International Conference of Natural and Medical Sciences: Young Sciences, PhD Students and Students, 1 - 3 December, Lublin 2017, MEDtube Science Jun. 2017, Vol. V (2): 139.
- Ramakrishnan C.M., Haniiffa M.A, Sheela P.J. 2015 – Effect of probiotics on survival and growth of *Heteropneustes fossilis* – IJPRHS 3(3): 784-793.
- Ramesh S., Chelladurai G., Haniiffa M.A. 2013 – Isolation of enzyme producing bacteria from gut of *Channa striatus* fed on different herbs and probiotics diet – Int. J. Pharm. Pharm. Sci. 5, Suppl 4: 195-198.
- Ringø E. 2008 – The ability of carnobacteria isolated from fish intestine to inhibit growth of fish pathogenic bacteria: a screening study – Aquacult. Res. 39: 171-180.
- Ringø E., Løvmo L., Kristiansen M., Bakken Y., Salinas I., Myklebust R., Olsen R.E., Mayhew T.M. 2010 – Lactic acid bacteria vs. pathogens in the gastrointestinal tract of fish – Aquacult. Res. 41: 451-467.
- Stanisz A. 2006 – Przystępny kurs statystyki z zastosowaniem *STATISTICA PL* na przykładach z medycyny. Tom 1. Statystyki podstawowe. Wyd. StatSoft Polska, Kraków.
- Ubiebi C.O. 2017 – Isolation and identification of bacterial isolates from poultry and fish feeds sold in Abraka, Delta State, Nigeria – Journal of Industrial Technology 2(1): 14-20.
- www.grupaaqua.pl
- Zmysłowska I., Lewandowska D. 1999 – Survival of bacterial strains in fish feeds stored at different temperatures – Pol. J. Environ. St. 8(6): 447-451.
- Zmysłowska I., Kolman R., Krause J. 2003 – Bacteriological evaluation of water, feed and sturgeon (*Acipenser Baeri* Brandt) fry quality during intensive rearing in cooling water – Arch. Pol. Fish. 11(1): 91-98.

Przyjęto po recenzji 8.08.2018 r.

THE EFFECT OF *CARNOBACTERIUM MALTAROMATICUM* PROBIOTIC BACTERIA ON COMMERCIAL FISH FEED HETEROTROPHIC MICROBIOTA

ABSTRACT. The aim of this study was to determine the effect of feed supplementation with highly active environmental *Carnobacterium maltaromaticum* probiotic bacteria on the changes of quantitative and qualitative microbiota composition in commercial fish feed. Feed samples were subjected to microbiological analyses to determine changes in the following parameters: counts of *Carnobacterium maltaromaticum* (*C. malt.*), total counts of saprophytic bacteria (TVC), counts of hemolytic mesophilic bacteria (Hem), counts of *Staphylococcus* sp. bacteria (Staph.), counts of sulfite-reducing anaerobic spore-forming *Clostridium* sp. bacteria (Clost.), and yeast (GP) and mold counts (GP) in control feed (PK) and in feed supplemented with *C. maltaromaticum* probiotic bacteria (PB) at a water temperature of 16°C for 184 days. The synergistic antibacterial and antifungal effects of the probiotic bacteria tested were confirmed by statistical analysis. Significant differences ($p < 0.05$) in microbial counts between PK and PB suggest that *C. maltaromaticum* stabilize the quantitative and qualitative composition of specific and potentially pathogenic microbiota in commercial fish feed.

Keywords: aquaculture, commercial feed, heterotrophic microorganisms, *Carnobacterium maltaromaticum*