مجله بهره‌برداری و پرورش آبزیان
جلد اول، شماره سوم، پاییز ۱۳۹۱
http://japu.gau.ac.ir

# به‌کارگیری باسیلوس‌های چندگانه در تغذیه لارو ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) از طریق غنی‌سازی با ناپلی آرتمیا پارتنوژنتیکا (*Artemia parthenogenetica*)

***هادی جمالی[۱]، حجت‌اله جعفریان[۲]، رحمان پاتیمار[۲] و مهدی سلطانی[۳]**

[۱]دانشجوی کارشناسی‌ارشد گروه شیلات، دانشگاه گنبد کاووس، [۲]دانشیار گروه شیلات، دانشگاه گنبد کاووس،
[۳]استاد گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان دانشگاه تهران

تاریخ دریافت: ۹۰/۱۱/۱۲ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۱/۲/۱۰

## چکیده

به‌منظور آشکار نمودن توانایی باسیلوس‌های پروبیوتیکی و تأثیرات ارتقاءدهنده آنها بر نرخ رشد و بقاء لارو ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)، یک آزمایش تغذیه‌ای ۳۰ روزه در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با تغذیه از ناپلی‌آرتمیا پارتنوژنتیکای (*Artemia parthenogenetica*) غنی شده در سوسپانسیون پنج گونه باسیلوس‌های پروبیوتیکی در مقادیر $۱\times۱۰^{۸}$، $۲\times۱۰^{۸}$ و $۳\times۱۰^{۸}$ (واحد کلنی در هر لیتر) از سوسپانسیون غنی‌سازی انجام شد. بعد از یک دوره آزمایش ۳۰ روزه، تمامی لاروهای موجود در هر یک از حوضچه‌ها جهت زیست‌سنجی و تعیین رشد، نمونه‌برداری صورت گرفت. نتایج نشان داد با تلقیح باسیلوس‌های پروبیوتیکی در سوسپانسیون محیط غنی‌سازی، بقاء و پارامترهای رشد لارو ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به‌طور کلی افزایش می‌یابد. لاروهای ماهی تغذیه شده با ناپلی آرتمیا در مقدار $۲\times۱۰^{۸}$ واحد کلنی در هر لیتر از سوسپانسیون غنی‌سازی، به‌طور معنی‌داری از بقاء و پارامترهای رشد بالاتری نسبت به گروه شاهد برخوردار بودند ($P<۰/۰۵$). باسیلوس‌های پروبیوتیکی تأثیرات مثبت معنی‌داری را بر نرخ رشد ویژه (SGR)، ضریب رشد حرارتی (TGC)، کارایی تبدیل غذایی (FCE) و نرخ وزن نسبی به‌دست آمده (RGR) داشتند. نتایج نشان داد که باسیلوس‌های پروبیوتیکی چندگانه بر عملکرد بقاء و پارامترهای رشد لارو ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تأثیرات فزاینده‌ای داشتند.

***واژه‌های کلیدی:*** باسیلوس، لارو قزل‌آلا، غنی‌سازی، آرتمیا پارتنوژنتیکا، رشد

* مسئول مکاتبه: saeed.jamali11@gmail.com

**مقدمه**

دوره لاروی یکی از مهم‌ترین مراحل زیستی ماهی بوده که بهبود رشد در این مرحله از اهمیت خاصی برخوردار می‌باشد و جمعیت باکتریایی روده لاروها می‌تواند نقش بسیار مهمی در سلامتی آنها در این دوره ایفاء نماید. در این راستا محصولات ارگانیکی میکروبی از جمله باکتری‌های زیست‌یار از طرف محققان صاحب‌نظر توصیه شده است (سارکودی، ۲۰۰۸). پروبیوتیک‌های کاربردی برای آبزیان پرورشی شامل باکتری اسیدلاکتیک، باکتری‌های باسیلوسی، ویبریوها و مخمرها می‌باشند (دانیلز، ۲۰۱۰). برخی از مهم‌ترین گونه‌های باسیلوس‌های پروبیوتیکی مورد استفاده در آبزی‌پروری شامل: باسیلوس سابتیلیس (*Bacillus subtilis*)، باسیلوس سرئوس (*Bacillus cereus*)، باسیلوس کوآگولانس (*Bacillus coagulans*)، باسیلوس کلانیوسی (*Bacillus canusii*)، باسیلوس مگاتریوم (*Bacillus megaterium*) و باسیلوس لیکنی فورمیس می‌باشد (اوجیونو، ۲۰۰۳).

در حال حاضر باسیلوس سابتیلیس (*Bacillus subtilis*) در آبزیان پرورشی، حیوانات اهلی و انسان در درمان و پیشگیری بیماری‌های اختلالات دستگاه گوارش استفاده می‌شود. سویه‌های باسیلوس، باکتری‌های ساپروفیت گرم مثبت، غیربیماری‌زا و دارای اسپور هستند که به‌طور طبیعی در هوا، آب، خاک و رسوبات یافت می‌شوند (موریارتی، ۱۹۹۸؛ گاتسوپ، ۱۹۹۹؛ گرین، ۱۹۹۹). این باکتری‌ها از طریق غذا وارد روده می‌شوند. موریارتی (۱۹۹۸) استفاده از نمونه‌های تجاری باسیلوس در استخرهای میگو و گربه ماهی را ارزیابی نمودند. علاوه‌بر این کندی و همکاران (۱۹۹۸) از باسیلوس‌ها برای افزایش کیفیت گوشت و قابلیت زیستی ماهی اسنوک (*Centropomus undecimalis*) استفاده کردند. چانگ و لیو (۲۰۰۲) از نوع تجاری باسیلوس تویو (*Bacillus toyoi*) و انتروکوکوس فاسیوم (*Enterococcus faecium*) به‌منظور کاهش بیماری ادواردزیلوزیز (*Edwardsiellosis*) در مارماهی اروپایی (*Anguilla Anguilla*) استفاده نمودند.

باکتری‌های پروبیوتیکی موفق در چسبیدن به مخاط روده، قادرند در روده تشکیل کلنی دهند. باکتری‌های پروبیوتیکی متصل می‌توانند با اشغال مکان‌های اتصال مانع استقرار و تشکیل کلنی عوامل بیماری‌زا مثل باکتری‌های کولی فورم و کلستریدیا شده، و در نتیجه مانع از ایجاد عفونت‌های روده‌ای شوند (وین،۲۰۰۴).

ناپلی‌آرتمیا قادر به تغذیه از باکتری‌ها بوده و تعداد باکتری‌های تجمع پیدا کرده در خلال فرآیند غنی‌سازی بستگی به غلظت سوسپانسیون باکتری و گونه‌های باکتری به‌کارگیری شده دارد (گومز-

گیل، ۱۹۹۸). ناپلی غنی شده به‌عنوان غذای زنده در تغذیه لاروهای آبزیان دریایی به‌صورت یک حامل عمل کرده و باعث انتقال پروبیوتیک‌ها به دستگاه گوارش آبزی مورد پرورش گردیده و می‌تواند جمعیت باکتری آنها را تغییر دهند (ماکریدیز، ۲۰۰۱). ناپلی آرتمیا در مدیریت غذایی آبزیان، به‌طور عموم به‌عنوان یک حامل برای انتقال ترکیبات مختلف شیمیایی مورد آزمایش برای لارو ماهیان (چیر، ۱۹۹۱) مطرح بوده و غنی‌سازی آرتمیا با باکتری‌ها در واقع فرآیندی است که در طی آن شرایطی مهیا می‌گردد تا این ارگانیزم نه تنها به‌عنوان یک غذای زنده بلکه به‌عنوان یک حامل برای تلقیح واکسن‌های خوراکی و باکتری‌ها به ماهیان در مراحل لاروی آنها استفاده گردد (ماکریدیز، ۲۰۰۱).

در طی فرآیند غنی‌سازی، پروبیوتیک‌های الحاق شده به ناپلی‌آرتمیا ارومیانا (*Artemia urmiana*)، پس از گذشت ۱۰ ساعت از شروع زمان فرآیند غنی‌سازی به سطحی معادل (CFU/nauplii)[1] $۵/۳۱\times۱۰^{۳}$ رسیدند، ناپلی‌آرتمیا اورمیانا در مرحله اینستار ۱ نشان داد که از پتانسیل بالایی در غنی شدن با باسیلوس‌های پروبیوتیکی دارا بوده و نرخ باکتری‌های تلقیح شده به ناپلی با غلظت باکتری در سوسپانسیون غنی‌سازی و زمان، همبستگی مثبت و معنی داری را نشان داد (جعفریان، ۲۰۰۵؛ ۲۰۰۹).

تحقیقات صورت گرفته نشان می‌دهد این میکروارگانیزم‌ها باعث افزایش عملکرد هضمی آنزیم‌ها (توار، ۲۰۰۴)، افزایش معیارهای رشد و تغذیه‌ای لاروهای ماهیان روهو (قوش، ۲۰۰۳)، افزایش بقاء لاروهای ماهی روهو (بایراگی، ۲۰۰۴) و افزایش رشد و بقاء لاروهای میگوی ببری سبز (رنجپیپات، ۱۹۹۸) می‌گردد. این تحقیق با هدف مطالعه پتانسیل‌های پروبیوتیکی روی پارامترهای رشد و تغذیه‌ای ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در دوره پرورش لاروی آنها طراحی و اجراء گردید.

## مواد و روش‌ها

سیست‌های آرتمیا پارتنوژنتیکای (*Artemia parthenogenetica*) استحصال شده از دریاچه مهارلو، از مراکز تجاری در کشور (موسسه تحقیقات آبزیان استان فارس)، تهیه و مورد استفاده قرار گرفت. مطابق با روش سورجلوس و همکاران (۱۹۷۷) با استفاده از فرآیند کپسول‌زدایی، لایه کوریون سیست‌ها جدا گردید. مطابق با روش گومز – گیل و همکاران (۱۹۹۸) تولید ناپلی در مرحله اینستار-۱ انجام شد. در این فرآیند سیست‌های بدون پوسته به زوک شیشه‌ای یک لیتری با تراکم ۵ گرم در لیتر حاوی آب شور فیلتر شده و با شوری ۳۰ گرم در لیتر، منتقل گردیدند. این سوسپانسیون در دمای

1- Colony Forming Unite

۳۰±۰/۵°C سانتی‌گراد تحت شرایط نوری مناسب معادل ۲۰۰۰ لوکس و هوادهی مداوم و شدید، انکوباسیون گردیده و بعد از ۲۴ ساعت سیست‌های موردنظر تفریخ و مورد استفاده قرار گرفتند.

**باسیلوس‌های پروبیوتیکی:** در این آزمایش از سوسپانسیون باکتریایی مخلوط اسپور ۴ فرآورده میکروبی تهیه شده از شرکت نیکوتک (پروتکسین) که حاوی مخلوط ۵ سویه از باسیلوس‌های پروبیوتیکی بودند به همراه محیط کشت اختصاصی آنها (پپتون، پلی‌ساکاریدها و مواد معدنی) به شرح زیراستفاده شد.

ترکیب گونه‌ای باسیلوس‌های به‌کار رفته در این پژوهش شامل: باسیلوس سابتیلیس (*Bacillus subtilis*) ۱۰/۷۸ درصد، باسیلوس سیرکولانس (*Bacillus circulans*) ۲۵/۰۶ درصد، باسیلوس پلی میکسا (*Polymyxa Bacillus*) ۸/۲۷ درصد، باسیلوس لتروسپروس (*Bacillus laterosporus*) ۱۷/۵۴ درصد و باسیلوس لیچنی فورمیس (*Bacillus licheniformis*) ۳۸/۳۵ درصد در سوسپانسیون باکتریایی بود که در سه غلظت $۱\times۱۰^{۸}$، $۲\times۱۰^{۸}$ و $۳\times۱۰^{۸}$ (CFU/liter) تهیه گردیدند.

مطابق با دستورالعمل شرکت پروتکسین، سوسپانسیون مخلوط اسپور باسیلوس‌های پروبیوتیکی در حجم‌های ۱۰، ۲۰ و ۳۰ میکرولیتر به‌طور جداگانه به ظروف شیشه‌ای حاوی به‌ترتیب ۲۰، ۴۰ و ۶۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل اضافه شد. پس از افزودن مقدار ۲۶، ۵۲ و ۷۸ میلی‌گرم از محیط کشت اختصاصی آنها به این سوسپانسیون‌ها، بلافاصله به‌شدت به‌هم زده شده و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۸ ساعت انکوباسیون گردیدند. در پایان زمان انکوباسیون باسیلوس‌ها به باکتری‌های رویشی تبدیل شده و سوسپانسیون مخلوط‌های باکتریایی به‌ترتیب با غلظت $۱\times۱۰^{۸}$، $۲\times۱۰^{۸}$ و $۳\times۱۰^{۸}$ (CFU/liter) تشکیل گردید (جعفریان، ۲۰۰۵). سوسپانسیون‌های باکتریایی تهیه شده به‌طور جداگانه هر یک به یک لیتر آب شور استریل (۳۰ ppt) اضافه گردیدند.

**غنی‌سازی ناپلی آرتمیا و تغذیه لاروهای ماهی:** ناپلی‌های آرتمیا پارتنوژنتیکا بلافاصله پس از تخم‌گشایی در مرحله اینستار ۱ به ظروف شیشه‌ای مخروطی منتقل گردیدند، تراکم ناپلی‌آرتمیا در این ظروف شیشه‌ای به‌میزان ۲۰۰ ناپلی به ازاء هر میلی‌لیتر (۲ گرم در لیتر) بود. غلظت باکتری در سوسپانسیون باکتریای غنی‌سازی برای مخلوط‌های باکتریایی به ترتیب در ۳ سطح $۱\times۱۰^{۸}$، $۲\times۱۰^{۸}$ و $۳\times۱۰^{۸}$ (CFU/liter) قرار داشت. غنی‌سازی ناپلی‌آرتمیا تحت شرایط هوادهی، نور مناسب (۲۰۰۰ لوکس) و نیز دمای ۱±۳۰ درجه سانتی‌گراد انجام گرفت (گومز – گیل، ۱۹۹۸). طول مدت غنی‌سازی

۱۰ ساعت (جعفریان، ۲۰۰۶) و میزان غنی‌سازی ناپلی‌آرتمیا بر مبنای ۳۰ درصد وزن بدن لاروها در مدت ۲۴ ساعت (جعفریان، ۲۰۰۷) در هر روز انجام گردید.

تعداد ۱۲ حوضچه فایبرگلاسی با حجم آبگیری ۱۰ لیتر آب انتخاب و در هر یک تعداد ۴۰ قطعه لارو تازه به تغذیه افتاده ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به وزن متوسط ۱۷۶ میلی‌گرم و با تراکم ۴ قطعه ماهی در هر لیتر آب قرار گرفت. لاروهای ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان از کارگاه تکثیر و پرورش ماهیان سردابی ضمیری (زرین گل) تهیه و به‌مدت یک هفته در حوضچه‌های ۱۰ لیتری با محیط جدید سازگار گردیدند. لاروها به‌مدت ۳۰ روز در ۴ تیمار شامل یک تیمار شاهد و سه تیمار آزمایشی به‌ترتیب تحت‌عنوان قزل‌آلای ۱، قزل‌آلای ۲ و قزل‌آلای ۳، هر یک با ۳ تکرار تغذیه گردیدند. تغذیه لاروهای ماهی قزل‌آلا در تیمار شاهد از ناپلی‌های آرتمیای بدون غنی‌سازی با پروبیوتیک‌ها انجام شد. در تیمارهای آزمایشی تحت‌تأثیر باسیلوس‌های پروبیوتیکی (قزل‌آلای ۱، قزل‌آلای ۲ و قزل‌آلای ۳) ناپلی‌های آرتمیا به‌ترتیب در سوسپانسیون‌های باکتریایی $۱\times۱۰^{۸}$، $۲\times۱۰^{۸}$ و $۳\times۱۰^{۸}$ (CFU/liter) به‌مدت ۱۰ ساعت غنی‌سازی شده و سپس مورد تغذیه لاروهای ماهی قرار گرفتند. تغذیه لاروهای ماهی در تیمارهای شاهد و تیمارهای آزمایشی براساس ۳۰ درصد وزن توده زنده آنها محاسبه و روزانه در ۴ نوبت (۷ صبح، ۱۱ صبح، ۱۶ بعدازظهر و ۲۰ شب) به آنها داده شد. طول مدت روشنایی به تاریکی ۱۵ به ۹ در نظر گرفته شد. درجه حرارت آب ۰/۶±۱۶/۸ درجه سانتی‌گراد، pH ۷/۱-۷/۹ بود و اکسیژن آب در حدود ۷/۵ میلی‌گرم در لیتر در مدت آزمایش نگه داشته شد.

**معیارهای رشد و تغذیه:** در طول دوره آزمایش لاروهای ماهی قزل‌آلا در هر تیمار، به فاصله زمانی ۷ روز تعداد ۱۵ قطعه از لارو ماهی به‌صورت تصادفی نمونه‌برداری شده و پس از بی‌هوش کردن آنها در محلول عصاره گل میخک با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر، وزن و طول کل این لاروها با استفاده از ترازوی دیجیتالی و با کولیس اندازه‌گیری شد؛ هم‌چنین تمامی لاروهای ماهی قزل‌آلا در پایان آزمایش پس از بی‌هوشی در عصاره گل میخک، زیست‌سنجی گردیدند. بر پایه داده‌های به‌دست آمده در انتهای آزمایش برخی از پارامترهای رشد (نرخ رشد ویژه (هوروی، ۲۰۰۵)، فاکتور وضعیت (آسترنج، ۲۰۰۰)، ضریب رشد حرارتی (دی سیلوا و آندرسون، ۱۹۹۵)، تولید خالص ماهی (دی سیلوا و آندرسون، ۱۹۹۵)، نرخ وزن نسبی بدست آمده (قوش، ۲۰۰۳)، شاخص هپاتوسوماتیک (شاپائی، ۲۰۰۷)، شاخص

ویسروسوماتیک (شاپائی، ۲۰۰۷) و تغذیه (ضریب تبدیل غذایی (هوروی، ۲۰۰۵) کارآیی تبدیل غذا (دی سیلوا و آندرسون، ۱۹۹۵) و بقاء (آدلو، ۲۰۰۹) محاسبه گردیدند.

**تجزیه شیمیایی لاشه لارو قزل‌آلای رنگین‌کمان و ناپلی‌آرتمیا:** تعیین ترکیب تقریبی لاشه لاروهای ماهی و ناپلی‌آرتمیا مطابق با استاندارد AOAC (۱۹۹۰) انجام پذیرفت. رطوبت و ماده خشک لاشه، به‌طور وزنی تعیین گردید (ازدو، ۲۰۰۴). ماده خشک به‌دست آمده سپس توسط دستگاه‌های مختلف مورد تجزیه قرار گرفت. پروتئین خام با استفاده از روش میکرو کجلدال، چربی خام مطابق با روش سوکسوله، انرژی خام با استفاده از دستگاه بمب کالریمتر و همچنین خاکستر نیز از طریق سوزاندن در کوره $600^{\circ}C$ به‌مدت ۲ ساعت، تعیین شد (سورنسون، ۲۰۰۵).

**تجزیه و تحلیل آماری:** تجزیه و تحلیل آماری داده‌های بدست آمده در ارتباط با فاکتورهای رشد، تغذیه و آنالیز لاشه با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه، در قالب طرح به‌طور کامل تصادفی و با استفاده از نرم‌افزار SPSS-16 و بر اساس آزمون دانکن در سطح ۰/۰۵ انجام پذیرفت.

## نتایج

برخی از پارامترهای رشد و تغذیه لارو ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در جدول ۱ ارائه شده است. در این آزمایش باسیلوس‌های پروبیوتیکی توانستند اختلاف معنی‌داری در ارتباط با معیارهای رشد و تغذیه‌ای لاروهای ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در تیمارهای آزمایشی در مقایسه با تیمار شاهد از خود نشان دهند ($P<0/05$). استفاده از باسیلوس‌های پروبیوتیکی موجب ایجاد اختلاف معنی‌داری در وزن، طول به‌دست آمده و نرخ رشد ویژه شدند ($P<0/05$). بیشترین وزن (۱۳۶۷/۴۵mg)، طول (۵۱/۸۴mm) و نرخ رشد ویژه (۶/۳۵) لارو ماهی قزل‌آلا در تیمار قزل‌آلای ۲ تغذیه شده با ناپلی‌آرتمیای غنی شده با پروبیوتیک‌ها در غلظت $2\times10^{8}$ (CFU/liter) به‌دست آمد.

**جدول ۱- پارامترهای رشد لارو ماهی قزل‌آلای تغذیه گردیده با ناپلی‌آرتمیا پارتنوژنتیکای غنی شده با باسیلوس‌های پروبیوتیکی.**

| پارامتر / تیمار | شاهد | قزل‌آلای ۱ | قزل‌آلای ۲ | قزل‌آلای ۳ |
|---|---|---|---|---|
| وزن نهایی (میلی‌گرم) | ۱۲۱۲/۷±۲۰۷/۸۷$^{c}$ | ۱۲۴۷/۱۱±۲۴۶/۸۹$^{bc}$ | ۱۳۶۷/۴۵±۲۴۹/۹۶$^{a}$ | ۱۲۹۱/۹۳±۲۵۶/۸۵$^{b}$ |
| نرخ رشد ویژه (درصد وزن بدن در روز)[۱] | ۵/۹۸±۰/۵۷$^{c}$ | ۶/۰۵±۰/۶۲$^{bc}$ | ۶/۳۵±۰/۵۷$^{a}$ | ۶/۱۷±۰/۵۶$^{b}$ |
| ضریب تبدیل غذایی[۲] | ۱/۴۴±۰/۳۲$^{a}$ | ۱/۴۱±۰/۳۳$^{ab}$ | ۱/۲۸±۰/۲۴$^{c}$ | ۱/۳۵±۰/۲۴$^{bc}$ |
| کارآیی تبدیل غذا[۳] | ۷۱/۶۳±۱۲/۲۷$^{c}$ | ۷۳/۶۶±۱۴/۵۸$^{bc}$ | ۸۰/۷۷±۱۴/۷۶$^{a}$ | ۷۶/۳۱±۱۵/۱۷$^{b}$ |
| فاکتور وضعیت[۴] | ۰/۹۸±۰/۱۰$^{a}$ | ۰/۹۸±۰/۱۴$^{a}$ | ۰/۹۷±۰/۱۰$^{a}$ | ۰/۹۴±۰/۰۷$^{b}$ |
| ضریب رشد حرارتی[۵] (درصد) | ۰/۷۸±۰/۰۹$^{c}$ | ۰/۷۹±۰/۱۱$^{bc}$ | ۰/۸۴±۰/۱۰$^{a}$ | ۰/۸۱±۰/۱۰$^{b}$ |
| تولید خالص ماهی[۶] | ۴۱/۴۶±۸/۳$^{c}$ | ۴۲/۸۴±۹/۸۷$^{bc}$ | ۴۷/۶۵±۹/۹۹$^{a}$ | ۴۴/۶۳±۱۰/۲۷$^{b}$ |
| نرخ وزن نسبی به‌دست آمده[۷] | ۵۸۸/۴۵±۱۱۸$^{c}$ | ۶۰۷/۹۸±۱۴۰/۱۶$^{bc}$ | ۶۷۶/۳۰±۱۴۱/۹۰$^{a}$ | ۶۳۳/۴۳±۱۴۵/۸۱$^{b}$ |
| بقاء (درصد)[۸] | ۷۰±۲$^{c}$ | ۷۹±۲/۵۲$^{b}$ | ۹۵±۱$^{a}$ | ۹۲/۶۷±۱/۵۳$^{a}$ |
| شاخص هپاتوسوماتیک[۹] | ۱/۲۴±۰/۳۴ | ۱/۴۳±۰/۴۴ | ۱/۳۶±۰/۴۹ | ۱/۳۵±۰/۴۵ |
| شاخص ویسروسوماتیک[۱۰] | ۹/۶۹±۱/۸۵$^{a}$ | ۹/۴۲±۱/۵۴$^{ab}$ | ۹/۳۸±۱/۵۹$^{ab}$ | ۸/۷۴±۱/۷۵$^{b}$ |

حروف انگلیسی غیرمشترک در هر ردیف نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین میانگین داده‌ها در سطح ۰/۰۵ $\geq P$ می‌باشد.

۱- نرخ رشد ویژه = ۱۰۰ ×[دوره پرورش (روز)/ لگاریتم طبیعی وزن اولیه ماهی – لگاریتم طبیعی وزن نهایی ماهی]

۲- ضریب تبدیل غذایی= وزن به‌دست آمده (گرم)/ غذای خورده شده (گرم)

۳- کارآیی تبدیل رشد (درصد) = ۱۰۰×[غذای نسبی خورده شده/ نرخ رشد ویژه]

۴- فاکتور وضعیت = ۱۰۰× [(طول ماهی (سانتی‌متر)$^{3}$ / وزن ماهی (گرم))]

۵- ضریب رشد حرارتی= ۱۰۰×[(مجموع میانگین درجه حرارت‌های روزانه/$^{0.333}$(گرم وزن توده زنده اولیه ماهی)-$^{0.333}$(گرم وزن توده زنده ثانویه ماهی)]

۶. تولید خالص ماهی = گرم وزن توده ماهی در ابتدای دوره آزمایش- گرم وزن توده ماهی در انتهای دوره آزمایش

۷- نرخ وزن نسبی به‌دست آمده = ۱۰۰×[گرم وزن اولیه ماهی/ (گرم وزن نهایی ماهی- گرم وزن نهایی ماهی)]

۸- بقاء= ۱۰۰× [تعداد کل لاروها در ابتدای آزمایش/ (تعداد ماهیان تلف شده در انتهای آزمایش/ تعداد کل لاروها در ابتدای آزمایش)]

۹- شاخص هپاتوسوماتیک= ۱۰۰× [ وزن بدن/ وزن کبد]

۱۰- شاخص ویسروسوماتیک= ۱۰۰× [ وزن بدن/ وزن امعا و احشاء]

از جمله پارامترهای مهم رشد، معیار ضریب رشد حرارتی است که در این آزمایش لاروهای ماهی در تیمارهای آزمایشی و به‌خصوص تیمار قزل‌آلای ۲ (۰/۸۴) از سطح بالاتری نسبت به گروه شاهد برخوردار است (P<۰/۰۵). نتایج به‌دست آمده در ارتباط با معیار تولید خالص لارو ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در تیمار قزل‌آلای ۲ اختلاف معنی‌داری را با دیگر تیمارها نشان داد (P<۰/۰۵). فاکتور وضعیت یا ضریب چاقی، شاخص هپاتوسوماتیک و ویسروسوماتیک در تیمارهای آزمایشی در مقایسه با تیمار شاهد از اختلاف معنی‌داری برخوردار نگردیدند (P>۰/۰۵).

ضریب تبدیل غذایی با به‌کارگیری باسیلوس‌های پروبیوتیکی مورد استفاده در این آزمایش به‌طور قابل توجهی کاهش یافت و نیز اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد به‌دست آمد (P<۰/۰۵). در حالی که کارایی تبدیل غذایی در تیمارهای آزمایشی به‌طور معنی‌دار نسبت به گروه شاهد افزایش نشان داد (P<۰/۰۵).

**جدول ۲- آنالیز لاشه اولیه لارو ماهی قزل‌آلا و آرتمیا پارتنوژنتیکا**

| آنالیز اولیه | پروتئین خام (Crude protein) | چربی خام (Crude lipid) | خاکستر (Ash) | ماده خشک (Dry matter) | انرژی ناخالص (کالری بر گرم) (Gross energy) | فیبر (Crudefiber) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| آرتمیا پارتنوپتیکا | ۳۹/۰۹ | ۱۷/۸۶ | ۱۰/۲۵ | ۱۱/۷۶ | ۴۵۹۲/۷۱ | ۰/۲۴ |
| قزل‌آلا | ۷۲/۰۵ | ۱۲/۸۸ | ۱۱/۲۲ | ۱۷/۰۴ | ۴۴۸۰ | - |

نتایج آنالیز لاشه لاروهای قزل‌آلا نشان داد (جدول ۵) که باسیلوس‌های پروبیوتیکی یاد شده در ارتقاء سطوح مواد مغذی بدن ماهی نقش بسیار خوبی را داشته است، به‌طوری‌که میزان درصد ماده خشک بدن لاروهای ماهی در تیمارهای آزمایشی نسبت به تیمار شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش نشان داد (P<۰/۰۵).

سطح پروتئین خام در تیمارهای آزمایشی نسبت به تیمار شاهد افزایش قابل‌توجهی نشان داد این در حالی است که درصد چربی خام لاشه لاروهای ماهی در تیمارهای آزمایشی کاهش معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد نشان داد (P<۰/۰۵).

باسیلوس‌های پروبیوتیکی باعث کاهش سطح انرژی خام لاشه در لاروهای قزل‌آلا در تیمارهای آزمایشی گردیدند، به‌طوری‌که سطح انرژی خام در تیمارهای آزمایشی قزل‌آلای ۲ و قزل‌آلای ۳ نسبت به تیمار شاهد در حد معنی‌داری کاهش نشان داد (P<۰/۵). در این آزمایش درصد خاکستر لاشه در تیمارهای آزمایشی نسبت به تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری نشان نداد (P>۰/۵).

**جدول ۳- آنالیز لاشه لارو ماهیان تغذیه شده از آرتمیای پارتنوژنتیکا.**

| تیمار | پروتئین خام (Crude protein) | چربی خام (Crude lipid) | ماده خشک (Dry matter) | خاکستر (Ash) | انرژی ناخالص ( کالری بر گرم) (Gross energy) |
|---|---|---|---|---|---|
| شاهد | ۷۲/۹۰±۰/۳۱$^{c}$ | ۱۳/۶۴±۰/۵۸$^{a}$ | ۱۷/۷۵±۱/۰۰$^{b}$ | ۱۲/۸۲±۰/۵۲$^{a}$ | ۴۵۶۵/۳۵±۴۶/۵۹$^{a}$ |
| قزل‌آلای ۱ | ۷۴/۰۵±۰/۲۱$^{b}$ | ۱۳/۴۵±۰/۲۳$^{a}$ | ۱۹/۲۷±۱/۵۹$^{b}$ | ۱۲/۱۸±۰/۹۴$^{a}$ | ۴۴۸۳/۹۱±۷۶/۸۶$^{a}$ |
| قزل‌آلای ۲ | ۷۵/۳۹±۰/۳۹$^{a}$ | ۱۲/۴۹±۰/۳۲$^{b}$ | ۱۹/۸۶±۲/۹۴$^{b}$ | ۱۱/۹۸±۱/۰۸$^{a}$ | ۴۴۰۲/۶۸±۵۶/۴۲$^{b}$ |
| قزل‌آلای ۳ | ۷۵/۶۶±۰/۴۶$^{a}$ | ۱۱/۹۴±۰/۳۷$^{b}$ | ۲۳/۵۷±۱/۴۰$^{a}$ | ۱۱/۶۸±۰/۶۱$^{a}$ | ۴۳۸۹/۱۰±۲۹/۸۷$^{b}$ |

حروف انگلیسی غیرمشترک در هر ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین میانگین داده‌ها در سطح $P \leq ۰/۰۵$ می‌باشد.

## بحث

روتیفر (*Rotifer sp.*) و آرتمیا (*Artemia sp.*) از جمله ارگانیزم‌هایی هستند که به‌طور عموم در فرآیند غنی‌سازی به‌عنوان حامل باکتری‌های مفید جهت انتقال به دستگاه گوارش میزبان مورد استفاده قرار می‌گیرند (گاتسوپ، ۱۹۹۴). غنی‌سازی غذاهای زنده (روتیفر و آرتمیا) با توجه به اهمیت فلور باکتریایی طعمه‌های زنده مورد تغذیه لاروهای ماهی از اهمیت بسیار بالایی برخوردار بوده و غنی‌سازی با باکتری‌های مفید جهت کنترل باکتری‌های تهاجمی و پاتوژن‌ها بسیار ضروری است. هم‌چنین تلقیح پروبیوتیک‌ها به غذاهای زنده در افزایش ارزش و کیفیت غذایی آنها تاثیر بسیار مثبتی دارد (ورسکیوئر، ۲۰۰۰).

آولا و همکاران (۲۰۱۰) جهت بهبود پرورش لارو ماهی سیم دریایی (*Sparus aurata*) در پژوهشی از ترکیب ۳ گونه پروبیوتیک باسیلی شامل باسیلوس سابتیلیس (*Bacillus subtilis*)، باسیلوس لیکنی فورمیس (*Bacillus lichenifurmis*) و باسیلوس پامیلیس (*Bacillus pumilus*) استفاده نمودند بر این اساس آنها پیشنهاد کردند که پروبیوتیک‌های مصرفی برای ماهیان دریایی به‌ویژه

ماهی سیم دریایی بهتر است در مرحله اولیه زندگی از طریق غذای زنده مانند آرتمیا و روتیفر که اثرات مثبتی بر وضعیت عمومی و هم‌چنین رشد ماهی دارد استفاده شوند. مخلوط باسیلوس‌های پروبیوتیکی در فرایند غنی‌سازی آرتمیا پارتنوژنتیکا در ارتباط با معیارهای رشد، تغذیه و بقاء لارو ماهی قزل‌آلا تأثیرات متفاوتی را ایجاد نمودند. در خصوص معیارهای رشد از قبیل وزن و طول نهایی مخلوط سوسپانسیون باکتریایی در لاروهای تحت‌تأثیر پروبیوتیک‌ها در مقایسه با تیمار شاهد تأثیر مثبت معنی‌داری را داشتند، به‌طوری‌که بالاترین مقدار این معیارها به‌ترتیب در تیمار قزل‌آلای ۲ (۱۳۶۷/۴۵mg و ۵۱/۸۴mm) مشاهده گردید. نتایج مشابهی توسط جعفریان (۲۰۰۶) در به‌کارگیری از باسیلوس‌های پروبیوتیکی در لارو تاس‌ماهی ایرانی مشاهده گردید. نتایج مشابه دیگری نیز در به‌کارگیری باسیلوس‌های پروبیوتیکی در تغذیه با غذای تجاری حاوی باسیلوس‌های لیکنی فورمیس (*Bacillus lichenifurmis*) و سابتیلیس (*Bacillus subtilis*) در لاروهای قزل‌آلای رنگین‌کمان به‌دست آمد، به‌طوری‌که وزن نهایی از ۷۰۰ میلی‌گرم به ۱۲۰۰ میلی‌گرم و طول نهایی از ۴۲ میلی‌متر به ۴۶ میلی‌متر ارتقاء یافت (باقری، ۲۰۰۸).

هم‌چنین ضریب تبدیل غذایی با به‌کارگیری باسیلوس‌های پروبیوتیکی در این آزمایش به‌طور قابل توجهی کاهش یافت. همانند نتایج به‌دست آمده در این پژوهش، غنی‌سازی آرتمیا اورمیانا با باسیلوس‌های پروبیوتیکی در تغذیه لاروهای فیل‌ماهی (*Huso huso*) نشان داد ضریب تبدیل غذایی به‌طور معنی‌داری از ۳/۱۶ در تیمار شاهد به ۲/۲۷ در تیمارهای تغذیه شده با ناپلی آرتمیای اورمیانای غنی شده در سوسپانسیون غنی‌سازی $۳\times۱۰^{۸}$ کاهش یافت (جعفریان، ۲۰۰۵،۲۰۰۹). پروبیوتیک‌ها به‌طور عموم با افزایش عملکرد تغذیه در لاروهای ماهیان پرورشی موجب ارتقاء رشد در آنها می‌گردند، بر همین مبنا در این پژوهش وزن نهایی (۱۳۶۷/۴۵میلی گرم) و طول کل (۵۱/۸۴ میلی متر)، نرخ رشد ویژه (۶/۳۵)، نرخ وزن نسبی به‌دست آمده (۶۷۶/۳۰) و تولید خالص (۴۷/۶۵) لاروهای ماهی در تیمار تحت‌تأثیر پروبیوتیک‌ها در مقایسه با شاهد افزایش یافت. جعفریان و همکاران (۲۰۰۹) نشان دادند لارو ماهی فیتوفاگ (*Hypophthalmichthys molitrix*) تغذیه شده با آرتمیا اورمیانای غنی شده با سوسپانسیون مخمر نانوایی و پروبیوتیک‌های باسیلی تأثیر معنی‌داری بر ارتقاء پارامترهای رشد این ماهی دارد، به‌طوری‌که در تیمارهای تحت‌تأثیر پروبیوتیک‌ها نرخ رشد ویژه از ۷/۸۴ به ۸/۵۴ درصد وزن بدن در روز افزایش یافت، هم‌چنین در پژوهش مشابه دیگری لاروهای همین ماهی در تأثیرپذیری از پروبیوتیک‌ها از نسبت کارایی رشد معادل ۱۴۲/۲ درصد در مقایسه با

۱۰۲/۴ درصد در تیمار شاهد، برخوردار گردیدند (جعفریان، ۲۰۰۹). در این پژوهش، فاکتور وضعیت در تیمار قزل‌آلای ۳ در مقایسه با شاهد کاهش یافت در حالی‌که در مغایرت با این نتایج باسیلوس‌های پروبیوتیکی موجب افزایش فاکتور وضعیت لاروهای ماهی فیتوفاگ از ۰/۶۸ به ۰/۷۶ گردیدند (جعفریان، ۲۰۰۹).

نتایج شاخص‌های تغذیه‌ای در انتهای دوره آزمایش در تیمارهای آزمایشی نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌داری را نشان داد و بیشترین مقدار آن در تیمارهای آزمایشی و به‌خصوص در تیمار قزل‌آلای ۲ به‌دست آمد، بنابراین افزایش پروبیوتیک‌ها درسوسپانسیون ناپلی‌های غنی شده مورد تغذیه لاروهای ماهی در تیمارهای آزمایشی، راندمان تغذیه‌ای را ارتقاء دادند.

نتایج مشابهی نیز در به‌کارگیری باسیلوس‌های پروبیوتیکی در تغذیه با ناپلی غنی شده با پروبیوتیک‌های یاد شده در لاروهای تاس‌ماهی ایرانی بدست آمد، نرخ رشد ویژه از ۹/۲۳ به ۱۰/۱۸ درصد در روز، کارآیی تبدیل غذا از ۳۱/۹۹ به ۴۳/۹۶ درصد ارتقاء یافت (جعفریان، ۲۰۰۶). این نتایج همانند نتایج به‌دست آمده در این پژوهش بود. غنی‌سازی آرتمیا فرانسیسکانا (*Artemia franciscana*) با باسیلوس‌های پروبیوتیکی در پرورش میگوی سفید هندی (*Fenneropenaeus indicus*) به‌کار رفته و بر بازماندگی و رشد آنها تأثیر معنی‌داری گذاشتند (ضیایی نژاد، ۲۰۰۶).

اسپور باسیلوس تویوئی (*Bacillus toyoi*) به‌کار رفته در غنی‌سازی با روتیفر نشان داد که این باسیلوس پروبیوتیکی تأثیر بسیار مثبتی بر روی فاکتورهای تغذیه‌ای، رشد و بقاء لارو ماهیان توربوت (*Scophthalmus maximus* L.) داشت (گاتسوپ، ۱۹۹۱).

گارسیا و همکاران (۱۹۹۲) باکتری‌های استرپتوکوکوس لاکتیس (*Streptococcus lactis*) و لاکتوباسیلوس بولگاریکوس (*Lactobacillus bulgaricus*) را در غنی سازی با روتیفر و آرتمیا جهت تغذیه لاروهای توربوت (*Scophtalmus maximus* L.) به‌کار بردند، نتایج به‌دست آمده نشان داد بازماندگی لاروهای ماهی تا حد چشم‌گیری افزایش یافت.

در یک پژوهش جعفریان و همکاران (۲۰۰۷) نشان دادند که لاروهای ماهیان قزل‌آلای تغذیه شده با آرد دافنی ماگنای (*Daphnia magna*) مکمل شده با باسیلوس‌های پروبیوتیکی، تأثیر بسیار بالایی بر کارآیی تغذیه و رشد این ماهی داشته است به‌طوری‌که نرخ رشد ویژه از ۳/۷۸ به ۵/۲۴ و کارایی تغذیه از ۹/۶۱ به ۱۳/۳۳ ارتقا یافت این نتایج همانند نتایج به‌دست آمده از این پژوهش بود که در آن نرخ رشد ویژه از ۵/۹۸ به ۶/۳۵ و کارایی تغذیه از ۷۱/۶۳ به ۸۰/۷۷ ارتقا یافت.

نتایج به‌دست آمده از به‌کارگیری ناپلی‌آرتمیا ارومیانای غنی شده با باسیلوس‌های پروبیوتیکی در سه سطح $۱\times۱۰^{۸}$، $۲\times۱۰^{۸}$ و $۳\times۱۰^{۸}$ (باکتری در هر لیتر) در سوسپانسیون محیط غنی‌سازی، نشان می‌دهد که این پروبیوتیک‌ها بر کارآیی تغذیه و ترکیب شیمیایی بدن فیل ماهی (*Huso huso*) تأثیر بسیارخوبی دارند (جعفریان، ۲۰۰۷) به‌طوری‌که کارآیی تبدیل غذا از ۳۳/۳۰ درصد در تیمار شاهد به ۳۹/۱ درصد در تیمار تغذیه شده از ناپلی‌های غنی شده در سوسپانسیون باکتریایی با غلظت باکتری $۱\times۱۰^{۸}$ در هر لیتر رسید.

بایراگی و همکاران (۲۰۰۲) نشان داده‌اند باسیلوس سیرکولانس و سابتیلیس قابلیت به‌کارگیری در جیره‌های غذایی ماهیان به‌منظور ارتقاء سطوح مواد مغذی و پارامترهای رشد را دارا هستند. هم‌چنین پروبیوتیک‌ها ممکن است از طریق تحریک اشتها در لاروهای آبزیان و یا با افزایش متابولیسم میکروبی موجب ارتقاء سطح تغذیه توسط میزبان گردند (ایریانتو، ۲۰۰۲).

نتایج آنالیز لاشه لاروهای قزل‌آلا نشان داد که باسیلوس‌های پروبیوتیکی یاد شده در ارتقاء سطوح مواد مغذی بدن ماهی نقش بسیار خوبی را داشته است. سطح پروتئین خام در تیمارهای آزمایشی نسبت به تیمار شاهد افزایش قابل توجهی نشان داد. نتایج مشابهی توسط جعفریان و همکاران (۲۰۰۶) در به‌کارگیری باسیلوس‌های پروبیوتیکی در تغذیه از ناپلی‌آرتمیا ارومیانای غنی شده با پروبیوتیک‌های یاد شده در لاروهای فیل ماهی به‌دست آمد، در این پژوهش میزان پروتئین خام و ماده خشک افزایش و میزان چربی خام کاهش نشان داد. هم‌چنین در پژوهشی دیگر باقری (۲۰۰۸) نشان داد وجود پروبیوتیک در تغذیه لارو ماهی قزل‌آلا باعث کاهش چربی و افزایش پروتئین لاشه می‌شود. در این پژوهش میزان پروتئین از ۱۰/۳ درصد در تیمار شاهد به ۱۵ درصد در تیمار تغذیه شده با غذای حاوی مکمل باسیلوس‌های پروبیوتیکی با غلظت باکتری $۳/۹\times۱۰^{۸}$ در هر گرم رسید. هم‌چنین میزان چربی لاشه لارو قزل‌آلای رنگین‌کمان از ۱۰/۱ درصد در تیمار شاهد به ۶/۵ درصد در تیمار تغذیه شده با غذای حاوی مکمل باسیلوس‌های پروبیوتیکی با غلظت $۳/۹\times۱۰^{۸}$ در هر گرم رسید. در پژوهشی دیگر در ارتباط با ماهیان انگشت قد روهو که با جیره‌های حاوی مکمل با باسیلوس سیرکولانس تغذیه کرده بودند نشان داد که این باسیلوس در جیره‌های آزمایشی با غلظت بیشتر از $۱/۵\times۱۰^{۴}$ باکتری در هر ۱۰۰ گرم غذا موجب کاهش سطوح انرژی و چربی خام لاشه ماهیان روهو گردیده است. باسیلوس‌های

پروبیوتیکی به‌طور احتمال از طریق کاهش قابلیت هضم چربی موجب کاهش ذخیره چربی لاشه ماهیان گشته است (قوش، ۲۰۰۴). این نتایج مشابه نتایج به‌دست آمده در این پژوهش می‌باشد.

در این پژوهش پروبیوتیک‌های به‌کار رفته باعث افزایش توانایی لاروهای قزل‌آلا در بهره‌برداری از غذای خورده شده شدند. به‌طوری‌که کاهش ضریب تبدیل غذایی، ارتقاء کارایی تغذیه، پروتئین به‌دست آمده و انرژی به‌دست آمده در لاروهای ماهی تغذیه شده با آرتمیای غنی شده با پروبیوتیک‌ها در مقایسه با گروه شاهد به‌طور کامل نمایان گردید. این مطالعه مشخص نمود که پروبیوتیک‌های باسیلی قابلیت تأثیرگذاری بالایی بر ارتقاء عملکرد رشد، افزایش پارامترهای تغذیه‌ای و افزایش برخی از سطوح ترکیبات مغذی در لارو قزل‌آلا در دوره پرورش لاروی دارند.

## منابع


1.Adewolu, M.A., Akintola, S.L. and Akinwunmi, O.O. 2009. Growth performance and survival of hybrid african catfish larvae (*Clarias gariepinusx heterobranchus bidorsalis*) fed on different diets. The Zoologist. 7: 45-51.

2.AOAC. 1990. In: W. Horwitz (Ed.), Official Methods of Analyses, 15th edition. Association of Official Analytical Chemists Inc., Arlington, VA. 445.

3.Austreng, E. 2000. Digestibility determination in fish using chromic oxide marking and analysis of contents from different segments of the gastrointestinal tract. Aquaculture. 13: 265-272.

4.Avella, M.A., Gioacchini, G., Decamp, O., Makridis, P., Bracciatelli, C. and Carnevali, O. 2010. Application of multi-species of bacillus in sea bream larviculture. Aquaculture. 305: 12-19.

5.Azewedo, P.A., Leeson, S., Cho, C.Y. and Bureau, D.P. 2004. Growth and feed utilization of size rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) and Atlantic salmon (*Salmo salar*) reared in fresh water: diet and species effects and responses over time. Aquaculture Nutrition. 10: 401-411.

6.Bagheri, T., Hedayati, S.A., Yavari, V., Alizade, M. and Farzanfar, A. 2008. Growth, Survival and Gut Microbial Load of Rainbow Trout (*Onchorhynchus mykiss*) Fry Given Diet Supplemented with Probiotic during the Two Months of First Feeding. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. 8: 43-48.

7. Bairagi, A., Ghosh, k. S., Sen, S.K. and Ray, A.K. 2002. Enzyme producing bacterial flora isolated from fish digestive tracts. Aquaculture International. 10: 109-121.

8.Bairagi, A., Ghosh, K.S., Sen, S.K. and Ray, A.K. 2004. Evaluation of the nutritive value of *leucaena leucocephala* leaf meal, inoculated with fish

intestinal bacteria bacillus subtilis and Bacillus circulans in formulated diets for rohu (*labeo rohita)* fingerlings. Aqucalture Research. 35: 436-446.

9. Chair, M., Romdhane, M., Dehasque, M., Nelis, H. and Deleen heer, A.P. 1991. Live-food mediated drug delivery as a tool for disease treatment in larviculture II. A case study with European sea bass. In larvi 91 fish and crustacean Larvicultur symposium (p.Lavens, p., E. Jaspers and F. Olleveir. Eds. P 412-414. Ghent, Belgium: European Aquaculture Society, special publication No.15: 3-21.
10. Chang, C.I. and Liu, W.Y. 2002. An evaluation of two probiotic strains, (*Enterococcus faecium*) SF68 and (*Bacillus toyo*) for reducing edwardsiellosis in cultured European eel, Anguilla Anguilla. Journal of Fish Disease. 25: 311-315.
11. Daniels, C.L., Merrifield, D.L., Boothroyd, D.P., Davies, S.J., Factor, J.R. and Arnold, K.E., 2010. Effect of dietary Bacillus spp. and mannan oligosaccharides (MOS) on European labsater (*Homarus gammaarus*) larvae growth performance, gut morphology and gut microbiota. Aquaculture. 304: 49-57.
12. De Silva, S.S. and Anderson, T.A. 1995. Ln: Fish Nutrition in Aquaculture. Chapman and Hall, London. 319p.
13. Garcia, D.L.B., Chereguini, I.O. and Rasine I. 1992. Influence of Lactic bacterial additives on turbot (*Scophtalmus maximus*) Larvae culture. Insttitue Espanol De Oceanografia. 8: 247- 252.
14. Gatesoupe, F.J. 1991. Bacillus sp. Spores: A new tool against early bacterial infection in turbot larvae (*Scophthalmus maximus*) ln: larvens, P., Jaspers, E., Roelands, I. (Eds), Larvi–fish and crustacean larviculture symposium. European Aquaculture Society, Gent, P 409-411, Special publication, No. 24.
15. Gatesoupe, F.J. 1994. Lactic acid bacteria increase the resistance of turbot Larvae (*Scophthalmus maximus*). Against pathogenic vibrio. Aquatic Living Resource. 7: 277- 286.
16. Gatesoupe, F.J. 1999. The use of probiotics in aquaculture. Aquaculture. 180: 147-165.
17. Ghosh, K., Sen, S.K. and Ray, A.K. 2003. Supplementation of an isolated fish gut bacterium (*Bacillus circulans*) in Formulated diets for Rohu, Labeo rohita, Fingerlings. Aquaculture-Bamidgeh. 55(1): 13-21.
18. Ghosh, K., Sen, S.K. and Ray, A.K. 2004. Growth and survival of rohu, *Labeo rohita* (Hamilton, 1822) spawn feed diets formented with intestine bacterium (*Bacillus circulans*). Acta Ichthyologica Etpiscatoria. 34(2):155-165.
19. Gomez-Gil, B., Herrera-Vega, M.A., Aberu- Grobis, F.A. and Roque, A. 1998. Bioencapsulation of two different vibrio species in nauplii of the Brine shrimp (*Artemia fransiscana*). Applied Environmental Microbiology. 64: 2318-2322.

20. Green, D., Wakeley, P.R., Page, A., Barnes, A., Baccigalupi, L., Ricca, E. and Cuttingi, S.M. 1999. Characterization of two Bacillus probiotics. Applenviron Microbiology. 65: 4288-4291.
21. Hevroy, E.M., Espe, M., Waagbo, R., Sandness, k., Rund, M. and Hemre, G.I. 2005. Nutrition utilization in Atlantic Salmon (*Salmo salar*) fed increased level of fish protein hydrolysate during a period of fast growth. Aquaculture Nutrition. 11: 301-313.
22. Irianto, A. and Austin, B. 2002. Probiotic in aquaculture. Fish Diseases. 25: 1-10.
23. Jafaryan, H., Takami, G.A., Kamali, A., Soltani, H. and Habibirezaei, M. 2005. The bioencapsulation of Artemia urmiana with strains of probiotic endospor gram-positive bacillus. Scientific-Research Journal of Iran Marine Sciences. 4:11-21.
24. Jafaryan, H. 2006. The effects of bacillus bacteria as a probiotic on the growth factors, survival rate and digestive enzymes activity in the Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) larvae by enrichment of (*Artemia urmiana* nauplii). Ph.D. Thesis of Fishery. Gorgan University of Agricultural Science and Natural Resource. 103p. (In Persian)
25. Jafaryan, H., Soltani, M. and Abedian, A. 2007. The influence of some of the probiotic bacillus on feeding efficiency and nutrient body composition of Beluga (*Huso huso*) larvae. Journal of Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources (Iran). 14:60-71. (In Persian)
26. Jafaryan, H., Takami, G.A., Kamali, A., Soltani, H. and Habibirezaei, M. 2007. The use of probiotic bacillus bioencapsulated with *Artemia urmiana* nauplii for the growth and survival in *Acipenser persicus* larva. Journal of Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources (In Persian). 14: 87-97.
27. Jafaryan, H., Asadi, R. and Bagheri, A. 2008. The promotion of growth parameters and feeding efficiency of Acipenser nudiventris larvae by using of probiotic bacillus via bioencapsulation of *Artemia urmiana*. Aquaculture Europe. 27 october, 2007. Istanbul, turkey. P 260-261. Aquaculture Europe 2008. Krakow, poland, September 15-18. Pp: 7-9.
28. Jafaryan, H., Morovat, R. and Shirzad, H. 2008. The use of bioencapsulated *Daphnia magna* by probiotic bacillus and their effect on the growth of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) larvae. Iranian Journal of Biology. 21: 24-35.
29. Jafaryan, H., Ahmadi, M. and Gezel. H. 2009. *Artemia urmiana* as a vector to carry beneficial microorganisms into digestive tract of cultivable fish larvae: a review. International symposium/Workshop on biology and Distribution of Artemia. 13-14 December. Urmia-Iran. 298-302.
30. Jafaryan, H., Soltanii, M. and Makhdomi, N. 2009. The potential of *Artemia urmiana* for bioencapsulation with five strains of probiotic endospor-forming

gram-positive Bacillus. International symposium/workshop on Biology and Distribution of Artemia. 13-14 December. Urmia-Iran. 258-261.

31. Jafaryan, H., Taati keley, M. and Nazarpoor, A.R. 2009. Supplementation of blend of probioic bacillus in meal of *Daphnia magna* for feeding Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) larvae based on growth performance. Journal of Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources. 3: 48-59.
32. Ksarcodi-Watson, A., Kasper, H. and Lategan, M.J. 2008. Probiotics in aquaculture: the need, principles and mechanisms of action and screening processes. Aquaculture. 275: 1-14.
33. Makridis, P., Bergh, Q., Skjermoj, J. and Vadstein, O. 2001. Addition of bacteria bioencapsulated in Artemia metanauplii to a rearing system for halibut larvae. Aquaculture International. 9: 225-235.
34. Moriarty, D.J.W. 1998. Control of luminous vibrio species in penaeid aquaculture ponds. Aquaculture. 164: 351-358.
35. Oggioni, M.R., Ciabattini, A., Cuppone, A.M. and Pozzi, G. 2003. Bacillus spores for vaccine delivery. Vaccine 21, S2/96-S2/101.
36. Shapawi, R., Ng, W.K. and Mustafa, S. 2007. Replacement of fish meal with poultry by-product meal in diets formulated for the humpback grouper, *Cromileptes altivelis*. Aquaculture. 273: 118-126.
37. Sorensen, M., Storebakken, T. and Shearer, K.D. 2005. Digestibility, growth and nutrient retention in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed diets extruded at two different temperatures. Aquaculture Nutrition.11:251-256.
38. Tovar-Ramirez, D., Zambonino, J., Cahu, C., Gatesoupe, F.J., Vazquez-Juarez, R. and Lésel, R. 2004. Effect of live yeast incorporation in compound diet on digestive enzyme activity in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. Aquaculture. 204: 113-123.
39. Verschuere, L., Rombaut, G., , P. and Verstraete, W. 2000. Probiotic bacteria as Biological Control Agents in Aquaculture. Microbilogy and Molecular Biology Reviews. Applied Microbiology. 64: 655-671.
40. Vine, N.G., Leukes, W.D., Kaiser, H., Baxter, J. and Hecht, T. 2004. Competition for attachment of aquaculture candidate probiotic and bacteria on fish intestinal mucus. Fish Disease. 27: 319-326.
41. Ziaei-Nejad, S., Habibi Rezaei, M., Azari Takami, G., Lovett, D.L., Mirvaghefi, A.R. and Shakouri, M. 2006. The effect of Bacillus spp. Bacteria used as probiotics on digestive enzyme activity, survival and growth in the Indian white shrimp (*Fenneropenaeus indicus)*. Aquaculture. 252: 516-524.

Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

*J. of Utilization and Cultivation of Aquatics, Vol. 1(3), 2012*
*http://japu.gau.ac.ir*

# Application of multi-species of bacillus in Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) larvae nutrition via Bio-enrichment of *Artemia parthenogenetica* nauplii

***H. Jamali[1], H. Jafaryan[2], R. Patimar[2] and M. Soltani[3]**

[1]M.Sc. Student Dept. of Fishery, Gonbad University of Agriculture Sciences and Natural Resources, [2]Ph.D. Dept. of Fishery, Gonbad University of Agriculture Sciences and Natural Resources, [3]Ph.D. Dept. of Aquatic Animal Health, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran

Received: 2012-2-1; Accepted: 2012-4-29

**Abstract**

In order to reveal the potential of probiotic Bacilli and their promoted effects on growth and survival rate of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) larvae, a 30-day feeding experiment was conducted in rainbow trout larvae by feeding of bio-enriched *Artemia parthenogenetica* nauplii in suspension of five probiotic bacillus at doses of 0, $1\times10^8$, $2\times10^8$ and $3\times10^8$ (CFU/liter) of broth. After a 30-day feeding experimental period, all of the the trout larvae in each tank were sampled for biometry and growth determination. The Results showed that, with inoculating probiotic Bacilli in suspension of broth, trout larvae survival and growth parameters generally increased. Fish larvae fed with enriched *Artemia* nauplii at dose of $2\times10^8$ CFU/L in suspension of broth, had significantly higher survival and growth parameters than the control group ($P<0.05$). The probiotic bacillus had significant positive effects on the Specific Growth Rate (SGR), Thermal growth coefficient (TGC), Feed Conversion Efficiency (FCE) and Relative gain rate (RGR) in comparison with control treatment ($P<0.05$). Then, our results confirm the potential of multi-species of probiotic Bacillus had promoted effects on enhancement of survival rate and growth performance of Rainbow trout larvae.

***Keywords**:* Bacillus; Rainbow trout larvae; Bio-enrichment; *Artemia parthenogenetica*; Growth

* Corresponding Author; Email: saeed.jamali11@gmail.com