

تأثیر باکتری‌های جدا شده از روده فیل ماهیان انگشت قد (*Huso huso*) بر برخی شاخص‌های رشد، آنزیم‌های آمیلاز و لیپاز در عصاره بدن و ترکیب لاشه لاروهای کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

محسن پورعباسعلی^{۱*}، حجت‌اله جعفریان^۱، میترا اسماعیلی^۲، شایان قبادی^۳

۱- گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، گلستان

۲- گروه شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی، آزادشهر، گلستان

۳- گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بابل، بابل، مازندران

تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۶/۲۴

تاریخ دریافت: ۹۸/۰۲/۱۳

چکیده

هدف از این مطالعه بررسی تأثیر پروبیوتیک‌های جدا شده از روده فیل ماهیان انگشت قد (*Huso huso*) بر شاخص‌های رشد، فعالیت آنزیم‌های گوارشی و ترکیب شیمیایی لاشه لاروهای کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) بود. ۳۶۰ قطعه لارو کپور معمولی با میانگین وزن تقریبی ۲۰۰ میلی‌گرم پس از گذراندن یک دوره یک هفته‌ای برای سازگاری با شرایط جدید، به مدت ۴۵ روز با جیره‌های مکمل شده با مخلوط پروبیوتیک‌های *Bacillus subtilis*، *B. licheniformis* و *Saccharomyces cerevisiae* به ترتیب در غلظت‌های $1/5 \times 10^6$ (T_۱)، 3×10^6 (T_۲)، $4/5 \times 10^6$ (T_۳) CFU/100 g غذاهای شدند. در گروه شاهد لاروهای ماهی از جیره بدون مکمل تغذیه شدند و آزمایش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی انجام شد. در انتهای دوره آزمایش بالاترین میزان وزن نهایی ($350 \pm 0/12$ میلی‌گرم) و نرخ رشد ویژه ($0/94 \pm 0/66$ ٪ وزن بدن در روز) در تیمار T_۳ مشاهده شد. بیشترین میزان کارایی غذا ($19/02 \pm 46/152$)، نسبت کارایی پروتئین ($0/41 \pm 0/37$)، نسبت کارایی چربی ($1/34 \pm 1/22$)، پروتئین ابقا شده ($0/018$ میلی‌گرم در روز) و میزان بهره‌برداری از پروتئین خالص ($0/058$ ٪) در تیمار T_۳ و کمترین ضریب تبدیل غذایی ($2/34 \pm 0/61$) نیز در همین تیمار آزمایشی به دست آمد ($p < 0/05$). تمامی شاخص‌های ذکر شده با گروه شاهد اختلاف معنی‌داری داشتند ($p < 0/05$). بالاترین سطح پروتئین خام ($72/33 \pm 0/68$) و چربی خام ($0/32 \pm 13/43$ ٪) لاشه در تیمار T_۳ سنجش شد. سطوح ماده خشک، انرژی خام و خاکستر لاشه اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی در مقایسه با گروه شاهد نشان ندادند ($p > 0/05$). مقادیر آنزیم‌های آمیلاز و لیپاز عصاره بدن در تیمارهای آزمایشی در مقایسه با گروه شاهد افزایش دادند. مقدار آنزیم آمیلاز در تیمارهای آزمایشی در مقایسه با شاهد اختلاف معنی‌داری نشان داد ($p < 0/05$). این آزمایش مشخص کرد که مخلوط باسیلوس و مخمر در غلظت‌های مختلف تأثیرات متفاوتی بر ترکیب لاشه و فراسنج‌های تغذیه‌ای این ماهی دارد و بهترین نتایج در تیمار T_۳ ($4/5 \times 10^6$ CFU/100g) به دست آمد.

کلمات کلیدی: کپور معمولی، پروبیوتیک، باسیلوس، مخمر، فاکتورهای رشد، آنزیم آمیلاز

مقدمه

آبزی‌پروری یکی از مهم‌ترین فعالیت‌های تولید غذا برای جوامع ب‌شری در طول یک دهه گذشته است (FAO, 2012). کپور ماهیان یکی از مهم‌ترین خانواده‌های پرورشی در سطح جهان هستند. ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) یکی از محبوب‌ترین گونه‌ها به‌ویژه در آسیا شناخته می‌شود، بطوری که میزان تولید جهانی این گونه بیش از ۴/۵ میلیون تن در سال ۲۰۱۶ گزارش شده است (FAO, 2018).

افزایش تراکم در مزارع منجر به شیوع بیماری‌ها و در نتیجه بروز تلفات عظیم اقتصادی می‌شود (Verma and Gupta, 2015). افزایش تراکم و تجاری‌سازی تولیدات در صنعت آبزی‌پروری چالش‌های زیادی از جمله بروز عوامل بیماری‌زا به‌خصوص عفونت‌های باکتریایی را به همراه داشته که به عنوان یکی از محدودیت‌های اساسی در گسترش این صنعت شناخته می‌شود. علاوه بر عفونت‌های باکتریایی، کیفیت غذا نیز باعث بروز مرگ و میر در مزارع می‌شود (Munirasu et al. 2017). بنابراین، نیاز به بررسی کیفیت خوراک و روش‌های غذایی به‌منظور بهبود عملکرد و کارایی تغذیه حیوانات پرورشی احساس می‌شود. گزارش‌های قبلی حاکی از آن است که مکمل‌های پروبیوتیک با تقویت دستگاه ایمنی می‌توانند شیوع بیماری را کاهش دهند و با بهبود شاخص‌های رشد و کارایی تغذیه باعث کاهش هزینه‌های پرورش ماهی و میگو شوند (Munirasu et al. 2017). مشکلات مذکور و محدودیت‌هایی که در استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها وجود دارد، باعث شده است که پرورش‌دهندگان تمایل بیشتری به استفاده از محرک‌های طبیعی ایمنی مانند پروبیوتیک‌ها و پری‌بیوتیک‌ها به عنوان راهکاری جایگزین برای مدیریت، کنترل و پیشگیری بیماری‌ها داشته باشند (Hassan et al. 2014).

به دلیل استفاده نادرست از آنتی‌بیوتیک‌ها برای ارتقای میزان رشد حیوانات بروز مقاومت آنتی‌بیوتیکی به یکی از ویژگی‌های مشترک ریزموجودات تبدیل شده که با بروز مشکلات جدی در درمان عفونت‌های میکروبی همراه بوده است (Kumaree et al. 2015). از پروبیوتیک‌ها که به عنوان ریزموجودات مفید با اثرات سودمند روی موجود میزبان یاد می‌شود، در صنعت آبزی‌پروری برای کنترل

بیماری‌ها، به عنوان مکمل رشد و در برخی موارد به عنوان جایگزینی برای ترکیبات ضد میکروبی استفاده می‌کنند (Fuller and Perdigon, 2003). Vergio احتمالاً نخستین فردی بود که واژه پروبیوتیک را معرفی کرد. این شخص در مقاله خود با عنوان "Anti-undprobiotika" تأثیرات مضر و نامطلوب استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها و دیگر ترکیبات ضد میکروبی را بر جمعیت میکروبی دستگاه گوارش با فراسنج‌هایی که باعث تعدیل فلور میکروبی دستگاه گوارش می‌شد (Probiotika) مقایسه کرد (Vergio, 1954). Lilly و Stillwell (1965) پروبیوتیک‌ها را ریزموجوداتی تعریف کردند که رشد دیگر ریزموجودات را ارتقا می‌دهند. پروبیوتیک‌ها از طریق بهبود ارزش غذا، فعالیت آنزیمی در هضم، مهار ریزموجودات بیماری‌زا، فعالیت‌های ضد عفونی‌کننده و ضد سرطان، تقویت‌کننده رشد و افزایش پاسخ ایمنی میزبان را بهره‌مند می‌سازند (Harikrishnan et al. 2010).

هدف از این مطالعه بررسی تأثیر پروبیوتیک‌های جدا شده از روده بچه فیل‌ماهیان انگشت‌قد (*Huso huso*) شامل *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis* و *Saccharomyces cerevisiae* در غلظت‌های مختلف در جیره بر شاخص‌های رشد، کارایی غذا و ترکیبات لاشه لاروهای کپور معمولی بود.

مواد و روش‌ها

انجام آزمایش

مطالعه حاضر به مدت ۴۵ روز در آزمایشگاه هیدروبیولوژی دانشگاه گنبدکاووس انجام شد. تعداد ۳۶۰ قطعه لارو ماهی کپور معمولی با میانگین وزن تقریبی ۲۰۰ میلی‌گرم از کارگاه پرورش ماهیان گرمابی شهید چمران (استان گلستان) تهیه شد. لاروها در کیسه‌های نایلونی دو لایه که یک سوم آن با آب و دو سوم آن با هوا پر شده بود، به محل انجام آزمایش منتقل شدند. آنها پس از گذراندن یک دوره یک هفته‌ای برای سازگاری با شرایط جدید و جیره پایه، به شکل تصادفی در ۳ تیمار آزمایشی به همراه یک گروه شاهد هر کدام با سه تکرار تقسیم شدند. برای انجام آزمایش از ۱۲ مخزن پلاستیکی با حجم آگیری ۶ لیتر استفاده شد. تراکم لاروها در هر مخزن (تکرار) ۳۰ عدد بود. نیاز اکسیژنی لاروها با استفاده از یک سنگ هوای

فرا سنججه‌های مذکور در قالب میانگین در جدول ۱ ارائه شده است.

متصل به منبع هواده تأمین شد. آب مورد استفاده برای پرورش لاروها در طول دوره آزمایش از نظر دما، اکسیژن محلول، pH، نیتريت و سختی پایش شد. مقادیر

جدول ۱ میانگین فراسنججه‌های کیفی آب در طی دوره آزمایش.

فراسنججه‌های کیفی آب					
pH	اکسیژن محلول (mg/L)	دما (°C)	هدایت الکتریکی آب (µm/S)	شوری (mg/L)	مقدار جامدات محلول (mg/L)
۷/۶ ± ۰/۱۸	۷/۵ ± ۰/۶۵	۲۴/۵ ± ۱/۳۵	۸۲۹/۳۸ ± ۸۲/۶۶	۵۲۵ ± ۳۲/۴۱	۵۶۸/۵۶ ± ۵۰/۲۵

(Abdollahi-Arpanahi et al. 2018). سوسپانسیون‌های تهیه شده بر اساس تیمارهای آزمایشی با جیره‌ها مکمل سازی شدند.

جیره‌های آزمایشی

از پودر امعاء و احشای ماهی کپور معمولی به عنوان ماده خام اولیه برای تغذیه لاروها استفاده شد. پودر امعاء و احشای ماهی کپور با استفاده از روش Jamali و همکاران (۲۰۱۵) تهیه شد و به عنوان منبع پروتئینی جیره به کار گرفته شد. با استفاده از این پودر و دیگر افزودنی‌های مورد نیاز، چهار جیره با پروتئین خام (۵۱٪/۳۴)، چربی خام (۱۵/۷۴٪) و انرژی خام (۵۵۵۵ کالری بر گرم) یک سان تهیه شد (رحمانی، ۱۳۹۲). سوسپانسیون‌های تهیه شده از باسیلوس‌ها و مخمر پروبیوتیک در سه غلظت $10^6 \times 1/5$ (T1)، 3×10^6 (T2) و $4/5 \times 10^6$ (T3) واحد پرگنه، به ۱۰۰ گرم از هر یک از سه جیره آماده شده اضافه شد و با استفاده از ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل، به صورت همگن مخلوط شده و مکمل سازی شدند (Ghosh et al. 2004). سپس با استفاده از چرخ‌گوشته به صورت رشته‌هایی به قطر ۲-۲/۵ میلی‌متر در آمدند و به مدت ۷-۱۰ ساعت درون آون با دمای ۵۰ °C خشک شدند و پس از خرد کردن و گذراندن آن‌ها از الک‌های ریز چشمه، مطابق با اندازه دهانی لاروهای ماهی آماده شدند. کیسه‌های پلاستیکی بسته‌بندی و شماره‌گذاری شده و تا زمان مصرف در فریزر با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. تغذیه لاروها در طول دوره آزمایش به

سوسپانسیون باسیلوس‌ها و مخمر پروبیوتیک

با سیلوس‌ها و مخمر مورد استفاده در این آزمایش، از آزمایشگاه میکروب‌شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران تهیه شد. این باسیلوس‌ها و مخمر توسط دهقان (۱۳۹۰) از روده فیل ماهی انگشتر قند سازی و بر اساس توالی یابی ژنی شناسایی شد و توسط Dehghan و همکاران (۲۰۱۱)، عبداللهی آرپناهی و همکاران (۱۳۹۸)، آباد (۱۳۹۲)، Abdollahi-Arpanahi و همکاران (۲۰۱۸) و حسن پور فتاحی (۱۳۹۲) نشان داده شد که دارای خاصیت پروبیوتیک هستند. در این بررسی از شکل لیوفیلیزه این ریزموجودات استفاده شد. برای این منظور، ابتدا محصول لیوفیلیزه باسیلوس‌ها پس از مخلوط سازی با سرم فیزیولوژی نمکی (۰/۸۷ v/w NaCl) استریل، بر روی پلیت‌های کشت حاوی محیط کشت باکتری TSA و برای مخمر، بر روی محیط کشت سابرودک ستروز آگار (SDA) کشت داده شدند و پس از انجام دوره گرم‌خلنه‌گذاری به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۰ °C، پرگنه‌های باسیلوس و مخمر در پلیت‌های کشت آن‌ها ظاهر شد (Rengpipat et al. 1998). سپس، بخشی از پرگنه‌های هر یک از باسیلوس‌ها و مخمر به‌طور جداگانه با استفاده از آنس سترون برداشته شده و درون لوله اپندورف حاوی ۲ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی نمکی ۰/۹ NaCl سترون، به صورت سوسپانسیون‌های باکتریایی در آمد. بعد با استفاده از محلول استاندارد نیم‌مک‌فارلند و به روش تعیین غلظت نوری (OD)، با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل شیماتزو UV-۱۶۰)، در جذب نوری طول موج ۶۱۰ نانومتر، غلظت‌هایی در سطوح $10^6 \times 1/5$ ، 3×10^6 و $4/5 \times 10^6$ CFU/mL تهیه شد.

میزان ۵٪ وزن بدن روزانه در ۴ نوبت انجام شد (رحمانی، ۱۳۹۲).

زیست‌سنجی و سنجش شاخص‌های رشد

برای بررسی وضعیت رشد در پایان دوره آزمایش تمامی لاروهای موجود در هر مخزن صید شد. لاروها با استفاده از عصاره پودر گل میخک (۱۰۰ mg/L) بی‌هوش شدند.

اندازه‌گیری وزن لاروها توسط ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ گرم انجام شد. بر اساس نتایج زیست‌سنجی‌های انجام شده در ابتدا و انتهای دوره غذایی نسبت به محاسبه شاخص‌های رشد و تغذیه با استفاده از فرمول‌های مربوطه اقدام شد (De Silva; Hevroy et al. 2005; and Anderson, 1995). همچنین، در طول دوره آزمایش، میزان بازماندگی لاروهای ماهی نیز محاسبه شد.

ازمان / (لگاریتم طبیعی میانگین وزن اولیه به گرم - لگاریتم طبیعی میانگین وزن نهایی به گرم) $\times 100 =$ (درصد در روز) نرخ رشد ویژه
 افزایش وزن بدن (گرم) / مقدار غذای خورده شده (گرم) = ضریب تبدیل غذایی
 مقدار غذای خورده شده به گرم / افزایش وزن بدن به گرم $\times 100 =$ (درصد) کارایی تبدیل غذا
 مقدار مصرف پروتئین (گرم) / افزایش وزن بدن (گرم) = نسبت کارایی پروتئین
 مقدار چربی خورده شده (گرم) / وزن به دست آمده (گرم) = نسبت کارایی چربی
 میزان انرژی دریافتی (کیلوژول) / وزن اضافه شده (گرم) = نسبت کارایی انرژی
 روزهای آزمایش / پروتئین اولیه بدن (درصد) \times وزن اولیه ماهی) - پروتئین نهایی بدن (درصد) \times وزن نهایی ماهی) = پروتئین ابقا شده
 روزهای آزمایش / چربی اولیه بدن (درصد) \times وزن اولیه ماهی) - چربی نهایی بدن (درصد) \times وزن نهایی ماهی) = چربی ابقا شده
 روزهای آزمایش / انرژی اولیه بدن (درصد) \times وزن اولیه ماهی) - انرژی چربی نهایی بدن (درصد) \times وزن نهایی ماهی) = انرژی ابقا شده
 مقدار پروتئین خورده شده (گرم) / مقدار پروتئین ابقا شده (گرم) = میزان بهره‌برداری از پروتئین خالص

سنجش‌های بیوشیمیایی لاشه

برای سنجش بیوشیمیایی لاشه، در ابتدا و انتهای دوره آزمایش تعداد ۲۵ قطعه لارو از هر تیمار به طور تصادفی صید و پس از انجام زیست‌سنجی، به آزمایشگاه فرستاده شدند. در آزمایشگاه، تجزیه لاشه و تعیین ترکیبات شیمیایی آن مطابق با استانداردهای AOAC (۱۹۹۰) با سه تکرار انجام شد. اندازه‌گیری پروتئین خام با دستگاه کلدال (مدل ۱۰۳۰، ساخت کوشور سوئیس) به روش میکروکلدال، چربی خام با روش حل کردن چربی در اتر با دستگاه سوکسله (مدل تکاتور، ساخت سوئد)، انرژی خام با دستگاه بمب کالریمتر (مدل میلتون روی، ساخت آمریکا)، ماده خشک به طور وزنی بعد از انجماد خشک نمونه‌ها درون آون با دمای 105°C (مدل بایندر، ساخت آلمان) برای مدت ۲۴ ساعت و خاکستر لاشه از طریق سوزاندن نمونه‌ها درون کوره الکتریکی (مدل هریوس، ساخت آلمان) با دمای 600°C به مدت ۵ ساعت انجام شد (AOAC, 1990).

لاروهای هر مخزن صید شد و با استفاده از عصاره پودر گل میخک (۱۰۰ mg/L) بی‌هوش شدند. نمونه‌ها برای همگن شدن به دستگاه هموژنایزر الکتریکی منتقل شدند. عملیات همگن شدن در حمام یخ انجام شد. بافر مورد نظر شامل ۱۰۰ mM بافر Tris-HCL به همراه ۰/۱ mM ترکیب EDTA و ۰/۱٪ Triton X-100 با pH برابر ۷/۸ بود. نمونه‌های همگن شده به اپندورف‌هایی با حجم ۱/۵ میلی‌لیتر منتقل شدند و درون دستگاه سانتریفیوژ با دور ۵۰۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند (Gomez-Gil et al. 1998). میزان آمیلاز در محلول همگن با روش Starch-hydrolysis (Robyt and Whelan, 1968) و میزان لیپاز با روش تبدیل تری‌آکیل‌گلیسرول، دی‌آکیل‌گلیسرول و منو‌آکیل‌گلیسرول به اسیدهای چرب آزاد (Bier, 1955) تعیین شد.

تجزیه و تحلیل آماری

برای تجزیه و تحلیل آماری، ابتدا نرمال بودن داده‌های به دست آمده با آزمون کولموگروف-سمیرنوف ارزیابی شد. پس از اطمینان از نرمال بودن داده‌ها، تغییرات شاخص‌های اندازه‌گیری شده از طریق مسیر تحلیلی آنالیز

اندازه‌گیری آنزیم‌های آمیلاز و لیپاز

در انتهای دوره آزمایش برای اندازه‌گیری آنزیم‌های آمیلاز و لیپاز در دستگاه گوارش، تمامی جمعیت باقیمانده از

شد که در آن لاروها با جیره‌های غذایی مکمل سازی شده تو سط $CFU/100g \times 10^6$ از $4/5$ پروبیوتیک‌های مورد استفاده غذایی شدند. کمترین ضریب تبدیل غذایی نیز در تیمار مذکور اندازه‌گیری شد (جدول ۲). لازم به ذکر است که بین تیمارهای T_3 و گروه شاهد اختلاف آماری معنی‌داری از لحاظ وزن نهایی وجود نداشت ($p > 0.05$); اما در دیگر تیمارهای آزمایشی وزن نهایی به شکل معنی‌داری کمتر از گروه شاهد بود ($p < 0.05$). بررسی نتایج به صورت درون گروهی نشان داد که با افزایش غلظت پروبیوتیک‌های مورد استفاده در جیره غذایی شاخص‌های رشد و تغذیه روندی صعودی داشتند. ضریب تبدیل غذایی نیز با افزایش غلظت پروبیوتیک‌ها از روندی نزولی برخوردار بود (جدول ۲).

واریانس یک‌طرفه و مقایسه میانگین بین تیمارها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن بررسی شد. وجود یا عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح اعتماد ۹۵٪ با نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۱ در محیط ویندوز تعیین شد. مقادیر $p < 0.05$ معنی‌دار تلقی شد.

نتایج

نتایج اندازه‌گیری شاخص‌های رشد شامل وزن نهایی، نرخ رشد ویژه، ضریب تبدیل غذایی، نرخ کارایی غذا، نسبت کارایی پروتئین، نسبت کارایی چربی، نسبت کارایی انرژی، پروتئین ابقا شده، چربی ابقا شده، انرژی ابقا شده و میزان بهره‌برداری از پروتئین خالص بین تیمارهای تأثیر گرفته از پروبیوتیک اختلاف معنی‌دار نشان دادند ($p < 0.05$). بالاترین میزان شاخص‌های مذکور در تیمار T_3 اندازه‌گیری

جدول ۲ شاخص‌های رشد و تغذیه لاروهای کیور معمولی.

سطوح پروبیوتیک (CFU/100g)				
T_3	T_2	T_1	شاهد	شاخص‌های رشد
200 ± 15	200 ± 15	200 ± 15	200 ± 15	وزن اولیه (mg)
350 ± 0.13^a	310 ± 0.10^{ab}	280 ± 0.07^b	270 ± 0.10^c	وزن نهایی (mg)
0.94 ± 0.66^a	0.86 ± 0.71^{ab}	0.69 ± 0.57^{bc}	0.60 ± 0.73^c	SGR (%/day)
$2/34 \pm 0.61^c$	$2/45 \pm 0.71^{bc}$	$2/60 \pm 0.63^{ab}$	$2/75 \pm 0.74^a$	ضریب تبدیل غذایی
$46/52 \pm 19/0.2^a$	$44/90 \pm 15/32^{ab}$	$40/90 \pm 10/80^b$	$40/33 \pm 15/71^b$	کارایی تبدیل غذا (/)
0.37 ± 0.41^a	0.33 ± 0.33^{ab}	0.25 ± 0.23^b	0.24 ± 0.34^b	نسبت کارایی پروتئین
$1/22 \pm 1/34^a$	$1/10 \pm 1/0.8^{ab}$	0.82 ± 0.76^b	$0.78 \pm 1/10^b$	نسبت کارایی چربی
0.008 ± 0.00^a	0.007 ± 0.00^{ab}	0.005 ± 0.00^b	0.005 ± 0.00^b	نسبت کارایی انرژی
0.0018 ± 0.00^a	0.0016 ± 0.00^a	0.0011 ± 0.00^b	0.0010 ± 0.00^b	پروتئین ابقا شده (mg/day)
0.0004 ± 0.00^a	0.0003 ± 0.00^a	0.0002 ± 0.00^b	0.0002 ± 0.00^b	چربی ابقا شده (mg/day)
0.049 ± 0.05^a	0.043 ± 0.04^a	0.031 ± 0.02^b	0.030 ± 0.04^b	انرژی ابقا شده (J/day)
0.0058 ± 0.00^a	0.0051 ± 0.00^a	0.0036 ± 0.003^b	0.0032 ± 0.004^b	بهره‌برداری از پروتئین (/)
$98 \pm 2/73^a$	$95/33 \pm 4/74^b$	$93/22 \pm 58/10^b$	87 ± 47^c	میزان بقا (/)

حروف لاتین غیر مشترک در هر ردیف نشانه معنی‌دار بودن است ($p < 0.05$).

خاکستر نیز در تیمار T_1 به دست آمد (جدول ۳). بررسی نتایج به صورت درون گروهی نشان داد که با افزایش غلظت پروبیوتیک در جیره، میزان پروتئین، چربی و انرژی لاشه روندی صعودی و میزان خاکستر روندی نزولی داشت. فعالیت آنزیم آمیلاز بین تیمارهای آزمایشی از اختلاف آماری معنی‌دار برخوردار بود ($p < 0.05$), اما فعالیت آنزیم لیپاز فاقد اختلاف آماری معنی‌دار بود ($p > 0.05$). بالاترین

با سنجش ترکیبات شیمیایی لاشه بین میزان انرژی خام، ماده خشک و خاکستر لاشه اختلاف آماری معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی مشاهده نشد ($p > 0.05$), اما میزان پروتئین خام و چربی خام لاشه در هر سه تیمار آزمایشی به شکل معنی‌داری بالاتر از گروه شاهد بود ($p < 0.05$). بالاترین مقدار پروتئین خام، چربی خام و انرژی خام لاشه در تیمار T_3 اندازه‌گیری شد. بالاترین مقدار ماده خشک و

میزان فعالیت آنزیم‌های مذکور در تیمار T_۳ اندازه‌گیری شد (جدول ۴).

جدول ۳ ترکیبات شیمیایی لاشه لاروهای ماهی کپور معمولی.

سطوح پروبیوتیک (CFU/100g)					
T _۳	T _۲	T _۱	شاهد	شروع آزمایش	ترکیبات لاشه
۷۲/۳۳ ± ۰/۶۸ ^a	۷۱/۱۶ ± ۱/۶۰ ^{ab}	۷۰/۱۲ ± ۱/۷۰ ^{ab}	۶۸/۹۹ ± ۱/۲۹ ^b	۷۱/۷۴	پروتئین خام (/.)
۱۳/۴۳ ± ۰/۳۲ ^a	۱۲/۷۶ ± ۰/۵۸ ^{ab}	۱۱/۳۱ ± ۰/۹۷ ^c	۱۱/۷۹ ± ۰/۶۰ ^{bc}	۱۲/۱۲	چربی خام (/.)
۴۶۹۴/۴ ± ۸۴/۹	۴۶۲۸/۹ ± ۶۰/۸	۴۵۵۴/۲ ± ۱۱/۱	۴۶۰۳/۷ ± ۷۱/۴	۴۵۶۴/۳	انرژی خام (Cal/g)
۱۴/۵۸ ± ۵/۶۹	۱۴/۷۰ ± ۳/۹۱	۱۶/۹۳ ± ۵/۰۹	۱۲/۱۰ ± ۳/۸۰	۱۰/۱	ماده خشک (/.)
۹/۳۳ ± ۰/۹۶	۹/۷۵ ± ۰/۸۹	۱۰/۴۲ ± ۰/۹۴	۹/۶۷ ± ۰/۸۸	۹/۸۹	خاکستر (/.)

حروف لاتین غیر مشترک در هر ردیف نشانه معنی‌دار بودن است (p < ۰/۰۵).

جدول ۴ فعالیت آنزیم‌های گوارشی عصاره بدن لاروهای کپور معمولی.

سطوح پروبیوتیک (CFU/100g)					
T _۳	T _۲	T _۱	شاهد	آنزیم‌های گوارشی	
۱/۱۳۲ ± ۰/۰۱۱ ^a	۰/۸۴۵ ± ۰/۰۱۲ ^b	۰/۸۵۷ ± ۰/۰۰۶ ^b	۰/۵۱۶ ± ۰/۰۲۲ ^c	آمیلاز (U/mL)	
۰/۰۷۷ ± ۰/۰۱۴ ^a	۰/۰۷۵ ± ۰/۰۰۷ ^a	۰/۰۶۷ ± ۲۸/۱۶ ^a	۰/۰۵۰ ± ۰/۰۲۴ ^a	لیپاز (U/mL)	

حروف لاتین غیر مشترک در هر ردیف نشانه معنی‌دار بودن است (p < ۰/۰۵).

بحث

در این تحقیق در تمامی تیمارهای آزمایشی در مقایسه با گروه شاهد، معیارهای رشد و تغذیه از سطوح بالایی برخوردار بودند و غلظت مکمل‌سازی در سطح CFU/100g $4/5 \times 10^6$ در تیمار T_۳، نتایج بهتری را نشان داد. یافته‌های علمی نشان می‌دهد در تأثیرگذاری ریزموجودات پروبیوتیکی، گونه ریزموجود، غلظت بکارگیری، جانور میزبان و قابلیت استقرار و جاگزینی آن‌ها در دستگاه گوارش میزبان اهمیت زیادی دارد (Gomez-Gil et al. 2000). در مشابهت با نتایج حاضر، بکارگیری *Bacillus circulans* جدا شده از روده ماهی روهو (*Labio rohiti*) در غلظت 10^5 در هر گرم غذا، باعث افزایش وزن، نرخ رشد ویژه و کاهش ضریب تبدیل غذایی در این گونه شد، در حالی که غلظت‌های بالاتر تأثیرات منفی بر شاخص‌های مذکور داشت (Ghosh et al. 2003) که دلیل آن را استقرار بالاتر از سطح بهینه این باسیلوس در دستگاه گوارش این ماهی عنوان کرده‌اند. اگرچه در تحقیق حاضر از غلظت‌های بالاتر از CFU/100g $4/5 \times 10^6$ استفاده نشد، ولی نتایج بهتر، نیازمند به‌کارگیری غلظت‌های بالاتر است. همسو با تحقیق حاضر، عسکریان (۱۳۸۷) با بکارگیری باکتری‌های تولید کننده اسید لاکتیک به صورت لیوفیلیزه

پروبیوتیک‌ها به دلیل تأثیرات مفیدی که دارند، امروزه به عنوان یک ابزار مدیریت میکروبی مهم در تغذیه آبزیان شناخته می‌شوند (Balcazar et al. 2006). در این خصوص استفاده از پروبیوتیک‌های بومی می‌تواند از اهمیت فراوانی برخوردار باشد. هرچند که در مطالعه حاضر تأثیر باسیلوس‌ها و مخمر تجاری و بومی با یکدیگر مقایسه نشده است. با وجود این، در تحقیقات مختلف، برخی از محققان گزارش‌هایی را مبنی بر تأثیرگذاری بهتر ریزموجودات بومی مستخرج از دستگاه گوارش آبزیان در عملکرد تغذیه و رشد گونه‌های پرورشی ارائه داده‌اند (آباد، ۱۳۹۲؛ حسن‌پور فتاحی و همکاران، ۱۳۹۳). با وجود این، مطالعه حاضر نشان داد که به‌کارگیری پروبیوتیک‌های جدا شده از روده فیل ماهیان انگشت‌قد در جیره غذایی لاروهای کپور معمولی تأثیرات مثبتی بر رشد و کارایی تغذیه دارد. اگرچه جمعیت باکتریایی روده لارو ماهی کپور در این تحقیق بررسی نشده است، ولی یکی از دلایل مفید بودن پروبیوتیک‌ها در عملکرد رشد و تغذیه، بهبود جمعیت باکتریایی روده است که در تحقیقات مختلف، گزارش‌های علمی متعددی در این خصوص ارائه شده است (Munirasu et al. 2017).

بیوشیمیایی در بدن است. در همین خصوص، یافته‌های علمی محققان نشان می‌دهد که پروبیوتیک‌ها ترکیبات سخت هضم را در دستگاه گوارش آبزی هدف به خوبی هضم می‌کنند و همچنین، با کاهش فعالیت ترکیبات ضد تغذیه‌ای نظیر تانن و اسید فایتیک موجب افزایش عملکرد مواد مغذی در میزبان می‌شوند (Ghosh et al. 2004). اگرچه قابلیت هضم مواد مغذی در این مطالعه بررسی نشده است، با وجود این، در صورت انجام آن، می‌توانست در توجیه علمی برخی از یافته‌های به دست آمده، مفید واقع شود. در همین راستا، Mulyasari و همکاران (۲۰۱۶) گزارش کردند که آنزیم‌های تولید شده توسط پروبیوتیک‌ها نقش مهمی در تجزیه مواد غذایی سخت هضم در دستگاه گوارش ماهیان دارند. همچنین، گزارش Maity و همکاران (۲۰۱۱) در استفاده از *B. subtilis* و *B. licheniformis* نشان دهنده توانایی این پروبیوتیک‌ها در افزایش نرخ رشد، قابلیت هضم مواد مغذی و فعالیت آنزیم‌های هضمی در دستگاه گوارش ماهی سی‌باس آسیایی (*Lates calcarifer*) بوده است. در تأیید نتایج این تحقیق، یافته‌های جعفریان و همکاران (۱۳۸۶) در به کارگیری مخلوط باسیلوس‌های پروبیوتیک تجاری در تغذیه لاروهای تاس ماهی ایرانی نشان داد که سطوح پروتئین و چربی خام به طور معنی‌داری در تیمارهای تحت تأثیر این باسیلوس‌ها افزایش یافته است که این نتایج، همسو با یافته‌های تحقیق حاضر بود.

در مطالعه حاضر، نسبت کارایی پروتئین و چربی و سطوح ابقای آن‌ها در لاشه لاروهای ماهی کپور معمولی با تأثیرپذیری از مخلوط باسیلوس‌های پروبیوتیک و مخمر در تیمارهای آزمایشی ارتقا یافتند و نتایج بهتری در تیمارهای T2 و T3 مشاهده شد. افزایش عملکرد پروتئین و چربی در تیمارهای مذکور و به‌خصوص تیمار T3 احتمالاً ناشی از توانایی باسیلوس‌ها و مخمر جدا شده از دستگاه گوارش فیل‌ماهیان در تولید آنزیم پروتئاز و لیپاز و بهبود قابلیت هضم و جذب ترکیبات پروتئینی و چربی بوده است. گزارش‌های Fuller و Perdigon (۲۰۰۳) و Ghosh (۲۰۰۳) می‌تواند در تأیید این یافته‌ها باشد. قابلیت پروبیوتیک باسیلوس‌ها و مخمر به کار رفته در این تحقیق و نقش آن‌ها در ارتقای عملکرد پروتئین و چربی در لاروها و بچه ماهیان پرورشی، توسط حسن‌پور فتاحی (۱۳۹۲، ۱۳۹۳) با به‌کارگیری مخمر *S. cerevisiae* در تغذیه بچه

که از دستگاه گوارش فیل ماهی و تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) استخراج شده بود، شاهد تأثیرات مثبتی بر رشد و بقای لاروهای هر دو گونه بود. در همین راستا Lashkarbolouki و همکاران (۲۰۱۱) گزارش کردند که مخمر *Saccharomyces cerevisiae* در تغذیه تاس ماهی ایرانی موجب افزایش شاخص‌های رشد در این ماهی می‌شود. در خصوص بیان مکانیسم‌های عملکردی باسیلوس‌های پروبیوتیک بر عملکرد رشد و تغذیه، یکی از دلایل مهم، ترشح آنزیم‌های گوارشی خارج سلولی از این ریزموجودات مفید است که در تحقیقات علمی مختلف گزارش شده است. در همین راستا، جعفریان و همکاران (۱۳۸۶، ۱۳۸۵) گزارش کردند که باسیلوس‌های پروبیوتیک توانایی بالایی در افزایش آنزیم‌های گوارشی و قابلیت هضم مواد غذایی در لاروهای تاس ماهی ایرانی داشتند و به‌طور معنی‌دار رشد و کارایی تغذیه را در مقایسه با شاهد افزایش دادند.

همسو با نتایج تحقیق حاضر، Abdollahi-Arpanahi و همکاران (۲۰۱۸) نیز گزارش کردند که استفاده از *B. subtilis* و *B. licheniformis* جدا شده از روده فیل‌ماهیان انگشت قد، موجب افزایش نرخ کارایی غذا و نرخ رشد ویژه در میگوی پاسبید غربی (*Litopenaeus vannamei*) می‌شود. در تحقیقی دیگر، آباد (۱۳۹۲) گزارش کرد که مکمل‌سازی *B. subtilis* و *B. licheniformis* مستخرج از دستگاه گوارش فیل‌ماهیان انگشت قد در جیره‌های این ماهی، قابلیت خوبی در ارتقای شاخص‌های رشد و از جمله نرخ رشد ویژه در این ماهی دارد.

در مطالعه حاضر، مخلوط باسیلوس‌ها و مخمر بر ترکیبات لاشه ماهی کپور معمولی در تیمارهای مختلف آزمایشی در مقایسه با شاهد تأثیر متفاوتی داشت و در خصوص پروتئین و چربی خام موجب افزایش آن‌ها در این تیمارها شد، هرچند که اختلاف آماری با شاهد فقط در تیمار T3 مشاهده شد. با وجود این، ارتقای سطح پروتئین و چربی خام لاشه در آبزیان پرورشی با تأثیرپذیری از پروبیوتیک‌ها، در گزارش‌های علمی مختلف به اثبات رسیده است. مکانیسم‌های متفاوتی توسط پروبیوتیک‌ها در دستگاه گوارش آبزیان تحت تأثیر آن‌ها روی می‌دهد که از جمله، افزایش فرآیند هضم و جذب این ترکیبات مغذی در دستگاه گوارش آبزی و در نتیجه، ارتقا در ابقای این ترکیبات

بومی مستخرج از روده ماهیان خاویاری و مقایسه آن‌ها با باسیلوس‌های تجاری، در تغذیه لاروهای ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان نشان دادند که باسیلوس‌های بومی نسبت به تجاری در مقایسه با شاهد موجب بازماندگی بالاتری در لاروهای این ماهی می‌شود. همچنین، *Lashkarbolouki* و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند که استفاده از مخمر *S. cerevisiae* در تغذیه لاروهای تاس ماهی ایرانی باعث افزایش مقاومت این ماهی می‌شود و نرخ بازماندگی را ارتقا می‌دهد که هم‌راستا با یافته‌های مطالعه حاضر است. در همین مورد، نتایج مشابهی توسط فرامرزی (۱۳۹۰) در تأثیرپذیری لاروهای تاس ماهی ایرانی از باسیلوس‌های پروبیوتیک گزارش شده است که همسو با نتایج تحقیق حاضر است.

در مجموع، نتایج این تحقیق نشان داد که استفاده از باسیلوس‌های پروبیوتیک و مخمر جدا شده از دستگاه گوارش فیل ماهیان انگشت قد و در غلظت $10^6 \times 4/5$ CFU/100g می‌تواند تأثیرات مثبتی بر عملکرد رشد، ترکیبات شیمیایی لاشه و آنزیم‌های آمیلاز و لیپاز در عصاره بدن لاروهای کپور معمولی داشته باشد.

منابع

آباد، س. ۱۳۹۲. اثر باسیلوس‌های پروبیوتیکی جداسازی شده از روده فیل ماهی (*Huso huso*) انگشت قد و باسیلوس‌های تجاری بر کارایی رشد و پارامترهای بیوشیمیایی خون لارو فیل ماهی. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه گنبد کاووس، ۱۲۱ ص.
 جعفریان، ح. ۱۳۸۵. تأثیر باکتری‌های باسیلوسی به عنوان پروبیوتیک بر رشد، بازماندگی و فعالیت آنزیم‌های گوارشی در لارو تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) در طول دوره پرورش لاروی از طریق غنی‌سازی با آرتمیا اورمیانا (*Artemia urmiana*). رساله دکتری. دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان. گرگان، ۱۰۳ ص.
 جعفریان، ح.، آذری تاکامی، ق.، کمالی، ا.، سلطانی، م.، حبیبی‌رضایی، م. ۱۳۸۶. استفاده از باسیلوس‌های پروبیوتیکی غنی شده با ناپلی آرتمیا ارومیانا به منظور رشد و بقاء لاروهای تاس ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*). مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان ۴: ۳۷-۴۶.

ماهیان فیل ماهی پرورشی و همچنین آباد (۱۳۹۲) و Abad و همکاران (۲۰۱۳) با بکارگیری این باسیلوس‌ها در تغذیه و پرورش فیل ماهیان جوان به اثبات رسید که همسو با نتایج تحقیق حاضر بود.

در مطالعه حاضر، آنزیم‌های آمیلاز و لیپاز در عصاره بدن لاروهای ماهی کپور معمولی در تیمارهای آزمایشی افزایش پیدا کرد و اختلاف معنی‌داری در مقادیر آن‌ها در مقایسه با شاهد مشاهده شد. اگرچه در این مطالعه آنزیم‌های مذکور در دستگاه گوارش ماهی سنجش نشده است، ولی میزان آن‌ها در عصاره بدن به عنوان شاخصی در تأثیرگذاری پروبیوتیک‌های به کار رفته در تغذیه لاروهای این ماهی به حساب می‌آید. اندازه‌گیری برخی از آنزیم‌ها در عصاره بافت‌های بدن در تحقیقات Adeyemi و همکاران (۲۰۱۵) گزارش شده است. در این رابطه، Ueberschär (۱۹۹۳) گزارش کرد که سنجش آنزیم‌های تجزیه‌کننده پروتئین در عصاره بدن لاروهای ماهی می‌تواند به عنوان روشی در تعیین فعالیت‌های آنزیم‌های گوارشی در آن‌ها محسوب شود. همسو با یافته‌های این تحقیق، رحمانی (۱۳۹۲) نشان داد که به‌کارگیری باسیلوس‌های تجاری در جیره لاروهای کپور معمولی، مقادیر این آنزیم‌ها را در عصاره بدن این ماهی افزایش می‌دهد. نتایج همسویی توسط Nobahar و همکاران (۲۰۱۵) در افزایش ترکیبات بیوشیمیایی عصاره بدن و از جمله آنزیم‌ها در بدن لارو ماهی کپور معمولی در تأثیرپذیری از باسیلوس‌های تجاری در مقایسه با شاهد در آن‌ها مشاهده شد. نتایج مشابهی هم توسط Tovar و همکاران (۲۰۰۲) در پرورش لاروهای ماهی باس دریایی (*Dicentrarchus labrax*) در بکارگیری از مخمر در جیره این ماهی گزارش شده است. در همین راستا، Bairagi و همکاران (۲۰۰۴) گزارش کردند که باسیلوس‌های جدا شده از روده ماهیان پرورشی، توانایی بالایی را در افزایش فعالیت‌های آمیلولیتیک و لیپولیتیک در بدن ماهیان دارند.

در مطالعه حاضر، میزان بازماندگی لاروهای ماهی کپور در تیمارهای تحت تأثیر پروبیوتیک‌ها در مقایسه با شاهد افزایش داشته و عموماً گزارش می‌شود که پروبیوتیک‌ها با بهبود جمعیت میکروبی مانع از افزایش جمعیت باکتری‌های بیماری‌زا شده و در نتیجه باعث سلامتی میزبان می‌شوند. همسو با نتایج به دست آمده در تحقیق حاضر، جعفریان و همکاران (۱۳۹۰) با به‌کارگیری باسیلوس‌های پروبیوتیک

رحمانی عسگرآباد، ف. ۱۳۹۲. بررسی عملکرد رشد و برخی معیارهای بیوشیمیایی عصاره بدن لارو ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه گنبد کاووس، ۱۰۳ ص.

عبداللهی آرپناهی، د.، جعفریان، ح.، سلطانی، م.، نادری سامانی، م.، حسن پور فتاحی، ا. ۱۳۹۸. مقایسه اثر باسیلوس‌های تجاری و بومی (*Bacillus subtilis*-*Bacillus licheniformis*) بر برخی از شاخص‌های ایمنی و آنزیم‌های سرمی بدن لارو میگوی پاسبید غربی (*Litopenaeus vannamei*). مجله تحقیقات دامپزشکی ۷۴: ۹۲-۸۳.

عسگریان، ف. ۱۳۸۷. بررسی اثرات استفاده از پروبیوتیک-های حاصل از فلور باکتریایی دستگاه گوارش بر شاخص‌های رشد دو گونه فیل ماهی (*Huso huso*) و تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*). رساله دکتری، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، ۲۱۸ ص.

فراهرزی، م. ۱۳۹۰. غنی‌سازی دافنی ماگنا با باسیلوس سیرکولانس و باسیلوس لیسنی‌فورمیس جهت ارتقاء معیارهای رشد و تغذیه، نرخ بقاء، مقاومت در برابر استرس‌های محیطی و کاهش ترشح میزان ازت آمونیاکی در لارو تاس ماهی ایرانی. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه گنبد کاووس، ۱۳۲ ص.

Abad, S., Jafaryan, H., Harsig, M. Ghiasi, M., Jafaryan, S. 2013. The investigation of Commercial and isolated probiotic bacillus on biochemistry and immunity parameters of beluga (*Huso huso*) fingerling. 7th International Symposium on Sturgeon, July 21-25, Nanaimo, British Columbia, Canada.

Abdollahi-Arpanahi, D., Soltani, E., Jafaryan, H., Soltan, M., Naderi-Saman, M., Campa-Córdova, A.I. 2018. Efficacy of two commercial and indigenous probiotics, *Bacillus subtilis* and *Bacillus licheniformis* on growth performance, immuneo-physiology and resistance response of juvenile white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). Aquaculture 496: 43-49.

Adeyemi, O.T., Osilesi, O., Adebawo, O.O., Onajobi, F.D., Oyedemi, S.O.,

جعفریان، ح.، سلطانی، م.، طاعتی، م.، نظر پور، ع.، مروت، ر. ۱۳۹۰. مقایسه تأثیر باسیلوس‌های مستخرج از روده لارو ماهیان خاویاری *Acipenser persicus* و *Huso huso* با پروبیوتیک‌های تجاری بر رشد لارو ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). مجله تحقیقات دامپزشکی ۶۶: ۴۶-۳۹. حسن پور فتاحی، ا. ۱۳۹۲. تأثیر مخمر ساکارومایسس سرویزیا و آسپرژیلوس نایجر جداسازی شده از دستگاه گوارش فیل ماهی بالغ بر عملکرد رشد و بازماندگی فیل‌ماهیان (*Huso huso*) جوان. دانشگاه گنبد کاووس. پایان نامه ارشد، ۱۶۶ ص.

حسن پور فتاحی، ا.، جعفریان، ح.، خسروی، ع.، قلی‌پور کنعانی، ح. ۱۳۹۳. تأثیر مخمر ساکارومایسس سرویزیا و آسپرژیلوس نایجر جداسازی شده از دستگاه گوارش فیل ماهی بالغ بر کارایی تغذیه و آنزیم‌های سرم خون فیل‌ماهیان جوان (*Huso huso*). مجله علوم و فنون شیلاتی ۳: ۱-۱۳.

دهقان، م. ۱۳۹۰. جداسازی و انتخاب باکتری‌های پروبیوتیک و مخمر از دستگاه گوارش بچه ماهیان انگشت قد فیل ماهی (*Huso huso*) و بررسی قابلیت غنی‌سازی با ناپلی آرمیا اورمیا (*Artemia urmiana*). دانشگاه گنبد کاووس. پایان نامه کارشناسی ارشد. ۱۲۳ ص.

Afolayan, A.J. 2015. Alkaline phosphatase (ALP), aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT) activities in selected tissues of rats fed on processed Atlantic horse Mackerel (*Trachurus trachurus*). Advances in Bioscience and Biotechnology 6: 139-152.

AOAC. 1990. Official Methods of Analysis of Official analytical Chemists (AOAC). Vol. 1, 15th ed. Assoc. Official Analytical Chemists, Washington DC, 1963 p..

Bairagi, A., Ghosh, K.S., Sen, S.K., 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* (Hamilton) fingerlings. *Aquaculture Research* 35: 436-446.
- Balcazar, J.L., De Blas, I., Ruiz-Zarzuola, I., Cunningham, D., Vendrell, D., Muzquiz, J.L. 2006. The role of probiotics in aquaculture. *Veterinary Microbiology* 114: 173-186.
- Bier, M. 1955. Lipases. *Methods in Enzymology I*. Academic Press, New York, 627-642.
- De Silva, S.S., Anderson, T.A. 1995. *Fish Nutrition in Aquaculture*. Chapman & Hall, London, p. 319.
- Dehghan, M., Jafariyan, H., Habibi Rezai, M., Amoozagar, M.A., Sahand, J. 2011. Potential of brine shrimp (*Artemia urmiana*) enrichment with two species of Bacillus and Yeast (*Saccharomyces cerevisiae*). *World Journal of Fish and Marine Science*. 3: 523-528.
- FAO (Food and Agriculture Organization). 2012. *The state of world fisheries and aquaculture 2012*. Food and Agriculture Organization FAO, Rome, 209 p.
- FAO (Food and Agriculture Organization). 2018. *The State of World Fisheries and Aquaculture 2018-Meeting the sustainable development goals*. Rome, 210 p.
- Fuller, R., Perdigon, G. 2003. *Gut flora, immunity and health*. Blackwell publishing, 276 p.
- Ghosh, K., Sen, S.K., Ray, A.K. 2003. Supplementation of an isolated fish gut bacterium, *Bacillus circulans*, in formulated diets for Rohu, *Labeo rohita*, fingerlings. *Aquaculture- Bamidgheh* 55: 13-21.
- Ghosh, K., Sen, S.K., Ray, A.K. 2004. Growth and survival of rohu, *Labeo rohita* (Hamilton, 1822) spawn feed diets fermented with intestine bacterium, *Bacillus circulans*. *Acta Ichthyologica et Piscatoria* 34: 155-165.
- 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 and Environmental Microbiology* 64: 2318-2322.
- Gomez-Gil, B., Roque, A., Turnbull, J.F. 2000. The use and selection of probiotic bacteria for use in the culture of larval aquatic organisms. *Aquaculture* 191: 259-270.
- Harikrishnan, R., Balasundaram, C., Heo, M.S. 2010. *Lactobacillus sakei* BK19 enriched diet enhances the immunity status and disease resistance to streptococcosis infection in kelp grouper, *Epinephelus bruneus*. *Fish and Shellfish Immunology* 29: 1037-1043.
- Hassaan, M.S., Soltan, M.A., Ghonemy, M.M.R. 2014. Effect of synbiotics between *Bacillus licheniformis* and yeast extract on growth, hematological and biochemical indices of the Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *The Egyptian Journal of Aquatic Research* 40: 199-208.
- Hevroy, E.M., Espe, M., Waagbo, R., Sandness, K., Rund, M., Hemer, 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.
- Jamali, H., Moghadam, H., Pariche, N., Jafaryan, H. 2015. Effects of probiotic bacteria on survival, growth and body composition of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) larvae fed diets with various fish meal. *Journal of Coastal Life Medicine* 3: 91-97.
- Kumaree, K.K., Akbar, A., Anal, A.K. 2015. Bioencapsulation and application of *Lactobacillus plantarum* isolated from catfish gut as an antimicrobial agent and additive in fish feed pellets. *Annals of Microbiology* 6: 1439-1445.
- Lashkarbolouki M., Jafaryan H., Faramarzi M., Aminzadeh A., Borami A. 2011. Evaluation of resistance in *Acipenser percicus* larvae fed with bioencapsulated *Daphnia magna* via *saccharomyces cerevisiae* product (amax) against

- challenge test. World Journal of Fish and Marine Sciences 3: 340-345.
- Lilly, D.M., Stillwell, R.H. 1965. Probiotics: growth-promoting factors produced by microorganisms. Science 147: 747-748.
- Maity, J., Kundu J., Pramanik, A., Patra, B.C. 2011 Effect of cellulolytic gut bacteria as a feed supplement on the growth performance and nutrient digestibility of Asian seabass (*Lates calcarifer*). International Journal of Aquatic Science 2: 3-15.
- Mulyasari, B., Widanarni, W., Suprayudi M.A., Zairin Jr.M., Sunarno M.T.D. 2016 Screening of probiotics from the digestive tract of gouramy (*Osfhronemus goramy*) and their potency to enhance the growth of tilapia (*Oreochromis niloticus*). AACL Bioflux 9: 1121-1132.
- Munirasu, S., Ramasubramanian, V., Arunkumar, P. 2017. Effect of Probiotics diet on growth and biochemical performance of freshwater fish *Labeo rohita* fingerlings. Journal of Entomology and Zoology Studies 5: 1374-1379.
- Nobahar, Z., Rahmani, F., Jafaryan, H. 2015. The changes of enzymes and immunity factors in body extract of Common Carp (*Cprinus carpio*) larvae via supplementation diets with probiotic bacilli. International conference on sustainable development, with a focus on Agriculture, Natural Resources, Environment and Tourism. 24-26 Feb, Tabriz, Iran.
- Rawling, M., Merrifield, D.L., Davies, S.J. 2009. Preliminary assessment of dietary supplementation of Sangrovit® on red tilapia (*Oreochromis niloticus*) growth performance and health. Aquaculture 294: 118-122.
- Rengpipat, S., Phianphak, W., Piyatiratitivorakul, S., Menasveta, P. 1998. Effects of a probiotic bacterium on black tiger shrimp *Penaeus monodon* survival and growth. Aquaculture 167: 301-313.
- Robyt, J.F., Whelan, W.J. 1968. The h-amylases. In: Radley, J.A. (Ed.), Starch and Its Derivates. Academic Press, London, 477-497.
- Tovar, D., Zombonino-Infante, J.L., Cahu, C., Gatesoupe, F.J., Vazquez, R., Lesel, R. 2002. Effect of live yeast incorporation in compound diet digestion enzymes activity in sea bass larvae. Aquaculture 204: 113-123.
- Ueberschär, B. 1993. Measurement of proteolytic enzyme activity: significance and application in larval fish research. In: Walther, B.T., Fhyn, H.J. (Eds.), Physiological and Biochemical Aspects of Fish Development. University of Bergen, Norway, 355 p.
- Vergio, F. 1954. Anti-Und Probiotika. Hippokrates 25: 16-119.
- Verma, G., Gupta, A. 2015. Probiotics application in aquaculture: improving nutrition and health. Journal of Animal Feed Science and Technology 3: 53-64.

The effect of isolated bacteria from the intestine of Beluga (*Huso Huso*) on some growth indices, amylase and lipase activity in body extract and carcass composition of the common carp (*Cyprinus carpio*) larvae

Mohsen Poorabasali^{1*}, Hojatollah Jafaryan¹, Mitra Esmaeli², Shayan Ghobadi³

1- Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, Gonbad-e Kavous University, Gonbad-e Kavous, Golestan, Iran

2- Department of Fisheries, Islamic Azad University, Azad Shahr, Golestan, Iran

3- Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, Babol Branch, Islamic Azad University, Babol, Mazandaran, Iran

Received 03 May 2019; accepted 15 September 2019

Abstract

The aim of this study was to investigate the effect of probiotics isolated from the intestine of Beluga (*Huso huso*) fingerlings on growth factors, activity of digestive enzymes and carcass composition of common carp (*Cyprinus carpio*, Linnaeus 1758) larvae. Three hundred and sixty larvae with an average weight of approximately 200 mg after one-week adaptation to the new conditions, were fed with supplemented diets with blend of *Bacillus subtilis*, *B. licheniformis* and *Saccharomyces cerevisiae* in concentrations of 1.5×10^6 (T₁), 3×10^6 (T₂) and 4.5×10^6 (T₃) CFU/100 g diet, respectively for 45 days. In control group, larvae were fed with diet without any supplementation. The experiment was carried out in a completely random design. At the end of the experiment, the results revealed that the highest final weight (35 ± 0.12 mg) and specific growth rate ($0.94 \pm 0.66\%$ /day) were measured in T₃. The highest feed conversion efficiency ($46.52 \pm 19.02\%$), protein efficiency ratio (0.37 ± 0.41), lipid efficiency ratio (1.22 ± 1.34), retained protein (0.0018 mg/day) and net protein utilization (0.0058%) were found in T₃, while the lowest feed conversion ratio (2.34 ± 0.61) was obtained in T₃. All of the above factors had significantly difference with control group ($p < 0.05$). The maximum level of carcass crude protein ($72.33 \pm 0.68\%$) and crude lipid ($13.43 \pm 0.32\%$) were measured in T₃. The dry mater, crude energy and carcass ash levels did not exhibit significant differences in all the treatments compared to the control group ($p > 0.05$). Amylase and lipase levels in the body extracts raised in the experimental treatments in comparison with the control group. However, only the amylase level displayed significant difference in comparison with control ($p < 0.05$). The experiment indicated that the blend of *Bacillus* and yeast at different concentrations displayed different effects on carcass analyses and feeding indices in this fish and the best results were obtained in T₃ (4.5×10^6 CFU/100g diet).

Keywords: Common carp, Probiotic, *Bacillus* sp., Yeast, Growth indices, Enzyme.

Corresponding author: mpourabasali@gmail.com