Archive of SID

مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی
جلد چهاردهم، شماره دوم، خرداد ـ تیر ۱۳۸۶
www.sid.ir
www.magiran.com/jasnr

استفاده از باسیلوس‌های پروبیوتیکی غنی شده با ناپلی آرتمیا ارومیانا به منظور رشد و بقاء لاروهای تاس ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*)

حجت ا.. جعفریان[1]*، قباد آذری تاکامی[2]، ابوالقاسم کمالی[3]
مهدی سلطانی[2] و مهران حبیبی رضایی[4]

[1]استادیار گروه منابع طبیعی، مجتمع آموزشی عالی گنبد، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، [2]استاد دانشگاه تهران،
[3]دانشیار گروه شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، [4]دانشیار گروه زیست‌شناسی دانشگاه تهران

تاریخ دریافت: ۸٤/۱۲/۲٤ ؛ تاریخ پذیرش: ۸۵/۷/۲٦

چکیده

این مطالعه به‌منظور ارزیابی اثرات مخلوط ۵ سویه از باسیلوس‌های پروبیوتیکی برروی رشد و بقاء لارو تاس ماهی ایرانی از طریق غنی سازی آرتمیا ارومیانا (*Artemia urmiana*) انجام شد. این آزمایش به‌صورت طرح کاملاً تصادفی در قالب ٤ تیمار صورت پذیرفت. مخلوط باسیلوس‌های پروبیوتیکی به نام‌های آکوا-۱، آکوا-۲، آکوا-۳ و آکوا-٤ درسه غلظت $۱/۰۹\times۱۰^{۵}$، $۲/۲۰\times۱۰^{۵}$ و $۳/۱۸\times۱۰^{۵}$ باکتری به ازاء هر میلی‌لیتر در سوسپانسیون محیط غنی‌سازی مورد استفاده قرار گرفت. ناپلی‌های آرتمیا هر روز به‌ترتیب با یکی از مخلوط‌های باکتریابی فوق‌الذکر به‌مدت ۱۰ ساعت در هر یک از غلظت‌های یاد شده غنی‌سازی و به لاروهای تاس ماهی ایرانی در تیمارهای آزمایشی خورانده شد. تیمارشاهد از ناپلی‌های آرتمیا بدون غنی‌سازی تغذیه نمودند. لاروها به تعداد ٦ بار در روز به فاصله زمانی ٤ ساعت با ناپلی‌های غنی شده تغذیه شدند. نتایج نشان داد که باکتری‌های پروبیوتیکی بر مبنای غلظت‌های بکار رفته در سوسپانسیون‌های غنی‌سازی، در دستگاه گوارش لاروهای تاس ماهی ایرانی جایگزین شده و روی پارامترهای رشد (وزن نهایی، نرخ رشد ویژه، درصد کارآیی تبدیل غذا و میزان بقاء) تأثیرات مثبت و معنی‌دار گذاشتند ($P<۰/۰۵$)، در حالی که ضریب تبدیل غذایی به‌طور معنی‌دار کاهش یافت ($P<۰/۰۵$)، فاکتور وضعیت در تیمارهای مورد مطالعه اختلاف معنی‌دار نداشت ($P>۰/۰۵$). هبستگی مثبت معنی‌داری بین پارامترهای رشد و تعداد $CFU/_{larvae}$ باکتری‌های پروبیوتیکی در لارو تاس ماهی ایرانی مشاهده گردید ($P<۰/۰۵$). آزمایش نشان داد که توانایی باسیلوس‌های پروبیوتیکی در تأثیرگذاری بر ارتقاء عملکرد رشد در لارو ماهی قره‌برون نسبتاً بالا می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: آکوا، پروبیوتیک، غنی‌سازی، قره‌برون، ناپلی آرتمیا

*- مسئول مکاتبه: hojat_jafaryan@Gmail.com

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

باکتری‌های پروبیوتیکی، زیست یار، مکمل‌های غذایی میکروبی زنده‌ای می‌باشند که تأثیرات سودمندی را برروی جانور میزبان از طریق ایجاد تغییرات میکروبی در روده ایفا می‌کنند (فولر، ۱۹۸۹). پروبیوتیک‌ها مدت زمان زیادی است که در حیوانات اهلی مورد استفاده می‌باشند (استاوریک و کورنگی، ۱۹۹۵) اما اخیرا در آبزی پروری نیز کاربرد آنها متداول گردیده است (ماکردیس و همکاران، ۲۰۰۱). تاکنون تلاش‌های زیادی جهت دستیابی به سویه‌های بومی میکروارگانیزم‌هایی که دارای خاصیت پروبیوتیکی بوده و قادر به کلنی‌سازی در بافت پوششی معده، روده کوچک و یا روده بزرگ حیوان میزبان باشند، صورت گرفته است (ساواج، ۱۹۸۹). تأثیرات مفید میکروارگانیزم‌های پروبیوتیکی در دامپزشکی و به خصوص در ارتباط با حیوانات اهلی به خوبی شناخته شده است (سیسونز، ۱۹۸۹). یکی از جدیدترین ایده‌ها در خصوص پروبیوتیک‌ها، استفاده از باکتری‌های انتخابی برای رشد و بهبود مناسب جمعیت میکروبی میزبان بوده که ازطریق غنی‌سازی با غذای زنده انجام می‌گیرد. در همین راستا برخی از باکتری‌ها از جمله ویبریوها، لاکتوباسیل‌ها، با سیل‌ها و مخمرها از آن جمله می‌باشند (رینگو و بیر کبک، ۱۹۹۹).

ناپلی آرتمیا در مدیریت تغذیه آبزیان، عموماً به‌عنوان یک حامل برای انتقال ترکیبات مختلف شیمیایی مورد آزمایش برای لارو ماهیان (چیر و همکاران، ۱۹۹۱) مطرح می‌باشد. غنی‌سازی آرتمیا با باکتری‌ها فرآیندی است که در طی آن شرایطی مهیا می‌گردد تا از این ارگانیزم نه تنها به عنوان یک غذای زنده بلکه به عنوان یک حامل برای تلقیح واکسن های خوراکی و باکتری‌ها به ماهیان در مراحل لاروی آنها استفاده گردد (ماکردیس و همکاران، ۲۰۰۰). همچنین بکارگیری باکتری‌های پروبیوتیکی به‌عنوان یک راهکار مهم برای کنترل بیولوژیکی لارو ماهیان دریایی و سخت پوستان پیشنهاد می‌گردد (نوگامی و مائدا، ۱۹۹۲). باکترهای لاکتو با سیلوس فروکتیورانس (*Lactobacillus fructivorans*) و لاکتو با سیلوس پلانتاروم (*Lactobacillus plantarum*) از طریق غنی سازی با ناپلی آرتمیا فرانیسکانا، درصد بقاء را در شانک ماهی (Sea bream) نسبت به گروه شاهد در حد معنی‌داری افزایش دادند (کارنیوالی و همکاران، ۲۰۰٤). در یک تحقیق ماکردیس و همکاران (۲۰۰۱) جهت مقابله با ویبریوهای بیماری‌زا، توانستند سویه‌های ویبریو PB1-11 و PB 4-1 جدا شده از جمعیت میکروبی روده ماهی هالیبوت (*Hippoglossus hipoglossus*) را از طریق غنی‌سازی با ناپلی آرتمیا فرانسیسکانا، به روده این ماهی تلقیح نمایند. با سیلوس سیرکولانس جدا شده از روده ماهی روهو (*Labeo rohita*) در جیره غذایی این ماهی با غلظت‌های مختلف بکار رفت و نتایج نشان داد که فاکتورهای رشد بخوبی ارتقاء یافته و ضریب تبدیل غذا نیز در حد معنی‌داری کاهش یافت (گوش و همکاران، ۲۰۰۳). با سیلوس‌های پروبیوتیکی در پرورش لاروی و پست لاروی میگوی سفید هندی (*Fenneropenaeus indicus*) بکار برده شد که بر رشد و بازماندگی آنها تأثیر نسبتاً خوبی داشت (آذری تا کامی و همکاران، ۱۳۸۳). با سیلوس‌های گرم مثبت از جمله با سیلوس سیر کولانس (*Bacillus circulans*)، با سیلوس سابتیلس (*Bacillus subtilis*)، با سیلوس لیکنی فورمیس (*Bacillus licheniformis*)، با سیلوس پلی‌میکسا (*Bacillus polymyxa*) و باسیلوس لاتروسپروس (*Bacillus laterosporus*) می‌توانند در رشد و بقاء ماهیان تأثیرگذار باشند (گوش و همکاران، ۲۰۰۲). هدف از این مطالعه ارزیابی پتانسیل‌های پروبیوتیکی با سیلوس‌های فوق‌الذکر از طریق غنی‌سازی با ناپلی آرتمیا برروی رشد و بقاء تاس ماهی ایرانی در پرورش لاروی آنها بود. این تحقیق در مرکز تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید مرجانی در بهار ۱۳۸٤ انجام پذیرفت.

مواد و روش‌ها

تخم گشایی آرتمیا و تولید ناپلی استریل: سیست‌های آرتمیا ارومیانا (*Artemia urmiana*) مورد استفاده در

www.SID.ir

Archive of SID

این تحقیق از مرکز تحقیقات آرتمیا و جانوران آبزی ارومیه تهیه گردید. لایه کوریون این سیست‌ها طی فرآیند کپسول‌زدایی به طریق شیمیایی (سورگولوس و همکاران، ۱۹۷۷) جدا سازی گردید، سپس سیست‌های بدون پوسته به ظروف شیشه‌ای ضد عفونی شده با تراکم ۵ گرم در لیتربه آب شور استریل منتقل و در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد، تحت شرایط نوری مناسب (۲۰۰۰ لوکس) و هوا دهی شدید انکوباسیون گردیدند (گومزگیل و همکاران، ۱۹۹۸). به منظور انجام کشت بدون باکتریایی و ضد عفونی ناپلی و اجتناب از تداخل دیگر میکروارگانیزم‌ها مطابق با روش گومزگیل و همکاران (۱۹۹۸)، از آنتی بیوتیک کلرامفنیکل به میزان ۳۰ میکروگرم در هر میلی‌لیتر و نیز مخلوط سولفامتوکسازول ـ تری میتوپریم به‌ترتیب به میزان ٤٠ و ۸ میکروگرم به ازاء هر میلی‌لیتر در آب تخمه گشایی سیست‌ها اضافه گردیدند. بعد از ٢٤ ساعت ناپلی‌های تازه تخم گشایی و ضد عفونی شده با استفاده از رفتار نورگرایی مثبت، از سیست تخم‌گشایی نشده جدا شده و با استفاده از توری پارچه‌ای با چشمه ۱۲۰ میکرون، سیفون گردیدند. سپس ناپلی‌های فوق با آب مقطر استریل شستشو شده و در فرآیند غنی‌سازی مورد استفاده قرار گرفتند. همچنین به منظور ارزیابی باقیمانده آنتی بیوتیکی در ناپلی آرتمیا، پس از شستن ناپلی آرتمیای ضد عفونی شده با آب مقطر استریل، آزمایش حساسیت آنتی بیوتیکی به روش دیسک‌های واتمن آغشته به ناپلی (بایوئر و همکاران، ١٩٦٦) انجام گرفت.

آماده‌سازی پروبیوتیک‌ها: در این آزمایش مخلوط ۵ سویه از باسیلوس‌های پروبیوتیکی تهیه شده از شرکت نیکوتک (پروتکسین)، به همراه محیط کشت اختصاصی آنها (پپتون، پلی ساکاریدها و مواد معدنی) به شرح جدول ۱ مورد استفاده قرار گرفت.

به منظور آماده‌سازی پروبیوتیک‌ها از سوسپانسیون اسپور هر یک از مخلوط‌های باکتریایی، به‌ترتیب حجم ۱۰ میکرولیتر، ۲۰ میکرولیتر و ۳۰ میکرولیتر، بطور جداگانه توسط سمپلر، تحت شرایط استریل برداشته و به ۳ ظرف شیشه‌ای کاملاً استریل منتقل گردید. سپس مطابق با دستور العمل شرکت پروتکسین آکواتک، مقدار ۲۰، ٤٠ و ٦٠ سی سی، آب مقطر استریل به‌ترتیب به آنها اضافه شد، پس از آن به مقدار ٢٦ میلی‌گرم، ۵۲ میلی‌گرم و ۷۸ میلی‌گرم از محیط کشت اختصاصی این باکتری‌ها توزین و به آن‌ها اضافه گردید. سوپانسیون‌های اسپور به‌دست آمده، بشدت بهم زده شد و در بن ماری مدل گالن کامر به‌مدت ۸ ساعت در حرارت ۳۷ انکوباسیون گردیدند.

جدول ۱- غلظت هر یک از سویه‌های باسیلوس‌های پروبیوتیکی در مخلوط‌های باکتریایی آکوا.

فرآورده میکروبی	گونه	تعداد اسپور
	Bacillus subtilis	$۳/۳\times۱۰^{۹}$
آکوا-۱	*Bacillus licheniformis*	$۳/۳\times۱۰^{۹}$
	Bacillus Polymyxa	$۳/۳\times۱۰^{۹}$
	Bacillus licheniformis	۳×۱۰^{۹}
آکوا-۲	*Bacillus laterosporus*	۷×۱۰^{۹}
	Bacillus subtilis	۱×۱۰^{۹}
آکوا-۳	*Bacillus circulans*	۹×۱۰^{۹}
	Bacillus lichenniformis	۹×۱۰^{۹}
آکوا-٤	*Bacillus circulans*	۱×۱۰^{۹}

www.SID.ir

Archive of SID

در پایان مدت انکوباسیون، اسپورها در معرض محیط کشت خویش به باکتری تبدیل و تکثیر گردیند، سوسپانسیون‌های باکتریایی تهیه شده به‌طور جداگانه هر یک به یک لیتر آب شور استریل (۳۰ گرم در لیتر) اضافه گردیدند. از هر یک از سوپانسیون‌های باکتریایی رقت‌های سریالی در دامنه 10^{-1} تا 10^{-8} تهیه شد که سپس توسط سمپلر، تحت شرایط استریل به پلت‌های حاوی محیط‌های کشت ترپتیک سوی آگار (TSA) منتقل و پس از کشت باکتریایی در ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوباسیون گردیدند. در انتهای مدت انکوباسیون، پرگنه‌های تشکیل شده شمارش و تعداد باکتری‌ها در هر یک از سوپانسیون‌های باکتریایی بر حسب واحد کلنی (^{1}CFU) به ازاء هر میلی‌لیتر تعیین گردید (گومزگیل و همکاران، ۱۹۹۸).

غنی‌سازی ناپلی آرتمیا با پروبیوتیک‌ها: ناپلی استریل آرتمیا ارومیانا بلافاصله پس از تخم‌گشایی در مرحله اینستارا به ظروف شیشه‌ای قیفی شکل ضد عفونی شده منتقل گردیدند، تراکم ناپلی آرتمیا در این ظروف شیشه به میزان میلی‌لیتر/ناپلی۲۰۰ (۲ گرم به ازاء هر لیتر) بود. غلظت باکتری در سوپانسیون باکتریای غنی‌سازی برای هر یک از مخلوط های باکتری‌های آکوا ـ ۱ تا آکوا ـ۴ به‌ترتیب در ۳ غلظت میلی‌لیتر/واحد کلنی $10^5 \times 1/09$، میلی‌لیتر/واحدکلنی $10^5 \times 2/2$، میلی‌لیتر/واحد کلنی $10^5 \times 3/18$ قرار داشت. غنی‌سازی ناپلی آرتمیا تحت شرایط هوادهی شدید، نور مناسب (۲۰۰۰ لوکس) و نیز دمای ۱±۳۰درجه سانتی‌گراد انجام گرفت (گومزگیل و همکاران، ۱۹۹۸). روند غنی‌سازی نایلی آرتمیا با آکواها شامل غنی‌سازی با مخلوط باکتریایی آکوا–۱ در روز اول که برای هر بار غنی‌سازی ۳ غلظت از سوپانسیون‌های باکتریایی یاد شده تهیه و غنی‌سازی صورت می‌گرفت. طول مدت غنی‌سازی ۱۰ ساعت و اسید یته آب مصرفی نیز ۸/۵–۸ بود. در روز دوم از آکوا–۲ و در روز سوم و چهارم به‌ترتیب از آکوارهای ۳ و ۴ استفاده شد، روز پنجم مجددا با استفاده از آکوا–۱ تکرار گردید و این سیکل تا پایان دوره آزمایش ادامه یافت. میزان غنی‌سازی ناپلی آرتمیا با توجه به نیاز تغذیه‌ای لاروهای ماهی به میزان ۳۰ درصد وزن بدن آنها در هر روز انجام می‌شد (شعبان‌پور، ۱۳۷۷).

تغذیه لاروهای تاس ماهی ایرانی: تعداد ۳۲۰۰ قطعه لارو یک روزه تاس ماهی ایرانی با وزن متوسط حدود ۱۸/۲۰ میلی‌گرم از کارگاه شهید مرجانی تهیه گردید. سپس لاروها به چهار حوضچه و نیرو با حجم یک مترمکعب (حجم آبگیری ۰/۵ مترمکعب) به تعداد ۸۰۰ قطعه در هر کدام منتقل گردیدند. تعداد ۱۲ حوضچه پلاستیکی به حجم ۵۰ لیتر (حجم آبگیری ۴۵ لیتر) انتخاب شدند. همزمان با شروع تغذیه فعال که وزن متوسط لاروهای ماهی به ۴۲/۸ میلی‌گرم رسید، تعداد ۶۰۰ قطعه لارو ماهی به‌طور تصادفی انتخاب و در ۳ حوضچه پلاستیکی و در هر یک ۲۰۰ قطعه لارو ماهی، تحت عنوان تیمار شاهد معرفی گردیدند. در خصوص تیمارهای آزمایشی A_1، A_2 و A_3 نیز به‌ترتیب ۳ تکرار انتخاب گردیده که در هر یک از حوضچه‌ها ۲۰۰ قطعه ماهی معرفی شد. تراکم تقریبی لاروهای ماهی معادل ۵–۴ قطعه در هر لیتردرنظر گرفته شد. تغذیه لاروهای تاس ماهی ایرانی در تیمار شاهد از ناپلی‌های آرتمیای بدون غنی‌سازی با پروبیوتیک‌ها انجام شده و در تیمارهای آزمایشی A_1 ، A_2 و A_3 به ترتیب از ناپلی‌های غنی شده با باسیلوس‌های پروبیوتیکی در غلظت سوسپانسیون باکتریایی میلی‌لیتر/واحدکلنی $10^5 \times 1/09$، میلی‌لیتر/واحد کلنی $10^5 \times 2/2$ و میلی‌لیتر/واحدکلنی $10^5 \times 3/18$ صورت می‌پذیرفت. در پایان غنی‌سازی، ناپلی‌های غنی شده با هر یک از غلظت‌های پروبیوتیکی مذکور، بوسیله صافی با چشمه ۱۲۰ میکرون فیلتر شده و توسط آب مقطر استریل کاملاً شستشو شده و به‌ترتیب جهت تغذیه لاروهای تاس ماهی ایرانی در تیمارهای آزمایشی A_1، A_2 و A_3 قرار می‌گرفتند. تغذیه روزانه لاروهای تاس ماهی ایرانی در تیمارهای شاهد و تیمارهای آزمایشی براساس ۳۰ درصد وزن توده زنده آنها (شعبان‌پور، ۱۳۷۷) محاسبه شده و روزانه در ۶ نوبت (فاصله زمانی ۴ ساعت) در

1-Colony Forming Unit

www.SID.ir

Archive of SID

ساعت‌های ۳، ۷، ۱۱، ۱۵، ۱۹ و ۲۳ انجام می پذیرفت. هر روزه در ساعت ۷ صبح باقیمانده ناپلی آرتمیا از طریق سیفون کردن کف حوضچه‌ها و جمع‌آوری ناپلی‌های فیلترشده از آب خروجی، دقیقاً جمع‌آوری شده و سپس از طریق شمارش تعداد آنها در واحد حجم، بیوماس آنها محاسبه و تعیین می‌گردید.

اندازه‌گیری معیارهای کیفی آب

معیارهای کیفی آب نظیر: اکسیژن محلول، اسیدیته، قابلیت هدایت الکتریکی و شوری آب مورد بررسی قرار گرفت. اکسیژن محلول با استفاده از دستگاه اکسیژن سنج، قابلیت هدایت الکتریکی، شوری، اسیدیته آب با استفاده از دستگاه واترچکر مدل هانا روزانه اندازه‌گیری می‌گردید. همچنین درجه حرارت آب نیز در هر ٤ ساعت یکبار همزمان با دفعات تغذیه لارو ماهیان انجام گرفت.

برآورد معیارهای رشد: در طول دوره آزمایش (۳۵ روز) هر روزتعداد ۳۰ قطعه لارو ماهی از هر حوضچه نمونه‌برداری و میانگین طول و وزن آنها با استفاده از کولیس با دقت ۰/۰۱ میلی‌متر و ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۱ میلی‌گرم اندازه‌گیری می‌گردید. نرخ رشد ویژه[1] (وتون، ۱۹۹۰)، ضریب تبدیل غذایی[2] (هروی، ۲۰۰۵) با کسر نمودن بیوماس غذای (ناپلی آرتمیای) خورده نشده از کل غذای عرضه شده محاسبه شد. کارآیی تبدیل غذا[3] (دیسیلوا و آندرسون، ۱۹۹۵) تعیین گردید.

معیارهای دیگری نظیر: شاخص گاسترو سوماتیک[4] (دسای، ۱۹۷۰)، فاکتور وضعیت[5] (آسترنگ، ۱۹۷۸)، ضریب رشد حرارتی[6] (چو، ۱۹۹۲)، میانگین رشد روزانه (دیسیلوا و آندرسون، ۱۹۹۵)، میانگین وزن به‌دست آمده (گوش، ۲۰۰۳)، کارآیی تبدیل رشد (دیسیلوا و آندرسون، ۱۹۹۵)، سرعت رشد وزنی و طولی، ضریب تغییرات وزنی و طولی در انتهای دوره آزمایش تعیین گردید (دیسیلوا و آندرسون، ۱۹۹۵). همچنین نرخ بقاء لاروهای ماهی در طول دوره آزمایش نیز تعیین شد.

آزمایش‌های باکتریایی: به منظور بررسی قابلییت تشکیل کلنی و تثبیت باسیلوس‌های پروبیوتیکی در روده لاروهای تاس ماهی ایرانی تغذیه شده از ناپلی آرتمیای غنی شده با پروبیوتیک‌ها، در انتهای دوره آزمایش به‌طور تصادفی از لاروهای ماهی نمونه‌برداری انجام گردید. جهت رفع جمعیت باکتری‌های سطح بدن لاروها، نمونه‌های ماهی ابتدا در محلول بنزالکونیوم کلراید ۰/۰/۱ به مدت ٦۰ ثانیه قرار گرفته (ماکردیس و همکاران، ۲۰۰۱) و سپس با آب مقطر استریل کاملاً شستشو داده شدند. ناحیه شکمی لاروها با استفاده از تیغ جراحی استریل شکافته و روده آنها پس از جداسازی به منظور هموژن سازی به هاون چینی استریل منتقل گشت. پس از تهیه هموژن با استفاده از محلول نمکی نرمال استریل (۰/۰/۸۷ w/v Nacl) رقت‌های سریالی در دامنه 10^{-1} تا 10^{-8} تهیه گردید. از رقت‌های فوق تحت شرایط استریل توسط نمونه‌بردار، حجمی معادل ۱۰۰ میکرولیتر برداشته و به پلت حاوی محیط‌های کشت باسیلوس سرئوس آگار و تریپتیک سوی آگار منتقل و در سطح آن پخش گردیدند (رنگپیپات و همکاران، ۱۹۹۸). پلت‌های فوق به‌مدت ٢٤ ساعت در انکوباتور با حرارت ۳۰ درجه سانتی‌گراد انکوباسیون شده و سرانجام واحدهای کلنی (CFU) باسیلوس‌های پروبیوتیکی براساس مشخصات فنوتیپی و تست‌های بیوشیمیایی استاندارد، شناسایی و شمارش گردیدند (پیتر واسنیس، ۱۹۸٦).

تجزیه و تحلیل آماری: تجزیه و تحلیل آماری داده‌های به‌دست آمده در قالب طرح کاملاً تصادفی و با استفاده از نرم افزارSPSS و براساس آزمون دانکن در سطح ۰/۰۵ انجام پذیرفت.

نتایج

تأثیر باسیلوس‌های پروبیوتیکی بر معیارهای رشد در جدول ۲ ارائه شده است. آزمایش‌های باکتریایی در خصوص لاروهای تاس ماهی ایرانی تغذیه کرده از ناپلی آرتمیا اورومیانای غنی شده با باسیلوس‌های پروبیوتیکی،

1- SGR (Specific Growth Rate)
2- FCR (Food Convertion Ratio)
3- FCE (Food Coeficient Efficiency)
4- GSI (Gastro Somatic Index)
5- Condition Factor
6- TGC(Thermal Growth Coeficient)

www.SID.ir

Archive of SID

مشخص کرد که باسیلوس‌های پروبیوتیکی توانستند به‌طور موفقیت‌آمیزی در دستگاه گوارش این ماهیان جایگزین گشته و جمعیت میکروبی آنها را تغییر دهند (جدول ۳). واحدهای کلنی با سیلوس‌های پرو بیوتیکی در تیمارهای آزمایشی A_1، A_2 و A_3 به‌ترتیب به سطحی معادل 1×10^{7} CFU/larvae، 2×10^{7} CFU/larvae و 6×10^{7} CFU/larvae درروده تاس ماهی ایرانی رسیده و اختلاف کاملاً معنی‌داری بین آنها مشاهده گردید ($p<0/05$). نتایج آزمایش باکتریایی نشان داد که تلقیح با سیلوس‌های پروبیوتیکی به دستگاه گوارش لاروهای تاس ماهی ایرانی از طریق آرتمیای غنی شده باعث افزایش واحدهای کلنی کل باکتری‌ها در دستگاه گوارش آنها نشد. همچنین بین CFU کل باکتری‌های دستگاه گوارش در تیمارهای آزمایشی با تیمار شاهد، اختلاف معنی‌دار مشاهده نگردید ($p>0/05$). در مقایسه با تیمار شاهد، تیمارهای آزمایشی A_1، A_2 و A_3 از وزن نهایی و درصد وزن به‌دست آمده بیشتری برخوردار بوده و اختلاف معنی‌دار بین آنها مشاهده گردید ($p<0/05$). بیشترین وزن لاروماهی در تیمار A_3 (غلظت 3×10^{5} CFU/ml) تغذیه کرده بودند، به‌دست آمد. همبستگی معنی‌داری بین تعداد باسیلوس‌های پروبیوتیکی کلنی شده در دستگاه گوارش و وزن لارو ماهی وجود داشت ($r=0/78$، $p=0/01$). نرخ رشد ویژه در تیمارهای آزمایشی نسبت به گروه شاهد به‌طور معنی‌دار افزایش نشان داد ($p<0/05$) و بیشترین آن در تیمار آزمایشی A_3 مشاهده گردید.

جدول ۲- برخی از معیارهای رشد به‌دست آمده در لارو تاس ماهی ایرانی تغذیه شده با ناپلی آرتمیا اورومیانای غنی شده با پروبیوتیک‌ها.

تیمار / معیار	شاهد	A_1	A_2	A_3
وزن اولیه (میلی‌گرم)	۴۲/۸ ±۰/۵	۴۲/۸ ±۰/۵	۴۲/۸ ±۰/۵	۴۲/۸ ±۰/۵
وزن نهایی(میلی‌گرم)	۹۰۱/۶۳±۶۹^{c}	۱۰۳۱/۰۶±۲۴^{b}	۱۱۰۸/۶۹±۱۱^{ab}	۱۲۳۳/۰۴±۲۶^{a}
نرخ رشد ویژه	۹/۲۳±۰/۲۴^{c}	۹/۶۴±۰/۰۷^{b}	۹/۸۵±۰/ ۲۸^{ab}	۱۰/۱۸±۰/ ۰۷^{a}
ضریب تبدیل غذایی (درصد)	۳/۱۶±۰/۲۵^{a}	۲/۷۲±۰/۰۷^{b}	۲/۵۳±۰/۲۳^{bc}	۲/۲۷±۰/۰۴ ^{c}
کارآیی تبدیل غذا (درصد)	۳۱/۹۹±۲/۴۶ ^{c}	۳۶/۷۷±۰/۸۸ ^{b}	۳۹/۷۹±۳/۸۳^{ab}	۴۳/۹۶±۰/۹۶ ^{a}
شاخص گاسترو سوماتیک	۱۱/۳۶±۰/۶۳^{b}	۱۲/۶۹±۱/۰۹^{ab}	۱۳/۷۴±۱/۵۱^{a}	۱۳/۷۹±۰/۶۹^{a}
فاکتور وضعییت	۰/۵۱±۰/۰۴^{a}	۰/۵۳±۰/۰۳^{a}	۰/۵۴±۰/۱^{a}	۰/۴۷±۰/۰۱^{a}
ضریب رشد حرارتی	۵/۴±۰/۳۲^{c}	۵/۷±۰/۰۷^{b}	۵/۹±۰/۲۸^{ab}	۶/۲±۰/۰۷ ^{a}
میانگین رشد روزانه (درصد)	۶۰/۹۰±۴/۹۲^{c}	۷۰/۰۹±۱/۷۵^{b}	۷۴/۹۳±۶/۴۱^{b}	۸۴/۴۲±۱/۹^{a}
میانگین وزن بدست آمده (میلی‌گرم)	۲۰۰۶/۶۷±۱۶۱/۷^{c}	۲۳۰۹/۰۳±۵۷/۷^{b}	۲۴۹۴/۳۹±۲۴۴/۷^{ab}	۲۷۸۰/۹۴±۶۲/۸^{a}
کارآیی تبدیل رشد (درصد)	۴۲/۲۴±۴/۴۱^{c}	۵۰/۹۵±۱/۶۲^{b}	۵۶/۵۹±۷/۵۳ ^{ab}	۶۴/۸۴±۱/۸۹^{a}
نرخ بقاء لارو (درصد)	۷۹±۲^{b}	۸۹/۵±۱/۵^{a}	۸۸±۴^{a}	۸۸±۲^{a}

تذکر: در هر ردیف اعدادی که دارای حروف غیر مشابه هستند اختلافی معنی‌دار دارند ($P<0/05$)

جدول ۳- تغییرات طولی، وزنی و CFU باکتریایی در لاروهای تاس ماهی ایرانی تغذیه شده با ناپلی آرتمیا اورومیانای غنی شده با پروبیوتیک‌ها.

تیمار / معیار	شاهد	A_1	A_2	A_3
سرعت رشد وزنی (درصد)	۵/۵۱±۰/۰۴^{c}	۵/۵۸±۰/۰۲^{b}	۵/۶۱±۰/۴^{ab}	۵/۶۵±۰/۰۱^{a}
سرعت رشد طولی (درصد)	۲/۸۵±۰/۱۱^{c}	۲/۹۳±۰/۰۱ ^{bc}	۳/۰۳±۰/۰۹^{ab}	۳/۱۱±۰/۱۲^{a}
ضریب تغییرات وزنی (درصد)	۲۲/۴۳±۰/۵۵^{a}	۲۲/۰۷±۰/۲۹^{a}	۱۹/۹۹±۰/۷۶^{b}	۱۹/۶۸±۰/۲۷^{b}
ضریب تغییرات طولی (درصد)	۹/۵۹±۱/۱^{a}	۹/۳۷±۰/۶^{a}	۷/۹۸±۱^{a}	۸/۵۸±۱/۳^{a}
CFU کل باکتری دستگاه گوارش (CFU/larvae)	۲/۰۷±۰/۳۱× 10^{8} ^{a}	۲/۷۵±۱/۱× 10^{8} ^{a}	۱/۶۲±۰/۲۳× 10^{8} ^{a}	۲/۸۲±۰/۲۸× 10^{8} ^{a}
CFU کل باکتری دستگاه گوارش (log CFU/larvae)	۸/۳۲±۰ /۰۶^{a}	۸/۴۱±۰ /۱۸^{a}	۸/۲۱±۰ /۰۷^{a}	۸/۴۵±۰ /۰۴^{a}
CFU پروبیوتیک‌ها در دستگاه گوارش (CFU/larvae)	۰^{d}	۱/۰±۰/۲۷× 10^{7} ^{c}	۲/۰±۰/۳۶× 10^{7} ^{b}	۶/۰±۰/۱۸× 10^{7} ^{a}
CFU پروبیوتیک‌ها در دستگاه گوارش (log CFU/larvae)	۰^{d}	۶/۹۹±۰ /۱۱^{c}	۷/۳۰±۰ /۰۸^{b}	۷/۷۸±۰ /۰۱^{a}

تذکر: درهر ردیف اعدادی که دارای حروف غیرمشابه هستند اختلافی معنی‌دار دارند ($P<0/05$).

www.SID.ir

Archive of SID

همچنین تیمارهای آزمایشی از ضریب رشد حرارتی بالاتری برخوردار بوده و بیشترین مقدار در تیمار A_3 مشاهده شد و اختلاف معنی‌داری بین آنها به‌دست آمد ($P <$۰/۰۵).

ضریب تبدیل غذایی که یکی از مهمترین شاخص‌های تغذیه‌ای بوده با بکارگیری با سیلوس‌های پرو بیوتیکی مورد استفاده در این آزمایش به‌طور قابل توجهی کاهش یافت و نیز اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد به‌دست آمد ($P <$۰/۰۵)، در حالی که کارآیی تبدیل غذا به‌طور معنی‌دار افزایش نشان داد ($P <$۰/۰۵).

همچنین مطابق با تست همبستگی پیرسون بین تعداد باسیلوس‌های پروبیوتیکی کلنی شده در دستگاه گوارش لارو ماهی و ضریب تبدیل غذایی همبستگی معنی‌دار منفی وجود داشت (r= −۰/۸۳، p=۰/۰۱). شاخص گاسترو سوماتیک که از نسبت وزن دستگاه گوارش با محتویات آن به وزن بدن ماهی به‌دست می‌آید و نشان‌دهنده شدت تغذیه می‌باشد در تیمارهای آزمایشی در مقایسه با تیمار شاهد افزایش یافته و اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد به‌دست آمد ($P <$ ۰/۰۵). این معیار با تعداد باسیلوس‌های پروبیوتیکی در دستگاه گوارش لارو ماهی همبستگی مثبت معنی‌دار داشت (r =۰/۷۰، p=۰/۰۵).

همچنین فاکتور وضعییت یا ضریب چاقی اختلاف معنی‌داری را در تیمارهای تحت آزمایش از خود نشان نداد ($P >$۰/۰۵). نرخ بقاء لاروهای تاس ماهی ایرانی در طول دوره آزمایش در تیمارهایی که باسیلوس‌های پروبیوتیکی را دریافت داشته بودند در مقایسه با تیمار شاهد به‌طور قابل توجهی افزایش یافته و بیشترین مقدار آن در تیمار آزمایشی A_1 مشاهده گردید. بین این معیار و سطوح باکتری‌های پروبیوتیکی اندازه‌گیری شده در دستگاه گوارش تاس ماهی ایرانی همبستگی معنی‌دار مثبتی وجود داشت (p=۰/۰۱، r=۰/۸۶).

همچنین شاخص‌های دیگری نظیر: درصد افزایش وزن بدن، سرعت رشد طولی و وزنی، در تیمارهای آزمایشی در مقایسه با تیمار شاهد افزایش پیدا کرده و اختلاف معنی‌داری را نشان داد ($P <$۰/۰۵). ضریب تغییرات وزنی در تیمارهای آزمایشی نسبت به تیمار شاهد کاهش یافته و اختلاف معنی‌دار در بین آنها مشاهده گردید ($P <$۰/۰۵). در حالی‌که ضریب تغییرات طولی لاروهای ماهی اختلاف معنی‌داری را نشان نداد ($P >$۰/۰۵).

در تمامی تیمارهای آزمایشی و نیز تیمار شاهده CFU کل باکتریایی در روده لاروها در سطحی معادل 10^8 CFU/$_{larvae}$ قرار داشت، در حالی‌که اختلاف CFU پروبیوتیک‌ها با CFU کل در حد یک واحد لگاریتمی تعیین گردید.

معیارهای کیفی آب به شرح زیر به‌دست آمد.

اکسیژن محلول: ۰/۴۳ppm±۶/۵۲، دما: ۲/۳۶±۱۹/۶۰ درجه سانتی‌گراد، شوری: ppt ۰/۲۶±۰/۷۲، قابلیت هدایت الکتریکی: 10^{-6} hos/cm × ۴۲۴/۸۷± ۹۷/ ۱۷۶۵ و اسیدیته: ۰/۱۶± ۷/۹۷.

بحث

در تحقیق حاضر ناپلی آرتمیا ارومیانا به عنوان یک حامل انتقال پروبیوتیک‌های باسیلی به دستگاه گوارش لارو تاس ماهی ایرانی، برای افزایش معیارهای رشد از طریق ارتقاء کیفیت میکروفلورای روده آن بکار برده شد. با سیلوس‌های پرو بیوتیکی اسپوردار مورد استفاده در این آزمایش باعث بهینه سازی جمعیت میکروبی روده لارو تاس ماهی ایرانی شدند. دستگاه گوارش ماهیان در زمان تولد و تا قبل از شروع تغذیه فعال، بدون باکتری می‌باشد (وادستین و همکاران، ۱۹۹۳) و به دنبال آن فلور باکتریایی با ورود باکتری‌های محیطی از طریق آب و غذا و جایگزین شدن آن در روده ماهی شکل می‌پذیرد. لذا بکارگیری با سیلوس‌های پرو بیوتیکی از طریق اضافه نمودن به آب محیط پرورشی در زمان جذب کیسه زرده و نیز همزمان با شروع تغذیه فعال آنها (وادستین و همکاران، ۱۹۹۳) توسط ناپلی‌های آرتمیای غنی شده با پروبیوتیک‌ها، توانست در مراحل اولیه پروشی لارو تاس ماهی ایرانی، در مقایسه با باکتری‌های محیطی به برتری

www.SID.ir

Archive of SID

رقابتی بالاتر دست یافته و به خوبی قادر شدند در اشغال و کلنی سازی در روده لارو ماهیان فوق‌الذکر موفق گردند. همچنین تلقیح باسیلوس‌های پروبیوتیکی به دستگاه گوارشی لاروهای تاس ماهی ایرانی از طریق ناپلی آرتمیا غنی شده، CFU کل باکتری‌ها را در تیمارهای آزمایشی نسبت به گروه شاهد افزایش نداد. ماکردیس و همکاران (۲۰۰۰، ۲۰۰۱) در بکارگیری سویه‌های پرو بیوتیکی و یبریو PB1_11 و PB6 _1 در پرورش ماهی هالیبوت (*Hippoglossus hipoglossus*) از طریق غنی‌سازی متاناپلی آرتمیا فرانسیسکانا نتایجی را به‌دست آوردند که تقریباً با نتایج این مطالعه مطابقت داشت. پروبیوتیک‌های باسیلی با تأثیرگذاری خویش توانستند عملکرد رشد را در لاروهای تاس ماهی ایرانی افزایش دهند. با افزایش غلظت با سیلوس‌های پروبیوتیکی درسوسپانسیون غنی‌سازی که بالطبع با افزایش سطوح با سیلوس‌های الحاقی به ناپلی آرتمیا همراه بود، سبب افزایش تعداد با سیلوس‌ها در روده ماهی گشته و میزان CFU مربوط به آنها افزایش یافت، بطوری که تأثیرات آنها در روی معیارهای رشد کاملاً مشهود گردید. وزن نهایی ماهیان و نرخ بقاء در انتهای دوره آزمایش در تیمارهای آزمایشی نسبت به گروه شاهد کاملاً افزایش معنی‌داری را نشان داد، به‌طوریکه پروبیوتیک‌ها تأثیرات بسیار مثبتی برروی رشد و بقاء ماهیان داشتند (گاتسوپ، ۱۹۹۹). در لاروماهیان تغذیه شده از ناپلی‌های آرتمیای حاوی باکتری‌های پرو بیوتیکی، ضریب تبدیل غذا به میزان قابل توجهی کاهش یافت که نظیر همین نتایج را گوش و همکاران (۲۰۰۳) در پرورش ماهی روهو به‌دست آوردند به‌طوریکه با سیلوس سیر کولانس ایزوله شده از روده ماهی روهو در غلظت‌های مختلف باعث کاهش ضریب تبدیل غذا در این ماهی گشت . با سیلوس‌های پرو بیوتیکی بکارگرفته شده در این تحقیق توانستند به میزان قابل توجهی بر دیگرمعیارهای رشد تأثیر گذارده و عملکرد رشد را بهبود بخشند، مطالعات صورت گرفته مبین این موضوع است که این میکروارگانیزم‌ها در روده آبزی مورد مطالعه، از طریق ترشح مواد خارج سلولی نظیر آنزیم‌های گوارشی باعث هضم و جذب بهتر غذا در روده ماهی می‌گردند. تحقیقات صورت گرفته برروی باسیلوس‌های گرم مثبت نظیر باسیلوس سابتیلیس، باسیلوس سیرکولانس و باسیلوس سرئوس ایزوله شده از روده ماهی روهو نشان دادند که این باکتری‌ها دارای آنزیم‌های خارج سلولی بوده (گوش و همکاران، ۲۰۰۲) و از طریق فعالیت‌های آمیلولیتیک، سلولولیتیک، پروتولیتیک و لیپولیتیک خارج سلولی و تخمیر مواد غذایی، کارآیی مصرف (اتولیز) غذا را افزایش داده و با کاهش ضریب تبدیل غذایی، عملکرد ماهی را در ارتباط با معیارهای رشد افزایش دادند (بایراجی و همکاران، ۲۰۰٤). باسیلس سیرکولانس ایزوله شده از روده ماهی روهو توانست باعث افزایش رشد و بقاء تخم ماهی روهو گردد (گوش و همکاران، ۲۰۰٤). اسپور باسیلوس تویوئی (*Bacillus toyoi*) بکار رفته از طریق غنی‌سازی با رتیفر در تغذیه لارو ماهی توربوت (*Scophthalmous maximus L*) در طی ده روز توانست میانگین وزن و درصد بقاء را به‌طور معنی‌داری افزایش دهد (گاتسوب، ۱۹۹۱). در تحقیق حاضر پروبیوتیک‌های بکار رفته باعث شدند که ضمن افزایش سرعت رشد طولی و وزنی، ضریب تغییرات وزنی لاروهای تاس ماهی ایرانی در حد معنی‌دار کاهش یابد که این نشان می‌دهد این میکروارگانیزم‌ها باعث یکدست شدن جمعیت لاروها از نظر وزن در تیمارهای آزمایشی شده‌اند. این مطالعه نشان داد که پروبیوتیک‌های باسیلی قابلیت تأثیرگذاری بسیار بالایی بر ارتقاء عملکرد رشد در تاس ماهی ایرانی در دوره پرورش لاروی دارند.

www.SID.ir

Archive of SID

منابع

۱.آذری تاکامی، ق.، ضیائی نژاد، س.، میرواقفی، ع.، و شکوری، م.، ۱۳۸۳. تأثیر پروبیوتیک آکواتک (protexin Aqutech) بر رشد و بازماندگی لاروهای میگوی سفید هندی (*Fenneropenaeus indicus*). مجله علوم دامپزشکی ۱- ۱ (۱۵ -۲۲).

۲.شعبان پور، ب.، ۱۳۷۷. تعیین ضرایب دافنی و ناپلیوس آرتمیا در تغذیه لارو تاس ماهی ایرانی. پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان. ۷۱ صفحه.

3.Anonymouse, Protexin aquatech.probiotic international limited. stoke. sub Hamodon. Somesset TA 146 QE United Kingdom Email. Info@protexin.com

4.Austreng, E., 1978. Digestibility determination in fish using chromic oxide marking and analysis of contents from different segments of the gastrointestinal tract. Aquaculture. 13: 265–272.

5.Bairagi, A., Sarkar Ghosh, K., 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* (Hamiltion) fingerlings. Aqucalture research. 35: 436- 446.

6.Bauer, A.W., Kirby ,W.M.M., Sherris, J.C., and Turek, M., 1966. Antibiotics susceptibility testing by a standardized. Single disk method. Am. J. clin. Pathol. 45: 493-496.

7.Carnevali, O., Zamponi, M.C., Sulpizo, P., Rollo, A., Nardi, M., Orpianesi, C., Silvi, S., Caggiano, M., Polzonetti, A.M., and Cresci, A., 2004. Administration of probiotic strain to improve sea bream wellenss during development .Aquaculture International .12:377-386.

8.Chair, M., Romdhane, M., Dehasque, M., Nelis, H., Deleen heer, A.P., and Sorgeloose, P., 1991. Live-food mediated drug delivery as a tool for disease treatment in larviculture II. Acase study with European sea bass. In larri 91 fish and crustacean Larvicultur symposium (p.Lavens , p. Sorgeloos, E. Jaspers and F Olleveir. eds) pp.412-414. Ghent, Belgium: European Aquaculture society, special publication No.15.

9.Cho, C.Y., 1992. Feeding systems for rainbow-trout and other salmonidswith reference to current estimates of energy and protein requirements. Aquaculture, 100, 107–123

10.Desai, V.R., 1970. Studies on the fishery and biology of Tortor (Hmilton) from river Narmada. J. Inland Fish. Soc. India. 2:101-112.

11.De Silva, S.S., and Anderson, T.A., 1995. ln: Fish Nutrition in Aquaculture . Chapman and Hall, London .319 pp.

12.Fuller, R., 1989. Probiotics in man and animals .J. Appl. Bacteriol . 66 :365-378 .

13.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, pp. 409-411, Special publication no. 24.

14.Gatesoupe, F.J., 1999. Review: The use of probiotics in aquaculture. Aquaculture. 180: 147-165.

15.Ghosh, K., Sen, S.K., and Ray, A.K., 2002. Characterization of Bacillus Isolated from the Gut of Rohu, *labeo rohita*, fingerlings and its significance in digestion. Applied Aquaculture. 12:33-42.

16.Ghosh, K., Sen, S.K., and Kumar Ray, A., 2003. Supplementation of an isolated fish gut bacterium, *bacillus circulans*, in Formulated diets for Rohu, *Labeo rohita*, Fingerlings. Aquacu lture-Bamidgeh. 55(1): 13-21.

17.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 et piscatoria.34(2):155-165.

18.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.

19.Hevroy, E.M., Espe, M., Waagbo, R., Sandness, K., Rund, M., and Hemre, G.I., 2005. Nutrition utilization in Atlantic Salmon (Salmo salar L) fed increased level of fish protein hydrolysate during a period of fast growth .Aquaculture Nutrition . 11:301-313.

20.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.

www.SID.ir

Archive of SID

21. Makridis, P., Fjllheim, A.J., Skjermoj, and Vadstein, O., 2000. Colonization of the gut in first feeding turbot by bacterial strains added to the water or bioencapsulation in rotifers. Aquaculture Internatinal, 8: 367 - 380.
22. Nogami, K., and Maeda, M., 1992. Bacteria as biocontrol agents for rearing larvae of the crab protunus tritubercu latus canadian jornal of Fisheries and aquatic sciences, 49:2373- 2376.
23. Peter, H., and Sneath, A., 1986. Bergeys manual of systematic Bacterio Logy. Vol 2., 1104-1154.
24. Rengpipat, S., Phianphak, W., Piyatiratitvorakul, S., and Menasveta, P., 1998. Effects of probiotic bacterium on black tiger shrimp *Penaeus monodon* survival and growth. Aquaculture. 167: 301-313 .
25. Ringo, E., Sinclair, P.D., Birkebeck, T.H., and Barbour, A., 1992. Production of ecosapentanoic acid (20:5n-3) by *Vibrio pelagius* isolated from turbot (*Scophthalmus maximus* L.) Larvae Appl.Environ.Microbiol. 58., 3777- 3778.
26. Ringo, E., and Birkbeck, T.H., 1999. Intestinal microflora of fish and fry. Aquaculture Research. 30 : 73 - 93 .
27. Savage, D.C., 1989. The normal human microflora composition. PP.3-18. ln: T.Grubb, T.Midtvedt and E.Norin (Eds.). The Regulatory and protective Role of The Normal Microflora. The Macmillan press Ltd., Houndsmills.
28. Sissons, J.W., 1989. Potential of probiotic organisms to prevent diarrhoea and promote digestion in farm animals. A review. J.sci. Food Agric. 49: 1-13.
29. Sorgeloos, P., Bossuyt, E., Lavina, E., Baeza-Mesa, M., and Persoone, G., 1977. Decapsulation of Artemia cysts: a simple technique for the improvement of the use of brine shrimp in aquaculture. Aquaculture. 12:311.
30. Stavric, S., and Kornegay T., 1995. Microbial Probitotics for pigs and poultry. pp. 205 – 231. In : R.J. Wallace.and A. chesson (eds.). Biotechnology in Animal feeds and animal feeding. Weinheim, NewYork.
31. Vadstein, O., Qie, G., Olsen, Y., Salvesen, I., Skjermoy, and Skak–Break, G., 1993. A strategy to obtain microbial control during larval development of marine fish. In: Reinertsen H. Dahle L.A. Jogensen ference on Fish Farming Technology. A.A. Balkema, Rotterdam, Netherlands.
32. Wootton, R.J., 1990. Ecology of Telost Fish. Chapman & Hall, London. pp. 458.

www.SID.ir

Archive of SID

J. Agric. Sci. Natur. Resour., Vol. 14(2), June -July 2007
www.sid.ir
www.magiran.com/jasnr

The use of probiotic bacillus bioencapsulated with *Artemia urmiana* nauplii for the growth and survival in *Acipenser persicus* larvae

H. Jafarian[1], G. Azari Takami[2], A. Kamali[3], M. Soltani[2] and M. Habibirezaei[4]
[1]Assistant Prof. Dept. of Natural Resources Gonbad high education center, Gorgan Univ. of Agricultural Sciences and Natural Resources, [2]Prof. of Tehran University, [3]Associate Prof. Dept. of Fisheries, Gorgan Univ. of Agricultural Sciences and Natural Resources, [4]Associate Prof. Dept. of Biology, Univ. of Tehran

Abstract

This study was conducted to evaluate the effect of five blends of probiotic bacillus on the growth and survival of *Acipenser persicus* larvae via bioencapsulation of *Artemia urmiana* nauplii. This experiment was conducted in a completely random design in four treatments. The blends of probiotic bacillus such as Aqua-1, Aqua-2, Aqua-3 and Aqua-4, and are used in three concentrations of $1.09\times10^{5,}$ 2.2×10^{5} and 3.18×10^{5} bacteries per ml in suspension of broth. Every day artemia nauplii by one of blends of probiotic bacillus was bioencapsulated for 10 hours and Persian sturgeon larvae were fed on it. The controled treatments were fed on unbioencapsulated artemia nauplii. The larves were fed on 6 times a day, every4 hours with bioencapsulated nauplii. The resualts indicated that the probiotic bacillus according to the concentrations used in bacterial broth, were replaced in digestive system of Persian sturgeon larvae, and had positive significant effects on the growth factors, final weight, Specific Growth Rate (%), food convertion efficiency and survival rate ($P<0.05$). But food convertion Ratio showed significant decreas ($P<0.05$). No significant difference in the condition factor was observed ($P>0.05$). The increase of the growth factors indicated a positive significantly correlation with the number of probiotic bacteries ($CFU/_{larvae}$).The experiment indicated that the ability of probiotic bacillus to influence the increase of the growth performance is relatively high.

Keywords: Aqua; Artemia nauplii; Bioencapsulation; Probiotic; Ghareh-Boron

www.SID.ir