

## تأثیر برخی پروبیوتیک‌های باسیلی بر کارایی تغذیه و ترکیبات مغذی بدن لارو فیل ماهی (*Huso huso*)

\*حجت ا... جعفریان<sup>۱</sup>، مهدی سلطانی<sup>۲</sup> و عبدالمحمد عابدیان<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup>استادیار گروه منابع طبیعی مجتمع آموزش عالی گنبد، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان،  
<sup>۲</sup>استاد گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان، دانشگاه تهران، <sup>۳</sup>استادیار گروه شیلات، دانشگاه تربیت مدرس

تاریخ دریافت: ۸۵/۹/۲۸؛ تاریخ پذیرش: ۸۵/۱۱/۲۵

### چکیده

در این تحقیق اثرات باکتری‌های پروبیوتیکی روی کارایی تغذیه و ترکیب شیمیایی بدن فیل ماهی با بکارگیری مخلوط ۵ گونه از باسیلوس‌های پروبیوتیکی گرم مثبت از طریق غنی‌سازی با آرتمیا ارومیانا (*Artemia urmiana*) در فروردین ۱۳۸۵ مطالعه به مدت ۱۰ روز بررسی شد. این آزمایش در قالب ۴ تیمار و در یک طرح کاملاً تصادفی مورد بررسی قرار گرفت. سوسپانسیون مخلوط پروبیوتیک‌ها در سه سطح  $1 \times 10^8$ ،  $2 \times 10^8$  و  $3 \times 10^8$  باکتری به ازاء هر لیتر در سوسپانسیون محیط غنی‌سازی بکارگرفته شدند. ناپلی‌های آرتمیا با مخلوط‌های باکتریایی بمدت ۱۰ ساعت غنی‌سازی گردیده و توسط لاروهای فیل ماهی در تیمارهای آزمایشی تغذیه شدند. گروه شاهد از ناپلی‌های آرتمیای بدون غنی‌سازی تغذیه نمودند. لاروهای ماهی در هر روز در ۶ نوبت و به فاصله زمانی ۴ ساعت با ناپلی‌های غنی شده تغذیه شدند. نتایج نشان داد که در تیمارهای آزمایشی، پروبیوتیک‌ها روی نسبت کارایی پروتئین (PER)، نسبت کارایی چربی (LER)، ارزش تولید پروتئین (PPV) و ذخیره نیتروژن لاشه (CND) در مقایسه با تیمار شاهد، تأثیرات مثبت و معنی‌دار داشتند ( $P < 0/05$ ) و همچنین سطوح ماده خشک، پروتئین خام و خاکستر لاشه بطور معنی‌دار ( $p < 0/05$ ) افزایش یافت. همبستگی مثبت معنی‌داری بین سطوح ماده خشک، خاکستر لاشه ماهی و شاخص گاستروسوماتیک (GSI) با غلظت باسیلوس‌های پروبیوتیکی (CFU/liter) بکار رفته در سوسپانسیون غنی‌سازی مشاهده گردید ( $P < 0/05$ ). آزمایش نشان داد که پروبیوتیک‌های باسیلی بطور مؤثر بر کارایی تغذیه و سطوح ترکیبات مغذی بدن لارو فیل ماهی تأثیر گذاشتند.

واژه‌های کلیدی: پروبیوتیک، غنی‌سازی، ناپلی آرتمیا، پروتئین خام، چربی خام

### مقدمه

از مدت‌ها قبل میکروب‌ها بطور ناخود آگاه برای حفاظت غذاها بکار برده می‌شدند و روش‌های تجربی به‌دست آمده در این ارتباط در توسعه سلامت انسانی

نقش فراوانی داشته است. در اوایل قرن حاضر باکتری‌های اسید لاکتیک جهت القاء به روده انسان با دیدگاه متوقف کردن فعالیت باکتری‌های مضر پیشنهاد شد (تانوک، ۱۹۹۷). عقیده جدید در خصوص

\* - مسئول مکاتبه: hojat.jafaryan@gmail.com

ماهیان دریایی و سخت پوستان پیشنهاد می‌گردد (نوگامی و ماندا، ۱۹۹۲).

تحقیقات صورت گرفته نشان داد که پروبیوتیک‌ها در برخی از آبزیان پرورشی نتایج بسیار خوبی را در عملکرد رشد و نیز ارتقاء ترکیبات شیمیایی بدن آنها داشته است (یانبو و زیروننگ، ۲۰۰۶).

باکتری لاکتو باسیلوس فروکتیورانس<sup>۲</sup> ایزوله شده از شانک ماهی و نیز لاکتو باسیلوس پلانتروم<sup>۳</sup> ایزوله شده از مدفوع انسان، توانست در عمل غنی‌سازی با موفقیت به ناپلی آرمیا فرانسیسکانا الحاق شده و در طی تغذیه، باعث افزایش رشد و بقاء در این ماهی گردد (کارنیوالی و همکاران، ۲۰۰۴). باسیلوس سیرکولانس ایزوله شده از روده ماهی روهو<sup>۴</sup> در جیره غذایی این ماهی بکار رفت، نتایج آن نشان داد که کارایی پروتئین در حد معنی‌داری افزایش یافت (گوش و همکاران، ۲۰۰۳).

در یک تحقیق بایراجی و همکاران (۲۰۰۴) باسیلوس سابتلیس و باسیلوس سیرکولانس ایزوله شده از ماهی کپور و ماهی تیلپیا را در جیره غذایی ماهی روهو بکار بردند، نتایج نشان داد که نسبت کارایی پروتئین، قابلیت هضم ظاهری و بهره‌برداری ظاهری پروتئین افزایش یافته و عملکرد ماهی در ارتباط با معیارهای رشد ارتقاء یافت. همچنین در مطالعه دیگر باسیلوس سیرکولانس ایزوله شده از روده ماهی روهو توانست باعث افزایش رشد و بقاء نوزاد ماهی روهو گردد (گوش و همکاران، ۲۰۰۲).

تحقیق حاضر جهت ارزیابی پتانسیل‌های مخلوط باسیلوس‌های پروبیوتیکی از جمله باسیلوس سیرکولانس<sup>۵</sup>، باسیلوس سابتلیس<sup>۶</sup>، باسیلوس لیکنی فورمیس<sup>۷</sup>، باسیلوس پلی میکسا<sup>۸</sup> و باسیلوس لاتروسپوروس<sup>۹</sup> بر

پروبیوتیک‌ها تنها در سه دهه گذشته شکل گرفت (پارکر، ۱۹۷۴). چندین تعریف از پروبیوتیک‌ها بطور متوالی پیشنهاد شد (پارکر، ۱۹۷۴)، بطور اساسی تمام این تعاریف ارگانیزم‌ها و موادی را شامل می‌شد که در تعادل میکروبی روده شرکت داشتند (گاتسوپ، ۱۹۹۹). این تعاریف سرانجام به مکمل‌های غذایی میکروبی زنده‌ای که بوسیله بهبود بخشیدن به تعادل میکروبی روده میزبان تأثیرات سودمندی برای آن ایجاد می‌کنند، محدود شد (فولر، ۱۹۸۹). تأثیرات سودمند میکروارگانیزم‌های پروبیوتیکی در دامپزشکی و به‌خصوص گونه‌هایی نظیر حیوانات اهلی مختلف به خوبی شناخته شده است (سیسونز، ۱۹۸۹). استفاده از باکتری‌های انتخابی برای رشد و بهبود مناسب جمعیت میکروبی میزبان از جمله ایده‌های جدیدی می‌باشد که از طریق دستکاری جمعیت باکتری در آبزیان انجام می‌گیرد. برخی از میکروارگانیزم‌ها از جمله: لاکتوباسیل‌ها و بیوریوها، مخمرها و باسیل‌ها می‌باشند (رینگو و بیر کبک، ۱۹۹۹). یکی از روش‌های انتقال باکتری‌های پروبیوتیکی به لوله گوارشی آبزیان استفاده از غذای زنده غنی شده با پروبیوتیک‌ها می‌باشد.

رتیفر و آرمیا از جمله ارگانیزم‌هایی هستند که عموماً در فرآیند غنی‌سازی<sup>۱</sup> به‌عنوان حامل مواد، مختلفی نظیر انواع ترکیبات مغذی (واتاناب و همکاران، ۱۹۸۳)، عوامل ضد میکروبی (دیکسون و همکاران، ۱۹۹۵)، انواع واکسن‌ها (کامپیل و همکاران، ۱۹۹۳)، پروبیوتیک‌ها و ترکیبات تحریک‌کننده سیستم ایمنی به‌منظور افزایش مکانیسم دفاعی میزبان (گاتسوپ، ۱۹۹۴) مورد استفاده قرار گرفته‌اند. بهینه‌سازی فاکتورهای تغذیه‌ای میکروبی می‌تواند باعث رشد بهتر و کاهش تلفات سنگین آن در پرورش آبزیان گردد (اولسن، ۱۹۹۷)، بطوری‌که بکارگیری باکتری‌های پروبیوتیکی به‌عنوان یک راهبرد مهم برای تولید بهتر محصولات زنده قابل تجدید از طریق کنترل بیولوژیکی در سیستم‌های پرورشی برای لارو

- 2- Lactobacillus fructivorans
- 3- Lactobacillus plantarum
- 4- Labeo rohita
- 5- Bacillus circulans
- 6- Bacillus subtilis
- 7- Bacillus licheniformis
- 8- Bacillus polymyxa
- 9- Bacillus laterosporus

- 1- Bioencapsulation

مطابق با دستورالعمل شرکت پروتکسین، از سوسپانسیون اسپور مخلوط‌های باکتریایی به ترتیب حجم ۱۰ میکرولیتر، ۲۰ میکرولیتر و ۳۰ میکرولیتر برداشته و به ۳ ظرف شیشه‌ای کاملاً استریل منتقل گردیدند. سپس مقدار ۲۰، ۴۰ و ۶۰ سی سی، آب مقطر استریل به ترتیب به آنها اضافه شد، سپس از محیط کشت اختصاصی این باکتری‌ها نیز به مقدار ۲۶، ۵۲، ۷۸ میلی‌گرم توزین و به آنها اضافه گردید، سوسپانسیون‌های اسپور به دست آمده پس از بهم زدن، در حرارت ۳۷ درجه سانتی‌گراد بمدت ۸ ساعت انکوباسیون گردیدند. در پایان مدت انکوباسیون، اسپورها در معرض محیط کشت خویش به باکتری‌های رویشی تبدیل گشتند. سوسپانسیون‌های باکتریایی تهیه شده بطور جداگانه هر یک به یک لیتر آب شور استریل (۳۰ ppt) اضافه گردیدند. از هر یک از سوسپانسیون‌های باکتریایی رقت‌های سریالی در دامنه  $10^{-1}$  تا  $10^{-10}$  تهیه شد (رنگیپات و همکاران، ۱۹۹۸) که سپس توسط نمونه‌بردار تحت شرایط استریل به پلت‌های حاوی محیط‌های کشت تریپتیک سوی آگار (TSA) منتقل و پس از انجام کشت باکتریایی در ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوباسیون گردیدند. سپس کلنی‌های تشکیل شده شمارش و تعداد باکتری‌ها در هر یک از سوسپانسیون‌های باکتریایی برحسب لیتر/CFU تعیین گردید (ماکریدیس و همکاران، ۲۰۰۱).

**غنی‌سازی ناپلی آرتمیا با پروبیوتیک‌ها:** ناپلی‌های آرتمیا ارومیا بلافاصله پس از تخم‌گشایی در مرحله اینستار ۱ به ظروف شیشه‌ای قیفی شکل منتقل گردیدند، تراکم ناپلی آرتمیا در این ظروف شیشه به میزان میلی لیتر/ ناپلی ۲۰۰ (۲ گرم به ازاء هر لیتر) بود. غلظت باکتری در سوسپانسیون باکتریای غنی‌سازی برای مخلوط‌های باکتریایی به ترتیب در ۳ سطح  $1 \times 10^8$  CFU/liter،  $2 \times 10^8$  CFU/liter،  $3 \times 10^8$  CFU/liter قرار داشت. غنی‌سازی ناپلی آرتمیا تحت شرایط هوادهی شدید، نور مناسب (۲۰۰۰ لوکس) و نیز دمای  $30 \pm 1$  درجه سانتی‌گراد انجام گرفت (گومزگیل و همکاران، ۱۹۹۸).

کارایی تغذیه و ترکیبات مغذی بدن لارو فیل‌ماهی در دوره پرورش لاروی آنها طراحی شد.

## مواد و روش‌ها

در این تحقیق سیستم‌های آرتمیا ارومیا از مرکز تحقیقات آرتمیا و جانوران آبزی ارومیه تهیه و مورد استفاده قرار گرفت. لایه کوریون سیستم‌ها مطابق با روش سارجولوس و همکاران (۱۹۷۷) طی فرآیند کپسول‌زدایی، جدا شد. به‌منظور تولید ناپلی، مطابق با روش گومزگیل و همکاران (۱۹۹۸) ابتدا سیستم‌های کپسول‌زدایی شده با تراکم ۵ گرم در لیتر در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد، شرایط نوری (۲۰۰۰ لوکس) و هوادهی شدید، در ظروف شیشه‌ای قیفی شکل با حجم ۱۰ لیتر و با استفاده از آب دریا با شوری ۳۰ گرم در لیتر (۳۰ ppt) انکوباسیون گردیدند. بعد از ۲۴ ساعت ناپلی‌های تازه تخم‌گشایی شده، با استفاده از رفتار نورگرایی مثبت، از سیستم‌های تخم‌گشایی نشده و پوسته‌ها، جدا شد. سپس با بکارگیری صافی با چشمه ۱۲۰ میکرون، سیفون گردیدند.

**آماده‌سازی پروبیوتیک‌ها:** در این آزمایش از سوسپانسیون باکتریایی مورد استفاده در محیط غنی‌سازی ناپلی آرتمیا که از 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 جدول ۱ استفاده شد.

جدول ۱- سطوح حضور هر یک از باسیلوس‌های پروبیوتیکی در مخلوط باکتریایی سوسپانسیون غنی‌سازی.

تعداد اسپور $10^{12} \times$ (لیتر/CFU)	باسیلوس‌های پروبیوتیکی
۳/۸۲۵	<i>Bacillus licheniformis</i>
۱/۷۵	<i>Bacillus laterosporus</i>
۰/۸۲۵	<i>Bacillus Polymyxa</i>
۲/۵	<i>Bacillus circulans</i>
۱/۰۷۵	<i>Bacillus subtilis</i>

و سیفون کردن کف حوضچه‌ها، جمع‌آوری و سپس از طریق شمارش در واحد حجم، بیوماس آنها محاسبه و تعیین می‌گردید.

**تعیین فاکتورهای فیزیکوشیمیایی آب:** اکسیژن محلول آب حوضچه‌های پرورش لاروهای ماهی، توسط دستگاه اکسیژن سنج، قابلیت هدایت الکتریکی، شوری و اسیدیته با استفاده از دستگاه واترچکر مدل هانا، روزانه اندازه‌گیری می‌گردید. همچنین تعیین درجه حرارت آب نیز در هر ۸ ساعت یکبار انجام می‌گرفت.

**برآورد معیارهای رشد و تجزیه لاشه ماهی:** در طول دوره آزمایش که به مدت ۱۰ روز به طول انجامید، هر روز تعداد ۱۰ 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. همچنین در انتهای دوره پرورش تعداد ۵۰ قطعه لارو ماهی از هر تشت پلاستیکی نمونه‌برداری و طول و وزن آنها اندازه‌گیری و پس از انجماد در ایزت مایع به یخچال ۷۰- درجه سانتی‌گراد منتقل گشتند. در آزمایشگاه تجزیه لاشه لاروهای فیل ماهی و تعیین ترکیبات شیمیایی لاشه لاروهای ماهی مطابق با استاندارد AOAC (۱۹۹۰) انجام پذیرفت. پروتئین خام با استفاده از روش میکرو کجلدال و با تعیین مقدار نیتروژن کل و تبدیل آن به پروتئین خام براساس ۱۶ درصد نیتروژن، چربی خام مطابق با روش سوکسله، انرژی خام با استفاده از دستگاه بمب کالریمتر، رطوبت و ماده خشک لاشه، بطور وزنی بعد از انجماد خشک برای ۲۴ ساعت و همچنین خاکستر نیز از طریق سوزاندن در کوره ۶۰۰ درجه سانتی‌گراد تعیین شد (AOAC, ۱۹۹۰). ارزش تولید انرژی، ارزش تولید پروتئین، ارزش تولید چربی و نسبت کارایی پروتئین، میزان بهره‌برداری از پروتئین خالص، نسبت کارایی چربی (هلند و همکاران، ۱۹۹۶)، میزان بهره‌برداری ظاهری از نیتروژن و ذخیره نیتروژن لاشه (لارا- فلورس و همکاران، ۲۰۰۳) محاسبه گردید.

طول مدت غنی‌سازی ۱۰ ساعت و pH آب مصرفی ۸±۰/۵ بود. میزان غنی‌سازی ناپلی آرمیا بر مبنای ۵۰ درصد وزن بدن لاروها در هر روز انجام می‌شد.

**تغذیه لاروهای فیل ماهی:** لارو سه روزه فیل ماهی با وزن متوسط حدود ۴۳/۲۰ میلی‌گرم از سالن تفریح کارگاه تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید مرجانی تهیه شد، که به تعداد ۲۴۰۰ قطعه انتخاب و جهت گذراندن دوره جذب کیسه زرده به ۱۲ ظرف پلاستیکی مدور به حجم ۵۰ لیتر (حجم آبگیری ۴۵ لیتر) معرفی گردیدند. طول دوره جذب کیسه زرده لاروهای فیل ماهی در این حوضچه‌ها ۶ روز به طول انجامید. پس از جذب کیسه زرده و همزمان با شروع تغذیه فعال، وزن لاروهای ماهی به ۵۵/۳۰ میلی‌گرم رسیدند. چهار تیمار شامل یک تیمار شاهد و سه تیمار آزمایشی به ترتیب تحت عنوان فیل ماهی-۱، فیل ماهی-۲ و فیل ماهی-۳، هر یک با ۳ تکرار در نظر گرفته شدند. تراکم تقریبی لاروهای ماهی معادل ۴-۵ قطعه در هر لیتر در نظر گرفته شد. تغذیه لاروهای فیل ماهی در تیمار شاهد از ناپلی‌های آرمیای بدون غنی‌سازی با پروبیوتیک‌ها انجام شده و در تیمارهای آزمایشی فیل ماهی-۱، فیل ماهی-۲ و فیل ماهی-۳ به ترتیب از ناپلی‌های غنی شده با باسیلوس‌های پروبیوتیکی با غلظت سوسپانسیون باکتریای  $1 \times 10^8$  CFU/liter،  $3 \times 10^8$  CFU/liter و  $2 \times 10^8$  CFU/liter صورت پذیرفت. در پایان فرآیند غنی‌سازی که به مدت ۱۰ ساعت به طول می‌انجامید، ناپلی‌های غنی شده با سطوح مختلف مخلوط‌های پروبیوتیکی مذکور، بوسیله صافی با اندازه چشمه ۱۲۰ میکرون، فیلتر شده و توسط آب مقطر استریل کاملاً شستشو و به ترتیب جهت تغذیه لاروهای ماهی در تیمارهای آزمایشی فیل ماهی-۱، فیل ماهی-۲ و فیل ماهی-۳ قرار گرفتند. تغذیه لاروهای ماهی در تیمارهای شاهد و تیمارهای آزمایشی براساس ۵۰ درصد وزن توده زنده آنها محاسبه شده و روزانه در ۶ نوبت و با فاصله زمانی ۴ ساعت به آنها داده شد. ناپلی‌های مرده و خورده نشده هر روزه در ساعت ۷ صبح از طریق فیلتراسیون آب خروجی

ترکیبات مغذی لاشه لاروهای فیل ماهی در تیمارهای آزمایشی شدند (جدول ۲).

در مقایسه با تیمار شاهد، تیمارهای آزمایشی فیل ماهی-۱، فیل ماهی-۲ و فیل ماهی-۳ از وزن نهایی و درصد وزن به دست آمده بیشتری برخوردار بودند و اختلاف معنی دار بین آنها مشاهده گردید ( $P < 0/05$ ). بین تیمارهای آزمایشی فیل ماهی-۱، فیل ماهی-۲ و فیل ماهی-۳ اختلاف معنی دار آماری مشاهده نگردید ( $P > 0/05$ ).

نتایج آنالیز لاشه لاروهای فیل ماهی نشان داد (جدول ۲) که باسیلوس‌های پروبیوتیکی فوق‌الذکر در ارتقاء سطوح مواد مغذی بدن ماهی نقش بسیار خوبی را داشته است، بطوری که میزان درصد ماده خشک بدن لاروهای ماهی در تیمارهای آزمایشی فیل ماهی-۱، فیل ماهی-۲ و فیل ماهی-۳ نسبت به تیمار شاهد بطور معنی دار افزایش نشان داد ( $P < 0/05$ ) و همچنین درصد رطوبت بدن لاروهای ماهی در تیمار آزمایشی در حد معنی دار در مقایسه با ماهیان تیمار شاهد کاهش نشان داد ( $P < 0/05$ ). سطح پروتئین خام در تیمارهای آزمایشی فیل ماهی-۱ و فیل ماهی-۲ نسبت به تیمار شاهد افزایش یافته ولی در مقایسه با گروه شاهد اختلاف معنی دار نشان نداد ( $P > 0/05$ ). در حالی که این معیار در لاروهای ماهی تیمار فیل ماهی-۳ کاهش یافته و سطح آن از تیمار شاهد نیز کمتر شده و اختلاف معنی داری مشاهده نگردید ( $P > 0/05$ ).

همچنین ضریب تبدیل غذایی با کسر نمودن بیوماس غذای (ناپلی آرتمیای) خورده نشده از کل غذای عرضه شده و کارایی تبدیل غذا (دیسیلوا و آندرسون، ۱۹۹۵) محاسبه گردید. معیارهای دیگری نظیر: غذای خورده شده روزانه (اسمیت و همکاران، ۲۰۰۵)، شاخص گاسترو سوماتیک (دسای، ۱۹۷۰) تعیین گردید.

**تجزیه و تحلیل آماری:** تجزیه و تحلیل آماری داده‌های به دست آمده در ارتباط با معیارهای تغذیه‌ای و ترکیبات شیمیایی بدن لارو فیل ماهی در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از نرم‌افزار SPSS و براساس آزمون دانکن در سطح ۰/۰۵ انجام پذیرفت. همچنین ضرایب همبستگی بین معیارهای تغذیه‌ای ذکر شده با تعداد باسیلوس‌های پروبیوتیکی در سوسپانسیون باکتریایی غنی‌سازی ناپلی آرتمیای با استفاده از تست اسپیرمن صورت گرفت.

## نتایج

تأثیر باسیلوس‌های پروبیوتیکی بر سطوح تقریبی مواد مغذی لاشه لاروهای فیل ماهی و معیارهای رشد به ترتیب در جدول‌های ۲ و ۳ ارائه شده است. نتایج این آزمایش در خصوص لاروهای فیل ماهی تغذیه کرده از ناپلی آرتمیای ارومیانای غنی شده با باسیلوس‌های پروبیوتیکی، نشان داد که پروبیوتیک‌ها توانستند بطور موفقیت‌آمیزی معیارهای تغذیه‌ای را تغییر داده و باعث ارتقاء سطوح برخی از

جدول ۲- ترکیب شیمیایی بدن لارو فیل ماهی تغذیه گردیده با ناپلی آرتمیای ارومیانای غنی شده با پروبیوتیک‌ها.

تیمار		معیار		
فیل ماهی شاهد	فیل ماهی-۱	فیل ماهی-۲	فیل ماهی-۳	
۷۷/۹۷±۰/۰۶	۷۸/۳۳±۰/۲۷ <sup>ab</sup>	۷۸/۲۰±۰/۲۷ <sup>ab</sup>	۷۷/۷۱±۰/۴۷ <sup>ab</sup>	پروتئین خام (درصد)
۷/۲۶±۰/۴۶ <sup>a</sup>	۵/۲۶±۰/۲۶ <sup>b</sup>	۴/۸۴±۰/۸۷ <sup>b</sup>	۶/۸۰±۰/۸۱ <sup>a</sup>	چربی خام (درصد)
۴۶۷۷±۲۳۰ <sup>a</sup>	۴۵۶۶±۱۲۰ <sup>b</sup>	۴۵۹۴±۱۰۳ <sup>b</sup>	۴۶۸۷±۱۵۳ <sup>a</sup>	انرژی خام (کالری بر گرم)
۵/۳۴±۰/۳ <sup>d</sup>	۶/۴۴±۰/۳۷ <sup>c</sup>	۷/۵۴±۰/۲۰ <sup>b</sup>	۸/۳۳±۰/۳۳ <sup>a</sup>	ماده خشک (درصد)
۹۵/۶۶±۱/۷۰	۹۳/۵۶±۰/۳۷ <sup>b</sup>	۹۲/۴۶±۰/۲۰ <sup>bc</sup>	۹۱/۶۷±۰/۳۳ <sup>c</sup>	رطوبت (درصد)
۹/۸۵±۰/۸۴ <sup>b</sup>	۹/۹۰±۰/۹۸ <sup>b</sup>	۱۰/۲۵±۰/۴۶ <sup>a</sup>	۱۰/۵۶±۰/۶۸ <sup>a</sup>	خاکستر (درصد)

حروف لاتین غیرمشترک نشانه معنی دار بودن می‌باشد ( $p < 0/05$ ).

جدول ۳- برخی از معیارهای تغذیه‌ای به دست آمده در لارو فیلهای ماهی تغذیه گردیده با ناپلی آرمیا ارومیانای غنی شده با مخلوطهای پروبیوتیکی.

معیار	تیمار	فیل ماهی شاهد	فیل ماهی ۱-	فیل ماهی ۲-	فیل ماهی ۳-
وزن اولیه (میلی گرم)		۵۵/۳۰ ± ۰/۶۵	۵۵/۳۰ ± ۰/۶۵	۵۵/۳۰ ± ۰/۶۵	۵۵/۳۰ ± ۰/۶۵
وزن نهایی (میلی گرم)		۲۱۷/۷۱ ± ۳۲ <sup>b</sup>	۲۴۴/۲۸ ± ۳۳ <sup>a</sup>	۲۳۵/۴۴ ± ۲۱ <sup>a</sup>	۲۳۴/۹۴ ± ۳۰ <sup>a</sup>
ضریب تبدیل غذایی		۳/۴۵ ± ۰/۵۷ <sup>a</sup>	۲/۷۷ ± ۰/۵۵ <sup>b</sup>	۲/۸۴ ± ۰/۴۲ <sup>b</sup>	۲/۹۳ ± ۰/۵۲ <sup>b</sup>
کارایی تبدیل غذا (درصد) <sup>۱</sup>		۳۳/۳۰ ± ۵/۳۷ <sup>c</sup>	۳۹/۱۰ ± ۳/۷۲ <sup>b</sup>	۳۸/۶۹ ± ۴/۳۸ <sup>ab</sup>	۳۷/۲۸ ± ۵/۸۰ <sup>a</sup>
غذای خورده شده روزانه <sup>۲</sup>		۲۰/۵۶ ± ۲/۱ <sup>a</sup>	۱۷/۸۷ ± ۰/۸۷ <sup>b</sup>	۱۸/۸۲ ± ۰/۲۶ <sup>b</sup>	۱۸/۹۹ ± ۱/۱۴ <sup>ab</sup>
شاخص گاسترو سوماتیک <sup>۳</sup>		۲۱/۲۳ ± ۰/۵۱ <sup>b</sup>	۲۳/۹۰ ± ۱/۹۴ <sup>ab</sup>	۲۵/۹۸ ± ۰/۹۰ <sup>a</sup>	۲۴/۶۹ ± ۳/۱۷ <sup>b</sup>
ارزش تولید انرژی <sup>۴</sup>		۰/۱۷۳ ± ۰/۰۵۴ <sup>d</sup>	۰/۲۹۰ ± ۰/۰۸ <sup>c</sup>	۰/۳۲۶ ± ۰/۰۷۳ <sup>b</sup>	۰/۳۶۹ ± ۰/۰۸۱ <sup>a</sup>
ارزش تولید پروتئین <sup>۵</sup>		۰/۲۸۸ ± ۰/۰۹۲ <sup>d</sup>	۰/۴۲۵ ± ۰/۱۱۴ <sup>c</sup>	۰/۴۹۱ ± ۰/۱۰۲ <sup>b</sup>	۰/۵۵۰ ± ۰/۱۳۵ <sup>a</sup>
نسبت کارایی پروتئین <sup>۶</sup>		۹/۲۰ ± ۲/۲۰ <sup>b</sup>	۱۰/۳۲ ± ۱/۷۰ <sup>a</sup>	۹/۹۵ ± ۱/۷۴ <sup>b</sup>	۹/۹۷ ± ۱/۸۹ <sup>b</sup>
نسبت کارایی چربی <sup>۷</sup>		۲۴/۶۷ ± ۴/۹۰ <sup>b</sup>	۲۷/۶۸ ± ۵/۰۸ <sup>a</sup>	۲۶/۶۸ ± ۴/۶۵ <sup>a</sup>	۲۶/۷۳ ± ۴/۸۵ <sup>a</sup>
ذخیره نیتروژن لاشه (روز/ میلی گرم) <sup>۸</sup>		۰/۱۱ ± ۰/۰۳ <sup>d</sup>	۰/۱۶ ± ۰/۰۴ <sup>c</sup>	۰/۱۹ ± ۰/۰۵ <sup>b</sup>	۰/۲۰ ± ۰/۰۵ <sup>a</sup>
میزان بهره‌برداری از پروتئین خالص <sup>۹</sup>		۰/۳۱۰ ± ۰/۰۹ <sup>d</sup>	۰/۴۴۸ ± ۰/۰۴ <sup>c</sup>	۰/۵۱۴ ± ۰/۰۷ <sup>b</sup>	۰/۵۷۲ ± ۰/۰۸ <sup>a</sup>
میزان بهره‌برداری ظاهری از نیتروژن (درصد) <sup>۱۰</sup>		۳۰/۹۹ ± ۶/۱۷ <sup>d</sup>	۴۴/۷۶ ± ۷/۴۵ <sup>c</sup>	۵۱/۳۵ ± ۵/۲۸ <sup>b</sup>	۵۷/۲۳ ± ۹/۵۲ <sup>a</sup>

حروف لاتین غیرمشترک نشانه معنی دار بودن می‌باشد (p < ۰/۰۵).

۱. کارایی تبدیل رشد (درصد) = ۱۰۰ × [غذای نسبی خورده شده / نرخ رشد ویژه]
۲. غذای خورده شده روزانه (درصد وزن بدن در روز) = ۱۰۰ × [زمان (روز) × گرم وزن توده زنده ماهی / درصد غذای از دسترس خارج شده × گرم غذای جمع‌آوری شده] - گرم غذای عرضه شده
۳. شاخص گاسترو سوماتیک (درصد) = ۱۰۰ × [گرم وزن نهایی ماهی / گرم وزن دستگاه گوارش ماهی با محتویات آن]
۴. ارزش تولید انرژی = مگاژول انرژی خورده شده / مگاژول انرژی ابقاء شده
۵. ارزش تولید پروتئین = گرم پروتئین خورده شده / گرم پروتئین ابقاء شده
۶. نسبت کارایی پروتئین = گرم پروتئین خورده شده / گرم وزن به دست آمده
۷. نسبت کارایی چربی = گرم چربی خورده شده / گرم وزن به دست آمده
۸. ذخیره نیتروژن لاشه = ۱۰۰۰ × [۶/۲۵ × زمان (روز) × ۱۰۰ / (درصد پروتئین اولیه ماهی × وزن اولیه ماهی)] - (درصد پروتئین نهایی لاشه ماهی × وزن نهایی بدن ماهی)
۹. میزان بهره‌برداری از پروتئین خالص = گرم پروتئین خورده شده / گرم پروتئین به دست آمده
۱۰. میزان بهره‌برداری ظاهری از نیتروژن = ۱۰۰ × [نیتروژن خورده شده / ذخیره نیتروژن لاشه]

آزمایشی فیل ماهی-۱، فیل ماهی-۲ نسبت به تیمار شاهد در حد معنی‌دار کاهش نشان داد (P < ۰/۰۵). در صورتی که در تیمار فیل ماهی-۳ سطح انرژی افزایش یافته ولی اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد به دست نیامد (P > ۰/۰۵). همچنین درصد خاکستر لاشه در تیمارهای آزمایشی در مقایسه با تیمار شاهد افزایش یافته بطوری که در تیمارهای آزمایشی فیل ماهی-۲ و فیل ماهی-۳ نسبت به تیمار شاهد در حد معنی‌دار بالاتر بود (P < ۰/۰۵). این

درصد چربی خام لاشه لاروهای ماهی در تیمارهای فیل ماهی-۱ و فیل ماهی-۲ در مقایسه با تیمار شاهد در حد معنی‌دار کاهش یافته (P < ۰/۰۵) در حالی که در تیمار فیل ماهی-۳ این معیار افزایش یافته ولی با گروه شاهد اختلاف معنی‌داری را از خود نشان نداد (P > ۰/۰۵). باسیلوس‌های پروبیوتیکی باعث کاهش سطح انرژی خام لاشه در لاروهای فیل ماهی در تیمارهای آزمایشی گردیدند، بطوری که سطح انرژی خام در تیمارهای

این معیار با تعداد باسیلوس‌های پروبیوتیکی در سوسپانسیون غنی‌سازی همبستگی مثبت معنی‌دار داشت ( $N=12, P=0/05, r=0/68$ ). باسیلوس‌های پروبیوتیکی در تیمارهای آزمایشی باعث افزایش ارزش تولید انرژی و ارزش تولید پروتئین در لاروهای فیل ماهی شدند. ارزش تولید انرژی در تیمارهای آزمایشی بطور معنی‌داری نسبت به گروه شاهد افزایش یافت ( $P < 0/05$ ). همچنین هر سه تیمار آزمایشی نیز با یکدیگر اختلاف معنی‌دار نشان دادند ( $P < 0/05$ ). ارزش تولید پروتئین نیز در تمامی تیمارهای آزمایشی نسبت به شاهد در حد معنی‌دار افزایش یافت ( $P < 0/05$ ). بیشترین مقدار در تیمار آزمایشی فیل ماهی-۳ در سطحی معادل  $0/55$  محاسبه گردید.

نسبت کارایی پروتئین و نسبت کارایی چربی با بکارگیری باسیلوس‌های پروبیوتیکی در تیمارهای آزمایشی نسبت به تیمار شاهد نسبتاً افزایش یافت. نسبت کارایی پروتئین در تیمار شاهد معادل  $9/2$  که در تیمار آزمایشی فیل ماهی-۱ مقدار آن افزایش یافته و به سطحی معادل  $10/32$  رسیده و با تیمار شاهد اختلاف معنی‌دار نشان داد ( $P < 0/05$ ). در حالی که تیمارهای فیل ماهی-۲ و فیل ماهی-۳ تیمار شاهد اختلاف معنی‌دار نداشتند ( $P > 0/05$ ). در ارتباط با نسبت کارایی چربی نیز با افزایش غلظت پروبیوتیک‌ها در سوسپانسیون غنی‌سازی ناپلی آرتمیا، تیمارهای آزمایشی نسبت به تیمار شاهد بطور معنی‌دار اختلاف داشتند ( $P < 0/05$ ). بیشترین مقدار در لاروهای ماهی در تیمار فیل ماهی-۳ به دست آمد. ذخیره نیتروژن لاشه بر مبنای روز/میلی‌گرم در تیمارهای آزمایشی در مقایسه با تیمار شاهد افزایش یافت، بطوری که در گروه شاهد  $0/11$  میلی‌گرم در روز و در تیمار آزمایشی فیل ماهی-۳ معادل  $0/02$  میلی‌گرم در روز محاسبه گردید. همچنین تمامی تیمارهای آزمایشی با تیمار شاهد اختلاف معنی‌دار داشتند ( $P < 0/05$ ).

میزان بهره‌برداری از پروتئین خالص در لاروهای فیل ماهی در تیمارهای آزمایشی با تیمار شاهد اختلاف معنی‌دار آماری داشت ( $P < 0/05$ ) و همچنین میزان

مقدار برای تیمار فیل ماهی-۳ معادل  $10/56$  درصد تعیین گردید.

همبستگی مثبت معنی‌داری بین تعداد باسیلوس‌های پروبیوتیکی تلقیح شده به سوسپانسیون باکتریایی غنی‌سازی ناپلی آرتمیا ( $CFU/liter$ ) و برخی از سطوح مواد مغذی لاشه لاروهای ماهی وجود داشت. این ضرایب همبستگی مطابق با تست همبستگی اسپیرمن برای ماده خشک  $r=0/97, P=0/01, N=12$  و انرژی خام  $r=0/49, P=0/01, N=12$  به دست آمد. در حالی که همبستگی منفی معنی‌داری بین تعداد باسیلوس‌های سوسپانسیون غنی‌سازی ( $CFU/liter$ ) با چربی خام و همچنین درصد رطوبت لاشه لاروهای فیل ماهی وجود داشت. مطابق با تست همبستگی اسپیرمن، این ضرایب همبستگی برای این دو پارامتر به ترتیب معادل  $r=-0/60, P=0/01, N=12$  و  $r=-0/95, P=0/05, N=12$  تعیین گردید.

ضریب تبدیل غذایی که یکی از مهمترین شاخص‌های تغذیه‌ای بوده با بکارگیری باسیلوس‌های پروبیوتیکی مورد استفاده در این آزمایش بطور قابل توجهی کاهش یافت (جدول ۳) و نیز اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد به دست آمد ( $P < 0/05$ ) و کمترین آن برای تیمار آزمایشی فیل ماهی-۱ معادل  $2/77$  به دست آمد در صورتی که در گروه شاهد این معیار  $3/45$  تعیین گردید. در حالی که کارایی تبدیل غذا در تیمارهای آزمایشی بطور معنی‌دار نسبت به گروه شاهد افزایش نشان داد ( $P < 0/05$ ). همچنین غذای خورده شده روزانه در تیمارهای فیل ماهی-۱، فیل ماهی-۲ بطور معنی‌دار در مقایسه با تیمار شاهد کاهش یافت ( $P < 0/05$ ) و کمترین مقدار آن در تیمار فیل ماهی-۱ و معادل  $17/87$  درصد به دست آمد. شاخص گاسترو سوماتیک که از نسبت وزن دستگاه گوارش با محتویات آن به وزن بدن ماهی به دست می‌آید و نشان‌دهنده شدت تغذیه می‌باشد، در تیمار آزمایشی فیل ماهی-۲ در مقایسه با تیمار شاهد افزایش یافته و اختلاف معنی‌داری با آن به دست آمد ( $P < 0/05$ ).

معنی‌داری بر فاکتورهای رشد داشتند. وزن نهایی ماهیان در انتهای دوره آزمایش در تیمارهای آزمایشی نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌داری را نشان داد و بیشترین مقدار آن در تیمار فیل‌ماهی-۱ به دست آمد، در حالی که افزایش پروبیوتیک‌ها در سوسپانسیون ناپلی‌های غنی شده مورد تغذیه لاروهای ماهی در تیمارهای آزمایشی موجب افزایش سطوح چربی و انرژی لاشه لاروهای فیل‌ماهی نگردید، چنین نتایجی را گوش و همکاران (۲۰۰۳) در ارتباط با ماهیان انگشت قد روگو که از جیره‌های مکمل شده با غلظت‌های متفاوتی از باسیلوس سیرکولانس تغذیه کرده بودند، به دست آوردند. بطوری که باسیلوس سیرکولانس در جیره‌های آزمایشی با غلظت بیشتر از  $1/5 \times 10^4$  باکتری در هر ۱۰۰ گرم غذا موجب کاهش سطوح انرژی و چربی خام لاشه ماهیان روگو گردید. باسیلوس‌های پروبیوتیکی احتمالاً از طریق کاهش قابلیت هضم چربی موجب کاهش ذخیره چربی لاشه ماهیان گشته‌اند (گوش و همکاران، ۲۰۰۳). شاخص‌های تغذیه‌ای نظیر ارزش تولید پروتئین، ارزش تولید انرژی لاشه، نسبت کارایی پروتئین و نسبت کارایی چربی در لاروهای فیل‌ماهی افزایش چشمگیری را نشان دادند. در حالی که ارزش تولید چربی افزایش چندانی نشان نداد. افزایش ذخایر نیتروژن لاشه برحسب میلی‌گرم در روز، میزان بهره‌برداری از پروتئین خالص و بهره‌برداری ظاهری از نیتروژن، نشان‌دهنده تأثیر مثبت پروبیوتیک‌های به کار رفته در این تحقیق می‌باشند که احتمالاً ناشی از تأثیر فعالیت آنزیم پروتئاز خارج سلولی بر ترکیبات پروتئینی خورده شده توسط لاروهای فیل‌ماهی در تیمارهای تحت تأثیر پروبیوتیک‌ها می‌باشد. یانبو و زیرونگ (۲۰۰۶) گزارش کردند که نتایج به دست آمده از بکارگیری باسیلوس پروبیوتیکی لیوفلیزه<sup>۲</sup> (انجماد خشک) (*Bacillus sp*) و باکتری‌های فتوسنتز کننده<sup>۳</sup> و مخلوط آنها در تغذیه نوزاد ماهی کپور معمولی نشان داد که

بهره‌برداری ظاهری از نیتروژن نیز در تیمارهای آزمایشی افزایش یافته و در مقایسه با تیمار شاهد اختلاف معنی‌دار آماری نشان دادند ( $P < 0/05$ ). معیارهای کیفی آب به شرح زیر به دست آمد.

اکسیژن محلول:  $6/72 \pm 0/56$  میلی‌گرم بر لیتر،

دما:  $18/48 \pm 1/44$  درجه سانتی‌گراد،

شوری:  $0/63 \pm 0/48$  گرم در لیتر،

قابلیت هدایت الکتریکی:  $16336/75 \pm 380/51 \times 10^{-6}$

میکروموس بر سانتی‌متر و پی - اچ:  $7/82 \pm 0/38$

## بحث

باسیلوس‌های پروبیوتیکی بکار رفته در این آزمایش از طریق فعالیت‌های متابولیکی خود در دستگاه گوارش لاروهای فیل‌ماهی در تیمارهای آزمایشی موجب ارتقاء برخی از فاکتورهای تغذیه‌ای، ترکیبات مغذی و بازده رشد گردیدند. ماکریدیس و همکاران (۲۰۰۱) در بکارگیری سویه‌های پروبیوتیکی ویروئو 11-PB1 و PB6 در سیستم پرورشی ماهی هالیبوت<sup>۱</sup> از طریق غنی‌سازی متاناپلی آرتمیا فرانسیسکانا نتایجی را به دست آوردند که تقریباً با نتایج این مطالعه مطابقت داشت. پروبیوتیک‌های باسیلی با تأثیرگذاری خویش توانستند عملکرد تغذیه را در لاروهای فیل‌ماهی افزایش دهند. با افزایش غلظت باسیلوس‌ها در سوسپانسیون غنی‌سازی که بالطبع با افزایش تعداد باسیلوس‌های الحاقی به ناپلی آرتمیا همراه بود، سبب انتقال پروبیوتیک‌های بیشتری به لاروهای فیل‌ماهی شده و با ارتقاء سطوح فعالیت متابولیکی این باکتری‌ها در لاروهای فیل‌ماهی، تأثیرات آنها بر ارتقاء معیارهای تغذیه‌ای و برخی از ترکیبات شیمیایی مغذی بدن لاروهای ماهی کاملاً مشهود گردید. بطوری که سطوح پروتئین خام و ماده خشک در لاروهای ماهی در تیمارهای آزمایشی ارتقاء یافت. سواين و همکاران (۱۹۹۶) با مطالعه صورت گرفته روی کپور ماهیان هندی مشاهده نمودند که پروبیوتیک‌ها تأثیر

2- Lyophilized  
3- Photosynthetic bacteria

1- *Hippoglossus hipoglossus*

می‌شوند. بایراجی و همکاران (۲۰۰۴) در تحقیقات خود مشخص کردند که آرد برگ یونجه تخمیر شده توسط باسیلوس سوبتیلیس و باسیلوس سیرکولانس ایزوله شده از ماهیان کپور و تیلپیا در مدت ۸۰ روز تغذیه توسط ماهی روهو توانست باعث افزایش قابلیت هضم پروتئین و اتولیز پروتئین خالص گشته و همچنین ضریب تبدیل غذایی را نیز کاهش دهد که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت داشت. گوش و همکاران (۲۰۰۲) در تحقیقات خود بر روی باسیلوس‌های گرم مثبت نظیر باسیلوس سابتیلیس، باسیلوس سرئوس و باسیلوس پامیلوس<sup>۲</sup> ایزوله شده از روده ماهی روهو نشان دادند که این باکتری‌ها قابلیت بسیار خوبی در هضم ماده غذایی در روده ماهی داشته و میزان بهره‌برداری از غذا را افزایش می‌دهند. باسیوس‌های ایزوله شده از روده ماهی کپور مشخص کرد که این باسیلوس‌ها از طریق فعالیت‌های آمیلولیتیک<sup>۳</sup>، سلولولیتیک<sup>۴</sup>، پروتولیتیک<sup>۵</sup> و لیپولیتیک<sup>۶</sup> خارج سلولی و تخمیر مواد غذایی، کارایی مصرف (اتولیز) غذا را افزایش داده و با افزایش سطح پروتئین خام و چربی خام در لاشه ماهی روهو عملکرد آن را در ارتباط با معیارهای تغذیه‌ای ارتقاء دادند (بایراجی و همکاران، ۲۰۰۲). نتایج مشابهی را کارنیوالی و همکاران (۲۰۰۴) در بکارگیری باکتری لاکتو باسیلوس فروکتیورانس و لاکتو باسیلوس پلانتراروم از طریق غنی‌سازی با ناپلی آرتمیا فرانسیسکانا در رشد و نمو شانک ماهی در پرورش لاروی آنها به‌دست آوردند. در تحقیق حاضر پروبیوتیک‌های بکار رفته باعث شدند که توانایی لاروهای فیل‌ماهی در بهره‌برداری از غذای خورده شده، بخوبی افزایش یابد، بطوری‌که کاهش ضریب تبدیل غذایی، ارتقاء کارایی تغذیه، ارزش تولید پروتئین، ارزش تولید انرژی لاشه و نیز نسبت کارایی پروتئین و نسبت کارایی چربی در لاروهای فیل‌ماهی تغذیه کرده از آرتمای غنی شده با پروبیوتیک‌ها در مقایسه با گروه

فعالیت آنزیم‌های گوارشی آمیلاز، لیپاز و پروتئاز در تیمارهای آزمایشی نسبت به گروه شاهد در حد معنی‌دار افزایش پیدا نموده و موجب کاهش ضریب تبدیل غذایی و افزایش وزن نهایی این ماهی گردید. باسیلوس سیرکولانس ایزوله شده از روده ماهی روهو توانست باعث افزایش رشد و بقاء نوزاد ماهی روهو گردد (گوش و همکاران، ۲۰۰۴). گاتسوپ (۱۹۸۹) در طی بکارگیری اسپور باسیلوس توئی<sup>۱</sup> در غنی‌سازی با رتیفر تعیین کرد که این باسیلوس پروبیوتیکی تأثیر مثبتی بر رشد و بقاء لارو ماهیان توربوت (*Scophthalmus maximus*) داشت. در تحقیق حاضر در لاروهای فیل‌ماهی تغذیه شده از ناپلی‌های آرتمای حاوی باکتری‌های پروبیوتیکی، ضریب تبدیل غذا به میزان قابل توجهی کاهش یافت که نظیر همین نتایج را گوش و همکاران (۲۰۰۳) در پرورش ماهی روهو به‌دست آوردند، بطوری‌که با سیلوس سیر کولانس ایزوله شده از روده ماهی روهو در غلظت‌های مختلف باعث کاهش FCR در این ماهی گشت. همچنین غذای خورده شده روزانه که نظیر ضریب تبدیل غذایی بوده ولی با در نظر گرفتن زمان تغذیه می‌باشد نیز در تیمارهای تحت تأثیر پروبیوتیک‌های باسیلی کاهش یافتند، بطوری‌که بهترین نتیجه در تیمار فیل‌ماهی ۱- به‌دست آمد. نتایج این بررسی نشان داد که غلظت‌های مختلف مخلوط پروبیوتیک‌های باسیلی منجر به اثرات متفاوتی بر معیارهای تغذیه‌ای در لاروهای فیل‌ماهی در تیمارهای مختلف گشته و نتایج مشابهی را یانبو و زیروننگ (۲۰۰۶) در استفاده از پروبیوتیک‌ها در کپور معمولی به‌دست آوردند. مطالعات صورت گرفته مبین این موضوع است که این میکروارگانیزم‌ها در روده آبزی مورد مطالعه، از طریق ترشح ترکیبات متابولیکی خارج سلولی نظیر آنزیم‌های گوارشی، باعث هضم و جذب بهتر غذا در روده ماهی می‌گردند. در نتیجه باعث افزایش نسبت کارایی چربی، ذخیره نیتروژن لاشه، نسبت کارایی پروتئین و کارایی بهره‌برداری از انرژی غذا توسط ماهی

2- *B. pumilus*  
3- Amylolytic  
4- Cellulolytic  
5- Protolytic  
6- Lipolytic

1- *Bacillus toyoi*

### تقدیر و تشکر

از ریاست محترم و کلیه کارشناسان و کارکنان زحمتکش کارگاه تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید مرجانی که در انجام این تحقیق ما را یاری نمودند کمال تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

شاهد کاملاً نمایان گردید. در حالی که باسیلوس‌های پروبیوتیکی بکار گرفته شده موجب کاهش سطوح انرژی خام لاشه گردیدند. این مطالعه مشخص نمود که پروبیوتیک‌های باسیلی قابلیت تأثیرگذاری بالایی بر ارتقاء عملکرد تغذیه و افزایش برخی از سطوح ترکیبات مغذی در لارو فیل ماهی در دوره پرورش لاروی دارند.

### منابع

1. Anonymouse, Protexin aquatech. Probiotic international limited. Stoke. Sub Hamodon. Somesset TA 146 QE United Kingdom Email. Info@protexin.com.
2. AOAC. 1990. In: W.Horwitz (Ed). Official Methods of Analysis of Association of Official Analytical Chemists (AOAC). Vol. 1, 15th ed. Assoc. Official Analytical Chemists, Washington.
3. Bairagi, A., Ghosh, K.S., Sen, S.K., and Ray, A.K., 2002. Duckweed (*Lemna polyrrhiza*) leaf meal as a source of feedstuff in formulated diets for rohu (*Labeo rohita* Ham.) fingerlings after fermentation with a fish intestinal bacterium. Bioresource Technology. 85:17-24.
4. Bairagi, A., Ghosh, K.S., Sen, S.K., and Ray, A.K., 2004. Sevaluation 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.
5. Campbell, R., Adams, A., Tatner, M., Chair, M.F., and Sorgeloos, P., 1993. Uptake of *Vibrio anguillarum* vaccine by *Artemia salina* as a potential oral delivery system to fish fry. Fish Shellfish Immunol. 3: 451-459.
6. 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 wellens during development. Aquaculture International. 12:377-386.
7. Desai, V.R., 1970. Studies on the fishery and biology of Tortor (Hmilton) from river Narmada. J. Inland Fish. Soc. India. 2:101-112.
8. De Silva, S.S., and Anderson, T.A., 1995. In: Fish Nutrition in Aquaculture. Chapman and Hall, London. 319 pp.
9. Dixon, B.A., Van Poucke, S.O., Chair, M., Dehasque, M., Nelis, P., Sorgeloos, H.J., and De Leenheer, A.P., 1995. Bioencapsulation of the antibacterial drug sarafloxacin in nauplii of the brine shrimp *Artemia franciscana*. J. Aquat. Anim. Health 7: 42-45.
10. Fuller, R., 1989. Probiotics in man and animals. J. Appl. Bacteriol. 66: 365-378.
11. Gatesoupe, F.J., 1989. Further advances in the nutritional and antibacterial treatments of rotifers as food for turbot larvae, *Scophthalmus maximus* L. P.721-730. In: Aquaculture-a biotechnology in progress. vol. 2. De pauw N., Gaspers, E. Ackefors, H. and Wilkins, N. (Eds). Europe. Aquacult. Soc., Bredene, Belgium. 1222p.
12. Gatesoupe, F.J. 1991. Bacillus sp. Spores: A new tool against early bacterial infection in turbot larvae, *Scophthalmus maximus* In: larvens, p., Jaspers, E., Roelands, I. (Eds), Larvi-fish and crustacean larviculture symposium. European Aquaculture Society, Gent, pp. 409-411, Special publication no. 24.
13. Gatesoupe, F.J., 1994. Lactic acid bacteria increase the resistance of turbot Larvae, *Scophthalmus maximus*. Against pathogenic vibrio. Aquat. Living Resour. 7: 277- 286.
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 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.

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. Helland, S.J., Grisdale Helland, B., and Nerland, S., 1996. A simple method for the measurement of daily feed intake of groups of fish in tanks. *Aquaculture*. 139: 157–163.
20. Lara-Flores, M., Olvera-Novoa, Miguel, A., Guzman-Mendez, Beatriz, E., and Lopez-Madrid, W., 2003. Use of the bacteria *Streptococcus faecium* and *Lactobacillus acidophilus*, and the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as growth promoters in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*. 216 :193-201.
21. 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.
22. Nogami, K., and Maeda, M., 1992. Bacteria as biocontrol agents for rearing larvae of the crab protunus tritubercu latus Canadian journal of Fisheries and aquatic sciences. 49:2373- 2376.
23. Olsen, Y., 1997. Larval rearing technology of marine species in Norway. *Hydrobiologia* 358:27–36.
24. Parker, R.B., 1974. Probiotics The other half of the antibiotics story. *Anim. Nutr. Health* 29, 4 - 8.
25. Rengpipat, S., Phianphak, W., Piyatiratitvorakul, S., Menasveta, P., 1998. Effects of probiotic bacterium on black tiger shrimp *Penaeus monodon* survival and growth. *Aquaculture*. 167:301-313.
26. Ringo, E., and Birkbeck, T.H., 1999. Intestinal microflora of fish and fry. *Aquaculture Research*. 30: 73-93.
27. 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.
28. Smith, D.M., Tabrett, S.J., Barclay, M.C., and Irvin, S.J., 2005. The efficacy of ingredients included in shrimp feeds to stimulate intake. *Aquaculture Nutrition*. 11:263-272.
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. Swain, S.K., Rangacharyulu, P.V., Sarkar, S., and Das, K.M., 1996. Effect of a probiotic supplementation on growth, nutrient utilization and carcass composition in mrigal fry. *Aquaculture*. 4:29-35.
31. Tannok, G.W., 1997. Modification of the normal microbiota by diet, stress, antimicrobial agents, and probiotics, In: Mackie, R. I., Withe, B.A., Isaacson, R.E. (Eds), *Gastrointestinal Microbiology*, Vol. 2, *Gastrointestinal Microbes and Host Interaction*. Chapman and Hall Microbiology Series, International Thomason Publishing, New York, pp. 434-465.
32. Watanabe, T., Kitajima, C., Fujita, S. 1983. Nutritional values of live organisms used in japan for mass propagation of fish: a review. *Aquaculture*. 34:15-143.
33. Yanbo, W., and Zirong, X., 2006. Effect of probiotic for commom carp (*Cyprinus carpio*) based on growth performance and digestive enzymes activities. *Animal feed science and technology*. 127:283-292.

---

---

## The influence of some of the probiotic bacillus on feeding efficiency and nutrient body composition of Beluga (*Huso huso*) larvae

H.Gafarian<sup>1</sup>, M. Soltani<sup>2</sup> and A.M. Abedian<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Assistant Prof., of Natural Resources, Gonbad high education center, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, <sup>2</sup>Professor Dept. of Veterinary, University of Tehran, <sup>3</sup>Assistant Prof., Dept. of Fisheries of University of Tarbiat modarres

---

---

### Abstract

In this research was studied the effects of probiotic bacillus on the feeding efficiency and carcass nutrient composition of *Huso huso* larvae using five blends of probiotic bacillus via bioencapsulation of *Artemia urmiana* nauplii in March 2006 for 10 days. This experiment was conducted in a completely random design in four treatments. The suspensions of blends of probiotic bacillus are used in three concentrations of ( $1 \times 10^8$ ,  $2 \times 10^8$  and  $3 \times 10^8$ ) bacteria per liter in suspension of broth. *Artemia* nauplii were bioencapsulated by blends of probiotic bacillus for 10 hours and fed by Beluga larvae in experimental treatments. The controled treatments were fed on unbioencapsulated *Artemia* nauplii. The larvae were fed 6 times a day, every 4 hours with bioencapsulated nauoplii. The results indicated that the probiotic bacillus had positivand significant effects on the protein efficiency ratio (PER), lipid efficiency ratio (LER), protein productive value (PPV) and carcass nitrogen deposition (CND) in experimental treatments in comparison with controled treatment( $p < 0.05$ ) and also the levels of carcass dry matter, crude protein and ash significantly increased ( $p < 0.05$ ). The significant positive correlation observed between the levels of carcass dry matter, ash, gastero somatic index (GSI) with CFU/liter of probiotic bacillus in suspension of broth. The experiment indicated that the probiotic bacillus efficiently affected the feeding efficiency and the levels of carcass nutrient compositions in *Huso huso* larvae.

**Keywords:** Probiotic; Bioencap sulation; *Artemia* nauplii; Crude protein; Crude lipid