بررسی تاثیر ناپلی آرتمیا پارتنوژنتیکای (*Artemia parthenogenetica*) غنی شده با باسیلوس های پروبیوتیکی بر ارتقاء فاکتورهای تغذیه و مقاومت لاروهای ماهی قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در برابر عوامل استرس زا

[1]هادی جمالی، [2]حجت الله جعفریان، [2]رحمان پاتیمار، [3]مهدی سلطانی

[1]دانشجوی کارشناسی ارشد گروه شیلات، دانشگاه گنبد کاووس، [2]دانشیار گروه شیلات، دانشگاه گنبد کاووس،

[3]استاد گروه بهداشت و بیماری های آبزیان، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران

مسئول مکاتبه: Saeed.jamali11@gmail.com

چکیده

در این مطالعه اثرات استفاده از باکتری‌های پروبیوتیکی بر روی فاکتورهای تغذیه‌ای و نرخ باز ماندگی لارو ماهی قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) با میانگین وزنی ۱۷۶ میلی گرم بررسی شد. لاروهای ماهی قزل آلای رنگین کمان در این مطالعه از ناپلی آرتمیا پارتنوژنتیکای غنی شده در سوسپانسیون پنج گونه از باسیلوس های پروبیوتیکی در مقادیر $10^8\times1$، $10^8\times2$ و $10^8\times3$ (واحد کلنی در هر لیتر) مورد تغذیه قرار گرفتند. دوره آزمایش ۳۰ روزه بود و از آرتمیای غنی نشده به عنوان تیمار شاهد در این آزمایش استفاده شد. لارو ماهی قزل آلای رنگین کمان با استفاده از آرتمیا به میزان ۳۰٪ توده زنده و چهار بار در روز تغذیه شدند. پارامترهای تغذیه تحت تأثیر غنی سازی با باسیلوس های پروبیوتیکی قرار گرفتند ($P<0/05$). لارو ماهیان قزل آلای رنگین کمان تغذیه شده با آرتمیای حاوی باسیلوس‌های پروبیوتیکی کارایی تبدیل غذای بالاتر و ضریب تبدیل غذایی بهتری در مقایسه با تیمار کنترل نشان دادند ($P<0/05$). بهترین عملکرد در فاکتورهای تغذیه در تیمار سوم با $10^8\times2$ (واحد کلنی در هر لیتر) از سوسپانسیون باکتریایی مشاهده گردید. لاروهای تغذیه شده با ناپلی آرتمیا حاوی باسیلوس های پروبیوتیکی، مقاومت بیشتری در برابر شرایط نامساعد محیطی در مقایسه با تیمار کنترل نشان دادند ($P<0/05$). نتایج این آزمایش نشان داد که استفاده از باسیلوس‌های پروبیوتیکی می تواند پارامتر تغذیه را در لارو ماهی قزل آلای رنگین کمان بهبود بخشد و همچنین باعث افزایش تحمل ماهی در برابر شرایط استرسی گردد.

واژگان کلیدی: باسیلوس، قزل آلا، غنی سازی، آرتمیا پارتنوژنتیکا، تغذیه

مقدمه

ماهی قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) با دارا بودن قابلیت سازگاری مناسب، در اکثر آب‌های شیرین که دارای دمای مناسب جهت رشد این گونه هستند، یافت می‌شود (نفیسی، ۱۳۸۵). براساس آمار منتشر شده توسط سازمان خوار و بار جهانی، ایران در پرورش آزاد ماهیان دارای رتبه پنجم جهان می‌باشد از این رو این گونه به عنوان یک گونه اقتصادی در ایران مطرح است (ناصری، ۱۳۸۷). عفونت‌های باکتریایی یکی از دلایل کاهش سطح تولید در مزارع پرورشی (Bagheri, 2008) این ماهی می‌باشد. موفقیت یا شکست در برنامه‌های آبزی پروری وابسته به شرایط پرورشی لاروهای ماهی است. به عبارت دیگر عفونت‌های ناشی از باکتری‌ها در شرایط پرورشی، ممکن است باعث افزایش مرگ و میر و کاهش تولید شود (Kapetanovic, 2005). از سویی دیگر برای توقف یا کاهش چنین اتفاقات نامطلوب در پرورش لارو ماهی، ممکن است از افزودنی های خاص به غذا استفاده شود، این امر سبب افزایش کارایی هضم یا جذب غذا می شود، در این میان، آنتی بیوتیک ها از جمله افزودنی‌های دارویی می باشند که از سال ۱۹۵۰ به غذاهای ماهی استفاده می گردد (Ahilan, 2004). با توجه به ایجاد مقاومت دارویی در میزبان که از محدودیت های آنتی بیوتیک‌ها محسوب می گردد، اهمیت باکتری-های زیست‌یار یا پروبیوتیکی کاملا آشکار گردید، به

طوری که باکتری‌های زیست یار در آبزی پروری برای کنترل بیماری‌ها و همچنین به عنوان مکمل هایی برای بهبود رشد لاروهای ماهی استفاده شد. در برخی موارد نیز به عنوان یک ترکیب ضد میکروبی (Irianto and Austin, 2002, 2003) برای لاروهای ماهی به کار گرفته شد.

ناپلی آرتمیا در مدیریت غذایی آبزیان، عموما به عنوان یک حامل برای انتقال ترکیبات مختلف شیمیایی مورد آزمایش برای لارو ماهیان مطرح بوده (Chair, 1991) و غنی سازی آرتمیا با باکتری ها در واقع فرآیندی است که در طی آن شرایطی مهیا می گردد تا این ارگانیزم نه تنها به عنوان یک غذای زنده بلکه به عنوان یک حامل برای تلقیح واکسن های خوراکی و باکتری ها به ماهیان در مراحل لاروی آنها استفاده گردد (Makridis, 2001). آرتمیا از جمله موجودات زنده ای است که در طی فرآیند غنی سازی، می تواند به عنوان حامل مواد مختلفی نظیر انواع ترکیبات مغذی (Watanabe, 1983)، عوامل ضد میکروبی (Dixon, 1995)، انواع واکسن ها (Campbell, 1993)، پروبیوتیک ها و ترکیبات تحریک کننده سیستم ایمنی به منظور افزایش مکانیسم دفاعی میزبان (Gatesoupe, 1994) مورد استفاده قرار گیرد. استفاده از آرتمیا به عنوان حامل مواد ضد باکتریایی در بسیاری از مطالعات صورت گرفته است (مانی، ۱۹۹۰؛ چیر، ۱۹۹۱؛ نلیز، ۱۹۹۱؛ ورپریت، ۱۹۹۲؛ گاپاسین، ۱۹۹۶). (Mohney, 1990; Chair, 1991; Nelis, 1991; Verpraet, 1992; Gapasin, 1996). تکنیک غنی سازی آرتمیا در مطالعات از دو ساعت (Gapasin, 1996) تا ۳۲ ساعت (Touraki, 1991; 1995) گزارش شده است. Gomez- Gil و همکاران (۲۰۰۱) گزارش کردند بهترین زمان برای غنی سازی آرتمیا ۱ الی ۸ ساعت می باشد و بیش از آن باعث دفع مواد توسط ناپلی آرتمیا می شود.

مطالعات مختلف در خصوص جلوگیری از کلونیزه شدن باکترهای بیماری‌زا توسط باکتری‌های زیست‌یار (Irianto and Austin, 2002, Nikoskelainen, 2003) و همچنین تحریک سیستم ایمنی ماهی قزل‌آلا با برخی باکتری‌های زیست‌یار انتخابی (Kim and Austin, 2006; Panigrahi, 2004) انجام شده است. تحقیقات صورت گرفته نشان داده است که این میکروارگانیزم ها باعث افزایش عملکرد هضمی آنزیم‌ها (Tovar-Ramirez, 2004)، افزایش پارامترهای رشد و بقاء در لارو ماهیان و میگو (Ghosh, 2003; Bairagi, 2004; Rengpipat, 1998) می گردد.

بکارگیری آزمایشات مقاومت در برابر استرس با قرار دادن لاروها در معرض انواع شرایط سخت فیزیکی، شیمیایی و یا زیستی و در یک دوره زمانی کوتاه صورت می‌گیرد (Tackert, 1989). در مطالعات تغذیه‌ای به منظور برآورد وضعیت فیزیولوژیکی لاروها، آزمایشات تنش می تواند اطلاعات مفیدی مبنی بر نیاز لاروها به ترکیبات ضروری در اختیار محققان قرار دهد (Dhert, 1992; 1994).

ناپلی آرتمیا قادر به تغذیه از باکتری ها بوده و تعداد باکتری های وارد شده به بدن در خلال فرآیند غنی سازی بستگی به غلظت سوسپانسیون باکتری و گونه های باکتری (Gomez- Gil, 1998) به کارگیری شده دارد. ناپلی آرتمیا در مدیریت غذایی آبزیان، عموما به عنوان یک حامل برای انتقال ترکیبات مختلف شیمیایی مورد آزمایش برای لارو ماهیان (Chair, 1991) مطرح بوده و غنی سازی آرتمیا با باکتری ها در واقع فرآیندی است که در طی آن شرایطی مهیا می گردد تا این ارگانیزم نه تنها به عنوان یک غذای زنده بلکه به عنوان یک حامل برای تلقیح واکسن‌های خوراکی و باکتری‌ها به ماهیان در مراحل لاروی آنها استفاده گردد (Makridis,2001). این تحقیق با هدف مطالعه پتانسیل‌های پروبیوتیکی روی پارامترهای تغذیه ای ماهی قزل آلای رنگین کمان و همچنین ارزیابی مقاومت لاروهای ماهی در برابر شرایط استرس زا طراحی و اجراء گردید.

مواد و روش کار

سیست‌های آرتمیا پارتنوژنتیکا[1]ی استحصال شده از دریاچه مهارلو، از مراکز تجاری در کشور (موسسه تحقیقات آبزیان استان فارس)، تهیه و مورد استفاده قرار گرفت. مطابق با روش Sorgeloos و همکاران (۱۹۷۷) با استفاده از فرآیند کپسول زدایی، لایه کوریون سیست ها جدا گردید. مطابق با روش Gomez- Gil و همکاران (۱۹۹۸) تولید ناپلی در مرحله اینستار-۱ انجام شد. در این فرآیند سیست های بدون پوسته به زوک شیشه ای یک لیتری با تراکم ۵ گرم در لیتر حاوی آب شور فیلتر شده و با شوری ۳۰ گرم در لیتر، منتقل گردیدند. این سوسپانسیون در دمای ۰/۵°c ± ۳۰ سانتیگراد تحت شرایط نوری مناسب معادل ۲۰۰۰ لوکس و هوادهی مداوم و شدید، انکوباسیون گردیده و بعد از ۲۴ ساعت سیست‌های موردنظر تفریخ و مورد استفاده قرار گرفتند.

باسیلوس های پروبیوتیکی

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

ترکیب گونه‌ای باسیلوس های به‌کار رفته در این تحقیق شامل: باسیلوس سابتیلیس (*Bacillus subtilis*) ۱۰/۷۸ درصد، باسیلوس سیرکولانس (*Bacillus circulans*) ۲۵/۰۶ درصد، باسیلوس پلی میکسا (*Polymyxa Bacillus*) ۸/۲۷ درصد، باسیلوس لتروسپروس[2] ۱۷/۵۴ درصد و باسیلوس لیچنی فورمیس (*Bacillus licheniformis*) ۳۸/۳۵ درصد در سوسپانسیون باکتریایی بود که در سه غلظت $10^8 \times 1$، $10^8 \times 2$ و $10^8 \times 3$ (CFU/liter) تهیه گردیدند.

مطابق با دستورالعمل شرکت پروتکسین، سوسپانسیون مخلوط اسپور باسیلوس‌های پروبیوتیکی در حجم های ۱۰، ۲۰ و ۳۰ میکرولیتر به طور جداگانه به ظروف شیشه ای حاوی به ترتیب ۲۰، ۴۰ و ۶۰ میلی لیتر آب مقطر استریل اضافه شد. پس از افزودن مقدار ۲۶، ۵۲ و ۷۸ میلی گرم از محیط کشت اختصاصی آنها به این سوسپانسیون ها، بلافاصله بشدت بهم زده شده و در دمای ۳۷ °C بمدت ۸ ساعت انکوباسیون گردیدند. در پایان زمان انکوباسیون باسیلوس ها به باکتری های رویشی تبدیل شده و سوسپانسیون مخلوط های باکتریایی به ترتیب با غلظت $10^8 \times 1$، $10^8 \times 2$ و $10^8 \times 3$ (CFU/liter) تشکیل گردید (Jafaryan, 2005). سوسپانسیون های باکتریایی تهیه شده بطور جداگانه هر یک به یک لیتر آب شور استریل (۳۰ ppt) اضافه گردیدند.

غنی سازی ناپلی آرتمیا و تغذیه لاروهای ماهی

ناپلی های آرتمیا پارتنوژنتیکا بلافاصله پس ازتخم گشایی در مرحله اینستار۱ به ظرف‌های شیشه‌ای مخروطی منتقل گردیدند، تراکم ناپلی آرتمیا در این ظرف‌های شیشه‌ای به میزان ۲۰۰ ناپلی به ازاء هر میلی لیتر (۲ گرم در لیتر) بود. غلظت باکتری در سوسپانسیون باکتریای غنی سازی برای مخلوط های باکتریایی به ترتیب در ۳ سطح $10^8 \times 1$ ، $10^8 \times 2$ و $10^8 \times 3$ (CFU/liter) قرار داشت. غنی سازی ناپلی آرتمیا تحت شرایط هوا دهی، نور مناسب (۲۰۰۰ لوکس) و نیز دمای ۱ °C ±۳۰ انجام گرفت (Gomez- Gil, 1998). طول مدت غنی سازی ۱۰ ساعت (Jafaryan, 2006) و میزان غنی سازی ناپلی آرتمیا بر مبنای ۳۰ درصد وزن بدن لاروها در مدت ۲۴ ساعت (Jafaryan, 2007) در هر روز انجام گردید.

1-*Artemia parthenogenetica*
2-*Bacillus laterosporus*

تعداد ۱۲ حوضچه فایبرگلاسی با حجم آبگیری ۱۰ لیتر آب انتخاب و در هر یک تعداد ۴۰ قطعه لارو تازه به تغذیه افتاده ماهی قزل آلای رنگین کمان به وزن متوسط ۱۷۶ میلی گرم و با تراکم ۴ قطعه ماهی در هر لیتر آب قرار گرفت. لاروهای ماهی قزل آلای رنگین کمان از کارگاه تکثیر و پرورش ماهیان سردابی ضمیری (زرین گل) تهیه و به مدت یک هفته در حوضچه‌های ۱۰ لیتری با محیط جدید سازگار گردیدند. لاروها به مدت ۳۰ روز در ۴ تیمار غذایی شاهد، قزل آلای ۱، قزل آلای ۲ و قزل آلای ۳، هر یک با ۳ تکرار تغذیه گردیدند. تغذیه لاروهای ماهی قزل آلا در تیمار شاهد از ناپلی های آرتمیای بدون غنی سازی با پروبیوتیکها انجام شد. در تیمارهای آزمایشی تحت تاثیر باسیلوس های پروبیوتیکی(قزل آلای ۱، قزل آلای ۲ و قزل آلای ۳) ناپلی های آرتمیا به ترتیب در سوسپانسیون های باکتریایی ۱×۱۰^{۸} ، ۲×۱۰^{۸} و ۳×۱۰^{۸} (CFU/liter) به مدت ۱۰ ساعت غنی سازی شده و سپس مورد تغذیه لاروهای ماهی قرار گرفتند. تغذیه لاروهای ماهی در تیمارهای شاهد و تیمارهای آزمایشی براساس ۳۰ درصد وزن توده زنده آنها محاسبه و روزانه در ۴ نوبت (۷ صبح، ۱۱ صبح، ۱۶ بعدازظهر و ۲۰ شب) به آنها داده شد. طول مدت روشنایی به تاریکی ۱۵ به ۹ در نظر گرفته شد. درجه حرارت و pH آب به ترتیب ۰/۶±۱۶/۸ درجه سانتی گراد و ۷/۹-۷/۱ و اکسیژن آب ۷/۵ میلی گرم در لیتر در مدت آزمایش نگه داشته شد.

پارامترهای تغذیه

در طول دوره آزمایش، به فاصله زمانی ۷ روز تعداد ۱۵ قطعه لارو به صورت تصادفی نمونه برداری شده و پس از بیهوش کردن آنها در محلول عصاره گل میخک با غلظت ۱۰۰ میلی گرم در لیتر، وزن و طول کل این لاروها با استفاده از ترازوی دیجیتالی و کولیس اندازه گیری شد. همچنین تمامی لاروهای ماهی قزل آلا در پایان آزمایش پس از بیهوشی در عصاره گل میخک، زیست سنجی گردیدند. بر پایه داده های بدست آمده در انتهای آزمایش برخی از پارامترهای رشد و تغذیه به شرح زیر محاسبه شدند: نرخ رشد ویژه، ضریب تبدیل غذایی، کارآیی تبدیل غذا (Hevroy,2005)،

نسبت کارایی تبدیل غذا (De Silva, Anderson, 1995)،

نسبت کارایی پروتئین (Helland,1996)، نسبت کارایی چربی (Hevroy,2005)،

نسبت کارایی انرژی و پروتئین و چربی (Helland,1996)،

پروتئین، چربی و انرژی به‌دست آمده (Hevroy,2005)،

بهره‌برداری از پروتئین خالص (De Silva, Anderson, 1995)،

ارزش تولید پروتئین و چربی (Helland,1996).

تست مقابله با استرس

بعد از اتمام دوره‌ی غذادهی برای بررسی اثرات پروبیتیک‌ها بر مقاومت لارو ماهیان در شرایط نامساعد محیطی، ۵ محیط استرس زا برای دادن شوک به لاروها آماده شدند که شامل شوک بازی (pH = ۱۲)، شوک اسیدی (pH = ۲)، شوک شوری (۷۰ppt)، شوک دما (۳۵) و شوک آمونیاک (۱mg/l) بودند (Jafaryan, 2009). محدوده و غلظت هر کدام از عوامل استرس زا برای مدت زمان مورد نظر (میانگین زمان مقاومت لاروها) مشخص شد. بدین صورت که قبل از شروع آزمایش، تعداد ۵ ماهی از هر تکرار برای تعیین غلظت مورد نیاز در این مدت زمان، برای تست های مختلف مورد آزمایش قرار گرفت. بعد از مشخص کردن این مقادیر، لاروهای موجود در هر تکرار به طور مجزا در تانک هایی که شامل محیط استرس زا (اسیدی، بازی، دما، شوری، آمونیاک) بود قرار گرفتند و میزان زمان زنده مانی لاروها در آن بعد از آخرین لارو موجود در تانک به عنوان میزان مقاومت لاروها در آن مشخص شد.

میزان زنده مانی لاروها در این مطالعه بر حسب ثانیه تعیین شد.

تجزیه شیمیایی لاشه لارو قزل آلای رنگین کمان و ناپلی آرتمیا

تعیین ترکیب تقریبی لاشه، رطوبت و ماده خشک لاروها و ناپلی آرتمیا به طور وزنی و مطابق با استاندارد AOAC (۱۹۹۰) انجام پذیرفت (Azewedo,2004). ماده خشک بدست آمده سپس توسط دستگاه های مختلف مورد تجزیه قرار گرفت. پروتئین خام با استفاده از روش میکرو کجلدال، چربی خام مطابق با روش سوکسوله، انرژی خام با استفاده از دستگاه بمب کالریمتریک و همچنین خاکستر نیز از طریق سوزاندن در کوره C ° ۶۰۰ بمدت ۲ ساعت، تعیین شد (Sorensen, 2005).

تجزیه و تحلیل آماری:

تجزیه و تحلیل آماری داده های بدست آمده در ارتباط با فاکتورهای رشد، تغذیه و آنالیز لاشه با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه، در قالب طرح کاملا تصادفی و با استفاده از نرم افزار SPSS-16 و بر اساس آزمون دانکن در سطح ۰/۰۵ انجام پذیرفت.

نتایج

داده های مربوط به اثر مقادیر مختلف تیمارهای غذایی بر پارامترهای رشد و تغذیه ای لارو قزل آلای رنگین کمان در جدول ۱ آورده شده است. نتایج بدست آمده بیانگر معنی دار بودن تاثیر تغذیه لارو ماهی قزل آلای رنگین کمان با باسیلوس های پروبیوتیکی بر معیارهای رشد و تغذیه‌ای این ماهی می باشد ($P<۰/۰۵$). استفاده از باسیلوس های پروبیوتیکی موجب ایجاد اختلاف معنی داری در وزن و نرخ رشد ویژه شدند ($P<۰/۰۵$). بیشترین وزن (۱۳۶۷/۴۵میلی گرم) و نرخ رشد ویژه (۶/۳۵) لارو ماهی قزل آلا در تیمار آزمایشی دوم بدست آمد. ضریب تبدیل غذایی با بکارگیری باسیلوس‌های پروبیوتیکی مورد استفاده در این آزمایش، بطور قابل توجهی در تیمارهای آزمایشی کاهش یافته و اختلاف معناداری با تیمار شاهد بدست آمد ($P<۰/۰۵$) و کمترین آن معادل ۱/۲۸ برای تیمار آزمایشی دوم که لاروهای قزل آلای رنگین کمان در آن از آرتمیا پارتنوژنتیکا غنی شده با غلظت ۲×۱۰^{۸} CFU/ml تغذیه کرده بودند، بدست آمد، در حالی که در تیمارهای شاهد این مقدار ۱/۴۴ بدست آمد ($P<۰/۰۵$). کارآیی تبدیل غذا در تیمارهای آزمایشی نسبت به تیمارهای شاهد بطور معنی‌داری افزایش نشان داد ($P<۰/۰۵$). در تیمارهای آزمایشی تحت تاثیر پروبیوتیک‌ها، این کارآیی از ۷۱/۶۴ درصد در تیمار شاهد به ۸۰/۷۸ درصد در تیمار دوم آزمایشی رسید. باسیلوس های پروبیوتیکی در این مطالعه توانستند به طور معنی داری نسبت کارایی پروتئین و چربی را بهبود بخشند ($P<۰/۰۵$). بهترین عملکرد نسبت کارایی پروتئین و چربی در تیمار دوم به ترتیب معادل ۱/۸۰ و ۳/۹۴ و کمترین مقدار در تیمار شاهد ۱/۵۷ و ۳/۴۳ مشاهده شد.

مقاومت لاروهای ماهی قزل آلای رنگین کمان در برابر شرایط استرسی در جدول ۲ نشان داده شده است. استفاده از باسیلوس های پروبیوتیکی نقش موثری در افزایش مقاومت لاروها در برابر شرایط استرسی دارند. به طوری که لاروهای تغذیه شده با آرتمیای غنی شده توانستند به طور معنی داری در برابر شرایط نسبت به گروه شاهد مقاومت کنند ($P<۰/۰۵$). نتایج بدست آمده نشان می دهد که پروبیوتیک مصرفی در این مطالعه سبب افزایش معنی‌داری در زنده مانی لاروها در محیط اسیدی استرس زا شده است ($P<۰/۰۵$). بیشترین زمان زنده مانی لاروها در تیمار دوم آزمایشی (۲۶۹ ثانیه) که لاروهای قزل آلای رنگین کمان در آن از ناپلی آرتمیای غنی شده با باسیلوس های پروبیوتیکی با غلظت ۲×۱۰^{۸} تغذیه کرده بودند مشاهده شد در حالی که کمترین زمان زنده مانی در تیمار شاهد

(۲۱۲ ثانیه) بدست آمد (P<۰/۰۵). مشاهدات مربوط به نتایج حاصل از زنده مانی و مقاومت لاروها در مقابله با استرس شوری نشان داد که باسیلوس‌های پروبیوتیکی مصرفی در این آزمایش سبب بهبود در زمان زنده مانی لاروها به طور معنی‌داری شده است (P<۰/۰۵). بیشترین زمان زنده مانی در تیمار دوم آزمایشی (۶۶۵ ثانیه) و کمترین زمان زنده مانی در تیمار شاهد (۵۱۷ ثانیه) مشاهده گردید.

بحث

پروبیوتیک ها با تولید ویتامین ها و تجزیه ترکیبات غیرقابل هضم، اشتها را تحریک می کنند و شرایط تغذیه ای بهتری را در ماهی ایجاد می‌نماید (Irianto and Austin, 2002). بسیاری از پروبیوتیک ها از جمله باسیلوس لیچنی فورمیس (*Bacillus licheniformis*) و باسیلوس سابتیلیس (*Bacillus subtilis*)، قادر به انجام فعالیت های پروتئولتیک و پپتیدولتیک بوده و با تولید آنزیم پروتئاز و پپتیداز ترکیبات ماکرومولکول ها را به پپتیدها و آمینواسیدها هیدرولیز می‌کنند (Fuller and Perdigon, 2003; Farzanfar, 2006). در ضمن این باکتری ها قادر به تولید بعضی ویتامین های متعلق به گروه B، همچون بیوتین و B_{12} بوده که خود می تواند فاکتور دیگری برای متابولیسم بهتر مواد غذایی در این تیمارها باشد (Irianto and Ali, 2000; Austin, 2002). در نتیجه در تیمار سوم ضریب تبدیل غذایی پایین تر (۱/۲۸) و کارایی تبدیل غذایی (۸۰/۷۸)، وزن نهایی (۱۳۶۷/۴۵میلی گرم) و نرخ رشد ویژه (۶/۳۵) بالاتری نسبت به دیگر تیمارها مشاهده گردید. نتایج مشابهی از بکارگیری باسیلوس های پروبیوتیکی در تغذیه از ناپلی غنی شده با پروبیوتیک های فوق الذکر در لاروهای تاس ماهی ایرانی بدست آمد، کارآیی تبدیل غذا از ۳۱/۹۹ به ۴۳/۹۶ درصد ارتقاء یافته و نسبت کارآیی پروتئین از ۵/۱۶ به ۷/۰۳ و نسبت کارآیی چربی نیز از ۱۳/۷۳ به سطحی معادل ۱۸/۸۴ افزایش یافت (Jafaryan, 2006). این نتایج در مشابهت با نتایج بدست آمده از تحقیق حاضر بود. باسیلوس های پروبیوتیکی احتمالا از طریق افزایش قابلیت هضم پروتئین و چربی موجب افزایش ذخیره پروتئین و چربی لاشه ماهیان گردیده وکارآیی آنها را بالا می‌برند (Bairagi, 2004). در این تحقیق شاخص های تغذیه ای نظیر نسبت کارآیی پروتئین و نسبت کارآیی چربی در لاروهای ماهی قزل آلای رنگین کمان افزایش چشمگیری را نشان داد. نتایج بدست آمده در این تحقیق با نتایج Bairagi و همکاران (۲۰۰۴)، Ghosh و همکاران (۲۰۰۳؛ ۲۰۰۴) که بر روی لارو روهو انجام شده بود مشابهت داشت. همچنین نتایج تحقیقات بر روی روتیفر غنی سازی شده با اسپور باسیلوس تویوئی (*Bacillus toyoi*) نشان داد که این باسیلوس پروبیوتیکی تاثیر بسیار مثبتی بر روی فاکتورهای تغذیه ای، رشد و بقاء لارو ماهیان توربوت (*Scophthalmus maximus L.*) دارد (Gatesoupe, 1991).

در یک تحقیق جعفریان و همکاران (۱۳۸۸) نشان دادند که آرد دافنی غنی شده با باسیلوس‌های پروبیوتیکی در لاروهای ماهی قزل آلا تاثیر بسیار بالایی بر کارآیی تغذیه و رشد این ماهی داشته است به طوری که نسبت کارایی پروتئین از ۱/۶۳ در تیمار شاهد به ۱/۹۶ در تیمارهای آزمایش، نسبت کارایی چربی از ۲/۷۴ در تیمار شاهد به ۳/۳۰ در تیمارهای آزمایش ارتقا یافت. Zirong و Yanbo (۲۰۰۶) گزارش کردند که نتایج بدست آمده از بکارگیری باسیلوس پروبیوتیکی لیوفلیزه (انجماد خشک) (*Bacillus sp*) و باکتری های فتوسنتز کننده (Photosynthetic bacteria) و مخلوط آنها در تغذیه نوزاد ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) نشان داد که فعالیت آنزیم های گوارشی آمیلاز، لیپاز و پروتئاز در تیمارهای آزمایشی نسبت به گروه شاهد در حد معنی دار افزایش پیدا نموده و ضریب تبدیل غذایی از ۲/۴۶ به ۲/۱۱ کاهش یافت. Bagheri و همکاران در سال

۲۰۰۸، حداقل ضریب تبدیل غذایی ۰/۹ را در لاروهای قزل آلای رنگین کمان تغذیه شده با جیره-های مکمل شده با باسیلوس سابتیلیس و لیچنی فورمیس در سطح $۳/۸\times۱۰^{۹}$ باکتری در هر گرم غذا بدست آوردند. Faramarzi و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند که باسیلوس های پروبیوتیکی می تواند باعث افزایش ارزش تولید پروتئین و چربی شوند به طوری که ارزش تولید پروتئین از ۱/۵ در تیمار شاهد به ۳/۸۸ در تیمارهای آزمایشی و ارزش تولید چربی از ۰/۱۳ در تیمار شاهد به ۰/۳۶ در تیمارهای آزمایشی ارتقا یابد. در حالی که در تحقیق حاضر ارزش تولید چربی در تیمارهای آزمایشی نسبت به تیمار شاهد کاهش نشان می دهد.

در پرورش لاروی آبزیان بالا بردن توان مقاومت لارو (Moriarty, 1998) از اهمیت زیادی برخوردار است. گزارشاتی وجود دارد که نشان می دهد که پروبیوتیک ها باعث افزایش مقاومت لارو آبزیان در برابر استرس های محیطی شده اند (Gatesoupe, 1991; Verschuere, 2000).

پروبیوتیک‌ها از طریق مکانیسم های اکولوژیکی میکروبی و با ترشح برخی از ترکیبات بازدارنده نظیر: آنتی بیوتیک‌ها، باکتری کش ها و پراکسید هیدروژن باعث می‌شوند رشد باکتری های مضر کمتر شده و بقاء لارو آبزی را بالا ببرند (Verschuere, 2000). باکتری‌کش ها گروه‌های ناهمگنی از مواد ضد میکروبی هستند که توسط پروبیوتیک ها تولید شده و با تحریک سیستم ایمنی مقاومت لاروها را افزایش می دهند (Irianto and Austin, 2002). با توجه به اینکه بچه ماهیان نورس قزل آلای رنگین کمان ممکن است در معرض انواع شرایط و استرس های سخت محیطی قرار گیرند، بنابراین بکارگیری تکنیک هایی که بتواند این نیاز مهم را تامین نماید از مهمترین موارد قابل توجه محسوب می‌شود (پورامینی، ۱۳۸۷). در این مطالعه استفاده از سطوح مختلف باسیلوس های پروبیوتیکی توان مقاومت لاروهای قزل آلای رنگین کمان را در برابر تنش بالا برد که اختلاف معنی داری با تیمار شاهد داشت ($P<۰/۰۵$). استفاده از دافنی غنی شده با محصول مخمری Amax در تغذیه لارو تاس ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) میزان مقاومت لاروها را در پاسخ به شرایط استرسی pH ارتقاء داده به طوری که در شرایط استرسی با pH بازی زمان زنده مانی لاروها از ۱۱۷ ثانیه در تیمار شاهد به ۱۷۸ ثانیه در تیمارهای آزمایشی (غنی سازی با ۱۵۰ میلی گرم در لیتر) و در شرایط استرسی با pH اسیدی زمان زنده مانی لاروها از ۲۲۷ ثانیه در تیمار شاهد به ۳۶۴ ثانیه در تیمارهای آزمایشی افزایش نشان داد (لشکربلوکی و همکاران، ۱۳۹۰). این نتایج در مشابهت با نتایج تحقیقی حاضر بود. در مطالعه ای دیگر استفاده از سطوح مختلف مخمر توان مقاومت بچه ماهیان نورس قزل آلای رنگین کمان را در برابر تنش با شوری ۱۰ و ۱۵ گرم بر لیتر بالا برد و بیانگر بازماندگی ۱۰۰ درصد بچه ماهیان نورس قزل آلای رنگین کمان تغذیه شده با تیمارهای پروبیوتیکی بود که با تیمارهای بدون مخمر اختلاف معنی دار داشتند (پورامینی، ۱۳۸۷). در مطالعه صورت گرفته توسط Jafaryan (۲۰۰۶) نیز باسیلوس های پروبیوتیکی توان مقاومت لاروهای تاس ماهی ایرانی را در برابر استرس شوری (شوری ۰/۵ درصد و ۱ درصد) افزایش دادند.

جدول ۱. پارامترهای رشد و تغذیه ای لارو ماهی قزل آلای تغذیه گردیده با ناپلی آرتمیا پارتنوژنتیکای غنی شده با باسیلوس های پروبیوتیکی

پارامتر / تیمار	شاهد	۱×۱۰^۸ (CFU/liter)	۲×۱۰^۸ (CFU/liter)	۳×۱۰^۸ (CFU/liter)
وزن نهایی (میلی گرم)	^{c}۱۲۱۲/۷±۲۰۷/۸۷	^{bc}۱۲۴۷/۱۱±۲۴۶/۸۹	^{a}۱۳۶۷/۴۵±۲۴۹/۹۶	^{b}۱۲۹۱/۹۳±۲۵۶/۸۵
نرخ رشد ویژه (درصد وزن بدن در روز)[۱]	^{c}۵/۹۸±۰/۵۷	^{bc}۶/۰۵±۰/۶۲	^{a}۶/۳۵±۰/۵۷	^{b}۶/۱۷±۰/۵۶
کارایی تبدیل غذا[۲]	^{c}۷۱/۶۴±۱۲/۲۸	^{bc}۷۳/۶۷±۱۴/۵۸	^{a}۸۰/۷۸±۱۴/۷۶	^{b}۷۶/۳۱±۱۵/۱۷
ضریب تبدیل غذا[۳]	^{a}۱/۴۴±۰/۳۳	^{ab}۱/۴۱±۰/۳۴	^{c}۱/۲۸±۰/۲۴	^{bc}۱/۳۵±۰/۲۴
نسبت کارایی پروتئین[۴]	^{c}۱/۵۷±۰/۳۱	^{bc}۱/۶۲±۰/۳۷	^{a}۱/۸۰±۰/۳۸	^{b}۱/۶۹±۰/۳۹
نسبت کارایی چربی[۵]	^{c}۳/۴۳±۰/۶۹	^{bc}۳/۵۴±۰/۸۲	^{a}۳/۹۴±۰/۸۳	^{b}۳/۶۹±۰/۸۵
نسبت کارایی انرژی[۶]	^{c}۱۳/۳۳±۲/۶۷	^{bc}۱۳/۷۸±۳/۱۸	^{a}۱۵/۳۳±۳/۲۲	^{b}۱۴/۳۵±۳/۳۰
پروتئین بدست آمده[۷]	^{c}۲/۵۲±۰/۵۱	^{c}۲/۶۶±۰/۶۱	^{a}۳/۰۱±۰/۶۳	^{b}۲/۸۴±۰/۶۵
چربی بدست آمده[۸]	^{a}۰/۴۸±۰/۰۹	^{a}۰/۴۸±۰/۱۱	^{a}۰/۴۹±۰/۱۰	^{b}۰/۴۴±۰/۱۰
انرژی بدست آمده[۹]	^{b}۱۵۸/۲۳±۳۱/۶۳	^{b}۱۶۰/۱۰±۳۶/۹۰	^{a}۱۷۴/۳۹±۳۶/۶۹	^{b}۱۶۲/۷۱±۳۷/۵۸
بهره برداری از پروتئین خالص[۱۰]	^{c}۳/۸۱±۰/۷۶	^{c}۴/۰۱±۰/۹۲	^{a}۴/۵۵±۰/۹۵	^{b}۴/۲۸±۰/۹۸
ارزش تولید پروتئین[۱۱]	^{d}۱/۸۶	^{c}۱/۸۹	^{b}۱/۹۳	^{a}۱/۹۴
ارزش تولید چربی[۱۲]	^{a}۰/۷۶	^{b}۰/۷۵	^{c}۰/۷۰	^{d}۰/۶۷
بقاء (درصد)	^{c}۷۰±۲	^{b}۷۹±۲/۵۲	^{a}۹۵±۱	^{a}۹۲/۶۷±۱/۵۳

حروف یکسان نشان دهنده عدم اختلاف معنی دار می باشد (P>۰/۰۵).

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

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

[۳]ضریب تبدیل غذایی= وزن بدست آمده(گرم) / غذای خورده شده(گرم)

[۴]نسبت کارایی پروتئین = وزن بدست آمده (گرم) / پروتئین خورده شده (گرم)

[۵]نسبت کارایی چربی = وزن بدست آمده (گرم) / چربی خورده شده (گرم)

[۶]نسبت کارایی انرژی = وزن بدست آمده (گرم) / انرژی خورده شده (کیلو کالری)

[۷]پروتئین بدست آمده = [(وزن نهایی ماهی (گرم) × پروتئین نهایی ماهی (درصد)) – (وزن اولیه ماهی (گرم) × پروتئین اولیه ماهی (درصد)) / دوره پرورش (روز)]

[۸]چربی بدست آمده = [(وزن نهایی ماهی (گرم) × چربی نهایی ماهی (درصد)) – (وزن اولیه ماهی (گرم) × چربی اولیه ماهی (درصد)) / دوره پرورش (روز)]

[۹]انرژی بدست آمده = [(وزن نهایی ماهی (گرم) × انرژی نهایی ماهی (گرم / ژول)) – (وزن اولیه ماهی (گرم) × انرژی اولیه ماهی (گرم / ژول)) / دوره پرورش (روز)]

[۱۰]بهره برداری از پروتئین خالص = پروتئین بدست آمده (گرم) / پروتئین خورده شده (گرم)

[۱۱]ارزش تولید پروتئین = پروتئین ابقاء شده (گرم) / پروتئین خورده شده (گرم)

[۱۲]ارزش تولید چربی = چربی ابقاء شده (گرم) / چربی خورده شده (گرم)

جدول ۲. ارزیابی زنده مانی لارو قزل آلای رنگین کمان تغذیه شده از آرتمیای غنی شده با باسیلوس های پروبیوتیکی در برابر شرایط استرس زا (بر حسب ثانیه)

تیمار / شرایط استرسی	شاهد	۱×۱۰^۸ (CFU/liter)	۲×۱۰^۸ (CFU/liter)	۳×۱۰^۸ (CFU/liter)
pH بازی	۱۸۴/۶۷±۱/۵۴^{d}	۱۹۴/۸۷±۲/۵۲^{c}	۲۴۶±۴/۵۸^{b}	۲۷۹±۴/۱۶^{a}
pH اسیدی	۲۱۲±۲/۶۵^{c}	۲۵۴/۶۷±۴/۵۱ ^{b}	۲۶۹/۳۳±۴/۴۷ ^{a}	۲۶۴/۳۳±۴/۰۴ ^{a}
شوری	۵۱۷/۶۷±۶۰/۷۹ ^{c}	۵۷۶/۳۳±۵۰ ^{b}	۶۶۵/۳۳±۲۴/۲۱ ^{a}	۶۵۷±۴۵/۵۳ ^{a}
آمونیاک	۱۴۳±۱۱/۵۳ ^{b}	۱۴۴/۳۳±۱۷/۰۹ ^{b}	۱۷۶±۱۴/۱۱ ^{ab}	۱۷۹/۶۷±۱۲/۱۱ ^{a}
دما	۴۶±۱/۱۵ ^{a}	۴۸/۷۵±۰/۳۵ ^{a}	۵۰/۵۰±۱/۵۳ ^{a}	۵۴/۲۵±۱/۳۳ ^{a}

حروف یکسان نشان دهنده عدم اختلاف معنی دار می باشد ($P<۰/۰۵$).

در بررسی تاثیر سه نوع پروبیوتیک شامل دو نوع باکتری (*Lactibacillus acidophilus* و *Streptococcus faecium*) و یک نوع مخمر (*Saccharomyces cerevisiae*) در جیره غذایی تیلاپیای نیل (*Oreochromis noloticus*) توسط لارا فلورس و همکاران در سال ۲۰۰۳ از دو نوع جیره یکی با ۴۰ درصد پروتئین و دیگری با ۲۷ درصد پروتئین به عنوان شوک تغییر جیره ای و همچنین ۲ سطح تراکم ۱۰ و ۲۰ قطعه ماهی در لیتر به عنوان شوک تراکم استفاده گردید . نتایج نشان داد که میزان رشد و مقاومت به استرس های محیطی در تیمارهای پروبیوتیکی در مقایسه با شاهد بیشتر است، بهترین نتیجه در سطح پروتئینی ۴۰ درصد به همراه مخمر بدست آمد. استفاده از دو سویه باکتری پروبیوتیکی در جیره غذایی بچه ماهی نورس شانک دریایی (*Sparus aurata*)، نیز تلفات تجمعی بچه ماهیان را به هنگام پاسخ به استرس pH، به طور معنی داری کاهش داد (Rollo, 2006). در مطالعه صورت گرفته توسط لشکربلوکی (۲۰۱۱) نیز سطوح مختلف عصاره مخمر ساکارومایسیس (*saccharomyces cerevisiae*) توان مقاومت لاروهای تاس ماهی ایرانی را در برابر استرس آمونیاک (۲/۵ میلی گرم بر لیتر) افزایش دادند. این نتایج مطابق با نتایج تحقیقی حاضر بود به طوری که باسیلوس های پروبیوتیکی توانستند میزان زنده مانی لاروهای قزل آلای رنگین کمان را در برابر تنش آمونیاک افزایش داده و از ۱۴۳ ثانیه در تیمار شاهد به ۱۷۹ ثانیه در تیمارهای آزمایشی ارتقاء دهند ($P<۰/۰۵$).

لارو بسیاری از جانوران آبزی (ماهیان و نرم تنان صدف دار) در مراحل اولیه زندگی، به محیط زیست طبیعی رهاسازی می شوند. این لاروها از لحاظ فلور میکروبی روده‌ای در معرض تغییرات و نوسانات زیادی قرار دارند. زیرا به هنگام شروع تغذیه، حتی لوله گوارش آنها بطور کامل توسعه نیافته است (Timmermans, 1987)، هرچند سیستم ایمنی نیز هنوز ناقص است (Vazquez-Juarez, 1993) بر این اساس تیمارهای پروبیوتیک، به ویژه در دوران اولیه زندگی ماهی بسیار مطلوبند. با توجه به نتایج حاصله و تاثیر بهینه این باسیلوس ها بر فاکتورهای

تغذیه و مقاومت در برابر عوامل استرس زای محیطی استفاده از باسیلوس های پروبیوتیکی از طریق غنی سازی آرتمیا برای تغذیه لارو قزل آلای رنگین کمان و در سطوح مورد مطالعه توصیه می گردد.

منابع

پورامینی، م. کمالی، ا. حاجی مرادلو ، ع. قربانی، ر. علیزاده، م. ۱۳۸۷. بررسی تغذیه با مخمر ساکارومایسس سروزیا (*saccharomyces cerevisiae*) به عنوان پروبیوتیک، بر مقاومت در برابر تنش با شوری و بافت شناسی دستگاه گوارش بچه ماهیان نورس قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*). مجله شیلات. سال دوم، شماره اول.

جعفریان، ح. طاعتی کلی، م. نظرپور، ع. ر. ۱۳۸۸. بررسی اثر باسیل های پروبیوتیکی بر رشد لارو ماهی قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) از طریق مکمل سازی با آرد دافنی ماگنا (*Daphnia magna*). مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی. جلد شانزدهم، شماره سوم.

ناصری، س. نظامی بلوچی، ش. خارا، ح. فرزانفر، ع. لشتو آقایی، غ. شکوری، م. ۱۳۸۷. بررسی عملکرد رشد لارو ماهی قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در استفاده از سطوح متفاوت پروبیوتیک و آهن مکمل شده در جیره غذایی. مجله شیلات، سال دوم، شماره سوم.

نفیسی بهابادی، م. ۱۳۸۵. راهنمای عملی تکثیر و پرورش ماهی قزل آلای رنگین کمان. انتشارات دانشگاه هرمزگان. ۲۸۲. ص.

Ahilan, B., Shine, G., Santhanam. R. 2004. Influence of probiotics on the growth and gut microflora load of juvenile Gold fish (*Carassius auratus*). *Asian.Fish. Sci*. 171: 271-278.

AOAC. 1990. In: W.Horwitz(ed) .Official Methods of Analysis of Association of Official Analtical Chemists (AOAC).Vol. 1, 15th ed. Assoc. Official Analytical Chemists, Washington.

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

Ali, A., 2000. Probiotics in fish farming-evaluation of a candidate bacteria mixture. Ph.D Thesis. Uppsala: Swedish University of Agriculture Science.

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

Bairagi , A. , Ghosh , KS., Sen , S.K. and A.K. Ray. 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.

Campbell, R., Dams, A., Tatner, M. F., Chair, M. and Sorgeloos, P. 1993.Uptake of *Vibrio anguillarum* vaccine by *Artemia salina* as a potencial oral delivery system to fish fry Fish shellfish Immonel. 3:451-459.

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.

De Silva, S.S., and Anderson, T.A. 1995. Ln: Fish Nutrition in Aquaculture. Chapman and Hall, London. 319 P.

Dhert, P.H., Lavens, P., and Sorgeloos, P. 1992. A simple test for quality evaluation of cultured fry of marine fish. Med. Fac.

bacterium, *Bacillus circulans*, in Formulated diets for *Rohu, Labeo rohita*, Fingerlings. *Aquaculture - Bamidgeh.* 55 (1): 13-21.

Ghosh, k., Sen, S.K., and A. k. Ray. 2004. Growth and survival of *rohu, Labeo rohita* (Hamilton, 1822) spawn feed diets formented with intestine bacterium, Bacillus circulans. *Acta Ichthyologica etpiscatoria*. 34(2):155-165.

Gomez-Gil, B., Cabanillas-Ramos, J., Paez-Brambila, S. and Roque, A. 2001. Standardization of the bioencapsulation of enrofloxacin and oxytetracycline in Artemia franciscana Kellogg, 1906. *Aquaculture* 196: 1–12.

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*). *Appl. Environ. Microbiol. 64* : 2318-2322.

Helland, S.J., GrisdaleHelland, B., and S. Nerland. 1996. A simple method for the measurement of daily feed intake of groups of fish in tanks. *Aquaculture*. 139 : 157–163.

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.

Irianto, A., Austin, B. 2002. Probiotic in *aquaculture, J. Fish. Dis*. 25: 1-10.

Irianto, A., Austin, B. 2003. A short communication: use of dead probiotic cells to control furunculosis in rainbow trout, *Onchorhynchus mykiss* (Walbaum). *J. Fish. Dis.* 26:59-62.

Jafaryan, H. 2006. The effects of bacillus bacteria as a probiotic on the growth factors, survival rate and digestive enzymes activity in the Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) larvae by enrichment of *Artemia urmiana* nauplii. Ph.D.Thesis of Fishery. Gorgan University of Agri. Sci. & Natural Resours.103 p.

Jafaryan, H., G. A. Takami, A. Kamali, H. Soltani and M. Habibirezaei. 2005. The bioencapsulation of Artemia urmiana with strains of probiotic endospor gram-positive Landbouw. Univ. Gent, 57/ 4b, pp. 2135-3142.

Dhert, P.H., Lavens, P., and Sorgeloos, P. 1994. Stress Evaluation: A tool for quality control of hatchery- produced shrimp and fish fry. *Aquaculture Europe*. 20: 6-10.

Dixon, B. A., poucke, S. O. V., Chair, M., Dehasque, M., Nelis, H., Sorgeloos, J. and De leenheer, A. P. 1995. Bioencapsulation of the antibacterial drug sarafloxacine in nauplii of the brine shrimp *Artemia franciscana* . J. Aquat. *Anim.Health*. 7: 42-45.

Faramarzi, M., Jafaryan, H., Patimar, R., Kordjazi, Z., Kiaalvandi, S., Iranshahi, F., Lashkarbolouki, M., Adineh, H., Roozbehfar, R., Malekzadeh, A., Isari, A. 2011. The potential of *daphnia magna* bioencapsulated with probiotic bacilli on growth and feeding parameters of Persian sturgeon (*Acipenser percicus*) larvae. *World journal of zoology* 6 (3): 268-273.

Farzanfar, A. 2006. Mini review paper: The use of probiotics in shrimp aquaculture. FEMS Immunology and Medical Microbiology. 48: 149-158.

Fuller, R., and Perdigon, G. 2003. Gut flora, immunity and health. Blackwell publishing. 276 p.

Gapasin, R.S.J., Nelis, H.J., Chair, M. and Sorgeloos, P. 1996. Drug assimilation in the tissue of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fry delivered orally through bioencapsulation. *J. Appl. Ichthyol. Z. Angew. Ichthyol*. 12: 39–42.

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.

Gatesoupe, F.J. 1994. Lactic acid bacteria increase the resistance of turbot Larvae, *Scophthalmus maximus*. Against pathogenic vibrio. Aquat. *Living Resour*. 7: 277- 286.

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

Ghosh, k., Sen , S.k., and A. k. Ray . 2003. Supplementation of an isolated fish gut

the antibacterial Romet-30 in nauplii of the brine shrimp Artemia and in the nematode *Panagrellus redioious*. *J. World Aquacult. Soc*. 21: 186–191.

Moriarty, D.J.W. 1998. Control of luminous vibrio species in penaeid aquaculture ponds. Aquaculture, 164: 351-358.

Nelis, H.J., Leger, F., Sorgeloos, P. and De Leenheer, A.P. 1991. Liquid chromatographic determination of efficacy of incorporation of trimethoprim and sulfamethoxazole in brine shrimp (*Artemia spp*.) used for prophylactic chemotherapy of fish. Antimicrob. Agents Chemother. 35: 2486–2489.

Nikoskelainen, S., Ouwehand, A. C., Bylund, G., Salminen, S., Lilius, E. M. 2003. Immune enhancement in rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) by potential probiotic bacteria (*Lactobacillus rhamnosus*). Fish Shelfish. Immunol. 15: 443-452.

Panigrahi, A., Kiron, V., Kobayashi, T., Puangkaew, J., Satoh, S. Sugita, H. 2004. Immune responses in rainbow trout, *Onchorhynchus mykiss*, induced by a potential probiotic, *Lactobacillus rhamnosus* JCM. 1136. Vet. Immunol. Immunopathol. VII. 102: 379- 388.

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.

Rollo, A., Sulpizio, R., Nardi, M., Silvi, S., Orpianesi, C., Caggiano, M., Cresci, A., and Carnevali, O. 2006. Live microbial feed supplement in aquaculture for improvement of stress tolerance. *Fish Physiology and Biochemistry*. 32: 167-177.

Sorensen, M., Storebakken, T., and Shearer, K.D. 2005. Digestibility, growth and nutrient retention in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed diets extruded at two different temperatures. *Aquaculture Nutrition.*11:251 256.

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 bacillus. *Scientific-Research Journal of Iran Marine Sciences*. 4: 11-21.

Jafaryan, H., G. A. Takami, A. Kamali, H. Soltani and M. Habibirezaei. 2007. The use of probiotic bacillus bioencapsulated with *Artemia urmiana* nauplii for the growth and survival in *Acipenser persicus* larva. *Journal of Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources (Iran).* 14: 87-97.

Jafaryan, H., Taati, M., Slamloo, Kh. 2009. The effects of *B. licheniformis* and *B. subtilis* for promoting resistance of *Trichogaster tericoterus* larvae in challenge with stress. Asian Pacific Aquaculture 2009 and Malaysian International Seafoods Exposition 2009 November 3-6. Kuala lumpur, Malaysia. 250 p.

Kapetanovic, D., Kurtovic, B., Teskeredzic, E. 2005. Difference in bacterial population in raibow trout (*Onchorhynchus mykiss*, Walbaum) fry after transfer from incubator to pools. FTB. 48:189-193.

Kim, D. H., Austin, B. 2006. Innate immune responses in rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss* , Walbaum) induced by probiotics. *Fish Shelfish. Immunol*. 21:513-524.

Lara-Flores, M., Olvera-Novoa, M.A., Guzman-Méndez, B.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.

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* (4): 340-345.

Makridis, P., Bergh, Q., Skjermoj, J., Vadstein, O. 2001. Addition of bacteria bioencapsulated in *Artemia metanauplii* to a rearing system for halibut larvae. *Aqua. Int.* 9: 225-235.

Mohney, L.L., Lightner, D.V., Williams, R.R. and Bauerlein, M. 1990. Bioencapsulation of therapeutic quantities of

Vazquez-Juarez, R., Andlid, T., Gustafsson, L., and Wadstrom, T. 1993. The expression of potential colonization factors of yeasts isolated from fish during different growth conditions. *Can. J. Microbiol*. 39: 1135-1141.

Verpraet, R., Chair, M., Leger, P., Nelis, H., Sorgeloos, P. and Leenheer, A.D. 1992. Live-food mediated dru delivery as a tool for disease treatment in larviculture. The enrichment of therapeutics in rotifers and Artemia nauplii. *Aquacult. Eng*. 11: 133–139.

Verschuere, L., Rombaut, G., Sorgeloos, P., and Verstraete, W. 2000. Probiotic bacteria as Biological Control Agents in Aquaculture. *Microbilogy and Molecular Biology Reviews Applied microbiology*. 64: 655-671.

Watanabe, T., Kitajima, C. and Fujita, S. 1983. Nutritional values of live organisms used in japan for mass propagation of fish: a review. *Aquaculture*. 34: 115-143.

Yanbo, W., Zirong, X. 2006. Effect of probiotic for commom carp (*Cyprinus carpio*) based on growth performance and digestive enzymes activities. *Anim. Feed. Sci. Technol*. 127: 283-292.

brine shrimp in aquaculture. Aquaculture. 12: 311.

Tackert, W., Abelin, P., and Sorgeloos, P. 1989. Stress resistance in postlarval penaeid shrimp reared under different feeding procedure, *J. World. Aquacult. Soc*., 20.74 A.

Timmermans, L.P.M. 1987. Early development and differentiation in fish. Sarsia. 72: 331–339.

Tovar-Ramirez, D., Zambonino, J., Cahu, C., Gatesoupe, F.J., Vazquez-Juarez, R., and Lésel, R. 2004. Effect of live yeast incorporation in compound diet on digestive enzyme activity in sea bass (Dicentrarchus labrax) larvae. *Aquaculture*. 204: 113-123.

Touraki, M., Rigas, P. and Kastritsis, C. 1995. Liposome mediated delivery of water soluble antibiotics to the larvae of aquatic animals. *Aquaculture*. 136: 1–10.

Touraki, M., Rigas, P., Pergantas, P., Abatzopoulos, T. and Kastritsis, C. 1991. Optimizing bioencapsulation of the antibiotics trimethoprim and sulfamethoxazole in Artemia nauplii. In: Lavens, P., Sorgeloos, P., Jaspers, E., Ollevier, F. (Eds.), Larvi'91, vol. 15, pp. 415–418.

Effect of enriched *Artemia parthenogenetica* nauplii with Probiotic (*Bacillus spp*) On Feeding Parameters and Stress Resistance in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) larvae

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

[1]Department of Fishery, Gonbad University of Agriculture Sciences and Naturar Resources, Gonbad, Iran, [2]Department of Aquatic Animal Health, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran-Iran
Email: saeed.jamali11@gmail.com

Abstract

This study was carried out to evaluate the effect of Probiotic (*Bacillus spp*) on feeding parameters and survival in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) larvae (176 mg) during 30 days. Rainbow Trout larvae were fed on *Artemia parthenogenetica* nauplii enriched at suspension of five probiotic bacillus at doses of 1×10^8, 2×10^8 and 3×10^8 (CFU/liter). The feeding level was 30 percent of total biomass per day. The daily ration was divided into four feeding portions. Feeding parameters were influenced by Probiotic bacilli-enriched artemia ($P<0.05$). Feeding on enriched artemia caused a higher feed conversion efficiency and a better feed conversion ratio than those received control artemia (no enrichment, $P<0.05$). The highest feeding operation was observed in the treatment with dose of 2×10^8 (CFU/L) in suspension of broth. Fish fed on Probiotic bacilli-enriched artemia showed a higher resistance to unwanted environmental factors ($P<0.05$). The current experiment indicated that the supplementation of *Artemia parthenogenetica* nauplii with probiotic bacillus can increase the feeding parameters and stress tolerance in *Oncorhynchus mykiss* larvae when facing with unfavorable environmental conditions.

Keyword: bacillus, Rainbow Trout, Enrichment, *Artemia parthenogenetica*, feeding