

تأثیر مخلوط باسیلوس های زیست یار و مخمر نانوائی از طریق غنی سازی با ناپلی آرتمیا اورمیانا (*Artemia urmiana*) و مکمل سازی با جیره های آزمایشی بر معیارهای رشد و تغذیه لارو ماهی سازان (*Cyprinus carpio carpio* L.)

^۱حجت الله جعفریان، ^۲احسین آدینه، ^۳سمیرا جعفریان
^۱- دانشگاه گنبد کاووس
^۲- دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
 Hojat.jafaryan@gmail.com : نویسنده مسئول
 تاریخ دریافت: ۹۲/۱۰/۲۵
 تاریخ پذیرش: ۹۳/۴/۵

چکیده

در این مطالعه تأثیر مخلوط باسیلوس سیرکولانس (*Bacillus circulans*)، باسیلوس لیشتنی فورمیس (*Bacillus licheniformis*) و مخمر ساکارومایسیس سرویزیا (*Saccharomyces cerevisiae*) با غلظت های 1×10^5 ، 2×10^5 و 3×10^5 سلول در هر میلی لیتر از سوسپانسیون غنی سازی ناپلی آرتمیا اورمیانا (*Artemia urmiana*) بر عملکرد رشد ماهی سازان بررسی گردید. این آزمایش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی و با ۳ تیمار آزمایشی و یک شاهد و هر یک در ۳ تکرار صورت پذیرفت. لارو ماهی سازان به مدت ۸۰ روز و در دو مرحله آزمایشی مورد مطالعه قرار گرفت. در مرحله اول آزمایش لاروهای ماهی سازان به مدت ۳۵ روز با ناپلی آرتمیا اورمیانای (*Artemia urmiana*) غنی شده با مخلوط باسیلوس های پروبیوتیکی و مخمر ساکارومایسیس سرویزیا تغذیه شدند. لاروهای ماهی در شاهد از ناپلی آرتمیا اورمیانای بدون غنی سازی تغذیه شدند. در مرحله دوم آزمایش بچه ماهیان از جیره های آزمایشی مکمل شده با سوسپانسیون باکتریایی و مخمر ذکر شده، در یک دوره ۴۵ روزه تغذیه گردیدند. نتایج بدست آمده در مرحله اول آزمایش نشان داد که پروبیوتیک ها بر معیارهای رشد لاروهای ماهی در مقایسه با شاهد تأثیر معنی داری داشتند ($P < 0.05$). در تیمارهای آزمایشی وزن نهایی، طول کل، نرخ رشد ویژه، کارایی تبدیل غذا و تبدیل رشد بطور معنی داری نسبت به شاهد افزایش یافت. همچنین در مرحله دوم آزمایش نتایج نشان داد که این معیارهای رشد و تغذیه در حد معنی داری در مقایسه با شاهد افزایش یافتند ($P < 0.05$). این مطالعه مشخص کرد که غلظت های مختلف باسیلوس های پروبیوتیکی و مخمر ساکارومایسیس سرویزیا در غنی سازی ناپلی آرتمیا اورمیانای و مکمل سازی جیره تأثیرات متفاوتی بر برخی از معیارهای رشد در لاروها و بچه ماهیان سازان داشت.

واژگان کلیدی: باسیلوس های پروبیوتیکی، سازان، مخمر، غنی سازی، مکمل سازی، معیارهای رشد

مقدمه

ماهیان به دریای خزر جهت تامین بخشی از ذخایر آنها، هر ساله توسط سازمان شیلات ایران صورت می گیرد. تغذیه این ماهیان در دوره لاروی با توجه به اندازه کوچک آنها از اهمیت زیادی برخوردار است. دوره لاروی یکی از مهمترین مراحل زیستی ماهی بوده که بهبود رشد در این مرحله از اهمیت خاصی برخوردار می باشد (ایمسلند و همکاران، ۲۰۰۷) و جمعیت باکتریایی روده لاروها می تواند نقش بسیار مهمی در سلامتی آنها در این دوره ایفاء

ماهی سازان^۱ یکی از ماهیان با ارزش استخوانی دریای خزر می باشد که تقریباً در تمامی بخش های دریای خزر پراکنش داشته و جهت تخمیزی در فصل بهار مهاجرت هایی را به رودخانه های مختلف دارد. در سالهای اخیر به دلیل آلودگی رودخانه ها و مشکلات زیست محیطی آنها این ماهیان کمتر وارد رودخانه ها شده و در نتیجه تخمیزی طبیعی آنها دچار اختلال گشته است. تکثیر مصنوعی مولدین و رها سازی بچه

^۱ ماهی سازان (Sazan) ماهی کپور دریای خزر می باشد که در زبان روسی به آن سازان گفته می شود و در فارسی هم با همین نام یا کپور دریایی ذکر می شود.

نماید. در این راستا بکارگیری محصولات ارگانیکی میکروبی از جمله باکتری های زیست یار از طرف محققین صاحب نظر توصیه شده است (کسارکودی-واتسون و همکاران، ۲۰۰۸). پروبیوتیک های کاربردی برای آبزیان پرورشی شامل باکتری اسید لاکتیک^۱، باکتری های باسیلوسی، ویبریوها و همچنین مخمرها (گاتسوپ، ۲۰۰۷) می باشند. برخی از مهمترین گونه های باسیلوس های پروبیوتیکی مورد استفاده در آبی پروری شامل: باسیلوس سابیتیلیس (*Bacillus subtilis*)، باسیلوس سرئوس (*Bacillus cereus*)، باسیلوس کواگولانس (*Bacillus coagulans*)، باسیلوس کلانیوسی (*Bacillus clausii*)، باسیلوس مگاتریوم (*Bacillus megaterium*) و باسیلوس لیسنی فورمیس می باشند (اوجیونی و همکاران، ۲۰۰۳). آزمایش های انجام شده نشان از تاثیر مثبت پروبیوتیک ها بر روی بهبود کارایی رشد، بهره برداری غذایی، هضم ذرات غذایی، مقاومت در برابر بیماری و تحریک پاسخ ایمنی می باشد (گاتسوپ، ۲۰۰۸). از بین محصولات پروبیوتیکی تجاری می توان از باسیلوس های پروبیوتیکی نام برد که شامل باکتری های گرم مثبت بوده که به صورت اسپور در بازار عرضه می گردند. همچنین از برخی از مخمرها نظیر مخمر ساکارومایسیس سرویزیا (*Saccharomyces cerevisiae*) به عنوان پروبیوتیک استفاده می گردند.

ناپلی آرتمیا (*Artemia sp*) منبع غذایی مناسبی برای لارو ماهیان آب شور و آب شیرین است (سورگولوس و همکاران، ۱۹۸۶) و نقش بارز آن در توسعه صنعت آبی پروری جهانی یک حقیقت انکار ناپذیر است. مطالعات صورت گرفته توسط آذری تاکامی در سال ۱۹۹۳ نشان داد که ناپلی آرتمیا اورمیانها، پتانسیل بسیار بالایی را در تغذیه لاروی ماهیان خاویاری و دیگر گونه های ماهی دارد. همچنین تحقیقات متعدد صورت گرفته در این خصوص نیز روشن ساخت این ژئوپلانکتون آب شور قابلیت غنی شدن با انواع اسیدهای چرب را دارا بوده و می تواند به عنوان یک حامل در انتقال این ترکیب شیمیایی مغذی به دستگاه گوارش لاروهای آبی عمل نماید (گرایلو و همکاران، ۱۳۹۰). همچنین حافظیه و همکاران (۲۰۱۰) در تحقیقات خویش بیان نمودند که ناپلی آرتمیا اورمیانها توانایی بالایی را در افزایش میزان پروتئین خام لاشه لارو تاس ماهی ایرانی داشت. این محققین دریافتند که میزان پروتئین خام

لاشه لارو تاس ماهی ایرانی در تغذیه از ناپلی آرتمیا اورمیانها در یک دوره ۲۰ روزه به سطحی معادل ۶۹/۹۳ درصد رسید. فرآیند غنی سازی ناپلی آرتمیا با باسیلوس های پروبیوتیکی نشان داد که این جانور در تغذیه از باکتری های موجود در سوسپانسیون باکتریایی قادر است با گذشت زمان مقادیر قابل توجهی از باکتری را به درون دستگاه گوارش خود وارد نموده و سپس در تغذیه میگوی سفید هندی (*Fenneropenaeus indicus*) تاثیرات بسیار مثبتی را بر رشد و بازماندگی آن داشته باشد (آذری تاکامی و همکاران، ۱۳۸۳). همچنین فاضلی و آذری تاکامی (۲۰۰۶) اثبات نمودند که ناپلی آرتمیا اورمیانها دارای توانایی خوبی در غنی شدن با مخمر ساکارومایسیس سرویزیا دارد.

درحقیقت، انتقال پروبیوتیک ها بطور مستقیم توسط آرتمیای هچ شده به درون دستگاه گوارش گونه های مختلف ماهیان پرورشی روشی متداول است (گاتسوپ ۲۰۰۲). همچنین پروبیوتیک ها به عنوان مکمل های غذایی و یا ماده افزودنی به آب مورد استفاده قرار می گیرند (موریانی، ۱۹۹۸). جعفریان و همکاران (۱۳۸۴) دریافتند که ناپلی آرتمیا اورمیانها در فرآیند غنی سازی با باسیلوس های پروبیوتیکی از توانایی بسیار خوبی برخوردار بوده و به عنوان یک حامل زنده در فرآیند غنی سازی قادر به انتقال باکتری های مفید به دستگاه گوارش لارو های ماهی می باشد. که بکارگیری باسیلوس های پروبیوتیکی موجب افزایش معیارهای رشد و درصد بقاء در لاروهای ماهی تاس ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) شده و آنزیم های گوارشی این ماهی بطور معنی داری در مقایسه با شاهد افزایش یافت.

باقری و همکاران (۲۰۰۸) در مکمل سازی جیره لارو ماهی قزل آلا رنگین کمان با پروبیوتیک های باسیلی نتایج بسیار مثبتی را در رشد و بقاء این ماهی بدست آوردند. مخمر ساکارومایسیس سرویزیا و پروبیوتیک های باسیلی در غنی سازی با ناپلی آرتمیا اورمیانها و دافنی ماگنا در تغذیه لاروهای سه گونه از ماهیان خاویاری دریای خزر تاثیر بسیار مثبتی را در افزایش بقاء و رشد این ماهیان داشتند (جعفریان و همکاران، ۱۳۸۶). پروبیوتیک ها دارای عملکرد مفیدی در جیره های غذایی دارند، براین اساس بجورنس دوتیر و همکاران (۲۰۱۰) پس از انتقال باکتری سودوآلترموناس الیاکووی (*Pseudoalteromonas elyakovii*)، ویبریو

^۱ - Lactic acid bacteria (LAB)

نوری مناسب (۲۰۰۰ لوکس) و هوادهی مداوم و شدید انکوباسیون گردیده (گومزگیل و همکاران، ۱۹۹۸) که بعد از ۲۴ ساعت سیستم های مورد نظر تفریخ شدند. ناپلی های تازه تخم گشایی (مرحله ۱ اینستار) با استفاده از رفتار نورگرایی مثبت از سیستم های تخم گشایی نشده جدا شده و با استفاده از توری پارچه ای با چشمه ۱۲۰ میکرون سیفون و سپس با آب تمیز شستشو داده شدند.

آماده سازی سوسپانسیون باکتریایی

سوسپانسیون اسپور باسیلوس سیرکولانس و باسیلوس لیشنی فورمیس همراه با محیط کشت اختصاصی آنها (پپتون، پلی ساکاریدها و مواد معدنی) از شرکت نیکوتک (پروتکسین آکواتک^۱) تهیه و مورد استفاده قرار گرفت. به منظور تهیه سوسپانسیون های باکتریایی مطابق با دستور العمل شرکت پروتکسین آکواتک، به ترتیب حجم هایی معادل ۱۰ میکرو لیتر، ۲۰ میکرو لیتر و ۳۰ میکرو لیتر از سوسپانسیون اسپور بطور جداگانه توسط سمپلر در تحت شرایط استریل برداشته و به ۳ ظرف شیشه ای کاملاً استریل منتقل گردید، سپس به ترتیب آب مقطر استریل به میزان ۲۰، ۴۰ و ۸۰ سی سی به آنها اضافه شد. در ادامه کار محیط کشت اختصاصی باکتری ها به مقدار ۲۶ میلی گرم، ۵۲ میلی گرم و ۷۸ میلی گرم به آنها اضافه شده و سپس سوسپانسیون اسپور بدست آمده، بشدت با هم مخلوط گشته و در بن ماری مدل گالن کامر به مدت ۸ ساعت در حرارت ۳۷ درجه ساتی گراد انکوباسیون گردیدند. پس از پایان زمان انکوباسیون، اسپورها در معرض محیط کشت خویش به باکتری زنده و فعال تبدیل شدند. جهت اطمینان از میزان غلظت های باکتریایی، از هر یک از سوسپانسیون باکتریایی، رقت های سریالی در دامنه 10^{-1} تا 10^{-8} تهیه و به پلیت های حاوی محیط کشت ترپتیک سوی آگار (TSA) منتقل و پس از کشت باکتریایی در دمای 37°C به مدت ۲۴ ساعت انکوباسیون گردیدند. در انتهای مدت انکوباسیون تعداد پرگنه های تشکیل شده و در هر پلیت شمارش و تعداد باکتری بر حسب کلنی (CFU) به ازای هر میلی لیتر تعیین و تأیید گردید (رنگپیپات و همکاران، ۱۹۹۸؛ گومزگیل و همکاران، ۱۹۹۸). سرانجام سه سوسپانسیون باسیلوسی به ترتیب با غلظت های 1×10^5 ، 2×10^5 و 3×10^5 باکتری در هر میلی لیتر تهیه شد.

اسپلندیدوس (*Vibrio splendidus*) و ویبریو (*Vibrio sp.*) از طریق ناپلی آرتمیا فرانسیسکانا (*Artemia fransiscana*) به دستگاه گوارش لارو ماهی هالیوت (*L. hippoglossus*) توانستند نرخ بقاء لارو های این ماهی را از ۴۷ درصد در گروه کنترل به ۶۷ درصد افزایش دهند. ارزش مخمر ساکارومایسیس سرویزیا به عنوان مکمل غذایی ماهی باس راه راه هیبرید شده (*Morone chrysops* × *M. saxatilis*) در سال (۲۰۰۳) توسط لی مورد آزمایش قرار گرفت که در این مطالعه سه سطح مختلف ۱، ۲ و ۴ درصد مخمر در جیره غذایی برای گروه آزمایش و جیره پایه برای گروه آزمایشی شاهد مورد استفاده قرار گرفت که در نتیجه افزایش کارایی غذایی و افزایش وزن به میزان ۲۰ درصد در تیمارهای آزمایشی نسبت به شاهد بطور آشکار مشاهده گردید. فرامرزی و همکاران (۲۰۱۱) در غنی سازی ناپلی آرتمیا اورمیان (*Artemia urmiana*) با باسیلوس های پروبیوتیکی و لشگر بلوکی و همکاران (۱۳۹۰) در غنی سازی دافنی ماگنا (*Daphnia magna*) با مخمر ساکارومایسیس سرویزیا مشخص کردند که تغذیه لاروهای تاس ماهی ایرانی از این دو زئوپلانکتون غنی شده تأثیر بسیار خوبی را بر معیارهای رشد و تغذیه آن داشت. مطالعه حاضر در راستای بکارگیری آرتمیای غنی شده با مخلوط باسیلوس سیرکولانس (*Bacillus circulans*)، باسیلوس لیشنی فورمیس (*Bacillus licheniformis*) و مخمر ساکارومایسیس سرویزیا با غلظت های 1×10^5 ، 2×10^5 و 3×10^5 در هر میلی لیتر سوسپانسیون غنی سازی، در شروع تغذیه لاروی و همچنین با استفاده از مکمل سازی در جیره های آزمایشی طراحی و در آزمایشگاه آبی پروری دانشگاه گنبد کاووس اجرا گردید.

مواد و روش ها

تخم گشایی و جداسازی ناپلی آرتمیا

در این تحقیق سیستم های آرتمیا اورمیاناز مرکز تحقیقات آرتمیا و جانوران آبی دانشگاه ارومیه تهیه گردید، سیستم ها مطابق با روش پیشنهادی سورگولوس و همکاران (۱۹۸۶) از طریق شیمیایی کپسول زدایی گردیدند. سپس سیستم های بدون پوسته به زوک شیشه ای یک لیتری ضد عفونی شده با تراکم ۵ گرم در لیتر به آب شور فیلتر و استریل شده با شوری ۳۰ گرم در لیتر، دمای (30 ± 0.5) سانتی گراد، تحت شرایط

^۱ - protexin Aquatech

میزان غنی سازی با توجه به نیاز تغذیه ای لاروهای ماهی به میزان ۳۰ درصد وزن توده زنده در هر روز صورت پذیرفت.

مکمل سازی جیره های آزمایشی

در مرحله دوم آزمایش، بچه ماهیان سازان پرورش یافته در مرحله اول آزمایش، با بکارگیری جیره های آزمایشی مکمل شده با مخلوط سوسپانسیون های باکتریایی و مخمری در سه غلظت جداگانه آغاز گردید. آنالیز تقریبی لاشه ناپلی آرتمیا اورمیان در مرحله اینستار ۱ و جیره کنسانتره تهیه شده برای تغذیه بچه ماهیان سازان در آزمایشگاه مرکز تحقیقات امور دما گرگان تعیین گردید (جدول ۱). در این آزمایش غذای پودری ماهی کپور با استفاده از ترازوی دیجیتالی توزین گردیده و به ۳ ظرف جداگانه منتقل گردید. از هر یک از سوسپانسیون های تهیه شده به ترتیب ۱، ۲ و ۳ میلی لیتر توسط سمپلر برداشته و پس از مخلوط نمودن با ۰/۳ میلی لیتر آب مقطر استریل، به ازای هر گرم از جیره اضافه شد. سرانجام ۳ جیره آزمایشی با غلظت باکتری گرم/CFU 1×10^5 ، گرم/CFU 2×10^5 و گرم/CFU 3×10^5 تهیه گردید. جیره های تهیه شده پس از یکنواخت سازی، در انکوباتور با دمای ۴۰ درجه سانتی گراد (گوش و همکاران، ۲۰۰۳) در مدت ۵ ساعت خشک شده و از الک های ریز چشمه مطابق با سایز دهان بچه ماهیان عبور داده شد. سرانجام جیره های آزمایشی دارای ۱۰ درصد رطوبت تهیه گردید. جیره بچه ماهیان سازان در تیمار شاهد بدون مکمل سازی با سوسپانسیون پروبیوتیکی ساخته شد.

مخمر پروبیوتیکی ساکارومایسیس سرویزیا (*Saccharomyces crevisiae*) تحت عنوان فرآورده تجاری تپاکس^۱ از شرکت دوکسال ایتالیا^۲ تهیه و با غلظت Cell / liter 1×10^{10} به صورت پودری مورد استفاده قرار گرفت. با بکار بردن مقادیر ۰/۰۱، ۰/۰۲ و ۰/۰۳ گرم از این محصول در هر لیتر از آب استریل، سرانجام سه سوسپانسیون مخمری 1×10^5 ، 2×10^5 و 3×10^5 Cell / ml تهیه شد (لشگر بلوکی و همکاران، ۱۳۹۰).

جهت تهیه مخلوط سوسپانسیون های باکتریایی و مخمری، با استفاده از سمپلر استریل به میزان ۰/۵ میلی لیتر به ترتیب از هر یک از غلظت های باکتری و مخمر را برداشته و با یکدیگر در ظروف این دروف مخلوط گردیده و بدین ترتیب سه سوسپانسیون مخلوط باسیلوس و مخمر با غلظت های 1×10^5 ، 2×10^5 و 3×10^5 سلول در هر میلی لیتر تهیه شد.

غنی سازی ناپلی آرتمیا

در مرحله اول آزمایش غنی سازی ناپلی آرتمیا اورمیان با استفاده از ناپلی های تازه تخم گشایی شده در مرحله اینستار ۱ با تراکم ۲۰۰ ناپلی در هر میلی لیتر و با استفاده از سه غلظت از سوسپانسیون مخلوط باسیلوس و مخمر ذکر شده، بطور جداگانه در ظروف شیشه ای قیفی شکل با حجم یک لیتر انجام گرفت. فرایند غنی سازی ناپلی آرتمیا تحت شرایط هوادهی شدید، نور مناسب (۲۰۰۰ لوکس) و نیز دمای $20 \pm 1^\circ\text{C}$ انجام یافت (گومزگیل و همکاران، ۱۹۹۸). مدت غنی سازی ناپلی آرتمیا ۱۰ ساعت (جعفریان و همکاران، ۱۳۸۴) و

جدول ۱. ترکیبات شیمیایی لاشه ناپلی آرتمیا اورمیان و جیره کنسانتره کپور مورد تغذیه لاروهای ماهی سازان

نوع غذای ماهی	پروتئین خام (درصد)	چربی خام (درصد)	انرژی خام (کالری/گرم)	ماده خشک (درصد)	رطوبت (درصد)	خاکستر (درصد)
آرتمیا اورمیان	۵۶/۸۳	۲۱/۲	۴۷۲۷/۴۹	۹/۰۹	۹۰/۹۱	۳/۷۵
جیره کنسانتره کپور (شرکت چینه)	۴۵	۶	۴۰۰۰	۹۰	۱۰	۱۲

طرح آزمایش

لارو ماهی سازان از کارگاه پرورش ماهیان گرمآبی سد وشمگیر تهیه و به آزمایشگاه آبی پروری دانشگاه گنبد کاووس منتقل گردیده و بمدت یک هفته در حوضچه ونیرو با محیط جدید سازگار شدند. لاروهای ماهی سازان با میانگین وزنی اولیه $10/3 \pm 1/2$ میلی گرم و با تراکم ۳۵ قطعه در هر حوضچه، به مدت ۸۰ روز در ۳ تیمار آزمایشی (BSA_1 ، BSA_2 و BSA_3) و شاهد هر یک با ۳ تکرار معرفی گردیدند.

تعداد ۱۲ حوضچه پلاستیکی با حجم آبگیری ۳ لیتر انتخاب شد. لاروهای مورد آزمایش در میانگین دمایی $26 \pm 0/5$ سانتیگراد، پی-اچ $7/8 \pm 0/3$ ، شوری $50 \pm 0/50$ میلی گرم در لیتر، دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و همچنین هوادهی ثابت و با میزان اکسیژن $7/5 \pm 0/5$ میلی گرم در لیتر نگهداری شدند. تغذیه ماهیان در مرحله اول آزمایش از ناپلی آرتمیا اورمیانای غنی شده با مخلوط سوسپانسیون باکتریایی و مخمر در هر یک از غلظت های ذکر

^۲ - Doxal-Italy Co.

^۱ - Thepax

ضریب رشد حرارتی (TGC)^۹ (دسیلوا و آندرسون، ۱۹۹۵) $\times 100 =$ [میانگین وزن اولیه ماهی^{۰/۳۳۳} (گرم) - میانگین وزن ثانویه ماهی^{۰/۳۳۳} (گرم)] / [مجموع میانگین درجه حرارت های روزانه $\times$ روزهای آزمایش]

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل آماری داده ها در هر یک از مراحل آزمایش، در قالب طرح کاملاً تصادفی و با استفاده از نرم افزار آماری SPSS-18 و با بکارگیری آزمون دانکن در سطح اطمینان ۰/۰۵ انجام گرفت.

نتایج

معیارهای رشد لارو ماهی سازان اندازه گیری شده در مرحله اول این آزمایش در جدول ۲ ارائه شده است. در این آزمایش پروبیوتیک و مخمر توانستند اختلاف معنی داری در ارتباط با معیارهای رشد لارو ماهی سازان در تیمارهای آزمایشی در مقایسه با شاهد از خود نشان دهند ($P < 0/05$). سوسپانسیون مخلوط مخمر نانویی و باسیلوس های پروبیوتیکی بطور معنی داری منجر به اختلاف در وزن بدست آمده و رشد ویژه نیز شدند ($P < 0/05$). بیشترین وزن (۲۴۲/۵۸ میلی گرم) لاروهای ماهی کپور دریایی "سازان" در انتهای مرحله اول آزمایش در تیمار BSA_۳ تغذیه شده از ناپلی آرتمیای غنی شده با پروبیوتیک ها در غلظت 3×10^5 مخلوط باکتری و مخمر در هر میلی لیتر بدست آمد. ضریب تبدیل غذایی به طور قابل توجهی کاهش یافت و کمترین مقدار آن (۲/۰۷) در تیمار آزمایشی BSA_۳ دیده شد که اختلاف معنی داری با شاهد داشت ($P < 0/05$). کارایی تبدیل غذا بطور معنی داری افزایش نشان داد ($P < 0/05$) و کمترین این معیار در لاروهای تیمار شاهد (۳۹/۰۸ درصد) و بیشترین آن (۵۳/۹۶ درصد) در تیمار آزمایشی BSA_۳ مشاهده گردید. پروبیوتیکها در تیمارهای آزمایشی نسبت کارایی رشد را در لاروهای ماهی سازان در مقایسه با شاهد بطور معنی داری ارتقاء دادند ($P < 0/05$). بهترین نتیجه مربوط به این معیار رشد در لاروهای تیمار آزمایشی BSA_۳ بدست آمد. در تیمار آزمایشی BSA_۳ نسبت کارایی پروتئین و چربی در مرحله اول آزمایش به ترتیب به بالاترین میزان (۹/۶۳ و ۲۵/۶۵) رسید و با شاهد اختلاف معنی دار نشان دادند ($P < 0/05$).

شده، بر اساس ۳۰ درصد وزن توده آنها و روزانه در ۴ نوبت (۶ صبح، ۱۲ ظهر، ۶ بعد از ظهر و ۱۲ شب) انجام گرفت. در مرحله دوم آزمایش بچه ماهیان سازان در تیمارهای آزمایشی از جیره های مکمل شده با سوسپانسیون های مخلوط باسیلوس و مخمر، به میزان ۱۰ درصد وزن بدن در روز تغذیه گردیدند. ماهی سازان در تیمار شاهد از جیره های بدون مکمل سازی تغذیه شدند. غذای باقیماند نیم ساعت پس از هر نوبت غذا دهی توسط میکروپیپت جمع آوری شده و پس از خشک کردن از کل غذای داده شده کسر گردید.

معیار های رشد و تغذیه

در طول دوره آزمایش لارو های ماهی سازان در هر تیمار، به فاصله زمانی هر ۷ روز تعداد ۱۵ قطعه از لارو ماهی سازان بصورت تصادفی نمونه برداری شده و پس از بیهوش کردن آنها در محلول عصاره گل میخک با غلظت ۱۰۰ میلی گرم در لیتر، وزن کل این لاروها با استفاده از ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۱ گرم و طول کل آنها با کولیس ۰/۱ میلی متر اندازه گیری شد. همچنین تمام لاروهای ماهی هر حوضچه در پایان هر یک از مراحل آزمایش پس از بیهوش سازی در عصاره گل میخک زیست سنجی گردیدند. برپایه داده های بدست آمده از زیست سنجی لارو های ماهی در انتهای هر یک از مراحل آزمایشی معیارهای رشد و تغذیه به شرح زیر محاسبه گردیدند.

نرخ رشد ویژه (SGR)^۱ (هروی، ۲۰۰۵) $\times 100 =$ [(لگاریتم طبیعی وزن اولیه ماهی (گرم) - لگاریتم طبیعی وزن نهایی ماهی (گرم)) / طول دوره آزمایش (روز)]
فاکتور وضعیت (ضریب چاقی) (CF)^۲ (آوسترنگ، ۱۹۷۸) $\times 100 =$ [توان سوم طول کل ماهی (سانتی متر) / وزن نهایی ماهی (گرم)]
میانگین رشد روزانه (ADG)^۳ (دسیلوا و آندرسون، ۱۹۹۵) $\times 100 =$ [(روزهای پرورش $\times$ وزن اولیه) / وزن نهایی ماهی - وزن نهایی ماهی]
نسبت کارایی رشد (CER)^۴ (دسیلوا و آندرسون، ۱۹۹۵) $\times 100 =$ [نرخ غذای خورده شده روزانه / نرخ رشد ویژه]
ضریب تبدیل غذایی (FCR)^۵ (دسیلوا و آندرسون، ۱۹۹۵) = غذای خورده شده (گرم) / وزن بدست آمده (گرم)
کارایی تبدیل غذا (FCE)^۶ (دسیلوا و آندرسون، ۱۹۹۵) $\times 100 =$ [وزن بدست آمده ماهی (گرم) / غذای خشک خورده شده (گرم)]
نسبت کارایی پروتئین (PER)^۷ (هلند و همکاران، ۱۹۹۶) = پروتئین خورده شده (گرم) / وزن بدست آمده (گرم)
نسبت کارایی چربی (LER)^۸ (هلند و همکاران، ۱۹۹۶) = چربی خورده شده (گرم) / وزن بدست آمده (گرم)

^۶ - Food conversion efficiency

^۷ - Protein efficiency ratio

^۸ - Protein efficiency ratio

^۹ - Thermal growth coefficient (TGC)

^۱ - Specific growth rate (SGR)

^۲ - Condition factor (CF)

^۳ - Average daily growth (ADG)

^۴ - Conversion efficiency ratio (CER)

^۵ - Food conversion ratio

جدول ۲. تغییرات پارامترهای رشد و تغذیه لارو ماهی سازان در تیمارهای آزمایشی مختلف (مرحله اول آزمایش)

پارامترهای رشد	تیمار	شاهد	BSA _۱	BSA _r	BSA _r
وزن نهایی (میلی گرم)	۱۷۱/۹۱ ± ۲۸/۵۷ ^b	۲۲۳/۰۳۴ ± ۲۶/۲۲ ^a	۲۱۵/۲۵ ± ۵۱/۰۳ ^a	۲۴۴/۵۸ ± ۴۸/۲۵ ^a	
طول نهایی (میلی متر)	۲۴/۰۹ ± ۳/۷۳ ^a	۲۶/۸۹ ± ۳/۲۲ ^b	۲۷/۹۵ ± ۴/۴۷ ^b	۲۸/۸۵ ± ۴/۲۲ ^c	
نرخ رشد ویژه (درصد)	۱۳/۲۷ ± ۱/۰۶ ^b	۱۳/۸۹ ± ۱/۰۵ ^a	۱۳/۸۰ ± ۰/۸۲ ^a	۱۴/۰۷ ± ۰/۹۸ ^a	
فاکتور وضعیت	۱/۳۰ ± ۰/۲۲ ^a	۱/۲۰ ± ۰/۳۸ ^{a,b}	۱/۱۱ ± ۰/۲۵ ^{a,b}	۱/۰۵ ± ۰/۳۸ ^b	
میانگین رشد روزانه (درصد)	۴/۷۷ ± ۰/۹۷ ^b	۶/۲۰ ± ۱/۳۹ ^b	۵/۹۹ ± ۱/۲۸ ^b	۶/۷۴ ± ۱/۳۴ ^b	
نسبت کارایی رشد	۷۳/۵۴ ± ۷/۴۹ ^b	۹۸/۴۹ ± ۱/۴۷ ^a	۹۵/۸۹ ± ۸/۹۲ ^a	۱۱۰/۱۷ ± ۱۵/۴۲ ^a	
ضریب رشد حرارتی	۰/۳۳۹ ± ۰/۰۶ ^b	۰/۳۵۸ ± ۰/۰۵ ^a	۰/۳۷۸ ± ۰/۰۶ ^a	۰/۴۰۰ ± ۰/۰۵ ^a	
ضریب تبدیل غذایی	۲/۷۷ ± ۰/۴۷ ^a	۲/۲۵ ± ۰/۴۲ ^{bc}	۲/۳۸ ± ۰/۵۶ ^b	۲/۰۷ ± ۰/۴۲ ^c	
نسبت کارایی پروتئین	۶/۹۷ ± ۰/۶۵ ^b	۸/۸۹ ± ۰/۹۵ ^a	۸/۶۲ ± ۰/۷۶ ^a	۹/۶۳ ± ۱/۲۴ ^a	
نسبت کارایی چربی	۱۸/۶۱ ± ۱/۷۳ ^b	۲۳/۷۱ ± ۱/۲۵ ^a	۲۲/۹۴ ± ۲/۰۳ ^a	۲۵/۶۹ ± ۳/۵۰ ^a	
کارایی تبدیل غذا (درصد)	۳۹/۰۸ ± ۳/۶۵ ^b	۴۹/۷۹ ± ۳/۵۰ ^a	۴۸/۱۹ ± ۴/۲۷ ^a	۵۳/۹۶ ± ۶/۳۵ ^a	

حروف لاتین غیر مشترک در هر ردیف نشانه معنی دار بودن می باشد (P < ۰/۰۵).

نتایج تاثیر مخلوط سوسپانسیون باکتریایی و مخمر ساکارومایسیس سرویزیای مکمل شده با جیره های آزمایشی بر بچه ماهیان سازان در مرحله دوم آزمایش در جدول ۳ آورده شده است.

نتایج بدست آمده در مرحله دوم آزمایش نشان از تاثیرگذاری پروبیوتیک و مخمر مکمل شده با جیره تجاری لاروهای مورد آزمایش بود (جدول ۲). بر اساس نتایج حاصله از این آزمایش بیشترین وزن (۵۱۴/۸۸ میلی گرم)، طول کل (۳۵/۵۱ میلی متر) و کارایی تبدیل غذایی (۳۳/۲۱) بچه ماهیان سازان در تیمار BSD_۳ (بچه ماهیان تغذیه شده از جیره مکمل شده با سوسپانسیون باکتریایی و مخمر در غلظت ۳ × ۱۰^۵ سلول در هر گرم) بدست آمد، با توجه به اهمیت ضریب تبدیل غذایی، در این آزمایش کمترین مقدار (۳/۳۷) مربوط به تیمار BSD_۳ بود و با شاهد (۴/۳۴) اختلاف معنی داری را نشان داد (P < ۰/۰۵)، در حالیکه بین تیمارهای آزمایشی BSD_۱،

BSD_۲ و BSD_۳ تفاوت معنی داری مشاهده نگردید (P > ۰/۰۵). مخلوط سوسپانسیون باکتریایی مکمل شده با جیره های آزمایشی در مرحله دوم آزمایش معیار نرخ رشد ویژه را در بچه ماهیان سازان بطور معنی داری افزایش نداد (P > ۰/۰۵). همچنین فاکتور وضعیت یا ضریب چاقی بچه ماهیان سازان در تیمارهای آزمایشی در مقایسه با شاهد از اختلاف معنی داری برخوردار نگردیدند (P > ۰/۰۵). بالاترین مقدار این معیار در شاهد (۱/۱۷ ± ۰/۲۵) و کمترین آن در تیمار BSD_۲ (۱/۰۹ ± ۰/۱۹) مشاهده گردید. ضریب رشد حرارتی (TGC) در تیمارهای تغذیه شده از جیره های مکمل شده با پروبیوتیکها، از میزان بالاتری برخوردار بودند، ولی در مقایسه با شاهد اختلاف معنی داری نداشتند (P > ۰/۰۵). باکتریهای پروبیوتیکی و مخمری بطور معنی داری موجب افزایش معیار نسبت کارایی رشد (CER) بچه ماهیان سازان در تیمارهای آزمایشی نگردیدند (P > ۰/۰۵).

جدول ۳. تغییرات پارامترهای رشد و تغذیه لارو ماهی سازان در تیمارهای آزمایشی مختلف (مرحله دوم آزمایش)

پارامترهای رشد	تیمار	شاهد	BSD _۱	BSD _r	BSD _r
وزن نهایی (میلی گرم)	۳۶۶/۰۰ ± ۴۷/۰۶ ^b	۴۹۲/۴۵ ± ۴۸/۲۴ ^a	۴۶۴/۴۷ ± ۴۹/۳۰ ^a	۵۱۴/۸۸ ± ۶۰/۳۸ ^a	
طول نهایی (میلی متر)	۳۱/۲۸ ± ۳/۷۶ ^a	۳۴/۶۹ ± ۴/۴۴ ^b	۳۴/۵۵ ± ۳/۳۸ ^b	۳۵/۵۱ ± ۴/۸۰ ^b	
نرخ رشد ویژه (درصد)	۱/۵۳ ± ۰/۱۶ ^a	۱/۶۲ ± ۰/۲۹ ^a	۱/۵۷ ± ۰/۲۳ ^a	۱/۵۴ ± ۰/۲۱ ^a	
فاکتور وضعیت	۱/۱۷ ± ۰/۲۵ ^a	۱/۱۵ ± ۰/۲۲ ^a	۱/۰۹ ± ۰/۱۹ ^a	۱/۱۳ ± ۰/۲۱ ^a	
میانگین رشد روزانه (درصد)	۴/۳۳ ± ۰/۹۲ ^b	۵/۹۸ ± ۰/۷۹ ^a	۵/۵۴ ± ۰/۷۵ ^{a,b}	۶/۰۶ ± ۱/۰۴ ^a	
نسبت کارایی رشد	۱۱/۷۸ ± ۱/۴۲ ^a	۱۶/۵۷ ± ۱/۶۹ ^a	۱۴/۸۸ ± ۱/۳۸ ^a	۱۵/۹۶ ± ۱/۵۰ ^a	
ضریب رشد حرارتی	۰/۱۱ ± ۰/۰۱ ^a	۰/۱۲ ± ۰/۰۱ ^a	۰/۱۲ ± ۰/۰۱ ^a	۰/۱۲ ± ۰/۰۲ ^a	
ضریب تبدیل غذایی	۴/۳۴ ± ۱/۰۷ ^b	۳/۵۳ ± ۱/۱۵ ^a	۳/۷۵ ± ۱/۳۰ ^a	۳/۲۷ ± ۱/۱۵ ^a	
نسبت کارایی پروتئین	۰/۵۵ ± ۰/۱۸ ^b	۰/۷۰ ± ۰/۲۵ ^a	۰/۶۶ ± ۰/۲۲ ^a	۰/۷۳ ± ۰/۲۴ ^a	
نسبت کارایی چربی	۲/۷۶ ± ۰/۹۰ ^b	۳/۵۳ ± ۱/۲۷ ^a	۳/۳۲ ± ۱/۱۳ ^a	۳/۶۹ ± ۱/۲۴ ^a	
کارایی تبدیل غذا (درصد)	۲۴/۸۶ ± ۳/۹۱ ^b	۳۱/۷۷ ± ۳/۱۸ ^a	۲۹/۶۹ ± ۳/۲۹ ^a	۳۳/۲۱ ± ۳/۹۸ ^a	
نرخ بقا بچه ماهی (درصد)	۹۶/۳۴ ± ۱/۴۸ ^a	۹۸/۶۷ ± ۰/۵۷ ^a	۹۸/۳۴ ± ۰/۶۳ ^a	۹۸/۶۷ ± ۰/۵۳ ^a	

حروف لاتین غیر مشترک در هر ردیف نشانه معنی دار بودن می باشد (P < ۰/۰۵).

نسبت کارایی پروتئین و چربی از جمله معیارهای تغذیه ای هستند که جهت ارزیابی عملکرد جیره ها از اهمیت خاصی برخوردار می باشند و در این تحقیق مخلوط پروبیوتیک ها در سوسپانسیون غنی سازی ناپلی آرمیا در تغذیه لاروهای ماهی سازان در تیمارهای آزمایشی در مقایسه با لاروهای تیمار شاهد موجب ارتقاء این معیار تغذیه ای گردیدند. نظیر همین نتایج در آزمایش مشابهی در تغذیه لاروهای قزل آلائی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) با ناپلی آرمیای غنی شده با پروبیوتیکها بدست آمد (جمالی و همکاران، ۲۰۱۴).

همچنین ضریب تبدیل غذایی یکی از مهمترین شاخص های تغذیه ای با بکارگیری باسیلوس های پروبیوتیکی در این آزمایش به طور قابل توجهی کاهش یافت. در مشابهت با نتایج بدست آمده از این تحقیق، غنی سازی دافنی ماگنا با باسیلوس های پروبیوتیکی توانست میزان ضریب تبدیل غذایی را از ۸/۴۸ به ۴/۷۳ کاهش دهد (فرامرزی و همکاران، ۲۰۱۱). همچنین در موافقت با یافته های این تحقیق لشگر بلوکی و همکاران (۱۳۹۰) نشان دادند که تغذیه لاروهای تاس ماهی ایرانی با دافنی ماگنای غنی شده با مخمر پروبیوتیکی ساکارومایسیس سرویزیا موجب کاهش ضریب تبدیل غذایی از ۷/۵۱ در شاهد به ۴/۹۲ گردید.

پروبیوتیکها عموماً با افزایش عملکرد تغذیه در لاروهای ماهیان پرورشی موجب ارتقاء بهتر رشد در آنها می گردند، بر همین مبنا در این تحقیق وزن نهایی و طول کل، نرخ رشد ویژه و نسبت کارایی رشد لاروهای ماهی در تیمارهای تحت تاثیر پروبیوتیک ها در مقایسه با شاهد افزایش یافت. در موافقت با این نتایج، چپرلی و همکاران (۱۳۹۳) نشان دادند که لارو ماهی فیتوفاگ (*Hypophthalmichthys molitrix*) تغذیه شده از آرمیا اورمیانای غنی شده با سوسپانسیون پروبیوتیک های باسیلی تاثیر معنی داری را بر ارتقاء معیارهای رشد این ماهی داشت، بطوریکه در تیمارهای تحت تاثیر پروبیوتیک ها نرخ رشد ویژه از ۱۲/۸۹ به ۱۳/۶۶ درصد وزن بدن در روز افزایش یافت. همچنین در تحقیق مشابه دیگری لاروهای ماهی قزل آلائی رنگین کمان در تغذیه از ناپلی آرمیا پارتنوژنتیکای غنی شده با باسیلوس های پروبیوتیکی از نرخ رشد ویژه ۶/۳۵ درصد در مقایسه با ۵/۹۸ درصد در شاهد، برخوردار گردیدند (جمالی و همکاران، ۱۳۹۱).

میانگین رشد روزانه بچه ماهیان سازان در تیمار شاهد از حداقل مقدار برخوردار بوده و تفاوت معنی داری را با تیمارهای آزمایشی BSD_1 و BSD_3 نشان داد ($P < 0.05$). مقدار این معیار در تیمار شاهد ۴/۳۳ درصد بود و در تیمارهای BSD_1 و BSD_3 به ترتیب ۵/۹۸ و ۶/۰۶ درصد تعیین گردید. اختلاف معنی داری بین تیمارهای آزمایشی و شاهد از نظر درصد بقاء در این مرحله وجود نداشت ($P > 0.05$). باسیل های پروبیوتیکی همراه با مخمر در طی فعالیت های متابولیکی خویش در دستگاه گوارش لاروها منجر به افزایش معنی دار نسبت کارایی پروتئین و کارایی چربی در تیمارهای آزمایشی نسبت به شاهد گردیدند ($P < 0.05$). بیشترین میزان این دو معیار تغذیه ای به ترتیب ۰/۷۳ و ۳/۶۹ در تیمار BSD_3 و کمترین مقدار آنها (۰/۵۵ و ۲/۲۶) در شاهد تعیین گردید.

بحث

دستگاه گوارش ماهیان در زمان تولد و تا قبل از شروع تغذیه فعال، بدون باکتری می باشد و به دنبال آن فلور باکتریایی با ورود باکتری های محیطی از طریق آب و غذا در روده ماهی جایگزین می گردد (وادستین و همکاران، ۱۹۹۳). آولا و همکاران در سال (۲۰۱۰) جهت بهبود پرورش لارو ماهی سیم دریایی (*Sparus aurata*) در ابتکاری تحقیقی از ترکیب ۳ گونه پروبیوتیک باسیلی شامل: باسیلوس سابتیلیس (*Bacillus subtilis*)، باسیلوس لیشنی فورمیس (*Bacillus licheniformis*) و باسیلوس پامیلیس (*Bacillus pumilus*) استفاده نمودند براین اساس آنها پیشنهاد کردند که پروبیوتیک های مصرفی برای ماهیان دریایی به ویژه ماهی سیم دریایی بهتر است در مرحله اولیه زندگی از طریق غذای زنده مانند آرمیا و روتیفر که اثرات مثبتی بر وضعیت عمومی و همچنین رشد ماهی دارد استفاده شوند. مخلوط باسیلوس های پروبیوتیکی و مخمر در فرآیند غنی سازی با ناپلی آرمیا اورمیان و همچنین مکمل سازی با جیره، در ارتباط با معیارهای رشد، تغذیه و بقاء لارو و بچه ماهی سازان تاثیرات متفاوتی را ایجاد نمودند. در خصوص معیارهای رشد از قبیل وزن و طول نهایی، در مرحله اول آزمایش، مخلوط سوسپانسیون باکتریایی و مخمر در لاروهای تیمارهای تحت تاثیر پروبیوتیک ها در مقایسه با شاهد تاثیر مثبت معنی داری را داشتند، بطوریکه بالاترین مقدار این معیارها به ترتیب در تیمار BSA_3 مشاهده گردید.

غذای خورده به وزن بدن در طول دوره آزمایش، بطور معنی دار کاهش دادند، در حالیکه بین تیمارهای آزمایشی و شاهد در مرحله دوم آزمایش هیچگونه اختلاف معنی داری وجود نداشت.

همسوی با این اطلاعات، در تحقیق حاضر افزایش کارایی تبدیل غذا در تیمارهای تحت تاثیر سوسپانسیون پروبیوتیک های از طریق غنی سازی ناپلی آرتمی در مرحله اول آزمایش از ۳۹/۰۸ در تیمار شاهد به ۵۳/۹۶ در تیمار SBA_۳ و همچنین افزایش کارایی تبدیل غذا در جیره های مکمل سازی شده با سوسپانسیون پروبیوتیک ها در تیمارهای آزمایشی (۳۳/۲۱) نسبت به تیمار شاهد (۲۴/۸۶) نیز نشان از اثرگذاری مثبت مخلوط این باسیل ها با مخمر نانویی بوده است. در این آزمایش مکمل سازی مخلوط پروبیوتیک های باسیلی و مخمر ساکارومایسیس سرویزیا با جیره های آزمایشی بر نرخ رشد ویژه لاروهای ماهی سازان تاثیر مثبت و معنی داری نداشت. در حالیکه در مغایرت با یافته های این آزمایش، لارا- فلورس و همکاران (۲۰۰۳) در یک تحقیق، استفاده از مخلوط باکتریایی شامل استروپتوکوکوس فاسیوم (*Streptococcus faecium*) و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (*Lactobacillus acidophilus*) و همچنین مخمر ساکارومایسیس سرویسا (*Saccharomyces cerevisiae*) به عنوان مکمل های پروبیوتیکی در جیره لارو تیلایای نیل (*Oreochromis niloticus*) دریافتند که این پروبیوتیکها قادر گردیدند که نرخ رشد ویژه لاروهای ماهی تیلایای نیل را از ۳/۳۳ به ۵/۸۰ درصد وزن بدن در روز افزایش دهند. در همین زمینه تحقیقات متنوعی در مورد استفاده از غلظت های مختلف پروبیوتیک ها توسط (ویجایان و همکاران، ۲۰۰۶) در جهت ارتقاء نرخ رشد ویژه و کاهش ضریب تبدیل غذایی در حیوانات هدف کار شده است. در این مطالعه، مخلوط سوسپانسیون باکتریایی همراه با مخمر تجاری زنده ساکارو ماسیسیس سرویزیا باعث بهبود فاکتور وضعیت، میانگین رشد روزانه و همچنین افزایش نسبت کارایی رشد در لارو ماهی سازان شد که، نتایج مشابهی در این زمینه نیز در ماهی کپور کاتلا (موهانتی و همکاران، ۱۹۹۶) و کپور مریگال (اسوین و همکاران، ۱۹۹۶) بدست آمد.

تغذیه لاروهای ماهی سازان با ناپلی آرتمی غنی شده با مخلوط باسیلوس های پروبیوتیکی و مخمر در مرحله ۱

در این تحقیق فاکتور وضعیت در تیمارهای آزمایشی تحت تاثیر پروبیوتیکها بطور معنی داری در مقایسه با شاهد کاهش یافت در حالیکه در مغایرت با این نتایج باسیلوس های پروبیوتیکی موجب افزایش فاکتور وضعیت لارو های ماهی فیتوفاگ گردیدند (جمالی و همکاران، ۲۰۱۴).

بیشتر پروبیوتیک های استفاده شده در آبی پروری از انواع باسیلوس و مخمرها می باشند (وانگ، ۲۰۰۷). بر همین مبنا، در این آزمایش غنی سازی ناپلی آرتمی توسط مخلوط باسیلوس ها (*B. Circulans* و *B. Licheniformis*) به همراه مخمر نانویی (*S. cerevisiae*) با غلظت های 1×10^5 ، 2×10^5 و 3×10^5 در مرحله اول آزمایش و همچنین مکمل سازی جیره تجاری کپورماهیان بوسیله سوسپانسیون باسیل های پروبیوتیکی و مخمر در مرحله دوم آزمایش صورت پذیرفت. این مخلوط های پروبیوتیکی در بچه ماهیان سازان برخی از فاکتورهای مهم تغذیه ای از جمله نسبت کارایی پروتئین و چربی را در مرحله دوم آزمایش بطور معنی داری در مقایسه با شاهد افزایش دادند. نظیر همین نتایج در مکمل سازی جیره های لارو ماهی روو با باسیلوس های پروبیوتیکی بدست آمد (بایراجی و همکاران، ۲۰۰۲). این نتایج مبین این موضوع است که مخلوط پروبیوتیک های باسیلی و مخمرها با تاثیر گذاری خویش توانستند عملکرد رشد و بقاء را افزایش دهند. در لارو ماهیان تغذیه شده از ناپلی های آرتمیای حاوی باکترهای پروبیوتیکی، ضریب تبدیل غذا به میزان قابل توجهی کاهش یافته که نظیر همین نتایج را گوش و همکاران (۲۰۰۳) در پرورش ماهی روو به دست آوردند به طوریکه باسیلوس سیرکولانس ایزوله شده از روده ماهی روو در غلظت های مختلف باعث کاهش ضریب تبدیل غذا در این ماهی شد، در مطابق با این نتایج کمترین مقدار ضریب تبدیل غذایی (۳/۳۷) در تیمار BSD_۳ در مرحله ۲ آزمایش بود و بیشترین آن در شاهد (۴/۳۴) بدست آمد.

در تائید نتایج این تحقیق، اطلاعات بدست آمده اشاره به این دارد که مکمل های مخمری و باکتریایی استفاده شده در جیره نقش مهمی در افزایش کارایی غذا توسط ماهی داشته که منجر به افزایش بهره وری از مواد مغذی شده و در نتیجه این امر باعث افزایش ذخیره مواد غذایی در بدن ماهی می شود (عبدالطوب و همکاران، ۲۰۰۸). بر این اساس پروبیوتیکها در مرحله اول آزمایش، لاروهای ماهی سازان را در تیمارهای آزمایشی نسبت به شاهد در ارتباط با نسبت

ماهی قزل آلائی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در برابر عوامل استرس زا. فصلنامه علوم آبی پروری. سال اول. شماره ۱. ص ۲۵-۳۸.

۳- جعفریان، ح. شاهی، ق. یزدانی، ع. ۱۳۸۶. بکارگیری پروبیوتیکها در افزایش تولید ماهیان خاویاری دریای خزر از طریق ارتقاء کارایی تغذیه و عملکرد رشد. نخستین همایش ملی میکروبیولوژی کاربردی ایران. تهران دانشگاه الزهراء (س). تیرماه. ص ۱۰.

۴- جعفریان، ح. آذری تاکامی، ق. کمالی، ا. سلطانی، م. حبیبی رضایی، م. ۱۳۸۴. غنی سازی آرتیمیا اورمیان (*Artemia urmiana*) با مخلوط پنج گونه از باسیلوس های پروبیوتیکی گرم مثبت هاگدار. مجله علوم دریایی ایران. دوره ۴. شماره ۱ و ۲. بهار و تابستان ۸۴. ص ۱۱-۲۱.

۵- چپرلی، ب؛ جعفریان، ح؛ بهلکه، ا. جعفریان، س. ۱۳۹۳. تأثیر برخی پروبیوتیک های باسیلی بر الگوی رشد و پارامترهای فراسنجی بدن لارو فیتوفگ (*Hypophthalmichthys molitrix*) اولین همایش آبی پروری نوین- چالش ها و فرصت ها. دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان. ۳۰ مهر تا یکم آبان ۱۳۹۳. ص ۴۵-۵۸.

۶- گرایلو، زه؛ آذری تاکامی، ق؛ محمود زاده، م. ۱۳۹۰. بررسی پایداری اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره در طی غنی سازی آرتیمیا با روغن های مختلف و دوره گرسنگی. فصلنامه علمی-پژوهشی آبیان ایران ۱(۲۹) ص ۴۱-۵۱.

۷- لشکر بلوکی، م. جعفریان، ح. کرامت، ع. فرهنگی، م. آدینه، ح. ۱۳۹۰. بررسی تأثیر دافنی ماگنای (*daphnia magna*) غنی شده با عصاره مخمر ساکرومایسس سرویزیا (*Saccharomyces cerevisiae*) بر رشد و مقاومت لاروهای ماهی تاس ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) در برابر عوامل استرس زا. نشریه شیلات، مجله منابع طبیعی ایران، دوره ۶۴، شماره ۴. ص ۳۴۵-۳۵۵.

8- Abdel-Tawwab, M., Abdel-Rahman, A.M., Ismael, N.E.M. 2008. Evaluation of commercial live bakers' yeast, *Saccharomyces cerevisiae* as a growth and immunity promoter for Fry Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) challenged in situ with *Aeromonas hydrophila*. Aquaculture. 280: 185-189.

9-Austreng, E. 1978. Digestibility determination in fish using chromic oxide marking and analysis of contents from

آزمایش و همچنین استفاده از جیره های مکمل سازی شده با باسیلوس های پروبیوتیکی و مخمر در تغذیه بچه ماهیان سازان در مرحله دوم آزمایش منجر به افزایش راندمان رشد و مصرف غذایی بهتر در مقایسه با تیمارهای غنی سازی نشده ناپلی آرتیمیا و مکمل سازی نشده (جیره پایه کیور) گردیدند.

تحقیقات نشان می دهد که مکمل سازی پروبیوتیک ها در غذای آبیان و توسعه آن به عنوان یک مدل بسیار با ارزش برای جیره نویسی به منظور افزایش رشد و کارایی تغذیه بسیار ضروری خواهد بود (بایراچی و همکاران، ۲۰۰۲). از این رو پیش بینی می گردد که افزودن پروبیوتیک ها سبب کاهش هزینه های پرورش ماهی می گردد (آولا و همکاران، ۲۰۱۰). به هر حال، تأثیر این پروبیوتیک ها وابسته به شرایط پرورش، نوع گونه ماهی و نوع پروبیوتیک های بکار رفته و میزان غلظت بکارگیری آنها می باشد. این آزمایش نشان داد که رابطه آماری بین داده های بدست آمده و غلظت پروبیوتیک ها کاملاً مشهود بوده و سطوح بکارگیری پروبیوتیکها در محیط غنی سازی ناپلی آرتیمیا و از طریق مکمل سازی جیره، به عنوان یک متغیر بسیار مهم در تأثیرگذاری پروبیوتیک ها نقش اساسی دارد. بهرحال تأثیرگذاری پروبیوتیکها از طریق فرآیند غنی سازی با غذای زنده و یا به صورت مکمل سازی با جیره می تواند در تأثیرگذاری آنها مفید واقع گردد. کاهش تلفات و اصلاح رشد و ارتقاء کیفیت لاروها همگی اثرات سودمند استفاده از پروبیوتیک ها می باشد که در این مطالعه، لاروهای تیمار BSA_۳ در مرحله اول آزمایش نسبت به شاهد و همچنین لاروهای ماهی سازان در کلیه تیمارهای آزمایشی در مقایسه با شاهد در مرحله دوم از وضعیت بهتری برخوردار بودند.

منابع

- ۱- آذری تاکامی، ق. ضیائی نژاد، س. میرواقفی، ع. شکوری، م. ۱۳۸۳. تأثیر پروبیوتیک آکواتک (protexin Aquatech) بر رشد و بازماندگی لاروهای میگوی سفید هندی (*Fenneropenaeus indicus*) مجله علوم دامپزشکی ۱-۱. ص ۱۵-۲۲.
- ۲- جمالی، ه. جعفریان، ح؛ پاتیمار، ر؛ سلطانی، م. ۱۳۹۱. بررسی تأثیر ناپلی آرتیمیا پارتنوژنتیکای (*Artemia parthenogenetica*) غنی شده با باسیلوس های پروبیوتیکی بر ارتقاء فاکتورهای تغذیه و مقاومت لاروهای

- 19- Gatesoupe, F. J. 2002. Probiotic and formaldehyde treatments of *Artemia* nauplii as food for larval Pollack , *Pollachius pollachius*. Aquaculture. 212 : 347-360.
- 20-Gatesoupe, F.J., 2007. Live yeasts in the gut: Natural occurrence, dietary introduction, and their effects on fish health and development. Aquaculture. 267: 20–30.
- 21-Gatesoupe, F.J., 2008. Updating the importance of lactic acid bacteria in fish farming: natural occurrence and probiotic treatments. J. Mol. Microbiol. Biotechnol. 14: 107-114.
- 22-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. Aquaculture. 55(1): 13-21.
- 23-Gomez-Gil, B., Herrera-Vega, M.A., Aberu-Grobois, F.A., and Roque, A., 1998. Bioencapsulation of two different vibrio species in nauplii of the Brine shrimp (*Artemia franciscana*). Applied Environmental microbiology. 64: 2318-2322.
- 24- Hafezieh, M., Mohd Salah Kamarudin, S., Che Rose Bin Saad, Mostafa Kamal, A.S., Agh, N., Valinassab, T. 2010. Effects of enriched *Artemia urmiana* with HUFA on growth, survival and fatty acids composition of the Persian sturgeon larvae (*Acipenser persicus*). Iranian Journal of Fisheries Sciences. 9(1): 61-72.
- 25-Helland, S.J., GrisdaleHelland, 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.
- 26-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.
- 27- Jamali, H., Tafi, A., Jafaryan, H., Patimar. R. 2014. Effect of enriched *Artemia partenogenetica* with probiotic (*Bacillus spp.*) on growth, survival, fecal different segments of the gastrointestinal tract. Aquaculture. 13: 265-272.
- 10-Avella, M.A., Gioacchini, G., Decamp, O., Makridis, P., Bracciatelli, C., Carnevali, O. 2010. Application of multi-species of *Bacillus* in sea bream larviculture. Aquaculture. xxx-xxx.
- 11-Azari takami, G. 1993. Uromier lake as a caluable source of *Artemia* for feeding sturgeon fry. Journal of faculty of veterinary medicine. 47: 17-24.
- 12-Bairagi, A., Ghosh, K.S., Sen, S.K., Ray, A.K. 2002. Enzyme producing bacterial flora isolated from fish digestive tracts. Aquac. Int. 10: 109-121.
- 13- Bagheri, T., Hedayati, S. A., Yavari, V., Alizadeh, M. and Farzanfar, A. 2008. Growth, survival and gut microbial load of rainbow trout fry given diet supplemented with probiotic during the two month of first feeding. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Science. 8: 43-48.
- 14-Bjornsdottir, R., Karadottir, E., Johannsdottir, J. 2010. Selection of bacteria and the effects of bacterial treatment of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). Aquaculture. 300:195-210.
- 15-De Silva, S.S., and Anderson, T.A. 1995. In: Fish Nutrition in Aquaculture. Chapman and Hall, London. 319p.
- 16-Gatesoupe, F.J., 2002. Probiotic and formaldehyde treatments of *Artemia* nauplii as food for larval pollack, *Pollachius pollachius*. Aquaculture. 212: 347-360.
- 17-Faramarzi, M., Jafaryan, H., Patimar, R., Kordjazi, Z., Kiaalvandi, S., Iranshahi, F., Lashkarbolouki, M., Adineh, H., Roozbehfar, R., Malekzadeh, A. and Isari, A. 2011. The potential of *daphnia magna* bioencapsulated with probiotic bacilli on growth and feeding parameters of Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) larvae. World journal of zoology. 6 (3): 268-273.
- 18- Fazeli, Z. and G. Azari-Takami. 2006. The best time and concentration for yeast probiotic enrichment of *Artemia urmiana* nauplii. Pakistan Journal of Biological sciences. 9(11): 2159-2161.

- vaccine delivery. Vaccine 21, S2/96–S2/101.
- 35-Rengpipat, S., Phianphak, W., Piyatiratitvorakul, S., and Menasveta, P., 1998. Effect of probiotic bacterium on black tiger shrimp *Penaeus monodon* survival and growth. Aquaculture. 167: 301-313.
- 36-Sorgeloos, P., Lavens, P., Leger, P., Tackaert, W., and Versichele, D. 1986. Manual for the culture and use of Brine Shrimp *Artemia* in aquaculture. State University of Gent, Belgium. 319pp.
- 37-Swain, S.K., Rangacharyulu, P.V., Sarkar, S., Das, K.M., 1996. Effect of a probiotic supplement on growth, nutrient utilization and carcass composition in mrigal fry. J. Aqua. 4, 29–35 (Cent. Inst. FreshWater Aquacult., Kausalyaganga, Bhubaneshwar, Orissa, India).
- 38-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.
- 39-Vijayan, K.K., Bright Singh, I.S., Jayaprakash, N.S., Alavandi, S.V., Somnath Pai, S., Preetha, R., Rajan, J.J.S., Santiago, T.C., 2006. A brackishwater isolate of *Pseudomonas* PS-102, a potential antagonistic bacterium against pathogenic vibrios in penaeid and nonpenaeid rearing systems. Aquaculture. 251: 192-200.
- 40-Wang, Y.B., 2007. Effect of probiotics on growth performance and digestive enzyme activity of the shrimp *Penaeus vannamei*. Aquaculture. 269: 259-264.
- production and nitrogenous excretion in Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) larvae. Journal of fisheries and livestock production. 2 (1): 1-6.
- 28-Imsland, A.K., Foss, A., Koedijk, R., Folkvord, A., Stefansson, S.O., and Jonassen, T.M., 2007. Persistent growth effects of temperature and photoperiod in Atlantic cod *Gadus morhua*. J. Fish Biol. 71: 1371-1382.
- 29-Kesarcodi-Watson, A., Kaspar, H., Lategan, M.J., GiBSAon, L., 2008. Probiotics in aquaculture: the need, principles and mechanisms of action and screening processes. Aquaculture. 274: 1-14.
- 30- Li, P., Gatlin, D. M. 2003. Evaluation of brewer's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) as a feed supplement for hybrid striped bass (*Morone chrysops*_M. saxatilis). Aquaculture. 219: 681-692.
- 31-Lara-Flores, M., Olvera-Novoa, M.A., Guzman-Méndez, B.E., López- 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.
- 32-Mohanty, S.N., Swain, S.K., Tripathi, S.D., 1996. Rearing of catla (*Catla catla* Ham.) spawn on formulated diets. J. Aquac. Trop. 11: 253-258.
- 33-Moriarty, D.J.W., 1998. Control of luminous *Vibrio* species in penaeid aquaculture ponds. Aquaculture. 164: 351-358.
- 34-Oggioni, M.R., Ciabattini, A., Cuppone, A.M., Pozzi, G., 2003. *Bacillus* spores for

Effect of blend of probiotic bacilli and baker's yeast via bioencapsulation of *Artemia urmiana* nauplii and supplementation of experimental diets on growth and feeding parameters of Sazan (*Cyprinus carpio carpio* L.) larvae

*Jafaryan, H.¹, Adineh, H.², Jafaryan, S.²

1-University of Gonbad Kavos,os,

2-Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

* Corresponding author: Hojat.jafaryan@gmail.com

Accepted: 15/1/2014

Received: 26/6/2014

Abstract

In this study the effect of blend of *Bacillus circulans*, *Bacillus licheniformis* and baker's yeast, *Saccharomyces cerevisiae* with concentrations of 1×10^5 , 2×10^5 and 3×10^5 CFU/ml in suspension of bioencapsulation of *Artemia urmiana* nauplii were studied on performance of growth parameters in Sazan (*Cyprinus carpio carpio* L.) larvae. This experiment was conducted in a completely random design in three experimental treatments and control with three replicates for each treatment. The Sazan (*Cyprinus carpio carpio*) larvae were cultured for 80 days in two experiment stages. In the first stage of experiment the fish larvae were fed *A. urmiana* nauplii bioencapsulated with blend of probiotic bacilli and yeast, for 35 days. The fish larvae in control were fed unenriched *A. urmiana* nauplii. In the second stage of experiment, fish larvae were fed experimental diet supplemented with blend of yeast and probiotic bacilli for a period of 45 days. The results in the first stage of experiment indicated that blend of the probiotics had significant effects on growth and feeding parameters compare control ($p < 0.05$). In experimental treatments the final body weight, total length, specific growth rate, food conversion efficiency, growth conversion efficiency had significantly increased in comparison to control. The results of the second stage of experiment showed that the growth and feeding parameters were significantly increased compare to control ($P < 0.05$). This study indicated that the different concentration of probiotic bacillus and yeast of *S. cerevisiae* via bioencapsulation of *A. urmiana* and supplementation of diet had different effects on the growth and feeding parameters of Sazan larvae.

Keyword: probiotic bacilli, Sazan, yeast, bioencapsulation, supplementation, growth parameters