مجله تحقیقات دامپزشکی، ۱۳۹۰، دوره ۶۶، شماره ۱، ۴۶-۳۹

مقایسه تأثیر باسیلوس های مستخرج از روده لارو ماهیان خاویاری *persicus Acipenser* و *Huso huso* با پروبیوتیک‌های تجاری بر رشد و بقاء لارو ماهی قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

حجت الله جعفریان[1*] مهدی سلطانی[3] مهدی طاعتی[3] علی رضا نظرپور[4] روح اله مروت[5]

۱)مجتمع آموزش عالی گنبد کاووس، گلستان، ایران.
۲) گروه بهداشت و بیماری های آبزیان دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران.
۳)دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گلستان، ایران.
۴) پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران.
۵) کارشناس شیلات.

(دریافت مقاله: ۲۸ دی ۱۳۸۸ ، پذیرش نهایی: ۱۵ شهریور ۱۳۸۹)

چکیده

بکارگیری باکتری‌های پروبیوتیکی به عنوان یک استراتژی مهم برای ایجاد محصولات قابل تجدید از طریق کنترل بیولوژیکی در سیستم‌های پرورشی لاروهای ماهی وسخت پوستان پیشنهادشده است. جمعیت باکتریایی در روده لاروازباکتری‌های مرتبط با تخم ها، آب تانک های پرورشی و غذای زنده‌سرچشمه می‌گیرد. این مطالعه در جهت تعیین اثرات پروبیوتیک های تجاری وبومی بر معیارهای رشد ونرخ بقاء لاروماهی قزل‌آلای رنگین کمان هدفمند شد. لاروهای قزل الا (۱± ۸۵ میلی گرم) با جیره بیومار تغذیه شدند. جیره‌های آزمایشی با سه مخلوط باکتریایی زیست یار شامل لاکتوباسیلوس، باسیلوس تجاری وباسیلوس جداشده ازروده تاس ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) وفیل ماهی (*Huso huso*)، با درسه سطح (۴/۳۰، ۵/۳۰ و ۶/۳۰ لگاریتم واحد کلنی در هرگرم غذا) مکمل‌شدند وبه‌وسیله لاروهای ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در ۹ تیمارآزمایشی تغذیه گردیدند. تیمارشاهد ازجیره بدون مکمل‌سازی تغذیه‌شد. آزمایش درقالب یک طرح کاملاً تصادفی صورت پذیرفت. نرخ تغذیه براساس ۱۰درصد وزن بدن، برای ۶ باردرروزانجام‌شد. درپایان دوره (۳۲ روز)، ماهیان بیومتری‌شده وتوسط‌شوک‌های حرارتی، شوری، قلیائیت واسیدیته‌آزمایش‌گردیدند. بالاترین میانگین نرخ رشد ویژه (۰/۷۷±۴/۶۱ درصد)، ضریب رشد حرارتی (۰/۳۲±۳/۴۴ درصد) وکارآیی تغذیه (۲۵/۵۶±۱۱۶/۰۸ درصد) درتیمار A_1 به‌دست آمد. تیمار A_1، A_2، B_1، $B2$، L_1 و L_3 تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد داشتند ($p<0/05$). ضریب تبدیل غذایی بهتری در تیمار A_1(۰/۳۳±۰/۹۲ درصد) و L_3(۰/۲۰± ۰/۹۲ درصد) به‌دست‌آمد. درآزمایش مقابله باشوک حرارتی، بالاترین زمان بقاء در تیمار B_1(۲۸/۲۹± ۹۴/۳۳ ثانیه) به‌دست آمد. نتایج آزمایش‌های مقابله با استرس قلیائیت و اسیدیته نشان داد که بهترین زمان بقاء، در تیمار A_1(به ترتیب ۵۷/۷۴±۲۷۵/۶۷ و ۲۰± ۳۷۴ ثانیه) بود وتمامی تیمارهای‌آزمایشی اختلاف معنی‌داری با تیمارشاهد داشتند ($p<0/05$). هیچ اختلاف معنی‌داری بین تیمارها درآزمایش مقابله باشوری، مشاهده نشد ($p>0/05$).

واژه‌های کلیدی: باکتریای زیست یار، تست مقابله، زمان بقاء، لاروقزل آلای رنگین کمان، نرخ رشد ویژه.

مقدمه

پرورش ماهی قزل آلا در کشورمان، از نظر اقتصادی مهم بوده و عفونت‌های باکتریایی به نظر می‌رسد که یکی از دلایل کاهش سطح تولید در مزارع پرورشی این ماهی باشد (۲). موفقیت یا شکست در برنامه‌های آبزی پروری وابسته به شرایط پرورشی لاروهای ماهی می‌باشد، به عبارت دیگر عفونت‌های ناشی از باکتری‌ها در شرایط پرورشی، ممکن است باعث افزایش مرگ و میر و کاهش تولید شود (۱۹). از سویی دیگر برای توقف یا کاهش چنین اتفاقات نامطلوب در پرورش لاروهای ماهی، ممکن است از افزودنی‌های خاصی با غذاهای آنها استفاده شود که برای سلامتی و افزایش کارآیی غذا مفید واقع شود، در این میان، آنتی بیوتیک‌ها از جمله افزودنی‌های دارویی می‌باشند که از سال ۱۹۵۰ به غذاهای ماهی استفاده می‌گردد (۱). با توجه به ایجاد مقاومت دارویی در میزبان که از محدویت‌های آنتی بیوتیک‌ها محسوب می‌گردد، اهمیت باکتری‌های زیست یار یا پروبیوتیکی کاملاً آشکار گردید، به‌طوری‌که باکتری‌های زیست یار که باکتری‌های مفیدی می‌باشند و یا ترکیبات تولید شده توسط آنها، با اثرات مفید برای میزبان، در آبزی پروری برای کنترل بیماری‌ها و همچنین به عنوان مکمل‌هایی برای بهبود رشد لاروهای ماهی استفاده شده و در برخی موارد نیز به‌عنوان یک ترکیب ضد میکروبی برای لاروهای ماهی بکار گرفته می‌شوند (۱۵،۱۶). تحقیقات زیادی در خصوص کاربرد باکتری‌های زیست یار در آبزی پروری صورت گرفته است. برخی از عملکردهای اثبات شده در خصوص این باکتری‌ها شامل دفع رقابتی برای سایر باکتری‌ها و نیز بازدارنده‌های پروبیوتیکی برای جلوگیری از تجمع

*)نویسنده مسؤول: تلفن: ۲۲۹۳۴۰۱-۰۱۷۲ نمابر: ۲۲۹۳۴۰۱-۰۱۷۲ Email: Hojat.jafariyan@gmail.com

باکتری‌های بیماریزا در لوله گوارشی میزبان از طریق ترشح ترکیبات بازدارنده رشد دیگر باکتری‌ها و یا رقابت برای غذا و مکان و تحریک سیستم ایمنی میزبان در جهت تحمل بهتر محرک‌های محیطی را می‌توان ذکر کرد (۱۵). مطالعات مختلف در خصوص ارزیابی دفع رقابتی باکتری‌های بیماریزا توسط باکتری‌های زیست یار (۱۵،۲۲) و همچنین تحریک سیستم ایمنی ماهی قزل آلا با برخی باکتری‌های زیست یار انتخابی انجام شده است (۱۶،۲۰،۲۲،۲۴). باسیلوس‌های زیست یار با قابلیت تولید آنتی بیوتیک، اسیدهای آمینه، آنزیم‌های خارج سلولی و اثرات مثبت غذایی و عدم گزارش از بیماریزا بودن آنها برای جانوران آبزی، با گسترش زیادی در صنعت آبزی پروری مورد استفاده قرار می‌گیرند (۱۳).

Noh و همکاران در سال ۱۹۹۴ و Bogut و همکاران در سال ۱۹۹۸ نیز اثبات کردند که پروبیوتیکهای تجاری تهیه شده از باکتری استرپتوکوکوس فاسیوم (*Streptococcus faecium*) در طی مکمل سازی با جیره‌های ماهی کپور موجب بهبود کارآیی تغذیه و رشد در آنها شدند. Yanbo و Zirong در سال ۲۰۰۶ پیشنهاد کردند که افزودن باکتری‌های زیست یار، باعث کاهش هزینه‌های پرورش ماهیان می‌گردد. نتایج خوبی از بکارگیری سویه‌های باسیلوسی زیست یار تجاری در افزایش رشد و بقاء لارو ماهی قزل آلا، از طریق مکمل سازی با جیره‌های آزمایشی به‌دست آمد (۱۸). Ziaei-Nejad و همکاران در سال ۲۰۰۶ نشان دادند که باسیلوس‌های زیست یار تاثیر بسیار موثری در رشد و بازماندگی لاروهای میگوی سفید هندی (*Fennero penaeus indicus*) داشتند. در مدیریت میکروبی، گونه‌های بومی ایزوله شده از دستگاه گوارش آبزیان، کاربرد بسیار مهمی را در اهداف آبزی پروری ایفاء نموده است. تحقیقات مشابه‌ای توسط Ghosh و همکاران در سال ۲۰۰۲ با باسیلوس سیرکولانس (*Bacillus circulans*) ایزوله شده از روده ماهی روهو (*Labeo rohita*) در جیره‌های مکمل شده آنها صورت گرفت (۹،۱۰). همچنین باکتری لاکتوباسیلوس فروکتیورانس (*Lactobacillus fructivorans*) ایزوله شده از شانک ماهی (*Sparus auratus*) و نیز لاکتوباسیلوس پلانتاروم (*L. plantarum*) ایزوله شده از مدفوع انسان، پس از غنی سازی با ناپلی آرتمیا فرانسیسکانا در طی تغذیه، باعث افزایش رشد و بقاء این ماهی گردید (۶).

هدف از این مطالعه، تأثیر ۳ مخلوط باکتریایی زیست یار شامل باسیلوس و لاکتوباسیلوس‌های تجاری و باسیلوس‌های ایزوله شده از روده ماهیان خاویاری در طی مکمل سازی با جیره‌های آزمایشی بر رشد و مقاومت لارو ماهی قزل آلای رنگین‌کمان در مقابله با استرس‌های مختلف بود. این تحقیق می‌تواند در بکارگیری باکتری‌های پروبیوتیکی بومی و تجاری در راستای رشد و بقاء لاروهای ماهی قزل آلای رنگین‌کمان در کشورمان بسیار مفید واقع گردد.

مواد و روش کار

مخلوط‌های باکتریایی تجاری: سه مخلوط باکتریایی مجزا برای این آزمایش در نظر گرفته شد. مخلوط اول شامل دو گونه از باسیلوس‌های زیست یار تحت عنوان باسیلوس سابتیلیس (*Bacillus subtilis*) و باسیلوس لیکنی فورمیس (*Bacillus licheniformis*) در قالب یک فرآورده پودری از شرکت پروتکسین (ایران - نیکوتک) تهیه گردید. غلظت باکتری در این فرآورده معادل 1×10^{8} واحد کلنی در هر گرم بود. محصول دوم شامل فرآورده میکروبی پودری بود که در آن ۴ گونه از لاکتوباسیلوس‌های زیست یار شامل لاکتوباسیلوس پلانتاروم (*L. plantarum*)، لاکتوباسیلوس دلبروکی (*L. dlbrueckii*)، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (*L. acidophilus*) و لاکتوباسیلوس رامنوسوس (*L. rhamnosus*)، تحت عنوان تجاری پروتکسین، از شرکت نیکوتک تهیه شد. همچنین در این فرآورده میکروبی باکتری‌های دیگری نظیر بیفیدوباکتریوم بیفیدوم (*Bifidobacterium bifidum*)، استرپتوکوکوس سالیواریوس (*Streptococcus salivarius*) و انتروکوکوس فاسیوم (*Enterococcus faecium*) نیز بکار رفته بود. این محصول باکتریایی حاوی تعداد 2×10^{9} سلول باکتری در هر گرم بود.

باکتری های جدا شده از روده ماهی: مخلوط باکتریایی سوم شامل باکتری‌های ایزوله شده از روده لارو ماهیان خاویاری بود. ۲۰ قطعه از لاروهای تاس ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) و فیل ماهی (*Huso huso*) انتخاب و پس از ۲۰ ساعت گرسنگی، در عصاره گل میخک با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر بیهوش شدند. جهت رفع باکتری‌های سطح بدن لاروها، نمونه‌های ماهی در محلول بنزالکونیوم کلراید ۰/۱ درصد به مدت ۶۰ ثانیه قرار گرفت (۲۱) و سپس با آب مقطر استریل کاملاً شستشو شدند. ناحیه شکمی لاروها با استفاده از تیغ جراحی استریل شکافته و روده آنها پس از جداسازی، در هاون چینی استریل هموژن گردید. پس از تهیه هموژن با استفاده از محلول نمکی نرمال استریل (w/v Nacl ۰/۸۷ درصد) رقت‌های سریالی در دامنه 10^{-1} تا 10^{-8} تهیه گردید. از رقت‌های فوق تحت شرایط استریل توسط نمونه‌بردار، حجمی معادل ۱۰۰ میکرولیتر برداشته و به پلت حاوی محیط‌های کشت باسیلوس سرئوس آگار و تریپتیک سوی آگار منتقل و در سطح آن پخش گردیدند (۲۶). پلت‌های فوق به‌مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور با حرارت ۳۰ درجه سانتی‌گراد انکوباسیون و پرگنه‌های تشکیل شده مجددا در محیط کشت تریپتیک سوی آگار به‌صورت خالص کشت گردیدند. سرانجام در آزمایشگاه بهداشت و بیماری‌های آبزیان دانشگاه تهران، بر اساس برخی مشخصات فنوتیپی نظیر شکل باکتری، پرگنه‌ها و نیز براساس واکنش رنگ پذیری به گرم و همچنین برخی از تست‌های بیوشیمیایی استاندارد از جمله واکنش کاتالاز، اکسیداز، تخمیر گلوکز، آرابینور، اتولیزسیترات، واکنش ایندول تولید گازسولفید هیدروژن (H_2S)، تغییر رنگ متیل رد، تست وی - پی و مقاومت در برابر درصدهای مختلف شوری (صفر، دو و سه درصد) (۲۵)، جنس کورینه باکتریوم (*Corynebacterium sp*) و باسیلوس مایکودیس (*B. mycoides*) جدا سازی و سپس در محیط

کشت تریپتیک سوی براث، به‌صورت خالص کشت داده شدند (۲۵).

مکمل سازی جیره‌ها: جیره‌های آزمایشی در ۳ گروه (لاکتوباسیلوس‌ها، باسیلوس‌ها و باکتری‌های جدا شده از روده ماهیان خاویاری) و هر یک نیز در سه سطح با مخلوط‌های پروبیوتیکی مکمل‌سازی گردیدند. در گروه باسیلوس‌های تجاری، از فرآورده پودری آنها مقادیر ۰/۲، ۲ و ۲۰ میلی‌گرم برداشته و به‌طور جداگانه به ۳ ظرف شیشه‌ای حاوی ۰/۳ میلی‌لیتر آب مقطر استریل اضافه شد. این سوسپانسیون‌های باکتریایی به ازاء هرگرم از غذای بیومار (ساخت کشور فرانسه) اضافه شده و به‌صورت هموژن در آمدند. سر انجام ۳ جیره آزمایشی به ترتیب با غلظت ۲×۱۰^{۴} (۴/۳۰ لگاریتم واحد کلنی)، ۲×۱۰^{۵} (۵/۳۰ لگاریتم واحد کلنی) و ۲×۱۰^{۶} (۶/۳۰ لگاریتم واحد کلنی) باکتری در هر گرم جیره تهیه شد. افزایش سطوح باکتریایی به ازاء هر جیره معادل یک واحد لگاریتمی تعیین گردید. در گروه لاکتوباسیلوس‌ها نیز جیره‌های آزمایشی با همین غلظت‌های باکتریایی از طریق برداشت ۰/۰۲، ۰/۲ و ۲ میلی‌گرم از فرآورده پودری آنها و مطابق با روش ذکر شده، پس از تهیه سوسپانسیون و مخلوط با جیره‌ها و هموژن سازی آنها تهیه گردید. در خصوص باسیلوس‌های ایزوله شده از روده ماهیان خاویاری، باکتری‌های جدا شده از روده، پس از انجام کشت خالص در محیط کشت تریپتیک سوی براث (۹)، ۱۰ میلیتر از آن برداشته و در دستگاه سانتریفیوژ با دور rpm ۵۰۰۰ برای مدت ۱۰ دقیقه، سانتریفیوژ شده و سپس از عصاره بدست آمده، با استفاده از دستگاه اسپکترو فتومتر (مدل شیماتزو 160-UV)، در طول موج ۶۱۰ نانومتر، غلظت های نوری ۴/۳۰ لگاریتم واحد کلنی، ۵/۳۰ لگاریتم واحد کلنی و ۶/۳۰ لگاریتم واحد کلنی در هر میلی‌لیتر از سوسپانسیون باکتریایی تهیه گردید (۱۲). این سه غلظت باکتری تهیه شده از مخلوط دو باکتری ایزوله شده از ماهیان خاویاری، مطابق با روش ذکر شده به جیره‌ها افزوده و مکمل‌سازی گردیدند. جیره‌ها پس از یک‌نواخت شدن، در انکوباتور با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد (۱۰) در مدت ۵ ساعت خشک شد (۱۰ درصد رطوبت) و مطابق با نیاز لاروهای ماهی از الک‌های ریز چشمه (۰/۱ میلیمتری) عبور داده و در اختیار آنها قرار گرفت. جیره لاروهای ماهی در شاهد با همین فرآیند ساخته شد، ولی به آنها هیچ‌گونه باسیلوس پروبیوتیکی اضافه نگردید.

طرح آزمایش: جهت این آزمایش ۹ تیمار آزمایشی به همراه یک تیمار شاهد در نظر گرفته شد. لاروهای ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان از کارگاه تکثیر و پرورش ماهی مهندس ضمیری (واقع در شهر علی آباد کتول) تهیه و توسط تانکر فلزی و تحت شرایط اکسیژن رسانی، به آزمایشگاه هیدروبیولوژی مجتمع آموزش عالی گنبد کاووس منتقل گردیدند. تعداد ۴۰ تشتک فایبرگلاس گرد با حجم آبگیری ۱۲ لیتر در آزمایشگاه جایابی شدند. یک هفته پس از آداپتاسیون لاروها، همزمان با اتمام جذب کیسه زرد (وزن ۴±۸۵ میلی‌گرم) به تعداد ۵۰ قطعه به هر یک از حوضچه‌ها معرفی گردیدند. تیمارهای آزمایشی در ۳ گروه و هر یک با ۳ سطح در نظر گرفته شدند. برای هر تیمار ۴ تکرار در نظر گرفته شد. در گروه باسیلوس‌های زیست یار تجاری، لاروهای ماهی قزل‌آلا در قالب ۳ تیمار آزمایشی B_1، B_2 و B_3 که هریک بطور جداگانه به ترتیب از سه جیره مکمل شده با این باسیلوس‌ها در غلظت‌های (۴/۳۰ لگاریتم واحد کلنی)، (۵/۳۰ لگاریتم واحد کلنی) و (۶/۳۰ لگاریتم واحد کلنی) باکتری در هر گرم جیره، تغذیه نمودند. در گروه لاکتوباسیلوس‌های زیست یار نیز سه تیمار آزمایشی L_1، L_2، L_3 از جیره‌هایی با غلظت‌های (۴/۳۰ لگاریتم واحد کلنی)، (۵/۳۰ لگاریتم واحد کلنی) و (۶/۳۰ لگاریتم واحد کلنی) باکتری در هر گرم جیره، تغذیه نمودند. همچنین در گروه باسیلوس‌های جدا شده از ماهیان خاویاری نیز لاروهای ماهی در ۳ تیمار آزمایشی A_1، A_2، A_3 از جیره‌های مکمل شده با این باسیلوس‌ها به ترتیب در سه سطح (۴/۳۰ لگاریتم واحد کلنی)، (۵/۳۰ لگاریتم واحد کلنی) و (۶/۳۰ لگاریتم واحد کلنی) باکتری در هر گرم جیره، تغذیه گردیدند. نرخ تغذیه لاروهای ماهی بر اساس جداول استاندارد غذایی (دمای آب - وزن ماهی) به میزان ۱۰ درصد وزن بدن و در ۶ وعده غذایی در روز صورت گرفت (۱۷). در تیمار شاهد لاروهای قزل‌آلای رنگین‌کمان از جیره فاقد باسیلوس‌های زیست یار تغذیه شدند. در هر روز باقیمانده غذایی با استفاده از میکرو پی پت از حوضچه‌ها جمع‌آوری و از کل غذای عرضه شده کسر و غذای خورده شده روزانه محاسبه گردید (۱۰). این تحقیق در بهار ۱۳۸۷ در آزمایشگاه هیدروبیولوژی دانشکده کشاورزی مجتمع دانشگاهی گنبد کاووس به مدت ۳۲ روز کاری صورت پذیرفت.

معیارهای رشد: زیست سنجی ماهیان به فواصل هر ۵ روز یک‌بار صورت گرفت و بر مبنای ۸ درصد از وزن توده زنده لاروهای ماهی میزان جیره روزانه تعیین گردید. در انتهای دوره آزمایش وزن و طول بدن لاروهای ماهی در هر حوضچه پس از بیهوشی در عصاره گل میخک (غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر) با استفاده از ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۱ گرم و کولیس ۰/۱ میلیمتر اندازه‌گیری و برخی از معیارهای رشد تعیین شدند.

نرخ رشد ویژه (SGR) (۱۴) $RSG\%=[LnWt_2-LnWt_1/t_2-t_1]\times100$

$LnWt_2$ = لگاریتم طبیعی وزن نهایی ماهی (گرم)، $LnWt_1$ = لگاریتم طبیعی وزن اولیه ماهی، t_2-t_1 = طول دوره آزمایش (روز)، ضریب تبدیل غذایی (FCR)، (۷) FCR = g dry feed eaten / g live weight gain، غذای خورده شده (گرم) = g feed eaten، وزن بدست آمده = gain g Live weight، کارآیی تبدیل غذا (FE)، (۷) $FE\%=[g\ live\ weight\ gain/g\ Dry\ feed\ eaten]\times100$، وزن بدست آمده ماهی (گرم) = gain g live weight، غذای خشک خورده شده (گرم) = g feed eaten، ضریب رشد حرارتی (TGC)، (۷) $TGC\ \%=[BW2^{0.333}-BW1^{0.333}/\Sigma^{0C}_{(day-\ degrees)}]\times100$، وزن توده زنده ثانویه ماهی (گرم) = BW2، وزن توده زنده اولیه ماهی (گرم) = BW1، مجموع میانگین درجه حرارت های روزانه = $\Sigma^{0C}_{(day-\ degrees)}$، نسبت کارآیی پروتئین (PER)، (۱۴) $PER=g\ live\ weight\ gain/g\ protein\ intake$، وزن بدست آمده (گرم) = gain

جدول ۱- معیارهای رشد لارو ماهی قزل‌آلای تغذیه شده از جیره‌های آزمایشی مکمل شده با ۳ مخلوط پروبیوتیکی. حروف لاتین غیر مشترک در هر ستون نشانه معنی‌دار بودن می‌باشد($p<۰/۰۵$).

معیارهای رشد / تیمار (لاروقزل آلا)	وزن نهایی لاروقزل آلا (گرم)	ضریب تبدیل غذایی (FCR)	کارآیی تبدیل غذا (FE %)	ضریب رشد حرارتی (TGC%)	نرخ رشد ویژه (SGR %)
شاهد(جیره مکمل نشده با پروبیوتیکهای باکتریایی)	۱/۵۶±۰/۳۵ C	C۱/۰۳±۰/۲۹ AB	۱۰۳/۲۸±۲۳/۶۳ D	۳/۲۵±۰/۳۹ C	۴/۲۴±۰/۷۳ B
L^1 (گرم / Log CFU ۴/۳۰)	۱/۶۷±۰/۵۰ A	A۰/۹۸±۰/۳۴ ABC	۱۱۰/۷۴±۳۳/۴۵ ABC	۳/۳۴±۰/۴۴ BC	۴/۴۲±۰/۸۹ AB
L^2 (گرم /Log CFU ۵/۳۰)	۱/۶۵±۰/۴۰ ABC	۰/۹۷±۰/۲۶ ABC	۱۰۹/۳۳±۳۶/۵۸ ABCD	۳/۳۴±۰/۳۶ BC	۴/۴۱±۰/۷۷ AB
L^3 (گرم /Log CFU ۶/۳۰)	۱/۷۱±۰/۳۵ A	۰/۹۲±۰/۲۰ C	۱۱۳/۳۵±۲۳/۵۷ B	۳/۴۰±۰/۳۲ AB	۴/۵۵±۰/۶۶ A
B^1 (گرم /Log CFU ۴/۳۰)	۱/۶۷±۰/۴۴ AB	۱/۰۰±۰/۴۵ AB	۱۱۰/۵۳±۲۹/۴۸ ABC	۳/۳۳±۰/۵۱ BC	۴/۴۰±۰/۹۸ AB
B^2 (گرم /Log CFU ۵/۳۰)	۱/۶۹±۰/۴۷ A	A۰/۹۹±۰/۳۷ ABC	۱۱۱/۵۴±۳۱/۵۹ B	۳/۳۵±۰/۴۶ BC	۴/۴۳±۰/۹۵ AB
B^3 (گرم /Log CFU ۶/۳۰)	۱/۵۸±۰/۴۱ BC	BC۱/۰۳±۰/۳۲ A	۱۰۴/۲۱±۲۷/۲۳ CD	۳/۲۵±۰/۴۰ C	۴/۲۵±۰/۸۴ B
A^1 (گرم /Log CFU ۴/۳۰)	۱/۷۵±۰/۴۰ A	A۰/۹۲±۰/۳۳ C	۱۱۶/۰۸±۲۵/۵۶ A	۳/۴۴±۰/۳۲ A	۴/۶۱±۰/۷۷ A
A^2 (گرم /Log CFU ۵/۳۰)	۱/۷۴±۰/۴۸ A	A۰/۹۵±۰/۳۳ BC	۱۱۳/۸۰±۲۷/۰۹ B	۳/۳۹±۰/۴۲ AB	۴/۵۳±۰/۸۵ A
A^3 (گرم /LogCFU ۶/۳۰)	۱/۶۴±۰/۳۹ ABC	ABC۰/۹۸±۰/۲۸ ABC	۱۰۸/۸۵±۲۵/۹۴ BCD	۳/۳۳±۰/۳۷ BC	۴/۴۰±۰/۷۷ AB

g live weight، پروتئین خورده شده (گرم) = g Protein intake، نسبت کارآیی چربی (LER)، (۱۴) = g live weight gain / g lipid intake LER، وزن بدست آمده (گرم) = g live weight gain، چربی خورده شده (گرم) = g Lipid intake.

معیارهای کیفی آب: در طول دوره آزمایش با استفاده از هواده الکتریکی (مدل هایلا)، اکسیژن محلول در سطح ۷/۵±۰/۶۵ میلی گرم درلیتر نگهداری گردید. اکسیژن محلول با استفاده از دستگاه اکسیژن سنج، پی -اچ آب با استفاده از دستگاه واترچکر مدل هانا روزانه اندازه گیری گردید. مقادیر فسفات (PO4)، سولفات (SO4)، نیتریت (NO2) و نیترات (NO3) در هر هفته با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومترمدل حک انجام گردید. همچنین اندازه‌گیری درجه حرارت آب نیز در هر روز هنگام صبح و عصر انجام گرفت.

سنجش مقاومت لاروهای ماهی: در انتهای دوره آزمایش (۳۲ روز) به منظور بررسی میزان مقاومت نوزادهای ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با هریک از جیره‌های مورد آزمون، تعداد ۳۰ قطعه از هر حوضچه نمونه برداری شده و با تراکم ۴ قطعه در هر لیتر، به‌طور مجزا تحت آزمایش مقابله با شوک‌های حرارتی (۳۳درجه سانتی‌گراد)، شوری (۴۰ گرم در لیتر)، قلیائیت (pH=۱۲) و اسیدیته (pH=۲) قرار گرفتند. با استفاده از بخاری الکتریکی مدرج، دمای مورد نظر تنظیم گردید. محلول شوری نیز با استفاده از ۴۰ گرم در لیتر نمک تهیه شد. محلول های قلیایی و اسیدی با استفاده از سود (NaOH) و اسید کلریدریک غلیظ تهیه شده و با استفاده از دستگاهای شوری سنج و پی -اچ مترمدل هانا سنجش و کنترل گردیدند.

تجزیه و تحلیل آماری: تجزیه و تحلیل آماری داده‌های بدست آمده در ارتباط با معیارهای رشد و آزمایش‌های مقابله با استرس، با استفاده از آنالیزواریانس یک‌طرفه، در قالب طرح کاملاً تصادفی و با استفاده از نرم افزار SPSS-16 و بر اساس آزمون دانکن در سطح ۰/۰۵ انجام پذیرفت.

نتایج

نتایج تأثیر پروبیوتیک‌ها بر پارامترهای رشد لاروهای ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در جدول ۱ آورده شده است. در ارتباط با وزن نهایی لاروهای ماهی، نتایج بهتری در تیمارهای A_1، B_2 و L_3 مشاهده گردید که درمقایسه

جدول ۲- تغییرات مدت زمان بقاء لارو ماهی قزل آلای تغذیه شده از جیره های آزمایشی در مقابله با استرس های مختلف. حروف لاتین غیر مشترک در هر ستون نشانه معنی دار بودن می‌باشد(p<۰/۰۵).

استرس / تیمار (لارو قزل آلا)	استرس حرارتی (C Ú) (ثانیه)	استرس شوری (۴۰ گرم در لیتر) (ثانیه)	استرس پی -اچ اسیدی (pH=۲)(ثانیه)	استرس پی -اچ قلیایی (۱۲= pH)(ثانیه)
شاهد(جیره مکمل نشده با پروبیوتیکهای باکتریایی)	۶۲/۶۷±۹/۳۹ B	۱۹۵۰/۶۶±۱۸/۷۷ A	۲۵۱/۰۰±۴۸/۸۹ F	۱۶۰/۰۰±۱۷/۴۴ D
L^1 (گرم / Log CFU ۴/۳۰)	۷۰/۳۳±۸/۵۰ B	۱۹۸۱/۶۷±۴۳۱/۵۲ A	۲۸۶/۰۰±۶/۰۰ E	۱۹۸/۳۳±۲۰/۲۰ C
L^2 (گرم /Log CFU ۵/۳۰)	۷۶/۶۷±۱۰/۱۱ AB	۱۹۵۵/۶۷±۲۷۷/۷۴ A	۳۰۲/۶۷±۱۶/۱۷ DE	۲۱۲/۶۷±۱۶/۲۸ BC
L^3 (گرم /Log CFU ۶/۳۰)	۷۰/۰۰±۳/۰۰ B	۱۸۲۶/۰۰±۲۱۲/۴۲ A	۳۱۰/۰۰±۳/۶۰ DE	۲۱۲/۶۷±۶/۸۱ BC
B^1 (گرم /Log CFU ۴/۳۰)	۹۴/۳۳±۲۸/۲۹ A	۲۰۱۴/۰۰±۳۴۰/۸۰ A	۳۳۱/۳۳±۷/۰۹ CD	۲۲۳/۶۷±۱۴/۵۷ BC
B^2 (گرم /Log CFU ۵/۳۰)	۷۰/۰۰±۴/۳۵ B	۲۰۴۰/۶۷±۱۸۶/۸۰ A	۳۱۴/۰۰±۳۲/۸۰ DE	۲۲۶/۶۷±۶/۶۷ BC
B^3 (گرم /Log CFU ۶/۳۰)	۷۸/۳۳±۱۲/۸۵ AB	۲۰۱۹/۰۰±۱۷۰/۰۰ A	۳۵۸/۰۰±۲۸/۰۰ ABC	۲۴۹/۰۰±۱۰/۸۱ AB
A^1 (گرم /Log CFU ۴/۳۰)	۷۷/۶۷±۴/۰۱ AB	۱۸۸۹/۳۳±۱۷۴/۸۱ A	۳۷۴/۰۰±۲۰/۰۰ A	۲۷۵/۶۷±۵۷/۷۴ A
A^2 (گرم /Log CFU ۵/۳۰)	۸۲/۰۰±۶/۰۸ AB	۱۸۲۹/۳۳±۲۱۵/۵۰ A	۳۳۷/۰۰±۲۸/۱۶ BCD	۲۲۰/۶۷±۶/۹۳ BC
A^3 (گرم /LogCFU ۶/۳۰)	۷۲/۳۳±۶/۰۵ AB	۱۹۶۵/۶۷±۱۹۲/۸۱ A	۳۷۱/۳۳±۲۰/۴۳ AB	۲۳۸/۳۲±۱۴/۰۵ ABC

با شاهد و دیگر تیمارهای آزمایشی در سطح بالاتری قرار داشتند و اختلاف معنی‌داری نیز با آنها نشان دادند (p<۰/۰۵). کمترین متوسط وزن بدست آمده در شاهد (۱/۵۶±۰/۳۵ گرم) و بیشترین متوسط وزن لارو ماهی (۱/۷۵ ±۰/۴ گرم) در تیمار A_1(لاروهای تغذیه شده از جیره مکمل شده با باسیلوس‌های جدا شده از روده ماهیان خاویاری با غلظت ۴/۳۱ لگاریتم واحد کلنی در هر گرم) بود.

ضریب تبدیل غذایی (FCR) در تیمارهای آزمایشی کاهش یافت و در تیمارهای A_1 (۰/۹۲± ۰/۳۳) و L_3 (۰/۹۲±۰/۲۰) نتایج بهتری حاصل گردیده و اختلاف معنی‌داری با شاهد و تیمارهای B_1، B_3 بدست آمد (p<۰/۰۵)، بیشترین مقدار آن در تیمار B_3(۱/۰۳±۰/۳۲) و شاهد (۱/۰۳±۰/۳۲) تعیین گردید. تیمارهای L_1، L_2، B_1، B_2 و A_3 با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نداشتند (p>۰/۰۵). همچنین کارآیی تغذیه (FE درصد) در تیمار آزمایشی A_1(۱۱۶/۰۸±۲۵/۵۶ درصد) در بالاترین سطح قرار داشت و با تیمار شاهد و تیمارهای، A_2، A_3، B_1، B_3 و L_3 اختلاف معنی‌داری نشان نداد (p>۰/۰۵). پائین‌ترین سطح این پارامتر در تیمار شاهد (۱۰۳/۲۸±۲۳/۶۳) درصد بدست آمد. ضریب رشد حرارتی (TGC درصد) برخی از تیمارهای آزمایشی از افزایش بسیار خوبی برخوردار بود و با تیمار شاهد اختلاف معنی‌دار نشان داد (p>۰/۰۵). همچنین بالاترین متوسط آن در تیمار A_1(۳/۴۴±۰/۳۲ درصد) و کمترین متوسط آن در شاهد و B_3(۳/۲۵±۰/۳۹ درصد) محاسبه گردید. بین تیمارهای B_1، B_2، L_1، L_2، L_3، A_2 و A_3 در ارتباط با این پارامتر رشد اختلاف معنی‌داری بدست نیامد (p>۰/۰۵). نرخ رشد ویژه (SGR درصد) در لارو ماهیان قزل‌آلا با حضور باکتری‌های زیست یار در برخی از تیمارها به‌خوبی ارتقاء یافت. بالاترین عملکرد نرخ رشد ویژه در لاروهای ماهی تغذیه شده از جیره‌های مکملی با باسیلوس‌های ایزوله شده از روده ماهیان خاویاری در سطوح ۴/۳۰ و ۵/۳۰ لگاریتم واحد کلنی در گرم مربوط به تیمارهای A_1 و A_2 و همچنین لاروهای ماهی تغذیه شده از جیره مکمل شده با لاکتوباسیلوس‌های زیست یار در سطح ۶/۳۰ لگاریتم باکتری در گرم (تیمار L_3) بدست آمد و با شاهد اختلاف معنی‌دار نشان دادند(p>۰/۰۵).

سطوح مقاومت لاروهای ماهی قزل آلا در مقابله با این استرس ها، با یکدیگر متفاوت بود و تقریبا در تمامی تیمارهای آزمایشی تحت تأثیر زیست یارها، به‌طور معنی‌دار بیشتر از شاهد بودند (p>۰/۰۵).

در ارتباط با استرس شوری هیچ اختلاف معنی داری بین تیمارهای آزمایشی با یکدیگر و شاهد مشاهده نگردید (p>۰/۰۵). همچنین مقاومت لاروهای ماهی در تیمارهای مختلف نسبت به استرس پی - اچ اسیدی در مقایسه با پی - اچ بازی بیشتر بود (جدول ۲). سرعت تلفات لاروهای ماهی قزل‌آلای تیمار شاهد، در مقابله با استرس حرارت در بالاترین مقدار بود و از کمترین متوسط زمان بقاء (۶۲/۶۷±۹/۳۹ ثانیه) برخوردار بودند. در حالی‌که بالاترین میزان زمان بقاء لاروهای ماهی (بیشترین متوسط مقاومت) در تیمار B_1 (تغذیه شده از جیره‌های مکمل شده با باسیلوس‌های زیست یار تجاری به میزان ۴/۳۰ لگاریتم واحد کلنی در هر گرم جیره) معادل ۹۴/۳۳±۲۸/۲۹ ثانیه بدست آمد و با شاهد و تیمارهای L_1، L_3 و B_2 نیز اختلاف معنی‌دار نشان داد (p>۰/۰۵). بالاترین میزان زمان بقاء لاروهای ماهی در مقابله با استرس پی-اچ اسیدی (pH=۲)، در تیمار A_1 (۳۷۴±۰/۲۰ ثانیه) بدست آمد و کمترین متوسط آن در تیمار شاهد (۲۵۱±۴۸/۸۹ ثانیه) تعیین گردید. تمامی تیمارهای تحت تاثیر باکتری‌ها با شاهد اختلاف معنی‌دار داشتند (p>۰/۰۵). نتایج آزمایش‌های مقابله با استرس پی-اچ قلیایی (pH=۱۲) نیز نشان داد که بیشترین متوسط زمان زنده ماندن لاروهای ماهی قزل آلا در تیمار A_1 مشاهده گردید و با تیمارهای شاهد و L_1، L_2، L_3، B_1، B_2 و A_2 اختلاف معنی‌داری را نشان داد (p>۰/۰۵). سنجش پارامترهای فیزیکوشیمیایی آب ورودی به حوضچه‌های پرورشی لاروهای ماهی قزل‌آلا، در مرحله پرورش ۳۲ روزه انجام پذیرفت و مقادیر اکسیژن: ۷/۷۵±۰/۳۲ میلی‌گرم در لیتر، دما: ۱۹/۳۷۰±۱/۳۵ درجه سانتیگراد، اسیدیته: ۷/۳۱±۰/۱۸، فسفات: ۰/۳۶ ± ۰/۰۸ میلی‌گرم بر لیتر، سولفات ۱۱۰۴±۱۵۴ میلی‌گرم بر لیتر، نیتریت ۰/۰۱۳±۰/۰۰۱ و نیترات ۱۵/۸۴±۰/۲ میلی‌گرم بر لیتر در طول دوره آزمایش ثبت گردید.

بحث

تأثیر باکتری‌های زیست یار تجاری در خصوص ارتقاء معیارهای رشد و افزایش بقاء در ماهیان پرورشی، در تحقیق‌های زیادی به اثبات رسیده است (۵،۲۳). در بین زیست یارهای بکار گرفته شده در این آزمایش، باسیلوس های جدا شده از روده ماهیان خاویاری از عملکرد رشد بهتری برخوردار بودند. ضریب تبدیل غذایی (FCR) که یکی از مهم‌ترین شاخص های تغذیه ای است با بکارگیری باکتری‌های زیست یار بطور قابل توجهی در تیمارهای آزمایشی کاهش یافت و نتایج بهتر آن در تیمارهای A_1 (۰/۹۲±۰/۳۳) و L_3 (۰/۹۲±۰/۲۰) مشاهده گردید. در همین راستا Jafaryan و همکاران در سال ۲۰۰۹ نشان دادند که بکارگیری مخلوط باسیلوس های پروبیوتیکی تجاری در جیره‌های آزمایشی لارو ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان میزان ضریب تبدیل غذایی را از ۱/۷۴ به ۱/۵۹ کاهش داد (۱۸). همچنین در تائید یافته‌های این تحقیق، نتایج مشابهی را Yanbo و Zirong در سال ۲۰۰۶ در مکمل سازی جیره ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) با باسیلوس پروبیوتیکی لیوفلیزه (*Bacillus sp*) به‌دست آوردند، به‌طوری‌که ضریب تبدیل غذایی نیز به‌طور معنی‌دار از ۲/۴۶ به ۲/۱۱ کاهش یافت. Bagheri و همکاران در سال ۲۰۰۸، حد اقل ضریب تبدیل غذایی (۰/۹) را در لاروهای قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با جیره‌های مکمل شده با باسیلوس سابتیلیس و لیکنی فورمیس در سطح $۳/۸ \times ۱۰^{۹}$ باکتری در هر گرم غذا بدست آوردند.

در این تحقیق وزن نهایی لاروهای ماهی در تیمارهای آزمایشی در مقایسه با شاهد افزایش یافت و با آن اختلاف معنی‌دار نشان داد. بهترین نتیجه از طریق مکمل‌سازی جیره‌ها با باسیلوس‌های جدا شده از روده ماهیان خاویاری و در غلظت ۴/۳۰ لگاریتم واحد کلنی در هر گرم جیره حاصل گردید. همسوی با این نتایج، Ghosh و همکاران در سال ۲۰۰۴ (۱۱) تائید نمودند که باسیلوس سیرکولانس ایزوله شده از روده ماهی روهو (*Labeo rohita*) در سطحی معادل گرم غذا/CFU ۲×۱۰^{۸}، وزن بچه ماهیان را از ۳/۴۵ به ۴/۶۱ گرم رسانید. همسوی با این نتایج Ghosh و همکاران در سال ۲۰۰۲ نشان دادند که باسیلوس های جدا شده از روده ماهی روهو در مقایسه با باسیلوس‌های تجاری، تأثیر بالایی در افزایش وزن لاروهای این ماهی دارند (۹).

باسیلوس‌های جدا شده از روده ماهیان خاویاری در مقایسه با باسیلوس‌ها و لاکتوباسیلوس‌های تجاری درافزایش نرخ رشد ویژه از عملکرد بهتری برخوردار بودند، بهترین میزان نرخ رشد ویژه در تیمار A_1 بدست آمد. همچنین لاکتوباسیلوس‌های تجاری مکمل شده در سطحی معادل ۶/۳۰ لگاریتم واحد کلنی در هر گرم، در مقایسه با باسیلوس‌های تجاری، از عملکرد بهتری برخوردار بودند. نتایج مشابهی توسط Ghosh و همکاران در سال ۲۰۰۴ در مکمل سازی جیره‌های مورد تغذیه لارو ماهی روهو در نرخی معادل گرم غذا/CFU $۱۰^{۸}$ بدست آمد، به‌طوری‌که نرخ رشد ویژه از ۱۰/۸۹ به ۱۷/۷۹ ارتقاء یافت. همسوی با نتایج تحقیق حاضر، Jafaryan و همکاران در سال ۲۰۰۹ نشان دادند که نرخ رشد ویژه لاروهای ماهی قزل آلای رنگین کمان تغذیه شده از جیره‌های مکمل شده با غلظت ۴×۱۰^{۷} اسپور باسیلوس لیشنی فورمیس و باسیلوس لتروسپروس (*B. laterosporus*) در هر گرم غذا، از ۵/۸۴ به ۶/۴۱ درصد وزن بدن در روز افزایش یافت (۲۱). در همین خصوص Ghosh و همکاران در سال ۲۰۰۲ عنوان کردند که باسیلوس‌های جدا شده از روده ماهیان پرورشی عملکرد بهتری را در مقایسه با باسیلوس‌های تجاری دارند.

پروبیوتیک در این تحقیق، ضریب رشد حرارتی را در برخی از تیمارهای آزمایشی افزایش دادند. بهترین نتیجه از طریق باسیلوس‌های جدا شده از روده ماهیان خاویاری و در غلظت مکمل‌سازی ۴/۳۰ لگاریتم واحد کلنی در هر گرم جیره حاصل گردید. در حالی‌که باسیلوس‌ها و لاکتوباسیلوس‌های تجاری در مقایسه با تیمار شاهد، به‌طور معنی‌داری موجب افزایش این پارامتر رشد نگردیدند. در همین خصوص Balcazar و همکاران در سال ۲۰۰۷ بیان کردند که تفاوت عملکرد باکتری‌های

پروبیوتیکی به‌مواردی نظیر ژنتیک، تغذیه و فاکتورهای محیطی می‌تواند بستگی داشته باشد. همچنین Bairagi و همکاران در سال ۲۰۰۲ تائید کردند که فعالیت‌های لیپولیتیک، آمیلولیتیک و پروتئولیتیک باکتری‌های زیست یار موجب افزایش قابلیت هضم و جذب غذا در روده میزبان شده و در نتیجه معیارهای رشد و تغذیه ارتقاء می‌یابد.

باسیلوس‌های زیست یار در آزمایش مقابله با استرس‌ها، مقاومت لاروهای ماهی را در تحمل استرس‌ها بالا برده و طول مدت زنده ماندن آنها افزایش دادند. در حالی‌که در شوک شوری، نتایج معنی‌داری در زمان زنده ماندن لاروهای ماهی بدست نیامد. در استرس حرارتی تیمار B1 توانست تفاوت معنی‌داری را با شاهد و دیگر تیمارها نشان دهد. در موافقت با این نتایج، باسیلوس تویوئی (*Bacillus toyoi*) میزان بقاء لارو ماهی توربوت (*Scophthalmus maximus*) را در حد معنی‌دار افزایش داد (۸). همسوی با این نتایج، Carnevali و همکاران در سال ۲۰۰۴ در استفاده از لاکتوباسیلوس فروکتیورانس و لاکتوباسیلوس پلانتاروم نتایج خوبی را در افزایش بقاء لارو شانک ماهی بدست آوردند. باسیلوس سیرکولانس بکار رفته در جیره ماهی روهو، درصد بقاء را از ۸۱/۶۶ به ۹۷/۳۳ درصد افزایش داد (۱۰). شواهدی وجود دارد که باکتری‌های زیست یار با تحریک سیستم ایمنی میزبان موجب افزایش مقاومت در برابر استرس‌های محیطی گشته و درصد بقاء را بالا می‌برند (۱۶،۲۲،۲۴). نتایج مشابهی در بکارگیری باسیلوس‌های پروبیوتیکی در تغذیه لارو ماهی قزل‌آلا با دافنی فریز شده به‌دست آمد (۱۸).

این باکتری‌ها با تحریک سیستم ایمنی میزبان از طریق ترشح ترکیبات متابولیکی و افزایش فعالیت لیزوزیمی و ایمونوگلوبین، پاسخ‌های ایمنی ماهی را در مقابل محرک‌های محیطی افزایش می‌دهند (۱۵). در تائید یافته‌های این تحقیق، Balcazar و همکاران در سال ۲۰۰۷ نشان دادند که زیست یارهای لاکتوباسیلی موجب افزایش پاسخ‌های ایمنی ماهیان شده و نرخ بقاء بالاتری را به‌همراه دارند. این شواهد نشان می‌دهند زیست یارها در افزایش فعالیت سیستم ایمنی ماهیان و مقاوم‌سازی آنها در مقابل عوامل بیماری‌زا و محرک‌های محیطی تأثیر بسیار مثبتی را از خود نشان می‌دهند. در همین خصوص Panigrahi و همکاران در سال ۲۰۰۴ اثبات نمودند که فعالیت لیزوزیمی سرم ماهی قزل آلای رنگین‌کمان با بکارگیری لاکتوباسیلوس رامانوسوس (*Lactobacillus rhamnosus*) افزایش یافت.

نتایج این تحقیق روشن ساخت که سطوح متفاوتی از زیست یارها، توانایی‌های مختلفی را در تاثیرگذاری بر عملکرد رشد و افزایش مقاومت لارو ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در مقابل محرک‌های استرس‌زای محیطی داشته و بر حسب غلظت‌های مختلف مورد استفاده، این تأثیر متغیر می‌باشد و در این میان باسیلوس‌های زیست یار جدا شده از روده ماهیان خاویاری به‌عنوان باکتری‌های زیست یار بومی در مقایسه با گونه‌های تجاری و یا غیربومی از عملکرد بهتری برخوردار بودند.

References

1. 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.
2. Bagheri,T., Hedayati, S. A., Yavari, V., Alizadeh, M., 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 J. Fish. Aqua. Sci. 8:43-48.
3. Bairagi , A. , Sarkar Ghosh , k., Sen , S.K. Ray, A.K . (2002). Enzyme producing bacterial flora isolated from fish digestive tracts . Aqua. Int. 10 : 109-121.
4. Balcazar, J. L., Balas, I., Ruiz-Zarzuela, I., Vendrell, D., Calvo, A. C., Marques, I., Girons, O., Muzquiz. L. (2007) Changes in itestinal microbiota and imune response following probiotic administration in brown trout (Salmo trutta). Br. J. Nutr. 97: 522-527.
5. Bogut, I., Milakovic, Z., Bukvic, Z., Brkic, S. Zimmer, R. (1998) Influence of probiotic Streptococcus faecium on growth and content of intestinal microfolora in *Cyprinus carpio*. Czech J.Anim.Sci. 8: 231-235.
6. Carnevali ,O., Zamponi ,M. C. , Sulpizo,P. , Rollo , A. Nardi , M. , Orpianesi ,C. ,Silvi ,S. ,Caggiano, M. ,Polzonetti,A. M., Cresci, A. (2004) Administration of probiotic strain to improve sea bream wellenss during development. Agua. Int. 12:377-386 .
7. De Silva, S.S., Anderson, T.A. (1995). The effect of ration on growth ratio. ln: Fish Nutrition in Aquaculture. Chapman , London.UK. p:319.
8. Gatesoupe, F. J. (1999) Review: The use of probiotics in aquaculture. Aquaculture. 180: 147 - 165 .
9. Ghosh, k., Sen, S.K., Ray, A. K. (2002a) Characterization of Bacillus Isolated from the gut of Rohu, Labeo rohita, fingerlings and its significance in digestion . Appl. Aqua. 12: 33-42.
10. Ghosh, k., Sen, S.K., Ray, A. K. (2002b) Growth and survival of rohu , Labeo rohita (Hamilton ,1822) spawn feed diets formented with intestinal bacterium, Bacillus circulans. Acta. Ichthyo. Pistor. 32(2):83-92.

11. Ghosh, k., S en, S.K., Ray, A. K. (2004) Growth and survival of rohu, Labeo rohita (Hamilton,1822) spawn feed diets formented with intestine bacterium, Bacillus circulans. Acta. Ichthyo. Pistor. 34(2):155-165.
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.
13. Gullian, M., Thompson, F., Rodriguez, J. (2004) Selection of probiotic bacteria and study of their immunostimulatory effect in *Penneaus vannamei*. Aquaculture. 233:1-14.
14. Hevroy, E. M., Espe,M., Waagbo, R., Sandness,k., Rund, M. G.-I., Hemre. (2005) Nutrition utilization in Atlantic salmon (Salmo salar L) fed increased level of fish protein hydrolysate during a period of fast growth. Aqua. Nutri. 11:301-313.
15. Irianto, A., Austin, B. (2002) Probiotic in aquaculture, J. Fish. Dis. 25: 1-10.
16. 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.
17. Jafaryan, H., Takami, G. A., Kamali, A., Soltani, H., Habibirezaei, M. (2007) The use of probiotic bacillus bioencapsulated with Artemia urmiana nauplii for the growth and survival in *Acipenser persicus* larva. J. Agri. Sci. Natur. Res. 14: 87-97.
18. Jafaryan, H., Taati keley, M., Nazarpoor, A.R. (2009) The study effect of probioic bacillus on growth of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) larvae via Supplementation with meal of *Daphnia magna*. J. Agri. Sci. Natur. Res. 16: 48-59.
19. 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.
20. Kim, D. H., Austin, B. (2006) Innate immune responses in rainbow trout (Onchorhynchus mykiss , Walbaum) induced by probiotics. Fish Shelfish. Immunol. 21:513-524.
21. 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.
22. 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.
23. Noh, S.H., Han, K., Won, T.H., Choi, Y.J. (1994) Effect of antibiotics, enzyme, yeast culture and probiotics on the growth performance of Israeli carp.Korean J.Anim.Sci. 36:480-486.
24. 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.
25. Peter, H., Sneath, A. (1986) Bergeys manual of systematic Bacteriology.
26. 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.
27. 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.
28. Ziaei-Nejad, S., Habibi Rezaei, M., Azari Takami, G., Lovett,D.L., Mirvaghefi, A.R. Shakouri, M. (2006) The effect of Bacillus spp. Bacteria used as probiotics on digestive enzyme activity, survival and growth in the Indian white shrimp *Fenneropenaeus indicus*. Aquaculture. 252: 516-524.

J.Vet.Res. 66,1:39-46,2011

THE COMPARISON OF PERFORMANCE OF ISOLATED STURGEON GUT BACILLUS (*ACIPENSER PERSICUS* AND *HUSO HUSO*) WITH COMMERCIAL MICROBIAL PRODUCTS ON GROWTH AND SURVIVAL OF RAINBOW TROUT (*ONCORHYNCHUS MYKIS*) LARVAE

Jafaryan, H.[1*], Soltani, M.[2], Taati, M.[3], Nazarpoor, A.[4], Morovat, R.[5]

[1]*Department of fisheries and aquatic, Gonbad Institutes of Higher Education, Gonbade kavoos-Iran.*

[2]*Department of aquatic animal health, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran- Iran.*

[3]*Department of Fiheries, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan- Iran.*

[4]*Departement of Fisheries, Faculty of Agriculture, University of Thehran, Karaj- Iran.*

[5]*Expert of Fishery, Gonbad Institutes of Higher Education, Gonbade kavoos- Iran.*

(Received 18 January 2010 , Accepted 6 September 2010)

Abstract:

The use of probiotic bacteria has been suggested as an important strategy to accomplish reproductible outputs through biocontrol in cultivation systems for marine fish larvae and crustaceans. The bacterial flora in the larval gut originates from bacteria associated with the eggs, the water in the rearing tanks, and the live food. This study was aimed to determine the effect of commercial and Autochthonous probiotics on growth parameters and survival rate of Rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) larvae. Trout larvae (85±4 mg) were fed diets of Biomar. The experimental diets were supplemented with three blends of probiotic bacteria including lactobacillus, commercial Bacillus and isolated sturgeon gut bacillus in three levels (4.30, 5.30 and 6.30 LogCFU/g of feed) and were fed by Rainbow trout (larvae in 9 experimental treatments. The control treatment was fed on nonsupplemented diet. The experiment was carried out in completely random design. At the end of the period the fishes were biometeried and tested by thermal, salinity, alkalinity and acidity stress. The highest specific growth rate, thermal growth coefficient and feed conversion efficiency were found in treatment A1. The treatments A1, A2, B1, B2, L1 and L3 had significant difference with control (p 0.05). The beter feed conversion ratio was obtained in treatment A1 and L3. In challeng test of thermal stress, maximum of survival time was obtained in treatment B1. The results of the challenge tests with stress of alkalinity and acidity indicated that the best survival time was in treatment A1 and total experimeal treatments had significant difference with control (p 0.05). No significant difference in salinity challenge test was observed between the treatments (p>0.05).

Key words: probiotic bacteria, challenge test, survival time, rainbow trout larvae, specific growth rate.

***Corresponding author's email: Hojat.jafarian@gmail.com, Tel: 0172-2293401, Fax: 0172-2293401**