

بررسی عملکرد رشد لارو ماهی قزل آلائی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در استفاده از سطوح متفاوت پروبیوتیک و آهن مکمل شده در جیره غذایی

سمیرا ناصری^۱، شعبانعلی نظامی بلوچی^۲، حسین خارا^۳، علی فرزانه^۴

غلامرضا لشتو آقایی^۵ و متین شکوری^۶

^{۱،۳} دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، دانشکده منابع طبیعی، گروه شیلات، لاهیجان، ایران.

^{۲،۴،۵،۶} مرکز تحقیقات ماهیان سردآبی ایران، تنکابن، ایران

Email: samiranaseri@yahoo.com

چکیده

پروبیوتیک‌ها میکروارگانیسم‌های مفیدی هستند که در دستگاه گوارش موجودات بصورت کلونی در آمده و اثرات مفیدی بر سلامتی و رشد موجود میزبان دارند. به منظور استفاده بهینه از این میکروارگانیسم‌ها، در تحقیق جاری اثر پروبیوتیک بیوپلوس ۲-ب^۱ و ترکیب آهن^۲ بر رشد لارو ماهی قزل آلائی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) مورد بررسی قرار گرفت. به این منظور تعداد ۲۷۰۰ لارو (میانگین وزنی ۰/۱۳۵ گرم) در ۸ گروه ۱۰۰ تایی و یک تیمار شاهد با ۳ تکرار به مدت ۳۰ روز بررسی شدند. تیمار اول شامل لاروهای ماهی تغذیه شده از جیره حاوی $1/6 \times 10^9$ CFU^(۳)/g، تیمار دوم شامل $1/2 \times 10^9$ CFU/g، تیمار سوم شامل جیره دارای ۷ میلی گرم آهن در هر کیلو جیره، تیمار چهارم دارای ۵ میلی گرم آهن در هر کیلو جیره، تیمار پنجم شامل پروبیوتیک به مقدار $1/6 \times 10^9$ CFU/g همراه با ۷ میلی گرم آهن در هر کیلو جیره، تیمار ششم شامل پروبیوتیک به مقدار $1/6 \times 10^9$ CFU/g همراه با ۵ میلی گرم آهن در هر کیلو جیره، تیمار هفتم شامل پروبیوتیک به مقدار $1/2 \times 10^9$ CFU/g همراه با ۷ میلی گرم آهن در هر کیلو جیره و تیمار هشتم شامل پروبیوتیک به مقدار $1/2 \times 10^9$ CFU/g همراه با ۵ میلی گرم آهن در هر کیلو جیره، بود. در طول دوره آزمایش، زیست‌سنجی ماهیان هر ۶ روز یکبار انجام شد. وزن نهایی، ضریب تبدیل غذایی، ضریب رشد ویژه و نسبت کارآیی پروتئین در تیمارهای ۱، ۲ و ۶ نسبت به سایر تیمارها و تیمار شاهد بیشترین مقدار را به خود اختصاص داد ($P \leq 0/05$). بررسی‌های آماری حاکی از عدم وجود اختلاف معنی‌دار در طول کل و درصد بقاء بین تیمارها می باشد ($P \geq 0/05$). در انتهای دوره آزمایشی حداکثر مقدار درصد پروتئین لاشه در تیمارهای ۱ و ۲ مشاهده گردید ($P \leq 0/05$). درصد چربی لاشه نیز در تیمارهای مزبور دارای کمترین مقدار بود ($P \leq 0/05$). یافته‌های بدست آمده، تایید کرد که اگر جیره حاوی پروبیوتیک باشد (در مقایسه با مخلوط پروبیوتیک و آهن در جیره) تاثیر بهتری را بر رشد و فاکتورهای تغذیه‌ای در لارو ماهی قزل آلائی رنگین کمان دارد.

واژه‌های کلیدی: بیوپلوس ۲-ب، پروبیوتیک، ضریب تبدیل غذایی، ضریب رشد ویژه، قزل آلائی رنگین کمان

1- BioPlus 2B
2- Fe(SO₄)₂(7H₂O)
3- Colony Forming Unit

مقدمه

ماهی قزل‌آلی رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) با دارا بودن قابلیت سازگاری مناسب، در اکثر آب‌های شیرین که دارای دمای مناسب جهت رشد این گونه هستند، یافت می‌شود (۱). براساس آمار منتشر شده توسط سازمان خواروبار جهانی، ایران در پرورش آزاد ماهیان دارای رتبه پنجم جهان می‌باشد (فائو، ۲۰۰۷)، از این‌رو این گونه بعنوان یک گونه در ایران اقتصادی مطرح می‌باشد. از جمله مکمل‌هایی که در غذای لاروها و بچه‌ماهیان در سطح جهان استفاده می‌گردد، آنتی‌بیوتیک‌ها هستند، اما هم‌اکنون استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها به خاطر مخاطراتی از قبیل: ایجاد مقاومت در انسان، سمیت حاصل از پس‌مانده‌های آنتی‌بیوتیکی، حساسیت‌زایی در انسان و خطرات زیست محیطی آن (۲۲)، اغلب توصیه نمی‌شود و در عوض به استفاده از پروبیوتیک‌ها به‌عنوان عوامل کنترل زیستی بیشتر سفارش و تاکید می‌گردد (۳). پروبیوتیک‌ها مکمل‌های میکروبی هستند با بهبود تعادل جمعیت میکروبی روده میزبان به آن سود می‌رسانند (۱۱). در این آزمایش از پروبیوتیک شامل دو سویه از باکتری باسیلوس استفاده شد. باکتری‌های باسیلوس قادر به تولید پلی‌میکسین، باکتریوکش‌ها و آنتی‌بیوتیک ژرامایسین می‌باشند (۶ و ۲۰). همچنین این باکتری‌ها ساپروفیت‌های گرم مثبت، غیرپاتوژن و ارگانیزم اسپوری شکل هستند که به‌طور طبیعی در هوا، آب، خاک، گرد و غبار و رسوبات پیدا می‌شوند (۱۳ و ۱۶). خصوصیت منحصر به‌فرد آنها، تشکیل هاگ است. در واقع باکتری‌های تولیدکننده هاگ، توانایی رشد و انجام فعالیت‌های متابولیکی را در شرایط نامناسب زندگی دارند و در شرایط کمبود مواد مغذی یا سایر شرایط سخت محیطی، هاگ تولید می‌کنند (۷).

اکثر میکروارگانیزم‌ها برای رشد به آهن نیاز دارند (۱۸) و باکتری‌های بیماری‌زای موفق، آنهایی هستند که در رقابت برای جذب آهن بخصوص در شرایط کمبود آهن در بافت‌ها و مایعات بدن میزبان، بتوانند بر رقبای خود غالب شوند. در رقابت برای جذب آهن گروهی از

باکتری‌ها توانایی تولید ترکیباتی مانند سایدروفورها را دارند که این ترکیبات به جذب آهن کمک می‌کنند (۸). سایدروفورها می‌توانند آهن رسوب یافته را حل کرده و آن را برای رشد میکروب‌ها قابل دسترس نمایند. عوامل بیماری‌زای باکتریایی که موجب بروز بیماری می‌شوند، قادرند در رقابت برای جذب آهن موجود در بافت‌ها و مایعات بدن میزبان، بخوبی ظاهر شده و نسبت به سایر باکتری‌ها رشد بیشتری از خود نشان دهند (۲۶). پس احتمالاً باکتری‌های بی‌ضرری که بتوانند سایدروفور تولید کنند، را می‌توان به‌عنوان پروبیوتیک علیه عوامل بیماری‌زایی که نیاز به آهن دارند، به کاربرد (۲۵). نیاز برخی از عوامل بیماری‌زا به آهن زیاد است، مثلاً ویبریوآنکوئیلا^۱ نیاز زیادی به آهن دارد به‌طوری‌که در آزمایشی که در همین خصوص صورت گرفت، مرگ و میر آزاد ماهیان مورد مطالعه با افزایش سطح آهن در جیره غذایی به‌صورت خطی افزایش یافت (۱۴ و ۲۱). این قبیل نتایج نشان‌دهنده اهمیت و نقش ترکیبات آهن دار در رشد باکتری‌ها و میکروارگانیزم‌ها در بدن میزبان است (۲۵). در تحقیق حاضر اثر باسیلوس و آهن از طریق اضافه شدن به غذا، بر قابلیت هضم غذا، رشد و بقای لارو قزل‌آلی رنگین‌کمان مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در مرکز تحقیقات ماهیان سردآبی تنکابن و با مشارکت شرکت کریستین هسنن دانمارک^۲ انجام گرفت. برای این منظور تعداد ۲۷۰۰ قطعه لارو ماهی قزل‌آلی رنگین‌کمان با میانگین وزنی ۱۳۵ میلی‌گرم در ۲۷ تراف کالیفرنایی، با تراکم ۱۰۰ عدد در هر تراف به مدت ۳۰ روز نگهداری گردید. تحقیق مورد بررسی شامل ۸ تیمار آزمایشی و ۱ تیمار شاهد (جدول ۱) بود، کلیه تیمارهای آزمایشی و تیمار شاهد با ۳ تکرار انجام شد. آب ورودی از چشمه‌ای با دبی ۰/۵ لیتر در دقیقه و تحت فشار همراه با هوادهی بصورت اسپری وارد هر تراف گردید.

1- *Vibrio anguillarum*

2- Chr. Hansen A/S, Horsholm Denmark

$$\text{وزن غذای خورده شده (گرم)} \\ \text{وزن بدنی حاصله} = \text{ضریب تبدیل غذایی}^5$$

$$\text{وزن اولیه بدن (گرم) - وزن نهایی (گرم)} \\ \text{پروتئین داده شده به ماهی (گرم)} = \text{نسبت کارایی پروتئین}^6$$

$$\text{لگاریتم طبیعی وزن اولیه (گرم) - لگاریتم طبیعی} \\ \text{وزن نهایی (گرم)} \times 100 \\ \text{طول دوره پرورش (روز)} = \text{ضریب رشد ویژه}^7$$

در پایان دوره ۳۰ روزه، پس از گذشت ۲۴ ساعت از زمان قطع تغذیه، از هر یک از ترفاها تعداد ۱۰ قطعه بچه ماهی بطور تصادفی برداشته شده، محتویات شکم آنها خالی گردید، سر و باله‌های آنها قطع گردید، نمونه‌ها چرخ شدند و پس از تهیه مخلوط همگن بسته‌بندی و در فریزر منجمد گردید. مخلوط مذکور جهت تجزیه شیمیایی لاشه در آزمایشگاه مورد استفاده قرار گرفت.

روش تجزیه و تحلیل داده‌ها: نتایج حاصل با استفاده از نرم‌افزار SPSS با ویرایش ۱۴ و بوسیله آزمون آنالیز واریانس یکطرفه و میانگین چند دامنه دانکن و در قالب یک طرح کاملاً تصادفی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. مقایسه میانگین‌ها در سطح ۹۵ درصد ($P \leq 0/05$) انجام شد.

نتایج

در کلیه تیمارهای آزمایشی، رفتار ماهی‌ها کاملاً طبیعی بود و هیچگونه عارضه همجنس خواری مشاهده نگردید. غذاهای حاوی پروبیوتیک، آهن و مخلوط پروبیوتیک و آهن در کلیه تیمارهای آزمایشی و همچنین در تیمار شاهد مورد تغذیه ماهیان قرار گرفت.

در پایان دوره آزمایش، لاروهای ماهی در تیمارهای ۱، ۲ و ۶ بیشترین وزن نهایی و بالاترین ضریب رشد ویژه و ضریب تبدیل غذایی را دارا بودند، مطالعات آماری انجام شده نشان داد که بین تیمارهای مذکور اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($P \geq 0/05$)، همچنین تیمار شاهد کمترین وزن نهایی و ضریب رشد ویژه را به خود اختصاص داد ($P \leq 0/05$) (جدول ۲).

پروبیوتیک تجاری بیوپلوس ۲-ب، از شرکت کریستین هسنس تهیه گردید. فرآورده میکروبی مورد استفاده، یک نوع پروبیوتیک تجاری شامل دو گونه باکتری باسیلوس لیسنی فرمیس^۱ و باسیلوس سوبتیلیس^۲ (به تعداد 4×10^4 باکتری در هر گرم از پودر این فرآورده و با نسبت ۱:۱ از هر دو سویه باکتری مذکور) بود. آهن مورد استفاده نیز از محلول آهن فریرون (هر یک میلی‌لیتر محتوی: ۱۲۵ میلی‌گرم فروس سولفات هپتا هیدرات^۳ معادل ۲۵ میلی‌گرم آهن) تامین شد (۱۷).

به‌منظور تغذیه لاروها یک نوع غذای خشک پلت از شرکت کوپنس^۴ با اندازه ۱ (تا وزن ۲۰۰ میلی‌گرم)، اندازه ۲ (۲۰۰ تا ۵۰۰ میلی‌گرم) و اندازه ۳ (۵۰۰ میلی‌گرم تا ۲ گرم) انتخاب گردید. قابل ذکر است که پیش از اجرای آزمایش، ارزش غذایی جیره خشک فوق از لحاظ سطوح چربی، پروتئین و رطوبت مورد سنجش قرار گرفت که به‌ترتیب شامل مقادیر ۱۵/۴ درصد، ۵۳ درصد و ۹/۸ درصد بود.

برای آماده‌سازی جیره‌های آزمایشی، پروبیوتیک و آهن به‌طور جداگانه در آب حل گردید و بر طبق روش مورد استفاده توسط Chang and Liu (۲۰۰۲) روی غذا اسپری شد. در ضمن به لاروهای ماهی قزل‌آلا در سه ترفا نیز به‌عنوان تیمار شاهد، غذای پلت مخلوط شده با آب مقطر خورانده شد. کلیه غذاهای تهیه شده به مدت ۲ ساعت در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد در معرض جریان هوا قرار داده شد تا آب مخلوط شده با غذا، تبخیر گردد.

شاخص‌های رشد: جهت بررسی تأثیر پروبیوتیک و آهن بر چگونگی رشد بچه ماهیان قزل‌آلا هر ۶ روز یک بار اقدام به انجام زیست‌سنجی گردید. میانگین طول ۱۰ ماهی از هر تکرار مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. میانگین وزن کل ماهی‌های هر تکرار نیز مبنای محاسبه غذای مصرفی در هفته قرار گرفت. کلیه شاخص‌های بیولوژی بر اساس مدل‌های ارائه شده توسط Shepher and Bromage (۱۹۹۲) انجام شد.

5- Feed Conversion Ratio
6- Protein Efficiency Ratio
7- Specific Growth Rate

1- *Bacillus licheniformis*
2- *B. subtilis*
3- $\text{Fe}(\text{SO}_4)_2(7\text{H}_2\text{O})$
4- Coppens

جدول ۱- جیره‌های آزمایشی مورد استفاده جهت لاروهای ماهی در تیمارهای مختلف

تیمار	جیره‌های مورد استفاده جهت تغذیه ماهیان
۱	غذای استاندارد همراه مکمل غذایی پروبیوتیک به نسبت (غذا) $1/6 \times 10^9$ CFU/g
۲	غذای استاندارد همراه مکمل غذایی پروبیوتیک به نسبت (غذا) $1/2 \times 10^9$ CFU/g
۳	غذای استاندارد همراه محلول آهن به نسبت (غذا) ۷ mg Fe/kg
۴	غذای استاندارد همراه محلول آهن به نسبت (غذا) ۵ mg Fe/kg
۵	غذای استاندارد همراه مکمل غذایی پروبیوتیک به نسبت (غذا) $1/6 \times 10^9$ CFU/g و محلول آهن به نسبت (غذا) ۷ mg Fe/kg
۶	غذای استاندارد همراه مکمل غذایی پروبیوتیک به نسبت (غذا) $1/6 \times 10^9$ CFU/g و محلول آهن به نسبت (غذا) ۵ mg Fe/kg
۷	غذای استاندارد همراه مکمل غذایی پروبیوتیک به نسبت (غذا) $1/2 \times 10^9$ CFU/g و محلول آهن به نسبت (غذا) ۷ mg Fe/kg
۸	غذای استاندارد همراه مکمل غذایی پروبیوتیک به نسبت (غذا) $1/2 \times 10^9$ CFU/g و محلول آهن به نسبت (غذا) ۵ mg Fe/kg
۹	غذای استاندارد (تیمار شاهد: بدون مکمل سازی با پروبیوتیک و آهن)

می‌تواند فاکتور دیگری برای متابولیسم بهتر مواد غذایی در این تیمارها باشد (۲ و ۱۵). در نتیجه در تیمارهای ۱ و ۲ نسبت به سایر تیمارها و شاهد، وزن نهایی بیشتر، ضریب تبدیل غذایی (FCR) پایین‌تر و ضریب رشد ویژه (SGR) بالاتری مشاهده شد. بالاتر بودن وزن را در تیمارهای پروبیوتیکی می‌توان در برخی تحقیقات دیگر مشاهده نمود. رنجیپات و همکاران (۱۹۹۸)، در آزمایش انجام گرفته روی میگوی ببری (*Penaeus monodon*) نشان دادند که میگوهای تغذیه شده با غذای مکمل شده با پروبیوتیک، رشد بیشتری را به خود اختصاص دادند. در تحقیق حاضر بین دو تیمار ۱ و ۲، تیمار دارای سطح بالاتر پروبیوتیک در غذا ($1/6 \times 10^9$ CFU/g) نسبت به تیمار دارای سطح پایین‌تر پروبیوتیک در غذا ($1/2 \times 10^9$ CFU/g)، دارای وزن نهایی بالاتری بود، در تحقیق باقری و همکاران (۲۰۰۸) نیز وزن نهایی در لاروهای ماهی قزل‌آلا با افزایش سطح پروبیوتیک در غذا افزایش یافت. در بین تیمارهایی که غذایشان فقط به آهن مکمل شده بود، تیمارهای ۳ و ۴، وزن نهایی بالاتری نسبت به شاهد دارا بودند. نتایج به‌دست آمده از مطالعات برخی محققان نیز این مطلب را تایید می‌کند.

Firdaus و همکاران (۱۹۹۴) نشان دادند که حذف آهن از رژیم غذایی یک نوع گربه ماهی به نام بلوچ (*Heteropneustes fossilis*)، میزان رشد را کاهش می‌دهد در حالیکه وجود آهن به صورت مکمل، افزایش کمی در رشد را موجب می‌شود.

از نظر طول کل (جدول ۲) و درصد بقا (جدول ۲)، تفاوت معنی داری بین تیمارها مشاهده نشد ($P \geq 0/05$). تیمارهای ۵، ۷، ۸ و ۹ بیشترین میزان ضریب تبدیل غذایی را در طول دوره پرورش دارا بودند (جدول ۲) ($P \leq 0/05$). تیمار ۱ بیشترین نسبت کارایی پروتئین ($P \leq 0/05$) و چهار تیمار ۵، ۷، ۸ و ۹ نیز کمترین نسبت کارایی پروتئین را داشتند (جدول ۲).

بیشترین درصد پروتئین لاشه در انتهای دوره آزمایش متعلق به دو تیمار ۱ و ۲ بود، همچنین دو تیمار ۳ و ۹ کمترین درصد پروتئین لاشه را به خود اختصاص دادند ($P \leq 0/05$) (جدول ۳). تیمارهای ۱ و ۲ دارای کمترین درصد چربی بودند. بررسی نتایج نشان داد که بین دو تیمار مذکور و همچنین با تیمار ۶ اختلاف معنی دار وجود نداشت ($P \geq 0/05$) (جدول ۳).

بحث و نتیجه‌گیری

پروبیوتیک‌ها با تولید ویتامین‌ها و تجزیه ترکیبات غیرقابل هضم، اشتهای را تحریک می‌کنند و شرایط تغذیه‌ای بهتری را در ماهی ایجاد می‌نمایند (۱۵). پروبیوتیک‌ها قادر به انجام فعالیت‌های پروتئولیتیک و پپتیدولیتیک بوده و با تولید آنزیم پروتئاز و پپتیداز ترکیبات ماکرومولکول‌ها را به پپتیدها و آمینواسیدها هیدرولیز می‌کنند (۱۲). از طرف دیگر باسیلوس لیسنی فرمیس و باسیلوس سوبتیلیس، قادر به شکستن پروتئین‌ها و کربو هیدرات‌ها می‌باشند (۸)، در ضمن این باکتری‌ها قادر به تولید بعضی ویتامین‌های متعلق به گروه B، همچون بیوتین و B_{۱۲} بوده که خود

در این تحقیق در انتهای دوره آزمایشی تیمارهای ۵، ۷ و ۸ نسبت به تیمارهای ۱ و ۲ وزن کمتری را دارا بودند،

جدول ۲- پارامترهای رشد به دست آمده در تیمارهای مختلف آزمایشی و شاهد

شاخص‌های رشد ماهی تیمار	وزن نهایی (گرم)	طول نهایی (سانتی‌متر)	درصد بقاء	ضریب رشد ویژه	ضریب تبدیل غذایی	نسبت کارایی پروتئین
۱	۱/۶۷±۰/۰۳۱ ^a	۵/۶۶±۰/۰۵۶ ^a	۹۸/۸۸±۰/۱۸ ^a	۱/۱۷±۰/۰۱۱ ^a	۰/۹۶±۰/۰۰۸ ^b	۱/۶۵±۰/۰۱ ^a
۲	۱/۵۷±۰/۰۴۵ ^a	۵/۵۹±۰/۰۴۶ ^a	۹۷/۸۱±۰/۹۱ ^a	۱/۱۴±۰/۰۱۵ ^b	۰/۹۶±۰/۰۰۸ ^b	۱/۶۲±۰/۰۱ ^{ab}
۳	۱/۳۵±۰/۰۴۰ ^{bc}	۵/۵۳±۰/۰۵۷ ^a	۹۷/۹۲±۰/۴۰ ^a	۱/۰۷±۰/۰۱۵ ^{cd}	۱/۰۲±۰/۰۲۳ ^{ab}	۱/۵۱±۰/۰۳ ^{bc}
۴	۱/۴۲±۰/۰۲۸ ^b	۵/۳۵±۰/۰۰۵ ^a	۹۷/۵۹±۰/۹۱ ^a	۱/۰۹±۰/۰۰۸ ^c	۱/۰۲±۰/۰۲۹ ^{ab}	۱/۵۲±۰/۰۴ ^{bc}
۵	۱/۲۸±۰/۰۱۴ ^{cd}	۵/۲۹±۰/۰۱۲ ^a	۹۷/۹۶±۰/۶۸ ^a	۱/۰۵±۰/۰۰۵ ^d	۱/۰۴±۰/۰۱۲ ^a	۱/۴۷±۰/۰۲ ^c
۶	۱/۵۸±۰/۰۴۸ ^a	۵/۴۲±۰/۰۶۱ ^a	۹۸/۷۲±۰/۳۳ ^a	۱/۱۴±۰/۰۱۴ ^{ab}	۰/۹۶±۰/۰۱۴ ^b	۱/۴۳±۰/۰۲ ^{ab}
۷	۱/۲۶±۰/۰۳۷ ^{cd}	۵/۱۵±۰/۰۱۰ ^a	۹۹/۳۱±۰/۳۷ ^a	۱/۰۳±۰/۰۱۴ ^{de}	۱/۰۳±۰/۰۱۳ ^a	۱/۴۳±۰/۰۴ ^c
۸	۱/۴۱±۰/۰۲۱ ^b	۵/۳۸±۰/۰۲۶ ^a	۹۸/۴۵±۰/۵۰ ^a	۱/۰۹±۰/۰۰۸ ^c	۱/۰۴±۰/۰۳۸ ^a	۱/۴۹±۰/۰۵ ^c
شاهد	۱/۱۹±۰/۰۳۸ ^d	۵/۰۳±۰/۰۱۴ ^a	۹۸/۸۲±۰/۱۴ ^a	۱/۰۱±۰/۰۱۵ ^e	۱/۰۴±۰/۰۱۴ ^a	۱/۴۱±۰/۰۳ ^c

* وجود حروف مشابه در هر ستون نشانه عدم وجود اختلاف معنی دار ($P \geq 0.05$) می‌باشد.

جدول ۳- نتایج تجزیه لاشه لاروهای ماهی در انتهای دوره آزمایش در تیمارهای مختلف آزمایشی و شاهد

ترکیب بیوشیمیایی تیمار	رطوبت (درصد ماده تر)	پروتئین (درصد ماده خشک)	چربی (درصد ماده خشک)	خاکستر (درصد ماده خشک)
۱	۶۸/۸۸±۰/۱۱ ^e	۶۱/۱۴±۰/۰۹ ^a	۲۶/۲۸±۰/۴۹ ^f	۶/۶۹±۰/۱۰ ^d
۲	۶۹/۹۱±۰/۰۹ ^d	۶۰/۶۴±۰/۱۵ ^a	۲۸/۵۲±۰/۰۵ ^f	۶/۶۷±۰/۰۴ ^d
۳	۷۳/۱۱±۰/۱۰ ^b	۵۶/۲۸±۰/۲۵ ^c	۲۸/۴۱±۰/۱۴ ^{bc}	۶/۷۶±۰/۰۶ ^{cd}
۴	۷۳/۱۴±۰/۱۷ ^b	۵۸/۳۰±۰/۵۰ ^b	۲۸/۶۰±۰/۲۱ ^b	۶/۷۵±۰/۰۵ ^{cd}
۵	۷۳/۰۳±۰/۰۶ ^b	۵۸/۴۱±۰/۲۶ ^b	۲۷/۸۳±۰/۱۵ ^{cd}	۷/۰۰±۰/۰۹ ^b
۶	۷۰/۶۲±۰/۲۶ ^c	۵۹/۰۲±۰/۳۰ ^b	۲۶/۷۵±۰/۰۹ ^{ef}	۶/۹۶±۰/۰۹ ^{bc}
۷	۷۳/۶۶±۰/۱۲ ^b	۵۸/۹۱±۰/۴۲ ^b	۲۷/۵۵±۰/۱۳ ^d	۷/۰۶±۰/۰۷ ^b
۸	۷۳/۴۵±۰/۱۵ ^b	۵۸/۶۸±۰/۱۷ ^b	۲۷/۲۷±۰/۰۶ ^{de}	۷/۴۰±۰/۰۹ ^a
شاهد	۷۴/۷۲±۰/۵۲ ^a	۵۶/۰۸±۰/۲۷ ^c	۲۹/۷۱±۰/۰۷ ^a	۶/۶۰±۰/۰۶ ^d

* وجود حروف مشابه در هر ستون نشانه عدم وجود اختلاف معنی دار ($P \geq 0.05$) می‌باشد.

میزان پروتئین در تیمارهای ۱ و ۲ نسبت به سایر تیمارها و شاهد بیشتر بود، اما میزان چربی در تیمارهای مزبور نسبت به سایر تیمارها و شاهد کمتر بود. با توجه به نتایج به دست آمده می‌توان گفت، احتمالاً در این تیمارها منبع اصلی انرژی برای متابولیسم از ترکیبات چربی (به جای ترکیبات پروتئینی) تأمین می‌گردد (۹). افزایش میزان پروتئین و نسبت کارایی پروتئین در تیمارهای ۱ و ۲ نسبت به تیمارهای ۳، ۴، ۵، ۶، ۷ و ۸ و همچنین تیمار شاهد، احتمالاً ناشی از توانایی باکتری‌های باسیلوس برای تولید آنزیم پروتئاز در لوله گوارشی (۱۵) و بهبود هضم و جذب ترکیبات پروتئینی می‌باشد (۱۲).

تاثیر چندانی بر فعالیت باکتری‌های موجود در پروبیوتیک مصرفی (باسیلوس لیسنی فرمیس و باسیلوس سوبتیلیس) ندارد. لازم به ذکر است که در بین تیمارهای ۳، ۴، ۵، ۶، ۷ و ۸ تیمارهایی که دارای سطح پایین آهن بودند (۵) میلی‌گرم آهن در هر کیلوگرم جیره، وزن نهایی و ضریب رشد ویژه بهتری را نشان دادند. در آزمایشی که توسط Vangen and Hemre (۲۰۰۳) انجام شد، میزان رشد در تیماری که از جیره محتوی آهن پایین تغذیه نمودند، به طور معنی‌داری نسبت به سایر تیمارها بیشتر بود و یافته‌های آن با نتایج تحقیق حاضر مطابقت داشت.

نتیجه گیری کلی

با توجه به اینکه شاخص های رشد (وزن نهایی، ضریب تبدیل غذایی، ضریب رشد ویژه و نسبت کارایی پروتئین) در تیمارهایی که غذایشان فقط با پروبیوتیک مکمل شده بود (در مقایسه با مخلوط پروبیوتیک و آهن در جیره)، میزان بالاتری را دارا بود، از اینرو پروبیوتیک بیوپلوس ۲-ب می تواند به عنوان محرک رشد در پرورش

لارو ماهی قزل آلی رنگین کمان بطور مؤثری مورد استفاده قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

در پایان لازم می دانیم از ریاست محترم مرکز تحقیقات ماهیان سردآبی تنکابن و کارکنان آن مرکز به جهت همکاری و راهنمایی هایشان تشکر نمایم. همچنین از شرکت کریستین هنسن به دلیل تأمین پروبیوتیک مصرفی و راهنمایی در نحوه استفاده از آن سپاسگزاری نمایم.

منابع

- ۱- نفیسی بهابادی، م. ۱۳۸۵. راهنمای عملی تکثیر و پرورش ماهی قزل آلی رنگین کمان. انتشارات دانشگاه هرمزگان. ۲۸۲ ص.
2. Ali, A., 2000. Probiotics in fish farming-evaluation of a candidate bacteria mixture. Ph.D Thesis. Uppsala: Swedish University of Agriculture Science.
3. Austin, B., Stuckey, L.F., Robertson, P.A.W., Effendi, I., and Griffith, D.R.W., 1995. A probiotic strain of *Vibrio alginolyticus* effective in reducing diseases caused by *Aeromonas salmonicida*, *Vibrio anguillarum* and *Vibrio ordalii*. Journal of Fish Diseases., 18: 93-96.
4. 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.
5. Chang, C.I.W., and Liu, W.Y., 2002. An evaluation of two bacterial strains, *Enterococcus faecium* SF68 and *Bacillus toyoi*, for reducing edwardsiellosis in cultured European eel, *Anguilla anguilla* L. Journal of Fish Diseases, 25: 311-315.
6. Chitta, R., Rempel, D.L., and Gross, R.L., 2002. Probing peptide/peptide interactions using H/D exchange, MS/MS and ESI-MS: structure and metal ion binding of gramicidin dimer. Proceedings of the 50th ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics, Orlando, Florida.
7. Decamp, O., and Moriarty, D.J.W., 2006. Bacillus as aquaculture probiotics: potential and limitations. INVA Aquaculture Health.
8. Farzanfar, A., 2006. Mini review paper: The use of probiotics in shrimp aquaculture. FEMS Immunology and Medical Microbiology, 48: 149-158.
9. Farzanfar, A., Lashto Aghaei, G., Alizadeh, M., Bayati, M., and Ghorban, R., 2007. Study on growth performance of Rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, larvae with different concentration of probiotic in diet. In: *Proceedings of Aquaculture 2007*, SAN ANTONIO, TEXAS, USA.
10. Firdaus, S., Jafri, A.K., and Rahman, N., 1994. Effects of iron-deficient diet on the growth and hematological characteristics of the catfish *Heteropneustes fossilis* Bloch. Journal of aquaculture in the tropics, 9, 3: 179-185 p.
11. Fuller, R., 1989. Probiotics in man and animals. Journal of Applied Bacteriology, 66: 365-378.
12. Fuller, R., and Perdigon, G. 2003. Gut flora, immunity and health. Blackwell publishing, 276 pp.
13. Gatesoupe, F.J., 1999. The use of probiotics in aquaculture: a review. Aquaculture, 180: 147-165.
14. Gatesoupe, F.J., 1997. Siderophore production and probiotic effect of *Vibrio* sp. associated with turbot larvae, *Scophthalmus maximus*. Aquatic Living Resource, 10: 239-246.
15. Irianto, A., and Austin, B., 2002. Probiotics in aquaculture: Review. Journal of Fish Diseases. 25: 633-642.
16. Moriarty, D.J.W., 1999. Disease control in shrimp aquaculture with probiotic bacteria. Proceedings of the 8th International Symposium on Microbial Ecology, pp. 237-243.
17. Naser, N., Lall, S.P., Brown, L., and Olivier, G., 1998. Role of dietary iron in immune response and disease resistance in Atlantic salmon, *Salmo salar* L. Aquaculture. 98, Las Vegas, NV (USA).
18. Reid, R.T., Live, D.H., Faulkner, D.J., and Butler, A., 1993. A siderophore from a marine bacterium with an exceptional ferric ion affinity constant. Nature, 366: 455-458.

19. Rengpipat, S., Phianphak, W., Piyatiratitivorakul, S., and Menasveta, P., 1998. Effects of a probiotic bacterium on black tiger shrimp *Penaeus monodon* survival and growth. *Aquaculture*, 167: 301-313.
20. Rhodehamel, J.E., and Harmon, M.S., 1998. *Bacillus cereus*. *Bacteriological Analytical Manual*, 8th ed. U.S. Food and Drug Administration, U.S. Department of Health and Human Services, USA. Revision A Chapter 14.
21. Rorvik, K.A., Salte, R., Bentsen, H.B., and Thomassen, M., 1991. Effects of dietary iron and n-3 unsaturated fatty acids (omega-3) on health and immunological parameters in farmed salmon, p. 86. In *Proceedings of the Fifth International Conference of the European Association of Fish Pathologists*. European Association of Fish Pathologists, Budapest, Hungary.
22. Serrano, P.H., 2005. Responsible use of antibiotics in aquaculture. *FAO Fisheries Technical Paper*, 469, 97.
23. Shepherd, J., and Bromage, N., 1992. *Intensive fish farming*. Blackwell scientific publications, p: 29.
24. Vangen, B., and Hemre, G.I., 2003. Dietary carbohydrate, iron and zinc interactions in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture*, 219: 597- 611.
25. Verschuere, L., Rombout, G., Sorgeloos, P., and Verstraete, W., 2000. Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 64: 655-671.
26. Wooldridge, K.G., and Williams, P.H., 1993. Iron uptake mechanisms of pathogenic bacteria. *FEMS Microbiology Reviews*, 12: 325-348.
27. www. Food and Agriculture Organization. FAO. Statistical 2007.

The study of growth performance of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) larvae with different levels of probiotic and iron in use of supplemented in diet

S.Naseri¹, Sh.A. Nezami², H. khara³, A. Farzanfar⁴,
Gh.R. Lashtoo Aghai⁵ and m. Shakoori⁶

^{1,3}Islamic Azad University-Lahijan Branch, Faculty of Natural Resource, Department of Aquaculture and Fishery Science, Lahijan, Iran, ²Iranian Fisheries Research Organization, Tehran, Iran, ^{4,5,6}Coldwater Fishes Research Center (CFRC) Tonekabon, Iran
Email: Samiranaseri@Yahoo.com

Abstract

Probiotics are useful microorganisms which colonized in gut system on animals. The probiotics have useful effects on health and growth performance of the animals. In order to investigate the effects of probiotic¹ and iron² supplementation on growth and survival of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) larvae, a 30-day feeding experiment was conducted. 2700 larvae (average weight 0.135 g) were used. They were divided into 8 groups and 3 repetitions, groups containing 100 larvae. One control group with 3 replicate was served as well. The first treatment was contained fish larvae fed by 1.6×10^9 CFU⁽³⁾/g, The second treatment was contained by 1.2×10^9 CFU/g, The third treatment was contained by 7mg iron per kg of feed, The fourth treatment was contained 5mg iron per kg of feed, The fifth treatment was contained by 1.6×10^9 CFU/g and 7mg iron per kg of feed, The Sixth treatment was contained 1.6×10^9 CFU/g with 5mg iron per kg of feed, The seventh treatment was contained 1.2×10^9 CFU/g with 7mg iron per kg of feed, and The eighth treatment was contained 1.2×10^9 CFU/g with 5mg iron per kg of feed. The sampling for nutritional effects was carried out every 6 days. At the end of the experiment; Weight Gain, Food Conversion Ratio, Specific Growth Rate, Protein Efficiency Ratio in the 1, 2 and 6 treatments were significantly higher than other treatment groups and control group; also weight gain in 9 treatment was the lowest ($P \leq 0.05$). Total length and survival rate were not significantly affected by the administered probiotic and iron ($P \geq 0.05$). Protein in whole body of 1 and 2 treatment showed higher rate than in other treatment groups and control group ($P \leq 0.05$); also fat value of body whole in 1 and 2 treatments showed lower rate than the other treatment groups and control group ($P \leq 0.05$). The findings in this research support that if probiotic just added to feed (in contrast, that if probiotic and iron both added to feed), growth and nutrition factors of Rainbow Trout larvae would be increased.

Keywords: BioPlus 2B; Probiotic; Feed Conversion Ratio; Specific Growth Rate; Rainbow Trout

1- BioPlus 2B
2- $\text{Fe}(\text{SO}_4)_2(7\text{H}_2\text{O})$
3- Colony Forming Unit