

بکارگیری باسیلوس های پروبیوتیکی به منظور ارتقاء فاکتورهای تغذیه ای

لارو ماهی قره برون (*Acipenser persicus*)

*حجتا.. جعفریان^۱، نورمحمد مختومی^۲ و مهدی قمصری^۲

^۱عضو هیات علمی گروه منابع طبیعی، مجتمع آموزش عالی گنبد، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان،

^۲کارگاه تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید مرجانی آق قلا

E-mail: Hojat.Jafaryan@gmail.com

چکیده

در این تحقیق اثرات باکتری های پروبیوتیکی *Bacillus licheniformis*, *B. laterosporus*, *B. polymyxa* و *B. subtilis* و *B. circulans* روی فاکتورهای تغذیه ای تاس ماهی ایرانی با بکارگیری مخلوط ۵ گونه از باسیلوس های پروبیوتیکی از طریق غنی سازی با آرتمیا ارومیانا (*Artemia urmiana*) بررسی شد. این آزمایش در قالب ۴ تیمار و در یک طرح کاملاً تصادفی مورد بررسی قرار گرفت. مخلوط پروبیوتیک ها در سه سطح 1×10^8 ، 2×10^8 و 3×10^8 باکتری به ازاء هر لیتر در سوسپانسیون محیط غنی سازی بکار گرفته شدند. ناپلی های آرتمیا با مخلوط های باکتریایی به مدت ۱۰ ساعت غنی سازی گردیده و توسط لاروهای تاس ماهی ایرانی در تیمارهای آزمایشی تغذیه شدند. گروه شاهد از ناپلی های آرتمیای بدون غنی سازی تغذیه نمودند. لاروهای ماهی در هر روز در ۶ نوبت تغذیه شدند. نتایج نشان داد که در تیمارهای آزمایشی، پروبیوتیک ها روی نسبت کارایی پروتئین (PER)، نسبت کارایی چربی (LER)، کارایی ابقاء انرژی (ERE)، شاخص گاستروسوماتیک (GSI) و میزان بهره برداری از پروتئین خالص (NPU) در مقایسه با تیمار شاهد، تاثیرات مثبت و معنی دار داشتند ($P < 0/05$) همچنین غذای نسبی خورده شده (RFI) و غذای خورده شده روزانه (DFI) بطور معنی دار کاهش یافت ($P < 0/05$). آزمایش نشان داد که پروبیوتیک های باسیلی بطور موثر بر کارایی تغذیه و فاکتورهای تغذیه ای لارو تاس ماهی ایرانی تاثیر گذاشتند.

واژه های کلیدی: پروبیوتیک، غنی سازی، لارو تاس ماهی ایرانی، ناپلی آرتمیا، نسبت کارایی پروتئین، نسبت کارایی چربی

مقدمه

ارگانیزم ها و موادی را شامل می شد که در تعادل میکروبی روده شرکت داشتند (۱۴). این تعاریف سرانجام به مکمل های غذایی میکروبی زنده ای که بوسیله بهبود بخشیدن به تعادل میکروبی روده میزبان تاثیرات سودمندی برای آن ایجاد می کنند، محدود شد (۱۱). تاثیرات سودمند میکروارگانیزم های پروبیوتیکی در دامپزشکی و به خصوص گونه هایی نظیر حیوانات اهلی مختلف به خوبی شناخته شده است (۲۲). استفاده از باکتری های انتخابی برای رشد و بهبود مناسب جمعیت میکروبی میزبان از جمله ایده های جدیدی می باشد که از طریق دستکاری

از مدتها قبل میکروبا بطور ناخودآگاه برای حفاظت غذاها بکار برده می شدند و روشهای تجربی بدست آمده در این ارتباط در توسعه سلامت انسانی نقش فراوانی داشته است. در اوایل قرن حاضر باکتری های اسید لاکتیک جهت القاء به روده انسان با دیدگاه متوقف کردن فعالیت باکتری های مضر پیشنهاد شد (۲۶). عقیده جدید در خصوص پروبیوتیک ها تنها در سه دهه گذشته شکل گرفت و چندین تعریف از پروبیوتیک ها بطور متوالی پیشنهاد شد (۲۰). بطور اساسی تمام این تعاریف،

جمعیت باکتری در آبزیان انجام می‌گیرد. برخی از میکروارگانیزم‌ها از جمله: لاکتوباسیل‌ها، ویبریوها، مخمرها و باسیل‌ها، از آن جمله می‌باشند (۲۱). یکی از روش‌های انتقال باکتری‌های پروبیوتیکی به لوله گوارشی آبزیان استفاده از غذای زنده غنی شده با پروبیوتیک‌ها می‌باشد. رتیفر و آرتمیا از جمله ارگانیزم‌هایی هستند که عموماً در فرآیند غنی‌سازی به‌عنوان حامل مواد، مختلفی نظیر انواع ترکیبات مغذی (۲۸)، انواع واکسن‌ها و پروبیوتیک‌ها (۱۳) مورد استفاده قرار گرفته‌اند.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق سیستم‌های آرتمیا ارومیانا (*Artemia urmiana*) از مرکز تحقیقات آرتمیا و جانوران آبی ارومیه، تهیه و مورد استفاده قرار گرفت. لایه کوریون سیستم‌ها مطابق با روش Sorgeloos و همکاران (۲۴) طی فرآیند کپسول‌زدایی، جدا شد. تولید ناپلی، مطابق با روش Gomez-Gil و همکاران (۱۷) انجام شد.

آماده‌سازی پروبیوتیک‌ها: در این آزمایش از سوسپانسیون باکتریایی مخلوط اسپور چهار فرآورده میکروبی تهیه شده از شرکت نیکوتک (پروتکسین) که حاوی مخلوط پنج سویه از باسیلوس‌های پروبیوتیکی بودند به همراه محیط کشت اختصاصی آنها (پپتون، پلی‌ساکاریدها و مواد معدنی) به شرح جدول زیر استفاده شد.

مطابق با دستورالعمل شرکت پروتکسین، سوسپانسیون مخلوط اسپور باسیلوس‌های پروبیوتیکی در حجم‌های

۱۰، ۲۰ و ۳۰ میکرو لیتر بطور جداگانه به ظروف شیشه‌ای حاوی ۴۰، ۲۰ و ۶۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل اضافه شد. پس از افزودن مقدار ۲۶، ۵۲ و ۷۸ میلی‌گرم از محیط کشت اختصاصی آنها به این سوسپانسیون‌ها، بلافاصله به شدت بهم زده شده و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۸ ساعت انکوباسیون گردیدند. در پایان زمان انکوباسیون باسیلوس‌ها به باکتری‌های ریشی تبدیل شده و سوسپانسیون مخلوط‌های باکتریایی به ترتیب با غلظت 1×10^8 CFU/liter، 2×10^8 CFU/liter و 3×10^8 CFU/liter تشکیل گردید (۲). سوسپانسیون‌های باکتریایی تهیه شده بطور جداگانه به یک لیتر آب شور استریل (۳۰ ppt) اضافه گردیدند.

غنی‌سازی ناپلی آرتمیا و تغذیه لارو تاس ماهی ایرانی: ناپلی‌های آرتمیا ارومیانا بلافاصله پس از تخم‌گشایی در مرحله اینستار ۱ به ظروف شیشه‌ای مخروطی منتقل گردیدند، تراکم ناپلی آرتمیا در این ظروف شیشه‌ای به میزان ۲۰۰ ناپلی به ازاء هر میلی‌لیتر (۲) گرم به ازاء هر لیتر) بود. غلظت باکتری در سوسپانسیون باکتریایی غنی‌سازی برای مخلوط‌های باکتریایی به ترتیب در سه سطح 1×10^8 CFU/liter، 2×10^8 CFU/liter و 3×10^8 CFU/liter قرار داشت. غنی‌سازی ناپلی آرتمیا تحت شرایط هوا دهی مناسب، نور مناسب (۲۰۰۰ لوکس) و نیز دمای 30 ± 1 درجه سانتی‌گراد انجام گرفت (۱۷). طول مدت غنی‌سازی ۱۰ ساعت (۱) و میزان غنی‌سازی ناپلی آرتمیا بر مبنای ۳۰ درصد وزن بدن لاروها (۵) در هر روز انجام گرفت.

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

تعداد اسپور 10^{11} (CFU/لیتر)	باسیلوس‌های پروبیوتیکی
۳/۸۲۵	<i>Bacillus licheniformis</i>
۱/۷۵	<i>Bacillus laterosporus</i>
۰/۸۲۵	<i>Bacillus Polymyxa</i>
۲/۵	<i>Bacillus circulans</i>
۱/۰۷۵	<i>Bacillus subtilis</i>

شاخص گاستروسوماتیک^۳ (۹):

$$100 \times [\text{گرم وزن نهایی ماهی} / \text{گرم وزن دستگاه گوارش ماهی با محتویات آن}] = \%GSI$$

غذای خورده شده روزانه^۴ (اسمیت و همکاران، ۲۰۰۵)

$$100 \times [\text{زمان (روز)} \times \text{گرم وزن توده زنده ماهی} / \text{درصد غذای از دسترس خارج شده} \times \text{گرم غذای جمع آوری شده}] - \text{گرم غذای عرضه شده}] = DFI$$

میزان بهره برداری از پروتئین خالص^۵ (۱۰)

گرم پروتئین خورده شده/گرم پروتئین بدست آمده=NPU

غذای نسبی خورده شده^۶ (دیسلیوا و آندرسون، ۱۹۹۵)

$$100 \times [\text{زمان پرورش (روز)} \times (\text{گرم وزن اولیه ماهی} - \text{گرم وزن نهایی ماهی}) / 10/5] = RFI$$

کارایی ابقاء انرژی^۷ (هلند و همکاران، ۱۹۹۶)

$$100 \times [\text{مقدار انرژی خورده شده ماهی (گرم ژول)} / (\text{انرژی اولیه لاشه ماهی (گرم ژول)} \times \text{گرم وزن اولیه ماهی}) - \text{انرژی نهایی لاشه ماهی (گرم ژول)}] = ERE$$

تجزیه و تحلیل آماری: تجزیه و تحلیل آماری داده‌های بدست آمده در ارتباط با معیارهای تغذیه‌ای و ترکیبات شیمیایی بدن لارو تاس ماهی ایرانی در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تیمار و سه تکرار، با استفاده از نرم‌افزار SPSS و بر اساس آزمون دانکن در سطح $\alpha=0/05$ انجام پذیرفت.

نتایج

باسیلوس‌های پروبیوتیکی توانستند باعث ارتقاء برخی از فاکتورهای تغذیه‌ای در لاروهای تاس ماهی ایرانی گردند. شاخص گاستروسوماتیک که از نسبت وزن دستگاه گوارش با محتویات آن به وزن بدن ماهی بدست می‌آید و نشان دهنده شدت تغذیه می باشد در تیمارهای آزمایشی نسبت به تیمار شاهد افزایش یافته و تیمارهای

لارو سه روزه تاس ماهی ایرانی با وزن متوسط حدود ۲۲/۲۰ میلی‌گرم به تعداد ۲۴۰۰ قطعه انتخاب و جهت گذراندن دوره جذب کیسه زرده به ۱۲ ظرف پلاستیکی مدور به حجم ۵۰ لیتر (حجم آبگیری ۴۵ لیتر) معرفی گردیدند. همزمان با شروع تغذیه فعال، ۴ تیمار شامل یک تیمار شاهد و سه تیمار آزمایشی به ترتیب تحت عنوان T_1 ، T_2 و T_3 ، هریک با ۳ تکرار در نظر گرفته شدند. تراکم تقریبی لاروهای ماهی معادل ۵-۴ قطعه در هر لیتر در نظر گرفته شد. تغذیه لاروهای تاس ماهی ایرانی در تیمار شاهد از ناپلی‌های آرتمیای بدون غنی‌سازی با پروبیوتیک‌ها انجام شده و در تیمارهای آزمایشی T_1 ، T_2 و T_3 به ترتیب از ناپلی‌های غنی شده با باسیلوس‌های پروبیوتیکی با غلظت سوسپانسیون باکتریای CFU/liter 1×10^8 ، 2×10^8 CFU/liter و 3×10^8 که به مدت ۱۰ ساعت بطول انجامید، صورت پذیرفت. تغذیه لاروهای ماهی در تیمارهای شاهد و تیمارهای آزمایشی براساس ۳۰ درصد وزن توده زنده آنها محاسبه و روزانه در ۶ نوبت به آنها داده شد.

تجزیه لاشه ماهی و برآورد معیارهای رشد: در انتهای دوره پرورش تعداد ۵۰ قطعه لارو ماهی از هر حوضچه پلاستیکی نمونه برداری و طول و وزن آنها اندازه گیری و پس از انجماد در ازت مایع به یخچال -70°C درجه‌سنتی‌گراد منتقل شدند. در آزمایشگاه، تجزیه لاشه لاروهای تاس ماهی ایرانی و تعیین ترکیبات شیمیایی لاشه آنها مطابق با استاندارد AOAC (۱۹۹۰) انجام پذیرفت. سپس بر مبنای داده‌های بدست آمده از آنالیز لاشه، با بکارگیری مدل‌های مختلف ریاضی، برخی از فاکتورهای تغذیه‌ای به شرح زیر برآورد گردیدند.

نسبت کارایی پروتئین^۱ (۱۸): مقدار پروتئین خورده

$$\text{PER} = \text{شده/وزن نهایی ماهی (گرم)}$$

نسبت کارایی چربی^۲ (۱۸): مقدار چربی خورده شده/وزن

$$\text{LER} = \text{نهایی ماهی (گرم)}$$

- 3- Gastro Somatic Index
- 4- Daily food in
- 5- Net Protein Utilization
- 6- Relative Food Intake
- 7- Energy Retention Efficiency

- 1- Protein Efficiency Ratio
- 2- Lipid Efficiency Ratio

T_2 و T_3 در مقایسه با گروه شاهد اختلاف معنی دار نشان داد ($P < 0/05$) (شکل ۱).

غذای نسبی خورده شده که نشان‌دهنده مقدار غذای مصرف شده نسبت به وزن بدست آمده می‌باشد، بطور قابل توجهی در طی تاثیر پروبیوتیک‌ها در تیمارهای آزمایشی کاهش یافته و اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد بدست آمد ($P < 0/05$). کمترین مقدار آن در تیمار T_3 مشاهده گردید (شکل ۲).

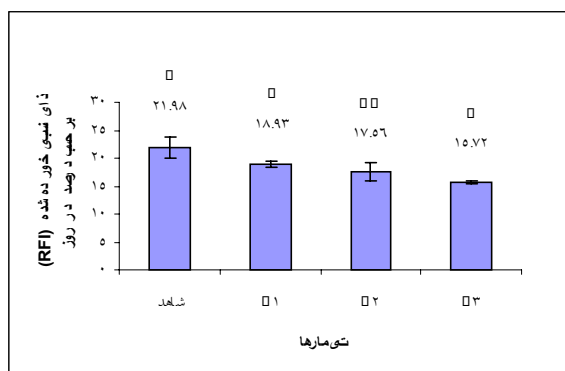
کارایی ابقاء انرژی نیز در لاروهای تیمارهای آزمایشی بطور معنی دار نسبت به گروه شاهد ارتقاء یافت ($P < 0/05$) و بیشترین مقدار آن در تیمار T_3 و معادل ۴۰/۳۵ درصد محاسبه گردید (شکل ۳).

نسبت کارایی چربی در لاروهای تیمارهای آزمایشی افزایش یافته و در مقایسه با گروه شاهد، تیمار آزمایشی T_3 اختلاف معنی دار نشان داد ($P < 0/05$) (شکل ۴).

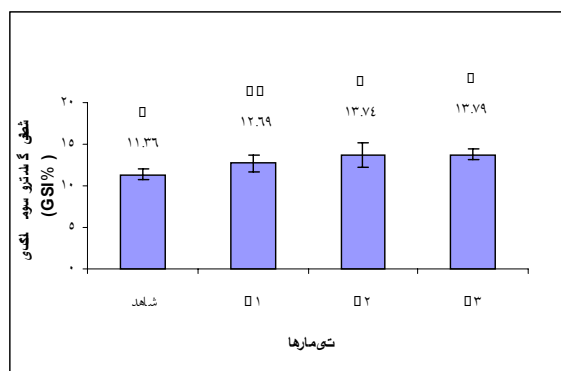
باسیلوس‌های پروبیوتیکی موجب افزایش کارایی بهره‌برداری از پروتئین خالص توسط لاروهای تاس ماهی ایرانی در تیمارهای آزمایشی شدند و اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد بدست آمد ($P < 0/05$) (شکل ۵).

پروبیوتیک‌ها باعث کاهش غذای خورده شده روزانه در لاروهای تاس ماهی ایرانی نسبت به وزن بدست آمده گردیدند، این نشان داد که کارایی تغذیه در تیمارهای تحت تاثیر پروبیوتیک‌ها، افزایش یافت. در تیمار T_3 این معیار به ۷/۰۸ درصد تقلیل یافت. تیمارهای T_2 و T_3 نسبت به لاروهای ماهی در گروه شاهد اختلاف معنی‌دار داشتند ($P < 0/05$) (شکل ۶).

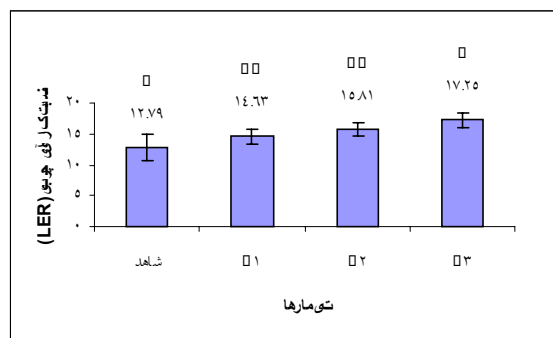
همچنین نسبت کارایی پروتئین نیز در تیمارهای آزمایشی تحت تاثیر پروبیوتیک‌ها ارتقاء یافته و با گروه شاهد اختلاف معنی‌دار داشت ($P < 0/05$). بیشترین مقدار نسبت کارایی پروتئین در تیمار T_3 (۷/۵۹) بدست آمد (شکل ۷).



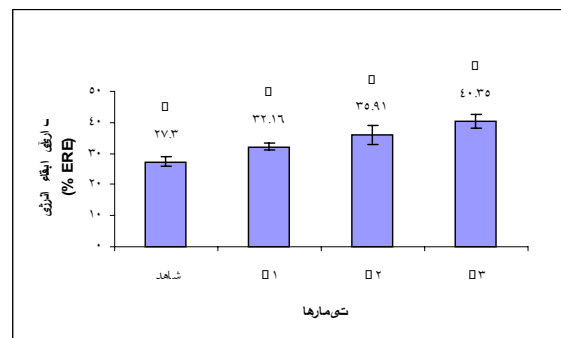
شکل ۱- تغییرات شاخص گاستروسوماتیک در لاروهای تاس ماهی ایرانی



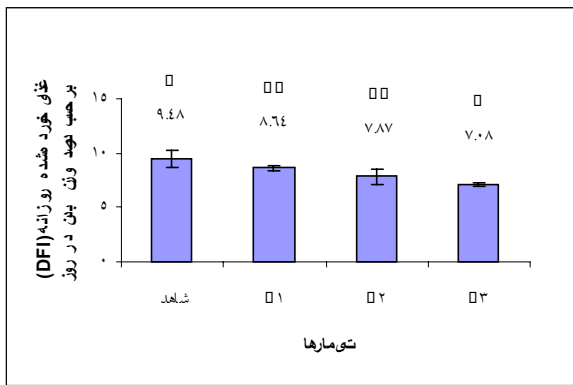
شکل ۲- تغییرات غذای نسبی خورده شده در لاروهای تاس ماهی ایرانی



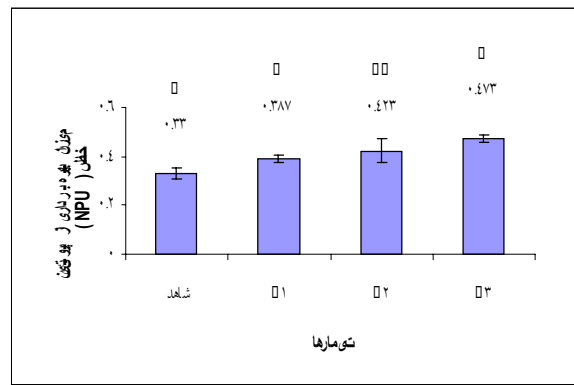
شکل ۳- تغییرات ابقاء انرژی در لاروهای تاس ماهی ایرانی



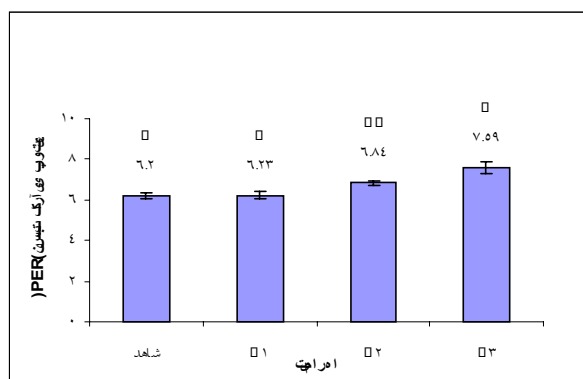
شکل ۴- تغییرات نسبت کارایی چربی در لاروهای تاس ماهی ایرانی تیمارهای مختلف



شکل ۵- تغییرات میزان بهره برداری از پروتئین خالص در لاروهای تاس ماهی ایرانی



شکل ۶- تغییرات غذای خورده شده روزانه در لاروهای تاس ماهی ایرانی



شکل ۷- تغییرات نسبت کارایی پروتئین در لاروهای تاس ماهی ایرانی

صورت گرفته روی کپور ماهیان هندی مشاهده نمودند که پروبیوتیک‌ها تاثیر معنی‌داری بر فاکتورهای تغذیه‌ای داشتند (۲۵).

شاخص‌های تغذیه‌ای در انتهای دوره آزمایش در تیمارهای آزمایشی نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌داری را نشان داد و بیشترین مقدار آن در تیمارهای آزمایشی و بخصوص در تیمار T₃ بدست آمد، بنابراین افزایش پروبیوتیک‌ها در سوسپانسیون ناپلی‌های غنی شده مورد تغذیه لاروهای ماهی در تیمارهای آزمایشی، راندمان تغذیه‌ای را ارتقاء دادند. چنین نتایجی را Ghosh و همکاران در ارتباط با ماهیان انگشت قد رهو که از جیره‌های مکمل شده با غلظت‌های متفاوتی از *B.circulans* تغذیه کرده بودند، بدست آوردند (۱۶).

بطوری که *B.circulans* مکمل شده در جیره‌های آزمایشی با غلظت‌های مختلف باکتری در غذا موجب

بحث

رتیفر و آرمیا از جمله ارگانیزم‌هایی هستند که عموماً در فرآیند غنی‌سازی به‌عنوان حامل باکتری‌های مفید جهت انتقال به دستگاه گوارش میزبان مورد استفاده قرار می‌گیرند (۱۳). غنی‌سازی غذاهای زنده (رتیفر و آرمیا) با توجه به اهمیت فلور باکتریایی طعمه‌های زنده مورد تغذیه لاروهای ماهی از اهمیت بسیار بالایی برخوردار بوده و غنی‌سازی با باکتری‌های مفید جهت کنترل باکتری‌های مهاجمی و پاتوژن‌ها بسیار ضروری است. همچنین تلقیح پروبیوتیک‌ها به غذاهای زنده در افزایش ارزش و کیفیت غذایی آنها تاثیر بسیار مثبتی دارد (۲۷).

پروبیوتیک‌های باسیلی با تاثیرگذاری خویش توانستند عملکرد تغذیه را در لاروهای تاس ماهی ایرانی افزایش دهند. معیارهای تغذیه در لاروهای ماهی در تیمارهای آزمایشی ارتقاء یافت. Swain و همکاران با مطالعه

افزایش کارایی چربی، پروتئین و انرژی شده و سطوح انرژی و چربی و پروتئین خام لاشه ماهیان افزایش یافت. نتایج مشابهی از بکارگیری باسیلوس‌های پروبیوتیکی در تغذیه از ناپلی غنی شده با پروبیوتیک‌های فوق‌الذکر در لاروهای تاس ماهی ایرانی بدست آمد، نرخ رشد ویژه از ۹/۲۳ به ۱۰/۱۸ درصد در روز، کارایی تبدیل غذا از ۳۱/۹۹ به ۴۳/۹۶ درصد ارتقاء یافته و نسبت کارایی پروتئین از ۵/۱۶ به ۷/۰۳ و کارایی چربی نیز از ۱۳/۷۳ به سطحی معادل ۱۸/۸۴ افزایش یافت (۱). این نتایج در مشابهت با نتایج بدست آمده از تحقیق حاضر بود.

باسیلوس‌های پروبیوتیکی با استفاده از غنی‌سازی *Artemia franciscana* در پرورش میگوی سفید هندی (*Fenneropenaeus indicus*) بکار رفته و بر بازماندگی و رشد آنها تاثیر معنی‌داری گذاشتند (۳۰).

باسیلوس‌های پروبیوتیکی احتمالاً از طریق افزایش قابلیت هضم پروتئین و چربی موجب افزایش ذخیره چربی لاشه ماهیان گشته و کارایی آنها را بالا می‌برند (۸). شاخص‌های تغذیه‌ای نظیر نسبت کارایی پروتئین و نسبت کارایی چربی در لاروهای تاس ماهی ایرانی افزایش چشمگیری را نشان دادند. چنین نتایجی را *Bairagi* و همکاران (۸)، *Ghosh* و همکاران (۱۵ و ۱۶) در بکارگیری جیره‌های مکمل شده با *B. circulans* و *B. subtilis* در تغذیه لاروهای ماهی روهو به‌دست آوردند.

باسیلوس سیرکولانس ایزوله شده از روده ماهی پس از افزودن‌سازی از طریق کشت باکتریایی، مجدداً طی مکمل‌سازی با غلظت‌های مختلف در جیره‌های غذایی

نوزادان این ماهی بکار رفته و باعث افزایش معیارهای تغذیه‌ای آنها شد (۱۶). اسپور *B. toyoi* بکار رفته در غنی‌سازی با روتیفر نشان داد که این باسیلوس پروبیوتیکی تاثیر بسیار مثبتی بر روی فاکتورهای تغذیه‌ای، رشد و بقاء لارو ماهیان توربوت داشت (۱۲).

جعفریان و همکاران نشان دادند که استفاده از آرد دافنی ماگنای مکمل شده با باسیلوس‌های پروبیوتیکی، تاثیر بسیار بالایی بر کارایی تغذیه و رشد لاروهای ماهیان قول‌آلای دارد (۳). نتایج مشابهی نیز در غنی‌سازی دافنی با پروبیوتیک‌های باسیلی در لاروهای ماهی قزل‌آلا در ارتباط با پارامترهای تغذیه‌ای و کارایی رشد مشاهده گردید (۴).

Zirong و *Yanbo* گزارش کردند که نتایج بدست آمده از بکارگیری باسیلوس پروبیوتیکی لیوفلیزه^۱ (انجماد خشک) و باکتری‌های فتوسنتزکننده^۲ و مخلوط آنها در تغذیه نوزاد ماهی کپور معمولی نشان داد که فعالیت آنزیم‌های گوارشی آمیلاز، لیپاز و پروتئاز در تیمارهای آزمایشی نسبت به گروه شاهد در حد معنی‌دار افزایش پیدا نموده و موجب کاهش ضریب تبدیل غذایی و افزایش کارایی تغذیه در این ماهی گردید (۳۰). نتایج تحقیقات ذکر شده با نتایج بدست آمده از این تحقیق مطابقت داشت.

این مطالعه مشخص نمود که پروبیوتیک‌های باسیلی قابلیت تاثیرگذاری بالایی بر ارتقاء عملکرد تغذیه و افزایش معیارهای تغذیه‌ای در تاس ماهی ایرانی در دوره پرورش لاروی دارند.

منابع

- ۱-جعفریان، ح.، ۱۳۸۵. تاثیر باکتری‌های باسیلوسی به‌عنوان پروبیوتیک بر رشد، بازماندگی و فعالیت آنزیم‌های گوارشی در لارو تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) در طول دوره پرورش لاروی از طریق غنی‌سازی با آرتمیا ارومیانا (*Artemia urmiana*) . پایان‌نامه دکترا. دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان. ۱۰۳ صفحه.
- ۲-جعفریان، ح.، آذری تاکامی، ق.، کمالی، الف.، سلطانی، م.، حبیبی‌رضایی، م.، ۱۳۸۴. غنی‌سازی آرتمیا ارومیانا (*Artemia urmiana*) با مخلوط پنج گونه از باسیلوس‌های پروبیوتیکی گرم مثبت هاگدار. مجله علوم دریایی ایران، دوره ۴، شماره ۱ و ۲، بهار و تابستان ۸۴ ص ۱۱-۲۱.
- ۳-جعفریان، ح.، طاعتی، م.، نظریور، ع.، ۱۳۸۶ الف. مکمل‌سازی مخلوط باسیلوس‌های پروبیوتیکی در آرد دافنی ماگنا (*Daphnia magna*) برای تغذیه لارو ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) بر مبنای عملکرد رشد. نخستین همایش ملی میکروبیولوژی کاربردی ایران. تهران دانشگاه الزهراء (س). تیرماه ۸۶. ص ۱۳۱.
- ۴-جعفریان، ح.، مروت، ر.، شیرزاد، ح.، ۱۳۸۶ ب. بکارگیری دافنی ماگنای (*Daphnia magna*) غنی شده با باسیلوس‌های پروبیوتیکی و تاثیر آنها بر رشد لاروهای ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*). نخستین همایش ملی میکروبیولوژی کاربردی ایران. تهران دانشگاه الزهراء (س). تیرماه ۸۶. ص ۱۳۰.
- ۵-شعبان‌پور، بهاره، ۱۳۷۷. تعیین ضرایب دافنی و ناپیلوس آرتمیا در تغذیه لارو تاس‌ماهی ایرانی. پایان‌نامه کارشناسی ارشد دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان. ۷۱ صفحه.
6. Anonymouse, Protexin aquatech.probiotic international limited.stoke.sub Hamodon. Somesset TA 146 QE united kingdom Email. Info@protexin.com
7. AOAC. 1990. In: W.Horwitz(ed). Official Methods of Analysis of Association of Official Analytical Chemists (AOAC). Vol.1, 15th ed. Assoc. Official Analytical Chemists, Washington.
8. Bairagi, A., Ghosh, K.S., Sen, S.K., and Ray, A.K., 2004. Evaluation of the nutritive value of *leucaena leucocephala* leaf meal, inoculated with fish intestinal bacteria *bacillus subtilis* and *Bacillus circulans* in formulated diets for rohu, *labeo rohita* (Hamilton) fingerlings. Aquaculture research. 35:436- 446.
9. Desai, V.R., 1970. Studies on the fishery and biology of Tortor (Hmlton) from river Narmada. J. Inland Fish. Soc. India. 2: 101-112.
10. De Silva, S.S., and Anderson, T.A., 1995. In: Fish Nutrition in Aquaculture Hall, London. 319 pp.
11. Fuller, R., 1989. Probiotics in man and animals. J. Appl. Bacteriol. 66: 365-378.
12. Gatesoupe, F.J., 1991. Bacillus sp. Spores: A new tool against early bacterial infection in turbot larvae, *Scophthalmus maximus* In: larvens, p., Jaspers, E., Roelands, I. (Eds), Larvi-fish and crustacean larviculture symposium. European Aquaculture Society, Gent, pp. 409-411, Special publication no. 24.
13. Gatesoupe, F.J., 1994. Lactic acid bacteria increase the resistance of turbot Larvae, *Scophthalmus maximus*. Against pathogenic vibrio. Aquat. Living Resour. 7: 277-286.
14. Gatesoupe, F.J., 1999. Review: The use of probiotics in aquaculture. Aquaculture. 180: 147-165 .
15. Ghosh, K., Sen, S.K., and Ray, A.K., 2003. Supplementation of an isolated fish gut bacterium, *Bacillus circulans*, in Formulated diets for Rohu, *Labeo rohita*, Fingerlings. Aquaculture-Bamidgeh. 55(1): 13-21.
16. Ghosh, K., Sen, S.K., and Ray, A.K., 2004. Growth and survival of rohu, *Labeo rohita*(Hamilton ,1822) spawn feed diets formented with intestine bacterium, *Bacillus circulans*. Acta Ichthyologica et piscatoria. 34(2):155-165 .
17. Gomez- Gil, B., Herrera- Vega, M. A., Aberu- Grobis, F.A. and A. Roque. 1998. Bioencapsulation of two different vibrio species in nauplii of the Brine shrimp (*Artemia fransiscana*) . Applied Environmental microbiology. 64: 2318-2322.
18. Helland, S.J., Grisdale Helland, B., and Nerland, S., 1996. A simple method for the measurement of daily feed intake of groups of fish in tanks. Aquaculture. 139: 157-163.
19. Jafaryan, H., and Makhtomii, M., 2007. The influence of probiotic bacillus on the feeding efficiency and nutrient composition of body in Beluga (*Huso huso*) larvae. International Workshop on Advanced Techniques in Sturgeon Fish Larviculture. 12-14 March. Urmia-Iran. p. 83.

20. Parker, R.B., 1974. Probiotics. The other half of the antibiotics story. *Anim. Nutr. Health* 29: 4-8.
21. Ringo, E., and Birkbeck, T.H., 1999. Intestinal microflora of fish and fry. *Aquaculture Research*.30: 73-93.
22. Sissons, J.W., 1989. Potential of probiotic organisms to prevent diarrhoea and promote digestion in farm animals. A review. *J. sci. Food Agric.* 49: 1-13.
23. Smith, D.M., Tabrett, S.J., Barclay, M.C., and Irvin, S.J., 2005. The efficacy of ingredients included in shrimp feeds to stimulate intake. *Aquaculture Nutrition*. 11:263-272.
24. Sorgeloos, P., Bossuyt, E., Lavina, E., Baeza-Mesa, M., and Persoone, G., 1977. Decapsulation of *Artemia* cysts: a simple technique for the improvement of the use of brine shrimp in aquaculture. *Aquaculture*.12:311.
25. Swain, S.K., Rangacharyulu, P.V., Sarkar, S., and Das, K.M. 1996. Effect of a probiotic supplementation on growth, nutrient utilization and carcass composition in mrigal fry. *Aquaculture*. 4:29-35.
26. Tannok, G.W., 1997. Modification of the normal microbiota by diet, stress, antimicrobial agents and probiotics, In: Mackie, R.I., Withe, B.A., Isaacson, R.E., (Eds), *Gastrointestinal Microbiology, Vol. 2, Gastrointestinal Microbes and Host Interaction*. Chapman and Hall Microbiology Series, International Thomson Publishing, New York, pp. 434-465.
27. Verschuere, L., Rombaut, G. Huys, G. Dhont, J. Sorgeloos, P. and Verstraete, W., 1999. Microbial control of the culture of *Artemia* juveniles through preemptive colonization by selected bacterial strains. *Appl. Environ. Microbiol.* 65: 2527-2533.
28. Watanabe, T., Kitajima, C., and Fujita, S., 1983. Nutritional values of live organisms used in japan for mass propagation of fish: a review. *Aquaculture*. 34:15-143.
29. Yanbo, W., and Zirong, X., 2006. Effect of probiotic for common carp (*Cyprinus carpio*) based on growth performance and digestive enzymes activities. *Animal feed science and technology*. 127: 283-292.
30. Ziaei-Nejad, S., Habibi Rezaei, M., Azari Takami, G., Lovett, D.L., Mirvaghefi, A.R., and 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.

The use of probiotic bacillus for the promotion of nutrition factors of *Acipenser persicus* larvae

H. Jafaryan¹, N. Makhtomi² and M. Ghamsary²

¹Faculty member of Dept., of Natural Sciences, Higher education Institutes of Gonbad, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, ²Sturgeon culture center of Shahid Marjani, Agh-ghala

Abstract

In this research, the effects of probiotic bacillus on the nutritional efficiency of *Acipenser persicus* larvae by using five blends of probiotic bacillus via bioencapsulation of *Artemia urmiana* nauplii were studied. This experiment was conducted in a completely random design in four treatments. The blend of probiotic bacillus was used in three concentration of 1×10^8 , 2×10^8 and 3×10^8 bacteria per liter in suspension of broth. *Artemia* nauplii were bioencapsulated by blends of probiotic bacillus for 10 hours and fed by *Acipenser persicus* larvae in experimental treatments. The control treatment was fed on unbioencapsulated *Artemia* nauplii. The larvae were fed 6 times per day with bioencapsulated nauplii. The results indicated in comparison with control treatment, the probiotic bacillus had positive and significant effects on the Protein Efficiency Ratio (PER), Lipid Efficiency Ratio (LER), Energy Retention Efficiency (ERE), Gastro Somatics Index (GSI) and Net Protein Utility (NPU) in experimental treatments ($P < 0.05$). Also the Relative Food Intake (RFI) and Daily Food Intake (DFI) significantly increased ($P < 0.05$). The experiment indicated that the probiotic bacillus efficiently affected the feeding efficiency and the feeding factors in *Acipenser persicus* larvae.

Keywords: *Artemia* nauplii; *Acipenser persicus* larvae; Bioencapsulation; lipid efficiency ratio; Probiotic; protein efficiency ratio