تغــذیه آبزیــان
سال اول، شماره اول،
بهار و تابستان ۱۳۹۴

تاثیر باسیلوس‌های پروبیوتیکی بر کارایی تغذیه و کیفیت لاشه نوزاد ماهی قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

حکیمه سرگزی*، حجت الله جعفریان
گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد، گلستان

تاریخ دریافت: ۹۳/۸/۲۰ تاریخ پذیرش: ۹۴/۱/۱۹

چکیده
در این تحقیق اثرات باسیلوس‌های پروبیوتیکی بر کارایی تغذیه و کیفیت لاشه نوزاد ماهیان قزل‌آلا (*Oncorhynchus mykiss*)، با به کارگیری محصول تجاری پروتکسین آکواتک شامل مخلوط پنج گونه از باسیلوس‌های پروبیوتیکی (*Basilus licheniformis*، *B. subtilis*، *B. polymyxa*، *B. laterosporus* و *B. circulans*) از طریق مکمل سازی جیره به مدت ۶۰ روز مورد بررسی قرار گرفت. نوزادهای ماهی قزل آلا با وزن متوسط ۳۲ ± ۴۶۳ میلی گرم تهیه شده و جیره آن‌ها با مخلوط پنج باسیلوس ذکر شده، در غلظت‌های ۱×۱۰^{۶} (تیمار $D_۱$)، ۱×۱۰^{۷} (تیمار $D_۲$) و ۱×۱۰^{۸} (تیمار $D_۳$) در هر ۱۰۰ گرم غذا مکمل سازی شد و اثر تیمارهای پروبیوتیکی با تیمار شاهد که دارای جیره فاقد پروبیوتیک بود مقایسه شد. تغذیه از ۵ تا ۸٪ وزن بدن متغیر بود. تیمار $D_۲$ بطور معنی‌دار رشد بهتری را با ضریب تبدیل غذایی کمتر نسبت به گروه شاهد و تیمار $D_۱$ نشان داد. نتایج نشان داد که در تیمارهای آزمایشی، پروبیوتیک‌ها روی نسبت کارایی پروتئین، نسبت کارایی چربی و ارزش تولید پروتئین در مقایسه با تیمار شاهد، تاثیرات مثبت و معنی داری داشتند ($P<۰/۰۵$). سطوح ماده خشک لاشه، پروتئین خام و چربی خام لاشه نیز در تیمار $D_۲$ به طور معنی دار افزایش یافت ($P<۰/۰۵$). نتایج این مطالعه نشان داد که پروبیوتیک‌های باسیلی باعث افزایش کارآیی تغذیه و بهبود کیفیت لاشه نوزاد قزل‌آلا می‌شوند.

کلمات کلیدی: قزل آلا، تغذیه، پروبیوتیک، مکمل سازی

* نویسنده مسئول: h.sargazi68@gmail.com

مقدمه

باکتری‌ها در روده نوزاد آبزیان در خلال روزهای اول زندگی بعد از تفریخ شدن، به سرعت تشکیل کلنی می‌دهند. اعضای این اجتماعات اولیه باکتریایی می‌باید در رقابت با دیگر باکتری‌های موجود در دستگاه گوارش به یک برتری رقابتی بالا دست یابند. لذا معرفی گونه‌های مفید باکتری یا پروبیوتیک‌ها باید بلافاصله با شروع تغذیه فعال از طریق افزودن به غذا صورت گیرد (Hansen and Olafsen, 1999). مطالعات متعدد صورت گرفته نشان می‌دهد به کارگیری باکتری‌های پروبیوتیکی در مراحل اولیه زندگی آبزیان، باعث ایجاد ارتقاء رشد و کارآیی تغذیه در آن‌ها می‌شود (Gomez-Gil et al. 2000). در همین راستا ایجاد یک کلنی مفید در زمان مناسب، از طریق مکمل‌سازی با افزودن به جیره‌های مورد استفاده در تغذیه آبزیان مورد مطالعه، بسیار ضروری به نظر می‌رسد (Munro et al. 1999).

واژه پروبیوتیک، واژه یونانی است که به معنای "برای زندگی" می‌باشد و از ترکیب کلمه pro (به معنی برای) و کلمه bio (به معنای زندگی) ساخته شده است (Zivkovic, 1999) و معادل فارسی آن را «زیست یار» نامیده‌اند. این واژه نخستین بار توسط Lily and Stillwell (1965) به کار گرفته شد. سپس Parker (۱۹۷۴) تعریفی را ارائه نمود که مطابق با آن پروبیوتیک‌ها موجودات زنده‌ای هستند که در تعادل میکروبی روده تأثیر می‌گذارند. استفاده از پروبیوتیک‌ها در واقع فناوری جدید آبزی‌پروری است و پروبیوتیک‌ها در واقع موجودات زنده‌ای هستند که معمولا با اهداف افزایش رشد و بازماندگی، کمک در افزایش هضم و جذب غذا (با ترشح یک سری آنزیم‌ها)، رقابت با سویه‌های بیماری‌زا و جایگزینی در محیط و دستگاه گوارش (از طریق تعادل میکروبی دستگاه گوارش)، تجزیه مواد آلی و بهبود شرایط محیطی و افزایش سطح ایمنی بدن به محیط و غذای جانوران پرورشی افزوده می‌گردند (Gatesoupe, 1999). همچنین استفاده از پروبیوتیک‌ها در آبزیان، باعث کاهش مرگ و میر می‌شود، این امر اهمیت بالای این موجودات را نشان می‌دهد (Irianto and Austin, 2002, Chang and Liu, 2002).

این باکتری‌ها ساپروفیت‌های گرم مثبت، غیر بیماریزا و هاگ شکل هستند که به طور طبیعی در هوا، آب، خاک، گرد و غبار و رسوب‌ها پیدا می‌شوند. باسیلوس‌ها با ممانعت یا کاهش چسبیدن عوامل بیماریزا، تحریک دستگاه ایمنی میزبان و تولید اسید، پراکسید هیدروژن و باکتریوسین‌های ضد رشد عوامل بیماریزا باعث کاهش تلفات در ماهیان می‌شوند (Vazquez et al. 2005). گونه باسیلوس رشد را بهبود می‌بخشد و مقاومت ماهی را در برابر بیماری‌ها افزایش می‌دهد. همچنین این باکتری‌ها موجب بهبود پارامترهای کیفی آب نیز می‌شود (Gatesoupe, 1999). پتانسیل‌های برخی از باسیلوس‌های پروبیوتیکی جدا شده از روده آبزیان پرورشی مختلف نشان داد که این باسیلوس‌ها با ترشح ترکیبات بیوشیمیایی بسیاری نظیر آنزیم‌های گوارشی، قابلیت هضم و جذب غذا را در لاروهای آبزیان پرورشی افزایش داده و کارآیی تغذیه و پارامترهای رشد را ارتقاء می‌دهند (Bairagi et al. 2002). در همین راستا عنوان می‌شود که بسیاری از لاکتوباسیلوس‌ها و باسیلوس‌های پروبیوتیکی دارای آنزیم‌های خارج سلولی از جمله آمیلاز، لیپاز و پروتئاز بوده و از طریق تحریک اشتها و افزایش متابولیسم میکروبی موجب ارتقاء سطح تغذیه توسط میزبان می‌شوند (Irianto and Austin, 2002) همچنین این باکتری‌ها با افزایش قابلیت هضم و جذب بهتر مواد غذایی خورده شده توسط ماهی، موجب افزایش کارآیی تغذیه و بالطبع موجب رشد بیشتر نوزاد ماهیان می‌شوند (Ghosh et al. 2003).

ماهی قزل‌آلای رنگین کمان یکی از مهم‌ترین گونه‌های آزاد ماهیان، با ارزش اقتصادی بالا برای پرورش جهانی بوده و بخش بزرگی از میزان تولید آبزیان را به خود اختصاص می‌دهد (Azewedo et al. 2004). این ماهی با دارا بودن قابلیت سازگاری مناسب، در اکثر آب‌های شیرین که دارای دمای مناسب برای رشد این گونه هستند، یافت می‌شود. بر اساس آمار منتشر شده توسط سازمان خواروبار جهانی (FAO)، ایران در پرورش آزاد ماهیان در سال ۲۰۰۹ دارای رتبه سوم و در پرورش قزل‌آلای رنگین کمان در آب شیرین دارای رتبه اول جهان است. تحقیق حاضر با هدف ارتقاء معیارهای رشد و تغذیه‌ای نوزادهای ماهی قزل‌آلای رنگین کمان و با استفاده از مخلوط باسیلوس‌های پروبیوتیکی شامل *B. licheniformis*، *B. subtilis*، *B. polymyxa*، *B. laterosporus* و *B. circulans* صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

آماده سازی پروبیوتیک‌ها و مکمل سازی جیره

سوسپانسیون مخلوط باسیلوس‌های پروبیوتیکی تحت عنوان محصول تجاری پروتکسین آکواتک از شرکت نیکو تک (پروتکسین، انگلیس) تهیه شد. این فرآورده میکروبی شامل سوسپانسیون اسپور مخلوط ۵ گونه باسیلوس به همراه محیط کشت اختصاصی آن‌ها (پپتون، پلی ساکاریدها و مواد معدنی) بود. میزان هاگ هر یک از باسیلوس‌های پروبیوتیکی در این سوسپانسیون باکتریایی، شامل باسیلوس لینچی فورمیس ۳۸/۳۵ درصد، باسیلوس سیرکولانس ۲۵/۰۷ درصد، باسیلوس سابتیلیس ۱۰/۷۷ درصد، باسیلوس لتروسپوروس ۱۷/۵۴ درصد و باسیلوس پلی میکسا ۸/۲۵ درصد بود. برای تبدیل هاگ باسیلوس‌های تشکیل دهنده سوسپانسیون باکتریایی به باکتری‌های رویشی، بر اساس دستورالعمل شرکت پروتکسین آکواتک، در ظروف شیشه‌ای کاملا تمیز با حجم ۲۰ میلی لیتر توسط سمپلر مقدار ۱۰ میکرولیتر از مخلوط سوسپانسیون هاگ باسیلوس‌ها را منتقل نموده و سپس از محیط کشت اختصاصی باکتری‌ها نیز به میزان ۲۶ میلی‌گرم برداشته و به ظروف شیشه‌ای حاوی هاگ باسیلوس‌ها اضافه شد. این سوسپانسیون پس از مخلوط شدن، در انکوباتور دارای حرارت ۳۷°C برای مدت ۸ ساعت انکوبه شد (جعفریان و همکاران، ۱۳۸۶). در سوسپانسیون باکتریایی، میزان CFU/liter ۱×۱۰^{۱۰} از مخلوط باسیلوس‌ها وجود داشت که پس از اتمام مدت انکوباسیون و تبدیل اسپورها به باکتری‌های رویشی، غلظت‌های مورد نیاز در این آزمایش شامل، ۱×۱۰^{۶} (تیمار $D_۱$)، ۱×۱۰^{۷} (تیمار $D_۲$) و ۱×۱۰^{۸} (تیمار $D_۳$) با استفاده از رقیق سازی سریالی در دامنه $۱۰^{-۱}$ تا $۱۰^{-۸}$ تهیه شدند (Makridis et al. 2001). هر کدام از غلظت‌های تهیه شده در ۲۰ میلی لیتر آب مقطر استریل حل شده و مکمل سازی جیره از طریق مخلوط کردن هر غلظت به طور جداگانه، در ۱۰۰ گرم غذا صورت گرفت (جعفریان، ۱۳۸۵ ؛ جعفریان و همکاران، ۱۳۸۸؛ Jafaryan et al. 2009) در مرحله آخر جیره‌های تهیه شده در دستگاه انکوباتور در دمای ۲۵°C خشک شدند. برای حصول اطمینان از استقرار باکتری‌ها در دستگاه گوارش کشت باکتریایی داده شد و باکتری‌ها شناسایی شدند (Ghosh et al. 2003). جیره تیمار شاهد نیز به همین صورت تهیه شده ولی به آن هیچگونه باسیلوسی اضافه نشد. مقادیر ترکیب شیمیایی اولیه نوزاد ماهی قزل آلای رنگین کمان و جیره مکمل سازی شده در جدول ۱ نشان داده شده است.

تیمارهای آزمایشی

تعداد ۵۶۰ عدد نوزاد ماهی قزل‌آلای رنگین کمان از مرکز تکثیر واقع در محور هراز تهیه شده و به آزمایشگاه شیلات دانشگاه گنبد منتقل شد. نوزادها در سه تیمار به نام‌های $D_۱$، $D_۲$ و $D_۳$ و یک گروه شاهد قرار گرفتند. هر یک از تیمارها واجد ۳ تکرار و هر تکرار شامل حوضچه پلاستیکی ۱۶ لیتری دارای ورودی و خروجی آب بود که در هر یک ۳۵ عدد نوزاد ماهی قزل‌آلا با متوسط وزن اولیه ۳۲ ± ۴۶۳ میلی‌گرم معرفی شد. سرعت جریان ورودی آب به گونه‌ای بود که هر دقیقه یک لیتر آب وارد ظروف می‌شد. هوادهی مستمر توسط یک دستگاه پمپ الکتریکی هوا مدل هایلا صورت گرفت.

تغذیه نوزادهای قزل آلا

برای تغذیه نوزادهای ماهی از جیره تجاری بیومار استفاده شد. نوزادهای قزل‌آلا در هر تیمار با غذاهای مکمل شده مورد تغذیه قرار گرفتند؛ در تیمار $D_۱$، نوزادهای قزل آلای رنگین کمان با مخلوط باسیلوس‌های پروبیوتیکی با غلظت ۱×۱۰^{۶} باکتری در هر صد گرم جیره، تغذیه شدند. تیمارهای آزمایشی $D_۲$ و $D_۳$ نیز به ترتیب از جیره‌های حاوی باسیلوس‌های پروبیوتیکی در غلظت ۱×۱۰^{۷} و ۱×۱۰^{۸} باکتری در هر صد گرم جیره تغذیه شدند. در تیمار شاهد، نوزادها با جیره بدون باسیلوس‌های پروبیوتیکی تغذیه شدند. مقدار غذای مورد نیاز نوزادهای قزل‌آلا به ازای هر روز بر اساس جدول استاندارد (وزن توده ماهی و درجه حرارت آب) تعیین و مورد استفاده قرار گرفت. درصد غذادهی با توجه به اندازه نوزادها از ۵ تا ۸ ٪ وزن بدن متغیر بود. طول دوره تغذیه ۶۰ روز در نظر گرفته شد. جیره ماهیان سه بار در روز و در ساعات ۸، ۱۵ و ۲۲ توزیع می‌شد. باقی‌مانده غذایی نیز با استفاده از میکروپیپت با دقت از ظروف جمع آوری می‌شد. این مقدار غذای جمع آوری شده از کل غذای عرضه شده کسر گردیده و غذای خورده شده روزانه محاسبه می‌شد (Ghosh et al. 2003).

معیارهای کیفی آب

برخی پارامترهای کیفی آب مانند اکسیژن محلول و pH با استفاده از دستگاه واترچکر هانا مدل ۸۳۲۰۰ به صورت روزانه اندازه گیری شد. اکسیژن محلول معادل ۰/۵۲ ± ۷/۸۷ میلی گرم و pH آب معادل ۰/۱۸ ± ۷/۶ به‌دست آمد. همچنین اندازه گیری درجه حرارت آب نیز در هر روز در ۳ نوبت و همزمان با دفعات غذادهی نوزادها انجام گرفت و معادل ۱/۳۵°C ± ۱۶/۲ محاسبه شد..

معیارهای تجزیه لاشه و فاکتورهای اندازه گیری

در انتهای دوره آزمایش، تمامی ماهی‌ها صید و وزن و طول آن‌ها پس از بیهوشی با عصاره گل میخک (غلظت ۱۰۰ میلی گرم در لیتر) با استفاده از ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۱ گرم و کولیس با دقت ۰/۱ میلی متر مورد سنجش قرار گرفتند. سپس مقدار ۷۰ گرم از هر حوضچه پلاستیکی نمونه برداری و پس از انجماد در ازت مایع به فریزر ۷۰°C- منتقل گشتند. تجزیه لاشه نوزادهای قزل‌آلا و تعیین ترکیبات شیمیایی لاشه نوزادهای ماهی مطابق با استاندارد AOAC (۱۹۹۰) انجام پذیرفت. پروتئین خام با استفاده از روش میکروکجلدال و با تعیین مقدار نیتروژن کل و ضرب آن در عدد ۶/۲۵، چربی خام با روش سوکسله، انرژی خام با استفاده از دستگاه بمب کالریمتر و وزن ماده خشک لاشه بعد از خشک شدن در آون در حرارت ۱۰۵°C محاسبه شد. همچنین خاکستر نیز از طریق سوزاندن در کوره در حرارت ۶۰۰°C تعیین شد (Sorensen et al. 2005).

بر اساس داده‌های زیست سنجی و آنالیز لاشه برخی از معیارهای رشد و تغذیه نوزادهای ماهی قزل آلا از طریق روابط زیر تعیین شدند (De Silva and Anderson, 1995; Helland et al. 1996; Hevroy et al. 2005):

ضریب تبدیل غذایی = غذای خورده شده (گرم) / گرم وزن به دست آمده ماهی (گرم)

ارزش تولید پروتئین= پروتئین ابقاء شده (گرم) / پروتئین خورده شده (گرم)

ارزش تولید چربی = چربی ابقاء شده (گرم) / چربی خورده شده (گرم)

نسبت کارآیی پروتئین = وزن به دست آمده (گرم) / پروتئین خورده شده (گرم)

نسبت کارآیی چربی = وزن به دست آمده (گرم) / چربی خورده شده (گرم)

غذای نسبی خورده شده = [غذای خشک خورده شده (گرم) / (۰/۵ × (گرم وزن نهایی ماهی - گرم وزن اولیه) × (تعداد روزهای پرورش)] × ۱۰۰

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل آماری داده‌های به دست آمده در قالب طرح کاملاً تصادفی، پس از بررسی از نظر نرمال بودن داده‌ها با آزمون شاپیرو-ویلکس، با استفاده از نرم‌افزار SPSS و بر اساس آزمون چند دامنه دانکن در سطح ۰/۰۵ انجام پذیرفت.

نتایج

نتایج حاکی از تاثیرات مثبت پروبیوتیک‌های باسیلی بر روی معیارهای تغذیه‌ای و همچنین کیفیت لاشه نوزاد ماهیان بود. در مقایسه با تیمار شاهد، تیمارهای آزمایشی D_1، D_2 و D_3 از وزن نهایی و رشد بیشتری برخوردار بودند و اختلاف معنی دار ($P<0/05$) بین تیمار D_2 و D_3 با تیمار شاهد مشاهده شد. بالاترین میانگین وزن نوزادهای ماهی در تیمار D_2 معادل ۷/۲۴ گرم و کمترین مقدار آن در گروه شاهد ۶/۳۱ گرم به دست آمد (جدول ۲). تاثیر باسیلوس‌های پروبیوتیکی بر کیفیت لاشه نوزادهای قزل‌آلا و معیارهای رشد و تغذیه نیز به ترتیب در جدول‌های ۲ و ۳ ارائه شده است.

نتایج آنالیز لاشه نوزادهای قزل‌آلا (جدول ۳) نشان داد که باسیلوس‌های پروبیوتیکی فوق الذکر در ارتقاء کیفیت لاشه نوزاد ماهی‌ها نقش بسیار خوبی داشته است، به طوریکه میزان درصد ماده خشک بدن، سطح پروتئین خام و درصد چربی خام لاشه نوزادهای ماهی در تیمارهای آزمایشی D_2 و D_3 نسبت به تیمار شاهد افزایش معنی داری را نشان دادند ($P<0/05$).

باسیلوس‌های پروبیوتیکی همچنین باعث افزایش سطح انرژی خام لاشه در نوزادهای قزل‌آلای رنگین کمان در تیمارهای آزمایشی شدند، به طوری‌که سطح انرژی خام

در تیمار آزمایشی D_2 و D_3 نسبت به تیمار شاهد در حد معنی دار افزایش نشان داد (P<۰/۰۵). درصد خاکستر لاشه نیز در تیمارهای آزمایشی در مقایسه با تیمار شاهد افزایش یافت؛ به‌طوری‌که در تیمارهای آزمایشی D_2 و D_3 نسبت به تیمار شاهد در حد معنی دار بالاتر بود (P<۰/۰۵) (جدول ۳).

ضریب تبدیل غذایی در تیمارهای پروبیوتیکی در مقایسه با تیمار شاهد در حد معنی داری کاهش یافت (P<۰/۰۵)؛ کمترین و بیشترین مقدار این پارامتر به ترتیب در تیمار آزمایشی D_2 (۱/۳۳) و تیمار شاهد (۱/۵۹) به دست آمد.

باسیلوس‌های پروبیوتیکی در تیمارهای آزمایشی باعث افزایش ارزش تولید پروتئین و ارزش تولید چربی در نوزادهای قزل‌آلا شدند. مقادیر این پارامترها درهر سه تیمار آزمایشی نسبت به شاهد در حد معنی دار افزایش یافت (P<۰/۰۵). بیشترین مقدار این پارامتر به ترتیب ۰/۳۷ و ۰/۲۸ در تیمار آزمایشی D_2 محاسبه شد (جدول ۳).

نسبت کارآیی پروتئین و نسبت کارآیی چربی نیز با به کارگیری باسیلوس‌های پروبیوتیکی در تیمارهای آزمایشی نسبت به تیمار شاهد نسبتا افزایش یافت. نسبت کارآیی پروتئین در تیمار شاهد معادل ۱/۶۵ به‌دست آمد که در تیمارهای آزمایشی D_2 و D_3 مقدار آن افزایش یافته و به سطحی معادل ۱/۹۱ رسیده و با تیمار شاهد اختلاف معنی داری نشان داد (P<۰/۰۵). در حالی که تیمار آزمایشی D_1 با تیمار شاهد اختلاف معنی دار نداشت (P۰/۰۵). در ارتباط با نسبت کارآیی چربی نیز بیشترین مقدار در نوزادهای ماهی در تیمار آزمایشی D_2 به دست آمد (جدول ۳).

غذای نسبی خورده شده در تیمارهای آزمایشی در مقایسه با تیمار شاهد کاهش یافت و اختلاف معنی داری بین آنها مشاهده شد (P<۰/۰۵). کمترین مقدار محاسبه شده برای غذای نسبی خورده شده در تیمار D_2 معادل ۴/۴۲٪ و بیشترین مقدار آن در تیمار شاهد معادل ۴/۴۲٪ به‌دست آمد (جدول ۳).

جدول ۱- ترکیب شیمیایی اولیه بدن نوزاد ماهی قزل‌آلای رنگین کمان و جیره مکمل سازی شده.

آنالیز اولیه	پروتئین خام ماده خشک (درصد)	چربی خام ماده خشک (درصد)	انرژی خام ماده خشک (کالری بر گرم)	خاکستر ماده خشک (درصد)	ماده خشک (درصد)	رطوبت (درصد)
نوزاد قزل آلا	۷۷/۰۵	۱۱/۸۸	۴۴۸۰	۹/۳۸	۱۳/۰۴	۸۶/۹۶
جیره	۵۰	۱۲	۴۵۰۰	۱۱/۲۰	۹۰	۱۰

جدول ۲- ترکیب شیمیایی بدن نوزاد ماهی قزل آلای رنگین تغذیه شده با جیره ی مکمل شده با پروبیوتیک‌ها (بر اساس ماده خشک لاشه).

سطح پروبیوتیک	پروتئین خام (درصد)	چربی خام (درصد)	انرژی خام (کالری بر گرم)	خاکستر (درصد)	ماده خشک (درصد)
صفر (شاهد)	۶۷/۲۳ ± ۱/۲۹^{b}	۱۰/۷۷ ± ۰/۴۹^{b}	۴۴۰۲/۸۳ ± ۳۱/۹۵^{c}	۷/۵۶ ± ۰/۲۰^{b}	۲۲/۶۳ ± ۰/۹۸^{b}
D_1	۶۹/۶۶ ± ۱/۰۱^{ab}	۱۱/۳۷ ± ۰/۹۳^{b}	۴۴۶۱/۸۰ ± ۴۷/۸۵^{bc}	۷/۸۹ ± ۰/۵۱^{b}	۲۳/۲۵ ± ۰/۹۱^{b}
D_2	۷۲/۲۰ ± ۲/۸۰^{a}	۱۳/۱۷ ± ۰/۵۹^{a}	۴۵۶۵/۵۸ ± ۳۷/۰۳^{a}	۸/۸۹ ± ۰/۳۸^{a}	۲۵/۹۴ ± ۰/۳۹^{a}
D_3	۷۰/۷۶ ± ۱/۰۷^{a}	۱۲/۹۷ ± ۰/۷۴^{a}	۴۴۸۹/۹۷ ± ۳۰/۹۲^{b}	۸/۷۸ ± ۰/۱۹^{a}	۲۴/۹۶ ± ۰/۸۱^{a}

حروف لاتین غیر مشترک در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی دار بین میانگین هاست (P <۰/۰۵).

جدول ۳- برخی معیارهای تغذیه‌ای به دست آمده در نوزاد ماهی قزل آلای رنگین تغذیه شده با جیره مکمل شده با پروبیوتیک‌ها.

	سطح پروبیوتیک			
شاخص‌های تغذیه	صفر شاهد	D_1	D_2	D_3
وزن اولیه (گرم)	۳۲ ±۰/۴۶۳	۳۲ ±۰/۴۶۳	۳۲ ±۰/۴۶۳	۳۲ ±۰/۴۶۳
وزن نهایی (گرم)	۶/۳۱ ± ۰/۴^{b}	۶/۹۲ ± ۰/۱۲^{ab}	۷/۲۴ ± ۰/۰۵^{a}	۷/۲۳ ± ۰/۳۲^{a}
ضریب تبدیل غذایی	۱/۵۹ ± ۰/۱۴^{a}	۱/۴۷ ± ۰/۰۸^{ab}	۱/۳۳ ± ۰/۰۵^{b}	۱/۳۴ ± ۰/۱۳^{b}
ارزش تولید پروتئین	۰/۲۶ ± ۰^{c}	۰/۳ ± ۰/۰۱^{b}	۰/۳۷ ± ۰/۰۲^{a}	۰/۳۵ ± ۰/۰۲^{a}
ارزش تولید چربی	۰/۱۷ ± ۰/۰۱^{c}	۰/۲۱ ± ۰/۰۲^{b}	۰/۲۸ ± ۰/۰۲^{a}	۰/۲۷ ± ۰/۰۱^{a}
نسبت کارایی پروتئین	۱/۶۵ ± ۰/۱۱^{b}	۱/۸۳ ± ۰/۰۳^{ab}	۱/۹۱ ± ۰/۰۲^{a}	۱/۹۱ ± ۰/۰۹^{a}
نسبت کارایی چربی	۶/۸۹ ± ۰/۴۷^{b}	۷/۶۱ ± ۰/۱۵^{ab}	۷/۹۹ ± ۰/۰۶^{a}	۷/۹۸ ± ۰/۳۸^{a}
غذای نسبی خورده شده (درصد)	۵/۳۱ ± ۰/۴۹^{a}	۴/۸۸ ± ۰/۲۷^{ab}	۴/۴۲ ± ۰/۱۸^{b}	۴/۴۶ ± ۰/۴۳^{b}

حروف لاتین غیر مشترک در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی دار بین میانگین هاست ($P < ۰/۰۵$).

بحث

در این مطالعه پروبیوتیک‌های باسیلی سبب افزایش نسبی مقدار سطوح پروتئین لاشه شدند که اختلاف معنی داری را با تیمار شاهد نشان داد و این امر خود سبب افزایش ارزش تولید پروتئین در تیمارهای پروبیوتیکی در مقایسه با تیمار شاهد شد. این نتیجه می‌تواند به علت تاثیرات پروبیوتیک‌ها بر افزایش قابلیت هضم و جذب پروتئین در روده ماهی‌ها باشد که باعث افزایش کارآیی پروتئین شده و در نتیجه، واحد بیشتری از وزن ماهی به نسبت پروتئین خورده شده به دست می‌آید (Ghosh et al. 2004).

مخلوط پروبیوتیکی بکار گرفته شده در این آزمایش، افزایش قابل ملاحظه‌ای را در ذخیره چربی القاء نمودند، به طوری که سطح چربی لاشه در نوزادهای قزل آلا که از جیره مکمل سازی شده تغذیه کرده بودند از ۱۰/۷۷٪ در تیمار شاهد به ۱۳/۱۷٪ در تیمار D_2 افزایش یافت. در مشابهت با نتایج به دست آمده، Jafaryan و همکاران (۲۰۰۹) نشان دادند که تغذیه نوزاد تاسماهی ایرانی توسط دافنی غنی شده با پروبیوتیک‌ها سبب افزایش معنی داری در چربی لاشه از ۵/۸۴٪ در تیمار شاهد به ۶/۷۷٪ در تیمار تغذیه شده با دافنی غنی شده گردید. در این راستا اثبات شد که پروبیوتیک‌ها با ترشح هر چه بیشتر آنزیم لیپاز موجب افزایش فعالیت ویژه این آنزیم در لوله گوارشی نوزادان ماهی شدند (Ghosh et al. 2004) و به موجب آن، قابلیت هضم و جذب چربی ارتقاء پیدا کرد.

پروبیوتیک‌ها با تولید ویتامین‌ها و تجزیه ترکیبات غیرقابل هضم، اشتها را تحریک می‌کنند و شرایط تغذیه‌ای بهتری را در ماهی ایجاد می‌نمایند (Irianto and Austin, 2002). پروبیوتیک‌ها قادر به انجام فعالیت‌های پروتئولیتیک و پپتیدولیتیک بوده و با تولید آنزیم پروتئاز و پپتیداز ترکیبات ماکرومولکول را به پپتیدها و آمینواسیدها هیدرولیز می‌کنند (Fuller and Perdigon, 2003). از طرف دیگر باسیلوس لیچنی فورمیس و باسیلوس سابتیلیس قادر به شکستن پروتئین‌ها و کربوهیدرات‌ها هستند (Farzanfar, 2006). در ضمن این باکتری‌ها قادر به تولید بعضی ویتامین‌های متعلق به گروه B همچون بیوتین و B_{12} هستند که خود می‌تواند عامل دیگری برای سوخت و ساز بهتر مواد غذایی در این تیمارها باشد (Irianto and Austin, 2002). در نتیجه در تیمار D_2 ضریب تبدیل غذایی پایین‌تر (۱/۳۳) و کارایی تبدیل غذایی بالاتری (۸۶/۲۹) نسبت به دیگر تیمارها مشاهده شد. نتایج مشابهی از به کارگیری باسیلوس‌های پروبیوتیکی در تغذیه با پروبیوتیک‌های فوق الذکر در نوزادان تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) به دست آمد. کارآیی تبدیل غذا از ۳۱/۹۹ ٪ به ۴۳/۹۶٪ ارتقاء یافت و نسبت کارآیی پروتئین از ۵/۱۶ به ۷/۰۳ و نسبت کارآیی چربی نیز از ۱۳/۷۳ به سطحی معادل ۱۸/۸۴ افزایش پیدا کرد (جعفریان، ۱۳۸۵). باسیلوس‌های پروبیوتیکی احتمالا از طریق افزایش قابلیت هضم پروتئین و چربی موجب افزایش ذخیره پروتئین و چربی لاشه ماهیان گشته

و کارآیی آنها را بالا می‌برند (Bairagi et al. 2004). شاخص‌های تغذیه‌ای نظیر نسبت کارآیی پروتئین و نسبت کارآیی چربی در نوزادان ماهی قزل آلای رنگین کمان افزایش چشمگیری را نشان داد. چنین نتایجی را Ghosh و همکاران (۲۰۰۳، ۲۰۰۴) و Bairagi و همکاران (۲۰۰۴) در به کارگیری جیره‌های مکمل شده با باسیلوس سیرکولانس و باسیلوس سابتیلیس در تغذیه نوزادان ماهی روهو (*Labeo rohita*) به دست آوردند. باسیلوس سیرکولانس جداسازی شده از روده ماهی پس از افزون سازی از طریق کشت باکتریایی، مجدداً طی مکمل سازی با غلظت‌های مختلف در جیره‌های غذایی نوزادان این ماهی به کار رفت و باعث افزایش معیارهای تغذیه‌ای آنها شد (Ghosh et al. 2004). هاگ باسیلوس تویوئی (*Bacillus toyoi*) به کار رفته در غنی سازی با روتیفر نشان داد که این باسیلوس پروبیوتیکی تاثیر بسیار مثبتی بر روی فاکتورهای تغذیه ای، رشد و بقاء لارو ماهیان توربوت (*Scophthalmus maximus* L.) داشت (Gatesoupe, 1991).

جعفریان و همکاران (۱۳۸۸) نشان دادند که آرد دافنی غنی شده با باسیلوس‌های پروبیوتیکی در نوزادان ماهی قزل آلا تاثیر بسیار بالایی بر کارآیی تغذیه و رشد این ماهی داشت، به طوری که نسبت کارایی پروتئین از ۱/۶۳ در تیمار شاهد به ۱/۹۶ در تیمارهای آزمایش، نسبت کارایی چربی از ۲/۷۴ در تیمار شاهد به ۳/۳۰ در تیمارهای آزمایش ارتقا یافتند. در مطالعه Yanbo و Zirong (۲۰۰۶) با استفاده از باسیلوس پروبیوتیکی لیوفیلیزه (انجماد خشک) و باکتری‌های فتوسنتز کننده و مخلوط آن‌ها در تغذیه نوزاد ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) ضریب تبدیل غذایی از ۲/۴۶ به ۲/۱۱ کاهش یافت. Bagheri و همکاران (۲۰۰۸) حداقل ضریب تبدیل غذایی ۰/۹ را در نوزادان قزل آلای رنگین کمان تغذیه شده با جیره‌های مکمل شده با باسیلوس سابتیلیس و لیچنی فورمیس در سطح $۳/۸\times۱۰^{۹}$ باکتری در هر گرم غذا به دست آوردند. در مطالعه فرامرزی و همکاران (۱۳۹۰) ارزش تولید پروتئین از ۱/۵ در تیمار شاهد به ۳/۸۸ در تیمارهای آزمایشی و ارزش تولید چربی از ۰/۱۳ در تیمار شاهد به ۰/۳۶ در تیمارهای آزمایشی ارتقا یافت. نتایج مشابه دیگری در مورد تاثیر پروبیوتیک‌ها بر عملکرد رشد و تغذیه خرگوش ماهی (*Siganus rivulatus*) (El-Dakar, 2007)، تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) (Mehrim, 2009)، سیم دریایی (*Sparus auratus*) (Varela, 2010)، روغن ماهی (*Gadus morhua*) (Lauzon et al. 2010) قزل آلای رنگین کمان (Tukmechi, 2011) و هامور (*Epinephelus coioides*) (Sun, 2009; 2010) گزارش شده است.

در تحقیق حاضر پروبیوتیک‌های به کار رفته باعث شدند که توانایی نوزادهای قزل آلا در بهره وری از غذای خورده شده، افزایش یابد؛ به طوری که کاهش ضریب تبدیل غذایی، افزایش کارآیی تغذیه و ارتقاء سطوح پروتئین خام، چربی خام و انرژی خام در نوزادهای تغذیه کرده از جیره‌های مکمل سازی شده با پروبیوتیک‌ها، در مقایسه با گروه شاهد کاملاً نمایان شد. بنابراین مخلوط باسیلوس‌های فوق الذکر دارای پتانسیل بسیار بالایی در ارتقاء پارامترهای رشد و تغذیه در نوزادهای قزل‌آلا هستند.

منابع

جعفریان، ح. ۱۳۸۵. تاثیر باکتری‌های باسیلوسی به عنوان پروبیوتیک بر رشد، بازماندگی و فعالیت آنزیم‌های گوارشی در لارو تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) در طول دوره پرورش لاروی از طریق غنی سازی با آرتمیا اورمیانا (*Artemia urmiana*) رساله دکترا، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ۱۰۳ ص.

جعفریان، ح.، آذری تاکامی، ج.، کمالی، آ.، سلطانی، م.، حبیبی رضائی، م. ۱۳۸۶. استفاده از باسیلوس های پروبیوتیکی غنی شده با ناپلی آرتمیا ارومیانا به منظور رشد و بقاء لاروهای تاس ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی، شماره ۲: ۲۱-۱۱.

جعفریان، ح.، طاعتی کلی، م.، نظرپور، ع. ر. ۱۳۸۸. بررسی اثر باسیل های پروبیوتیکی بر رشد لارو ماهی قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) از طریق مکمل سازی با آرد دافنی ماگنا (*Daphnia*

Labeo rohita (Hamiltion) fingerlings. Aquaculture Research 35: 436- 446.

Chang, C.L., Liu, W.Y. 2002. An evaluation of two probiotic bacterial strains, *Enterococcus faecium* SF68 and *Bacillus toyoi*, for reducing edwardsiellosis in cultured European eel, *Anguilla anguilla* L. fish diseases 25: 311-315.

De Silva, S.S., Anderson, T.A., 1995. Fish Nutrition in Aquaculture. Chapman & Hall, London, p. 319.

El-Dakar, A.Y., Shalaby, S.M.M., Saoud, I.P. 2007. Assessing the use of a dietary probiotic/prebiotic as an enhancer of spinefoot rabbitfish *Siganus rivulatus* survival and growth. Aquaculture Nutrition 13: 407-412.

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

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

Gatesoupe, F.J., 1991. Bacillus sp. spores: A new tool against early bacterial infection in turbot larvae, *Scophthalmus maximus*. ln: Larvi–fish and crustacean larviculture symposium. European Aquaculture Society, larvens, p., Jaspers, E and Roelands, I. (Eds.). Special publication no, 409-411.

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

Ghosh, K., Sen, S.K., Ray, A.K. 2003. Supplementation of an isolated fish gut bacterium, *Bacillus circulans*, in formulated diets for Rohu, *Labeo rohita*, Fingerlings. Bamidgeh 55: 13-21.

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

magna). مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی، شماره ۳: ۵۹-۴۸.

فرامرزی، م. ۱۳۹۰. غنی سازی دافنی ماگنا (*Daphnia Magna*) با باسیلوس سیرکولانس (*Bacillus circulans*) و باسیلوس لیشنی فورمیس(*Bacillus licheniformis*) جهت ارتقاء معیارهای رشد و تغذیه، نرخ بقاء، مقاومت در برابر استرس‌های محیطی و کاهش ترشح میزان ازت آمونیاکی در لارو تاس ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*). پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه گنبد کاووس، ۵۱ ص.

AOAC, (Association of Official Analytical Chemists). 1990. Official method of analysis AOAC, Chapman & Hall, Washington, 1263 p.

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

Bagheri, T., Hedayati, S.A., Yavari, V., Alizade, M. Farzanfar, A. 2008. Growth, survival and gut microbial load of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fry given diet supplemented with Probiotic during the two months of first feeding. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 8: 43-48.

Bairagi, A., Ghosh, K.S., Sen, S.K., Ray, A.K. 2002. Duckweed (*Lemna polyrhiza*) leaf meal as a source of feedstuff in formulated diets for rohu (*Labeo rohita* Ham.) fingerlings after fermentation with a fish intestinal bacterium. Bioresource Technology 85: 17-24.

Bairagi, A., Ghosh, K.S., Sen, S.K., 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,

Gomez-Gil, B., Roque, A., Turnbull, J.F. 2000. The use selection of probiotic bacteria for use in the culture of larval aquatic organisms. Aquaculture 9: 259-270.

Hansen, G.H., Olafsen, J. 1999. Bacterial interactions in early life stages of marine cold water fish. Microbial Ecology 38: 1-26.

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

Hevroy, E.M., Espe, M., Waagbo, R., Sandness, k., Rund, M., Hemre, G.I. 2005. Nutrition utilization in Atlantic salmon (*Salmo salar* L) fed increased level of fish protein hydrolysate during a period of fast growth. Aquaculture Nutrition 11: 301-313.

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

Jafaryan, H., Alimohamady, A., Makhtomii, M. 2009. The use of enriched *Daphnia magna* by probiotic yeast on promotion of feeding efficiency of Persian sturgeon larvae. 6th International Symposium on Sturgeon. October 25-30, Wuhan, Hubei Province. China.

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.

Lauzon, H.L., Gudmundsdottir, S., Steinarsson, A., Oddgeirsson, M., Martinsdottir, E. Gudmundsdottir, B.K. 2010. Impact of probiotic intervention on microbial load and performance of Atlantic Cod (*Gadus morhua* L.) juveniles. Aquaculture 310: 139-144.

Lily, D.M., Stillwell, RH. 1965. Probiotic: growth promoting factors produced by microorganisms. Science 147: 747-748.

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

Mehrim, A.I. 2009. Effect of dietary supplementation of biogen (commercial Probiotic) on mono-sex Nile tilapia *Oreochromis niloticus* under different stocking densities. Fisheries and Aquatic Science 4: 261-273.

Munro, P.D., Henderson, R.J., Barbour, A., Birkbeck, T.H. 1999. Partial decontamination of rotifers with ultraviolet radiation: the effect of changes in the bacterial load and flora of rotifers on mortalities in start-feeding larval turbot. Aquaculture 170: 229-244.

Parker, R.B. 1974. Probiotics, the other half of the antibiotics story. Animal Nutrition Health 29: 4-8.

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

Sun, Y.Z., Yang, H.L., Ling, Z.C., Chang, J.B., Ye, J.D. 2009. Gut microbiota of fast and slow growing grouper *Epinephelus coioides*. African Journal of Microbiology Research 3: 713-20.

Sun, Y., Yang, H., Ma, R., Lin, W. 2010. Probiotic applications of two dominant gut Bacillus strains with antagonistic activity improved the growth performance and immune responses of grouper *Epinephelus coioides*. Fish and Shellfish Immunology 29: 803-809.

Tukmechi, A., Rahmati Andani, H.R., Manaffar, R., Sheikhzadeh, N. 2011. Dietary administration of beta-mercapto-ethanol-treated *Saccharomyces cerevisiae* enhanced the growth, innate immune response and disease resistance of the rainbow

trout, *Oncorhynchus mykiss*. Fish and Shellfish Immunology 30: 923-928.

Varela, J.L., Ruiz-Jarabo, I., Vargas-Chacoff, L., Arijo, S., Leon-Rubio, J.M., Garcia-Millan, I., Martin del Rio, M.P., Morinigo, M.A., Mancera J.M. 2010. Dietary administration of probiotic Pdp11 promotes growth and improves stress tolerance to high stocking density in gilthead seabream *Sparus auratus*. Aquaculture 309: 265-271.

Vazquez, J.A., Gonzalez, M.P., Murado, M.A. 2005. Effects of lactic acid bacteria cultures on pathogenic microbiota from fish. Aquaculture 245: 149-161.

Yanbo, W., 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.

Zivkovic, R. 1999. Probiotics or microbes against microbes. Acta Medica Croatica 53: 23-28.

The effect of probiotic Bacilli on feed efficiency and carcass quality of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* fry

Hakimeh Sargazi *, Hojatollah Jafarian
Department of Fisheries, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Gonbad Kavoos, Gonbad, Golestan, Iran

Received 11 November 2014; accepted 8 April 2015

Abstract
In this study, the effects of probiotics bacilli on the feed efficiency and carcass quality in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, fries were studied using a commercial product Protexin Aquatech. A blend of five strains of probiotic bacilli (*Basilus licheniformis*, *B. subtilis*, *B. polymyxa*, *B. laterosporus* and *B. circulans*) was used through the supplementation of diets for 60 days. Fish fry with an average weight of 463 ± 32 mg were used. The experimental diets were supplemented with mixture of the five bacilli at concentrations of 1×10^6 (D_1) 1×10^7 (D_2) and 1×10^8 (D_3), (CFU per 100 g food), and a control (probiotics-free diet). The feeding rate was varied between 5 and 8% of body weight. The results indicated that D_2 treatment had significantly better growth and feed conversion ratio than the control group and D_1 treatment. Results showed that in the experimental treatments, probiotics had a significant positive effect on protein efficiency ratio, lipid efficiency ratio and protein productive value compared to the control treatment ($P<0.05$). The dry matter, crude protein and crude lipid of fry carcass in D_2 treatments, were significantly increased ($P<0.05$). The results showed that the probiotics bacilli increased feed efficiency and growth performance in rainbow trout fry.

Keywords: Rainbow trout, Probiotic, Supplementation, Crude protein, Growth performance

*Corresponding author: h.sargazi68@gmail.com