

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

حکیمه سرگزی*، حجت الله جعفریان

گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد، گلستان

تاریخ دریافت: ۹۲/۸/۲۰ تاریخ پذیرش: ۹۳/۱/۱۹

چکیده

در این تحقیق اثرات باسیلوس‌های پروبیوتیکی بر کارایی تغذیه و کیفیت لاشه نوزاد ماهیان قزل آلا (*Oncorhynchus mykiss*) با به کارگیری محصول تجاری پروتکسین آکواتک شامل مخلوط پنج گونه از باسیلوس‌های پروبیوتیکی (*Basilus 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 32 ± 463 میلی گرم تهیه شده و جیره آن‌ها با مخلوط پنج باسیلوس ذکر شده، در غلظت‌های 1×10^6 (تیمار D_۱)، 1×10^7 (تیمار D_۲) و 1×10^8 (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 معنی‌داری داشتند ($P < 0.05$). سطوح ماده خشک لاشه، پروتئین خام و چربی خام لاشه نیز در تیمار D_۲ به طور معنی‌دار افزایش یافت ($P < 0.05$). نتایج این مطالعه نشان داد که پروبیوتیک‌های باسیلی باعث افزایش کارایی تغذیه و بهبود کیفیت لاشه نوزاد قزل آلا می‌شوند.

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

مقدمه

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 کارایی 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 کارایی 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. polymyxa*, *B. subtilis*, *B. licheniformis* و *B. laterosporus* صورت گرفت.

باکتری‌ها در روده نوزاد آبزیان در خلال روزهای اول زندگی بعد از تفریح 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 کارایی 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 آبرزی‌پروری است و پروبیوتیک‌ها در واقع موجودات زنده‌ای هستند که معمولاً 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،

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 لیتوسپوروس 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 کاملاً 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 37°C برای مدت ۸ ساعت انکوبه شد (جعفریان و همکاران، ۱۳۸۶). در سوسپانسیون باکتریایی، میزان 1×10^{10} CFU/liter از مخلوط باسیلوس‌ها وجود داشت که پس از اتمام مدت انکوباسیون و تبدیل اسپورها به باکتری‌های رویشی، غلظت‌های مورد نیاز در این آزمایش شامل، 1×10^6 (تیمار D_1)، 1×10^7 (تیمار D_2) و 1×10^8 (تیمار D_3) با استفاده از رقیق سازی سریالی در دامنه 10^{-1} تا 10^{-8} 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 25°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 آلی رنگین کمان و جیره مکمل سازی شده در جدول ۱ نشان داده شده است.

تیمارهای آزمایشی

تعداد ۵۶۰ عدد نوزاد ماهی قزل آلی 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_1 ، D_2 و D_3 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 قزل آلا با متوسط وزن اولیه 32 ± 463 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 قزل آلا در هر تیمار با غذاهای مکمل شده مورد تغذیه قرار گرفتند؛ در تیمار D_1 ، نوزادهای قزل آلی رنگین کمان با مخلوط باسیلوس‌های پروبیوتیکی با غلظت $10^6 \times 1$ باکتری در هر صد گرم جیره، تغذیه شدند. تیمارهای آزمایشی D_2 و D_3 نیز به ترتیب از جیره‌های حاوی باسیلوس‌های پروبیوتیکی در غلظت $10^7 \times 1$ و $10^8 \times 1$ باکتری در هر صد گرم جیره تغذیه شدند. در تیمار شاهد، نوزادها با جیره بدون باسیلوس‌های پروبیوتیکی تغذیه شدند. مقدار غذای مورد نیاز نوزادهای قزل آلا 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 میکروپیت 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 $0/52 \pm 7/87$ میلی گرم و pH آب معادل $0/18 \pm 7/6$ به دست آمد. همچنین اندازه گیری درجه حرارت آب نیز در هر روز در ۳ نوبت و همزمان با دفعات غذادهی نوزادها انجام گرفت و معادل $16/2 \pm 13/5^\circ\text{C}$ 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 دیجیتال 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 ازلت مایع به

فریزر 70°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 105°C محاسبه شد. همچنین خاکستر نیز از طریق سوزاندن در کوره در حرارت 600°C تعیین شد (Sorensen et al. 2005).

بر اساس داده‌های زیست‌سنجی و آنالیز لاشه برخی از معیارهای رشد و تغذیه نوزادهای ماهی قزل‌آلا 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 کارایی پروتئین = وزن به دست آمده (گرم) / پروتئین خورده شده (گرم)
 نسبت کارایی 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

نوزادهای ماهی در تیمار D_2 معادل $7/24$ گرم و کمترین مقدار آن در گروه شاهد $6/31$ 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 فوق‌الذکر در ارتقاء کیفیت لاشه نوزاد ماهی‌ها نقش بسیار خوبی داشته است، به طوری که 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 طوری که سطح انرژی خام

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 $0/05$ 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

نسبت کارایی پروتئین و نسبت کارایی چربی نیز با به کارگیری باسیلوس‌های پروبیوتیکی در تیمارهای آزمایشی نسبت به تیمار شاهد نسبتاً افزایش یافت. نسبت کارایی پروتئین در تیمار شاهد معادل ۱/۶۵ به دست 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 ($P < 0/05$). در حالی که تیمار آزمایشی D_1 با تیمار شاهد اختلاف معنی دار نداشت ($P > 0/05$). در ارتباط با نسبت کارایی 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 ($P < 0/05$). کمترین مقدار محاسبه شده برای غذای نسبی خورده شده در تیمار D_2 معادل ۴۲/۴٪ و بیشترین مقدار آن در تیمار شاهد معادل ۴۲/۴٪ به دست آمد (جدول ۳).

در تیمار آزمایشی D_2 و D_3 نسبت به تیمار شاهد در حد معنی دار افزایش نشان داد ($P < 0/05$). درصد خاکستر لاشه نیز در تیمارهای آزمایشی در مقایسه با تیمار شاهد افزایش یافت؛ به طوری که در تیمارهای آزمایشی D_2 و D_3 نسبت به تیمار شاهد در حد معنی دار بالاتر بود ($P < 0/05$) (جدول ۳).

ضریب تبدیل غذایی در تیمارهای پروبیوتیکی در مقایسه با تیمار شاهد در حد معنی داری کاهش یافت ($P < 0/05$)؛ 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 در هر سه تیمار آزمایشی نسبت به شاهد در حد معنی دار افزایش یافت ($P < 0/05$). بیشترین مقدار این پارامتر به ترتیب ۳۷/۰ و ۲۸/۰ در تیمار آزمایشی D_2 محاسبه شد (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 قزل‌آلا	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 قزل‌آلای 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 ($P < 0/05$).

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

سطح پروبیوتیک				
D _۳	D _۲	D _۱	صفر شاهد	شاخص‌های تغذیه
۳۲ ± ۰/۴۶۳	۳۲ ± ۰/۴۶۳	۳۲ ± ۰/۴۶۳	۳۲ ± ۰/۴۶۳	وزن اولیه (گرم)
۷/۲۳ ± ۰/۳۲ ^a	۷/۲۴ ± ۰/۰۵ ^a	۶/۹۲ ± ۰/۱۲ ^{ab}	۶/۳۱ ± ۰/۴ ^b	وزن نهایی (گرم)
۱/۳۴ ± ۰/۱۳ ^b	۱/۳۳ ± ۰/۰۵ ^b	۱/۴۷ ± ۰/۰۸ ^{ab}	۱/۵۹ ± ۰/۱۴ ^a	ضریب تبدیل غذایی
۰/۳۵ ± ۰/۰۲ ^a	۰/۳۷ ± ۰/۰۲ ^a	۰/۳ ± ۰/۰۱ ^b	۰/۲۶ ± ۰ ^c	ارزش تولید پروتئین
۰/۲۷ ± ۰/۰۱ ^a	۰/۲۸ ± ۰/۰۲ ^a	۰/۲۱ ± ۰/۰۲ ^b	۰/۱۷ ± ۰/۰۱ ^c	ارزش تولید چربی
۱/۹۱ ± ۰/۰۹ ^a	۱/۹۱ ± ۰/۰۲ ^a	۱/۸۳ ± ۰/۰۳ ^{ab}	۱/۶۵ ± ۰/۱۱ ^b	نسبت کارایی پروتئین
۷/۹۸ ± ۰/۳۸ ^a	۷/۹۹ ± ۰/۰۶ ^a	۷/۶۱ ± ۰/۱۵ ^{ab}	۶/۸۹ ± ۰/۴۷ ^b	نسبت کارایی چربی
۴/۴۶ ± ۰/۴۳ ^b	۴/۴۲ ± ۰/۱۸ ^b	۴/۸۸ ± ۰/۲۷ ^{ab}	۵/۳۱ ± ۰/۴۹ ^a	غذای نسبی خورده شده (درصد)

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

بحث

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 سابیتلیس 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_{۱۲} 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_۲ 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 فوق‌الذکر در نوزادان تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) به دست آمد. کارایی تبدیل غذا از ۳۱/۹۹٪ به ۴۳/۹۶٪ ارتقاء یافت و نسبت کارایی پروتئین از ۵/۱۶ به ۷/۰۳ و نسبت کارایی چربی نیز از ۱۳/۷۳ به سطحی معادل ۱۸/۸۴ افزایش پیدا کرد (جعفریان، ۱۳۸۵). باسیلوس‌های پروبیوتیکی احتمالاً از طریق افزایش قابلیت هضم پروتئین و چربی موجب افزایش ذخیره پروتئین و چربی لاشه ماهیان گشته

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 کارایی 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_۲ افزایش یافت. در مشابَهت 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.

بر عملکرد رشد و تغذیه خرگوش ماهی (*Siganus rivulatus*) (El-Dakar, 2007)، تیلاپپای نیل (*Oreochromis niloticus*) (Mehrim, 2009)، سیم دریایی (*Sparus auratus*) (Varela, 2010)، روغن ماهی (*Gadus morhua*) (Lauzon et al. 2010) قزل آلی 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 بهره‌وری از غذای خورده شده، افزایش یابد؛ به طوری که کاهش ضریب تبدیل غذایی، افزایش کارایی 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 فوق‌الذکر دارای پتانسیل بسیار بالایی در ارتقاء پارامترهای رشد و تغذیه در نوزادهای قزل‌آلا هستند.

منابع

جعفریان، ح. ۱۳۸۵. تأثیر 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 غنی‌سازی 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 باسیلوس‌های پروبیوتیکی غنی شده با ناپلی آرتمیا اورمیانا به منظور رشد و بقاء لاروهای تاس ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی، شماره ۲: ۱۱-۲۱.

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

و کارایی آنها را بالا می‌برند (Bairagi et al. 2004). شاخص‌های تغذیه‌ای نظیر نسبت کارایی پروتئین و نسبت کارایی چربی در نوزادان ماهی قزل آلی 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 توئیوی (*Bacillus toyoi*) به کار رفته در غنی سازی با روتیفر نشان داد که این باسیلوس پروبیوتیکی تأثیر بسیار مثبتی بر روی فاکتورهای تغذیه‌ای، 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 تأثیر بسیار بالایی بر کارایی 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 آلی رنگین کمان تغذیه شده با جیره‌های مکمل شده با باسیلوس سابتیلیس و لیچنی فورمیس در سطح $3/8 \times 10^9$ 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 تأثیر پروبیوتیک‌ها

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

فرامرزی، م. ۱۳۹۰. غنی سازی دافنی ماگنا (*Daphnia*) با باسیلوس سیریکولانس (*Bacillus circulans*) و باسیلوس لیشیانی (*Bacillus licheniformis*) جهت ارتقاء معیارهای رشد و تغذیه، نرخ بقا، 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,

Labeo rohita (Hamilton) 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*. In: 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.

- 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 rainbow 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 2013; accepted 4 April 2014

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 (D₁) 1×10^7 (D₂) and 1×10^8 (D₃), (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 D₂ treatment had significantly better growth and feed conversion ratio than the control group and D₁ 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 D₂ 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