تغــذیه و بیــوشیمی آبزیــان
سال اول، شماره دوم،
پاییز ۱۳۹۳

تاثیر مخلوط باسیلوس ها (*Bacillus spp.*) و مخمر ساکارومایسس سرویزیای (*Saccharomyces cerevisiae*) جدا شده از روده فیل ماهی (*Huso huso*) بر پارامترهای رشد و تغذیه در لارو ماهی کپور نقره‌ای (*Hypophthalmichthys molitrix*)

حجت الله جعفریان*، خیرالله خسروی، داریوش عبداللهی، سجاد توانا
گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد، گلستان

تاریخ دریافت: ۹۳/۱/۲۵ تاریخ پذیرش: ۹۳/۳/۲۴

چکیده
یک آزمایش تغذیه‌ای ۳۳ روزه، برای سنجش تاثیر جیره‌های مکمل شده با باکتری‌های روده ماهیان خاویاری به عنوان پروبیوتیک در تغذیه لارو کپور نقره‌ای (*Hypophthalmichthys molitrix*) با میانگین وزن ۱۰ ± ۲۰۰ میلی‌گرم انجام گردید. پروبیوتیک ها از روده ده عدد فیل ماهی (*Huso huso*) انگشت قد با وزن متوسط ۰/۳۱ ± ۵/۵۱ گرم جداسازی شدند. چهار جیره S_1، S_2، S_3 و S_4 با دارا بودن اجزاء ترکیبی مشابه تهیه و با مخلوط سه پروبیوتیک (*Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, و مخمر *Saccharomyces cerevisiae*) در چهار سطح متفاوت (به ترتیب صفر، $1/5 \times 10^6$، 3×10^6 و $4/5 \times 10^6$ سلول در ۱۰۰ گرم جیره) مکمل سازی شد. در پایان آزمایش، لاروهای ماهی کپور نقره‌ای تغذیه شده با جیره مکمل شده با پروبیوتیک‌ها دارای معیارهای رشد و تغذیه بهتری در مقایسه با لاروهای ماهی تغذیه شده با جیره شاهد بودند. لاروهای کپور نقره‌ای در تیمارهای آزمایشی S_2 و S_3 (مکمل شده با 3×10^6 و $4/5 \times 10^6$ باسیلوس در ۱۰۰ گرم از جیره) در مقایسه با شاهد اختلاف معنی‌داری را در عملکرد رشد و تغذیه نشان دادند ($P<0/05$). نرخ رشد ویژه و کارایی تبدیل غذای لاروهای ماهی در تیمارهای آزمایشی به طور معنی‌داری ارتقاء یافت ($P<0/05$). نتایج این آزمایش نشان داد که باسیلوس های پروبیوتیکی توانایی چشمگیری را در افزایش رشد و تولید تجاری لاروهای ماهی کپور نقره‌ای دارند.

کلمات کلیدی: پروبیوتیک، مکمل سازی جیره، لارو کپور نقره‌ای، نرخ رشد ویژه، کارایی تبدیل غذا

* نویسنده مسئول: hojat.jafaryan@gmail.com

مقدمه

پروبیوتیک‌ها گروهی از میکروب‌های زنده هستند که تأثیرات سودمندی را در میزبان از طریق بهبود جمعیت میکروبی آن و یا اجتماع میکروبی محیط پیرامون از طریق به کارگیری مناسب غذا و یا ارتقاء ارزش غذایی آن ایجاد می‌کنند (Verschuere et al. 2000) به طوری که استفاده از این باکتری‌ها یا ترکیبات تولید شده توسط آنها در آبزی‌پروری برای کنترل بیماری‌ها و همچنین به عنوان مکمل‌هایی برای بهبود رشد ماهیان مورد استفاده قرار می‌گیرند (Li and Gatlin, 2003).

اصولاً موفقیت‌ها و شکست‌های برنامه‌های پرورش ماهی توسط شرایط پرورشی اولیه لاروهای ماهی تعیین می‌شود. به عبارت دیگر عفونت‌های ناشی از باکتری‌ها در شرایط پرورشی، ممکن است به سوی افزایش مرگ و میر و کاهش تولید منجر شوند (Kapetanovic et al. 2005). از سوی دیگر برای جلوگیری از مرگ و میر و کاهش تولید در پرورش لاروهای ماهی ممکن است از مکمل‌های خاصی استفاده شود که برای سلامتی و افزایش کارایی بهره‌برداری از غذا مفید باشند. در این میان، آنتی‌بیوتیک‌ها از جمله افزودنی‌های دارویی هستند که از سال ۱۹۵۰ به غذاهای ماهی اضافه می‌شوند (Ahilan et al. 2004) و با توجه به ایجاد مقاومت دارویی در میزبان که از محدودیت‌های آنتی‌بیوتیک‌ها محسوب می‌شود، اهمیت باکتری‌های زیست‌یار یا پروبیوتیکی کاملاً آشکار شده است.

این باکتری‌های مفید در قالب فرآورده‌های میکروبی تجاری در پرورش آبزیان موجب بهبود کارایی تغذیه و رشد ماهی شده‌اند. Noh و همکاران (۱۹۹۴) و Bogut و همکاران (۱۹۹۸) نیز اثبات کردند که پروبیوتیک های تجاری تهیه شده از باکتری *Streptococcus faecium* در طی مکمل سازی با جیره‌های ماهی کپور موجب بهبود کارایی تغذیه و رشد در آنها می‌شوند. پیشنهاد شده است که افزودن باکتری‌های زیست‌یار، باعث افزایش رشد، کاهش ضریب تبدیل غذایی و در نتیجه کاهش هزینه‌های پرورش ماهیان می‌شود. نتایج خوبی از به کارگیری سویه‌های Bacillus زیست‌یار تجاری در افزایش رشد و بقاء لارو ماهی قزل‌آلا، از طریق مکمل‌سازی با جیره‌های آزمایشی به دست آمده است (Jafarian et al. 2009a,b).

در مدیریت نوین میکروبی، گونه‌های بومی جدا شده از دستگاه گوارش آبزیان، کاربرد بسیار مهمی در اهداف آبزی‌پروری ایفا کرده است. تحقیقات مشابه ای توسط Ghosh و همکاران (۲۰۰۲) با *Bacillus circulans* جدا شده از روده ماهی روهو (*Labeo rohita*) در جیره‌های مکمل شده آنها صورت گرفت. همچنین، باکتری *L. fructivorans* جدا شده از ماهی شانک و نیز لاکتوباسیلوس پلانتاروم (*L. plantarum*) جدا شده از مدفوع انسان، پس از انجام فرآیند غنی‌سازی با ناپلیوس‌های آرتمیا فرانسیسکانا *Artemia franciscana* در تغذیه لاروهای شانک ماهی، باعث افزایش رشد و بقای این ماهی شد (Carnevali et al. 2004). مخمر ساکارو مایسیس سرویزیا (*Saccharomyces cerevisiae*) که در نانوایی از آن استفاده می‌شود دارای ترکیبات مترشحه خارج سلولی است که قابلیت تقویت سیستم ایمنی را دارا بوده و همچنین توانایی بالایی در افزایش رشد لاروهای آبزیان دارد (Lara-Flores et al. 2003; Oliva-Teles and Gonçalves et al. 2004; Li and Gatlin, 2003, 2004, 2005).

در مطالعه حاضر، تأثیر ۳ مخلوط پروبیوتیکی شامل *B. licheniformis, B. subtilis, S. cerevisiae* جدا شده از روده فیل ماهی در فرآیند مکمل سازی با جیره‌های آزمایشی بر رشد و بقاء لارو ماهی فیتوفاگ مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش ها

انتخاب و جداسازی فلور میکروبی از روده ماهی

سه پروبیوتیک استفاده شده در تحقیق حاضر شامل میکروبیوتای جدا شده از روده فیل ماهی (*H. huso*) انگشت قد بود. از لاروهای سالم فیل ماهی انگشت قد، ۱۰ عدد انتخاب و پس از ۲۴ ساعت گرسنگی، در عصاره گل میخک با غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر بیهوش شدند. برای رفع باکتری‌های سطح بدن لاروها، نمونه‌های ماهی در محلول بنزالکونیوم کلراید ۰/۱٪ به مدت ۶۰ ثانیه قرار گرفتند (Makridis et al. 2001) و سپس با آب مقطر استریل کاملاً شستشو شدند. ناحیه شکمی ماهیان با استفاده از تیغ جراحی استریل شکافته و روده آنها پس از جداسازی، به منظور هموژن سازی به هاون چینی استریل

منتقل شد. پس از تهیه هموژن با استفاده از محلول نمکی نرمال استریل (۰/۰۰/۸۷ w/v NaCl) رقت‌های پی در پی در دامنه $۱۰^{-۱}$ تا $۱۰^{-۸}$ تهیه شد. از این رقت‌ها در شرایط استریل توسط نمونه‌بردار، حجمی معادل ۱۰۰ میکرولیتر برداشته شد و به پلت حاوی محیط‌های کشت باسیلوس سرئوس آگار و تریپتیک سوی آگار انتقال یافت و در سطح آن پخش شد (Rengpipat et al. 1998) این پلت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور با حرارت $۳۰^{\circ}C$ انکوباسیون شده و پرگنه های تشکیل شده مجدداً در محیط کشت تریپتیک سوی آگار به صورت خالص کشت شدند. سرانجام در آزمایشگاه بهداشت و بیماری‌های آبزیان دانشگاه تهران، بر اساس مشخصات فنوتیپی و تست‌های بیوشیمیایی استاندارد، میکرو فلورای مورد نظر جداسازی، و سپس در محیط کشت تریپتیک سوی براث، به صورت خالص کشت داده شدند (Peter and Sneath, 1986; Kapetanovic et al., 2005). شناسایی اولیه گونه‌های باسیلوس با استفاده از مشخصات فنوتیپی نظیر شکل و ویژگی کلنی‌ها و با استفاده از روش‌های بیوشیمیایی مرسوم صورت گرفت (جدول ۱). همچنین، در خصوص مخمر ساکارو مایسیس سرویزیا از طریق از روش شناسایی و تشخیص افتراقی آنزیمی رپید تی - ام و با استفاده از کیت آزمایشگاهی انجام شد (Winn et al. 2006) (جدول ۲).

همچنین در مرحله بعدی، شناسایی ژنتیکی دو باسیلوس پروبیوتیکی با استفاده از پرایمرهای 16S و فزونسازی و توالی ژن 16S rRNA، به روش PCR صورت گرفت (Dehghan et al. 2011; Dehghan, 2012). باسیلوس های پروبیوتیکی پس از شناسایی، در محیط کشت TSA افزون سازی و کشت خالص داده شدند و سپس به صورت لیوفلیزه (انجماد در خلأ) در آمدند و نگهداری شدند (Dehghan, 2012).

آماده‌سازی سوسپانسیون باکتریایی

از باسیلوس‌های لیوفلیزه شده، به طور جداگانه مقدار ۱۰ میلی‌گرم با استفاده از آنس استریل برداشته و به ظروف اپندروف حاوی یک میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی ۰/۹ درصد (۰/۰۰/۹w/v NaCl) استریل، منتقل شدند و با استفاده از دستگاه شیکر در مدت ۵ دقیقه به صورت هموژن در آمدند. از سوسپانسیون باکتریایی مذکور، حجمی معادل ۱۰۰ میکرولیتر توسط سمپلر در شرایط استریل به پلیت های کشت حاوی TSA منتقل و به صورت خطی کشت داده شد. این پلیت های کشت به مدت ۲۴ ساعت در دمای $۳۰^{o}C$ انکوباسیون شده و در پایان دوره انکوباسیون کلنی‌های باسیلوس بر روی محیط کشت نمایان شدند. در مرحله بعدی مجدداً با استفاده از آنس استریل، مقدار ۱۰ میلی‌گرم از کلنی‌های سطح محیط کشت به ظروف اپندروف حاوی سرم فیزیولوژی نمکی ۰/۹ درصد منتقل و هموژن سازی شدند. از سوسپانسیون باکتریایی به دست آمده، سوسپانسیون‌های باکتریایی غلظت‌های نوری $۱۰^{۶}$ × ۱/۵، $۱۰^{۶}$ × ۳ و $۱۰^{۶}$ × ۴/۵ سلول در هر میلی‌لیتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر مدل بیوکروم، محلول استاندارد مک فارلند نیم، بر اساس چگالی بهینه در طول موج ۶۱۰ نانومتر تعیین شد (Gomez-Gil et al. 1998) برای حصول اطمینان بیشتر در خصوص غلظت سوسپانسیون باکتریایی به دست آمده، با استفاده از تهیه رقت‌های پی در پی و کشت آنها در پلیت های حاوی محیط کشت TSA، پس از انجام انکوباسیون به مدت ۲۴ ساعت، کلنی‌های ظاهر شده شمارش شده و غلظت باکتریایی مورد نظر تایید شد (Rengpipat et al. 1998).

مکمل سازی جیره‌ها

این تحقیق در تابستان ۱۳۹۱ در آزمایشگاه هیدروبیولوژی دانشکده کشاورزی دانشگاه گنبد کاووس به مدت پنج هفته انجام شد. برای این منظور از جیره پودری ماهی کپور با ترکیبات بیوشیمیایی ذکر شده در جدول ۳ استفاده به عمل آمد.

با استفاده از جیره تجاری پودری، سه جیره آزمایشی در مکمل سازی با باسیلوس های پروبیوتیکی تهیه شد. در جیره $S_۱$، سوسپانسیون مخلوط دو باسیلوس در غلظت CFU/mL $۱۰^{۶}$ × ۱/۵، به ۱۰۰ گرم از جیره لارو ماهی اضافه شد و به صورت هموژن درآمد. این جیره در دمای ۳۵ درجه سانتی گراد به مدت ۵ ساعت خشک، و در کیسه پلاستیکی ذخیره‌سازی شد. جیره $S_۲$ نیز با به کارگیری مخلوط باسیلوس‌های ذکر شده در غلظت CFU/mL $۱۰^{۶}$ × ۳ در ۱۰۰ گرم از غذای لارو ماهی به روشی که توضیح داده شده است، تهیه شد. همچنین در جیره آزمایشی $S_۳$ سوسپانسیون باکتریایی با غلظت

CFU/mL ۱۰^۸ × ۴/۵ از مخلوط باسیلوس‌های پروبیوتیکی در ۱۰۰ گرم از غذای لارو ماهی تهیه شد. جیره آزمایشی $S_۴$ که برای تغذیه لارو ماهی در تیمار شاهد به کار برده شد، در آن هیچ گونه سوسپانسیون باکتریایی مکمل سازی نشد. در کلیه جیره‌های $S_۱$، $S_۲$، $S_۳$ حاوی باسیلوس‌های پروبیوتیکی، غلظت این پروبیوتیک‌ها CFU/g ۱۰^۶ × ۱/۵ بود. تهیه این جیره‌ها به فاصله هر هفته صورت گرفت.

جدول ۱- مشخصات افتراقی به دست آمده از تست های بیوشیمیایی باسیلوس های پروبیوتیکی.

تست / باکتری	Oxidase	Catalaes	Gram	Glucose	Arabinose	Sacarose	Manitol	Citrate	Nitrate
B. licheniformis	–	+	+	+	+	–	+	+	+
B. subtilis	–	+	+	+	+	+	+	+	+

تست / باکتری	Indole	V.P	M.R	Movement	Hydrogen Sulfide	Gelatin	Arnetine	Lysine	Gas in Glucose
B. licheniformis	–	+	–	+	–	+	–	+	–
B. subtilis	–	+	–	+	–	+	–	+	–

+ به معنای مثبت بودن جواب تست های بیوشیمیایی مورد نظر؛ - به معنای منفی بودن جواب تست های بیوشیمیایی مورد نظر.

جدول ۲- مشخصات افتراقی به دست آمده از تست های آنزیمی رپید تی- ام.

تست / مخمر	GLU	MAL	SUC	TRE	RAF	LIP	NAGA	aGLU	BGLU
S. cerevisiae	+	–	+	–	+	–	–	+	+

تست / مخمر	ONPG	aGAL	BFUC	PHS	PCHO	URE	PRO	HIST	LGY
S. cerevisiae	–	–	–	–	–	–	–	+	+

+ به معنای مثبت بودن جواب تست های بیوشیمیایی مورد نظر؛ - به معنای منفی بودن جواب تست های بیوشیمیایی مورد نظر.

جدول ۳- ترکیبات بیوشیمیایی جیره مورد استفاده در تغذیه لارو ماهی فیتوفاگ.

پروتئین خام (درصد)	چربی خام (درصد)	انرژی خام (کالری بر گرم)	ماده خشک (درصد)	رطوبت (درصد)	خاکستر (درصد)
۳۹/۷۴ ± ۲/۱۴	۹/۱۲ ± ۳/۷۰	۴۵۱۷/۲۴ ± ۲۰۵/۲۰	۹۱/۸۹ ± ۰/۲۵	۹/۳۶ ± ۷/۴۵	۷/۳۶ ± ۲/۶

طراحی آزمایش

۳ تیمار آزمایشی و یک تیمار شاهد، هر یک با ۳ تکرار برای این آزمایش در نظر گرفته شد. تعداد ۱۲ عدد حوضچه فایبرگلاس با حجم آبگیری ۶ لیتر انتخاب شد. لارو ماهی فیتوفاگ با وزن ۲۰۰ میلی گرم، به تعداد ۴۰ قطعه (با تراکم ۶-۷ قطعه ماهی در هر لیتر) به هر حوضچه معرفی شدند. هوادهی مستمر توسط یک دستگاه پمپ الکتریکی هوا صورت گرفت. لاروهای ماهی در تیمارهای آزمایشی $T_۱$، $T_۲$ و $T_۳$ به ترتیب از جیره‌های آزمایشی $S_۱$، $S_۲$، $S_۳$ به میزان ۵٪ وزن بدن در روز تغذیه شدند. در تیمار شاهد لاروهای فیتوفاگ از جیره $S_۴$ (بدون مخلوط پروبیوتیکی) تغذیه شدند. باقیمانده غذایی نیز با استفاده از سیفون کردن از حوضچه های فایبرگلاسی جمع آوری شد. این مقدار غذای جمع آوری شده از کل غذای عرضه شده کسر و غذای خورده شده روزانه محاسبه شد (Ghosh et al. 2003).

شاخص های فیزیکوشیمیایی آب

برخی از معیارهای کیفی آب از جمله اکسیژن محلول، قابلیت انتقال الکتریکی (EC) پی اچ و دمای آب اندازه گیری شدند. اکسیژن محلول با استفاده از دستگاه اکسیژن‌سنج، اسیدیته آب با استفاده از دستگاه واترچکر مدل هانا روزانه اندازه گیری شد. دمای آب هر صبح و غروب اندازه‌گیری شد.

معیارهای رشد

به منظور تعیین مقدار غذای روزانه لاروهای ماهی فیتوفاگ در هر تیمار، به صورت هفتگی از لاروهای ماهی در هر تکرار، تعداد ۱۰ ماهی نمونه برداری و پس از بیهوش کردن آنها در محلول عصاره گل میخک با غلظت ۱۰۰ میلی گرم در لیتر، وزن و طول آنها با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ گرم اندازه گیری شدند. همچنین در پایان دوره آزمایش نیز تمامی لاروهای ماهی هر حوضچه پس از بیهوش کردن، به طور جداگانه بیومتری شدند.

معیارهای رشد لاروهای ماهیان فیتوفاگ در هر تیمار به شرح زیر تعیین شد (De Silva and Anderson, 1995; Helland et al. 1996; Ghosh et al. 2003; Hevroy et al. 2005):

نرخ رشد ویژه (SGR) = ۱۰۰ × [دوره پرورش (روز)/ لگاریتم طبیعی وزن اولیه ماهی – لگاریتم طبیعی وزن نهایی ماهی]

میانگین رشد روزانه (ADG) = ۱۰۰ × [(زمان (روز) × گرم وزن اولیه/ گرم وزن اولیه – گرم وزن نهایی ماهی)]

نرخ وزن نسبی به دست آمده (RGR) = ۱۰۰ × [گرم وزن اولیه ماهی / (گرم وزن نهایی ماهی– گرم وزن نهایی ماهی)]

ضریب رشد حرارتی (TGC) = ۱۰۰× [مجموع میانگین دماهای روزانه × روزهای آزمایش] / [میانگین وزن اولیه ماهی ۰/۳۳۳ (گرم)- میانگین وزن ثانویه ماهی ۰/۳۳۳ (گرم)]

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

کارایی تبدیل غذا (FCE) = ۱۰۰× (گرم غذای خورده شده / گرم وزن به دست آمده)

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

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

غذای نسبی خورده شده (RFI) =۱۰۰ × [(زمان (روز)× گرم وزن توده زنده ماهی / درصد غذای از دسترس خارج شده × گرم غذای جمع آوری شده) – گرم غذای عرضه شده

]

آنالیز آماری

تجزیه و تحلیل آماری داده های به دست آمده در ارتباط با زیست سنجی ماهیان و معیارهای رشد، با استفاده از آنالیز واریانس یکطرفه، در قالب طرح کاملا تصادفی و با استفاده از نرم افزار SPSS 18 و بر اساس آزمون دانکن در سطح ۰/۰۵ انجام پذیرفت.

نتایج

نتایج حاصل از اندازه گیری معیارهای کیفی آب نشان داد که دامنه تغییرات اکسیژن (۱/۴ ± ۷/۴ میلی گرم درلیتر)، پی اچ (۲/۱ ± ۷/۶)، قابلیت انتقال الکتریکی (۳/۸ ± ۸۲۰ میکروموس بر سانتی متر) و دمای آب (^{o}C ۷/۶ ± ۲۱/۱) در دامنه قابل قبول برای ماهی فیتوفاگ قرار داشتند.

نتایج به دست آمده از زیست سنجی لاروهای ماهی فیتوفاگ مشخص کرد که لاروهای ماهی در تیمارهای آزمایشی از باسیلوس های پروبیوتیکی تأثیر پذیرفته و پارامترهای رشد در مقایسه با تیمار شاهد از اختلاف معنی‌دار بالایی برخوردار بودند. با توجه به جدول ۴ در می‌یابیم که وزن به دست آمده در تیمارهای T_1، T_2 و T_3 در مقایسه با تیمار شاهد از اختلاف معنی‌دار بالایی برخوردار بوده ($P<0/05$) و بالاترین وزن لارو ماهی در تیمار T_3 معادل ۸/۹۵ ± ۲۷۱/۷۳ میلی‌گرم و کمترین مقدار وزن در گروه شاهد ۱۵/۷۵ ± ۲۳۸/۰۶ میلی گرم به دست آمده است. اختلاف معنی داری بین دو تیمار T_3 و T_2 مشاهده نشد ($P>0/05$)، اما این تیمارها نسبت به تیمار T_1 اختلاف معنی‌دار داشتند. نرخ رشد ویژه (SGR) در لاروهای ماهی که از جیره‌های مکمل شده با پروبیوتیک ها تغذیه شده بودند، در حد معنی‌دار افزایش یافت ($P<0/05$) این نرخ ویژه در تیمارهای T_2 و T_3 از دیگر تیمار آزمایشی (T_1) بیشتر بود، اما بین تیمار های T_2 و T_3 اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($P>0/05$). نتایج مشابهی از نظر اختلاف‌های معنی‌دار در مورد درصد

کارایی تبدیل غذا (FCE)، نرخ وزن نسبی به دست آمده (RGR) ضریب رشد حرارتی (TGC) و میانگین رشد روزانه (ADG) به دست آمد. ضریب تبدیل غذایی (FCR) در این آزمایش، به طور قابل توجهی در تیمارهای آزمایشی کاهش یافت و اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد به دست آمد (P<۰/۰۵) و کمترین آن معادل ۰/۰۶ ± ۱/۹۷ برای تیمار آزمایشی $T_۳$ تعیین شد، در صورتی که در گروه شاهد ۰/۰۶ ± ۲/۲۶ بود. در حالی که کارایی تغذیه در تیمارهای آزمایشی به طور معنی‌دار افزایش نشان داد (P<۰/۰۵) تیمارهای $T_۲$ و $T_۳$ کمترین ضریب تبدیل غذایی را داشتند.

جدول ۴- عملکرد رشد در لاروهای ماهی فیتوفاگ در تیمار شاهد و تیمارهای آزمایشی تحت تأثیر ترکیب پروبیوتیکی.

تیمار / پارامتر	شاهد (صفر)	تیمار ۱ ۱/۵×۱۰^۶ CFU/g	تیمار ۲ ۳×۱۰^۶ CFU/g	تیمار ۳ ۴/۵×۱۰^۶ CFU/g
وزن اولیه (میلی گرم)	۲۰۰ ± ۱۵	۲۰۰ ± ۱۵	۲۰۰ ± ۱۵	۲۰۰ ± ۱۵
وزن نهایی (میلی گرم)	۲۳۸/۰۶ ± ۱۵/۷۵ b	۲۴۷/۱۴ ± ۶/۱۴ ab	۲۶۷/۹۴ ± ۱۱/۶۱ a	۲۷۱/۷۳ ± ۸/۹۵ a
درصد میانگین رشد روزانه	۶/۲۷ ± ۱/۹۶ b	۷/۷۸ ± ۱/۰۲ ab	۱۱/۱۲ ± ۱/۹۲ a	۱۱/۱۸ ± ۱/۴۸ a
نرخ وزن نسبی بدست آمده (درصد)	۱۹/۰۰ ± ۲/۲۴ b	۲۳/۵۷ ± ۳/۰۸ ab	۳۳/۹۷ ± ۳/۸۱ a	۳۵/۸۷ ± ۳/۴۸ a
ضریب رشد حرارتی (درصد)	۰/۰۵۰ ± ۰/۰۰ b	۰/۰۶ ± ۰/۰۰ ab	۰/۰۸ ± ۰/۰۰ a	۰/۰۸ ± ۰/۰۱ a
نرخ رشد ویژه (درصد وزن بدن در روز)	۵/۱۶ ±۰/۳۱ b	۶/۴۱ ± ۰/۰۷ ab	۸/۸۴ ± ۱/۳۲ a	۹/۲۸۴ ± ۰/۰۹ a

حروف لاتین غیر مشترک در هر ردیف، نشانه معنی دار بودن می باشد (P<۰/۰۵).

جدول ۵- برخی از معیارهای تغذیه ای لارو ماهی فیتوفاگ در تیمار شاهد و تیمارهای آزمایشی تحت تأثیر پروبیوتیک ها.

تیمار / پارامتر	شاهد (صفر)	تیمار ۱ ۱/۵×۱۰^۶ CFU/g	تیمار ۲ ۳×۱۰^۶ CFU/g	تیمار ۳ ۴/۵×۱۰^۶ CFU/g
کارایی تغذیه (درصد)	۴۴/۴ ± ۰/۰۲ b	۴۶/۱۰ ± ۰/۰۱ ab	۵۰/۰۰ ± ۰/۰۲ a	۵۰/۷ ± ۰/۰۱ a
غذای نسبی خورده شده (درصد)	۱۰۰/۶۶ ± ۷/۹ a	۷۳/۵ ± ۹/۵۴ ab	۵۱/۵۴ ± ۹/۷۳ ab	۴۸/۲۳ ± ۶/۰۴ b
نسبت کارایی پروتئین	۱/۱۲ ± ۰/۱۱ b	۱/۱۷ ± ۰/۰۲ ab	۱/۲۶ ± ۰/۰۵ a	۱/۲۸ ± ۰/۰۴ a
نسبت کارایی چربی	۴/۹۵ ± ۰/۵۱ b	۵/۱۴ ± ۰/۱۲ ab	۵/۵۸ ± ۰/۲۴ a	۵/۶۶ ± ۰/۱۸ a
ضریب تبدیل غذایی	۲/۲۶ ± ۰/۰۹ a	۲/۱۶ ± ۰/۰۵ ab	۲/۰۱ ± ۰/۰۸ b	۱/۹۷ ± ۰/۰۶ b

حروف لاتین غیر مشترک در هر ردیف، نشانه معنی دار بودن می باشد (P<۰/۰۵).

بحث

در تحقیق حاضر مخلوط سه میکروارگانیسم پروبیوتیکی در تمامی تیمارهای آزمایشی نسبت به گروه شاهد نقش بسیار مثبتی را در ارتقاء بقا و رشد لاروهای ماهی فیتوفاگ از خود نشان دادند. Noh و همکاران (۱۹۹۴) و Bougat و همکاران (۱۹۹۸) نیز اثبات کردند که پروبیوتیک‌های تجاری تهیه شده از باکتری *Streptococcus faecium* در طی مکمل سازی با جیره‌های ماهی کپور معمولی موجب بهبود کارایی تغذیه و رشد در آنها شدند و پیشنهاد کردند که افزودن پروبیوتیک ها می‌تواند به عنوان راهکاری مناسب برای کاهش هزینه‌های پرورش ماهیان باشد (Yanbo and Zirong, 2006) در همین راستا به کارگیری عصاره مخمری پروبیوتیکی در غنی‌سازی با دافنی ماگنا

(*Daphnia magna*) در تغذیه لارو تاس ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) نشان داد که این مخمر می‌تواند تأثیر خوبی بر عملکرد رشد در این ماهی بگذارد (لشگر بلوکی و همکاران، ۱۳۹۰). در بین تیمارهای آزمایشی، ماهیان تیمار T_3 و T_2 در مقایسه با دیگر تیمار آزمایشی از عملکرد بهتری برخوردار بودند. در مشابهت با نتایج به دست آمده از این تحقیق باسیلوس‌های پروبیوتیکی در طی جایگزین شدن در روده لاروهای ماهی روهو (*Labeo rohita*) در هضم و جذب بهتر غذا نقش مثبتی ایفا کردند و باعث افزایش رشد شدند (Ghosh et al. 2003) در تحقیقی که توسط Jafarian و همکاران (۲۰۰۹b) انجام شد، ترکیب سه پروبیوتیک *Bacillus polymyxa* *Bacillus circulans* and *Saccharomyces cerevisiae* در مکمل سازی غذای لارو ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان مورد استفاده قرار گرفت که مشابه نتایج به دست آمده در این تحقیق بود. در تحقیق حاضر، پروبیوتیک‌های باسیلوسی به خوبی توانستند ضریب تبدیل غذایی را کاهش، و کارایی تبدیل غذایی را در حد معنی‌دار افزایش دهند که در پرورش لاروی ماهی یکی از اهداف مهم تلقی می‌شود. در این خصوص باسیلوس‌های پروبیوتیکی تأثیر بسیار موفقیت‌آمیزی از خود نشان دادند. در همین راستا تأثیرات مشابهی از باسیلوس‌های پروبیوتیکی فوق‌الذکر در لاروهای تاس ماهی ایرانی (Jafarian et al. 2007a) و همچنین لاروهای فیل ماهی در طی تغذیه از ناپلیوس های آرتمیای غنی شده با این باسیلوس ها به دست آمد (Jafarian et al. 2007b). این مطالعات نشان داد که باسیلوس‌های پروبیوتیکی توانستند در لاروهای فیل ماهی ضریب تبدیل غذایی را از ۳/۴۵ به ۲/۷۷ و غذای خورده شده روزانه را از ۲۰/۵۶ به ۱۷/۸۷٪ وزن بدن در روز تقلیل دهند. در حالی که در تحقیق حاضر ضریب تبدیل غذایی از ۰/۰۹ ± ۲/۲۶۷ به ۰/۰۶ ± ۱/۹۷۳ کاهش یافت و نشان داد این باکتری‌ها در مورد لارو ماهی فیتوفاگ عملکرد خوبی داشته‌اند. در همین راستا چپرلی و همکاران (۱۳۹۳) در استفاده از باسیلوس‌های پروبیوتیکی نشان دادند که این باسیلوس‌ها در فرایند غنی‌سازی با ناپلیوس‌های آرتمیا اورمیانا در تغذیه لاروهای ماهی فیتوفاگ تأثیر مثبتی را بر کاهش ضریب تبدیل غذایی و افزایش رشد آنها داشت.

گزارش شده است که باکتری‌های پروبیوتیکی باعث افزایش قابلیت هضم و کاهش ضریب تبدیل غذایی می‌شوند (Irianto and Austin, 2002). در آزمایش صورت گرفته توسط Bairagi و همکاران (۲۰۰۲)، باکتری‌های تولید کننده آنزیم سلولاز از جمله *Bacillus* های پروبیوتیکی جدا شده از روده ماهی کپور، برای تخمیر گیاه عدسک آبی (*Lemna polyrhiza*) به کار برده شدند. سطوح پروتئین و چربی خام در عدسک آبی تخمیر شده برای تغذیه ماهیان روهو افزایش پیدا کرد و باعث ارتقاء رشد و افزایش سطوح پروتئین و چربی در لاشه این ماهیان شد. در این ارتباط پریچه و همکاران (۱۳۹۳) تایید کردند که عصاره آنزیمی حاصل از مخلوط باسیلوس‌های پروبیوتیکی موجب ارتقاء عملکرد تغذیه و افزایش پارامترهای تغذیه‌ای در لارو قزل‌آلای رنگین کمان می‌شود. تحقیقات نشان می‌دهد که مکمل‌سازی پروبیوتیک‌ها در غذای آبزیان به عنوان یک فرآیند بسیار با ارزش برای جیره نویسی به منظور افزایش رشد و کارایی تغذیه بسیار ضروری خواهد بود (Bairagi et al. 2002). بر همین اساس عنوان می‌شود که به کارگیری پروبیوتیک ها در جیره‌ها می‌تواند از طریق کاهش غذای مورد نیاز برای رشد ماهیان، باعث افزایش کارایی تغذیه شده و کاهش هزینه‌های پرورشی را در آبزیان در پی‌داشته باشد (Yanbo and Zirong, 2006). چنین نتایجی در کاهش ضریب تبدیل غذایی و نیز غذای نسبی خورده شده در لاروهای ماهیان فیتوفاگ در تیمارهای تحت تأثیر پروبیوتیک‌ها مشاهده شده است. به رغم یکسان بودن مقدار و کیفیت جیره‌های آزمایشی، تیمارهای آزمایشی و به خصوص تیمارهای T_3 و T_2 دارای وزن، ضریب رشد و کارایی تبدیل رشد بالاتری نسبت به گروه شاهد و نیز دیگر تیمارهای آزمایشی بودند.

Bairagi و همکاران (۲۰۰۴) در یک تحقیق *Bacillus circulan* و *B. subtilis* جدا شده از روده ماهی *Oreochromis mossambicus* را در تخمیر برگ گیاه لوسیانا (*Leucaena leucocephala*) برای تغذیه ماهی روهو به کار بردند. نتایج نشان داد به طور معنی‌دار فاکتورهای ضدتغذیه‌ای نظیر تانین، اسید فایتیک و میموزین در آرد برگ درخت لوسیانا کاهش یافت. در حالی که هضم پروتئین و چربی در ماهیان تیمار آزمایشی در مقایسه با گروه شاهد افزایش و سطوح پروتئین و

ذخیره چربی لاشه نیز ارتقاء یافت. همچنین ضریب تبدیل غذایی کاهش، و نسبت کارایی پروتئین و بهره‌برداری از پروتئین خالص (NPU) نسبت به گروه شاهد افزایش نشان داد. آرد باقلای سیاه (*Phaseolus mungo*) در طی مکمل سازی با باسیلوس های جدا شده از روده ماهی کپور معمولی در تغذیه ماهی روهو به کار رفت. در تیمارهای تغذیه شده با جیره‌های مکمل شده با باکتری، کارایی پروتئین و چربی افزایش معنی‌داری داشت. سطح پروتئین خام لاشــه از ۱ ± ۱۲/۰۶ به ۲ ± ۱۴/۲۵٪ و چربی خام از ۰/۰۴ ± ۴/۰۱ به ۰/۱ ± ۵/۲۳٪ ارتقاء یافت (Ramachandran and Ray, 2007) این نتایج با یافته‌های تحقیق حاضر همسو بود.

Bacillus circulan نشان داد که توانایی نسبتاً خوبی برای تولید آنزیم‌های پروتئولیتیک و تا حد متوسط آنزیم سلولاز دارد. همین سویه زمانی که به صورت مکمل میکروبی در جیره‌های آزمایشی در تغذیه ماهی روهو به کار رفت، بر بهبود و نرخ رشد نوزادهای این ماهی تأثیر بسیار خوبی ایجاد کرد (Ghosh et al. 2004). *Bacillus circulans* جدا شده از روده ماهی روهو در نرخی معادل گرم غذا CFU ۱۰^۸ برای تخمیر پنج جیره غذایی برای مدت یک تا پنج روز مکمل سازی شد. بهترین عملکرد در افزایش وزن بدن و نرخ رشد ویژه لاروهای این ماهی، از جیره‌هایی بود که به مدت ۵ روز توسط این باسیلوس تخمیر شده بودند، به طوری که نرخ رشد ویژه از ۰/۱ ± ۱۰/۸۹ در گروه شاهد به ۳ ± ۱۷/۷۹ درصد در روز در تیماری که از جیره تخمیر شده به مدت ۵ روز استفاده کرده بود، ارتقاء یافت. همچنین وزن به دست آمده در پایان آزمایش از ۰/۴ ± ۳/۴۵ گرم به ۴ ± ۱۴/۶۱ گرم رسید (Ghosh et al. 2004).

در مشابهت با تحقیق حاضر، Yanbo و Zirong (۲۰۰۶) نشان دادند که ترکیب سلول‌های باکتری فتوسنتز کننده لیوفلیزه شده و باسیلوس (*Bacillus sp*) که برای تغذیه لاروهای ماهی کپور معمولی به کار گرفته شد، تأثیر بسیار خوبی بر معیارهای رشد و افزایش آنزیـم‌های گـوارشی دارد. به طوری که وزن نهــایی از ۰/۹ ± ۹/۸۷ به ۱ ± ۱۱/۶۷ گرم، رشد روزانه از ۰/۰۵۵ به ۰/۰۸۶ گرم در روز، نرخ وزن نسبی به دست آمده از ۰/۵۱ به ۰/۸۰٪ در تیمار مخلوط این دو باکتری نسبت به بچه ماهیان گروه شاهد ارتقاء یافت. در حالی که ضریب تبدیل غذایی از ۲/۴۶ به ۲/۱۱ کاهش پیدا کرد.

از تحقیق حاضر این طور نتیجه‌گیری می‌شود که افزودن مخلوطی از سه پروبیوتیک حاصله از دستگاه گوارش فیل ماهی به غذای فرموله شده کپور ماهیان در تغذیه لاروهای ماهی فیتوفاگ، موجب بهبود نرخ بقا، راندمان رشد و کارایی در لاروهای این ماهی می‌شود.

منابع

پریچه، ن.، جعفریان، ح.، هرسیج، م.، احمدی، ع. ۱۳۹۳. تأثیر عصاره آنزیمی باسیلوس‌های پروبیوتیکی بر عملکرد رشد، بازماندگی و مقاومت لارو قزل‌آلا (*Oncorhynchus mykiss*) اولین همایش آبزی‌پروری نوین- چالش‌ها و فرصت‌ها. ۳۰ مهر تا یکم آبان ۱۳۹۳. دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.

چپرلی، ب.، جعفریان، ح.، بهلکه، ا.، جعفریان، س. ۱۳۹۳. تأثیر برخی پروبیوتیک های باسیلی بر الگوی رشد و پارامترهای فراسنجی بدن لارو فیتوفاگ (*Hypophthalmichthis molitrix*) اولین همایش آبزی‌پروری نوین- چالش‌ها و فرصت‌ها ۳۰ مهر تا یکم آبان ۱۳۹۳. دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.

دهقان، م. ۱۳۹۰. جداسازی و انتخاب باکتری‌های پروبیوتیک و مخمر از دستگاه گوارش بچه ماهیان انگشت قد فیل ماهی (*Huso huso*) و بررسی قابلیت غنی‌سازی با ناپلی آرتمیا اورمیانا (*Artemia urmiana*) پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه گنبد کاووس. ۱۰۴ ص.

لشکر بلوکی، م.، جعفریان، ح.، کرامت، ع.، فرهنگی، م.، آدینه، ح. ۱۳۹۰. بررسی تأثیر دافنی ماگنای (*Daphnia magna*) غنی شده با عصاره مخمر ساکرومایسس سرویزیا (*Saccharomyces cerevisiae*) بر رشد و مقاومت لاروهای ماهی تاس ماهی ایرانی (*Acipenser percicus*) در برابر عوامل استرس‌زا. نشریه شیلات، مجله منابع طبیعی ایران، شماره ۴: ۳۵۵-۳۴۵.

Ahilan, B., Shine, G., Santhanam, R. 2004. Influence of probiotics on the growth

and gut microflora load of juvenile Goldfish (*Carassius auratus*). Asian Fisheries Science 171: 271-278.

Bagheri, T., Hedayati, S.A., Yavari, V., Alizadeh, M., Farzanfar, A. 2008. Growth, survival and gut microbial load of rainbow trout fry given diet supplemented with probiotic during the two month of first feeding. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Science 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.

Bogut, I., Milakovic, Z., Bukvic, Z., Brkic, S., Zimmer, R. 1998. Influence of probiotic *Streptococcus faecium* M74 on growth and content of intestinal microfolora in carp *Cyprinus carpio*. Czech Journal of Animal Science 43: 231-235.

Carnevali, O., Zamponi, M.C., Sulpizo, P., Rollo, A., Nardi, M., Orpianesi, C., Silvi, S., Caggiano, M., Polzonetti, A.M., Cresci, A. 2004. Administration of probiotic strain to improve sea bream wellness during development Aquaculture International 12: 377-386.

Cho, C.Y. 1992. Feeding system for rainbow trout and salmonids with reference to current estimates of energy and protein requirement. Aquaculture 100: 107-123.

Dehghan, M., Jafariyan, H., Habibi Rezai, M., Amoozagar, M.A., Sahandi, J. 2011. Potential of brine shrimp (*Artemia urmiana*) enrichment with two species of Bacillus and yeast (*Saccharomyces cerevisiae*). World Journal of Fish and Marine Sciences 3: 523-528.

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

Ghosh, K., Sen, S.K., Ray, A.K. 2002. Growth and survival of rohu, *Labeo rohita* (Hamilton, 1822) spawn feed diets formented with intestinal bacterium, *Bacillus circulans*. Acta Ichthyologica et Piscatoria 32: 83-92.

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. Aquaculture-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., Herrera-Vega, M.A., Aberu-Grobis, F.A. Roque, A. 1998. Bioencapsulation of two different vibrio species in nauplii of the Brine shrimp (*Artemia fransiscana*). Applied Environmental Microbiology 64: 2318-2322.

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. Journal of Fish Diseases 25: 1-10.

Jafarian, H., Azari Takami, G., Kamali, A., Soltani, M., Habibirezaei, M. 2007a.

The use of probiotic bacillus bioencapsulated with *Artemia urmiana* nauplii for the growth and survival in *Acipenser persicus* larvae. Agriculture Science and Natural Resources 14: 77-87.

Jafarian, H., Soltani, M., Abedian, A.M. 2007b. The influence some of probiotic bacillus on feeding efficiency and nutrient body composition of Beluga (*Huso huso*) larvae. Agriculture Science and Natural Resources 14: 60-71.

Jafaryan, H., Ahmadi, M., Adineh, H. 2009a. The useing Daphnia meal for promoting of growth efficiency in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fry by supplementation with probiotic bacillus. Aqucultue Europe 2009. August 14-17, Trondheim, Norway, 286-287.

Jafaryan, H., Chamanara, V., Papi, Sh., Khojamlii, S. 2009b. Use of baker's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) and probiotic bacillus on the growth performance in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) larvae. Aqucultue Europe 2009. August 14-17, Trondheim, Norway, 280-281.

Kapetanovic, D., Kurtovic, B., Teskeredzic, E. 2005. Difference in bacterial population in raibow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) fry after transfer from incubator to pools. Food Technology Biotechnology 48: 189-193.

Lara-Flores, M., Olvera-Novoa, M.A., Guzman-Méndez, B.E., López-Madrid, W. 2003. Use of the bacteria *Streptococcus faecium* and *Lactobacillus acidophilus*, and the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as growth promoters in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Aquaculture 216: 193-201.

Li, P., Gatlin, D.M. 2003. Evaluation of brewers yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) as a feed supplement for hybrid striped bass (*Morone chrysops* × *M. saxatilis*). Aquaculture 219: 681-692.

Li, P., Gatlin, D.M. 2004. Dietary brewers yeast and the prebiotic GroBiotick™ AE influence growth performance, immune responses and resistance of hybrid striped bass (*Morone chrysops* × *M. saxatilis*) to *Streptococcus iniae* infection. Aquaculture 231: 445-456.

Li, P., Gatlin, D.M. 2005. Evaluation of the prebiotic GroBiotic® - A and brewers yeast as dietary supplements for subadult hybrid striped bass (*Morone chrysops* × *M. saxatilis*) challenged in situ with *Mycobacterium marinum*. Aquaculture 248: 197-205.

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.

Noh, S.H., Han, K., Won, T.H., Choi, Y.J. 1994. Effect of antibiotics, enzyme, yeast culture and probiotics on the growth performance of Israeli carp. Korean Journal of Animal Science 36: 480-486.

Oliva-Teles, A., Gonçalves, P. 2001.Partial replacement of fishmeal by brewers yeast *Saccaromyces cerevisae* in diets for sea bass *Dicentrarchus labrax* juveniles. Aquaculture 202: 269-278.

Peter, H., Sneath, A. 1986. Bergeys manual of systematic Bacteriology 2: 1104-1154.

Ramachandran, S., Ray, A.K. 2007. Nutritional evaluation of fermented black gram (*Phaseolus mungo*) seed mealin compound diets for rohu, *Labeo rohita* (Hamilton), fingerling. Journal of Applied Ichthyology 23: 74-79.

Rengpipat, S., Phianphak, W., Piyatiratitvorakul, S., Menasveta, P. 1998. Effects of probiotic bacterium on black tiger shrimp *Penaeus monodon* survival and growth. Aquaculture 167: 301-313.

Verschuere, L., Rombaut, G., Sorgeloos, P., Verstraete, W. 2000. Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture. Microbiology and Molecular Biology Reviews. Applied Microbiology 64: 655-671.

Yanbo, W., Zirong, X. 2006. Effect of probiotic for commom carp (*Cyprinus carpio*) based on growth performance and digestive enzymes activities. Animal Feed Science and Technology 127: 283-292.

The effect of blend of isolated bacillus and *Saccharomyces cerevisiae* from gut of Beluga (*Huso huso*) on growth and feeding parameters of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) larvae

Hojatollah Jafarian*, Kheiroallah Khosravi, Dariush Abdollahi, Sajad Tavana
Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Gonbad Kavoos, Gonbad, Golestan, Iran

Received 14 April 2014; accepted 15 June 2014

Abstract
A 33-day feeding experiment was conducted to assess the effects of supplemented diets with sturgeon intestinal bacteria as probiotics in feeding of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) larvae with average weight 200 ± 10 mg. These probiotics were isolated from gut of ten healthy fingerlings of Beluga (*Huso huso*) with average weight of (5.51 ± 0.31 g). Four diets (S1, S2, S3 and S4) were prepared containing similar ingredient composition and were supplemented with blend of three probiotics (*Bacillus licheniformis*, *Bacillus subtilis* and yeast of *Saccharomyces cerevisiae*) at four different levels (0, 1.5×10^6, 3×10^6, 4.5×10^6 cells per 100 g of diet, respectively). At the end of experiment, the Silver carp larvae fed probiotic supplemented diet had an improved and growth feeding performance compared to fish larvae not fed probiotics. Rearing of silver carp with feeding by experimental diets of, S2 and S3 (3×10^6 and 4.5×10^6 cells 100 g) resulted in better growth and feeding parameters in compared with the control. These probiotics resulted in a significant increase ($P<0.05$) in specific growth rate and food conversion efficiency of fish larvae in experimental treatments. Therefore the tested microorganisms in this study had tremendous potential as probiotic for commercially produced of silver carp larvae.

Keywords: Probiotic, Supplemented diets, Silver carp larvae, Specific growth rate, Food conversion

*Corresponding author: hojat.jafaryan@gmail.com