



## مقاومت، بقا و عملکرد رشد لارو ماهی قزل آلا (*Oncorhynchus mykiss*) با مکمل سازی جیره با مخلوط باسیلوس های تجاری

حکیمه سرگزی<sup>۱\*</sup>، حجت الله جعفریان<sup>۲</sup>، سعید یلقی<sup>۳</sup>، محمد فرهنگی<sup>۴</sup>

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس

۲- دانشیار، گروه شیلات، گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس

۳- استادیار پژوهشی، مرکز تحقیقات ذخایر آبزیان آبهای داخلی، گرگان

۴- مربی، گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس

تاریخ پذیرش: ۹۳/۳/۳

تاریخ دریافت: ۹۲/۱۱/۱۰

\* نویسنده مسئول مقاله: h.sargazi68@gmail.com

### چکیده:

تأثیر مخلوط پنج گونه باسیلوس پروبیوتیکی در چهار سطح صفر (شاهد)،  $1 \times 10^6$  CFU/ml ( $T_1$ )،  $1 \times 10^7$  CFU/ml ( $T_2$ ) و  $1 \times 10^8$  CFU/ml ( $T_3$ ) در هر ۱۰۰ گرم غذا بر عملکرد رشد، مقاومت و بقای لارو ماهی قزل آلا (وزن  $463 \pm 32$  میلی گرم) به مدت ۶۰ روز بررسی شد. نتایج بیانگر افزایش معنادار ( $p < 0/05$ ) شاخص های رشد در همه تیمارهای نسبت به شاهد بود. رشد، ضریب تبدیل غذایی (FCR) و کارایی پروتئین (PER) در تیمار  $T_2$  به طور معناداری بهتر از تیمار  $T_1$  بود. پروبیوتیک تأثیر مثبت معناداری ( $p < 0/05$ ) بر نرخ رشد ویژه (SGR)، نسبت وزن به دست آمده (RGR)، میانگین رشد روزانه (ADG) و ضریب رشد حرارتی (TGC) داشت. همچنین، لاروها در تیمارهای پروبیوتیک مقاومت بیشتری را در برابر استرس pH قلیایی، آمونیاک و دما نسبت به شاهد نشان دادند ( $p < 0/05$ ). اختلاف معناداری در pH اسیدی بین تیمارها و شاهد مشاهده نشد ( $p \geq 0/05$ ). نتیجه کلی بیانگر افزایش شاخص های رشد، کارایی تغذیه، مقاومت در برابر استرس و بقا لارو ماهی قزل آلا با افزودن باسیلوس های پروبیوتیکی می باشد.

**کلید واژگان:** پروبیوتیک، استرس، شاخص های رشد، کارایی تغذیه.

## مقدمه

ماهی قزل‌آلای رنگین کمان یکی از مهم‌ترین گونه‌های آزادماهیان، با ارزش اقتصادی بالا برای پرورش جهانی بوده و بخش بزرگی از میزان تولید آبزیان را به خود اختصاص می‌دهد (Azewedo et al., 1989). رشد نیز به‌عنوان یک شاخصه با اهمیت کاملاً آشکار در ماهیان و میگوهای پرورشی است. این شاخصه موضوع مطالعات بی‌شماری بوده که آزمایش‌های دقیق و روش‌های جاری، نشان می‌دهد که این معیار هنوز هم نیاز به تعمق فراوان دارد (Bureau et al., 2000). گونه باسیلوس سبب بهبود رشد، افزایش مقاومت ماهی در برابر بیماری‌ها و کیفیت آب می‌شود (Gatesoupe, 1999). پتانسیل‌های برخی از باسیلوس‌های پروبیوتیکی جدا شده از روده آبزیان پرورشی مختلف، نشان داد که با ترشح بسیاری از ترکیبات بیوشیمیایی نظیر آنزیم‌های گوارشی، قابلیت هضم و جذب غذا در لاروهای آبزیان پرورشی افزایش یافته و کارایی تغذیه و شاخص‌های رشد ارتقا می‌یابد (Bairagi et al., 2002). همچنین بسیاری از لاکتوباسیلوس‌ها و باسیلوس‌های پروبیوتیکی دارای آنزیم‌های خارج سلولی از جمله آمیلاز، لیپاز و پروتئاز بوده و از طریق تحریک اشتها، افزایش متابولیسم میکروبی، سطح تغذیه میزبان را ارتقا می‌دهند (Irianto and Austin, 2002). افزایش قابلیت هضم و جذب بهتر مواد غذایی خورده شده به‌وسیله ماهی، موجب افزایش کارایی تغذیه و به دنبال آن رشد بیشتر در لارو ماهیان می‌شود (Ghosh et al., 2003). باکتری‌های باسیلوس می‌توانند پلی‌میکسین، باکتریوکش‌ها و آنتیبیوتیک ژرامایسین تولیدکنند (Chitta et al., 2002). باسیلوس‌ها با ممانعت یا کاهش چسبیدن پاتوژن‌ها، سبب تحریک دستگاه ایمنی میزبان و با تولید اسید، پراکسید هیدروژن و باکتریوسین‌های ضد رشد پاتوژن‌ها باعث کاهش تلفات در

ماهیان می‌شوند (Vazquez et al., 2005). در مطالعه‌ای، باسیلوس‌های پروبیوتیکی در تغذیه لارو فیل ماهی (*Huso huso*) توانستند تأثیرهای معناداری بر معیارهای رشد و تغذیه‌ای این ماهی داشته باشند (Jafaryan et al., 2006). همچنین Naseri و همکاران (۲۰۰۸) نشان دادند که پروبیوتیک‌های *B. subtilis* و *B. Licheniformis* در سطوح مختلف می‌توانند به طور معناداری شاخص‌های رشد ماهی قزل‌آلای رنگین کمان مانند وزن نهایی، ضریب رشد غذایی و ضریب رشد ویژه را افزایش دهند.

کلنی‌های باکتریایی در روده لاروهای آبزیان از طریق مدخل دهانی وارد بدن آن‌ها می‌شوند (Hansen and Olafsen, 1999). مطالعات متعدد نشان می‌دهد به‌کارگیری باکتری‌های پروبیوتیکی در مراحل اولیه زندگی آبزیان، باعث ارتقای رشد و کارایی تغذیه در آن‌ها شده است (Gomez-Gil et al., 2000). در این باره ایجاد یک کلنی موفق در زمان مناسب از طریق مکمل‌سازی با جیره‌های مورد استفاده در تغذیه آبی تحت مطالعه، بسیار ضروری به نظر می‌رسد (Munro et al., 1999).

استرس پاسخ موجود زنده به هر گونه شرایطی است که در آن قرار دارد، به‌طوری که یک حالت فیزیکی فراتر از حالت طبیعی استراحت در موجود گسترش می‌یابد. با توجه به نقش پروبیوتیک‌ها در تعدیل تأثیرهای منفی استرس، پیدا کردن ارتباط بین استفاده از این مواد برای تغذیه آبزیان و اثرهای آن‌ها در شرایط استرس‌زا بسیار با اهمیت است. آزمایش‌های مقاومت در برابر استرس بر پایه قرارگیری لاروها در وضعیت نامتعادل فیزیکی، شیمیایی و زیستی و در دوره زمانی کوتاه مدت استوار است (Tackaert et al., 1989).

در پرورش آبزیان به خصوص در دوران لاروی، بالابردن توان مقاومت لاروها اهمیت زیادی دارد (Irianto and

وارد ظروف می‌شد. هوادهی مستمر با یک دستگاه پمپ الکتریکی هوا صورت می‌گرفت.

#### سوسپانسیون باکتریایی و جیره‌های آزمایشی

گونه‌های باسیلوس‌های پروبیوتیکی تحت عنوان محصول تجاری پروتکسین آکواتک<sup>۱</sup> از شرکت نیکو تک (پروتکسین) تهیه شد. این فراورده میکروبی شامل ۵ گونه از باسیلوس‌های پروبیوتیکی (لیچنی فورمیس، باسیلوس لئروسپروس، باسیلوس پلی میکسا، باسیلوس سیرکولانسو باسیلوس سابتیلیس) بود. میزان حضور هر یک از باسیلوس‌های مذکور در سوسپانسیون باکتریایی به ترتیب شامل ۳۸/۳۵، ۱۷/۵۴، ۸/۲۵، ۲۵/۰۷ و ۱۰/۷۸ درصد بود.

از سوسپانسیون مخلوط باکتریایی، با استفاده از محلول نمکی طبیعی استریل (۰/۸۷ NaCl)/v رقت‌های سریالی در دامنه  $10^{-1}$  تا  $10^{-8}$  تهیه گردید (Rengpipat et al., 1998). غلظت‌های  $1 \times 10^6$  CFU/ml،  $1 \times 10^7$  CFU/ml و  $1 \times 10^8$  CFU/ml آماده شد و سپس به همراه ۲۰ سی‌سی آب مقطر استریل، به ترتیب به‌طور جداگانه به ۱۰۰ گرم جیره که شامل غذای آغازین لارو ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (تهیه شده از شرکت بیومار فرانسه) با میزان پروتئین و چربی خام یکسان (به ترتیب ۵۰ و ۱۲ درصد) افزوده و مکمل‌سازیگردیدند. این جیره‌های آزمایشی که به ترتیب تحت عنوان جیره  $T_1$ ،  $T_2$  و  $T_3$  نام‌گذاری شدند، پس از یکنواختی در انکوباتور با دمای  $40^{\circ}\text{C}$  در مدت ۵ ساعت خشک گردیدند (۱۰ درصد رطوبت) و مطابق با نیاز لاروهای ماهیاز الک‌های ریز چشمه (۰/۱ میلی‌متری) عبور داده و در اختیار آن‌ها قرار گرفتند. جیره لاروهای ماهی در شاهد (C) با همین فرایند ساخته شد، ولی به آن‌ها هیچ‌گونه باسیلوس پروبیوتیکی اضافه نشد (Ghosh et al., 2002). مقدار غذای مورد نیاز لاروهای قزل‌آلا به ازای هر

(Austin, 2003) شواهدی وجود دارد که باکتری‌های پروبیوتیکی با تحریک سیستم ایمنی میزبان موجب افزایش مقاومت آن‌ها در برابر استرس‌های محیطی شده و درصد بقا را بالا می‌برند (Nikoskelainen et al., 2003). پروبیوتیک‌ها از طریق مکانیسم‌های اکولوژیکی میکروبی و با ترشح برخی از ترکیبات بازدارنده نظیر آنتی‌بیوتیک‌ها، باکتری‌کش‌ها و پراکسید هیدروژن باعث کاهش رشد باکتری‌های مضر و افزایش بقای لارو آیزی می‌شوند (Verschuere, 2000). باکتری‌کش‌ها گروه ناهمگنی از مواد ضد میکروبی هستند که با پروبیوتیک‌های تولید شده و تحریک سیستم ایمنی، مقاومت لاروها را افزایش می‌دهند (Irianto and Austin, 2003).

تحقیق حاضر برای ارزیابی پتانسیل‌های مخلوط باسیلوس‌های پروبیوتیکی شامل (*B. licheniformis*، *B. circulans* و *B. laterosporus*، *B. Polymyxa subtilis*) در افزایش بهره‌برداری جیره تجاری به‌وسیله لاروهای ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان و افزایش بقا، ارتقای معیارهای رشد و مقاومت آن طراحی شد.

#### مواد و روش‌ها

##### تیمارهای آزمایشی

تعداد ۵۶۰ قطعه لارو ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان از مرکز تکثیر ماهی قزل‌بی نظیر واقع در محور هراز تهیه و به آزمایشگاه شیلات دانشگاه گنبد منتقل شدند و در سه تیمار آزمایشی تحت عنوان تیمار  $T_1$ ،  $T_2$  و  $T_3$  و یک گروه شاهد قرار گرفتند. هر یک از تیمارها واجد ۳ تکرار و هر تکرار شامل ظروف ۱۶ لیتری دارای ورودی و خروجی آب بود که در هر یک از آن‌ها ۳۵ قطعه لارو ماهی قزل‌آلا با متوسط وزن اولیه  $32 \pm 63$  میلی‌گرم معرفی شد. سرعت جریان ورودی آب به گونه‌ای بود که هر دقیقه یک لیتر آب

1. Protexin Aquatech

زیست‌سنجی ماهیان به فواصل هر ۷ روز یکبار صورت گرفت. در انتهای دوره آزمایش وزن و طول بدن لاروهای ماهی در هر حوضچه پس از بیهوشی در عصاره گل میخک (غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر)، با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم و کولیس ۰/۱ میلی‌متر اندازه‌گیری و برخی از معیارهای رشد به شرح زیر تعیین شد.

۱- نرخ رشد ویژه (SGR)<sup>۲</sup> (Hevroy et al., 2005)  

$$SGR\% = [LnWt_2 - LnWt_1 / t_2 - t_1] \times 100$$
 لگاریتم طبیعی وزن نهایی ماهی (گرم) =  $LnWt_2$  لگاریتم طبیعی وزن اولیه ماهی =  $LnWt_1$  طول دوره آزمایش (روز)  
 $t_2 - t_1 =$

۲- ضریب تبدیل غذایی (FCR)<sup>۳</sup> (De Silva and Anderson, 1995)  

$$FCR = g \text{ dry feed eaten} / g \text{ live weight gain}$$
 غذای خورده‌شده (گرم) =  $g \text{ feed eaten}$  وزن به‌دست آمده =  $g \text{ Live weight gain}$

۳- کارایی تبدیل غذا (FCE)<sup>۴</sup> (De Silva and Anderson, 1995)  

$$FCE\% = [g \text{ live weight gain} / g \text{ Dry feed eaten}] \times 100$$
 وزن به‌دست آمده ماهی (گرم) =  $g \text{ live weight gain}$   
 غذای خشک خورده شده (گرم) =  $g \text{ feed eaten}$

۴- نسبت کارایی پروتئین (PER)<sup>۵</sup> (Helland et al., 1996)  

$$PER = g \text{ live weight gain} / g \text{ protein intake}$$
 وزن به‌دست آمده (گرم) =  $g \text{ live weight gain}$   
 پروتئین خورده شده (گرم) =  $g \text{ Protein intake}$

۵- نسبت کارایی چربی (LER)<sup>۶</sup> (Helland et al., 1996)  

$$LER = g \text{ live weight gain} / g \text{ lipid intake}$$

2. Specific Growth Rate  
 3. Feed Conversion Ratio  
 4. Feed Conversion Efficiency  
 5. Protein Efficiency Ratio  
 6. Lipid Efficiency Ratio

روز بر اساس جدول استاندارد (وزن توده ماهی و درجه حرارت آب) تعیین و سه بار در روز بین آن‌ها توزیع شد. باقیمانده غذایی نیز با استفاده از میکروپی‌پت با دقت از ظروف جمع‌آوری گردید. مقدار غذای جمع‌آوری شده از کل غذای عرضه شده کسر و غذای خورده شده روزانه محاسبه گردید (Ghosh et al., 2003).

### معیارهای کیفی آب

در طول دوره آزمایش با استفاده از هواده الکتریکی، اکسیژن محلول در سطح  $7/87 \pm 0/52$  میلی‌گرم در لیتر نگهداری شد. اکسیژن محلول با استفاده از دستگاه اکسیژن سنج، قابلیت هدایت الکتریکی، دما، شوری و pH آب با استفاده از دستگاه واترچکر روزانه اندازه‌گیری گردید. مقادیر فسفات (PO<sub>4</sub>)، سولفات (SO<sub>4</sub>)، نیتريت (NO<sub>2</sub>)، نترات (NO<sub>3</sub>)، بی‌کربنات (HCO<sub>3</sub>)، کلسیم (Ca)، منیزیم (Mg)، سدیم (Na) و پتاسیم (K) در هر هفته با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر هج<sup>۱</sup> مدل Dr/2000 انجام شد. همچنین اندازه‌گیری درجه حرارت آب نیز در هر روز ۳ مرتبه هم‌زمان با دفعات تغذیه لارو ماهیان انجام گرفت. شاخص‌های فیزیکی شیمیایی آب به شرح زیر به‌دست آمدند:

شوری  $32/41 \pm 2350$  میلی‌گرم بر لیتر، قابلیت هدایت الکتریکی  $3671/8 \pm 317/26$  میکروموس بر سانتی‌متر، کدورت  $0/89$  NTU، دما  $16/2 \pm 1/35$  C°، اکسیژن محلول  $7/87 \pm 0/52$  میلی‌گرم بر لیتر، pH  $7/6 \pm 0/18$ ، فسفات  $0/36 \pm 0/08$ ، سولفات  $1104 \pm 154$ ، نیتريت  $0/013 \pm 0/001$ ، نترات  $15/84 \pm 0/2$ ، بی‌کربنات  $340 \pm 27$ ، کلسیم  $304 \pm 14$ ، منیزیم  $86/4 \pm 6/5$ ، سدیم  $296 \pm 6/5$  و پتاسیم  $12 \pm 0/51$  میلی‌گرم بر لیتر.

### معیارهای رشد

1. Hach

محلول آمونیاک نیز با استفاده از ۵ میلی‌گرم در لیتر آمونیاک تهیه شد. محلول‌های قلیایی و اسیدی با استفاده از سود (NaOH) و اسید کلریدریک (HCl) غلیظ تهیه شده با استفاده از دستگاه‌های شوری‌سنج و پی‌اچ متر مدل سنجش و کنترل شدند.

### تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل آماری داده‌های به‌دست آمده در قالب طرح کاملاً تصادفی و با استفاده از نرم‌افزار SPSS و بر اساس آزمون دانکن در سطح ۰/۰۵ انجام پذیرفت.

### نتایج

نتایج به‌دست آمده از زیست‌سنجی لاروهای ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان مشخص کرد که لاروهای ماهی در تیمارهای آزمایشی از باسیلوس‌های پروبیوتیکی تأثیر پذیرفته و شاخص‌های رشد در مقایسه با تیمار شاهد ارتقا یافتند. با توجه به جدول ۱ بالاترین وزن لارو ماهی در تیمار T<sub>۲</sub> معادل ۷/۲۴ گرم و کمترین مقدار وزن در گروه شاهد ۶/۳۱ گرم به‌دست آمده است.

نرخ رشد ویژه (SGR) و ضریب تبدیل غذایی (FCR) در تیمار T<sub>۲</sub> از دیگر تیمارهای آزمایشی بیشتر بوده و با تیمار T<sub>۳</sub> اختلاف معنادار نداشت (p<۰/۰۵). اما این دو تیمار با تیمارهای T<sub>۱</sub> و شاهد اختلاف معناداری را نشان داد (p<۰/۰۵). در حالی که کارایی تغذیه در تیمارهای آزمایشی به‌طور معنادار افزایش نشان داد (p<۰/۰۵). در تیمارهای آزمایشی تحت تأثیر پروبیوتیک‌ها کارایی تغذیه لاروهای قزل‌آلا از ۷۴/۴۴ درصد در گروه شاهد به ۸۶/۲۹ درصد در تیمار T<sub>۲</sub> رسید.

نسبت کارایی پروتئین در تیمار شاهد معادل ۱/۶۵ که در تیمارهای آزمایشی مقدار آن افزایش یافته و بیشترین آن در تیمار T<sub>۲</sub> و T<sub>۳</sub> معادل ۱/۹۱ تعیین گردید. در خصوص

وزن به‌دست آمده (گرم)  $g \text{ live weight gain} =$  چربی

خورده شده (گرم)  $\text{Lipid intake} =$

۶- ضریب رشد حرارتی (TGC) (De Silva and Anderson, 1995)

$$\text{TGC \%} = \left[ \frac{\text{BW2}^{0.333} - \text{BW1}^{0.333}}{\sum \text{C}_{(\text{day-degrees})}^{0C}} \right] \times 100$$

وزن توده زنده ثانویه ماهی (گرم)  $\text{BW2} =$  وزن توده

زنده اولیه ماهی (گرم)  $\text{BW1} =$

مجموع میانگین درجه حرارت‌های روزانه  $\sum \text{C}_{(\text{day-degrees})}^{0C} =$

۷- عامل وضعیت (CF) (Austreng et al., 2000)

$$\text{CF} = \left[ \frac{\text{W}}{\text{L}} \right] \times 100^3$$

وزن نهایی ماهی (گرم)  $\text{W} =$  طول کل ماهی (سانتی‌متر)  $\text{L} =$

۸- غذای نسبی خورده شده (RFI) (De Silva and Anderson, 1995)

$$\text{RFI \%} = \left[ \frac{\text{F}}{0.5(\text{Wt}_2 - \text{Wt}_1)} \right] \times 100$$

غذای خورده شده (گرم)  $\text{F} =$  وزن نهایی ماهی (گرم)  $\text{Wt}_2 =$

وزن اولیه ماهی (گرم)  $\text{Wt}_1 =$  طول دوره (روز)  $(t_2 - t_1) =$

۹- بقا (درصد)  $\text{S} = 100 \times \left[ \frac{\text{N}_1 \text{ FISH} - \text{N FISH dead}}{\text{N}_1 \text{ FISH}} \right]$

تعداد ماهی اولیه  $\text{N}_1 \text{ FISH} =$

تعداد ماهی مرده  $\text{N FISH dead} =$

### سنجش مقاومت لاروهای ماهی

در انتهای دوره آزمایش برای بررسی میزان مقاومت لاروهای ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با هریک از جیره‌های مورد آزمون، تعداد ۲۰ قطعه از هر حوضچه نمونه‌برداری شده و با تراکم ۲ قطعه در هر لیتر، به‌طور مجزا تحت آزمایش مقابله با شوک حرارت (۴۰°C)، آمونیاک (۵ میلی‌گرم در لیتر)، قلیائیت (pH=۱۲) و اسیدیته (pH=۲) قرار گرفتند (Jafaryan, 2006). با استفاده از بخاری الکتریکی مدرج، دمای مورد نظر تنظیم گردید.

1. Thermal Growth Coefficient
2. Condition Factor
3. Relative Food Intake

آزمایشی به جز  $T_1$  با تیمار شاهد اختلاف معنادار داشتند ( $p < 0/05$ ). ضریب رشد حرارتی نیز در تیمارهای آزمایشی در مقایسه با تیمار شاهد، در حد معنادار افزایش یافت ( $p < 0/05$ ). بالاترین مقدار این معیار در تیمار  $T_2$  و  $T_3$  به دست آمد.

نتایج مربوط به بقای ماهیان در هر یک از تیمارهای آزمایشی نیز در جدول ۱ آورده شده است. در طول دوره مشاهده شد که بقای لاروهای ماهیان در تیمار آزمایشی  $T_2$  و  $T_3$  به طور معناداری با گروه شاهد تفاوت داشت ( $p < 0/05$ ).

نسبت کارایی چربی نیز بیشترین مقدار در لاروهای ماهی در تیمار  $T_2$  (۷/۹۹) به دست آمد و تیمارهای آزمایشی  $T_1$  و  $T_3$  اختلاف معناداری با لاروهای ماهی قزل آلا در تیمار شاهد (۶/۸۹) نشان دادند ( $p < 0/05$ ).

نتایج به دست آمده از محاسبه عامل وضعیت یا ضریب چاقی لاروهای ماهی قزل آلا در تیمارهای مختلف نشان داد که لاروهای ماهی قزل آلا در تیمار آزمایشی  $T_2$  نسبت به دیگر تیمارهای آزمایشی بیشتر تحت تأثیر پروبیوتیک‌ها قرار گرفته و این معیار در آن ارتقای بیشتری یافت.

غذای نسبی خورده شده از ۵/۳۱ درصد در تیمار شاهد به ۴/۴۲ درصد در تیمار  $T_2$  تنزل پیدا کرد. تمامی تیمارهای

جدول ۱ عملکرد رشد و بقا در لاروهای ماهی قزل آلا در تیمار شاهد و تیمارهای آزمایشی تحت تأثیر پروبیوتیک‌های باسیلوسی

سطح پروبیوتیک			
CFU/ml $\times 10^4$ T	CFU/ml $\times 10^7$ T	CFU/ml $\times 10^6$ T	صفر شاهد
۰/۴۶۳±۰/۳۲	۰/۴۶۳±۰/۳۲	۰/۴۶۳±۰/۳۲	۰/۴۶۳±۰/۳۲
۷/۲۳±۰/۳۲ <sup>a</sup>	۷/۲۴±۰/۰۵ <sup>a</sup>	۶/۹۲±۰/۱۲ <sup>ab</sup>	۶/۳۱±۰/۴ <sup>b</sup>
۱/۳۴±۰/۱۳ <sup>b</sup>	۱/۳۳±۰/۰۵ <sup>b</sup>	۱/۴۷±۰/۰۸ <sup>ab</sup>	۱/۵۹±۰/۱۴ <sup>a</sup>
۸۶/۱۴±۴/۰۶ <sup>a</sup>	۸۶/۲۹±۰/۶۷ <sup>a</sup>	۸۲/۱۹±۱/۵۵ <sup>ab</sup>	۷۴/۴۴±۵/۰۶ <sup>b</sup>
۴/۴۸±۰/۵۸ <sup>a</sup>	۴/۴۹±۰/۵۷ <sup>a</sup>	۴/۳۹±۰/۶۵ <sup>ab</sup>	۴/۲۴±۰/۶۳ <sup>b</sup>
۴/۴۶±۰/۴۳ <sup>b</sup>	۴/۴۲±۰/۱۸ <sup>b</sup>	۴/۸۸±۰/۲۷ <sup>ab</sup>	۵/۳۱±۰/۴۹ <sup>a</sup>
۱/۱۴±۰/۱ <sup>ab</sup>	۱/۱۲±۰/۰۹ <sup>b</sup>	۱/۱۵±۰/۱۲ <sup>a</sup>	۱/۱۴±۰/۱۱ <sup>ab</sup>
۰/۰۹±۰/۰۲ <sup>a</sup>	۰/۰۹±۰/۰۲ <sup>a</sup>	۰/۰۹±۰/۰۲ <sup>ab</sup>	۰/۰۸±۰/۰۲ <sup>b</sup>
۱/۹۱±۰/۰۹ <sup>a</sup>	۱/۹۱±۰/۰۲ <sup>a</sup>	۱/۸۳±۰/۰۳ <sup>ab</sup>	۱/۶۵±۰/۱۱ <sup>b</sup>
۷/۹۸±۰/۳۸ <sup>a</sup>	۷/۹۹±۰/۰۶ <sup>a</sup>	۷/۶۱±۰/۱۵ <sup>ab</sup>	۶/۸۹±۰/۴۷ <sup>b</sup>
۹۴/۲۹±۲/۸۶ <sup>ab</sup>	۹۵/۲۴±۱/۶۵ <sup>a</sup>	۸۸/۵۷±۲/۸۶ <sup>bc</sup>	۸۶/۶۷±۴/۳۶ <sup>c</sup>

حروف لاتین غیرمشترک در هر ردیف نشانه معنادار بودن است ( $p < 0/05$ ).

### تست استرس

اچ اسیدی در مقایسه با پی اچ بازی بیشتر بود. سرعت تلفات لاروهای ماهی قزل آلا تیمار شاهد، در مقابله با استرس حرارت در بالاترین مقدار و از کمترین متوسط زمان بقا ( $25 \pm 2$  ثانیه) برخوردار بودند. در حالی که بالاترین میزان زمان بقای لاروهای ماهی (بیشترین متوسط

در خصوص استرس پی اچ اسیدی ( $pH=2$ ) هیچ اختلاف معناداری بین تیمارهای آزمایشی با یکدیگر و شاهد مشاهده نشد ( $p < 0/05$ ) (جدول ۲). همچنین مقاومت لاروهای ماهی در تیمارهای مختلف نسبت به استرس پی

در تیمار شاهد ( $187/67 \pm 20/79$  ثانیه) تعیین شد؛ تمامی تیمارهای آزمایشی در مقایسه با شاهد اختلاف معناداری نشان دادند. نتایج آزمایش‌های مقابله با استرس آمونیاک نیز نشان داد که بیشترین متوسط زمان زنده‌مانی لاروهای ماهی قزل‌آلا در تیمار  $T_2$  مشاهده شد و با تیمارهای شاهد و  $T_1$  اختلاف معناداری را نشان داد ( $p < 0/05$ ) (جدول ۲).

مقاومت)، در تیمار  $T_3$  معادل  $34/33 \pm 1/53$  ثانیه به‌دست آمد که با تیمار  $T_2$  اختلاف معنادار نداشت ولی با شاهد و تیمار  $T_1$  اختلاف معنادار نشان داد ( $p < 0/05$ ) (جدول ۲). بالاترین میزان زمان بقای لاروهای ماهی در مقابله با استرس پی-اچ قلیایی ( $pH=12$ )، در تیمار  $T_2$  ( $332/33 \pm 16/17$ ) ثانیه) به‌دست آمد و کمترین متوسط آن

جدول ۲ تغییرات مدت بقای لارو ماهی قزل‌آلای تغذیه شده از جیره‌های آزمایشی در مقابله با استرس‌های مختلف

استرس بر حسب ثانیه				
سطح پروبیوتیک	حرارت ( $^{\circ}C$ )	آمونیاک (۵ میلی‌گرم در لیتر)	پی-اچ اسیدی ( $pH=2$ )	پی-اچ قلیایی ( $pH=12$ )
صفر شاهد	$25 \pm 2^b$	$101 \pm 11/79^b$	$796/67 \pm 31/75^a$	$187/67 \pm 20/79^d$
$T_1 \times 10^6$ CFU/ml	$25/67 \pm 3/06^b$	$117/33 \pm 2/08^b$	$817 \pm 15/72^a$	$234 \pm 26/89^c$
$T_2 \times 10^7$ CFU/ml	$34 \pm 1^a$	$209/67 \pm 23/35^a$	$820/67 \pm 43/36^a$	$332/33 \pm 16/17^a$
$T_3 \times 10^8$ CFU/ml	$34/33 \pm 1/53^a$	$194/33 \pm 14/98^a$	$835/67 \pm 14/36^a$	$291/67 \pm 18/15^b$

حروف لاتین غیرمشترک در هر ستون نشانه معنادار بودن است ( $p < 0/05$ ).

## بحث

در تحقیق حاضر باسیلوس‌های پروبیوتیکی در تمامی تیمارهای آزمایشی نسبت به گروه شاهد در ارتقای رشد لاروهای ماهی قزل‌آلا نقش بسیار مثبتی داشت. تمامی جیره‌های مکمل شده با پروبیوتیک‌ها منجر به بازدهی‌های رشد و مصرف غذایی بهتری در مقایسه با جیره پایه در گروه شاهد شدند. (Irianto and Austin (2002) گزارش کردند که باکتری‌های پروبیوتیکی باعث افزایش قابلیت هضم و کاهش سطوح عوامل ضد تغذیه‌ای نظیر تانن و اسید فایتیک در میزبان می‌شوند. باسیلوس سیرکولانس نشان داد که توانایی به‌نسبت خوبی را برای تولید آنزیم‌های پروتئولیتیک و تا حد متوسطی آنزیم سلولاز دارد. در پژوهشی دیگر، باسیلوس سیرکولانس ایزوله شده از روده ماهی روهو در نرخ معادل گرم غذا/CFU  $10^8$  برای تخمیر ۵ جیره غذایی برای مدت یک تا پنج روز مکمل‌سازی گردید، بهترین عملکرد در افزایش وزن بدن و نرخ رشد ویژه نوزادهای این ماهی، از جیره‌هایی بود که به

مدت ۵ روز به‌وسیله این باسیلوس تخمیر شده بودند، به‌طوری که نرخ رشد ویژه از  $10/89$  در گروه شاهد به  $17/79$  در تیماری که از جیره تخمیر شده به‌مدت ۵ روز استفاده کرده بود، ارتقا یافت. وزن به‌دست آمده در پایان آزمایش از  $3/45$  به  $14/61$  گرم رسید. همچنین میزان بقا را در این ماهی از  $83/66$  درصد در تیمار شاهد به  $98/33$  درصد در تیمار آزمایشی ارتقا داد (Ghosh et al., 2004). نتایج مشابه دیگری نیز در به‌کارگیری باسیلوس‌های پروبیوتیکی در تغذیه با غذای تجاری حاوی باسیلوس‌های لیکنی فورمیس (*Bacillus licheniformis*) و ساب‌تیلیس (*Bacillus subtilis*) در لاروهای قزل‌آلای رنگین‌کمان به دست آمد، به طوری که وزن نهایی از  $700$  به  $1200$  میلی‌گرم و طول نهایی از  $42$  به  $46$  میلی‌متر ارتقا یافت (Bagheri et al., 2008). در بین باکتری‌های پروبیوتیکی، باسیلوس‌های گرم مثبت به دلیل داشتن اسپور قابلیت به‌کارگیری بیشتری در ارتقای رشد لاروهای ماهی دارند، از این رو در مطالعات مختلف

تیمارهای آزمایشی افزایش یافت. Notash و همکاران (2010) نشان دادند که وزن نهایی در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با جیره مکمل شده با پروبیوتیک پروتکسین افزایش یافته به طوری که وزن نهایی ماهی در تیمار آزمایشی (۴۷/۶۳) اختلاف معناداری با تیمار شاهد (۳۲/۱۱) داشت.

نتایج مشابه بر تأثیر پروبیوتیک‌ها بر عملکرد رشد و تغذیه ماهیان: روغن ماهی *Gadus morhua* (Lauzon et al, 2010)، قزل‌آلای رنگین‌کمان *Oncorhynchus mykiss* (Tukmechi et al, 2011; Vendrell, 2008) و دلک ماهی *Amphiprion sebae* (Pushparaj et al, 2012) گزارش شده است.

باسیلوس‌ها با ترشح ترکیبات متابولیکی مختلف و تحریک سیستم ایمنی میزبان موجب افزایش عملکرد آن شده و پاسخ‌های ایمنی ماهی را مقابل محرک‌های محیطی افزایش می‌دهند (Ghosh et al., 2003). Jafaryan (۲۰۰۶) با به کارگیری باسیلوس سوبتیلیس، باسیلوس لیچنیفورمیس، لاکتوباسیل‌های تجاری (شامل لاکتوباسیلوس پلاننتارو و لاکتوباسیلوس دلبروکی) و باسیلوس‌های جدا شده از دستگاه گوارش تاس ماهی ایرانی (شامل باسیلوس مایکودیسوجنس کورینه باکتریوم) در مکمل سازی با جیره‌های ماهی قزل‌آلای نشان داد که این پروبیوتیک‌های باسیلوسی و لاکتوباسیلوسی موجب افزایش میزان مقاومت و زنده‌مانی لارو قزل‌آلای رنگین‌کمان در مقابله با استرس‌های pH قلیایی، اسیدی، دمایی و آمونیاک می‌شوند. استفاده از پروبیوتیک تجاری *Lactococcus garvieae* به میزان  $10^7$  CFU/g در جیره غذایی قزل‌آلای رنگین‌کمان پس از ۳۰ روز باعث کاهش تلفات از ۷۸ درصد در تیمار شاهد به ۴۶ تا ۵۴ درصد در تیمارهای آزمایشی شد (Vendrell, 2008). El-Ashram (2008) گزارش کرد

نیز کاربردهای بیشتری از آن‌ها ارائه شده است (Gatesoupe, 1999). Faramarzi و همکاران (۲۰۱۱) در تحقیقی نشان دادند که باسیلوس‌های پروبیوتیکی می‌توانند ارزش تولید پروتئین و چربی را افزایش دهند، به طوری که 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. همچنین می‌تواند سبب افزایش بقای لاروها در برابر استرس‌های دمایی، قلیایی، اسیدی و آمونیاک شده و در تمامی این استرس‌ها اختلاف معناداری بین گروه شاهد با تیمارهای آزمایشی وجود داشته است، به طوری که بیشترین میزان تحمل استرس‌ها در تیمار ۳ با غلظت  $6 \times 10^7$  CFU/ml بود. در مشابهت با تحقیق حاضر، Yanbo and Zirong (2006) نشان دادند که پروبیوتیک‌های سلول‌های باکتری فتوستتر کننده لیوفلیزه شده (انجماد در خلأ) و باسیلوس (*Bacillus* sp.) و مخلوط آن‌ها تأثیر بسیارخوبی بر معیارهای رشد و افزایش آنزیم‌های گوارشی در لارو کپور معمولی دارند؛ به طوری که وزن نهایی از ۹/۸۷ به ۱۱/۶۷ گرم، رشد روزانه از ۰/۰۵۵ به ۰/۰۸۶ گرم بر روز، نرخ وزن نسبی به دست آمده از ۰/۵۱ به ۰/۸۰ درصد در تیمار مخلوط این دو باکتری نسبت به بچه ماهیان گروه شاهد ارتقا یافت. درحالی که ضریب تبدیل غذایی از ۲/۴۶ به ۲/۱۱ کاهش نمود. Zeiaei-Nejad و همکاران (۲۰۰۶) نیز با به کارگیری ناپلی آرتیمیا فرانسیسکانای غنی شده با باسیلوس‌های پروبیوتیکی در تغذیه لاروهای میگوی سفید هندی، نتایجی مشابه از افزایش نرخ رشد ویژه و کارایی تبدیل غذا به دست آوردند. Nickho و همکاران (2009) نشان دادند که اضافه کردن پروبیوتیک آکوالاز به جیره ماهی کپور وحشی (*Cyprinus carpio*) باعث ارتقای رشد شده به طوری که وزن نهایی از ۷/۱۷ گرم در تیمار شاهد به ۱۳/۹۰ گرم در



**Bureau, D. P., Azvedo, P. A., Tapia-Salazar, M. and Guzon, G. 2000.** Pattern and cost of growth and nutrition deposition in fish and shrimp: Potential implications and applications. *Internacional de Nutricion Acuicola*. November, Merida, Yucatan, Mexico, 19-22.

**Chang, C. L. and 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. *Journal of fish diseases*, 25: 311-315.

**Chitta, R., Rempel, D. L. and Gross, R. L. 2002.** Probing peptide/peptide interaction using H/Dexchange, MS/MS and ESI-MS: structure and metal ion binding of gramicidin dimer. Proceedings of the 50th ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics, Orlando, Florida.

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

**El-Ashram, A. M. M., Mohammed, M. F. And Aly, S. M. 2008.** Effect of biobuds as a commercial probiotic product In cultured Tilapia. 8th International Symposium on Tilapia in Aquaculture, 1089-1096.

**Faramarzi, M. 2011.** Enrichment of *Daphnia magna* with *Bacillus circulans* and *Bacillus licheniformis* to enhance growth and nutrition parameters and resistance against environmental stress and reduce ammonia nitrogen in *Acipenser persicus*. M.Sc. Thesis. Gonbad Kavous University, p: 51. (Abstract in English)

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

**Ghosh, K., Sen, S. K. and Ray, A. K. 2002.** Characterization of Bacillus Isolated from the gut of Rohu, *Labeo rohita*, fingerlings and its significance in digestion. *Applied Aquaculture*, 12: 33-42.

**Ghosh, K., Sen, S. K. and Ray, A. K. 2003.** Supplementation of an isolated fish gut bacterium, *bacillus circulans*, in Formulated diets for Rohu, *Labeo rohita*, Fingerlings. *Bamidgh*, 55(1): 13-21.

**Ghosh, K., Sen, S. K. and Ray, A. K. 2004.** Growth and survival of rohu, *Labeo rohita* spawn feed diets fermented with intestine bacterium, *Bacillus circulans*. *Acta Ichthyologica et piscatoria*, 34(2):155-165.

استفاده از پروبیوتیک‌های تجاری در تغذیه ماهی تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) باعث افزایش بقا از ۷۶/۳۳ درصد در تیمار شاهد به ۹۲ درصد در تیمارهای آزمایشی شد.

در نتیجه می‌توان گفت افزودن پروبیوتیک‌های باسیلی در جیره لاروهای ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان موجب افزایش بقا و مقاومت لاروها در برابر استرس‌های محیطی می‌شود و از طریق افزایش کارایی غذا، بازدهی رشد بهبود می‌یابد. بنابراین مخلوط باسیلوس‌های مذکور دارای پتانسیل بسیار بالایی در ارتقای شاخص‌های رشد در لاروهای قزل‌آلا هستند.

#### منابع

**Austreng, E. 2000.** Digestibility determination in fish using chromic oxide marking and analysis of contents from different segments of the gastrointestinal tract. *Aquaculture*, 13: 265-272.

**Avella, M. A., Gioacchini, G., Decamp, O., Makridis, P., Bracciatelli, C. and Carnevali, O. 2010.** Application of multi-species of bacillus in sea bream larviculture. *Aquaculture*, 305: 12-19.

**Azewedo, P. A., Leeson, S., Cho, C.Y. and 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. and Farzanfar, A. 2008.** Growth, Survival and Gut Microbial Load of Rainbow Trout (*Onchorhynchus mykiss*) Fry Given Diet Supplemented with Probiotic During the Two Months of First Feeding. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 8: 43-48.

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

- Munro, P. D., Henderson, R. J., Barbour, A. and 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.
- Naseri, S., Nezami, Sh. A., Khara, H., Farzanfar, A., Lashtoo Aghai, Gh. R. and Shakoori, M. 2008.** The study of growth performance of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) larvae with different levels of probiotic and iron in use of supplemented in diet. *Fishery*, 2(3): 1-7. (Abstract in English)
- Nickho, M., Yosefiyan, M. and Safari, R. 2009.** The influence of probiotic protoxin on growth and survival of *Cyprinus carpio* Fingerlings. *Journal of Marine Science and Technology*, 27-34. (Abstract in English)
- Nikoskelainen, S., Ouwehand, A. C., Bylund, G., Salminen, S. and Lilius, E. M. 2003.** Immune enhancement in rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) by potential probiotic bacteria (*Lactobacillus rhamnosus*). *Fish and Shellfish Immunology*, 15: 443-452.
- Notash, SH., Naeimikerarodi, M., Shahabzadeh, S. H. and Fadaeifard, F. 2010.** Study on the effect of different amount of probiotic protexin on weight gain, survival rate and FCR of rainbow trout. *Journal of Food Microbiology*, 1(3): 33-40
- Pushparaj, A., Ramesh, U. and Ambika, P. 2012.** Effect of probiotics on the growth and food utilization of clown fish (*amphiprion sebae*). *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology*, 3: 309-314.
- Rengpipat, S., Phianphak, W., Piyatiratitvorakul, S. and Menasveta P. 1998.** Effects of probiotic bacterium on black tiger shrimp *Penaeus monodon* survival and growth. *Aquaculture*, 167: 301-313.
- Tackaert, W., Albei, P., Leger, Ph. and Sorgeloos P. 1989.** Stress resistance as a criterion to evaluate quality of postlarval shrimp reared under different feeding procedures. In: Proceeding, III Simposio Brasilerio sorbe Cultivo de Camaro, Vol. 1. *MCR Aquaculture*, Jodo Pesoa; Brazil, 393-403 pp.
- Tukmechi, A., Rahmati Andani, H. R., Manaffar, R. and Sheikhzadeh, N. 2011.** Dietary administration of beta-mercapto-ethanol treated *Saccharomyces cerevisiae* enhanced the growth, innate immune response and disease resistance of
- Gomez-Gil, B., Roque, A. and 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. and Olafsen J. 1999.** Bacterial interactions in early life stages of marine cold water fish. *Microbial Ecology*, 38: 1-26.
- Helland, S. J., GrisdaleHelland, B. and S. Nerland. 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. and 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. and Austin, B. 2002.** Probiotic in aquaculture, *Journal of Fish Diseases*, 25: 1-10.
- Irianto, A. and Austin, B. 2003.** Use of dead probiotic cells to control furunculosis in rainbow trout, *Onchorhynchus mykiss*. *Journal of Fish Diseases*, 26: 59-62.
- Jafarian, H. 2006.** The effect of *Bacillus* bacteria as the probiotic on growth, survival and intestinal enzymes in Persian Sturgeon larvae (*Acipenser persicus*) by enrichment with *Artemia urmiana*. Ph.D. thesis, Faculty of Agriculture and Environmental Resources, Gorgan University, p: 103. (Abstract in English)
- Jafaryan, H., Soltani, M. and Abedian, A. M. 2006.** The influence some of probiotic bacillus on feeding efficiency and nutrient body composition of Beluga (*Huso huso*) larvae. *Journal of Agriculture Science and Natural Resources*. 14:60-71. (Abstract in English)
- Lauzon, H. L., Gudmundsdottir, S., Pedersen, M. H., Budde, B. B. and Gudmundsdottir, B. K. 2008.** Isolation of putative probiotics from cod rearing environment. *Veterinary Microbiology*, 132: 328-339.
- Lauzon, H. L., Gudmundsdottir, S., Steinarsson, A., Oddgeirsson, M., Martinsdottir, E. and Gudmundsdottir, B. K. 2010.** Impact of probiotic intervention on microbial load and performance of atlantic Cod (*Gadus morhua L.*) juveniles. *Aquaculture*, 310: 139-144.

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

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

**Vendrell, D., Balcazar, J. L., de Blas, I., Ruiz-Zarzuola, I., Girones, O. and Muzquiz J. L. 2008.** Protection of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) from lactococcosis by probiotic bacteria. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 31: 337-345.

**Verschuere, L., Rombaut, G., Sorgeloos, P. and Verstraete, W. 2000.** Probiotic bacteria as Biological Control Agents in Aquaculture. *Microbiology and Molecular Biology Reviews Applied Microbiology*, 64: 655-671.

**Yanbo, W. and X. Zirong. 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

**Ziaei-Nejad, S., Habibi Rezaei, M., Azari Takami, G., Lovett, D. L., Mirvaghefi, A. R. and Shakouri, M. 2006.** The effect of *Bacillus* spp. Bacteria used as probiotics on digestive enzyme activity, survival and growth in the Indian white shrimp *Fenneropenaeus indicus*. *Aquaculture*, 252: 516-524.



---

## Stress Resistance, Survival and Growth Performance of Rainbow Trout Fry (*Oncorhynchus mykiss*) Supplemented with a Commercial *Bacillus* Probiotic

Sargazi, Hakimeh<sup>\*1</sup>; Jafarian, Hojatallah<sup>2</sup> Yelghi, saeed<sup>3</sup>; Farhangi, mohammad<sup>4</sup>

1- M.Sc. Student, Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Gonbadkavous, Gonbadkavous

2- Associate Prof., Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Gonbadkavous, Gonbadkavous

3- Research Assistant Prof., Inland water Aquatic Stock Research Center, Gorgan

4-Lecturer, Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Gonbadkavous, Gonbadkavous

Received: 30/1/2014

Accepted: 24/5/2014

\*Corresponding author: h.sargazi68@gmail.com

---

### Abstract:

The effect of a probiotic containing five species of bacilli at four levels of 0 (control),  $1 \times 10^6$  CFU/ml ( $T_1$ ),  $1 \times 10^7$  CFU/ml ( $T_2$ ) and  $1 \times 10^8$  CFU/ml ( $T_3$ ) per 100g of feed on the growth performances, resistance and survival of rainbow trout fry, *Oncorhynchus mykiss* ( $463 \pm 32$  mg) were compared in a 60-days feeding trial. Growth parameters, such as ADG, SGR, RGR and TGC, were significantly enhanced ( $p < 0.05$ ) by the probiotic at all levels, and the performance in  $T_2$  was significantly better than  $T_1$ . The fish under the probiotic treatments also showed higher resistance ( $p < 0.05$ ) to such environmental stresses as alkaline pH, heat and ammonia ( $p < 0.05$ ). No significant difference in tolerance to acidic pH stress was observed between the control and treatments. In conclusion, the probiotic bacillus highly increased the growth performances, feeding efficiency, resistance and survival in rainbow trout fry.

**Keywords:** Probiotic, Stress, Growth performances, Feeding Efficiency