بررسی تأثیر پروبیوتیک لاکتوباسیلوس دلبروکی بر شاخص‌های رشد، تغذیه و بقاء تاس‌ماهی ایرانی

ناصر آق*[1]، عبدالجبار ایرانی[1]، فرزانه نوری[1]، امیر توکمه‌چی[2]

۱. گروه بیولوژی و تکثیر و پرورش آبزیان، پژوهشکده آرتمیا و آبزی‌پروری، دانشگاه ارومیه، ارومیه
۲. گروه میکروبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۲۸/۲۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۲/۱۷
شناسه دیجیتال (DOI) : 10.22113/jmst.2019.156745.2227

چکیده

در این تحقیق اثرات استفاده از پروبیوتیک لاکتوباسیلوس دلبروکی (*Lactobacillus delbrueckii*) در سه مرحله از زندگی تاس‌ماهی ایرانی (مرحله اول: شروع تغذیه فعال، مرحله دوم: ماهیان انگشت‌قد با وزن حدود ۱۰ گرم، مرحله سوم: ماهیان جوان حدود ۱۴۴ گرمی)، بر شاخص‌های رشد، تغذیه و بقاء مورد بررسی قرار گرفت. در مرحله اول، پروبیوتیک از طریق غنی‌سازی ناپلی آرتمیا برای تغذیه لاروهای تازه به تغذیه افتاده تاس‌ماهی ایرانی به مدت ۱۵ روز استفاده گردید. در مراحل دوم (به مدت یک ماه) و سوم (به مدت دو ماه) پروبیوتیک به غذا اسپری و برای تغذیه ماهیان استفاده گردید. در پایان روز پانزدهم مرحله اول تحقیق، مقادیر طول کل، وزن کل، افزایش وزن و رشد ویژه در ماهیان تغذیه‌شده با ناپلی آرتمیای غنی‌سازی نشده (تیمار ۳) به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از سایر تیمارها بود. در پایان روز سی‌ام، مقادیر طول کل، وزن کل، افزایش وزن و رشد ویژه در ماهیان تغذیه‌شده با جیره ترکیبی کنسانتره و ناپلی آرتمیای غنی‌سازی نشده (تیمار ۴) به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از سایر تیمارها بود. ضریب تبدیل غذایی در تیمار ۴ به غیر از تیمار ۲ نسبت به سایر تیمارها به‌طور معنی‌داری کم‌تر بود. در پایان مرحله دوم تحقیق، هیچ‌کدام از تیمارها ازنظر شاخص‌های بررسی‌شده، اختلاف معنی‌داری نشان ندادند. در پایان مرحله سوم تحقیق، مقادیر وزن کل، افزایش وزن و رشد ویژه در ماهیان تغذیه‌شده با هردو سویه پروبیوتیک به‌طور معنی‌داری بالاتر از گروه شاهد بود؛ بنابراین برای بهبود رشد و بقاء ماهیان جوان تاس‌ماهی ایرانی بایستی حداقل ۲ ماه با غذای حاوی پروبیوتیک تغذیه شوند.

واژگان کلیدی: پروبیوتیک، لاکتوباسیلوس دلبروکی، تاس‌ماهی ایرانی، رشد

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: n.agh@urmia.ac.ir

۱. مقدمه

ماهیان خاویاری دریای خزر به دلیل آلودگی آب، صید بی‌رویه و غیرمسئولانه، از بین رفتن محل‌های تخم‌ریزی و ایجاد سدها و پل‌ها بر روی رودخانه‌ها جمعیت آن‌ها به‌شدت کاهش یافته است. به دلیل این‌که این ماهیان از طریق تولیدمثل طبیعی نمی‌توانستند جمعیت خود را حفظ نمایند، تکثیر و پرورش مصنوعی و رهاسازی بچه ماهیان به‌عنوان مهم‌ترین و اصلی‌ترین راهکار برای افزایش جمعیت آن‌ها در نظر گرفته شد و در راستای دست‌یابی به این هدف، در حاشیه دریای خزر چندین مرکز تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری احداث گردید که سالانه میلیون‌ها بچه ماهی را به رودخانه‌های مجاور دریا رهاسازی می‌نمایند (Bahmani *et al*., 2015). علاوه بر آن، پرورش ماهیان خاویاری نیز برای کاهش فشار صید در دستور کار قرار گرفت. هرچند در سال‌های اخیر موفقیت‌های زیادی حاصل شده است ولی بیوتکنیک پرورش ماهیان خاویاری نیاز به بررسی‌های بیش‌تری دارد.

پروبیوتیک‌ها یکسری میکروارگانیسم‌های زنده هستند که اثرات مفیدی بر میزبان دارند. این میکروارگانیسم‌ها که بیش‌تر شامل باکتری‌ها، مخمرها و جلبک‌ها هستند اکثراً از طریق غذا (غذای کنسانتره و یا غذای زنده) وارد دستگاه گوارش شده و ساکن می‌شوند (Verschuere *et al*., 2000). به دلیل تحولی که پروبیوتیک‌ها در این صنعت ایجاد کرده‌اند، استفاده از آن‌ها روز به روز در حال گسترش است و امروزه در مناطق مختلف دنیا در صنعت پرورش ماهی، میگو و حتی نرم‌تنان مورد استفاده قرار می‌گیرند، چراکه تحقیقات انجام‌یافته و تجربیات به‌دست‌آمده نشان داده است که در بسیاری از گونه‌های ماهی و میگو پروبیوتیک‌ها باعث بهبود پارامترهای رشد و تغذیه (Taoka *et al*., 2006; Bagheri *et al*., 2008; Wang *et al*., 2008b; Jafaryan *et al*., 2009)، بهبود ترکیب شیمیایی لاشه (Morshedi *et al*., 2017; Paricheh *et al*., 2018) و افزایش مقاومت در برابر بیماری‌ها می‌گردد (Salinas *et al*., 2008). از طرف دیگر در بعضی از کشورها توانستند با بکار بردن این میکروارگانسیم‌های مفید، مقدار مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها را به‌طور قابل‌توجهی کاهش دهند. باکتری‌ها شایع‌ترین نوع پروبیوتیک‌ها هستند که سویه‌های مختلفی از آن‌ها در آبزی‌پروری مورد بررسی قرار گرفته است (Mohapatra et ai., 2012).

مطالعات بسیاری پیرامون استفاده از زیرگونه‌های لاکتوباسیلوس دلبروکی به‌عنوان یک پروبیوتیک در انسان و سایر موجودات انجام شده است. برای مثال Salinas و همکاران (2008) متوجه شدند که لاکتوباسیلوس دلبروکی زیرگونه لاکتیس (*L. delbrueckii* subsp. lactis) قادر است در روده ماهی آزاد اقیانوس اطلس استقرار یابد و ماهی را در برابر آلودگی تجربی باکتری بیماری‌زای آئروموناس هیدروفیلا (*Aeromonas hydrophyla*) محافظت نماید. همچنین Picchietti و همکاران (2009) نشان دادند که اگر غذاهای زنده (مانند آرتمیا و روتیفر) توسط پروبیوتیک لاکتوباسیلوس دلبروکی غنی‌سازی شوند و سپس جهت تغذیه لارو ماهی سی‌باس اروپایی (*Dicentrarchus labrax*) مورد استفاده قرار گیرند، سیستم ایمنی ماهی تقویت می‌شود.

با توجه به این‌که تاس‌ماهی ایرانی یکی از باارزش‌ترین گونه‌های ایران است، در این تحقیق دو سویه از باکتری لاکتوباسیلوس دلبروکی در مرحله اول از طریق غنی‌سازی ناپلی آرتمیا و در مراحل بعدی از طریق افزودن به جیره غذایی به دستگاه گوارش آن منتقل و پیراسنجه‌های رشد، تغذیه و بقاء مورد بررسی قرار گرفت.

۲. مواد و روش ها

این تحقیق به‌طورکلی در سه مرحله اجرا گردید: در مرحله اول از لاروهای تازه به تغذیه افتاده، در مرحله دوم از ماهیان انگشت‌قد و در مرحله سوم از ماهیان

جوان استفاده گردید. لاروهای واقع در مرحله خواب تاس‌ماهی ایرانی از مرکز تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید مرجانی گرگان به پژوهشکده آرتمیا و آبزی‌پروری دانشگاه ارومیه منتقل شد. پس از سازگاری دمایی، لاروها در یک مخزن هزار لیتری با جریان آب مناسب تا زمان شروع تغذیه فعال نگهداری شدند. زمانی که قسمت اعظم ملانین پروپکا از روده دفع شد، لاروها (طول ۱۹ میلی‌متر و وزن ۳۹ میلی‌گرم) شمارش شده و به تعداد ۳۰۰ عدد در هر مخزن (۱۲ عدد در هر لیتر)، بین ۱۵ مخزن پلی‌اتیلن تیره‌رنگ با گنجایش ۴۵ لیتر و حجم آبگیری ۲۵ لیتر در قالب ۵ تیمار و ۳ تکرار برای هر تیمار تقسیم گردید. هرکدام از این مخزن‌ها دارای ورودی و خروجی آب مجزا بود. دبی آب ۰/۷ لیتر در دقیقه به همراه هوادهی برای هر یک از آن‌ها برقرار گردید. سیستم جریان آب باز بود، به‌طوری‌که آب از قسمت بالای هر مخزن وارد و از خروجی واقع در دیواره مقابل خارج می‌گردید. دمای آب طی دوره پرورش بین ۱۹-۱۸/۸ درجه سانتی‌گراد بود. در این شرایط ماهیان به مدت یک ماه پرورش داده شدند.

برای تولید ناپلی آرتمیا از زوک‌های ۱۰۰ لیتری استفاده گردید و چهار فاکتور اصلی موردنیاز برای تخم‌گشایی بهینه سیست فراهم گردید. بدین‌صورت که شوری در ۳۵-۳۳ گرم در لیتر و دما در ۲۸ درجه سانتی‌گراد تنظیم گردید. اکسیژن از طریق هوادهی و نور به‌وسیله لامپ‌های مهتابی نصب‌شده در بالای زوک‌ها تأمین گردید. پس از آماده‌سازی آب، مقدار ۲۰۰ گرم سیست بعد از مراحل شستشو در هر زوک قرار داده شد و ۲۴ ساعت بعد، ناپلی‌های هچ شده با استفاده از خصوصیت فتوتاکسی (نورگرایی) مثبت آن‌ها از پوسته سیست و سیست‌های هچ نشده جداسازی شدند (Sorgeloos *et al.*, 1986) و ناپلی‌ها پس از شمارش (به‌صورت غنی‌سازی شده و یا غنی‌سازی نشده) برای تغذیه ماهیان تحت آزمایش مورداستفاده قرار گرفته‌اند.

برای غنی‌سازی آرتمیا با پروبیوتیک لاکتوباسیلوس دلبروکی سویه اروپا (*L. delbrueckii* subsp. bulgaricus CECT 4005T) و سویه ایران (استخراج و خالص‌سازی شده از روده ماهی کپور معمولی در پژوهشکده آرتمیا و آبزی‌پروری دانشگاه ارومیه) از ظرف‌های شیشه‌ای ۸ لیتری مخروطی شکل استفاده گردید. این ظروف را در داخل آکواریوم پر از آب قرار داده و دمای آب به‌وسیله بخاری آبی در ۲۷ درجه سانتی‌گراد تنظیم گردید. شوری آب داخل ظروف مخروطی ۳۵ گرم در لیتر بود و در هر زوک به‌وسیله شلنگ آکواریوم به‌آرامی هوادهی گردید. ناپلی‌های آرتمیا به تعداد ۲۰۰ هزار عدد در هر لیتر قرار داده شدند (Agh and Sorgeloos, 2005) و برای فراهم کردن غلظت باکتری ۲×۱۰^{۸} CFU (Jamali *et al.* 2014) مقدار ۵۳۳ میلی‌لیتر سوسپانسیون باکتری (تهیه‌شده بر اساس مک فارلند شماره ۱۰) به آن اضافه گردید، ۱۶ ساعت بعد از شروع غنی‌سازی، آرتمیاها برای تغذیه ماهیان مورد استفاده قرار گرفتند.

یک روز بعد از توزیع لاروها بین ۱۵ مخزن پرورشی، با تیمارهای مشروح زیر در قالب پنج تیمار و سه تکرار برای هر تیمار به مدت ۱۵ روز تغذیه شدند:

- تیمار ۱: آرتمیای غنی‌سازی شده با لاکتوباسیلوس دلبروکی سویه اروپا
- تیمار ۲: آرتمیای غنی‌سازی شده با لاکتوباسیلوس دلبروکی سویه ایران
- تیمار ۳: آرتمیای غنی‌سازی نشده
- تیمار ۴: ۵۰ درصد آرتمیای غنی‌سازی نشده و ۵۰ درصد غذای کنسانتره
- تیمار ۵: غذای کنسانتره

نرخ غذادهی برای روزهای اول تا هفتم ۳۰ درصد، هشتم تا دهم ۲۵ درصد و یازدهم تا پانزدهم ۲۰ درصد وزن بدن در روز بود و غذادهی تا روز پانزدهم ۶ بار در شبانه‌روز (ساعات ۸، ۱۰/۳۰، ۱۳، ۱۵/۳۰، ۱۸ و ۲۰/۳۰) بود و برای این‌که ناپلی از دسترس ماهیان خارج نشوند و فرصت خوردن داشته باشند در

هر بار غذادهی، حدود نیم ساعت آب و هوادهی قطع گردید. در روز شانزدهم غنی‌سازی خاتمه یافت و تمامی ماهیان با غذای ترکیبی آرتمیا و کنسانتره تغذیه شدند و در عرض یک هفته تغییر غذای زنده به کنسانتره انجام گردید. بدین ترتیب که روزانه حدود ۱۵ درصد غذای کنسانتره افزایش و به همان اندازه غذای زنده کاهش یافت. در این مدت نرخ غذادهی ۱۰ درصد و دفعات غذادهی پنج بار در شبانه‌روز بود. از روز بیست و دوم تا سیم نرخ غذادهی به ۶ درصد کاهش یافت (داده‌های چاپ‌نشده تحقیق ایرانی و آق).

برای اجرای مرحله دوم از بچه‌ماهیان انگشت قد هفتادروزه (میانگین وزن حدود ۱۰ گرم) و در مرحله سوم از ماهیان جوان (میانگین وزن حدود ۱۴۴ گرم) تاس‌ماهی ایرانی استفاده گردید. تراکم ذخیره‌سازی در مرحله اول ۲۰ قطعه و در مرحله سوم ۱۵ قطعه در هر مخزن پلی‌اتیلن (۰/۲۵ * ۰/۴۵ * ۰/۹۰ متر) با حجم آبگیری ۸۰ لیتر بود. دبی آب طی دوره پرورش بین ۳-۱ لیتر در دقیقه و دمای آب ۲۱-۱۹ درجه سانتی‌گراد بود.

در مرحله دوم از غذای تجاری FFT و در مرحله سوم از غذای GFT_2 قزل‌آلای رنگین‌کمان ساخت شرکت رشد دانه استفاده گردید (جدول ۱).

جدول ۱. ترکیب شیمیایی (٪) خوراک استفاده‌شده در مرحله دو و سوم تحقیق

نوع خوراک	پروتئین خام	چربی	فیبر	رطوبت
FFT	۴۴	۱۳-۱۲	۲/۵	۱۰
GFT_2	۳۹	۱۴	۳	۱۰

برای اضافه کردن پروبیوتیک، غذا را الک کرده و به‌صورت یک لایه نازک بر روی توری قرار داده شد. به ازای هر گرم غذا یک میلی‌لیتر پروبیوتیک (حاوی ۲×۱۰^{۸} سلول باکتری) بر روی غذا اسپری گردید (Chang and Liu, 2002). در حین اسپری کردن، غذاها آن‌قدر جابجا گردید تا تمام سطح آن‌ها به‌طور کامل با محلول پروبیوتیک آغشته شود. سپس حدود ۱۴ ساعت در دمای اتاق گذاشته و بعد از خشک شدن در داخل یخچال قرار داده شد. نرخ غذادهی ماهیان طی مرحله دوم ۳٪ و طی مرحله سوم ۲٪ وزن بدن در روز و دفعات غذادهی ۴ بار در شبانه‌روز بود. در این شرایط ماهیان در مرحله دوم به مدت یک ماه و در مرحله سوم به مدت دو ماه با تیمارهای مشروح زیر در قالب سه تیمار و سه تکرار برای هر تیمار تغذیه شدند.

- تیمار ۱: غذای کنسانتره دارای باکتری لاکتوباسیلوس دلبروکی سویه اروپا
- تیمار ۲: غذای کنسانتره دارای باکتری لاکتوباسیلوس دلبروکی سویه ایران
- شاهد: غذای کنسانتره بدون پروبیوتیک

در هر مرحله پیراسنجه‌های رشد، تغذیه (طول کل، وزن کل، افزایش وزن، رشد ویژه، فاکتور وضعیت و ضریب تبدیل غذایی) و بقاء اندازه‌گیری شد. مقادیر رشد ویژه (SGR)، ضریب تبدیل غذایی (FCR) و فاکتور وضعیت (CF) به ترتیب با فرمول‌های $SGR = \frac{(\ln Wf - \ln Wi) * 100}{t}$، $FCR = \frac{F}{(Wf - Wi)}$ و $CF = \frac{W * 100}{L3}$ محاسبه گردید.

برای ساماندهی داده‌ها از برنامه Excel 2016 و برای بررسی‌های آماری از برنامه SPSS 22 استفاده گردید. نوع توزیع داده‌ها با آزمون شاپیرو-ویلک و همگنی واریانس‌ها با آزمون لون بررسی گردید. برای مقایسه میانگین‌ها، آنالیز واریانس یک‌طرفه و در صورت وجود اختلاف معنی‌دار، برای تمایز آن‌ها، آزمون تعقیبی دانکن مورداستفاده قرار گرفت.

۳. نتایج

در پایان روز پانزدهم (پایان دوره تغذیه به‌وسیله ناپلی غنی‌سازی شده با پروربیوتیک) بیومتری ماهیان نشان داد که تمامی تیمارها ازنظر طول کل به‌طور معنی‌داری بزرگ‌تر از تیمار ۵ بودند و تیمار ۳ با طول کل ۴۱/۶۳ میلی‌متر نسبت به سایر تیمارها به‌طور معنی‌داری بزرگ‌تر بود ($p<۰/۰۵$). بین تیمارهای ۱، ۲ و ۴ اختلاف آماری وجود نداشت. بیش‌ترین مقدار وزن کل (۳۸۳/۴۷ میلی‌گرم) مربوط به بچه ماهیان تیمار ۳ بود که نسبت به سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری نشان داد. طی پانزده روز پرورش، ماهیان تیمار ۵ از ۳۹ میلی‌گرم به ۱۰۴/۹ میلی‌گرم رسیدند که از سایر تیمارها به‌طور معنی‌داری کوچک‌تر بودند. بین تیمارهای ۱، ۲ و ۴ اختلاف آماری وجود نداشت ($p>۰/۰۵$). مقادیر افزایش وزن در تیمارهای مختلف بین ۶۵/۹ و ۳۴۴/۴۷ میلی‌گرم بود که کم‌ترین مقدار مربوط به تیمار ۵ و بیش‌ترین مقدار مربوط به تیمار ۳ بود (جدول ۲).

جدول ۲. مقادیر طول کل (میلی‌متر)، وزن کل (میلی‌گرم)، افزایش وزن (میلی‌گرم)، رشد ویژه (درصد در روز)، فاکتور وضعیت، ضریب تبدیل غذایی (FCR) و بقاء (درصد) تاس‌ماهی ایرانی در پایان روز پانزدهم بعد از شروع تغذیه *

تیمار	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ۴	تیمار ۵
طول کل	۳۴/۶۳±۰/۹۳^{b}	۳۶/۴۷±۲/۵^{b}	۴۱/۶۳±۰/۷۲^{c}	۳۷/۲۳±۱/۶^{b}	۲۷/۳±۱/۷۱^{a}
وزن کل	۲۱۹/۲۷±۲۵/۴۳^{b}	۲۴۹/۳۰±۴۲/۹۶^{b}	۳۸۳/۴۷±۶/۲۱^{c}	۲۷۵/۹۷±۴۱/۰۷^{b}	۱۰۴/۹۰±۱۶/۴۶^{a}
افزایش وزن	۱۸۰/۲۷±۲۵/۴۳^{b}	۲۱۰/۳۰±۴۲/۹۶^{b}	۳۴۴/۴۷±۶/۲۱^{c}	۲۳۶/۹۷±۴۱/۰۷^{b}	۶۵/۹۰±۱۶/۴۶^{a}
رشد ویژه	۱۱/۴۸±۰/۷۵^{b}	۱۲/۳۰±۱/۱۷^{b}	۱۵/۲۴±۰/۱۱^{c}	۱۲/۹۹±۰/۹۹^{b}	۶/۵۰±۱/۱۰^{a}
فاکتور وضعیت	۰/۵۳±۰/۰۲^{a}	۰/۵۱±۰/۰۲^{a}	۰/۵۳±۰/۰۲^{a}	۰/۵۳±۰/۰۱^{a}	۰/۵۱±۰/۰۱^{a}
FCR	۱/۷۰±۰/۲۲^{a}	۱/۴۸±۰/۳۱^{a}	۱/۰۹±۰/۰۲^{a}	۱/۲۹±۰/۲۲^{a}	۳/۲±۰/۸۹^{b}
بقاء	۹۴/۲۰±۲/۸۲^{a}	۹۷/۶۷±۰/۳۵^{a}	۹۵/۲۳±۳/۷۲^{a}	۹۵/۳۳±۱/۸۸^{a}	۲۶/۵۳±۹/۱۳^{b}

- در هر ردیف حروف مشابه نشانه عدم وجود اختلاف معنی‌دار و حروف مختلف نشانه وجود اختلاف معنی‌دار است ($p<۰/۰۵$).

در تمامی تیمارها به غیر از تیمار ۵ مقادیر رشد ویژه نسبتاً بالا بود و بیش‌ترین مقدار آن (۱۵/۲۴ درصد در روز) مربوط به تیمار ۳ بود که نسبت به سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری داشت ($p<۰/۰۵$). رشد ویژه در تیمارهای ۱، ۲ و ۴ بین ۱۱/۴۸ تا ۱۲/۹۹ درصد در روز بود و اختلاف آماری میان آن‌ها وجود نداشت. فاکتور وضعیت در تیمارهای مختلف بین ۰/۵۱ تا ۰/۵۳ متغیر بود و میان هیچ‌کدام از تیمارها اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید. بیش‌ترین مقدار ضریب تبدیل غذایی (۳/۲) در تیمار ۵ مشاهده گردید که مقدار آن به‌طور معنی‌داری از سایر تیمارها بیش‌تر بود (جدول ۲). کم‌ترین مقدار ضریب تبدیل غذایی (۱/۰۹) مربوط به تیمار ۳ بود و بین تیمارهای ۱ تا ۴ اختلاف آماری وجود نداشت ($p>۰/۰۵$). در تمامی تیمارها به غیر از تیمار ۵، درصد بقاء بالای ۹۰ درصد بود. درصد بقاء در تیمار ۵ (۲۶/۵۳ درصد) به‌طور معنی‌داری کم‌تر از تیمارهای دیگر بود ($p<۰/۰۵$) و بین سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید. در پایان روز سی‌ام بیش‌ترین مقدار طول کل (۶۹/۴ میلی‌متر) در بچه ماهیان تیمار ۴ مشاهده گردید، به‌طوری‌که نسبت به سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری داشت. کم‌ترین مقدار آن (۵۱/۲ میلی‌متر) مربوط به تیمار ۱ بود که در مقایسه با تیمارهای دیگر به‌طور معنی‌داری کم‌تر بود ($p<۰/۰۵$). ازنظر وزن کل، بیش‌ترین مقدار (۱۹۰۲/۹ میلی‌گرم) و کم‌ترین مقدار (۷۶۳/۷ میلی‌گرم) به ترتیب در تیمارهای ۴ و ۱

مشاهده گردید (جدول ۳) که هر دو گروه نسبت به سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری نشان دادند (p<۰/۰۵). افزایش وزن بچه ماهیان تیمارهای مختلف بین ۱۶۲۶/۹ تا ۵۴۴/۵ میلی‌گرم بود که بیش‌ترین مقدار آن مربوط به تیمار ۴ بود. برخلاف دوره قبل که تیمار ۳ بیش‌ترین مقدار رشد ویژه را داشت، در این دوره کم‌ترین مقدار رشد ویژه (۶/۸۶) در این تیمار مشاهده گردید که نسبت به تیمارهای ۲ و ۴ اختلاف معنی‌داری داشت. رشد ویژه تیمار ۴ (۱۲/۹۱) نسبت به سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری نشان داد (p<۰/۰۵).

فاکتور وضعیت در این مرحله نیز در تمامی تیمارها پایین بود (۰/۵۷ - ۰/۴۸). فاکتور وضعیت تیمار ۳ به‌طور معنی‌داری کم‌تر از سایر تیمارها بود ولی بین تیمارهای دیگر اختلاف آماری وجود نداشت (p>۰/۰۵). ضریب تبدیل غذایی در تمامی تیمارها به‌جز تیمار ۳ کم‌تر از ۱ بود. کم‌ترین مقدار آن (۰/۴۳) مربوط به تیمار ۴ و بیش‌ترین مقدار آن (۱/۱۷) مربوط به تیمار ۳ بود. درصد بازماندگی در تمامی تیمارها نسبت به مرحله قبل پایین‌تر بود و مقادیر آن در تیمارهای مختلف بین ۸۱/۶۷ - ۷۶/۴۳ درصد متغیر بود (جدول ۳) و بین هیچ‌کدام از تیمارها اختلاف آماری مشاهده نگردید (p>۰/۰۵).

جدول ۳. مقادیر طول کل (میلی‌متر)، وزن کل (میلی‌گرم)، افزایش وزن (میلی‌گرم)، رشد ویژه (درصد در روز)، فاکتور وضعیت، ضریب تبدیل غذایی (FCR) و درصد بقاء تاس‌ماهی ایرانی در پایان روز سی‌ام بعد از شروع تغذیه *

تیمار	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ۴
طول کل	۵۱/۲۰±۱/۴۰^{a}	۵۸/۵۳±۲/۳۳^{b}	۶۰/۶۰±۲/۰۹^{b}	۶۹/۴۰±۱/۷۱^{c}
وزن کل	۷۶۳/۷±۶۱/۵^{a}	۱۱۱۶/۶±۱۳۹/۵^{b}	۱۰۷۹/۳±۱۲۹/۹^{b}	۱۹۰۲/۹±۱۳۴/۵^{c}
افزایش وزن	۵۴۴/۵±۵۵/۵^{a}	۸۶۷/۳±۱۵۴/۶^{b}	۶۹۵/۸±۱۲۳/۷^{ab}	۱۶۲۶/۹±۱۱۹/۷^{c}
رشد ویژه	۸/۳۳±۰/۷۲^{ab}	۱۰/۰۳±۱/۵۴^{b}	۶/۸۶±۰/۷۳^{a}	۱۲/۹۱±۰/۸۹^{c}
فاکتور وضعیت	۰/۵۷±۰/۰۳^{b}	۰/۵۶±۰/۰۶^{b}	۰/۴۸±۰/۰۱^{a}	۰/۵۷±۰/۰۱^{b}
FCR	۰/۸۴±۰/۰۹^{b}	۰/۶۶±۰/۱۲^{ab}	۱/۱۷±۰/۲۳^{c}	۰/۴۳±۰/۰۳^{a}
درصد بقاء	۷۶/۴۳±۲/۸۹^{a}	۷۹/۳۳±۵/۵۲^{a}	۸۱/۶۷±۸/۳۹^{a}	۷۸/۳۳±۴/۸۱^{a}

- در هر ردیف حروف مشابه نشانه عدم وجود اختلاف معنی‌دار و حروف مختلف نشانه وجود اختلاف معنی‌دار است (p<۰/۰۵).

در پایان مرحله دوم تحقیق، طول کل هر سه گروه تقریباً یکسان بود. بیش‌ترین مقدار وزن (۳۴/۴۸ گرم) مربوط به گروه شاهد بود ولی نسبت به گروهای دیگر اختلاف معنی‌داری نداشت (p<۰/۰۵). مقادیر رشد ویژه در هر سه گروه نزدیک به ۳ بود. مقادیر فاکتور وضعیت پایین و بین ۰/۳۳ تا ۰/۳۷ متغیر بود.

کم‌ترین مقدار ضریب تبدیل غذایی (۰/۹۱) در ماهیان تیمار ۲ مشاهده گردید ولی هیچ‌کدام از تیمارها اختلاف آماری وجود نداشت (p>۰/۰۵). درصد تلفات در تیمارهای ۱، ۲ و شاهد به ترتیب ۵، ۳/۳۳ و ۸/۳۳ درصد بود (جدول ۴) و هیچ‌کدام اختلاف معنی‌داری باهم نداشتند (p>۰/۰۵).

جدول ۴. مقادیر طول کل (سانتی‌متر)، وزن کل (گرم)، افزایش وزن (گرم)، رشد ویژه (درصد در روز)، فاکتور وضعیت، ضریب تبدیل غذایی (FCR) و درصد تلفات تاس‌ماهی ایرانی در پایان مرحله دوم تحقیق *

تیمار	تیمار ۱	تیمار ۲	شاهد
طول کل	۲۱/۵۲±۲/۰۱^{a}	۲۱/۱۵±۱/۰۹^{a}	۲۱/۵۲±۰/۷۲^{a}
وزن کل	۳۲/۷۹±۵/۵۴^{a}	۳۳/۵۳±۴/۷۰^{a}	۳۴/۴۸±۲/۹۶^{a}
افزایش وزن	۲۰/۸۸±۲/۶۴^{a}	۲۱/۴۱±۲/۷۰^{a}	۲۲/۰۴±۰/۶۱^{a}
رشد ویژه	۲/۹۳±۰/۲۳^{a}	۲/۹۲±۰/۱۱^{a}	۲/۹۷±۰/۵۱^{a}
فاکتور وضعیت	۰/۳۳±۰/۰۴^{a}	۰/۳۷±۰/۰۱^{a}	۰/۳۴±۰/۰۱^{a}
FCR	۰/۹۳±۰/۰۶^{a}	۰/۹۱±۰/۰۱^{a}	۰/۹۴±۰/۱۲^{a}
درصد تلفات	۵/۰±۵/۰^{a}	۳/۳۳±۲/۸۹^{a}	۸/۳۳±۲/۸۹^{a}

- در هر ردیف حروف مشابه نشانه عدم وجود اختلاف معنی‌دار و حروف مختلف نشانه وجود اختلاف معنی‌دار است ($p<0/05$).

در مرحله سوم تحقیق بیش‌تر شاخص‌های رشد و فاکتورهای تغذیه‌ای تاس‌ماهی‌هایی که از جیره حاوی پروبیوتیک تغذیه کرده بودند تحت تأثیر قرار گرفت. مقادیر طول کل ماهیان تیمارهای مختلف (۳۹/۱۷ تا ۴۰/۳۷ سانتی‌متر) اختلاف آماری باهم نداشتند ($p>0/05$). وزن ماهیانی که از جیره حاوی پروبیوتیک تغذیه نمودند نسبت به ماهیان گروه شاهد به‌طور معنی‌داری بالاتر بود و بیش‌ترین مقدار آن (۲۴۰ گرم) در ماهیان تیمار ۲ مشاهده گردید. افزایش وزن تیمارهای ۱ و ۲ به ترتیب ۸۹/۳۳ و ۹۵/۶۷ گرم بود که نسبت به گروه شاهد به‌طور معنی‌داری بالاتر بود. مقادیر رشد ویژه در تمامی گروه‌ها نسبتاً پایین بود، با این وجود رشد ویژه تیمارهای ۱ و ۲ (به ترتیب ۰/۸۰ و ۰/۸۵ درصد در روز) به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه شاهد (۰/۶۳ درصد در روز) بیش‌تر بود (جدول ۵). ازنظر تمامی پیراسنجه‌های ذکرشده، تیمارهای ۱ و ۲ اختلاف آماری باهم نداشتند ($p>0/05$).

مقادیر فاکتور وضعیت در این مرحله نیز در تمامی گروه‌ها پایین بود. بالاترین مقدار آن (۰/۳۹) در ماهیان تیمار ۲ مشاهده گردید که نسبت به تیمار ۱ (۰/۳۵) و گروه شاهد (۰/۳۵) اختلاف معنی‌داری نشان داد. مقادیر ضریب تبدیل غذایی در ماهیان تیمارهای ۱ و ۲ (به ترتیب ۱/۴۱ و ۱/۳۰) به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه شاهد (۲/۲۵) پایین‌تر بود، ولی بین تیمارهای ۱ و ۲ اختلاف آماری مشاهده نگردید. طی این مرحله، کم‌ترین مقدار تلفات (۲/۲۳ درصد) در تیمار ۲ وجود داشت و بیش‌ترین مقدار آن (۱۵/۵۷ درصد) در گروه شاهد بود (جدول ۵) که نسبت به تیمارهای ۱ و ۲ اختلاف معنی‌داری نشان داد ($p<0/05$).

۴. بحث و نتیجه‌گیری

ماهی یک از منابع مهم پروتئین حیوانی به حساب می‌آید و تولید آن از طریق آبزی‌پروری به‌شدت در حال افزایش است (FAO, 2016). برای افزایش تولید ماهی در کنار افزایش سطح، تراکم ذخیره‌سازی آن‌ها در استخرهای پرورشی افزایش یافته است و به دنبال آن آبزی‌پروران برای حفظ سلامت آبزیان پرورشی ناگزیر از استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها و افزودنی‌های متعدد دیگر شده‌اند (Mohapatra *et al.*, 2012). چراکه با افزایش تراکم ذخیره‌سازی در واحد سطح و افزایش احتمال شیوع بیماری، تأمین سلامت ماهی یکی از مهم‌ترین چالش‌های پیش روی این صنعت بوده است. این مسئله مخصوصاً در لاروها که سیستم

ایمنی آن‌ها به‌طور کامل توسعه‌نیافته است (Uribe *et al*., 2011) بیش‌تر نمود پیدا می‌کند. به همین دلیل راهکار استفاده از پروبیوتیک‌ها برای حل این مسئله مطرح شده است. اصولاً اثرگذاری پروبیوتیک به عوامل مختلفی از قبیل گونه پروبیوتیک، نحوه تجویز آن، حامل آن، دز و مدت‌زمان بکارگیری از آن بستگی دارد (Mohapatra *et al*., 2012). باوجود این‌که نتایج تحقیقات متعدد نشان از اثرات مثبت انواع پروبیوتیک‌ها در گونه‌های مختلف ماهیان داشته است، اما در مورد استفاده از پروبیوتیک‌ها در زمینه پرورش لارو باید دقت بیش‌تری داشت، به دلیل این‌که لاروها بسیار حساس هستند و سیستم ایمنی آن‌ها به‌طور کامل توسعه پیدا نکرده است (Uribe *et al*., 2011). در تحقیق حاضر استفاده از پروبیوتیک لاکتوباسیلوس بر شاخص‌های رشد، تغذیه و بازمادگی لاروهای تاس‌ماهی ایرانی تأثیر مثبتی نداشته است؛ به‌طوری‌که در پایان روز پانزدهم، مقادیر طول کل، وزن کل، افزایش وزن و رشد ویژه در ماهیان تغذیه‌شده با ناپلی آرتمیای غنی‌سازی نشده (تیمار ۳) به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از سایر تیمارها بود. ازنظر ضریب تبدیل غذایی و درصد بقاء، فقط ماهیان تغذیه‌شده با غذای کنسانتره با سایر تیمار اختلاف معنی‌دار داشتند. تلفات بالای ماهیان تغذیه‌شده با غذای فرموله نشان‌دهنده عدم جذابیت غذای کنسانتره استفاده‌شده در مرحله آغاز تغذیه فعال این گونه بوده است، چراکه بررسی ماهیان تلف شده نشان داد که روده بیش‌تر آن‌ها خالی غذا بوده است. نتایج مشابهی توسط Agh و همکاران (۲۰۱۳) که بچه‌ماهیان فیل‌ماهی و تاس‌ماهی ایرانی را در رژیم‌های غذایی مختلف پرورش دادند گزارش شده است.

جدول ۵. مقادیر طول کل (سانتی‌متر)، وزن کل (گرم)، افزایش وزن (گرم)، رشد ویژه (درصد در روز)، فاکتور وضعیت، ضریب تبدیل غذایی (FCR) و درصد تلفات تاس‌ماهی ایرانی در پایان مرحله سوم تحقیق *

تیمار	تیمار ۱	تیمار ۲	شاهد
طول کل	۴۰/۳۷±۰/۵۰^{a}	۳۹/۴۷±۰/۵۱^{a}	۳۹/۱۷±۰/۸۶^{a}
وزن کل	۲۳۳/۶۷±۱۲/۱۶^{b}	۲۴۰±۳/۵۴^{b}	۲۰۹/۹۷±۱۲/۳۳^{a}
افزایش وزن	۸۹/۳۳±۱۲/۷۳^{b}	۹۵/۶۷±۶/۵۹^{b}	۶۶/۳۰±۱۱/۶۳^{a}
رشد ویژه	۰/۸۰±۰/۱۰^{b}	۰/۸۵±۰/۰۶^{b}	۰/۶۳±۰/۰۹^{a}
فاکتور وضعیت	۰/۳۵±۰/۰۱^{a}	۰/۳۹±۰/۰۱^{b}	۰/۳۵±۰/۰۱^{a}
FCR	۱/۴۱±۰/۱۹^{a}	۱/۳۰±۰/۲۲^{a}	۲/۲۵±۰/۵۷^{b}
درصد تلفات	۴/۴۷±۲/۸۷^{a}	۲/۲۳±۱/۸۷^{a}	۱۵/۵۷±۴/۶۸^{b}

- در هر ردیف حروف مشابه نشانه عدم وجود اختلاف معنی‌دار و حروف مختلف نشانه وجود اختلاف معنی‌دار است ($p<0/05$).

در پایان روز سی‌ام، مقادیر طول کل، وزن کل، افزایش وزن و رشد ویژه در ماهیان تغذیه‌شده با جیره ترکیبی کنسانتره و ناپلی آرتمیای غنی‌سازی نشده (تیمار ۴) به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از سایر تیمارها بود. ضریب تبدیل غذایی در تیمار اشاره‌شده کم‌تر از تیمارهای دیگر بود. ازنظر درصد بقاء در پایان روز سی‌ام بین هیچ‌کدام از تیمارها اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. درصورتی‌که نتایج مطالعه Faramarzi و همکاران (2011) که دافنی را با غلظت‌های مختلف پروبیوتیک باسیلوس در زمان‌های متفاوت غنی‌سازی کرده و آن‌ها را برای تغذیه لاروهای تاس‌ماهی ایرانی بکار برده‌اند، نشان داده است که پارامترهای رشد و تغذیه ماهیان به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمارهای پروبیوتیکی قرارگرفته‌اند. Lashkarbolouki و همکاران (2012) که دافنی ماگنای (*Daphnia magna*) غنی‌سازی شده با مخمر نانوایی

(*Saccharomyces cerevisiae*) را برای تغذیه لارو تاس‌ماهی ایرانی بکار برده‌اند، گزارش کردند که لاروهای تغذیه‌شده با آرتمیای غنی‌شده با پروبیوتیک سرعت رشد و ضریب تبدیل غذایی بهتری در مقایسه با شاهد داشته‌اند. همچنین Jafaryan و همکاران (2009) نشان دادند که لارو ماهی فیتوفاگ (*Hypophthalmichthys molitrix*) تغذیه‌شده از آرتمیای ارومیه (*Artemia urmiana*) غنی‌شده با سوسپانسیون مخمر نانوایی و پروبیوتیک‌های باسیلی تأثیر معنی‌داری بر ارتقاء معیارهای رشد این ماهی داشته است. مطالعه دیگر نشان داده است که اگر غذاهای زنده (مانند آرتمیا و روتیفر) توسط پروبیوتیک لاکتوباسیلوس دلبروکی غنی‌سازی شوند و سپس جهت تغذیه لارو ماهی سی‌باس اروپایی (*Dicentrarchus labrax*) مورد استفاده قرار گیرد، سیستم ایمنی ماهی تقویت می‌شود (Picchietti *et al*., 2009).

بنابراین برخلاف نتایج تحقیقات محققین فوق، استفاده از پروبیوتیک لاکتوباسیلوس دلبروکی به‌صورت غنی‌سازی آرتمیا نه‌تنها باعث بهبود در پیراسنجه‌های رشد، تغذیه و بقاء تاس‌ماهی ایرانی نشده، بلکه در مقایسه با ماهیان تغذیه‌شده به‌وسیله ناپلی تازه تفریخ‌شده، منجر به افت رشد شده است. این امر احتمالاً به خاطر ارزش غذایی بالای ناپلی آرتمیای تازه تفریخ‌شده نسبت به آرتمیای یک‌روزه بوده است (Helland *et al*., 2000) که بر اثرات مثبت پروبیوتیک غالب شده است.

در پایان مرحله دوم تحقیق نیز هیچ‌کدام از تیمارهای آزمایشی ازنظر شاخص‌های رشد، تغذیه و بقاء اختلاف معنی‌داری نشان ندادند. این امر احتمالاً به خاطر کوتاه بودن دوره استفاده پروبیوتیک (یک ماه) در این مرحله از زندگی تاس‌ماهی ایرانی بوده است. مشابه این نتایج توسط Gildberg و همکاران (۱۹۹۵) نیز گزارش شده است. این محققین بچه‌ماهیان آزادماهی اقیانوس اطلس (*Salmo salar*) را به مدت پنج هفته با جیره حاوی پروبیوتیک لاکتوباسیلوس (*Lactobacillus plantarum*) به نسبت $۲/۵ \times ۱۰^{۹}$ سلول در هر گرم غذا تغذیه نمودند و دریافتند که این پروبیوتیک بر رشد و مقابله با چلنج باکتریایی با آئروموناس سالمونیسیدا (*A. salmonicida*) تأثیری نداشته است.

در مرحله سوم تحقیق که ماهیان جوان به مدت دو ماه غذای حاوی پروبیوتیک دریافت کردند، مقادیر وزن کل، افزایش وزن و رشد ویژه در ماهیان تغذیه‌شده با هر دو سویه پروبیوتیک به‌طور معنی‌داری بالاتر از گروه شاهد بود. همچنین مقادیر ضریب تبدیل غذایی و درصد تلفات در تیمارهای پروبیوتیکی به‌طور معنی‌داری کم‌تر از گروه شاهد بود. بیش‌تر پروبیوتیک‌ها اثرشان را از طریق کلونی‌سازی در میزبان و ترشح مواد مغذی محرک رشد اعمال می‌نمایند (Bagheri *et al*., 2008). در ماهی *Labeo rohita* که با غذای حاوی پروبیوتیک چندگونه‌ای تغذیه شده بود، کاهش قابل‌توجهی در جمعیت باکتری‌های هتروتروفیک و افزایش بالایی در کلونی سازی میکروب‌های مفید در دستگاه گوارش گردیده که منجر به بهبود پارامترهای رشد و ارتقاء سیستم ایمنی در ماهی فوق‌الذکر شده است (Mohapatra *et al*., 2012). از طرف دیگر باکتری‌های پروبیوتیک می‌توانند طیف وسیعی از آنزیم‌های خارجی را ترشح نمایند (Moriarty, 1998). این آنزیم‌ها می‌توانند در هضم و جذب غذا نقش مهمی ایفا نمایند. همچنین حضور پروبیوتیک‌ها ممکن است باعث تحریک ترشح آنزیم‌های داخلی میزبان گردد (Ziaei- Nejad *et al*., 2006). تحریک سیستم ایمنی یکی از مهم‌ترین و رایج‌ترین فواید پروبیوتیک‌ها به حساب می‌آید. روابط داخلی بین سلول‌های موکوسی اپیتلیال روده، موکوس، تولیدات ضد میکروبی، میکروارگانیسم‌های موجود در روده و سلول‌های ایمنی موکوس و زیر موکوس برای سلامتی ماهی نقش حیاتی دارد (Mohapatra *et al*., 2012). Salaghi و همکاران (2013) گونه‌های دیگر لاکتوباسیلوس و سایر پروبیوتیک‌ها را به جیره غذایی ماهیان جوان

تاس‌ماهی ایرانی اضافه کرده و بعد از ۱۰۵ روز به نتایج مشابه تحقیق حاضر ازنظر بهبود در رشد و تغذیه دست یافتند. Tookmehchi و همکاران (2012) نشان دادند که در ماهیان جوان قزل‌آلای رنگین‌کمان که به مدت چهار هفته با غذای حاوی پروبیوتیک لاکتوباسیلوس (*Lactobacillus rhamnosus*) تغذیه شده‌اند، مقادیر شاخص‌های رشد و تغذیه بهتر از گروه شاهد بوده است. استفاده از پروبیوتیک‌ها در سایر گونه‌ها نیز اثرات مثبتی در پی داشته است. به‌عنوان مثال لاروهای هالیبوت اقیانوس اطلس (*Hippoglossus hippoglossus*) که با یک پروبیوتیک محلی تغذیه شدند افزایش رشد و بقاء داشتند (Bjornsdottir *et al*., 2010). مطالعات متعدد نشان داده‌اند که در آزادماهیان نیز پروبیوتیک‌ها می‌توانند از طریق مکانیسم‌های اشاره‌شده، باعث بهبود شاخص‌های رشد و تغذیه شوند (Taoka *et al*., 2006; Bagheri *et al*., 2008; Wang *et al*., 2008b).

فواید شناخته‌شده پروبیوتیک‌ها در آبزی‌پروری شامل اثرات مستقیم و غیرمستقیم است. اثرات مستقیم که از طریق کلونی‌سازی پروبیوتیک‌ها در داخل روده میزبان حاصل می‌شود، از قبیل افزایش رشد، افزایش ایمنی، کنترل بیماری‌ها و بهبود ضریب تبدیل غذایی می‌باشد. از اثرات غیرمستقیم پروبیوتیک‌ها می‌توان به بهبود کیفیت آب، کاهش تعویض آب و کاهش تجمع مواد رسوبی اشاره کرد. مجموع این اثرات باعث افزایش سوددهی واحد تولیدی می‌گردد. با توجه به نتایج تحقیق حاضر می‌توان نتیجه‌گیری کرد که در مراحل اولیه زندگی تاس‌ماهی ایرانی در صورت استفاده از ناپلی تازه تفریخ‌شده آرتمیا به‌عنوان غذای زنده، به‌نظر می‌رسد که نیازی به استفاده از پروبیوتیک نباشد. در صورتی‌که در ماهیان جوان تاس‌ماهی ایرانی اضافه کردن پروبیوتیک به غذا به مدت دو ماه تأثیر معنی‌داری بر شاخص‌های رشد، تغذیه و بقاء می‌گذارد.

منابع

Agh, N. and Sorgeloos, P. 2005. Handbook of Protocols and Guidelines for Culture and Enrichment of Live Food for Use in Larviculture. 1st Regional Workshop on Techniques for Enrichment of Live Foof for Use in Larviculture. 7-11 March 2005, Urmia University, Urmia, Iran.

Agh, N., Noori, F., Irani, A., Van Stappen, G. and Sorgeloos, P. 2013. Fine tuning of feeding practices for hatchery produced Persian sturgeon, *Acipenser persicus* and Beluga sturgeon, *Huso huso*. Aquqculture Research 44(3): 335-344.

Bagheri, T., Hedayati, S.A., Yavari, V., Alizade, M. and Farzanfar, A. 2008, Growth, survival and gut microbialload of rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) fry givendiet supplemented with probiotic during the two months of first feeding. Turkish Journal of Fisheries and Aquaculture Science 8: 43–48.

Bahmani, M., Yazdani, M.A., Yusefi Jordehi, A., Kazemi, R., Halajian, A., Purdehghani, M., Purali, H. and SeiyedHasani, M. 2015. Propagation, brood stock management and caviar production biotechnics for 8 sturgeon species. Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), 126 p.

Bjornsdottir, R., Karadottir, E.G., Johannsdottir, J., Thorarinsdottir, E.E., Smaradottir, H., Sigurgisladottir, S. and Gudmundsdottir, B.K. 2010. Selection of bacteria and the effects of bacterial treatment of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) eggs and larvae. Aquaculture 302: 219–227.

Chang, C.I. 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.

FAO, 2016. The state of world fisheries and aquaculture. Contributing to food security and nutrition for all, Rome, 200 p.

Faramarzi, M., Jafaryan, H., Patimar, R., Iranshahi, F., Lashkarbolouki, M., Farahi, A., Kiaalvandi, S., Ghamsary, M. and Makhtoumi, N.M. 2011. The Effects of Different Concentrations of Probiotic *Bacillus* sp. And Different Bioencapsulation Times on Growth Performance and Survival Rate of Persian Sturgeon (*Acipencer persicus*) Larvae. World

bass (*Lates calcarifer*, Bloch 1790). Marine Science and Technology 14(2): 1-14.
Paricheh, N., Jafaryan, H., Harsij, M., Ahmadi, A.R. and Sahandi, J., 2017. Effects of Bacillus probiotic enzyme extract on growth and carcass biochemical composition of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) larvae. Marine Science and Technology 15(3): 1-10.
Picchietti, S., Fausto, A.M., Randelli, E., Carnevali, O., Taddei, A.R., Buonocore, F., Scapigliati, G. and Abelli, L. 2009. Early treatment with *Lactobacillus delbrueckii* strain induces an increase in intestinal T-cells and granulocytes and modulates immune-related genes of larval *Dicentrarchus labrax* (L.). Fish and Shellfish Immunology 26: 368–376.
Sakai, M. 1999, Current research status of fish immuno stimulants. Aquaculture 172: 63–92.
Salaghi, Z., Imanpur, M. and Taghizadeh, V. 2013. Effect of Different Levels of Probiotic Primalac on Growth Performance and Survival Rate of Persian Sturgeon (*Acipenser persicus*). Global Veterinaria 11 (2): 238-242.
Salinas, I., Abelli, L., Bertoni, F., Picchietti, S., Roque, A.;Furones, D., Cuesta, A., Meseguer, J. and Esteban, M.A. 2008, Monospecies and multispecies probiotic formulations produce different systemic and local immuno stimulatory effects in the gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). Fish and Shellfish Immunology 25: 114–123.
Sorgrloos, P., Lavens, P., Leger, W. and Tackaert, D. 1986. Manual for the culture and use of brine shrimp *Artemia* in aquaculture. State university of Ghent. Belgium, 319 p.
Taoka, Y., Maeda, H., Jo, J.Y., Jeon, M.J., Bai, S.C., Lee, W.J., Yuge, K. and Koshio, S. 2006. Growth, stress tolerance and non-specific immune response of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* to probiotics in a closed recirculating system. Fisheries Science 72: 310– 321.
Tookmehchi, A., Shamsi, H., Meshkini, S., Delshad, R. and Ghasemi Moghanjoei, A. 2012. Dietary administration of vitamin C and *Lactobacillus rhamnosus* in combination enhanced the growth and innate immune response of the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Iranian Scientific Fisheries Journal 21 (3): 13-22.
Uribe, C., Folch, H., Enriquez, R. and Moran, G. 2011. Innate and adaptive immunity in teleost fish: a review. Veterinarni Medicina 56 (10): 486–503.
Journal of Fish and Marine Sciences 3 (2): 145-150.
Gildberg, A., Johansen, A. and Boegwald, J. 1995. Growth and survival of Atlantic salmon (*Salmo salar*) fry given diets supplemented with fish protein hydrolysate and lactic acid bacteria during a challenge trial with *Aeromonas salmonicida*. Aquaculture 138: 23–34.
Helland, S., Triantaphyllidis, G.V., Flyn, H.J., Evjen, M.S., Lavens, P. and Sorgeloos, P. 2000. Modulation of the free amino acid pool and protein content in population of the brine shrimp *Artemia* spp. Marine Biology 137: 1005-1016.
Jafaryan, H., Mirbagheryi, V. and Esmaeili, M. 2009. The use of probiotic bacillus spores for Enhancement of growth parameters in silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) larvae via bioencapsulation of *Artemia urmiana*. Larvi 2009. 7-10 September 2009. European aqucultue society, special publication. Ghent University. Belgium. P: 178-180.
Jamali, H., Tafi, A.A., Jafaryan, H. and Patimar, R. 2014. Effect of Enriched *Artemia parthenogenetica* with Probiotic (*Bacillus* spp.) on Growth, Survival, Fecal Production and Nitrogenous Excretion in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Larvae. Journal of Fisheries & Livestock Production 2(1): doi:10.4172/2332-2608.1000111.
Lashkarbolouki, M., Jafaryan, H., Keramat Amirkolaie, A., Farhangi, M. and Adineh, H. 2012. The Effect of Yeast-Enriched (*Saccharomyces cerevisiae*) *Daphnia magna* on Growth and Stress Resistance in Persian Sturgeon (*Acipenser persicus*) Larvae. Journal of Fisheries, Iranian Journal of Natural Resources 64(4): 345-355.
Mohapatra, S., Chakraborty, T., Prusty, A.K., Das, P., Pani Prasad, K. and Mohanta, K.N. 2012. Use of different microbial probiotics in the diet of rohu, *Labeoro hita* fingerlings: effect on growth, nutrient digestibility and retention, digestive enzyme activities and intestinal micro-flora. Aquaculture Nutrition 97: 1–11.
Moriarty, D.J.W. 1998. Control of luminous *Vibrio* species in penaeid aquaculture ponds. Aquaculture 164: 351–358.
Morshedi, V., Nafisi Bahabadi, M., Azodi, M., Modaresi, M. and Cheraghi, S. 2016. Effects of dietary probiotic (*Lactobacillus plantarum*) on body composition, serum biochemical parameters and liver enzymes of Asian sea

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

Wang, Y.B., Li, J.R. and Lin, J. 2008b. Probiotics in aquaculture: challenges and outlook. Aquaculture 281: 1–4.

Ziaei-Nejad, S., Rezaei, M.H., Takami, G.A., 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 (2-4): 516-524.

Survey of *Lactobacillus delbrueckii* effects on Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) in different life stages

Naser Agh[*1], Abdoljabbar Irani[1], Farzane Noori[1], Amir Tookmehchi[2]

1. Department of Biology and Aquaculture, Artemia and Aquaculture Institute, Urmia University, Urmia, Iran
2. Department of Microbiology, faculty of Veterinary medicine, Urmia University, Urmia, Iran

(DOI): 10.22113/jmst.2019.156745.2227

Abstract

In this research we investigated the effects of *Lactobacillus delbrueckii* during three life stages of *Acipenser persicus* (stage 1: from beginning of exogenous feeding, stage 2: fingerlings with initial body weight of 10 g and stage 3: juveniles with initial body weight of 144 g) on growth performance, feeding and survival. In stage 1, Artemia nauplii were enriched with probiotics and used as food for Persian sturgeon larvae for 15 days. Shift from live food to dry feed was programmed in seven days followed by rearing until day 30 with dry feed. In stage 2 (one month) and stage 3 (two months) probiotics were added to dry feed and delivered to fish. At the end of the stage 1, values of total length, total weight, weight gain and specific growth rate (SGR) of fish fed non-enriched *Artemia* nauplii (treatment 3) were significantly more than rest of the treatments. Values of total length, total weight, weight gain and SGR of fish fed co-feeding regime (treatment 4) were significantly higher than rest of the treatments at the end of the stage 1. Growth performance and survival of experimental fish showed no significant differences amongst the treatments in stage 2. Values of total weight, weight gain, SGR and survival of fish fed probiotic supplemented diet were significantly higher than control group in the stage 3. It is advised to feed the juvenile fish for at least two months with probiotic supplemented feed in order to improve the growth performance and survival.

Keywords: probiotic, *lactobacillus delbrueckii*, Persian sturgeon, growth performance

List of tables

Table 1. Composition of diet used in stage 2 and stage 3
Table 2. Total length (mm), total weight (mg), weight gain (mg), SGR (% d $^{-}$), condition factor, FCR and survival rate (%) of Persian sturgeon at fifteen days after beginning of active feeding.
Table 3. Total length (mm), total weight (mg), weight gain (mg), SGR (% d $^{-}$), condition factor, FCR and survival rate (%) of Persian sturgeon at thirty days after beginning of active feeding.
Table 4. Total length (mm), total weight (mg), weight gain (mg), SGR (% d $^{-}$), condition factor, FCR and survival rate (%) of Persian sturgeon at end of stage 2.
Table 5. Total length (mm), total weight (mg), weight gain (mg), SGR (% d $^{-}$), condition factor, FCR and survival rate (%) of Persian sturgeon at end of stage 3.

* Coresponding author, Email: n.agh@urmia.ac.ir