

تأثیر باکتری زیست یار *Bacillus subtilis* مستخرج از روده ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) بر عملکرد رشد و بقاء آن

زهرا کلیائی^۱، علی آبرومند*^۱، سعید ضیایی نژاد^۱

۱- گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی خاتم الانبیاء بهبهان، بهبهان، ایران، صندوق پستی: ۶۳۶۱۶-۴۷۱۸۹

تاریخ دریافت: ۱۶ بهمن ۱۳۹۴

تاریخ پذیرش: ۹ خرداد ۱۳۹۵

چکیده

تأثیر باکتری زیست یار *Bacillus subtilis* جدا شده از روده ماهی کپور معمولی، در دو سطح با غلظت‌های 1×10^3 ، 1×10^6 CFU/ml (سلول در هر میلی‌لیتر) با غذا مخلوط و توسط ماهیان جوان کپور معمولی (میانگین وزنی $54/56 \pm 1$ گرم) تغذیه شدند. آزمایش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی در ۳ تکرار و به مدت ۸ هفته صورت پذیرفت. نرخ تغذیه بر اساس ۲ درصد وزن بدن و ۲ بار در روز انجام شد. تعیین میزان طول و وزن ماهیان هر ۱۴ روز یک بار انجام گرفت. در پایان آزمایش، در گروه ماهیانی که پروبیوتیک دریافت کرده بودند، شاخص‌های رشد و راندمان غذایی آن‌ها مانند افزایش وزن، نرخ رشد ویژه، کارایی پروتئین، ضریب تبدیل غذا سطح بالاتر و مطلوب‌تری را نسبت به گروه ماهیانی که جیره آن‌ها فاقد پروبیوتیک بودند نشان دادند ($P < 0/05$). بهترین میزان شاخص‌های فوق در تیمار دریافت‌کننده 1×10^6 CFU/ml در هر کیلوگرم غذای خشک به دست آمد. تنها در بررسی شاخص احشائی، تفاوت معنی‌داری بین تیمار 1×10^3 CFU/ml در مقایسه با گروه شاهد مشاهده نشد ($P < 0/05$). بالاترین میزان بازماندگی ماهیان جوان در تیمار 1×10^3 CFU/ml در مقایسه با شاهد مشاهده گردید که این اختلاف معنی‌دار بود ($P < 0/05$). نتایج این تحقیق نشان داد اضافه کردن پروبیوتیک *Bacillus subtilis* به جیره ماهیان جوان کپور معمولی به میزان 1×10^6 CFU/ml در هر کیلوگرم جیره اثرات مثبتی بر پارامترهای رشد و شاخص‌های تغذیه‌ای دارد.

کلمات کلیدی: باکتری زیست یار، رشد، *Bacillus subtilis*، کپور معمولی (*Cyprinus carpio*).

مقدمه

افزایش تقاضا و مصرف آبیان موجب گذار سیستم‌های آبی‌پروری از حالت گسترده به سیستم‌های نیمه متراکم و متراکم گردیده است. در این راستا با صنعتی شدن و افزایش تراکم ذخیره‌سازی در مزارع پرورشی، ظهور انواع بیماری‌ها عمده‌ترین چالش پیش روی آبی‌پروری است (Bondad Reantaso et al., 2005).

استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها با هدف کنترل میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا عوارض سویی بر موجودات میکروبی سیستم‌های آبی‌پرور، اثرات آلاینده‌گی بر طبیعت و مقاومت آنتی‌بیوتیک حتی به داروهای آنتی‌بیوتیک عمومی پر مصرف می‌گردد (Resende et al., 2012). همچنین بر باکتری‌های مفید طبیعی نیز تأثیرات منفی بر جای می‌گذارد (He et al., 2010, 2011, 2012). امروزه پروبیوتیک‌ها یا مکمل‌های میکروبی در مقابل آنتی‌بیوتیک‌ها قرار می‌گیرند.

پروبیوتیک‌ها سلول‌های زنده‌اند که دارای تأثیرات مثبت بر سلامت میزبان از طریق متعادل نمودن فلور میکروبی دستگاه گوارش، بهبود مصرف غذا، مشارکت آنزیمی در هضم، بازدارنده میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا، ضد موتاسیون و سرطان‌زایی، ارتقاء شاخص‌های رشد و تحریک سیستم ایمنی می‌باشند (Verschuere et al., 2000). باکتری‌های پروبیوتیک موجود در دستگاه گوارش ماهی همچنین، سبب افزایش ساخت و ترشح آنزیم‌های گوارشی در میزبان می‌شوند که در نهایت منجر به افزایش قابلیت هضم چربی‌ها و پروتئین‌های موجود در جیره غذایی شده و کارایی تغذیه و متعاقب

آن، رشد را در ماهی میزبان به طور قابل توجهی افزایش می‌دهند (Ziaei-nejad et al., 2006).

اغلب پروبیوتیک‌های تجاری مورد استفاده در آبی‌پروری، مستخرج از دستگاه گوارش موجودات خشکی‌زی می‌باشند (Nayak, 2010) بدین ترتیب صنعت آبی‌پروری بدون آگاهی از پیامدهای مضر احتمالی موجب ورود گونه‌های باکتریایی غیر بومی به محیط طبیعی آبیان می‌گردد.

در مدیریت نوین میکروبی، گونه‌های بومی جدا شده از دستگاه گوارش آبیان، نقش بسیار مهمی را در اهداف آبی‌پروری ایفاء نموده است. از آنجا که جنس باسیلوس به عنوان پاتوژن ارگانیسم‌های آبی تا به حال گزارش نشده است (Moriarty et al., 1998)، کاربرد آن به طور وسیعی در صنعت آبی‌پروری پذیرفته شده است (Gullian et al., 2004). در نتایج حاصل از یکی از تحقیقات باسیلوس‌های پروبیوتیکی توانستند از طریق فعالیت‌های متابولیکی خود در دستگاه گوارش لاروهای فیل ماهی موجب بهبود کارایی تغذیه و بازده رشد گردند (جعفریان، ۱۳۸۵). رحمتی اندانی و همکاران (۱۳۹۰) ثابت کردند که رشد و مقاومت ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در برابر بیماری‌های باکتریایی به‌طور معنی‌داری بدنبال تغذیه با پروبیوتیک‌های *L. plantarum* و *L. paracasei* جدا شده از روده ماهی کپور معمولی افزایش می‌یابد.

به علاوه در تحقیق دیگری مشخص گردید که پروبیوتیک‌های تجاری *Bacillus Subtilis* و *B. Licheniformis* قادر به بهبود درصد بقاء، ضریب رشد ویژه و ضریب چاقی و افزایش تعداد باسیلوس‌های دستگاه گوارش در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان

از شروع آزمایش، از استخرهای خاکی به مخازن پرورشی منتقل شدند. آزمایش اصلی در ۹ مخزن فایبرگلاس ۳۰۰ لیتری حاوی ۲۵۰ لیتر آب انجام شد. ماهیان جوان کپور با تراکم ۲۵ عدد به طور تصادفی در مخازن توزیع شدند. این مطالعه در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با ۲ تیمار آزمایشی و یک تیمار شاهد بدون پروبیوتیک (هر تیمار ۳ تکرار) انجام پذیرفت. دمای آب $22/6 \pm 1$ سانتی گراد، pH $7/5 \pm 0/3$ و اکسیژن محلول ۷/۵ میلی گرم در لیتر بود. سایر شرایط مطلوب پرورش از جمله ورود و خروج آب، شستشوی مخازن پلاستیکی (روزانه ۲۰ درصد از حجم آب)، عدم دستکاری و استرس، هوادهی و ... در طی مدت زمان آزمایش به طور یکسان بر روی همه تیمارها اعمال شد. به منظور تغذیه ماهیان از غذای کنسانتره شرکت نقشین برای کلیه تیمارها استفاده گردید که آنالیز اجزای آن در جدول ۱ ارائه شده است.

جدول ۱: آنالیز تقریبی جیره غذایی مورد استفاده	
نوع ترکیب	درصد
رطوبت	$7/41 \pm 0/1$
پروتئین	$36/23 \pm 0/09$
چربی	$17/62 \pm 0/09$
خاکستر	$7/29 \pm 0/07$

در این تحقیق از باکتری پروبیوتیکی *Bacillus subtilis* جداسازی شده از دستگاه گوارش ماهی کپور معمولی و لیوفلیز شده استفاده گردید. باکتری های جدا شده از روده ماهی جوان کپور معمولی (۶۰-۵۰ گرمی) در ابتدا در محیط کشت تریپتیک سوی آگار (TSA) کشت داده شد و سپس از کلونی های کشت داده شده در شرایط استریل، توسط آنس استریل

می باشند (Wang, Bagheri et al., 2008) و همکاران در سال (۲۰۰۸) با کاربرد باکتری های پروبیوتیکی (*Enterococcus faecium*) در ماهی تیلپای نیل شاهد افزایش عملکرد رشد و کارایی بیش تر سیستم ایمنی ماهی تیلپایا شد. Merrifield و همکاران در سال (۲۰۱۰) با کاربرد سه سویه از باکتری های پروبیوتیکی (*Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis* and *Enterococcus faecium*) در ماهی قزل آلا ی رنگین کمان در طی ۱۰ هفته شاهد افزایش کارایی رشد و تغذیه و ارتقاء وضعیت سلامتی ماهی شدند. مدبری و همکاران در سال ۱۳۹۲ بیان نمودند که زیست یار باکتوسل موجب بهبود رشد ماهی قزل آلا ی رنگین کمان می شود. ضیائی نژاد و همکاران نیز در سال ۱۳۹۳ دریافتند که زیست یار لاکتوباسیلوس رشد قزل آلا ی رنگین کمان را افزایش می دهد.

مطالعات زیادی در رابطه با اثر پروبیوتیک ها بر روی ماهیان مختلف صورت گرفته است. بنظر می رسد نکات بسیار زیادی در قابلیت آن ها در افزایش کارایی پرورش ماهیان هنوز وجود داشته باشد که نیازمند انجام تحقیقات مستمر باشد. تحقیق پیش رو با هدف بررسی اثرات سطوح مختلف پروبیوتیک باسیلوس مستخرج از روده ماهی جوان کپور معمولی در جیره غذایی آن ماهی و نقش آن در بهبود شاخص های تغذیه ای و رشد و بقاء پرداخته شده است.

مواد و روش ها

این بررسی به مدت ۸ هفته در سال ۱۳۹۲ در سالن پرورش آبزیان دانشکده منابع طبیعی دانشگاه صنعتی خاتم الانبیاء بهبهان انجام پذیرفت. تعداد ۲۲۵ قطعه ماهی جوان کپور با میانگین وزنی $54/56 \pm 1$ گرم قبل

$$BWI = Wt_2 - Wt_1$$

Wt_1 = گرم وزن اولیه ماهی

Wt_2 = گرم وزن نهایی ماهی

نرخ رشد ویژه (SGR) ^۱ (Abdel-Tawwab *et al.*, 2008)

$$SGR\% = [LnWt_2 - LnWt_1 / t_2 - t_1] \times 100$$

$LnWt_2$ = لگاریتم طبیعی وزن نهایی ماهی (گرم)

$LnWt_1$ = لگاریتم طبیعی وزن اولیه ماهی

$t_2 - t_1$ = طول دوره آزمایش (روز)

افزایش وزن روزانه (DWG) ^۲

(Hung *et al.*, 1989)

$$ADG\% = [Wt_2 - Wt_1 / Wt_1 \times (t_2 - t_1)] \times 100$$

Wt_2 = وزن نهایی ماهی (گرم)

Wt_1 = وزن اولیه ماهی (گرم)

$(t_2 - t_1)$ = زمان پرورش (روز)

نرخ وزن نسبی به دست آمده (RGR) ^۳ (Ghosh *et al.*, 2003)

$$RGR\% = [(W_2 - W_1) / W_1] \times 100$$

W_2 = وزن نهایی ماهی (گرم)

W_1 = وزن اولیه ماهی (گرم)

شاخص کبدی ^۴ (Shapawi *et al.*, 2007)

$$HI = [\text{weight of Hepatosomatic} / \text{total weight of fish (g)}] \times 100$$

weight of Hepatosomatic = وزن کبد ماهی

total weight of fish = وزن کل ماهی

شاخص احشائی ^۱ (Asadi Rad *et al.*, 2013)

برداشته شده و به لوله اپندورف حاوی یک میلی لیتر آب مقطر استریل منتقل گردید. نمونه توسط شیکر به صورت هموزن درآمد و در دستگاه سانتریفیوژ با دور ۵۰۰۰ در دقیقه برای مدت ۱۰ دقیقه، سانتریفیوژ شد و سپس با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۱۰ نانومتر، واحد کلونی های مورد نظر در هر میلی لیتر باکتریایی تهیه شد (اسماعیلی و همکاران، ۱۳۹۰). جهت غذادهی به بچه ماهیان کپور معمولی از غذای کنسانتره ماهی کپور معمولی ۲ درصد وزن بدن و ۲ بار در روز (در ساعات ۸ و ۱۶) استفاده گردید. در این آزمایش، ماهیان جوان کپور معمولی در تیمار ۱ (شاهد) با غذای جدا و بدون باکتری، تیمار ۲ (1×10^3 CFU/ml) و تیمار ۳ (1×10^6 CFU/ml) از غذای مکمل سازی شده با باسیلوس سابیتلیس تغذیه شدند. مکمل سازی با باسیلوس های پروبیوتیکی با ترکیب کردن این باکتری ها با غلظت های CFU/ml 1×10^3 و 1×10^6 در ۱۰۰۰ گرم از غذای ماهیان صورت پذیرفت. جیره های تهیه شده پس از یکنواخت سازی، در انکوباتور با دمای ۴۰ درجه سانتی گراد (Nikoskelainen *et al.*, 2003) به مدت ۱۲ ساعت خشک شد و ذرات غذایی مناسب با اندازه دهان ماهیان جوان تهیه گردید. جیره ماهیان جوان در تیمار شاهد نیز با همین روش ساخته شد ولی به آن ها هیچ گونه باسیلوس پروبیوتیکی اضافه نگردید. زیست سنجی ماهیان هر دو هفته یک بار صورت گرفت و جهت اندازه گیری وزن از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم استفاده شد. اطلاعات پس از هر مرحله بررسی ثبت گردید. معیارهای رشد ماهیان جوان کپور در هر تیمار به شرح زیر تعیین شد.

افزایش وزن بدن (Abdel-Tawwab *et al.*, 2008)

^۱ Specific Growth Rate

^۲ Daily Waight Gain

^۳ Relative Gain Rate

^۴ Hepatosomatic Index

داده‌های حاصل از این تحقیق با استفاده از روش تحلیل واریانس یکطرفه (One-way ANOVA) و در سطح اطمینان ۹۵٪ توسط نرم افزار SPSS نسخه ۲۱ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و نتایج به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار ارائه شدند.

نتایج

نتایج تأثیر مقادیر متفاوت پروبیوتیک *Bacillus subtilis* مستخرج از روده ماهی جوان کپور معمولی بر برخی از معیارهای رشد آن ماهی در جدول ۲ ارائه شده است. اضافه کردن پروبیوتیک *Bacillus subtilis* به جیره ماهیان جوان کپور، افزایش وزن بیش‌تری را نسبت به گروه شاهد نشان دادند ($P < 0.05$) که بیش‌ترین میزان آن در تیمار ۳ و کم‌ترین میزان آن‌ها در تیمار شاهد مشاهده گردید. ضریب رشد ویژه در تیمارهای ۲ و ۳ در مقایسه با تیمار شاهد افزایش معنی‌داری داشتند ($P < 0.05$) که حداکثر این مقدار در تیمار ۳ به‌دست آمد. تمامی تیمارهای آزمایشی افزایش وزن روزانه بالاتری نسبت به گروه شاهد نشان دادند که حداکثر این مقدار در تیمار ۳ به‌دست آمد ($P < 0.05$). شاخص کبدی در تیمار شاهد در مقایسه با تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی‌داری نشان می‌دهد ($P < 0.05$)، در حالی که شاخص احشائی گروه شاهد، در مقایسه با تیمار ۲ اختلاف معنی‌دار مشاهده نگردید ($P > 0.05$). اثر این پروبیوتیک بر درصد بازماندگی در شکل ۱ نشان می‌دهد که تیمارهای آزمایشی درصد بقاء بیش‌تری نسبت به گروه شاهد داشته و تیمار ۲ دارای بالاترین نرخ بازماندگی می‌باشد ($P < 0.05$).

$VI = [\text{weight of viscera (g)} / \text{total weight of fish (g)}] \times 100$.

Weight of viscera = وزن احشاء ماهی

Total weight of fish = وزن کل ماهی

ضریب تبدیل غذایی (FCR)^۲ (Marzouk et al., 2008)

$FCR = \text{g dry feed eaten} / \text{g live weight gain}$

g feed eaten = غذای خورده شده (گرم)

g Live weight gain = وزن به‌دست آمده

کارایی تبدیل غذا (FCE)^۳ (De Silva et al., 1995)

$FCE\% = [\text{g live weight gain} / \text{g Dry feed eaten}] \times 100$

g Live weight gain = وزن به‌دست آمده

g feed eaten = غذای خورده شده (گرم)

نسبت کارایی پروتئین (PER)^۴ (Abdel-Tawwab et al., 2008)

$PER = \text{g live weight gain} / \text{g protein intake}$

g live weight gain = وزن به‌دست آمده (گرم)

g Protein intake = پروتئین خورده شده (گرم)

نسبت کارایی چربی (LER)^۵ (Hevroy et al., 2005)

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

g live weight gain = وزن به‌دست آمده (گرم)

g Lipid intake = چربی خورده شده (گرم)

درصد بازماندگی (SR)^۶ (Mazurkiewicz et al., 2008)

$SR = (N_f / N_0) \times 100$

N_0 = تعداد ماهیان در ابتدای دوره آزمایش

N_f = تعداد ماهیان در انتهای دوره آزمایش

¹ Viscerosomatic index

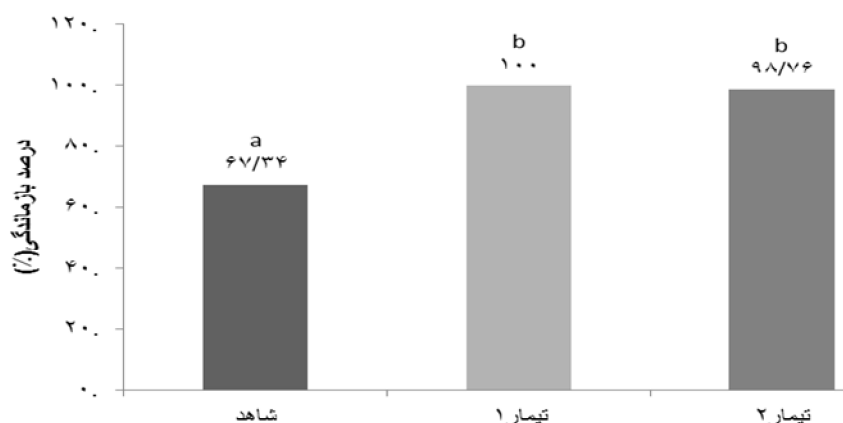
² Feed Conversion Ratio

³ Feed Conversion Efficiency

⁴ Protein Efficiency Ratio

⁵ Lipid Efficiency Ratio

⁶ Survival rate



شکل ۱: درصد بقاء ماهیان جوان کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) تغذیه شده با سطوح مختلف پروبیوتیک (*Bacillus subtilis*)
 تیمار شاهد (۲) پروبیوتیک با غلظت (۱×۱۰^۶ CFU/ml) (۳) پروبیوتیک با غلظت (۱×۱۰^۶ CFU/ml)

جدول ۲: مقایسه شاخص‌های رشد ماهیان جوان کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) تغذیه شده

با سطوح مختلف پروبیوتیک *Bacillus subtilis*

SI	HI	RGR	DWG	SGR	BWI	تیمار
۱۵/۴۳±۱/۷۵ ^a	۲/۱۹±۰/۶۷ ^a	۳۵/۹۶±۱ ^a	۰/۳۷±۰/۰۳ ^a	۰/۲۴±۰/۰۱ ^a	۲۳/۸۹±۶/۵۷ ^a	۱ (شاهد)
۱۲/۵۵±۱/۰۳ ^a	۲/۴۴±۰/۱ ^c	۶۷/۹۶±۷ ^b	۰/۶۵±۰/۰۶ ^b	۰/۳۹±۰/۰۱ ^b	۳۶/۸±۳/۴۴ ^b	۲
۱۵/۹۸±۱/۸ ^b	۲/۳±۱/۲۳ ^b	۷۶/۳۶±۶ ^c	۰/۷۲±۰/۰۴ ^c	۰/۴۳±۰/۰۲ ^c	۳۹/۴۹±۲/۵۸ ^c	۳

میانگین±SD، اعداد در یک ستون با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی دار هستند (P<۰/۰۵).

با توجه به جدول ۳، تمامی تیمارهای آزمایشی بازده مصرف پروتئین و بازده مصرف چربی بالاتری را نسبت به گروه شاهد نشان دادند، که حداکثر این مقادیر در تیمار ۳ مشاهده شد (P<۰/۰۵). حداکثر میزان ضریب تبدیل غذایی در تیمار شاهد و حداقل مقدار متعلق به تیمار ۳ می‌باشد که با تیمار شاهد دارای اختلاف معنی‌داری بودند (P<۰/۰۵). کارایی تبدیل غذای تیمارهای آزمایشی نسبت به شاهد از اختلاف معنی‌داری برخوردار بود (P<۰/۰۵).

جدول ۳: مقایسه برخی شاخص‌های تغذیه‌ای ماهیان جوان کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

تغذیه شده با سطوح مختلف پروبیوتیک *Bacillus subtilis*

FCE	FCR	PER	LER	تیمار
۰/۱۹±۰/۳۴ ^a	۲/۰۳±۰/۰۶ ^c	۰/۶۷±۰/۱۷ ^a	۱/۴۲±۰/۳۸ ^a	۱ (شاهد)
۰/۵۹±۰/۰۳ ^b	۱/۶۷±۰/۰۸ ^b	۱/۶۵±۱/۰۸ ^b	۳/۴۱±۰/۷۱ ^b	۲
۱/۰۲±۰/۰۳ ^c	۱/۱±۰/۰۶ ^a	۲/۲۹±۰/۵۲ ^c	۴/۱±۰/۱ ^c	۳

اعداد (میانگین با ۳ تکرار±SD) در یک ستون با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی دار هستند (P<۰/۰۵)

بحث

در تحقیق حاضر پروبیوتیک *Bacillus subtilis* بومی ماهی کپور معمولی مورد استفاده در جیره غذایی آن ماهی باعث بهبود شاخص‌های رشد، بازماندگی و بازده غذایی گردید. به طوری که کم‌ترین رشد، بازماندگی و بازده غذایی در جیره شاهد مشاهده گردید. با افزایش سطح پروبیوتیک در جیره حاوی 1×10^6 CFU/ml در ۱۰۰۰ گرم غذا میزان شاخص‌های رشد و تغذیه ای افزایش یافت. به نظر می‌رسد که افزایش رشد به دلیل افزایش اشتها و ترشح آنزیم یا بهبود سلامتی ماهی در نتیجه کنترل عفونت و افزایش قابلیت هضم مواد غذایی در این بررسی باشد (Gatesoupe and Ringo, 1998) نتایج مشابهی توسط Swain و همکاران (۱۹۹۶) بر روی کپورهای هندی مشاهده شد. ضریب رشد ویژه و افزایش وزن در تیمارهای دریافت کننده پروبیوتیک در مقایسه با تیمار شاهد افزایش معنی‌داری را نشان داد. از آنجا که باکتری‌ها می‌توانند فعالیت هضم را به واسطه تولید ویتامین‌ها و کوفاکتورها یا از طریق بهبود فعالیت‌های آنزیمی ارتقاء دهند (Gatesoup, 1999) لذا می‌توان وجود مکمل پروبیوتیکی *Bacillus subtilis* در جیره غذایی را عامل این عملکرد مثبت بچه ماهیان دانست. نتایج مشابهی با پروبیوتیک *Streptococcus faecium* برای کپورماهیان توسط Bogut و همکاران (۱۹۹۹) به دست آمد که گروه‌های تغذیه شده با پروبیوتیک بیش‌ترین وزن و ضریب رشد ویژه را دارا بودند. در تحقیق حاضر تیمارهای دریافت کننده پروبیوتیک *Bacillus subtilis* ضریب تبدیل غذایی و بازده مصرف پروتئین بالاتری را نسبت به گروه شاهد نشان دادند. جیره ماهیان مکمل شده با پروبیوتیک، رژیم

غذایی و هضم پروتئین را بهبود می‌بخشد که این امر رشد بیش‌تر و ضریب تبدیل غذایی بهتر را توجیه می‌کند (Wache et al., 2006). با به کارگیری باسیلوس‌های پروبیوتیکی ضریب تبدیل غذایی به طور قابل توجهی کاهش یافت و تیمارهای آزمایشی از افزایش وزن و درصد وزن نسبی بیش‌تری برخوردار بودند. بر اساس نتایج حاصل از این تحقیق درصد بقاء در تیمارهای تغذیه شده با پروبیوتیک بالا بوده که با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری داشتند. در این رابطه روند مشابهی توسط Bogut و همکاران در سال ۱۳۹۹ که اثرات سطوح مختلف مکمل در تغذیه ماهی کپور معمولی مورد مطالعه قرارگرفت که شامل آنتی‌بیوتیک‌ها، مخمر و باکتری‌ها بود که بهترین رشد و زنده مانی ۱۰۰ درصد با باکتری‌ها به عنوان مکمل پروبیوتیک مشاهده گردید که با نتایج تحقیق حاضرهمخوانی دارد. دلایل این افزایش را شاید بتوان به از بین رفتن باکتری‌های مضر به وسیله باکتری‌های مفید (پروبیوتیک) دانست. در مشابته با تحقیق حاضر، Yanbo and Zirong در سال ۲۰۰۶ تعیین نمودند که سلول‌های باکتری فتوسنتز کننده لیوفلیزه شده (انجماد در خلاء) و باسیلوس (*Bacillus sp*) و مخلوط آن‌ها جهت تغذیه لاروهای ماهی کپور معمولی نشان دادند که این پروبیوتیک‌ها تأثیر بسیارخوبی بر معیارهای رشد و افزایش آنزیم‌های گوارشی داشت. 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 ۰/۸ درصد در تیمار مخلوط این دو باکتری نسبت به بچه ماهیان گروه شاهد ارتقاء یافت. در تحقیق حاضر پروبیوتیک‌های باسیلی به خوبی توانستند ضریب تبدیل غذایی را کاهش داده و کارایی تبدیل غذایی را

در حد معنی دار افزایش دهند که در پرورش ماهی کپور معمولی یکی از اهداف مهم تلقی می گردد. در این خصوص باسیلوس های پروبیوتیکی تأثیر بسیار موفقیت آمیزی از خود نشان دادند. بر همین اساس عنوان می گردد که به کارگیری پروبیوتیک ها در جیره ها می تواند از طریق کاهش غذای مورد نیاز برای رشد ماهیان، باعث افزایش کارایی تغذیه شده و کاهش هزینه های پرورشی را در آبریان در پی داشته باشد (Yanbo et al., 2006). در همین راستا تأثیرات مشابهی از باسیلوس های پروبیوتیکی ذکر شده در بالا در لاروهای تاس ماهی ایرانی (جعفریان، ۱۳۸۵) و همچنین لاروهای فیل ماهی در طی تغذیه از ناپلی آرتمیای غنی شده با این باسیلوس ها به دست آمد (Jafaryan et al., 2007). گزارش می شود که باکتری های پروبیوتیکی سبب افزایش قابلیت هضم و کاهش سطوح فاکتورهای ضد تغذیه ای نظیر تانین و اسید فایتیک در میزبان می گردند (Irianto et al., 2002).

از میان باکتری های پروبیوتیک مورد استفاده در پرورش ماهیان، باسیلوس های پروبیوتیک از تأثیر گذاری بیش تری برخوردار بوده اند. در همین راستا باسیلوس سیرکولانس ایزوله شده از روده ماهی رو هو (*Labeo rohita*) در غلظت های مختلف در جیره غذایی این ماهی به کار رفت. نتایج نشان داد که کارآیی پروتئین در حد معنی دار افزایش یافت (Gosh et al., 2003). با توجه به بررسی های صورت گرفته در این تحقیق نشان داده شد که استفاده از مکمل غذایی باسیلوس های پروبیوتیکی به طور معنی داری نسبت به تیمار شاهد باعث افزایش شاخص های رشد و بقا در بچه ماهیان کپور گردید که میزان مطلوب آن

(1×10^6 CFU/ml) بوده که به طور کمی تأثیر مثبت بیش تری بر شاخص های تغذیه ای و رشد نشان داد. با وجود اینکه نرخ بقا بالاتری در تیمار ۲ مشاهده گردید اما به منظور بهبود توأمان راندمان تغذیه و رشد و بقا افزودن (1×10^6 CFU/ml) پروبیوتیک *Bacillus subtilis* در جیره غذایی ماهیان جوان کپور پیشنهاد می گردد.

سپاسگزاری

بدین وسیله از آقای مهندس عبدالله یوسفی کارشناس محترم گروه شیلات دانشکده منابع طبیعی خاتم الانبیاء بهبهان و همه عزیزانی که در انجام این تحقیق اینجانب را یاری نموده اند کمال تشکر و قدردانی را دارم.

منابع

۱. اسماعیلی، م.، جعفریان، ح.، اکرمی، ر.، پورعباسعلی، م.، ۱۳۹۰. کارآیی باسیلوس های استخراج شده از روده فیل ماهی (*Huso huso*) انگشت قد بر مقاومت و فاکتورهای بیوشیمیایی لاروکپور معمولی (*Cyprinus carpio*). مجله پژوهش های نوین دامپزشکی، ۲(۸)، ۲۴-۱۵.
۲. جعفریان، ح.، ۱۳۸۵. تأثیر باکتری های باسیلوسی به عنوان پروبیوتیک بر رشد، بازماندگی و فعالیت آنزیم های گوارشی در لارو تاس ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) در طول دوره پرورش لاروی از طریق غنی سازی با آرتمیا اورمیاننا (*Artemia urmiana*). رساله دکترا، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ۱۰۳ صفحه.
۳. رحمتی اندانی، ح. ر.، توکمه چی، آ.، مشکینی، س.، ابراهیمی، ه.، ۱۳۹۰. افزایش مقاومت ماهی قزل آلا

10. Bondad-Reantaso, M.G., Subasinghe, R.P., Arthur, J.R., Ogawa K., Chinabut S., Adlard R., 2005. Disease and health management in Asian aquaculture. *Vet Parasitology*, 132, 249-72.
11. De Silva, S.S., Anderson, T.A. 1995. *Fish Nutrition in Aquaculture*. Chapman and Hall, London, 319 P.
12. Gatesoupe, F.J., Ringo, E., 1998. Lactic acid bacteria in fish: a review. *Aquaculture*, 160, 177-203.
13. Gatesoupe, F.J. 1999. The use of probiotics in Aquaculture. *Aquaculture*, 180, 147-165.
14. Ghosh, K., Sen, S.K., Ray, A.K., 2003. Supplementation of an isolated fish gut bacterium, *bacillus circulans*, in Formulated diets for Rohu, *Labeo rohita*, Fingerlings. *Bamidgeh*, 55, 13-21.
15. Gullian, M., Thompson, F., Rodriguez, J., 2004. Selection of probiotic bacteria and study of their immunostimulatory effect in *Penaeus vannamei*. *Aquaculture*, 233, 1-14.
16. He, S., Zhou, Z., Liu, Y., Cao, Y., Meng, K., Shi, P., Yao, B., Ringo, E., 2010. Effects of the antibiotic growth promoter's flavomycin and florfenicol on the autochthonous intestinal of hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*). *Archives of Microbiology*, 192, 985-994.
17. He, S., Zhou, Z., Meng, K., Zhao, H., Yao, B., Ringø, E., Yoon, I., 2011. Effects of dietary antibiotic growth promoter and *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product on production, intestinal bacterial community, and nonspecific immunity of hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* female × *Oreochromis aureus* male). *Journal of Animal Science*, 89, 84-92.
18. He, S., Zhou, Z., Liu, Y., Cao, Y., Meng, K., Shi, P., Yao, B., Ringø, E., 2012. Do dietary betaine and the antibiotic florfenicol influence the intestinal autochthonous bacterial community in hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*). *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28, 785-791.
19. Hevroy, E.M., Espe, M., Waagbo, R., Sandness, k., Rund, M. G.-I., Hemre., 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.
20. Hung, S.S.O., Lutes, P.B., Storebakken, T., 1989. Growth and feed efficiency of white sturgeon (*Acipenser transmontanus*) sub yearling at different feeding rates. *Aquaculture*, 8, 147-153.
21. Irianto, A., Austin, B., 2002. Probiotic in aquaculture. *Journal of Fish Diseases*, 25, 1-10.
- رنگین کمان در برابر عفونت با آئروموناس هیدروفیلا و یرسینیا روکری با استفاده از لاکتوباسیلوس های جدا شده از روده ماهی کپور معمولی. مجله دامپزشکی ایران، ۷(۲)، ۲۶-۳۵.
۴. ضیائی نژاد، س.، جعفری، پ.، جواهری بابلی، م.، محترم، م. ۱۳۹۳. تأثیر پری بیوتیک با یونیک یست سل وال بر شاخص های رشد، بقاء و تراکم لاکتوباسیلوس روده ماهیان انگشت قد قزل آلا ی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*). نشریه توسعه آبیزی پروری، ۸(۲): ۴۵-۵۴.
۵. مدبری، ع.، آذری تاکامی، ق.، بهمنش، ش.، خارا، ح. ۱۳۹۲. تأثیر مقادیر مختلف زیست یار حیاتی باکتوسل (Bactocell) در جیره غذایی قزل آلا ی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) بر فاکتورهای رشد و فلورباکتریایی. نشریه توسعه آبیزی پروری، ۷(۴): ۸۷-۷۷.
6. Abdel-Tawwab, M., Abdol-Rahman, M. Esmael, E. M., 2008. Evaluation of commercial live bakers' yeast, *Saccharomyces cerevisiae* as a growth and immunity promoter for Fry Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) challenged in situ with *Aeromonas hydrophila*. *Aquaculture*, 280, 185-189.
7. Asadi Rad, M., Zakeri, M., Yavari, V., Mosavi, S.M., 2013. Effect of Different Levels of Dietary Supplementation of *Saccharomyces cerevisiae* on Growth Performance, Feed Utilization and Body Biochemical Composition of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Fingerlings. *World Journal of Fish and Marine Sciences*, 5, 88-95.
8. Bagheri, T., Hedayati, S.A., Yavari, V., Alizade, M., 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.
9. Bogut, I., Milakovic, Z., Bukvic, Z., Brkic, S., Zimmer, R., 1999. Influence of probiotic *Streptococcus faecium* M74 on growth and content of intestinal microflora in carp (*Cyprinus carpio*). *Czech Journal of Animal Science*, 43, 231-235.

- isolated from an aquaculture system. *Environmental Microbiology* 27(4): 449-455.
30. Shapawi, R., Ng, W.K., Mustafa, S., 2007. Replacement of fish meal with poultry by-product meal in diets formulated for the humpback grouper, *Cromileptes altivelis*. *Aquaculture*, 273, 118-126.
 31. Swain, S.K., Rangacharyulu, P.V., Sarkar, S., Das, K.M., 1996. Effect of a probiotic supplementation on growth, nutrient utilization and carcass composition in mrigal fry. *Aquaculture*, 4, 29-35.
 32. Verschuere, L., Rombaut, G. Sorgeloos, P., Verstraete, W., 2000. Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture. *Microbiol Mol Biology Review*, 64, 655-71.
 33. Waché, Y., Auffray, F., Gatesoupe, F.J., Zambonino, J., Gayet, V., Quentel, C., 2006. Cross effects of the strain of dietary *Saccharomyces cerevisiae* anrearing conditions on the onset of intestinal microbiota and digestive enzymes in Rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*), fry. *Aquaculture*, 258, 470-478.
 34. Wang, Y.B., Tian, Z.Q., Yao, J.T, Li, W.F., 2008. Effect of probiotics, *Enteroccus faecium*, on tilapia (*Oreochromis niloticus*) growth performance and immune response. *Aquaculture*, 277, 203-207.
 35. Yanbo, W., Zirong, X., 2006. Effect of probiotic for common carp (*Cyprinus carpio*) based on growth performance and digestive enzymes activities. *Journal of Animal feed science and technology*, 127, 283-292.
 36. Ziaei-Nejad, S., Rezaei M.H., Takami, G.A., Lovett D.L., Mirvaghefi, A-R, 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, 516-24
 22. Jafarian, H., Soltani, M., Abedian, A.M., 2007. 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.
 23. Marzouk, M.S., Moustafa, M.M., Mohamed, M., 2008. The influence of some probiotics on the growth performance and intestinal microbial flora *Oreochromis niloticus*. *International symposium on tilapia in Aquaculture*. Cairo University. Giz, Egypt, pp. 1059-1071.
 24. Mazurkiewicz, J., Przybyl, A., Golski, J., 2008. Evaluation selected feeds differing in dietary lipids levels in fleeding juveniles of Wells catfish (*Silurus glanis*). *Acta Ichthyologica Et Piscatoria*, 38(2): 91-96.
 25. Merrifield, D.L., Bradley, G., Baker, R.T.M., Davies, S.J., 2010. Probiotic applications for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) Effects on growth performance, feed utilization, intestinal microbiota and related health criteria postantibiotic treatment. *Aquaculture Nutrition*, 16, 496-503.
 26. Moriarty, D.J.W., 1998. Control of luminous *Vibrio* species in penaeid aquaculture ponds. *Aquaculture*, 164, 351-358.
 27. Nayak, S., 2010. Probiotics and immunity: a fish perspective. *Fish & Shellfish Immunology*, 29, 2-14.
 28. Nikoskelainen, S., Ouwehand, A.C., Bylund, G., Salminen, S., Lilius, E.M., 2003. Immune enhancement in rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) by potential probiotic bacteria (*Lactobacillus rhamnosus*). *Fish. Shellfish Immunology*, 15, 443-452.
 29. Resende, J., Silva, V., Fontes, C., Souza-Filho, J., Oliveira, T., Coelho, C., Cesar, D., Diniz, C., 2012. Multidrug-resistance and toxic metals tolerance of medically important bacteria