تاثیر استفاده از سطوح مختلف باکتری‌های *Bacillus subtilis* و *Bacillus licheniformis* در جیره غذایی بر شاخص‌های رشد، ترکیب لاشه و بقاء در آرتمیا ارومیانا (*Artemia urmiana*)

حمیدرضا احمدنیای مطلق[۱*]، مهرداد فرهنگی[۲]، غلامرضا رفیعی[۳] و فرزانه نوری[۴]

[۱]گروه شیلات دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران
[۲]گروه شیلات دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران
[۳]گروه شیلات دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران
[۴]پژوهشکده آرتمیا و جانوران آبزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۶/۱ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۰/۱۰/۲۰)

چکیده

این مطالعه به منظور بررسی اثر استفاده از باکتری‌های *Bacillus subtilis* و *Bacillus licheniformis* بر شاخص‌های رشد، ترکیب لاشه و میزان بقاء در آرتمیا ارومیانا (*Artemia urmiana*) انجام شد. در این آزمایش از سه سطح ۱×۱۰۲ (تیمار اول)، ۱×۱۰۴ (تیمار دوم)، ۱×۱۰۶ (تیمار سوم) باکتری (به نسبت مساوی از هر باکتری) به ازاء هر گرم غذا و تیمار شاهد (بدون پروبیوتیک)، در قالب یک طرح کاملاً تصادفی (۴ تیمار و هریک در ۳ تکرار) استفاده به عمل آمد. نتایج حاکی از آن بود که باکتری‌های مورد استفاده به میزان معنی‌داری موجب افزایش وزن خشک و طول کل آرتمیا ارومیانا شدند (P<۰/۰۵). بیشترین میزان تولید زیتوده مربوط به تیمار دوم (۱۴/۹۱ ± ۴۱/۷۲ میلی گرم بر لیتر) بود که اختلاف معنی‌داری را با سایر تیمارها نشان داد (P<۰/۰۵). همچنین میانگین رشد روزانه، افزایش وزن و ضریب رشد ویژه در تیمارهای آزمایشی به طور معنی‌داری بیشتر از تیمار شاهد بود (P<۰/۰۵). شاخص وضعیت در تیمارهای آزمایشی به صورت معنی‌داری کمتر از تیمار شاهد بود (۱۱/۶۸±۰/۵۷) (P<۰/۰۵). تجزیه تقریبی ترکیبات لاشه نیز حاکی از تاثیر معنی دار باکتری‌های مورد استفاده در افزایش درصد ماده خشک و پروتئین خام در آرتمیا ارومیانا بود (P<۰/۰۵). درصد خاکستر و چربی خام تیمارهای آزمایشی تفاوت معنی‌داری را با تیمار شاهد نشان ندادند. پروبیوتیک‌های مورد استفاده در این آزمایش تاثیری بر میزان بقاء آرتمیا ارومیانا در طی دوره پرورش نداشتند. نتایج نشان داد که تیمار دوم و سوم بیشترین تاثیر را در بهبود کلیه شاخص‌های رشد و ترکیب لاشه داشتند، اما با توجه به تولید زیتوده بیشتر در تیمار دوم (۱۴/۹۱ ± ۴۱/۷۲ میلی گرم بر لیتر) در مقایسه با تیمار سوم (۱/۸۰ ± ۲۹/۸۰ میلی‌گرم بر لیتر) و میزان کمتر پروبیوتیک مورد استفاده در تیمار دوم، سطح ۱×۱۰۴ باکتری به ازاء هر گرم غذا جهت پرورش آرتمیا ارومیانا تا مرحله بلوغ پیشنهاد می‌شود.

واژه‌های کلیدی: آرتمیا ارومیانا، پروبیوتیک، *Bacillus subtilis* ، *Bacillus licheniformis*، رشد، ترکیب لاشه، بقاء.

* نویسنده مسئول: تلفن: ۰۹۱۷۷۹۲۳۱۰۱ فاکس: ۰۲۱۷۷۱۹۲۲۶۶
E-mail: Hahmadnia@alumni.ut.ac.ir

مقدمه

آرتمیای دریاچه ارومیه، (*A. uromiana*) یکی از گونه‌های منحصر به فرد در ایران می‌باشد که علیرغم ارزش اقتصادی زیاد این موجود، تاکنون تحقیقات اندکی در ارتباط با بهینه سازی روش‌های پرورش آن صورت گرفته است. ناپلی تازه تفریخ شده آرتمیا به دلیل ارزش غذایی بالا، سهولت دسترسی، تنوع کاربرد در مراحل مختلف پرورش انواع آبزیان و همچنین قابلیت مناسب به عنوان حامل ویتامین‌ها، رنگدانه‌ها، مواد شیمیایی، واکسن‌ها و هورمون‌ها از جایگاه ویژه‌ای در آبزی پروری برخوردار است. به علاوه، به دلیل آسان بودن پرورش در شرایط آزمایشگاهی، آرتمیا موجود آزمایشی مناسبی برای مطالعه روابط متقابل بین میزبان و میکروب‌ها (برای مثال ارزیابی خصوصیات پروبیوتیکی یک باکتری قبل از آزمایش بر روی آبزی هدف) محسوب می‌شود (Marques *et al*., 2005; Marques *et al*., 2006). گروهی از محققین مطالعاتی را در مورد تاثیر باکتری‌های مختلف بر آرتمیا فرانسیسکانا انجام داده اند (Verschuere *et al*., 1999; Orozco-Medina *et al*., 2002; Marques *et al*., 2006). نقش باکتری‌ها در ارتباط با آرتمیا را می‌توان به دو دسته از باکتری‌های بیماری زا و مفید نسبت داد. باکتری‌ها ممکن است مستقیماً به عنوان غذا و منبع اصلی تامین پروتئین و اسیدهای آمینه توسط آرتمیا مصرف و به هضم غذا کمک کنند. نشان داده شده است که درصورت افزودن باکتری‌ها به محیط پرورش، برخی از گونه‌های باکتریایی می‌توانند سرعت رشد و میزان بقاء در آرتمیا را افزایش دهند (Verschuere *et al*., 1999).

پروبیوتیک‌ها به منظور اصلاح، تغییر یا دستکاری جمعیت میکروبی در آب، رسوبات و دستگاه گوارش مورد مطالعه قرار گرفته اند. همچنین عنوان شده است که پروبیوتیک‌ها می توانند موجب کاهش یا حذف برخی عوامل بیماری زا شده و رشد و بقاء گونه‌های هدف را بهبود بخشند (Jory, 1998). این موجودات قادرند از طریق خصوصیات آنتاگونیستی یا جلوگیری از کلنی‌سازی باکتری‌های بیماری‌زا، تحریک سیستم ایمنی طبیعی یا رهاسازی ترکیبات مفید، به موجود میزبان سود برسانند (Olafsen, 2001).

باکتری‌های گروه باسیلوس از جمله متداول ترین پروبیوتیک‌هایی می‌باشند که در پرورش آبزیان مورد استفاده قرار می‌گیرند. این دسته از باکتری‌های گرم مثبت قادر به تولید و ترشح محدوده وسیعی از آنزیم‌های خارج سلولی می باشند (Moriarty, 1998). مخصوصاً باکتری‌های *Bacillus subtilis* و *B. licheniformis* که قادر به هضم میکروبی پروتئین‌ها و کربوهیدرات‌ها می‌باشند (Bagheri *et al*., 2008). از باکتری‌های یاد شده (در قالب محصول تجاری بیوپلوس ۲ب) به صورت موفقیت آمیزی به صورت پروبیوتیک در پرورش ماهی قزل آلای رنگین کمان (Raida *et al.,* 2003; Bagheri *et al.,* 2008, Merrifield *et al.,* 2010)، خوک (Alexopoulos *et al.,* 2004; Link and Kovac, 2006) و جوجه‌های گوشتی (Rahimi and khaksefidi, 2006) استفاده شده است. باکتری‌های ذکر شده می‌توانند با شرکت در فرآیند هضم، کارآیی دستگاه گوارش را بهبود و در نهایت موجب افزایش رشد شوند. ثابت شده است که تیمار ناپلی‌های شاه میگوی آب شیرین (*Macrobrachium rosenbergii*) با باکتری *B. subtilis* موجب افزایش میزان بقاء، رشد و تمایز سریع تر ناپلی‌ها می‌شود (Keysami *et al.,* 2007). استفاده از باکتری *B. subtilis* سبب افزایش بقاء میگوی *Penaeus monodon* در چالش با عامل بیماری زای *Vibrio harveyi* تا ۹۰ درصد گردید (Vaseeharan, 2003). همچنین باکتری‌های *B. subtilis*، *B. licheniformis* و *B. pumilus* استفاده شده در تغذیه ماهی سوف (*Perca fluviatilis*) (Mandiki *et al.,* 2011) و شانک (Avella *et al.,* 2010) موجب تحریک رشد و بهبود میزان بقاء در پرورش ماهیان مورد نظر شدند.

در ارتباط با اثر متقابل بین باکتری‌ها و آرتمیا چند احتمال وجود دارد: مشارکت باکتری‌های پروبیوتیکی در هضم و افزایش بهره‌وری از غذا (Intriago and Jones, 1993; Verschuere *et al*., 1999) و استفاده از زیتوده باکتریایی به عنوان ماده غذایی (Gorospe *et al*., 1996; Verschuere *et al*., 1999). برای پرورش دهندگان آرتمیا بیشتر بحث تاثیر تغذیه‌ای باکتری‌ها در افزایش ارزش غذایی مواد غذایی مورد استفاده مطرح بوده و به جنبه‌های پروبیوتیکی باکتری‌ها کمتر توجه شده است. با توجه به مباحث یاد شده و اهمیت آرتمیا ارومیانا به عنوان یک گونه بومی و استراتژیک، انجام تحقیقات مدون در راستای ارتقاء بیوتکنیک پرورش و افزایش شاخص‌های تولید در آن از اهمیت کاربردی ویژه‌ای برخوردار است.

این مطالعه با هدف بررسی تاثیر استفاده از باکتری باسیلوس *B. subtilis* و *B. licheniformis* بر رشد، ترکیب لاشه و میزان بقاء در آرتمیا ارومیانا از مرحله ناپلی تا بلوغ انجام گرفت.

مواد و روش کار

یکی از انواع پروبیوتیک‌های باکتریایی به ثبت رسیده در کمیسیون اتحادیه اروپا بیوپلوس ۲ب محصول شرکت بیوشم آلمان است. این محصول حاوی دو نوع باکتری باسیلوس *Bacillus subtilis CH201* و *B. licheniformis CH200* است که به نسبت‌های برابر در این ترکیب وجود دارند. ترکیب این پروبیوتیک تجاری حاوی نسبت برابری از اسپورهای فعال باکتری‌های مذکور به میزان حداقل $۳/۲ \times ۱۰^{۹}$ واحد تشکیل دهنده کلنی در هر گرم می‌باشد (SCAN, 2000). بنابراین با توجه به نسبت برابر این دو باسیل، میزان هر یک از باسیل‌ها حداقل $۱/۶ \times ۱۰^{۹}$ واحد تشکیل دهنده کلنی در هر گرم می‌باشد که در این پژوهش به عنوان باکتری‌های هدف مورد استفاده قرار گرفتند.

در این آزمایش از سه سطح ۱×۱۰^{۲} (تیمار اول)، ۱×۱۰^{۴} (تیمار دوم)، ۱×۱۰^{۶} (تیمار سوم) باکتری به ازاء هر گرم غذا و تیمار شاهد (بدون پروبیوتیک)، در قالب یک طرح کاملاً تصادفی (۴ تیمار و هریک در ۳ تکرار) استفاده به عمل آمد. به همین منظور از ۱۲ واحد جداگانه متشکل از ۱۲ عدد مخزن ۶۰ لیتری با حجم آبگیری ۴۰ لیتر و تراکم ۲۰ ناپلی در میلی لیتر طی پانزده روز دوره پرورش استفاده به عمل آمد.

قبل از شروع آزمایش اصلی، یک کشت آزمایشی از پروبیوتیک مورد استفاده جهت کسب اطمینان از زنده و فعال بودن باکتری‌ها و آگاهی از تعداد آن‌ها در هر گرم محصول به عمل آمد که طی آن صحت ادعای تولید کننده به اثبات رسید. همچنین مقداری سیست نیز جهت محاسبه درصد تفریخ و محاسبه میزان دقیق سیست مورد نیاز برای پرورش تفریخ شدند. در ادامه پیش آزمایش تمامی موارد موجود در آزمایش اصلی، از جمله شرایط بهینه پرورش، غذا دهی، نمونه‌برداری و ... در مقیاس کوچک تر انجام شد.

جهت تفریخ سیست‌های آرتمیا ارومیانا، مقدار ۵ گرم سیست به ازاء هر مخزن پرورشی به ظروف مخروطی مخصوص تفریخ معرفی گردید. شرایط آب محیط تفریخ و پرورش شامل دمای آب، اکسیژن محلول، شوری و pH طبق روش استاندارد تنظیم شد (Agh *et al.*, 2007)، (جدول ۱). خصوصیات فیزیکو شیمیایی آب به صورت روزانه بررسی و ثبت گردید.

جدول ۱- شاخص‌های فیزیکو شیمیایی آب محیط (انحراف معیار ± میانگین) تفریخ سیست و پرورش آرتمیا ارومیانا

عامل	دمای آب (درجه سانتی گراد)	اکسیژن محلول (mg/l)	شوری (g/l)	pH
تفریخ	۲۹±۱	۴±۱	۳۵±۲	۸/۳±۰/۵
پرورش	۲۹±۱	۶±۱	۶۰±۲	۸/۳±۰/۵

در پنج روز اول دوره پرورش، تغذیه ناپلی‌ها با استفاده از مخمر نانوایی صورت گرفت (Lavens and Sorgeloos, 1996). از روز ششم از جیره حاوی آرد نخود (۴۴/۳۸ درصد)، کنجاله سویا (۴۴/۳۸ درصد) و آرد سفید گندم (۱۱/۲۴ درصد) تهیه شده از شرکت بهپرور (Afzali, 2008) جهت تغذیه آرتمیا استفاده به عمل آمد. تغییر عادت غذایی از روز ششم به بعد به شکل تدریجی آغاز شد به طوری که هر روز ۲۵ درصد از وزن مخمر با جیره جدید جایگزین، و تا روز نهم پس از تفریخ مخمر تماماً با غذای مخلوط جایگزین گردید. تغذیه به میزان ۳ بار در روز و در فواصل زمانی ۴ ساعته انجام گرفت. تجزیه شیمیایی جیره‌های مورد استفاده (جدول ۲) و آرتمیا ارومیانا طبق روش استاندارد صورت گرفت (Peterson *et al.*, 1999). غذا دهی به این صورت انجام گرفت که ابتدا میزان غذای مورد نیاز در آب (۳۵ گرم در لیتر شوری و دمای ۲۸ درجه سانتیگراد) حل و به آرامی به محیط پرورش آرتمیا افزوده شد (Ahmadnia motlagh *et al.*, 2012).

جدول ۲- تجزیه تقریبی شیمیایی (انحراف معیار ± میانگین) غذای مورد استفاده در پرورش آرتمیا ارومیانا در طول دوره پرورش(بر اساس ماده خشک)

ماده خشک	خاکستر (درصد)	پروتئین خام (درصد)	چربی خام (درصد)
۹۷/۵±۰/۷۷	۵±۰/۳۵	۵۵±۱/۲	۱۲±۰/۹۳

محصول پروبیوتیکی به صورت روزانه با استفاده از یک ترازوی دیجیتالی حساس با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم توزین (در شرایط کاملاً استریل) و در سطوح ذکر شده به صورت کامل با غذای آرتمیا مخلوط و به همراه غذا از روز اول شروع تغذیه خارجی تا روز پانزدهم به مصرف آرتمیا رسید (جدول ۳).

به منظور ارزیابی روند رشد و وزن توده زنده تولید شده، طول کل با استفاده از میکرومتر سنجیده و بر اساس معادله ریاضی زیر، وزن خشک و توده زنده محاسبه گردیدند (Abreu-Grobois *et al*., 1991; Verschuere *et al*., 1997).

$$\text{وزن خشک آرتمیا (میکروگرم)} = ۱۰^{[۲(\text{طول آرتمیا}) \text{ لگاریتم} + (\text{طول آرتمیا}) \text{ لگاریتم} \times ۲/۵۳ -]} \times ۱۰۰۰$$

$$\text{توده زنده آرتمیا (میلی گرم بر لیتر)} = \frac{۱}{۱۰۰} \times \text{وزن خشک آرتمیا} \times \text{تعداد آرتمیا}$$

جدول ۳ - برنامه غذایی و نحوه تغییر عادت غذایی آرتمیا ارومیانا در طول دوره پرورش

روز پرورش	اول	دوم	سوم	چهارم	پنجم	ششم	هفتم	هشتم	نهم	دهم	یازدهم - چهاردهم
میزان غذا (گرم در لیتر)	-	۰/۰۲	۰/۰۳	۰/۰۵	-	۰/۰۵	۰/۰۶	۰/۰۶۲	۰/۰۷	-	۰/۰۷
مخمر	-	۰/۰۲	۰/۰۳	۰/۰۵	-	۰/۰۳۷	۰/۰۳	۰/۰۱۵۵	-	-	-
جیره مخلوط	-	-	-	-	-	۰/۰۱۲۵	۰/۰۳	۰/۰۴۶۵	۰/۰۷	-	۰/۰۷

در پایان دوره پرورش شاخص‌هایی از قبیل میانگین رشد روزانه، افزایش وزن بدن، ضریب رشد ویژه و شاخص وضعیت بر اساس روابط زیر مورد بررسی قرار گرفت (Farhangi and Carter, 2001).

[وزن اولیه / (وزن اولیه – وزن نهایی)] = میانگین رشد روزانه

وزن اولیه – وزن نهایی = افزایش وزن بدن

۱۰۰×(دوره پرورش / [وزن اولیه Ln - وزن نهایی Ln)] = ضریب رشد ویژه

۱۰۰ × [(طول کل)^{۳}/ وزن نهایی] = شاخص وضعیت

نمونه برداری به منظور تعیین ترکیب شیمیایی لاشه آرتمیا ارومیانا در پایان دوره پرورش انجام گردید. نمونه‌ها پس از جمع آوری، با آب شیرین شستشو و اجازه داده شد تا آب سطحی کاملاً برطرف شود. پس از آبگیری نمونه‌ها درون فالکون بسته بندی و تا زمان انجام آزمایشات بعدی درون یخچال ۴°C نگهداری شدند. میزان پروتئین خام و چربی خام نیز به ترتیب با استفاده از روش‌های کلدال و سوکسله تعیین شد (Peterson *et al.*, 1999).

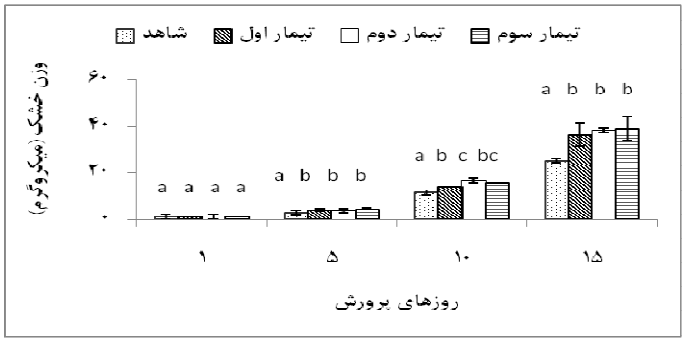
روش نمونه برداری جهت برآورد شاخص میزان بقاء همانند روش نمونه برداری جهت اندازه گیری رشد بود. درصد بقاء از طریق فرمول زیر برآورد شد.

$$\text{درصد بقاء} = \frac{\text{تعداد نهایی آرتمیا}}{\text{تعداد اولیه آرتمیا}} \times ۱۰۰$$

کلیه داده‌ها با استفاده از نرم افزار Excel پردازش گردیدند. مقادیر مربوط به داده‌های درصدی، به Arcsin تبدیل شدند. ابتدا نرمال بودن داده‌ها از طریق آزمون کولموگراف اسمیرنف بررسی و پس از مشخص شدن نرمال بودن داده‌ها از آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) استفاده به عمل آمد. در ادامه آزمون تعیین اختلاف میانگین چند دامنه دانکن در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ مورد استفاده قرار گرفت. آنالیز آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS انجام شد.

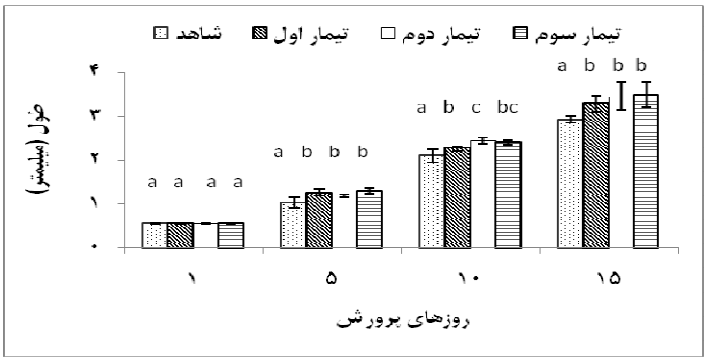
نتایج

نتایج حاصل از تاثیر استفاده از سطوح مختلف باکتری‌های *B. subtilis* و *B. licheniformis* بر وزن خشک آرتمیا ارومیانا طی روزهای پرورش در نمودار ۱ ارائه شده است. در روز اول پرورش، اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای مختلف مشاهده نشد. نتایج نشان داد که در روزهای پنجم، دهم و پانزدهم پرورش اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی و تیمار شاهد وجود داشت ($P < ۰/۰۵$).



نمودار ۱- میانگین (± انحراف معیار) وزن خشک آرتمیا ارومیانا در تیمارهای مختلف طی دوره پرورش (r = ۳)

نتایج حاصل از تاثیر استفاده از پروبیوتیک‌های مورد نظر بر طول آرتمیا ارومیانا طی روزهای پرورش در نمودار ۲ ارائه شده است. در روز اول پرورش اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای مختلف مشاهده نشد. تیمارهای اول، دوم و سوم در روز پنجم، بیشترین میانگین طول را داشتند و اختلاف معنی‌داری را با تیمار شاهد نشان دادند (P < ۰/۰۵). در روز دهم آزمایش نیز، اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی و تیمار شاهد مشاهده شد (P < ۰/۰۵). در روز پانزدهم آزمایش نیز اختلاف معنی‌داری بین کلیه تیمارها و تیمار شاهد مشاهده گردید (P < ۰/۰۵).



نمودار ۲- میانگین (± انحراف معیار) طول آرتمیا ارومیانا در تیمارهای مختلف طی دوره پرورش (r = ۳)

میانگین شاخص‌های رشد شامل میانگین رشد روزانه، افزایش وزن بدن، ضریب رشد ویژه و شاخص وضعیت در جدول ۴ ارائه شده است. میانگین رشد روزانه بین تیمارهای‌های آزمایشی و تیمار شاهد دارای اختلاف معنی‌داری بود (P <۰/۰۵) همچنین در مورد شاخص افزایش وزن بدن اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی و تیمار شاهد وجود داشت (P <۰/۰۵). کمترین میزان افزایش وزن بدن مربوط به تیمار شاهد و بیشترین آن مربوط به تیمار سوم بود (P <۰/۰۵). بر اساس نتایج حاصله ضریب رشد ویژه در تیمارهای مختلف و تیمار شاهد دارای اختلاف معنی‌داری بود (P <۰/۰۵). بیشترین و کمترین شاخص وضعیت به ترتیب مربوط به تیمارهای شاهد و تیمار سوم بود (P <۰/۰۵).

نتایج حاصل از تاثیر استفاده از سطوح مختلف باکتری‌های *B. subtilis* و *B. licheniformis* بر زیتوده آرتمیا ارومیانا طی دوره پرورش در جدول ۵ ارائه شده است. در روز اول پرورش اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای مختلف مشاهده نشد. در روز پنجم، تیمار سوم دارای بیشترین میزان زیتوده بود و اختلاف معنی‌داری را با تیمار شاهد نشان داد (P<۰/۰۵). اما تیمارهای اول و دوم علیرغم تولید زیتوده بیشتر اختلاف معنی‌داری را با تیمار شاهد نشان ندادند. در روز دهم پرورش بیشترین میزان تولید زیتوده مربوط به تیمار دوم بود و اختلاف معنی‌داری نیز بین تیمارهای آزمایشی و تیمار شاهد وجود داشت (P <۰/۰۵). تیمارهای اول و سوم اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد در روز دهم با یکدیگر نشان ندادند. در روز پانزدهم پرورش نیز بیشترین میزان تولید زیتوده مربوط به تیمار دوم بود (P <۰/۰۵). تیمارهای اول و سوم اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد در روز پانزدهم پرورش نداشتند.

جدول ۴- میانگین (± انحراف معیار) برخی از شاخص‌های رشد آرتمیا ارومیانا طی دوره پرورش (r = ۳)

	وزن اولیه (میلی گرم)	وزن نهایی (میلی گرم)	میانگین رشد روزانه (میلی گرم در روز)	افزایش وزن بدن (میلی گرم)	ضریب رشد ویژه	شاخص وضعیت
شاهد	۱/۲۸±/۰۱^{a}	۲۵/۵۱ ± ۱/۴۹^{a}	۱/۶۱ ±/۱۰^{a}	۲۴/۲۵ ± ۱/۵۶^{a}	۲۹/۹۴ ± ۱/۱۱^{a}	۱۱/۶۸ ± ۰/۵۷^{b}
تیمار اول	۲/۲۸±/۰۰۹^{a}	۳۶/۵۳ ± ۵/۰۶^{b}	۲/۳۶ ± /۳۴^{b}	۳۵/۴۲ ± ۵/۰۷^{b}	۳۳/۵۳ ± ۱/۷۰^{b}	۸/۷۴ ± ۰/۹۷^{a}
تیمار دوم	۲/۲۸±/۰۰۸^{a}	۳۸/۴۲ ± ۸/۳^{b}	۲/۵۱ ± /۵۵^{b}	۳۷/۶۱ ± ۸/۲۵^{b}	۳۴/۱۷ ± ۱/۸۳^{b}	۸/۴۸ ± ۱/۵۷^{a}
تیمار سوم	۲/۲۸±/۰۱^{a}	۳۹/۱۷ ± ۵/۱۲^{b}	۲/۵۴ ± /۳۳^{b}	۳۸/۰۵ ± ۵/۰۲^{b}	۳۴/۲۲ ± ۰/۶۰^{b}	۹/۰۱ ± ۱/۴۸^{a}

* داده‌های ارائه شده در هر ستون با حروف غیر مشترک با یکدیگر اختلاف معنی دار دارند (P < ۰/۰۵).

جدول ۵- میانگین (± انحراف معیار) زیتوده (میلی گرم بر لیتر) آرتمیا ارومیانا طی دوره پرورش (r = ۳)

	روز اول	روز پنجم	روز دهم	روز پانزدهم
تیمار شاهد	۲۳/۳۸ ± ۲/۲۱^{a}	۴۵/۴۴ ± ۸/۸۸^{a}	۲۴/۴۲ ± ۵/۴۷^{a}	۲۲/۱۷ ± ۴/۶۱^{a}
تیمار اول	۲۳/۰۶ ± ۲/۲۵^{a}	۶۵/۴۵ ± ۱۵/۳۰^{ab}	۲۴/۸۰ ± ۳/۵۰^{a}	۲۸/۳۰ ± ۵/۶۹^{ab}
تیمار دوم	۲۳/۲۷ ± ۱/۹۹^{a}	۵۶/۰۴ ± ۵/۷۶^{ab}	۳۵/۳۴ ± ۴/۲۵^{b}	۴۱/۷۲ ± ۱۴/۹۱^{b}
تیمار سوم	۲۳/۵۲ ± ۰/۷۰^{a}	۶۷/۰۰ ± ۹/۹۰^{b}	۲۳/۲۵ ± ۱/۷۸^{a}	۲۹/۸۰ ± ۱/۸۰^{ab}

* داده‌های ارائه شده در هر ستون با حروف غیر مشترک با یکدیگر اختلاف معنی دار دارند (P < ۰/۰۵).

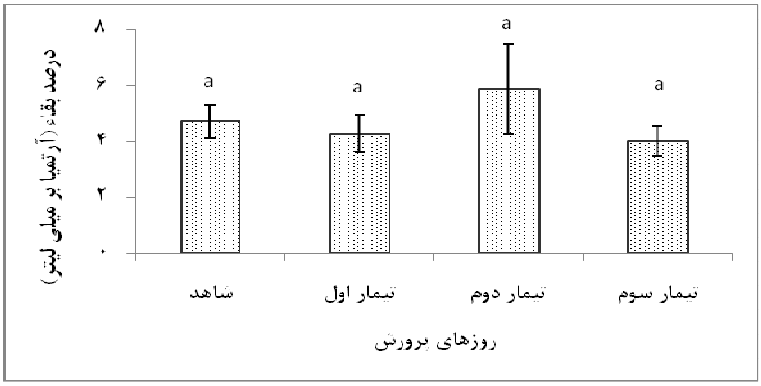
نتایج حاصل از تاثیر استفاده از سطوح مختلف باکتری‌های *B. subtilis* و *B. licheniformis* بر ترکیب لاشه آرتمیا ارومیانا در انتهای دوره پرورش در جدول ۶ ارائه شده است. همانطور که مشاهده می‌شود از نظر ماده خشک اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی و تیمار شاهد وجود داشت (P <۰/۰۵). همچنین بین تیمارهای آزمایشی نیز اختلاف معنی‌داری وجود داشت (P <۰/۰۵). درصد خاکستر لاشه در انتهای دوره پروش در تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری نشان نداد. در مورد درصد پروتئین خام لاشه اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای دوم و سوم با تیمارهای اول و شاهد قابل مشاهده بود (P <۰/۰۵). درصد چربی خام لاشه در انتهای دوره پروش بین تیمارهای آزمایشی و تیمار شاهد یکسان بود.

نتایج ناشی از استفاده از سطوح مختلف باکتری‌های *B. subtilis* و *B. licheniformis* بر درصد بقاء آرتمیا طی دوره آزمایش در نمودار ۳ ارائه شده است. همانگونه که مشاهده می‌شود اختلاف معنی‌داری بین هیچ یک از تیمارهای آزمایشی و تیمار شاهد در روزهای پنجم، دهم و پانزدهم مشاهده نشد. با این حال درصد بقاء در تیمار سوم در طول آزمایش همواره کمتر از سایر تیمارها بود.

جدول ۶- میانگین (± انحراف معیار) تجزیه تقریبی لاشه آرتمیا ارومیانا در تیمارهای مختلف در پایان دوره پرورش (r = ۳)

	ماده خشک	خاکستر	پروتئین خام	چربی خام
شاهد	۹۳/۸۱ ± /۱۹^{a}	۱۰/۲۱ ± ۰/۳^{a}	۶۳/۱۳ ±۰/۲۵^{a}	۳/۸ ± ۰/۳^{a}
تیمار اول	۹۵/۴۸ ± ۰/۲۶^{b}	۱۰/۳۵ ± /۳۱^{a}	۶۳/۴۸ ±۰/۲۵^{a}	۴/۳۹ ±۰/۲۵^{a}
تیمار دوم	۹۵/۶۳ ± /۳^{b}	۱۰/۳ ± /۲^{a}	۶۴/۴۸ ± /۳^{b}	۴/۴۶ ±۰/۳۵^{a}
تیمار سوم	۹۶/۲۶ ± ۰/۲۲^{c}	۱۰/۲۷ ±۰/۴۱^{a}	۶۴/۸۶±۰/۲۱^{b}	۴/۰۶ ±۰۱/۴۲^{a}

* داده‌های ارائه شده در هر ستون با حروف غیر مشترک با یکدیگر اختلاف معنی دار دارند (P <۰/۰۵).



نمودار ۳- میانگین (± انحراف معیار) درصد بقاء آرتمیا ارومیانا در تیمارهای مختلف در روز دهم دوره پرورش (r = ۳)

بحث

پروبیوتیک‌ها همواره به دلیل داشتن مزایای فراوان به عنوان یکی از راه‌های افزایش بازده در آبزی پروری مطرح بوده‌اند. از جمله مزایای استفاده از پروبیوتیک‌ها می‌توان به بهبود شاخص‌های رشد در آبزیان اشاره نمود (Ghosh *et al*., 2007).

در مطالعه حاضر، باکتری‌های پروبیوتیکی *B. subtilis* و *B. licheniformis* در جیره غذایی آرتمیا مورد استفاده قرار گرفتند. نتایج نشان داد که پروبیوتیک‌ها به صورت موثری بر بهبود شاخص‌های رشد موثر بودند. در مطالعه‌ای از نه گونه مختلف باکتریایی جهت بهبود ارزش تغذیه‌ای مواد غذایی خشک جهت تغذیه ناپلی آرتمیا استفاده به عمل آمد و مشخص شد که باکتری‌های مورد نظر به خوبی موجب افزایش شاخص‌های رشد در آرتمیا فرانسیسکانا شدند (Verschuere *et al.*, 1999). به علاوه در آزمایشی اثر مثبت و معنی‌دار استفاده همزمان از باکتری‌های *Micobacterium sp.* A و *Eiguobacterium* بر رشد و تکامل ناپلی آرتمیا در محیط استریل در مقایسه با تیمار شاهد به اثبات رسید (Orozco-Medina *et al.*, 2002). همچنین استفاده از پروبیوتیک تجاری بیوپلوس ۲ب (*B. subtilis* و *B. licheniformis*) در پرورش بچه ماهی قزل آلا موجب افزایش شاخص‌های رشد گرید (Bagheri *et al.*, 2008, Merrifield *et al.*, 2010).

مطالعه اثر پروبیوتیک‌های باسیلوس تجاری بر میگوی سفید پاسفید غربی (*Penaeus vannamei*) ثابت کرد پس از ۲۸ روز، وزن نهایی و افزایش وزن روزانه در تیمارهای آزمایشی به صورت معنی‌داری بیشتر شد (Wang, 2008). نتایج مشابهی در ارتباط بهبود شاخص ضریب رشد ویژه با استفاده از مخلوط باکتری‌های *B. Subtilis* و *L. acidophilus* در تیلاپیای نیل حاصل شده است (Aly *et al.*, 2008).

از آنجایی که آرتمیا یک موجود صافی خوار غیر انتخابی است به همین دلیل می‌تواند از باکتری‌ها مستقیماً به عنوان غذا و منبع اصلی تامین پروتئین و اسیدهای آمینه استفاده کند (Gorospe *et al*., 1996; Verschuere *et al.,* 1999). احتمالاً بتوان بخشی از رشد بیشتر ایجاد شده در تیمارهای آزمایشی را به استفاده از باکتری‌های باسیلوس به عنوان غذا نسبت داد اما تحقیقات در این مورد بسیار محدود بوده و تاکنون نقش پروبیوتیکی و تغذیه‌ای باکتری‌ها در آرتمیا از یکدیگر تفکیک نشده است (Ahmadnia *et al*., 2009; Verschuere *et al*., 1999). به همین دلیل به انجام تحقیقات گسترده تری در این زمینه نیاز احساس می‌شود.

سویه‌های پروبیوتیکی موجود در دستگاه گوارش می‌توانند به عنوان منبعی از مکمل‌های غذایی، فعالیت میکروبی و منبع تولید ویتامین‌ها یا اسیدهای آمینه ضروری عمل کنند (Skrodenytė-Arbaĉiauskienė, 2007; Balcazar *et al*., 2008). در مطالعه حاضر افزایش معنی‌داری در میزان وزن خشک، پروتئین خام و خاکستر لاشه در تیمارهای آزمایشی مشاهده شد ($P < ۰/۰۵$) که می‌تواند ناشی از استفاده موثرتر از ترکیبات غذایی در حضور پروبیوتیک‌ها باشد. اما مقادیر چربی لاشه اختلاف معنی‌داری را بین تیمارهای آزمایشی و تیمار شاهد نشان نداد هرچند نمی توان تاثیر ترکیبات مواد غذایی مورد مصرف در پرورش آرتمیا را در ترکیب لاشه این موجود مد نظر قرار نداد (Yamada and Sgarbieri, 2005). همان طور که ملاحظه می‌شود جیره مصرفی از لحاظ میزان پروتئین و نشاسته در سطح بالایی قرار داشته در حالی که میزان چربی آن کمتر بود. اثر مثبت باکتری‌های باسیلوس پروبیوتیکی بر افزایش معنی دار درصد پروتئین خام، چربی خام و رطوبت

لاشه در تیمارهای آزمایشی نسبت به تیمار شاهد بچه ماهیان انگشت قد قزل آلای رنگین کمان مورد تائید قرار گرفته است (Bagheri *et al*., 2008). تیمار ماهی مولی با باکتری *L. casei* به مدت یازده هفته نشان داد که اختلاف معنی‌داری درارتباط با وزن خشک، پروتئین خام، چربی خام و خاکستر در تیمارهای آزمایشی و تیمار شاهد ایجاد نشد (Hernandez *et al.*, 2009). نتایج مشابهی نیز در استفاده از پروبیوتیک تجاری ®Biogen (حاوی باکتری‌های *B. subtilis* و *B. licheniformis*) در ماهی تیلاپای نیل مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری از لحاظ وزن خشک، خاکستر و درصد پروتئین لاشه بین تیمارهای آزمایشی و تیمار شاهد تیمار وجود نداشت (Haroun *et al.*, 2006).

با این که در مطالعه حاضر، پروبیوتیک‌های مورد استفاده میزان بقاء در آرتمیا ارومیانا را افزایش ندادند، با این حال در تعدادی از مطالعات به اثر مثبت استفاده از پروبیوتیک‌ها در افزایش بقاء آبزیان مورد آزمایش اشاره شده است. در مطالعه‌ای استفاده از چند گونه باکتریایی در راستای بهبود ارزش تغذیه‌ای مواد غذایی خشک جهت تغذیه ناپلی آرتمیا مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج نشان داد که حضور باکتری‌های مفید در محیط پرورش آرتمیا موجب افزایش درصد بقاء نسبت به پرورش آرتمیا در شرایط استریل شد (Verschuere *et al.*, 1999). در آزمایش دیگری که جهت برآورد تاثیر باکتری *B. subtilis* E20 بر بقاء و تکامل لاروهای میگوی پاسفید غربی انجام گرفت مشخص گردید که استفاده از سطح $۱۰^{۹}$ باکتری در یک لیتر آب موجب افزایش درصد بقاء لاروهای این میگو شد (Liu *et al.*, 2010). نتایج مشابه با مطالعه حاضر در مورد بررسی تاثیر باکتری *Lactobacillus casei* بر ماهی مولی (*Poeciliopsis Gracilis*) نشان داد که تیمار به مدت یازده هفته تاثیر معنی‌داری بر درصد بقاء این ماهی در پایان دوره پرورش نداشت (Hernandez *et al.*, 2009). در مقابل استفاده همزمان از باکتری‌های B. *Micobacterium sp* و *V. Parahaemolyticus* تاثیر منفی بر بقاء آرتمیا داشت. اما استفاده همزمان از باکتری‌های A. *Micobacterium sp* و *Eiguobacterium* تاثیری بر بقاء، رشد و تکامل ناپلی آرتمیا در مقایسه با تیمار شاهد نداشت (Orozco-Medina *et al.*, 2002).

نتایج حاصل از این تحقیق نشان دهنده قابلیت زیاد باکتری‌های مورد استفاده در ارتقاء رشد در آرتمیا ارومیانا می‌باشد. هرچند پروبیوتیک‌های مورد استفاده تاثیری بر افزایش درصد بقاء نداشتند اما به دلیل افزایش میزان رشد، تولید زیتوده در تیمار دوم به صورت قابل ملاحظه‌ای از سایر تیمارها بیشتر بود. در نهایت مشخص شد که تیمار دوم و سوم بیشترین تاثیر را در بهبود کلیه شاخص‌های عملکرد رشد و ترکیب لاشه داشتند. با توجه به اینکه میزان تولید زیتوده در تیمار دوم با سطح ۱×۱۰^{۴} باکتری به ازاء هر گرم غذا به صورت معنی‌داری بیشتر از تیمار سوم بود و همچنین میزان پروبیوتیک کمتری در تیمار دوم مورد استفاده قرار گرفت، سطح ۱×۱۰^{۴} باکتری به ازاء هر گرم غذا جهت پرورش آرتمیا ارومیانا تا مرحله بلوغ توصیه می‌شود. در مطالعات آتی می‌توان به منظور تفکیک اثر تغذیه‌ای و پروبیوتیکی باکتری‌های باسیلوس، به بررسی تاثیر باکتری‌های غیر فعال (مرده) در مقایسه با باکتری‌های زنده و فعال در پرورش آرتمیا پرداخت.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از مجموعه دانشگاه تهران و آقایان سید مهیا موسوی، امید صفری، احمد ایمانی و سعید ضیایی نژاد که در انجام این تحقیق با ما همکاری نمودند صمیمانه قدردانی به عمل می‌آید.

منابع

Abreu-Grobois, F.A., Briseño-Dueñas, R., Herrera, M.A., and Malagón, M.L., 1991. A model for growth of *Artemia franciscana* cultures based on food ration-dependent gross growth efficiencies. Hydrobiologia 212, 27-37.

Afzali, A., 2008. Effect of temperature and salinity in hatching rate of cysts and comparing different methods of enrichment (HUFA) and storing the growing *Artemia* (*A. urmiana*) in the nutrition of *Mmelanochromis auratus*. MSc thesis. Department of Fisheries. Faculty of Natural Resources. University of Tehran. Karaj Iran. 99 p. (In Persian)

Agh, N., Abatzopoulos, T.J., Kappas, I., Van Stappen, G., Razavi Rouhani, S.M., and Sorgeloos, P., 2007. Coexistence of sexual and parthenogenetic *Artemia* populations in lake Urmia and neighbouring lagoons. International Review of Hydrobiologia 92, 48-60.

Ahmadnia motlagh, H., Farhangi, M., Hosseinifar, S.H., 2009. Potential application of probiotics as a modulator of Artemia nauplii bacterial load. In: Agh , N. (Ed). Proceedings of International Workshop of Artemia, Biology and Distribution symposium. 19-20 June, Urmia, Iran. pp. 170-180.

Ahmadnia Motlagh, H.R., Farhangi, M., Rafiee, GH., Fazli, P., 2012. Effects of different levels of yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) feeding on growth factors and survival of *Artemia urmiana*. Journal of Fisheries 65, 99-108. (In Persian)

Alexopoulos, C., Georgoulakis, I,E., Tzivara, A., Kyriakis, C,S., Govaris, A., Kyriakis, S,C., 2004. Field evaluation of the effect of a probiotic-containing B*acillus licheniformis* and B*acillus subtilis* spores on the health status, performance, and carcass quality of grower and finisher pigs. Journal of Veterinary Medicine 51, 306-312.

Aly, S.M., Abdel-Galil Ahmed, Y., Abdel-Aziz Ghareeb, A., Mohamed, M.F., 2008. Studies on *Bacillus subtilis* and *Lactobacillus acidophilus*, as potential probiotics, on the immune response and resistance of *Tilapia nilotica* (*Oreochromis niloticus*) to challenge infections. Fish and Shellfish Immunology 25, 128-136.

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

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.

Balcázar, J.L., Vendrell, D., de Blas, I., Ruiz-Zarzuela, I., Muzquiz, J.L., Girones, O., 2008. Characterization of probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from intestinal microbiota of fish. Aquaculture 278, 188-191.

Farhangi, M., Carter, C.G., 2001. Growth, physiological and immunological responses of rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) to different dietary inclusion levels of dehulled lupin (*lupins angustifolius*). Aquaculture Research 32, 329-340.

Ghosh, S., Sinha, A., Sahu, C., 2007. Effect of probiotic on reproductive performance in female livebearing ornamental fish. Aquaculture Research 38, 518–526.

Gorospe, J.N., Nakamura, K., Abe, M., Higashi, S., 1996. Nutritional contribution of *Pseudomonas* sp. in Artemia culture. Fish Science 62, 914– 918.

Haroun, E.R.E., Goda, A.M.A.S., Chowdhury, M.A.K., 2006. Effect of dietary probiotic Biogen supplementation as a growth promoter on growth performance and feed utilization of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (L.). Aquaculture Research 37, 1473-1480.

Hernandez, L.H.H., Barrera, T.C., Mejia, J.C., Mejia, G.C., Del Carmen, M., Dosta, M., Andrade, R.D.L., Sotres, J.A.M., 2009. Effects of the commercial probiotic *Lactobacillus casei* on the growth, protein content of skin mucus and stress resistance of juveniles of the Porthole livebearer *Poecilopsis gracilis* (Poecilidae). Aquaculture Nutrition 16, 407-411.

Intriago, P. and Jones, D.A., 1993. Bacteria as food for Artemia. Aquaculture 113**,** 115-127.

Jory, D.E. 1998 Use of probiotics in Penaeid shrimp growth. Aquaculture Management 24, 62-67.

Keysami, M. A., Saad, C.R., Sijam, K., Daud H.M., Alimon, A.R., 2007. Effect of *Bacillus subtilis* on growth development and survival of larvae *Macrobrachium rosenbergii* (de Man). Aquaculture Nutrition 13, 131-136.

Lavens, P., Sorgeloos, P., 1996. Manual on the production and use of live food for aquaculture, University of Ghent, Ghent, Belgium, 295 p.

Link, R.B., Kovac, G., 2006. The effect of probiotic BioPlus 2B on feed efficiency and metabolic parameters in swine. Biologia 61, 783-787.

Liu, K.-F., Chiu, C–.H., Shiu, Y.-L., Cheng, W., Liu, C.-H., 2010. Effects of the probiotic, *Bacillus subtilis* E20, on the survival, development, stress tolerance, and immune status of white shrimp, *Litopenaeus vannamei* larvae In Fish and shellfish immunology 28, 837-844.

Mandiki, S.N.M., Milla, S., Wang, N., Blanchard, G., Djonkack, T., Tanascaux, S. and Kestemont, P., 2011. Effects of probiotic bacteria on growth parameters and immune defense in Eurasian perch *Perca fluviatilis* L. larvae under intensive culture conditions. Aquaculture Research 42**,** 693-703

Marques, A., Dinh, T., Ioakeimidis, C., Huys, G., Swings, J., Verstraete, W., Dhont, J., Sorgeloos, P., Bossier, P., 2005. Effects of bacteria on *Artemia franciscana* cultured in different gnotobiotic environments. Applied and Environmental Microbiology 71**,** 4307-4317.

Marques, A., Huynh Thanh, T., Verstraete, W., Dhont, J., Sorgeloos, P., Bossier, P., 2006 Use of selected bacteria and yeast to protect gnotobiotic Artemia against different pathogens. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 334**,** 20-30.

Merrifield, D.L., Dimitroglou, A., Bradley, G., Baker, R,T,M., Davies, SJ., 2010. Probiotic applications for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) I. Effects on growth performance, feed utilization, intestinal microbiota and related health criteria. Aquaculture Nutrition 16, 504-510.

Moriarty, D. J. W., 1998. Control of luminous *Vibrio* species in *penaeid* aquaculture ponds. Aquaculture 164**,** 351-358.

Olafsen, J. A., 2001. Interactions between fish larvae and bacteria in marine aquaculture. Aquaculture 200, 223-247.

Orozco-Medina, C., Maeda-Martnez, A.M. and Lopez-Cortes, A., 2002. Effect of aerobic Gram-positive heterotrophic bacteria associated with *Artemia franciscana* cysts on the survival and growth. Aquaculture 213**,** 15-29.

Peterson, D. S., Harris, D. J., Rayner, J. C., Blakeney, A. B., Choct, M., 1999. Methods for the analysis of premium livestock grains. Australian Journal of Agricultural Research 50, 775-787.

Rahimi, S.H., Khaksefifi, A., 2006. A comparison between the effects of a probiotic (BioPlus 2B) and an antibiotic (Virginiamycin) on the performance of broiler chickens under heat stress condition. Iraninan Journal of Veterinary Research 7, 48–56.

Raida, M,K., Larsen, J.L., Nielsen, M,E., Buchmann, K., 2003. Enhanced resistance of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), against *Yersinia ruckeri* challenge following oral administration of *Bacillus subtilis* and *B. licheniformis* (BioPlus 2B). Journal of Fish Disease 26, 495–498.

SCAN, 2000. Report of the Scientific Committee on Animal Nutrition on product BioPlus 2B- for use as feed additive. European Commission, Health and Consumer Protection Directorate General. (SCAN) Scientific Committee on Animal Nutrition.

Skrodenytė-Arbaĉiauskienė, V., 2007. Enzymatic activity of intestinal bacteria in roach *Rutilus rutilus* L. Fisheries Science 73, 964-966.

Vaseeharan, P.R., 2003. Control of pathogenic *Vibri spp*. by *Bacillus subtilis* BT23, a possible probiotic treatment for black tiger shrimp *Penaeus monodon*. Letters in Applied Microbiology 36, 83-87.

Verschuere, L., Dhont, J., Sorgeloos, P., Verstraete, W., 1997. Monitoring Biolog patterns and r/K-strategists in the intensive culture of Artemia juveniles. Journal of Applied Microbiology 83**,** 603-612.

Verschuere, L., Rombaut, G., Huys, G., Dhont, J., Sorgeloos, P., Verstraete, W., 1999. Microbial control of the culture of Artemia juveniles through preemptive colonization by selected bacterial strains. Applied and Environmental Microbiology 65, 2527-2533.

Wang, Y.B., Li, J.R., Lin, J., 2008. Probiotics in aquaculture: Challenges and outlook. Aquaculture 281**,** 1-4.

Yamada, E.A., Sgarbieri, V.C., 2005. Yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) protein concentrate: preparation, chemical composition and nutritional and functional properties. Journal of Agricultural and Food Chemistry 53, 3931-3936.

Effects of Different Level Administration of *Bacillus subtilis* and *Bacillus licheniformis* on Growth Performance and Survival Rate of *Artemia urmiana*

H. R. Ahmadnia Motlagh[1*], M. Farhangi[1], G. Rafiee[1] and F. Noori[2]

[1] Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, PO Box 31585 - 3314 Karaj, Iran
[2] Artemia and Aquatic Animals Research Center, PO Box 165, Urmia University, Urmia, Iran

(Received: 23-Aug.-2011 – Accepted: 10-Jan.-2012)

Abstract

The probiotic effects of two gram positive bacteria, *Bacillus subtilis* and *Bacillus licheniformis*, were examined on growth performance, body composition and survival rate of *Artemia urmiana.* Three diets containing 10^2 (T_1), 10^4 (T_2), 10^6 (T_3) CFU of probiotics g $Feed^{-1}$ and a control diet (C) without probiotic were used through a completely randomized design (each with three replicates). The used bacteria increased significantly the dry weight and total length of artemia ($P<0.05$). The highest amount of biomass production was observed in the second treatment (41.72 ± 14.91 mgL^{-1}) compared to other treatments ($P<0.05$). Also the average daily growth, weight gain and specific growth rate were significantly improved in treatments ($P<0.05$). However, the condition factor in probiotic receiving treatments decreased significantly ($P<0.05$). The body composition also indicated the effectiveness of using the bacteria on dry matter and crude protein content in *A. urmiana* ($P<0.05$). However, there was no significant difference in ash and crude protein content among treatments. Probiotics had no significant effect on artemia survival. This experiment revealed that the second and the third treatments had the highest effect on growth indices and body composition however due to higher biomass production in second treatment (41.72 ± 14.91) compared to the third treatment (29.80 ± 1.80), and the lower probiotic needed in second treatment. It is recommended to use 10^4 CFU of probiotics g $Feed^{-1}$ for growing Artemia urmiana.

Key words: Probiotic, *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Artemia urmiana*, Growth, Body proximate composition, Survival

*Corresponding author: Tel: +989177923101 Fax: +982177192266 Email: Hahmadnia@alumni.ut.ac.ir