

تأثیر پروبیوتیک جنس باسیلوس (*Bacillus subtilis*, *B. licheniformis*) بر تراکم، فاکتورهای رشد در تراکم‌های مختلف و ترکیبات لاشه میکوی وانامی (*Litopenaeus vannamei*)

- **حمید رئیسی***: گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، صندوق پستی: ۴۹۱۳۸-۱۵۷۳۹
- **ولی‌اله جعفری**: گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، صندوق پستی: ۴۹۱۳۸-۱۵۷۳۹
- **سعید ضیایی‌نژاد**: گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی خاتم‌الانبیاء بهبهان
- **علی اکبر پاسندی**: اداره کل شیلات استان گلستان، گرگان

تاریخ دریافت: فروردین ۱۳۹۳ تاریخ پذیرش: تیر ۱۳۹۳

چکیده

هدف از انجام این مطالعه، بررسی تأثیر استفاده از باکتری‌های *Bacillus subtilis* و *Bacillus licheniformis*، بر شاخص‌های رشد میکوی وانامی (*Litopenaeus vannamei*) در تراکم‌های مختلف می‌باشد. در این تحقیق میگوها پس از ذخیره سازی با دو تیمار ۲۵۰ و ۳۰۰ قطعه در هر متر مربع هر کدام به وسیله دو غلظت پروبیوتیکی ۴×۱۰^{۱۰} واحد تشکیل دهنده کلنی بر گرم و ۱×۱۰^{۱۰} واحد تشکیل دهنده کلنی بر گرم) به مدت ۸ هفته پرورش داده شدند. در انتها، شاخص‌های رشد، ترکیب لاشه و تعداد باکتری‌های کل دستگاه گوارش بررسی شدند. شاخص‌های رشد در تیمارهای T۲ (تراکم ۳۰۰، پروبیوتیک ۴×۱۰^{۱۰} واحد تشکیل دهنده کلنی بر گرم) و T۴ (تراکم ۲۵۰، پروبیوتیک ۴×۱۰^{۱۰} واحد تشکیل دهنده کلنی بر گرم) و C۱ (شاهد ۳۰۰) با غلظت پروبیوتیک صفر) و C۲ (تراکم ۲۵۰ با غلظت پروبیوتیک صفر) دارای اختلاف معنی‌داری بود (p<۰/۰۵). در تیمارهای T۱ (تراکم ۳۰۰، پروبیوتیک ۱×۱۰^{۱۰} واحد تشکیل دهنده کلنی بر گرم) و T۳ (تراکم ۲۵۰، پروبیوتیک ۱×۱۰^{۱۰} واحد تشکیل دهنده کلنی بر گرم) رابطه معنی‌داری با گروه شاهد و تیمارهای T۲ و T۴ نشان نداد. تأثیر تراکم بر شاخص‌های رشد عدم اختلاف معنی‌داری را بین تیمارهای مختلف بیان کرد (P>۰/۰۵). تعداد کل باکتری‌های موجود در دستگاه گوارش در تیمارهایی که از غلظت ۴×۱۰^{۱۰} واحد تشکیل دهنده کلنی بر گرم و ۱×۱۰^{۱۰} واحد تشکیل دهنده کلنی بر گرم استفاده شده بود، نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌داری بین این تیمارها بود (p<۰/۰۵). براساس نتایج این آزمایش، استفاده از غلظت ۴×۱۰^{۱۰} واحد تشکیل دهنده کلنی بر گرم سبب بهبود شاخص‌های رشد، ترکیبات لاشه و فلور باکتریایی دستگاه گوارش میکوی وانامی شد، اما تراکم تأثیر قابل توجهی بر شاخص‌های رشد و ترکیبات لاشه نداشت. بنابراین پیشنهاد می‌شود که جهت افزایش میزان تولید میکوی وانامی از غلظت ۴×۱۰^{۱۰} واحد تشکیل دهنده کلنی بر گرم استفاده شود.

کلمات کلیدی: پروبیوتیک، میگو، تراکم، فلور باکتریایی، هضم‌پذیری، دستگاه گوارش



مقدمه

مواد و روش‌ها

آبزی‌پروری در سرتاسر جهان به‌واسطه افزایش تقاضا و کاهش ذخایر آبریان به‌شدت در حال افزایش است. به‌همین منظور افزایش تولید از طریق روش‌های پرورشی و افزایش تراکم از روش‌هایی است که می‌تواند تاثیر قابل توجه‌ای روی حفظ ذخایر آبریان داشته باشد. امروزه استفاده از سیستم‌های مدار بسته که قابلیت پرورش میگو به‌طور فوق متراکم را دارند با توجه به قابلیت ممانعت‌پذیری نسبت به انتقال بیماری‌ها از گونه‌های وحشی به‌طور گسترده‌ای توسط پرورش‌دهندگان مورد توجه قرار گرفته‌اند (Paiva-maia, 2013). یکی از گونه‌هایی که تحمل تراکم‌پذیری را تا 150 عدد در استخرهای پرورش دارد گونه وانامی می‌باشد، این گونه را به‌راحتی در شرایط کنترل شده با تراکم 400 عدد در هکتار می‌توان پرورش داد (Beriggs, 2004). حفظ کیفیت آب در پرورش فوق متراکم یکی از فاکتورهای مهم می‌باشد که جمعیت باکتری موجود در استخر نقش کلیدی را در این امر ایفاء می‌کنند (Soaking, 2012). با توجه به گسترش پرورش میگو به‌طور فوق متراکم ممکن است، محدودیت‌هایی از جمله؛ افزایش بیماری‌های عفونی و غیر عفونی، افزایش مواد مانند نیتريت (Yusoff, 2011)، آمونیاک و فسفر که خود حالت مسمومیتی را برای میگو ایجاد کرده و مشکلاتی را در بحث پرورش فوق متراکم به‌وجود آورد (Kumaraguru, 2009). بنابراین نیاز است که از طریق روش‌های گوناگون از جمله اصلاح روش‌های پرورش (Castex, 2010)، استفاده از مدیریت باکتریایی به‌منظور تغییر فلور باکتریایی آب بر افزایش تراکم‌پذیری فائق آمده (Tasang, 2012) و توانسته تا حدودی استرس‌ها موجود را کاهش دهد. پروبیوتیک‌ها میکروارگانیسم‌های زنده‌ای هستند که به میزبان خود سود می‌رسانند. باسیلوس‌ها از پروبیوتیک‌های غالب می‌باشد که به‌طور عمومی استفاده می‌گردند (Zhou, 2009). مطالعات متعدد نشان می‌دهد که این پروبیوتیک می‌تواند تاثیر موثری بر بهبود رشد، مقاومت نسبت به بیماری‌ها و تحریک دستگاه ایمنی (Zhang, 2010) میگو (Rengpipat, 2000) داشته باشد. پروبیوتیک (*Bacillus* sp) می‌تواند از طریق افزایش سطح ایمنی میگو سبب افزایش مقاومت در مقابل عوامل بیماری‌زا شده و بازماندگی را افزایش دهد (Liu, 2010).

هدف از انجام این مطالعه بررسی تاثیر پروبیوتیک جنس باسیلوس بر تراکم، فاکتورهای رشد در تراکم‌های مختلف و ترکیبات لاشه میگوی وانامی بود.

پروبیوتیک: پروبیوتیک استفاده شده در این مطالعه حاوی اسپورهای دو گونه‌ای باکتری‌های *B. subtilis* و *B. licheniformis* می‌باشد. این پروبیوتیک حاوی 10^{10} واحد تشکیل‌دهنده کلنی بر گرم می‌باشد. این محصول به‌صورت پودر خشک توسط شرکت سازنده (پروتکسین آکواتک) عرضه می‌شود. روش فعال‌سازی براساس شیوه توصیه شده این شرکت صورت گرفت. برای این اساس، جهت ایجاد شوک حرارتی، آب را تا نزدیک نقطه جوش حرارت داده، پس از جوش آمدن ظرف را از روی آتش برداشته و پروبیوتیک را به آن اضافه کرده و پس از سرد شدن، آب حاوی پروبیوتیک با غذای کنسانتره مخلوط و مورد استفاده قرار گرفت.

ذخیره‌سازی: مطالعه حاضر در کارگاه آموزشی تکثیر گمیسان بر پست لارو مرحله 12 وانامی (وزن تقریبی 0/29 گرم) در 18 تانک 200 لیتری انجام پذیرفت. این آزمایش شامل شش تیمار با سه تکرار بود. تیمار T₁ شامل میگو‌هایی با تراکم 300 قطعه در مترمربع و غلظت پروبیوتیک 1×10^{10} واحد تشکیل‌دهنده کلنی بر گرم غذا، T₂ تراکم 300 قطعه در مترمربع و غلظت پروبیوتیک 4×10^{10} واحد تشکیل‌دهنده کلنی بر گرم غذا، T₃ تراکم 250 قطعه در مترمربع و غلظت پروبیوتیک 1×10^{10} واحد تشکیل‌دهنده کلنی بر گرم غذا و T₄ تراکم 250 قطعه در مترمربع و غلظت پروبیوتیک 4×10^{10} واحد تشکیل‌دهنده کلنی بر گرم غذا به‌همراه دو تیمار شاهد C₁ با تراکم 300 قطعه میگو در مترمربع و C₂ با تراکم 250 قطعه میگو در مترمربع بودند که به‌مدت هشت هفته از تیر تا شهریور با میانگین دمایی 28 درجه سانتی‌گراد، شوری 32 گرم در لیتر، و اکسیژن محلول 9/8 میلی‌گرم در لیتر ذخیره‌سازی شدند (Moss, 2004).

شمارش تعداد باکتری‌ها: به‌منظور نمونه‌برداری میگو‌ها به آزمایشگاه انتقال داده شدند، نمونه‌ها از نظر پارامترهای شامل تعداد کل باکتری مورد بررسی قرار گرفتند. نمونه‌ها پس از انتقال به آزمایشگاه به‌وسیله چاقوی تمیز کالبدشکافی و لوله گوارش استخراج و در داخل یک هاون هموزن و سپس به‌مدت 60 ثانیه توسط هم‌زن هم‌گن شدند. تعداد کل باکتری‌ها از طریق روش Rengpipat و همکاران (1998) و Ziaei-Nejad و همکاران (2006) بر روی محیط کشت Nutrient agar و Tryptic soy agar در محلول سرم (با یک درصد NaCl، W/V) تهیه گردید. نمونه‌هایی که حاوی باکتری و مواد هم‌وزنه بودند در داخل یک لوله ریخته، سپس یک سی‌سی از این مواد برداشته و در داخل یک لوله ریخته و سپس به‌طور سریالی به



تجزیه و تحلیل آمار: طرح کلی این تحقیق در قالب طرح کاملاً تصادفی می‌باشد. اطلاعات به دست آمده به منظور مقایسه میانگین‌ها و آنالیز آن‌ها توسط واریانس دوطرفه (Two Way ANOVA) آزمون دانکن و توکی صورت گرفت و اختلاف بین میانگین‌ها در تیمارهای مختلف با سطح اطمینان ($p < 0.05$) تعیین گردید. تمام موارد با استفاده از نرم‌افزار SPSS-۱۶ انجام گرفت.

نتایج

نتایج تاثیر پروبیوتیک بر فاکتورهای رشد میگوی وانامی در جدول ۱ و ۲ آورده شده است. در ارتباط با وزن نهایی میگو وانامی، نتایج بهتری در تیمارهای T_2 و T_4 مشاهده گردید که در مقایسه با شاهد (C_1 و C_2) و دیگر تیمارهای (T_1 و T_3) سطح بالاتری قرار داشتند و اختلاف معنی‌داری نیز با شاهد برقرار کرد ($P < 0.05$). تیمارهای T_1 و T_3 که نسبت به تیمار T_2 و T_4 مقدار کم‌تری را نشان داده بود ($P > 0.05$)، ارتباط معنی‌داری را با تیمار شاهد (C_1 و C_2) برقرار نکرد ($P > 0.05$).

لوله‌های دیگر منتقل گردیدند. پروبیوتیک در این تحقیق از پلیت‌های استاندارد آگار (Standard methods agar plate) استفاده گردید. بعد از انتقال نمونه‌ها در آن پلیت‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای اتاق بالای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. بعد از این مدت، کلونی‌ها شمارش، رنگ‌آمیزی و مورد بررسی قرار گرفتند.

بررسی پارامترها و معیارهای رشد: زیست‌سنجی میگوها

هر هفته یک‌بار صورت پذیرفت. مقدار غذایی مصرفی به مقدار ۳ درصد وزن بدن میگو بر حسب جیره روزانه تعیین گردید (Ziaei و Nejad، ۲۰۰۶). میزان طول بدن، طول کاراپاس و طول شاخک‌ها و وزن بدن هر هفته مورد بررسی قرار گرفت. جهت اندازه‌گیری وزن بدن از ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۱ و جهت اندازه‌گیری طول بدن و طول شاخک‌ها از کولیس با دقت دهم میلی‌متر استفاده شده است. فرمول (۱) نرخ رشد ویژه:

(لگاریتم رشد نهائی - لگاریتم رشد اولیه) $\times 100$ / دوره پرورش

فرمول (۲) FCR:

وزن تر میگو با تولید / وزن خشک غذای خورده شده

جدول ۱: تاثیر سطوح متفاوت تراکم و پروبیوتیک باسیلوس بر فاکتورهای رشد

تیمارها	(%) بازماندگی	(%) نرخ رشد ویژه	ضریب تبدیل غذایی (%)	تولید کل (گرم)	وزن نهایی (گرم)
T_1	$93/3 \pm 0/3^{ab}$	$14/6 \pm 0/3^{ab}$	$1 \pm 0/0/3^{ab}$	2829 ± 68^{ab}	$10/3 \pm 0/3^{ab}$
T_2	$94/6 \pm 0/4^a$	$14/8 \pm 0/3^a$	$1 \pm 0/0/8^a$	2856 ± 75^a	$10/6 \pm 0/0/5^a$
T_3	$94/8 \pm 0/1^{ab}$	$15/3 \pm 0/1^{ab}$	$1 \pm 0/0/6^{ab}$	2542 ± 72^{ab}	$10/8 \pm 0/0/7^{ab}$
T_4	$95 \pm 0/8^a$	$15/4 \pm 0/2^a$	$0/9 \pm 0/0/7^a$	2641 ± 65^a	$11/0/4 \pm 0/0/3^a$
C_2	$93 \pm 0/6^b$	$14/1 \pm 0/3^b$	$1/2 \pm 0/0/3^b$	2351 ± 65^b	$9/9 \pm 0/0/3^b$
C_1	$91/6 \pm 0/6^b$	$14/0/2 \pm 0/5^b$	$1/3 \pm 0/0/1^b$	2779 ± 71^b	$9/9 \pm 0/0/4^b$

(\pm میانگین با ۳ تکرار) حروف متفاوت در یک ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار است ($P < 0.05$).

جدول ۲: تاثیر سطوح متفاوت تراکم و پروبیوتیک باسیلوس بر طول کل و طول کاراپاس

تیمارها	طول کاراپاس (سانتی‌متر)	طول کل (سانتی‌متر)
T_1	$3/8 \pm 0/4^{ab}$	$14/3 \pm 0/1^{ab}$
T_2	$3/9 \pm 3/1^a$	$14/3 \pm 0/6^a$
T_3	$3/8 \pm 0/6^{ab}$	$14/3 \pm 0/1^b$
T_4	$4 \pm 0/1^a$	$14/8 \pm 0/5^a$
C_2	$3/3 \pm 0/1^b$	$13/5 \pm 0/0^b$
C_1	$3/3 \pm 0/1^b$	$13/2 \pm 0/1^b$

(\pm میانگین با ۳ تکرار) حروف متفاوت در یک ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار است ($P < 0.05$).

میزان طول کاراپاس و طول کل بدن میگو، بیش‌ترین مقدار این دو فاکتور مربوط برای تیمارهای T_4 و T_2 و کم‌ترین آن به گروه‌های C_1 و C_2 محاسبه گردید که با هم رابطه معنی‌داری برقرار کردند ($p > 0.05$). بازماندگی در برخی از تیمارها مانند T_2 و T_4 به خوبی ارتقاء یافت و دارای بیش‌ترین مقدار بود که مانند سایر تیمارها توانست با تیمار شاهد ارتباط معنی‌داری برقرار کند

مقایسه با تیمار شاهد و T_1 ، T_2 در سطح بالاتری قرار داشت ($p > 0.05$)، و با C_1 و C_2 اختلاف معنی‌داری نشان داد ($p < 0.05$). ضریب تبدیل غذایی در تیمارهای آزمایش T_2 ، T_4 ، T_1 و T_3 دارای نتایج بهتری نسبت به گروه شاهد بود. تیمارهای شاهد C_1 و C_2 از لحاظ ضریب تبدیل غذایی کم‌ترین مقدار بود و با تیمارهای T_4 و T_2 ارتباط معنی‌داری برقرار کرد ($p < 0.05$).



($p < 0.05$). تیمارهای T_1 و T_2 در تمام شاخص‌های رشد نسبت به تیمار شاهد C_1 و C_2 افزایش، با تیمارهای T_3 و T_4 کاهش غیرمعنی‌داری را نشان داد ($p > 0.05$). تاثیر تراکم در کلیه موارد نشان‌دهنده عدم تاثیر آن بر شاخص‌های رشد در تمام تیمارهایی

جدول ۳: تجزیه تقریبی لاشه میگو در تیمارهای مختلف در انتهای دوره

تیمارها	خاکستر	چربی	پروتئین	ماده خشک
T_1	$12/2 \pm 0/14^a$	$2/8 \pm 0/11^{ab}$	$61/4 \pm 0/35^{ab}$	$39/73 \pm 1/3^a$
T_2	$12/3 \pm 0/8^a$	$2/9 \pm 0/33^a$	$62/3 \pm 0/33^a$	$41/3 \pm 0/8^a$
T_3	$12/4 \pm 0/12^a$	$2/9 \pm 0/12^{ab}$	$61/6 \pm 0/34^{ab}$	$40/6 \pm 0/6^a$
T_4	$12/4 \pm 0/17^a$	$3/2 \pm 0/15^a$	$62/1 \pm 0/54^a$	$40/6 \pm 0/8^a$
C_1	$12/5 \pm 0/3^a$	$2/6 \pm 0/18^b$	$60/5 \pm 0/5^b$	$39/5 \pm 0/4^a$
C_2	$12/3 \pm 0/8^a$	$2/9 \pm 0/17^b$	$61/7 \pm 0/5^b$	$40/5 \pm 0/5^a$

(± میانگین با ۳ تکرار) حروف متفاوت در یک ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار است ($P < 0.05$).

گروه شاهد C_1 و C_2 سبب کاهش در مقدار چربی موجود در لاشه این تیمارها می‌شود، که نسبت به گروه T_1 و T_2 افزایش معنی‌داری را نشان نداد ($P < 0.05$). نتایج برآمده از جدول ۳، تیمار T_4 بیشترین مقدار و C_1 کمترین مقدار چربی لاشه را به خود اختصاص داده بودند که به‌همین منظور بین تیمارهای تغذیه شده با غلظت‌های بالای پروبیوتیک T_2 و T_4 با تیمارهای تغذیه نشده در این بخش ارتباط معنی‌داری وجود داشت ($p < 0.05$). اما بین تیمارهایی که از تراکم‌های متفاوت و غلظت پروبیوتیک یکسانی بهره برده بودند، تفاوت معنی‌داری وجود نداشت که این عمل عدم تاثیر مثبت تراکم را به‌عنوان یک فاکتور مثبت بر چربی لاشه نشان می‌دهد ($P > 0.05$) (جدول ۳).

پروتئین: تاثیر سطوح مختلف مکمل‌های پروبیوتیک باسیلوس بر پروتئین ترکیب لاشه میگو، مطابق جدول ۳ می‌باشد. گروه‌های شاهد C_1 و C_2 دارای کمترین مقدار و T_2 و T_4 دارای بیشترین مقدار پروتئین در ترکیبات لاشه بود. که این اختلاف بین دو گروه باعث ایجاد ارتباط معنی‌داری شد ($P < 0.05$)، ولی بین دو گروه T_1 و T_3 با T_2 و T_4 اختلاف معنی‌داری نبود ($P > 0.05$). تیمارهای T_1 و T_3 که دارای غلظت پروبیوتیکی پایین بودند علی‌رغم استفاده از پروبیوتیک رابطه آن با گروه شاهد C_1 و C_2 معنی‌داری نبود ($p > 0.05$). با توجه به آنالیزهای فوق، غلظت بالای پروبیوتیکی را می‌توان به‌عنوان یک عامل مثبت بر پروتئین موجود در لاشه میگو در نظر گرفت. اما تراکم را نمی‌توان به‌عنوان فاکتوری که تاثیر مثبت بر فاکتورهای رشد می‌گذارد بیان کرد.

بحث

ایده استفاده از پروبیوتیک به‌منظور افزایش تراکم و بهره‌وری بهتر از مواد غذایی در آبزیان طی سال‌های

ماده خشک: براساس بررسی انجام شده (جدول ۳)، تیمار ۴ T_4 دارای بیشترین مقدار و C_2 کمترین مقدار را نشان داد. با توجه به افزایشی که T_4 نسبت به ماده خشک در برابر گروه‌ها از خود نشان داده بود این افزایش در مقدار ماده خشک تیمار T_4 باعث نشد که بین تیمارهای T_2 و T_4 با تیمارهای T_1 و T_3 ارتباط معنی‌داری برقرار کند ($p > 0.05$). اما استفاده از پروبیوتیک در گروه‌های T_2 و T_4 سبب شد که بین این گروه‌ها و گروه‌های شاهد C_1 و C_2 ارتباط معنی‌داری برقرار شود ($P < 0.05$). ولی بین گروه‌های شاهد با گروه‌های T_1 و T_3 ارتباط معنی‌داری مشاهده نشد ($p > 0.05$).

خاکستر: استفاده از پروبیوتیک با غلظت بالا سبب گردد که تیمارهای T_2 و T_4 بیشترین مقدار خاکستر را داشته باشند. ولی با تیمارهای دیگر T_1 و T_3 که مقدار غلظت متفاوتی از پروبیوتیک را دریافت کرده بودند، ارتباط معنی‌داری را برقرار نکرد ($p > 0.05$). میزان خاکستر در تیمارهای T_1 ، T_2 ، T_3 و T_4 به‌دلیل استفاده از پروبیوتیک نسبت به C_1 و C_2 بیشترین مقدار را از خود نشان دادند ولی با توجه به این مورد با این تیمارها (شاهد) اختلاف معنی‌داری نشان ندادند ($p > 0.05$) (جدول ۳). نتایج نشان می‌دهند که استفاده از تراکم فقط جز به افزایش محسوس نمی‌تواند تاثیر قابل توجهی روی خاکستر موجود در بدن میگو داشته باشد ($P < 0.05$). خاکستر موجود در لاشه میگو متاثر از پروبیوتیک و تراکم نمی‌باشد و هر دو فاکتور نمی‌توانند بر این ترکیب تاثیر بگذارند. که این خود نشان‌دهنده عدم رابطه معنی‌دار بین گروه شاهد و گروه‌های پروبیوتیکی می‌باشد که دارای تراکم‌های متفاوتی بودند.

چربی: بررسی چربی موجود در لاشه میگوی وانامی در انتهای دوره آزمایش نشان داد که عدم استفاده از پروبیوتیک در



باکتری‌ها با تولید آنزیم‌هایی نظیر آمیلاز، پروتئاز و لیپاز (Tovar, 2002) سبب افزایش آنزیم‌ها و افزایش قابلیت هضم چربی‌ها و پروتئین می‌گردند. در نهایت رشد، کارایی تغذیه و ترکیبات موجود در لاشه را افزایش می‌دهد (Ray, 2010). مطابق نتایج میزان خاکستر و ماده خشک دو تیمار شاهد و پروبیوتیکی با هم هیچ ارتباط معنی‌داری از خود نشان ندادند ($P > 0.05$)، اما میزان ترکیبات پروتئین و چربی لاشه در تیمارهای T₁، T₂ و T₄ یک افزایش از خود نشان دادند، که با تیمار شاهد رابطه معنی‌داری برقرار کرد ($P < 0.05$). یکی از تاثیراتی که پروبیوتیک‌های جنس باسیلوس می‌گذارند، افزایش اشتها از طریق تولید پروتئین به واسطه افزایش آنزیم لیپاز در موجود زنده می‌باشد (Iranto, 2000). از آنجایی که میگوی وانامی توانایی پرورش در شرایط گوناگون محیط و متراکم بالا را دارد (Maia, 2011)، از این رو از این گونه می‌توان در شرایط فوق متراکم (بالای ۳۰۰ عدد در مترمربع) استفاده کرد (Ray, 2010). استفاده از باکتری پروبیوتیک در پرورش متراکم یکی از مهم‌ترین روش‌های محافظتی به منظور مقابله با باکتری‌ها می‌باشد (Kongnum, 2011). بعضی از نژادهای پروبیوتیک موادی قوی مانند مواد ضدپاتوژن و ضدآلرژی از خود ترشح کرده و باعث بهبود رشد میگو می‌شوند (Laiho, 2002). بیش تر باکتری‌های پروبیوتیکی در دستگاه گوارش از مواد غذایی و فضاء، با باکتری‌های مضر رقابت کرده و باعث کاهش آن‌ها می‌گردد (Liu, 2010). در پرورش متراکم میگو، یکی از مهم‌ترین احتیاجات، دسترسی به یک جیره مناسب با رشد مناسب می‌باشد، که استفاده از مواد غذایی به کارایی حیوان در جذب این مواد بستگی دارد (Zhang, 2010). از این رو نقش آنزیم‌های گوارشی در جذب مواد نیز بسیار ضروری می‌باشد که این باکتری‌ها نقش اساسی را در هضم غذا برعهده دارند (Manuch, 2013) که سبب افزایش آنزیم‌های هضم‌کننده، شده که یکی از این آنزیم‌ها، آمیلاز است (Sarez-cruz, 2009) که نقش کلیدی در تعیین قابلیت هضم و تجمع پروتئین در دستگاه گوارش دارد (Manuch, 2013). میگوی پا سفید غربی نسبت به سایر گونه‌ها نیاز پروتئین کم‌تری در جیره خود دارد، بنابراین جیره غذایی آن می‌تواند از نسبت پروتئین گیاهی بیش‌تری استفاده کرد (Williams, 2006). باکتری‌های پروبیوتیکی موجود در دستگاه گوارش ماهی سبب افزایش ساخت و ترشح آنزیم‌های گوارشی در میزبان شده (Manuch, 2013) که در نهایت منجر به افزایش قابلیت هضم چربی‌ها و پروتئین‌های موجود در جیره

اخیر توجه ویژه‌ای پیدا کرده است. نتایج به‌دست آمده تاثیر مثبت مکمل پروبیوتیکی را بر شاخص‌های رشد نشان داد و در تیمارهایی که از غلظت بالاتری از پروبیوتیک استفاده شده بود، نتایج بهتری را نشان دادند. در تیمار T₄ به دلیل استفاده از غلظت بالای پروبیوتیک تمام پارامترهای رشد دارای بیش‌ترین مقدار بودند ولی تیمارهای شاهد به دلیل عدم استفاده از پروبیوتیک بیش‌ترین کاهش را از خود نشان دادند و در کل فاکتورها در پایین‌ترین سطح خود بودند. ولی تاثیر تراکم در کل تیمارها یک فرایند ثابت بود، که فقط جز افزایش جزئی در تیمارهای با تراکم کم‌تر نتوانست اثرات قابل توجه‌ای از خود نشان دهد. بنابراین از نتایج به‌دست آمده در مورد تراکم چنین برآمد که تراکم نمی‌تواند در میزان شاخص‌های رشد تاثیر قابل توجه‌ای داشته باشد. تاثیر پروبیوتیک تجاری در ارتقا معیارهای رشد و افزایش بقاء در آبزیان، در این تحقیق به اثبات رسید. آزمایشات قبل نشان داده، مکمل‌سازی غذایی میگو با پروبیوتیک تجاری باسیلوس تاثیر معنی‌داری روی افزایش فاکتورهای رشد نسبت به میگوی وانامی می‌گذارد (Nejad Ziaei, 2006).

Harotizer و همکاران (2000) خاطر نشان ساختند یکی از مواردی که پروبیوتیک‌ها ممکن است بر میزان ضریب تبدیل غذایی تاثیر داشته باشند، استفاده غذای خورده نشده به وسیله میگو می‌باشد، پروبیوتیک از طریق مصرف این مواد در استخر از بار مواد آلی موجود در استخر کاسته، و موجب تعدیل آلودگی در استخر و افزایش پلانکتون‌ها، در نهایت موجب افزایش تولید در استخر می‌شود. Wang و همکاران (2007) نشان دادند که باسیلوس‌ها دارای آنزیم‌های خارج سلولی از جمله آمیلاز، لیپاز و پروتئاز بوده که قابلیت مکمل‌سازی با جیره‌های غذایی ماهیان به منظور ارتقاء سطوح مواد مغذی و رشد لاروهای ماهیان را دارا می‌باشند. یکی از تاثیراتی که پروبیوتیک‌های جنس باسیلوس می‌گذارند این است که باعث افزایش اشتها از طریق تولید پروتئین در موجود زنده می‌شوند (Kanitta, 2012).

آن‌چنان‌که از نتایج این آزمایش برمی‌آید (جدول ۲)، باکتری‌های باسیلوس که دارای غلظت بالایی بودند شاخص‌های رشد بالایی را نسبت به گروه شاهد از خود نشان دادند که این خود نشان‌دهنده تاثیر غلظت‌های بالای پروبیوتیک بر گونه‌های میگو می‌باشد. Hossain و همکاران (2013) بیان کردند، بین افزایش غلظت پروبیوتیک و مقاومت میگو و رشد میگو یک رابطه مستقیم وجود دارد. افزایش تراکم پروبیوتیک سبب افزایش فضا برای آن می‌شود و رقابت جهت بهره‌گیری آب و غذا برای باکتری افزایش می‌یابد، در نتیجه این



- partial and total recirculation systems. Int. J. Aquacult. Sci. Vol. 2, No. 1, pp: 16-27.
11. **Merchie, G.; Lavens, P. and Sorgeloos, P., 1997.** Optimization of dietary vitamin-C in fish and crustacean larvae: a review. *Aquaculture*. Vol. 155, pp: 165-181.
 12. **Manuch, S.M.; Srivastava, P.P.; Kohi, M.P.S.; Jain, K.K.; Ayyappan, S. and Metar, S.Y., 2013.** Combined Effect of Papain and Vitamin-C Levels on Growth Performance of Freshwater Giant Prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. Vol. 13, pp: 479-486.
 13. **Michel, C.; Pelletier, C.; Boussaha, M.; Douet, D.G.; Lautraite, A. and Tailliez, P., 2007.** Diversity of lactic acid bacteria associated with fish and the fish farm environment, established by amplified rRNA gene restriction analysis. *A.E. Microbiol.* Vol. 73, pp: 47-55.
 14. **Paiva-maia, D.E.; Alves, M.G. and Brito, O.L., 2013.** Effect of a commercial probiotic on bacterial and phyto plankton concentration in intensive shrimp farming (*Litopenaeus vannamei*) recirculation systems. *Aquat. Res.* Vol. 41, No. 1, pp: 12-137.
 15. **Rengpipat, S.; Rukpratanporn, S.; Piyatiratitivorakul, S. and Me-nasveta, P., 2000.** Immunity enhancement in black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) by a probiont bacterium (*Bacillus S11*). *Aquaculture*. Vol. 191, pp: 271-288
 16. **Ricque-Marie, D.; Peña-Rodríguez, A.; Tapia-Salazar, M.; Nieto Lopez, M.G.; Villarreal-Cavazos, D.; Guajardo Barbosa, C.; Cruz-Suarez, L.E. and Locatelli, M.L., 2006.** Effect of pre-prandial nutrient leaching in sea water and different binders on apparent amino acid digestibility coefficients of a practical diet in *Litopenaeus vannamei* shrimp juveniles. *International Aquafeed*. Vol. 9, No. 5, pp: 32-33.
 17. **Ray, A.J.; Seabron, G.; Leffler, J.W.; Wild, S.B.; Lawson, A. and Brody, C.L., 2010.** Characterization of microbial communities in Minimal exchange intensive aquaculture system and effect of suspended solids management. *Aquaculture*. Vol. 310, No. 1, pp: 130-138.
 18. **Sooking, D.; Silva, D.S.F.; Davis, A.D. and Hanson, R.T., 2011.** Effects of stocking density on the performance of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* cultured under pond and outdoor tank conditions using a high soybean meal diet. *Aquaculture*. Vol. 319, pp: 232-239.
 19. **Tovar, D.; Zombonino-Infante, J.L.; Cahu, C.; Gatesoupe, F.J.; Vazquez, R. and Lesel, R., 2002.** Effect of live yeast incorporation in compound diet digestion enzymes activity in sea bass larvae. *Aquaculture*. Vol. 204, pp: 113-123.
 20. **Wang, Y.B., 2007.** Effect of probiotics on growth performance and digestive enzyme activity of the shrimp *Penaeus vannamei*. *Aquaculture*. Vol. 269, pp: 259-264.
 21. **Williams, A.S.; Davis D.A. and Arnold, C.R., 2005.** Evidence of a growth factor in some crustacean-based feed ingredients in diets for the giant tiger shrimp *Penaeus monodon*. *Aquaculture*. Vol. 250, pp: 377-390.
 22. **Yanbo, W. and He, Z., 2008.** Effect of probiotics on alkaline phosphatase activity and nutrient level in sediment of shrimp, *Penaeus vannamei*, ponds. *Aquaculture*. Vol. 287, pp: 94-97.
 23. **Yusoff, F.M.; Matias-Peralta, H.B. and Shariff, M., 2010.** Phytoplankton population patterns in marine shrimp culture ponds with different sources of water supply. *Aquat. Ecosyst. Health*. Vol. 13, pp: 458-464.
 24. **Zhang, Y.C.; Ling, H.Y.; Long, R. and Yan, W.L., 2010.** Probiotic applications of two dominant gut *Bacillus* strains with antagonistic activity the growth performance and improved immune responses of grouper *Epinephelus coioides*. *Fish & Shellfish Immunology*. Vol. 29, pp: 803-809.
 25. **Zhou, X.X.; Wng, Y.B. and Li, W.F., 2009.** Effect of probiotic on larvae shrimp (*Penaeus vannamei*) based on water quality, survival rate and digestive enzyme activities. *Aquaculture*. Vol. 287, pp: 349- 353.
- غذایی شده و کارایی تغذیه و متعاقب آن، رشد را در ماهی میزبان به‌طور قابل توجه‌ای افزایش می‌دهد (Maia, ۲۰۱۱). Liu و همکاران (۲۰۱۰) عنوان کردند که میزان پروتئین لاشه در بدن ممکن است تحت تأثیر جیره های حاوی پروبیوتیک قرار گیرد، که این واکنش بسته به گونه متفاوت می‌باشد. نتایج مطالعه حاضر حاکی از آن است که با توجه به تفاوت معنی‌داری که در بعضی از تیمارها مشاهده شد پارامترهای رشد و تغذیه بین تیمار شاهد و تیمارهای آزمایشی حاوی پروبیوتیک سطوح بالاتر توانست بر بهبود عملکرد رشد و در بعضی موارد ترکیبات لاشه تأثیر مهمی داشته باشد. با توجه به تأثیرات مثبتی که برای پروبیوتیک گزارش شد پیشنهاد می‌شود تأثیر این مواد بر بیماری‌های ویروسی مانند لکه سفید و سیستم ایمنی میگو بررسی شود.

منابع

1. **Ai, Q.; Xu, H.; Mai, K.; Xu, W.; Wang, J. and Zhang, W., 2011.** Effects of dietary supplementation of *Bacillus subtilis* and fructooligosaccharide on growth performance, survival, non-specific immune response and dof juvenile large yellow croaker, *Larimichthys crocea*. *Aquaculture*. Vol. 317, pp: 155-161.
2. **Castex, M.; Chim, L.; Pham, D.; Lemaire, P.; Wabete, N.; Nicolas, J.L.; Schmidely, P. and Mariojouis, C., 2008.** Probiotic *P. acidilactici* application in shrimp *Litopenaeus stylirostris* culture subject to vibriosis in New Caledonia. *Aquaculture*. Vol. 275, No. 1-4, pp: 182-193.
3. **Cruz-Suárez, L.E.; Nieto-López, M.; Guajardo-Barbosa, C.; Tapia-Salazar, M.; Scholz, U. and Ricque-Marie, D., 2007.** Replacement of fish meal with poultry by-product meal in practical diets for *Litopenaeus vannamei*, and digestibility of the tested ingredients and diets. *Aquaculture*. Vol. 272, pp: 466-476.
4. **Cruz-suarez, L.E.; Salazar, M.T.; Cavazos, V.D.; Roch, B.J.; Nieto-Lopez, M.G.; Lemme, A. and Ricque-Marie, R.D., 2009.** Apparent dry matter, energy, protein and amino acid digestibility of four soybean ingredients in white shrimp *Litopenaeus vannamei* juveniles. *Aquaculture*. Vol. 292, No. 1-2, pp: 87-94.
5. **Irianto, A. and Austin, B., 2002.** Use of probiotics to control furunculosis in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Journal of Fish Diseases*. Vol. 25, pp: 333-342.
6. **Laiho, K.; Hoppu, U.; Ouwehand, A.C.; Salminen, S. and Isolauri, E., 2002.** Probiotics: on-going research on atopic individuals. *British Journal of Nutrition*. Vol. 88, pp: 19-27.
7. **Liu, K.F.; Chiu, C.H.; Shiu, Y.L.; Cheng, W. and Liu, C.H., 2010.** Effects of the probiotic, *Bacillus subtilis* E20, on the survival, destress tolerance, and immune status of white shrimp, *Litopenaeus vannamei* larvae. *Fish & Shellfish Immunology*. Vol. 28, pp: 837-844.
8. **Kongnum, K. and Hongpattarakere, T., 2012.** Effect of *Lactobacillus plantarum* isolated from digestive tract of wild shrimp on growth and survival of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) challenged with *Vibrio* harveyi. *Fish & Shellfish Immunology*. Vol. 32, pp: 170-177.
9. **Kumaraguru, V.; Victor-Suresh, K.P. and Chamberlin, G.W., 2009.** Growth performance of blue shrimp, *Litopenaeus stylirostris* in self-cleaning microcosm tanks. *Aquaculture*. Vol. 290, pp: 236-242.
10. **Maia, E.P.; Olivera, A. and Brito, L.O., 2011.** Brazilian shrimp farms for *Litopenaeus vannamei* with

