تاثیر آرتمیای غنی شده با دو پروبیوتیک باسیلوس سابتیلیس و پدیوکوکوس پنتوساسئوس بر شاخص‌های رشد و بقا و ترکیبات لاشه پست لارو میگوی پا سفید غربی (*Litopenaeus vannamei*)

- **امین هاشمی‌پناه:** گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران
- **غلامرضا رفیعی*:** گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران
- **احسان نیکبخت:** گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران
- **سپیده بزرگی:** گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

تاریخ دریافت: اردیبهشت ۱۳۹۶ تاریخ پذیرش: مرداد ۱۳۹۶

چکیده

استفاده از پروبیوتیک‌ها در آبزی‌پروری نشان داده است که می‌تواند بهره‌وری بیش‌تری را در این صنعت ایجاد کند. با این هدف، در این تحقیق اثر استفاده از دو گونه باکتریایی باسیلوس سابتیلیس و پدیوکوکوس پنتوساسئوس به‌عنوان پروبیوتیک روی شاخص‌های رشد، بقا و ترکیبات بیوشیمیایی لاشه پست لارو میگوی وانامی بررسی شد. به این منظور تعداد سه تیمار آزمایشی، هر کدام سه تکرار شامل تیمار باسیلوس (B)، تیمار پدیوکوکوس (P) و تیمار تلفیقی باسیلوس و پدیوکوکوس (BP) از طریق غنی‌سازی آرتمیا مورد مصرف لاروهای میگوی وانامی از مرحله مایسیس III تا مرحله PL۱۰ قرار گرفتند. به‌عنوان تیمار شاهد نیز از آرتمیای غنی نشده با پروبیوتیک برای تغذیه لاروها استفاده شد. در پایان آزمایش نتایج شاخص‌های رشد و بقا یک روند افزایشی تحت تاثیر مصرف پروبیوتیک را به‌طور معنی‌داری ($P<0/05$) نشان دادند و بیش‌ترین تاثیر آن نیز در تیمار تلفیقی نمود پیداکرد. اما در رابطه با تاثیر مصرف پروبیوتیک‌ها بر فاکتورهای بیوشیمیایی لاشه میگونتایج اختلاف معنی‌داری را میان تیمارهای مختلف نشان ندادند. در پایان با توجه به نتایج کسب‌شده در این آزمایش می‌توان گفت که باکتری‌های مذکور به‌عنوان پروبیوتیک توانستند از لحاظ ارتقا رشد و بهبود بهره‌وری تولید پست لارو میگوی وانامی تاثیرگذار باشند بدون این‌که تاثیر به‌خصوصی روی‌فاکتورهای بیوشیمیایی بدن بگذارند.

کلمات کلیدی: پروبیوتیک، وانامی، آنالیز لاشه، رشد و بقا

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: ghrafiee@ut.ac.ir

مقدمه

در صنعت پرورش میگو یکی از مهم‌ترین و اساسی‌ترین بخش‌ها، تولید پست لارو با کیفیت مطلوب و سالم می‌باشد. تاکنون راهکارهای مختلفی برای بهبود کیفیت و پایداری تولید آبزیان مختلف مورد بررسی قرار گرفته‌اند که از این میان، پروبیوتیک‌ها نشان داده‌اند که می‌توانند نقش مهمی در آبزی‌پروری ایفا کنند و سبب بهبود هضم غذا، راندمان رشد و وضعیت ایمنی در موجودات آبزی شوند (Irianto و Austin، ۲۰۰۲). هم‌چنین به‌دلیل افزایش رویکردهای حفاظتی از محیط‌زیست و مسایل زیست‌محیطی، استفاده از پروبیوتیک‌ها به‌عنوان یک راهکار ایمن در صنعت آبزی‌پروری در حال گسترش روزافزون است (Gatesoupe، ۱۹۹۹). در تعریف عام می‌توان گفت که پروبیوتیک‌ها به‌عنوان مکمل‌های غذایی زنده‌ای تعریف می‌شوند که تعادل فلور میکروبی دستگاه گوارش موجود میزبان را بهبود می‌بخشند (Fuller، ۱۹۸۹). این پروبیوتیک‌ها می‌توانند تاثیرات سودمندی برای میزبان داشته باشند که ازجمله آن‌ها می‌توان به بهبود شاخص‌های رشد (Boonthai و همکاران، ۲۰۱۱)، کاهش علائم بروز بیماری (Newaj-Fyzul و همکاران، ۲۰۰۷) و کاهش نیاز به مواد شیمیایی و دارویی (Hai و همکاران، ۲۰۱۰) اشاره کرد. به‌دلیل این‌که گونه‌های باکتریایی جنس باسیلوس آنزیم‌های خارجی بسیاری ترشح می‌کنند (Moriarty، ۱۹۹۸). استفاده گسترده‌ای در آبزی‌پروری به‌عنوان پروبیوتیک دارند. باکتری‌های باسیلوسی قادرند با دیگر باکتری‌ها بر سر غذا و فضا رقابت داشته باشند و با تولید و ترشح آنتی‌بیوتیک، دیگر باکتری‌ها را از میدان به‌در کنند (Verschuere و همکاران، ۲۰۰۰). باکتری‌های گرم مثبت خصوصاً جنس باسیلوس، به‌دلیل ترشح گستره وسیعی از آنزیم‌های خارجی سبب افزایش فعالیت لیپاز، پروتئاز و آمیلاز در لوله گوارش می‌شوند و این‌طور به‌نظر می‌رسد که حضور پروبیوتیکی آن‌ها در لوله گوارشی سبب تحریک تولید آنزیم‌های گوارشی داخلی می‌شود (Moriarty، ۱۹۹۸). مطالعات نشان داده‌اند که استفاده از گونه‌های مربوط به این جنس در میگوی مونودون منجر به بهبود رشد و بقا و وضعیت ایمنی این میگو شده است (Rengpipat، ۱۹۹۸). باکتری‌های اسیدلاکتیک نیز به‌عنوان یکی از گزینه‌های اصلی پروبیوتیکی در آبزی‌پروری مطرح هستند که به‌صورت طبیعی در فلور گوارشی آبزیان در مراحل لاروی و پرواری غالب نیستند، اما آزمایشات متعددی نشان داده‌اند که می‌توان آن‌ها را به‌صورت مصنوعی در دستگاه گوارش جانداران آبزی غالب کرد (Verschuere و همکاران، ۲۰۰۰). در مطالعه‌ای که روی میگوی آبی (*L. stylirostris*) صورت گرفت، باکتری *P. acidilactici* به‌عنوان پروبیوتیک تاثیرات مثبتی روی آنزیم‌های گوارشی و رشد و بقا این میگو در دوره پرواری آن داشت (Castex و همکاران، ۲۰۰۸). در ماهی سیم دریایی باکتری‌های *L. fructivorans* و *L. plantarum* به‌عنوان پروبیوتیک به‌کار رفتند که از آرتمیا و روتیفر به‌عنوان ناقل استفاده شد و در نهایت این باکتری‌ها تاثیرات مثبتی روی سطوح کورتیزول و میزان بیان ژن‌های مربوط به استرس در چالش pH داشتند (Rollo و همکاران، ۲۰۰۶). از آن‌جاکه در مراکز تولید پست لارو میگو، میزان بازماندگی و رشد از اهمیت بالایی برخوردار بوده و تاثیر مستقیم در میزان بهره‌وری و سود مراکز تکثیر دارند، این تحقیق با هدف بررسی اثرات استفاده از دو پروبیوتیک باسیلوس سابتیلیس (*Bacillus subtilis*) و پدیوکوکوس پنتوساسئوس (*Pediococcus pentosaseus*) بر شاخص‌های رشد و بازماندگی و ترکیبات بیوشیمیایی لاشه در پست لارو میگوی وانامی انجام شد.

مواد و روش‌ها

سیستم پرورش: این تحقیق در مرکز تکثیر میگوی گلستان لارو واقع در بندر لاور استان بوشهر انجام شد. به این منظور دوازده مخزن با حجم ۵۰ لیتر درنظر گرفته شد که به‌میزان ۴۰ لیتر از آب دریای پالایش شده با فیلتر شنی و ضدعفونی شده با کلر و اشعه UV آبگیری شدند و هوادهی ملایم در آن‌ها صورت گرفت. تراکم اولیه لاروها تعداد ۴۰ قطعه در لیتر درنظر گرفته شد و تعویض آب روزانه به‌میزان ۱۰ تا ۱۵٪ صورت پذیرفت. لاروهای میگوی وانامی از مرحله مایسیس III با میانگین وزن اولیه ۰/۵۴ میلی‌گرم تا رسیدن به مرحله پانزدهم پست‌لاروی (PL) با استفاده از آرتمیا تغذیه و تیمار شدند. غذادهی به لاروها در چهار وعده در روز در ساعات ۶، ۱۲، ۱۸ و ۲۴ با استفاده از آرتمیا انجام پذیرفت. پیراسنجه‌های فیزیکوشیمیایی آب نیز در طول مدت آزمایش بدین‌شرح بود که میانگین دما در طول دوره ۱/۴±۳۰ درجه سانتی‌گراد، میانگین شوری ۰/۵±۳۰ گرم در لیتر، میزان اکسیژن محلول ۰/۲±۵/۷ میلی‌گرم در لیتر و pH که در محدوده ۷/۵ تا ۸/۲ قرار داشت.

طرح و تیمارهای آزمایشی: این تحقیق در قالب یک طرح آزمایشی کاملاً تصادفی در چهار تیمار و سه تکرار صورت گرفت که در آن از دو پروبیوتیک باسیلوس سابتیلیس (*Bacillus subtilis*) و پدیوکوکوس پنتوساسئوس (*Pediococcus pentosaseus*) برای غنی‌سازی آرتمیا استفاده شد. پروبیوتیک‌های مصرفی از گونه‌های بومی بوده که از شرکت زیست‌یار وارنای رشت تهیه شدند. تیمارهای آزمایشی شامل تیمار C به‌عنوان تیمار شاهد بدون غنی‌سازی آرتمیا، تیمار B غنی‌سازی آرتمیا با باسیلوس، تیمار P غنی‌سازی آرتمیا با پدیوکوکوس و تیمار BP غنی‌سازی با هردو پروبیوتیک با نسبت ۱:۱، بودند.

غنی‌سازی آرتمیا: در این آزمایش از سیست آرتمیای گونه *A. fransiscana* تولیدی شرکت INVEA با درصد تفریخ بالای نود درصد استفاده شد. به‌منظور تفریخ از آب دریای فیلتر شده و ضدعفونی

شده با شوری ۳۰ppt با دمای میانگین ۳۰ درجه سانتی‌گراد به‌همراه هوادهی مناسب در شرایط نوری با شدت ۲۰۰۰ لوکس استفاده شد. زمان تفریخ ۱۸ تا ۲۰ ساعت از شروع فرآیند بود که پس از ۲۴ ساعت آرتمیاهای تفریخ‌شده در مرحله Instar II مورد غنی‌سازی قرار گرفتند (Patra و همکاران، ۲۰۰۳). آرتمیاها پس از صید از مخازن تفریخ با تراکم ۲۰۰ تا ۲۵۰ عدد در لیتر به‌مدت ۸ ساعت با تراکم ۱۰۷ CFU از پروبیوتیک غنی‌شدند. در پایان مرحله غنی‌سازی، آرتمیاهای غنی شده با استفاده از توری ۱۵۰ میکرون صیدشده و با آب شیرین شست‌و شوی آن‌ها صورت گرفت و سپس مورد استفاده لاروهای میگو قرار گرفتند.

شاخص‌های رشد و بازماندگی: در پایان مرحله پرورشی، شاخص‌های رشد و بازماندگی مدنظر با استفاده از فرمول‌های زیر محاسبه شدند: (Ergun و همکاران، ۲۰۰۳):

% WG =(g) وزن نهایی (g) - وزن اولیه (g) / ۱۰۰×

(Montero و همکاران، ۲۰۱۰):

%SGR = Ln وزن نهایی - Ln وزن اولیه / تعداد روزهای پرورش ×۱۰۰

(Yang و همکاران، ۲۰۱۰):

درصد بقاء = تعداد اولیه / تعداد نهایی × ۱۰۰

WG%: درصد افزایش وزن، SGR%: نرخ رشد ویژه

آنالیز ترکیبات بیوشیمیایی لاشه: برای آنالیز ترکیبات بیوشیمیایی لاشه، ۱۲ ساعت قبل از نمونه‌گیری غذادهی قطع شده و در پایان پس از صید پست لاروها در مرحله پانزدهم به تعداد مورد نیاز نمونه جمع‌آوری و با آب مقطر خنک شست و شو داده شد و سپس داخل فریزر ۷۰- درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند تا در زمان مناسب مورد آنالیز قرار گیرند. برای اندازه‌گیری میزان رطوبت، لاشه‌های مربوط به تیمارهای مختلف در آون با دمای ۱۰۵ درجه به‌مدت ۲۴ ساعت قرار داده شدند و با ثبت وزن اولیه و وزن ثانویه میزان رطوبت نمونه‌ها محاسبه شد. برای اندازه‌گیری میزان خاکستر از کوره الکتریکی با دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴ ساعت و میزان پروتئین از روش کجلدال و هم‌چنین میزان چربی با استفاده از دستگاه سوکسله با حلال هگزان مطابق با دستورالعمل (AOAC، ۱۹۹۸) عمل گردید.

آنالیز آماری: به‌منظور مقایسه میانگین داده‌ها پس از نرمال‌سازی از آنالیز تجزیه واریانس یک‌طرفه (one way ANOVA) و از آزمون آماری دانکن برای بیان معنی‌دار بودن و یا نبودن اختلاف میانگین تیمارها با یکدیگر استفاده شد. تمام آنالیزهای آماری با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۱۶ و در سطح اطمینان ۹۵٪ ($P<0/05$) صورت گرفت.

نتایج

طبق نتایج کسب‌شده که در جدول ۱ مشاهده می‌شود، بیش‌ترین میانگین وزن نهایی با عدد ۲۰/۶۰ میلی‌گرم متعلق به تیمار تلفیقی از دو گونه پروبیوتیک (BP) بود که به تبع آن شاخص WG% نیز با عدد ۳۷۱۶ مربوط به این تیمار شد. پس از این تیمار به‌ترتیب تیمار باکتری باسیلوس (B) و سپس تیمار پدیوکوکوس (P) و در انتها تیمار شاهد (C) در رده‌های بعدی این شاخص‌ها قرار گرفتند. این نشان می‌دهد که پروبیوتیک‌های مصرفی در رشد لاروهای میگو وانامی در مدت زمان آزمایش تاثیر گذاشته‌اند و آزمون آماری اختلاف معنی‌دار میان تیمارهای پروبیوتیکی با تیمار شاهد نشان داد. در رابطه با شاخص بقا نیز بین میانگین بقا مربوط به تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌دار به‌وجود آمد. به‌عبارتی استفاده از پروبیوتیک‌های باکتریایی در میزان بقا لاروهای میگوی وانامی تاثیرگذار بود که در این بین بیش‌ترین تاثیر را استفاده تلفیقی از دو گونه باکتریایی داشت و عدد ۷۰/۴۲ درصد در رابطه با این تیمار در شاخص بازماندگی به ثبت رسید و کم‌ترین مقدار نیز مربوط به تیمار شاهد با عدد ۴۸/۴۶ درصد بود. نکته قابل توجه اختلاف معنی‌دار بقا در تیمار تلفیقی نسبت به دو تیمار مجزا است.

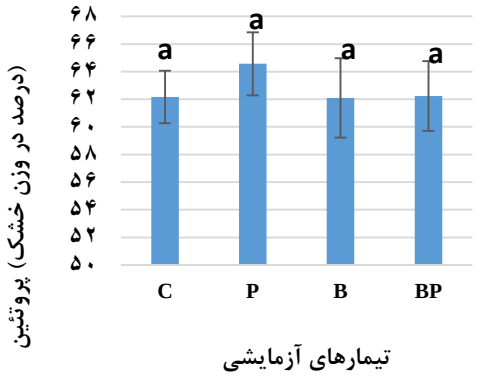
جدول ۱: مقایسه میانگین شاخص های رشد و بقا در تیمارهای مختلف

تیمار / شاخص	وزن اولیه (mg) ± SD	وزن نهایی (mg) ± SD	WG (%) ± SD	بقا (%) ± SD
C	۰/۵۴ ± ۰	۱۸/۵۶ ± ۰/۹۱^{b}	۳۳۳۷ ± ۱۶۹^{b}	۴۸/۴۶ ± ۲/۴۲^{c}
B	۰/۵۴ ± ۰	۲۰/۵۸ ± ۰/۷۹^{a}	۳۷۱۱ ± ۱۴۸^{a}	۵۷/۳۹ ± ۳/۵۸^{b}
P	۰/۵۴ ± ۰	۱۹/۰۹ ± ۱/۰۶^{ab}	۳۴۳۵ ± ۱۹۶^{ab}	۵۶/۰۴ ± ۳/۱۸^{b}
BP	۰/۵۴ ± ۰	۲۰/۶۰ ± ۰/۶۴^{a}	۳۷۱۶ ± ۱۲۰^{a}	۷۰/۴۲ ± ۳/۳۰^{a}

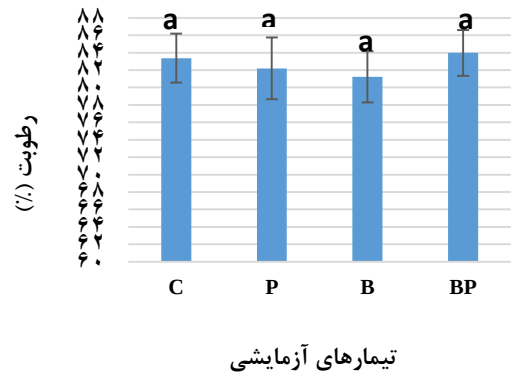
حروف غیرهمنام در یک ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین اعداد است ($P<0/05$)

آنالیز آماری اختلاف معنی‌داری را در میزان رطوبت لاشه مربوط به تیمارهای مختلف نشان نداد و درصد این شاخص در تیمارهای مختلف بین ۸۰ تا ۸۴٪ بود. در این بین بیش‌ترین رطوبت در تیمار تلفیقی با عدد ۸۳/۹٪ به‌دست آمد و کم‌ترین مقدار نیز در تیمار باسیلوس با عدد ۸۱/۲٪ بود. نتایج مربوط به این فاکتور در شکل ۱ قابل مشاهده است.

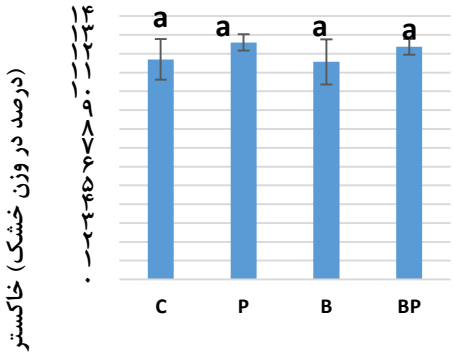
هم‌چنین در شاخص پروتئین لاشه نیز اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای مختلف مشاهده نشد. در این شاخص بیش‌ترین مقدار مربوط به تیمار P با عدد ۶۴/۵ درصد در وزن خشک بود و کمترین مقدار نیز مشترکاً به تیمارهای B و C با عدد ۶۲/۱ درصد تعلق گرفت. نتایج مربوط به این شاخص در شکل ۲ نشان داده شده‌اند.



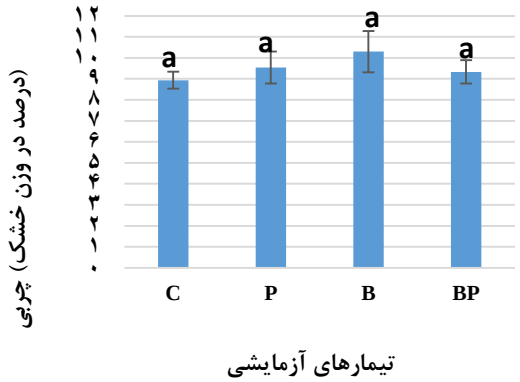
شکل ۱: نمودار میزان رطوبت لاشه در تیمارهای مختلف



شکل ۲: نمودار میزان پروتئین در لاشه تیمارهای مختلف



شکل ۳: نمودار مقادیر چربی لاشه در تیمارهای مختلف



شکل ۴: نمودار مقادیر خاکستر لاشه در تیمارهای مختلف

حروف غیرهمنام دارای اختلاف معنی‌دار است (P<۰/۰۵)

آنالیز آماری چربی در لاشه میگوهای مربوط به تیمارهای مختلف عدم اختلاف معنی‌دار بین میانگین تیمارهای مختلف را نشان داد. به‌عبارتی مصرف پروبیوتیک نتوانست در مدت زمان آزمایش تاثیری در این شاخص نسبت به تیمار شاهد ایجاد کند. در تیمار B بیش‌ترین میزان چربی دیده شد و کم‌ترین میزان نیز در تیمار C بود. نتایج مربوط به درصد چربی لاشه در شکل ۳ آمده است. میزان خاکستر اندازه‌گیری شده در لاشه میگوهای مربوط به تیمارهای مختلف نیز هیچ اختلاف معنی‌داری را نشان نداد. همان‌طورکه در شکل ۴ دیده می‌شود بیش‌ترین میزان خاکستر مربوط به تیمار P با عدد ۱۲/۶ درصد و کم‌ترین مقدار مربوط به تیمار B با عدد ۱۱/۵ درصد بود.

بحث

آرتمیا به‌عنوان ناقلی مناسب برای رساندن مواد مختلف مثل ترکیبات مغذی (Watanabe و همکاران، ۱۹۸۳)، مواد ضدمیکروبی (Dixon و همکاران، ۱۹۹۵)، واکسن (Campbell و همکاران، ۱۹۹۳) و پروبیوتیک (Gatesoupe، ۱۹۹۴) مورد استفاده است. به‌طورکلی برخی محققین اعتقاد دارند که استفاده از غذای زنده و یا فرموله برای انتقال پروبیوتیک کارآمدی بیش‌تری نسبت به اضافه نمودن مستقیم آن به آب دارد.برخی‌مطالعات‌روی میگوی سفید هندی (Ziaei-Nejad و همکاران، ۲۰۰۶)، میگوی وانامی (Wang، ۲۰۰۷)، تیلاپیای نیل (*O. niloticus*) و کپور معمولی (*C. carpio*) (Wang و Xu، ۲۰۰۶) و هم‌چنین ماهیان دریایی مثل درام قرمز (*Sciaenops ocellatus*) (Li و همکاران، ۲۰۰۵)، این موضوع را تایید کرده‌اند و استفاده از غذای فرموله شده و یا غذای زنده به‌عنوان ناقل پروبیوتیک به‌موجود میزبان را بهتر از اضافه نمودن آن به آب مطرح کرده‌اند. علت این‌که استفاده از غذای زنده‌مثل آرتمیا و روتیفر برای انتقال پروبیوتیک به‌درون دستگاه گوارش موجود میزبان، به‌عنوان یک راهکار مناسب مطرح می‌شود این است که پروبیوتیک قبل از این‌که به میزبان نهایی برسد، می‌تواند درون لوله گوارشی غذای زنده رشد و تکثیر کرده و به‌حالت اپتیمم فعالیت خود برسد. استفاده از پروبیوتیک اسیدلاکتیکی *P. acidilactici* در یک دوره ۶ هفته‌ای در تیلاپیای نیل منجر به ارتقا وضع سلامتی روده، شاخص‌های رشد و مصرف غذا در این ماهی شد (Standen و

همکاران، ۲۰۱۳). هم‌چنین نرخ بقا این ماهی هنگامی‌که از غذای حاوی باکتری‌های *B. subtilis* با *Lact. acidophilus* استفاده کرد نیز با افزایش همراه بود (Villamil و همکاران، ۲۰۱۴). در بخش پرورش میگو نیز طیف گسترده‌ای از پروبیوتیک‌ها در دوره پرواری و در دوره تولید لارو مورد بررسی و ارزیابی قرار گرفته‌اند که نتایج قابل توجهی نیز حاصل شده‌اند. در بررسی‌ای که روی میگوی آبی *(L. stylirostris)* صورت گرفت، باکتری *P. acidilactici* به‌عنوان پروبیوتیک تاثیرات مثبتی روی آنزیم‌های گوارشی، رشد و بقا این میگو در دوره پرواری آن داشت (Castex و همکاران، ۲۰۰۸). هم‌چنین در تحقیقی دیگر باکتری‌های *Pseu. aeruginosa* و *Ps. synxantha* سبب افزایش رشد در شاه میگوی غربی *(Penaeus latisulcatus)* شدند (Hai و همکاران، ۲۰۰۹).نتایج‌بررسی‌روی میگوی کروما *(Marsupenaeus japonicus)* نیز نشان داد که میزان یک گرم در کیلوگرم از باکتری‌های‌کشته شده *L. plantarum* سبب بهبود رشد و تغذیه و بقا در پست لارو این میگو شد (Thanh-Tung و همکاران، ۲۰۱۰). در مطالعه حاضر طبق نتایج حاصل شده بیش‌ترین میانگین وزن نهایی متعلق به تیمار تلفیقی از دو گونه پروبیوتیک پدیوکوکوس پنتوساسئوس و باسیلوس سابتیلیس بود که به تبع آن بیش‌ترین درصد WG و درصد SGR نیز از آن همین تیمار شد. البته پس از این تیمار به‌ترتیب تیمار باکتری باسیلوس و سپس پدیوکوکوس شاخص‌های‌رشدمطلوب‌تری نسبت به تیمار شاهد از خود نشان دادند. این نشان می‌دهد که استفاده از پروبیوتیک‌ها در رشد لاروهای میگو وانامی در مدت زمان اندک آزمایش تاثیر داشته و توانسته اختلاف معنی‌دار نسبت به تیمار شاهد ایجاد کند. در رابطه با میانگین بقای مربوط به تیمارهای مختلف نیز اختلاف معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد به‌وجود آمد. به‌عبارتی استفاده از پروبیوتیک‌های باکتریایی در میزان بقا لاروهای میگوی وانامی تاثیرگذار بود و در این بین بیش‌ترین تاثیر را استفاده تلفیقی از دو گونه باکتریایی داشت. هم‌سو با نتایج آزمایش حاضر، افزایش سطح فعالیت آنزیم‌های لیپاز، پروتئازوآمیلاز در میگوهای سفید هندی *(fenneropenaeus indicus)* تغذیه شده با پروبیوتیک باسیلوسی مشاهده‌شد و شاخص‌های رشد و بقا را بهبود بخشید (Ziaei-Nejad و همکاران، ۲۰۰۶). استفاده از گونه *B.coagulans* نیز در سه غلظت 10^5 ، $10^5\times 5$ و 10^6 تاثیرات مثبتی روی سطوح آنزیم‌های گوارشی و شاخص بقا در میگوی وانامی داشت (Zhou و همکاران، ۲۰۰۹). بقا ماهی تیلاپیای نیل نیز هنگامی‌که این ماهی از غذای حاوی *B.subtilis* یا *Lact. Acidophilus* استفاده کرد، افزایش‌یافت(Villamil و همکاران، ۲۰۱۴).در مطالعه‌ای اثرات باکتری پدیوکوکوس پنتوساسئوس روی شاخص‌های رشد و بقا در تاس‌ماهی سیبری *(Acipenser baerii)* مورد ارزیابی قرار گرفت که در نهایت استفاده از این باکتری منجر به بهبود شاخص‌های مذکور در این ماهی شد (مصلحی و همکاران، ۱۳۹۳). هم‌چنین در تحقیقی دیگر تاثیرات مفید باکتری‌های *P. acidilactici* و *L. lactis* به‌عنوان پروبیوتیک در میگوی وانامی بررسی شد که طبق نتایج این تحقیق میزان 10^9 CFU از پروبیوتیک در کیلوگرم جیره این میگو، تاثیرات معنی‌داری روی بهبود شاخص‌های رشد و بقا و مصرف غذا داشت و هم‌چنین موجب افزایش مقاومت این میگو در برابر عامل بیماری *V. parahaemolyticus* شد (احمدی و همکاران، ۱۳۹۳). البته در برخی مطالعات نیز نتایج عکس در رابطه با تاثیر پروبیوتیک‌ها بر رشد و بقا گزارش شده‌اند. به عنوان مثال McIntosh و همکاران (۲۰۰۰) پروبیوتیک متشکل از گونه‌های‌باسیلوسی‌را درمیگوی وانامی به‌کار بردندولی‌تاثیرمعنی‌داری روی فاکتورهای رشد این میگو مشاهده نشد. نتایج به‌دست آمده در این‌آزمایش‌درارتباط‌باترکیبات‌لاشه،نشان‌داد‌که‌استفاده از پروبیوتیک نتوانست تاثیری روی ترکیبات بیوشیمیایی لاشه بگذارد و اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای پروبیوتیکی و تیمار شاهد به‌وجود نیامد. هم‌سو با نتایج آزمایش حاضر مطالعه‌ای‌بود‌که روی لارو میگوی وانامی صورت‌گرفت‌و‌پروبیوتیک‌های‌باسویه‌های‌باسیلوسی‌تاثیری‌در تغییرات ترکیبات بیوشیمیایی لاشه نسبت به تیمار شاهد نداشتند (Jamali و همکاران،۲۰۱۵). هم‌چنین‌در مطالعه‌ای دیگر نیز عدم تفاوت معنی‌دار در آنالیز لاشه میگوی وانامی تغذیه شده با پروبیوتیک را نسبت به میگوی‌تیمار‌شاهد‌گزارش شد(YU و همکاران، ۲۰۰۹).البته مطالعاتی دیگر نیز نتایجی‌خلاف نتایج آزمایش حاضر را بیان داشته‌اند. گونه‌های لاکتوباسیلوسی‌موردمصرف‌گونه‌میگوبزرگ‌آب‌شیرین *(Macrobrachium rozenbergii)* روی ترکیبات بیوشیمیایی لاشه اثر معنی‌دار داشته‌اند (Venkat و‌همکاران، ۲۰۰۴).همین‌طور در مطالعاتی دیگر نیز این‌گونه گزارش‌شده‌است‌که‌گونه‌های‌پروبیوتیکی‌اسیدلاکتیک‌درمیگوی‌هندی (*Penaeus indicus*) (Fernandez و همکاران، ۲۰۱۱) و پروبیوتیک تجاری بیوژن در میگوی بزرگ آب شیرین (Saad و همکاران، ۲۰۰۹)، تاثیرگذار در شاخص‌های بیوشیمیایی لاشه میگوها بوده‌اند. به‌عنوان جمع‌بندی‌نهایی می‌توان‌گفت‌که نتایج این مطالعه نشان داد که آرتمیا به‌عنوان ناقلی مناسب برای انتقال پروبیوتیک به‌داخل سیستم لارو میگوی وانامی محسوب می‌شود و باکتری‌های مورد مصرف توانستند که تاثیر معنی‌دار روی رشد و بقا پست لارو میگوی وانامی بگذارند. در رابطه با اثرات این پروبیوتیک‌ها روی تغییرات ترکیبات بیوشیمیایی لاشه نیز باید گفت که تاثیرگذاری خاصی مشاهده نشده است و این باکتری‌ها از این نظر مورد تایید قرار گرفتند. از منظر استفاده تلفیقی و یا مجزای پروبیوتیک‌ها نیز باید گفت که استفاده تلفیقی‌آن‌ها موجب تجمیع اثرات مفید آن‌ها در لوله گوارش پست لاروهای میگو شده و مشاهده‌روند تغییرات در شاخص‌های‌رشد و بقا موید این موضوع است.

منابع

۱. **احمدی، س.، ۱۳۹۳.** مقایسه تاثیر پروبیوتیک پدیوکوکوس اسیدی لاکتیسی و لاکتوکوکوس لاکتیس بر شاخص‌های رشد، بقا و فعالیت‌های آنزیمی میگوی پاسفید غربی *(Litopenaeus vannamei)*. رساله دکتری، شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم تحقیقات. ۱۲۵ صفحه.

۲. **مصلحی، ف.؛ ستاری، م.؛ خوش‌خلق، م.ر.؛ شناورماسوله، ع.ر. و عباسعلی‌زاده، ع.ر.، ۱۳۹۳.** اثر پروبیوتیک پدیوکوکوس پنتوساسئوس *(Pediococcus pentosaceus)* بر عوامل رشد و ایمنی تاس‌ماهی سیبری *(Acipenser baerii)*. مجله علوم و فنون شیلات. دوره ۳، شماره ۴، صفحات ۸۱ تا ۹۲.

۳. **AOAC (Association of Official Analyatical Chemists). 1998.** Official Methods of Analysis, 16th ed. AOAC, Washington, DC, USA. 1141 p.

۴. **Boonthai, T.; Vuthiphandchai, V. and Nimrat, S., 2011.** Probiotic bacteria effects on growth and bacterial composition of black tiger shrimp *(Penaeus monodon)*. Aquac. Nutr. Vol. 17, pp: 634-644.

۵. **Campbell, R.; Adams, A.; Tatner, M.F.; Chair, M. and Sorgeloos, P., 1993.** Uptake of *Vibrio anguillarum* vaccine by *Artemia salina* as a potential oral delivery system to fish fry. Fish Shellfish Immun. Vol. 3, pp: 451-459.

۶. **Castex, M.; Chim, L.; Pham, D.; Lemaire, P.; Wabete, N.; Nicolas, J.L.; Schmidely, P. and Mariojouls, C., 2008.** Probiotic *P. acidilactici* application in shrimp *Litopenaeus stylirostris* culture subject to vibriosis in New Caledonia. Aquaculture. Vol. 275, pp: 182-193.

۷. **Dixon, B.A.; Van Pucke S.O.; Chair, M.; Demasque, M.; Nelis, H.J.; Sorgeloos, P. and De Leenheer, A.P., 1995.** Bioencapsulation of the antibacterial drug safrafloxacin in nauplii of the brine shrimp *Artemia franciscana*. J. Aquat. Anim. Health. Vol. 7, pp: 42-45.

۸. **Ergun, S.; Yigit, M. and Turker, A., 2003.** Growth and feed consumption of young rainbow trout exposed to different photoperiods. Israeli journal of Aquaculture, Bamidge. Vol. 55, No. 2, pp: 132-138.

۹. **Fernandez, R.; Sridhar, M. and Sridhar, N., 2011.** Effect of lactic acid bacteria administered orally on growth performance of Penaeus indicus (H. Milne Edwards) juveniles. Res J Microb. Vol. 6, pp: 466-479.

۱۰. **Fuller, R., 1989.** Probiotics in man and animal. J. Appl. Bacteriol. Vol. 66, pp :365-378.

۱۱. **Gatesoupe, F.J., 1994.** Lactic acid bacteria increase the resistance of turbot larvae, *Scophthalmus maximus*, against pathogenic *Vibrio*. Aquat. Living Resour. Vol. 7, pp:277-282.

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

۱۳. **Hai, N.V.; Buller, N. and Fotedar, R., 2009b.** The use of customised probiotics in the cultivation of western king prawns. Fish Shellfish Immunol. Vol. 27, pp: 100-104.

۱۴. **Hai, N.V.; Buller, N. and Fotedar, R., 2010b.** Encapsulation capacity of Artemia nauplii with customised probiotics foruse in the cultivation of western king prawns (*Penaeus latisulcatus*). Aquac. Res. Vol. 41, pp: 893-903.

۱۵. **Irianto, A. and Austin, B., 2002.** Probiotics in aquaculture. J. Fish Dis. Vol. 25, pp: 633-642.

۱۶. **Jamali, H.; Imani, A.; Abdollahi, D.; Roozbehfar, R. and Isari, A., 2015.** Use of Probiotic Bacillus spp. in Rotifer (*Brachionus plicatilis*) and Artemia (*Artemia urmiana*) Enrichment: Effects on Growth and Survival of Pacific White Shrimp, *Litopenaeus vannamei*, Larvae. Probiotics and Antimicro. Prot. Vol. 7, pp: 118-125.

۱۷. **Li, P.; Burr, G.S.; Goff, J.; Whiteman, K.W.; Davis, K.B.; Vega, R.R.; Neill, W.H. and Gatlin, D.M., 2005.** A preliminary study on the effects of dietary supplementation of brewers yeast and nucleotides, singularly or in combination, on juvenile red drum *(Sciaenops ocellatus)*. Aquac. Res. Vol. 36, pp: 1120-1127.

۱۸. **McIntosh, D.; Samocha, T.M.; Jones, E.R.; Lawrence, A.L.; McKee, D.A.; Horowitz, S. and Horowitz, A., 2000.** The effect of a commercial bacterial supplement on the high-density culturing of *Litopenaeus vannamei* with a low-protein diet in an outdoor tank system and no water exchange. Aquac. Eng. Vol. 21, pp: 215-227.

۱۹. **Montero, D.; Mathlouthi, F.; Tort, L.; Afonso, J.M.; Torrecillas, S.; Fernandez-Vaquero, A.; Negrin, D. and Izquierdo, M.S., 2010.** Replacement of diatary fish oil by vegetable oils affects humoral immunity and expression of pro-inflammatory cytokines genes in gilthead sea bream *(Sparus aurata)*. Journal of Fish and Shellfish Immunology. Vol. 29, pp: 1073-1081.

۲۰. **Moriarty, D.J.W., 1998.** Control of luminous Vibrio species in penaeid aquaculture ponds. Aquac. Vol. 164, pp: 351-358.

۲۱. **Newaj-Fyzul, A.; Adesiyun, A.A.; Mutani, A.; Ramsubhag, A.; Brunt, J. and Austin, B., 2007.** *Bacillus subtilis* AB1 controls *Aeromonas* infection in rainbow trout. J. Appl. Microbiol. Vol. 103, pp: 1699-1706.

۲۲. **Patra, S.K. and Mohamed, K.S., 2003.** Enrichment of Artemia nauplii with the probiotic yeast *Saccharomyces boulardii* and its resistance against a pathogenic *Vibrio*. Aquaculture International. Vol. 11, pp: 505-514.

۲۳. **Rengpipat, S.; Phianphak, W.; Piyatiratitivorakul, S. and Menasveta, P., 1998a.** Effects of a probiotic bacterium on black tiger shrimp *Penaeus monodon* survival and growth. Aquaculture. Vol. 167, pp: 301-313.

۲۴. **Rollo, A.; Sulpizio, R.; Nardi, M.; Silvi, S.; Orpianesi, C. and Caggiano, M., 2006.** Live microbial feed supplement in aquaculture for improvement of stress tolerance. Fish Physiol. Biochem. Vol. 32, pp: 167-177.

۲۵. **Saad, S.A.; Habashy, M.M. and Sharshar, M.K., 2009.** Growth response of the freshwater prawn, Macrobrachium rosenbergii (De Man), to diets having different levels of Biogen. World Appl. Sci. J. Vol. 6, pp: 550-556.

۲۶. **Silva, E.F.; Soares, M.A.; Calazans, N.F.; Vogeley, J.L.; Do Valle, B.C.; Soares, R. and Peixoto, S., 2013.** Effect of probiotic (*Bacillus* spp.) addition during larvae and postlarvae culture of the white shrimp *Litopenaeus vannamei*. Aquac. Res. Vol. 44, pp: 13-21.

۲۷. **Standen, B.T.; Rawling, M.D.; Davies, S.J.; Castex, M.; Foey, A. and Gioacchini, G., 2013.** Probiotic *Pediococcus acidilactici* modulates both localized intestinal- and peripheral-immunity in tilapia (*Oreochromis niloticus*). Fish Shellfish Immunol. Vol. 35, No. 4, pp: 1097-104.

۲۸. **Thanh Tung, H.; Koshio, S. and Traifalgar, R.F., 2010.** Effects of Dietary Heat-killed *Lactobacillus plantarum* on Larval and Post-larval Kuruma Shrimp, *Marsupenaeus japonicus* Bate. World Aquacul Society. Vol. 41, pp: 16-27.

۲۹. **Venkat, H.K.; Sahu, N.P. and Jain, K.K., 2004.** Effect of feeding *lactobacillus* based probiotics on the gut micro flora, growth and survival of post larvae of *Macrobranchium reosenbergii*. Aquaculture Res. Vol. 35, pp: 501-507.

۳۰. **Verschuere, L.; Rombaut, G.; Sorgeloos, P. and Verstraete, W., 2000.** Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture. Microbiol. Mol. Bio. Rev. Vol. 64, pp: 655- 671.

۳۱. **Villamil, L.; Reyes, C. and Martınez-Silva, M.A., 2014.** In vivo and in vitro assessment of *Lactobacillus acidophilus* as probiotic for tilapia (*Oreochromis niloticus*, *Perciformes*: *Cichlidae*) culture improvement. Aqua. Res. 45, pp: 1116-1125.

۳۲. **Wang, Y.B. and Xu, Z.R., 2006.** Effect of probiotics for common carp (*Cyprinus carpio*) based on growth performance and digestive enzyme activities. Anim. Feed Sci. Technol. Vol. 127, pp: 283-292.

۳۳. **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.

۳۴. **Watanabe, T.; Kitajima, C. and Fujita, S., 1983.** Nutritional values of live organisms used in Japan for mass propagation of fish: a review. Aquacul. Vol. 34, pp: 115-143.

۳۵. **Yang, H.G.; Liu, Y.J.; Tian, L.L.; Liang, Y.G. and Lin, H.R., 2010.** Effects of supplemental Lysin and Methionine on Growth Performance and body compsosition for Grass Carp (*Ctenopharyngodon idella*). Agricultural and Biological. Vol. 5, No. 2, pp: 222-227.

۳۶. **Yu, M.C.; Li, Z.J.; Lin, H.Z.; Wen, G.L. and Ma, S., 2009.** Effects of dietary medicinal herbs and *Bacillus* on survival, growth, body composition, and digestive enzyme activity of the white shrimp. Aquaculture Int. Vol. 17, pp: 377-384.

۳۷. **Zhou, X.X.; Wang, 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.

۳۸. **Ziaei-Nejad, S.; Rezaei, M.H.; Takami, G.A.; Lovett, D.L.; Mirvaghefi, A. and Shakouri M., 2006.** The effect of Bacillus spp. bacteria used as pro-biotics on digestive enzyme activity, survival and growth in the Indian white shrimp Fenneropenaeus indicus. Aquaculture. Vol. 252, pp: 516-524.