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

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

تاریخ دریافت: فروردین ۱۳۹۳ تاریخ پذیرش: تیر ۱۳۹۳

چکیده

هدف از انجام این مطالعه، بررسی تاثیر استفاده از باکتری‌های *Bacillus subtilis* و *Bacillus licheniformis*، بر شاخص‌های رشد میگوی وانامی (*Litopenaeus vannamei*) در تراکم‌های مختلف می باشد. در این تحقیق میگوها پس از ذخیره سازی با دو تیمار ۲۵۰و ۳۰۰ قطعه در هر متر مربع هرکدام به‌وسیله دو غلظت پروبیوتیکی ۱۰۱۰×۴ واحد تشکیل‌دهنده کلنی بر گرم و ۱۰۱۰×۱ واحد تشکیل‌دهنده کلنی بر گرم) به‌مدت 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 ۱۰۱۰×۴ واحد تشکیل دهنده کلنی بر گرم) و T٤ (تراکم ۲۵۰، پروبیوتیک ۱۰۱۰×۴ واحد تشکیل دهنده کلنی بر گرم) نسبت به گروه شاهد C۱ (۳۰۰ با غلظت پروبیوتیک صفر) و C۲ (تراکم۲۵۰ با غلظت پروبیوتیک صفر) دارای اختلاف معنی‌داری بود (p<۰/۰۵). در تیمارهای T۱ (تراکم ۳۰۰، پروبیوتیک ۱۰۱۰×۱ واحد تشکیل‌دهنده کلنی بر گرم) و T۳ (تراکم ۲۵۰، پروبیوتیک ۱۰۱۰×۱ واحد تشکیل‌دهنده کلنی بر گرم) رابطه معنی‌داری با گروه شاهد و تیمارهای T۲ وT٤ نشان نداد. تاثیر 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 ۱۰۱۰×۴ واحد تشکیل‌دهنده کلنی بر گرم و ۱۰۱۰×۱واحد تشکیل‌دهنده کلنی بر گرم استفاده شده بود، نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌داری بین این تیمارها بود (p<۰/۰۵). براساس نتایج این آزمایش، استفاده از غلظت ۱۰۱۰×۴ واحد تشکیل‌دهنده کلنی بر گرم سبب بهبود شاخص‌های رشد، ترکیبات لاشه و فلور باکتریایی دستگاه گوارش میگوی وانامی شد، اما تراکم تاثیر قابل توجهی بر شاخص‌های رشد و ترکیبات لاشه نداشت. بنابراین پیشنهاد می‌شود که جهت افزایش میزان تولید میگوی وانامی از غلظت ۱۰۱۰×۴ واحد تشکیل‌دهنده کلنی بر گرم استفاده شود.

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

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: Hamidraisi444@gmail.com

مقدمه

آبزی‌پروری در سرتاسر جهان به‌واسطه افزایش تقاضا و کاهش ذخایر آبزیان به‌شدت درحال افزایش است. به‌همین منظور افزایش تولید از طریق روش‌های پرورشی و افزایش تراکم از روش‌هایی است که می‌تواند تاثیر قابل توجه‌ای روی حفظ ذخایر آبزیان 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، ۲۰۱۳). یکی از گونه‌هایی که تحمل تراکم‌پذیری را تا ۱۵۰ عدد در استخرهای پرورش دارد گونه وانامی می‌باشد، این گونه را به‌راحتی در شرایط کنترل شده با تراکم ۴۰۰ عدد در هکتار می‌توان پرورش داد (Berigss، ۲۰۰۴). 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 (Sooking، ۲۰۱۲). با توجه به گسترش پرورش میگو به‌طور فوق متراکم ممکن است، محدودیت‌هایی از جمله؛ افزایش بیماری‌های عفونی و غیرعفونی، افزایش مواد مانند نیتریت (Yusoff، ۲۰۱۱)، آمونیاک و فسفر که خود حالت مسمومیتی را برای میگو ایجاد کرده و مشکلاتی را در بحث پرورش فوق متراکم به‌وجود آورد (Kumaraguru، ۲۰۰۹). بنابراین نیاز است که از طریق روش‌های گوناگون از جمله اصلاح روش‌های پرورش (Castex، ۲۰۱۰)، استفاده از مدیریت باکتریائی به‌منظور تغییر فلور باکتریای آب بر افزایش تراکم‌پذیری فائق آمده (Tasang، ۲۰۱۲) و توانسته تا حدودی استرس‌هاس موجود را کاهش دهد. پروبیوتیک‌ها میکروارگانیزم‌های زنده‌ای هستند که به میزبان خود سود می‌رسانند. باسیلوس‌ها از پروبیوتیک‌های غالب می‌باشد که به‌طور عمومی استفاده می‌گردند (Zhou، ۲۰۰۹). مطالعات متعدد نشان می‌دهد که این پروبیوتیک می‌تواند تاثیر موثری بر بهبود رشد، مقاومت نسبت به بیماری‌ها و تحریک دستگاه ایمنی (Zhang، ۲۰۱۰) میگو (Rengpipat، ۲۰۰۰) 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، ۲۰۱۰).

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

مواد و روش‌ها

پروبیوتیک: پروبیوتیک استفاده شده در این مطالعه حاوی اسپورهای دو گونه از 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 صوررت گرفت. براین 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 گمیشان بر پست لارو مرحله ۱۲ وانامی (وزن تقریبی۰/۲۹گرم) در ۱۸ تانک ۲۰۰ لیتری انجام پذیرفت. این آزمایش شامل شش تیمار با سه تکرار بود. تیمار T_1 شامل میگوهایی با تراکم ۳۰۰قطعه در مترمربع و غلظت پروبیوتیک 1×10^{10} واحد تشکیل‌دهنده کلنی بر گرم غذا، T_2 تراکم ۳۰۰ قطعه در متر مربع و غلظت پروبیوتیک 4×10^{10} واحد تشکیل‌دهنده کلنی بر گرم غذا، T_3 تراکم ۲۵۰ قطعه در مترمربع و غلظت پروبیوتیک 1×10^{10} واحد تشکیل‌دهنده کلنی بر گرم غذا و T_4 تراکم ۲۵۰ قطعه در متر مربع و غلظت پروبیوتیک 4×10^{10} واحد تشکیل دهنده کلنی بر گرم غذا به‌همراه دو تیمار شاهد C_1 با تراکم ۳۰۰ قطعه میگو در مترمربع و C_2 با تراکم ۲۵۰ قطعه میگو در مترمربع بودند که به‌مدت هشت هفته از تیر تا شهریور با میانگین دمایی ۲۸ درجه سانتی‌گراد، شوری ۳۲ گرم در لیتر، و اکسیژن محلول ۹/۸ میلی‌گرم در لیتر ذخیره‌سازی شدند (Moss، ۲۰۰۴).

شمارش تعداد باکتری‌ها: به‌منظور نمونه‌برداری میگوها به آزمایشگاه انتقال داده شدند، نمونه‌ها از نطر 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 هموژن و سپس به‌مدت ۶۰ ثانیه توسط همزن همگن شدند. تعداد کل باکتری‌ها از طریق روش Rengpipat و همکاران (۱۹۹۸) و Ziaei-Nejad و همکاران (۲۰۰۶) 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 هموژنه بودند در داخل یک لوله ریخته، سپس یک سی‌سی از این مواد برداشته و در داخل یک لوله ریخته و سپس به‌طور سریالی به

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 به‌مدت 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 غذائی مصرفی به مقدار ۳ درصد وزن بدن میگو بر حسب جیره روزانه تعیین گردید (Ziaei 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) × ۱۰۰/ دوره پرورش

فرمول **(۲)** FCR:

وزن تر میگو با تولید / وزن خشک غذای خورده شده

تجزیه و تحلیل آمار: طرح کلی این تحقیق در قالب طرح کاملاً تصادفی می‌باشد. اطلاعات به‌دست آمده به‌منظور 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<۰/۰۵) تعیین گردید. تمام موارد با استفاده از نرم‌افزار SPSS-۱۶ انجام گرفت.

نتایج

نتایج تاثیر پروبیوتیک بر فاکتورهای رشد میگوی وانامی در جداول 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_3 و T_1) سطح بالاتری قرار داشتند و اختلاف معنی‌داری نیز با شاهد برقرار کرد (P<۰/۰۵). تیمارهای T_3 و T_1 که نسبت به تیمار T_2 و T_4 مقدار کم‌تری را نشان داده بود (P>۰/۰۵)، ارتباط معنی‌داری را با تیمار شاهد (C_1 و C_2) برقرار نکرد (P>۰/۰۵).

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

تیمارها	(٪) بازماندگی	(٪) نرخ رشد ویژه	ضریب تبدیل غذایی(٪)	تولید کل (گرم)	وزن نهای(گرم)
T_1	۹۳/۳±۰/۳^{ab}	۱۴/۶±۰/۳^{ab}	۱±۰/۰۳^{ab}	۲۸۲۹±۶۵^{ab}	۱۰/۳±۰/۲^{ab}
T_2	۹۴/۶ ±۰/۴^{a}	۱۴/۸ ±۰/۳^{a}	۱ ±۰/۰۸^{a}	۲۸۵۶±۷۵^{a}	۱۰/۶ ±۰/۰۵^{a}
T_3	۹۴/۸ ±۰/۱^{ab}	۱۵/۳ ±۰/۱^{ab}	۱ ±۰/۰۶^{ab}	۲۵۴۲±۷۲^{ab}	۱۰/۸ ±۷/۰۷^{ab}
T_4	۹۵ ±۰/۸^{a}	۱۵/۴± ۰^{a}	۰/۹ ±۰/۰۷^{a}	۲۶۴۱±۶۵^{a}	۱۱/۰۴±۰/۲^{a}
C_2	۹۳.±۰/۶^{b}	۱۴/۱ ±۰/۲^{b}	۱/۲ ±۰/۰۳^{b}	۲۳۵۱ ±۶۵^{b}	۹/۹ ±۰/۲^{b}
C_1	۹۱/۶ ±۰/۶^{b}	۱۴/۰۲±۰/۵^{b}	۱/۳±۰/۱^{b}	۲۷۷۹ ±۷۱^{b}	۹/۹±۰/۴^{b}

(± میانگین با ۳ تکرار) حروف متفاوت در یک ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

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

تیمارها	طول کاراپاس (سانتی‌متر)	طول کل (سانتی‌متر)
T_1	۳/۸ ±۰/۴^{ab}	۱۴/۳±۰/۱^{ab}
T_2	۳/۹±۳/۱^{a}	۱۴/۳±۰/۶^{a}
T_3	۳/۸±۰/۶^{ab}	۱۴/۳±۰/۱^{b}
T_4	۴±۰/۱^{a}	۱۴/۸ ±۰/۵^{a}
C_2	۳/۳±۰/۱^{b}	۱۳/۵±۰/۰^{b}
C_1	۳/۳±۰/۱^{b}	۱۳/۲±۰/۱^{b}

(± میانگین با ۳ تکرار) حروف متفاوت در یک ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

مقایسه با تیمار شاهد و T_1، T_3 در سطح بالاتری قرار داشت (p>۰/۰۵)، و با C_1 و C_2 اختلاف معنی‌داری نشان داد (p<۰/۰۵). ضریب تبدیل غذایی در تیمارهای آزمایش T_4، T_2، 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<۰/۰۵).

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 معنی داری برقرار کردند (p>۰/۰۵). بازماندگی در برخی از تیمارها مانند T_4 و T_2 به‌خوبی ارتقاء یافت و دارای بیش‌ترین مقدار بود که مانند سایر تیمارها توانست با تیمار شاهد ارتباط معنی‌داری برقرار کند

($p<۰/۰۵$). تیمارهای $T_۱$ و $T_۳$ در تمام شاخص‌های رشد نسبت به تیمار شاهد $C_۱$ و $C_۲$ افزایش، با تیمارهای $T_۴$ و $T_۲$ کاهش غیرمعنی‌داری را نشان داد ($p>۰/۰۵$). تاثیر تراکم در کلیه موارد نشان‌دهنده عدم تاثیر آن بر شاخص‌های رشد در تمام تیمارهایی بود که دارای تراکم ۲۵۰ و ۳۰۰ قطعه با هم بودند. بنابراین تراکم نتوانست هیچ تاثیری بین تیمارها ایجاد کند.

آنالیز لاشه: نتایج آنالیز لاشه در جدول ۳ آمده است.

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

تیمارها	خاکستر	چربی	پروتئین	ماده خشک
$T_۱$	۱۲/۲±۰/۱۴^{a}	۲/۸±۰/۱۱^{ab}	۶۱/۴±۰/۳۵^{ab}	۳۹/۷۳±۱/۳^{a}
$T_۲$	۱۲/۳±۰/۸^{a}	۲/۹±۰/۳۳^{a}	۶۲/۳±۰/۳۳^{a}	۴۱/۳±۰/۸^{a}
$T_۳$	۱۲/۴±۰/۱۲^{a}	۲/۹±۰/۱۲^{ab}	۶۱/۶±۰/۳۴^{ab}	۴۰/۶±۰/۶^{a}
$T_۴$	۱۲/۴±۰/۱۷^{a}	۳/۲±۰/۱۵^{a}	۶۲/۱±۰/۵۴^{a}	۴۰/۶±۰/۸^{a}
$C_۱$	۱۲/۵±۰/۳^{a}	۲/۶±۰/۱۸^{b}	۶۰/۵±۰/۵^{b}	۳۹/۵±۰/۴^{a}
$C_۲$	۱۲/۳±۰/۰۸^{a}	۲/۹±۰/۱۷^{b}	۶۱/۷±۰/۵^{b}	۴۰/۵±۰/۵^{a}

(± میانگین با ۳ تکرار) حروف متفاوت در یک ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار است ($P<۰/۰۵$).

ماده خشک: براساس بررسی انجام شده (جدول ۳)، تیمار ۴ Tدارای بیش‌ترین مقدار و $C_۲$ کم‌ترین مقدار را نشان داد. با توجه به افزایشی که $T_۴$ نسبت به ماده خشک در برابر گروه‌ها از خود نشان داده بود این افزایش در مقدار ماده خشک تیمار $T_۴$ باعث نشد که بین تیمارهای $T_۴$ و $T_۲$ با تیمارهای $T_۱$ و $T_۳$ ارتباط معنی‌داری برقرار کند ($p>۰/۰۵$). اما استفاده از پروبیوتیک در گروه‌های $T_۴$ و $T_۲$ سبب شد که بین این گروه‌ها و گروه‌های شاهد $C_۱$ و $C_۲$ ارتباط معنی‌داری برقرار شود ($P<۰/۰۵$). ولی بین گروه‌های شاهد با گروه‌های $T_۱$ و $T_۳$ ارتباط معنی‌داری مشاهده نشد ($p>۰/۰۵$).

خاکستر: استفاده از پروبیوتیک با غلظت بالا سبب گردد که تیمارهای $T_۴$ و $T_۲$ بیش‌ترین مقدار خاکستر را داشته باشند. ولی با تیمارهای دیگر $T_۱$ و $T_۳$ که مقدار غلظت متفاوتی از پروبیوتیک را دریافت کرده بودند، ارتباط معنی‌داری را برقرار نکرد ($p>۰/۰۵$). میزان خاکستر در تیمارهای $T_۴$، $T_۲$، $T_۱$ و $T_۳$ به‌دلیل استفاده از پروبیوتیک نسبت به $C_۱$ و $C_۲$ بیش‌ترین مقدار را از خود نشان دادند ولی با توجه به این مورد با این تیمارها (شاهد) اختلاف معنی‌داری نشان ندادند ($p>۰/۰۵$) (جدول۳). نتایج نشان می‌دهند که استفاده از تراکم فقط جز به افزایش محسوس نمی‌تواند تاثیر قابل توجه‌ای روی خاکستر موجود در بدن میگو داشته باشد ($P<۰/۰۵$). 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 گروه شاهد $C_۱$ و $C_۲$ سبب کاهش در مقدار چربی موجود در لاشه این تیمارها می‌شود، که نسبت به گروه $T_۱$ و $T_۳$ افزایش معنی‌داری را نشان نداد ($P<۰/۰۵$). نتایج برآمده از جدول ۳، تیمار $T_۴$ بیش‌ترین مقدار و $C_۱$ کم‌ترین مقدار چربی لاشه را به خود اختصاص داده بودند که به‌همین منظور بین تیمارهای تغذیه شده با غلظت‌های بالای پروبیوتیک $T_۲$ و $T_۴$ با تیمارهای تغذیه نشده در این بخش ارتباط معنی‌داری وجود داشت ($p<۰/۰۵$). 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 ($P>۰/۰۵$) (جدول۳).

پروتئین: تاثیر سطوح مختلف مکمل‌های پروبیوتیک باسیلوس بر پروتئین ترکیب لاشه میگو، مطابق جدول ۳ می‌باشد. گروه‌های شاهد $C_۱$ و $C_۲$ دارای کم‌ترین مقدار و $T_۲$ و $T_۴$ دارای بیش‌ترین مقدار پروتئین در ترکیبات لاشه بود. که این اختلاف بین دو گروه باعث ایجاد ارتباط معنی‌داری شد ($P<۰/۰۵$)، ولی بین دو گروه $T_۱$ و $T_۳$ با $T_۲$ و $T_۴$ اختلاف معنی‌داری نبود ($P>۰/۰۵$). تیمارهای $T_۱$ و $T_۳$ که دارای غلظت پروبیوتیکی پایین بودند علی‌رغم استفاده از پروبیوتیک رابطه آن با گروه شاهد $C_۱$ و $C_۲$ معنی‌داری نبود ($p>۰/۰۵$). با توجه به آنالیزهای فوق، غلظت بالای پروبیوتیکی را می‌توان به‌عنوان یک عامل مثبت بر پروتئین موجود در لاشه میگو درنظر 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

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 T_4 به‌دلیل استفاده از غلظت بالای پروبیوتیک تمام پارامترهای رشد دارای بیش‌ترین مقدار بودند ولی تیمارهای شاهد به‌دلیل 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، ۲۰۰۶).

Harotizer و همکاران (۲۰۰۰) خاطر نشان ساختند یکی از مواردی که پروبیوتیک‌ها ممکن است بر میزان ضریب تبدیل غذایی تاثیر داشته باشند، استفاده غذای خورده نشده به‌وسیله 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 پلانگتون‌ها، در نهایت موجب افزایش تولید در استخر می‌شود. Wang و همکاران (۲۰۰۷) نشان دادند که باسیلوس‌ها دارای آنزیم‌های خارج سلولی از جمله آمیلاز، لیپاز و پروتئاز بوده که قابلیت مکمل‌سازی با جیره‌های غذایی ماهیان به‌منظور 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، ۲۰۱۲).

آن‌چنان‌که از نتایج این آزمایش برمی‌آید (جدول۲)، 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 (۲۰۱۳) 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 باکتری‌ها با تولید آنزیم‌هایی نظیر آمیلاز، پروتئاز و لیپاز (Tovar، ۲۰۰۲) سبب افزایش آنزیم‌ها و افزایش قابلیت هضم چربی‌ها و پروتئین می‌گردند، درنهایت رشد، کارایی تغذیه و ترکیبات موجود در لاشه را افزایش می‌دهد (Ray، ۲۰۱۰). مطابق نتایج میزان خاکستر و ماده خشک دو تیمار شاهد و پروبیوتیکی با هم هیچ ارتباط معنی‌داری از خود نشان نداند ($P>0/05$)، اما میزان ترکیبات پروتئین و چربی لاشه در تیمارهای T_1، T_3 و T_4، T_2 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 به‌واسطه افزایش آنزیم لیپاز در موجود زنده می‌باشد (Iranto، ۲۰۰۰). از آن‌جایی‌که میگوی وانامی توانایی پرورش در شرایط گوناگون محیط و متراکم بالا را دارد (Maia، ۲۰۱۱)، از این‌رو از این گونه می‌توان در شرایط فوق متراکم (بالای ۳۰۰ عدد در مترمربع) استفاده کرد (Ray، ۲۰۱۰). استفاده از باکتری پروبیوتیک در پرورش متراکم یکی از مهم‌ترین روش‌های محافظتی به‌منظور مقابله با باکتری‌ها می‌باشد (Kongnum، ۲۰۱۱). بعضی از نژادهای پروبیوتیک موادی قوی مانند مواد ضدپاتوژن و ضدآلرژی از خود ترشح کرده و باعث بهبود رشد میگو می‌شوند (Laiho، ۲۰۰۲). بیش‌تر باکتری‌های پروبیوتیکی در دستگاه گوارش از مواد غذایی و فضاء، با باکتری‌های مضر رقابت کرده و باعث کاهش آن‌ها می گردد (Liu، ۲۰۱۰). 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، ۲۰۱۰). از این‌رو نقش آنزیم‌های گوارشی در جذب مواد نیز بسیار ضروری می‌باشد که این باکتری‌ها نقش اساسی را در هضم غذا برعهده دارند (Manuch، ۲۰۱۳) که سبب افزایش آنزیم‌های هضم‌کننده، شده که یکی از این آنزیم‌ها، آمیلاز است (Sarez-cruz، ۲۰۰۹) که نقش کلیدی در تعیین قابلیت هضم و تجمع پروتئین در دستگاه گوارش دارد (Manuch، ۲۰۱۳). 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، ۲۰۰۶). باکتری‌های پروبیوتیکی موجود در دستگاه گوارش ماهی سبب افزایش ساخت و ترشح آنزیم‌های گوارشی در میزبان شده (Manuch، ۲۰۱۳) 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 به‌طور قابل توجه‌ای افزایش می‌دهد (Maia، ۲۰۱۱). Liu و همکاران (۲۰۱۰) عنوان کردند که میزان پروتئین لاشه در بدن ممکن است تحت تاثیر 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 تاثیر مهمی داشته باشد. با توجه به تاثیرات مثبتی که برای پروبیوتیک گزارش شد پیشنهاد می‌شود تاثیر 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 fructooliggrowth 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 Mariojouls, C., 2008.** Probiotic P. acidilactici application in shrimp *Litopenaeus stylirostris* culture subject tovibriosis 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 inpractical 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 probictics to controlfurunculosis 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 indivi-duals. 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 shrimpon 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 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.; Piyatiratit ivorakul, 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 systemand 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 enzymeactivity 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.