

بررسی اثر روتیفر غنی شده با پروبیوتیک بر میزان بازماندگی و مقاومت لارو میگوی سفید

غربی (*Litopenaeus vannamei*) در برابر تنش های شوری و فرمالین

نسیم نجمی^{(۱)*}؛ مازیار یحیوی^(۱)؛ فلورا محمدی زاده^(۱)؛ حجت ا... فروغی فرد^(۲)؛ هومن پورخسرو^(۱)

Najmi.nassim@yahoo.com

۱- دانشگاه آزاد اسلامی واحد بندرعباس، صندوق پستی: ۱۳۱۱-۷۹۱۵۹

۲- پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان، بندرعباس، ایران، صندوق پستی: ۷۹۱۴۵-۱۵۹۷

تاریخ پذیرش: اسفند ۱۳۸۹

تاریخ دریافت: دی ۱۳۸۹

چکیده

این تحقیق با هدف بررسی عملکرد باکتری های لاکتوباسیلوس (*Lactobacillus spp.*) به عنوان پروبیوتیک بر میزان مقاومت لارو میگوی سفید غربی (*Litopenaeus vannamei*) در برابر تست های تنش انجام پذیرفت. در این مطالعه لاروهای میگوی سفید غربی از مرحله M₁ الی PL₅ در سطل های پلاستیکی ۲۰ لیتری که تا ۱۰ لیتر آن آبگیری شده بودند با تراکم ۵۰ عدد لارو در لیتر ذخیره سازی و به صورت طرح کاملاً تصادفی در قالب ۲ تیمار آزمایش به نام های A (تغذیه از روتیفر غنی شده با پروبیوتیک) و B (تغذیه از روتیفر غنی شده با پروبیوتیک به همراه پودر پروبیوتیک حل شده در آب) و شاهد یا C (بدون دریافت پودر پروبیوتیک) به همراه ۳ تکرار بصورت ۶ وعده در روز، تغذیه و مورد بررسی قرار گرفتند. در پایان دوره (پس از ۸ روز) لاروهای میگو توسط تنش های شوری (۱۰ ppt و ۴۵) و فرمالین (۱۰۰ ppm) آزمایش گردیدند. نتایج نشان داد که باکتری های پروبیوتیکی بکار رفته بر روی میزان مقاومت میگوها تاثیرات مثبت و معنی داری گذاشتند ($P < 0.05$) به گونه ای که درصد بازماندگی کل و همچنین نرخ بقاء ناشی از تنش های شوری و فرمالین در تیمارهای حاوی پروبیوتیک (A و B) بطور معنی دار و چشم گیری نسبت به شاهد بهبود یافت ($P < 0.05$). بیشینه میزان بازماندگی و مقاومت در میگوهای تیمار B مشاهده شد که با تیمار A از لحاظ آماری هیچ گونه تفاوت معنی داری نداشت ($P > 0.05$). تحقیق حاضر نشان داد که استفاده از پروبیوتیک با هدف افزایش مقاومت و بازماندگی لارو میگوی سفید غربی می تواند سودمند و مفید باشد.

کلمات کلیدی: پروبیوتیک، بازماندگی، *Litopenaeus vannamei*، تست های استرس.

۱. مقدمه

امروزه گونه های متعدد میگو در سراسر دنیا تکثیر و پرورش داده می شوند. یکی از این گونه ها میگوی سفید غربی می باشد. این گونه برای اولین بار در سال ۱۳۸۳ توسط موسسه تحقیقات شیلات ایران وارد کشور شد و از آنجا که این میگو در کشور به عنوان یک گونه جدید به شمار می رود، باید کلیه جوانب امر در زمینه تکثیر و پرورش آن در شرایط آب و هوایی ایران به دقت مورد بررسی قرار گیرد (۲). لذا با توجه به توسعه طرح های پرورش میگو در مناطق مستعد کشور، نیاز به لاروهای با کیفیت مناسب و قوی جهت این صنعت و این گونه جدید روز به روز افزایش می یابد. از طرفی پرورش میگو در مراحل لاروی بسیار حساس و مهم بوده و تلفات عمده ای را اغلب بروز می دهد، یکی از مواردی که می تواند به افزایش رشد و بازماندگی لاروهای میگو کمک نماید دقت در رساندن مواد غذایی غنی تر در تغذیه آنها است (۸). این امر نیازمند بکارگیری تکنیک های نوین در جهت توسعه پایدار آبی پروری می باشد. در بین تکنیک های معرفی شده، استفاده از باکتری های مفید یا زیست یارها می تواند نقش بسیار ارزنده ای را در جهت نیل به اهداف ذکر شده ایفا نماید (۵). بکارگیری پروبیوتیک ها به صورت علمی برای اولین بار توسط الی مچینکف صورت پذیرفت (۷). واژه پروبیوتیک یک واژه یونانی به معنای «برای زندگی» می باشد (۱۴). در واقع پروبیوتیک ها باکتری های مفیدی هستند که از طریق بهبود تعادل میکروبی روده تاثیرات سودمندی را بر سلامت و رشد میزبان می گذارند (۱۳). بر این اساس ایده استفاده از پروبیوتیک ها جهت افزایش رشد و سلامت آبزیان پرورشی را می توان ارائه داد.

درخصوص کاربرد پروبیوتیک ها در آبی پروری مطالعات زیادی در سطح دنیا صورت گرفته است. در همین راستا تحقیقات صورت گرفته توسط جعفریان و همکاران در سال ۱۳۸۹ نشان داد که بکارگیری ۴ گونه از لاکتوباسیلوس های زیست یار به عنوان پروبیوتیک در جیره های آزمایشی لاروهای

ماهی قزل آلی رنگین کمان تاثیرات بسیار مثبتی را بر معیارهای تغذیه ای از جمله کاهش ضریب تبدیل غذایی، ارتقاء کارایی تبدیل غذایی و همچنین میزان رشد و بقاء آنها داشت (۶). همچنین باکتری لاکتوباسیلوس فروکتیورانس (*Lactobacillus fructivorans*) ایزوله شده از شانک ماهی و نیز لاکتوباسیلوس پلانناروم (*L. plantarum*) ایزوله شده از مدفوع انسان، پس از غنی سازی ناپلی آرمیا فرانسیسکانا (*Artemia franciscana*) در طی تغذیه، باعث افزایش رشد و بقاء این ماهی گردید (۱۱).

تاکنون در مورد تاثیر باکتریهای لاکتوباسیلوس به عنوان پروبیوتیک بر روی میگوی سفید غربی در داخل کشور اطلاعات چندانی در دسترس نداریم. نتایج این تحقیق بدون تردید به افزایش تولید و کاهش استفاده از مواد شیمیایی و داروها در آبی پروری بخصوص در بخش میگو کمک خواهد کرد. بنابراین در مطالعه حاضر سعی شده است با هدف ارزیابی اثر لاکتوباسیلوس های تجاری بعنوان پروبیوتیک از طریق غنی سازی روتیفر (۱۰) و افزودن پودر آن به محیط آب به نقش آن در بهبود میزان مقاومت و کیفیت لارو میگوی سفید غربی پرداخته شود.

۲. مواد و روش ها

نوع پروبیوتیک مصرفی: در این تحقیق از باکتری های پروبیوتیک در قالب یک فرآورده پودری ساخت شرکت پروبیوتیک انترنشنال^۱ انگلستان با نام تجاری پروتکسین شامل ۷ سویه از لاکتوباسیلوس های زیست یار استفاده شد. محصول نامبرده از شرکت نیکوتک واقع در تهران تهیه گشت. این فرآورده باکتریایی حاوی تعداد $10^9 \times 2$ سلول باکتری در هر گرم بود.

پرورش و غنی سازی روتیفر: روتیفرهای (*Brachionus plicatilis*) مورد نیاز جهت تغذیه لاروهای میگوی سفید غربی

^۱. Probiotic International

ابتدا در ظروف ۱/۵ و سپس ۲۰ لیتری کشت و در نهایت جهت تولید انبوه به مخازن فایبرگلاس ۳۰۰ لیتری در فضای آزاد انتقال داده و با جلبک کلرلا و تتراسلمیس تغذیه شدند. روزانه قبل از تغذیه میگوها با روتیفر غنی شده، روتیفرها برداشت و پس از شستشو، به سطل های ۲۰ لیتری منتقل و با تعیین تراکم آنها، غنی سازی انجام گرفت. به جهت غنی سازی، از پودر پروبیوتیک به میزان 0.43 mg/ml با توجه به تراکم روتیفرها (indv/ml ۳۰۰-۲۰۰) استفاده شد (۲۳). بدین منظور پس از توزین پودر پروبیوتیک (به وسیله ترازو با دقت 0.0001 گرم)، توسط آب مقطر استریل شده به شکل محلول درآمده (۶).

سپس با استفاده از همزن کاملاً حل و همگن شده تا بصورت امولسیون قابل مصرف درآید. روتیفرها پس از ۶ ساعت غنی سازی، برداشت و شستشو شده و جهت تغذیه لاروها بکار گرفته شدند.

طرح آزمایش: جهت انجام آزمایش ۲ تیمار آزمایش و ۱ شاهد به همراه ۳ تکرار در قالب یک طرح کاملاً تصادفی شامل C یا شاهد و تیمارهای آزمایشی A و B در نظر گرفته شد. ناپلی های تازه تخم گشایی شده حاصل از مولدین میگوی سفید غربی که در تاریخ ۹۰/۳/۱۶ تخم ریزی کرده بودند از کارگاه تکثیر ناحیه صنعتی کلاهی (میناب) تامین و توسط یک کیسه پلاستیکی دو جداره، به بخش تکثیر پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان بندرعباس منتقل گردید و پس از هم دمایی آب حاوی لاروها با آب موجود در سالن تا رسیدن به مرحله Z_۳ در مخازن ۳۰۰ لیتری نگهداری شدند. سپس از مرحله M_۱ بر اساس تیمارها در ۹ سطل پلاستیکی ۲۰ لیتری که تا ۱۰ لیتر آن توسط آب دریای فیلتر شده با شوری ۳۰ قسمت در هزار همراه با هوادهی آبیگری شده بودند با تراکم ۵۰ عدد لارو در هر لیتر (۵۰۰ عدد لارو در هر سطل) ذخیره سازی گردیدند. شرایط تغذیه ای لاروهای میگو از مرحله M_۱ (شروع آزمایش) شامل

کتوسروس^۱ (۳۰۰۰۰-۸۰۰۰۰ سلول در میلی لیتر)، روتیفر (۲۰-۴/۵ عدد در میلی لیتر) و غذای کنسانتره محصول شرکت INVE تایلند (۲-۱ میلی گرم در لیتر) بود که بر اساس مراحل لاروی هر ۴ ساعت یک بار (۶ وعده در روز) تا PL_۵ (انتهای آزمایش) (۸) تغذیه گردیدند (۱۸، ۲۶). وضعیت نگهداری تیمارها برحسب دریافت پروبیوتیک متفاوت بود بدین شکل که لاروهای شاهد هیچ گونه پروبیوتیکی را دریافت نکردند، لاروهای تیمار A پروبیوتیک را از طریق تغذیه با روتیفر غنی شده و در تیمار B پروبیوتیک را هم از طریق تغذیه با روتیفر غنی شده و هم از طریق اضافه کردن پودر پروبیوتیک به آب محیط پرورش پس از حل نمودن یک گرم از آن در یک لیتر آب دریافت نمودند (۲). پارامترهای فیزیکی و شیمیایی آب: به دلیل اجرای تحقیق در سالن سرپوشیده تمامی فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی شامل دمای آب، اکسیژن محلول در آب، pH و شوری در طول دوره، روزانه در دو نوبت اندازه گیری و ثبت شدند. دامنه عوامل مذکور برای هر کدام از تیمارها به صورت حداقل، حداکثر و میانگین اندازه گیری گردید.

سنجش بازماندگی کل و میزان مقاومت لاروهای میگو: پس از ۸ روز در انتهای دوره آزمایش (PL_۵)، میگوها برداشت و با شمارش تعداد لاروها، درصد بازماندگی کل بصورت ذیل محاسبه و ثبت گردید (۲۰).

تعداد لاروهای باقیمانده در انتهای دوره) = درصد بازماندگی

$100 \times (\text{تعداد لاروهای ذخیره شده در ابتدای دوره})$

همچنین به جهت بررسی میزان مقاومت لاروهای میگوی سفید غربی تحت تاثیر لاکتوباسیلوس های پروبیوتیک، از تست های استرس استفاده شد. چراکه یکی از روش های مناسب جهت ارزیابی کیفیت و مقاومت پست لارو میگوهای خانواده پنائیده

^۱. Cheatoceros

جدول ۱: شرایط تیمارهای آزمایش

تیمار	تغذیه و طرح آزمایش PL ₅ -M ₁
C	کتوسروس+ غذای کنسانتره+ روتیفر معمولی (شاهد، بدون دریافت پروبیوتیک)
A	کتوسروس+ غذای کنسانتره+ روتیفر غنی شده با پروبیوتیک
B	کتوسروس+ غذای کنسانتره+ روتیفر غنی شده با پروبیوتیک+ پودر پروبیوتیک حل شده در آب

استفاده از تنش های محیطی، از جمله تنش شوری می باشد (۹،۱۶،۲۴،۲۵). لذا بدین منظور تعداد ۳۰ عدد لارو هر تیمار برداشت نموده و در تشت های کوچک پلاستیکی در معرض شوری های ppt ۱۰ و ۴۵ و فرمالین ppm ۱۰۰ به مدت ۶۰ دقیقه (۲۱) قرار گرفتند. در پایان تلفات لاروها شمارش و ثبت شده و درصد بقا محاسبه گردید (۲۰).

لاروهای باقیمانده در انتهای تست = درصد بقا/بازماندگی
 $100 \times (\text{تعداد لاروها در ابتدای تست} / \text{تعداد})$

تجزیه و تحلیل آماری: تجزیه و تحلیل داده های به دست آمده، با استفاده از نرم افزارهای Spss و Excel و روش آنالیز واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) بر اساس آزمون توکی در سطح ۰/۰۵ درصد انجام شد.

۳. نتایج

سنجش پارامترهای فیزیکی و شیمیایی آب در طول دوره آزمایش نشان داد که در کلیه تانک ها بطور میانگین مقادیر دما: $1/00 \pm 31/00$ درجه سانتی گراد، اکسیژن محلول: $0/40 \pm 5/99$ میلی گرم در لیتر، pH: $0/15 \pm 7/75$ ، شوری: ppt $1/41 \pm 30/50$ بوده است.

نتایج تاثیر باکتری های لاکتوباسیلوس به عنوان پروبیوتیک بر میزان مقاومت و بازماندگی میگوی سفید غربی در جدول ۲ ارائه شده است. داده ها نشان داد که سطوح مقاومت لاروهای میگو در مقابله با تست های استرس با یکدیگر متفاوت است و تقریباً

در تمامی تیمارهای آزمایش تحت تاثیر پروبیوتیک ها، بطور معنی دار بیشتر از شاهد بودند ($P < 0/05$). در ارتباط با تنش شوری ppt ۱۰ و ppt ۴۵ بیشترین درصد بازماندگی در میگوهای تیمار B که پروبیوتیک را از طریق اضافه کردن به آب و غنی سازی روتیفر دریافت کرده بودند به ترتیب به میزان $3/33 \pm$ و $66/67$ و $2/94 \pm 92/22$ درصد مشاهده شد اما از لحاظ آماری با تیمار A که پودر پروبیوتیک را تنها از طریق غنی سازی روتیفر دریافت کرده بود با درصد بازماندگی $2/22 \pm 62/22$ و $1/92 \pm 90/00$ تفاوت معنی داری نداشت ($P > 0/05$). در این میان کمترین درصد بازماندگی در میگوهای شاهد یا C که فاقد پروبیوتیک بود مشاهده شد و نسبت به تیمار A و B دارای تفاوت معنی دار بود ($P < 0/05$). نتایج به دست آمده در تنش فرمالین ppm ۱۰۰ نیز بیانگر این بود که درصد بازماندگی میگوهای تیمارهای A و B بطور معنی دار نسبت به شاهد بالاتر بوده و از مقاومت بیشتری برخوردارند ($P < 0/05$). اما تیمارهای A و B به ترتیب با درصد بازماندگی $8/82 \pm 73/33$ و $8/82 \pm 76/67$ با یکدیگر هیچ اختلاف معنی داری نداشتند ($P > 0/05$). کمترین درصد بازماندگی نیز به مقدار $3/85 \pm 60$ در شاهد دیده شد.

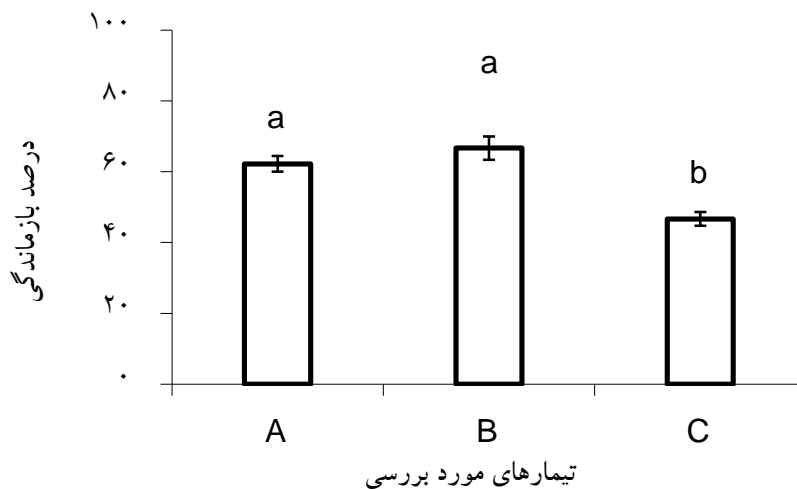
تغییرات مربوط به تعداد پست لاروها و درصد بازماندگی نهایی آنها در پایان دوره (PL₅) نیز نشان داد که تیمارهای A و B نسبت به تیمار شاهد در وضعیت مطلوب تری قرار دارند (جدول ۲، شکل ۴). نتایج بررسی آزمون توکی مشخص نمود که مابین دو تیمار A و B به ترتیب با درصد بازماندگی $0/98 \pm 79/07$ ، $1/67$

$\pm 80/53$ هیچ تفاوت معنی داری وجود ندارد ($P > 0/05$). و هریک از تیمارهای A و B از لحاظ آماری اختلاف معنی در صورتی که بین شاهد یا C با درصد بازمندگی $62/8 \pm 3/89$ داری نشان داده شده است ($P < 0/05$).

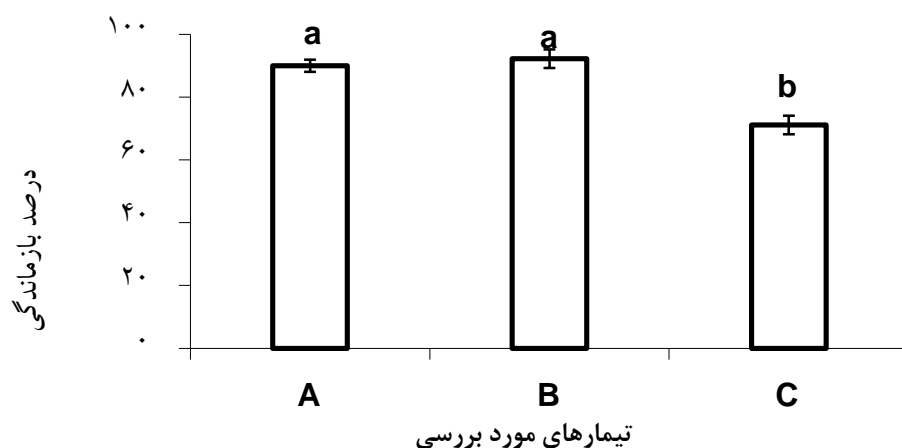
جدول ۲: میانگین بازمندگی کل (درصد) و بقا میگوها طی تیمارهای مختلف در پایان دوره آزمایش (PL_5) نسبت به تست های استرس

پارامتر	A (Mean \pm SD)	B (Mean \pm SD)	C (Mean \pm SD)
تست شوری ۱۰ ppt	$62/22 \pm 2/22^{a*}$	$66/67 \pm 3/33^a$	$46/67 \pm 1/92^b$
تست شوری ۴۵ ppt	$90/00 \pm 1/92^a$	$92/22 \pm 2/94^a$	$71/11 \pm 2/94^b$
تست فرمالین ۱۰۰ ppm	$73/33 \pm 8/82^a$	$76/67 \pm 8/82^a$	$60/00 \pm 3/85^b$
بازماندگی کل	$79/07 \pm 0/98^a$	$80/53 \pm 1/67^a$	$62/8 \pm 3/89^b$

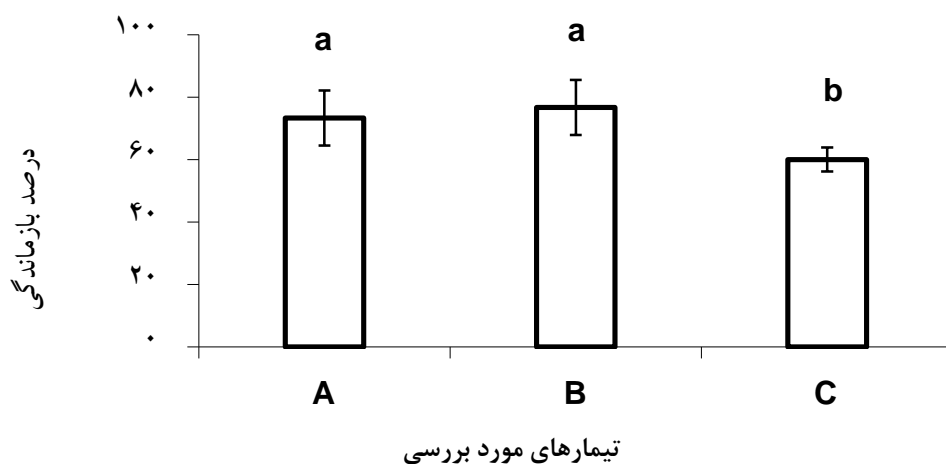
* حروف لاتین غیر مشابه در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی دار می باشد.



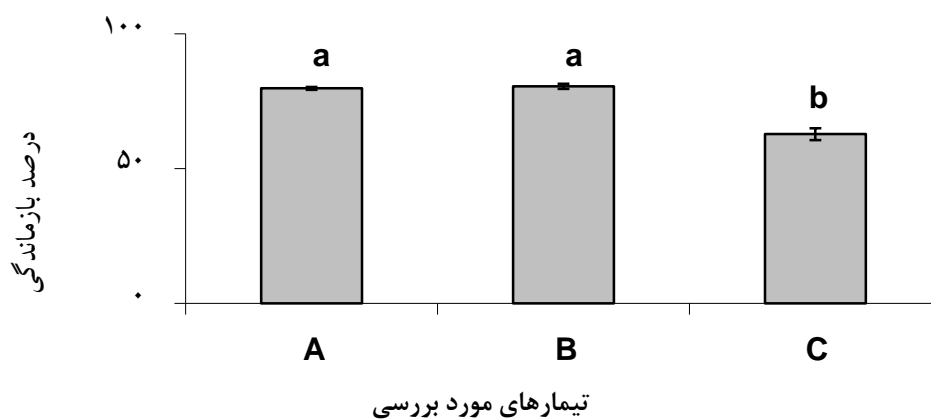
شکل ۱: مقایسه میانگین بازمندگی (درصد) میگوی سفید غربی در برابر تست شوری ۱۰ ppt در تیمارهای مختلف، حروف لاتین غیر مشابه در هر تیمار نشان دهنده اختلاف معنی دار می باشد.



شکل ۲: مقایسه میانگین بازماندگی (درصد) میگوی سفید غربی در برابر تست شوری ۴۵ppt در تیمارهای مختلف، حروف لاتین غیر مشابه در هر تیمار نشان دهنده اختلاف معنی دار می باشد.



شکل ۳: مقایسه میانگین بازماندگی (درصد) میگوی سفید غربی در برابر تست فرمالین ۱۰۰ppm در تیمارهای مختلف، حروف لاتین غیر مشابه در هر تیمار نشان دهنده اختلاف معنی دار می باشد.



شکل ۴: مقایسه اثر پروبیوتیک بر روی میانگین بازماندگی (درصد) میگوی سفید غربی در تیمارهای مختلف، حروف لاتین غیر مشابه در هر تیمار نشان دهنده اختلاف معنی دار می باشد.

۴. بحث

در تحقیق کنونی که به بررسی فاکتورهای بازماندگی و مقاومت میگوی سفید غربی (*Litopenaeus vannamei*) در نتیجه افزودن پروبیوتیک به محیط پرورش لاروی و پست لاروی آن انجام شد، نتایج حاصله نشان داد که استفاده از محصول تجاری پروتکسین حاوی ۷ سوبه از لاکتوباسیلوس های زیست یار به عنوان پروبیوتیک باعث شد در تیمارهای A و B اختلاف معنی داری را از نظر بازماندگی و مقاومت لارو میگو نسبت به شاهد نشان دهد ($P < 0/05$). همان طور از نتایج این آزمایش برمی آید، پروبیوتیک توانسته تاثیرات قابل توجهی را در نرخ بازماندگی کل ایجاد کند. در تائید یافته های این تحقیق نتایج مشابهی توسط حجت ا... جعفریان و همکاران (۱۳۸۵) با استفاده از ناپلی آرتمیا غنی شده از باسیلوس های پروبیوتیکی به منظور رشد و بقاء لارو تاس ماهی ایران به دست آمد (۴). همچنین در مطالعه ای توسط آذری تاکامی و همکاران (۱۳۸۳) اثر مثبت باسیلوس های پروبیوتیکی را در پرورش لارو و پست لارو میگوی سفید هندی گزارش کردند. از این گزارش می توان نتیجه گرفت که باکتری های پروبیوتیکی بکار برده شده بر رشد و بازماندگی میگوی سفید هندی تاثیر نسبتاً خوبی داشته است (۱). همسو با این نتایج، در سال ۲۰۱۰ از پروبیوتیک شامل باسیلوس سوبتیلیس با هدف افزایش نرخ بازماندگی در میگوی سفید غربی (*L. vannamei*) توسط Kuan-Fuli و همکاران استفاده شد. در این پژوهش پروبیوتیک به مقدار 10^8 و 10^9 cfu/lit از آب دریا هر سه روز یکبار به مدت ۱۴ روز به محیط پرورش اضافه می شد. میزان بازماندگی لاروها پس از افزایش پروبیوتیک در تیمار حاوی 10^9 cfu/lit باکتری در مقایسه با تیمار شاهد به طور معنی داری بیشتر بود ($P < 0/05$). در تیمار حاوی 10^8 cfu/lit پروبیوتیک نیز بعد از دگرذیسی لاروها در مرحله پست لارو این حالت دیده شد (۱۷). از نظر مقاومت نیز نتایج تحقیق حاضر روشن ساخت که پروبیوتیک ها توانایی اثرگذاری مثبت بر بازماندگی و افزایش

مقاومت لارو میگوی سفید غربی در مقابل محرک های استرس زای محیطی همچون شوری، فرمالین و غیره داشته و برحسب دوز مورد استفاده، این تاثیر متغیر می باشد. شواهدی وجود دارد که نشان می دهد باکتری های زیست یار همچون لاکتوباسیلوس با تحریک سیستم ایمنی میزبان موجب افزایش مقاومت در برابر استرس های محیطی گشته و درصد بقا را بالا می برند (۱۹، ۲۲). همسو با این نتایج در تحقیقی که توسط پورامینی و همکاران (۱۳۸۷) صورت گرفت به ارزیابی اثر استفاده از مخمر ساکارومایسس سروزیا (*Saccharomyces cerevisiae*) به عنوان پروبیوتیک بر میزان مقاومت بچه ماهیان نارس قزل آلائی رنگین کمان در برابر تنش شوری پرداختند. در انتهای دوره آزمایش مشاهده شد که اثر مخمر بر مرگ و میر بچه ماهیان نارس در طی دوره پرورش معنی دار نبود ($P > 0/05$). اما در آزمایش مقابله با شوری های ppt ۱۰ و ۱۵ پس از طی ۲۴ ساعت، تیمارهای حاوی مخمر (پروبیوتیک) از بازماندگی ۱۰۰ درصدی برخوردار بودند که با سایر تیمارها اختلاف معنی داری داشتند ($P < 0/05$) (۳). همچنین اثر استفاده از لاکتوباسیلوس پلانترام *Lactobacillus plantarum* به عنوان پروبیوتیک به منظور بررسی نرخ بازماندگی و میزان مقاومت میگوی سفید غربی *Litopenaeus vannamei* در برابر عامل بیماری زای vibrio توسط Chiu-Hsia chiu و همکاران (۲۰۰۷) مورد آزمایش قرار گرفت. نتایج نشان داد نرخ بازماندگی بعد از تلقیح عامل بیماری زای *V. alginolyticus* در تمامی تیمارهای حاوی پروبیوتیک بطور معنی دار افزایش یافت. در واقع در این آزمایش استفاده از لاکتوباسیلوس پلانترام پاسخ ایمنی زایی و توانایی مقاومت میگوها را در برابر عفونت ناشی از پاتوژن ویبریو را افزایش داده است (۱۲). لذا با اشاره به کلیه تحقیقات صورت گرفته همسو با پژوهش حاضر، می توان چنین استنباط نمود که لاکتوباسیلوس ها دارای پتانسیل بالقوه برای حل مشکلات کنونی پرورش میگو می باشند به گونه ای که می تواند موجب بهبود شاخص های مقاومت و بازماندگی گونه های میگو همچون

۴-جعفریان، ح؛ آذری تاکامی، ق؛ کمالی، ا؛ سلطانی، م؛ حبیبی رضایی، م. ۱۳۸۵. استفاده از باسیلوسهای پروبیوتیکی غنی شده با ناپلی آرتیمیا ارومیا نا به منظور رشد و بقاء لارو تاس ماهی ایرانی. مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی. جلد چهاردهم، ۲، ۱۰ صفحه

۵-جعفریان، ح. ۱۳۸۷. توسعه آبی پروری پایدار با استفاده از پروبیوتیک ها در ایران. مجله علمی شیلات. زمستان ۸۷ شماره چهارم. ص ۱۰.

۶-جعفریان، ح؛ سلطانی، م؛ طاعتی، م؛ نظریور، ع؛ مروت، ر. ۱۳۸۹. مقایسه تاثیر باسیلوس های مستخرج از روده لارو ماهیان خاویاری *Huso huso* و *Acipenser persicus* و پروبیوتیک های تجاری بر رشد و بقاء لارو ماهی قزل آلائی رنگین کمان. مجله تحقیقات دامپزشکی، دوره ۶۶، شماره ۱. ص ۳۹-۴۶.

۷-مصفا، نریمان. ۱۳۸۷. پروبیوتیک ها نسل جدیدی از داروهای زنده. مجله پژوهشی دانشکده پزشکی. ۳۲، ۳. ص ۱۶۹-۱۷۴.

۸-یحوی، م؛ آذری تاکامی، ق؛ وثوقی، غ. ۱۳۸۵. بررسی مقاومت به استرس هاس شوری و فرمالین در پست لاروهای میگوی سفید هندی تغذیه شده از روتیفرهای غنی شده با اسیدهای چرب (DHA،EPA) و ویتامین C. مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی، شماره چهاردهم. ص ۵۳۰-۵۱۹.

9-Abi-ayad, S-M.E-A; C.Melard and P.Kestemont.1997. Effects of n-3 fatty acids in Eurasian perch broodstock diet on egg fatty acid composition and larvae stress resistance. *Aquaculture. Int*,5: 161-168.

10-Bruno Gomez-Gill; Ana Roqua; James F.Turnbull.2000. The use and selection of probiotic bacteria for use in the culture of larval aquatic organisms. *Aquaculture*,191. P.p 259-270.

11-Carnevali ,O., Zamponi ,M. C. , Sulpizo,P. , Rollo , A.Nardi , M. , Orpianesi ,C. ,Silvi ,S. ,Caggiano, M.,Polzonetti,A. M., Cresci, A. .2004. Administration of probiotic strain to improve sea bream wellens during development. *Aquaculture. Int*. 12:377-386 .

میگوی سفید غربی گردد. همچنین باکتری های پروبیوتیک در اکثر موارد با داشتن قابلیت های خوب تاثیرگذاری در رشد و بازماندگی آبیان با گسترش زیادی در صنعت آبی پروری مورد استفاده قرار می گیرند(۱۵). بنابراین سویه های لاکتوباسیلوسی بعنوان یک ایده و راهبرد مناسب در جهت آبی پروری پایدار در بخش پرورش میگو می تواند مطلوب واقع گردند. در انتها پیشنهاد می گردد در این زمینه مطالعات بیشتری صورت پذیرد تا بتوانیم بدون نگرانی از مسائل زیست محیطی، این مواد(زیست یارها) را در مقیاس تجاری مورد استفاده قرار دهیم.

سپاسگزاری

بدینوسیله از زحمات بیدریغ آقایان مهندس گرگیچ و مهندس حیدری و کلیه پرسنل بخش تکثیر پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان بندرعباس که در اجرای این تحقیق ما را یاری نمودند، قدردانی می گردد.

منابع

- ۱-آذری تاکامی، ق؛ ضیائی نژاد، س؛ میروافقی، ع؛ شکوری، م ۱۳۸۳. تاثیر پروبیوتیک آکواتک بر رشد و بازماندگی لاروهای میگوی سفید هندی. مجله علوم دامپزشکی. شماره اول، سال اول صفحات ۲۲-۱۵.
- ۲-پذیر، م؛ متین فر، ع؛ آئین جمشید، خ؛ قربانی واقعی، ر؛ زرشناس، غ؛ غریبی، ق. ۱۳۸۷. تاثیر پروبیوتیک باسیلوس بر رشد و درصد بازماندگی میگوی سفید غربی. مجله علمی شیلات. دوره هفدهم، شماره ۲. ص ۳۴-۲۷.
- ۳-پورامینی، م؛ کمالی، الف؛ حاجی مرادلو، ع؛ قربانی، ر؛ علیزاده، مرتضی. ۱۳۸۷. بررسی تغذیه با مخمر ساکارومایسس سروریا (*Saccharomyces cerevisiae*) به عنوان پروبیوتیک، بر مقاومت در برابر تنش با شوری و بافت شناسی دستگاه گوارش بچه ماهیان نارس قزل آلائی رنگین کمان. مجله علمی شیلات. سال دوم، شماره اول. ص ۹.

- 12-Chiu-Hsia Chiu; Yuan-Kuang Guu; Chun-Hung liu; Tzu-Mingpan; Winton cheng. 2007. Immune responses and gen expression in white shrimp, *Litopenaeus vannamei* induced by *lactobacillus plantarum*. Fish & Shelfish Immunology, 23. Pp 364-377.
- 13-Fuller R.; ((History and development of probionts)); In R. Fuller (ed), probiotics the scientific basis. Chapman & Hall, New York, N.Y; 1992; pp.1-8.
- 14-Gismondo, M.R., Drago, L., Lombardi, A., 1999. Review of probiotics available to modify gastrointestinal flora. International Journal of Antimicrobial Agents 12, 287–292.
- 15-Gullian, M., Thompson, F., and Rodriguez, J., 2004. Selection of probiotic bacteria and study of their immunostimulatory effect in *Penaeus vannamei*. Aquaculture. 233:1-14.
- 16-Konataras, E., P. Lavens and P. Sorgeloos. 1997. Dietary effects of DHA/EPA on culture performance and fatty acid composition of *Penaeus monodon* postlarvae. Pp.204-208 In: P. Lavens, E.Jaspers and I.Roeland (Eds.), fish and shellfish larvi culture symposium. European Aquaculture Society, Ghent, Belgium.
- 17-Kuan-Fuli; Chiu-Hsia Chiu; Ya-Li shinu; Winton cheng; Chun-Hung liu. 2010. Effects of the probiotic *Bacillus subtilis* E20 on the survival, development, stress tolerance and immune of white shrimp *litopenaeus vannamei* larvae. Fish & Shelfish Immunology. 28. Pp 837-844.
- 18-Lavens, P., Sorgeloos, P., 1996. Manual on the production and use of live food for aquaculture. FAO fisheries technical paper. 361. 295
- 19-Nikoskelainen, S., Ouwehand, A. C., Bylund, G., Salminen, S., Lilius, E. M. 2003 Immune enhancement in rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) by potential probiotic bacteria (*Lactobacillus rhamnosus*). Fish Shelfish. Immunol. 15: 443-452.
- 20-Niu J., Tian L.X., Liu Y.J., Yang H.H., Ye CX, Gao Wen., 2009. Effect of Dietary Astaxanthin on Growth, Survival, and Stress Tolerance of Postlarval Shrimp, *Litopenaeus vannamei*. Journal of the world aquaculture society, 40:795-802.
- 21-Palacios, E., A. Bonilla, A. Perez, I.S. Racotta and R.Civera. 2004. Influence of highly unsaturated fatty acids on the responses of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) postlarvae to low salinity. J.EMB. and Ecol. 299: 201-215
- 22-Panigrahi, A., Kiron, V., Kobayashi, T., Puangkaew, J., Satoh, S. Sugita, H. 2004 Immune responses in rainbow trout, *Onchorhynchus mykiss*, induced by a potential probiotic, *Lactobacillus rhamnosus* JCM.1136. Vet. Immunol. Immunopathol. 102: 379-388.
- 23-Planas. M. ; Va'zquez. J.A.; Marque's. J.; Pe'rez-Lomba R.; Gonza'lez M.P.; Murado M.. 2004. Enhancement of rotifer (*Brachionus plicatilis*) growth by using terrestrial lactic acid bacteria. Aquaculture. 240. Pp 313–329.
- 24-Racotta, I.S, E.Palacios, R.Hernandez-Herrera, A.Bonilla, C.I.Prez-Rostro and J.L.Ramirez. 2004. Criteria for assessing larval and postlarval quality of pacific White shrimp (*Litopenaeus vannamei* Boone). Aquaculture 233: 181-195.
- 25-Ruff, N., P.Lavens, J.Z.Huo, P.Sorgeloos, H.Y.Nelis and A.De Leenheer. 2001. Antioxidant effect of dietary tocopherol and ascorbic acid on growth and survival of *litopenaeus vannamei* postlarvae. Aquaculture Int 9: 115-129.
- 26-Stottrup, J. G. and Mc Evoy, L. A., 2003. Live feeds in Marine Aquaculture, Black well science Ltd. 318p.

The effect of probiotic on the survival rate and resistance of western white shrimp larvae (*Litopenaeus vannamei*) against the salinity and formalin stress

Najmi N.^{(1)*}; Yahyavi M.⁽¹⁾; Mohammadizade F.⁽¹⁾; Foroghifard H.⁽²⁾; Pourkhosrow H.⁽¹⁾

Najmi.nassim@yahoo.com

1-, Islamic Azad University of Bandar Abbas, P.O.Box: 79159-1311

2- Persian Gulf and Oman sea Ecology Research Center, Bandar Abbas, P.O.Box: 79145-1597

Received: January 2011

Accepted: February 2011

Abstract

This experiment was aimed to determine the effect of Lactobacillus bacteria as probiotic on resistance of white shrimp (*litopenaeus vannamei*) larvae against stress tests in The Persian Gulf and Oman Sea Ecology Research center. In this study the white shrimp larvae were feed on 6 times a day from mysis1 to post-larvae5 stages by 2 experiment treatments named A (with enriched rotifer by probiotic) and B (with enriched rotifer by probiotic & probiotic powder dissolved in water) and control or C with three replicates in 20-L plastic tanks containing 10-L of seawater with 50 larvae per liter. At the end of period (after 8 days) the shrimp larvae were tested by salinity (10&45 ppt) and formalin (100ppm) stress. The result indicated that the used probiotic bacteria had positive and significant effects on resistance of shrimp ($P<0.05$) the survival rate and resistance against salinity and formalin stress of containing probiotic treatments (A&B) were significantly higher than control ($P<0.05$). The highest survival and resistance were founded in B treatment but it had no significant difference with A ($P>0.05$). This study showed that using of probiotic has good effect on survival rate and resistance of white shrimp larvae.

Keyword: probiotic, survival, *Litopenaeus vannamei*, stress tests

*Corresponding author