بهره‌برداری و پرورش آبزیان
جلد سوم، شماره سوم، پاییز 1393
http://japu.gau.ac.ir

تأثیر جیره‌های غذایی حاوی باسیلوس‌های زیست‌یار تجاری و بومی بر عملکرد تغذیه و ترکیبات لاشه پست لارو میگوی پا سفید غربی (*Litopenaeus vannamei*)

*** داریوش عبداللهی آرپناهی[1]، حجت‌اله جعفریان[2]، مهدی سلطانی[3] و حُسنی قلی‌پور کنعانی[4]**

[1] دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد، گروه شیلات، دانشگاه گنبد کاووس، [2]دانشیار گروه شیلات، دانشگاه گنبد کاووس،
[3] استاد گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان، دانشگاه تهران، [4]استادیار گروه شیلات، دانشگاه گنبد کاووس

تاریخ دریافت: 1392/11/6 ؛ تاریخ پذیرش: 1393/11/17

چکیده

در این مطالعه مخلوط *باسیلوس سابتلیس* (*Bacillus subtilis*) و *لیچنی‌فورمیس* (*Bacillus licheniformis*) تجاری و بومی جداشده از روده فیل‌ماهی انگشت‌قد برای ارتقاء ترکیب شیمیایی بدن و شاخص‌های تغذیه‌ای پست‌لارو میگوی پا سفید غربی (*Litopenaeus vanami*) مورد استفاده قرار گرفت. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی صورت پذیرفت. سه تکرار برای هریک از تیمارها و گروه شاهد استفاده شد. پست لاروها در تیمارهای 1 و 3 به ترتیب با جیره‌های غذایی مکمل شده با باسیلوس‌های پروبیوتیکی تجاری و بومی در غلظت $1/5\times10^6$ واحد کلنی/گرم تغذیه شدند. جیره مکمل شده با مخلوط باسیلوس‌های تجاری و بومی (با نسبت برابر از هر یک) در غلظت $1/5\times10^6$ واحد کلنی/ گرم در تیمار 2 استفاده شد. پست‌لاروهای میگو در تیمار شاهد با جیره بدون مکمل‌سازی با باسیلوس تغذیه گردیدند. در انتهای دوره آزمایش (60 روز) از لاروها نمونه‌برداری شده و ترکیب شیمیایی بدن آنها تعیین گردید. نتایج نشان داد که لاروهای میگو در تیمار 1 در مقایسه با تیمار شاهد وزن و نرخ بازماندگی بالایی داشتند. بیشترین سطح پروتئین لاشه (46/98 درصد) و پایین‌ترین سطح چربی (2/40 درصد) در تیمار 1 بدست آمد و با تیمار شاهد اختلاف معنی‌دار داشت

*مسئول مکاتبه: dabdollahi8@gmail.com

(P<0/05). ضریب تبدیل غذایی بطور معنی‌داری در تیمار 1 در مقایسه با تیمار شاهد کاهش یافت (P<0/05). باسیلوس‌های پروبیوتیکی تأثیرات مثبتی را بر افزایش پروتئین بدست آمده و ارزش تولید پروتئین در تیمارهای آزمایشی پروبیوتیکی در مقایسه با شاهد داشتند (P<0/05). نتایج مطالعه حاضر مشخص نمود که باسیلوس‌های پروبیوتیکی توانایی بالایی را در ارتقاء عملکرد رشد و کارآیی تغذیه لارو میگوی پا سفید غربی داشتند.

واژه‌های کلیدی: میگوی پا سفید غربی، مکمل‌سازی، پروبیوتیک، ترکیب لاشه، کارآیی تغذیه

مقدمه

امروزه گونه‌های متعدد میگو در سراسر دنیا تکثیر و پرورش داده می‌شوند. یکی از این گونه‌ها میگوی پا سفید غربی می‌باشد؛ این گونه برای اولین بار در سال 1383 توسط مؤسسه تحقیقات شیلات ایران وارد کشور شد و از آنجا که این میگو در کشور به عنوان یک گونه جدید به شمار می‌رود، باید کلیه جوانب امر در زمینه تکثیر و پرورش آن در شرایط آب و هوایی ایران به دقت مورد بررسی قرار گیرد (پذیر و همکاران، 2008). بنابراین با توجه به توسعه طرح‌های 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 می‌یابد. از طرفی پرورش میگو در مراحل لاروی بسیار حساس و مهم بوده و تلفات عمده‌ای را اغلب بروز می‌دهد، یکی از مواردی که می‌تواند به افزایش رشد و بازماندگی لاروهای میگو کمک نماید دقت در رساندن مواد غذایی با کیفیت بالا در تغذیه آنها است (یحیوی و همکاران، 2006). پروبیوتیک‌ها مکمل‌های میکروبی زنده‌ای هستند که به دلیل بروز مقاومت دارویی ناشی از آنتی‌بیوتیک‌ها در باکتری‌های بیماری‌زا پیشنهاد شده‌اند (گاتسووپ، 1999). مطالعات گذشته نشان می‌دهد که پروبیوتیک‌ها اثرات سودمندی بر میزبان از جمله بهبود رشد، بقاء و ایمنی آن دارند (موریارتی، 1998؛ اسکجرمو و وادستین، 1999). مکانیسم اثر پروبیوتیک‌ها شامل رقابت برای اتصال به محل مورد نظر، رقابت برای غذا، تولید آنزیم‌های گوارشی، بهبود کیفیت آب و تحریک سیستم ایمنی میزبان نسبت به استرس می‌باشد (کومار- ساهو و همکاران، 2008).

در خصوص بکارگیری پروبیوتیک‌ها در پرورش لاروی میگوی پا سفید غربی نشان داده شده است که این محرک‌ها می‌توانند باعث جلوگیری از تجمع میکروبی گونه‌های بیماری‌زا کردند؛ زیرا

توانسته‌اند با موفقیت در روده لاروها جمعیت تشکیل دهند (گومز- گیل و همکاران، 2000؛ ژرمانت و همکاران، 1997). به‌علاوه استفاده روزانه از پروبیوتیک‌ها از جمله گونه‌های مختلف باسیلوس در دوره پرورش لاروی و بازاری باعث بهبود ضریب تبدیل غذایی، افزایش نرخ رشد ویژه و افزایش وزن نهایی زیتوده میگوها نسبت به شاهد شد (گویو و همکاران، 2009؛ لیو و همکاران، 2009). در مطالعه‌ای ژو و همکاران (2009) گزارش کردند با اضافه کردن باسیلوس کواگولانس (*B. coagulans*) به آب پرورش لارو میگوی پا سفید غربی اختلاف معنی‌داری در نرخ بقا مشاهده گردید. بنابراین استفاده از پروبیوتیک‌های مناسب باعث بهبود جمعیت میکروبی روده و جذب بهتر غذا (فولر، 1989؛ پارکر، 1974) و کاهش مشکلات عوامل بیماری‌زا در دیواره داخلی روده (کول و فولر، 1984) می‌شود. در پژوهشی *باسیلوس سیرکولانس* (*B. circulans*) جداسازی شده از روده ماهی روهو پس از افزون‌سازی از طریق کشت باکتریایی، مجدداً طی مکمل‌سازی با غلظت‌های مختلف در جیره‌های غذایی نوزادان این ماهی بکار رفت که باعث افزایش معیارهای تغذیه‌ای آنها شد (گوش و همکاران، 2004).

کنیدی و همکاران (2006) دریافتند که گونه‌های باسیلوس بخشی از فلور باکتریایی سیستم‌های پرورش لارو میگوی آب شیرین (*Macrobrachium rosenbergii*) بوده که در دستگاه گوارش آنها جایگزین شده و می‌توانند در فرآیند جداسازی[1] به عنوان باکتری‌های پروبیوتیکی در دوره لاروی برای افزایش رشد و کارآیی تغذیه این لاروها مورد استفاده قرار گیرند.

در سال‌های اخیر محققین زیادی توانستند از پروبیوتیک‌های بومی که از منابع مختلفی نظیر محیط زندگی جانور آبزی و یا دستگاه گوارش آنها جداسازی شده بود؛ پس از انجام فرآیند شناسایی مشخصات پروبیوتیکی و تعیین توانایی زیست‌یار بودن آنها به عنوان باکتری‌های مفید، به صورت مکمل‌سازی در جیره غذایی و یا از طریق تلقیح به آب محیط پرورشی در سیستم‌های پرورش آبزیان، موجب ارتقا عملکرد رشد، تغذیه و معیارهای کیفی آب گردند (بایراجی و همکاران، 2004؛ لیو و همکاران، 2010). هرچند در کنار این پروبیوتیک‌های بومی که در یک کشور تولید می‌گردد، از محصولات میکروبی وارداتی که به صورت صنعتی تولید می‌گردند و تحت عنوان محصولات میکروبی تجاری ذکر می‌گردند، در مواقع مختلف استفاده فراوانی شده است. در کشور ما نیز استفاده از

1- Isolation

محصولات پروبیوتیکی تجاری نیز تقریباً با بیش از یک دهه سابقه مطرح بوده و در این سال‌ها، توسط پرورش‌دهندگان ماهی و میگو محصولات پروبیوتیکی تجاری با عناوین مختلف مورد استفاده قرار گرفته است.

در این پژوهش به منظور ارزیابی توانایی باسیلوس‌های مستخرجه در مقایسه با گونه‌های عرضه شده توسط شرکت پروتکسین این آزمایش صورت گرفت تا معلوم شود که قابلیت تأثیرگذاری این دو باسیلوس پروبیوتیکی بومی کشور در مقابل با سویه‌های تجاری چقدر می‌باشد. یافته‌های این پژوهش و دیگر پژوهش‌های صورت گرفته با این باسیلوس‌ها کمک خواهد کرد تا در آینده بتوان با شناسایی ویژگی‌های بیشتری از این دو گونه باسیلوس و احتمالاً از طریق دستکاری ژنتیکی، پتانسل آنها را بالا برد.

بر همین اساس این مطالعه با هدف بررسی تأثیر مخلوط دو باسیلوس پروبیوتیکی تجاری و بومی جداسازی شده از دستگاه گوارش بچه ماهیان انگشت‌قد فیل‌ماهی بر شاخص‌های تغذیه و ترکیب لاشه پست‌لارو میگوی پا سفید غربی از مرحله PL_{15} تا PL_{75} طراحی و اجرا گردید.

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی سوسپانسیون باکتریایی: اسپور باسیلوس‌های پروبیوتیک تجاری مورد استفاده در این آزمایش از شرکت پروتکسین آکواتک تهیه گردید. این محصول تجاری به‌صورت محلول سوسپانسیون باکتریایی (مخلوط دو باکتری *B.subtilis* و *B.licheniformis*) بود که حاوی غلظت 1×10^{10} اسپور در هر میلی‌لیتر از این سوسپانسیون باکتریایی بود. از سوسپانسیون مخلوط باسیلوس‌های پروبیوتیکی با استفاده از سمپلر، حجمی معادل 100 میکرولیتر را در شرایط استریل برداشته و در پلیت‌های کشت حاوی محیط کشت تریپتیک سوی آگار به صورت خطی کشت داده شد. پلیت‌های کشت مذکور در انکوباتور با درجه حرارت 30 درجه سانتی‌گراد به مدت 24 ساعت انکوباسیون شدند. پس از اتمام مدت انکوباسیون، پرگنه‌های باکتری در محیط کشت ظاهر شده و با استفاده از آنس استریل بخشی از پرگنه‌های مذکور از سطح محیط کشت جداسازی و به ظروف اپندروف حاوی یک میلی‌لیتر سرم فیزولوژی 0/9 درصد (0/9 w/v Nacl درصد) استریل، منتقل شده و با استفاده از دستگاه شیکر در مدت 5 دقیقه بصورت هموژن در آمدند. جهت تهیه غلظت باکتریایی مورد نظر با استفاده از دستگاه

اسپکتروفتومتر مدل بیوکروم[1] و محلول استاندارد مک‌فارلند نیم، غلظت نوری[2] باکتری مورد نظر بر مبنای واحد کلنی/میلی‌لیتر[3] بر اساس چگالی بهینه در طول موج 600 نانومتر تعیین شد (لوئیس- ویلاسنور و همکاران، 2011). جهت حصول اطمینان بیشتر در خصوص غلظت سوسپانسیون باکتریایی بدست آمده، با استفاده از تهیه رقت‌های سریالی و کشت آنها در پلیت‌های حاوی محیط کشت TSA، پس از انجام انکوباسیون به مدت 24 ساعت، پرگنه‌های ظاهر شده شمارش شده و غلظت باکتریایی مورد نظر تأیید گردید (رنگپیپات و همکاران، 1998).

باسیلوس سابتیلیس (*B. subtilis*) و *لیچنی‌فورمیس* (*B. licheniformis*) بومی مورد استفاده در این آزمایش، بر پایه پژوهش‌های داخل آزمایشگاهی[4] (آزمایشات جداسازی بر اساس برخی مشخصات فنوتیپی و همچنین برخی از تست‌های بیوشیمیایی استاندارد و حتی تشخیص از نظر استخراج و شناسایی ژنوم باکتری‌های کاندید) تهیه گردید (دهقان، 2012). از محصول لیوفلیزه شده این باسیلوس‌ها، بطور جداگانه با انتقال میزان 10 میلی‌گرم از هر یک به ظروف اپندروف حاوی یک میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی 0/9 درصد (0/9 w/v NaCl درصد) استریل، و با استفاده از شیکر، هموژن‌سازی گردید. از سوسپانسیون باکتریایی فوق، حجمی معادل 100 میکرولیتر توسط سمپلر برداشته و در شرایط استریل به پلیت‌های کشت حاوی TSA منتقل و با استفاده از آنس استریل به صورت خطی کشت داده شد. این پلیت‌های کشت به مدت 24 ساعت در دمای 30 درجه سانتی‌گراد انکوباسیون شده و سپس از پرگنه‌های تولید شده در آن، با استفاده از روش تهیه غلظت نوری که قبلاً شرح داده شد، سوسپانسیون باکتریایی به غلظت $1/5\times10^8$ واحد کلنی/میلی‌لیتر آماده‌سازی گردید (گومز- گیل و همکاران، 1998).

همچنین سوسپانسیون مخلوط دو گروه از باسیلوس‌های بومی و تجاری نیز با استفاده از سوسپانسیون باکتریایی تجاری و بومی تهیه شده، در مخلوط سازی با نسبت برابر از هر کدام، در سطح $1/5\times10^8$ واحد کلنی/ میلی‌لیتر تهیه گردید.

جیره‌های آزمایشی: در این پژوهش سه جیره آزمایشی در مکمل‌سازی با باسیلوس‌های پروبیوتیکی تهیه گردید. در جیره D_1، سوسپانسیون مخلوط دو باکتری *باسیلوس سابتیلیس* و *لیچنی‌فورمیس*

1- Biochrom-Libra S22
2- Optical density
3- Colony Forming Unites/mili liter
4- In Vitro

تجاری با غلظت $1/5\times10^8$ واحد کلنی/ میلی‌لیتر و به حجم یک سی‌سی تهیه شد. سپس با 20 میلی‌لیتر آب مقطر استریل مخلوط شده و در ظروف فلزی استریل شده با جیره میگو مخلوط گردید و به صورت هموژن درآمد که پس از آن جیره نیمه مرطوب شده و در دمای 35 درجه سانتی‌گراد به مدت 5 ساعت خشک گردید. جیره D_3 نیز با بکارگیری مخلوط باسیلوس‌های بومی در غلظت $1/5\times10^8$ واحد کلنی/میلی‌لیتر در 100 گرم از غذای میگو به روش ذکر شده تهیه گردید. همچنین در جیره آزمایشی D_2 سوسپانسیون باکتریایی با غلظت $1/5\times10^8$ واحد کلنی/میلی‌لیتر از مخلوط باسیلوس‌های پروبیوتیکی تجاری و بومی در 100 گرم از غذای میگو تهیه شد. جیره آزمایشی C که برای تغذیه میگوهای تیمار شاهد بکار برده شد؛ در آن هیچ‌گونه سوسپانسیون باکتریایی مکمل‌سازی نگردید.

لازم به ذکر است سوسپانسیون باکتریایی تهیه شده با غلظت $1/5\times10^8$ واحد کلنی/ میلی‌لیتر پس از اضافه شدن به 100 گرم از جیره و مخلوط شدن با آن به غلظت $1/5\times10^6$ واحد کلنی در هر گرم از جیره تبدیل گردید. بنابراین در کلیه جیره‌های D_1، D_2 و D_3 حاوی باسیلوس‌های پروبیوتیکی، غلظت این پروبیوتیک‌ها $1/5\times10^6$ واحد کلنی/گرم غذای میگو بود که از طریق اسپری نمودن به سطح غذای میگو افزوده شد. جیره‌های D_1، D_2، D_3 به ترتیب برای تغذیه پست لاروهای میگو در تیمارهای آزمایشی اول، دوم و سوم بکار رفت. همچنین جیره C نیز برای تغذیه پست‌لاروهای میگو در تیمار شاهد مورد استفاده قرار گرفت. در ادامه نیز جهت حصول اطمینان از حضور باکتری‌ها در جیره پس از انجام فرآیند مکمل‌سازی، با انجام نمونه‌برداری و کشت باکتریایی در محیط کشت تریپتیک سوی آگار، از غلظت باسیلوس‌ها در جیره اطمینان حاصل گردید (گوش و همکاران، 2003).

تیمارهای آزمایشی: تعداد سه تیمار پروبیوتیکی تحت عنوان تیمار تجاری، تجاری- بومی و بومی در نظر گرفته شد. همچنین یک تیمار نیز تحت عنوان گروه شاهد منظور گردید. هریک از تیمارها با سه تکرار پرورش داده شدند. تعداد 12 حوضچه پلاستیکی با حجم آبگیری50 لیتر و با تراکم 50 قطعه لارو میگو (بریگز و همکاران، 2004) و با تعویض آب روزانه 20 درصد، هوا دهی ثابت و شرایط نوری 12 ساعت روشنایی و 12 ساعت تاریکی، برای مدت 60 روز در مرکز تکثیر و پرورش میگوی گمیشان در تابستان سال 1391 جایابی گردیدند. میانگین وزنی پست‌لارو میگوهای معرفی شده به هر یک از حوضچه‌های پرورشی 6/54±50 میلی‌گرم بود. تغذیه پست‌لاروهای میگو (PL_{15}) (با استفاده از غذای کنسانتره شرکت هوورراش) در هر یک از تیمارهای آزمایشی با عنوان تیمار تجاری (تیمار اول)، تجاری- بومی (تیمار دوم) و بومی (تیمار سوم) به ترتیب از جیره‌های D_1، D_2 و D_3 به

میزان7 درصد وزن بدن و در سه نوبت (در ساعات 6، 14 و 22) صورت پذیرفت. همچنین به منظور کنترل و نگه‌داری بهینه فاکتورهای کیفی آب محیط پرورش پست‌لاروهای میگوی پا سفید غربی، در طول دوره آزمایش برخی از فاکتورهای کیفی آب نظیر دما، pH و شوری آب هر دو روز یک بار اندازه‌گیری شد. در طول دوره آزمایش، میزان دمای آب 28 تا 32 درجه سانتی‌گراد، میزان شوری آب 38 تا 42 قسمت در هزار و pH آب 8/5-8/3 بودند.

معیارهای رشد و تغذیه: جهت بررسی وضعیت رشد میگوها و به منظور تعیین زیتوده لاروهای میگو جهت محاسبه غذای روزانه در طول دوره آزمایش، به فاصله هر 10 روز یک‌بار به‌طور تصادفی از هر حوضچه نمونه‌برداری و میانگین طول و وزن آنها با استفاده از کولیس با دقت یک میلی‌متر و ترازوی دیجیتالی با دقت 0/001 گرم اندازه‌گیری و سپس نمونه‌ها به حوضچه‌ها برگردانده شدند. در انتهای دوره تمامی میگوها زیست‌سنجی شدند. همچنین میزان 10 گرم نمونه از هر حوضچه نمونه‌برداری و پس از انجماد در فریزر 20- درجه سانتی‌گراد به آزمایشگاه ارسال شدند. در آزمایشگاه، تعیین ترکیب شیمیایی بدن لاروهای میگو مطابق با استاندارد (AOAC, 1990) انجام پذیرفت. پروتئین خام با استفاده از دستگاه کجلدال و به روش میکرو کجلدال و با تعیین مقدار نیتروژن کل و بر اساس 16 درصد نیتروژن، چربی خام مطابق با روش سوکسله و با بکارگیری دستگاه سوکسله، انرژی خام با استفاده از بمب کالریمتر، رطوبت و ماده خشک لاشه به طور وزنی برای مدت 24 ساعت در آون تعیین شد. همچنین خاکستر لاشه لاروهای میگو از طریق سوزاندن آنها در کوره در 600 درجه سانتی‌گراد تعیین گردید. بر پایه داده‌های بدست آمده در انتهای دوره آزمایش برخی از پارامترهای تغذیه‌ای نظیر ضریب تبدیل غذایی، کارآیی تبدیل غذا، نسبت کارآیی پروتئین، نسبت کارآیی چربی، نسبت کارآیی انرژی، پروتئین بدست آمده، چربی بدست آمده، انرژی بدست آمده، ارزش تولید پروتئین و ارزش تولید چربی محاسبه گردیدند.

جدول 1- تجزیه تقریبی شیمیایی غذای تجاری (میانگین داده‌ها ± خطای استاندارد) مورد استفاده در پرورش پست‌لارو میگوی پا سفید غربی در طول دوره پرورش (بر اساس ماده خشک)

پروتئین خام (درصد)	چربی خام (درصد)	انرژی ناخالص (کالری بر گرم)	ماده خشک (درصد)
38±1/19	9±92	4523±25/32	90±1/54

تجزیه و تحلیل آماری: تجزیه و تحلیل آماری داده‌های بدست آمده در ارتباط با شاخص‌های رشد، تغذیه و تجزیه تقریبی لاشه با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه، در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام گرفت. میانگین گروه‌های مختلف آزمایشی به کمک آزمون دانکن مقایسه شدند. تمام آنالیزهای آماری در محیط نرم‌افزار SPSS نسخه 16 و در سطح 0/05 انجام شدند.

نتایج

تغذیه‌ای پست‌لارو میگوی پا سفید غربی در جدول 2 آمده است. نتایج بدست آمده بیانگر معنی‌دار بودن اثر تغذیه پست‌لاروها با باسیلوس‌های پروبیوتیکی بر معیارهای رشد و تغذیه‌ای این میگو می‌باشد (P<0/05). استفاده از باسیلوس‌های پروبیوتیکی موجب ایجاد اختلاف معنی‌داری در وزن و طول نهایی شد (P<0/05). بیشترین وزن (1101/12 میلی‌گرم) و طول (56/46 میلی‌متر) پست‌لارو میگوها در تیمار پروبیوتیک تجاری بدست آمد. ضریب تبدیل غذایی با بکارگیری باسیلوس‌های پروبیوتیکی مورد استفاده در این آزمایش، به‌طور قابل توجهی در تیمارهای آزمایشی کاهش یافت و اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد مشاهده گردید (P<0/05) و کمترین آن معادل 1/78 برای تیمار پروبیوتیک تجاری بدست آمد، در حالی که در تیمار شاهد این مقدار 2/29 بدست آمد (P<0/05). کارآیی تبدیل غذا در تیمارهای آزمایشی نسبت به تیمارهای شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش نشان داد (P<0/05). در تیمارهای آزمایشی تحت تأثیر پروبیوتیک‌ها این کارآیی از 45/60 درصد در تیمار شاهد به 61/86 درصد در تیمار پروبیوتیک تجاری رسید. باسیلوس‌های پروبیوتیکی در این مطالعه توانستند به طور معنی‌داری نسبت کارایی پروتئین و چربی را بهبود بخشند (P<0/05). بهترین عملکرد نسبت کارایی پروتئین و چربی در تیمار دوم به ترتیب معادل 1/63 و 6/87 و کمترین مقدار در تیمار شاهد 1/20 و 5/07 مشاهده شد.

جدول 2- پارامترهای رشد و تغذیه پست‌لارو میگوی پا سفید غربی تغذیه گردیده از غذای مکمل شده با باسیلوس‌های پروبیوتیکی

پارامتر / تیمار	شاهد	پروبیوتیک تجاری	پروبیوتیک تجاری + بومی	پروبیوتیک بومی
وزن اولیه (میلی‌گرم)	50±6/54	50±6/54	50±6/54	50±6/54
وزن نهایی(میلی‌گرم)	811/62±66/69^{d}	1101/12±48/13^{a}	983/71±69/94^{b}	888/06±57/72^{c}
طول نهایی (میلی‌متر)	50/28±5/57^{d}	56/46±6/36^{a}	54/15±5/02^{b}	52/30±5/49^{c}
کارایی تبدیل غذا	45/60±4/36^{d}	61/86±4/56^{a}	55/26±5/16^{b}	49/89±4/48^{c}
ضریب تبدیل غذایی	2/29±0/51^{a}	1/78±0/56^{c}	1/93±0/48^{b}	2/17±0/62^{a}
نسبت کارآیی پروتئین	1/20±0/25^{d}	1/63±0/31^{a}	1/45±0/39^{b}	1/31±0/38^{c}
نسبت کارآیی چربی	5/07±0/64^{d}	6/87±0/47^{a}	6/14±0/68^{b}	5/54±0/60^{c}
پروتئین بدست آمده	0/57±0/12^{d}	0/83±0/17^{a}	0/71±0/10^{b}	0/65±0/09^{c}
چربی بدست آمده	0/044±0/005^{ab}	0/047±0/009^{a}	0/041±0/007^{b}	0/038±0/007^{c}
ارزش تولید پروتئین	0/53±0/11^{d}	0/76±0/14^{a}	0/66±0/18^{b}	0/60±0/17^{c}
ارزش تولید چربی	0/21±0/003^{a}	0/14±0/005^{a}	0/15±0/004^{b}	0/18±0/004^{c}
بقاء (درصد)	72±3/25^{d}	83/5±2/45^{a}	80±3^{b}	77±2/50^{c}

* حروف لاتین غیر مشترک در هر ردیف نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین میانگین داده‌ها می‌باشد ($P<0/05$).

داده‌های جدول شامل میانگین داده‌ها ± خطای استاندارد می‌باشد.

کارآیی تبدیل غذایی (درصد) = 100 ×[وزن بدست آمده (گرم) / غذای خورده شده (گرم)]

ضریب تبدیل غذایی= غذای خورده شده (گرم) / وزن بدست آمده (گرم)

نسبت کارایی پروتئین = وزن بدست آمده (گرم) / پروتئین خورده شده (گرم)

نسبت کارایی چربی = وزن بدست آمده (گرم) / چربی خورده شده (گرم)

نسبت کارایی انرژی = وزن بدست آمده (گرم) / انرژی خورده شده (کیلو کالری)

پروتئین بدست آمده = [(وزن نهایی میگو (گرم) × پروتئین نهایی میگو (درصد)) – (وزن اولیه میگو (گرم) × پروتئین اولیه میگو (درصد)) / دوره پرورش (روز)]

چربی بدست آمده = [(وزن نهایی میگو (گرم) × چربی نهایی میگو (درصد)) – (وزن اولیه میگو (گرم) × چربی اولیه میگو (درصد)) / دوره پرورش (روز)]

انرژی بدست آمده = [(وزن نهایی میگو (گرم) × انرژی نهایی میگو (گرم / ژول)) – (وزن اولیه میگو (گرم) × انرژی اولیه میگو (گرم / ژول)) / دوره پرورش (روز)]

ارزش تولید پروتئین = پروتئین ابقاء شده (گرم) / پروتئین خورده شده (گرم)

ارزش تولید چربی = چربی ابقاء شده (گرم) / چربی خورده شده (گرم)

جدول 3- تجزیه اولیه لاشه (میانگین داده‌ها ± خطای استاندارد) پست لارو میگوی پا سفید غربی در ابتدای دوره پرورش

پروتئین خام (درصد)	چربی خام (درصد)	انرژی ناخالص (کالری بر گرم)	ماده خشک (درصد)
45/84±1/62	2/12±0/12	4385±19/22	19/35±2/38

نتایج آنالیز لاشه پست لاروهای میگو نشان داد (جدول 4) که باسیلوس‌های پروبیوتیکی ذکر شده در ارتقاء سطوح مواد مغذی بدن میگو نقش بسیار خوبی را داشته‌اند، بطوری که میزان درصد ماده خشک بدن پست لاروهای میگو در تیمارهای آزمایشی نسبت به تیمار شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (P<0/05).

جدول 4- تجزیه تقریبی لاشه پست‌لارو میگوی پا سفید غربی تغذیه شده از غذای مکمل شده با باسیلوس‌های پروبیوتیکی در پایان دوره پرورش

تیمار / پارامتر	شاهد	پروبیوتیک تجاری	پروبیوتیک تجاری + بومی	پروبیوتیک بومی
پروتئین خام (درصد)	44/67±0/82[b]	46/98±0/15[a]	45/51±0/14[ab]	46±0/24[ab]
چربی خام (درصد)	3/40±0/24[a]	2/40±0/10[b]	2/60±0/15[b]	2/65±0/26[b]
ماده خشک (درصد)	23/04±2/27[b]	29/16±1/02[a]	28/58±0/84[a]	27/55±1/04[a]
خاکستر (درصد)	12/67±0/21[a]	10/65±0/28[b]	10/46±0/30[b]	11/09±0/11[b]
انرژی ناخالص (کالری بر گرم)	4543/9±42/12[a]	4436/9±87/65[b]	4446/8±102/25[b]	4439/4±110/97[b]

* حروف لاتین غیرمشترک در هر ردیف نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین میانگین داده‌ها می‌باشد (P<0/05). داده‌های جدول شامل میانگین داده‌ها ± خطای استاندارد می‌باشد.

سطح پروتئین خام در تیمارهای آزمایشی نسبت به تیمار شاهد افزایش قابل توجهی نشان داد این در حالی است که درصد چربی خام لاشه پست‌لاروهای میگو در تیمارهای آزمایشی کاهش معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد نشان داد (P<0/05). باسیلوس‌های پروبیوتیکی باعث کاهش سطح انرژی خام و خاکستر لاشه پست‌لاروهای میگو در تیمارهای آزمایشی گردیدند، به‌طوری‌که سطح انرژی خام و خاکستر در تیمار پروبیوتیک تجاری (4436/9 کالری بر گرم) و (10/65) نسبت به تیمار شاهد (4543/9 کالری بر گرم) و (12/67) در حد معنی‌داری کاهش نشان داد (P<0/05).

بحث

مدیریت میکروبی به‌عنوان یکی از مهم‌ترین تکنیک‌هایی می‌باشد که در ارتباط با لاروهـای آبزیـان پرورشی مورد اجرا قرار گرفته و نتایج بسیار خوبی را به همراه داشته است. زیست‌یارها بـاکتری‌هـای مفیدی هستند که به عنوان عوامل بیولوژیکی با ارزش، جهت اجرای این تکنیـک مـورد اسـتفاده قـرار می‌گیرند. توسعه محصولات غیرآنتی‌بیوتیکی و بکارگیری محصولات بیولوژیکی در پرورش آبزیان که همسوی با محیط زیست باشند یکی از فاکتورهای کلیدی مهم برای مدیریت سلامتی در آبزی‌پـروری محسوب می‌گردد. در همین راستا بکارگیری باکتری‌های زیست‌یار یکی از مهـم‌تـرین عوامـل ارتقـاء دهنده عملکرد رشد و تغذیه، نرخ بازماندگی و افزایش میزان مقاومت در برابر استرس‌های محیطـی و ارتقـاء عملکـرد سیسـتم ایمنـی مطـرح مـی‌باشـد. چنـدین گونـه از بـاکتری‌هـا از جملـه *Bacillus*، *Lactobacillus*، *Vibrio*، *Streptococcus*، *Alteromonas*، *Aeromonas* و *Nitrosomonas* به عنوان پروبیوتیک در پرورش میگو استفاده شده است (گاتسووپ، 1994؛ بالکازار و همکاران، 2007؛ آلـی و همکاران، 2008). بسیاری از پروبیوتیک‌ها از جمله *باسیلوس سابتیلیس* و *باسـیلوس لیچنـی‌فـورمیس*، قادر به انجام فعالیت‌های تجزیه کنندگی پروتئین‌ها و پپتیدها بوده و با تولید آنزیم‌های پروتئاز و پپتیـداز ترکیبات درشت مولکول‌ها را به پپتیدها و اسید آمینه‌ها هیـدرولیز مـی‌کننـد (فـولر و پردیگـون، 2003؛ فرزانفر، 2006). پروبیوتیک‌ها با تولید ویتامین‌ها و تجزیه ترکیبات غیر قابـل هضـم، اشـتها را تحریـک می‌کنند و شرایط تغذیه‌ای بهتری را فراهم می‌آورند (ایریانتو و آستین، 2002).

در ارتباط با پرورش آبزیان، تغذیه از جمله عوامل متغیـری اسـت کـه هزینـه زیـادی را بـه خـود اختصاص می‌دهد، لذا کاهش این عامل از مهم‌ترین موارد مـدیریتی محسـوب مـی‌گـردد (کوکسـال و همکاران، 2003). اجرای مدیریت میکروبی از طریق بکارگیری پروبیوتیک‌ها می‌تواند موجب افـزایش راندمان رشد گردیده و باعث تقلیل هزینه‌های پرورشی گردد (یانبو و زیرونگ، 2006). این باکتری‌هـا از یک سو درصد بقا آبزیان را افزایش داده و از طرفی دیگر بـا بهینـه‌سـازی قابلیـت هضـم و جـذب ترکیبات مغذی، باعث افزایش کارآیی تغذیه و ارتقاء عملکرد رشد آنها می‌شوند. بنـابراین بکـارگیری این میکروارگانیزم‌ها می‌تواند در افزایش عملکرد و کاهش هزینه‌های تغذیه‌ای آبزیان پرورشـی بسـیار مفید واقع گردد. در این آزمایش، باسیلوس‌های تجاری و بـومی مـورد اسـتفاده در تمـامی تیمارهـای آزمایشی موجب افزایش پارامترهای تغذیه گردیدنـد. بـه‌طـوری کـه پسـت‌لاروهـای میگـو در تیمـار پروبیوتیک تجاری (تیمار اول) از ضـریب تبـدیل غـذایی پـایین‌تـر (1/78) و کـارایی تبـدیل غـذایی

(61/86)، وزن نهایی (1101/12 میلی‌گرم) و طول نهایی (56/46 میلی‌متر) بالاتری نسبت به سایر تیمارها برخوردار بود. همسو با این نتایج، بکارگیری مخلوطی از چهار گونه پروبیوتیکی شامل *Vibrio alginolyticus*، *Bacillus subtilis*، *Roseobacter gallaeciensis* و *Pseudomonas aestumarina* باعث کاهش میزان ضریب تبدیل غذایی در میگوی پا سفید غربی از 0/98 در تیمار شاهد به 0/74 در تیمار تغذیه شده با غذای حاوی پروبیوتیک شد. به‌علاوه وزن نهایی و بقاء این میگو در تیمار شاهد به ترتیب از 346 میلی‌گرم و 89/75 درصد به 408 میلی‌گرم و 96 درصد در تیمار آزمایشی حاوی پروبیوتیک ارتقا یافت (بالکازار و همکاران، 2007). همچنین رنگپیپات و همکاران (1998) گزارش کردند که باسیلوس‌های پروبیوتیکی (*Bacillus* S11) باعث افزایش رشد در میگوی ببری سیاه (*Penaeus monodon*) شده و وزن نهایی این میگوها را از 4 گرم به 7/06 گرم افزایش داده است.

بر طبق نظریه محققین باسیلوس‌های زیست‌یار با تولید آنزیم‌های گوارشی و برخی دیگر از ترکیبات بیوشیمیایی خارج سلولی باعث افزایش هضم و جذب مواد غذایی می‌شوند (وانگ، 2007). اگرچه سطوح آنزیم‌های گوارشی که توسط باسیلوس‌ها ترشح می‌شود در مقایسه با آنزیم‌های گوارشی ترشحی روده کمتر می‌باشد اما باعث تحریک تولید آنزیم‌های گوارشی توسط روده می‌شود (ضیایی‌نژاد و همکاران، 2006؛ وانگ، 2007). هر چند در این مطالعه، سطوح ترشح آنزیم‌های گوارشی توسط باسیلوس‌های زیست‌یار جایگزین شده در دستگاه گوارش میگوی پا سفید غربی اندازه‌گیری نشده است، ولی پژوهش‌ها نشان داده است که افزایش فعالیت ویژه آنزیم‌های گوارشی در دستگاه گوارش لاروهای آبزیان تغذیه شده از غذاهای مکمل شده با باکتری‌های زیست‌یار می‌تواند یکی از دلایل علمی مهم در عملکرد بهتر تغذیه و رشد در آنها باشد (ژو و همکاران، 2009). به‌هرحال در تیمارهای تحت تأثیر باسیلوس‌های زیست‌یار ما شاهد عملکرد بهینه برخی از پارامترهای رشد و تغذیه در آنها در مقایسه با شاهد بودیم. یافته‌های توار و همکاران (2004) و ضیایی نژاد و همکاران (2006) نیز این موارد را تأیید نموده است.

باسیلوس‌ها می‌توانند تعدادی از مکمل‌های غذایی از جمله بیوتین، ویتامین B_{12}، اسیدهای چرب، آمینو اسیدهای ضروری و سایر فاکتورهای ضروری رشد را تولید کنند (فرزانفر، 2006). وانگ (2007) گزارش کرد که رشد و فعالیت آنزیم‌های گوارشی در میگوی پا سفید غربی زمانی که با غذای مکمل شده با باکتری‌های پروبیوتیک تغذیه شدند افزایش پیدا کرد. در همین راستا استفاده از *باسیلوس سابتیلیس* (در غلظت‌های 4-1 درصد جیره) در تغذیه میگوی بزرگ آب شیرین (*Macrobrachium rosenbergii*)

اختلاف قابل توجهی را در میزان پارامترهای تغذیه‌ای نسبت به تیمار شاهد نشان داد. به‌طوری که میزان ضریب تبدیل غذایی از 3/6 در تیمار شاهد به 2/47 در تیمار حاوی باسیلوس کاهش یافت، همچنین کارایی تغذیه و نسبت کارایی پروتئین به ترتیب از 75 درصد و 0/61 در تیمار شاهد به 103 درصد و 0/90 در تیمار حاوی باسیلوس ارتقاء یافت (سینیوازان و همکاران، 2012). همچنین در مطالعه دیگری نیز تغذیه میگوی بزرگ آب شیرین با غذای حاوی *باسیلوس لیچنی‌فورمیس* باعث کاهش ضریب تبدیل غذایی از 3/2 در تیمار شاهد به 2/14 در تیمار حاوی پروبیوتیک شد (کومار و همکاران، 2013). استفاده از پروبیوتیک‌ها باعث تغییر جمعیت باکتریایی و بهبود کیفیت آب تانک‌های پرورشی سخت‌پوستان شده و افزایش فاکتورهای رشد و تغذیه را به همراه خواهد داشت (بالکازار و همکاران، 2007؛ گویو و همکاران، 2009). رنگپیپات و همکاران (1998) و ضیایی‌نژاد و همکاران (2006) نتایج مشابهی در بهبود نرخ رشد ویژه و ضریب تبدیل غذایی به ترتیب در میگوی ببری سیاه (*P. monodon*) و سفید هندی (*P. indicus*) تغذیه شده با باسیلوس‌ها داشتند.

نتایج تجزیه تقریبی ترکیب لاشه پست‌لاروهای میگو نشان داد که باسیلوس‌های پروبیوتیکی ذکر شده در بهبود سطوح مواد مغذی بدن میگو نقش بسیار خوبی را داشته‌اند، به‌طوری که درصد ماده خشک و پروتئین بدن پست‌لاروهای میگو در تیمارهای آزمایشی نسبت به تیمار شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش نشان دادند. باسیلوس‌های پروبیوتیکی احتمالاً از طریق افزایش قابلیت هضم پروتئین و چربی موجب افزایش ذخیره پروتئین و چربی لاشه گشته و کارآیی آنها را بالا می‌برند (بایراجی و همکاران، 2004).

فرامرزی و همکاران (2011) گزارش کردند که باسیلوس‌های پروبیوتیکی می‌توانند باعث افزایش ارزش تولید پروتئین و چربی شوند به‌طوری که ارزش تولید پروتئین از 1/5 در تیمار شاهد به 3/88 در تیمارهای آزمایشی و ارزش تولید چربی از 0/13 در تیمار شاهد به 0/36 در تیمارهای آزمایشی ارتقا یافت. نتایج حاصل از تجزیه تقریبی ترکیب لاشه در این پژوهش با نتایج باقری و همکاران (2008) مطابقت داشت. به طوری‌که پروبیوتیک باعث افزایش پروتئین لاشه لارو قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Onchorhynchus mykiss*) گردید و میزان پروتئین خام لاشه از 10/3 درصد در تیمار شاهد به 15 درصد در تیمار تغذیه شده با غذای حاوی مکمل باسیلوس‌های پروبیوتیکی با غلظت باکتری $3/9\times10^8$ در هر گرم رسید. پروبیوتیک‌ها با افزایش قابلیت هضم و جذب پروتئین در روده ماهی، باعث افزایش کارآیی پروتئین شده و در نتیجه واحد بیشتری از وزن آبزی به نسبت پروتئین خورده شده بدست

می‌آید (گوش، 2004). در مطالعه‌ای یانبو و همکاران (2012) در تغذیه میگوی پا سفید غربی با *باسیلوس کواگولانس* نشان دادند که در انتهای دوره غذادهی چربی لاشه به طور معنی‌داری از 2/34 درصد در تیمار شاهد به 1/94 درصد در تیمار اول (پروبیوتیک با قابلیت زنده‌مانی[1]) کاهش یافت. از همین رو ثابت شده است که پروبیوتیک‌ها با ترشح هرچه بیشتر آنزیم لیپاز موجب افزایش فعالیت ویژه این آنزیم در لوله گوارشی گردیدند (گوش، 2004)، که به موجب آن قابلیت هضم و جذب چربی ارتقاء پیدا نمود.

نتایج مشابهی نیز توسط لین و همکاران (2008) در خصوص اثرات تغذیه با غلظت‌های مختلف باسیلوس‌های پروبیوتیکی بر ترکیبات لاشه میگوی پا سفید غربی بدست آمد. آن‌ها نشان داند که سویه‌های پروبیوتیکی در 1 گرم/کیلوگرم موجب بهبود معنی‌دار میزان چربی خام در مقایسه با گروه‌های تیمار شده به‌وسیله 0/5 و 2/5 گرم/کیلوگرم پروبیوتیک شد؛ و بیان نمودند که نتایج بدست آمده می‌تواند به دلیل تفاوت در نوع سویه پروبیوتیکی و غلظت بکار رفته باشد.

در مخالفت با نتایج این پژوهش سینیوازان و همکاران (2012) بیان کردند که در استفاده از پروبیوتیک *باسیلوس سابتیلیس* در ترکیب غذایی میگوی بزرگ آب شیرین هیچ‌گونه اختلاف معنی‌داری در سطوح پروتئین، خاکستر و رطوبت لاشه در مقایسه با تیمار شاهد مشاهده نشد. همچنین در مطالعه دیگری یو و همکاران (2009) اثر جیره‌های حاوی گیاهان دارویی و باسیلوس را بر ترکیبات بیوشیمیایی لاشه میگوی پا سفید غربی بررسی کردند، که در نتیجه این آزمایش آن‌ها نشان دادند هیچ تفاوت معنی‌داری در مقادیر رطوبت، پروتئین خام و خاکستر در بین کل تیمارهای آزمایشی یافت نشد. هرچند مقدار چربی بدست آمده در بین تیمارهای آزمایشی معنی‌دار بود.

به‌هرحال تأثیرات باسیلوس‌های پروبیوتیکی بر افزایش عملکرد رشد و تغذیه در لاروهای آبزیان در پژوهش‌های مختلف صورت گرفته، کاملاً به اثبات رسیده ولی میزان این تأثیرات متفاوت بوده است. بر طبق نظریه بسیاری از محققین این محصولات بیولوژیکی می‌توانند در کنار سایر عوامل رشددهنده‌ای که امروزه برای پرورش آبزیان پیشنهاد می‌گردد، به عنوان عوامل ارتقاء دهنده[2] مورد استفاده قرار گیرد. در این میان مطابق با توصیه صاحب‌نظران، بکارگیری پروبیوتیک‌های بومی در هر کشور از ارزش بالایی برخوردار بوده و مزیت‌های خاصی را بدنبال دارد که از جمله کاهش هزینه‌های

1- Viable probiotic
2- Promotor agents

واردات آنها از خارج از کشور و نیز همسو بودن آنها با محیط زیست می‌باشد. در بسیاری از موارد از دیدگاه صاحب‌نظران زیست محیطی، وارد نمودن باکتری‌های مختلف در قالب محصولات پروبیوتکی و استفاده آنها در کشور از نظر موازین زیست محیطی قابل تأیید نمی‌باشد. بنابراین باکتری‌های پروبیوتیکی بومی ضمن بهینه‌سازی فعالیت‌های متابولیکی آبزی مورد پرورش قابلیت‌های بسیار خوبی در جهت افزایش سازگاری اکولوژیکی لاروهای آبزیان در اکوسیستم‌های پرورشی دارند. به‌هرحال تکنیک‌های نوین میکروبی در قالب جداسازی و شناسایی باکتری‌های پروبیوتیکی با پتانسیل برتر، خالص‌سازی و بکارگیری مجدد آنها در تغذیه لاروهای آبزیان پرورشی مطرح می‌گردد. مدیریت نوین میکروبی در واقع تکنیکی است همسو با ساختارهای بوم شناختی که تا حد زیادی باعث بهینه سازی جیره‌های آبزیان پرورشی شده و کاهش هزینه‌ها و افزایش تولید را به‌همراه دارد. بنابراین علاوه بر بکارگیری باکتری‌های پروبیوتیکی غیربومی[1] که بصورت محصولات تجاری عرضه می‌شوند، گونه‌های بومی[2] جدا شده از دستگاه گوارش آبزیان می‌توانند در جهت همسویی و موافقت با اصول بوم شناختی موجب توسعه صنعت آبزی‌پروری کشورمان گردد.

در این پژوهش در کنار دو گونه از باسیلوس‌های تجاری، سویه‌های بومی آنها نیز مورد بررسی قرار گرفتند. هرچند در مجموع عملکرد سویه‌های تجاری این باسیلوس‌ها در افزایش پارامترهای رشد، تغذیه و ترکیبات بیوشیمیایی لاشه در پست‌لارو میگوی پا سفید غربی مورد ارزیابی از میزان بالاتری برخوردار بودند، ولی عملکرد آنها در مقایسه با شاهد نشان از توانایی آنها به‌عنوان قابلیت استفاده آنها در آبزی‌پروری بود. از سوی دیگر عملکرد بهتر باسیلوس‌های تجاری احتمالاً به دلیل دستکاری‌های ژنتیکی این باسیلوس‌ها توسط شرکت سازنده آن می‌باشد. بنابراین پیشنهاد می‌گردد جهت افزایش خاصیت پروبیوتیکی دو سویه از باسیلوس‌های بومی مستخرجه از دستگاه گوارش فیل‌ماهی نیز توسط متخصصین ژنتیکی کشور، دستکاری‌های ژنتیکی صورت گیرد تا بتوان از این سویه‌ها و حتی سویه‌های بومی مختلف دیگر که از دستگاه گوارش ماهیان و میگوها در کشورمان استخراج می‌گردد، در جهت افزایش عملکرد آبزیان در سیستم‌های پرورش لارو بهره جست.

بکارگیری توأم باسیلوس‌های زیست‌یار تجاری و بومی که اصولاً به منظور تأثیرات هم افزایی آنها در افزایش رشد و تغذیه لاروهای آبزیان صورت می‌گیرد (کی و همکاران، 2009) در این پژوهش

1- Allochthonous
2- Autochthonous

مورد اجرا واقع شد و نتیجه بهتری را نسبت به گروه شاهد و تیمار اول در بر داشت. با این وجود، احتمال داده می‌شود که شاید غلظت‌های دیگری از آنها در تغذیه و رشد میگو تأثیرات مناسب‌تری را دربر داشته باشد. همچنین به منظور حصول اطمینان از تأثیر موفقیت‌آمیز باسیلوس‌های پروبیوتیکی بومی پیشنهاد می‌شود مطالعه‌ای در خصوص تأثیر این پروبیوتیک‌ها بر سطوح ایمنی در شرایط آزمایشگاهی و پرورشی و همچنین مقابله با عوامل محیطی و بیماری‌زا صورت پذیرد تا بتوان با اطمینان بیشتری در مورد توانایی پروبیوتیک‌های بومی در میگو و سایر آبزیان اظهار نظر کرد. به‌هرحال شناخت جنبه‌های دیگری از این باسیلوس‌های بومی، مستلزم انجام پژوهش‌های بیشتری در آینده در ارتباط با شرایط محیطی و در آبزیان مختلف می‌باشد.

سپاسگزاری

مؤلفین برخود لازم می‌دانند که از رئیس و کارشناسان محترم اداره کل شیلات استان گلستان آقایان مهندس پاسندی، علی محمدی، کیا و مختوم به خاطر مساعدت در اجرای طرح سپاسگزاری نمایند. همچنین از آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشکده منابع طبیعی دانشگاه گنبد کاووس به جهت فراهم آوردن تسهیلات لازم تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

1. Aly, S.M., Mohamed, M.F. and John, G. 2008. Effect of probiotics on the survival, growth and challenge infection in Tilapia nilotica (*Oreochromis niloticus*). Aquaculture Research. 39: 647-656.
2. AOAC. 1990. Official Methods of Analysis, 15th edition. Association of Official Analytical Chemists (AOAC), Washington. 1094p.
3. Bagheri, T., Hedayati, S.A., Yavari, V., Alizade, M. and Farzanfar, A. 2008. Growth, Survival and Gut Microbial Load of Rainbow Trout (*Onchorhynchus mykiss*) Fry Given Diet Supplemented with Probiotic during the Two Months of First Feeding. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. 8: 43-48.
4. Bairagi, A., Ghosh, K.S., Sen, S.K. and Ray, A.K. 2004. Evaluation of the nutritive value of *Leucaena leucocephala* leaf meal, inoculated with fish intestinal bacteria *Bacillus subtilis* and *Bacillus circulans* in formulated diets for rohu, *Labeo rohita* (Hamiltion) fingerlings. Aqucalture research. 35: 436-446.
5. Balcazar, J.L., Rojas-Luna, T. and Cunningham, D.P. 2007. Effect of the addition of four potential probiotic strains on the survival of pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) following immersion challenge with *Vibrio parahaemolyticus*. Journal of Invertebrate Pathology. 96: 147-150.

6. Briggs, M., Funge-Smith, S., Subasinghe, R. and Phillips, M. 2004. Introduction and movement of *Penaeus vannamei* and *Penaeus stylirostris* in Asia and the pacific. RAP publication, Bangkok. 79p.
7. Cole, C.B. and Fuller, R. 1984. A note on the effect of host specific fermented milk on the coliform population of the neonatal rat gut. Jounal 0f Applyed Bacteriology. 56: 495-498.
8. Dehghan, M. 2012. Screening of probiotic bacteria and yeast from gastrointestinal tract of Beloga (*Huso huso*) fingerling and study the potential of bioencapsulation with *Artemia urmiana*. M.Sc. thesis Gonbad Kavous University. 104p.
9. Faramarzi, M., Jafaryan, H., Patimar, R., Kordjazi, Z., Kiaalvandi, S., Iranshahi, F., Lashkarbolouki, M., Adineh, H., Roozbehfar, R., Malekzadeh, A. and Isari, A. 2011. The potential of *Daphnia magna* bioencapsulated with probiotic bacilli on growth and feeding parameters of Persian sturgeon (*Acipenser percicus*) larvae. World journal of zoology. 6: 268-273.
10. Farzanfar, A. 2006. Mini review paper: The use of probiotics in shrimp aquaculture. FEMS Immunology and Medical Microbiology. 48:149-158.
11. Fuller, R. 1989. Probiotic in man and animals. Jounal of Applyed Bacterioloy. 66: 365-378.
12. Fuller, R. and Perdigon, G. 2003. Gut flora, immunity and health. Blackwell publishing. 276p.
13. Gatesoupe, F.J. 1994. Lactic acid bacteria increase the resistance of turbot larvae, *Scophthalmus maximus*, against pathogenic Vibrio. Aquatic Living Resources. 7:277-282.
14. Gatesoupe, F.J. 1999. The use of probiotics in aquaculture. Aquaculture. 180:147-165.
15. Ghosh, K., Sen, S.K. and Ray, A.K. 2004. Growth and survival of rohu, *Labeo rohita* (Hamilton, 1822) spawn feed diets formented with intestine bacterium, *Bacillus circulans*. Acta Ichthyologica et Piscatoria. 34: 155-165.
16. Ghosh, K., Sen, S.K., and Ray, A.K. 2003. Supplementation of an isolated fish gut bacterium, *Bacillus circulans*, in Formulated diets for Rohu, *Labeo rohita*, Fingerlings. Israeli Journal of Aquaculture. 55: 13-21.
17. Gomez-Gil, B., Herrera-Vega, M.A., Aberu-Grobis, F.A. and Roque, A. 1998. Bioencapsulation of two different vibrio species in nauplii of the Brine shrimp (*Artemia fransiscana*). Applied Environmental microbiology. 64: 2318-2322.
18. Gomez-Gil, B., Roque, A. and Turnbull, J.F. 2000. The use and selection of probiotic bacteria for use in the culture of larval aquatic organisms. Aquaculture. 191: 259-270.
19. Guo, J.J., Liu, K.F., Cheng, S.H., Chang, C.I., Lay, J.J., Hsu, Y.O., Yang, J.Y. and Chen, T.I. 2009. Selection of probiotic bacteria for use in shrimp larviculture. Aquaculture Research. 40: 609-618.

20. Irianto, A. and Austin, B. 2002. Probiotic in aquaculture, Journal of Fish Diseases. 25:633-642.
21. Kennedy, B., Venugopal, M.N., Karunasagar, I. and Karunasagar, I. 2006. Bacterial flora associated with the giant freshwater prawn. Aquaculture. 261: 1156-1167.
22. Koksal, G., Rad, F. and Kindir, M. 2003. Growth perfeormance and Food Conversion Ratio of Siberian Sturgeon (*Acipenser baeri* Brandt) at Different Daily Feeding Rates. Turkish Journal of Veterinary Animal Sciences. 27: 1085-1090.
23. Kumar- Sahu, M., Swarnakumar, N. S., Sivakumar, K., Thangaradjou, T. and Kannan, L. 2008. Probiotics in aquaculture: importance and future perspectives. Indian Journal Microbiology. 48:299-308.
24. Kumar, N.R., Prakash Raman, R., Jadhao, S.B., Brahmchari, R.K., Kumar, K. and Dash, G. 2013. Effect of dietary supplementation of *Bacillus licheniformis* on gut microbiota, growth and immune response in giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (de Man, 1879). Aquaculture International. 21:387-403.
25. Lin, H., Z. Li, Z. Guo, J. Feng, G. Wen and X. Ding. 2008. Effect of dietary probiotics on growth and biochemical composition of whole body of juvenile shrimp, *Penaeus vannamei*. South China Fish Science. 4:95-100.
26. Liu, C.H., Chiu, C.S., Ho, P.L. and Wang, S.W. 2009. Improvement in the growth performance of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, by a protease-producing probiotic, *Bacillus subtilis* E20, from natto. Journal of Applyed Microbiology. 107:1031-1041.
27. 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, development, stress tolerance, and immune status of white shrimp, *Litopenaeus vannamei* larvae. Fish & Shellfish Immunology. 28: 837-844.
28. Luis-Villasenor, I.E., Macias-Rodriguez, M.E., Gomez-Gil, B., Ascencio-Valle, F. and Campa-Cordova, A.I. 2011. Beneficial effects of four *Bacillus* strains on the larval cultivation of *Litopenaeus vannamei*. Aquaculture. 321: 136-144.
29. Moriarty, D.J.W. 1998. Control of luminous *Vibrio* species in penaeid aquaculture ponds. Aquaculture. 164: 351-358.
30. Parker, R.B. 1974. Probiotics, the other half of the story. Animal Nutrition and Health. 29: 4-8.
31. Pazir, M.K., Matinfar, A., AeenJamshidi, Kh., GhorbaniVaghei, R., Zarshenas, G.A. and Garibi, Q. 2008. The effects of probiotics *Bacillus* sp. on the growth and survival rate of White shrimp (*Litopenaeus vannamei*). Iranian Scientific Fisheries Journal. 17: 27-34. (In Persian)
32. Qi, z., Zhang, X.H., Boon, N. and Bossier, P. 2009. Probioticss in aquaculture of China- current state, problemes and prospect. Aquaculture. 290: 15-21.

33. Rengpipat, S., Phianphak, W., Piyatiratitivorakul, S. and Menasveta, P. 1998. Effects of a probiotic bacterium on black tiger shrimp *Penaeus monodon* survival and growth. Aquaculture. 167: 301-313.
34. Seenivasan, C., Radhakrishnan, S., Muralisankar, T. and Saravana Bhavan, P. 2012. *Bacillus subtilis* on survival, growth, biochemical constituents and energy utilization of the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* post larvae. Egyptian Journal of Aquatic Research. 38: 195-203.
35. Skjermo, J. and Vadstein, O. 1999. Techniques for microbial control in the intensive rearing of marine larvae. Aquaculture. 177: 333-343.
36. Tovar, D., Zombonino-Infante, J. L., Cahu, C., Gatesoupe, F.J., Vazquez, R. and Lesel, R. 2004. Influence of dietary live yeast on European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larval development .Aquaculture. 234: 415-427.
37. Wang, Y.B. 2007. Effect of probiotics on growth performance and digestive enzyme activity of the shrimp *Penaeus vannamei*. Aquaculture. 269: 259-264.
38. Yahyavi, M., Azari Takami, Gh. and Vosoughi, Q. 2006. Study of Salinity and Formalin Stress resistance in the indian white shrimp (*Fenneropenaeus indicus*) post larvae fed from enriched rotifers with highly fatty acids (DHA and EPA) and vitamin C. Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources. 14: 519-530. (In Persian)
39. Yanbo, W. and Zirong, X. 2006. Effect of probiotic for commom carp (*Cyprinus carpio*) based on growth performance and digestive enzymes activities. Animal Feed Science and Technology. 127: 283-292.
40. Zherdmant, M. T., San Miguel, L., Serrano, J., Donoso, E. and Miahle, E. 1997. Estudio y utilizacionde probióticos en el Ecuador. Panorama Acuicola 2:28.
41. Zhou, X., Wang, Y. and Li, W. 2009. Effect of probiotic on larvae shrimp (*Penaeus vannamei*) based on water quality, survival rate and digestive enzyme activities. Aquaculture. 287: 349-353.
42. Ziaei-Nejad, S., Rezaei, M.H., Takami, G.A., Lovett, D.L., Mirvaghefi, A.R. and Shakouri, M. 2006. The effect of *Bacillus* sp. bacteria used as probiotics on digestive enzyme activity, survival and growth in the India white shrimp *Fenneropenaeus indicus*. Aquaculture. 252: 516-524.