بهره‌برداری و پرورش آبزیان
جلد چهارم، شماره اول، بهار ۱۳۹٤
http://japu.gau.ac.ir

تأثیر استفاده از باکتری‌های *Bacillus subtilis* و *Bacillus licheniformis* و ویتامین C در شرایط فوق متراکم بر شاخص‌های رشد، بازماندگی و ترکیبات مغذی لاشه میگوی وانامی (*Litopeneaus vannamei*)

***حمید رئیسی[۱]، ولی‌اله جعفری[۲] و حمیدرضا احمدنیای مطلق[۳]**

[۱]دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، [۲]استادیار گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، [۳]دانشجوی دکتری گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۲/۱ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۲/۳۱

چکیده

این مطالعه به‌منظور بررسی تأثیر ویتامین C و باکتری‌های *Bacillus subtilis, B.lichniformis* بر شاخص‌های رشد و ترکیب شیمیایی لاشه میگوی وانامی صورت گرفت. در این مطالعه سه تیمار شامل، تیمار تغذیه شده با پروبیوتیک (٤×۱۰^{۱۰} cfu/kg)، تیمار تغذیه شده با ویتامین C (۱٤۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) و گروه شاهد بود. هر تیمار در سه تکرار انجام شد. میگوها در ۹ تانک ۳۰۰ لیتری با تراکم ۳۰۰ قطعه در مترمربع به‌مدت ٦ هفته با جیره‌های آزمایشی تغذیه گردیدند شاخص‌های رشد (طول کل، طول کاراپاس، تولید کل، وزن نهایی و نرخ رشد ویژه) تیمارهای تغذیه شده با پروبیوتیک و ویتامین C نسبت به گروه شاهد از اختلاف معنی‌داری برخوردار بود (P<۰/۰۵). ضریب تبدیل غذایی در تیمارهای پروبیوتیک و ویتامین C نسبت به گروه شاهد کاهش نشان داد (P<۰/۰۵)، درحالی‌که تیمارهای آزمایشی با یکدیگر اختلاف معنی‌دار نشان ندادند. تیمارهای آزمایشی به‌طور معنی‌داری نرخ بازماندگی بالاتری را نسبت به گروه شاهد نشان دادند. میزان خاکستر و چربی خام در تیمار تغذیه شده با ویتامین C نسبت به تیمار پروبیوتیک و گروه شاهد بیشتر بود، اما میزان پروتئین

*مسئول مکاتبه: hamidraisi444@gmail.com

خام در تیمارهایی که با پروبیوتیک تغذیه شده بودند نسبت به گروه شاهد و ویتامین C افزایش معنی‌داری نشان داد (P<۰/۰۵). با توجه به اینکه تیمار ویتامین C با افزایش میزان بازماندگی و تیمار پروبیوتیک با بهبود شاخص‌های رشد موجب افزایش میزان تولید زیتوده شدند، به‌نظر می‌رسد که استفاده از سطوح مناسب از این دو افزودنی در افزایش میزان تولید مؤثر باشد.

واژه‌های کلیدی: پروبیوتیک، ویتامین C، رشد، بازماندگی، وانامی

مقدمه

استفاده از مواد افزودنی در جیره غذایی آبزیان به‌عنوان یکی از راه‌های افزایش امنیت در تولید مطرح می‌باشد. در سال‌های اخیر پروبیوتیک‌ها به‌صورت گسترده‌ای به‌منظور اصلاح، تغییر یا دست‌کاری جمعیت میکروبی در آب، رسوبات و دستگاه گوارش مورد مطالعه قرار گرفته‌اند. همچنین عنوان شده است که پروبیوتیک‌ها می‌توانند موجب کاهش یا حذف برخی از عوامل بیماری‌زا شده و رشد و بازماندگی گونه‌های هدف را بهبود بخشند. این موجودات قادرند از طریق خصوصیات آنتاگونیستی یا جلوگیری از پرگنه‌سازی باکتری‌های بیماری‌زا، تحریک سیستم ایمنی طبیعی یا رهاسازی ترکیبات مفید مانند برخی از ویتامین‌ها و آنزیم‌های گوارشی به میزبان سود برسانند (احمدنیای‌مطلق و همکاران، ۲۰۱۲). همچنین، پروبیوتیک‌ها به‌عنوان جایگزینی مناسب برای آنتی‌بیوتیک‌ها نیز مطرح می‌باشند (مهدی و همکاران، ۲۰۱۰). پروبیوتیک‌ها معمولاً از طریق جایگزین شدن در جایگاه اتصال باکتری‌های مضر و استفاده از مواد غذایی موردنیاز آن‌ها، باعث افزایش مقاومت میزبان می‌شود (مهدی و همکاران، ۲۰۱۰). باکتری‌های خانواده باسیلوس از جمله متداول‌ترین پروبیوتیک‌هایی می‌باشند که در آبزی‌پروری مورد استفاده قرار می‌گیرند. این دسته از باکتری‌های گرم مثبت قادر به تولید و ترشح محدوده وسیعی از آنزیم‌های خارج سلولی می‌باشند (موریارتی، ۱۹۹۸). مخصوصا باکتری‌های *Bacillus subtilis* و *Bacillus licheniformis* که قادر به هضم میکروبی پروتئین‌ها و کربوهیدرات‌ها می‌باشند (باقری و همکاران، ۲۰۰۸).

باکتری‌های *Bacillus subtilis* و *Bacillus Licheniformis* می‌توانند با شرکت در فرایند هضم، کارایی دستگاه گوارش را بهبود بخشیده و در نهایت موجب به افزیش رشد شوند. در مطالعه‌ای که به بررسی اثر سطوح مختلف باکتری‌های *Bacillus subtilis* و *Bacillus licheniformis* بر

Artemia urmiana پرداخت، مشخص شد که باکتری‌های مذکور توانستند با افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی آمیلاز و پروتئاز سبب افزایش رشد، کاهش ضریب تبدیل غذایی، افزایش پروتئین و خاکستر لاشه شوند. باکتری‌های مذکور بر میزان بازماندگی، فعالیت آنزیم لیپاز و میزان چربی موجود در لاشه تأثیری نداشتند (احمدنیای‌مطلق و همکاران، ۲۰۱۲). تیمار ناپلی‌های میگوی بزرگ آب‌شیرین *Macrobrachium rosenbergii* با باکتری *Bacillus subtilis* موجب افزایش بازماندگی، رشد و تمایز سریع‌تر ناپلی‌ها می‌شود (کیسمی و همکاران، ۲۰۰۷). همچنین استفاده از باکتری *Bacillus subtilis* سبب افزایش بازماندگی میگوی ببری سبز در مواجهه با *Vibrio harveyi* تا ۹۰ درصد گردید (واسی‌هران و همکاران، ۲۰۰٤).

به اعتقاد برخی از محققان، کیفیت آب از جمله عوامل تأثیرگذار بر میزان تولید می‌باشد. از آن‌جایی که پروبیوتیک‌ها می‌توانند از طریق متعادل کردن آمونیاک و فسفر موجود در مدفوع و غذای خورده نشده سبب ارتقاء کیفیت آب شده و آن را در شرایط مناسب نگهداری می‌کنند. افزودن پروبیوتیک تجاری Biostart HB-1 و Biostart HB-2 (که حاوی مخلوطی از *B.subtilis*، *B.megaterium*، *B.polymyxa*، *B.licheniformis* می‌باشد) به محیط پرورش میگوی سفید غربی تأثیر معنی‌داری بر درصد بازماندگی، وزن نهایی، ضریب تبدیل غذایی و کیفیت آب و رسوبات نداشت. مشخص شد که باکتری‌های بومی موجود در رسوبات جهت حفظ کیفیت آب محیط پرورش این میگو کافی می‌باشد (مک‌اینتاش و همکاران، ۲۰۰۰).

وجود بسیاری از ویتامین‌ها به‌عنوان ریزمغذی در جیره غذایی آبزیان ضروری می‌باشد. ویتامین C دارای نقش‌های متابولیک متعددی منجمله اثر بر رشد، بازماندگی و کاهش تلفات، بهبود زخم‌ها، کاهش اثرات استرس و مقاومت در برابر عوامل بیماری‌زا و بهبود عملکرد تولیدمثل می‌باشد (دابروسکی، ۲۰۱۰). ال- اسکوربیک اسید تنها منبع ویتامین C می‌باشد که به‌طور سنتی در خوراک میگو مورد استفاده قرار می‌گیرد. با این‌حال، ال- اسکوربیک اسید ناپایدار بوده و در جریان تولید و ذخیره‌سازی غذا به‌دلیل قرار گرفتن در معرض درجه حرارت بالا، اکسیژن و نور از دست می‌رود (لی و شیائو، ۲۰۰۲). ویتامین C از جمله مواد آنتی‌اکسیدانی می‌باشد، که بیشتر در پلاسما و مایع سلولی وجود دارد (راک و همکاران، ۱۹۹٦) ویتامین C از مواد دیگر از جمله ویتامین E در برابر اکسیداسیون محافظت کرده و باعث تولید توکوفرل از رادیکال توکوفروکسیل می‌گردد (توماس و همکاران، ۱۹۹۵). این ویتامین به‌عنوان ماده کاهش دهنده استرس در تراکم‌ها و شرایط‌های گوناگون مورد توجه قرار

گرفته است، بر همین اساس آزمایشات زیادی به مطالعه اثر ویتامین C بر تراکم پرداخته‌اند (الیس و همکاران، ۲۰۰۲). بیشتر موجودات توانایی ساخت اسکوربیک اسید از گلوکرونیک اسید را دارا می‌باشند اما آبزیان به‌جز تاس ماهیان و سخت‌پوستان به‌دلیل فقدان آنزیم اکسیداز گلونو لاکتون قادر به سنتز این ویتامین نیستند بنابراین باید این ویتامین از طریق جیره غذایی به مصرف آبزیان برسد.

اگر چه بیشتر حیوانات خشکی‌زی نیازی به افزودن ویتامین C در رژیم غذایی ندارند، بسیاری از آبزیان، از جمله سخت‌پوستان، به کمبود ویتامین C بسیار حساس می‌باشد. مطالعات قبلی نقش اساسی ویتامین C را در تغذیه میگوهای خانواده پنائیده ثابت کرده‌اند (لی و شیائو، ۲۰۰۲). کمبود ویتامین C در جیره غذایی میگوهای خانواده پنائیده باعث رشد کم، ضریب تبدیل غذایی ضعیف، کاهش فرکانس پوست‌اندازی و یا پوست‌اندازی ناقص، کاهش مقاومت به استرس، اختلال در سنتز کلاژن و بهبود زخم، ایجاد ضایعات رنگدانه‌ای زیر پوشش محافظ خارجی و مرگ و میر بالا می‌شود (هی و لاورنس، ۱۹۹۳). نشان داده شده است که ویتامین C پارامترهای مختلف ایمنی و مقاومت به بیماری را در حیوانات خشکی‌زی و ماهیان را تحت تأثیر قرار می‌دهد اما در سخت پوستان، این اطلاعات هنوز به صورت جامع وجود ندارد.

این پژوهش با هدف بررسی تأثیر سطوح مختلف ویتامین C و پروبیوتیک (*B. subtilis, B. lichniformis*) در شرایط فوق متراکم بر شاخص‌های رشد (نرخ رشد ویژه، وزن نهایی، میزان تولید کل، طول کل و طول کاراپاس)، ضریب تبدیل غذایی، بازماندگی و ترکیبات مغذی لاشه میگوی وانامی انجام شد.

مواد و روش‌ها

تعداد ۲۷۰۰ PL20 میگوی وانامی (*Litopeneaus vannamei*) پس از سازگاری با شرایط آزمایشگاهی در تراکم ۳۰۰ قطعه در متر مربع، در تانک‌های ۳۰۰ لیتری در قالب یک طرح کاملاً تصادفی (سه تیمار با سه تکرار) ذخیره‌سازی و به صورت فوق متراکم مورد پرورش قرار گرفتند.

پروبیوتیک: پروبیوتیک مورد استفاده در این آزمایش از شرکت پروتکسین آکواتک تهیه گردید. این محصول تجاری حاوی تعداد برابر باکتری‌های *Bacillus subtilis* و *B.lichniformis* می‌باشد. تعداد باکتری در هر گرم این پروبیوتیک ۱×۱۰^{۱۰} (CFU/gr) می‌باشد.

آماده‌سازی پروبیوتیک جهت افزودن به غذا به این شکل انجام گرفت که ابتدا آب را تا نزدیکی نقطه جوش حرارت داده شد سپس بعد از رسیدن آب به دمای ۵۰ درجه، پروبیوتیک در آن حل شد.

اینکار باعث شد که اسپور پروبیوتیک فعال شود و به‌صورت غوطه‌وری به غذای کنسانتره اضافه گردید و غذای کنسانتره بعد از آماده‌سازی در داخل یخچال نگهداری شد، تا از قارچ‌زدگی غذا جلوگیری به‌عمل آید. سپس غذای کنسانتره به میزانی که تهیه شده بود، مطابق برنامه غذایی روزانه استفاده گردید.

ویتامین C: ویتامین C استفاده شده در این پژوهش، با نام تجاری Anprovit C 300 از شرکت عرشیا تهیه شد. این محصول حاوی ۵۰ درصد (۵۰۰ گرم در هر کیلوگرم ویتامین C) اسکوربیک اسید می‌باشد که با غلظت ۱٤۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم غذا میگو مورد استفاده قرار گرفت (انریکه، ۱۹۹۸) به‌منظور ایجاد چسبندگی ویتامین C به غذای میگو، از ۳۰ سی‌سی روغن ماهی به ازای هر کیلوگرم غذا استفاده شد. جهت ایجاد شرایط یکسان بین تمام جیره‌ها از جمله تیمار تغذیه با پروبیوتیک و تیمار شاهد نیز روغن افزوده شد. بعد از آماده‌سازی غذا، میگوها با غذای آماده شده سه وعده در روز مورد تغذیه قرار گرفتند. زیست‌سنجی میگوها هر هفته یک بار صورت گرفت و جهت اندازه‌گیری از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم استفاده شد و اطلاعات پس از هر مرحله بررسی گردید. در پایان دوره نمونه‌ها پس از جمع‌آوری، با آب شیرین شستشو داده شد تا آب سطحی کاملاً برطرف شود. پس از آب‌گیری نمونه‌ها درون فالکون بسته‌بندی و تا زمان انجام آزمایشات بعدی در یخچال ٤ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. پروتئین با استفاده از روش کجدال، چربی با استفاده از روش سوکسله، خاکستر با استفاده از کوره الکتریکی در دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد برای مدت ٤ ساعت و رطوبت با استفاده از آون در دمای ۱۰۵ به‌مدت ۲٤ ساعت اندازه‌گیری شد (پترسون و همکاران، ۱۹۹۹). جهت برآورد درصد بازماندگی، نرخ رشد ویژه و ضریب تبدیل غذایی از فرمول‌های زیر استفاده شد.

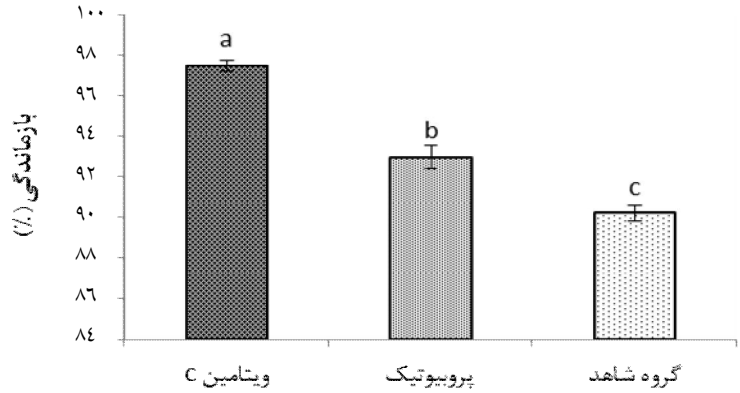
درصد بازماندگی= (تعداد میگوها در ابتدای آزمایش– تعداد میگوهای باقی‌مانده در انتهای آزمایش) ×۱۰۰
نرخ رشد ویژه = (لگاریتم رشد اولیه– لگاریتم رشد ثانویه)×۱۰۰/ مدت زمان پرورش
ضریب تبدیل غذایی= وزن خشک غذای خورده شده (کیلوگرم)/ وزن تر میگو

کلیه داده‌های درصدی به‌صورت $\arcsin\sqrt{x}$ تبدیل شدند. بعد از تحقق دو شرط اصلی آزمون‌های پارامتریک تجزیه واریانس (همگن بودن واریانس و نرمال بودن داده‌ها) (زار، ۱۹۹۹)، از آزمون تجزیه واریانس یک طرفه (ANOVA) برای مقایسه واریانس بین تیمارها و از آزمون دانکن برای بررسی وجود یا عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها (در سطح اعتماد ۰/۰۵ درصد) با کمک نرم‌افزار

آماری SPSS نسخه ١٦ تحت ویندوز استفاده گردید.

نتایج

بازماندگی: بر اساس نتایج، (شکل ١) میگوی تیمار شده با ویتامین C بیشترین مقدار بازماندگی (٠/٢±٩٥/٥ درصد) و گروه شاهد (٠/١٨±٩٠/١٨ درصد) دارای کمترین مقدار بود (P<٠/٠٥). بررسی بازماندگی در تیمار تغذیه شده با پروبیوتیک و ویتامین C نشان‌دهنده اختلاف معنی‌داری بین این دو گروه بود (P<٠/٠٥).



شکل ١- نمودار میزان بازماندگی میگو در تیمارهای تغذیه شده با پروبیوتیک و ویتامین C (میانگین ± انحراف معیار)

شاخص‌های رشد

نرخ رشد ویژه: طبق جدول ١ تیمار پروبیوتیک (٠/٦±٥/٧ گرم) دارای بیشترین مقدار و در گروه شاهد (٠/٨±٤/٣ گرم) دارای کمترین مقدار بود (P<٠/٠٥) تیمارهای که با ویتامین C (١/١±٤/٣ گرم) تغذیه شده بودند نسبت به تیمار پروبیوتیکی مقدار کمتری داشته و نتوانست اختلاف معنی‌داری برقرار کنند.

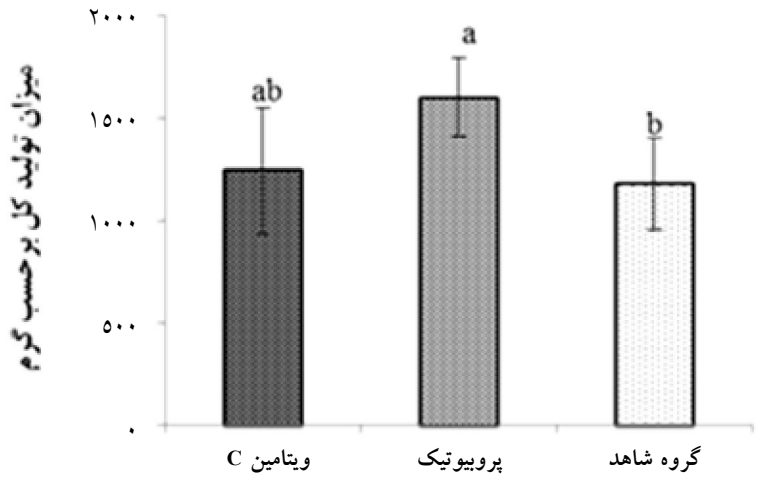
طول کل و طول کاراپاس: نتایج طول کل و طول کاراپاس (جدول ١) نشان داد که تیمار پروبیوتیکی با طول کل (٠/٥±١٤ سانتی‌متر) و طول کاراپاس (٠/١±٤ سانتی‌متر) بشترین مقدار و گروه شاهد با طول کل (٠/١±١٣ سانتی‌متر) و طول کاراپاس (٠/١±٣/٣ سانتی‌متر) دارای کمترین مقدار بود (P<٠/٠٥). نتایج به‌دست آمده نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار در طول کل و طول کاراپاس بین تیمار ویتامین C با شاهد و تیمار پروبیوتیکی بود.

جدول ۱- سطوح متفاوت پروبیوتیک و ویتامین C بر شاخص‌های رشد (میانگین ± انحراف معیار)

	نرخ رشد ویژه	وزن نهایی	طول کاراپاس	طول کل
پروبیوتیک	۱۲/۹۸±۰/۵^{a}	۵/۷±۰/۶^{a}	۳/۸±۰/۱۵^{a}	۱۲,۱±۰/۸^{a}
ویتامین C	۹/۵±۲/۵^{ab}	٤/۳±۱/۱^{ab}	۳/٤±۰/۱^{ab}	۱۰/۳±۰/۹^{ab}
گروه شاهد	۹/٦۸±۰/۸^{b}	٤/۳±۰/۸^{b}	۳/۳±۰/۰۵^{b}	۱۰/۲±۰/۸^{b}

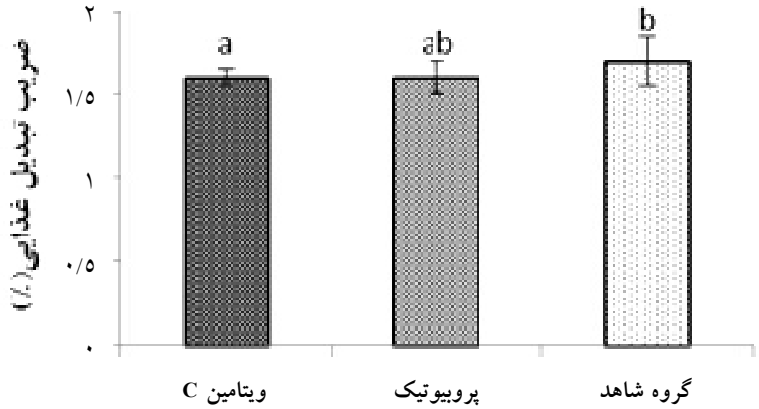
* ستون‌هایی با حداقل یک حرف مشترک در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت آماری معنی‌داری با هم ندارند.

میزان تولید کل: بر اساس نتایج، بیشترین میزان تولید مربوط به تیمار پروبیوتیکی (گرم ۱۹۳±۱٦۰۱) و کمترین آن مربوط به گروه شاهد (گرم ۲۲۵±۱۱۷۸) بود (P<۰/۰۵). تیمار ویتامین C (گرم ۲۵۳±۱۲۱۰) نسبت به تیمار پروبیوتیکی و شاهد اختلاف معنی‌داری نشان ندادند (شکل ۲).



شکل ۲- میزان کل میگوی تولید شده تغذیه شده با پروبیوتیک و ویتامین C (میانگین ± انحراف معیار)

ضریب تبدیل غذایی: نتایج این پژوهش کاهش ضریب تبدیل غذایی را در تیمارهای پروبیوتیک و ویتامین C نسبت به گروه شاهد نشان داد، در حالی‌که تیمارهای آزمایشی با یکدیگر اختلاف معنی‌دار نشان ندادند (P>۰/۰۵). براساس نتایج شکل ۳ بیشترین مقدار ضریب تبدیل غذایی به گروه شاهد (۱/۷±۰/۱۵) و کمترین مقدار آن به گروه تیمار شده با پروبیوتیک (۱/٦±۰/۰) تعلق داشت. اختلاف معنی‌داری بین تیمار پروبیوتیک و تیمار ویتامینی و گروه شاهد مشاهده نشد.



شکل ٣- ضریب تبدیل غذایی میگو در تیمارهای تغذیه شده با پروبیوتیک و ویتامین C (میانگین ± انحراف معیار)

آنالیز لاشه: بیشترین میزان ماده خشک موجود در لاشه، مربوط به تیمار تغذیه شده با ویتامین C (١/١±٤٢) و کمترین آن مربوط به گروه شاهد (٢/٤±٣٩/٥) بود، با توجه به نتایج (شکل ٢) اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای مختلف مشاهده نشد. بیشترین مقدار پروتئین لاشه مربوط به تیمار پروبیوتیکی (٠/٨±٦١/٤) و کمترین مقدار متعلق به گره شاهد (٠/٦±٥٩/٩) بود (P>٠/٠٥). تیمار تغذیه شده با ویتامین C (٠/٣٥±٦٠/٥) اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد و پروبیوتیک نشان نداد. نتایج تاثیر ویتامین C و پروبیوتیک بر خاکستر لاشه افزایش این ماده را نسبت به شاهد نشان داد. بین همه تیمارها اختلاف معنی‌داری از این نظر گزارش شد (P>٠/٠٥). میزان چربی لاشه (جدول ٢) در میگوهای تغذیه شده با ویتامین C (٠/٢±٣/٤) دارای بیشترین مقدار و شاهد (٠/٣ ±٢/٦) پایین‌ترین حد بود (P<٠/٠٥).

جدول ٢- مقایسه میانگین (± انحراف معیار) ماده خشک، خاکستر، چربی خام و پروتئین خام موجود در لاشه تیمارهای تغذیه شده با باکتری و ویتامین C

	ماده خشک	خاکستر	چربی خام	پروتئین خام
ویتامین C	١/١±٤٢/٠^{a}	٠/١±١٣/٣^{a}	٠/٢±٣/٤^{a}	٠/٦±٥٩/٩^{ab}
پروبیوتیک	٢/٤±٣٩/٧^{a}	٠/٣±١١/٧^{b}	٠/٢±٢/٨^{ab}	٠/٣٥±٦٠/٥^{a}
گروه شاهد	٢/٤±٣٩/٥^{a}	٠/٣±١٠/٨^{c}	٠/٣±٢/٦^{b}	٠/٨±٦١/٤^{b}

* ستون‌هایی با حداقل یک حرف مشترک در سطح احتمال ٥ درصد تفاوت آماری معنی‌داری با هم ندارند.

بحث

اثرات ضد استرسی ترکیبات ویتامین C (ژائو و همکاران، ۲۰۰۹) از طریق تحریک سیستم ایمنی و تحریک فعالیت لیزوزوم سرم که سبب تشدید بیگانه‌خواری گلبول‌های سفید و تکثیر لنفوسیت‌ها می‌شود، صورت گرفته و سبب ارتقاء رشد و بازماندگی در موجود میزبان فراهم می‌گردد (دابروسکی، ۲۰۱۰). یافته‌های به‌دست آمده از این بررسی نشان داد که در مقایسه با گروه شاهد و پروبیوتیک، ویتامین C می‌تواند تأثیر قابل ملاحظه‌ای بر افزایش بازماندگی میگوی وانامی داشته باشد. در آزمایش مشابهی، استفاده از سطوح مختلف ویتامین C در جیره غذایی میگوی ژاپنی سبب افزایش میزان بازماندگی، وزن، مراحل تکاملی و تولید پست لارو و همچنین میزان ذخیره اسکوربیک اسید در بدن این میگو شد (موئه و همکاران، ۲۰۰٤). محققین عنوان کرده‌اند که غلظت بالای ویتامین C به‌منظور کاهش استرس، افزایش قابلیت هضم و افزایش وزن میگو ضروری می‌باشد (رن و همکاران، ۲۰۰۵). همچنین استفاده از سطوح صفر، ۰/۲، ۰/٤ و ۰/۸ گرم ویتامین C بر کیلوگرم غذا سبب افزایش رشد و کاهش ضریب تبدیل غذایی در میگوی آب شیرین (*Pacifastacus leniusculus*) همچنین کاربرد سطوح ذکر شده ویتامین C در مطالعه ذکر شده تأثیری بر افزایش میزان ماندگاری *P. leniusculus* نداشت (اصلی و همکاران، ۲۰۰۷).

با توجه به مطالعات صورت گرفته نقش سودمند ویتامین C و پروبیوتیک بر شاخص‌های رشد آبزیان بطور گسترده توسط محققین مختلف گزارش شده است (چی‌ین و هاوانگ، ۲۰۰۱؛ توچر و همکاران، ۲۰۰۲). در این مطالعه، نرخ رشد ویژه در تیمار پروبیوتیک دارای بیشترین مقدار و در گروه شاهد دارای کمترین مقدار بود. هرچند که این شاخص در تیمار ویتامین C کمتر از پروبیوتیکی بود، اما بین تیمارهای آزمایشی تفاوت معنی‌داری را ایجاد نکرد. افزودن پروبیوتیک به جیره غذایی ماهی باعث ایجاد تعادل میکروبی روده، تولید ترکیبات مفید و افزایش کارایی سیستم ایمنی، افزایش فعالیت‌های گوارشی و آنزیمی و به‌دنبال آن افزایش رشد و توسعه استفاده از سطوح غذایی می‌شود (گاتسووپ، ۱۹۹۹). در بررسی اثر باکتری *Bacillus subtilis* جداسازی شده از روده *Macrobrachium rosenbergii* در پرورش *Litopenaeus vannamei* به‌مدت ٦۰ روز نشان داد که این باکتری با افزایش کلنی‌سازی در دستگاه گوارش، تعداد باکتری‌های *Vibrio* را کاهش داده بود. همچنین میزان ماندگاری و تولید میگو در تیمارهای تغذیه شده با باکتری مذکور به‌میزان معنی‌داری افزایش نشان داد (فار و همکاران، ۲۰۰۹) که با نتایج آزمایش حاضر انطباق داشت. هرچند تیمار میگوی ببری سبز (*P. monodon*) با

پروبیوتیک‌های تجاری خانواده باسیلوس تأثیری بر افزایش ماندگاری آن نداشت (شریف و همکاران، ٢٠٠١).

پروبیوتیک‌ها همواره به‌دلیل داشتن مزایای فراوان به‌عنوان یکی از راه‌های افزایش بازدهی در آبزی‌پروری مطرح بوده‌اند. از جمله این مزایا می‌توان به بهبود شاخص‌های رشد و تولید اشاره کرد. در این آزمایش نیز ویتامین C و پروبیوتیک توانستند میزان تولید کل زیتوده را افزایش دهند و با گروه شاهد اختلاف معنی‌دار پیدا کنند، اما این افزایش در تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی‌داری نشان ندادند. در ارتباط با سایر شاخص‌های رشد مانند طول کل و طول کاراپاس نیز نتایج مشابهی به‌دست آمد و تیمارهای پروبیوتیکی و ویتامینی توانستند شاخص‌های مورد نظر را ارتقاء دهند. در مطالعه‌ای که به بررسی اثر سطوح مختلف باکتری‌های *Bacillus subtilis* و *Bacillus Licheniformis* در پرورش *Artemia urmiana* پرداخته بود نیز نشان داد که باکتری‌های مورد استفاده به‌صورت معنی‌داری در افزایش زیتوده مؤثر بودند (احمدنیای مطلق و همکاران، ٢٠١٢). کاهش ضریب تبدیل غذایی در تیمارهای پروبیوتیکی و ویتامینی نسبت به تیمار شاهد در این آزمایش نیز موید این مطلب می‌باشد که باکتری‌های پروبیوتیکی دستگاه گوارش میگو از طریق افزایش ساخت و ترشح آنزیم‌های گوارشی در میزبان (تووار و همکاران، ٢٠٠٢)، منجربه 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 می‌دهند (دشریور و اولیویر، ٢٠٠٢). محققین با افزودن باسیلوس پروبیوتیکی (*Bacillus sp.*) به جیره کپور دریافتند، پروبیوتیک می‌تواند ضریب تبدیل غذایی را به‌طور معنی‌داری کاهش دهد (یانبو و زیروگ، ٢٠٠٦). به‌علاوه باکتری‌های پروبیوتیک موجود در دستگاه گوارش ماهی از طریق افزایش ساخت و ترشح آنزیم‌های گوارشی در میزبان سبب افزایش بهره‌وری از غذا می‌شوند (تووار و همکاران ٢٠٠٢)، که در نهایت منجربه افزایش قابلیت هضم چربی‌ها و پروتئین‌های موجود در جیره غذایی شده، کارایی تغذیه و متعاقب آن، رشد را در موجود میزبان به‌طور قابل توجهی افزایش می‌دهند (دشریور و اولیویر، ٢٠٠٢). استفاده همزمان از ویتامین C و پروبیوتیک می‌تواند تأثیر معنی‌داری بر شاخص‌های رشد ماهی کپور داشته باشد که مطابق با نتایج این تحقیق بود (نایاک و همکاران، ٢٠٠٧).

سویه‌های پروبیوتیکی موجود در دستگاه گوارش می‌توانند به‌عنوان منبعی از مکمل‌های غذایی، فعالیت میکروبی و منبع تولید ویتامین‌ها یا اسیدهای ضروری عمل کنند (اسکودینته، ٢٠٠٧). در مطالعه

حاضر بیشترین میزان ماده خشک موجود در لاشه، مربوط به تیمار تغذیه شده با ویتامین C و کمترین آن مربوط به گروه شاهد بود، با توجه به نتایج اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای مختلف مشاهده نشد. بیشترین مقدار پروتئین لاشه مربوط به تیمار پروبیوتیکی و کمترین مقدار متعلق به گره شاهد بود. تیمار تغذیه شده با ویتامین C اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد و پروبیوتیک نشان نداد. نتایج تأثیر ویتامین C و پروبیوتیک بر خاکستر لاشه افزایش این ماده را نسبت به گروه شاهد نشان داد. بین همه تیمارها اختلاف معنی‌داری از این نظر گزارش مشاهده شد. میزان چربی لاشه در میگوهای تغذیه شده با ویتامین C دارای بیشترین مقدار و شاهد پایین‌ترین حد بود. در بررسی مشابهی پروبیوتیک‌های باسیلوسی سبب افزایش میزان وزن خشک، پروتئین خام و خاکستر لاشه آرتمیا شدند. اما میزان چربی لاشه تفاوت معنی‌داری را نشان نداد. محققین عنوان کردند که این نتایج می‌تواند ناشی از استفاده مؤثرتر از ترکیبات غذایی در نتیجه عمل پروبیوتیک‌ها در دستگاه گوارش باشد چرا که جیره مورد استفاده حاوی پروتئین زیاد و چربی پایین بود (احمدنیای مطلق و همکاران، ۲۰۱۲). همچنین عنوان شده است که برخی از پروبیوتیک‌ها موجب افزایش اشتهای میزبان و به‌دنبال آن، شاخص‌های رشد شده‌اند (گاتسووپ، ۱۹۹۹).

داده‌های حاصل از این آزمایش نشان داد که افزودن پروبیوتیک و ویتامین C می‌تواند با افزایش بازماندگی و رشد در نهایت موجب افزایش تولید در پرورش میگوی وانامی شود. علاوه‌بر این، امروزه با توجه به ارزش غذای مصرفی در تولید آبزیان تلاش برای کاهش هزینه‌های تولید و افزایش بهره‌وری همواره مورد توجه بوده است. با توجه به نتایج مطالعات قبل و حاضر می‌توان نتیجه گرفت که ویتامین C و باکتری‌ها پروبیوتیکی می‌توانند از طریق کاهش ضریب تبدیل غذایی از میزان مصرف غذا کاسته و تولید کل را نیز افزایش دهند و از این‌رو به افزایش بهره‌وری صنعت تولید آبزیان سود برسانند.

سپاسگزاری

این مطالعه در قالب یک تحقیق جهت بررسی تأثیر باکتری‌های *Bacillus subtilis* و *Bacillus Licheniformis* و ویتامین C در مرکز آموزش آبزیان گمیشان واقع در استان گلستان صورت گرفت. نویسندگان این مقاله از جناب آقایان مهندس یاوری، مهندس کیا به خاطر حمایت‌های فراوان کمال تشکر و قدردانی را می‌نمایند.

منابع

1. Ahmadnia Motlagh, H.R., Farhangi, M., Rafiee, G. and Noori, F. 2012. "Modulating gut microbiota and digestive enzyme activities of *Artemia urmiana* by administration of different levels of *Bacillus subtilis* and *Bacillus licheniformis*." Aquaculture International, 20(4): 693-705.
2. Asli, M.M., Hosseini, S.A., Lotfollahian, H. and Shariatmadari, F. 2007. "Effect of probiotics, yeast, vitamin E. and vitamin C supplements on performance and immune response of laying hen during high environmental temperature." International Journal of Poultry Science, 6(12): 895-900.
3. Bagheri, T., Hedayat, S.A., Yavari, V., Alizadeh, 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(1): 43-48.
4. Chien, L.T. and Hwang, D.F. 2001. "Effects of thermal stress and vitamin C on lipid peroxidation and fatty acid composition in the liver of thornfish *Terapon jarbua*." Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology, 128(1): 91-97.
5. Dabrowski, K. 2010. Ascorbic acid in aquatic organisms: status and perspectives, CRC press.
6. De Schrijver, R. and Ollevier, F. 2000. "Protein digestion in juvenile turbot *(Scophthalmus maximus*) and effects of dietary administration of Vibrio proteolyticus." Aquaculture, 186(1): 107-116.
7. Ellis, T., North, B., Scott, A., Bromage, N., Porter, M. and Gadd, D. 2002. "The relationships between stocking density and welfare in farmed rainbow trout. Journal of Fish Biology, 61(3): 493-531.
8. Far, H.Z., Saad, C.R.B., Daud, H.M., Harmin, S.A. and Shakibazadeh, S. 2009. "Effect of Bacillus subtilis on the growth and survival rate of shrimp (*Litopenaeus vannamei*)." African Journal of Biotechnology, 8(14).
9. Gatesoupe, F. 1999. "The use of probiotics in aquaculture." Aquaculture 180(1): 147-165.
10. He, H. and Lawrence, A.L. 1993. "Vitamin C requirements of the shrimp *Penaeus vannamei*." Aquaculture, 114(3-4): 305-316.
11. Henrique, M. et al. 1998. "Influence of supplementation of practical diets with vitamin C on growth and response to hypoxic stress of seabream, *Sparus aurata*." Aquaculture, 161(1): 415-426.
12. Keysami, M., Saad, C., Sijam, K., Daud, H. and Alimon, A. 2007. "Effect of *Bacillus subtilis* on growth development and survival of larvae *Macrobrachium rosenbergii* (de Man)." Aquaculture nutrition, 13(2): 131-136.
13. Lee, M.H. and Shiau, S.Y. 2002. "Dietary vitamin C and its derivatives affect immune responses in grass shrimp, *Penaeus monodon*." Fish & Shellfish Immunology, 12(2): 119-129.

14. Mahdhi, A., Harbi, B., Esteban, M.Á., Chaieb, K., Kamoun, F. and Bakhrouf, A. 2010. "Using mixture design to construct consortia of potential probiotic Bacillus strains to protect gnotobiotic Artemia against pathogenic Vibrio." Biocontrol science and technology 20(9): 983-996.
15. McIntosh, D., Samocha, T., Jones, E., Lawrence, A., McKee, D., Horowitz, S. and Horowitz, A. 2000. The effect of a commercial bacterial supplement on the high-density culturing of *Litopenaeus vanname* with a low-protein diet in an outdoor tank system and no water exchange." Aquacultural engineering 21(3): 215-227.
16. Moe, Y.Y., Koshio, S., Teshima, S.I., Ishikawa, M., Matsunaga, Y. and Panganiban, A. 2004. Effect of vitamin C derivatives on the performance of larval kuruma shrimp *Marsupenaeus japonicus*. Aquaculture 242(1): 501-512.
17. Moriarty, D. 1998. "Control of luminous Vibrio species in penaeid aquaculture ponds." Aquaculture 164(1): 351-358.
18. Nayak, S., Swain, P. and Mukherjee, S. 2007. "Effect of dietary supplementation of probiotic and vitamin C on the immune response of Indian major carp, *Labeo rohita* (Ham.)." Fish and shellfish immunology 23(4): 892-896.
19. Petterson, D., Choct, M., Rayner, C., Harris, D. and Blakeney, A. 1999. Methods for the analysis of premium livestock grains. Crop and Pasture Science, 50: 775-88.
20. Ren, T., Koshio, S., Teshima, S.I., Alam, S., Panganiban, Y.A., Moe, Y., Kojima, Y. and Tokumitsu, Y. 2005. "Optimum Dietary Level of L-ascorbic Acid for Japanese Eel, *Anguilla japonica*." Journal of the World Aquaculture Society, 36(4): 437-443.
21. Rock, C.L., Jacob, R.A. and Bowen, P.E. 1996. "Update on the biological characteristics of the antioxidant micronutrients: vitamin C, vitamin E, and the carotenoids." Journal of the American Dietetic Association, 96(7): 693-702.
22. Shariff, M., Yusoff, F., Devaraja, T. and Rao, P. 2001. "The effectiveness of a commercial microbial product in poorly prepared tiger shrimp, *Penaeus monodon* (Fabricius), ponds." Aquaculture Research, 32(3): 181-187.
23. Skrodenytė-Arbaĉiauskienė, V. 2007. "Enzymatic activity of intestinal bacteria in roach *Rutilus rutilus* L." Fisheries Science, 73(4): 964-966.
24. Thomas, S.R., Neuzil, J., Mhor, D. and Stocker, R. 1995. Restoration of tocopherol by co-antioxidants make a-tocopherol an effective antioxidant for low-density lipoproteins. American Journal of Clinical Nutrition, 62: S1357-S1364.
25. Tocher, D.R., Mourente, G., Vander, E.A.J., Evjemo, O., Diaz, E., Bell, J.G., Geurden, I., Lavens, P. and Olsen, Y. 2002. "Effects of dietary vitamin E on antioxidant defence mechanisms of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.), halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) and sea bream (*Sparus aurata* L.)." Aquaculture Nutrition, 8(3): 195-207.

26. Tovar, D., Zambonino, J., Cahu, C., Gatesoupe, F., Vázquez-Juárez, R. and Lésel, R. 2002. "Effect of live yeast incorporation in compound diet on digestive enzyme activity in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae." Aquaculture, 204(1): 113-123.
27. Vaseeharan, B., Lin, J. and Ramasamy, P. 2004. "Effect of probiotics, antibiotic sensitivity, pathogenicity, and plasmid profiles of *Listonella anguillarum* bacteria isolated from *Penaeus monodon* culture systems." Aquaculture, 241(1): 77-91.
28. Yanbo, W. and Zirong, X. 2006. "Effect of probiotics for common carp (*Cyprinus carpio*) based on growth performance and digestive enzyme activities." Animal feed science and technology, 127(3): 283-292.
29. Zar, J.H. 1999. Biostatistical analysis, Pearson Education India.
30. 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, 287(3): 349-353.